

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**PRENATAL VE POSTNATAL DÖNEMDE KABLOSUZ  
HABERLEŞME CİHAZLARINA UZUN SÜRELİ MARUZİYETİN  
RAT BÖBREKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Uzm. Dr. Ayça Esra KUYBULU**

**PEDİATRİK NEFROLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMANLAR**

**Prof. Dr. Ahmet Rifat ÖRMECİ**

**Prof. Dr. Faruk Öktem**

**ISPARTA – 2012**

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**PRENATAL VE POSTNATAL DÖNEMDE KABLOSUZ  
HABERLEŞME CİHAZLARINA UZUN SÜRELİ MARUZİYETİN  
RAT BÖBREKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Uzm. Dr. Ayça Esra KUYBULU**

**PEDİATRİK NEFROLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMANLAR**

**Prof. Dr. Ahmet Rifat ÖRMECİ**

**Prof. Dr. Faruk Öktem**

**Bu tez, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından  
2294-TU-10 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ISPARTA – 2012**

## ÖNSÖZ

Pediyatrik Nefroloji yan dal uzmanı olarak yetişmemi sağlayan, bu tezin oluşturulmasında beni başından sonuna kadar y6nlendiren, her konuda yardım ve bilgilerini esirgemedi, bilimsel 6alışmanın gereklerini 6ğreten, sahip olduğum zor koşullarda sabırlarını ve desteklerini her zaman hissettiğim sayın Prof. Dr. Ahmet Rıfat 6rmeci'ye ve Prof. Dr. Faruk 6ktem'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Pediyatrik Nefroloji yan dal uzmanlık eğitimim s6recinde 6ok 6nemli katkıları olan, her konuda yardım ve bilgisini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Tuğrul Sezer'e sonsuz teşekk6rlerimi sunarım.

Birlikte saygı ve sevgi i6inde 6alıştığımız, bilgi ve deneyimlerinden 6ok yararlandığım, sayın hocalarım, Prof. Dr. Ali Ayata, Prof. Dr. Duran Canatan, Prof. Dr. Bumin D6ndar, Prof. Dr. Mustafa Ak6am, Do6. Dr. Metehan 6zen, Do6. Dr. 6zg6r Pirgon ve Yrd. Do6. Dr. Nihal Olga6 D6ndar'a; tez 6alışmam ile ilgili histopatolojik değerlendirmeleri sabırla ve 6zveri ile ger6ekleştiren Patoloji A.B.D 6ęretim 6yesi Yrd. Do6. Dr. İbrahim Metin 6iriş'e; deney d6zeneğinin kurulmasını sağlayan ve teknik bilgilerinden yararlandığım Elektronik ve Haberleşme M6hendisliği A.B.D. 6ęretim 6yesi Yrd. Do6. Dr. Sel6uk 66mle6i'ye; laboratuvar 6alışmalarını titizlikle y6r6ten Biyokimya A.B.D 6ęretim 6yesi Do6. Dr. Recep S6t66'ye; Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'mızın 6alışanlarına ve laboratuvarın sayın y6neticisi Do6. Dr. Efkan Uz'a 6ok teşekk6r ederim.

Uzmanlık eğitimim s6recinde birlikte olmaktan keyif aldığım b6t6n 6alışma arkadaşlarıma, klinik hemşire ve personeline, eğitimim s6resince her zaman en b6y6k desteği g6rd6ę6m sevgili eşim Erdem Kuybulu'ya, hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen 6ok değerli anneciğim ve babacığım İhsaniye- Nazmi Akkaya'ya ve kardeşlerim Hesna Dudu-Mehmet Erdoğan ile Mevl6de Akkaya ve G6nter Bilgi6'e en i6ten teşekk6rlerimi sunarım.

**Uzm. Dr. Ay6a Esra KUYBULU**

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Elektromanyetik Alan Nedir? .....	3
2.1.1. Elektromanyetik Spektrum.....	3
2.1.2. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Sistemlere Etki Mekanizması... 4	4
2.1.3. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Sistemlere Etkileri .....	5
2.1.4. İyonlaştırmayan Radyasyonun Renal Etkileri.....	7
2.1.5. İyonlaştırmayan Radyasyonun Hücre Membranı Üzerine Etkileri .....	8
2.1.6. İyonlaştırmayan Radyasyonun Sinyal İletimi Üzerine Etkileri .....	9
2.2. Oksidatif Hasar ve Antioksidanlar .....	9
2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri.....	10
2.2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek .....	11
2.3. Apoptoz .....	16
2.3.1. Böbrek ve Apoptoz .....	21
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEMLER</b> .....	<b>25</b>
3.1. Elektromanyetik Alan Maruziyet Sistemi ve Tasarımı.....	25
3.2. Projenin Yapıldığı Ortam ve Koşullar .....	28
3.3. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması .....	28
3.4. İzlem.....	29
3.5. Ratların Sakrifikasyonu ve Böbrek Dokusunun Alınması .....	30
3.6. Böbrek Dokusunun Homojenizasyonu .....	30
3.7. Deneylerde Kullanılan Malzeme ve Cihazlar .....	30
3.8. Biyokimyasal İncelemeler.....	31
3.8.1. Superoksit Dismutaz Aktivitesinin Ölçümü.....	31
3.8.2. Glutatyon Peroksidaz Aktivitesinin Ölçümü .....	31
3.8.3. Lipid Peroksidasyon Tayini .....	32

3.8.4. Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) Tayini	33
3.8.5. N-asetil- $\beta$ -D-Glukozaminidaz (NAG) Tayini .....	34
3.9. Histopatolojik Değerlendirme .....	34
3.9.1. Hematoksilen Eozin ile Boyama .....	34
3.9.2. İmmünhistokimyasal Çalışma .....	34
3.9.2.1. İmmünhistokimyasal Boyanmanın Dijital Ortamda Değerlendirilmesi.....	35
3.10. İstatistiksel Analiz .....	37
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>38</b>
4.1. Biyokimyasal Sonuçlar .....	38
4.2. Histopatolojik Bulgular .....	42
4.3. İmmun Histokimyasal Bulgular .....	44
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>48</b>
<b>6. SONUÇLAR .....</b>	<b>56</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>58</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>59</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>60</b>

**KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>ADP</b>	: Adenozin Difosfat
<b>AIF</b>	: Apoptoz İndükleyici Faktör
<b>AKT</b>	: Protein Kinaz B
<b>Apaf</b>	: Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör
<b>Ark</b>	: Arkadaşları
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>Bcl</b>	: B hücreli lenfoma ailesi
<b>Bmp</b>	: Kemik Morfogenez Proteini (Faktörü)
<b>°C</b>	: Santigrat
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>CAD</b>	: Kaspazla Aktifleşen Deoksiribonükleaz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>Cl</b>	: Klor
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>dB</b>	: Desibel
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>DNAaz</b>	: Deoksiribonükleaz
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>EA</b>	: Elektriksel Alan
<b>EM</b>	: Elektromanyetik
<b>EMA</b>	: Elektromanyetik Alan
<b>EMD</b>	: Elektromanyetik Dalga
<b>Fgf</b>	: Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>g</b>	: Gram
<b>GHz</b>	: Gigahertz
<b>GSH</b>	: Redükte Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>GST</b>	: Glutasyon-S-Transferaz
<b>Hz</b>	: Hertz
<b>H<sub>2</sub>O</b>	: Su
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>MHz</b>	: Megahertz

<b>mg</b>	: Miligram
<b>K</b>	: Potasyum
<b>KHz</b>	: Kilohertz
<b>LPO</b>	: Lipid Peroksidasyon
<b>MDA</b>	: Malonildialdehit
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik Oksit sentetaz
<b>O<sub>2</sub></b>	: Süperoksit
<b>ODC</b>	: Ornitin Dekarboksilaz
<b>RF</b>	: Radyofrekans
<b>ROO</b>	: Lipit Peroksil Radikali
<b>ROT</b>	: Reaktif Oksijen Türevleri
<b>SAR</b>	: Özgül Soğurma Oranı
<b>SD</b>	: Standart Deviasyon
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>SOR</b>	: Serbest Oksijen Radikali
<b>SPSS</b>	: Statistical Package for Social Sciences
<b>t</b>	: Zaman
<b>t<sub>1/2</sub></b>	: Yarılanma Ömrü
<b>TAS</b>	: Total Antioksidan Seviye (Total Antioxidant Status)
<b>TBA</b>	: Tiyobarbitürik Asit
<b>TBARS</b>	:Tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri
<b>TCA</b>	: Trikloroasetik Asit
<b>TNF</b>	: Tümör Nekroz Faktör
<b>TNFR</b>	: Tümör Nekroz Faktör Reseptörü
<b>TRAIL</b>	: TNFR-1 ilişkili Ölüm Bölgesi
<b>TOS</b>	: Total Oksidan Seviye (Total Oxidant Status)
<b>U</b>	: Ünite
<b>WLAN</b>	: Wireless Local Area Networks
<b><math>\alpha</math></b>	: Alfa
<b><math>\beta</math></b>	: Beta
<b><math>\gamma</math></b>	: Gamma
<b>%</b>	: Yüzde oranı

**TABLULAR DİZİNİ**

<b>Tablo 1.</b> Tüm ratların doğum ağırlığı ve çalışma sonu vücut ağırlıkları.....	38
<b>Tablo 2.</b> Grupların biyokimyasal parametrelerinin sonuçları. ....	39
<b>Tablo 3.</b> Çalışma gruplarının böbreklerinin histopatolojik değerlendirme sonucu...	42
<b>Tablo 4.</b> İmmunhistokimyasal boyanmanın İmageJ bilgisayar programı ile inceleme sonuçları .....	47



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Hücre içinde serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve oluşum yerleri.....	13
<b>Şekil 2.</b> Apoptotik hücre ölümü mekanizmaları .....	20
<b>Şekil 3.</b> Hücre içinde apoptoz gelişme mekanizmaları .....	21
<b>Şekil 4.</b> Radyofrekans enerji kaynağı .....	25
<b>Şekil 5.</b> Deney için kullanılan çeşitli boyutlarda flexiglass kafesler .....	26
<b>Şekil 6.</b> Radyofrekans oluşturan cihazla birlikte deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüsü.....	26
<b>Şekil 7.</b> Elektromanyetik alan maruziyet sisteminin şematik görünümü.....	28
<b>Şekil 8.</b> ImageJ görüntü analiz programında Bax ile boyanmış böbrek dokusunda kortikal bölgeden bir alanın seçilmesi.....	36
<b>Şekil 9.</b> Seçilen alanın Kırmızı-Yeşil-Mavi renk skalasının analiz edilme yöntemi .	36
<b>Şekil 10.</b> Elde edilen değerlerin istatistiksel ortalaması .....	36
<b>Şekil 11.</b> Kontrol grubunun böbrek histolojisi; Normal .....	43
<b>Şekil 12.</b> Prenatal maruziyet grubu tübüler silendir ve tübüler dejenerasyon görünümü .....	43
<b>Şekil 13.</b> Postnatal maruziyet grubu; Normal .....	44
<b>Şekil 14.</b> (Kontrol grubu) Bcl-2 immunhistokimyasal boyanma; Zayıf pozitif.....	44
<b>Şekil 15.</b> (Prenatal maruziyet grubu) Bcl-2 immunhistokimyasal boyanma; Kuvvetli pozitif .....	45
<b>Şekil 16.</b> (Postnatal maruziyet grubu) Bcl-2 immunhistokimyasal boyanma; Kuvvetli pozitif .....	45
<b>Şekil 17.</b> (Kontrol grubu) Bax immunhistokimyasal boyanma;Kuvvetli pozitif.....	46
<b>Şekil 18.</b> (Prenatal grup) Bax immunhistokimyasal boyanma; Kuvvetli pozitif.....	46

## GRAFİKLER DİZİNİ

<b>Grafik 1.</b> Grupların renal malondialdehid değerlerinin karşılaştırması .....	39
<b>Grafik 2.</b> Grupların renal superoksid dismutaz değerlerinin karşılaştırılması .....	40
<b>Grafik 3.</b> Grupların renal glutatyon peroksidaz değerlerinin karşılaştırılması .....	40
<b>Grafik 4.</b> Grupların renal total antioksidan değerlerinin karşılaştırılması .....	41
<b>Grafik 5.</b> Grupların renal total oksidan değerlerinin karşılaştırması .....	41
<b>Grafik 6.</b> Grupların idrar N-asetil- $\beta$ -D-glukozaminidaz /kreatinin değerlerinin karşılaştırılması .....	42

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kablosuz ağ teknolojileri, kullanıcılara uzak mesafeler arasında kablosuz bağlantılar kurmalarına izin veren küresel ses ve veri ağlarından, kısa mesafelerde kablosuz bağlantı için en iyi hale getirilmiş kızılötesi ışınlar ve radyo frekans teknolojilerine kadar uzanmaktadır. Şu anda dünyada 100.000'in üzerinde kablosuz işlem ağı görevi olan sıcak nokta alanı mevcuttur. Bu endüstriyel-bilimsel-medikal band 2.4-2.5 gigahertz (GHz) aralığındadır. Farklı şiddette ve çeşitlilikte maruz kalınabilen elektromanyetik alanın (EMA'nın) biyolojik sistemler üzerindeki potansiyel zararlı etkileri ise bugün için tam olarak açıklığa kavuşturulmuş değildir.

Cep telefonlarının, kablosuz ağların kullanıldığı iletişim cihazlarının popüler olarak kullanılmaya başlanması, bu cihazların sağlık ve yaşam kalitesi üzerine etkileri ile ilgili endişeleri de beraberinde getirmiştir. Cep telefonlarının kullanımının artmasına paralel olarak, bir erişim noktası (baz istasyonu) ile bir ya da birkaç kullanıcının daha kısa bir mesafede iletişimini sağlayan kablosuz yerel saha ağ sistemleri [Wireless Local Area Networks (WLAN)] alanında da önemli gelişmeler olmuştur. WLAN ve ilişkili sistemler, günümüzde tüm yaşam alanlarına girmiştir (1). Dolayısıyla WLAN frekansında EMA'ya maruziyet, genellikle uzun süreli, hatta bazen sürekli olabilmektedir. Ancak cep telefonları ile ilgili giderek artan kamuoyu duyarlılığına rağmen, WLAN gibi diğer kablosuz teknolojilerin yaratabileceği tehlikeler konusundaki araştırmalar henüz çok sayıda değildir. Özellikle çocuklar söz konusu olduğunda; EMA'nın uzun dönem etkileri ile ilgili bilgiler son derece sınırlı olup, kullanım güvenliğine ilişkin yeterli veri olmadığı Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından da bildirilmiştir (2). Ayrıca DSÖ EMA'yı olası karsinojen olarak kabul etmektedir (2). Değişik çalışmaların ışığında farklı yoğunluktaki elektromanyetik alan maruziyetinin biyolojik sistemlere hasar verici etkileri olabileceği saptanmıştır (3-11).

Çocukların kablosuz iletişim cihazlarını kullanmaya genellikle erişkinlerden daha istekli olmaları ve EMA'ya daha duyarlı olma potansiyelleri bu yaş grubuna olası zararlı etkilerin araştırılmasını önemli kılmaktadır.

Yenidoğan ve erken çocukluk döneminde değişik organlarda maturasyon ve değişim süreci devam etmektedir. Literatürde prenatal ve erken çocukluk döneminde,

kablosuz internet frekansında EMA maruziyetinin böbrek üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

İnsan hayatındaki birçok biyolojik olayın intrauterin dönemde programlandığı bilinmektedir. Bu dönemdeki zararlı çevresel etkilerin, gelişmekte olan fetüse olumsuz etkileri olabilir. Fakat EMA'nın teratojen veya toksik olduğu konusunda kesinleşmiş bir bulgu bulunmamaktadır (12). Günlük yaşamımızda topluma açık yerlerde sıkça kullanılan, okullarda ve hastanelerde 24 saat açık kalabilen, hamileler ve küçük çocukların da maruz kaldığı kablosuz internet gibi EMA yaratan teknolojilerin olası zararlı etkilerinin açıklığa kavuşturulması önemlidir. Bu çalışmada amaç, deneysel bir hayvan modeli oluşturularak, böbrek maturasyonunun devam ettiği intrauterin ve postnatal dönemde, kablosuz internet frekansına karşılık gelen 2,45 GHz EMA'ya uzun süreli maruziyetin renal etkilerini, oksidatif tubüler hasar ve apoptozu tetiklemesi açısından incelemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Elektromanyetik Alan Nedir?

Radyasyon, farklı tipleri olan ve maddelerin içine nüfuz edebilen ışınlardır. Madde içine nüfuz edip atomları iyonlaştırabilmesi veya iyonlaştıramaması özelliklerine göre iki sınıfta incelenirler. Birincisi, iyonlaştırmayan radyasyon veya bir diğer deyişle elektromanyetik (EM) radyasyon, ikincisi ise, nötron, proton, alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) tanecikleri, kapa ( $\chi$ ) ve gamma ( $\gamma$ ) ışınları gibi iyonlaştırıcı radyasyonlardır (13). Burada sadece elektromanyetik radyasyondan bahsedilecektir.

Elektromanyetik radyasyon, enerjinin boşlukta elektrik ve manyetik alanlar biçiminde yayılmasıdır. Bu grup içinde başlıca dalgalar olarak radyo dalgaları, ısı, ışık, kızıl ve mor ötesi ışınlar sayılabilir. Elektromanyetik radyasyon, boşlukta dalgalar biçiminde yayılır. Bilinen pek çok dalgalı yayılım için (ses dalgalarının hava, su ya da vücut dokuları içindeki yayılımları) mutlak bir ortama gerek vardır. Oysa EM dalgalar, boşlukta da yayılabilme özelliğine sahiptirler ve bir ortama gereksinim duymazlar. Her çeşit dalganın kendisini tanımlayan bir dalga boyu ( $\lambda$ ) 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 (13).

Kısa dalga boylu EM dalgalar madde ile karşılaştıklarında, dalga olmaktan çok partikülmüş gibi tepki gösterirler. Gerçekte bu dalgalar enerji demetleri olup; "kuantum" veya "foton" adını alırlar. Her bir fotonun taşıdığı enerji, frekansına bağlıdır. Elektromanyetik spektrumu oluşturan tüm radyasyonlar ( $\chi$  ve  $\gamma$  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 EM dalgalar, EM spektrumu oluşturur. Elektromanyetik spektrumda bölgeler, aşağıdaki gibi sınıflandırılır(14);

1. 3 Hz-3 KHz arası: Çok çok düşük frekans bölgesi

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

### **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 EM kuvvetler aletleri bozabildiği gibi biyolojik sistemi de etkileyebilir. Elektromanyetik dalgaların etkileri tek bir mekanizma ile açıklanamamıştır.

Radyofrekans dalgalarının termal ve nontermal olmak üzere iki tip etkisi vardır. Elektromanyetik dalga maruz kalan cisimde, gelen dalganın alan şiddeti yeterince küçükse ısı oluşmaz. Cismin EM dalga ile etkileşmesi artan moleküler hareket ve sürtünmeden dolayı sistemdeki ısı artışı ile termal etkileri meydana getirir (15).

Radyofrekans enerjisi bir vücut yüzeyine çarptığında enerjisinin bir kısmı yansır, bir kısmı vücut içine girerek absorbe olur. 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, (özgül 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.

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

İnsan vücudu absorpsiyon karakteristiği dikkate alındığında, radyofrekans (RF) bandı üç alt bölgeye ayrılabilir (16). İnsan gövdesi için 30 MHz'den daha küçük alt rezonans bölgesinde yüzey absorpsiyon belirgindir, boyun ve bacaklarda enerji absorpsiyonu hızla artar. Tüm vücut için 30-300 MHz rezonans bölgesinde ve hatta vücudun bir kısmının rezonansı için daha yüksek frekanslarda, özellikle kafa için, çok dikkatli olunmalıdır. 400 MHz'den 3 GHz'e kadar olan aralıkta ısı etkisi daha belirgindir (16). 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**

Uzun süre çok düşük frekanslı manyetik alanların enerjilerinin düşük olması nedeniyle biyolojik sistemler üzerinde etkilerinin olmadığı düşünülmüşse de yüksek gerilim hatları yakınlarındaki yerleşim bölgelerinde çocukluk çağı lösemi sıklığında artış gözlenmesi bu alanların biyolojik sistemler üzerinde etkilerinin araştırılmasına yol açmıştır (13-16).

İyonlaşmaya neden olmayan radyasyonun biyolojik sistemler ve insan sağlığı üzerine olan etkileri çok sayıda çalışma ile gösterilmiş ve bu etkilerin manyetik alanların oluşturduğu ısı artışından bağımsız olduğu saptanmıştır (13-16).

Elde edilen bulguları açıklayabilecek mekanizmalar henüz ortaya konulamamış olsa da manyetik alan etkilerinin lineer olmayan bir şekilde olduğu kabul edilmektedir (13-16). "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 (13-16).

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 (13-16).

Doku ve hücre sistemleri ile yapılan çalışmalarda düşük şiddette EM alanlara maruz kalmanın, biyomoleküllerin (DNA, RNA ve protein) sentezi, hücre bölünmesi, kanser oluşumu, hücre yüzeyine ait özellikler, membrandan kalsiyum giriş-çıkışı ve bağlanması üzerine etkili olduğu gözlenmiştir. Biyokimyasal ve fizyolojik olarak yine hücre ve dokularda, hücresel solunumun azaldığı, hormonların etkilendiği, doku ve hücrelerin hormonal cevabının değiştiği, karbonhidrat, nükleik asit ve protein metabolizmasının değiştiği, yapısal değişiklikler gözlemlendiği, farklı antijenlere karşı immün cevabın etkilendiği gözlenmiştir (13-16).

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, blastogeneziste artış, hematokrit düzeyinde artış, periferik lökosit, eritrosit seviyelerinde azalma ve lenfositöz saptanmıştır (1-16). Santral 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 (17). Kardiyolojik sisteme etkileri ise taşikardi, QT kısalması, T dalgası yüksekliğinde artıştır (18). Tiroid hormonlarında artış, TSH seviyesinde azalma, kortikosteroid hormonlarda ve luteinizan hormonlarda artış saptanırken adrenal bez ağırlığında artış saptanmıştır (19, 20). Vücut ağırlığında azalma, gestasyon yaşına göre düşük doğum ağırlıklı çocuk sahibi olma riski, doğum



sonrası ölüm hızında da artış saptanmıştır. Üreme organlarına etkilerinde ise özellikle 9.4 GHz boyutunda sperm hücrelerinde translokasyon, mutasyon sıklığında artış, testis DNA'sında termal 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 artışı da bildirilmektedir (21).

#### **2.1.4. İyonlaştırmayan Radyasyonun Renal Etkileri**

Elektromanyetik radyasyon böbrek dokusunda oksidatif strese sebep olur. Deneysel bir çalışmada 120 dakika boyunca 60 Hz EMA'ya maruz kalan wistar albino fare böbreğinde glutatyon (GSH) miktarının ve plazma superoksid dismutaz (SOD) aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (22). Değişik şiddetlerde uygulanan iyonize radyasyon kobay böbrek dokusu malondialdehid (MDA) ve GSH düzeylerinde artışlara, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinde ise azalmaya sebep olur. Dokuzyüz MHz EMA'ya maruz bırakılan fare böbreklerinde belirgin oksidatif stresin olduğu bulunmuştur (23). Elektromanyetik alan, böbrek tübüllerinin epitel hücrelerinde incelmeye ve özellikle de hücre nekrozuna neden olarak böbrek tübül hücre sayısında azalmaya sebep olurlar (24, 25).

Elli MHz elektromanyetik alana maruziyet sonrası yetişkin farelerin distal tübüllerin ve toplayıcı kanalların epitel hücrelerinin mitokondrilerindeki DNA sentezinin belirgin arttığı saptanmıştır. Bu da bu hücrelerde metabolik aktivitenin belirgin arttığını göstermektedir (26).

Radyasyon nefriti, böbreğin iyonize radyasyona maruz kalmasını takiben oluşan nekroz, atrofi ve skleroz ile karakterizedir (27). Kobaylara uygulanan farklı şiddetlerdeki EMA, plazma, akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında tiyobarbütirik asit (TBARS) ve SOD aktivitelerinde istatistiksel açıdan önemli artışa neden olmaktadır (28).

Apoptozun artabileceğini gösteren bir çalışmada, prenatal dönemden 280. güne kadar elektromanyetik alana maruz bırakılan farelerin böbrek kütlelerinin belirgin az olduğu saptanmıştır (29). Tavşan böbreklerinin elektromanyetik alana

maruziyet sonrası fokal ve segmental sklerotik değişiklikler ve membranöz nefropatinin görüldüğü belirtilmiştir (30). Maymunlarda EMA'ya maruziyetin hücre çoğalması apoptoz ve nekroz arasındaki dengeyi bozduğu gözlenmiştir. Elektromanyetik alanın apoptozu artırabileceğine dair veriler olduğu gibi azalttığı yönündede bulgular mevcuttur. Deneysel fare çalışmalarında statik manyetik alan (0.5 mT) uygulaması sonrası, proliferere olabilen böbrek hücrelerinde apoptoz miktarında azalma saptanmış ve bu bulgu nedeniyle böbrek tümörlerinde artış olabileceği düşünölmüştür (31). Çalışmada böbrek hücre kültürlerinde apoptoz oranının belirgin azaldığı saptanmıştır. Yüksek riskli alanlarda çalışan insanlarda, toplumun geri kalanı ile karşılaştırıldığında daha fazla böbrek ve pelvik tümörler görüldüğü saptanmıştır (32).

### **2.1.5. 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 (33). Radyofrekans manyetik alanların sodyum (Na) ve potasyum (K) gibi katyonların hücre membranından transportu üzerine olan etkileri ölçölebilen ısı değişiklikleri olmadan membran değişikliklerinin meydana gelebileceğini göstermiştir (34). Bazı çalışmalar ise RF manyetik alanların katyon permeabilitesi üzerine etkilerinin belirli ısı değerleri üzerinde olduğunu; bunun da bir "pencere etkisi" varlığını desteklediğini göstermişlerdir (35). 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 (36). Serbest radikallerin, 2,45 GHz manyetik alana maruz bırakılan membranda lipid veziküllerin yoğunlaşmasını tetiklediği gösterilmiştir (37).

### 2.1.6. İyonlaştırmayan Radyasyonun Sinyal İletimi Üzerine Etkileri

Protein kinazlar, hormonların, büyüme faktörlerinin fonksiyon göstermesinde ve sinyal iletiminde yer alan esas enzimlerdir. Çok düşük frekanslı (ELF) manyetik alan maruziyeti ile siklik-AMP-bağımsız protein kinaz aktivitesinde azalma saptanmıştır (38). 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 (39).

### 2.2. Oksidatif Hasar ve Antioksidanlar

Biyolojik yapılarda, antioksidan savunma ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizliğe oksidatif stres denir (40). Canlılar oksidatif hasara karşı enzimatik veya nonenzimatik olarak antioksidan sistem ve moleküllerle korunur. Hücre seviyesinde etkili olan enzimatik antioksidan sistemler içerisinde SOD ve GSH-Px yer alır (41).

Serbest radikaller, dış orbitalinde her zaman tek sayıda elektron bulundurur. Organik veya inorganik moleküller halinde bulunabilirler. Elektronun çiftleşmediği durumlarda molekül daha reaktiftir ve kararsızdır. Serbest radikaller, çeşitli klinik durumların patogeneğinde rol oynarlar. Hücre membranlarındaki doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlayan lipid peroksidasyonu oksidatif stresin en tipik göstergesidir (42). Serbest radikaller fizyolojik veya patolojik şartlarda çeşitli olayların tetiklemesi ile sürekli olarak oluşmaktadır. Bunların en etkili olanları; tekli oksijen, hidroperoksitler ve süperoksit anyonlardır. Serbest radikallere karşı doğal antioksidan savunma sistemleri arasında SOD, katalaz (CAT), GSH-Px ve melatonin vardır. Bunların yanı sıra E vitamini, C vitamini, beta karoten, flavanoidler, koenzim Q ve A vitamini de antioksidan faktörlerdir. Oksidatif strese, organizmanın antioksidan savunma sistemini oluşturan enzimlerin adaptasyon gösterdikleri bilinmektedir. Ayrıca oksidatif stres karşısında enzim inaktivasyonunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (43, 44).

### 2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Kimyasal bileşikler iki veya daha çok elementin kimyasal bağ yapmasıyla meydana gelir. Kimyasal bağlar tek moleküler yörüngeyi paylaşan ve birbirine zıt yönde dönen bir çift elektrondan oluşan kararlı yapılardır. Bu bağ negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır. Elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlar. Dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük, çok etkin element veya bileşiklere “serbest radikaller” adı verilir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden türeyen serbest oksijen radikalleridir. Oksijen atomu toplam sekiz elektron içerir. Bu elektronlar öyle dağılmışlardır ki bunlardan dış yörüngede bulunan iki tanesi eşleşmemiştir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar (45, 46).

Serbest radikaller çok reaktiftir. Bir serbest radikal çiftlenmemiş elektronunu radikal olmayan bir moleküle verebilir veya tek elektronunu çiftlemek üzere, diğer molekülden bir elektron alabilir. Böylece bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür. Bu olay, bir zincir reaksiyon olarak, radikalın başka bir radikalle birleşmesine veya antioksidanlar tarafından kırılana kadar devam eder (47). Serbest oksijen radikallerine örnekler süperoksit, hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleridir.

Ek olarak, serbest radikal olmayan, fakat serbest elektronları bulunmadığı halde reaksiyonlarda bu şekilde davranabilen maddeler de bulunmaktadır. Kimyasal reaksiyonlar sırasında serbest radikalleri serbestleştirir (hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ya da hipoklorik asiti) veya doğrudan sitotoksik etki (hipoklorik asit ya da kloramin R-NHCl) gösterir. Bunlara reaktif oksijen türevleri (ROT) denilir. Bu gruba örnek olarak hidrojen peroksit, lipid hidroperoksit, hipoklorik asiti verebiliriz.

Oksijen merkezli serbest radikaller veya serbest radikallerin indirgenme ürünleri olan ROT, hücrelerde dopamin ve adrenalın oksidasyonu, pürin katabolizması, aerobik metabolizma gibi normal kimyasal reaksiyonlar sırasında üretilen oldukça toksik bileşiklerdir. Ayrıca radyasyon, sigara gibi çevresel faktörler ve hiperglisemi gibi normal metabolizmada gözlenen bazı değişiklikler de bu maddelerin sentezinde artışa neden olmaktadır. Süperoksit radikali, oksijenin kendisine bir elektron transferiyle, redüksiyonu sonucu oluşur. Süperoksit radikali

doğada genellikle indirgen halde bulunur ve belirgin özelliği  $H_2O_2$  kaynağı olmasıdır. Süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalitik olarak  $H_2O_2$ 'e indirgenir. Hidrojen peroksit düşük toksisiteye sahip, reaktif olmayan oksidan bir üründür, fakat kolayca hücrel membranlara penetre olabilir. Özellikle geçiş metal iyonlarının (demir, bakır) varlığında  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  ferrik demiri ferröz hale getirerek, serbest oksijen radikallerinden en reaktif ve hasar verici özelliğe sahip olan  $OH^-$  radikalini oluşturmak için kolayca parçalanabilir. Bu reaksiyon “Fenton Reaksiyonu” olarak bilinir (48).

Glutatyonun (GSH'nin) indirgenmiş hali, antioksidan fonksiyonları etkileyen önemli biyolojik moleküllerden birisidir. Glutatyonla birlikte glutatyon bağımlı sistem “GSH-Px, glutatyon-S-transferaz (GST)”, CAT ve SOD, toksik serbest radikalleri etkin bir şekilde toplarlar (49).

Organizmada serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile endojen ve ekzojen kaynaklardan oluşabilmektedir. Serbest oksijen radikallerin endojen kaynakları, mitokondri, hücre zarı, sitokrom P-450, aktive lökositler, mikrozomal elektron taşıma zinciri ve oksidan enzimlerdir. Ekzojen kaynaklar ise radyasyon, ilaçlar, sigara, alkol, uyuşturucu ve metal iyonlarıdır (40).

### **2.2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek**

Birçok böbrek hastalığının patogeneğinde serbest oksijen radikallerinin önemli yeri olduğu bilinmektedir. Glomerüler hastalıklardan minimal değişim hastalığı, membranöz glomerülopati, antiglomerüler bazal membran nefriti yanı sıra, (postiskemik, toksik, akut) böbrek yetmezlikleri, obstrüktif nefropatiler, piyelonefrit, kronik böbrek hastalıkları oksidatif stresin etkilerinin aktif görüldüğü hastalıklardır. Hücre düzeyinde artan oksidatif stres, böbrek hücrelerinin apoptozunu tetikler. Bu hücrelerin rejenerasyon yeteneğini kaybetmesine ve sonuçta fibrozisin gelişmesine neden olur.

Oksidatif stres reaktif oksijen radikalleri ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşmaktadır. Reaktif oksijen radikalleri ile nitrojen

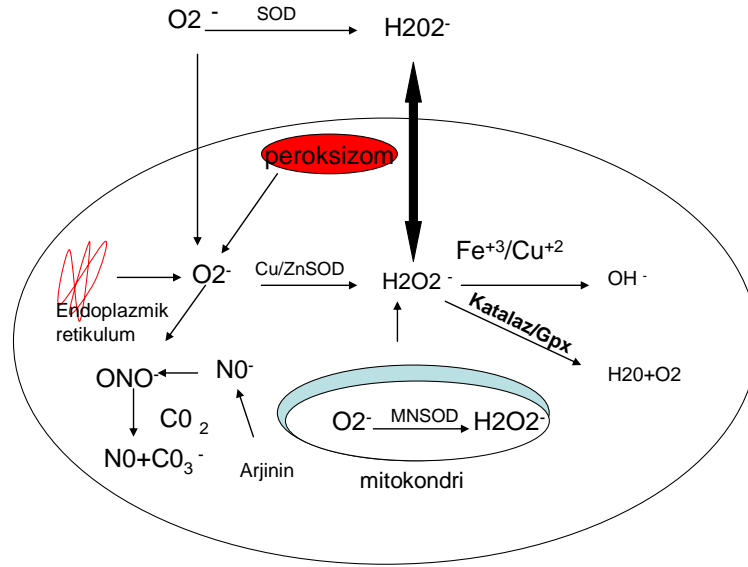
radikalleri çoğu zaman beraber reaksiyonlarda görev alırlar. Reaktif oksijen radikalleri en önemli serbest radikallerdir.

Mitokondride bulunan tahmini serbest oksijen radikal miktarı sitozolde ve nükleer kompartmanlarda bulunanın 5-10 katıdır. Serbest oksijen radikallerin bulunduğu diğer yerler endoplazmik retikulum, peroksizomlar ve lizozomlardır. Solunumla inhale edilen oksijenin %1-3'ü  $O_2^-$ 'ye dönüştürülür ve bu ürün serbest oksijen radikallerinin en önemli formunu oluşturur ve  $H_2O_2^-$ 'nin önemli bir öncülüdür. Hücredeki  $H_2O_2^-$  oldukça kararlı olsa da, değişik substratlar ile reaksiyona girerek hücreye zarar verme riski mevcuttur. Özellikle ortamda  $Fe^{+2}$  varsa bu hasar daha fazladır. Çünkü  $Fe^{+2}$  varlığında  $H_2O_2^-$  parçalanır, en reaktif hasar verici form olan hidroksil radikaline dönüştürülür.

Sağlıklı hücrelerde, oluşan zararlı  $H_2O_2^-$  mitokondri veya sitozolik katalaz veya tiyol peroksidazlar aracılığı ile  $H_2O$  ve  $O_2$ 'ye çevirilir.

Serbest oksijen radikalleri mitokondri içinde oksidatif metabolizmada önemli görevi olan moleküllerdir. Serbest oksijen radikalleri hücreye hasar verici özelliği olan moleküllerdir. İlerleyici hastalık ve yaşlanma ile oluşum miktarları antioksidan moleküllerden daha fazladır (50).

Böbrek enerjinin aktif olarak kullanıldığı bir organdır, bu nedenle oksidatif fosforilasyon sonucu oluşan adenozin trifosfata (ATP'ye) her zaman ihtiyaç duyar. Elektron taşıma zincirinde moleküler oksijenin indirgenmesi böbrek hücrelerinin fonksiyon göstermesi açısından çok önemlidir. Elektron taşıma zincirinde 5 multi-enzim kompleksi mitokondri membran potansiyeli ve ATP oluşumunu sağlar.  $O_2^-$  üretiminde görevli olan enzim kompleksleri kompleks I ve III'tür (51). Kompleks I'e aynı zamanda nikotinamid adenin dinükleotid dehidrogenaz veya NADH-koenzim Q redüktaz denilir ve NADH ile CoQ10 arasında elektron transferini sağlar. Oksidatif fosforilasyonda defektler elektron taşıma zincirinde aksamalara neden olur ve buda oksidanları artırıp ATP'yi azaltır. Aynı zamanda mitokondri membran potansiyelinde bozulmasına neden olur. İlerleyen yaş ile birlikte böbrek hücrelerinin mitokondrilerinde oksidatif hasara uğramış protein miktarının arttığı gösterilmiştir (52). Evre 2-3 kronik böbrek yetmezliği ve hemodiyaliz hastalarında bozulmuş mitokondri zincir döngüsü tespit edilmiştir (53).



**Şekil 1.** Hücre içinde serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve oluşum yerleri

Normal şartlarda SOR oluşumu ile antioksidan oluşumu arasında her zaman bir denge vardır. Bu iki molekül grubunun hücresel yerleşimi de benzerdir. Glutasyon sentezi ATP'ye bağımlıdır, fakat idamede indirgeyici gücü için NADPH ve pentoz fosfat varlığına ihtiyaç duyar (54). İn-vivo çalışmalar artmış oksidatif hasar için endojen antioksidanların azalmasının artmış serbest oksijen radikali üretimine göre daha hasar verici olduğu gösterilmiştir (55).

Böbrekte, intraselüler alanda glisin, glutamat ve sistein gibi aminoasit türevlerinden glutasyon sentezi, hücresel glutasyonun temel kaynağıdır. Bunun yanında nefronda tübül epitel hücrelerin bazolateral membranından ekstraselüler glutasyon alımı bir diğer kaynaktır (56). Nefronun değişik segmentlerinde bu özellik farklılık gösterebilir. Örneğin proksimal tübül epitel hücrelerinin glutasyon sentez etme özelliği bulunmamaktadır. Fakat diğer bölgelerde glutasyon sentezi yapılabilmektedir (57).

Kronik böbrek hasarlanması esnasında hücresel oksidatif hasar artar, hücrelerin rejenerasyon yeteneği bozulur ve böbrek hücresinde apoptoz ve daha sonra fibrozis gelişir. Transkripsiyon özel transkripsiyon faktörleri ile belirlenir. Fosforilasyon, metilasyon, asetilasyon, gibi posttranslasyonel değişiklikler meydana gelir.

Oksidatif strese maruz kalmış böbrekte, SOR tarafından NF-κB aktive olur, sinyal yollarını aktive ederek renal fibrozise neden olur (58, 59). Oksidatif stres

mitokondriye girmeden önce serin fosforilasyonunu indükler. Oksidatif stresin etkisi ile kalsiyum aracılı mitokondri hasarı ve apoptoz gelişir (60).

Serbest oksijen radikalleri hücre hasarını lipid peroksidasyonu ile sağlamaktadır. Böylece tübüler epitel hücreleri arasındaki bütünlük bozulmaktadır. Ayrıca glomerüler hemodinamide bozulma olmakta ve glomerüler membran geçirgenliği artarak proteinüriye neden olmaktadır (61). Nefrotik sendromlu çocuklarda artmış oksidatif stres varlığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (62, 63). Sağlıklı çocuklar ile karşılaştırıldığında nefrotik sendromu olan çocuklarda önemli antioksidanlar olan eritrosit GSH ve plazma vitamin E seviyelerinin önemli derecede düştüğü saptanmıştır (64). Son ürün olan MDA seviyesinin de nefrotik sendromlu olgularda arttığı bildirilmiştir (65).

Deneysel antiglomerüler bazal membran ve mezangioproliferatif glomerülonefrit örnekleri oluşturulan çalışmalarda, nötrofiller tarafından serbest oksijen radikallerinin oluştuğu, lökositlerde ve makrofajlarda süperoksit dismutaz ve  $H_2O_2^-$  üretiminin arttığı gösterilmiştir (66, 67). Oksidatif ürünlerin glomerüler bazal membran hasarının artmasına neden olduğu ve proteinüriye sebep olduğu bildirilmiştir (68). Nötrofil aktivatörü olan forbol miristat asetat infüzyonunun proteinüriye ve glomerüler filtrasyon hızında azalmaya sebep olduğu ve bu etkinin katalaz ile antagonize edilebileceği belirtilmiştir (69). Miyeloperoksidaz- $H_2O_2^-$  infüzyonunun proteinüriyi tetiklediği belirlenmiştir (70). Bir antioksidan olan alfa lipolik asitin mezanjiyoproliferatif glomerülonefrit örneklerinde koruyucu olduğu saptanmıştır (71).

Minimal change hastalığında kültürde üretilmiş glomerüler epitel hücrelerinde  $H_2O_2^-$  üretiminin arttığı gösterilmiştir (72). Oksidan ürünlerin uzaklaştırılmasının ise mevcut proteinüri miktarını azalttığı saptanmıştır (73). İskemi reperfüzyon hasarı oluşturulmuş örneklerde antioksidan uygulanmasının proteinüriyi azalttığı görülmüştür (74).

Diyabetik nefropatide yüksek glukoz düzeyinin mezanjiyal hücrelerden serbest oksijen radikal üretiminin artırılmasını tetiklediği ve NADPH oksidaz aktivasyonuna neden olduğu bilinmektedir (75). Yüksek serum glukoz düzeyi, artmış protein kinaz C üretimi, TGF- $\beta$ 1, fibronektin ve endotelin-1 salınımı ile ilişkilidir ve



antioksidanlar bu ürünlerin artmış sentezlenmesini inhibe eder (76, 77). Diyabetik nefropatide serbest oksijen radikalleri ayrıca podositlerde ve mezangiyal hücrelerde apoptozu indüklemektedir (78, 79). Tip 1 ve tip 2 diyabetli olguların idrarlarında oksidatif stresin bir belirteci olan 8-oxodeguanozin seviyesinin arttığı, ayrıca bu bileşenin atılımının yüksek olduğu bireylerde hastalık komplikasyonların daha sık görüldüğü saptanmıştır (80). Diyabetik hastaların böbreğindeki nodüler lezyonlar malondialdehid ile pozitif boyanmaktadır (81).

Kronik böbrek hasarının geliştiği olgularda serbest oksijen radikali üretimi artmaktadır (82). Antioksidanların kronik sürecin ilerlemesini yavaşlattığı gösterilmiştir. Albuminin SOR seviyesini arttırdığı ve IL-8 ve MCP-1 ekspresyonunun arttığı ve tübülointerstisyel inflamasyonda önemli olduğu görülmüştür (83). Kronik böbrek hasarı oluşturulan hayvan modellerinde böbrekte demir akümülyasyonunun arttığı, demirden fakir diyetin hastalığın ilerlemesini yavaşlattığı görülmüştür (84). IgA nefropatisinde oksidatif proteinlerin son ürününün üretimini artmasının kötü prognoz ile yakın ilişkili olduğu saptanmıştır (85).

Üremik toksinlerde ilerleyici böbrek hasarı olan olgularda oksidatif stres kaynağıdır. Ürik asit insanlarda pürin metabolizmasının son ürünüdür. Hiperürisemi son dönem böbrek hastalığı gelişimini ve ilerlemesini tetikler. Üremik toksinler polimorfonükleer lenfositleri uyararak IL-1 $\beta$  ve IL8'i aktive eder, inflamasyonu ve oksidatif stresi tetikler. CD8<sup>+</sup> hücreleride oksidatif hasarın gelişmesini uyarır (86). Ürik asit sentezide ksantin-oksido-redüktazı aktive eder. Bu enzim önce ksantin dehidrogenaz olarak sentezlenir, daha sonra kalsiyum bağımlı proteoliz ile ksantin oksidaza çevrilir. Deneysel ve klinik çalışmalar ürik asidin antioksidan rolünün olduğunu göstermiştir (87). Kronik böbrek hastalığında oksidatif stres artışı ve antioksidan savunmanın azalması çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (88, 89). Kronik böbrek hastalığı sürecinde hemodiyaliz uygulaması başlandıysa bu artışa katkı sağladığı düşünülmektedir (88). Diyalize henüz başlanmamış kronik böbrek hastalarında, eritrosit MDA düzeyi yüksek bulunmuştur (89). Plazma MDA düzeylerinin hemodiyaliz öncesi, sonrası ve periton diyalizi uygulanan hasta gruplarında, kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptanmıştır (90). Üremik hastalarda eritrositlerde glukoz metabolizma bozukluğu ve pentoz-fosfat şant aktivitesinde azalma sonucu hidrojen peroksit ile hidroksil radikallerinin sentezi

artar, ayrıca üremik toksinler tarafından antioksidan enzimler inhibe edilir (90). Artmış serbest radikaller ve azalmış antioksidan savunma sonucu eritrosit membranındaki lipid peroksidasyonu hızlanır, eritrosit yıkımı artar ve eritrosit yarı ömrü kısalmır (91).

Kronik böbrek yetmezliği olup hemodiyalize giren hastalar üremik toksinlerden temizlenirken hemodiyaliz işlemleri esnasında belirli ölçüde okside edici maddeler ve işlemlere maruz kalmaktadır. Bu maruziyet bilhassa eritrosit üzerinde büyük hasara neden olmaktadır. Savunma mekanizmalarında yer alan enzimlerin yetersizliği de bu zararı arttırmaktadır (88-91).

### **2.3. Apoptoz**

Apoptoz, moleküler düzeyde bir dizi işlemin gerektiği programlanmış hücre ölümüdür. Vücutta hücre sayısının belirlenmiş seviyede kalması için mitoz ve apoptoz arasında bir denge olması önemlidir (90). Sağlıklı bir bireyde günlük olarak 10 milyar hücre apoptoz yoluyla parçalanır ve yerlerini mitoz yoluyla oluşmuş yeni hücreler alır (91). Apoptoz ve mitoz iki fizyolojik olay olmasına rağmen, iki olay arasındaki dengenin bozulması bazı hastalıklara yol açabilir (92). Apoptoz fizyolojik olarak embriyonun gelişimi, doku modellenmesi, immün hücre seleksiyonu gibi bir dizi işlemde gerçekleşebileceği gibi, patolojik olarak viral hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, ateroskleroz, miyokard infarktüsü, kanser gibi hastalıkların seyri sırasında da gerçekleşebilir (93). Apoptoz embriyolojik dönemde değişik organların gelişimi esnasında örneğin içi boş organların oluşumunda, Wolf veya Müller kanallarının körelmesinde, nöron sayısının düzenlenmesinde yer alır. Ayrıca DNA'sı ağır hasar gören veya virüsler ile enfekte hücrelerin ölümü apoptoz yolu ile olur. Ayrıca büyüme faktörlerinin geri çekildiği koşullarda örneğin emzirme dönemi bitince süt kanallarının gerilemesi veya doğum sonrası uterusun küçülmesi gibi durumlarda apoptozu indükleyen proteinler aktifleştirilir (94, 95).

Apoptozun gerçekleşmesini belirleyen iki önemli etken vardır, bunlar iç etkenler ve dış etkenlerdir. İç etkenler genotip, hücre soyu, gelişim aşaması, hücre siklusundaki aşama, metabolik durum veya DNA hasarı olarak sayılabilir. Dış etkenler ise çeşitli sinyal molekülleri, diğer hücrelerle ve yapışma yüzeyi ile etkileşim, fiziksel ve kimyasal değişiklikler olarak sıralanabilir. Dış ortamdaki gelen

sinyaller hücre yüzeyinde bulunan çeşitli reseptörlerle hücre içine iletilir. İletilen bilgi hücre içinde karmaşık bir dizi etken tarafından düzenlenir. Hücrenin ölümü yönündeki yol apoptoz ile sonuçlanılır.

Hücrenin yaşamını bölünmeden sürdürmesi, çoğalması ya da ölmesi seçeneklerinden hangisinin gerçekleşeceğini belirleyen üç temel etmen, besin maddeleri, büyüme faktörleri ve hücre dışından gelen ve hücredeki reseptörler aracılığıyla hücreye iletilen ölüm sinyalleridir. Apoptoz hücrede bazen yeni proteinlerin sentezini, hücre iskeletinin yıkımı için bazı proteaz enzimlerin ve DNA'nın parçalanması için DNAaz'ların aktif hale geçmesini tetikleyen, aktif olarak düzenlenen bir süreçtir. Hücre zarının ya da hücredeki metabolik süreçlerin çok hızlı ve ağır biçimde hasar gördüğü ve hızla bozulan zar geçirgenliğinin hücrenin şişmesi ve zarın patlayarak hücre içi maddelerin dışarı saçılmasıyla sonuçlanan nekrotik süreçten farklı olarak apoptozda zar bütünlüğü bozulmaz (96).

Nekroz veya apoptoz ile ölüm arasındaki farklar kabaca şöyle sıralanabilir. Apoptoz fizyolojik veya patolojik olarak gerçekleşebilen programlı hücre ölümüdür, hücrenin bütünlüğü bozulmamıştır (96). Nekroz her zaman patolojik koşullarda gerçekleşir, hücre hasarı mutlaka vardır. Apoptozda hücreler büzülür ve küçülür, çekirdekte kromatin yoğunlaşması, tomurcuklanmayla apoptotik cisimlerin oluşması, komşu hücreler tarafından fagosite edilme görülürken, nekrozda hücreler büyür ve şişer, hücre geçirgenliğinin hızla artması ve sonuçta hücre içeriğinin dış ortama dağılması görülür (96). Apoptozda hücre sitoplazmasının yoğunluğu artar organeller olay sürecinin büyük kısmında normal görünümünü korur. Nekrozda organellerde de (özellikle endoplazmik retikulum ve golgide) hasar ve bozulma vardır. Apoptozu tetikleyen mekanizmalar TNF- $\alpha$ , büyüme faktör eksikliği, antikanserojen ilaçlar, oksidatif stres, DNA hasarı, mitokondri ve endoplazmik retikulumdan gelen uyarılardır. Nekrozda ise ani toksik etki sonucu zar geçirgenliği bozulur. Biyokimyasal değişimler açısından apoptozda hücre içinde proteolitik enzimler aktifleşir. Nekrozda hücrede çok hızlı bir enerji yetmezliği ya da toksik etki sonucu zar geçirgenliğinin hızla artmasıyla ozmotik dengenin bozulması, hücrenin patlaması söz konusudur. Sonuç olarak apoptoza uğrayan hücrenin inflamasyon oluşturmaksızın ortamdan temizlenmesi görülürken, nekrozda inflamasyon gelişir (96).

Apoptozda, bir grup reseptör (başlıca TNF- $\alpha$  ve Fas reseptörleri) görev alır. Bu reseptörler hücre zarı içine tutunmuş, hücre içi ve hücre dışına bakan tarafları olan, hücre içi tarafında prokaspaz 8'in aktiflenmesini sağlayan bir ölüm bölgesi (death domain) bulunan reseptörlerdir. Hücre zarında bulunan kendileri için özgün reseptörlere bağlanan ligandlar reseptörün trimerik bir yapıya dönüşmesine yol açarlar ve hücre içinde adaptör moleküller adı verilen bir dizi molekülle etkileşerek prokaspaz 8'i iki eşit olmayan parçaya böler. Başlatıcı kaspaz denen aktif kaspaz 8, inaktif durumdaki proenzimler olan kaspaz 3, kaspaz 6 ve kaspaz 7'nin bir zincir biçiminde aktiflenmesine yol açar. Aktiflenen tüm kaspazlar hücre makromoleküllerini parçalayarak tipik apoptoz morfolojisinin oluşumuna yol açarlar. Aktif kaspaz 8, Bcl-2 ailesi proteinlerinden biri olan Bid'in de proteolitik olarak aktifleşmesine yol açar. Bid, mitokondriden sitokrom C, bazı başka proteinlerin (SMAC) ve kalsiyumun serbestlemesine yol açar. Böylece ölüm reseptörleri yolu mitokondriyal yolu da aktiflemiş olur.

Bcl-2 ailesi mitokondri yolunun esas düzenleyici proteinleridir. Mitokondri yolu mitokondri, endoplazmik retikulum, nukleus membranına bağlı proteinlerden oluşur. Bcl-2 ailesi apoptozu ilerletenler (Bax, Bad, Bid, Bim, BclXs, Noxa, Puma) ve apoptozu engelleyenler (Bcl-2, BclXL, Mcl-1) olmak üzere ikiye ayrılır. Apoptozda Bcl-2 ailesinin işlevleri ise mitokondriden sitokrom C ve diğer moleküllerin çıkışı, apoptozu uyaran ve engelleyen proteinler arasında heterodimerizasyon oluşumu ve kaspazların doğrudan etkisi ile por oluşumu, mitokondri proteinleri ile etkileşim ve oligomerizasyon yani zayıf seçici iyon kanalları oluşturmaktır.

Hücreye sitotoksik T reseptörleri yoluyla ulaşan Fas ligandı, ya da TNF- $\alpha$ , hücre yüzeyinde bulunan kendine özgü reseptörlerine bağlanarak apoptozu uyurabilir. Fas reseptörünün ligandı aktiflenmiş T lenfositlerde ayrıca dalak, testis, karaciğer ve böbrek hücrelerinin yüzeyinde ifade edilir. Çeşitli virüslerle infekte hücrelerde ya da p53'ün aktiflenmesi sonucu Fas reseptörünün uyarılması ile o hücrenin sitotoksik T lenfositler tarafından öldürülmesi sağlanır. FAS ve TNF- $\alpha$  dışında TRAIL ve TRAIL reseptörleri de hücre içinde benzer yollarla ölümü uyurabilir. TRAIL reseptörlerinin FAS reseptöründen farklı olarak karaciğer,

nöronlar, miyositler, kolon, bronş epitel, Leydig hücreleri gibi dokularda yapısal biçimde ifade edildiği ve TRAIL'in de bu dokularda bulunduğu gösterilmiştir.

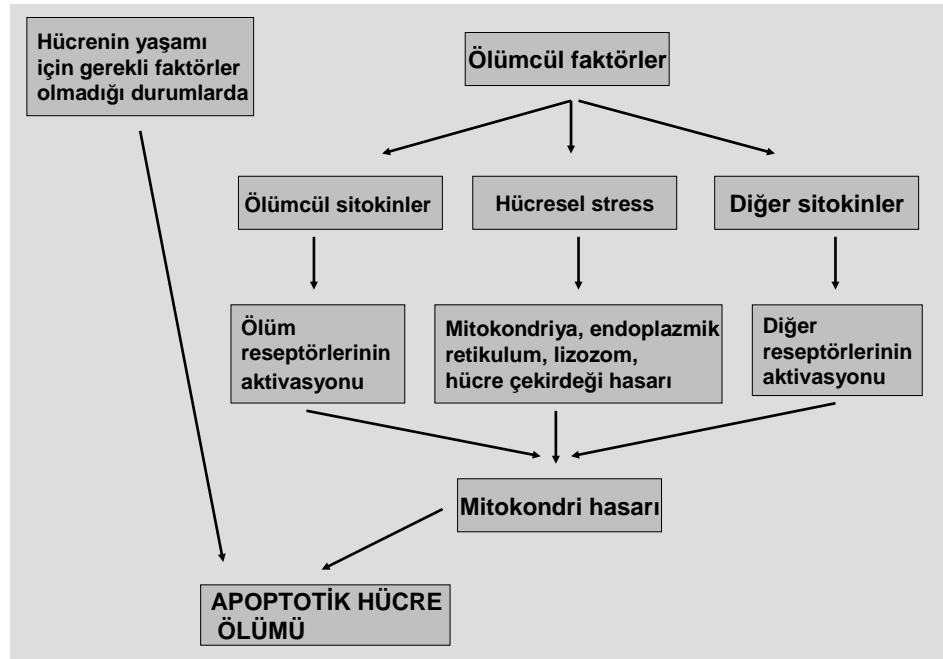
Sfingolipid yolu hücre dışından gelen sinyaller ile hücre içinde apoptozu tetikleyen yollardan biridir. Sfingomyelin, radyasyon ve kemoterapi, ölüm reseptörleri aracılığıyla aktiflenebilen bir enzim olan sfingomiyelinaz tarafından seramide dönüştürülür. Seramid, ayrıca serin palmitoil transferaz tarafından sentezlenebilir. Seramid ve seramidaz enzimiyle seramiden oluşturulan sfingozin, Bid yapımını değişik yollarla artırır, mitokondriyal yol üzerinden apoptozun gelişiminde görev alır (97).

Mitokondri, hücre içinde ATP üretiminin kaynağı olmasının yanı sıra, hücre içi ya da dışı yollardan gelen ölüm sinyallerinin üzerinde birleştiği bir organeldir. Mitokondrinin iç ve dış zarı özel bir zar potansiyeline sahiptir. Dış zar geçirgenliğinde artış sonucu mitokondri zarı potansiyelinin bozulması dış zarda hızlı bir şişmeye, parçalanmaya ve iki zar arasında bulunan çeşitli proteinlerin hücre sitoplazmasına çıkmasına yol açar (98). Temel olarak mitokondrideki solunum zincirinde yer alan enzimler ile DNAazlar gibi enzimler sitoplazmaya dağılır. Sitokrom C, sitoplazmada inaktif monomerler halinde bulunan Apaf-1 (apoptotik proteaz aktive eden faktör) molekülüne bağlanarak apoptozom adı verilen yapının oluşumunu sağlar. Kaspaz 9'u aktive etmek üzere kesilir, kaspaz 9, diğer kaspazları proteolitik bir zincir halinde aktive ederek apoptozun gerçekleşmesini sağlar (99).

Bcl-2 ailesinin apoptozu tetikleyen üyeleri normal koşullarda inaktif durumdadır, bu nedenle mitokondri zar geçirgenliği Bcl-2 ve benzerlerinin etkisi sayesinde değişmez. Ancak çeşitli uyarılar bu grubun aktifleşmesine yol açarlar, sonuçta Bcl-2, apoptozu tetikleyen üyeler tarafından baskılanır, Bcl-2 tarafından inaktif durumda tutulan ve yine aynı aileden olan Bak ve Bax proteinleri etkinleşerek mitokondri dış zarında geçirgenliği sağlayan porların oluşumuna ve zar potansiyelinin değişimine yol açar (100). Bu da uygulamacı kaspazların aktivasyonu ve apoptozla sonuçlanır. Kaspazlar inhibitör apoptoz proteinleri denen bir grup protein tarafından baskılanır. Endoplazmik retikulum, apoptotik süreci başlatabilen organellerden biridir. Protein katlanmasında temel bir işlev yapan endoplazmik

retikulumda bu katlama işlevi bozulduğunda, katlanmamış proteinlerin yol açtığı bir stres ortaya çıkar. Bu stresin aşırı olması ya da uzaması, proteaz ve kinazların doğrudan aktivasyonu ve hücre içi kalsiyumun artışıyla apoptozu aktive eden bir etki zinciri oluşturur. Endoplazmik retikulum ile mitokondri arasında yer değiştirerek hücre içinde çok düşük bir derişimde tutulan kalsiyumun da önemli bir apoptotik düzenleyici olduğunu gösteren bulgular vardır. Hücre içinde ER depolarında kalsiyum düzeyi düşükse seramid, oksidatif stres gibi apoptotik uyarılar ölüme yol açmamaktadır (101).

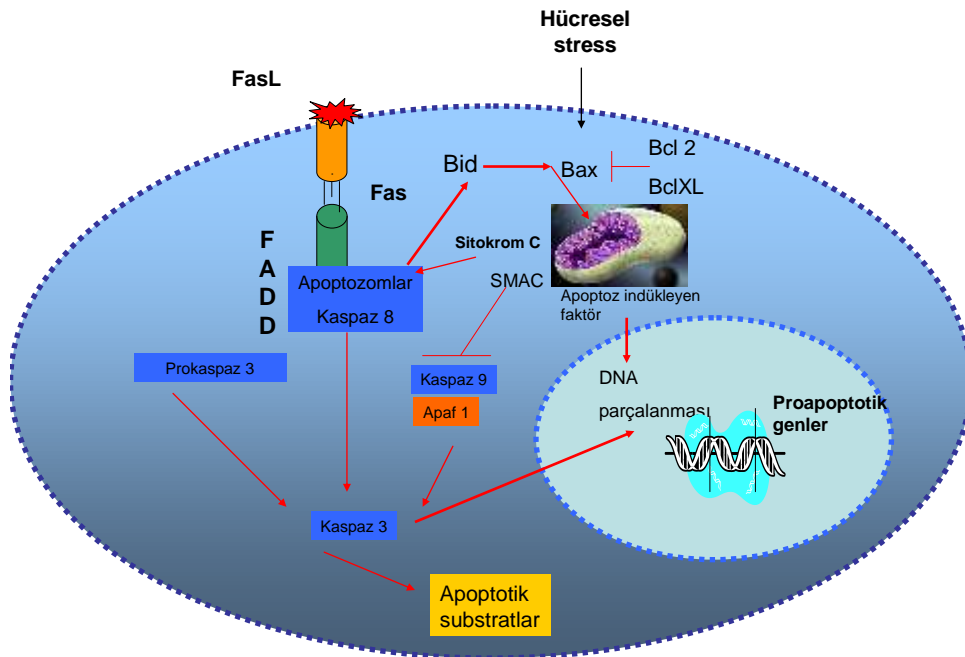
Bugüne dek üzerinde en çok çalışılan tümör süpresör proteinlerden biri p53'tür. P53 sitoplazmada bulunan ve DNA'nın ya da hücrenin ağır biçimde hasar görmesi durumunda, DNA'da belli genlerin (Bax, Apaf-1, Fas) aktivasyonuna, böylece yapımlarının artmasına; belli genlerin de (Bcl-2, Bcl-X) baskılanmasına yol açarak apoptozu tetikleyen bir transkripsiyon faktörüdür. DNA hasarı, hipoksi ya da onkogenlerin aktivasyonu, sürekli yapılan ama ubikitinleyici bir protein (mdm2) tarafından belli bir hızda yıkılan p53'ün fosforillenmesine, fosforillenme ubikitinlemenin bozulmasına yol açar.



Şekil 2. Apoptotik hücre ölümü mekanizmaları

Miktarı artan p53 çekirdeğe geçerek ilgili genlerin ifade edilmelerini değiştirerek hücreyi apoptoza ilerletir. Yukarıda belirtilen yollarla aktiflenen

kaspazlar hücre iskeletinin bileşenleri olan aktin, miyozin, spektrin gibi proteinleri keser ve morfolojik bulgular olan hücrenin küçülmesi ve yapıştığı ortandan ayrılması gözlenir. Aktin ve miyozinin etkileşimi, hücrenin zarla sarılı tomurcuklar halinde kopuşuna yol açar. Kaspazlar çekirdek laminasını parçalar, endojen DNAaz'lar ise DNA'yı 200 ya da 200'ün katları baz çiftlik parçalar halinde keser. Bu nedenle apoptotik hücrelerin DNA'sı jel elektroforezinde 200 ve katı olan baz parçaları halinde sıralanır, buna merdiven kalıbı (ladder pattern) adı verilir. Transkripsiyon faktörleri gibi proteinler, ribozomlar, RNA, golgi ve endoplazmik retikulum gibi tüm organeller parçalanır. Mitokondri zar potansiyelinin bozulmasının hemen ardından normal hücrede çift tabakalı hücre zarının dış katında bulunmayan bir fosfolipid olan fosfatidilserin, dış yaprağa geçer ve oksitlenir. Bu değişim apoptotik hücrelerin makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosite edilmesi için bir sinyal oluşturur. Zarla sarılı apoptotik cisimlerin fagositozuyla apoptotik süreç tamamlanmış olur (102).



Şekil 3. Hücre içinde apoptoz gelişme mekanizmaları

### 2.3.1. Böbrek ve Apoptoz

Böbreğin embriyolojik gelişimi esnasında metanefrik dönemde epitelyal dönüşümü gerçekleştiremeyen metanefrik hücreler apoptoza uğramaktadır. İn vitro

ortamda embriyonik spinal kord ile inkübe edilmiş bu hücrelerin apoptoza uğramadığı görülmektedir. Yaşamı devam ettiren faktörler üreterik tomurcuktan salgılanmaktadır ve bununla metanefrik hücrelerin dönüşümü gerçekleştirilmektedir. Epidermal büyüme faktörleri ve protein kinaz C apoptozu inhibe eden yaşamsal faktörlerdir. Üreterik tomurcuktaki metanefrik mezenkimal hücreler Fgf (fibroblast büyüme faktörü)/Fgf 2 gibi bazı çözünebilir faktörler salgılamaktadır. Fgf8'de apoptozu inhibe eden bir diğer faktördür. Fibroblast büyüme faktörü defektif farelerde de nefrogenezde patoloji olduğu saptanmıştır (103). Bmp'de (kemik morfogenez faktörü) nefrogenezde apoptoz inhibisyonu açısından önemlidir. Bmp'ler Fgf'ler kadar kuvvetli apoptoz inhibitörü değildirler, bunlar sadece Fgf'nin etkilerini tamamlarlar. Wt-1 diğer apoptoz inhibitörüdür. Metanefrik mezenkimalin hayatta kalmasının yanında, mezonefrik soyların devamında önemlidir. Wolf kanalı uzantılarının düzenlenmesi ölümcül apoptotik faktörlere bağlıdır. Bu da böbrek agenezisi ile sonuçlanır. Bu işlemin en önemli mediyatörleri Pax2 ve Pax8'dir. Pax2 ve Pax8 genlerinde defekt apoptozu 1 gün gecikme ile tetikler, bu da bu mediyatörlerin aracı mediyatör olduğunu göstermektedir. Apoptozun ciddiyeti Pax geninin miktarı ile yakın ilişkilidir. Pax2 heterozigot farelerde apoptoz kısmidir. Bu farelerde üreter ve toplayıcı kanallardaki Bcl-2 yaşam faktörü olarak, Pax2'nin etkilerini durdurulabilmesine neden olabilir. Bcl-2'nin yaşam faktörü olarak temel fonksiyonu mitokondriyi indüklemesi ile olur. Böbrek morfogenezinde yaşamsal faktörler arasında uyum önemlidir. Bcl-2 ailesi bu uyuma bir örnektir. Sonuç olarak, Bcl, Fgf, Pax, bmp arasındaki yolaklar toplam olarak apoptozu inhibe edici düzenlemelerin gerçekleşmesinde kullanılmaktadır (104).

Apoptozun gerçekleşmesini sağlayan temel ölümcül faktör ise kaspaz 3'tür. Kaspaz 3 ve devamındaki yolakların aktive olması apoptozu indükler. Müller kanalı veya Wolf kanalının hangisinin gerileyeceği apoptoz mekanizmalarının tetiklenmesi ile gerçekleşir, bu yolaklardaki defektler ambigus genitalyaya neden olabileceği gibi değişik ürogenital sistem anormalliklerine de neden olmaktadır.

Akut ve kronik böbrek hastalıklarında böbrek epitel hücrelerin kaybedilmesine neden olan mekanizmanın temeli apoptozdur. Akut böbrek hasarında ve kronik böbrek hastalıklarındaki tübüler hücre kaybı ve podositopeni bu durumlara örnektir. Apoptoz iyileşme sürecinde meydana gelen proliferatif cevabın kontrol



edilmesi açısından da önemlidir. Ölümcül faktörler patogeneizde önemli olsada yaşamsal faktörler ile ölümcül faktörlerin dengesi iyileşme sürecinde önemlidir (104).

İskemi, eksojen toksinler ve endojen mediyatörler apoptozu tetikleyebilen faktörlerdir. İn vitro mezangiyal hücre apoptozu ve in vivo glomerüler hasar anti-Fas antikolar tarafından tetiklenebilir. Akut böbrek yetmezliğinin en önemli sebeplerinden biri olan akut tübüler nekrozda tübüler hücre ölümü meydana gelmektedir. Akut tübüler nekroz esnasında hem apoptoz hem de nekroz birlikte görülür. Her iki ölüm tipinin olayda ne kadar katkısı olduğu bilinmese de tetikleyen mekanizma ile yakın ilişkili gibi görünmektedir. Hücre ölümü hücrenin mikroçevresinin etkileri ile yakın ilişkilidir. Hücrede sentezlenen ölüm faktörleri ve yaşam faktörleri arasındaki ilişki neden sonuç ilişkisini belirler (105).

Böbrek dokusunda apoptoz doku yenilenmesinde de önemlidir. Apoptoz kalıntı hücrelerin temizlenmesini kontrol eden fizyolojik bir mekanizmadır. Örneğin proliferatif glomerülo nefrit iyileşme döneminde veya akut tübüler nekrozun iyileşme döneminde tübüler hücre çoğalmasının kontrolünde apoptoz önemlidir. Böbrekteki inflamasyonun iyileşme döneminde interstisyel fibroblastların temizlenmesinde de apoptoz kullanılır (106).

Karşıt olarak eğer apoptoz kontrol edilemezse böbrek dokusunda glomerüloskleroz ve tübüler atrofi kaçınılmaz olur. Bu durum deneysel modellerle de gösterilmiştir (107). Tübüler hücreler için yaşam faktörleri hepatosit büyüme faktörü, eritropoetin, vasküler endotelyal büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, fosfatidilinositol 3 kinazdır. Bu yaşam faktörleri protein kinaz B'yi (AKT'yi) fosforile eder. AKT direk olarak öncül apoptotik faktörleri fosforile ve dolayısıyla inhibe eder. Öncül apoptotik Fas reseptörlerin düşük seviyeleri ve antiapoptotik BclXL ve Bcl-2'nin yüksek seviyeleri tübüler hücrelerin yaşamını idame ettirmesi açısından önemlidir. Yaşamsal faktörlerin yokluğunda durum tam tersine döner. Akut tübüler hasarda rejenerasyon yaşam faktörlerinin salınması ile sağlanır. Eritropoetin, eritropoetin benzeri hücreler, hepatosit benzeri büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörünün eklenmesi deneysel modellerde

apoptozu inhibe eder ve iyileşmeyi tetikler. Böbrek transplant olgularında akut böbrek hasarının önlenmesini inceleyen çalışmalar devam etmektedir.

Toksik etkiler açısından 3 farklı ilacın etkileri ve 3 farklı apoptoz mekanizması şu şekilde sıralanabilir. Birincil olarak asetaminofene toksik düzeyde maruziyet sonrası endoplazmik retikulum stresi gelişir. Kaspaz 12 aktive olur ve kaspaz bağımlı apoptoz gelişir. Aminoglikozid toksisitesinde ise lizozomlarda aminoglikozid birikir. Aminoglikozidler lizozomlardan salınırken lizozomal içerikte salınıverir. Ortama salınan Bax, mitokondrinin uyarılmasına neden olur. Apoptoz tetiklenir. Sisplatin ise hücre çekirdeğine toksiktir. p53 kaspazı indüklerken Bcl-2 ve BclXL'yi inhibe eder. Ortama salınan Bax ve apoptoz indükleyen faktörün salınması ile apoptoz tetiklenir (108).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

#### 3.1. Elektromanyetik Alan Maruziyet Sistemi ve Tasarımı

Deneysel 2,45 GHz maruziyet için, 217 Hz darbeleri RF enerji kaynağı olan elektromanyetik dalga kaynağı (SET ELECO, Set Elektronik, İstanbul) cihazı (şekil 4) ve bu cihaza ait monopul anten düzeneği kullanılmıştır. Bu cihaz ile yapılan ön çalışmalar, 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 ayarlanmış ve anten EMA çıkış gücünün 0,8 Watt ile sınırlandırılması yapılmıştır (Bu durumda beklenen güç yoğunluğu yaklaşık 10 mW/cm<sup>2</sup> 'dir).



Şekil 4. Radyofrekans enerji kaynağı

Elektromanyetik alan uygulaması için hayvanlar Carousel tip düzeneğe yerleştirilmiş ve maruziyet sırasında kıpırdamadan özel flexiglass (şekil 5) yuvalarda tutulmuştur. Düzenek 6 hayvana aynı anda ve eşit maruziyet uygulayacak şekilde hazırlanmıştır (şekil 6). Elektromanyetik alan günde 60 dakika ve hergün 11.00-12.00 saatleri arasında uygulanmıştır. Deney hayvanlar 12 haftalık oluncaya kadar devam etmiştir.



**Şekil 5.** Deney için kullanılan çeşitli boyutlarda flexiglass kafesler



**Şekil 6.** Radyofrekans oluşturan cihazla birlikte deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüsü

Deney başlangıcında EMA enerjinin kontrol edilmesi ve gözlenmesi amacıyla bazı teknik cihazlar kullanılmıştır. Bu cihazlar Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bölüm Laboratuvarlarından temin edilmiştir. 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 elektromanyetik alanların gözlenmemesi için EMA Portable Survey System (Holaday, HI-4417, Minnesota, USA) cihazı kullanılmıştır. Bu çalışmada

biyolojik dokularda absorbe edilen enerjinin hesabı için zamanda sonlu farklar metodundan yararlanılmıştır. Özgül soğurma oranı hesabı için, önce ortamda ölçülen elektrik alan, biyolojik dokunun antene olan uzaklığı ve dokunun 2,45 GHz'deki elektriksel parametreleri bulunmuştur. Hayvanların büyümeleri ile fiziksel boyutları da değişeceğinden tüm vücut SAR değerleri haftalık olarak hesap edilmiş ve tekrar değerlendirilmiştir. Zamanda sonlu farklar metodu, MATLAB yazılımı ile hesaplanmıştır. Yapılan ön çalışmalar ile tüm vücut SAR değerinin 0,008 – 4,2 W/kg arasında ayarlanabileceği ama ortalama değer 0,1 W/kg'a (tam olarak 0,143 W/kg) ayarlanabileceği anlaşılmaktadır. Wireless cihazların çalışma koşullarına bağlı olarak ve genel olarak 0,1 W/kg SAR indükleyebildikleri bilinmektedir.

### **2,45 GHz ISM Bandı (WiFi Haberleşme) frekansında çalışan monopol antenden yayılan 1 Watt enerjinin bir biyolojik dokuda soğurulma hesabı:**

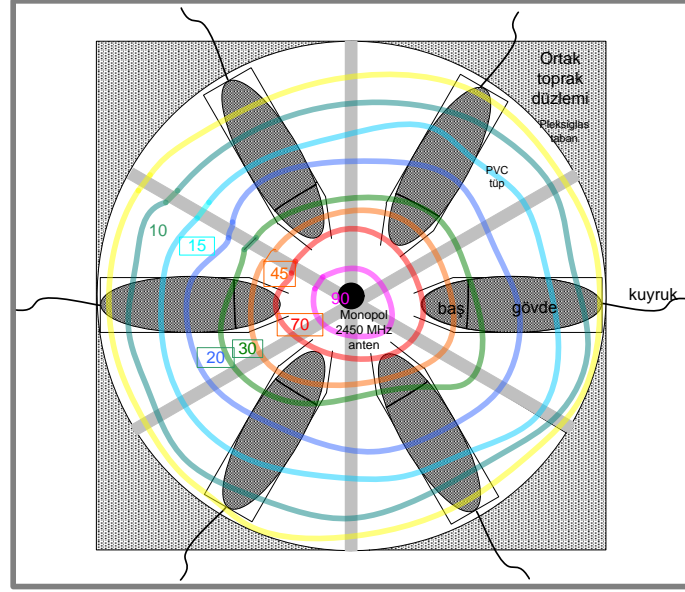
Antenden eşit uzaklıkta tutulan ve aynı anda maruz bırakılan ratlar için tüm vücut ve vücudun değişik dokularında absorbe edilen SAR değerlerinin hesaplanmasında antene olan mesafeler ve doku özellikleri önemlidir.  $c$  boşlukta dalga (ışık) hızı,  $\omega$  açısal hız,  $\epsilon_r$  ortamın bağıl dielektrik sabiti ve  $\mu_r$  ortamın bağıl permeabilitesi ( $=1$ )'dir. Boşluk için  $\mu_0 = 4 \pi \times 10^{-7}$  ve  $\epsilon_0 = 8,85 \times 10^{-12}$ . 2,45 GHz'te rat dokuları için  $\epsilon_r$ , iletkenlik;  $\sigma$ , özgül ağırlık;  $\rho$  değerleri bilimsel literatürde verilen tablolardan bulunabilir (109). Biyolojik dokular gibi kayıplı ortamlarda radiofrekans dalgaları zayıflayarak aşağıdaki yayılma denklemi ile ilerlerler.

$$\gamma = j \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_r \mu_r} \sqrt{1 - j \frac{\sigma}{\omega \epsilon_0 \epsilon_r}}$$

Burada  $\omega$  dalganın açısal frekansı,  $c$  ışık hızı,  $\epsilon_r$  ortamın bağıl dielektrik sabiti,  $\mu_r$  ortamın bağıl manyetik permeabilitesi,  $\sigma$  ortamın iletkenliğidir.

$\gamma = \alpha + j \beta$  olarak da yazılabilir. Burada  $\alpha$  ortamın zayıflama,  $\beta$  ise faz katsayısı olarak elde edilir. Bir boşluk ortamında  $|E_0|$  genliği ile ilerlerken, başka bir ortama ideal koşullarla giren dalga yeni ortamda  $|E|$  genliğine alanın hesaplanacak değeridir.  $\gamma_n$ ,  $n$ 'inci ortamda yayılma değişmezi ve  $d_n$ ,  $n$ 'inci ortam kalınlığıdır. Ancak bu yayılım denklemleri antenden (kaynaktan) yeterince uzak olan bölgeler için geçerlidir. Yakın alan bölgeleri için Maxwell denklemlerinin yayılım

simülasyonunu yapmak gerekir. Bu simülasyonda kullanılacak fiziksel parametreler, antenden ve yansısız katmandan olan uzaklıklardır.



Şekil 7. Elektromanyetik alan maruziyet sisteminin şematik görünümü

### 3.2. Projenin Yapıldığı Ortam ve Koşullar

Ratlar için ideal koşullar 20-25 °C sıcaklık, % 45-60 nispi nem ve günde 12-16 saat ışık görmeleri optimal koşullardır. Ortam sıcaklığı ve havalandırma klima ile sağlanmıştır. Besinlerinde yeterli miktarda hayvansal ve bitkisel protein, vitamin ve mineral madde bulundurulmuştur. Ratlar pellet yemle beslenmiştir. Proje Hayvan Deneyleri Araştırma Laboratuvarında çelik plakalarla izole edilmiş tek odada gerçekleştirilmiştir.

### 3.3. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması

Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya başlanmıştır. Çalışmamız; SDÜ Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Araştırma Laboratuvarı, Biyokimya ve Patoloji Laboratuvarlarında, etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya 3 grup dişi Wistar Albino türü rat alınmıştır. Her grupta 4 adet gebe rat ile çalışılmış ve ratların yaşam koşulları optimize edilmiştir. Manyetik alan maruziyetini sağlamak için monopol anten ve içine ancak bir ratın sığabileceği büyüklükteki pleksiglas kafes kullanılmıştır.

**Prenatal grup:** Ratlar gebe kaldıkları ilk günden itibaren doğum gerçekleşene kadar, günde 1 saat 2,45 GHz RF alanına maruz bırakılmışlardır. Doğum sonrası yenidoğanlar ilk 18 gün anne yanında tutulmuş; daha sonra erkek olanlardan randomize seçilen 8 erkek rat, 12. haftaya kadar günde 1 saat pleksiglass kafeslerde tutuldu, fakat elektromanyetik alan uygulanmadı. Maruziyetin gerçekçi olabilmesi için elektromanyetik dalga cihazının anten çıkış gücü gerçek hayatta insanların maruz kalabildiği ve dünya sağlık örgütünün limit değeri olarak önerdiği  $10 \text{ mW/cm}^2$  güç yoğunluğu elde edilecek şekilde ayarlanmıştır.

**Postnatal grup:** Ratlara gebelik süresince RF uygulanmamış, fakat pleksiglass kafeslerde günde 1 saat tutuldu. Doğumdan sonraki ilk 18 günlük emzirme periyodundan sonra, randomize seçilen 8 erkek rat, 12. haftaya kadar her gün 1 saat süresince 2,45 GHz RF alanına restrainerlara konularak maruz bırakılmıştır.

**Sham Kontrol grubu:** Anneler gebeyken ve bebekler doğumlarından 18 gün sonra günde 1 saat ve diğer gruplar ile aynı saatlerde pleksiglass kafeslere konmuş ve diğer gruplarla aynı çevresel şartlarda tutulmuş, ancak hiçbir şekilde RF uygulanmamıştır (yalancı maruziyet grubu).

### 3.4. İzlem

Prenatal grup ratlar gebe kaldıkları ilk günden itibaren doğum gerçekleşene kadar 2,45 GHz elektromanyetik alana maruz bırakıldı. Postnatal grup ve kontrol grup gebe ratlar bu dönemde elektromanyetik alana maruz bırakılmadı. Doğumu takiben ilk 18 günden sonra postnatal grup gebe ratlardan doğan erkek yavru ratlar günde 1 saat olacak şekilde 2,45 GHz EMA'ya maruz bırakıldı. Kontrol gruplarının maruziyetten etkilenmemesi için deney düzeneği, 1 mm kalınlığındaki paslanmaz çelik topraklama levhaları ile kapatıldı (100 dB EM ekranlama verimliliği ile). Çalışma boyunca diğer gruptaki ratların manyetik alana maruz bırakılması esnasında dar kafesin içine sokulmalarından dolayı stres yaşayacakları düşünüldü. Çalışma boyunca tüm gruplardaki ratlar pleksiglass kafeslere aynı süre ve şekilde sokularak aynı stresi diğer ratlarında yaşaması amaçlandı, fakat maruz kalmaması gerekli olan gruplar manyetik alandan uzak bir ortamda bekletildi. Deneklerin deney bitiminde idrarları spontan miksiyon kullanılarak toplandı.

### 3.5. Ratların Sakrifikasyonu ve Böbrek Dokusunun Alınması

Ratlar, deney sonunda Ksilazin HCl 10 mg/kg + Ketamin HCl 90 mg/kg intraperitonyal uygulamayla anestezi edildikten sonra sakrifiye edildi. Daha sonra her bir ratın iki taraflı böbrek dokusu çıkarılarak fizyopatolojik inceleme için % 10'luk formaldehit ve biyokimyasal inceleme için fosfat tampon çözeltisi içerisinde konuldu.

### 3.6. Böbrek Dokusunun Homojenizasyonu

Her bir ratın böbrek dokuları tartılarak fosfat tamponu (pH 7.4) ile 10 kat dilue edildi. Janke & Kunkel Ultraturrax T-25 (Almanya) marka doku parçalayıcı ile ve daha sonra UW-2070 Bandeun Electronic (Almanya) markalı sonikatör ile sonike edilerek homojenizasyonu tamamlandı. Doku örnekleri, Eppendorf 5415-R (Almanya) marka soğutmalı santrifüj ile 9600 devir/dk, 15 dk. santrifüj edildi ve süpernatanı alınarak eppendorf tüplere aktarıldı. Homojenize edilen örneklerin süpernatantlarında Lowry yöntemi kullanılarak protein tayini yapıldı (110). Daha sonra doku homojenatları yedeklenerek -80 °C'de saklandı. Her bir parametre öncesi bir örnek çıkarılarak çözdürüldü.

Bu süpernatantlarda protein, doku MDA düzeyleri ile GSH-Px, SOD, TAS, TOS aktiviteleri çalışıldı.

### 3.7. Deneylerde Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

1-Soğutmalı santrifüj	:Eppendorf MR5415 (Almanya)
2-Santrifüj	:Nüve-NF 815 (Türkiye)
3-Derin dondurucu	:Scientific Snijders (Hollanda)
4-Hassas terazi	:Scaltec (İsviçre)
5-Vorteks	:Nüve NM 100 (Türkiye)
6-Otomatik pipetler	:Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa)
7-Spektrofotometre	:Shimadzu UV 1201 ve 1600 (Japonya)



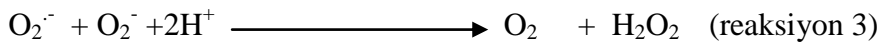
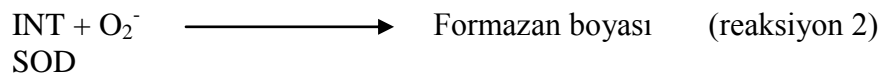
8- Homojenizatör	:Ultra Turrax T25 (Almanya)
9- Sonikatör	:UW-2070 Bandeun Electronic (Almanya)
10- pH metre	:Hanna Instruments (Portekiz)
11- Manyetik karıştırıcı	:Nüve (Türkiye)
12- Elektroforez Cihazı	:EC Apparatus Corporation (ABD)

### 3.8. Biyokimyasal İncelemeler

#### 3.8.1. Superoksid Dismutaz Aktivitesinin Ölçümü

Superoksid dismutaz aktivitesi, Woolliams ve arkadaşlarının (111) metodunun esas alındığı Randox ticari kiti ile spektrofotometrik olarak ölçüm yapıldı.

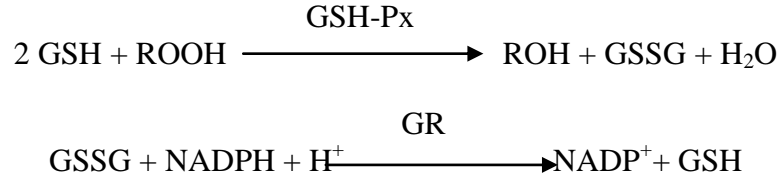
Kitin prensibi; ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyon ile ksantinden ürik asit ve süperoksit radikali oluşur (reaksiyon 1). Oluşan süperoksit radikali kırmızı renkli formazon bileşiği oluşturmak üzere INT (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5 fenil tetrazolyum klorid ile reaksiyona girer (reaksiyon 2). Çalıştığımız numune içindeki SOD aktivitesi ile bu reaksiyon inhibe olur ve % inhibisyon derecesi ile aktivite ölçülür (reaksiyon 3). SOD aktivitesi dokularda U/mg protein şeklinde verilir. Homojenatın protein miktarı Olympus AU-2700 marka otoanalizör ile ölçüldü ve sonuçlar U/g protein cinsinden verildi.



#### 3.8.2. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Ölçümü

Glutasyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve Valentina'nın (112) yöntemine göre ölçüldü. GSH-Px kümen hidroperoksit varlığında glutasyonun oksidasyonunu katalizler. Ortamda glutasyon redüktaz ve NADPH varlığında ise okside glutasyon

redükte glutatyona dönüştürülürken NADPH'da NADP<sup>+</sup>'ya dönüşür. NADPH'ın 340 nm'deki absorbans düşüklüğü spektrofotometrik olarak ölçülür. GSH-Px aktivitesi U/g protein cinsinden ifade edildi. Homojenatın protein miktarı Olympus AU-2700 marka otoanalizör ile ölçüldü ve sonuçlar U/g protein cinsinden verildi.



### 3.8.3. Lipid Peroksidasyon Tayini

Lipid peroksidasyon (LPO) ürünlerinden olan malondialdehit (MDA) ölçümleri için Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi kullanıldı (113).

LPO tayini için kullanılan kimyasallar:

- Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi (%10 ): 10 g TCA tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 mililitreye tamamlandı.
- Tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi (%0,67): 0,67 g TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 mililitreye tamamlandı.

Deneyin prensibi: Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek, 532 nanometrede maksimum absorbans veren renkli bir kompleks oluşturur.

Deneyin yapılışı: Yarım mL örnek üzerine 2.5 mL %10 luk TCA eklenerek karıştırıldı. 15 dakika kaynatılıp soğutuldu. 5000 devir/dk da 10 dk santrifüj edildi. 2 mL süpernatant alınıp, üzerine 1 mL %0,67 lik TBA eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 15 dk kaynatıldı ve hemen soğutuldu. Beşyüzotuziki nanometrede absorbansları, numune yerine distile su konularak hazırlanan köre karşı okundu.

MDA-TBA kompleksinin 532 nm deki ekstinsiyon katsayısından ( $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ ) yararlanılarak nanomol/mL cinsinden MDA değerleri bulundu.

Sonuçlar aşağıdaki şekilde hesaplandı.

$$A = a \times b \times c$$

$$c = A / (a \times b)$$

$$c = \frac{A \text{ (mol cm)} \times 1 \times 10^9 \text{ (nmol} \times \text{L)}}{1.56 \times 10^5 \text{ (L cm mol/ } 10^3 \text{ mL)}}$$

$$c \text{ (nmol/mL)} = A \times 57.69$$

A=absorbans

a=ekstinksiyon katsayısı

b=ışık yolu

c=konsantrasyon

Doku örnekleri ise hazırlanan homojenatlardan yukarıdaki prosedüre uygun olarak çalışılıp, nanomol/mg protein olarak hesaplandı.

### **3.8.4. Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) Tayini**

Total Antioksidan Seviye çalışılırken; numunede bulunan antioksidan maddeler, kit içindeki reaktiflerden biri olan koyu mavi-yeşil renkteki ABST radikal solusyonunu renksiz forma redüklemiş ve reaksiyon karışımının 660 nm'deki absorbans değişimi ölçülmüştür. Absorbans değişimi, numunede bulunan TAS düzeyi ile doğru orantılıdır. Yöntem, stabil antioksidan standart solusyonu (E vitamini analogu) Trolox Equivalent ile kalibre edilmiştir.

Total oksidan seviye ölçümü için, numunede bulunan oksidan maddeler, ferröz iyon şelatör kompleksten ferrik iyon haline okside olmuştur. Ferrik iyon formu, asidik ortamda kromojen ile renkli bir karışım meydana getirmiştir. Renk oluşumu, numunedeki oksidan moleküllerin miktarı ile doğru orantılı olduğundan, spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve TOS değeri elde edilmiştir. Yöntem, hidrojen peroksit ile kalibre edilmiştir.

TAS değeri,  $\mu\text{mol Trolox Eqv/L}$  ile ifade edilirken; TOS değeri ise  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv/L}$  ile ifade edilmiştir.

### 3.8.5. N-asetil- $\beta$ -D-Glukozaminidaz (NAG) Tayini

İdrar NAG aktivitesi Yakata ve ark. (114) tanımladıkları yöntem ile ölçüldü. 3 krezol sulfonfitalayn  $\beta$ -D-Glukozaminidazdan salınan 3 krezol sulfonfitalayn miktarının 580 nm'de absorbansları kör olarak kullanılan numune yerine konulan distile suya karşı okutuldu. İdrar kreatin seviyeleri standart spektrofotometrik metodlar (oto-analizör, Abbott Aeroset IL, USA) kullanılarak ölçüldü. İdrar NAG ekskresyonu dilüsyon veya konsantrasyondan etkilenebileceği için idrar kreatinine göre oranlandı. Değerler U/g idrar kreatinin olarak verildi.

## 3.9. Histopatolojik Değerlendirme

### 3.9.1. Hematoksilen Eozin ile Boyama

Sakrifikasyondan sonra hayvanların böbrek dokuları alındıktan sonra %10 nötral formalinde fikse edildi. Dokular parafin bloklara gömüldüler. Parafin bloklardan 4-5 $\mu$ m kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Boyama işlemini takiben tüm kesitler ışık mikroskobunda (Nikon elips CX-41 Araştırma Mikroskobu) incelenerek değerlendirildi.

### 3.9.2. İmmünohistokimyasal Çalışma

Parafin bloklardaki böbrek dokularından 5  $\mu$ m kalınlığında kesitler alınarak, poly-L-lysine ile kaplı lamlar üzerine yerleştirildi. Deparafinizasyon işlemi için 20 dakika ksilende bekletildi, absölu alkolde 20 dakika bekletilip distile sudan geçirildi. Antijen retrieval işlemi için kesitler P1 modülle (Labvision) cihazında sitrat tampon içerisinde 98° C 'de 20 dakika ısıtıldı. İşlem sonrası 20 dakika oda ısısında sitrat tampon içerisinde soğutuldu, distile sudan geçirildi. Kesitlere  $H_2O_2$  (hidrojen peroksit) damlatıldı ve 20 dakika inkübasyona bırakıldı. "Fosfat buffer Saline (PBS)" solüsyonunda (pH:7.6) yıkandı. Ultra V bloking yapıldı. Beş dakika inkübe edildi. Rat ile uyumlu olan Bax monoclonal (sc- 748-Santa Cruz USA) için ve Bcl-2 monoclonal (sc-783- Santa Cruz- USA) için 1/100 dilüsyonda 60 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı. PBS'de yıkandı. Sekonder antikor olarak Biotinyloted Goat Anti-Polyvalent (TP-125-BN Labvision Freemont, CA-USA) damlatıldı. Streptavidin Peroksidaz (TS-125-HR Labvision Freemont, CA-USA) damlatılarak 20 dakika

inkübe edildi ve PBS'de yıkandı. DAB Chromojen yapıldı. 5–15 dakika inkübe edildi ve distile suda yıkandı. Mayers hematoksilen ile zıt boyama 15 saniye 1 dakika yapıldı ve distile sudan geçirildi. Alkolden geçirilip havada kurutuldu ve ksilene konuldu. Daha sonra entelen kullanılarak kapatma işlemi yapıldı. Kesitler Nikon Elips CX-41 araştırma mikroskobu ile değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın şiddeti esas alındı. Kortikal medüller ve glomerüler sitoplazmik immün boyanmanın şiddeti 0'dan +2'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı. 0: negatif, 1: zayıf pozitif, 2: kuvvetli pozitif olarak sınıflandırıldı.

### **3.9.2.1. İmmunhistokimyasal Boyanmanın Dijital Ortamda Değerlendirilmesi**

Kesitler aynı zamanda "İmage processing and analysis in java" (İmage J) yöntemi ile bilgisayar ortamında tekrar değerlendirildi. ImageJ, Amerikan Sağlık Enstitüleri (National Institutes of Health, U.S.A) tarafından geliştirilmiştir. Özellikle tıp alanında elde edilen, mikroskopik, makroskopik ya da radyolojik görüntüler üzerinde işlem yapmak için kullanılmaktadır. Kesitler 300 dpi görüntü çözünürlüğünde bilgisayar ortamına scanner ile geçirildikten sonra kortikal ve medüller alanda kırmızı, mavi, yeşil boyanma skala yoğunluğu İmage J programı ile otomatik olarak ölçüldü. Görüntü renk skalasının sayısal değeri 0-255 arasında değişmektedir, 0 daha koyu boyananları, 255 en açık boyananları temsil etmektedir. ImageJ bilgisayar programının nasıl kullanıldığı şekil 7, şekil 8, şekil 9'da özetlenmiştir.



Şekil 8. Image J görüntü analiz programında Bax ile boyanmış böbrek dokusunda kortikal bölgeden bir alanın seçilmesi



Şekil 9. Seçilen alanın Kırmızı-Yeşil-Mavi renk skalasının analiz edilme yöntemi

Results						
File Edit Font Results						
	Label	Area	Mean	Min	Max	
1	Red	112	181.598	172	190	
2	Green	112	170.393	161	180	
3	Blue	112	161.643	155	170	
4	(R+G+B)/3	112	171.330	163	180	
5	0.299R+0.587G+0.114B	112	172.795	164	182	

Şekil 10. Elde edilen değerlerin istatistiksel ortalaması

### 3.10. İstatistiksel Analiz

Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak verildi. “Software Package System” bilgisayar programı (SPSS 15.0, SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) istatistiksel analiz için kullanıldı. Tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post hoc çoklu karşılaştırma testleri (LSD) biyokimyasal değişkenlerin gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi için kullanıldı. Gruplar arasında karşılaştırma yapılırken sayısal olmayan değerler için ki-kare testi kullanılmıştır.  $P < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Tüm gruplarda doğum ve postnatal 12. hafta ağırlıkları açısından anlamlı fark saptanmadı ( $P>0,05$ ).

**Tablo 1.** Tüm ratların doğum ağırlığı ve çalışma sonu vücut ağırlıkları (ortalama±SD).

Gruplar	Kontrol	Prenatal	Postnatal	P
<b>Doğum ağırlığı (gram)</b>	6,23± 0,20	6,72± 0,12	6,91 ± 0,32	0,18
<b>12. hafta vücut ağırlığı (gram)</b>	140,10±7,51	150,61±11,61	145,32±12,03	0,16

### 4.1. Biyokimyasal Sonuçlar

Prenatal dönemde EMA uygulanan grupta böbrek dokusu MDA düzeyi, postnatal ve kontrol gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu (Tablo 2, Grafik 1,  $P<0,001$ ,  $P<0,05$ ). Postnatal grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, böbrek dokusu MDA düzeylerinde fark yoktu ( $P>0,05$ ).

Prenatal dönemde EMA uygulanan grupta böbrek dokusu SOD düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı düşüktü (Tablo 2, Grafik 2,  $P<0,05$ ). Postnatal grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında böbrek dokusu SOD düzeylerinde fark saptanmadı ( $P>0,05$ ). Böbrek dokusu SOD düzeyleri kontrol ve postnatal grup ile karşılaştırıldığında farklı değildi ( $P>0,05$ ).

Böbrek dokusu GSH-Px düzeyleri açısından incelendiğinde tüm gruplar arasında anlamlı fark yoktu (Tablo 2, Grafik 3,  $P>0,05$ ).

Prenatal grubun böbrek dokusu TAS değeri kontrol grubuna göre anlamlı düşüktü ( $P<0,05$ ). Fakat kontrol grubu ile postnatal grup arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2, Grafik 4,  $P>0,05$ ).

Prenatal grubun böbrek dokusu TOS değeri kontrol grubundan ve postnatal gruptan yüksekti ( $P<0,05$ ). Kontrol grubu ile postnatal grup arasında ise, anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2, Grafik 5,  $P>0,05$ ).

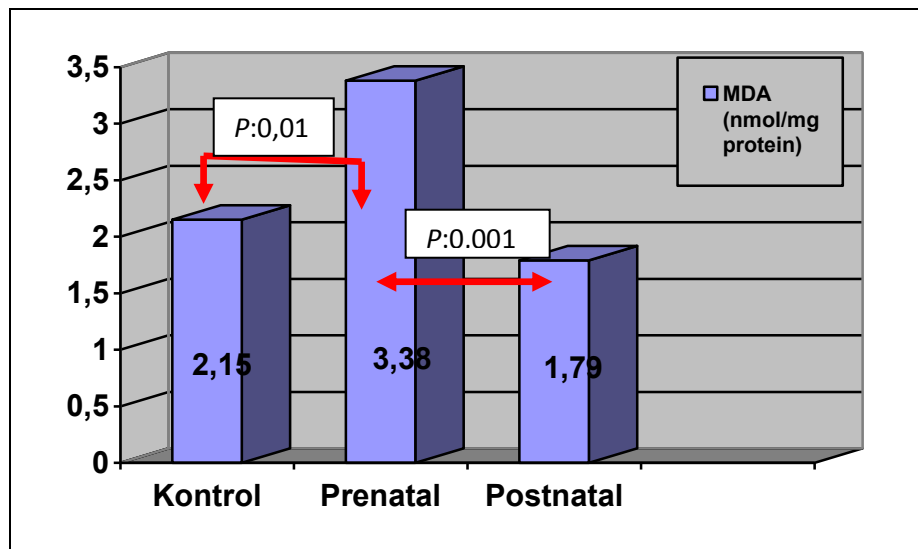


İdrar NAG /kreatinin oranı prenatal ve postnatal grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ( $P<0,001$ ). Ayrıca, prenatal grubun idrar NAG /kreatinin oranı postnatal gruba göre, postnatal grubun kontrol grubuna göre anlamlı yüksekti (Tablo 2, Grafik 6,  $P<0,05$ ,  $P<0,001$ ).

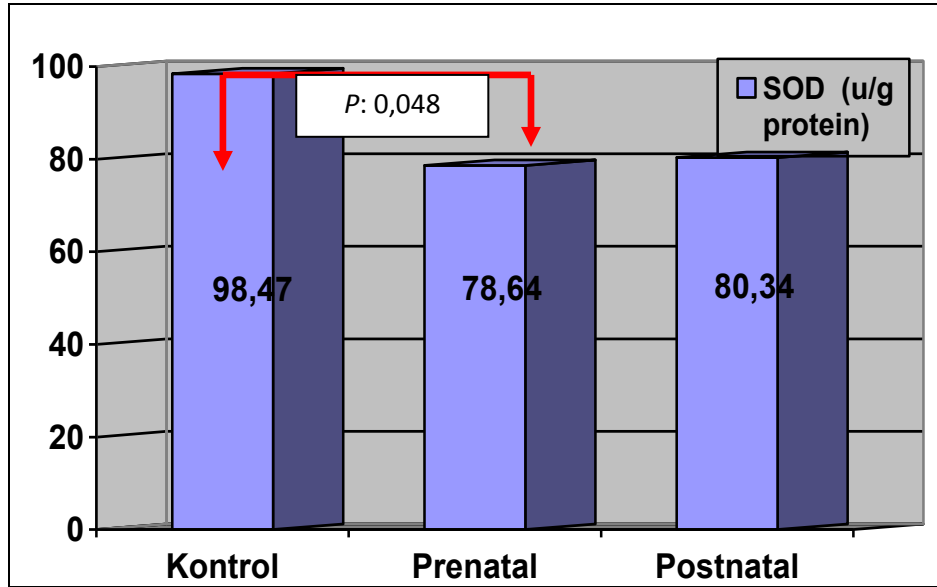
**Tablo 2.** Grupların biyokimyasal parametrelerinin sonuçları (ortalama  $\pm$  SD).

Gruplar	Kontrol	Prenatal	Postnatal
<b>MDA</b> (nmol/mg protein)	2,15 $\pm$ 0,42	3,38 $\pm$ 1,31*£	1,79 $\pm$ 0,56
<b>SOD</b> (U/g protein)	98,47 $\pm$ 13,10	78,64 $\pm$ 21,86*	80,34 $\pm$ 20,50
<b>GSH-Px</b> (U/g protein)	108,33 $\pm$ 47,67	109,69 $\pm$ 40,81	88,40 $\pm$ 28,13
<b>TAS</b> ( $\mu$ mol Trolox Eqv /L)	1,05 $\pm$ 0,11	0,85 $\pm$ 0,20*	0,89 $\pm$ 0,16
<b>TOS</b> ( $\mu$ mol Trolox Eqv /L)	22,77 $\pm$ 7,13	31,01 $\pm$ 5,16*§	23,89 $\pm$ 7,20
<b>İdrar NAG/ kreatinin düzeyi</b> (U/g kreatinin)	15,66 $\pm$ 2,63	63,96 $\pm$ 16,64*§	43,10 $\pm$ 16,43*

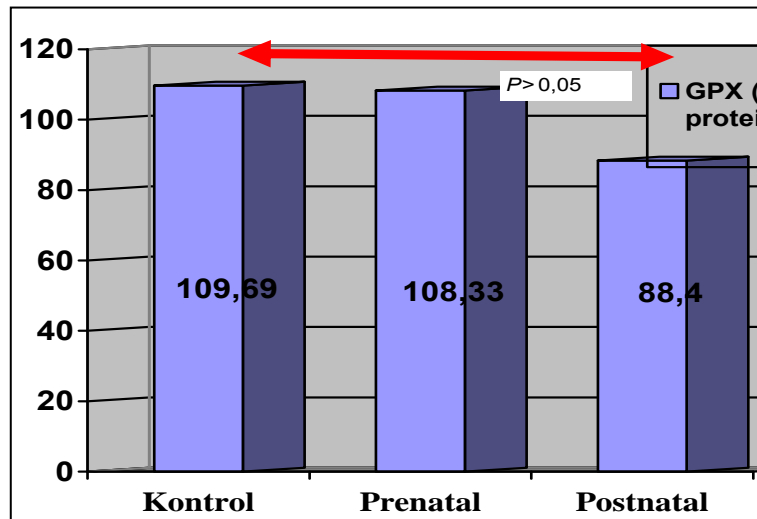
Çalışma grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında \*: $P<0,05$ ,  
Prenatal grup postnatal grup ile karşılaştırıldığında £: $P<0,001$  §: $P<0,05$



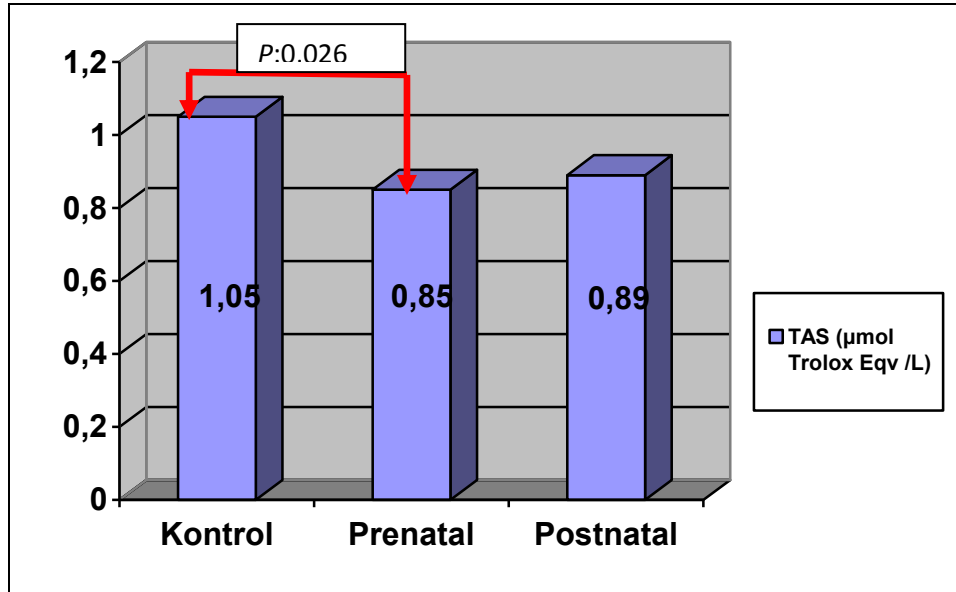
**Grafik 1.** Grupların renal doku malondialdehid değerlerinin karşılaştırması



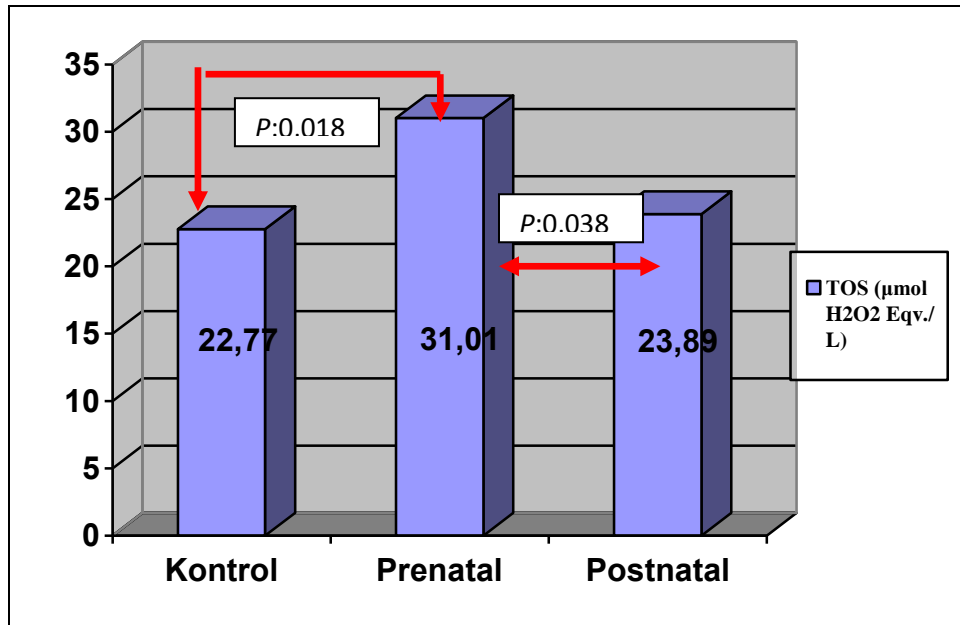
**Grafik 2.** Grupların renal doku superoksit dismutaz değerlerinin karşılaştırılması



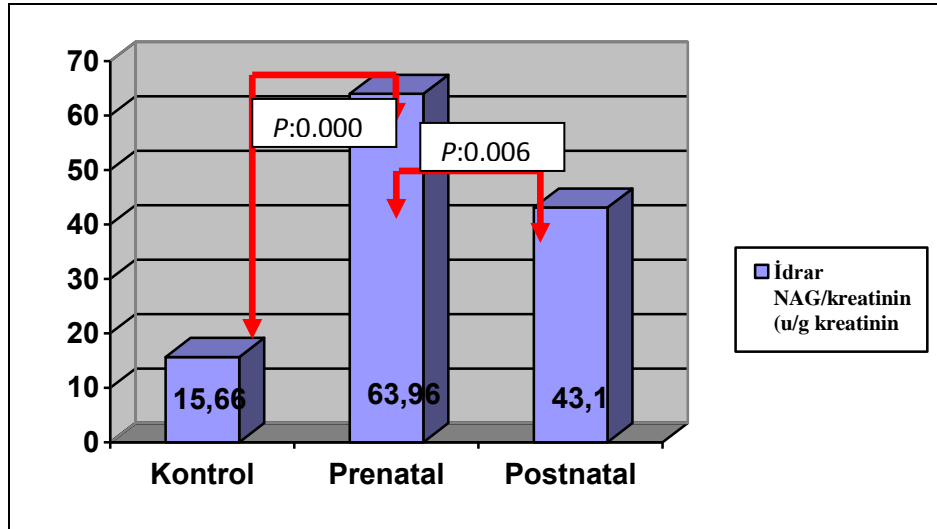
**Grafik 3.** Grupların renal doku glutatyon peroksidaz değerlerinin karşılaştırılması



**Grafik 4.** Grupların renal doku total antioksidan değerlerinin karşılaştırılması



**Grafik 5.** Grupların renal doku total oksidan değerlerinin karşılaştırılması



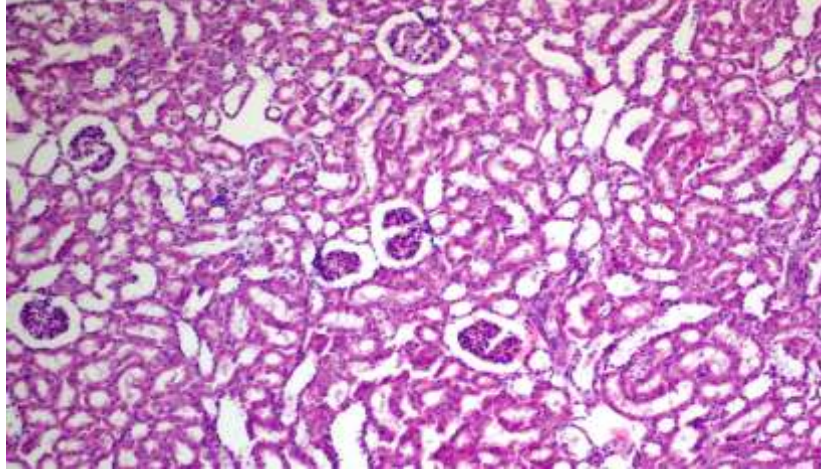
**Grafik 6.** Grupların idrar N-asetil- $\beta$ -D-glukozaminidaz/kreatinin değerlerinin karşılaştırılması

#### 4.2. Histopatolojik Bulgular

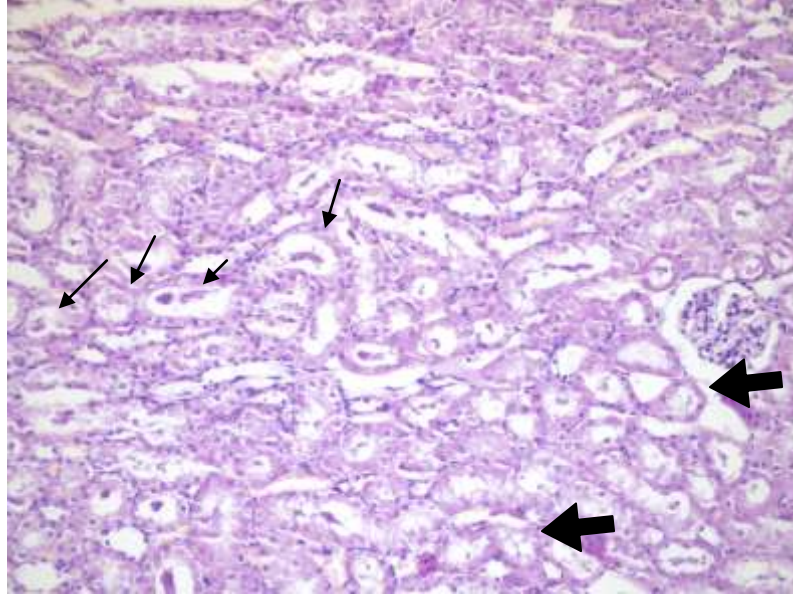
Hematoxilen-Eozin ile boyanan preparatlar incelendiğinde, kontrol grubuna ait böbrek dokularının normal yapıda olduğu gözlemlendi. Prenatal dönemde elektromanyetik alana maruz kalan grupta tübüler dejenerasyon ve tübüler silendir mevcuttu. Histopatolojik bulgular kontrol grubu ile postnatal grup arasında benzerdi.

**Tablo 3.** Çalışma gruplarının böbreklerinin histopatolojik değerlendirme sonucu

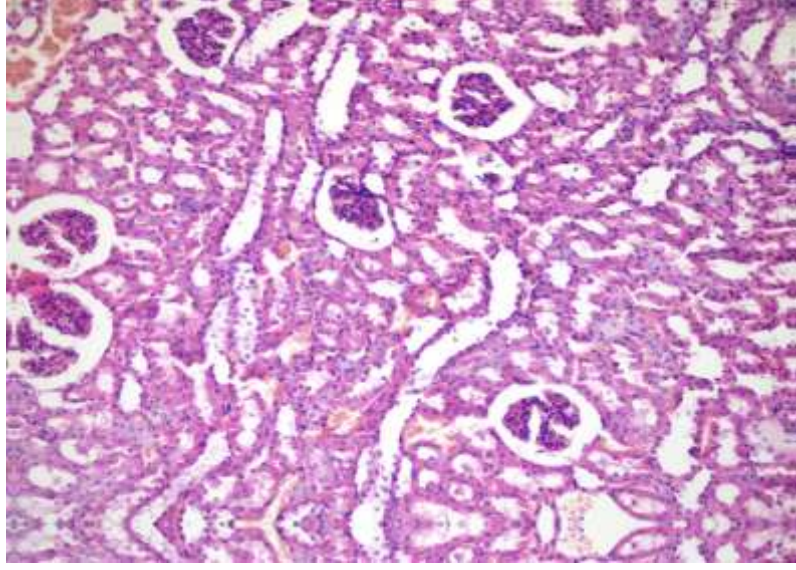
	Kontrol	Prenatal	Postnatal
Glomerüler değişiklikler	–	–	–
Tübüler dejenerasyon	–	++	–
Tübüler silendir	–	++	+
Tübüler dilatasyon	–	–	–
Tübüler atrofi	–	–	–
İnterstisyel inflamasyon	–	–	–
İnterstisyel ödem	–	–	–



Şekil 11. Kontrol grubunun böbrek histolojisi; Normal (HE, 100X)



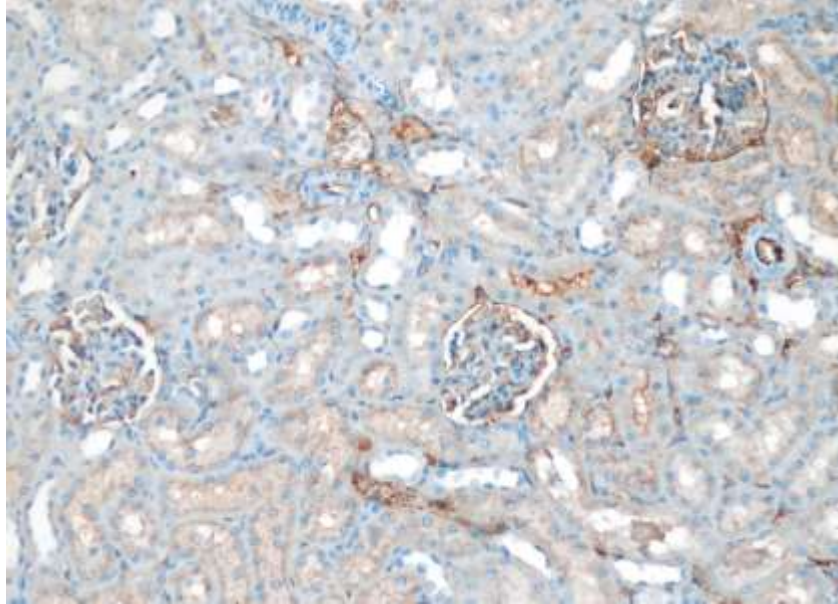
Şekil 12. Prenatal maruziyet grubu; tübüler silendir (ince ok işaretleri) ve tübüler dejenerasyon (kalın ok işaretleri) görünümü (HE 100X)



Şekil 13. Postnatal maruziyet grubu; normal böbrek görünümü (HE, 100X)

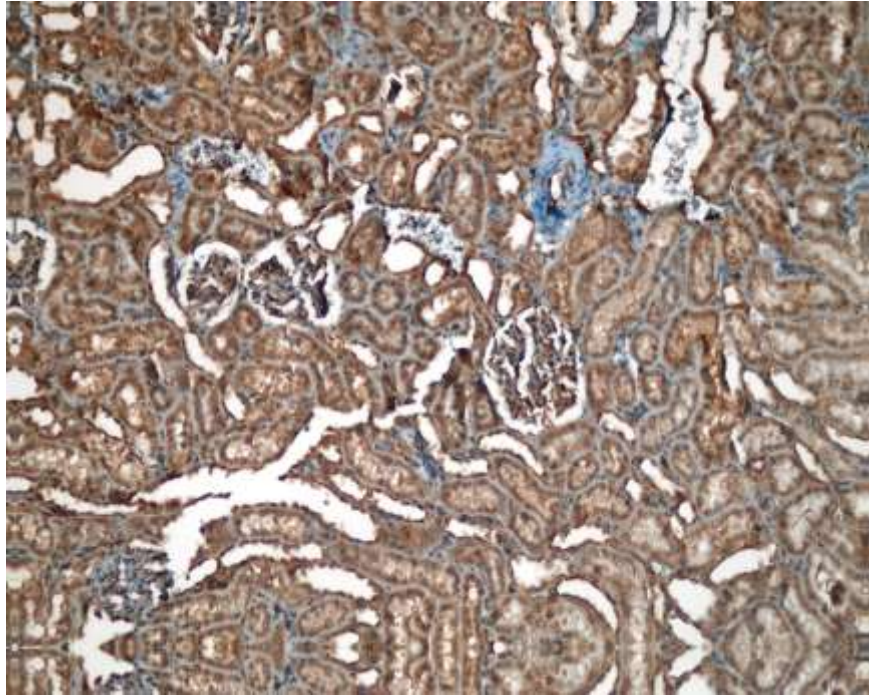
#### 4.3. İmmun Histokimyasal Bulgular

Her gruptan alınan böbrek dokusu kesitleri, immünohistokimyasal olarak monoklonal Bcl-2, Bax ile boyanarak incelendi. Histopatolojik bulguların mikroskop ile değerlendirilmesinde her üç grup arasında Bcl-2, Bax boyanma yoğunluğu açısından fark yoktu ( $P>0,05$ ,  $P>0,05$ ).

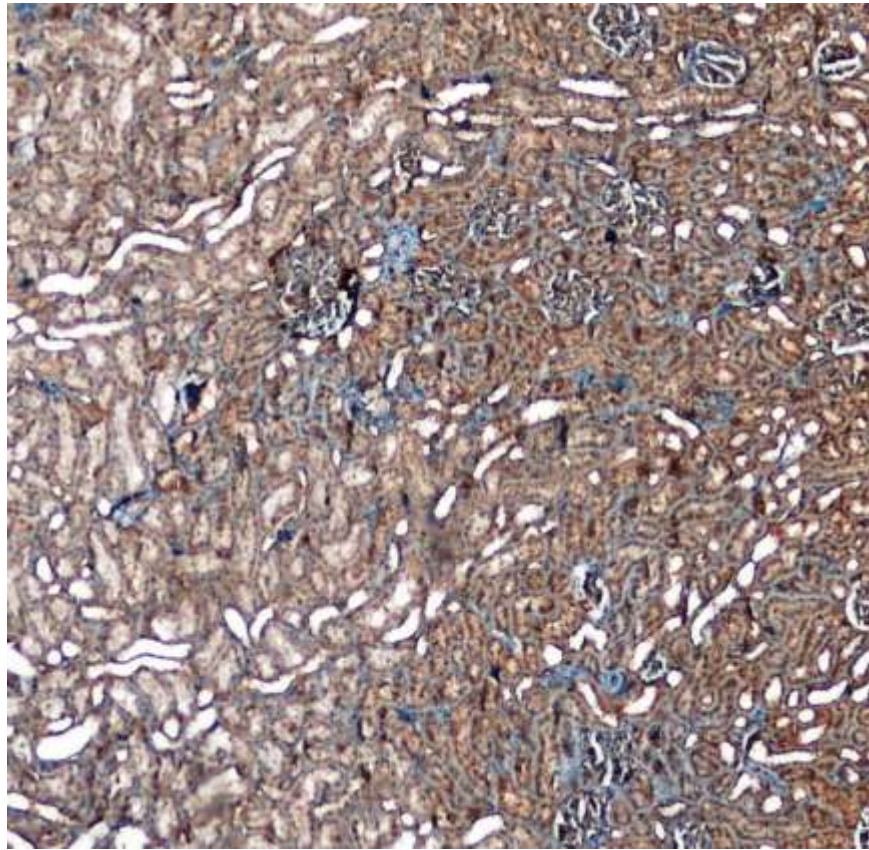


Şekil 14. (Kontrol grubu) Bcl-2 immunhistokimyasal boyanma; Zayıf pozitif (100 X)

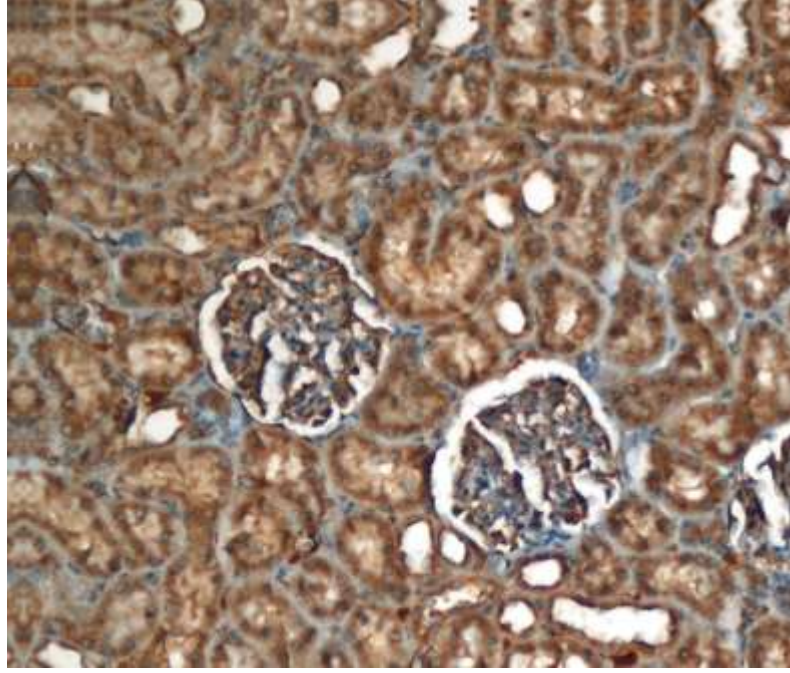




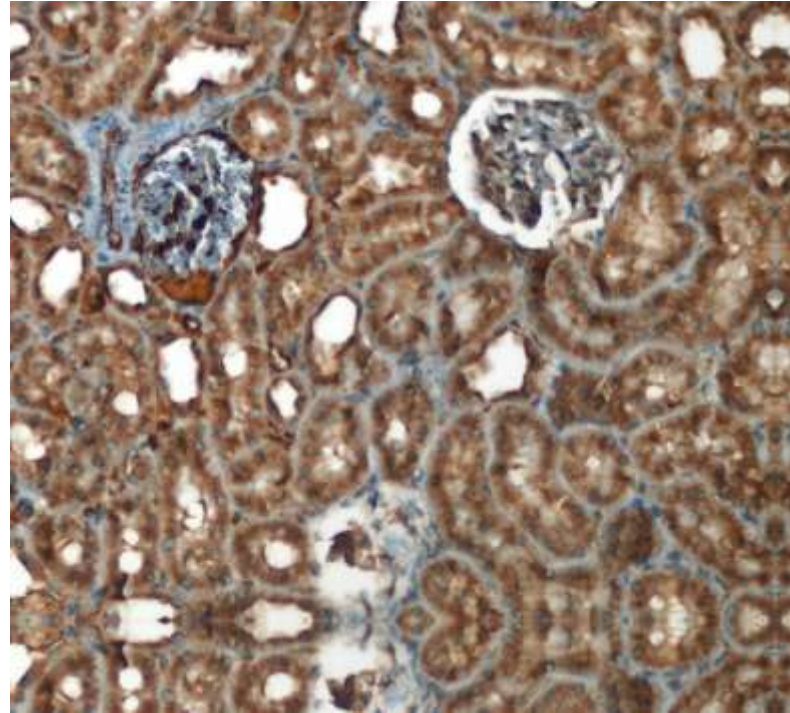
**Şekil 15.** Prenatal maruziyet grubu; Bcl-2 immunhistokimyasal boyanma;  
Kuvvetli pozitif (200X)



**Şekil 16.** Postnatal maruziyet grubu; Bcl-2 immunhistokimyasal boyanma  
Kuvvetli pozitif (100X)



**Şekil 17.** Kontrol grubu; Bax immunhistokimyasal boyanma  
Kuvvetli pozitif (200X)



**Şekil 18.** Prenatal grup; Bax immunhistokimyasal boyanma  
Kuvvetli pozitif (100X)



İmage J bilgisayar programı ile yapılan incelemelerde Bcl-2 immunhistokimyasal boyanma yoğunluğunun prenatal grupta kontrol ve postnatal gruplara göre kortikal ve medüller alanda daha fazla olduğu ( $P<0,05$ ,  $P<0,05$ ), Bax immunhistokimyasal boyanma yoğunluğunun prenatal grupta kontrol grubuna göre kortikal alanda daha az olduğu görülmüştür ( $P<0,05$ ). Prenatal dönemde elektromanyetik alana maruz kalan grupta Bcl-2/Bax boyanma yoğunluk oranı meduller alanda kontrol ve postnatal gruba göre ve kortikal alanda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ( $P<0,05$ ,  $P<0,05$ ).

**Tablo 4.** İmmunhistokimyasal boyanmanın ImageJ bilgisayar programı ile inceleme sonuçları (ortalama $\pm$ SD)

	<b>Kontrol</b>	<b>Prenatal</b>	<b>Postnatal</b>
Bcl-2 Medulla	173,83 $\pm$ 13,28	150,68 $\pm$ 13,96*#	167,89 $\pm$ 15,50
Bcl-2 Korteks	173,83 $\pm$ 13,28	167,84 $\pm$ 7,71*#	179,08 $\pm$ 9,90
Bax Medulla	130,54 $\pm$ 12,98	136,64 $\pm$ 16,42	137,88 $\pm$ 24,41
Bax Korteks	126,97 $\pm$ 9,23	150,37 $\pm$ 16,18*	134,21 $\pm$ 25,61
Medulla Bcl-2/Bax oranı	1,33 $\pm$ 0,16	1,12 $\pm$ 0,23*#	1,25 $\pm$ 0,26
Korteks Bcl-2/Bax oranı	1,36 $\pm$ 0,09	1,13 $\pm$ 0,13*	1,37 $\pm$ 0,23

Gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında \*: $P<0,05$

Prenatal grup postnatal grup ile karşılaştırıldığında #:  $P<0,05$

## 5. TARTIŞMA

Elektromanyetik alanların 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. Gerçekçi tüm vücut voksel (volume-pixel, 3D pixel) incelemelerinin kullanıldığı çalışmalar, tüm vücut ortalama SAR değerinin çocuklarda yetişkinlerden daha yüksek olduğunu düşündürmektedir (115, 116). 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 laptop kullanıcısının özellikle baş bölgesindeki SAR değerinin diğer vücut bölümlerinden daha yüksek olabileceği gösterilmiştir (117).

Başın gövdeye göre büyük, cilt ve kafatasının ise daha ince olması çocuklarda aynı EMA'ya maruz kalan erişkinlere göre daha yüksek SAR değerleri saptanmasının başlıca sebeplerindendir. Çalışılan model ne kadar genç ise, yüksek frekansta oluşan rezonans etkisi ve bu etkinin oluşturduğu SAR değeri de yüksek olmaktadır. Conil ve ark. (118) çalışmalarında ortalama rezonans frekansını, yetişkinde 60 MHz, 12, 8 ve 5 yaşlarda sırasıyla 80, 100 ve 120 MHz olarak bildirmiştir. Amplitüdler dikkate alındığında tüm vücut SAR değeri erişkinle kıyaslandığında 12, 8 ve 5 yaşlarında sırasıyla %26, %38 ve %48 oranında artmaktadır.

Simülasyon modellerinin kullanıldığı bir diğer çalışmada, 50 Hz elektromanyetik alana maruz bırakılan gebelerde, fetal beyin dokusunda saptanan akım yoğunluğunun en yüksek değerine 26. haftada ulaştığı görülmüştür (116). Aynı çalışmada, fetal başın yukarı pozisyonda olduğu durumda, aşağıda olduğu duruma göre akım yoğunluğunun daha az olduğu ve gebelik ilerledikçe daha da azaldığı bildirilmiştir. Her ne kadar embriyo ve fetus için hesaplanan SAR değerleri genellikle anne ile benzer ya da daha düşük bulunsa da, fetusun ve embriyonun kapsamlı risk analizini yapabilmek için, ısı simülasyonunun da yapılması gerekmektedir (119). İnsan bedeninin EMA'dan etkilenme durumunu değiştirebilecek birçok faktör mevcuttur ve çocukluk çağının yetişkinlere göre EMA

maruziyetine daha duyarlı olabileceğini gösteren birtakım kanıtlar da bulunmaktadır. Ancak EMA'nın tüm yan etkileri ve EMA'dan korunma esasları bugün için tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

Elektromanyetik alan maruziyeti zar potansiyelini değiştirerek veya transmembran iyon transferini bozarak hücre fonksiyonlarına etki eder. Bileşikler arası kimyasal bağları bozarak serbest radikal oluşumuna neden olur (120). Araştırmalar elektromanyetik alanın hücrel serbest radikal dengesini bozduğunu göstermektedir (121, 122). Serbest radikaller hücrenin yapısını, ayrıca lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi moleküler yapıları bozarak uzun süreli hasar verici etkilerinin oluşmasını sağlarlar. Serbest radikal hasarına en duyarlı bölgeler doymamış yağ asitlerinden zengin olan hücre zarlarıdır (123). Serbest radikaller hücre zarındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Malondialdehid lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve dokular için çok toksiktir.

Cep telefonları nedeniyle oluşmuş radyofrekans alanları serbest radikalleri arttırarak, öncelikli olarak lipid peroksidasyonunu indüklerler, insanlarda kanın antioksidan aktivitesini değiştirerek oksidatif strese neden olurlar. Örneğin, oksidatif stresin varlığının araştırıldığı bir çalışmada, 12 sağlıklı gönüllüden 1, 2 ve 4 saat süreyle cep telefonlarını bekleme durumunda ceplerinde açık durumda bırakmaları istenmiş. Olguların plazma lipid peroksid seviyelerinin önemli derecede arttığı saptanmış. Eritrosit SOD ve GSH-Px seviyeleri azalırken, katalaz seviyesinde değişiklik saptanmamış. Sonuç olarak, araştırmacılar radyofrekans dalgalarının biyolojik sistemleri etkileyebileceğini belirtmişlerdir (124).

Bir diğer deneysel çalışmada, tavşanlar 7 gün süre ile cep telefonların yaydığı elektromanyetik alana maruz bırakılmışlar. Maruziyet sonrası beyin SOD aktivitesinin anlamlı derecede arttığı saptanmış (125).

Farelerin beyin dokusunda oksidatif hasarın oluştuğunu gösteren bir çalışmada, çok düşük frekanslı manyetik alan uygulamasının kalp dokusu MDA ve XO seviyesinin artırdığı, SOD ve GSH-Px aktivitesini azalttığı bulunmuş (126).

Kırk Hz'lik çok düşük elektromanyetik alana değişik sürelerde maruz bırakılan farelerde artan maruziyet süresi ile oksidatif hasar arasında doğrusal ilişki

olduğu saptanmış. Deneklerin kalp doku homojentalarında TBARS ve hidrojen peroksid seviyesinin arttığı, plazma total antioksidan ve glutasyon seviyesinin azaldığı saptanmış (127).

Çok düşük doz elektromanyetik alan maruziyetinin dokularda oksidatif strese sebep olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (128-131). Daşdağ ve arkadaşları (129) elektromanyetik alan maruziyetinin fare testis dokusunda yapısal bir değişikliğe sebep olmadığını ve MDA seviyesinde bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Üçüncü nesil kablosuz teknolojinin kullanıldığı bir çalışmada 5-60 dakika veya 24 saat süre ile 1950 MHz elektromanyetik alana hücre kültürü ortamında maruz bırakılan memeli hücrelerinin demir sülfat ile indüklenmiş veya indüklenmemiş serbest oksijen radikali oluşumunun artmadığı saptanmıştır. Sonuçta, 1950 MHz elektromanyetik alan maruziyetinin hücre sağkalımına etkisi olmadığı belirtilmiştir (131).

Elektromanyetik alanın böbrek dokusuna etkilerini inceleyen çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilmiştir. Antioksidan veya oksidan etkinin arttığını ve azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Değişik yanıtların oluşmasını etkileyen sebepler uygulama süresi, elektromanyetik alanın maruziyet yoğunluğu ve cinsindeki değişiklikler olabilir. Oksidatif hasara yanıtında bireyler ve türler arasında değişiklik gösterebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Bir çalışmada 50 Hz elektromanyetik alana maruz bırakılan Sprague-Dawley erkek ratların böbrek dokusunda MDA ve GSH seviyesinin arttığı saptanmıştır (25). Wistar albino fare böbreğinde 60 Hz elektromanyetik alana maruziyet sonrası doku GSH miktarının azaldığı saptanmıştır.

Ayrı iki çalışmada 900 mHz EMA'na maruziyet sonrası ise fare böbrek dokusunda SOD, GSH-Px ve katalaz aktivitesinin azaldığı NAG, MDA ve NO miktarının arttığı saptanmıştır (23, 24).

Kobaylara elektromanyetik alan uygulanması sonrası böbrek dokusunda oksidatif stres artmış, yüksek TBARS ve SOD aktiviteleri saptanmıştır (28).

Bizim çalışmamızda prenatal dönemde 2,45 GHz elektromanyetik alan maruziyetinin böbrek dokusunda TOS, MDA seviyelerinin artırdığı, TAS ve SOD doku aktivitesinin azaldığı, GSH-Px seviyesinde ise gruplar arasında anlamlı fark

olmadığı saptandı. Postnatal dönemde elektromanyetik alana maruz bırakılan grupta ise TOS seviyesinde artış, TAS ve SOD seviyesinde azalma mevcuttu, fakat fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bulgularımız yapılan çalışmaların büyük bölümünün sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Dişi ratların böbrek dokusunda elektromanyetik dalganın ( $84 \text{ mW/cm}^2$  ve  $395 \text{ mW/cm}^2$ ) oluşturduğu fonksiyonel ve morfolojik değişikliklerin incelendiği bir çalışmada intrarenal dolaşımın belirgin bozulduğu saptanmıştır. Vasküler alanda staz, stromal ödem, tübüler epitelde distrofi, periglomerüler sklerozla karakterize aseptik interstisyel inflamasyon başlıca histopatolojik değişiklikler olarak saptanmıştır (27). Renal tübüler hücrelerin etkilendiğini gösteren diğer 2 çalışmada idrar NAG düzeylerinin anlamlı dercede arttığı saptanmıştır (23, 24).

Bizim çalışmamızda da hem prenatal hemde postnatal dönemde 2,45 GHz elektromanyetik alana maruz bırakılan ratların 24 saatlik idrar NAG seviyesinin belirgin arttığı saptandı. Ayrıca hematoksilen eosin ile boyanmış kesitlerin incelenmesi sonucunda özellikle prenatal dönemde elektromanyetik alana maruz kalmış grupta artmış tübüler hasara ait bulgular mevcuttu. Bulgularımız önceki çalışmalarda bildirilen tübüler etkilenim varlığı ile benzerlik göstermiştir.

Elektromanyetik alana maruziyetin gebeler ve intrauterin hayata olası olumsuz etkileri toplumda endişe ile karşılanmaktadır. Buna karşın elektromanyetik alanın fetuse etkileri ile ilgili literatürde az sayıda çalışma mevcuttur.

Özellikle elektromanyetik alanın fare embriyolarına etkilerinin incelendiği bir çalışmada her gün 4 saat süre ile 2 hafta boyunca uygulanan 50 Hz 0,5 mT elektromanyetik alanın, maruz kalan grupta blastokist sayısının istatistiksel olarak anlamlı azalttığını, DNA fragmentasyon indeksinin anlamlı arttırdığını saptamışlardır (132). Bunun yanı sıra elektromanyetik alanın teratojen olmadığı yönünde bulgular da mevcuttur (133, 134)

Oksidatif stres sonucu oluşmuş süperoksit radikalleri, makromoleküllerin oksidasyonuna ve mitokondri DNA'sında mutasyona, yaşlanmaya ve hücre ölümüne sebep olmaktadır. Mitokondride oluşan SOR, sitokrom C gibi proapoptotik proteinlerin salınmasına kaspaz aktivasyonuna ve apoptoza neden olmaktadır (135).

Oksidatif stres ile apoptoz arasındaki yakın ilişki çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (96-100). Apoptotik faktörler ile anti-apoptotik faktörler arasındaki denge böbreğin embriyolojik gelişiminde, böbrek hastalıklarında, kanser gelişiminde önemlidir (92-108). Doğal antioksidan moleküller ile oksidan moleküller arasındaki dengesizlik akut böbrek hasarı ve kronik böbrek hastalıklarına zemin hazırlamaktadır (136). Kronik böbrek hasarı düşük dereceli inflamatuvar reaksiyon sonucu gelişir, TNF- $\alpha$ , C-reaktif protein, adhezyon molekülleri ve IL6 inflamasyondan sorumlu moleküllerdir (136).

Oksidatif strese en duyarlı hücreler böbrek tübüler hücrelerdir. Akut böbrek hasarının geliştiği ilk dönemde apoptotik hücre sayısı artar, DNA fragmentasyonu gelişir. Guanozin-trifosfat depleksyonu, apoptozu p53 molekülü aracılığı ile uyarır. Sitozolden mitokondriye geçen p53 anti-apoptotik proteinler (Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1) ile proapoptotik (Bax, Bak, Bad) proteinleri birlikte uyarır. Mitokondri membranına hasar veren molekül olan Bax'ı p53, Bid, Bim uyarır. Membran geçirgenliği artar, sitokrom C, kaspaz aktive olur. Hücre içine aşırı kalsiyum geçişi apoptozun tamamlanmasında önemlidir. Sonuç olarak tübüler nekroz gelişir (137). İskemik hasar esnasında hem apoptoz hemde onkosis gelişir(138). TNF $\alpha$  dış yoldan apoptozu aktive eder, nükleer faktör-B (NF- $\kappa$ B) aktivasyonu ile lökosit migrasyonu ve sitokin ile adhezyon molekül ekspresyonunu artırır (139). Dış ve iç apoptotik yollar arası bağlantıyı sağlayan molekül TNF $\alpha$ 'dır. Tümör nekrozis faktör- $\alpha$  Bid'yi aktive eder ve kaspaza bağlı apoptoz gelişiminin gerçekleşmesinde görevlidir (140).

Elektromanyetik alan maruziyeti hücre proliferasyonu ile hücre ölümü arasındaki dengeyi bozar. Statik manyetik alana maruz bırakılan kültüre edilmiş böbrek hücrelerinde maruziyetin ilk saatlerinde apoptotik hücrelerin sayısında anlamlı artış olur, maruziyetin ilerleyen dönemlerinde antiapoptotik faktörlerin artışı ile apoptotik hücre sayısı ile proliferen hücre sayısı dengelenir ve daha sonra proliferen hücre sayısında artış saptanılır (31)

Çok düşük doz elektromanyetik alana maruziyetin DNA'da hasar yaptığı çeşitli çalışmalar ile desteklenmiştir (141-143). Lai ve Singh (144) 2,45 MHz elektromanyetik alana 0, 2, 4 saat süre ile maruz bırakılan farelerin beyin

dokularında DNA hasarı olduğunu ve apoptozun ilk saatlerden itibaren indüklendiğini saptamışlardır.

Fakat bazı araştırmacılarda elektromanyetik alanın DNA'ya hasar verici etkisi olmadığını saptamışlardır (145, 146). Tartışmalı sonuçların sebebi yine elektromanyetik alana maruziyetin süresi, yoğunluğu, çalışılan hücre tipi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (147). Normal şartlar altında DNA'nın kendi hasarını tamir edebilme özelliği vardır, ama uzun süreli maruziyet sonucu DNA hasarı artabilir. Ayrıca DNA'nın tek sarmalındaki hasarlar tamir olabilirken, çift sarmal hasarı olursa tamir yeteneği kaybolur, sonuç olarak hücre ölümü ve apoptoz gelişir (147).

Fare embriyonik nöral progenitör kök hücrelerine 50 Hz elektromanyetik alan uygulanması esnasında, ilk saatlerde DNA çift sarmal kırıklarında artış saptanırken 24. saat sonunda apoptoz açısından gruplar arası anlamlı fark olmadığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada Bcl-2 mRNA miktarının, Bax mRNA miktarına göre fazla olduğu, fakat sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir (148).

Tavuk embriyolarının 14 gün süre ile değişik yoğunluklarda elektromanyetik alana maruz bırakıldığı bir çalışmada hemotoksilen eozin ve TUNEL yöntemi ile incelenen embriyo beyin hücrelerinde apoptozun anlamlı derecede arttığı saptanmıştır (149).

Yoğun elektromanyetik alan uygulanan bir çalışmada ratların kartilaj dokusunda apoptozun 30. gün sonunda inhibe olduğu saptanmış. Maruziyet sonrası Bax mRNA ekspresyonunun azaldığı bulunmuş (150).

Kablosuz iletişim cihazlarının potansiyel olarak karsinojenik olabileceği yönünde araştırmalar mevcuttur. İsviçre'de 1985-1994 yılları arasında 53.692 erkeğin ve 180.529 kadının kanser enstitüsünün verilerinin incelendiği kohort bir çalışmanın sonuçlarına göre çok düşük elektromanyetik alana maruz kalan insanlarda erkeklerde böbrek, hipofiz bezi, sayfa kanalları ve karaciğer kanserlerinin daha sık görüldüğü, kadınlarda ise astrositom, uterus ve multiple myelom riskinin arttığı belirtilmiştir. Kolon kanseri, bağı dokusu kanserleri açısından azalmış bir risk olduğu saptanmıştır (151). Karsinojenik etkinin olası sebebi olarak DNA fragmentasyonu ve

hasarı ile apoptoz ile antiapoptotik faktörler arasındaki dengenin bozulması öne sürülmüştür (151).

Böbrek patolojilerinin imaj analiz yöntemleri ile değerlendirilmesinin araştırmacıların mikroskop altında değerlendirmesine göre gözlemler ve gözlemciler arasındaki uyumsuz sonuçları minimize indirdiği bildirilmektedir (152). İnsan gözü yalnızca kırmızı, yeşil ve maviden ibaret monokromatik ışıkların farklı kombinasyonda uygun şekilde karıştırılması ile oluşan renklere duyarlıdır. Image J programıda benzer şekilde kırmızı, yeşil ve mavi boyama skalalarını ölçmektedir. Fakat bireyler arasında, bu renklerin karışım oranlarını farklı algılama ve farklı yorumlama durumları olabilir. Geliştirilmiş bilgisayar programları ile hata payı minimize indirilmektedir. Daha objektif değerlendirmelerin yapılabilmesi için ImageJ ve benzeri programların kullanılması araştırmacılar tarafından önerilmektedir(152).

Apoptozis değerlendirilmesinde immunhistokimyasal boyanma yoğunluğunun ImageJ bilgisayar programı ile değerlendirildiği çeşitli çalışmalar literatürde yer almaktadır. Örneğin, klopidogrel'in böbreğin iskemi reperfüzyon hasarını ve apoptozisi önleyici etkisinin incelendiği bir çalışmada ImageJ programı ile incelenen kesitlerde integrin alfa IIb (CD 41) ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır (153). Aposininin hipertansiyondan bağımsız olarak tübüler apoptozu arttırdığını ve tübülointerstisyel fibrozu artırdığını gösteren bir diğer çalışmada da ImageJ programı ile fibrozis yoğunluğu değerlendirilmiştir (154). Amonyak taşıyıcı proteinlerin immun histokimyasal boyanma yoğunluğunun incelendiği çalışmada ImageJ programı ile protein boyanma yoğunluğu Sprague-Dawley rat böbreklerinde değerlendirilmiştir (155). Bir extraselüler matriks proteini olan lumikanın tümör büyümesini Fas aracılı endotel hücre apoptozunu indükleyerek azalttığını gösteren bir çalışmada CD31 boyanma yoğunlukları ImageJ programı ile değerlendirilmiştir (156).

İmmunhistokimyasal boyanmanın yoğunluğunu ışık mikroskopi altında incelediğimizde gruplar arasında anlamlı fark saptamadık. Fakat ImageJ bilgisayar programı ile inceleme sonucunda prenatal dönemde maruziyet grubunda Bcl-2 boyanmasının kortikal ve medüller düzeyde anlamlı derecede arttığını, Bax boyanma



yoğunluğunun aynı grupta kortikal bölgede azaldığını, Bcl-2/Bax boyanma yoğunluk oranının yine aynı grupta medüller ve kortikal alanda Bcl-2 lehine arttığı saptandı. Postnatal maruziyet grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu.

Bu sonuç iki şekilde yorumlanabilir. Birincisi prenatal dönemde elektromanyetik alana maruz bırakılan ratların böbreğinde erken dönemde indüklenen apoptotik süreç uzun dönemde antiapoptotik faktörler ile kompanse edilmeye çalışılıyor olabilir. İkinci yorum ise intrauterin hayatta elektromanyetik alana maruziyetin uzun dönemde kronik böbrek hastalıkları veya proliferatif hastalıklara dönüşüm açısından risk faktörü olabileceğidir.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışma ile intrauterin ve postnatal gelişme sürecinin devam ettiği dönemde, 2,45 GHz elektromanyetik alanın rat böbreklerinde oksidatif stresi artırdığını, apoptoz uyarılması ile apoptoz inhibisyonu arasındaki dengenin apoptoz inhibisyonu yönüne kaydığı gözlenmiştir. Bu sonuç, 2,45 GHz EMA'nın hayatın ilerleyen dönemlerinde böbrekte kalıcı hasar verici veya tümör gelişimini tetikleyici etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Yapılacak daha geniş ve kapsamlı çalışmalarla bulgularımızın karşılaştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇLAR

1. Prenatal dönemde uzun süreli elektromanyetik alana maruziyet, fetal böbrek dokusunda oksidatif hasara neden olmaktadır.
2. İntrauterin hayatta elektromanyetik alana maruz kalan prenatal grup ratlarda renal MDA seviyesi yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, elektromanyetik alana maruziyetin gelişimini tamamlamış böbrek dokusunda lipit peroksidasyonuna yol açtığını ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde patolojik süreçlere neden olabileceğini düşündürmektedir.
3. Postnatal grupta MDA seviyesi açısından kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır. Farkın olmamasının olası sebebi 12 hafta gibi uzun bir sürede doğal serbest oksijen radikaller ile antioksidan moleküller arasında adaptif bir mekanizmanın gelişmiş olması olabilir.
4. Böbrek dokusu SOD aktivitesi ve TAS seviyesi prenatal grupta düşüktür. Antioksidan sistemin anlamlı derecede baskılandığı görülmektedir.
5. Böbrek dokusu TOS seviyesinin prenatal grupta yüksek olması oksidatif stresin kontrollere göre fazla olduğunu göstermektedir.
6. Histopatolojik bulgular ve idrar NAG düzeyinin prenatal ve postnatal grupta kontrole göre yüksek bulunması oksidatif stresin en fazla tübüler alanı etkilediğini göstermektedir.
7. Prenatal maruziyet grubunda antiapoptotik faktörlerin artıp, apoptotik faktörlerin azalması elektromanyetik alana maruziyetin proliferatif değişiklikler açısından risk faktörü olduğunu düşündürmektedir.
8. İngilizce veri tabanlarını taradığımızda çalışmamız, prenatal dönemde 2,45 GHz elektromanyetik alanın fetal böbrek üzerine etkilerini inceleyen ilk çalışmadır.
9. Bu çalışma bize, 2,45 GHz elektromanyetik alana özellikle prenatal dönemde maruz kalmanın, böbrekte oksidatif strese sebep olabileceğini, böbrekte en fazla etkilenen bölgenin tübüler alan olduğunu, apoptoz ve antiapoptotik dengenin etkilendiğini, bunun da apoptoz inhibisyonuna sebep olabileceğini, proliferasyonu uyarılabileceğini göstermiştir.

10. Proliferasyonun uyarılması kronik böbrek hastalıkları ve böbreğin tümöral hastalıkları açısından yüksek risk oluşturabileceğini düşündürmektedir.
11. Bulgularımız literatürde bildirilen farklı frekanslardaki elektromanyetik alan çalışmalarının sonuçları ile genel olarak benzerlik göstermektedir.
12. Yapılacak daha geniş ve kapsamlı çalışmalarla bulgularımızın karşılaştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.
13. Özellikle gebeler ve küçük çocukların 2,45 GHz EMA kaynağından uzak mesafede bulunması ve uzun süreli maruziyetten kaçınılması gereklidir. Bu konuda önlemler alınması ve toplumun bilgilendirilmesi faydalı olacaktır.

## ÖZET

### **Prenatal ve Postnatal Dönemde Kablosuz Haberleşme Cihazlarına Uzun Süreli Maruziyetin Rat Böbrekleri Üzerine Etkileri**

Bu çalışmada, Wistar albino ratlara prenatal ve postnatal dönemde 2,45 GHz frekansında kablosuz elektromanyetik alan (EMA) uygulamasının, böbrek dokusu üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışma prenatal, postnatal ve kontrol grubu olmak üzere üç rat grubundan oluşturuldu. Prenatal grubun anneleri gebeliğin ilk gününden itibaren doğuma kadar 1 saat/gün süreyle, 2,45 GHz EMA'ya maruz bırakıldı. Postnatal grup doğumdan sonra 12 hafta boyunca 2,45 GHz EMA'ya maruz kaldı. Kontrol grubu yalnızca maruziyet grubundan oluşturuldu. Çalışma sonunda renal dokular ve idrar örnekleri incelenmek üzere alındı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında prenatal grubun böbrek doku malondialdehid (MDA) ( $P:0,01$ ) ve total oksidan seviyesi (TOS) ( $P:0,03$ ) yüksek ve total antioksidan seviye (TAS) ( $P:0,02$ ) ve superoksit dismutaz (SOD) ( $P:0,04$ ) düzeyleri düşük saptandı. Tüm gruplar arasında GSH-Px seviyeleri farklı değildi. İdrar NAG/kreatinin oranı prenatal ( $P<0,001$ ) ve postnatal ( $P: 0,006$ ) grupta kontrole göre anlamlı yüksek bulundu. Prenatal maruziyet grubunda mikroskopik tübüler hasar bulguları mevcuttu. Tüm gruplar arasında Bcl-2, Bax boyanmasının mikroskopik değerlendirilmesinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. ImageJ analiz programı ile değerlendirildiğinde, prenatal maruziyet grubunun kontroller ile karşılaştırıldığında, kortikal alanlarında Bax ile düşük yoğunlukta boyanma ( $P:0,01$ ), fakat Bcl-2 ile kortikal ve medüller alanlarda yüksek yoğunlukta boyanma saptandı (sırasıyla,  $P:0,005$ ,  $P:0,04$ ). Prenatal grupta kontrollere göre medüller ve kortikal alanlarda Bcl-2/Bax oranı daha yüksek bulundu (sırasıyla,  $P:0,007$ ,  $P:0,04$ ).

Sonuç olarak, prenatal dönemde kablosuz internet frekansında EMA'ya uzun süreli maruziyetin renal doku üzerinde zararlı etkileri olabilir. Özellikle gebelik döneminde kablosuz EMA maruziyetinden uzak durulması, fetal böbrek dokuları üzerine olumsuz etkileri önleyebilir.

**Anahtar kelimeler:** Kablosuz, elektromanyetik alan, böbrek, oksidatif stres, apoptoz

## SUMMARY

### Effects of 2,45 GHz Wireless Communication Devices on Rat Kidney in Prenatal and Postnatal Period

The aim of this study was to investigate the effect of long time wireless electromagnetic field (EMF) with a frequency of 2.45 GHz exposure on renal tissues of male Wistar albino rats, pre- and postnatal period.

The study was composed of three groups of rats, which were prenatal, postnatal and control groups. Mothers of prenatal group were exposed to the 2.45 GHz EMF for 1h/day from the first day of pregnancy to delivery. The postnatal group was exposed to the 2,45 GHz EMF for 1h/day during 12 weeks after the birth. The control group consisted of sham exposed group. All rats renal tissue and spot urine specimens were obtained for analysis at the end of study.

Higher renal tissue malondialdehyde (MDA) levels ( $P$ : 0.01) and total oxidative status (TOS) ( $P$ : 0.03) and lower total antioxidative status (TAS) ( $P$ : 0.02) and superoxide dismutase (SOD) ( $P$ : 0.04) levels was found in prenatal group. GSH-Px levels did not differ between groups. Urine NAG/creatinine ratio was found significantly higher in pre- and postnatal groups than controls ( $P < 0.001$ ). Microscopic tubular injury findings was detected in prenatal exposure group. Microscopic examinations of Bcl-2, Bax staining of the specimens were found no difference in all groups. ImageJ analyse program showed low intensity staining with Bax at cortical areas in prenatal exposure group ( $P$ :0.01), however staining with Bcl-2 at cortical and medullary areas was found higher intensity in prenatal group when compared with controls, (respectively,  $P$ :0.005,  $P$ :0.04). Bcl-2/Bax intensity ratio in medullary and cortical areas in prenatal group was higher than controls, (respectively,  $P$ :0.007,  $P$ :0.04).

In conclusion, exposure for a long term to wireless internet frequency of EMF during prenatal period might have detrimental effects on renal tissue. Avoidance of wireless EMF exposure, especially in pregnancy period might prevent the negative effects on fetal renal tissues.

**Key words:** Wireless, electromagnetic field, kidney, oxidative stress, apoptosis

## KAYNAKLAR

1. 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. ISBN 978-3-934994-10-2. <http://www.icnirp.de/PubMost.htm>. Erişim tarihi: 31.05.2011.
2. Rööslı M, Frei P, Mohler E, Hug K. Systematic review on the health effects of exposure to radiofrequency electromagnetic fields from mobile phone base stations. *Bull World Health Organ* 2010; 88(12): 887-96.
3. Adey WR. ELF Magnetic Fields and Promotion of Cancer: Experimental Studies. Ed: Norden B, Ramel C. Interaction of Low-Level Electromagnetic Fields in Living Systems 1992; 23-47
4. Ahlbom A, Day N, Feychting M, Roman E, Skinner J, Dockerty J, et al. A Pooled Analysis of Magnetic Fields and Childhood Leukemia. *British Journal of Cancer* 2000; 83(5): 692-8
5. Anderson V, Rowley J. Measurements of skin surface temperature during mobile phone use. *Bioelectromagnetics* 2007;28(2):159-62
6. Adair ER, Mylacraıne KS, Cobb BL. Human exposure to 2450 MHz CW energy at levels outside the IEEE C95.1 standard does not increase core temperature. *Bioelectromagnetics* 2001;22(6):429-39
7. Flyckt VM, Raaymakers BW, Kroeze H, Lagendijk JJ. Calculation of SAR and temperature rise in a high-resolution vascularized model of the human eye and orbit when exposed to a dipole antenna at 900, 1500 and 1800 MHz. *Phys Med Biol* 2007;52(10):2691-701
8. Velizarov S, Raskmark P, Kwee S. The effects of radiofrequency fields on cell proliferation are non-thermal. *Bioelectrochem Bioenerg* 1999;48(1):177-80
9. Yalçın A, Arpacı F, Çetin T. Radyasyonun Hematolojik Sistem Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri* 1991; 11: 103-8
10. Waselenko JK, MacVittie TJ, Blakely WF, Pesik N, Wiley AL, Dickerson WE, et al; Strategic National Stockpile Radiation Working Group. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group. *Ann Intern Med* 2004;140(12):1037-51
11. Pilla A, Fitzsimmons R, Muehsam D, Wu J, Rohde C, Casper D. Electromagnetic fields as first messenger in biological signaling: Application to calmodulin-dependent signaling in tissue repair. *Biochim Biophys Acta* 2011;1810(12):1236-45
12. Robert E. Intrauterine effects of electromagnetic fields--(low frequency, mid-frequency RF, and microwave): review of epidemiologic studies. *Teratology* 1999;59(4):292-8.
13. Şeker S, Çerezci O. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri Güvenlik Standartları ve Korunma Yöntemleri. *İstanbul Boğaziçi Üniversitesi Yayınları* 1991;479:95-127
14. Coşkun Ö. Sinir dokusu modelinde analizinde gerçekçi model ve dışsal manyetik alandan etkilene mekanizmasının analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik ABD Doktora Tezi, Isparta (Doç. Dr. Suat Özkorucuklu ve Yrd.Doç.Dr. Selçuk Çömlekçi) 2009.

15. Sanalan Y. Nükleer Olmayan Radyasyon da Var. *Elektromanyetik Kirlilik Etkileri Sempozyum Kitabı* 1999:1-4
16. Wallaczek J. Electromagnetic Field Effects on Cells of the Immune System: The Role of Calcium Signaling. *FASEB J* 1992; 6(13): 3177-85
17. Mausset-Bonnefont AL, Hirbec H, Bonnefont X, Privat A, Vignon J, de Sèze R. Acute exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields induces glial reactivity and biochemical modifications in the rat brain. *Neurobiol Dis* 2004;17(3):445-54
18. Aliyev F, Türkoğlu C, Celiker C, Uzunhasan I. Electromagnetic interference with electrocardiogram recording of exercise test equipment. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2010;38(5):352-4.
19. Aydın 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(3):153-8
20. 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(3):257-62.
21. Garaj-Vrhovac V, Gajski G, Pažanin S, Sarolić A, Domijan AM, Flajs D, Peraica M. 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(1):59-65.
22. Emre M, Cetiner S, Zencir S, Unlukurt I, Kahraman I, Topcu Z. Oxidative stress and apoptosis in relation to exposure to magnetic field. *Cell Biochem Biophys* 2011;59(2):71-7.
23. Ozguner F, Oktem F, Ayata A, Koyu A, Yilmaz HR. A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester prevents long-term mobile phone exposure-induced renal impairment in rat. Prognostic value of malondialdehyde, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and nitric oxide determination. *Mol Cell Biochem* 2005;277(1-2):73-80.
24. Ozguner F, Oktem F, Armagan A, Yilmaz R, Koyu A, Demirel R, et al. Comparative analysis of the protective effects of melatonin and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on mobile phone-induced renal impairment in rat. *Mol Cell Biochem* 2005;276(1-2):31-7
25. Ozturk A, Baltaci AK, Mogulkoc R, Oztekin E. Zinc prevention of electromagnetically induced damage to rat testicle and kidney tissues. *Biol Trace Elem Res* 2003;96(1-3):247-54
26. Schmitz C, Keller E, Freuding T, Silny J, Korr H. 50-Hz magnetic field exposure influences DNA repair and mitochondrial DNA synthesis of distinct cell types in brain and kidney of adult mice. *Acta Neuropathol* 2004;107(3):257-64
27. Kiiatkin VA, Karpukhin IV, Esilevskiĭ IuM, Ufimtseva AG, Severgina EV. [Use of super-high frequency electromagnetic fields on intrarenal circulation and morphological status of health kidneys (experimental study)]. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 2000;(6):34-9.
28. Martínez-Sámáno J, Torres-Durán PV, Juárez-Oropeza MA, Elías-Viñas D, Verdugo-Díaz L. Effects of acute electromagnetic field exposure and movement restraint on antioxidant system in liver, heart, kidney and plasma of Wistar rats: a preliminary report. *Int J Radiat Biol* 2010;86(12):1088-94.

29. Svedenstål BM, Johanson KJ. Effects of exposure to 50Hz or 20kHz [corrected] magnetic fields on weights of body and some organs of CBA mice. *In Vivo* 1998;12(3):293-8.
30. Accinni L, De Martino C, Mariutti G. Effects of radiofrequency radiation on rabbit kidney: a morphological and immunological study. *Exp Mol Pathol* 1988;49(1):22-37
31. Buemi M, Marino D, Di Pasquale G, Floccari F, Senatore M, Aloisi C, et al. Cell proliferation/cell death balance in renal cell cultures after exposure to a static magnetic field. *Nephron* 2001;87(3):269-73.
32. Nicholas JS, Lackland DT, Dosemeci M, Mohr LC Jr, Dunbar JB, Grosche B, et al. Mortality among US commercial pilots and navigators. *J Occup Environ Med* 1998;40(11):980-5.
33. Tarricone L, Cito C, D'inzeo G. A GH Receptor Channels Interaction with MW Fields. *Bioelectrochemistry Bioenergetics* 1993;30:93-102
34. Cleary SF. Effects of Radiofrequency Radiation on Mammalian Cells and Biomolecules in vitro. *Washington: American Chemical Societ* 1995: 467-77.
35. 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
36. Allis JW, Sinha-Robinson BL. Temperature Specific Inhibition of Human Red Cell Na/K ATPase by 2450 MHz Microwave Radiation. *Bioelectromagnetics* 1987; 8: 203-12
37. 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
38. 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(3): 341-51
39. Byus CV, Kartum K, Pieper S, Adey WR. Increased Ornithine Decarboxylase Activity in Cultural Cells Exposed to Low-Energy Modulated Microwave Fields and Phorbol Ester Tumor Promoters. *Cancer Research* 1988; 48: 4222-6.
40. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 2004;15(1-2):91-96.
41. Kus I, Zararsız I, Yılmaz HR, Türkoglu AÖ, Pekmez H, Sarsılmaz M. The protective effects of melatonin hormone against exposure of Formaldehyde-induced oxidative damage in prefrontal cortex of rats. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004;13(2):1-7.
42. Gutteridge J M C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry* 1995;41: 1819-1828.
43. Mantha S V, Prasad M Kaka J, Prasad K. Antioxidant enzymes in hypercholesterolemia and effects of vitamin E in rabbits. *Atherosclerosis* 1993;101:135-144.
44. Reiter R J. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J* 1995;9:526-533.
45. Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafariet K. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp Biochem Physiol C* 2003;135:331-336.



46. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit* 2004;10:141-147.
47. Del Maestro R. Trace elements, micronutrients and free radicals. Dreosti IE(ed). Humano Press Inc. Cliton. 1991;25-51.
48. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. *Mayo Clin Proc* 1988;63(4):381-389.
49. Datta C, Gupta J, Sarkar A, Sengupta D. Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Indian Journal of Experimental Biology* 1992;30:65-67
50. Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 222-30.
51. Liu Y, Fiskum G, Schubert D. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. *J Neurochem* 2002; 80: 780-7.
52. Choksi KB, Nuss JE, Boylston WH, Rabek JP, Papaconstantinou J. Age-related increases in oxidatively damaged proteins of mouse kidney mitochondrial electron transport chain complexes. *Free Radic Biol Med* 2007; 43: 1423-38.
53. Granata S, Zaza G, Simone S, Villani G, Latorre D, Pontrelli P, et al. Mitochondrial dysregulation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *BMC Genomics* 2009; 10: 388.
54. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med* 2009; 30: 42-59.
55. Meng Q, Wong YT, Chen J, Ruan R. Age-related changes in mitochondrial function and antioxidant enzyme activity in Fischer 344 rats. *Mech Ageing Dev* 2007; 128: 286-92.
56. Visarius TM, Putt DA, Schare JM, Pegouske DM, Lash LH. Pathways of glutathione metabolism and transport in isolated proximal tubular cells from rat kidney. *Biochem Pharmacol* 1996; 52: 259-72.
57. Hall AM, Unwin RJ, Parker N, Duchon MR. Multiphoton imaging reveals differences in mitochondrial function between nephron segments. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 1293-1302.
58. Savickiene J, Treigyte G, Pivoriunas A, Navakauskiene R, Magnusson KE. Sp1 and NF-kappaB transcription factor activity in the regulation of the p21 and FasL promoters during promyelocytic leukemia cell monocytic differentiation and its associated apoptosis. *Ann NY Acad Sci* 2004; 1030: 569-77.
59. Greiber S, Muller B, Daemisch P, Pavenstadt H. Reactive oxygen species alter gene expression in podocytes: induction of granulocyte macrophage-colony-stimulating factor. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 86-95.
60. Arany I, Faisal A, Clark JS, Vera T, Baliga R, Nagamine Y. p66 shc-mediated mitochondrial dysfunction in renal proximal tubule cells during oxidative injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010. (Epub ahead of print)
61. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Free radicals in medicine. *Br Med Bull* 1993;9:481-93.
62. Turi S, Nemeth I, Torkos A, Saghy L, Varga I, Matkovics B, et al. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Radic Biol Med* 1997;22:161-8.
63. Fydryk J, Jacobson E, Kurzawska O, Malecka G, Gonet B, Urasinski T, et al. Antioxidant status of children with steroid sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1998;12:751-4.

64. Kamireddy R, Kavuri S, Devi S, Vemula H, Chandana D, Harinarayanan S, et al. Oxidative stress in pediatric nephrotic syndrome. *Clin Chim Acta* 2002;325(1-2):147-50.
65. Kinra S, Rath B, Kabi BC. Indirect quantification of lipid peroxidation in steroid responsive nephrotic syndrome. *Arch Dis Child* 2000;82:76-8
66. Poelstra K, Hardonk MJ, Koudstaal J, Bakker WW. Intraglomerular platelet aggregation and experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 1990;37(6):1500-8.
67. Boyce NW, Tipping PG, Holdsworth SR. Glomerular macrophages produce reactive oxygen species in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 1989;35(3):778-82.
68. Shah SV, Baricos WH, Basci A. Degradation of human glomerular basement membrane by stimulated neutrophils. Activation of a metalloproteinase(s) by reactive oxygen metabolites. *J Clin Invest* 1987;79(1):25-31.
69. Rehan A, Johnson KJ, Kunkel RG, Wiggins RC. Role of oxygen radicals in phorbol myristate acetate-induced glomerular injury. *Kidney Int* 1985;27(3):503-11.
70. Johnson RJ, Couser WG, Chi EY, Adler S, Klebanoff SJ. New mechanism for glomerular injury. Myeloperoxidase-hydrogen peroxide-halide system. *J Clin Invest* 1987;79(5):1379-87.
71. Budisavljevic MN, Hodge L, Barber K, Fulmer JR, Durazo-Arvizu RA, Self SE, et al. Oxidative stress in the pathogenesis of experimental mesangial proliferative glomerulonephritis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;285(6):F1138-48.
72. Kawaguchi M, Yamada M, Wada H, Okigaki T. Roles of active oxygen species in glomerular epithelial cell injury in vitro caused by puromycin aminonucleoside. *Toxicology* 1992;72(3):329-40.
73. Ricardo SD, Bertram JF, Ryan GB. Reactive oxygen species in puromycin aminonucleoside nephrosis: in vitro studies. *Kidney Int* 1994;45(4):1057-69.
74. Kawamura T, Yoshioka T, Bills T, Fogo A, Ichikawa I. Glucocorticoid activates glomerular antioxidant enzymes and protects glomeruli from oxidant injuries. *Kidney Int* 1991;40(2):291-301.
75. Craven PA, DeRubertis FR, Kagan VE, Melhem M, Studer RK. Effects of supplementation with vitamin C or E on albuminuria, glomerular TGF-beta, and glomerular size in diabetes. *J Am Soc Nephrol* 1997;8(9):1405-14.
76. Studer RK, Craven PA, DeRubertis FR. Antioxidant inhibition of protein kinase C-signaled increases in transforming growth factor-beta in mesangial cells. *Metabolism* 1997;46(8):918-25.
77. Park SH, Choi HJ, Lee JH, Woo CH, Kim JH, Han HJ. High glucose inhibits renal proximal tubule cell proliferation and involves PKC, oxidative stress, and TGF-beta 1. *Kidney Int* 2001;59(5):1695-705.
78. Noronha IL, Fujihara CK, Zatz R. The inflammatory component in progressive renal disease--are interventions possible? *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(3):363-8.
79. Kang BP, Frencher S, Reddy V, Kessler A, Malhotra A, Meggs LG. High glucose promotes mesangial cell apoptosis by oxidant-dependent mechanism. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;284(3):F455-66.
80. Broedbaek K, Weimann A, Stovgaard ES, Poulsen HE. Urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a biomarker in type 2 diabetes. *Free Radic Biol Med* 2011;51(8):1473-9.

81. Horie K, Miyata T, Maeda K, Miyata S, Sugiyama S, Sakai H, et al. Immunohistochemical colocalization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1997;100(12):2995-3004.
82. Haugen E, Nath KA. The involvement of oxidative stress in the progression of renal injury. *Blood Purif* 1999;17(2-3):58-65.
83. Tang S, Leung JC, Abe K, Chan KW, Chan LY, Chan TM, et al. Albumin stimulates interleukin-8 expression in proximal tubular epithelial cells in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 2003;111(4):515-27.
84. Harris DC, Tay C, Nankivell BJ. Lysosomal iron accumulation and tubular damage in rat puromycin nephrosis and ageing. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1994;21(2):73-81.
85. Dasch Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Early prediction of IgA nephropathy progression: proteinuria and AOPP are strong prognostic markers. *Kidney Int* 2004;66(4):1606-12.
86. Tanaka H, Komaba H, Koizumi M, Kakuta T, Fukagawa M. Role of uremic toxins and oxidative stress in the development of chronic kidney disease-mineral and bone disorder. *J Ren Nutr* 2012;22(1):98-101.
87. Alvarez-Lario B, Macarrón-Vicente J. Is there anything good in uric acid? *QJM* 2011;104(12):1015-24.
88. Draï J, Bannier E, Chazot C, Hurot JM, Goedert G, Jean G, et al. Oxidants and antioxidants in long-term haemodialysis patients. *Farmacologia* 2001;56(5-7):463-5.
89. Nagase S, Aoyagi K, Hirayama A, Gotoh M, Ueda A, Tomida C, et al. Favorable effect of hemodialysis on decreased serum antioxidant activity in hemodialysis patients demonstrated by electron spin resonance. *J Am Soc Nephrol* 1997;8(7):1157-63.
90. Green DR, Kroemer G. Pharmacological manipulation of cell death: clinical applications in sight? *J Clin Invest* 2005;115(10):2610-7.
91. Sanz AB, Santamaría B, Ruiz-Ortega M, Egido J, Ortiz A. Mechanisms of renal apoptosis in health and disease. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(9):1634-42.
92. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007;35(4):495-516.
93. Bosman FT, Visser BC, van Oeveren J. Apoptosis: pathophysiology of programmed cell death. *Pathol Res Pract* 1996;192(7):676-83
94. Solakoğlu Z. Apoptoz varlığı ya da yokluğu bir hastalık nedeni. *Klinik Gelişim* 2009; 22 (3): 20-25
95. Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell death in development. *Cell* 1999;96(2):245-54.
96. Schultz DR, Harrington WJ Jr. Apoptosis: programmed cell death at a molecular level. *Semin Arthritis Rheum* 2003;32(6):345-69.
97. Kukhta VK, Marozkina NV, Sokolchik IG, Bogaturova EV. Molecular mechanisms of apoptosis. *Ukr Biokhim Zh* 2003;75(6):5-9.
98. Fischer U, Schulze-Osthoff K. New approaches and therapeutics targeting apoptosis in disease. *Pharmacol Rev* 2005;57(2):187-215
99. Jin Z, El-Deiry WS. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther* 2005;4(2):139-63.

100. Arnoult D, Parone P, Martinou JC, Antonsson B, Estaquier J, Ameisen JC. Mitochondrial release of apoptosis-inducing factor occurs downstream of cytochrome c release in response to several proapoptotic stimuli. *J Cell Biol* 2002;159(6):923-9
101. Gupta S. Molecular steps of death receptor and mitochondrial pathways of apoptosis. *Life Sci* 2001;69(25-26):2957-64
102. Xu G, Shi Y. Apoptosis signaling pathways and lymphocyte homeostasis. *Cell Res* 2007;17(9):759-71
103. Bates CM. Role of fibroblast growth factor receptor signaling in kidney development. *Pediatr Nephrol* 2011;26(9):1373-9.
104. Sanz AB, Santamaría B, Ruiz-Ortega M, Egido J, Ortiz A. Mechanisms of renal apoptosis in health and disease. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(9):1634-42
105. Kaushal GP, Basnakian AG, Shah SV. Apoptotic pathways in ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2004;66(2):500-6
106. Ortiz A, Justo P, Catalán MP, Sanz AB, Lorz C, Egido J. Apoptotic cell death in renal injury: the rationale for intervention. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2002;2(2):181-92
107. Erkan E, Garcia CD, Patterson LT, Mishra J, Mitsnefes MM, Kaskel FJ, et al. Induction of renal tubular cell apoptosis in focal segmental glomerulosclerosis: roles of proteinuria and Fas-dependent pathways. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(2):398-407
108. Sanz AB, Santamaría B, Ruiz-Ortega M, Egido J, Ortiz A. Mechanisms of renal apoptosis in health and disease. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(9):1634-42
109. Gabriel C, Gabriel S. Compilation of the Dielectric Properties of Body Tissues at RF and Microwave Frequencies. *Brooks Air Force Technical Report*. 1996; AL/OE-TR-0037
110. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folinphenol reagents. *J Biol Chem* 193;265-275,1951.
111. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood various breed crosses of sheep. *Res Vet Sci* 1983;34:69-77.
112. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-69
113. Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186:421-431.
114. Yakata M, Sugita O, Sakai T, Uchiyama K, Wada K. Urinary enzyme determination and its clinical significance. C. Enzyme derived from the kidney epithelium: *N*-Acetyl-beta-d-glucosaminidase. Preclinical evaluation of the urinary NAG activity and changes in the renal disease. *Rinsho Byori* 1983; 56: 90-101.
115. 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(4):1157-76.
116. 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(4):532-8.
117. Findlay RP, Dimbylow PJ. SAR in a child voxel phantom from exposure to wireless computer networks (Wi-Fi). *Phys Med Biol* 2010;55(15):N405-11.

118. 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(6):1511-25.
119. Rollwitz J, Lupke M, Simkó M. Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow-derived promonocytes and macrophages. *Biochim Biophys Acta* 2004;1674(3):231-8.
120. Lee BC, Johng HM, Lim JK, Jeong JH, Baik KY, Nam TJ, et al. Effects of extremely low frequency magnetic field on the antioxidant defense system in mouse brain: a chemiluminescence study. *J Photochem Photobiol B* 2004;73(1-2):43-8.
121. Yokus B, Cakir DU, Akdag MZ, Sert C, Mete N. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electro magnetic fields. *Free Radic Res* 2005 ;39(3):317-23.
122. Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 1994;65(1):27-33.
123. Moustafa YM, Moustafa RM, Belacy A, Abou-El-Ela SH, Ali FM. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidase activities in human erythrocytes. *J Pharm Biomed Anal* 2001;26(4):605-8.
124. Irmak MK, Fadillioğlu E, Güleç M, Erdoğan H, Yağmurca M, Akyol O. Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits. *Cell Biochem Funct* 2002;20(4):279-83.
125. İlhan 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 Feb;340(1-2):153-62.
126. Goraca A, Ciejka E, Piechota A. Effects of extremely low frequency magnetic field on the parameters of oxidative stress in heart. *J Physiol Pharmacol* 2010;61(3):333-8.
127. Akdag MZ, Dasdag S, Aksen F, Isik B, Yilmaz F. Effect of ELF magnetic fields on lipid peroxidation, sperm count, p53, and trace elements. *Med Sci Monit* 2006;12(11):BR366-71.
128. Dasdag S, Zulkuf Akdag M, Aksen F, Yilmaz F, Bashan M, Mutlu Dasdag M, et al. Whole body exposure of rats to microwaves emitted from a cell phone does not affect the testes. *Bioelectromagnetics* 2003;24(3):182-8.
129. Brescia F, Sarti M, Massa R, Calabrese ML, Sannino A, Scarfi MR. Reactive oxygen species formation is not enhanced by exposure to UMTS 1950 MHz radiation and co-exposure to ferrous ions in Jurkat cells. *Bioelectromagnetics* 2009;30(7):525-35.
130. Di Loreto S, Falone S, Caracciolo V, Sebastiani P, D'Alessandro A, Mirabilio A, et al. Fifty hertz extremely low-frequency magnetic field exposure elicits redox and trophic response in rat-cortical neurons. *J Cell Physiol* 2009;219(2):334-43.
131. Brescia F, Sarti M, Massa R, Calabrese ML, Sannino A, Scarfi MR. Reactive oxygen species formation is not enhanced by exposure to UMTS 1950 MHz radiation and co-exposure to ferrous ions in Jurkat cells. *Bioelectromagnetics* 2009;30(7):525-35.
132. Borhani N, Rajaei F, Salehi Z, Javadi A. Analysis of DNA fragmentation in mouse embryos exposed to an extremely low-frequency electromagnetic field. *Electromagn Biol Med* 2011;30(4):246-52.
133. Nishimura I, Imai S, Negishi T. Lack of chick embryotoxicity after 20 kHz, 1.1 mT magnetic field exposure. *Bioelectromagnetics* 2009;30(7):573-82.

134. Lee HJ, Paek JK, Gimm YM, Choi HD, Kim N, Kim SH, et al. Teratological evaluation of mouse fetuses exposed to a 20 kHz EMF. *Bioelectromagnetics* 2009;30(4):330-3.
135. Ott M, Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis* 2007;12(5):913-22. Review.
136. Cachofeiro V, Goicochea M, de Vinuesa SG, Oubiña P, Lahera V, Luño J. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2008;(111):S4-9.
137. Dagher PC. Apoptosis in ischemic renal injury: roles of GTP depletion and p53. *Kidney Int* 2004;66(2):506-9.
138. Devalaraja-Narashimha K, Diener AM, Padanilam BJ. Cyclophilin D gene ablation protects mice from ischemic renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;297(3):F749-59.
139. Wu X, Guo R, Chen P, Wang Q, Cunningham PN. TNF induces caspase-dependent inflammation in renal endothelial cells through a Rho- and myosin light chain kinase-dependent mechanism. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;297(2):F316-26.
140. Campbell MT, Dagher P, Hile KL, Zhang H, Meldrum DR, Rink RC, Meldrum KK. Tumor necrosis factor-alpha induces intrinsic apoptotic signaling during renal obstruction through truncated bid activation. *J Urol* 2008;180(6):2694-700.
141. Lai H, Singh NP. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. *Environ Health Perspect* 2004;112(6):687-94.
142. Garaj-Vrhovac V, Horvat D, Koren Z. The effect of microwave radiation on the cell genome. *Mutat Res* 1990;243(2):87-93.
143. Garaj-Vrhovac V, Horvat D, Koren Z. The relationship between colony-forming ability, chromosome aberrations and incidence of micronuclei in V79 Chinese hamster cells exposed to microwave radiation. *Mutat Res* 1991;263(3):143-9.
144. Lai H, Singh NP. Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 1995;16(3):207-10.
145. Sannino A, Di Costanzo G, Brescia F, Sarti M, Zeni O, Juutilainen J, et al. Human fibroblasts and 900 MHz radiofrequency radiation: evaluation of DNA damage after exposure and co-exposure to 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5h)-furanone (MX). *Radiat Res* 2009;171(6):743-51.
146. Huang TQ, Lee MS, Oh E, Zhang BT, Seo JS, Park WY. Molecular responses of Jurkat T-cells to 1763 MHz radiofrequency radiation. *Int J Radiat Biol* 2008;84(9):734-41.
147. Desai NR, Kesari KK, Agarwal A. Pathophysiology of cell phone radiation: oxidative stress and carcinogenesis with focus on male reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;7:114.
148. Nikolova T, Czyz J, Rolletschek A, Blyszczuk P, Fuchs J, Jovtchev G, et al. Electromagnetic fields affect transcript levels of apoptosis-related genes in embryonic stem cell-derived neural progenitor cells. *FASEB J* 2005;19(12):1686-8.
149. Lahijani MS, Bigdeli MR, Kalantary S. Effects of sinusoidal electromagnetic fields on histopathology and structures of brains of preincubated white Leghorn chicken embryos. *Electromagn Biol Med* 2011;30(3):146-57.

150. Basile A, Zeppa R, Pasquino N, Arra C, Ammirante M, Festa M, et al. Exposure to 50 MHz electromagnetic field raises the levels of the anti-apoptotic protein BAG3 in melanoma cells. *J Cell Physiol* 2011;226(11):2901-7.
151. Håkansson N, Floderus B, Gustavsson P, Johansen C, Olsen JH. Cancer incidence and magnetic field exposure in industries using resistance welding in Sweden. *Occup Environ Med* 2002;59(7):481-6.
152. Rangan GK, Tesch GH. Quantification of renal pathology by image analysis. *Nephrology (Carlton)* 2007;12(6):553-8.
153. Hu H, Batteux F, Chéreau C, Kavian N, Marut W, Gobeaux C, et al. Clopidogrel protects from cell apoptosis and oxidative damage in a mouse model of renal ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2011;225(2):265-75.
154. Liu F, Wei CC, Wu SJ, Chenier I, Zhang SL, Filep JG, Ingelfinger JR, Chan JS. Apocynin attenuates tubular apoptosis and tubulointerstitial fibrosis in transgenic mice independent of hypertension. *Kidney Int* 2009;75(2):156-66.
155. Kim HY, Baylis C, Verlander JW, Han KH, Reungjui S, Handlogten ME, Weiner ID. Effect of reduced renal mass on renal ammonia transporter family, Rh C glycoprotein and Rh B glycoprotein, expression. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;293(4):F1238-47.
156. Williams KE, Fulford LA, Albig AR. Lumican reduces tumor growth via induction of fas-mediated endothelial cell apoptosis. *Cancer Microenviron* 2010;4(1):115-26.