

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**KABLOSUZ HABERLEŞME CİHAZLARINA PRENATAL VE  
POSTNATAL UZUN SÜRELİ MARUZİYETİN DİŞİ WİSTAR  
RATLARDA BÜYÜME VE PUBERTAL GELİŞİM ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

**Uz. Dr. Özlem SANGÜN**

**PEDİATRİK ENDOKRİNOLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Bumin DÜNDAR**

**Bu tez, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından  
1961-TU-09 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ISPARTA - 2011**

## ÖNSÖZ

Pediyatrik Endokrinoloji yan dal uzmanı olarak yetişmemi sağlayan, bu tezin oluşturulmasında beni başından sonuna kadar yönlendiren, her konuda yardım ve bilgilerini esirgemedi, bilimsel çalışmanın gereklerini öğreten, sonsuz enerjisi ve çalışkanlığına hayranlık duyduğum, bana her mekanda ve her koşulda iyi işler yapılabilceğini hatırlatan, sahip olduğum zor koşullarda sabrını ve desteğini her zaman hissettiğim, sayın Doç. Dr. Bumin Dündar'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Birlikte saygı ve sevgi içinde çalıştığımız, bilgi ve deneyimlerinden çok yararlandığım, sayın hocalarım Prof. Dr. Ahmet Rıfat Örmeci, Prof. Dr. Ali Ayata, Prof. Dr. Duran Canatan, Doç. Dr. Faruk Öktem, Doç. Dr. Mustafa Akçam, Doç. Dr. Metehan Özen ve Yrd. Doç. Dr. Nihal Olgaç Dündar'a; tez çalışmam ile ilgili deney düzeneğinin kurulmasını sağlayan ve teknik bilgilerinden çok yararlandığım Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği A.B.D. öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Selçuk Çömlekçi'ye; laboratuvar çalışmalarını titizlikle yürüten Biyokimya A.B.D öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul Doğuç'a ve başta Dr. Süheyla Çelik olmak üzere tüm biyokimya laboratuvarı çalışanları ve araştırma görevlilerine; Histoloji ve Embriyoloji A.B.D araştırma görevlisi Dr. Hakan Darıcı'ya; Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'mızın çalışanlarına ve laboratuvarın sayın yöneticisi Prof. Dr. Mustafa Nazıroğlu'na çok teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte olmaktan keyif aldığım bütün çalışma arkadaşlarıma, klinik hemşire ve personeline, eğitimim süresince her zaman en büyük desteği gördüğüm sevgili eşim ve aileme, yaşama sevincim çocuklarım İDİL SELEN ve yan dal eğitimimle birlikte büyüttüğüm DURU İPEK'ime en içten teşekkürlerimi sunarım.

**Uz. Dr. Özlem SANGÜN**

## 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>vi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. EMA Nedir? .....	3
2.1.1. Elektromanyetik Spektrum .....	4
2.1.2. EMD Türleri.....	4
2.1.3. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Etki Mekanizması.....	5
2.1.4. Elektriksel, Manyetik ve Elektromanyetik Alanlardaki Temel Sınırlamalar .....	6
2.1.5. Elektromanyetik Enerjinin İnsan Vücudu Tarafından Emilimi .....	8
2.1.6. RF Alanlarına Maruziyetin Biyolojik Etkileri .....	9
2.1.6.1. İn vitro Çalışmalar.....	9
2.1.6.2. İn vivo Çalışmalar .....	9
2.1.6.3. RF Alanlara Maruziyetin Davranışsal Etkileri.....	10
2.1.6.4. RF'nin Sağlık Üzerine Diğer Etkileri .....	11
2.2. Büyüme Fizyolojisi .....	11
2.2.1. İntrauterin Büyüme .....	12
2.2.1.1. Genetik Faktörler .....	12
2.2.1.2. Hormonlar ve Büyüme Faktörleri .....	12
2.2.1.3. Uterus İçi Ortam.....	13
2.2.2. Postnatal Büyüme .....	13
2.2.2.1. Genetik Faktörler .....	13
2.2.2.2. Beslenme .....	14
2.2.2.3. Hormonal Faktörler .....	14
2.2.2.4. Kronik Hastalıklar .....	15
2.2.2.5. Psikolojik Faktörler.....	15
2.3. Pubertal Fizyoloji .....	15
2.3.1. Puberteyi Etkileyen Faktörler .....	15

2.3.1.1. Gonadostat-GNRH Puls Jeneratör .....	16
2.3.1.2. Ovaryumdan Seks Hormon Sekresyonunu Kontrol Eden Mekanizmalar.....	17
2.4. EMA ve Büyüme.....	19
2.5. EMA ve Üreme Sistemi .....	20
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>22</b>
3.1. Gereç .....	22
3.1.1. Deney Hayvanları .....	22
3.1.2. Projenin Yapıldığı Ortam ve Koşullar .....	22
3.1.3. Maruziyet Sistemi ve Tasarımı .....	23
3.1.4. 2450 MHz ISM Bandı (WiFi Haberleşme) Monopol Anteninden Yayılan 1 Watt Enerjinin Soğurma Hesabı.....	25
3.2. İzlem ve Pubertenin Belirlenmesi .....	26
3.2.1. Ağırlık, Boy ve Besin Tüketimi.....	26
3.2.2. Pubertenin Saptanması .....	27
3.2.3. Deneyin Sonlandırılması.....	29
3.2.4.1. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü .....	29
3.2.4.2. Oksidatif Stres İndeksi .....	30
3.2.4.3. Histolojik Parametrelerin Ölçümü .....	31
3.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	34
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>37</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>53</b>
<b>SONUÇLAR .....</b>	<b>60</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>62</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>63</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>64</b>

**KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>EMA</b>	: Elektromanyetik alan
<b>EA</b>	: Elektriksel alan
<b>Hz</b>	: Hertz
<b>MHz</b>	: Megahertz
<b>KHz</b>	: Kilohertz
<b>GHz</b>	: Gigahertz
<b>EMD</b>	: Elektromanyetik dalga
<b>RF</b>	: Radyofrekans
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>ICNIRP</b>	: Uluslararası İyonlaştırılmayan Radyasyondan Korunma Kurulu (The International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection)
<b>IUBG</b>	: İntrauterin büyüme geriliği
<b>SAR</b>	: Özgül Soğurma Oranı
<b>IEGMP</b>	: Cep Telefonları ile İlgili Bağımsız Uzman Grubu (Independent Expert Group on Mobile Phones)
<b>COMAR</b>	: İnsan ve Radyasyon Kurulu (The Committee on Man and Radiation)
<b>IGF</b>	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
<b>BH</b>	: Büyüme Hormonu
<b>GHRH</b>	: Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon
<b>IGFBP</b>	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein
<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotrop Hormon
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
<b>LH</b>	: Luteinizan Hormon
<b>FSH</b>	: Follikül Uyarıcı Hormon
<b>E2</b>	: Östradiyol
<b>GABA</b>	: Gama amino-butirik asit
<b>VA</b>	: Vajinal Açıklık

## TABLOLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Elektrik, Manyetik ve Elektromanyetik Alanlarda Temel Sınırlamalar, ICNIRP Limitleri (0 Hz-300 GHz). .....	7
<b>Tablo 2.</b> Ülkemizde ortam ve tek bir cihaz için belirlenen limit değerler.....	7
<b>Tablo 3.</b> Doku takibi sırasında kullanılan kimyasallar ve süreleri.....	32
<b>Tablo 4.</b> İnkübasyon öncesi immünohistokimyasal çalışmanın aşamaları.....	35
<b>Tablo 5.</b> İnkübasyon sonrası immunohistokimyasal çalışmaların aşamaları. ....	36
<b>Tablo 6.</b> Deney hayvanlarının ilk 4 haftadaki ağırlık ve boy ölçümleri.....	37
<b>Tablo 7.</b> Grupların postnatal 8. haftadaki ağırlık ve boy ortalamalarının karşılaştırılması .....	38
<b>Tablo 8.</b> Grupların günlük ve ağırlıklarına oranla yem ve su tüketimleri .....	39
<b>Tablo 9.</b> Grupların haftalık boy artışlarının karşılaştırılması .....	39
<b>Tablo 10.</b> Deneklerin puberteye girme zamanları ile bu esnadaki ağırlık ve boyları	40
<b>Tablo 11.</b> Beyin dokusunun oksidatif stres parametreleri .....	41
<b>Tablo 12.</b> Over dokusunun oksidatif stres parametreleri.....	42
<b>Tablo 13.</b> Deneklerin overlerinde saptanan follikül tipleri, sayısı ve bağ dokusu miktarları.....	43
<b>Tablo 14.</b> Grupların overdeki follikül tiplerinin karşılaştırılması. ....	44
<b>Tablo 15.</b> Deneklerin hipotalamus dejenerasyon indeksinin histolojik olarak değerlendirilmesi.....	46
<b>Tablo 16.</b> Grupların overdeki ortalama follikül sayısı ve hipotalamus dejenerasyon indeksi değerleri.....	48
<b>Tablo 17.</b> Hipotalamus dokusunun, gruplara göre GnRH1 ve Kaspaz-3 boyanma yoğunlukları. ....	49
<b>Tablo 18.</b> Grupların FSH, LH ve E2 değerlerinin karşılaştırılması. ....	52
<b>Tablo 19.</b> Grupların IGF-1 değerlerinin karşılaştırılması.....	52

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Elektromanyetik spektrum.....	5
Şekil 2. GnRH salgılanmasına etki eden faktörler.....	18
Şekil 3. Seks hormon sekresyonunu kontrol eden mekanizmalar.....	18
Şekil 4. Deney hayvanlarının içinde tutulduğu düzenek .....	23
Şekil 5. RF oluşturan cihazla birlikte deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüsü .	24
Şekil 6. Çelik tabakalarla tamamen dış ortam radyasyonundan izole edilmiş çalışma odası .....	24
Şekil 7. Maruziyet düzeneği şeması .....	26
Şekil 8. Vajinal açıklığın değerlendirilmesi.....	27
Şekil 9. Vajinal smearlarda saptanan siklus evreleri.....	28
Şekil 10. Grupların 8. haftadaki ağırlık ve boy ortalamalarının karşılaştırılması....	38
Şekil 11. Grupların beyin dokusunun OSİ değerlerinin karşılaştırılması .....	41
Şekil 12. Grupların over dokusunun OSİ değerlerinin karşılaştırılması.....	42
Şekil 13. Grupların overdeki follikül tiplerinin dağılımı .....	44
Şekil 14. Prenatal grubuna ait örnek over kesitsel görünümü .....	45
Şekil 15. Postnatal grubuna ait over kesitsel görünümü .....	45
Şekil 16. Kontrol grubuna ait örnek over kesitsel görünümü .....	45
Şekil 17. Prenatal grubuna ait örnek hipotalamus kesitsel görünümü. ....	47
Şekil 18. Postnatal grubuna ait örnek hipotalamus kesitsel görünümü .....	47
Şekil 19. Kontrol grubuna ait hipotalamus kesitsel görünümü .....	48
Şekil 20. Prenatal grubuna ait hipotalamus kesitsel görünümü .....	50
Şekil 21. Postnatal grubuna ait hipotalamus kesitsel görünümü .....	50
Şekil 22. Hipotalamus dokusuna ait Kaspaz-3 boyamalarının kesitsel görünümü ...	51
Şekil 23. Grupların IGF-1 değerleri.....	52

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Çağımızda artan endüstrileşmeyle birlikte, elektromanyetik alan (EMA) oluşturan aletlerin kullanımı ve dolayısıyla günlük hayatta elektriksel ve/veya manyetik alanlara maruziyet de artmaktadır. Farklı şiddette ve çeşitlilikte maruz kalınabilen EMA'nın biyolojik sistemler üzerindeki potansiyel zararlı etkileri ise bugün için tam olarak açıklığa kavuşturulmuş değildir.

Özellikle cep telefonlarının kullanıcı sayısının artması ile birlikte, bu cihazların sağlık ve yaşam kalitesi üzerine etkileri ile ilgili kaygılar da artmıştır. Bazı çalışmalarda; EMA maruziyetinin nöronal hasar, DNA bozuklukları ve tümör gelişimi riskini arttırdığı gösterilmişken, çelişkili sonuçların bildirildiği çalışmalar da mevcuttur (1-8). 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; ev, otel, kafeler, iş yerleri, havaalanları, parklar, kurumsal kampüsler ya da üniversite kampüslerine kurulmaktadır (9). 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 (10).

Çocuklar ve adölesanların teknolojiyi kullanmaya genellikle erişkinlerden daha istekli olmaları ve EMA'ya daha duyarlı olma potansiyelleri bu yaş grubunun araştırılmasını önemli kılmaktadır. Çocukların gelişmekte olan beyin dokusunun erişkinlerden daha iletken olduğu ve daha yüksek özgül soğurma oranı (SAR) değerlerine sahip oldukları düşünülmektedir (11-15).

Çocukluk dönemini erişkinden ayıran en büyük özellik, devam eden büyüme sürecidir. Büyüme ise çocuğun üreme yeteneğine sahip olan bir erişkin dönüşmesiyle sonuçlanan pubertenin tamamlanması ile son bulmaktadır. Büyüme ve puberte süreçlerinin düzgün bir şekilde birbirini takip etmesi, çocuğun genel sağlık



durumunun da göstergesidir. Literatürde; prenatal dönemde elektriksel alan (EA) maruziyetinin, büyüme geriliği ve puberte gecikmesine yol açtığı bildirilmişken, kablosuz internet frekansında EMA maruziyetinin bu iki önemli sürece etkisini inceleyen longitudinal bir çalışmaya rastlanılamamıştır (16).

İnsan hayatındaki birçok biyolojik olayın intrauterin dönemde programlandığı ve bu dönemdeki zararlı çevresel etkilerin, gelişmekte olan fetüsün prenatal-postnatal büyümesini, nörolojik ve üreme sistemlerini etkilediği bilinmektedir (17,18). Bu yüzden 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, deneysel bir hayvan modeli oluşturularak, intrauterin dönemden pubertenin başlamasına kadar geçen sürede, kablosuz internet frekansına karşılık gelen 2450 MHz EMA maruziyetinin büyüme ve pubertal gelişim üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. EMA Nedir?

Bir elektrik yükünün hareketi sonucunda uzayda oluşan değişikliklere EMA denir. Birçok doğal ve yapay kaynak, elektromanyetik enerjiyi, elektromanyetik dalgalar (EMD) halinde yaymaktadır. Bu dalgalar elektriksel ve manyetik frekans (titreşim) alanlarından oluşur. Bu titreşen alanlar; bitki, hayvan ve insan hücreleri gibi biyolojik sistemleri çeşitli şekillerde etkilemektedir. EMD; dalga boyu, frekans veya enerji ile karakterize edilir ve bu parametreler ayrı ayrı ya da birlikte biyolojik sistemler üzerinde etkili olabilirler. Bu dalgalar, vücudun molekül ve atomları arasındaki dengenin kaybolmasına, biyokimyasal faaliyetlerin etkilenmesine ya da hücrelerin elektriksel yapısında bozulmaya yol açabilirler (19).

Elektromanyetik ortam; doğal radyasyon ve insanlar tarafından bilinçli ya da elektrikli aletlerin çalışması sırasında istenmeden oluşturulan EMA'lardan meydana gelmektedir. Doğal elektromanyetik ortam yerküreden kaynaklı ya da yerküre dışı (atmosferdeki elektriksel deşarjlar/güneş ve uzay kaynaklı radyasyon) olabilir. Doğal alanlar rastlantısal, yüksek zirve noktalı, çok geniş dalga spektrumunda geçici dalgalar veya gürültü-benzeri sürekli zeminde ortaya çıkan patlamalar şeklindedir. Bu doğal zemin, büyüklük açısından sıklıkla insanlar tarafından oluşturulan radyofrekans (RF) kaynaklarından daha düşük seviyededir (9).

Günlük yaşamımızda EMA yaratan teknolojileri sıklıkla ve uzun süreli kullanılmaktadır. Özellikle yayın yapan cihazlarda, kapsama alanını arttırmak amacıyla yüksek RF gücü gerekmektedir. Antenlerin yakınında EA gücü daha da artmaktadır. İnsanlar tarafından sık kullanılan RF kaynakları, [kablesiz haberleşme, veri transferi ya da yiyecek hazırlanması (mikrodalga fırınlar)] genellikle düşük oranda EMA oluşturmaktadır. Ancak bu durum da kullanıcının başta RF kaynağına uzaklık olmak üzere, kullanım sırasındaki davranışlarıyla bağlantılıdır. Örneğin mobil telefon iletişim ağları, halkın kullanımına açık alanlarda genel olarak düşük EMA'ya sebep olmaktadır. Ancak cep telefonları ve telsiz telefonlar, kullanım esnasında çok daha yüksek seviyelerde EMA yaratmaktadırlar (9).

Elektriksel ve manyetik alanların farklı özellikleri vardır. Örneğin EA duvarlardan geçemez, hatta insan derisinden bile geçerken şiddeti çok düşer. Ancak

manyetik alanlar, özel olarak üretilmiş birkaç madde dışında hemen hemen hiçbir engel tanımaz. Bu özelliğiyle manyetik alanlar, bedenin içinde ve organlarda zayıf akımların oluşmasına yol açar (20).

EMD'ler, foton denilen küçük enerji paketlerinden oluşmaktadır. Fotondaki enerji, frekans ile doğru orantılıdır. Düşük frekanslı EMD'ler "EMA" ve yüksek frekanslı dalgalar ise "elektromanyetik radyasyon" olarak adlandırılır.

### 2.1.1. Elektromanyetik Spektrum

Elektromanyetik frekanslarına göre EMD'ler, elektromanyetik spektrumu oluşturur. Elektromanyetik spektrumda bölgeler, aşağıdaki gibi sınıflandırılır; (20)

- 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 ısının yaklaşık %60'ı, kızıl ötesi ışınım ile dışarı atılmaktadır.
- 5- Görünür ışık frekansları  $10^{14}$  Hz'lerdir. Bu frekansların üstü iyonlaştırıcı radyasyon bölgesi olup, x ve gama ışınları bu bölgededir.

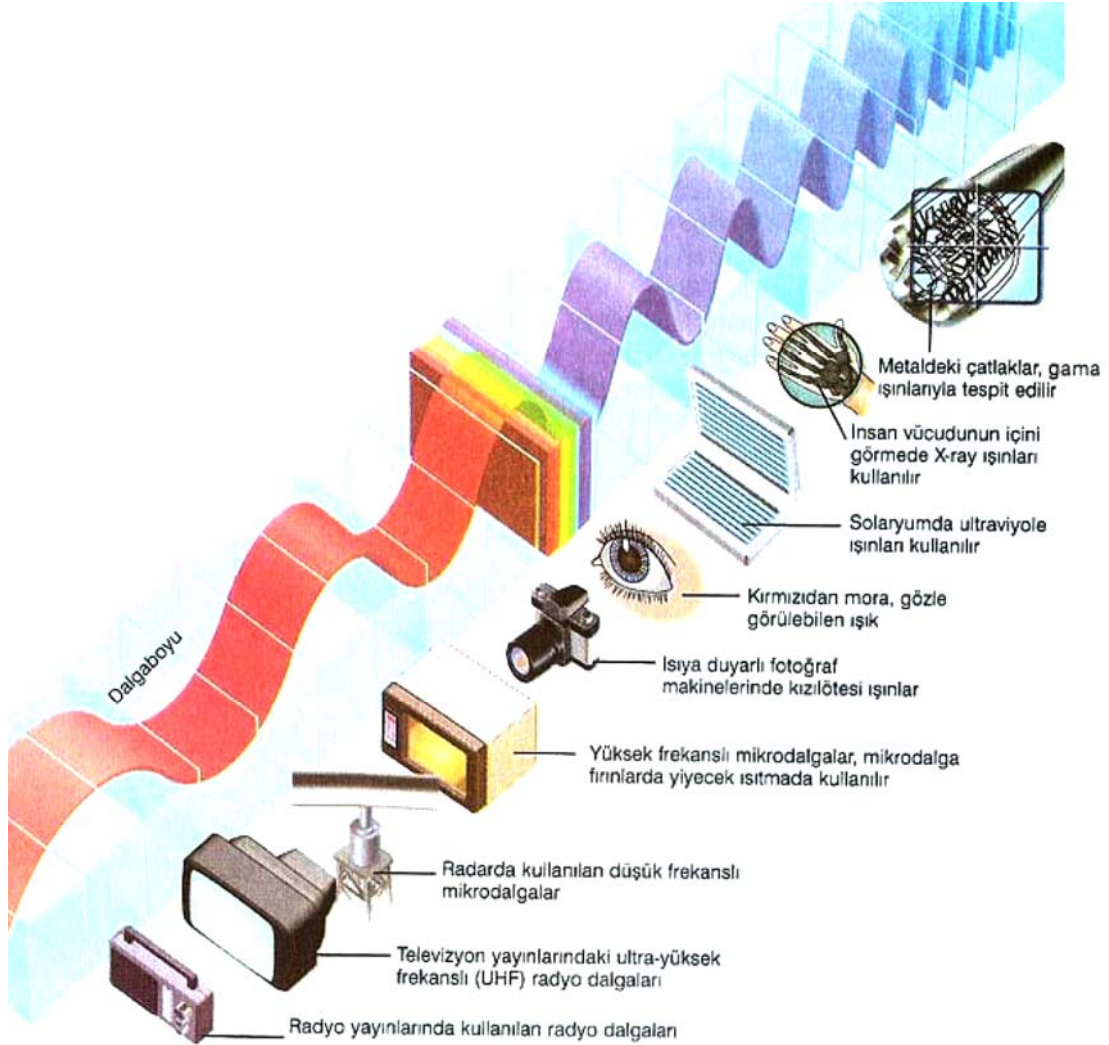
Elektromanyetik spektrum, Şekil 1'de görsel olarak ifade edilmiştir.

### 2.1.2. EMD Türleri

Frekans ve enerjilerine göre EMD'ler,

a) İyonlaştıran radyasyon (nükleer radyasyon),

b) İyonlaştırmayan radyasyon (EMD radyasyon) olarak ikiye ayrılmaktadır (21). Tezin konusu olan 2450 MHz RF EMD'ler, iyonlaştırmayan radyasyon grubundandır.



Şekil 1. Elektromanyetik spektrum

### 2.1.3. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Etki Mekanizması

1) Isıl Etki: EMD ile etkileşen cisimde, artan molekül hareketi ve sürtünmeden dolayı, sistemde ısı artışı olur.

2) Isıl Olmayan Etki: Gelen dalğanın alan şiddeti küçükse, ısı oluşmaz.

Yüksek enerjili elektromanyetik enerjinin kullanımının artması, özellikle ısıl etkilerden dolayı, güvenli maruziyet sınırlarının belirlenmesini gerektirir. Doku tarafından absorbe edilen enerjinin miktarı; frekans, dokunun dielektrik özellikleri, süre, elektromanyetik radyasyonun yoğunluğu ve dokunun su içeriğiyle doğru orantılıdır. İnsan dokuları tarafından enerjinin emilimi, dokularda ısı artışına neden olur. Küçük ısı artışlarının fizyolojik etkisi, bazı hassas organlarda daha şiddetli

olarak gözlenebilir. Vücut ısısında 1–5°C’lik artış, geçici infertilite, beyin lezyonları ve kan biyokimyasında değişikliklerle sonuçlanabilir. Yaklaşık 1°C’lik küçük ısı artışları bile hormon üretiminde değişikliklere ve immün cevabın baskılanmasına yol açabilir (22).

#### **2.1.4. Elektriksel, Manyetik ve Elektromanyetik Alanlardaki Temel Sınırlamalar**

Özellikle cep telefonları ile ilgili artan sağlık kaygıları, DSÖ’yü EMA’lar konusunda çalışmalar yapmak zorunda bırakmıştır. Kullanıcı sayısının hızla artması, insan sağlığı üzerindeki küçük bir etkinin bile toplum sağlığı açısından büyük sonuçları olabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda çalışmak üzere, 1996’da DSÖ, 8 uluslararası organizasyon, 7 enstitü ve 45’den fazla ulusal otorite ile işbirliği yaparak Uluslararası EMA Projesini hayata geçirmiştir (International EMF Project). Uluslararası EMA Projesi ile birlikte ICNIRP (The International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection) 10 MHz ile 300 GHz arasındaki EMA maruziyetinin muhtemel etkilerini incelemişler ve bir rapor yayınlamışlardır (23). Bu rapora göre elektrik, manyetik ve elektromanyetik alanlardaki temel sınırlamalar Tablo 1’deki gibidir.

Ülkemizde geçerli olan kurallara göre ise, 21 Nisan 2011 tarihinde 27912 sayılı Resmi Gazete’de yayınlanan “Elektronik haberleşme cihazlarından kaynaklanan EMA şiddetinin uluslararası standartlara göre maruziyet limit değerlerinin belirlenmesi, kontrolü ve denetimi hakkında yönetmelik” uyarınca EA şiddeti, manyetik alan şiddeti, manyetik akım yoğunluğu ve eşdeğer düzlem dalga yoğunluğu;

a) Ortam için, ICNIRP tarafından belirlenen toplam limit değerlerini,

b) Çevre ve insan sağlığı dikkate alınarak; ihtiyati tedbir açısından, tek bir cihaz için ICNIRP tarafından belirlenen limit değerinin dörtte birini ( $\frac{1}{4}$ ) aşamaz (24). Bu yönetmeliğe göre ortam ve tek bir cihaz için belirlenen limit değerler Tablo 2’de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Elektrik, Manyetik ve Elektromanyetik Alanlarda Temel Sınırlamalar, ICNIRP Limitleri (0 Hz-300 GHz).

Frekans	Manyetik akım yoğunluğu	Akım yoğunluğu (mA/m <sup>2</sup> )	Tüm vücut ortalaması SAR(W/kg)	Baş ve boyunSAR (W/kg)	Kol ve ayak SAR(W/kg)	Güç Yoğunluğu, S (W/ m <sup>2</sup> )
0 Hz	40	-	-	-	-	-
>0-1 Hz	-	8	-	-	-	-
1-4 Hz	-	8/f	-	-	-	-
4- 1000 Hz	-	2	-	-	-	-
1000Hz-100 kHz	-	f/500	-	-	-	-
100 kHz-10 MHz	-	f/500	0,08	2	4	-
10 MHz- 10 GHz	-	-	0,08	2	4	-
10-300 GHz	-	-	-	-	-	10

**Tablo 2.** Ülkemizde ortam ve tek bir cihaz için belirlenen limit değerler.

Frekans Aralığı (MHz)	E-Alan Şiddeti (V/m)		H-Alan Şiddeti (A/m)		B-Manyetik Akı Yoğunluğu (µT)		Eşdeğer Düzlem Dalga Güç Yoğunluğu (W/m <sup>2</sup> )	
	Tek cihaz için limit değeri	Ortamın toplam limit değeri	Tek cihaz için limit değeri	Ortamın toplam limit değeri	Tek cihaz için limit değeri	Ortamın toplam limit değeri	Tek cihaz için limit değeri	Ortamın toplam limit değeri
0,01-0,15	22	87	1,3	5	1,5	6,25	-	-
0,15-1	22	87	0,18/f*	0,73/f*	0,23/f*	0,92/f*	-	-
1-10	22/f*	87/f*	0,18/f*	0,73/f*	0,23/f	0,92/f*	-	-
10-400	7	28	0,02	0,073	0,023	0,092	0,125	2
400-2000	0,341 f*	1,375 f*	0,0009 f*	0,0037 f*	0,001 f*	0,0046 f*	*f3200	*f200
2000-60000	15	61	0,04	0,16	0,05	0,2	0,625	10

\*f= frekans (MHz)

### 2.1.5. Elektromanyetik Enerjinin İnsan Vücudu Tarafından Emilimi

100 kHz frekansının üzerindeki EMA maruziyeti anlamlı miktarda enerji ve ısı artışına yol açar. İnsan vücudu tarafından enerjinin emilimi 4 frekans aralığında incelenir;

1. 100 kHz-20 MHz: Frekans azaldıkça gövdedeki emilimi hızlıca azalır. En belirgin emilim, boyunda ve bacaklarda gerçekleşir.
2. 20 MHz-300 MHz: Tüm vücutta göreceli olarak daha fazla enerji emilimi gerçekleşir. Rezonanslar dikkate alındığında bazı vücut bölümlerinde (Örn: baş) bu oran artabilir.
3. 300 MHz-10 GHz: Anlamlı, bölgesel, düzensiz emilim gözlenir.
4. >10 GHz: Enerji emilimi primer olarak vücut yüzeyinde gerçekleşir (25).

Dokuda özgül soğurma oranı (specific absorption rate (SAR)) ise, birim kütle başına emilen RF enerjiyi gösterir ve internal EA kuvveti ile doğru orantılıdır.

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

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

Görüldüğü gibi, emilen enerji miktarı, maruz kalan cismin büyüklüğünü de içeren birçok faktöre bağlıdır. Topraklanmamış zeminde olan “Standard referans insan”, yaklaşık 70 MHz’lik bir rezonant emilim frekansına sahiptir. Daha uzun bireyler için bu değer biraz daha düşük iken, daha kısa bireyler, çocuklar ve bebekler içinse 100 MHz’i aşacak kadar fazla olabilir. Bu yüzden çocukların EMA’dan etkilenme olasılığı büyüklerden daha yüksektir (25). Ayrıca çocuklarda başın büyümesi RF maruziyetine duyarlık ile ilgili önemli bir parametredir ve lineer değildir. Baş, beyin hacmi, cilt ve kafatası kalınlığı farklı oranlarda büyür. Bir

yaşındaki bir çocuğun nörokranıyumu 900 cm<sup>3</sup> iken, 5 yaşında 1200 cm<sup>3</sup> ve erişkin kafatasının hacmi ise 1300-1450 cm<sup>3</sup>'tür. Beş ile 18 yaş arasında beyin hacmi oldukça sabit bir değerdeyken, kafatasının kalınlığı yaklaşık %75 artar (26). Cilt, EMA ile karşılaşan ilk doku olması sebebiyle önemlidir ve cilt kalınlığı da yaşla giderek artar (Alında cilt kalınlığı 2-3 yaşta 1,18-0,22 mm iken, 11-13 yaşta 1,56-0,36 mm ve yetişkinde 1,99-0,34 mm) (27). Yani başın gövdeye oranla büyük, cilt ve kafatasının ise daha ince olması nedeniyle de çocuklar EMA'ya erişkinlerden daha duyarlıdır.

### **2.1.6. RF Alanlarına Maruziyetin Biyolojik Etkileri**

#### **2.1.6.1. İn vitro Çalışmalar**

Düşük seviyeli radyasyonun membranda, hücresele cevabı tetikleyen yapısal ve fonksiyonel özellikleri değiştirebildiğine dair in vitro araştırmalar mevcuttur. Hücre zarının özellikle de düşük frekanslarda, amplitüd ayarlı düşük seviyeli RF alana duyarlı olduğu, yüksek frekanslarda ise, düşük seviyeli radyasyonun kayda değer membran potansiyeli oluşturmadığı varsayılmıştır. RF alan tarafından indüklenen bu değişiklikler, şu anda çok az bilinmekte ancak hücre membranını geçerek sitoplazmik yapı ve fonksiyonu da etkilediği düşünülmektedir (23,25). RF alan maruziyetinin kromozom bozukluğu sıklığını arttırdığı gösterilememiştir (28).

#### **2.1.6.2. İn vivo Çalışmalar**

İn vitro çalışmalardaki kanıtların aksine, RF alanların DNA'yı direkt olarak etkilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda; akut olarak düşük yoğunluklu 2450 MHz mikrodalga maruziyetinden 2 saat sonra belirgin bir etki gözlenmemiş, ancak doz artırıldıktan [0,6 ve 1,2 W/kg tüm vücut SAR] 4 saat sonra ratların beyin hücrelerinde tek-iplikçik kırılmalarda artış olduğu bildirilmiştir (29,30). Bu deneyler tekrarlandığında ise aynı sonuçlar elde edilememiştir (31). ICNIRP raporunda birçok iyi planlanmış hayvan çalışmasında somatik ya da germ hücrelerinde klastojenik etki (kromozom hasarı yaratan etki) saptanmadığı, diğer bazı çalışmalarınsa kimyasal ya da fiziksel mutajenler ya da karsinojenlerle RF maruziyetinin sinerjistik etkileri ile ilgili olduğu bildirilmiştir (32).



Cep telefonlarının zararlı etkilerini izlemek için oluşturulmuş olan IEGMP (Independent Expert Group on Mobile Phones) grubu, kanser çalışmaları ile ilgili raporlarında bazı bireysel çalışmaların RF radyasyonun tümör oluşumunu tetiklediği, bilinen karsinojenlerin etkisini arttırdığı ve transplante edilen tümörlerin büyümesini kolaylaştırdığını gösterdiğini, ifade etmişlerdir (28). Ancak bu çalışmaların bazılarında yoğunluk, ısı etki oluşturabilecek kadar fazladır. İn vivo ve in vitro deneylerden elde edilen kanıtlar birlikte değerlendirildiğinde, ısı fizyolojik sınırlar içinde tutulduğu takdirde RF alanlara kronik ya da akut maruziyetin mutasyon ya da kromozom bozukluğu sıklığını arttırmadığı yorumu yapılmıştır (33).

### **2.1.6.3. RF Alanlara Maruziyetin Davranışsal Etkileri**

Nörotoksisitenin erken bulguları, anatomik olmaktan çok davranışsaldır (34). Hayvanların davranışları, olumsuz sağlık durumlarının oldukça hassas bir göstergesi olduğundan, hafızanın biyolojik temellerini araştırmak için kullanılabilir. Eski çalışmalar genellikle yüksek ya da düşük-orta seviyeli radyasyona tüm vücut maruziyeti oluşturularak yapılmıştır ve bu çalışmalarda saptanan davranışsal değişikliklerin ortaya çıktığı en düşük RF maruziyeti sınırlarından, uluslararası kılavuzlardaki insan maruziyeti sınırlarını belirlemek için yararlanılmıştır (25). Davranış değişiklikleri genellikle bu sınırların oldukça üstünde gerçekleşmesine rağmen, bazı çalışmalarda telekommünikasyon sistemlerindeki benzer şekilde daha düşük RF maruziyeti durumlarında da etkilenme bildirilmiştir (23,33,35). IEGMP'nin 2000 raporunda ise "Vücut ısısının 1°C ya da daha fazla artması iyi-öğrenilmiş görev performansı ve diğer basit davranışlarda kesin olarak değişikliklere yol açmaktadır. Ancak düşük dereceli RF alan maruziyetinin hayvanlarda öğrenme ve hatırlama üzerine etkilerini gösteren yeterli deneysel kanıt yoktur." denmektedir (28). D'Andrea ve ark.ın (36) çalışmasında, bazı bilişsel görevlerin RF maruziyetine özellikle hassasiyet gösterebildiği ve bu etkinin basit, iyi-öğrenilmiş görevleri bozmak için gereken SAR değerlerinden daha düşük seviyelerde ortaya çıktığı bildirilmiştir.

#### 2.1.6.4. RF'nin Sağlık Üzerine Diğer Etkileri

RF maruziyetinin ardından bildirilmiş bazı yan etkiler; başağrısı, yorgunluk, kısa-dönem hafıza kaybı, bulantı, elektroensefalografik ya da santral sinir sistemine ait diğer değişiklikler ve uyku bozukluklarıdır (23). Düşük seviyeli RF alanlara maruziyetin çoğu subjektif olan bu bulgularla ilişkisini kanıtlamak için şu an eldeki kanıtlar yeterli olmasa da, bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır. Bireylerin EMA'ya aşırı duyarlı olmaları da mümkündür. En sık belirtiler; başağrıları, uykusuzluk, karıncalanma ve deri döküntüleridir ve güncel bilgiye göre bu semptomların psikosomatik olduğu, EMA maruziyeti ile ilişkisiz olduğu yorumunu yapanlar da vardır (37,38). Bazı popülasyonlarda anne sağlığı ile ilgili olumsuz sonuçlar, özellikle spontan abortuslar ve hematolojik ya da kromozomal bozukluklar bildirilmiş; bu değişikliklerin bazıları ayrıca video oynatan cihazları kullanmakla ilgili olarak da rapor edilmiştir (25). Genel olarak bakıldığında, bu alandaki çalışmaların düşük doz EMA'nın insan sağlığına olan etkilerini tam olarak aydınlatamadığı söylenebilir.

DSÖ ayrıca, RF ve EMA'ların potansiyel zararlı etkilerine karşı, COMAR (The Committee on Man and Radiation) teknik bilgilendirme raporunu açıklamıştır (39). Bu komitenin temel ilgi alanı, RF enerjisi de içeren non-iyonizan EM radyasyonun biyolojik etkilerini incelemektir. COMAR raporunda; önerilen maruziyet limitlerinin, RF enerjinin tanımlanmış risklerine karşı oluşturulduğu; kronik düşük seviyeli maruziyet ile ilgili kanıtlar arttıkça, bu önerilerin gözden geçirilmesi gerektiği ifade edilmiştir (40).

Cep telefonları, kablosuz telefon baz istasyonları, televizyon ve radyo yayın araçları, Wi-Fi sistemleri ve birçok başka kaynağın güvenilirlik ve yararlılıkları ile ilgili medyada yer alan birbirinden farklı birçok yorum, RF enerjinin olası zararlı etkileri ile ilgili olarak kullanıcıların ilgisini çekmektedir.

## 2.2. Büyüme Fizyolojisi

Büyüme, hücre sayısı ve hücre büyüklüğünün artması sonucu vücut hacminin ve kütlesinin artmasıdır. Çocukluk çağının en belirgin karakteristik özelliği büyümedir ve büyüme paterninin normalden sapması, birçok hastalığın ilk belirtisi

olabilir (41). Büyüme ve gelişme; genetik faktörlerin yanı sıra hormonlar, dokuya özgü büyüme faktörleri, beslenme, diğer birçok iç ve dış ortam faktörlerinin etkileşimlerinin yer aldığı karmaşık bir süreç olup; hücre hiperplazisi, hipertrofisi ve hücre ölümünü programlayan apoptozise bağlıdır (42). Diğer canlılara kıyasla insanda çocukluk çağı çok daha uzundur ve bu sürede karşılaşılabilecek dış etkenler normal büyümeden sapmalara yol açabilir.

### **2.2.1. İntrauterin Büyüme**

Büyümenin en hızlı olduğu dönem intrauterin dönemdir. Dölllenmiş tek bir yumurta ile hayata başlayan fetüs, 200'den fazla değişik hücre tipine farklılaşır ve boyu ise 500 kat artış gösterir. İntrauterin büyüme; genetik ve hormonal faktörler, büyüme faktörleri, beslenme ve anneye ait birçok faktör tarafından kontrol edilir (42).

#### **2.2.1.1. Genetik Faktörler**

Embriyo döneminde büyüme, genetik olarak programlanmış bir dizi olay sonucu gelişir. Embriyonal dönemdeki hızlı hücre bölünmesi ve farklılaşması ile organ gelişimi, homeoboks gen ailesi tarafından yönlendirilir. SHOX, HESX, PIT-1, PROP-1 gibi homeoboks gen mutasyonlarında sırasıyla; boy kısalığı, Leri-Weil diskondroosteoz, ailevi septo-optik displazi, büyüme hormonu-tirotropin-prolaktin eksikliği ve doğumsal hipopitüitarizm gibi hastalıklar görülür (43-45).

Fetal büyüme ise genetik faktörlerden çok beslenme ve metabolik etmenlere, anne ve plasentadan sağlanan oksijen ve hormonlara bağlıdır. Bazı epidemiyolojik araştırmalarda düşük doğum ağırlığı ile erişkin yaşta hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık, Tip 2 diyabet gibi bozukluklar arasında ilişki saptanmıştır. Bu bulgular, yaşamın erken döneminde karşılaşılan olumsuz etkilerin, bireyin genetik ekspresyonunda kalıcı değişikliklere yol açabileceği şeklinde yorumlanmaktadır (46).

#### **2.2.1.2. Hormonlar ve Büyüme Faktörleri**

Fetal büyüme üzerine en önemli etkiyi, hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını uyaran insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF) gösterir. IGF-2, fetal hayatta IGF-1'

den daha etkilidir. Doğumsal hipotiroidi ve panhipopitüitarizmde ise doğum ağırlığı normal ya da normale yakındır (47-49). Fetal dönemde IGF-1 salınımı daha çok beslenme ile ilgilidir. Prenatal dönemde BH'nin büyüme üzerine etkisi yok gibidir, plasental somatotropinler (plasental laktojen) IGF-1 ve IGF-2 sentezini uyarır.

### **2.2.1.3. Uterus İçi Ortam**

Sağlıklı bir gebelik için, uterusun anatomik olarak normal olması gereklidir. Annenin aldığı ilaçlar, röntgen ve radyum gibi ışınlar; mikrosefali, spina bifida, zeka geriliği, ekstremitte bozuklukları gibi konjenital anomalilere yol açabilir. Annenin geçirdiği özellikle rubella, toksoplazma enfeksiyonları başta olmak üzere çeşitli enfeksiyonlar, birçok doku ve organı bozarak hastalıklara yol açabilir. Diyabet gibi hormon bozuklukları, iri doğum; plasenta bozuklukları (dolaşım yetersizliği, enfeksiyon vs.), kalp-akciğer, metabolizma bozuklukları ya da konjenital enfeksiyonlar ise intrauterin gelişme geriliği ve ölü doğumlara yol açabilir. Demir ya da iyot eksikliği olan annelerin çocukları, demir depoları eksik ya da guatrli doğabilirler (42).

Görüldüğü gibi intrauterin dönemde fetüs çevresel etkilenmeye ve zarar görmeye son derece açıktır.

### **2.2.2. Postnatal Büyüme**

Postnatal dönemde büyümeyi etkileyen başlıca faktörler; genetik faktörler, beslenme, hormonal faktörler, kronik hastalıklar ve psikolojik faktörlerdir.

#### **2.2.2.1. Genetik Faktörler**

Hem X hem de Y kromozomu üzerinde büyümeyi etkileyen genler olduğu gibi, 17. kromozomun uzun kolunda da BH genini oluşturan birbirine benzer 5 gen olduğu bilinmektedir. Genetik faktörler erişkin boyu etkiler. Bilindiği gibi çocukların boyları ile anne-baba boy ortalamaları iyi bir korelasyon gösterir ve çocuklar 18 aylıktan sonra genetik potansiyellerine uygun persentil eğrisine yerleşirler (50-53).

### 2.2.2.2. Beslenme

Ağır malnütrisyonunda büyüme hormonu reseptörlerinde ve IGF-1 düzeyinde azalma olur. Normal büyüme ve gelişim için yeterli protein alımı, dengeli bir kalsiyum-fosfor metabolizması, A-D vitaminleri, birçok enzim için kofaktör olan çinko ve bakır gibi eser elementler gereklidir (42).

### 2.2.2.3. Hormonal Faktörler

Büyümeyi sağlayan başlıca hormon BH ve IGF-1'lerdir. Bunun dışında; tiroid hormonu, adrenal androjenler, seks steroidleri, glukokortikoidler, leptin ve insülin de büyümeye katkıda bulunur.

BH; ön hipofizden salgılanmakta; hipotalamustan salgılanan büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) ve somatostatin, BH salgısını düzenlemektedir. BH, IGF-1 ve IGFBP-3'ü uyararak büyümeyi sağlar. Beslenmesi normal bir organizmada; IGF-1'in ana düzenleyicisi BH olup; insülin, tiroid hormonu, kortizol ve seks steroidlerinin de karaciğerden IGF-1 salgısı üzerinde etkisi vardır (42).

BH ile tiroid hormonu arasında sinerji mevcuttur. Tiroid hormonu, BH olmadan tek başına hücre çoğalmasını sağlayamaz. Tiroid hormonu eksikliğinde de somatotrop hücrelerde ve BH salınımında azalma olur. Tiroid hormonu; hem doğrudan epifiz kıkırdağını etkileyerek, hem de dolaylı olarak BH-IGF-1 aksını etkileyerek büyümeyi sağlar (42).

Cins steroidleri; BH salgısını arttırmanın yanı sıra, osteoblastları da etkileyerek kemik olgunlaşmasını ve sonuçta epifiz plağının kapanmasını sağlar. Bu durum daha çok kızlarda overlerden salgılanan, erkeklerde ise ekstraglandüler dokularda aromataz enzimlerinin etkisiyle oluşan östrojen tarafından sağlanır (54).

Aşırı miktarda glukokortikoidler ise hem somatostatini arttırarak BH salınımını baskılar, hem de kondrositlerde büyüme hormonu ve IGF-1'in etkisini etkileyerek büyümeyi bozar (42). Büyümenin düzgün bir şekilde gerçekleşmesi için bu sistemlerin uyum içerisinde çalışması gereklidir.

#### **2.2.2.4. Kronik Hastalıklar**

Doğumsal ve edinsel kronik hastalıklar; kişide neden oldukları kronik hipoksi, beslenme bozukluğu, sık enfeksiyonlar ve hastalık için kullanılan tedaviler (kortikosteroid, radyoterapi vb) nedeni ile büyüme ve gelişmeyi durdurur ve bozarlar (42).

#### **2.2.2.5. Psikolojik Faktörler**

Psikiyatrik hastalıklar, aile içi huzursuzluklar ve stres, endokrin fonksiyonları ya da beslenmeyi bozarak, büyüme ve gelişmeyi durdurabilmektedir (42).

### **2.3. Pubertal Fizyoloji**

Puberte; birtakım nöroendokrin ve fiziksel değişiklikler sonucunda çocuğun cinsel olarak immatür durumdan, üreme yeteneğine sahip bir yetişkin olma durumuna geçiş sürecidir. Pubertede oluşan major fiziksel değişiklikler; sekonder cinsiyet özelliklerinin belirginleşmesi, vücut yağ dağılımının değişmesi, iskelet gelişiminin hızlanması, boy uzamasında sıçrama ve giderek final yetişkin boya ulaşma, erkeklerde spermatogenezin ve kızlarda ovulasyonun başlamasıdır (55).

#### **2.3.1. Puberteyi Etkileyen Faktörler**

Puberteyi başlatan etkenler tam olarak bilinmemektedir. Pubertenin başlamasında etkili olan faktörler ile ilgili genel konseptin oluşmaya başlaması, bu günden yaklaşık 50 yıl kadar önce olmuştur. Öncelikle beyin “gonadostat”ının seks hormonlarının negatif feed-back etkisine duyarlılığının azaldığı düşünülmüştür. Bu olay; hipotalamustan nörohormonların salınmasını, hipofizin uyarılmasını ve gonadotropinlerin salgılanmasını başlatmaktadır. Puberteyle birlikte ACTH ve hipofizer bazı faktörlerin uyardığı adrenokortikal 17- ketosteroid düzeylerinin arttığı ve adrenarş’ın başladığı ileri sürülmüştür (56). Genel olarak bu şema doğru olmakla birlikte bugün için puberteyi kontrol eden mekanizmalara bakış açımız daha gelişmiş ve karmaşıktır. Gonadostat aşırı basitleştirilmiş bir kavram olmakla birlikte, GnRH nöronlarının fonksiyonel olarak birbiriyle bağlantılı ve senkron ağ örgüsünü

(hipotalamik GnRH puls jeneratör) düzenleyen kompleks sistemi bir yönüyle açıklamaktadır (56).

### 2.3.1.1. Gonadostat-GNRH Puls Jeneratör

Fetal gelişim esnasında embriyonik olfaktor plakottan kaynak alan GnRH nöronları, mediyan eminens'den GnRH pulsatil salgısını kontrol eden hipotalamik puls jeneratör'ü oluşturmak üzere ön beyine göç ederler (57-59). Epizodik GnRH salgısı, optimal gonadotropin sekresyonu ve memeli türlerinin normal üreme fonksiyonları için zorunludur. Pulsatil nöropeptid sekresyonu, GnRH nöronlarının intrinsik bir özelliğidir ve rhesus maymunlarının embriyonik olfaktor plakot nöron kültürlerinde, embriyonik ratların nazal plakot nöron kültürlerinde, koyun olfaktor doku kültürlerinde ve fetal rat hipotalamik hücre kültüründe de gösterilmiştir (60-70).

Gonadostat ayarlarının çocukluk çağı boyunca bifazik şekilde değiştiği görülmüştür. Fetal ve perinatal hayatta gonadostat, seks hormonlarının negatif feed-back etkisine duyarlıdır. Bu dönemde olgunlaşmakta olan nöroendokrin - gonadal aks, pubertal seviyede fonksiyon göstermektedir. İnfant dönemi boyunca negatif feed-back uyarısına gonadostat duyarlılığı giderek artmakta, ancak GnRH puls jeneratör aktivitesinin minimal olduğu orta çocukluk dönemine kadar gonadostat büyük ölçüde duyarlı hale gelmemektedir (71,72).

Geç prepubertal dönemde gonadostat inhibisyondan vazgeçmeye başlar ve bu durum pubertenin başlamasını sağlar. Önce GnRH'nın epizodik sekresyonu başlar ve hipofizer gonadotropik hücrelerin GnRH duyarlılığı artar. Luteinizan hormon (LH) ve follikül stimulan hormon (FSH) sekresyonu önce geceleri olmak üzere artmaya başlar; gonadlar giderek büyür ve plazma seks hormon seviyelerinde sürekli bir artış meydana gelir. Bu fenomenlerin bir kısmı birbiriyle sinerjik etki gösterir, otoamplifikasyon gerçekleşir ve değişimin temposu hızlanır. Sonuç olarak gonadotropin salgısının ayar noktası, pozitif feed-back mekanizmasını kapsayacak şekilde değişir (56).

GnRH puls jeneratör üzerindeki baskının kaldırılması ile ilgili birçok faktör tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları; GnRH'nın kendisi, nöropeptid-Y, GABA, leptin,

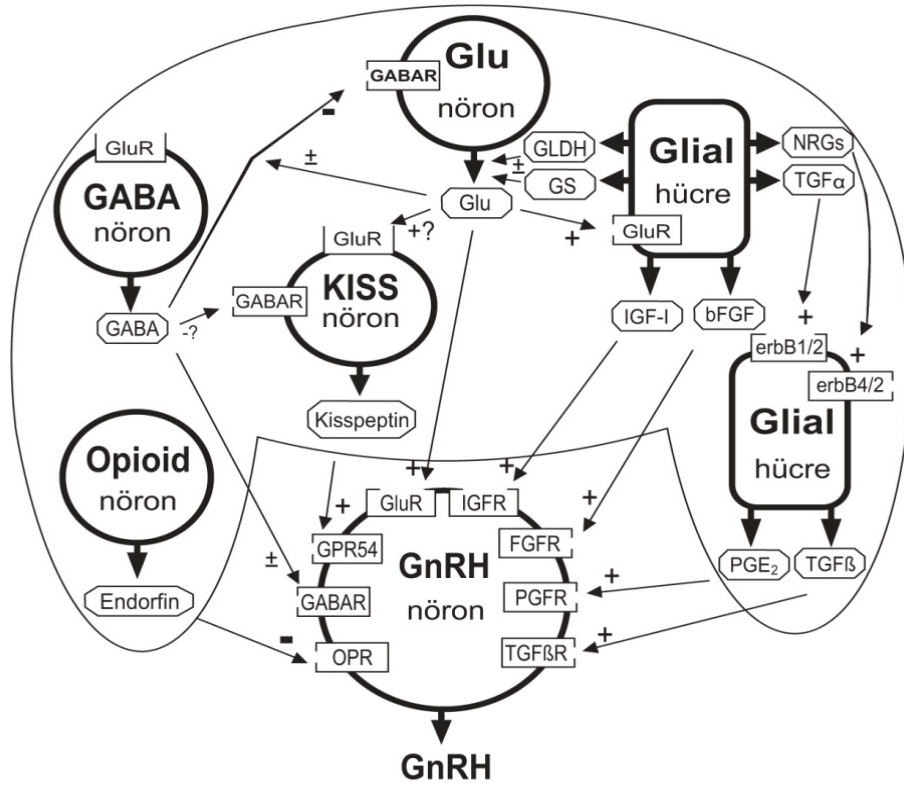
TGF-alfa ve bunların reseptörleridir. Yakın zamanda elde edilen kanıtlar, GPR54 ve ligandının (kisspeptin) pubertal GnRH salınımı sinyal yolağında önemli rolü olduğunu göstermiştir (73). İmmatür dişi ratlara kisspeptin uygulanmasının santral aksın erken aktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (74). Beslenme yetersizliği olan rat modelinde ise; kisspeptin ile uzun süreli tedavi, bozulan pubertal gelişimi düzeltmiştir (75). Ülkemizden yapılmış bir çalışmada Nörokinin B ve reseptörünü kodlayan TAC3/TACR3 genlerinde defekt olmasının konjenital gonadotropin eksikliğine yol açtığı gösterilmiştir (76). Nörokinin B, substans-P ilişkili taşıkinin ailesine ait bir protein olup, aynı zamanda kisspeptin-1'i de salgılayan hipotalamik nöronlarda yüksek oranda eksprese edilmektedir. GnRH salgılanmasına etkili faktörler Şekil 2'de şematize edilmiştir.

Genetik ve etnik özellikler, coğrafi koşullar (yüksek rakımlarda daha geç), sosyoekonomik koşullar, beslenme, çevresel kimyasallar ve kişinin genel sağlık durumu, pubertal zamanlamayı önemli ölçüde etkilemektedir. Kronik sistemik hastalıklar, ağır malnütrisyon, zorlayıcı ağır fiziksel aktivite, ruhsal gerilimler pubertede gecikmeye yol açmaktadır (55). Bazı genetik özellikler, puberteye girişi etkileyebilir. Örneğin Williams sendromunda olduğu gibi elastin genini içeren defektler, pubertenin temposunu etkiler; 7q11.23 kromozom delesyonu olanlarda tipik olarak erken-normal başlangıçlı ancak hızlanmış pubertal süreç gözlenir (77). Fetal/erken çocukluk dönemlerinde hormonal olarak aktif çevresel kimyasallara endokrin bozucular) maruz kalmak da pubertenin başlangıcını ya da ilerleme hızını etkileyebilir (78).

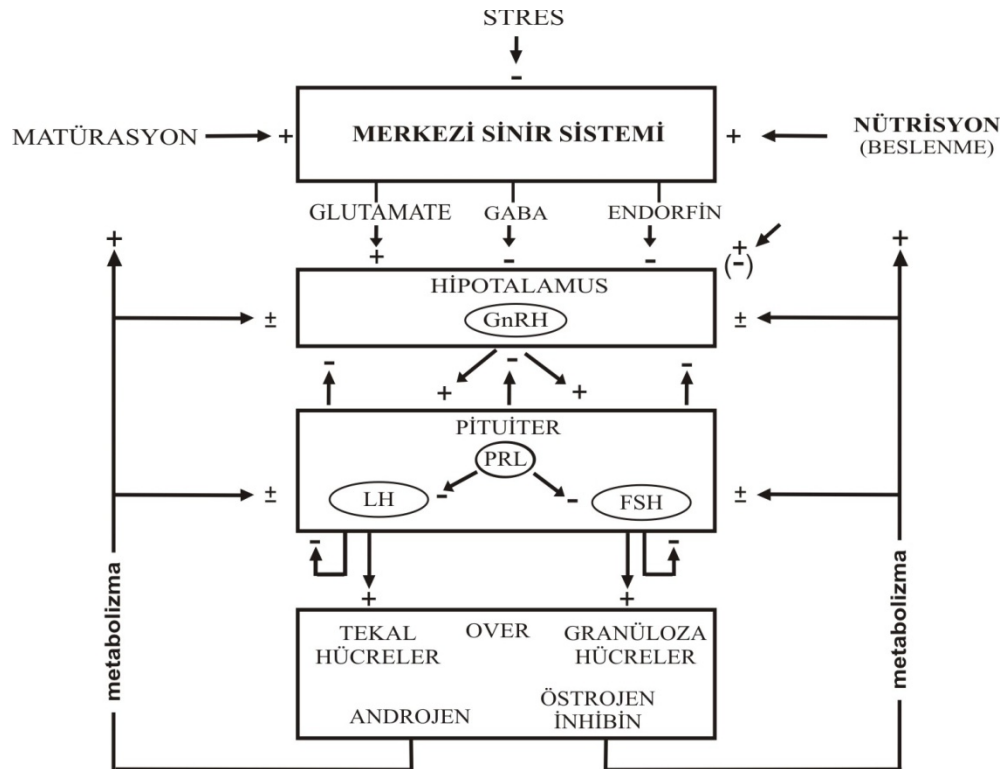
### **2.3.1.2. Ovaryumdan Seks Hormon Sekresyonunu Kontrol Eden Mekanizmalar**

Hipotalamik aktivasyonun düzgün bir şekilde gerçekleşmesinden sonra pulsatil olarak salgılanmaya başlayan FSH ve LH, ovaryumlardan seks steroidlerini salgılatır. Bunun sonucunda sekonder seks karakterleri gelişmeye başlar ve ardından ilk ovulasyon ve menarş gözlenerek, puberte tamamlanır. Ovaryumlardan seks hormon sekresyonunu kontrol eden mekanizmalar Şekil 3'te özetlenmiştir.





Şekil 2. GnRH salgılanmasına etki eden faktörler.



Şekil 3. Seks hormon sekresyonunu kontrol eden mekanizmalar.

Bugün için, çocukluk çağı boyunca uyur durumda bulunan GnRH puls jeneratör sistemini neyin uyardığı, başka bir deyişle puberteyi neyin tetiklediği tam olarak bilinmemektedir. Ancak güncel literatür ışığında tek bir tetikleyici faktörün bulunmadığı; GnRH pulsatilitesindeki artışın, birtakım faktörlerin karmaşık etkileşimi ve hipotalamik gelişimsel programlanmayla ilgili olduğu düşünülmektedir (56).

#### 2.4. EMA ve Büyüme

Elektriksel ya da elektromanyetik alanların büyüme üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar birbiriyle çelişkili sonuçlar bildirmektedir. Schmidt ve ark. (79), intrauterin 2-18. günler arasında 0,4 W/kg, 2450 MHz radyasyona maruz bırakılan fetüslerde; ağırlık, uzunluk ve konjenital anomali oranı açısından fark bulamamışlardır. Aynı frekans ve güçte intrauterin radyasyon maruziyeti ile, fetal rat beyinlerinin ağırlığı da radyasyon almayan gruptan farksız bulunmuş ve bu türde radyasyonun beyin organogenezini etkilemediği yorumu yapılmıştır (80). Benzer bir çalışmada ise, gebeliğin 6-15. günleri arasında 6 W/kg, 2450 MHz radyasyona maruz bırakılan fetal ratlarda ortalama vücut ağırlığının anlamlı derecede azaldığı ve sternal ossifikasyonun anlamlı olarak geciktiği ifade edilmiştir (81).

Intrauterin büyüme geriliği (IUBG), erişkin dönemde psikiyatrik ya da kardiyovasküler hastalığa sahip olmakla ilgili bağımsız bir risk faktörü olarak tanımlanmış ve bu durumun, plasental 11- $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenazın down-regülasyonu ile ilgili olduğu bildirilmiştir (82,83). Fetüsün daha fazla glukokortikoide maruz kalmasına yol açan bu mekanizmanın yanı sıra; IUBG'nin artmış plasental ve fetal oksidatif stres ile ilgili olduğu da rapor edilmiştir (84-86).

IUBG'ne yol açan olumsuz etkilerin postnatal büyüme geriliği ile de ilişkili olabileceğini gösteren bazı kanıtlar mevcuttur. Cao ve ark. (87); prenatal olarak 8 saat/gün 50 Hz EMA'ya maruz bıraktıkları deneklerin, postnatal ilk 2 haftada kontrol grubundan daha düşük ağırlık artışlarının olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada; prenatal olarak EMA'ya maruz kalan grupta gözlerin açılması ve diş çıkarma gibi gelişimsel basamakların da geciktiğine dikkat çekilmiştir. Sürekli 50 Hz EA ile maruziyet yaratılan bir diğer çalışmada; prenatal grubun doğum ağırlığı, aylık tartı alımı ve IGF-1 seviyeleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulunmuş, ancak

postnatal grupla kontrol grubu arasında bu açıdan fark bulunamamıştır (16). Bu çalışmada; prenatal maruziyetin, yavrunun büyümesi üzerine postnatal maruziyetten daha etkili olduğu yorumu yapılmıştır. Sienkiewicz ve ark. nın (88) çalışmasında; prenatal düşük frekanslı manyetik alan maruziyetinin, erkeklerde postnatal 30. günde anlamlı olarak daha düşük tartı alımına neden olduğu ancak dişilerde aynı etkinin gözlenmediği bildirilmiştir. Anneler için de EMA'nın tartı alımı ile ilgili olumsuz etkilerinden bahsetmek mümkündür. Romerrein ve ark. (89); 60 Hz EMA'ya maruz bıraktığı gebe ratlarda, gestasyon süresince daha düşük ağırlık artışı gözlemişken, laktasyon sırasında da daha fazla ağırlık kaybı olduğunu bildirmişlerdir.

Berman ve ark. (90), farklı SAR değerlerinde (3,4-28 mW/cm<sup>2</sup>), 100 dakika/gün 2,45 mHz RF maruziyeti yarattıkları gebe farelerin yavrularının ortalama ağırlıklarının, kontrollerden daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacı, başka bir çalışmada; aynı süre ve güçteki RF'nin, yavruların postnatal 7. gün ağırlığında da azalmaya yola açtığını saptamıştır (91).

Bu bulgulardan yola çıkarak; özellikle prenatal dönemdeki EMA maruziyetinin hem intrauterin hem de postnatal büyümeyi etkilediğine dair kanıtlar bulunduğu; bu etkilerin postnatal maruziyetle ilgili olarak da gözlenebildiği söylenebilir. Literatürde, yaşamın erken dönemlerinde (DSÖ tarafından kabul edilen güvenli sınırlar içinde bulunan) 0,1 W/kg, 2450 MHz EMA maruziyetinin, prenatal ve postnatal büyüme üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

## 2.5. EMA ve Üreme Sistemi

Elektromanyetik radyasyonun etkisi genellikle kaynağa yaklaştıkça artmaktadır. Dizüstü bilgisayarlar aracılığıyla kablosuz internet kullanan erkeklerin genitelyasının, EMA'dan etkilenme olasılığının yüksek olabileceği düşünülerek dizayn edilmiş çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Sekiz hafta boyunca 2,45 GHz frekansında 1,4 W/kg SAR değeri ile radyasyona maruz bırakılmış ratların, testosteron seviyeleri ve Leydig hücre oranlarında azalma saptanmış; ancak seminifer tubulus çapları, spermatid, sertoli ve spermatogonyum hücreleri, epididimal sperm sayısı ve sperm motilitesinde anlamlı fark bulunamamıştır (92). Farklı RF kaynaklarının memeli hücrelerine etkilerini inceleyen bir çalışmada ise; izotermal koşullarda (37±2°C) 15 W/kg ve üzerindeki RF

maruziyetinin spermlerin fertilizasyon yeteneğini anlamlı oranda bozduğu ifade edilmiş ve bu etkinin RF'nin ısı etkisinden değil, direkt olarak oluşturduğu zararlı etkilerin sonucu olduğu bildirilmiştir (93). Ülkemizden bildirilmiş bir çalışmada 4 hafta boyunca 1 saat/gün 3,21 W/kg 2,45 GHz EMA'na maruz bırakılan erkek ratların Leydig hücre oranı ve spermatogenezin aşamalarını gösteren Johnson skorunda anlamlı azalma gözlenmiştir (94). Aynı çalışmada, Kaspaz-3 ile testis dokusunda apoptozun arttırdığı gösterilmiş ve EMA'nın testiküler hücreler ve spermatogenez üzerinde dejeneratif etkisi olduğu yorumu yapılmıştır.

Literatürde 2450 MHz EMA'nın puberteye etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamıştır. Dişi kuzularda puberte ve melatonin salgılanma paternini inceleyen 60 Hz EMA ile gerçekleştirilmiş bir çalışmada, maruziyet grubunda anlamlı bir etkilenme gözlenmediği bildirilmiştir (95), intrauterin dönemden başlayarak sürekli 50 Hz EA'na maruz bırakılan dişi ratlarda ise pubertenin geciktiği bildirilmiştir (16). Bu çalışmada; hipotalamusta histolojik olarak değerlendirilen dejenerasyon parametrelerinin prenatal grupta daha ağır olarak gözlendiği ve prenatal maruziyet grubunda, overlerdeki folliküllerde de anlamlı dejenerasyon saptandığı bildirilmiştir. Bu bulgular, EA'nın dokular üzerine direkt toksik etkisine bağlanmıştır.

Yüksek reproduktivite oranı ve hızlı yaşam siklüsü sebebiyle toksisite çalışmalarında sıkça kullanılan bir su canlısı olan *Daphnia magna* üzerinde yapılan bir çalışmada; endüstride kullanılan elektromanyetik radyasyonun (manyetik komponenti 15 microTl, elektriksel komponenti 12 kV/m), bu canlıların fertilitelerinde, kontrol grubu ile kıyaslandığında ortalama %70 oranında azalmaya yol açtığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada puberte yaşının iki katına çıktığı da rapor edilmiştir (98).

Görüldüğü gibi farklı frekans ve güçteki EMA'ların üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkilerini gösteren pek çok kanıt mevcuttur. Ancak bu çalışmanın konusu olan kablosuz internet gücündeki EMA'ya kronik maruziyetin puberte üzerine etkisini inceleyen bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneylei Yerele Etik Kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya başlanmıştır. Çalışmamız; SDÜ Tıp Fakültesi Hayvan Deneylei Araştırma Laboratuvarı, Biyokimya ve Histoloji Laboratuvarlarında, etik kurul kurallarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmaya; her birinde 6'şar adet 12 haftalık dişi Wistar rat bulunan 3 grup ile başlanmış, ancak prenatal ve postnatal grubunda 2'şer anne, çalışma esnasında kaybedilmiştir. Yavruların doğumundan sonra, bu gruplarda bulunan 4'er anneden rastgele seçilen 2'şer dişi rat ile oluşturulan 8'erli gruplarla çalışmaya devam edilmiştir. Gruplar şu şekilde tanımlanmıştır:

**1.Prenatal grup:** Ratlar gebe kaldıkları ilk günden itibaren doğum gerçekleşene kadar, günde 1 saat 2450 MHz RF alanına maruz bırakılmışlardır. Doğum sonrası yenidoğanlar ilk 21 gün anne yanında tutulmuş; daha sonra dişi olanlardan randomize seçilen 8 rat, puberteye kadar günde 1 saat, 2450 MHz RF alanına maruz bırakılmaya devam edilmiştir.

**2.Postnatal grup:** Ratlara gebelik süresince RF uygulanmamış, ancak doğumdan ve ilk 21 günlük emzirme periyodundan sonra, randomize seçilen 8 dişi rat, puberteye kadar her gün 1 saat süresince 2450 MHz RF alanına maruz bırakılmıştır.

**3.Kontrol grubu:** Diğer gruplarla aynı çevresel şartlarda tutulmuş, ancak hiçbir şekilde RF uygulanmamıştır (yalancı maruziyet grubu).

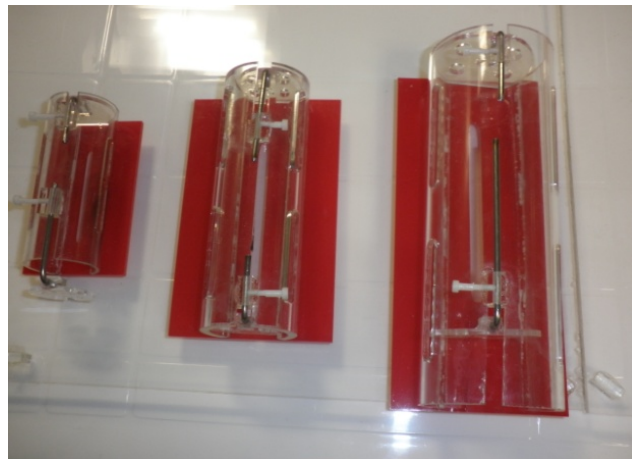
##### 3.1.2. Projenin Yapıldığı Ortam ve Koşullar

Ratların puberteye girme sürelerini çevresel faktörler etkileyebilmekte, özellikle erkekle temas veya erkek kokusu puberteyi erken başlatmaktadır. Bu yüzden ratlar; sadece dişilerin bulunduğu, EMA geçirmeyen, özel olarak dizayn edilmiş bir odada, ideal koşullar olan 20-25°C sıcaklık, % 45-60 nispi nem ve günde

12-16 saat ışık görmeleri sağlanacak şekilde tutulmuşlardır. Denekler; yeterli miktarda hayvansal ve bitkisel protein, vitamin ve mineral madde bulduran ve tüketilen yem miktarını ölçmekte kolaylık sağlayan, standard kalın pellet yem (Korkutelim Yem Gıda Sanayi Ticaret AŞ, Antalya) ile beslenmiştir. Ortam sıcaklığı ve havalandırma, Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Laboratuvarı tarafından ayarlanmıştır.

### 3.1.3. Maruziyet Sistemi ve Tasarımı

Deneysel 2450 Hz maruziyet için, 217 Hz darbeleri RF enerji kaynağı olan RF kaynağı (SET ELECO, Set Elektronik, İstanbul) cihazı ve bu cihaza ait monopollü anten düzeneği kullanılmıştır. Bu cihaz ile yapılan ön çalışmalarda, antene çok yakın noktalarda (yakın alan bölgesinde) 45,5 V/m elektrik alan yoğunluğu oluşturabildiği ve bu durumda anten çıkış gücünün 1 watt olduğu görülmüştür. Ancak çalışmanın gerçekçi olması için hayvanın tüm vücut ortalama SAR değeri 0,1 W/kg olacak şekilde ve anten RF çıkış gücünün 0,8 Watt ile sınırlandırılması yapılmıştır (97). Maruziyet alacakları zaman hayvanlar Carousel tip düzeneğe yerleştirilmiş ve maruziyet sırasında kıpırdamadan duracakları, büyüklüklerine göre 3 ayrı boyda özel olarak yaptırılmış, EMA'yı tam olarak iletebilen, sabitleyici, PVC kutularda tutulmuşlardır (Şekil 4).



**Şekil 4.** Deney hayvanlarının içinde tutulduğu düzenek (İzlemde denekler büyüdükçe, daha büyük olan sabitleyiciye alınmıştır).

Düzenek, 6 hayvana aynı anda ve eşit maruziyet uygulayacak şekilde dizayn edilmiştir (Şekil 5). Maruziyet günde 60 dk ve hergün üst üste 11.00-12.00 saatleri

arasında uygulanmıştır. Maruziyetin toplam süresi hayvanların pubertal gelişimlerine kadar devam etmiş ve puberte saptanan hayvanlar dekapite edilerek, gerekli kan ve doku örnekleri alınmıştır.



**Şekil 5.** RF oluşturan cihazla birlikte deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüsü.

Kontrol gruplarının maruziyetten etkilenmemesi için SDÜ Hayvan Denepleri Laboratuvarının 1 odası, 1 mm kalınlığındaki paslanmaz çelik topraklama levhaları ile kapatılmıştır (100 dB elektromanyetik ekranlama verimliliği ile) (Şekil 6). Yalancı maruziyet (kontrol) grubundaki deney hayvanları da maruziyet grubunda olduğu gibi 1 saat süre ile düzenekte hareketsiz tutularak, aynı stres faktöründen etkilenmeleri sağlanmıştır.



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

Deney başlangıcında RF enerjinin kontrol edilmesi ve gözlenmesi amacıyla kullanılan teknik cihazlar SDÜ Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bilim Laboratuvarlarından temin edilmiş ve teknik mühendislik desteği de bu Bilim Dalının öğretim üyelerinden alınmıştır. Darbe tekrarlama zamanı ve frekansın ölçülmesi için spektrum analizör (Promax, MC-877C, Barcelona, Spain) kullanılmıştır. Ortamda istenmeyen EMA'ların gözlenmesi için, RF Portable Survey System (Holaday, HI-4417, Minnesota, USA) cihazı kullanılmıştır. Bu çalışmada, biyolojik dokularda absorbe edilen enerjinin hesabı için Zamanda Sonlu Farklar Metodundan yararlanılmıştır (98,99). SAR hesabı için önce ortamda ölçülen EA, biyolojik dokunun antene olan uzaklığı ve dokunun 2450 MHz'deki elektriksel parametreleri bulunmuş ve Zamanda Sonlu Farklar Metodu, MATLAB yazılımı ile hesaplanmıştır (99,100). Yapılan çalışmalar ile tüm vücut ortalama SAR değerinin 0,1 W/kg (Tam olarak 0,143 W/kg)'a ayarlanabildiği görülmüştür. Kablosuz haberleşme cihazlarının çalışma koşullarına bağlı olarak ve genel olarak 0,1 W/kg SAR indükleyebildikleri bilinmektedir (101,102).

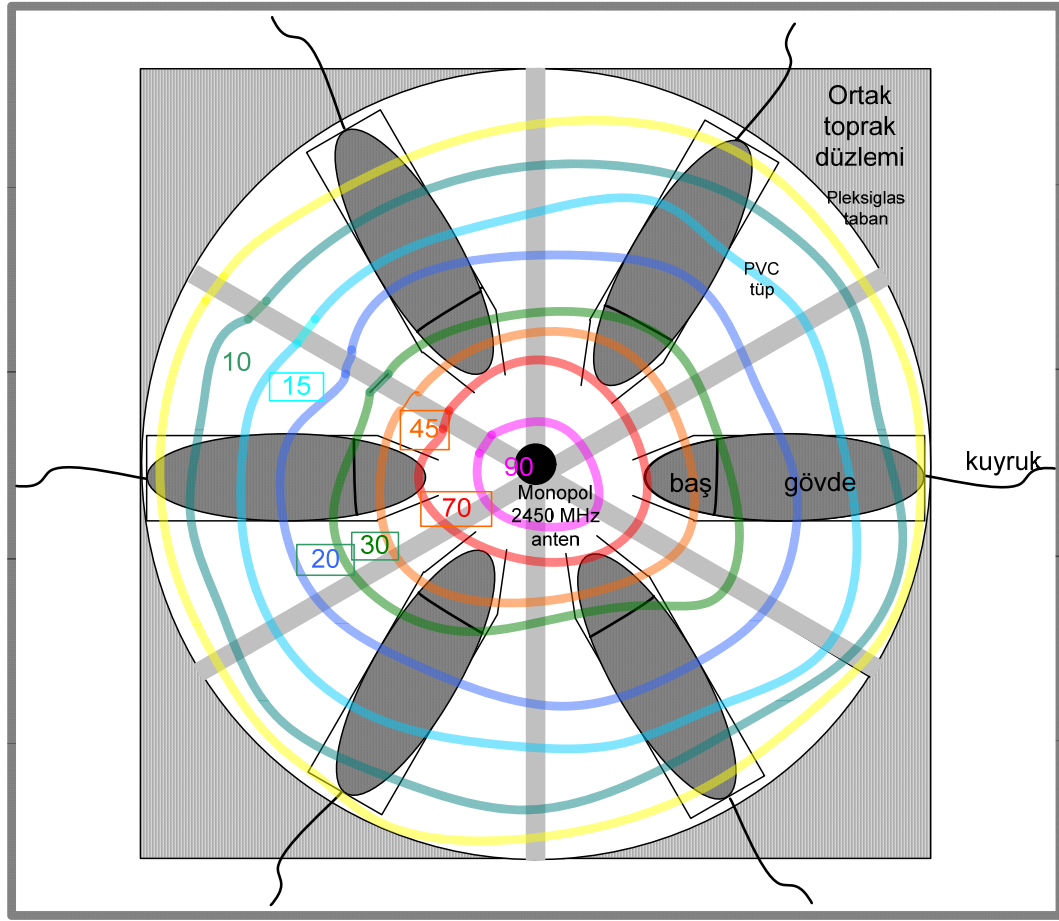
#### **3.1.4. 2450 MHz ISM Bandı (WiFi Haberleşme) Monopol Anteninden Yayılan 1 Watt Enerjinin Soğurma Hesabı**

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

2450 MHz'te rat dokuları için  $\epsilon_r$ , iletkenlik;  $\sigma$ , özgül ağırlık;  $\rho$  değerleri bilimsel literatürde verilen tablolardan bulunmuştur (103, 104).

Literatürden alınan doku özellikleri ile Zamanda Sonlu Farklar Metodu (FDTD) kullanan yazılım, ortalama tüm vücut SAR değerini 0,1 W/kg olarak bulmuştur.





Şekil 7. Maruziyet düzeneği şeması.

### 3.2. İzlem ve Pubertenin Belirlenmesi

#### 3.2.1. Ağırlık, Boy ve Besin Tüketimi

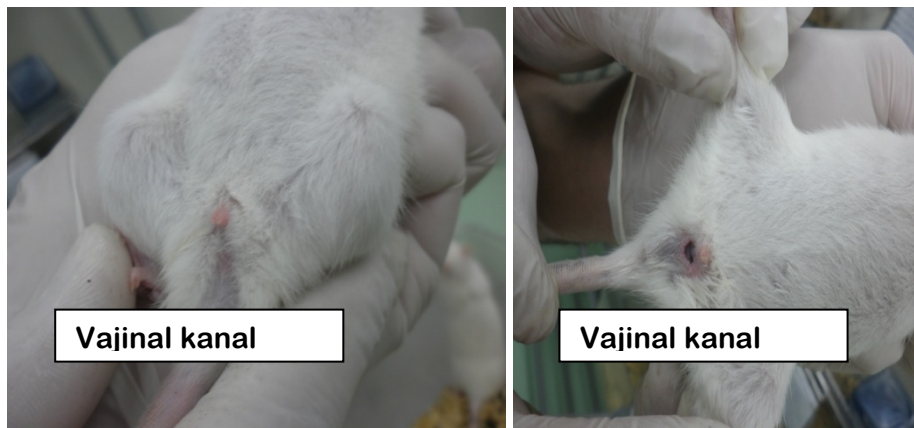
Ratların doğumdan itibaren her hafta ağırlıkları kaydedilmiş, ancak ilk 21 gün anne sütü ile beslenmek zorunda olduklarından, yavrulara başka bir müdahale uygulanmamıştır. Yavruların anne yanında bırakıldığı ilk 3 hafta boyunca insanla fazla temas, yavruların üzerine insan kokusu sinmesine ve annenin yavrularını yabancı kabul edip, zarar vermesine sebep olabilmektedir. Bu yüzden bu süre içinde daha uzun zaman alan ve daha çok temas gerektiren boy ölçüm işlemi yapılmamış; yavrular yalnızca hızlı bir şekilde tartılmışlardır. Bu süre boyunca anne ile birlikte tutulan yavrulara, sabitleyici içine konmadığı için RF de uygulanmamıştır. Daha sonra yavruların haftalık ağırlık, boy, yem ve su tüketimleri kaydedilmiştir. Yavruların ağırlıkları haftada 1 kez sabah saat 08:00'de aynı kişi tarafından 0,1 gr.

duyarlı AND GF-6000 (Japonya) marka tartı ile ölçülmüştür. Yine aynı gün ve aynı kişi tarafından deneğin baş ve vücudu aynı düzlemde olacak şekilde sabit ve baş ekstansiyonda olarak, burun ucu-kuyruk mesafesi (kuyruk hariç baş-gövde uzunluğu) 0,1 cm hassasiyetle ölçülmüş ve kaydedilmiştir.

Tüm ratlar, annelerinden ayrıldıktan sonra suya ve yiyeceğe rahatça ulaşabilecekleri ayrı ayrı kafeslerde tutulmuşlardır. Büyüme parametrelerinin beslenmeden etkilenebileceği düşünülerek, her kafese sabit oranda kalın pellet yem ve su bırakılmış, artan miktar değerlendirilerek deneklerin su ve yem tüketimleri hesaplanmıştır. Deneklerin puberteye girme ve dekapite edilme süreleri birbirinden çok farklı olduğundan (35-73 gün), büyümelerini değerlendirmek amacıyla günlük ortalama tartı alımları (östrusta ağırlık/östrus zamanı; g/gün), birim ağırlık başına tüketilen yem miktarı (toplam yem tüketimi/östrusta ağırlık; g/g) ve birim ağırlık başına tüketilen su miktarı (toplam su tüketimi/östrusta ağırlık; ml/g) birbiriyle karşılaştırılmıştır.

### 3.2.2. Pubertenin Saptanması

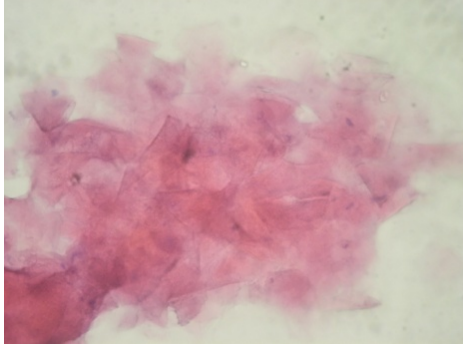
Deneklere 21 günlük olduktan sonra çalışma süresince, sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa vajinal muayene yapılmış, vajinal açıklık (VA) saptananların (Şekil 8) süreleri ve ağırlıkları kaydedilmiş ve bunlardan serum fizyolojik içine batırılmış pamuklu eküvyonla vajinal smear alınmıştır.



Şekil 8. Vajinal açıklığın değerlendirilmesi.

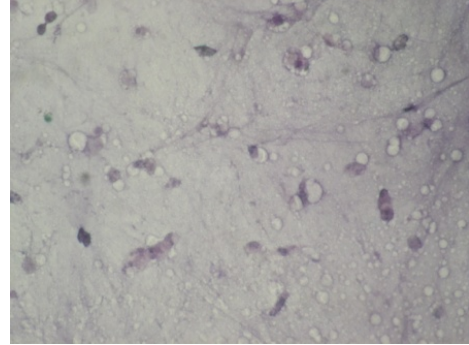
Alınan vajinal smearler lam üzerine 5-6 kez puşe edilmiş ve lamların üzerine kaplayacak şekilde metanol eklendikten 5-10 sn sonra %2 giemza ile boyanarak 10-

15 dakika içinde mikroskopta değerlendirilmiştir. Kornifiye (çekirdeksiz) epitel hücrelerinin görülmesi hali östrus olarak kabul edilmiş (Şekil 9); östrus süreleri ve puberteye giriş zamanındaki vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedilmiştir.



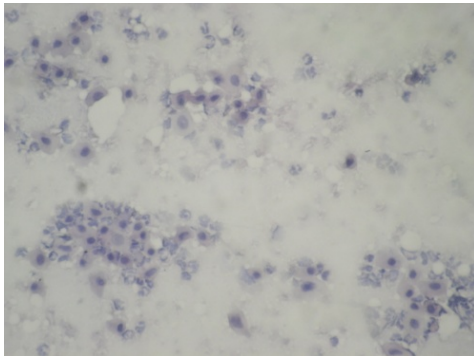
**Şekil 9a:** Östrus 20X

Östrus aşamasında çekirdeksiz kornifiye (yassı) epitel hücreleri (pembe renkte) görülmekte.



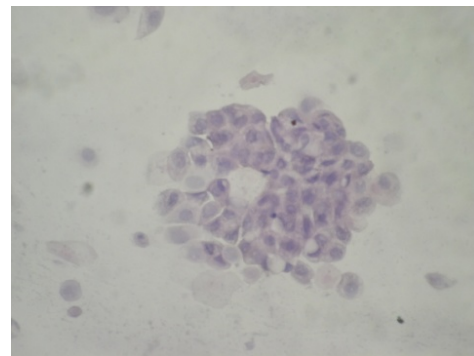
**Şekil 9b:** Metöstrus 40X

Bol miktarda mukus ve lökosit ile azalan miktarlarda kornifiye epitel ile çekirdekli poligonol hücreler görülmekte.



**Şekil 9c:** Diöstrus 20X

Diöstrusa geçişte kornifiye epitel gözlenmezken, azalan mukus miktarı ve oval çekirdekli hücreler göze çarpmakta.



**Şekil 9d:** Proöstrus 20X

Mukus ve lökosit çok nadir iken çekirdekli oval ve yassı hücreler gözlenmektedir.

**Şekil 9.** Vajinal smearda saptanan siklus evreleri (Östrus, metostrus, diostrus, proöstrus).

### 3.2.3. Deneyin Sonlandırılması

VA ve östrus değerlendirilerek puberte saptandığı anda, deney sonlandırılmıştır. İntraperitoneal ketamin (Ketalar, Pfizer) 80 mg/kg ve Xylazine (Alfamin, Alfasan IBV) 10 mg/kg ile anestezi sağlanarak dekapitasyon sonrası, orta hat insizyonu ile ratların batinları açılarak, inferior vena cavadan kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örnekleri, serum IGF-1, FSH, LH ve Östradiyol (E2) düzeylerinin çalışılabilmesi için serumları ayrılarak, çalışma zamanına kadar -80 °C’de saklanmıştır. Ratlar dekapite edildikten sonra, her birinin beyin dokuları ayrılarak tartılmış, daha sonra hipotalamus dokusu ayrılmıştır. Beyin ve over dokuları hassas terazide tartılıp, bir beyin yarı küresi ve bir over, oksidatif stres (Total oksidan status (TOS) /total antioksidan status (TAS)) değerlendirilmesi için 1/10 fosfat tamponuna konarak çalışma zamanına kadar yine -80°C’ de saklanmıştır.

Histolojik incelemeler için diğer beyin yarı küresi ve over, % 4’lük paraformaldehit solüsyonu içine alınmıştır. Hipofiz ve hipotalamus bloklarından alınan ince kesitlerde immünohistokimyasal olarak GnRH1/GNRH1 reseptörü (hipotalamus) dağılımı ve morfolojik değişiklikler incelenip, semikantitatif olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca over dokusunda da follikül sayıları değerlendirilmiş ve morfolojik değişiklikler incelenmiştir. Dokularda apoptozisi ortaya koyabilmek için “Kaspaz-3” boyası ile immünohistokimyasal boyama yapılmıştır.

Yukarıdaki işlemlerin gerçekleştirilmesi esnasında; soğutmalı santrifüj eppendorf MR 5415 (Almanya), derin dondurucu Facis (Fransa), hassas terazi Scaltec (İsviçre), Vorteks (karıştırıcı) Nüve NM 100 (Türkiye), otomatik pipetler (Gilson, Fransa), kullanılmıştır.

#### 3.2.4.1. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Serum numunelerinden FSH, LH, E2 ve IGF-1 düzeyleri; ticari kit ambalajından (USCNK Life Science Inc) çıkan, ilgili teste (LH, FSH, E2 VE IGF-1) spesifik monoklonal antikor ile kaplı, mikrotitreli plateler ile, ELISA yöntemiyle çalışılmıştır. Prospektüse uygun şekilde hazırlanmış standartlar ve numuneler mikrotitreli plateye uygun miktarda pipetlenmiştir. Ardından teste spesifik konjuge biotin poliklonal antikor pipetlenmiş ve inkübe edilmiştir. Daha sonra sırasıyla

Avidin ile konjuge Horseradish peroksidaz (HRP) eklenmiş, inkübe edilmiş ve TMB substrat solusyonu konmuş, inkübe edilmiş ve reaksiyona sülfirik asitten oluşan bir stop solusyonu ile son verilmiştir. Renk değişimi 450 nm de okutulmuş ve standart-optik dansite grafiği oluşturulmuştur. Numunelerin LH, FSH, E2 ve IGF-1 konsantrasyonları kendilerine ait standart grafiklerinden hesaplanmıştır.

Kullanılan kitlerin ölçüm aralığı FSH için 0,625-40 mIU/ml, LH için 0,78-50 mIU/ml, E2 için 12,35-1000 pg/ml ve IGF1 için 0,156-10 ng/ml idi. Saptanabilir en düşük değer FSH için 0,297 mIU/ml, LH için 0,26 mIU/ml, E2 için 5,9 pg/ml ve IGF1 için 0,062 ng/ml idi.

#### 3.2.4.2. Oksidatif Stres İndeksi

Serumdaki birçok oksidan ve antioksidan maddenin etkisinin birbirine katkıda bulunduğu ve oksidatif stresin, oksidanlarda artış ve/veya antioksidan kapasitede azalma şeklinde tanımlandığı bilinmektedir (105). Bu yüzden tek tek oksidanlar ya da antioksidanların ölçümü; fazla zaman, iş-gücü ve para gerektirmenin yanı sıra, organizmanın gerçek oksidatif durumunu göstermeyebilir. Farklı çalışmalarda, organizmanın total oksidan ve antioksidan stresini gösteren TOS ve TAS parametrelerinin birbirine oranlanmasıyla bulunan oksidatif stres indeksinin (OSİ) kullanılmasının, güvenilir sonuçları olduğu gösterilmiştir (106,107).

Dokuda OSİ değerlerinin bulunabilmesi için öncelikli olarak; fosfat tamponu ile 5 kat dilüe edilerek -80 °C'de saklanan dokular, çalışma günü çözdürülerek, önce 18-20 darbede teflon homojenizatör ile, daha sonra sonikasyon işlemi ile (Bandelin Sonoplus, HD2070, Almanya), 30 saniye süreyle, soğuk zincire uyularak homojenize edilmiştir. Bu süre sonunda elde edilen %20'lik homojenatlar, +4°C'de 10 dakika süreyle 10000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edilmiş ve bu süpernatantlarda, Rel Assay Diagnostics Assay Kitleri ve Olympus AU2700 otomatize biyokimya analizörü ile spektrofotometrik yöntemle, TAS ve TOS parametreleri çalışılmıştır.

TAS düzeyi 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.

TOS düzeyi ölçümü için; numunede bulunan oksidan maddeler, ferröz iyon şelatör kompleksten ferrik iyon haline okside olmuştur. Ferrik iyon formu, asidik ortamda kromojen ile renkli bir kompleks 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.

Sonuçlar TAS, TOS ve OSI değerleri şeklinde verilmiştir.

OSI: TOS/TAS şeklinde beklende bölünerek hesaplanmıştır. 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.

### **3.2.4.3. Histolojik Parametrelerin Ölçümü**

#### **1. Fiksasyon ve Doku Takip Aşamaları**

Dokular tamponlanmış % 4'lük paraformaldehit (Merck) içine alınmış ve fikse olmaları için 24-48 saat beklendikten sonra doku takip işlemine başlanmıştır. Öncelikle bir gece boyunca akarsuda yıkama yapılmış; fiksatiften arındırılan dokular yükselen derecelerdeki alkollerden (Merck) geçirilerek dehidrate edilmiştir. Daha sonra şeffaflaşmaları için ksilol (Merck) içerisinde bekletilen dokular, gömme işlemi için 65 °C'lik etüvde, 1:1 oranında ksilol-parafin ve parafin içerisinde bekletildikten sonra parafin bloklara gömülmüştür. Takip sırasında kullanılan kimyasallar ve süreleri Tablo 1'de verilmiştir.

Elde edilen parafin bloklardan Leica marka kızaklı mikrotomda 4-5  $\mu\text{m}$  kalınlığında kesitler alındıktan sonra kesitler; rutin histolojik incelemeler için normal lamlara, immünohistokimyasal incelemeler için Poly-L-lysine kaplı lamlara (Thermo Scientific) alınmıştır.

**Tablo 3.** Doku takibi sırasında kullanılan kimyasallar ve süreleri.

<b>Kullanılan kimyasal</b>	<b>Süre</b>
1- Çeşme Suyunda yıkama	1 gece
2- % 50'lik etil alkol	2 saat
3- %70'lik etil alkol	1 saat
4- %80'lik etil alkol	1 saat
5- %90'lık etil alkol	1 saat
6- %96'lık etil alkol	1 saat
7- %100'lük etil alkol	1 saat
8- %100'lük etil alkol	1 saat
9- Ksilol	1-10 dk
10- Ksilol-Parafin	1-10 dk
11- Parafin	3 saat

## 2. Histolojik Değerlendirme

Rutin histolojik incelemeler için dokular Hematoksilen-Eosin boyaları ile boyanmış ve ovaryum dokularında ek olarak Periyodik Asit Schiff (PAS) ile de boyama yapılmıştır.

Histolojik preparatlarda; hipotalamusta dejenerasyon indeksi (apoptotik değişiklikler, ödem, hücre dezorganizasyonu, vakuolizasyon ve vasküler konjesyon varlığı ışık mikroskopisinde değerlendirilerek, 5 üzerinden) hesaplanmıştır. Overlerden alınan rastgele 4 kesit mikroskopta incelenerek folliküllerin sayısı ve

tipleri belirlenmiştir. Ayrıca overdeki bağ dokusu miktarı da 1-5 arasında şu şekilde puanlanarak değerlendirilmiştir;

1: Çok az

2: Az

3: Orta

4: Hafif artmış

5: Artmış

Rutin histolojik incelemeler için dokular Hematoksilen-Eosin boyaları ile boyanmış ve immünohistokimya protokolü ayrıca uygulanmıştır.

### 3. İmmünohistokimya Protokolü

İmmünohistokimya için lizinli lamlara alınan dokular deparafinizasyon için etüvde 15-60 dk ısıtıldıktan sonra ksilol ve dereceli alkollerden geçirilerek hidrate edilmiştir. Endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için metanolde çözünmüş %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Merck) solüsyonunda bekletilen dokular PBS'te (Fosfat tamponlu salin) (Sigma) yıkanmıştır. Ardından Sitrata tamponuna (Thermo Scientific) alınan dokular, ısı aracılı epitop açığa çıkarma işlemi için mikrodalga fırında iki kez ısıtılıp soğutulmuş ve yine PBS'te yıkanmıştır.

Kullanılacak kimyasalların birbirine karışması ve fazla kimyasal kullanılmasının engellenmesi için bu aşamadan itibaren lamaların üzerindeki doku örneklerinin çevresi hidrofobik PAP pen kalem ile çizilmiş ve boyama süresinde bu işlem gerektiğince tekrarlanmıştır. Nonspesifik antikor bağlanmasını engellemek için Ultra V Block (Thermo Scientific) solüsyonu damlatılan dokular, PBS-Tween 20 (Thermo Scientific) solüsyonunda yıkanmıştır.

Bloklamanın ardından inkübasyon kabına alınan lamalar üzerine 1:50 oranında dilüe edilmiş primer antikorlar damlatılmıştır. Her lam üzerindeki ilk sıradaki dokulara *Mouse monoclonal GnRH-1* antikoruna (*Santa Cruz, sc-32292*), ikinci sıradaki dokulara *Goat polyclonal GnRH-R* antikoruna (*Santa Cruz, sc-8682*) üçüncü sıradaki dokulara ise kontrol amacıyla uygun sekonder antikor solüsyonu damlatılmıştır. Örneklerden alınan ikinci kesitler ise Kaspaz-3 boyamaları için



kullanılmıştır. İkinci lamlardaki ilk sıradaki dokulara aynı şekilde *Mouse monoclonal GnRH-1* antikorunu (*Santa Cruz, sc-32292*) damlatılırken ikinci sıradaki dokulara farklı olarak *Rabbit Active Caspase-3* antikorunu (*Abcam, ab44976*) üçüncü sıradaki dokulara ise yine kontrol amacıyla uygun sekonder antikor solüsyonu damlatılmıştır. Lamlar nemli inkübasyon kabında +4°C’de bir gece bekletilmiştir.

Buraya kadar olan aşamalar, Tablo 2’de özetlenmiştir. Ertesi gün primer antikorlar PBS-Tween 20 çözeltisinde yıkanıp sekonder antikorlar ile 30 dk inkübasyon yapılmıştır. GnRH-1 ve Kaspaz-3 antikorları için Goat anti-polyvalent (Thermo), GnRH-R antikorunu için ise Donkey anti-goat IgG (Santa Cruz) kullanılmıştır. Boyama işleminin geri kalanına ABC Staining Kit (Santa Cruz, sc-2018) kullanılarak devam edilmiş; firmanın talimatlarına göre hazırlanan solüsyonlar Tablo 3’teki sırayla kesitlere uygulanmıştır.

Entellan kullanılarak lamel ile kapatılan dokular kuruduktan sonra, ışık mikroskopunda inceleme için saklanmıştır. Örnekler değerlendirilirken; zayıf boyamalar için 1, orta yoğunlukta boyamalar için 2 ve yoğun boyamalar için 3 değeri verilerek gruplar karşılaştırılmıştır.

### 3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmanın analizi bilgisayar ortamında SPSS 15.0 istatistik programında yapılmış; ölçüm verileri aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata (Mean $\pm$ SE) şeklinde gösterilmiştir. Deney grupları arasındaki farklılığı değerlendirmek için, sayısal parametreler için Kruskal–Wallis varyans analizi, sayısal olmayan değerler için Ki-kare testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi önemli farklılaşma gösterirse, hangi grubun diğerinden farklı olduğu Mann-Whitney U testi ile araştırılmıştır. Anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**Tablo 4.** İnkubasyon öncesi immünohistokimyasal çalışmanın aşamaları.

<b>Kullanılan kimyasal</b>	<b>Süre</b>
1- Ksilol-1	10 dk
2- Ksilol-2	10 dk
3- %100'lük Etil Alkol	5 dk
4- %100'lük Etil Alkol	5 dk
5- %90'lık Etil Alkol	5 dk
6- %80'lik Etil Alkol	5 dk
7- %70'lik Etil Alkol	5 dk
8- Distile Su	5 dk
9- %3'lük H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	5 - 10 dk
10- PBS'te yıkama	5 dk x 3 kez
11- Sitrat tamponunda mikrodalga fırında	1,5 - 2 dk
12- Oda ısısında soğutma	20 dk
13- Sitrat tamponunda mikrodalga fırında	1 dk
14- Oda ısısında soğutma	20 dk
15- PBS'te yıkama	5 dk x 3 kez
16- Ultra V Block	5 - 10 dk
17- PBS-Tween 20	5 dk x 3 kez
18- Primer antikor (+4 °C'de)	1 gece

**Tablo 5.** İnkübasyon sonrası immunohistokimyasal çalışmaların aşamaları.

<b>Kullanılan kimyasal</b>	<b>Süre</b>
1- PBS'te yıkama	5 dk x 3 kez
2- Biotinli sekonder antikor	30 dk
3- PBS'te yıkama	5 dk x 3 kez
4- AB enzyme reagent	30 dk
5- PBS'te yıkama	5 dk x 3 kez
6- Peroksidaz substrat	2-8 dk
7- Distile suda yıkama	5 dk x 3 kez
8- Hematoksilen (Mayer)	20 sn - 1 dk
9- Distile suda yıkama	5 dk x 3 kez
10- %70'lik Etil Alkol	5 Dk
11- %80'lik Etil Alkol	5 dk
12- %90'lık Etil Alkol	5 dk
13- %100'lük Etil Alkol	5 Dk
14- Ksilol-1	10 dk
15- Ksilol-2	10 dk
16- Kapatma	

#### 4. BULGULAR

Prenatal gruptaki anne ratlardan 2 tanesi, çalışmanın 5. ve 7. günlerinde bilinmeyen bir sebeple kaybedildi. Postnatal gruptaki anne ratlardan 2 tanesi ise; yavrularını emzirme esnasında, tüm yavrularıyla beraber yine bilinmeyen bir sebeple (yavrularına ve kendisine zarar vererek) kaybedildi. Deneye her gruptan kalan 4'er anne ratın rastgele olarak seçilen 2'şer dişi yavrusu ile oluşturulan 8'erli gruplarla devam edildi.

Üç grubun doğum ağırlıkları ve postnatal 2. hafta ağırlıkları arasında anlamlı fark saptanamadı ( $p>0,05$ ). Postnatal 3. haftaya gelindiğinde ise; prenatal grubun ağırlığı hem kontrol, hem de postnatal gruptan anlamlı olarak düşük saptanırken ( $p<0,05$ ); postnatal grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p>0,05$ ). Postnatal 4. haftada; prenatal grubun boyu da, diğer iki gruptan daha düşük bulundu ( $p>0,05$ ), ancak postnatal grupla kontrol grubu arasında ağırlık ve boy açısından anlamlı fark gözlenemedi ( $p>0,05$ ). Deney hayvanlarının ilk 4 haftadaki ağırlık ve boy ölçümleri ortalamaları Tablo 6'da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Deney hayvanlarının ilk 4 haftadaki ağırlık ve boy ölçümleri

	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
D.Ağırlığı (g)	6,23±0,24	6,75±0,12	6,93±0,32	0,183
PN <sup>#</sup> 2. hafta ağırlık (g)	13,47±0,26	14,86±0,84	16,77±1,35	0,130
PN. 3.hafta ağırlık (g)	16,62±0,43	20,17±1,14	27,93±3,76	<b>0,002<sup>x</sup></b>
PN 4 · hafta ağırlık (g)	26,30±0,98	31,70±0,71	44,90±6,70	<b>0,002<sup>*</sup></b>
PN 4. hafta boy (cm)	9,73±0,20	11,10±0,17	11,42±0,39	<b>0,002<sup>□</sup></b>

<sup>x</sup> prenatal-kontrol  $p=0,001$ , postnatal-kontrol  $p=0,105$ , prenatal-postnatal  $p=0,007$

<sup>\*</sup> prenatal-kontrol  $p=0,003$ , postnatal-kontrol  $p=0,721$ , prenatal-postnatal  $p=0,000$

<sup>□</sup> prenatal-kontrol  $p=0,003$ , postnatal-kontrol  $p=0,279$ , prenatal-postnatal  $p=0,001$

<sup>#</sup>PN: postnatal

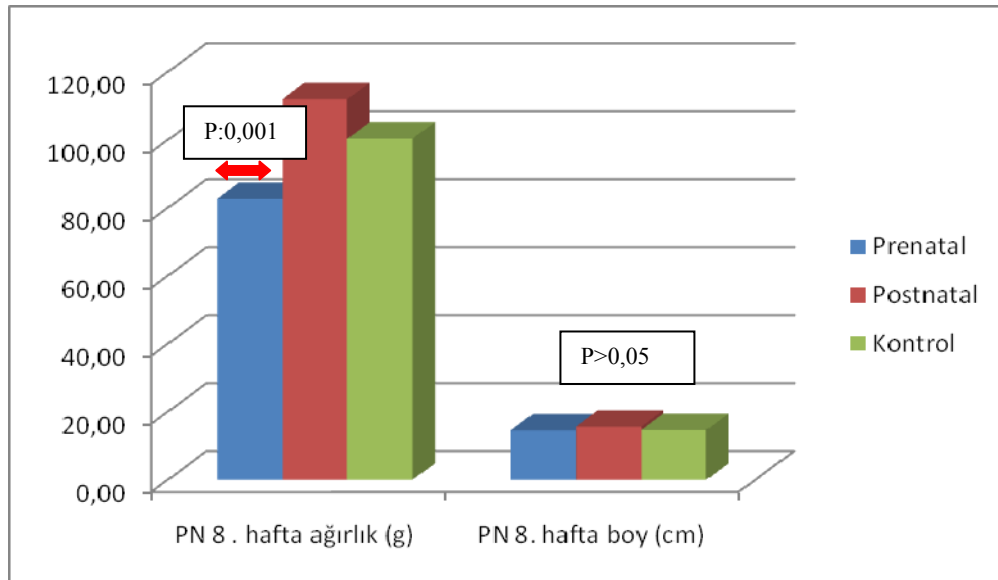
Postnatal 8. haftaya gelindiğinde; grupların ağırlık ortalamaları arasındaki farklılığın devam ettiği, ancak boy ortalamaları arasında anlamlı farklılık bulunmadığı gözlemlendi (Tablo 7 ve Şekil 10).

**Tablo 7.** Grupların postnatal 8. haftadaki ağırlık ve boy ortalamalarının karşılaştırılması

	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
PN <sup>#</sup> 8. hafta ağırlık (g)	82,6±16,05	112,73±9,5	100,36±25,76	<b>0,008*</b>
PN 8. hafta boy (cm)	14,53±1,07	15,6±0,60	14,66±1,85	0,153

\* prenatal-kontrol p=0,354, postnatal-kontrol p=0,284, prenatal-postnatal p=0,001

<sup>#</sup>PN: postnatal



**Şekil 10.** Grupların 8. haftadaki ağırlık ve boy ortalamalarının karşılaştırılması

Prenatal grubun günlük ortalama tartı alımı, postnatal gruptan anlamlı olarak daha düşük bulunurken ( $p < 0,05$ ); postnatal grupla kontrol grubunun günlük tartı alımı ise birbirine benzer bulundu ( $p > 0,05$ ) (Tablo 8). Prenatal ve postnatal grubun günlük ortalama yem ve su tüketimi arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p > 0,05$ ); ancak her iki grubun günlük yem ve su tüketimleri, kontrol grubundan anlamlı olarak fazla saptandı ( $p < 0,05$ ). Birim ağırlık başına tüketilen yem ve su miktarı değerlendirildiğinde; hem prenatal hem de postnatal grubun, kontrol grubuna göre

yem ve su tüketimi anlamlı olarak fazla bulundu ( $p<0,05$ ). Prenatal grubun birim ağırlık başına yem tüketimi postnatal grupla benzer iken ( $p>0,05$ ), su tüketimi postnatal gruptan anlamlı olarak fazlaydı ( $p>0,05$ ).

**Tablo 8.** Grupların günlük ve ağırlıklarına oranla yem ve su tüketimleri

	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
Tartı alımı/gün (g/gün)	1,62±0,08	2,02±0,72	2,00±1,40	<b>0,027*</b>
Yem/gün (g/gün)	6,75±0,50	7,92±0,29	4,64±0,39	<b>0,001<sup>□</sup></b>
Su/gün (ml/gün)	9,75±0,67	9,28±0,38	5,67±0,054	<b>0,001<sup>°</sup></b>
Yem/Ağırlık (g/g)	4,20±0,36	4,13±0,48	2,39±0,25	<b>0,004**</b>
Su/Ağırlık (ml/g)	6,09±0,49	4,62±0,25	2,92±0,32	<b>0,000<sup>×</sup></b>

\* Prenatal-kontrol p= 0,083, postnatal-kontrol p=0,645, prenatal-postnatal p= 0,005

□ Prenatal-kontrol p= 0,007, postnatal-kontrol p=0,000, prenatal-postnatal p= 0,083

° Prenatal-kontrol p= 0,000, postnatal-kontrol p=0,000, prenatal-postnatal p= 0,878

\*\* Prenatal-kontrol p= 0,001, postnatal-kontrol p=0,007, prenatal-postnatal p= 0,878

× Prenatal-kontrol p= 0,000, postnatal-kontrol p=0,002, prenatal-postnatal p= 0,021

Grupların boy artış hızları değerlendirildiğinde; 4. haftadan itibaren haftalık boy kazanımları açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır (Tablo 9).

**Tablo 9.** Grupların haftalık boy artışlarının karşılaştırılması

	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
4. hafta boy artışı (cm)	1,12±0,23	1,33±0,13	1,20±0,41	<b>0,261</b>
5. hafta boy artışı (cm)	1,28±0,19	1,48±0,29	0,85±0,13	<b>0,113</b>
6. hafta boy artışı (cm)	0,63±0,13	0,65±0,06	0,52±0,08	<b>0,479</b>
7. hafta boy artışı (cm)	1,50±0,22	0,90±0,13	0,94±0,27	<b>0,143</b>
8. hafta boy artışı (cm)	0,74±0,10	0,57±0,11	0,90±0,00	<b>0,088</b>

VA ve östrusa girme zamanı; prenatal grupta, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha uzun bulundu ( $p<0,05$ ). Bu grupların puberte esnasındaki ağırlıkları ve boyları arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p>0,05$ ). Postnatal grupla kontrol grubu arasında; VA zamanı, östrus zamanı, östrusta ağırlık ve östrusta boy açısından anlamlı farklılık bulunamadı (Tablo 10).

**Tablo 10.** Deneklerin puberteye girme zamanları ile bu esnadaki ağırlık ve boyları

	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
VA (gün)	63,50±1,98	57,75±0,75	49,88±3,98	<b>0,012*</b>
Östrus (gün)	66,25±1,54	63,13±1,06	53,00±4,23	<b>0,016<sup>□</sup></b>
Östrusta ağırlık (g)	107,60±4,92	126,00±3,97	104,50±8,38	<b>0,036<sup>°</sup></b>
Östrusta boy (cm)	15,40±0,32	16,27±0,24	14,98±0,50	0,063

\* Prenatal-kontrol  $p= 0,010$ , postnatal-kontrol  $p=0,130$ , prenatal-postnatal  $p= 0,028$

<sup>□</sup> Prenatal-kontrol  $p= 0,010$ , postnatal-kontrol  $p=0,050$ , prenatal-postnatal  $p= 0,161$

<sup>°</sup> Prenatal-kontrol  $p= 0,645$ , postnatal-kontrol  $p=0,050$ , prenatal-postnatal  $p= 0,015$

Prenatal ve postnatal grubun beyin ve over dokularındaki TOS değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Beyin dokusunun TAS değeri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmezken ( $p>0,05$ ), over dokusunun TAS değerleri prenatal ve postnatal grupta daha yüksek olarak saptandı (Tablo 11-12).

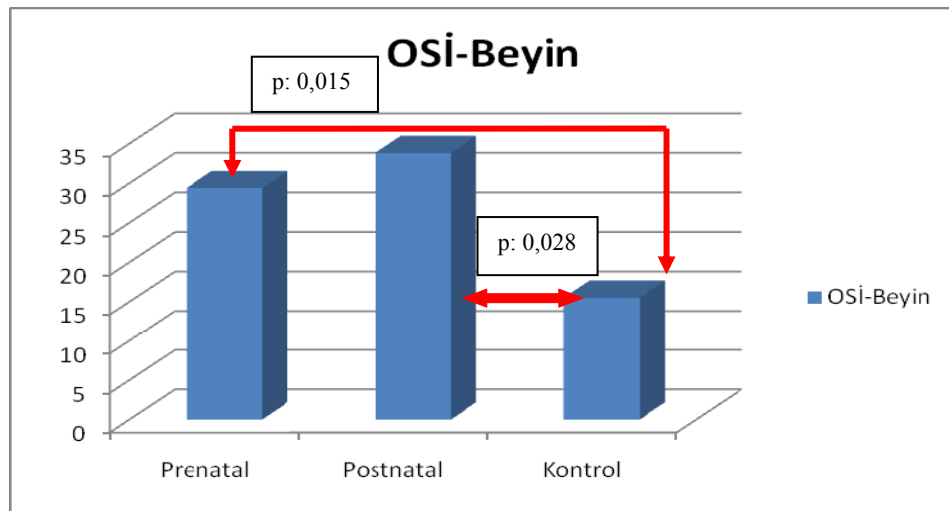
Grupların beyin dokusu OSİ değerleri Şekil 11’de, over dokusu OSİ değerleri ise Şekil 12’de grafik olarak gösterilmiştir.

**Tablo 11.** Beyin dokusunun oksidatif stres parametreleri

	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
TOS-Beyin ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./ L)	8,74 $\pm$ 1,17	8,76 $\pm$ 1,10	4,97 $\pm$ 0,84	<b>0,027*</b>
TAS-Beyin ( $\mu\text{mol Trolox Eqv./ L}$ )	0,30 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,02	0,32 $\pm$ 0,01	0,225
OSİ-Beyin	29,38 $\pm$ 4,37	33,79 $\pm$ 5,67	15,52 $\pm$ 2,82	<b>0,027°</b>

\* Prenatal-kontrol p= 0,010, postnatal-kontrol p=0,038, prenatal-postnatal p= 0,878

° Prenatal-kontrol p= 0,015, postnatal-kontrol p=0,028, prenatal-postnatal p= 0,959

**Şekil 11.** Grupların beyin dokusunun OSİ değerlerinin karşılaştırılması.

Beyin dokusunun OSİ değerleri karşılaştırıldığında; prenatal ve postnatal grubun OSİ değerlerinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu ( $p<0,05$ ); ancak prenatal ve postnatal grupları arasında anlamlı fark bulunmadığı gözlemlendi ( $p>0,05$ ) (Tablo 11, Şekil 11). Over dokusu OSİ değerlerinin ise; prenatal grupta, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ( $p<0,05$ ). Postnatal-kontrol ve prenatal-postnatal grupları arasında, over dokusu OSİ değerleri arasında anlamlı fark saptanamadı ( $p>0,05$ ). (Tablo 12, Şekil 12).



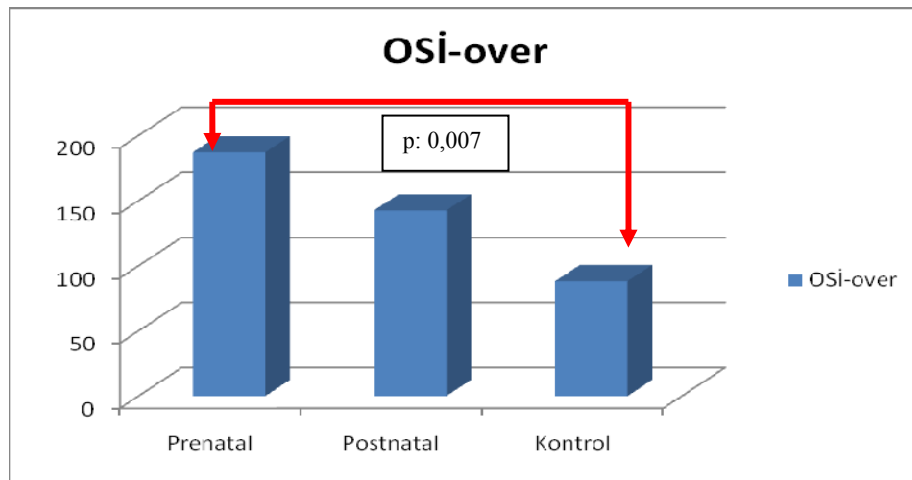
**Tablo 12.** Over dokusunun oksidatif stres parametreleri

	<b>Prenatal</b>	<b>Postnatal</b>	<b>Kontrol</b>	<b>p</b>
TOS-over ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./ L)	23,64 $\pm$ 1,77	18,48 $\pm$ 1,25	7,51 $\pm$ 1,91	<b>0,000<sup>□</sup></b>
TAS-over ( $\mu\text{mol Trolox}$ Eqv./ L)	0,12 $\pm$ 0,007	0,13 $\pm$ 0,008	0,09 $\pm$ 0,006	<b>0,029<sup>°</sup></b>
OSİ-over	187,15 $\pm$ 15,91	142,54 $\pm$ 10,43	88,21 $\pm$ 24,89	<b>0,013<sup>°</sup></b>

<sup>□</sup> Prenatal-kontrol p= 0,000, postnatal-kontrol p=0,000, prenatal-postnatal p= 0,038

<sup>°</sup> Prenatal-kontrol p= 0,015, postnatal-kontrol p=0,028, prenatal-postnatal p= 0,878

<sup>°</sup> Prenatal-kontrol p= 0,007, postnatal-kontrol p=0,105, prenatal-postnatal p= 0,183

**Şekil 12.** Grupların over dokusunun OSİ değerlerinin karşılaştırılması.

Grupların overlerindeki bağ dokusu miktarı açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p>0,05$ ). Toplam follikül sayıları açısından da gruplar arasında anlamlı fark saptanamadı; ancak prenatal grubun diğer gruplara göre görece daha az folliküle sahip olduğu ve bağ dokusu oranının biraz daha yüksek olduğu gözlemlendi (Tablo 13).

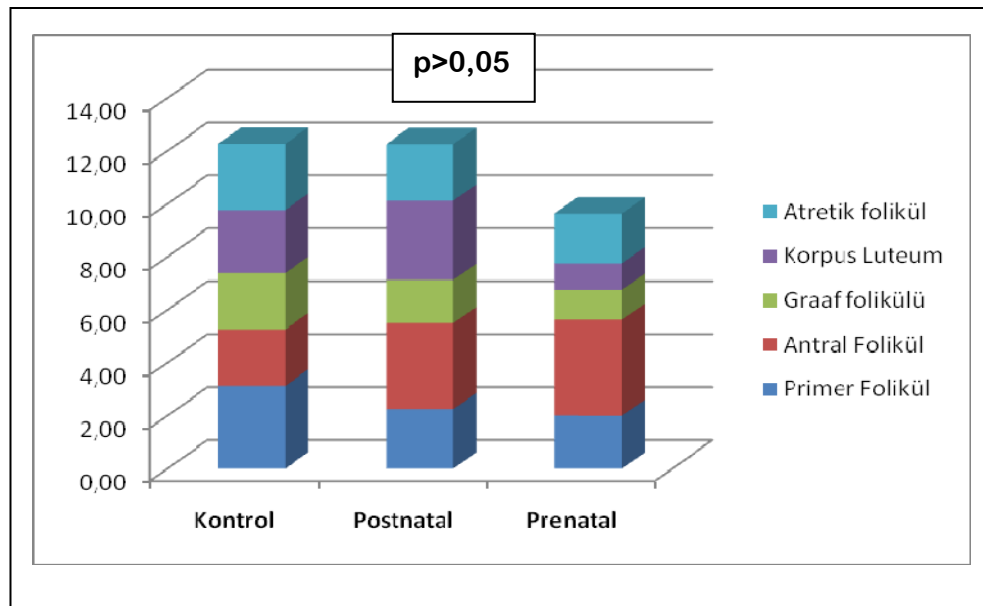
**Tablo 13.** Deneklerin overlerinde saptanan follikül tipleri, sayısı ve bağ dokusu miktarları.

No	Primordiyal Follikül	Primer Follikül	Antral Follikül	Graaf follikülü	Korpus Luteum	Atretik follikül	Toplam follikül sayısı	Bağ Doku Miktarı
Prenatal 1	Bol	0	2	2	1	1	6	3
Prenatal 2	Bol	1	1	1	0	1	4	3
Prenatal 3	Bol	4	8	3	0	2	17	4
Prenatal 4	Bol	2	4	2	1	2	11	3
Prenatal 5	Bol	3	4	0	1	4	12	2
Prenatal 6	Bol	2	1	0	1	2	6	4
Prenatal 7	Bol	3	4	0	1	2	10	2
Prenatal 8	Bol	1	5	1	3	1	11	3
<b>Toplam</b>							<b>77</b>	<b>24</b>
Postnatal 1	Bol	3	2	1	1	4	11	2
Postnatal 2	Bol	3	5	0	3	4	15	3
Postnatal 3	Bol	1	2	3	4	2	12	3
Postnatal 4	Bol	1	4	4	5	1	15	3
Postnatal 5	Bol	9	4	3	1	2	19	2
Postnatal 6	Bol	1	5	0	4	2	12	3
Postnatal 7	Bol	0	1	2	2	2	7	4
Postnatal 8	Bol	0	3	0	4	0	7	2
<b>Toplam</b>							<b>98</b>	<b>22</b>
Kontrol 1	Bol	3	0	4	3	2	12	2
Kontrol 2	Bol	4	1	0	2	3	10	3
Kontrol 3	Bol	5	6	0	4	3	18	2
Kontrol 4	Bol	1	1	2	4	3	11	3
Kontrol 5	Bol	7	1	0	6	1	15	1
Kontrol 6	Bol	2	3	0	0	3	8	2
Kontrol 7	Bol	2	3	5	0	2	12	3
Kontrol 8	Bol	1	2	6	0	3	12	2
<b>Toplam</b>							<b>98</b>	<b>18</b>

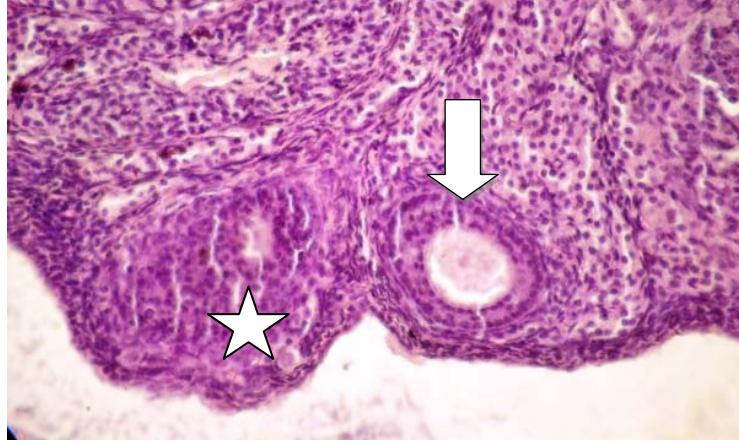
Overdeki follikül tiplerinin dağılımları açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı (Tablo 14). Şekil 13’de grupların overdeki follikül tiplerinin dağılımını grafik olarak da gösterilmiştir.

**Tablo 14.** Grupların overdeki follikül tiplerinin karşılaştırılması.

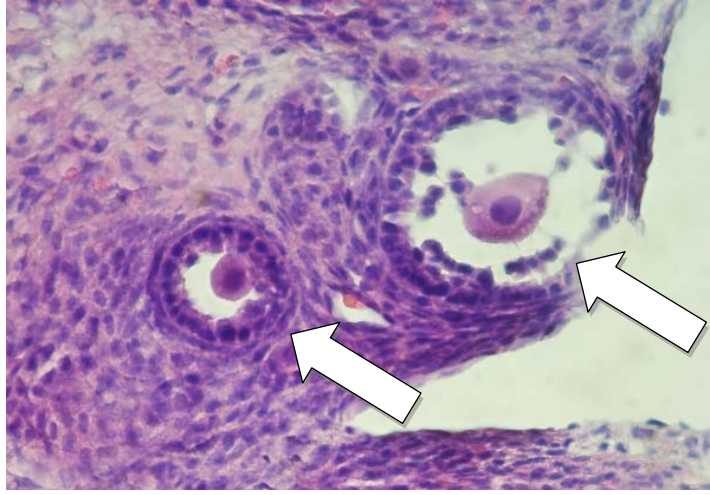
	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
Primer follikül (n)	2,00±0,46	2,25±1,04	3,12±0,74	<b>0,366</b>
Antral follikül (n)	3,62±0,82	3,25±0,52	2,12±0,66	<b>0,243</b>
Graaf follikülü (n)	1,12±0,39	1,62±0,56	2,12±0,89	<b>0,828</b>
Corpus luteum (n)	1,00±0,32	3,00±0,53	2,37±0,80	<b>0,071</b>
Atretik follikül (n)	1,87±0,35	2,12±0,47	2,50±0,26	<b>0,309</b>

**Şekil 13.** Grupların overdeki follikül tiplerinin dağılımı.

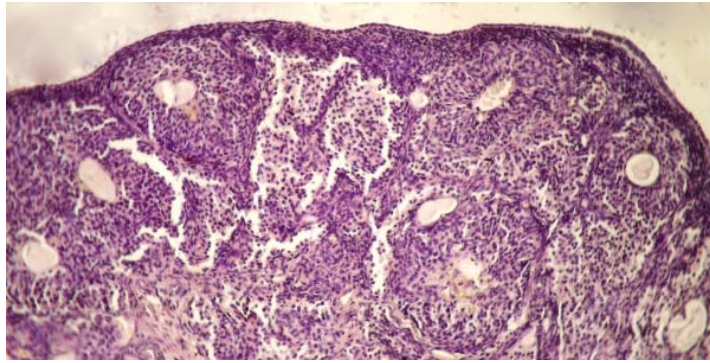
Grupların over dokularına ait kesitsel görünümeler ise Şekil-14-16'da görülmektedir.



**Şekil 14.** Prenatal grubuna ait örnek over kesitsel görünümü (Sağda primer (ok ile gösterilmiştir), solda ise atretik (yıldız ile gösterilmiştir) bir follükül görülmekte (H-E, 400X)).

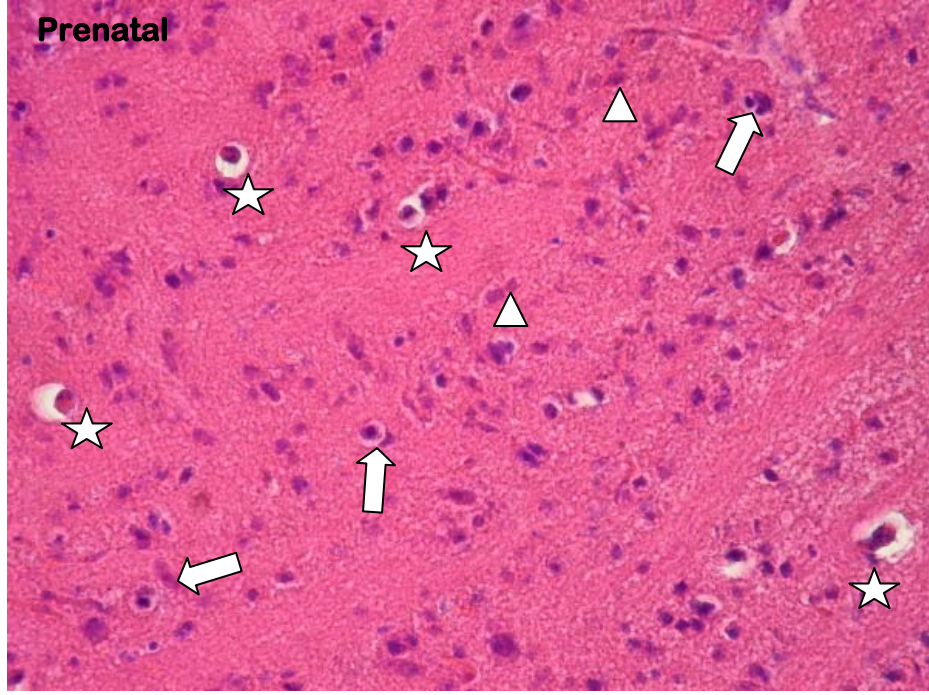


**Şekil 15.** Postnatal grubuna ait over kesitsel görünümü (İki adet atretik primer follükül görülmekte. Oositler (oklar) kümülüs hücreleri ile bağlantılarını büyük ölçüde kopartmış halde görülüyor (H-E 400X)).

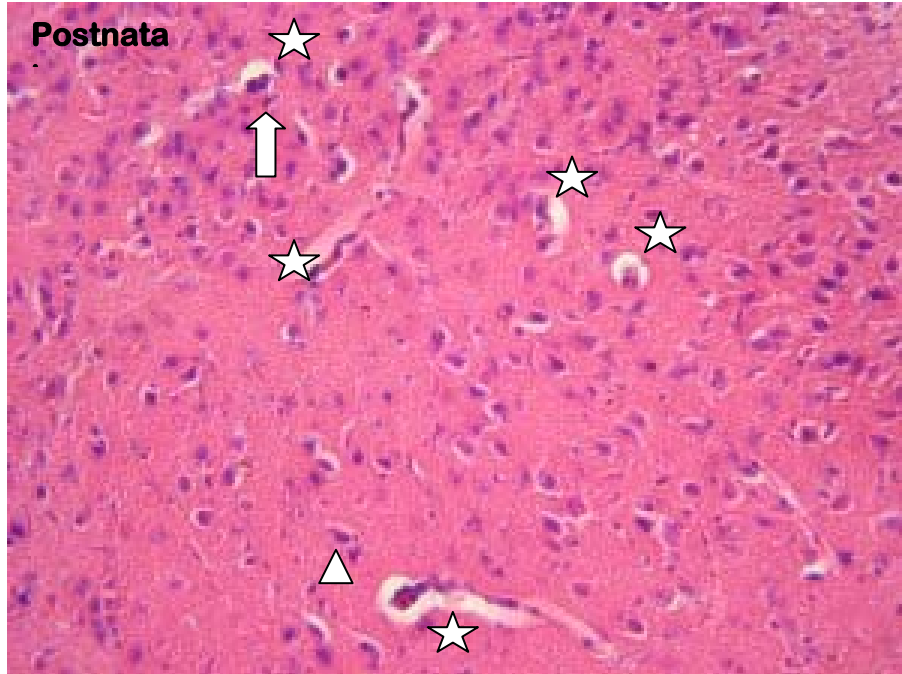


**Şekil 16.** Kontrol grubuna ait örnek over kesitsel görünümü ( Beş adet erken antral follükül görülmekte (H-E 200X)).



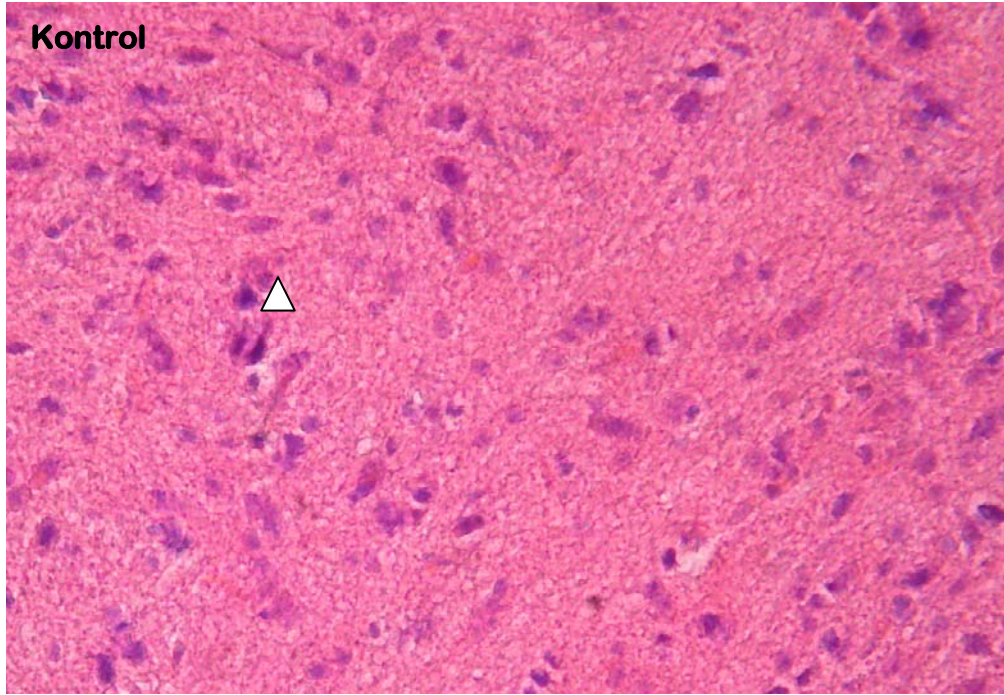


**Şekil 17.** Prenatal grubuna ait örnek hipotalamus kesitsel görünümü. (Oklar apoptotik hücreleri, üçgenler hücre disorganizasyonunu, yıldızlar vakuolleşmeleri ifade etmektedir (H-E, 400X)).



**Şekil 18.** Postnatal grubuna ait örnek hipotalamus kesitsel görünümü (Apoptotik hücreler oklarla, hücre disorganizasyonu üçgen ile vakuolleşmeler yıldızlar ile gösterilmiştir (H-E, 400X)).





**Şekil 19.** Kontrol grubuna ait hipotalamus kesitsel görünümü (Zaman zaman gözlenen hücre disorganizasyonu üçgen ile gösterilmiştir (Boyama: H-E, 500X)).

Grupların hipotalamus dejenerasyon indeksi ve overdeki ortalama follikül sayısı açısından karşılaştırılması Tablo 16’da gösterilmiştir.

**Tablo 16.** Grupların overdeki ortalama follikül sayısı ve hipotalamus dejenerasyon indeksi değerleri.

	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
Overdeki toplam follikül sayısı (n)	9,60±1,47	12,25±1,44	12,25±1,08	<b>0,222</b>
Hipotalamus dejenerasyon indeksi	2,00±0,62	1,12±0,39	0,62±0,49	<b>0,210</b>

GnRH-1, GnRH reseptörü (GnRH-R) ve Aktif Kaspaz-3 için yapılan immünohistokimyasal boyamalar ışık mikroskopunda incelenerek boyanma yoğunluğu açısından karşılaştırıldığında; GnRH-1 antijeni boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Boyamalar özellikle 3. ventrikülün hemen altında kalan medyan eminens kısmında diğer bölgelere göre daha yoğun olarak saptandı. GnRH reseptörü için kullanılan antikor

(Goat GnRH-R Santa Cruz sc-8682), ratlara ait hipotalamus kesitlerinde, nöronal dokularda nonspesifik bağlanma gösterdiğinden değerlendirmeye alınmadı. Kaspaz-3 boyamaları sonucunda, maruziyet gruplarında kontrol grubuna göre, görece daha yoğun apoptotik hücre gözlemlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

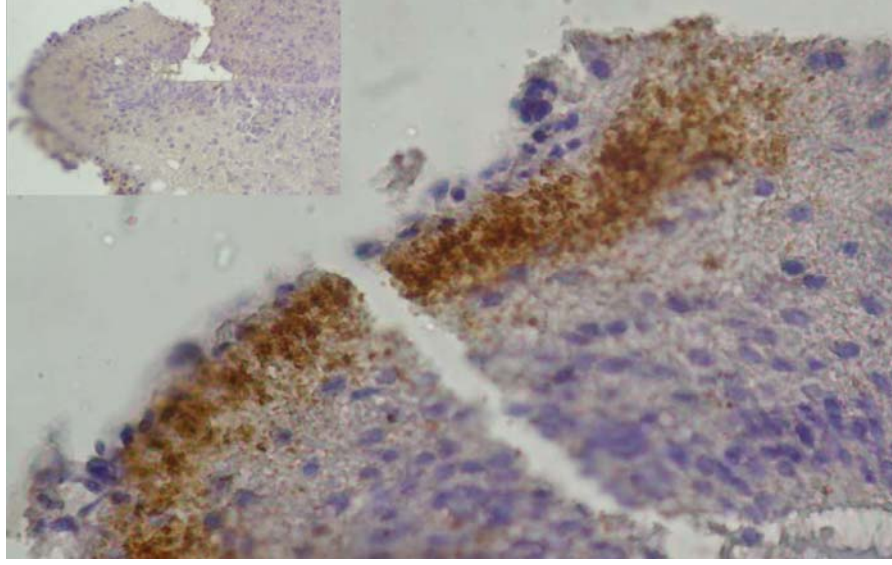
GnRH ve Kaspaz boyanma yoğunlukları açısından grupların özellikleri, Tablo 17’de verilmiştir.

**Tablo 17.** Hipotalamus dokusunun, gruplara göre GnRH1ve Kaspaz-3 boyanma yoğunlukları.

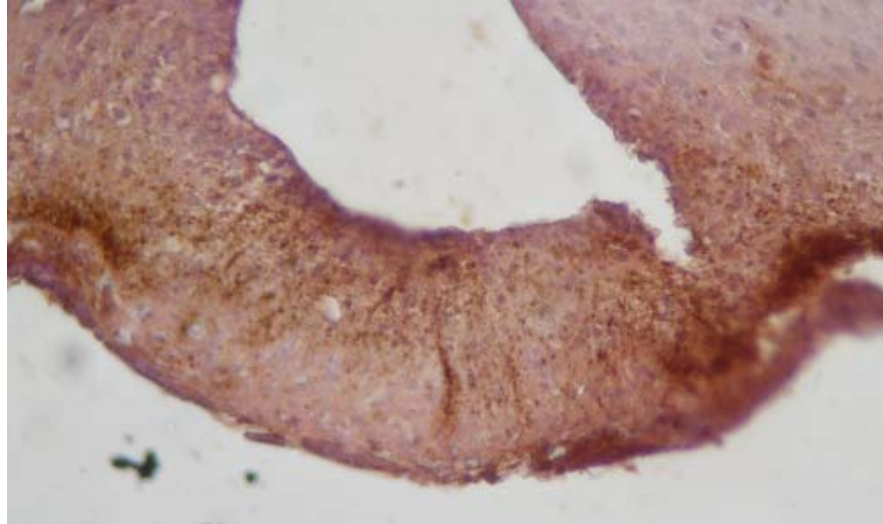
No	Aktif Kaspaz-3	GNRH-1
Prenatal 1	1	1
Prenatal 2	2	1
Prenatal 3	3	2
Prenatal 4	2	2
Prenatal 5	2	3
Prenatal 6	3	1
Prenatal 7	2	1
Prenatal 8	2	1
<b>Toplam</b>	<b>17</b>	<b>12</b>
Postnatal 1	2	2
Postnatal 2	2	2
Postnatal 3	2	2
Postnatal 4	1	3
Postnatal 5	2	1
Postnatal 6	2	1
Postnatal 7	3	3
Postnatal 8	1	2
<b>Toplam</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
Kontrol 1	1	2
Kontrol 2	2	2
Kontrol 3	1	2
Kontrol 4	2	1
Kontrol 5	2	1
Kontrol 6	1	1
Kontrol 7	2	1
Kontrol 8	1	1
<b>Toplam</b>	<b>12</b>	<b>11</b>



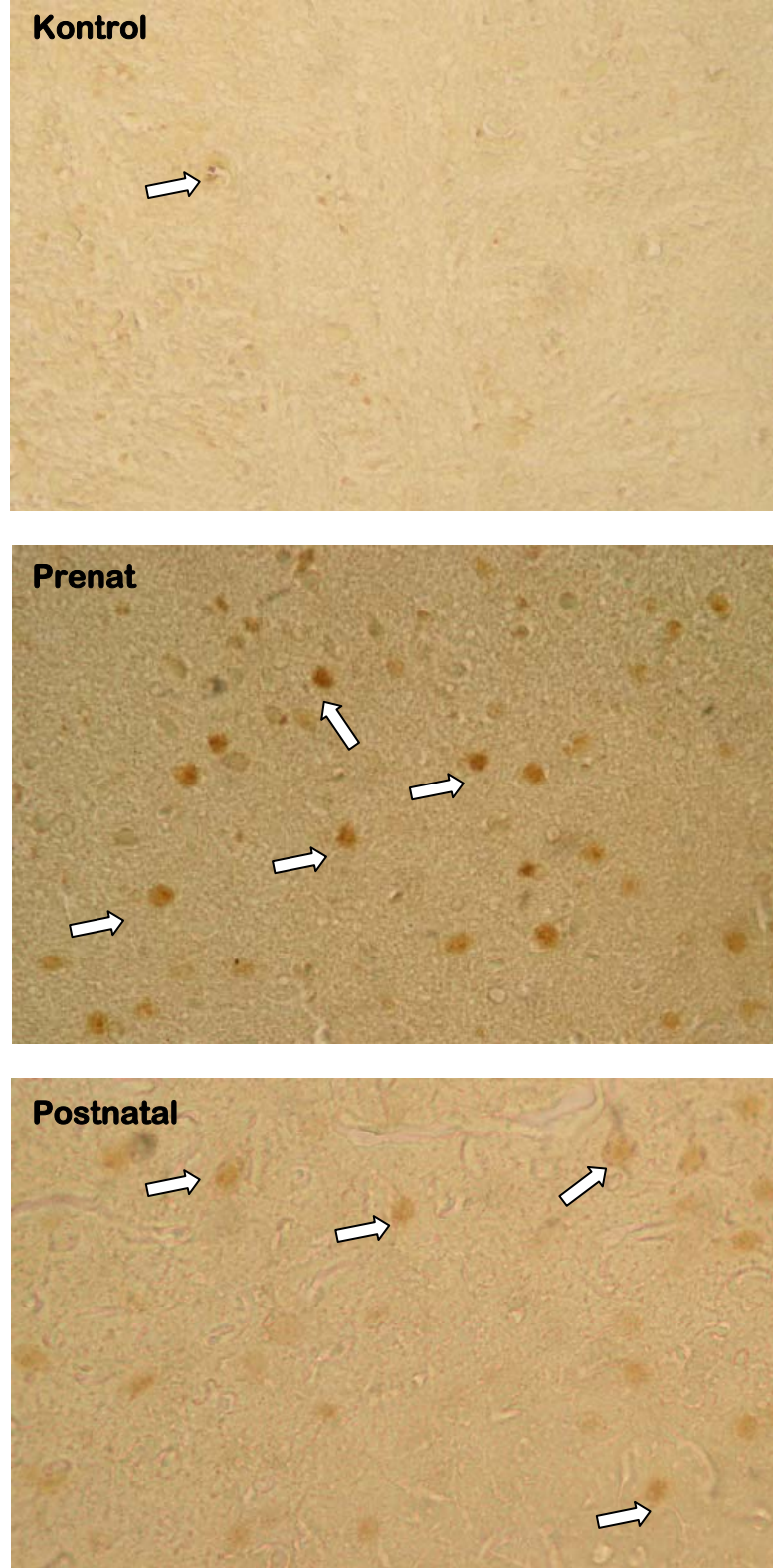
Grupların hiptalamus örneklerine ait GNRH-1 boyanma yoğunluğunu gösteren kesitsel görünümür Şekil 20-21'de, Kaspaz-3 boyanma yoğunluğunu gösteren kesitsel görünümür Şekil 22'de gösterilmiştir.



**Şekil 20.** Prenatal grubuna ait hipotalamus kesitsel görünümü. (Medyan eminens üzerinde pozitif (kahverengi) boyanmış GnRH salgıları görünmekte. Küçük resimde aynı örneğe ait primer antikor kullanılmamış kontrol kesiti görülüyor (400X)).



**Şekil 21.** Postnatal grubuna ait hipotalamus kesitsel görünümü. (Medyan eminens üzerinde pozitif (kahverengi) boyanmış GnRH salgılayan nöronlar görünmekte. GnRH içeren nöronların ışınsal tarzda konumlandığı görülüyor (200X)).



**Şekil 22.** Hipotalamus dokusuna ait Kaspaz-3 boyamalarının kesitsel görünümü (Kahverengi hücreler pro-apoptotik ve apoptotik hücreleri göstermektedir (200X, 400X, 400X).

Üç grup arasında; serum FSH, LH ve E2 değerleri arasında anlamlı fark saptanamadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 18).

**Tablo 18.** Grupların FSH, LH ve E2 değerlerinin karşılaştırılması.

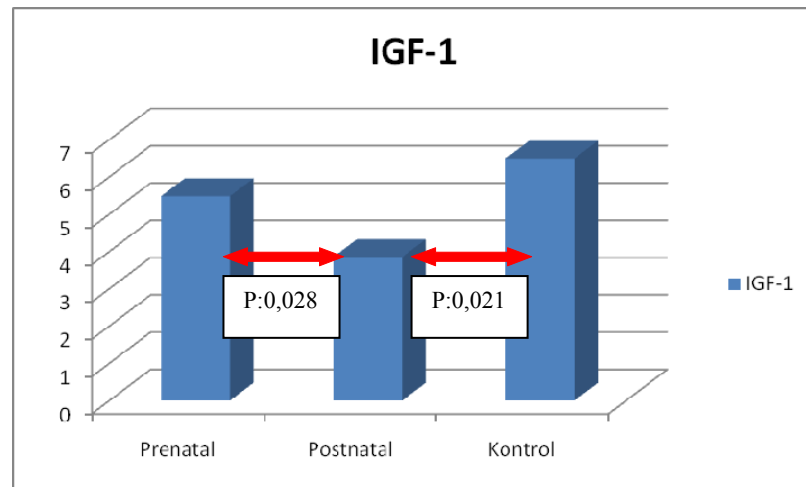
	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
FSH	2,00±0,11	2,67±0,32	1,95±1,17	<b>0,137</b>
LH	2,61±0,37	3,01±0,46	1,61±0,20	<b>0,052</b>
E2	56,79±3,24	65,77±2,17	59,07±3,16	<b>0,086</b>

Gruplar serum IGF-1 değerleri açısından karşılaştırıldığında, prenatal grupla kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p>0,05$ ). Postnatal grubun IGF-1 değeri ise, her iki gruptan anlamlı olarak düşük bulundu ( $p<0,05$ ) (Tablo 19) Grupların serum IGF-1 değerleri Şekil 23'te grafik olarak gösterilmiştir.

**Tablo 19.** Grupların IGF-1 değerlerinin karşılaştırılması.

	Prenatal	Postnatal	Kontrol	p
IGF-1	548,62±47,17	385,62±41,52	649,37±85,27	<b>0,025*</b>

\* Prenatal-kontrol  $p=0,382$ , postnatal-kontrol  $p=0,021$ , prenatal-postnatal  $p=0,028$



**Şekil 23.** Grupların IGF-1 değerleri.

## 5. TARTIŞMA

EMA'ların 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 (108,109). 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 (110).

Simülasyon modellerinin kullanıldığı, gebelikte 50 Hz elektriksel ve manyetik alana maruz bırakılan gebelerde yapılan bir çalışmada; fetal beyin dokusunda saptanan akım yoğunluğunun, en yüksek değerine 26. haftada ulaştığı görülmüştür (109). 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 emriyonun kapsamlı risk analizini yapabilmek için, ısı simülasyonunun da yapılması gerekmektedir (9). Görüldüğü gibi insan bedeninin EMA'dan etkilenme durumunu değiştirebilecek birçok faktör mevcuttur ve çocukluk çağına 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.

Sambucci ve ark. (111); prenatal 2,45 GHz sinyal frekansında, tüm vücut SAR değeri 4 W/kg olacak şekilde, 14 gün boyunca günde 2 saat EMA maruziyeti oluşturdukları dişi ratlarda, kontrol grubu ile kıyaslandığında gebeliğin devamı ve doğum ağırlıkları açısından belirgin fark bulamamışlardır. Dünder ve ark.nın (16) sürekli 50 Hz elektriksel alan maruziyeti oluşturdukları prenatal gruptaki yavruların doğum ağırlıkları ve postnatal ağırlık kazanımları ise, postnatal ve yalancı maruziyet

grubundakilerden anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu çalışmada ise maruziyet süresi 1 saat/gün ve SAR değerleri 0,1 W/kg olmakla birlikte; yavruların doğum ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamış, ancak prenatal grupta diğer 2 grupta kıyaslandığında günlük tartı alımının daha düşük olduğu saptanmıştır. Prenatal grubun tartı alımındaki farklılık PN 3. haftadan sonra istatistiksel olarak anlamlı hale gelmiştir. Grupların boyları kıyaslandığında ise; postnatal 4. haftada prenatal grubun diğer gruplardan biraz daha kısa olduğu, ancak daha sonraki haftalarda gruplar arasındaki boy farkının kapandığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar; kablosuz internet frekansındaki EMA'nın belirgin IUBG'ne yol açmadığını, ancak prenatal maruziyetin, postnatal tartı alımını yavaşlattığını; boy uzamasını ise tartıya göre daha az etkilediğini göstermektedir.

Büyüme ve gelişme, beslenmeyle orantılıdır. Deneklerin günlük yem ve su tüketimleri göz önüne alındığında, prenatal ve postnatal grubun günlük yem ve su tüketiminin kontrol grubundan fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, büyüme geriliği gözlenen prenatal grubun su ve yem tüketiminin, ağırlığıyla kıyaslandığında diğer iki gruptan daha yüksek olduğu da saptanmıştır. Yani prenatal grubun, birim ağırlık başına daha fazla yem ve su ile büyüme gösterebildiği gözlenmiştir. Bu bulgu, EMA'ya maruz bırakılan ratların büyümek için daha yüksek enerji ve suya ihtiyaç duyduklarını, göstermektedir. Bu durumun, EMA'nın yarattığı stres ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz. Çocukta strese neden olan ciddi bir klinik durumun varlığında hastanın metabolik hızının artması (hipermetabolizma), doku yıkımı (katabolizma), insüline direnç ve yağ mobilizasyonunda artış olur. Nitrojen ve yağ yıkımında artma PEM gelişimine yol açar. Metabolik hızdaki artış, hastalığın ciddiyeti ile doğru orantılıdır. Örneğin sepsiste bazal metabolizma %50 artarken, ciddi yanıklarda %80-100 artış görülür (112). Bu çalışmanın deneklerinde, EMA'nın bu kadar belirgin bir etkiye yol açmasının, deneğin antene olan mesafesinin son derece kısa olmasıyla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz (yaklaşık 7 cm). RF kaynağına yaklaştıkça maruziyet değerlerinin arttığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, çok yakın mesafelerde tüm vücut maruziyet sınırları henüz aşılmadan, bölgesel maruziyet sınırlarının aşılabildiği ifade edilmiştir (113).

Ratların endometriyum ve myometriyumlarında BH reseptörü/BH bağlayıcı protein immunoreaktivitesi saptanmıştır (114). BH reseptörü/BH bağlayıcı protein

knock-out farede BH rezistansının periferik IGF-I seviyelerinde azalmaya yol açtığı gösterilmiş ve bu durumun dişilerde gecikmiş puberte ile fetal büyüme hızında değişikliklere yol açtığı rapor edilmiştir (115). Bizim çalışmamızda, kontrol grubuna göre daha düşük IGF-1 seviyelerine sahip olan postnatal grubun pubertesinde anlamlı bir gecikme saptanmamış; ortalama IGF-1 seviyesi kontrol grubundan anlamlı farklılık gözlenmeyen prenatal grubun ise pubertesinde gecikme saptanmıştır. Bu durumun; prenatal grubun deneklerinde doku düzeyinde IGF-1 direnci ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Kontrol grubu ile postnatal grubun büyümeleri arasında anlamlı fark olmasa da; postnatal grubun ortalama IGF-1 seviyeleri, kontrol grubundan düşük bulunmuştur. Bilindiği gibi büyümeyi etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu bulgunun da önemli olduğunu ve bu konuda ileri çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada; prenatal grubun VA ve östrus zamanlarının, kontrol grubuna göre daha uzun olduğu saptanmıştır. Postnatal grupta ise; VA ve östrus zamanının, kontrol grubu ile benzer olduğu gözlenmiştir. Prenatal grupta gözlenen puberte gecikmesine rağmen, puberteye giriş sırasında bu grubun ortalama ağırlığının kontrol grubu ile benzer olması, prenatal gruptaki büyüme geriliğinin bir başka göstergesidir.

Normal pubertal gelişim için nöroendokrin hipotalamusta santral ve periferik uyarıların hassas etkileşimi ve GnRH'nın etkisiyle gonadotropilerden pulsatil LH ve FSH salınımı gereklidir (116). Gruplar, serum FSH, LH ve E2 düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Over kesitlerindeki toplam follikül sayısı değerlendirildiğinde; gruplar arasında anlamlı fark çıkmamakla birlikte prenatal grubun follikül sayısının diğer gruplara oranla görece daha düşük olduğu gözlenmiştir. Dündar ve ark.nın (16) çalışmasında da deneklerin FSH, LH ve E2 değerleri arasında anlamlı fark bulunamamış ancak prenatal ve postnatal grubun overlerinde kortikal bölgede normal folliküle rastlanmadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada bazı folliküllerin gelişim esnasında dejenere oldukları, bağ dokusu artışı ve fibrozisin gözlemlendiği bildirilmiş, özellikle maruziyet alan iki grupta primordiyal ve primer folliküllerin olmadığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada ise, prenatal grupta hafif bir bağ dokusu artışı saptanmış ama gruplar arasında bu açıdan anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak gruplar overdeki TOS ve OSİ değerleri açısından değerlendirildiğinde, prenatal grubun TOS ve OSİ

değerinin kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunduğu gözlenmiştir; bu durum EMA'nın over dokusunda yarattığı stresin göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Maruziyet süresinin uzatılması durumunda overdeki hasara ait histolojik bulguların belirginleşeceğini düşünmekteyiz.

Pubertal dönemde stresle karşılaşan hayvanların cinsel davranışlarını inceleyen bir çalışmada; ısı, immobilizasyon veya herhangi bir stresörle karşılaşmanın dişi farelerde reproduktif kapasite üzerinde uzun dönem negatif etkiler oluşturduğu belirtilmiş, bu dönemde yerleri değiştirilen dişi farelerde beyinde östrojen reseptör- $\alpha$  ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (117). Lai ve Singh (30) 2450 MHz'e 2 saat boyunca (SAR 1,2 W/kg) maruz bıraktıkları ratların beyin hücrelerinde, DNA single-strand kırılmalarında artış saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise beyin dokusunda TOS, TAS ve OSİ değerleri çalışılmış, GnRH ve Kaspaz-3 boyasıyla boyanma yoğunlukları değerlendirilmiş ve hipotalamusta dejenerasyon indeksi histolojik olarak değerlendirilmiştir. Prenatal ve postnatal maruziyet grubunda TOS ve OSİ değerleri yüksek saptanmış, hipotalamusta GnRH ve Kaspaz-3 nöron boyanma yoğunluğunda ise anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Prenatal grupta, over ve beyin dokusunun OSİ değerlerinin yüksek olması; EMA'nın reproduktif dokular üzerinde olumsuz etkileri olduğunu ve bu gruptaki puberte gecikmesinin hem periferik, hem de santral etkilerle ortaya çıktığını göstermektedir.

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) çalışmasında ortalama olarak rezonans frekansı, yetişkinde 60 MHz iken 12, 8 ve 5 yaşlarda sırasıyla 80, 100 ve 120 MHz olarak bildirilmiştir. Amplitüdü dikkate alındığında tüm vücut SAR değeri erişkinle kıyaslandığında 12, 8 ve 5 yaşlarında sırasıyla %26, %38 ve %48 oranında artmaktadır. Bu çalışmada da; beyin dokusu TOS değeri, prenatal ve postnatal grupta, kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulunmuş ve kronik 2,45 GHz radyasyon maruziyetinin gelişmekte olan beyin dokusunda oksidan stres yarattığı yorumu yapılmıştır.

Dünder ve ark. nın (16) çalışmasında, 24 saat 50 Hz EA maruziyeti sonrası hipotalamus dejenerasyon indeksi, prenatal ve postnatal maruziyeti olan grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada ise; hücrel hasar göstergesi olan hipotalamus dejenerasyon indeksi gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiş; ancak prenatal ve postnatal grubunda, kontrol grubuna göre görece yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda kullanılan radyofrekans daha yüksek olsa da günlük EMA maruziyet süresinin kısa süreli olması, sonuçlarımızın istatistiksel olarak anlamlı olmamasının sebebi olabilir, diye düşünmekteyiz.

Kesari ve ark. (119) yetişkin erkek Wistar ratların kullanıldığı ve 0,11 W/kg 2,45 GHz, 2 saat/gün (toplam 35 gün) maruziyet yaratılan ratların beyin hücrelerinde antioksidan enzimler olan glutatyon peroksidaz ve süperoksid dismutaz'ın anlamlı oranda azaldığını ve katalaz seviyesinin arttığını gözlemlemişlerdir. Beyin hücrelerinde histon kinaz seviyelerinin de azalmış olduğu gösterilmiş olan çalışmada, bizim çalışmamızla son derece benzer olan bu tip radyasyona kronik maruziyetin, beyinde belirgin hasara yol açtığı yorumu yapılmıştır.

Organizmanın oksidatif strese verdiği yanıt, antioksidan sistem ve apoptozis yoluyla değerlendirilebilir (120). Hücre proliferasyonu ve hücre bölünmesi kinetiklerine ait değişiklikler, apoptozis, nekroz, hücre siklusunda duraklama ve malign transformasyon gibi olaylara yol açabilir (121). Çok düşük frekanslı EMA'nın, rat beyinlerinde apoptozis ve oksidatif stres ile ilişkisini araştıran bir çalışmada, 10 ay boyunca 2 saat/gün süreyle, toplum için güvenli kabul edilen 100 ve 500  $\mu$ T manyetik alanlara maruz bırakılmanın apoptozisi arttırmadığı bildirilmiştir (122). Kültüre edilmiş embriyonik Wistar rat korteks nöronlarda 0,25 W/kg gücünde 900 MHz EMA'nın apoptozisi arttırmadığı da bildirilmiştir (123). Yine kültüre edilmiş nöronal hücrelerde 900 MHz EMA'nın apoptozise etkileri araştırıldığında, kaspazdan bağımsız bir yolak varlığından da sözedilmiştir (124). Ratların bilişsel fonksiyonlarına 2450 MHz EMA'nın etkilerini araştıran bir çalışmada ise hipokampusta apoptozisin arttığı ve bunun glukokortikoidler aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmiştir (125). Literatürde; bu çalışmada kullanılan frekans ve güçte EMA'nın, hipotalamus dokusunda apoptozise etkisi ile ilgili bilgiye rastlanılamamıştır. Bu çalışmada; hipotalamus dokusunun apoptozisi gösteren Kaspaz-3 ile boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında anlamlı fark



bulunamamış, ancak prenatal grubun boyanma yoğunluğunun kontrol grubuna göre görece fazla olduğu gözlenmiştir.

Beyin ve over dokusunun OSİ indeksinin prenatal maruziyet grubunda diğer iki gruba göre anlamlı yüksek olması, puberte ile ilgili bu iki önemli organda EMA'nın yarattığı stresin göstergeleri olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da prenatal grubun overdeki toplam follikül sayısının daha az, bağ dokusunun görece daha fazla olması; hipotalamusta dejenerasyon indeksinin daha yüksek ve apoptozis belirteci olan Kaspaz-3 ile boyanmasının diğer gruplara göre daha yoğun olması bir arada değerlendirildiğinde, EMA ile ilişkilendirilebilecek doku hasarı yönünden dikkat çekicidir. Maruziyet süresinin daha uzun tutulması durumunda, gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmayan Kaspaz-3 ya da GnRH-1 boyanma yoğunlukları; overde bağ dokusu artışı, ortalama follikül sayısı ya da FSH, LH düzeyleri gibi parametrelerde de farklılıklar saptanması olasıdır. Çalışmamız bu konuda yapılmış ilk çalışmadır ve bu konuda yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

EMA'nın insan vücudu üzerindeki olumsuz etkileri daha çok cep telefonu frekansında çalışılmıştır. Deneysel çalışmalarda cep telefonları tarafından yayılan EMA'nın arteriyel kan basıncında periyodik artışlara ve beyin elektriksel aktivitesinde değişikliklere yol açtığı bildirilmiştir (126). Yapılan çalışmalarda maksimum güvenlik sınırlarının altındaki EMAların da kan-beyin bariyerinde değişiklikler,  $Na^+ - K^+$  aktif transportunda bozukluklar ve hücre membranları tarafından  $Ca^{++}$  salınımında düzensizliklere yol açabildiği gözlenmiştir (126-129). Bu çalışmalar, henüz mikrodalga frekansındaki EMA'lar ile ilgili yeni sınırlar getirememiş olsa da, bu RF'nin ölçülebilir biyolojik etkileri olduğu görülmektedir.

Kumulatif kapalı alan ve açık alan RF maruziyeti göz önüne alındığında; kullanılması gereken güvenli maruziyet sınırlarının, bugün kabul gören sınırların çok altında olması gerektiği düşünülmektedir (130). Cep telefonları, elektronik çağrı cihazları, cep bilgisayarları gibi cihazların kablosuz kapsama alanları genellikle kronik tüm vücut maruziyeti yaratmaktadır. Ayrıca gelecekte piyasaya girecek olan Wi-Fi teknolojiler de düşünüldüğünde; RF'nin insan sağlığına etkileri tam olarak

anlaşılıncaya kadar çocukları kısmen koruyabilmek amacıyla, özellikle okullar ve kütüphanelerde kablolu alternatiflerin hayata geçirilmesi önerilmiştir (130).

Bu çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde; özellikle intrauterin ve erken çocukluk döneminde kronik olarak kablosuz internet frekansında EMA maruziyetinin, büyüme ve puberte üzerine bazı zararlar olabileceği görülmektedir. Özellikle gebeler ve küçük çocukların EMA kaynağından uzak mesafede bulunması ve uzun süreli maruziyetten kaçınılması başta olmak üzere, bu konuda önlemler alınmasının gerekli olduğunu düşünmekteyiz. Bu çalışmada kullanılan EMA frekans ve gücünün, uluslararası otoriteler tarafından kabul edilen güvenli maruziyet sınırları içinde olması, bu sınırların tekrar gözden geçirilmesinin önemine işaret etmektedir.

## SONUÇLAR

1. Kablosuz internet frekansındaki EMA kaynağına yakın olarak, 1 saat/gün kronik maruziyet, prenatal dönemde belirgin IUBG'ne yol açmamakta; ancak prenatal maruziyet, postnatal tartı alımını yavaşlatmaktadır.
2. Aynı koşullardaki EMA, boy uzamasını tartıya göre daha az etkilemektedir.
3. EMA'ya maruz bırakılan ratlar, büyümelerini gerçekleştirmek için daha yüksek miktarda yem ve su ihtiyacı göstermişlerdir. Bu durum, EMA'nın yarattığı stres ile ilgili olarak organizmanın daha yüksek enerjiye ihtiyaç duymasının göstergesi olabilir.
4. VA ve östrus zamanlarında prenatal grupta, kontrol grubuna göre gecikme saptanmış; postnatal grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gözlenmemiştir.
5. Prenatal grubun beyin ve over dokularındaki OSİ değerleri, kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
6. Hipotalamus dejenerasyon indeksi, overde ortalama follikül sayısı ve overde bağ dokusu açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır.
7. GnRH-1 ve Kaspaz-3 boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanamamıştır.
8. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da prenatal grubun overdeki toplam follikül sayısının daha az ve bağ dokusunun görece daha fazla, hipotalamusta dejenerasyon indeksinin daha yüksek ve apoptozis belirteci olan Kaspaz-3 ile boyanmasının diğer gruplara göre daha yoğun olması, bir arada değerlendirildiğinde EMA ile ilişkilendirilebilecek doku hasarı yönünden dikkat çekicidir.
9. Maruziyet süresinin daha uzun tutulması durumunda, anlamlı farklılık saptanmayan parametrelerde de farklılıklar saptanması olasıdır. Çalışmamız bu

konuda yapılmış ilk çalışmadır ve bu konuda yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

10. Postnatal maruziyet, genel olarak prenatal maruziyetten daha az etkilenme meydana getirmektedir.
11. Özellikle gebeler ve küçük çocuklar, kablosuz internet kullanırken uzun süreli maruziyetten ve kaynağa yakın bulunmaktan kaçınmalıdır.
12. Uluslararası otoriteler tarafından kabul edilen güvenli maruziyet sınırlarının özellikle gebeler ve küçük çocuklara yönelik olarak yeniden gözden geçirilmesi gerekmektedir.

## ÖZET

### **Kablosuz Haberleşme Cihazlarına Prenatal ve Postnatal Uzun Süreli Maruziyetin Dişi Wistar Ratlarda Büyüme ve Pubertal Gelişim Üzerine Etkileri**

**AMAC:** Bu çalışmanın amacı; prenatal ve postnatal dönemde kablosuz internet frekansında (2450 Hz) elektromanyetik alana (EMA) uzun süre maruz kalmanın, dişi Wistar ratlarda büyüme ve pubertal gelişim üzerine etkilerini araştırmaktır.

**METOD:** Çalışma; prenatal, postnatal ve kontrol grubu olmak üzere üç grup dişi rat üzerinde gerçekleştirdi. Prenatal gruptaki yavrular, gebeliğin ilk gününden puberteye girinceye kadar 1 saat/gün süreyle; postnatal gruptaki yavrular ise doğumdan puberteye kadar aynı koşullarda 2450 MHz EMA'ya maruz kaldılar. Kontrol grubunu, yalancı maruziyet grubu oluşturdu. Çalışma süresince ratların ağırlık ve boy ölçümleri, yem ve su tüketimleri, düzenli olarak takip edildi. Ayrıca düzenli olarak vajinal açıklık (VA) muayeneleri yapıldı ve VA saptananlardan vajinal smear alınarak östrus tespit edildi. Puberte saptandığında ratlar dekapite edilerek, doku ve kan örnekleri alındı. Overler ve hipotalamusun histolojik değerlendirilmesi; over ve beyin dokusunda total antioksidan status (TAS), total oksidan status (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ) değerleri; serum FSH, LH, E2 ve IGF-1 değerleri; hipotalamus dokusunda GnRH-1 ve Kaspaz-3 boyasıyla immünohistokimyasal boyanma yoğunlukları çalışıldı.

**SONUÇLAR:** Üç grubun doğum ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). Prenatal grubun günlük tartı artışı, çalışma boyunca, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ( $p<0,05$ ). Prenatal grubun 3. hafta vücut ağırlığı ve 4. haftadaki boy ortalaması değerleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşüktü ( $p<0,05$ ). Postnatal grubun günlük tartı alımı ise kontrol grubu ile anlamlı farklılık göstermedi ( $p>0,05$ ). Deneklerin beslenme durumu karşılaştırıldığında; tartı alımı daha kötü olan prenatal grubun birim ağırlık başına tükettiği yem ve su miktarının, kontrol grubundan anlamlı olarak daha fazla olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Ortalama IGF-1 düzeyleri açısından prenatal grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ). Postnatal grubun ortalama IGF-1 düzeyleri ise diğer iki gruptan anlamlı olarak düşük bulundu ( $p<0,05$ ). VA ve östrus, prenatal grupta kontrol grubuna göre daha geç gerçekleşti ( $p<0,05$ ), ancak postnatal grupla kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). Prenatal ve postnatal grubun beyin ve over dokularının TOS ve OSİ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Grupların FSH, LH ve E2 değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Gruplar arasında histolojik incelemeler açısından anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ).

**YORUM:** Dişi Wistar ratların özellikle prenatal dönemde 2450 Hz EMA'ya maruz kalması, yavrularda büyüme geriliği ve gecikmiş puberteye yol açmaktadır. Prenatal grubun beyin ve over dokularında saptanan yüksek TOS ve OSİ değerleri, EMA'nın ratlarda kronik stres oluşturduğunun göstergesi olabilir. Bu çalışmadan yola çıkarak; özellikle intrauterin dönem ve erken çocukluk döneminde kablosuz internet frekansında EMA'ya kronik maruziyetin, büyüme ve puberte üzerine etkileri olabileceği; EMA kaynağından uzak mesafede bulunmak ve uzun süreli maruziyetten kaçınmak başta olmak üzere bu konuda bazı önlemler alınması gerektiğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Kablosuz, elektromanyetik, büyüme, puberte

## SUMMARY

### **Investigation of the Effects of Prenatal and Postnatal Long Time Exposure to Wireless Communication Devices on Growth and Pubertal Development in Female Wistar Rats**

**OBJECTIVE:** The aim of this study is to reveal the effects of 2450 Hz electromagnetic field (EMF) which corresponds to the wireless internet frequency, on growth and pubertal development of female Wistar rats.

**METHOD:** The study was conducted in three groups of rats which were prenatal, postnatal and the control groups. The pups of the prenatal group were exposed to EMF at 2450 mHz, 1 hour/day from the first day of pregnancy till puberty. The pups of the postnatal group were exposed to EMF between delivery and puberty under the same conditions. The control group was the sham-exposed group. Weight and length measurements and food and water consumption of the rats were monitored regularly during the study period. Physical examination for vaginal opening (VO) was regularly performed; and estrous was detected through the vaginal smears in the rats who have VA. The rats were decapitated when puberty occurred and serum and tissue specimens were obtained. Histological examinations of ovaries and hypothalamus; total antioxidant status (TAS) total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) values of ovaries and brain; serum FSH, LH, E2 and IGF-1 values and immunohistochemical staining of hypothalamus with Caspase-3 and GnRH-1 were performed.

**RESULTS:** Birth weights of the three groups were not significantly different from each other ( $p > 0.05$ ). Weight gain per day was significantly lower in the prenatal group than the control group, all along the study period ( $p < 0.05$ ). Mean body weight at the third week and mean length at the fourth week of the study, were significantly lower in prenatal group than the control group ( $p < 0.05$ ). Weight gain per day was not statistically different between the postnatal and the control groups ( $p > 0.05$ ). When the nutritional status of the subjects were evaluated; food and water consumptions (per weight) of the prenatal group, which have growth retardation were significantly higher than the control group ( $p < 0.05$ ). Mean IGF-1 level of the prenatal group was similar with the sham-exposed group ( $p > 0.05$ ). Mean IGF-1 level of the postnatal group was lower than the other two groups ( $p < 0.05$ ). The day of VO and estrous was significantly later in prenatal group ( $p < 0.05$ ), but not different in postnatal group from the control group ( $p > 0.05$ ). TOS and OSI values of the brain and ovaries of the prenatal group were significantly increased ( $p < 0.05$ ) compared to the control group. Serum FSH, LH and E2 values of the groups were not different significantly ( $p > 0.05$ ). Histological examinations of the specimens did not reveal any statistically significant difference between the groups ( $p > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Exposure to 2450 Hz EMF particularly in the prenatal period, resulted in growth restriction and delayed puberty in female Wistar rats. Increased TOS and OSI values of the brain and ovary tissues can be interpreted as a sign of chronic stress induced by EMF. Based on this study, it is suggested that chronic exposure to EMF at the frequency of wireless networks especially during the intrauterine period and early childhood, can have some detrimental effects on growth and puberty. Precautionary measures should be taken on this subject, particularly at the point of being close to the RF sources and long-term exposure to EMFs.

**Keywords:** Wireless, electromagnetic, growth, puberty

## KAYNAKLAR

1. Salford LG, Brun A, Sturesson K, Eberhardt JL, Persson BR. Permeability of the blood-brain barrier induced by 915 MHz electromagnetic radiation, continuous wave and modulated at 8, 16, 50, and 200 Hz. *Microsc Res Tech* 1994; 27: 535-42.
2. Diem E, Schwarz C, Adlkofer F, Jahn O, Rüdiger H. Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation (1800 MHz) in human fibroblasts and in transformed GFSH-R17 rat granulosa cells in vitro. *Mutat Res* 2005; 583(2): 178-83.
3. Hardell L, Hallquist A, Hansson Mild K, Carlberg M, Pahlson A, Lilja A. Cellular and cordless telephones and the risk for brain tumours. *Eur J Cancer Prev* 2002; 11(4): 377-86.
4. Tsurita G, Nagawa H, Ueno S, Watanabe S, Taki M. Biological and morphological effects on the brain after exposure of rats to a 1439 MHz TDMA field. *Bioelectromagnetics* 2000; 21: 364-71.
5. Cosquer B, Kuster N, Cassel JC. Whole-body exposure to 2.45 GHz electromagnetic fields does not alter 12-arm radialmaze with reduced access to spatial cues in rats. *Behav Brain Res* 2005; 161: 331-34.
6. Zeni O, Romano M, Perrotta A, Lioi MB, Barbieri R, d'Ambrosio G. et al. Evaluation of genotoxic effects in human peripheral blood leukocytes following an acute in vitro exposure to 900 MHz radiofrequency fields. *Bioelectromagnetics* 2005; 26: 258-65.
7. Salford LG, Brun A, Persson B. Brain tumour development in rats exposed to electromagnetic fields used in wireless communication. *Wirel Netw* 1997; 3: 463-69.
8. Adey W, Byus C, Cain C, Higgins R, Jones R, Kean C, et al. Spontaneous and nitrosourea-induced primary tumors of the central nervous system in Fisher 344 rats exposed to 836 MHz modulated microwaves. *Radiat Res* 1999; 152: 293-302.
9. 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.
10. Rössli 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.
11. Söderqvist F, Hardell L, Carlberg M, Hansson Mild K. Ownership and use of wireless telephones: a population-based study of Swedish children aged 7-14 years. *BMC PublicHealth* 2007; 7: 105-13.
12. Kheifets L, Repacholi M, Saunders R, van Deventer E. The Sensitivity of children to Electromagnetic Fields. *Pediatrics* 2005; 116: 303-13.
13. Schüz J. Mobile phone use and exposures in children. *Bioelectromagnetics* 2005; 26: 45-50.
14. Wiart J, Hadjem A, Wong MF, Bloch I. Analysis of RF exposure in the head tissues of children and adults. *Phys Med Biol* 2008; 53: 3681-95.
15. de Salles AA, Bulla G, Rodriguez CE: Electromagnetic absorption in the head of adults and children due to mobile phone operation close to the head. *Electromagn Biol Med* 2006; 25: 349-60.

16. Dunder B, Cesur G, Comlekci S, Songur A, Gokcimen A, Sahin O. et al. The effect of the prenatal and post-natal long-term exposure to 50 Hz electric field on growth, pubertal development and IGF-1 levels in female Wistar rats. *Toxicol Ind Health* 2009; 25(7): 479-87.
17. Barker DJ. Intrauterine programming of adult disease. *Mol Med Today* 1995; 1: 418-23.
18. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Brit Med Bull* 2001; 60: 5-20.
19. Şeker S, Çerezci O. Elektromanyetik enerjinin kullanımında risk analizi. *Elektrik Mühendisliği 5. Ulusal Kongresi, Trabzon, 1993; 2: 386-91.*
20. Coşkun Ö. Sinir dokusu modelinde analizinde gerçekçi model ve dışsal manyetik alandan etkilenme mekanizmasının analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik ABD Doktora Tezi, Isparta (Doç.Dr.Suat Özkorucuklu ve Yrd.Doç.Dr. Selçuk Çömlekçi) 2009.
21. Dinç H. Elektromanyetik ışınımların insan sağlığına etkisi. *TMMOB Elektrik Mühendisleri Odası Dergisi, 2003; 406.*
22. Stuchly MA. Health Effects of Exposure to Electromagnetic Fields. IEEE Aerospace Applications Conference Proceedings 1995; 351-68.
23. Repacholi MH. Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 1998; 19: 1-19.
24. <http://www.cevrehukuku.net/index.php/yonetmelik/804-elektromanyetik-alan-siddeti-yonetmelik> (Erişim tarihi: 10.06.2011).
25. Repacholi MH. Health risks from the use of mobile phones. *Toxicol Lett* 2001; 120(1-3):323-31.
26. Wiart J, Hadjem A, Gadi N, Bloch I, Wong MF, Pradier A, et al. Modeling of RF head exposure in children. *Bioelectromagnetics* 2005; 7: 19-30.
27. Seidenari S. Thickness and echogenicity of the skin in children as assessed by 20 MHz Ultrasound. *Dermatology* 2000; 201: 218-22.
28. IEGMP, 2000. Mobile Phones and Health. Report of an Independent Expert Group on Mobile Phones. UK Minster of Public Health. National Radiological Protection Board, Chilton, Oxon: [www.iegmp.org.uk](http://www.iegmp.org.uk).
29. Lai H, Singh NP. Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 1995; 16: 207-10.
30. Lai H, Singh, NP. Single- and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation. *Int J Radiat Biol* 1996; 69(4): 513-21.
31. Malayapa RS, Ahern EW, Struabe WL, Moros EG, Pickard WF, Roti Roti JL. Measurement of DNA damage following exposure to 2450 MHz electromagnetic radiation. *Radiat Res* 1997; 148: 608-17.
32. ICNIRP, Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic and electromagnetic fields (up to 300 GHz). *Health Phys* 1998; 74: 494-522.
33. UNEP: WHO: IRPA, Electromagnetic Fields (300 Hz-300 GHz). Environmental Health Criteria 137, United Nations Environment Programme. World Health Organization, International Radiation Protection Association. Geneva, World Health Organization, 1993.



34. Salzinger K. Behavioral effects of electromagnetic fields in animals. In: *Biological Effects of Electric and Magnetic Fields*. Carpenter DO, Ayrapetyan S. Eds. vol. 1. Academic Press, New York, 1994: 315-31.
35. Royal Society of Canada. A review of the potential health risks of radiofrequency fields from wireless telecommunications devices. *An Expert Panel Report. Royal Society of Canada for Health Canada*, Ottawa, Royal Society of Canada, RSC EPR. 1999; 99-1.
36. D'Andrea JA. Behavioural evaluation of microwave irradiation. *Bioelectromagnetics* 1999; 20: 64-74.
37. Bergqvist U, Vogel E. *Possible Health Implications of Subjective Symptoms and Electromagnetic field*. A Report Prepared by a European Group of Experts for the European Commission, DG V. Arbete och Hälsa, 19. Swedish National Institute for Working Life, Stockholm, Sweden, 1997; ISBN 91-7045-438-8.
38. COST 244bis, Proceedings from the Cost 244bis International Workshop on Electromagnetic Fields and Non-Specific Health Symptoms, Graz, Austria, 1998.
39. PMID: 19741364 [PubMed - indexed for MEDLINE]www.who.org. Access date: 14.04.2011.
40. Ziskin MC. Institute of Electrical and Electronics Engineers. COMAR Technical Information Statement. The IEEE exposure limits for radiofrequency and microwave energy. *IEEE Eng Med Biol Mag*, 2005; 24(2): 114-7, 121.
41. Rosenfeld RG, Cohen P. Disorders of Growth Hormone/ Insulin-like growth factor secretion and action. In: *Pediatric Endocrinology*, Sperling MA, Ed. 3rd Ed. Saunders, Philadelphia, 2008: 254-321.
42. Bundak R. Normal Büyüme. In: *Pediatric Endokrinoloji*, Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S. *Pediatric Endokrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları-1*, 1. Basım, Ankara, 2003: 39-50.
43. Styne DM. Fetal growth. *ClinPerinatol* 1998; 25: 917-38.
44. Mark M, Rijli FM, Chambon M. Homeobox genes in embryogenesis and pathogenesis. *Pediatr Res* 1997; 42: 421-29.
45. Rotwein P. Human growth disorders: Molecular genetics of growth hormone-insulin-like growth factor axis. *Acta Paediatr Scand* 1999; 88: 148-51.
46. Barker DJP. *Mother, Babies and Disease in Later life*. BMJ Publishing, London, 1994.
47. Liebhaber SA, Urbanek M, Ray J, Tuan RS, Cooke NE. Characterization and histologic localization of human growth hormone variant gene expression in the placenta. *J Clin Invest* 1989; 83: 1985-91.
48. Gluckman PD. The endocrine regulation of fetal growth in late gestation: The role of insulin like growth factors. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 80: 1047-50.
49. Lassare C, Hardouin S, Daffos F, Forestier F, Frankenne F, Binoux M. Serum insulin like growth factors and insulin like growth factor binding proteins in human fetus: relationships with growth in normal subjects and subjects with intrauterine growth retardation. *Pediatr Res* 1991; 29: 219-25.
50. Sotos JF. Overgrowth section IV. Genetic disorders associated with overgrowth. *Clin Paediatr* 1997; 36: 39-49.

51. Kosho T, Muroya K, Nagai T, Fujimoto M, Yokoya S, Sakamoto H. et al. Skeletal features and growth patterns in 14 patients with haploinsufficiency of SHOX: Implications for the development of Turner Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4613-21.
52. Strabl JS, Thomas MJ. Human growth hormone. *Pharmacol Rev* 1994; 46: 1-34.
53. Smith DW. Shifting linear growth during infancy: illustration of genetic factors in growth from fetal life through infancy. *J Pediatr* 1976; 89: 225-30.
54. Matkovic V. Skeletal development and bone turnover revisited (editorial). *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2013-16.
55. Öcal G. Pubertal Fizyoloji. In: *Pediatric Endocrinoloji*, Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S. *Pediatric Endocrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları-1*, 1. Basım, Ankara, 2003: 137-53.
56. Rosenfeld RL, Cooke DW, Radovick S. Puberty and Its Disorders in the Female. In: *Pediatric Endocrinology*, Sperling MA Ed. 3rd Ed. Saunders, Philadelphia, 2008: 530-93.
57. Schwanzel-Fukuda M. Origin and migration of luteinizing hormone-releasing hormone neurons in mammals. *Microsc Res Tech* 1999; 44: 2-10.
58. Wray S. Development of gonadotropin-releasing hormone-1 neurons. *Front Neuroendocrinol* 2002; 23: 292-316.
59. Knobil E. The GnRH pulse generator. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1721-27.
60. Schally AV, Arimura A, Kastin AJ, Matsuo H, Baba Y, Redding TW. et al, Gonadotropin-releasing hormone: one polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. *Science* 1971; 173: 1036-38.
61. Marshall JC, Kelch RP. Gonadotropin-releasing hormone: role of pulsatile secretion in the regulation of reproduction. *N Engl J Med* 1999; 315: 1459-68.
62. Levine JE. New concepts of the neuroendocrine regulation of gonadotropin surges in rats. *Biol Reprod* 1997; 56: 293-302.
63. Krsmanovic LZ, Stojilkovic SS, Catt KJ. Pulsatile gonadotropin-releasing hormone release and its regulation. *Trends Endocrinol Metab* 1996; 7: 56-9.
64. Crowley Jr WF, Filicori M, Spratt DI, Santoro NF. The physiology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion in men and women. *Recent Prog Horm Res* 1985; 41: 473-531.
65. Knobil E. The hypothalamic gonadotrophic hormone releasing hormone (GnRH) pulse generator in the rhesus monkey and its neuroendocrine control. *Hum Reprod* 1988; 3: 29-31.
66. Terasawa E, Keen KL, Mogi K, Claude P. Pulsatile release of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in cultured LHRH neurons derived from the embryonic olfactory placode of the rhesus monkey. *Endocrinology* 1999; 140: 1432-41.
67. Funabashi T, Daikoku S, Shinohara K, Kimura F. Pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion is an inherent function of GnRH neurons, as revealed by the culture of medial olfactory placode obtained from embryonic rats. *Neuroendocrinology* 2000; 71:138-144.
68. Duittoz AH, Batailler M. Pulsatile GnRH secretion from primary cultures of sheep olfactory placode explants. *J Reprod Fertil* 2000; 120: 391-6.

69. Krsmanovic LZ, Stojilkovic SS, Balla T, al-Damluji S, Weiner RI, Catt KJ. Receptors and neurosecretory actions of endothelin in hypothalamic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 11124-28.
70. Krsmanovic LZ, Martinez-Fuentes AJ, Arora KK, Mores N, Navarro CE, Chen HC et al. Autocrine regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion in cultured hypothalamic neurons. *Endocrinology* 1999; 140: 1423-31.
71. Grumbach M, Roth J, Kaplan S, Kelch R. Hypothalamic-pituitary regulation of puberty in man: Evidence and concepts derived from clinical research. In: *The control of the onset of puberty*. Grumbach M, Grave C, Mayer F. Eds. New York, John Wiley & Sons, 1974: 115-207.
72. Winter JSD, Faiman C, Hobson WC, Prasad AV, Reyes FI. Pituitary-gonadal relation in infancy. 1 Patterns of serum gonadotropin concentrations from birth to four years of age in man and chimpanzee. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; 40: 545-51.
73. Plant TM, Witchell SF. Puberty in non-human primates and humans. In: *Knobil and Neill's physiology of reproduction*. Challis JRG, de Kretser DM, Neill JD, et al. Eds. New York, Elsevier, 2006: 2177-230.
74. Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Castellano JM. Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KISS-1 peptide, the endogenous ligand of GPR54. *J Physiol* 2004; 561: 379-86.
75. Castellano JM, Navarro VM, Fernandez-Fernandez R. Changes in hypothalamic KISS-1 system and restoration of pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. *Endocrinology* 2005; 146: 3917-25.
76. Topaloglu AK, Reimann F, Guclu M, Yalin AS, Kotan LD, Porter KM. et al. TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction. *Nat Genet* 2009; 41(3): 354-8.
77. Partsch CJ, Dreyer G, Gosch A. Longitudinal evaluation of growth, puberty and bone maturation in children with Williams syndrome. *J Pediatr* 1999; 134: 82-9.
78. Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev* 2003; 24(5): 668-93.
79. Schmidt RE, Merritt JH, Hardy KH. In utero exposure to low-level microwaves does not affect rat foetal development. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1984; 46(4): 383-6.
80. Merritt JH, Hardy KA, Chamness AF. In utero exposure to microwave radiation and rat brain development. *Bioelectromagnetics* 1984; 5(3): 315-22.
81. Berman E, Carter HB. Decreased body weight in fetal rats after irradiation with 2450-MHz (CW) microwaves. *Health Phys* 1984; 46(3): 537-42.
82. Benediktsson R, Lindsay RS, Noble J, Seckl JR, Edwards CR. Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. *Lancet* 1993; 341: 339-41.
83. Dy J, Guan H, Sampath-Kumar R, Richardson BS, Yang K. Placental 11beta hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is reduced in pregnancies complicated with idiopathic intrauterine growth restriction: evidence that this is associated with an attenuated ratio of cortisone to cortisol in the umbilical artery. *Placenta* 2008; 29: 193-200.

84. Biri A, Bozkurt N, Turp A, Kavutcu M, Himmetoglu O, Durak I. Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. *Gynecol Obstet Invest* 2007; 64: 187-92.
85. Hracsko Z, Orvos H, Novak Z, Pal A, Varga IS. Evaluation of oxidative stress markers in neonates with intra-uterine growth retardation. *Redox Rep* 2008; 13: 11-6.
86. Saker M, Soulimane Mokhtari N, Merzouk SA, Merzouk H, Belarbi B, Narce M. Oxidant and antioxidant status in mothers and their newborns according to birthweight. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; 141: 95-9.
87. Cao YN, Zhang Y, Liu Y. Effects of exposure to extremely low frequency electromagnetic fields on reproduction of female mice and development of offsprings. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 2006; 24(8): 468-70.
88. Sienkiewicz ZJ, Robbins L, Haylock RGE, Saunders RD. Effects of prenatal exposure to 50 Hz magnetic fields on development in mice: II. Postnatal development and behavior. *Bioelectromagnetics* 1994; 15: 363-75.
89. Rommereim DN, Rommereim RL, Sikov MR, Buschbom RL, Anderson LE. Reproduction, growth, and development of rats during chronic exposure to multiple field strengths of 60-Hz electric fields. *Fund Appl Toxicol* 1990; 14: 608-21.
90. Berman E, Kinn JB, Carter HB. Observations of mouse fetuses after irradiation with 2.45 GHz microwaves. *Health Phys* 1978; 35: 791-801.
91. Berman E, Carter HB, House D. Reduced weight in mice offspring after in utero exposure to 2450-MHz (CW) microwaves. *Bioelectromagnetics* 1982; 3: 285-91.
92. Kim JY, Kim HT, Moon KH, Shin HJ. Longterm exposure of rats to 2.45 GHz electromagnetic field: effects on reproductive function. *Korean J Urol* 2007; 48: 1308-14.
93. Cleary SF, Liu LM, Graham R, East J. In vitro fertilization of mouse ova by spermatozoa exposed isothermally to radio-frequency radiation. *Bioelectromagnetics* 1989; 10: 361-9.
94. Saygin M, Caliskan S, Karahan N, Koyu A, Gumral N, Uguz A. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health* 2011; 27(5): 455-63.
95. Lee JM Jr, Stormshak F, Thompson JM, Hess DL, Foster DL. Melatonin and puberty in female lambs exposed to EMF: a replicate study. *Bioelectromagnetics* 1995; 16(2): 119-23.
96. Malinina IuA, Somov Alu. The influence of electromagnetic radiation of industrial frequency on *Daphnia magna* (Straus). *Radiats Biol Radioecol* 2003; 43(5): 552-4.
97. Gumral N, Naziroglu M, Koyu A, Ongel K, Celik O, Saygin M, Kahriman M, Caliskan S, Kayan M, Gencel O, Flores-Arce MF. Effects of selenium and L-carnitine on oxidative stress in blood of rat induced by 2.45-GHz radiation from wireless devices. *Biol Trace Elem Res.* 2009; 132(1-3): 153-63.
98. Gajsek P, Ziriaux JM, Hurt WD, Walter SV, Mason PA. Predicted SAR in Sprague-Dawley Rat as a Function of Permittivity Values. *Bioelectromagnetics* 2001; 22: 384-400.
99. Gajsek P, Walters TJ, Hurt WD, Ziriaux JM, Nelson DA, Mason PA. Empirical validation of SAR values predicted by FDTD modeling. *Bioelectromagnetics* 2002; 23(1): 37-48.

100. Taflove A. *Computational Electromagnetics—The Finite-Difference Time-Domain Method*, London: Artech House Publishers; 1995.
101. Findlay RP, Dimbylow PJ. SAR in a child voxel phantom from exposure to wireless computer networks (Wi-Fi). *Phys Med Biol* 2010; 7;55(15): N405-11.
102. Pinto R, Lopresto V, Galloni P, Marino C, Mancini S, Lodato R, Pioli C, Lovisolo GA. Dosimetry of a set-up for the exposure of newborn mice to 2.45-GHZ WiFi frequencies. *Radiat Prot Dosimetry* 2010; 140(4): 326-32.
103. Peyman A, Rezazadeh AA, Gabriel C. Changes in the dielectric properties of rat tissue as a function of age at microwave frequencies. *Phys Med Biol* 2001; 46(6): 1617-29. Erratum in: *Phys Med Biol* 2002; 21; 47(12): 2187-8.
104. Gabriel C, Gabriel S, Corthout E. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey. *Phys Med Biol* 1996; 41(11): 2231-49.
105. Wayner DD, Burton GW, Ingold KU, Barclay LR, Locke SJ. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta* 1987; 924: 408-19.
106. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly* 2003; 133: 563-6.
107. Bolukbas C, Bolukbas FF, Horoz M, Aslan M, Celik H, Erel O. Increased oxidative stress associated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis B virus infection. *BMC Infect Dis* 2005; 5: 95-101.
108. 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; 21;55(4): 1157-76.
109. 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.
110. Findlay RP, Dimbylow PJ. SAR in a child voxel phantom from exposure to wireless computer networks (Wi-Fi). *Phys Med Biol* 2010; 7;55(15): N405-N411.
111. Sambucci M, Laudisi F, Nasta F, Pinto R, Lodato R, Altavista P. et al. Prenatal Exposure to Non-ionizing Radiation: Effects of WiFi Signals on Pregnancy Outcome, Peripheral B-Cell Compartment and Antibody Production. *Radiat Res* 2010; 174(6a): 732-40.
112. Köksal G, Gökmen H. Ateşli Hastalıklarda (Enfeksiyon Hastalıklarında) Beslenme. In: *Çocuk Hastalıklarında Beslenme Tedavisi*. Köksal G, Gökmen H Eds. Hatipoğlu Yayınları, Ankara, 2000: 654-5.
113. Toivonen T, Toivo T, Puranen L, Jokela K. Specific absorption rate and electric field measurements in the near field of six mobile phone base station antennas. *Bioelectromagnetics* 2009; 30(4): 307-12.
114. Lobie PE, Breipohl W, Aragon JG, Waters MJ. Cellular localization of the growth hormone receptor/binding proteins in the male and female reproductive systems. *Endocrinology* 1990; 126: 2214-21.
115. Danilovich N, Wernsing D, Coshigano KT, Kopchick JJ, Bartke A. Deficits in female reproductive function in GH-R-KO mice; role of IGF-I. *Endocrinology* 1999;140: 2637-40.

116. Pinilla L, Castellano JM, Romero M, Tena-Sempere M, Gaytán F, Aguilar E. Delayed puberty in spontaneously hypertensive rats involves a primary ovarian failure independent of the hypothalamic KiSS-1/GPR54/GnRH system. *Endocrinology* 2009; 150(6): 2889-97.
117. Ismail N, Garas P, Blaustein JD. Long-term effects of pubertal stressors on female sexual receptivity and estrogen receptor- $\alpha$  expression in CD-1 female mice. *Horm Behav* 2011; 59(4): 565-71.
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. Kesari KK, Behari J, Kumar S. Mutagenic response of 2.45 GHz radiation exposure on rat brain. *Int J Radiat Biol* 2010; 86(4): 334-43.
120. Dasdag S, Akdag MZ, Ulukaya E, Uzunlar AK, Ocak AR. Effect of mobile phone exposure on apoptotic glial cells and status of oxidative stress in rat brain. *Electromagn Biol Med* 2009; 28: 342-54.
121. Takashima Y, Hirose H, Koyama S, Suzuki Y, Taki M, Miyakoshi J. Effects of continuous and intermittent exposure to RF fields with a wide range of SARs on cell growth, survival, and cell cycle distribution. *Bioelectromagnetics* 2006; 27(5): 392-400.
122. Akdag MZ, Dasdag S, Ulukaya E, Uzunlar AK, Kurt MA, Taşkin A. Effects of extremely low-frequency magnetic field on caspase activities and oxidative stress values in rat brain. *Biol Trace Elem Res* 2010; 138(1-3): 238-49.
123. Joubert V, Leveque P, Cueille M, Bourthoumieu S, Yardin C. No apoptosis is induced in rat cortical neurons exposed to GSM phone fields. *Bioelectromagnetics* 2007; 28(2): 115-21.
124. Joubert V, Bourthoumieu S, Leveque P, Yardin C. Apoptosis is induced by radiofrequency fields through the caspase-independent mitochondrial pathway in cortical neurons. *Radiat Res* 2008; 169(1): 38-45.
125. Maoquan LI, Yanyan W, Yanwen Z, Zhou Z, Zhengping YU. Elevation of Plasma Corticosterone Levels and Hippocampal Glucocorticoid Receptor Translocation in Rats: a Potential Mechanism for Cognition Impairment Following Chronic Low-power-density Microwave Exposure. *J Radiat Res* 2008; 49: 163-170.
126. Bortkiewicz A. A study on the biological effects of exposure mobile-phone frequency EMF. *Med Pr* 2001; 52(2): 101-6.
127. Cleary SF. Effects of radio-frequency radiation on mammalian cells and biomolecules *in vitro*. In Blank M (ed): "Electromagnetic Fields: Biological Interactions and Mechanisms." Washington: American Chemical Society, (1995): 467-77.
128. Lin-Liu S, Adey WR Low frequency amplitude modulated microwave fields change calcium efflux rates from synaptosomes. *Bioelectromagnetics* 1982; 3: 309-22.
129. Liu D-S, Astumian RD, Tsong TY. Activation of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> pumping modes of (Na, K)-ATPase by an oscillating electric field. *J Biol Chem* 1990; 265: 7260-7.
130. Hardell L, Sage C. Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards. *Biomed Pharmacother* 2008; 62(2): 104-9.