



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

**DOKTORA  
TEZİ**

**RF ALAN İN VİTRO MARUZİYET SİSTEMİ  
OLUŞTURULMASI VE RF ALANIN  
BEYİN KANSERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**MEHMET ZAHİD TÜYSÜZ**

**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**

**ARALIK 2016**



**RF ALAN *İN VİTRO* MARUZİYET SİSTEMİ OLUŞTURULMASI VE RF  
ALANIN BEYİN KANSERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Mehmet Zahid TÜYSÜZ**

**DOKTORA TEZİ  
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2016**

Mehmet Zahid Tüysüz tarafından hazırlanan "RF ALAN *IN VITRO* MARUZİYET SİSTEMİ OLUŞTURULMASI VE RF ALANIN BEYİN KANSERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman/ Başkan :** Prof. Dr. Ayşe CANSEVEN KURŞUN

Biyofizik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

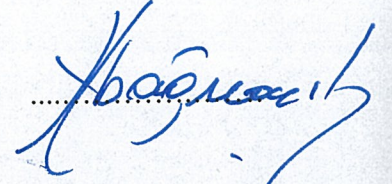
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....  


**Üye:** Prof. Dr. Ümit BAĞRIAÇIK

İmmünoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....  


**Üye :** Prof. Dr. Nesrin SEYHAN

Biyofizik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

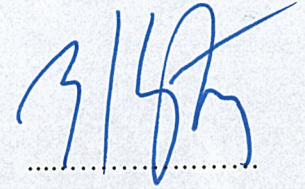
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....  


**Üye :** Prof. Dr. Erhan KIZILTAN

Fizyoloji Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi

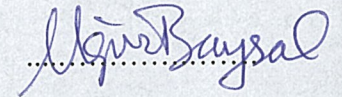
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....  


**Üye :** Prof. Dr. Uğur BAYSAL

Elektrik Elektronik Mühendisliği, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....  


Tez Savunma Tarihi: 22/12/2016

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

Prof. Dr. Mustafa ASLAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

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

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

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



Mehmet Zahid TÜYSÜZ

22.12.2016

RF ALAN İN VİTRO MARUZİYET SİSTEMİ OLUŞTURULMASI VE  
RF ALANIN BEYİN KANSERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Mehmet Zahid TÜYSÜZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2016

ÖZET

Hızla gelişen ve yaygınlaşan kablosuz iletişim teknolojileri nedeniyle, insanların maruz kaldığı RF alan seviyesi güçlü şekilde artmaktadır. IARC tarafından, RF alanlar muhtemel karsinojen (Grup 2B) ilan edilmiştir. Buna rağmen, RF alanların hücre kültürleriyle etkileşimi ile ilgili deneysel veriler hem yetersizdir hem de çelişkili sonuçlar içermektedir. Literatürdeki bu çelişkili sonuçların nedeni olarak iyi tanımlanmamış maruziyet koşulları ve RF alan maruziyet sistemleri gösterilmektedir. Deneylein kalitesini ve bulguların güvenilirliğini arttırmak amacıyla, in vitro RF alan maruziyet sisteminin tasarımı ve üretimi öncelikli hale gelmiştir. İn vitro RF alan maruziyet sisteminin tasarım ve optimizasyon aşamaları, FDTD tabanlı SEMCAD X üç boyutlu EM alan simülasyon programı yardımıyla bilgisayar ortamında gerçekleştirilmiştir. Tasarım aşamasının tamamlanmasıyla birlikte, in vitro RF alan maruziyet sisteminin üretimi gerçekleştirilmiştir. Literatürde, astrositlerin merkezi sinir sistemi hücrelerinden önemli bir grubu oluşturdukları ve RF alan maruziyetine karşı diğer hücrelerden daha hassas oldukları rapor edilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında U-118 MG (astrosit kökenli) hücre kültüründe, maruziyet süresine bağlı olarak, RF alanların hücre canlılığına (WST-1), apoptoza (Annexin V-FITC/PI) ve mRNA düzeylerine (qRT-PCR) etkileri incelenmiştir. Deneyle sonuçları, 2.1 GHz, 3G modülasyonlu RF alana 48 saat süre ile maruz bırakılan U-118 MG hücrelerinin; hücre canlılığı, apoptoz ve gen ekspresyonu açısından önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir. 1 saat ve 24 saat RF alan maruziyeti uygulanan U-118 MG hücrelerinde, hücre canlılığı ve apoptozda önemli bir etki gözlenmemiştir. 24 saat ve 48 saat, 2.1 GHz'lik RF alan maruziyetinin gen ekspresyonu üzerinde istatistiksel açıdan önemli değişime neden olduğu belirlenmiştir. Etkinin açığa çıkmasında hücre tipinin astrosit kökenli olmasının önemli olduğu görüşünü destekleyen bulgular elde edilmiştir. Hücrelerin RF alanlara maruz bırakıldıkları sürenin; en az hücrenin kendi sayısının ikiye katlanma zamanı kadar ya da daha uzun olmasının etki oluşmasında önemli olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, RF alanların hücre kültürü üzerindeki etkisi, hücre tipine ve maruziyet süresine bağlı olarak değişmektedir.

Bilim Kodu : 1008  
Anahtar Kelimeler : Radyofrekans, Mikrodalga, Maruziyet Sistemi, Apoptoz, Glioblastoma, FDTD  
Sayfa Adedi : 128  
Danışman : Prof. Dr. Ayşe CANSEVEN KURŞUN

*IN VITRO* RF EXPOSURE SYSTEM DESIGN AND  
INVESTIGATION THE EFFECT OF RF FIELDS ON BRAIN CANCER

(Ph. D. Thesis)

Mehmet Zahid TÜYSÜZ

GAZI UNIVERSITY  
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

December 2016

ABSTRACT

Due to the rapidly developing widespread wireless communication technologies, the level of RF field that people are exposed to is increasing strongly. By IARC, RF fields have been declared as possible carcinogen (Group 2B). Nevertheless, experimental data on the interaction of RF fields with cell cultures are both insufficient and contain conflicting results. These contradictory results in the literature are due to not well-defined exposure conditions and RF field exposure systems. In order to improve the quality of the experiments and the reliability of the findings, the design and production of the in vitro RF field exposure system has become a priority. The design and optimization steps of the in vitro RF field exposure system were performed in computer environment with the aid of FDTD based SEMCAD X three dimensional EM field simulation program. Upon completion of the design phase, an in vitro RF field exposure system was produced. It has been reported in the literature that astrocytes constitute an important group of central nervous system cells and are more susceptible to RF field exposure than other cells. In this thesis, the effects of RF fields on cell viability (WST-1), apoptosis (Annexin V-FITC / PI) and mRNA levels (qRT-PCR) were investigated in U-118 MG (astrocyte-derived) cell culture depending on the duration of exposure. Experimental results have shown that U-118 MG cells exposed to the 2.1 GHz, 3G modulated RF field for 48 hours are significantly influenced by cell viability, apoptosis and gene expression. No significant effect on cell viability and apoptosis was observed in U-118 MG cells exposed to 1 and 24 h RF field. It was determined that exposure to RF field at 2.1 GHz for 24 and 48 hours causes statistically significant change in gene expression. In this context, findings, supporting the idea that the cell type to be astrocyte origin is important, are obtained. It has been found that the time the cells are exposed to RF fields, which should be at least as long as the number of times the cell doubles its number, is important in terms of effect formation. As a result, the effect of RF fields on cell culture varies depending on cell type and duration of exposure.

Science Code : 1008

Key Words : Radiofrequency, Microwave, Exposure System, Apoptosis,  
Glioblastoma, FDTD

Page Number : 128

Advisor : Prof. Dr. Ayşe CANSEVEN KURŞUN

## TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince ve bu tezin hazırlanması aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam ve tez yöneticim Prof. Dr. Ayşe CANSEVEN KURŞUN'a,

İn vitro RF alan maruziyet sisteminin tasarımı aşamasında öneri ve eleştirileri ile katkı sağlayan Prof. Dr. Cengiz TAPLAMACIOĞLU'na, Doç. Dr. Nursel AKÇAM'a, Murat Şamil ÜNAL'a;

İn vitro RF alan maruziyet sisteminin üretimi aşamasında öneri ve eleştirileri ile katkı sağlayan Yusuf COŞKUN'a, Alaaddin COŞKUN'a, ve sistemin üretimini gerçekleştiren ve üretim aşamasındaki sıkıntılarımızı çözen Akın AKBAŞ'a;

Biyolojik deney aşamasında değerli görüşleri ve hücre hattının temini konusundaki katkıları nedeniyle Prof. Dr. Emin Ümit BAĞRIAÇIK'a

Hücre kültürü deneyleri sırasında büyük katkı ve desteklerini gördüğüm, değerli arkadaşlarım Handan KAYHAN'a, Atiye Seda YAR SAĞLAM'a;

Biyolojik deney kısmı ile ilgili değerli görüş, öneri ve yardımları nedeniyle başta Arın TOMRUK olmak üzere, Meriç Arda EŞMEKAYA'ya, Melek YAMAN'a, Zübeyir ELMAZOĞLU'na,

Manevi desteğini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Fatih ŞENTÜRK'e ve Gaye UMURHAN'a

Hayatımın her aşamasında maddi, manevi her türlü desteklerini esirgemeyen değerli babam ve annem, Necati ve Hülya TÜYSÜZ'e; kardeşlerim Ayşe Nur ve Fatih TÜYSÜZ'e; teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca bütün hocalarıma ve bölüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu Tez kapsamında hazırlanan, “*In vitro* RF Alan Maruziyet Sistemi” için **Türkiye Patent Enstitüsüne 2016/12016 başvuru numarası ile Patent başvurusunda bulunulmuştur.**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından, 01/2010-112 nolu proje ile desteklenmiştir.



**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. RF Alan ve RF Alan Karakteristiği.....	5
2.2. Dozimetri.....	7
2.2.1. Biyolojik yapılarda SAR hesabı.....	9
2.2.2. FDTD yöntemi.....	12
2.3. İn vitro RF alan maruziyet sistemleri ve tasarımı.....	18
2.3.1. Literatürde kullanılan in vitro RF maruziyet sistemleri.....	19
2.3.2. Optimum in vitro RF alan maruziyet sistemini oluşturabilmek için dikkat edilmesi gereken kriterler.....	28
2.3.3. Radyofrekans sistemlerde kalkanlama.....	33
2.4. Apoptoz.....	36
2.4.1. Hücre ölüm reseptörlerini kullanan (dış) yolak.....	40
2.4.2. Mitokondrial (iç) yolak.....	42
2.4.3. Apoptoz tespitinde kullanılan yöntemler.....	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	47
3.1. Gereç.....	48

**Sayfa**

3.1.1. İn vitro RF alan maruziyet sistemi tasarım ve üretiminde kullanılan cihaz ve yazılımlar .....	48
3.1.2. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan kimyasallar ve cihazlar .....	50
3.2. Yöntem .....	51
3.2.1. İn vitro RF alan maruziyet sistemi tasarımı .....	51
3.2.2. İn vitro RF alan maruziyet sistemi üretiminde kullanılan yöntemler .....	54
3.2.3. Hücre kültürü .....	54
3.2.4. Hücre kültürü için RF alan maruziyet protokolü .....	54
2100 MHz frekanslı RF alan uygulamasından kaynaklı kültür hücrelerinin maruz kaldıkları 1 gr ortalama SAR değeri $1,12 \pm 0,18$ W/kg olarak tespit edilmiştir. ....	56
3.2.5. Hücre canlılığı tespiti: WST-1 yöntemi .....	56
3.2.6. Apoptoz tespiti : Anneksin V-FITC/PI yöntemi .....	56
3.2.7. Apoptotik ve proliferatif gen ekspresyonları .....	57
3.2.8. İstatistiksel analiz .....	61
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>63</b>
4.1. İn vitro RF Alan Maruziyet Sistemine İlişkin Simülasyon Bulguları .....	63
4.1.1. Tasarım simülasyonları .....	65
4.1.2. Üretim öncesi optimizasyon simülasyonları .....	85
4.2. İn vitro RF Alan Maruziyet Sistemi Üretimi .....	95
4.2.1. İn vitro RF alan maruziyet sistemi anten bulguları .....	95
4.2.2. İn vitro RF alan maruziyet sistem bileşenlerinin üretimi ve montajı .....	96
4.3. Hücre Kültürü Çalışması ile İlgili Bulgular .....	99
4.3.1. Hücre canlılığı bulguları: WST-1 sonuçları .....	99
4.3.2. Apoptoz bulguları: Anneksin V-FITC/PI sonuçları .....	100
4.3.3. Apoptotik ve proliferatif gen ekspresyon bulguları .....	100
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>105</b>

	<b>Sayfa</b>
6. SONUÇ.....	117
KAYNAKLAR.....	119
ÖZGEÇMİŞ.....	127



## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 1.1. RF alan kaynakları ve mesafeye bağlı olarak oluşturdukları maruziyet seviyeleri .....	7
Çizelge 2.2. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemleri ve özellikleri .....	22
Çizelge 2.3. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemlerinin genel dezavantajları.....	27
Çizelge 2.4. RF alan maruziyeti çalışmalarında kullanılacak maruziyet sistemleri için temel gereksinimler .....	30
Çizelge 2.5. Zırhlama etkinliğine ilişkin formüller .....	34
Çizelge 2.6. Nekroz ve apoptoz karşılaştırması .....	38
Çizelge 3.1. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemi tasarımında kullanılan yazılım ve cihazlar .....	48
Çizelge 3.2. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemi üretiminde kullanılan cihazlar.....	48
Çizelge 3.3. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemi üretiminde kullanılan malzemeler.....	49
Çizelge 3.4. Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan kimyasallar .....	50
Çizelge 3.5. Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan kitler .....	50
Çizelge 3.6. Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan cihazlar .....	51
Çizelge 3.7. Simülasyonda kullanılan malzemelere ilişkin dielektrik özellikler.....	56
Çizelge 3.8. cDNA RT-PCR tepkime karışımı.....	58
Çizelge 3.9. Otomatik ısı döngü cihazında uygulanan program.....	59
Çizelge 3.10. Gene özgü primer dizileri ve prob numaraları.....	59
Çizelge 3.11. CASP3, CASP8, CASP9, BCL2, BAX, CYCD1, c-MYC, c-FOS ve GAPDH Real-time PCR tepkime karışımı.....	60
Çizelge 3.12. CASP3, CASP8, CASP9, BCL2, BAX, CYCD1, c-MYC, c-FOS ve GAPDH genlerinin ifade düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan Real Time PCR tepkime programı .....	61
Çizelge 4.1. Simülasyon paketi i. için incelenen koşullar .....	65
Çizelge 4.2. Simülasyon paketi i. için hesaplanan değerler .....	65
Çizelge 4.3. Simülasyon paketi ii. için incelenen koşullar.....	66

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.4. Simülasyon paketi ii. için hesaplanan değerler .....	66
Çizelge 4.5. Simülasyon paketi iii. için incelenen koşullar.....	67
Çizelge 4.6. Simülasyon paketi iii. için hesaplanan değerler .....	67
Çizelge 4.7. Simülasyon paketi iv. için incelenen koşullar .....	68
Çizelge 4.8. Simülasyon paketi iv. için hesaplanan değerler .....	68
Çizelge 4.9. Simülasyon paketi v. için incelenen koşullar .....	69
Çizelge 4.10. Simülasyon paketi v. için hesaplanan değerler .....	69
Çizelge 4.11. Simülasyon paketi vi. için incelenen koşullar .....	70
Çizelge 4.12. Simülasyon paketi vi. için hesaplanan değerler .....	70
Çizelge 4.13. Simülasyon paketi vii. için incelenen koşullar.....	71
Çizelge 4.14. Simülasyon paketi vii. için hesaplanan değerler .....	71
Çizelge 4.15. Simülasyon paketi viii. için incelenen koşullar.....	72
Çizelge 4.16. Simülasyon paketi viii. için hesaplanan değerler .....	72
Çizelge 4.17. Simülasyon paketi ix. için incelenen koşullar .....	75
Çizelge 4.18. Simülasyon paketi ix. için hesaplanan değerler.....	75
Çizelge 4.19. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sisteminin 2100 MHz, 23 dbm anten giriş gücü için SAR (W/kg) ve alan homojenite değerleri .....	91
Çizelge 4.20. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sisteminin 1800 MHz, 25 dbm anten giriş gücü için SAR (W/kg) ve alan homojenite değerleri .....	91
Çizelge 5.1. RF alan maruziyetinin, glial hücreler ve gliomalarda (glioblastoma, astrositoma, vb.) hücre canlılığına etkisi.....	107
Çizelge 5.2. RF alan maruziyetinin, glial hücreler ve gliomalarda (glioblastoma, astrositoma, vb.) apoptoza etkisi .....	109
Çizelge 5.3. RF alan maruziyetinin, glial hücreler ve gliomalarda (glioblastoma, astrositoma, vb.) gen ifadenmesi düzeylerine etkisi.....	112

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Elektromanyetik Spektrum .....	5
Şekil 2.2. Tek boyutlu dalga yayılımı için Yee algoritmasının uzay-zaman grafiği. ....	13
Şekil 2.3. Birim FDTD (Yee) hücresi .....	14
Şekil 2.4. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sistemlerinin sınıflandırılması .....	20
Şekil 2.5. Optimum maruziyet sistemi tasarımı için önerilen standardize edilmiş yöntem .....	32
Şekil 2.6. İletken bir yüzey üzerindeki havalandırma kanalları etrafında akım geçişleri.....	33
Şekil 2.7. Bağlantı yerleri için farklı çözüm önerileri .....	35
Şekil 2.8. Apoptoz dış yolak mekanizması.....	41
Şekil 2.9. Apoptoz iç yolak mekanizması.....	43
Şekil 3.1. 2.1 GHz frekanslı RF alan deney maruziyet grupları .....	55
Şekil 4.1. Simülasyon aşamasında kullanılan koordinat sistemi .....	64
Şekil 4.2. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sistemi Prototip V1'in farklı açılardan genel görünümü.....	79
Şekil 4.3. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sistemi Prototip V2'in farklı açılardan genel görünümü.....	80
Şekil 4.4. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sistemi Prototip V-3 (dikdörtgen yapılı) için farklı açılardan genel görünüm.....	82
Şekil 4.5. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sistemi Prototip V-3 (silindir yapılı) için farklı açılardan genel görünüm .....	82
Şekil 4.6. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sistemi Prototip V4 (dikdörtgen yapılı) için farklı açılardan genel görünüm.....	83
Şekil 4.7. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sistemi Prototip V4 (silindir yapılı) için farklı açılardan genel görünüm .....	84
Şekil 4.8. Üretim öncesi optimizasyon simülasyonlarına uygun olarak tasarımı gerçekleştirilen <i>in vitro</i> RF alan maruziyet sistem bileşenlerine ilişkin parça şeması.....	86
Şekil 4.9. <i>In vitro</i> RF alan maruziyet sisteminin, kapak açık genel görünümü .....	87

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.10. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemi, alt ve üst petri kabinlerinin birlikte genel görünümü .....	87
Şekil 4.11. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemi, üst petri kabininin genel görünümü .....	88
Şekil 4.12. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemi, alt petri kabininin genel görünümü .....	88
Şekil 4.13. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemi, Petri tutucu gövdesi ve kapağı'nın genel görünümü .....	89
Şekil 4.14. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sisteminin havalandırma ünitesi .....	90
Şekil 4.15. 2.1 GHz'de <i>in vitro</i> maruziyet sisteminin 23 dBm için RF alan dağılım deseni .....	92
Şekil 4.16. 1.8 GHz'de <i>in vitro</i> maruziyet sisteminin 25 dBm için RF alan dağılım deseni .....	93
Şekil 4.17. U-118 MG, Kontrol ve RF alan maruziyet gruplarının, hücre canlılığı sonuçları .....	99
Şekil 4.18. U-118 MG, Kontrol ve RF maruziyet gruplarının apoptoz sonuçları .....	100
Şekil 4.19. U-118 MG, 1 saat RF alan maruziyet grubunda kontrole göre mRNA düzeylerindeki değişim .....	101
Şekil 4.19. U-118 MG, 24 saat RF alan maruziyet grubunda kontrole göre mRNA düzeylerindeki değişim .....	102
Şekil 4.20. U-118 MG, 48 saat RF alan maruziyet grubunda kontrole göre mRNA düzeylerindeki değişim .....	103

**RESİMLERİN LİSTESİ**

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 4.1. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sistemi anteni ve SWR ölçümü .....	95
Resim 4.2. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sisteminin montaj öncesi bileşenlerin genel görünümü .....	97
Resim 4.3. <i>İn vitro</i> RF alan maruziyet sisteminin ve Havalandırma Ünitesinin farklı açılardan genel görünümü.....	98





## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklamalar

°C	Santigrad Derece
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
g	Gram
kDa	Kilo Dalton
mg	Miligram
ml	Mililitre
dB	Desibel
Hz	Hertz
GHz	Gigahertz (10 <sup>9</sup> Hz)
MHz	Megahertz (10 <sup>6</sup> Hz)
THz	Terahertz (10 <sup>12</sup> Hz)
σ	Elektriksel İletkenlik (sigma)
ε	Dielektrik Sabiti (epsilon)
ρ	Yoğunluk (rho)

### Kısaltmalar

### Açıklamalar

AIF	Apoptoz Uyarıcı Faktör
Apaf-1	Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör-1
Bax	BCL2 İlişkili X Geni
Bcl-2	B hücresi lenfoma geni 2
CASP	Kaspaz

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklamalar</b>
<b>CASP3</b>	Kaspaz 3
<b>CASP8</b>	Kaspaz 8
<b>CASP9</b>	Kaspaz 9
<b>CDK</b>	Siklin Bağımlı Kinaz
<b>CDKI</b>	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörleri
<b>cDNA</b>	Komplementer DNA
<b>CV</b>	Varyasyon Katsayısı
<b>CYCD1</b>	Siklin D1
<b>DMEM</b>	Dulbecco's Modified Eagle Media
<b>DMSO</b>	Dimetil Sülfoksit
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>EDTA</b>	Etilendiamintetraasetikasit
<b>EGF</b>	Epidermal Büyüme Faktörü
<b>EGFR</b>	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
<b>EM</b>	Elektromanyetik
<b>FBS</b>	Fetal Sığır Serumumu
<b>FDTD</b>	Zaman Uzayında Sonlu Farklar Metodu
<b>GAPDH</b>	Gliseraldehit 3 Fosfat Dehidrojenaz
<b>GTEM</b>	Gigahertz Seviyesinde Enine Elektromanyetik Alan
<b>IARC</b>	Uluslararası Kanser Arastırma Ajansı
<b>Kaspaz</b>	Sistein Bağımlı Aspartata Spesifik Proteaz
<b>LC</b>	Light Cyclers
<b>mRNA</b>	Mesajcı RNA
<b>MW</b>	Mikrodalga
<b>p53</b>	Protein 53
<b>PBS</b>	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi

**Kısaltmalar****Açıklamalar**

<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>PS</b>	Fosfatidilserin (PhosphatidylSerine)
<b>REST</b>	Relatif Ekspresyon Software Tool
<b>RF</b>	Radyofrekans
<b>RNA</b>	Ribonükleik Asit
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>Rpm</b>	Dakika Başına Dönme Sayısı
<b>RT-PCR</b>	Ters Transkriptaz-Polimeraz Zincir Tepkimesi
<b>SAR</b>	Özgül Soğurma Oranı
<b>TEM</b>	Enine Elektromanyetik Alan
<b>TK</b>	Tirozin Kinaz
<b>TKİ</b>	Tirozin Kinaz İnhibitörü
<b>TNF</b>	Tümör Nekroz Faktörü
<b>TNFR</b>	Tümör Nekroz Faktör Reseptörü
<b>WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü



## 1. GİRİŞ

Mobil iletişim teknolojilerindeki hızlı gelişme ile birlikte hayatımıza girmiş olan cep telefonları, Radyofrekans (RF) Alan maruziyetinde ciddi bir artışa neden olmaktadır. Cep telefonlarının kullanım konumu nedeniyle, beyin bu durumdan diğer organlara kıyasla daha çok etkilenmektedir. Beynin maruziyeti ile ortaya çıkabilecek olası sağlık etkileri bilimsel çevrelerde yoğun olarak araştırılmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 2008 yılında yayımlanan dünya kanser raporunda, mobil telefonların kullanımından doğan kanser riski değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede akustik nöroma, gliyoma, menenjiyoma ve parotid bezi tümörleri ilgili olarak bugüne kadar yapılmış en büyük epidemiyolojik çalışma olan INTERPHONE çalışması baz alınmıştır. Avustralya, Kanada, Danimarka, Finlandiya, Fransa, Almanya, İsrail, İtalya, Japonya, Yeni Zelanda, Norveç, İsveç ve İngiltere’de gerçekleştirilen bu çalışmalarda ortak çekirdek bir protokol kullanılmış ve çalışmaya yaklaşık 2600 gliyoma, 2300 menenjiyoma, 100 akustik nöroma ve 400 parotid bezi tümörleri ve ilgili kontroller dahil edilmiştir. Kuzey ülkelerinden ve İngiltere’nin bir bölümünden gelen sonuçlar bir havuzda toplanmış, bu verilerden 10 yıllık veya daha uzun süreli mobil telefon kullanımının kafa tümörlerinin gelişimi yanında, gliyoma riskini önemli ölçüde arttığı sonucuna varılmıştır (Boyle ve Levin, 2008: 170).

Bu çalışmaya dayanarak Dünya Sağlık Örgütü (WHO-IARC) radyofrekans alanları 2B sınıfı (muhtemel) karsinojen olarak kabul etmiştir (Boyle ve Levin, 2008: 170; Baan ve diğerleri, 2011). Bu konuda epidemiyolojik çalışmalar olmasına rağmen, RF Alan maruziyetinin biyolojik yapılar ile etkileşim mekanizmasını açıklayan yeterli biyolojik çalışma bulunmamaktadır ve konu deneysel çalışmalar düzeyinde halen tartışılmaktadır. RF alanların biyolojik etkileşim mekanizması ile ilgili yeterli bilgi bulunmadığından, RF alanların kansere etkisinin incelenmesi özellikle önerilmektedir (Repacholi, 1998). Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1996 yılında Elektromanyetik Alanlar Projesi (EMF Project) başlatılmıştır. Gazi Biyofizik bu kapsamda, 2001 yılından beri Elektromanyetik Alanlar Projesi Uluslararası Danışma Komitesi (WHO EMF IAC) üyeliğini sürdürmektedir.

Cep telefonu kaynaklı RF alanların olası etkilerinin ve etki mekanizmalarının araştırılabilmesi için hücre kültürü ortamında RF Alan maruziyeti sağlayacak *in vitro*

sisteme ihtiyaç vardır. RF alanın neden olduğu biyolojik bir etkinin belirlenmesine yönelik deney tasarımı, dozimetri önemli bir yer tutmaktadır. İlgilenilen RF alan parametrelerinin etkisinin tam ve doğru olarak tespit edilebilmesi için deney ortamının, çevresel RF alan kaynaklarından izole edilmesi, alan uygulamasının mümkün olduğunca homojen olması ve soğurulan enerji miktarının (SAR değerinin) doğru olarak bilinmesi gerekmektedir. Aksi takdirde incelenilen RF alan parametresinin biyolojik etkisi tam ve doğru olarak tespit edilemeyecektir.

Bu tez çalışmasında 3 temel araştırma amaçlanmıştır:

1. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılmak üzere, uluslararası standartlara uygun, çevresel etki ve etkenlerden korunmuş, mobil iletişim teknolojileri ile uyumlu, ilgilenilen parametrelerin kontrollü deneylerle detaylı şekilde incelenebilmesine fırsat veren, dolayısıyla deneylerin kalitesini ve bu deneyler neticesinde elde edilen bulguların güvenilirliğini arttıracak, bu konuda yurtdışına bağımlılıktan ülkemizi kurtaracak, *in vitro* RF Alan deney sistemi geliştirilmesi amaçlanmaktadır.
2. Tasarımı yapılan *in vitro* RF Alan deney sisteminin üretiminin gerçekleştirilmesi amaçlanmaktadır.
3. RF alanların 2B sınıfı karsinojen ilan edilmiş olması ve RF'nin biyolojik etkileşim mekanizması ile ilgili yeterli bilginin bulunmaması nedenleriyle RF alanların kanseri nasıl etkilediğinin araştırılması amaçlanmaktadır: Üretimi gerçekleştirilen *In vitro* sistemde RF alana maruz bırakılacak U-118 MG insan gliblastoma kültür hücrelerinde hücre canlılığının, apoptozun ve bazı genlerin ifadenme düzeyinin nasıl etkilendikleri araştırılacaktır.

RF alan maruziyeti kaynaklı bir deneyin güvenilirliği, kullanılan deney sisteminin hassasiyeti ve gelişmişliği ile doğrudan ilişkilidir. Bu amaçla ilk olarak *in vitro* RF alan maruziyet sistemi ile ilgili tasarım çalışmalarına başlanmıştır.

*In vitro* Maruziyet Sisteminin tasarımı SEMCAD X üç boyutlu tam dalga simülasyon yazılımı ile bilgisayar ortamında gerçekleştirilmiştir. SEMCAD X yazılımı, Maxwell denklemlerinin diferansiyel şeklinin merkezi fark denklemleri ile değiştirilip zaman ve konumda sayısallaştırılmasına dayanan, Zamanda Sonlu Farklar (Finite Difference Time Domain, FDTD) yöntemini kullanmaktadır (SPEAG, 2007).

SEMCAD X ile bir çok prototip tasarımı yapılmış, bunlar arasından, malzeme ve üretim koşulları açısından uygun olan *in vitro* maruziyet sistem modeli, üretilmek üzere seçilmiş ve üretim aşamasına geçilmiştir. Üretim aşamasının tamamlanması ile birlikte biyolojik deneylere başlanmıştır.

RF alanlar ile kanser ilişkisi literatürde genel olarak 2 farklı yaklaşımla incelenmektedir. Birinci yaklaşım; RF alanların doğrudan kanser oluşturabilme potansiyelini incelerken; ikinci yaklaşım herhangi bir nedenle gelişen kanserli yapının ilerleyiş sürecine RF alanların etkisini değerlendirmeye odaklanmıştır. Bu çalışmada ikinci yaklaşım dikkate alınarak, kanser kültür hücreleri üzerine RF alan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Araştırmada hipotezimiz; RF alanın herhangi bir nedenle oluşmuş kanserin gelişimi yada ilerleyişi üzerinde gen ekspresyonunda aktivasyon yada inhibisyon oluşturarak etki gösterebileceği yönündedir.

Deney aşamasında; RF alanın U-118 MG insan glioblastoma hücrelerinde, hücre canlılığını, apoptoz ve genlerin ekspresyon düzeylerini nasıl etkilediği araştırılmıştır. RF alanın hücre canlılığına (proliferasiyona) etkileri WST-1 yöntemi ile, hücrelerin apoptotik aktivitelerindeki değişim Annexin V-FITC/PI yöntemi ile ve gen ifadenme düzeylerindeki değişimler qRT-PCR ile değerlendirilmiştir.

Böylece bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen *in vitro* RF alan maruziyet sisteminde uluslararası standartlara uygun, çevresel etki ve etkenlerden korunmuş, ilgilenilen parametrelerin kontrollü deneylerle detaylı incelenebilmesine fırsat veren *in vitro* sistemde RF alanın hücre kültürü üzerindeki etkileri incelenmiştir.

**Bölüm 2**, RF alanlar ve RF alanların karakteristiğinin yer aldığı bilgiler ile başlamakta, sayısal dozimetri ve özgül soğurma oranına değinildikten sonra literatürde kullanılan *in vitro* maruziyet sistemleri ve dikkat edilmesi gereken kriterlerden bahsedilmektedir. Daha sonra apoptoz ile ilgili bilgi verilerek bölüm tamamlanmaktadır.

**Bölüm 3**'te, bu tez çalışmasında kullanılan tüm malzemeler ve yöntemler anlatılmaktadır. Öncelikle *in vitro* maruziyet sisteminin tasarımı için gerçekleştirilen simülasyon çalışmalarında kullanılan donanım ve yazılımlar belirtilmekte ve bunlara ilişkin bilgiler

verilmektedir. Daha sonra ise biyolojik deneylerde kullanılan gereçlere değinilmektedir. Bölüm hem simülasyon çalışmalarında hem de hücre canlılığı, apoptoz, gen ifadenme düzeylerine ilişkin deneylerde uygulanan yöntemlerin açıklanması ile son bulmaktadır.

**Bölüm 4**'de, maruziyet sistemi tasarımı ile ilişkili simülasyon verileri ve hücre canlılığı, apoptoz, gen ifadenme düzeylerine ilişkin deney bulguları verilmektedir.

**Bölüm 5**'te, bu araştırmada yapılan maruziyet sisteminin tasarımı, hücre canlılığı, apoptoz ve gen ifadenme düzeylerine ilişkin deney sonuçları literatür ile kıyaslanmakta, neden sonuç ilişkisi değerlendirilmektedir.

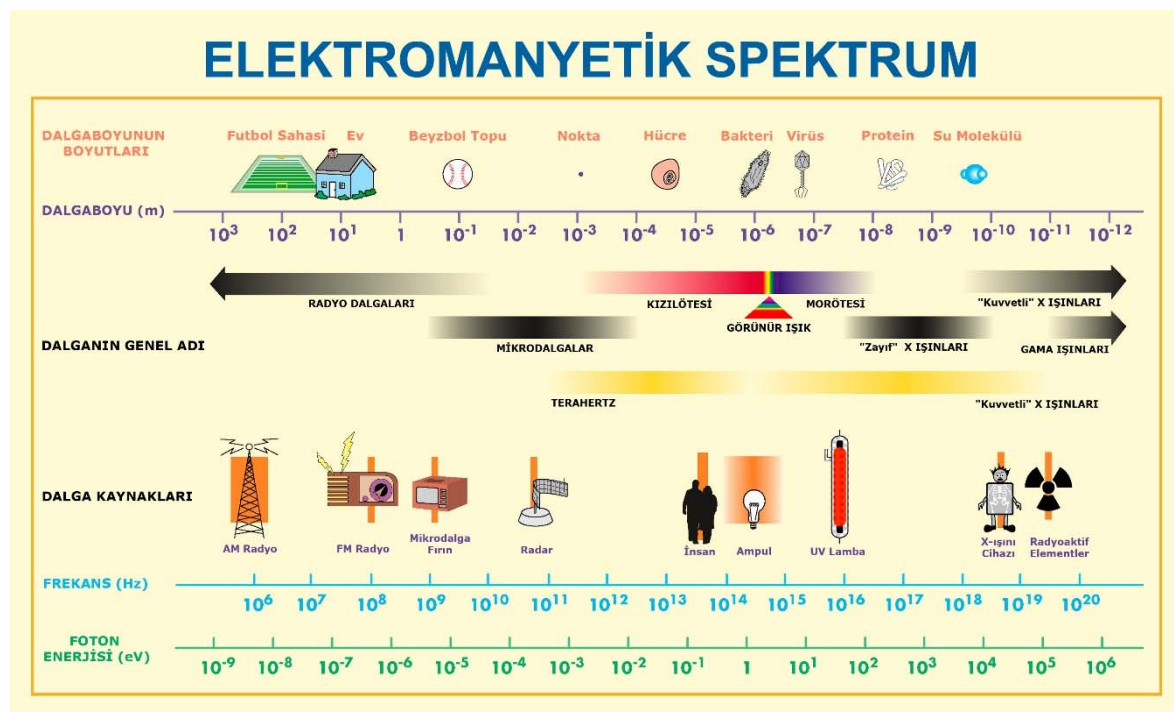
**Bölüm 6**'da ise gerçekleştirilen tüm araştırmadan elde edilen sonuçlar verilmektedir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. RF Alan ve RF Alan Karakteristiği

Elektromanyetik (EM) spektrum, farklı frekans ya da dalga boylarına sahip elektromanyetik dalgaların bütünüdür. Elektromanyetik spektrumdaki dalgalar iyonize ve iyonize olmayan radyasyon olmak üzere ikiye ayrılır. Genel olarak 3000 THz üzeri iyonize, altı ise iyonize olmayan radyasyon olarak sınıflandırılır. Bu frekans 12.4 eV foton enerjisine ve 100 nm dalga boyuna denk gelmektedir (Kato, 2006).



Şekil 2.1. Elektromanyetik Spektrum

İyonize olmayan dalgalar; Çok Düşük Frekans (ELF), Radyo Frekans (RF), Mikrodalga (MW), Kızılötesi (IR), Görünür Işık ile Morötesi (UV) ışıklardan oluşmaktadır. X Işınları ve Gama Işınları ise iyonize dalgalarıdır. Spektrumdaki dalgaların birbirinden farklı frekansları ve buna bağlı olarak foton enerjileridir.

3 kHz - 300 GHz frekans arasındaki elektromanyetik dalgalar Radyo Frekans (RF) bandını oluşturur. RF alanların dalga boyları 100 m ile 1 mm arasında değişim göstermektedir. Enerjisi 1 eV'tan çok düşük olup, kimyasal bağları etkileyerek atom ve molekülleri iyonize

etmek için gerekli olan enerjiye sahip değildir. RF alanlar bu nedenle iyonize olmayan radyasyon olarak tanımlanmaktadır.

EM dalga, Elektrik alan ve Manyetik alan bileşenlerinden oluşmaktadır. Elektrik ve manyetik alan bileşenleri dalganın yayılım vektörüne dik bir şekilde ilerliyorsa bu dalga düzlem dalga olarak tanımlanmaktadır. EM dalganın düzlem dalga yapısı göstermediği, yani manyetik alan ve elektrik alan bileşenlerinin karmaşık yapıya sahip olduğu bölge yakın alan olarak tanımlanmaktadır.

Düzlem Dalga modelinin geçerli olduğu minimum uzaklık, EM alan kaynağına göre değişir ve Uzak Alan (far field) mesafesi olarak tanımlanır (Sırav, 2008; IARC Monographs 102).

$$R_{\text{Uzak Alan}} = 2D^2/\lambda \quad (1)$$

Bu eşitlikte,  $R_{\text{Uzak Alan}}$  uzak alan mesafesini,  $\lambda$  kaynağın oluşturduğu EM alanın dalgaboyu,  $D$  ise antenin maksimum boyut uzunluğudur.

RF alanlar kaynaktan uzaklaştıkça (Uzak Alanda) “düzlem dalga – plane wave” şeklinde yayılım gösterirler. Bu koşullar altında,

- Elektrik Alan Vektörü  $E$ , Manyetik Alan Vektörü  $H$  ve Yayılım Vektörü  $K$  birbirlerine diktir.
- Elektrik alanın, manyetik alana oranı herhangi bir konumda Dalga Empedansı'nı ( $Z$ ) verir.

$$Z = E / H = 377 \Omega \quad (2)$$

Elektromanyetik dalganın güç yoğunluğu ( $S$ ) birim alandan birim zamanda geçen enerji miktarı olarak tanımlanır. Güç yoğunluğu  $S$ , herhangi bir noktada elektrik ve manyetik alanın vektörel çarpımına eşittir, birimi  $W/m^2$ 'dir.

$$S = E \times H, \quad (3)$$

$$S = E.H.\sin\theta, \quad (4)$$

$$S = E.H = E^2/377 = 377H^2 \quad (5)$$

Teknolojideki gelişime bağlı olarak günümüzde RF alan kaynaklarının çeşitleri ve kullanım sıklığı hızla artmaktadır. Bu kaynaklar; cep telefonları, baz istasyonları, kablosuz telefonlar, mikrodalga fırınlar, TV ve radyo vericileri, radarlar, MRI cihazları, kablosuz iletişim teknolojileri (wifi, wlan, wimax, Bluetooth, vs.), bebek telsizleri olarak sıralanabilir. Günlük yaşamda maruz kalınan bazı RF alan kaynakları ve değerleri Çizelge 1.1’de verilmektedir.

Çizelge 1.1. RF alan kaynakları ve mesafeye bağlı olarak oluşturdukları maruziyet seviyeleri (Mathess, 1996)

Kaynak	Frekansı	Güçü	Uzaklık	Maruziyet Miktarı (E veya S)
LF Radyo	130-285 kHz	1.8 MW	300 m	90 V/m
MF Radyo	415-1606.5 kHz	1.8 MW	50 m	450 V/m
HF Radyo	3.95-26.1 MHz	750 kW	50 m 220 m	121V/m (40W/m <sup>2</sup> ) 27.5V/m (2W/m <sup>2</sup> )
Walkie-Talkie	27 MHz	Birkaç Watt	5 cm 12 cm	< 1000V/m, < 15.08 W/m <sup>2</sup> < 200V/m, < 3.77 W/m <sup>2</sup>
Cep Telefonları	20MHz-2GHz	2.5 W	10 cm 60 cm	145 V/m 24.2 V/m
UHF TV	470-890 MHz	< 5 MW	1.5 km	< 5 mW/m <sup>2</sup>
VHF TV	47-68 MHz 174-230 MHz	100-300 kW	1.5 km	< 20 mW/m <sup>2</sup>
FM İstasyonları	87.5-108 MHz	< 100 kW	1.5 km	< 50 mW/m <sup>2</sup>
Mikrodalga Fırın	2.45 GHz	600-1000 W	5 cm 1 m	< 50 W/m <sup>2</sup> < 10 W/m <sup>2</sup> < 0.25 mW/m <sup>2</sup>
Güvenlik Sistemleri	0.9-10 GHz		Sistem içinde	< 2 mW/m <sup>2</sup>
Radarlar	1-10 GHz	0.2-20 kW	0.1-1 km < 1 km	0.1-10 W/m <sup>2</sup> < 0.5 W/m <sup>2</sup>
Trafik Radarları	9-35 GHz	0.5-100 mW	3 m 10 m	< 250mW/m <sup>2</sup> < 10 mW/m <sup>2</sup>

Cep telefonları bu kaynaklar arasında en fazla kullanılan RF alan kaynağıdır ve maruziyet seviyesi (özgül soğurma oranı) 1 W/kg düzeyindedir.

RF alan maruziyetinin farklı doku ve hücre hatlarında; hücre canlılığı, apoptoz (Canseven, 2015; Güler, 2016; Esmekaya, 2010), DNA hasarı (Cam, 2012; Güler, 2012; Güler, 2010, Tomruk, 2010), oksidatif stres (Güler, 2016; Ozgur, 2013; Esmekaya, 2011; Ozgur, 2010), kan beyin bariyeri (Sirav, 2011) ve hamile hayvanlar (Kismali, 2012; Güler, 2010; Budak, 2009) üzerindeki etkileri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik anabilim dalı tarafından yoğun şekilde çalışılmaktadır (<http://gnrk.gazi.edu.tr/>).

## 2.2. Dozimetri

RF radyasyonun etkilerini araştıran deneyler etik olarak, insanlar üzerinde yürütülemeyeceğinden; araştırmalarda deney hayvanları ile doku preparatları ve/veya hücre

kültürlerinden yararlanılmaktadır. Ancak hayvanlardan ve *in vitro* deneylerden elde edilen sonuçlar her zaman doğrudan insanlara uygulanamaz (Michaelson ve Lin, 1987; Chou ve diğerleri, 1996; Tüysüz, 2007).

RF alan maruziyetinden kaynaklı biyolojik bir etkinin belirlenmesine yönelik deney tasarımında dozimetri önemli bir yer tutmaktadır. Hayvanlarda biyolojik etkiye neden olan iç alanların belirlenmesinde ve insanlarda aynı biyolojik etkilerin görülmesine neden olabilecek iç alan değerlerinin tespitinde dozimetriye ihtiyaç duyulmaktadır (Durney ve diğerleri, 1986; Canseven, 1998).

RF dozimetri; biyolojik doku yada maddenin soğurduğu (yuttuğu) elektromanyetik enerjinin, büyüklüğünün ve dağılımının, ölçüm yada hesaplama ile üç boyutlu olarak belirlenmesidir.

RF tarafından indüklenmiş alanın dağılımı; gelen alanın frekans ve şiddetine, geliş açısına, ortamın empedansına, polarizasyona, biyolojik yapının boyut ve şekline, dokunun dağılımına ve dokunun dielektrik karakteristiği gibi çok sayıda parametreye bağlı karmaşık bir fonksiyondur (Barnes ve Greenebaum, 2007)

Etkileşimle ilgili esas nicelikler, dokular içerisinde indüklenmiş elektrik ve manyetik alan şiddetleri ile akımdır. Gelen dış elektrik ve manyetik alanlar ile ilişkili iç alan ve akımlar çok karmaşık biçimdedir.

Aynı dış elektromanyetik alan şiddetine sahip RF radyasyon, farklı değişkenlere (doku tipi, boyut, geometri vb.) bağlı olarak farklı seviyelerde (yada miktarlarda) soğrulabilmektedir. Çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda frekansa bağlı olarak, çok farklı biyolojik etkiler gözlenebilmektedir. Bir biyolojik etkiyi açıklayabilmek için, canlıda o etkinin görülmesine neden olan iç elektrik alan şiddeti ya da enerji dozunun belirlenmesi gerekmektedir (Chou ve diğerleri, 1996; Barnes ve Greenebaum 2007).

Pratikte *in vivo* yada invaziv olmayan alan ölçümü mümkün değildir, bu nedenle ölçümler sadece ölüm sonrasında gerçekleştirilebilir. Ölüm sonrası ile ilgili ölçümlerde de belirli dokulara erişilebilirlik, dielektrik özelliklerdeki değişimler (düşük doku sıcaklığı ve kan içeriğindeki azalma gibi), invazif prop nedeniyle alandaki bozulmalar, doku sınırlarında

hassas ölçüm alma ile ilişkili büyük belirsizlikler gibi bazı sınırlamalar mevcuttur (Barnes ve Greenebaum, 2007).

SAR'ın canlılığını sürdürmekte olan bir biyolojik yapıda ölçümü genellikle zordur. Bu nedenle dozimetri çalışmaları bilgisayar simülasyonları ya da biyolojik olarak dokuya eşdeğer fantomlardaki ölçümler ile gerçekleştirilmektedir (Kato, 2006).

Dozimetri, EM alanın biyolojik etkilerini araştıran çalışmalarda, doz-yanıt ilişkisinin tespiti ve buna bağlı olarak güvenli ve zararlı alan maruziyet seviyelerinin belirlenebilmesi için de oldukça önemlidir.

### 2.2.1. Biyolojik yapılarda SAR hesabı

RF maruziyet içeren hayvan deneylerinin çoğunun en önemli amacı RF alan maruziyetinden kaynaklı sonuçları insanların risk değerlendirmelerine uygulayabilmektir. Bu nedenle deney hayvanlarında etkiler gözlemlendiği zaman bu etkilerin insana ekstrapolasyonu gereklidir (Michaelson ve Lin, 1987). Biyolojik dokuların soğurduğu EM enerji tespit edilmeden böyle bir ekstrapolasyonun yapılması ve insan için güvenli maruziyet seviyelerinin öngörülmesi mümkün değildir.

EM alanın doku ile etkileşimi ve doku içerisinde iletimi birçok değişkenden oluşan karmaşık bir fonksiyondur. Dışardan gelen alanın seviyesi, güç yoğunluğu ( $mW/cm^2$ ), dış elektrik alan şiddeti (V/m) ya da manyetik alan şiddeti (A/m) gibi farklı birimler ile tanımlanabilir. Bu büyüklüklerin hiçbiri, araştırmacıya EM alanların biyolojik dokular ile ne kadar etkileştiği konusunda yeterli bilgi sağlamaz (Chou ve diğerleri, 1996).

Bu boşluğu doldurmak amacıyla, Ulusal Radyasyondan Korunma ve Ölçüm Konseyi (National Council on Radiation Protection and Measurements, NCRP) tarafından SAR adı verilen Doz Oranı tanımlanmıştır (NCRP, 1981). Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü (American National Standards Institute, ANSI), temel dozimetri parametresi olarak RF maruziyet güvenlik standardı için SAR'ı benimseyen ilk kuruluştur (ANSI, 1982).

Kütle yoğunluğu  $\rho$  ve hacmi  $V$  olan bir ortam için SAR, birim kütle elemanı (dm) tarafından soğrulan (kütle içinde harcanan) EM enerji elemanının (dW) zamana göre türevi olarak tanımlanır ve aşağıdaki formül ile gösterilmektedir.

$$SAR = \frac{d}{dt} \left( \frac{dW}{dm} \right) = \frac{d}{dt} \left( \frac{dW}{\rho dV} \right) \quad (6)$$

SAR'ın birimi Watt/kilogram'dır. Hayvan türleri ve insan arasında anlamlı bir kıyaslama yapabilmek için SAR'ın değişik doku ve vücut bölgelerinde üç boyutlu analizin yapılması ve uzaysal dağılımının tespiti gereklidir. *In vivo* çalışmalarda SAR hesabı için “tüm vücut ortalama SAR değeri” ve “yerel SAR değeri” olmak üzere 2 farklı yaklaşım kullanılmaktadır:

- Tüm vücut ortalama SAR değeri, EM alana maruz kalan biyolojik nesnenin tamamındaki, uzaysal ortalama SAR değerini temsil eden tek bir değer olarak tanımlanmaktadır.
- Yerel SAR değeri ise, EM alana maruz kalan biyolojik objenin bir bölümündeki SAR değerinin büyüklüğüdür. Örneğin insanda MW-ilaç etkileşiminin davranışa etkilerini araştıran çalışmalarda bütün vücut SAR değeri yerine deney hayvanlarının beyin ve omurilikteki yerel SAR değerlendirmesinin daha uygun bir parametre olabileceği düşünülmektedir (Chou ve diğerleri, 1996).

*In vitro* çalışmalarda SAR değerinin tespiti için “hücre süspansiyonu” (cell suspension) ve “tek katmanlı hücre” (cell monolayer) olmak üzere, 2 farklı yaklaşım kullanılabilir (Wasoontarajoen, 2011).

- Hücre süspansiyonu, RF alana maruz kalan (petri vs. içerisindeki) hücre kültürünün, tüm hacmi dikkate alınarak hesaplanan ortalama SAR değeridir.
- Tek katmanlı hücre yaklaşımında, RF alana maruz kalan (petri vs. içerisindeki) hücre kültürünün, sadece tabanındaki ince tek bir katman dikkate alınarak hesaplanan ortalama SAR değeridir.

EM alan ile biyolojik sistem etkileşimini belirlemede; indüklenmiş elektrik alan (E), indüklenmiş akım yoğunluğu (J) ya da SAR parametrelerinden herhangi biri kullanılabilir. Çünkü hepsi aşağıdaki denklemler ile ilişkilidir (Chou ve diğerleri, 1996):

$$SAR = \frac{\sigma}{\rho} E^2 \quad (\text{W/kg}), \quad (7)$$

Bu eşitlikte E, doku içinde indüklenen rms elektrik alan (V/m),  $\rho$  kg/m<sup>3</sup> cinsinden doku yoğunluğu,  $\sigma$  dokunun Siemens/metre cinsinden iletkenliğidir. Bu eşitlikten E alan;

$$E = \left( \frac{\rho}{\sigma} SAR \right)^{\frac{1}{2}} \quad (8)$$

olarak elde edilir.

Akım yoğunluğu  $J = \sigma E$  olmak üzere,  $E = \frac{J}{\sigma}$  'dur. Bu ifadede E alan için, 8 numaralı eşitlik kullanıldığında,

$$\frac{J}{\sigma} = \left( \frac{\rho}{\sigma} SAR \right)^{\frac{1}{2}} \quad (9)$$

$$J = \left( \frac{\sigma^2 \rho}{\sigma} SAR \right)^{\frac{1}{2}} = (\sigma \rho SAR)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{A/m}^2), \quad (10)$$

Akım yoğunluğu SAR cinsinden bulunmuş olur.

Burada dikkat edilmesi gereken konu, eğer E alanın pik değeri kullanılıyorsa 7 numaralı SAR denkleminde eşitliğin sağ tarafı  $\frac{1}{2}$  ile çarpılmalıdır (denklem 11) (Durney ve diğerleri, 1986; Chou ve diğerleri, 1996).

$$SAR = \frac{\sigma}{2\rho} E^2 \quad (11)$$

RF alana maruz kalan nesneye kısmi oranda enerji transfer edilerek sıcaklıkta bir artış oluşabilmektedir. Dolayısıyla dokuda ya da *in vitro* kültür ortamında SAR'ı belirlemede yaygın olarak kullanılan tekniklerden biri de bu sıcaklık değişiminin ölçümü olmuştur. SAR ile sıcaklık artışı arasındaki ilişki;

$$SAR = \frac{c_H \Delta T}{\Delta t} \text{ 'dır. (W/kg)} \quad (12)$$

Burada  $c_H$ , J/kg°C cinsinden dokunun özgül ısı kapasitesi;  $\Delta T$ , °C cinsinden dokudaki sıcaklık artışı;  $\Delta t$ , saniye cinsinden maruziyet süresini belirtmektedir.

SAR'ın sıcaklık farkından yola çıkılarak hesaplanması, gözlenen biyolojik etkinin termal kökenli bir mekanizmadan kaynaklandığını göstermez. Ayrıca dielektrik özellikler sıcaklık ile değiştiği için, biyolojik dokular ve modeller maruziyet deneyleri sırasında mutlaka soğutulmalıdır. Bu nedenle RF alana maruz kalan *in vivo* ve *in vitro* nesnelerdeki biyolojik etki çalışmalarından önce, çalışma esnasında ve çalışma sonrasında mutlak sıcaklık değerleri ve dağılımının, kaydedilmesi gerekmektedir. *In vitro* çalışmalarda termal gradyan ve sıcaklık dağılımı özellikle kritiktir. Sıcaklık sabit sıcaklıktaki etüv yada su banyoları yardımıyla kontrol edilebilir (Chou ve diğerleri, 1996).

Temel dozimetri parametresi olarak hangi parametrelerin kullanıldığı önemli olmayıp asıl önemli olan maruziyet nedeniyle dokuda oluşan EM alanının belirlenmesidir. Bu parametreler arasında ölçüm birimi olarak SAR, EM alanların medikal uygulamaları ve biyolojik etkilerini çalışan araştırmacılar tarafından yaygın olarak tercih edilmektedir. EM alana maruz kalmış bir nesnenin içerisindeki alan veya enerji miktarı bilinmeden çeşitli hayvan türlerinden ve farklı EM maruziyet parametrelerinden elde edilen araştırma sonuçlarının karşılaştırılması zordur. Bununla beraber sadece dış alan değerlerini bilmek ve iç alan değeri bilinmeden RF maruziyet güvenlik standartlarını geliştirmek, bu yolla biyolojik etki araştırma sonuçlarının insana ekstrapolasyonu sağlamak mümkün değildir (Chou ve diğerleri, 1996).

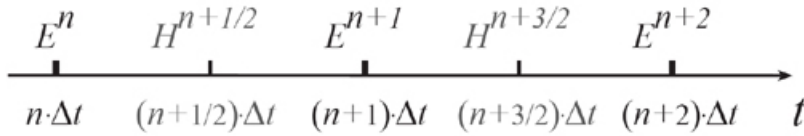
### 2.2.2. FDTD yöntemi

Kane S. Yee tarafından 1966 da önerilen bu metotta hesap uzayı, boyutları  $\Delta x \times \Delta y \times \Delta z$  olan, toplam  $N_x \times N_y \times N_z$  tane FDTD hücresine ayrılmaktadır. İstenilen zaman süresince her hücrede, farklı yerlerde konumlandırılmış ve aralarında zaman farkı bulunan, üç E alan ve üç H alan bileşeni hesaplanmaktadır. Hesap süresi ( $T$ );  $n$  tamsayı zaman adımı ve  $\Delta t$  hesaplama zaman aralığı olmak üzere,



$$T = n \times \Delta t \quad (13)$$

ile bulunur. Hesaplama bitinceye kadar, her hücrede bütün bileşenler için hesaplar sırasıyla bir E alan bir H alan (Leapfrog manner) olmak üzere güncellenmektedir (Şekil 2.2) (Sevgi 1999; İnce, 2001).



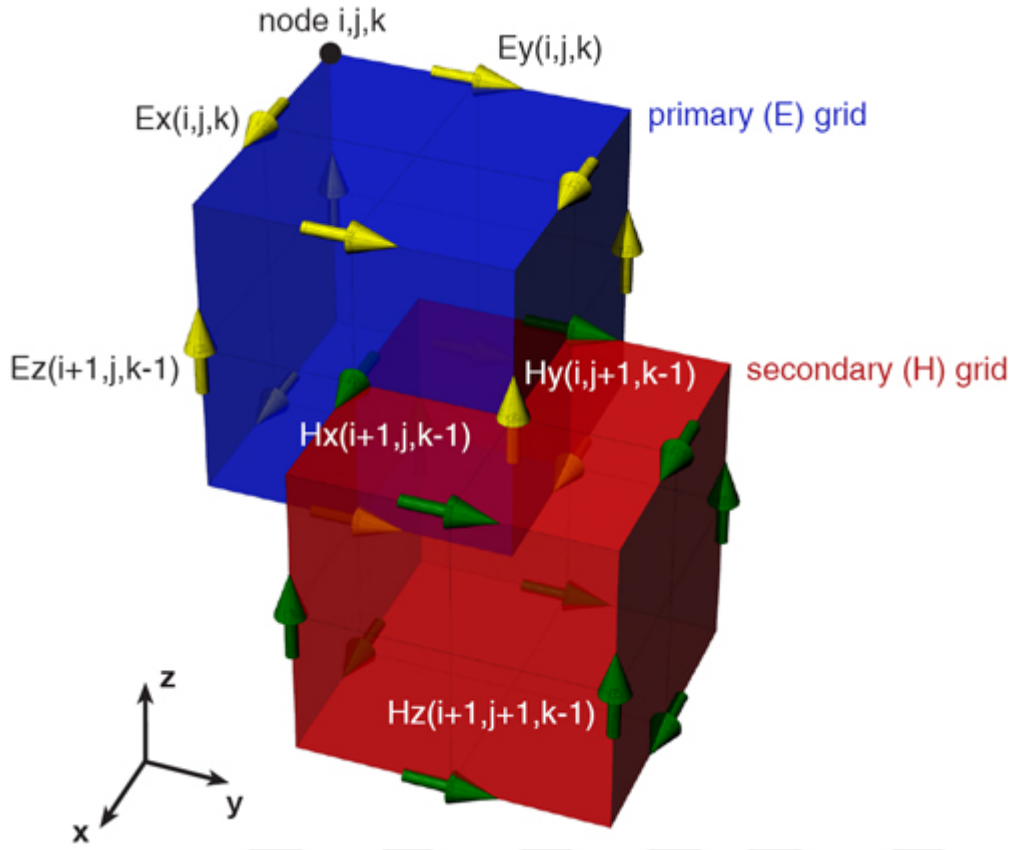
Şekil 2.2. Tek boyutlu dalga yayılımı için Yee algoritmasının uzay-zaman grafiği.

Yee notasyonu ile hesap uzayındaki herhangi bir hücrenin uzay-zaman örgüsü üzerindeki gösterimi,  $u$  herhangi bir fonksiyon olmak üzere aşağıdaki gibidir (Taflove ve Susan, 2005):

$$u(i\Delta x, j\Delta y, k\Delta z, n\Delta t) = u_{i,j,k}^n \quad i, j, k \text{ ve } n \text{ tamsayı} \quad (14)$$

$u$  fonksiyonunun alt simgedeki  $i, j, k$  terimleri sırasıyla  $x, y, z$  konumlarındaki hücre numaralarını ve konumdaki değişimi belirtmektedir.  $u$  fonksiyonunun üst simgedeki  $n$  terimi ise zaman adımını, dolayısıyla zamanı belirtmektedir.

Yee hücresinde E hücre kenarlarında, H ise hücre yüzeyinde konumlandırılmıştır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Birim FDTD (Yee) hücresi (SPEAG, 2007)

Zaman Uzayında Sonlu Farklar (Finite Difference Time Domain, FDTD) metodu, Maxwell denklemlerinin doğrudan zaman ve konum uzayında sayısallaştırılmasına dayanan bir yöntemdir. Bu metoda göre Amper ve Faraday yasalarının diferansiyel hali, merkezi fark eşitlikleri kullanılarak doğrudan zaman ve konum uzayında sayısallaştırılmaktadır (Yee, 1966).

$$\frac{\partial E_x}{\partial t} = \frac{1}{\varepsilon} \left[ \frac{\partial H_z}{\partial y} - \frac{\partial H_y}{\partial z} - (J_{kaynak_x} + \sigma E_x) \right] \quad (15a)$$

$$\frac{\partial E_y}{\partial t} = \frac{1}{\varepsilon} \left[ \frac{\partial H_x}{\partial z} - \frac{\partial H_z}{\partial x} - (J_{kaynak_y} + \sigma E_y) \right] \quad (15b)$$

$$\frac{\partial E_z}{\partial t} = \frac{1}{\varepsilon} \left[ \frac{\partial H_y}{\partial x} - \frac{\partial H_x}{\partial y} - (J_{kaynak_z} + \sigma E_z) \right] \quad (15c)$$

$$\frac{\partial H_x}{\partial t} = \frac{1}{\mu} \left[ \frac{\partial E_y}{\partial z} - \frac{\partial E_z}{\partial y} - (M_{kaynak_x} + \sigma^* H_x) \right] \quad (16a)$$

$$\frac{\partial H_y}{\partial t} = \frac{1}{\mu} \left[ \frac{\partial E_z}{\partial x} - \frac{\partial E_x}{\partial z} - (M_{kaynak_y} + \sigma^* H_y) \right] \quad (16b)$$

$$\frac{\partial H_z}{\partial t} = \frac{1}{\mu} \left[ \frac{\partial E_x}{\partial y} - \frac{\partial E_y}{\partial x} - (M_{kaynak_z} + \sigma^* H_z) \right] \quad (16c)$$

Bu 6 eşitlik, EM dalganın cisimler ile üç boyutlu etkileşimini içeren FDTD algoritmasının temelini oluşturmaktadır: B manyetik akı yoğunluğunu, E elektrik alanı, D elektrik akı yoğunluğunu, H manyetik alanı, J elektrik akım yoğunluğunu, M eşdeğer manyetik akım yoğunluğunu temsil etmektedir.

Bu eşitlikler, aşağıda belirtilen 2. dereceden doğruluğa sahip merkezi fark denklemleri kullanılarak konum ve zamanda ayrıklaştırılıp düzenlenerek istenilen iteratif eşitlikler elde edilebilmektedir (Taflove ve Susan, 2005; Lazzi, 1998; Sadiku, 2000).

$$\frac{\partial u}{\partial x}(i\Delta x, j\Delta y, k\Delta z, n\Delta t) = \frac{u_{i+1/2,j,k}^n - u_{i-1/2,j,k}^n}{\Delta x} + O[(\Delta x)^2] \quad (17a)$$

$$\frac{\partial u}{\partial y}(i\Delta x, j\Delta y, k\Delta z, n\Delta t) = \frac{u_{i,j+1/2,k}^n - u_{i,j-1/2,k}^n}{\Delta y} + O[(\Delta y)^2] \quad (17b)$$

$$\frac{\partial u}{\partial z}(i\Delta x, j\Delta y, k\Delta z, n\Delta t) = \frac{u_{i,j,k+1/2}^n - u_{i,j,k-1/2}^n}{\Delta z} + O[(\Delta z)^2] \quad (17c)$$

$$\frac{\partial u}{\partial t}(i\Delta x, j\Delta y, k\Delta z, n\Delta t) = \frac{u_{i,j,k}^{n+1/2} - u_{i,j,k}^{n-1/2}}{\Delta t} + O[(\Delta t)^2] \quad (18)$$

Eşitlik 17 ve 18'deki,  $u$  fonksiyonu E ya da H alanı,  $O[(\Delta \dots)^2]$  terimler ise hata terimlerini belirtmektedir. Burada  $u$  fonksiyonunun  $i$  alt simgesindeki  $\pm 1/2$  değişim, x ekseninde  $\pm \Delta x/2$  farka karşılık gelmektedir. Yee bu notasyonu, uzay örgüsünde E ve H bileşenlerini  $\Delta x/2$  aralıkla kullanabilmek amacıyla seçmiştir. Böylece örneğin x ekseninde, uzay örgüsü üzerinde birbirine komşu iki H ya da iki E bileşeni arasında ki mesafe  $\Delta x$  kadar olurken, birbirine komşu E ve H bileşenleri arasındaki mesafe  $\Delta x/2$  kadar olmaktadır.

$u$  fonksiyonunun  $n$  üst simgesindeki  $\pm 1/2$  artırım, zaman ekseninde  $\Delta t/2$  değişime karşılık gelmektedir. Yee zaman ile ilgili bu notasyonu zamanda  $\Delta t/2$  aralıkları ile dönüşümlü olarak E ve H bileşenlerini hesaplamak için seçmiştir.

Eşitlikler uygun şekilde düzenlendiğinde, eşitlik 19 elde edilir.

$$E_x \Big|_{i+1/2,j,k}^{n+1} = E_x \Big|_{i+1/2,j,k}^n \left( \frac{1 - \frac{\sigma_{i+1/2,j,k} \cdot \Delta t}{2\epsilon_{i+1/2,j,k}}}{1 + \frac{\sigma_{i+1/2,j,k} \cdot \Delta t}{2\epsilon_{i+1/2,j,k}}} \right) + \left( \frac{\Delta t}{1 + \frac{\sigma_{i+1/2,j,k} \cdot \Delta t}{2\epsilon_{i+1/2,j,k}}} \right) \cdot \left( \frac{H_z \Big|_{i+1/2,j+1/2,k}^{n+1/2} - H_z \Big|_{i+1/2,j-1/2,k}^{n+1/2}}{\Delta y} - \frac{H_y \Big|_{i+1/2,j,k+1/2}^{n+1/2} - H_y \Big|_{i+1/2,j,k-1/2}^{n+1/2}}{\Delta z} - J_{kaynak_x} \Big|_{i+1/2,j,k}^{n+1/2} \right) \quad (19)$$

Sonuç olarak uzayın herhangi bir noktasındaki E alan ve H alan bileşenlerini farklı zaman ve konumda hesaplamak mümkün olabilmektedir. Örneğin H bileşeni, aynı noktada bulunan bir önceki zamanda kendi değerine ve diğer eksenlerdeki komşu E bileşenlerinin değerlerine bağlı olarak hesaplanabilmektedir. E değeri de benzer şekilde, bir önceki kendi değeri ve komşu H bileşenler yardımıyla hesaplanabilmektedir. Bu durumda hiçbir alan bileşeni hesaplama için verildiği noktadaki, diğer alan bileşenlerine ihtiyaç duymamaktadır. Üç boyutlu uzay için FDTD formüllerinin detaylı çıkarımına önceki çalışmalarımızdan ulaşılabilir (Tüysüz, 2007).

### Absorblayıcı Sınır Koşulları

Hiçbir bilgisayarın, sonlu bellek kapasitesi nedeniyle sonsuz bir uzay için gerekli hesaplamayı ve veri depolamasını yapabilmesi mümkün değildir. Bu nedenle FDTD'deki

hesap uzayının da sınırlandırılması gereklidir. FDTD metodunun en büyük sorunlarından biri EM dalga etkileşim probleminin sınırlı olmayan bölgelerde etkin ve doğru çözümüdür (Taflove ve Susan, 2005). Bir metodun serbest uzayı modelleyebilmesi için hesap uzayının sınırsız olduğunu da modelleyebilmesi gerekmektedir (Lazzi, 1998). Bu tip problemlerde sonsuza uzanan örgüyü modelleyebilmek için, dış örgü sınırlarında Absorblayıcı Sınır Koşulları (Absorbing Boundary Condition, ABC) tanımlanması gerekmektedir (Taflove ve Susan, 2005). Absorblayıcı ya da açık sınır koşulları mevcut olmadığında ızgaranın dış sınırındaki dalgalar hesap uzayının içine geri yansır. Dolayısı ile absorblayıcı sınır koşulu FDTD hesaplamasının doğruluğunu doğrudan etkilemektedir (Sadiku, 2000; Speag, 2007).

FDTD denklemleri incelendiğinde, ilk hücre için hesaplamada kullanılacak olan aynı noktadaki bir önceki alan değerini barındıran hücrenin mevcut olmadığı, son hücre için ise yine hesaplamada kullanılması gereken bir sonraki alan değerlerini içeren hücrenin de mevcut olmadığı görülecektir. Bu hücreler mevcut olmadığı için bu değerler sıfır gibi algılanacak ve tam yansıma söz konusu olacaktır. Dolayısı ile FDTD hesap uzayının sınır yüzeylerinde iteratif eşitlikleri hiçbir önlem almaksızın aynen uygulamak tam yansımalara neden olacaktır. Bu ise ele alınan yapının değişmesi demektir (Sevgi, 1999).

Yansıma sorununu engellemek amacı ile kullanılan absorblayıcı sınır koşulları arasında en verimli kullanılabileni Mükemmel Uyumlu Katmanlar (Perfectly Match Layer, PML) yöntemi (Berenger, 1994) ve yada onun geliştirilmiş versiyonları olan Tek Eksenli Mükemmel Uyumlu Katmanlar (Uniaxial Perfectly Match Layer, UPML) yöntemidir (Gedney, 1996). Kendisinden önce kullanılan yöntemlerle kıyaslandığında yaklaşık 3-4 kat daha düşük hata vermektedir (Lazzi, 1998). Jean Pierre Berenger tarafından 1994'te önerilen PML yöntemi, gelen dalgaların hesap uzayının dış sınırına konumlandırılan metal plakalar tarafından yansıma olmaksızın tamamen absorblanması temeline dayanmaktadır. Burada dikkat edilmesi gereken PML katmanının sadece teorik olarak mükemmel yansıtmasız olduğudur. Gerçek FDTD uygulamalarında PML materyalinin kalınlığına ve iletkenlik profiline bağlı olarak bu katmanlardan bazı yansımalar söz konusudur (Lazzi, 1998). Bu olayın fiziksel uygulama olarak bir benzeri yalıtılmış (anechoic) odaların duvarlarıdır (Taflove ve Susan, 2005).

### Sayısal Kararlılık

Kısmi diferansiyel denklemleri, sonlu farklar yöntemi ile sayısal olarak çözerken yakınsama için Courant - Friedrichs - Levy ( CFL ) koşulunun sağlanması gereklidir. FDTD'ye uygulandığında kararlı sonuçlar elde edebilmek için, hesap uzayında kullanılacak zaman aralığı ( $\Delta t$ ) Courant-Friedrich-Levy (CFL) kriterine uygun seçilmelidir. CFL kriteri,

$$\Delta t \leq \frac{1}{c \sqrt{\frac{1}{(\Delta x)^2} + \frac{1}{(\Delta y)^2} + \frac{1}{(\Delta z)^2}}} \quad (20)$$

$\Delta x$ ,  $\Delta y$  ve  $\Delta z$  kartezyen koordinat sisteminde birim FDTD hücresinin boyutlarını,  $c$  ise hücre materyali içindeki ışığın hızını belirtmek üzere eşitlik 20'de verilmiştir (Speag, 2007). CFL kriterini tek boyut için düşündüğümüzde,

$$c \cdot \Delta t \leq \Delta x \quad (21)$$

elde edilir. Bu bağıntının sol tarafı,  $c$  ışık hızı nedeniyle dalganın alabileceği maksimum yolu vermektedir. Bağıntının sağ tarafı ise hücrenin boyutunu belirtmektedir.

CFL kriterinin fiziksel olarak anlamı, seçilen  $\Delta t$  zaman aralığında, dalga ilerlerken alacağı maksimum yolun hücre boyutunu aşmaması gerektiğidir. Başka bir deyişle dalga en az bir  $\Delta t$  süresini hücre içerisinde geçirmelidir. Aksi takdirde dalgayı zaman ve konumda modellemek ve dalga iletimini izlemek mümkün değildir (Sevgi, 1999).

### **2.3. *In vitro* RF alan maruziyet sistemleri ve tasarımı**

EM alanlar ile ilgili bilimsel literatür; RF alan maruziyetinden kaynaklı biyolojik etkileri değerlendiren çalışmalar başta olmak üzere, çok sayıda çelişkili sonuçlar içermektedir. Bu tutarsızlıkların çoğu, maruziyet koşullarının iyi tanımlanmamış olması ve hatalı dozimetriden kaynaklanabilmektedir (Paffi, 2010). Bilimsel olarak anlamlı ve tekrarlanabilen sonuçlar elde edebilmek için iyi tanımlanmış maruziyet koşulları şarttır (Kuster ve Schönborn, 2000).

Örneğin, ortalama alan şiddetinin düşük olduğu, yüksek oranda düzensiz dağılım gösteren (homojen olmayan) RF alanlara maruz kalan *in vitro* bir deneyde pozitif bir bulgu elde edilebilir. Fakat araştırmacı düşük seviyeli ısı olmayan RF alan maruziyetinin etki oluşturduğunu iddia etmeden önce, bu etkinin lokalize olmuş yüksek alan şiddetinden kaynaklanabileceğini de unutmamalıdır (Paffi, 2010).

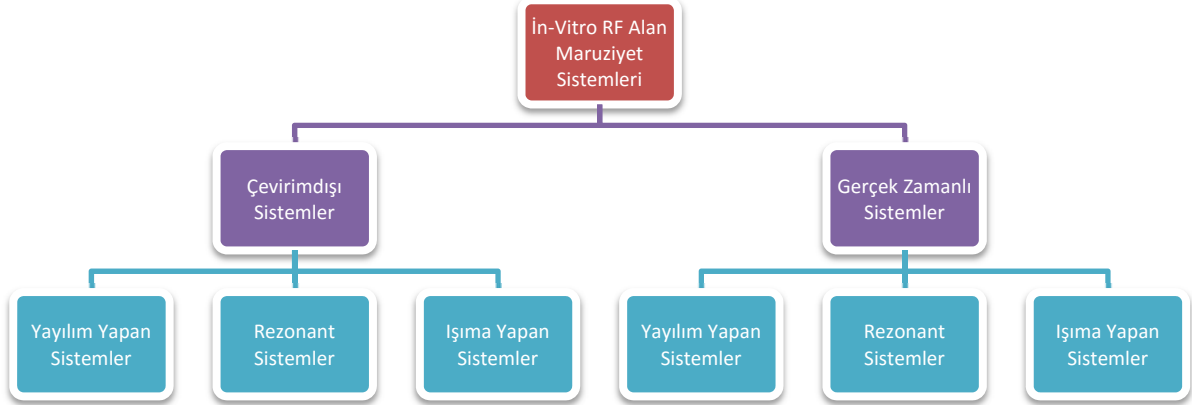
Sonuçların değerlendirilebilmesi ve tekrarlanabilirliği için; biyolojik deneylerle ilgili tanımlanmış maruziyet koşullarının çok iyi biliniyor olması vazgeçilmez ön koşul olmasına rağmen, tanımlanması ve elde edilmesindeki zorluklar nedeniyle bu koşullar, RF alan maruziyet çalışması yapan birçok grup tarafından hafife alınmıştır (Kuster ve Schönborn, 2000). Sonuç olarak, RF maruziyet kaynaklı sağlık etkilerinin incelenmesinde maruziyet sisteminin tasarım ve karakterizasyonu, çoğu araştırma programında birincil öncelikli hale gelmiştir (Kuster ve Schönborn, 2000; Boyle ve Levin, 2008).

Biyoelektromanyetik konulu araştırmalarda farklı hedefler ve protokoller kullanılıyor olması nedeniyle maruziyet sistemlerinde bir standardizasyon sağlanması mümkün değildir. Fakat farklı maruziyet sistemlerinde sonuçların yeniden üretilebilir ve tekrarlanabilir olmasını güvence altına alabilmek için dozimetri konusunda güçlü kalite kontrol standartlarının uygulanması zorunludur (Paffi, 2010).

### **2.3.1. Literatürde kullanılan *in vitro* RF maruziyet sistemleri**

Verilerin elde edilme durumuna göre RF alan maruziyet sistemleri genel olarak 2 temel yapıda toplanmaktadır. Bunlar deneysel verilerin maruziyet sonrasında elde edildiği “Çevrimdışı (Offline) Sistemler” ile verilerin maruziyet esnasında elde edildiği “Gerçek Zamanlı (Real-Time) Sistemlerdir” (Şekil 2.4).

Yapılarına göre RF alan maruziyet sistemleri; Yayılım Yapan (Propagating), Rezonant (Resonant) ve Işıma Yapan (Radiating) yapılar olmak üzere 3 temel yapıda toplanabilirler (Şekil 2.4), (Paffi, 2010).



Şekil 2.4. *In vitro* RF alan maruziyet sistemlerinin sınıflandırılması

Yayımlı Yapan (Propagating) sistemler, RF alan maruziyeti ile ilgili birçok çalışmada kullanılmakta olup, TEM hücresi ve farklı dalga kılavuzları (dikdörtgen, dairesel, radyal, eş düzlemlili) gibi farklı yapılardan oluşmaktadır. Bu sistemlerin temel avantajları çok yönlü olmaları ve alan homojeniteleridir.

Rezonant (Resonant) sistemler; kısa devre dalga kılavuzu, kablo yama anten (Wire Patch Cell) ve paralel plakalı rezonatör gibi sistemlerden oluşmaktadır. Bunlardan kısa devre dalga kılavuzu, çevre şartlarının sıkı kontrolünün gerekli olduğu durumlarda kolayca inkübatör içerisine yerleştirilebilen kapalı ve kompakt bir yapıya sahiptir. Ancak yüksek verimliliğinin yanısıra, alan homojenitesinin bölgesel olarak son derece değişken olması nedeniyle, örneklerin konumlandırılması kritik öneme sahiptir. Diğer bir rezonant sistem ise Kablo Yama Anten (Wire Patch Cell) olup, iki levhası metal çubuklar yardımıyla kısa devre edilmiş yama antenden oluşur, RF alan uygulanacak örnekler antenin iki levhası arasına konuşlandırılır.

Işıma Yapan (Radiating) sistemler genellikle, horn anten ve mikroşerit antenler gibi antenlerden oluşmaktadır. Bu sistemler yardımıyla birçok örneğe aynı anda RF alan maruziyeti uygulanabilir. Fakat genellikle maruziyet uygulanan örnekler arasındaki doz dağılımının homojenitesi düşüktür. Ayrıca birim güç başına oluşan SAR değeri de düşüktür.



Maruziyet sistemleri için genel olarak 3 temel performans kriteri vardır. Bunlar:

- *SAR Verimi*: Birim Güç başına elde edilen SAR değeridir. Birimi (W/kg)/W'dir. SAR veriminin yüksek olması, numunenin maruz bırakılmak istenilen SAR değerlerine yükselteç (amplifikatör) kullanmadan yada daha düşük güçlü yükselteç kullanılarak ulaşılabildiğini sağlar. Böylece maruziyet sistemlerinin en yüksek fiyatlı bileşenlerinden biri olan yükselteçten kaynaklı ciddi fiyat artışlarının önüne geçilebilir.
- *SAR Homojenitesi*: RF alana maruz kalan bir örneğin içindeki SAR homojenitesi, Varyasyon Katsayısı (Coefficient of variation, CV) ile ifade edilir. SAR homojenitesinin ya da varyasyon katsayısının yüksek olması, maruziyetin kalitesi açısından önemli bir etken olup, bir numunenin içinde farklı bölgelerin yada farklı konumlardaki numunelerin birbirine daha yakın alan değerlerine maruz kaldıklarının bir göstergesidir.

$$CV = \frac{\text{Standart Sapma}}{\text{Ortalama Değer}} \times 100$$

- *Hacim Verimi*: Maruziyet sisteminde numunelerin konumlandırılabilmesi için hacmin, tüm maruziyet sisteminin hacmine oranı olarak tarif edilebilir. Hacim veriminin yüksek olması daha fazla numunenin aynı şartlar altında, aynı zaman dilimi içerisinde maruz bırakılabilmesine olanak tanır.

Paffi ve ark. biyoelektromanyetik alan araştırmalarında kullanılan *in vitro* RF maruziyet sistemleri ile ilgili kapsamlı bir literatür araştırması gerçekleştirmiş ve araştırma bulgularını karşılaştırmalı olarak sunmuşlardır. Bu bulgular; maruziyet sistemlerinin türü ve yapısı, numune tutucu sayısı ve türü, frekans, SAR verimi ve homojenitesi olarak Çizelge 2.2'de verilmiştir (Paffi, 2010). Çizelgeden de açıkça görülebileceği gibi maruziyet sistemleri arasında bir standardizasyon (frekans, numune sayısı, numune tutucular, SAR verimi ve homojenitesi) bulunmamaktadır.

Çizelge 2.2. *In vitro* RF alan maruziyet sistemleri ve özellikleri (Paffi, 2010)

Maruziyet Sistemi	Paffi ve ark.	Numune Tutucu		Frekans (MHz)	SAR Verimi (W/kg)/W	SAR Homojenite Yüzdesi	
		Sayı	Türü				
ÇEVİRİMİŞİ SİSTEMLER Yayılım Yapan Sistemler	TEM Hücresi	[2]	6; 2	Tüp; 60 mm Petri	837	> 0.10 0.10	80 140
		[13]	4	T25 Flask	835	6	< 52
		[14]	4	25 mL Flask	835	-	-
		[15]	6	4 Kuyucuklu Plaka	900	0.5	50
		[16]	1	5 mL Tüp	895-915	0.0215	53
		[17]	1	35 mm Petri	900	0.144	43
		[18]	2	25 mL Flask	900	-	-
		[19]	2	24; 96 Kuyucuklu Plaka	900	-	-
		[20]	4	25 mL Flask	1950	-	-
		[21]	2	Petri	835	-	-
	GTEM Hücresi	[22]	1	15 mm Tüp	930	0.2	-
		[23]	1	25 cm2 Flask	935	-	-
	Dikdörtgen Dalga Kılavuzu	[24]	1	3 mL Küvet	1950	-	-
		[25]	10	5 mm kuyucuk	2450	-	-
		[26]	4	T25 Flask	900	-	16
		[27]	4; 2	T25 Flask T75 Flask	900	0.40; 0.19	39; 15
		[28]	8	Flasklar	1800	-	-
		[29]	1	T25 Flask	2450	-	-
	Radyal Dalga Kılavuzu	[30]	16	T75 Flask	835; 2450	0.016; 0.245	15.6; 20.4
		[31]	24	Silindirik Kaplar	383; 900; 1800	0.34 @900	-
	Silindirik DK	[32]	16	T75 Flask	835; 915; 2450	< 0.1	-
	Diğerleri	[33]	1	Petri	1900	8,6	24
		[34]	1	35 mm Plaka	900	-	-
		[35]	1	13 mm Tüp	900	120	-

Çizelge 2.2. (devam) *In vitro* RF alan maruziyet sistemleri ve özellikleri (Paffi, 2010)

Maruziyet Sistemi		Paffi ve ark.	Numune Tutucu		Frekans (MHz)	SAR Verimi (W/kg)/W	SAR Homojenite Yüzdesi	
			Sayısı	Türü				
ÇEVİRİMDİŞİ SİSTEMLER	Rezonant Sistemler	Kısa Devre Dikdörtgen Dalga Kılavuzu	[36]	6	35 mm Petri	1800	> 10 (süsp.) > 50 (mono)	40 (süsp.) < 30 (mono)
			[37]	2	Tüpler	800	1.61; 2.28	6.8; 12.1
			[38]	1	100 mm Petri	1763	5-10	-
			[39]	8	35 mm Petri	900	0.49 (süsp.) 1.3 (mono)	54 (süsp.) 20 (mono)
			[40]	8	60 mm Petri	1710	1.5-2	25-35
			[41]	2	Petri	872; 900	2.5	30
			[42]	4	35 mm Petri	1950	> 22	< 33
		[43]	1	Dikdörtgen Kültür Kabı	2450	< 73	-	
		[44]	1	25 cm <sup>2</sup> Flask	830	9.4	-	
		[11]	8	35 mm Petri	900	0.5	30	
	[45]	4	35 mm Petri	1800	1.25	25		
	Işıma Yapan Sistemler	Horn Anten	[46]	1	96 Kuyucuklu Plaka	2450	-	-
			[47]	1; 2; 4	35 mm Petri	50000	-	< 20
			[48]	1	T25 Flask	2450; 8200	0.10; 0.34	-
		[49]	49	35 mm Petri	2142.5	0.175 (49 Petri) 0.138 (25 Petri)	59 (49 Petri) 47 (25 Petri)	
		[50]	1	35 mm Petri	2100	-	-	
	GERÇEK ZAMANLI SİSTEMLER	Yayımlı Yapan Sistemler	Modifiye TEM	[53]	1	Yuvarlak Kabin	180; 900	-
Modifiye Dikdörtgen			[53]	1	Yuvarlak Kabin	900; 1800	1.66; 3.16	-
			[55]	1	Özel Organ Banyosu	750-1120	> 3 @ 1000	78.9
Dalga Kılavuzu			[56]	1	Çoklu Elektrot Dizisi	1900-2200	-	-
			[57]	1	Maruziyet Hücresi	9200	3300	20 (r < 2 mm)
[59]			1	Perfüzyon Kabini	700	0.01-0.03	-	
Eş Düzlemli Dalga Kılavuzu			[61]	1	35 mm Petri	800-2000	17.3 @ 905; 40.9 @ 1750	-
		[62]	2	35 mm Petri	800-2000	> 27	< 7	
[63]		1	Küvet	2450	-	-		
Rezonans		Modifiye Dikdörtgen DK	[51]	1	Hücre Perfüzyon Aparatı	750-1120	2 @ 1000	30 (%83 alanda)
Işıma	Horn Anten	[52]	1	Hücre Perfüzyon Aparatı	1000-6000	0.07 @ 6000	66.5	

## Çevrimdışı (Offline) Sistemler

Diğer RF alan maruziyet sistemleri de kullanılmakla birlikte, en çok kullanılan offline sistemler Yayılım Yapan sistemlerdir/yapılardır (Paffi, 2010).

- 1) Yayılım Yapan Yapılar: Bu yapılar çoğunlukla kapalı yapılardır ve RF alanı içerisinde sınırlarlar. Farklı koşullar için uygun ve çok yönlüdür, genellikle biyolojik örnekler içerisinde homojen alan dağılımını garanti eder. En çok tercih edilenleri TEM hücresi ve Dikdörtgen Dalga Kılavuzlarıdır.

TEM hücresi, serbest uzaya benzer maruziyet koşulları sağlar ve farklı deneysel ihtiyaçlara cevap verebilecek çok yönlü bir sistemdir. Standart inkübatörler içerisine kolayca yerleştirilebilmesi nedeniyle *in vitro* çalışmalarda tercih edilmektedir. Karakteristik ortalama verimi 1 (W/kg)/W civarında olmakla birlikte, sisteme göre değişiklik gösterebilir. SAR dağılımının homojenliği büyük oranda, alan polarizasyonuna ve maruziyet esnasında kullanılan kabın şekline bağlıdır. Homojenliğin maksimum olduğu SAR değeri, petri tabanının manyetik alana paralel olduğu durumda elde edilir. Standart kaplar içerisindeki hücre süspansiyonları için SAR homojenliği %70'in altındadır (Guy ve diğerleri, 1999; Paffi, 2010).

GTEM hücreler, TEM hücrelerin gigahertz mertebesinde kullanılan özel bir versiyonu olup, geniş bant aralığında kullanılabilen, potansiyel olarak büyük kapasiteye ve çok düşük hacim verimine (hedef kısmın hacmi/tüm maruziyet sisteminin hacmi) sahiptir. Büyük boyutları nedeniyle çevre koşullarını sağlayacak standart inkübatörler içerisine sığmazlar.

Hem TEM hücresinin hem de dikdörtgen dalga kılavuzunun ortak karakteristik özellikleri, maruz bırakılacak numunelerin konumlandırılmaları için küçük bir hacme sahip olmasıdır.

- 2) Rezonant Yapılar: Rezonant yapıların çoğu kısa devre dikdörtgen dalga kılavuzu yapısındadır ve bu yapılar genellikle tüm yansımaların içeride kalmasına izin verirler. Yüksek hacim verimine sahiptirler ve genellikle hem RF alan maruziyet grupları hem de kontrol grupları birlikte aynı inkübatör içerisine sığacak kadar küçük boyutlu yapılardır.

Rezonant yapı olması nedeniyle, biyolojik örneklerin boyut ve pozisyonlarından kuvvetli şekilde etkilenirler ve dar bir çalışma frekansına sahiptirler. E yada H alanın maksimum olduğu konumlara yerleştirildiğinde yüksek SAR verimine sahiptirler. Sıcaklık genellikle aktif olarak (fan vb) kontrol edilir. Bu sistemlerde, hacim verimi ve alan homojenitesi frekansa bağlı olarak kuvvetli şekilde değişmektedir. SAR ve alan homojenitesini arttırmak için monolayer örnekler H alanın maksimum olduğu bölgeye, hücre süspansiyonları ise E alanın maksimum olduğu bölgeye konumlandırılmaktadır (Schuderer ve diğerleri, 2004; Paffi, 2010).

Rezonant sistemlerin bir diğer tipi olan Wire Patch cell ise iki adet kare yapıdaki paralel plakanın, köşelerindeki metal destekler yardımıyla kısa devre edilmesi ile üretilmiş yapılardır. İki tabakadan biri koaksiyel kablo yardımıyla beslenir. Petri kapları içerisindeki biyolojik örnekler bu iki plaka arasına yerleştirilirler. Sistemin boyutu çalışma frekansına bağlı olarak değişim göstermektedir. Küçük boyutlu olanlar inkübatör içerisine sığmaktadır. Bu sistemin verimliliği diğer rezonant yapıları maruziyet sistemlerine göre düşüktür, ancak Yayılım Yapan (Propagating) yapılarla kıyaslanabilecek durumdadır. Sıcaklık kontrolü için su ceketli kullanılan yapılar mevcuttur (Ardoino, 2004; Paffi, 2010).

- 3) Işıma Yapan Yapılar: Bu sistemler birçok örneğe aynı anda aynı şiddette RF alanın uygulanabilmesine olanak tanıyan ve geniş kapsamlı deneylerin yapılması mümkün olan sistemlerdir. Bu sistemler günümüzde 2.45 GHz üstü frekanslarda kullanılan tek sistemlerdir. Literatürde bu yapılarda kullanılan antenlerin genellikle Horn antenler ve mikroşerit antenler olduğu göze çarpmaktadır. Bu sistemlerin düşük güç yoğunluğu nedeniyle verimleri düşük ve alan homojenitesi zayıftır. Açık sistemler olduğundan alan sınırlaması yoktur ve EM uyumluluğun gözden geçirilmesi gerekmektedir. Ayrıca çevresel koşulların kontrol edilebilmesi için ilave cihazların gerekmesi nedeniyle sistem daha karmaşık olabilir.

### Gerçek Zamanlı (Real Time) Sistemler

RF alan maruziyeti esnasında muhtemel kümülatif ve/veya geri dönüşümlü etkilerin tanımlanabilmesi için gerçek zamanlı veri toplamaya özel önem verilmektedir. Özellikle, sinir sistemi RF alan etkileşimi ile ilgili olarak günümüzde elektrofizyolojik teknikler yaygın

olarak çalışılmaktadır. Gerçek zamanlı analizler gerçekleştirilirken, incelenen biyolojik örneklere kolayca ulaşılabilmesi ve verilerin minimal düzeyde etkilenmesi gibi ek özelliklere ihtiyaç duyulmaktadır. Gerçek zamanlı sistemlerin çoğu, Yayılım Yapan özellikte olabilmektedir. Ancak Rezonant ve Işıma Yapan yapıda olan sistemler de mevcuttur.

Yayılım Yapan Yapılar: Gerçek zamanlı Yayılım Yapan Yapılar, TEM hücresi ve Dikdörtgen dalga kılavuzu gibi genellikle kapalı yapılar olup, biyokimyasal yada biyofiziksel parametrelerin gerçek zamanlı olarak incelenebilmesi, perfüzyon ve örneğin gözlenebilmesi için delik açılarak modifiye edilmiş sistemlerdir. Şu ana kadar RF alan maruziyeti çalışmalarında genellikle çevrimdışı sistemler kullanılmış olmasına rağmen, gerçek zamanlı sistemlere karşı yönelim artmaktadır (Paffi, 2010).

RF alan maruziyet sistemlerini Çevrimdışı yada Gerçek zamanlı sistemler diye ayırmaksızın sistemlerin genel olarak dezavantajlar Çizelge 2.3.'de özet olarak verilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında, eşzamanlı olarak çok sayıda numuneye maruziyet uygulanabilmesine olanak sağlaması ve uygulanabilecek yüksek frekanslar için esnekliğe sahip olması nedeniyle ışımaya yapan bir sistemin geliştirilmesi ve üretimi öngörülmüştür.

Çizelge 2.3. *In vitro* RF alan maruziyet sistemlerinin genel dezavantajları

Maruziyet Sistemi		Sistemin Dezavantajları
Işıma Yapan Sistemler	Horn/ Mikroşerit Antenler	<ul style="list-style-type: none"> <li>- RF alan doz dağılım homojenitesinin düşük olması</li> <li>- Birim güç başına oluşan SAR değeri veriminin düşük olması</li> </ul>
	TEM Hücresi	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Çalışma frekansının 1 GHz ve altı seviyelerde olması</li> <li>- Yüksek frekanslı yeni teknolojileri desteklememesi</li> </ul>
Yayılm Yapan Sistemler	GTEM Hücresi	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Boyutlarının büyük olması</li> <li>- Boyutları nedeniyle CO<sub>2</sub>liinkübatör içerisine sığmaması</li> <li>- İklimlendirme koşulları (Sıcaklık, nem, CO<sub>2</sub>) için ek sistemler gerektirmesi</li> </ul>
	Dalga Kılavuzu	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Boyutlarının frekansa bağlı değişiyor olması</li> <li>- Sınırlı bir frekans aralığında kullanılabilir oluşu</li> <li>- Frekans arttıkça, dalga kılavuzu içerisindeki kullanılabilir alanın azalması</li> </ul>
	Kısa Devre Dalga Kılavuzu	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Çalışma frekansına bağlı olarak, boyutlarının değişiyor olması</li> <li>- Çalışma frekansındaki artışa bağlı olarak, dalga kılavuzunun boyutlarının küçülmesi nedeniyle, içerisine yerleştirilecek numuneler için yeterli alanın bulunmaması</li> <li>- Sınırlı bir frekans aralığında kullanılabilir oluşu</li> </ul>
Rezonant Sistemler	Kablo Yama Anten	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Boyutlarının frekansa bağlı değişiyor olması</li> <li>- Dar bir frekans aralığında kullanılabilir oluşu</li> <li>- Yüksek Elektrik alan seviyelerinde sıcaklığın çok yükselmesi</li> <li>- Etrafının açık olması nedeniyle RF soğurucu malzeme ihtiyacının bulunması</li> </ul>

### 2.3.2. Optimum *in vitro* RF alan maruziyet sistemini oluşturabilmek için dikkat edilmesi gereken kriterler

Düşük güçlü RF alan maruziyetinden kaynaklı riskleri araştıran çalışmalarda, yaşanan iki temel zorluk bulunmaktadır:

- 1) Bilinen veya makul etkileşim mekanizmalarının olmayışı,
- 2) Toksikolojik yaklaşıma uygun olarak, halkın maruz kaldığı alan seviyesinden çok daha yüksek doz seviyelerinin uygulanamaması. Dolayısıyla etkilerin gözlenebileceği RF alan seviyesinin ve etkilerin neler olduğunun belirlenmesindeki imkânsızlık

İkinci maddeye göre, yüksek doz seviyeleri uygulanarak etki gözlenen RF alan şiddeti belirlenebilir. Etki gözlenen RF alan doz seviyeleri kademeli olarak düşürülerek, güvenli sınırların belirlenmesi mümkün olabilir. Fakat aşırı yüksek dozda RF alan uygulaması, dokuda önemli ölçüde ısınmaya neden olarak olası ısıl olmayan etkilerin gözden kaçırılabilmesine neden olabilir (Kuster ve Schönborn, 2000).

RF alan maruziyeti çalışmalarında en hassas biyolojik deneyler, genellikle gelişmiş donanımların kullanılmasını ve sıkı standart protokollerin uygulanmasını gerektirmektedir. Çünkü RF alan kaynaklı etkilerin kanıtlanması ve ciddi sağlık riski oluşturup oluşturmadığının tespiti sadece mümkün olan en hassas deney sistemleri ve protokolleri ile mümkün olabilecektir (Kuster ve Schönborn, 2000).

Örneğin, yüksek homojeniteye sahip tüm vücut maruziyeti, toksikolojik çalışmalar için tercih edilen elzem bir durumdur fakat RF alan maruziyeti için bu durumun elde edilmesi; dokuların kaynaktan farklı uzaklıklarda oluşu, farklı doku tipleri, farklı geometri ve boyutlar vs. gibi nedenlerle pek mümkün değildir. Araştırmalarda homojen tüm vücut maruziyetinin sağlanması gerekliliği ve biyolojik koşullar nedeniyle bunun sağlanamaması; RF alan maruziyet sistem gereksinimleri ile biyolojik deney koşullarının sağlanması arasındaki temel çatışmaları göstermektedir. Bu nedenle her tasarım için farklı koşullar arasında denge sağlayabilen, uygulanabilir bir yaklaşım bulunmalıdır.

Maruziyet sistemleri için temel tasarımlar mevcuttur, ancak maruziyet sisteminin belirli biyolojik protokollere ve seçilen maruziyet koşullarına mümkün olan en iyi şekilde adapte



edilmesi yada optimize edilmesi gerekmektedir (Çizelge 2.4.). Bu nedenle tüm deneylere/koşullara uygun tek bir standart maruziyet sisteminin tasarlanması yada kullanılması mümkün değildir. Böyle bir durum sadece deneye zarar verir (Kuster ve Schönborn, 2000).

Deney için gerekli olan maruziyet koşulları ile biyolojik koşullar arasında optimum koşulların sağlanması biyolojik ve mühendislik grupları arasında işbirliğini gerektirmektedir. Bu durum genel hedefleri açısından optimize edilmiş bir kurulum gerçekleştirmek için, disiplinler arası birçok işbirliğinin gerekli olduğu anlamına gelmektedir (Kuster ve Schönborn, 2000).



Çizelge 2.4. RF alan maruziyeti çalışmalarında kullanılacak maruziyet sistemleri için temel gereksinimler (Kuster ve Schönborn, 2000)

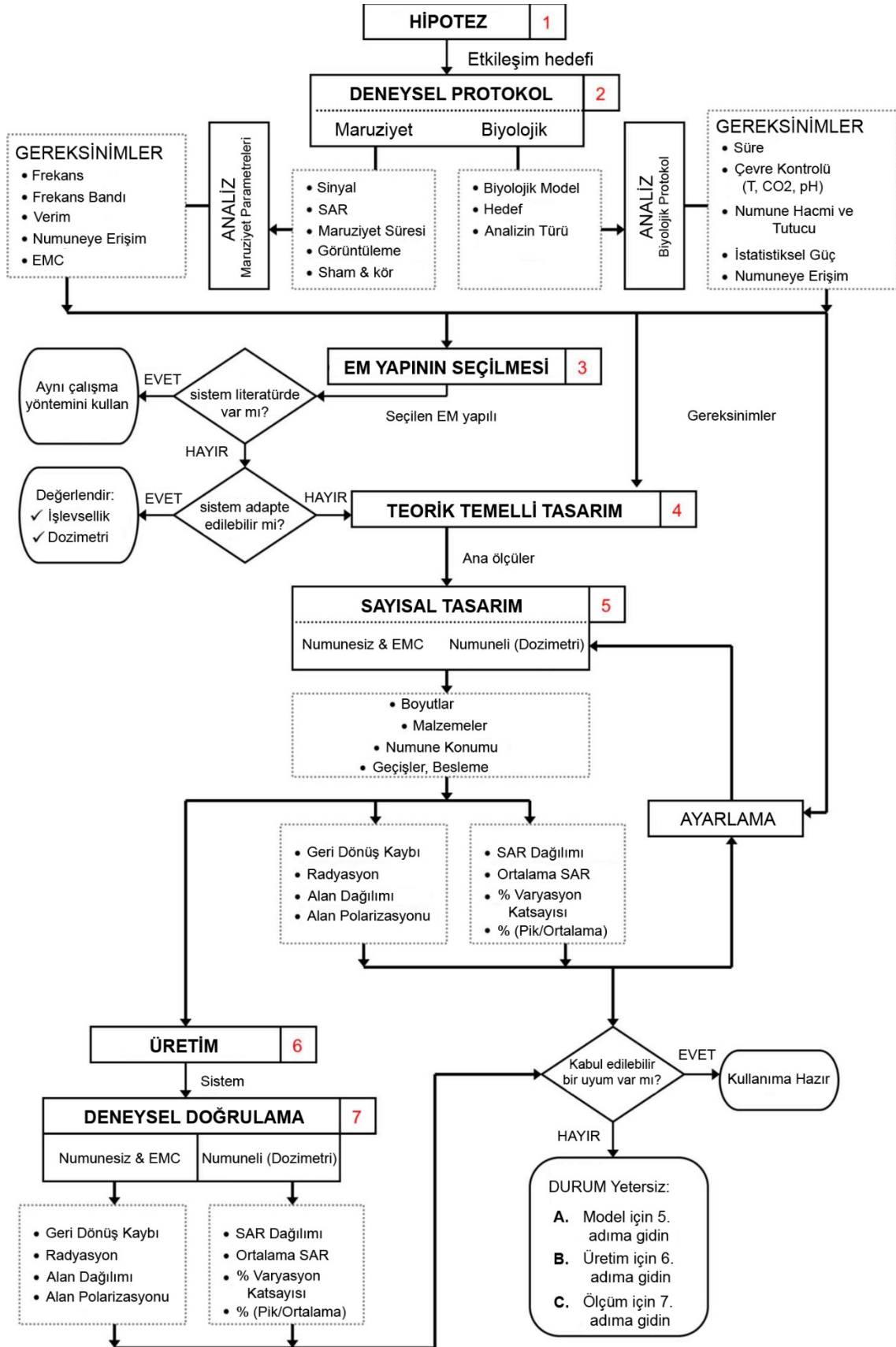
<b>Biyolojik Gereksinimler</b>	<b>Biyolojik Protokol</b>	Sistem standart biyolojik protokollerden kaynaklı asgari gereksinimleri karşılayabilir olmalı.
	<b>Çevresel Şartlar</b>	Gerçekleştirilecek deney için gerekli tüm çevre koşulları ile ilgili gereksinimler sıkı şekilde mutlaka sağlanmalıdır. (sterilizasyon, sıcaklık, hava koşulları, düşük stres seviyesi, erişebilirlik vs.)
	<b>İstatistik</b>	Sistem istatistiksel olarak değerlendirme yapılabilecek yeterli sayıda örneği RF alana maruz bırakabilecek kapasiteye sahip olmalıdır.
<b>Elektromanyetik Gereksinimler</b>	<b>Sinyal Kaynağı</b>	Sinyal kaynağı hassas bir şekilde belirlenmiş olmalı. (Frekans, modülasyon, güç stabilitesi, gürültü seviyesi vs.)
	<b>İndüklenmiş E ve H</b>	Hücre kültürünün yada hayvanın bulunduğu konum için, E ve H alan şiddeti ve polarizasyonun iyi tanımlanmış olması gerekir.
	<b>Alan Dağılımı (İn vitro)</b>	Alan dağılımı homojenliği oldukça yüksek olmalı ve homojeniteden sapmaların olabildiğince düşük olması sağlanmalı.
	<b>Alan Dağılımı (İn vivo)</b>	Çoğu durumda homojen bir vücut maruziyeti elde edilemez. Maruziyet tüm dokular için iyi tanımlanmalı ve homojeniteden sapmalar minimumda tutulmaya çalışılmalıdır. Belirli bir organ yada doku maruziyeti çalışılıyorsa, kısmi vücut maruziyeti uygulaması homojenite açısından daha iyi bir tercih olacaktır. Uygun olan diğer bir yaklaşım ise insanların maruz kaldıkları alanlara benzer maruziyetler oluşturmaktır.
	<b>DeneySEL Farklılıklar</b>	DeneySEL farklılıklardan kaynaklı, alan şiddeti ve dağılımı gibi deneyin hassasiyetini etkileyebilecek koşullara dikkat edilmelidir. (Konum, postür, hayvan boyutu vs.)
	<b>EM Girişim (EMI)</b>	Tüm cihazlar için en kötü durum senaryoları dikkate alınarak Elektromanyetik girişim ile ilgili tüm kontroller yapılmalıdır. Aksi takdirde girişimden kaynaklı arızalar meydana gelebilir.
	<b>EM Uyumluluk (EMC)</b>	Sistem tarafından yayılan alanlar, laboratuvar sınırları dışındaki kablosuz iletişim servisleri ile EM uyumluluk göstermelidir.
	<b>Personel Güvenliği</b>	Maruziyet sistemi, sistemi kullanan personelin güvenlik standartlarının üstündeki alanlara maruz kalmasına neden olmamalıdır.
<b>Diğer Gereksinimler</b>	<b>ELF Alanlar</b>	RF alan maruziyet sistemleri, ELF alanlar da üretebilirler. Bu alanlar iyi tanımlanmalı ve mümkün olduğunca minimum seviyelerde tutulmalıdır.
	<b>Görüntüleme</b>	Maruziyet sistemi deney sırasındaki teknik ve biyolojik parametrelerin izlenebilmesine imkan sağlamalıdır.
	<b>Kullanılabilirlik</b>	Sistem teknik bilgisi olmayan kullanıcıların neden olabilecekleri hatalara karşı korumalı olmalıdır.
	<b>Kör Çalışma Tasarımı</b>	Tasarım, kör yada çift kör çalışmaları için uygulanabilir olmalıdır.
	<b>Maliyet</b>	Sistem maliyeti makul ölçülerde olmalıdır.

### Optimum Maruziyet Sistemi Tasarımı Prosedürü

Biyolojik protokollerin çok çeşitli oluşu ve katı gereksinimleri nedeniyle, elektromanyetik alan maruziyeti için standardize edilmiş bir maruziyet sisteminin geliştirilmesi imkansızdır. Optimum RF alan maruziyet sistemi tasarımına ulaşabilmek için örnek olarak Paffi ve ark. tarafından önerilen yöntemin basamakları aşağıda verilmiştir.

İlk olarak, maruziyet uygulanacak biyolojik sisteme uygun bir deneysel hipotez formüle edilmelidir (adım 1). Daha sonra hipotezi test etmek için biyolojik modelleri, sonuçları, teknikleri ve maruziyet parametrelerini içeren deney tanımlanmalıdır (adım 2).

Tanımlanan bu parametrelere uygun maruziyet sistemi için gerekli olan ihtiyaçlar tespit edilmelidir (adım 3). Eğer var olan mevcut bir sistemin adapte edilmesi tercih ediliyorsa literatürde böyle bir sistemin var olup olmadığı ve yapının boyutları incelenmeli, söz konusu duruma göre sistemin teorik temelli olarak tasarım aşamasına geçilmelidir (adım 4). Tasarım parametreleri (boyutlar, malzeme seçimi, biyolojik örneğin konumlandırılması, vs.) sayısal simülasyonlar yardımıyla belirlenmeli ve optimize edilmelidir (adım 5). Sonraki iki aşama ise üretim (adım 6) ve deneysel doğrulama sürecidir (adım 7) (Paffi, 2010).



Şekil 2.5. Optimum maruziyet sistemi tasarımı için önerilen standardize edilmiş yöntem (Paffi, 2010)

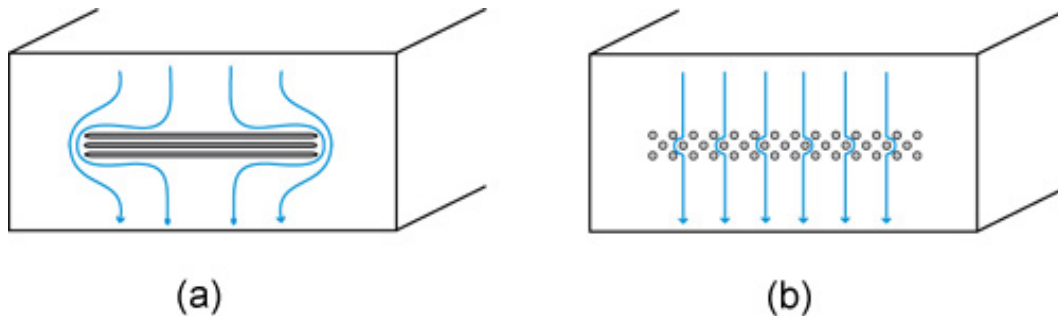
Hem biyolojik protokoller için iyi adapte edilmiş hem de tüm gereksinimleri karşılayan iyi karakterize edilmiş EM alan maruziyeti sağlayan bir deney sisteminin kurulabilmesi için biyologlar, medikal bilimciler ve mühendisler arasında yakın işbirliği olması gerekliliği açıktır.

### 2.3.3. Radyofrekans sistemlerde kalkanlama\*

Elektromanyetik kalkanlama, iletken veya manyetik malzemeler yardımı ile elektromanyetik dalgaların belirli bir alandaki emisyon düzeylerinin azaltılması uygulamasıdır. Yüksek frekans için ideal zırh, sonsuz iletkenliğe sahip olan ve kesintiye uğramadan devam eden bir yapıdır. Fakat pratikte böyle bir durum pek mümkün değildir. Yüksek frekansta ekranlama için EM alan kaynağının tamamen zırhla kaplanması ve EM sızıntıların oluşması muhtemel olan açıklıkların, birleşim noktalarının ve kablo girişlerinin olduğu noktalarda sızıntıları önleyecek önlemlerin alınması gereklidir (LearnEMC.com).

#### Açıklıklar (Aperture)

Zırhlanmış bir yapıda, havalandırma, görüntüleme, plastik malzemeler veya mekanik destek için gerekli açıklıklar bulunabilmektedir. Zırhın işlevselliğini devam ettirebilmesi için akımların yüzey üzerinde engellenmeden akabilmesi gereklidir. Dalga boyundan çok daha küçük boyutlu olan açıklıklar, iletken bir yüzey üzerindeki akıma karşı çok az direnç gösterirler. Bu nedenle birkaç tane büyük açıklık kullanmak yerine çok sayıda küçük açıklık kullanmayı tercih etmek gerekir (LearnEMC.com).



Şekil 2.6. İletken bir yüzey üzerindeki havalandırma kanalları etrafında akım geçişleri (LearnEMC.com)

\* Kalkanlama, zırhlama ve ekranlama terimleri aynı işlem için kullanılmıştır.

Şekil 2.6. da İletken bir yüzey üzerindeki havalandırma kanalları etrafında iki farklı akım geçişleri görülmektedir. Şekil 2.6a daki akım hem daha fazla engellenmekte, hem de açıklıkların dalga boyuna kıyasla Şekil 2.6b den daha büyük olduğu açıkça gözlenmektedir. Her iki yapıda da toplam açık alan miktarı benzer boyutlarda olmasına rağmen, EM zırlama performansı açısından 2.6b yöntem olarak çok daha iyi bir tercihtir. Açıklıklarda dikkat edilecek temel nokta açıklıkların boyutunun dalga boyundan önemli ölçüde küçük olmasıdır.

Bir açıklığın zırlama performansı, o açıklığın en büyük boyutunun bir fonksiyonu olarak değişim gösterir. Açıklıklar oyuklar (slot'lar) ve yuvarlak delikler olmak üzere 2 kategoriye ayrılırlar. Zırlama Etkinliğini (Shielding Effectiveness dB, SEdB; attenuation dB) dB cinsinden aşağıda belirtilen formüller yardımıyla tek bir oyuk, tek bir yuvarlak delik için yada oyuk/yuvarlak delik dizisi için hesaplamak mümkündür (LearnEMC.com, digikey.hk) (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5. Zırlama etkinliğine ilişkin formüller

Zırlama Etkinliği (dB)		
1 Oyuk için		SEdB = 20 log <sub>10</sub> λ/2 L
1 Yuvarlak Delik için		SEdB = 40 log <sub>10</sub> λ/2 L
Oyuk Dizisi için	K=20	SEdB = K log <sub>10</sub> λ/2 L - 20 log n (L ≤ λ/2), n=λ/2 içindeki açıklık sayısı
Yuvarlak Delik Dizisi için	K=40	

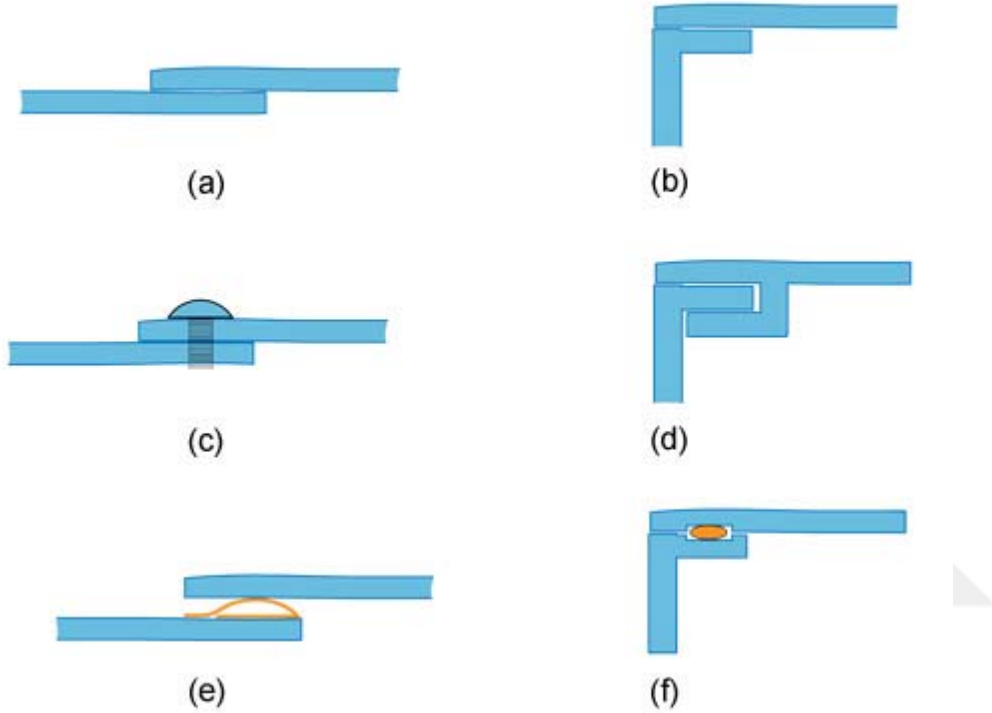
Burada, L: Slotun En uzun boyutu (m) ( L>>t), λ: dalga boyu (m) ve t: kalınlığı ifade etmektedir (digikey.hk).

Açıklıklardan kaynaklı enerji sızıntısını azaltmak için, açıklıkların derinlikleri artırılarak küçük bir dalga kılavuzu gibi davranması da sağlanabilir. Böylece *dalga kılavuzunun kesim frekansı* nedeniyle her frekansın iletimi mümkün olmaz (LearnEMC.com).

### Bağlantı Yeri

Birden fazla parçaya sahip olan sistemlerin bağlantı yerleri, daha büyük boyutları nedeniyle açıklıklara kıyasla daha büyük alan sızıntılarına neden olurlar. Yarım dalga boyu uzunluğundaki bir bağlantı noktası çok etkili bir radyasyon kaynağı olabilir. Hatta yarım dalga boylu bir dipol anten gibi davranabilir.

Çıplak gözle bakıldığında iyi temas ettiği düşünülen bir bağlantı noktası, yüzeydeki akımların akışının bozulmasına ve zırhlama performansının önemli ölçüde azalmasına neden olabilir. Ayrıca metal yüzeylerdeki paslanma, korozyon ve eğrilme gibi durumlar elektriksel iletkenliğin kalitesinin azalmasına neden olarak zırhlama performansını düşürmektedir (LearnEMC.com). Bağlantı yerleri için farklı çözüm önerileri mevcuttur (Şekil 2.7.)



Şekil 2.7. Bağlantı yerleri için farklı çözüm önerileri (LearnEMC.com)

Şekil 2.7a veya Şekil 2.7b birbirine basitçe temas iki metal yüzey nadiren yüksek frekanslarda yeterince güvenilir sızdırmazlık sağlamaktadır. Vidalar veya perçinler (Şekil 2.7c), noktalar arasında iyi bir elektrik teması sağlayabilir fakat tam bir sızdırmazlığı garanti edemez. Bağlantı yerleri arasındaki empedansı düşürmek için kullanılan diğer bir teknik ise plakaların her iki tarafının teması olmasıdır (Şekil 2.7d). En yaygın kullanılan yöntemler ise iletken özelliğe sahip RF contalardır (Şekil 2.7e ve 2.7f).

### Kablo Girişi

Zırhlanmamış tek bir kablo girişi, tüm zırhlama performansını tamamen yok edebilir. Kablo ile ekranlama malzemesi arasındaki voltaj farkı, bir dipol gibi davranışa neden olabilmektedir. Hem ekranlama malzemesi hem de kablo uzun metalik yapılar olduğu için

genellikle düşük frekansta çok etkili bir anten görevi görürler. Bu nedenle kablonun iyi zırhlanması ya da ekranlama malzemesi ile aynı potansiyelde tutulması çok önemlidir. Bu sorun, kablonun zırhı ile ekranlama malzemesinin tümüyle temas etmesi sağlanarak engellenebilir (LearnEMC.com).

#### **2.4. Apoptoz**

Çok hücreli organizmaların büyümesi, gelişimi ve canlılıklarının korunması sadece hücre büyümesine/çoğalmasına bağlı olmayıp yok edilme mekanizmalarına da bağlıdır. Hemostazinin korunması için hücrelerin çoğaldıkları oranda ölmeleri gerekmektedir. Hem doku ve uzuvların boyut ve şekli için hem de zarar görmüş yada enfekte olmuş hücrelerden organizmanın kurtulabilmesi için hücre ölümüne ihtiyaç duyulmaktadır. Böyle durumlarda hücre ölümü rastgele bir süreçle değil de Apoptoz olarak isimlendirilen programlanmış hücre ölümü yoluyla gerçekleşir (Alberts ve diğerleri, 2015).

Hüresel etkileşimler iki temel mekanizma ile hücre ölümünü düzenlerler. Birincisi çok hücreli organizmalarda çoğu hücrenin hayatta kalması için Trofik Faktör adı verilen hayatta kalma sinyallerine ihtiyacı vardır. Bu sinyaller olmadığı takdirde, hücreler bir intihar programını harekete geçirirler. İkinci olarak ise bağışıklık sistemi yada farklı sinyaller aracılığıyla hücreleri öldüren bir cinayet programı oluştururlar. Hücrelerin hayatta kalma sinyallerinin yokluğu nedeniyle intihar etmeleri yada diğer hücrelerden gelen cinayet sinyalleriyle öldürülmesine ortak bir moleküler yol aracılık eder (Lodish ve diğerleri, 2008).

Hücrelerin programlanmış olarak ölüme gidişi, Apoptoz, iyi tanımlanmış bir dizi morfolojik değişiklikler göstermektedir. Apoptoz kelimesi ağaçtan yaprakların düşmesi gibi "düşmek" anlamına gelen yunanca bir sözcükten türetilmiştir (Lodish ve diğerleri, 2008).

Apoptoz geçiren hücreler, komşu hücreler ile bağlantısını koparırlar, hücre hacmi azalır ve büzülür ve sitoplazma yoğunlaşır, kromatin çekirdek membranına yönelir ve yoğunlaşır, DNA'sı nükleozomlarından kesilir. Hücre zarının iç yüzünde bulunan Fosfatidil Serin (PS) erken evrede membranın dış yüzüne doğru yer değiştirir. Çekirdek küçülüp parçalara ayrılır. Hücre yüzeyinde dışa doğru çıkıntılar oluşur, bunlar hücreden ayrılarak apoptotik cisimcikleri oluştururlar. Hücre ve apoptotik cisimciklerin yüzeyi de kimyasal olarak değişim geçirir, böylece komşu hücre yada makrofajlar tarafından kolayca tanınır



sindirilirler. Böylece hücre inflamatuvar (yangısal) bir etkiye neden olmadan ortadan kaldırılmış olur (Alberts ve diğerleri, 2015; Çoskun ve Özgür, 2011).

İlk bakışta sindirim/hücrenin yutulması ölüm sonrası bir temizleme süreci gibi görünse de aslında yutma nihai ölüm kararının bir parçasıdır. Yutmayı bloke eden mutasyonlar, normalde ölecek olan hücrelerin yaşamasına izin verir (Lodish ve diğerleri, 2008).

Apoptozda artış Aids, nörodejeneratif hastalıklar, insüline bağımlı tip diyabet, hepatit C enfeksiyonu, miyokard enfarktüsü, arteroskleroz gibi hastalıklarda gözlenirken; apoptozdaki azalma ise otoimmün hastalıklar ve kanserde gözlenmektedir (Ulukaya, 2003).

Apoptozun aksine, akut hasar nedeniyle oluşan hücre ölümü nekrozis denen bir süreç ile gerçekleşir. Nekroz geçiren hücreler tipik olarak şişip patlarlar. Bu patlama neticesinde, çevredeki hücrelere zarar verebilecek ve inflamasyona neden olabilecek hücre içi içeriklerini hücreler arası ortama salarlar (Lodish ve diğerleri, 2008; Alberts ve diğerleri, 2015).

Apoptoz ve nekroz arasındaki benzerlikler/farklar Çizelge 2.6.'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Nekroz ve apoptoz karşılaştırması (Ulukaya, 2003)

ÖZELLİK	NEKROZİS	APOPTOZİS
<b>Yol Açan Nedenler</b>	İskemi	Büyüme faktörü eksikliği
	Hipertermi	Hücre yaşlanması (Senescence)
	Hipoksi	HIV
	Litik (eritici) viral enfeksiyon	Kanser ilaçları
	Toksik maddelerin yüksek konsantrasyonları	Radyasyon
	Şiddetli oksidatif stress	Yüksek doz glukokortikoid
		Fas veya TNFR-1 reseptörlerinin aktivasyonu
		Sitotoksik T lenfositler
<b>Morfolojik Özellikler</b>	Hücre membranı bütünlüğünün kaybı	Hücre membranı sağlam fakat membranda tomurcuk oluşumu
	Kromatin "flocculation"u	Kromatinin nükleer membran civarında toplanması ve yoğunlaşması
	Hücre şişmesi	Hücre küçülmesi
	Organellerin disintegrasyonu	Organellerde disintegrasyon yok
	Endoplazmik retikulumun dilatasyonu	Hücrenin membranla kaplı apoptotik cisimciklere parçalanması
	Büyük vakuollerin oluşumu	
	Hücre lizisi	
<b>Biyokimyasal Özellikler</b>	Bozulmuş iyon homeostazisi	İyi kontrollü, bazı aktivasyonların ve enzimatik basamakların olması
	ATP gerekmez (pasif süreç)	ATP gereklidir (aktif süreç)
	+4°C'de gerçekleşebilir	+4°C'de gerçekleşmez
	DNA rastgele parçalanır	DNA agaroz jel elektroforezinde merdiven deseni şekilde kırılır
	Postlitik DNA fragmentasyonu (geç safhada)	Prelitik DNA fragmentasyonu (erken safhada gerçekleşir)
<b>Diğer Özellikler</b>	Hücreler gruplar halinde ölür	Hücreler tek tek veya birkaçı birarada ölür
	Patolojik etkiler sonucu gerçekleşir	Fizyolojik şartlarda da gerçekleşebilir
	Lizozomal enzimler salınır	Komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edilirler
	İnflamasyona neden olur	İnflamasyon görülmez

Apoptozun düzenlenmesinde Ca, Seramid, Bcl-2 ailesi gibi moleküller, p53, kaspazlar, sitokrom-c gibi proteinler ve mitokondri rol oynamaktadır (Çoskun ve Özgür, 2011).

**Kaspazlar**, 100 kadar farklı hedef proteini keserek apoptoza neden olurlar. Kaspaz (C-asp-ase) ismi, aktif bölgelerinde sistein (Cysteine) amino asidini barındırmaları ve substratı olan proteinleri aspartik asitten (Asp) kesmeleri nedeniyle verilmiştir. İnsanlarda 15 farklı kaspaz (CASP) vardır. Bütün kaspazlar başlangıçta inaktif öncüller (pro-kaspaz) olarak üretilir, daha sonra diğer kaspazlar ve moleküller aracılığıyla kesilerek aktif kaspaz haline geçerler.

(Cooper ve Hausman, 2006; Lodish ve diğeri, 2008). Kaspazların ana hedefleri arasında aktive edildiği zaman DNA'nın parçalanmasından sorumlu olan bir DNaz inhibitörü yer alır.

Kaspazlar 3 tipe ayrılırlar:

- Başlatıcı Kaspazlar: Kaspaz 2, 8, 9, 10
- Efektör Kaspazlar: Kaspaz 3, 6, 7
- İnflamatuar Kaspazlar: Kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14

Başlatıcı kaspazlar, apoptotik uyarı ile başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara iletirler. Efektör kaspazlar da hücre iskeleti proteinlerini, nükleer Laminleri, DNA tamirinde rol alan Poli ADP-Riboz Polimeraz (PARP) gibi çeşitli proteinleri keserek çekirdeğin parçalanmasına, hücre zarının tomurcuklanmasına ve hücrenin parçalanmasına neden olur. Kaspazlar “Apoptoz Proteinleri İnhibitörleri” (IAP) olarak adlandırılan ve direkt olarak kaspaz aktivitesini baskılayarak apoptotik mekanizmayı engelleyen bir protein ailesi tarafından düzenlenirler (Cooper ve Hausman, 2006; Çoskun ve Özgür, 2011; Ulukaya, 2003).

**Bcl-2 ailesi**, mitokondride görev yapan ve apoptozun kontrolünde merkezi öneme sahip olan moleküllerdir. Bcl-2 ailesinin bazı üyeleri kaspazları ve dolayısıyla apoptozu aktive eden pro-apoptotik yapı göstermekteyken, diğeri Bcl-2 ailesi üyeleri ise kaspazları ve apoptozu inhibe eden anti-apoptotik özellik göstermektedirler (Cooper ve Hausman, 2006; Ulukaya, 2003).

- Pro-Apoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri: Bax, Bcl-Xs, Bad, Bim, Bak, Bok, Bid, Puma, Noxa'dır. Bu proteinler sitozolde yer alırlar; Apoptoz İndükleyici Faktör (AIF) ve mitokondriden sitokrom-c salınımını arttırarak apoptozu indüklerler (Çoskun ve Özgür, 2011; Ulukaya, 2003).
- Anti-Apoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri: Bcl-2, Bcl-Xl, Mcl-1'dir. Bu proteinler ise mitokondrinin dış zarında, endoplazmik retikulumda ve çekirdek zarında yer alırlar. Por oluşumunu sağlayıp, başta Ca olmak üzere iyon transportunu yönetirler. AIF ve mitokondriden sitokrom-c salınımını bloke ederler (Çoskun ve Özgür, 2011; Ulukaya, 2003).

**P53 proteini**, hücrede DNA hasarı meydana geldiği durumlarda, hücre döngüsünü G1 fazında durdurarak, hücrenin DNA'sını tamir edebilmesi için zaman sağlar. Hücre hasarı tamir edilemeyecek durumda ise Bax, Apaf-1 ve Fas yapımını arttırıp, Bcl-2 ve Bcl-Xl'yi baskılayarak programlanmış hücre ölümü olan apoptozu indükler (Çoskun ve Özgür, 2011). P53 genindeki mutasyon, tüm tümör türleri arasında en yaygın mutasyon olduğu için çok önemlidir.. Bu mutasyon neticesinde DNA tamir mekanizması doğru çalışmaz ve tüm hücreler potansiyel olarak tümör oluşturabilirler (Altunkaynak ve Özbek, 2008).

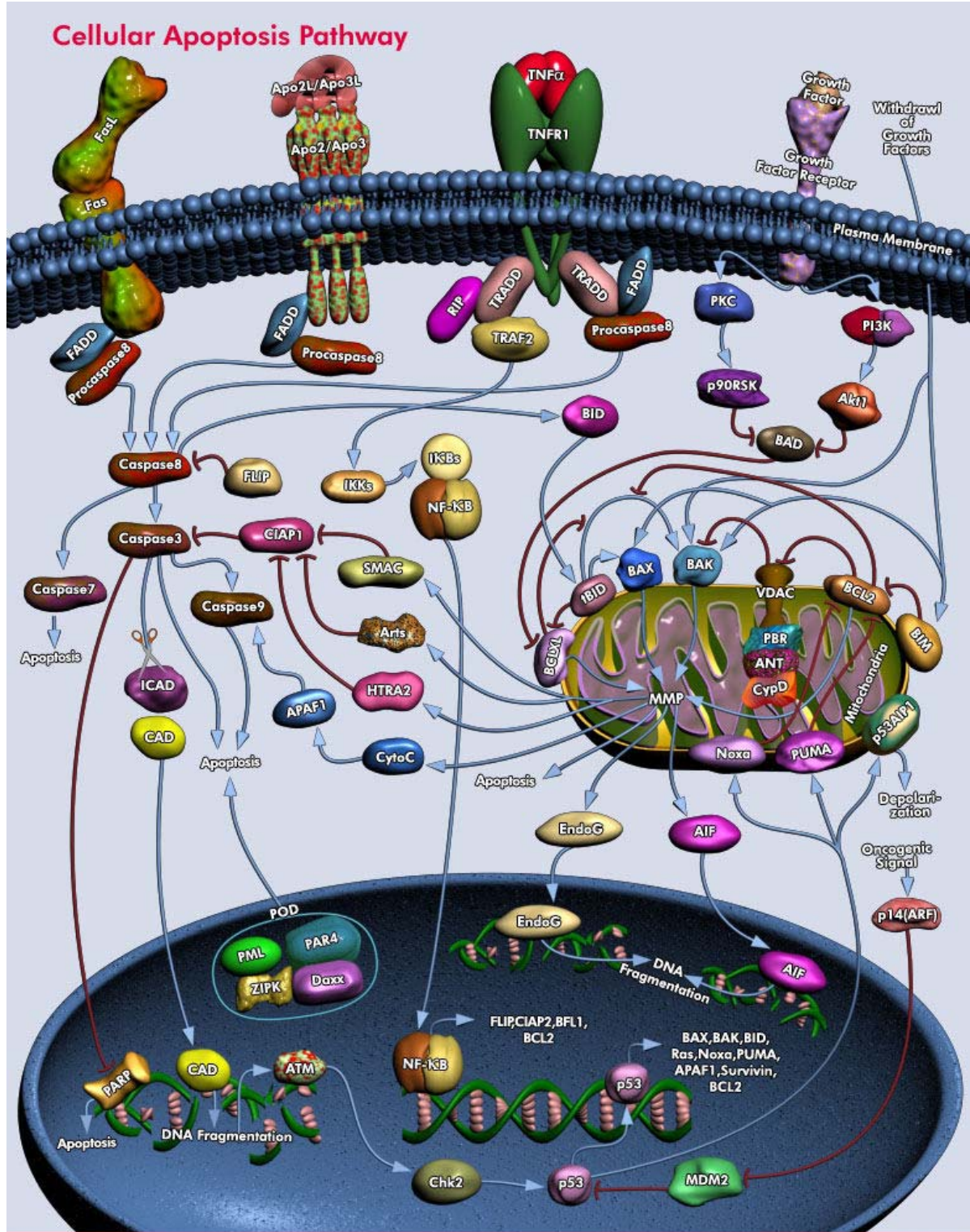
Hücreler 2 yolak aracılığı ile apoptoza gidebilirler. Bunlar:

- Hücre Ölüm Reseptörlerini Kullanan (Dış) Yolak
- Mitokondrial (İç) Yolak

#### **2.4.1. Hücre ölüm reseptörlerini kullanan (dış) yolak**

Hücre ölümü, hayatta kalma faktörlerinin yokluğundan ötürü ortaya çıkabileceği gibi, ölüm sinyalleri tarafından da uyarılabilir (Şekil 2.8.). Örneğin makrofajlar tarafından salınan Tümör Nekrozis Faktörü  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) veya aktive olmuş doğal katil hücreler yada sitotoksik T Lenfositleri tarafından üretilen Fas Ligand (FasL) hücre ölümüne neden olabilmektedir (Lodish ve diğerleri, 2008).

Hücre ölüm reseptörleri kaspazları direkt olarak aktive ederek apoptozu uyarır (Şekil 2.8.). Ölüm reseptörlerine bağlanan ligandlar neticesinde inaktif durumdaki prokaspaz 8 kendini keserek aktif hale geçer. Aktif kaspaz 8 de efektör kaspazları keserek aktive eder. Kaspaz 8 ayrıca apoptozu uyarıcı Bcl-2 ailesinin bir üyesi olan Bid'i de keserek, Bid'in sitozolden mitokondriye geçişine ve mitokondri zarını parçalayarak sitozole sitokrom-c salınmasına neden olur. Bu durum kaspaz 9 (iç yolak) aktivasyonu nedeniyle yolağın daha da kuvvetlenmesine neden olur (Cooper ve Hausman, 2006).

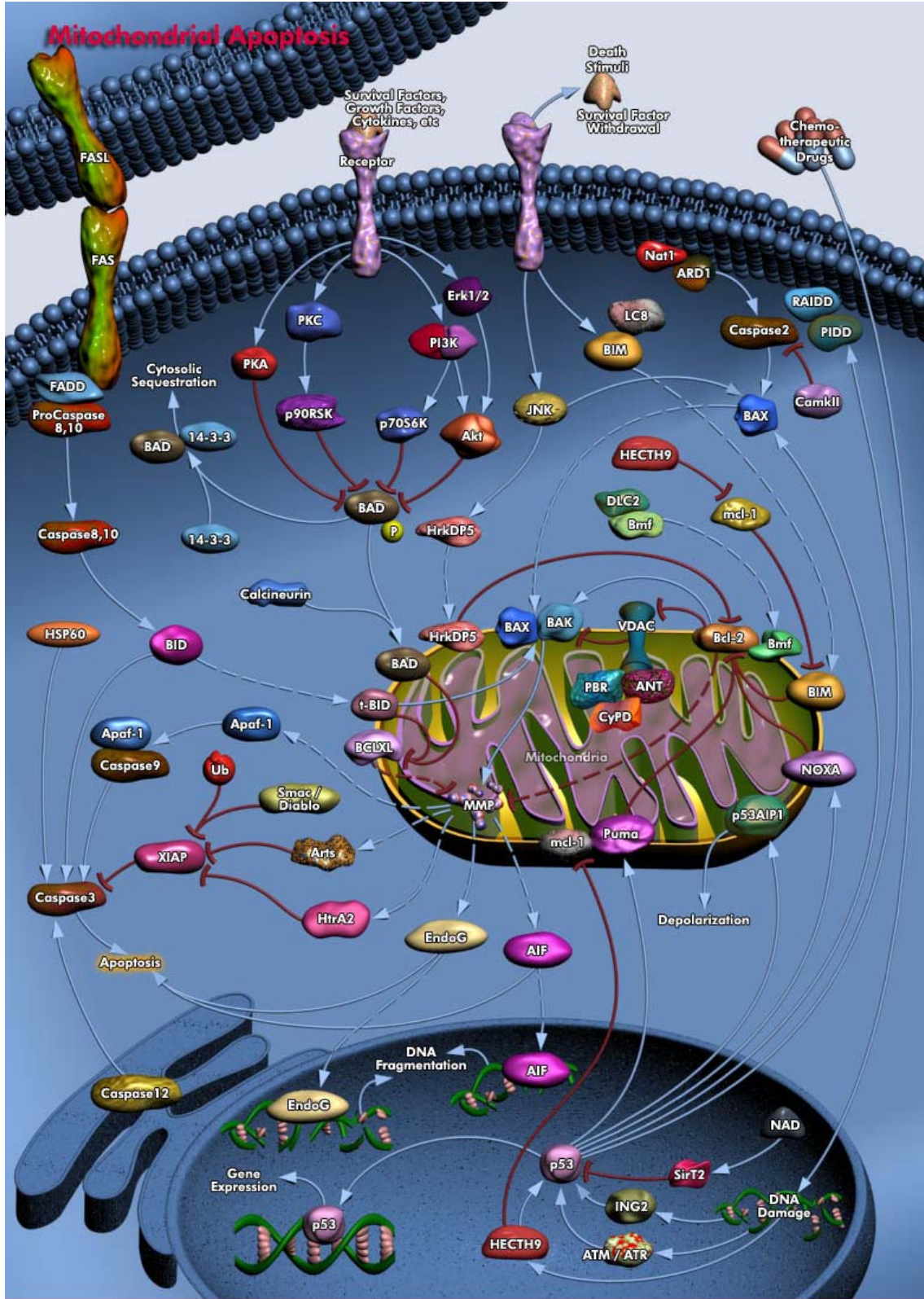


Şekil 2.8. Apoptoz dış yolak mekanizması (SABiosciences-Pathway Central)

### 2.4.2. Mitokondrial (iç) yolak

Apoptozu tetikleyen hücre içi sinyaller, DNA hasarı, hücre içi Ca düzeyindeki artış, pH azalışı, hipoksi ve hücre döngüsündeki bozukluklara neden olmaktadır. Hücre içi apoptotik sinyal alındıktan sonra proapoptotik bir protein olan Bid, Bcl-2'yi inaktive edip, Bax ve Bak'ı aktifleştirir (Şekil 2.9.). Aktiflenen Bax ve Bak, mitokondri membranında por oluşumu indükleyip, zar potansiyelini değiştirir. Böylece mitokondri membranındaki porlardan sitokrom c başta olmak üzere, Smac, Ca ve AIF salınımı gerçekleşir (Çoskun ve Özgür, 2011).

Smac, apoptoz inhibitörü olan IAP'ı inhibe ederek, kaspaz 3 ve 8'in IAP tarafından inhibe edilmesini engeller. Mitokondriden salınan sitokrom-c, Apaf-1 (Apoptotik Proteaz Aktive eden Faktör) ve ATP'nin birleşimi ile sitozolde Apoptozom olarak adlandırılan bir kompleks oluşur. Apoptozom prokaspaz 9'u keserek aktif hale getirir. Kaspaz 9 ise prokaspaz 3'ü aktifleştirir. Aktifleşen kaspaz 3 ise birlikte inaktif halde bulunan, ICAD (inaktif kaspaz aktive edici DNaz)-CAD (kaspaz aktive edici DNaz) kompleksinden ICAD'i inaktif hale getirerek CAD'in serbest kalmasını sağlar. CAD ise kromatin yoğunlaşmasına ve nükleer fragmentasyona sebep olur (Çoskun ve Özgür, 2011).



Şekil 2.9. Apoptoz iç yolak mekanizması (SABiosciences-Pathway Central)

### 2.4.3. Apoptoz tespitinde kullanılan yöntemler

Hücrede apoptozu belirlemek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Ulukaya, 2003). Bu yöntemler ve bazı özellikleri aşağıda verilmiştir:

#### 1. Morfolojik Yöntemler

##### a. Işık Mikroskobu

- i. Hematoksilen Boyama (en ucuz ve en kolay yöntem olup kromatini boyar, çekirdek morfolojisi değerlendirilir. Boyama neticesinde hücrelerin tamamı ölür.)
- ii. Giemsa Boyama (çekirdek morfolojisi esas alınarak apoptotik hücreler tanımlanır. Hematoksilen boyamaya göre sitoplazma sınırı daha iyi seçilebilmekle birlikte belirgin bir üstünlüğü yoktur. Boyama nedeniyle hücreler ölür.)

##### b. Floresan / Lazerli Konfokal Mikroskop

Hoechst (canlı ve ölü tüm hücreleri boyar) ve Propidium iyodür (sadece ölü hücreleri boyar) birlikte kullanılarak ölü hücreler tespit edilir. Ölü hücrelerin morfolojisi incelenerek de apoptoz değerlendirmesi yapılır.

##### c. Elektron Mikroskobu

Apoptoz değerlendirmesinde en doğru ve detaylı yöntem olması nedeniyle altın standart olarak kabul edilmektedir.



#### d. Faz Kontrast Mikroskobu

Mitoza giden hücreler ile erken evredeki apoptotik hücrelerin karıştırılma riski mevcuttur.

### 2. Histokimyasal Yöntemler

#### a. Anneksin V Yöntemi

Normal koşullarda hücre zarının iç yüzünde bulunan PS, apoptoz nedeniyle erken evrede hücre zarının dış yüzeyine transloke olur. Bu PS'ler floresan boya ile işaretlenmiş Anneksin V kullanılarak apoptotik hücreler tespit edilebilir.

#### b. Tunel Yöntemi

DNA kırıklarının belirlenmesi yardımı ile apoptozun tespiti sağlanır.

#### c. M30 Yöntemi

Sadece sitokeratin 18 bulunan dokularda kullanılabilir. Sitokeratin 18'in kaspazlar etkisiyle kırılan bölgesinin boyanması esasına dayanır.

#### d. Kaspaz 3 Yöntemi

Yöntem aktif kaspaz 3'ün tespitine dayanmaktadır.

### 3. Biyokimyasal Yöntemler

#### a. Agaroz Jel Elektroforezi

Apoptozda DNA, 180 baz çifti yada katları şeklinde kırılır, bu da merdiven görüntüsü oluşturur. Bu durum apoptoz için karakteristik olup, nekrozda gözlenmez.

#### b. Western Blotting

Bu metod ile apoptoza özgü proteinlerin eksprese olup olmadıkları yada kırılıp kırılmadıklarının tespitine dayanmaktadır.

### c. Akım Sitometri

Propidium iyodür ve Annevin V kullanılarak, membran bütünlüğü ve PS'in yardımıyla apoptotik, nekrotik ve canlı hücrelerin tespitine dayanmaktadır. Kolay uygulanabilir ve kantitatif sonuç alınabilmesi nedeniyle kullanışlıdır.

## 4. İmmünolojik Yöntemler

### a. Elisa

- i. DNA fragmantasyonu tespiti ile apoptoz belirlenebilir.
- ii. Yada M30 düzeyinin ölçümü ile apoptoz tespit edilebilir.

### b. Florometrik Yöntem

Kaspaz antikorları kullanılarak kaspaz aktivitesinin tayinine dayanan bir yöntemdir. Floresan şiddetine bağlı olarak kaspaz aktivitesi tespit edilir.

## 5. Moleküler Biyoloji Yöntemleri

### a. DNA Microarrays

Apoptoza özgü genlerin ekspresyon seviyelerine bakılarak tespit edilmesine dayanan bir yöntemdir.

Bu tez çalışması kapsamında, RF alan maruziyetinin apoptoz üzerindeki etkileri, Anneksin V-FITC/PI kullanılarak akım sitometride değerlendirilmiştir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Hızla yaygınlaşan kablosuz iletişim teknolojileri ile birlikte toplumda RF alan maruziyetinden kaynaklı olası sağlık etkileri ile ilgili endişe giderek artmaktadır. RF alan maruziyeti ile ilgili çalışmalarda, deneyin sonucunu doğrudan etkilemesi ve deneyin kalitesini belirlemesi nedeniyle maruziyet sistemi öncelikli öneme sahiptir. Bu tez çalışması kapsamında, ilk olarak *in vitro* RF alan maruziyet sistem tasarımı, bilgisayar ortamında 3D EM alan simülasyonları ile gerçekleştirilmiştir. Tasarım sürecini takiben, sistemin üretimi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra ise üretimi gerçekleştirilen *in vitro* RF alan maruziyet sistemi yardımıyla, insan glioblastoma hücre hattında RF alan maruziyetinin apoptoz ve sinyal iletim yolları üzerine etkisi araştırılmıştır.

Bu bağlamda;

- Hücre proliferasyonu, WST-1 ile Elisa okuyucu'da,
- Apoptoz, Annexin-V-Fitc/PI ile Akım Sitometri'de,
- Apoptotik ve proliferatif yolda görevli genlerin ekspresyonları qRT-PCR ile analiz edilmiştir.

*In vitro* RF alan maruziyet sisteminin tasarımı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında mevcut olan simülasyon bilgisayarları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. RF alan maruziyeti ve tüm biyolojik analizler Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hematoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

### 3.1. Gereç

#### 3.1.1. *İn vitro* RF alan maruziyet sistemi tasarım ve üretiminde kullanılan cihaz ve yazılımlar

Çizelge 3.1. *İn vitro* RF alan maruziyet sistemi tasarımında kullanılan yazılım ve cihazlar

Yazılım ve Cihazlar	Marka
<b>3D EM Alan Simülasyon Yazılımı</b>	SEMCAD X V14.8 (Zürich, İsviçre)
<b>Simülasyon Bilgisayarı – 1 (Hızlandırıcı Donanım: Nvidia Quatro FX 4500)</b>	Markasız
<b>Simülasyon Bilgisayarı – 2 (Hızlandırıcı Donanım: Nvidia Quatro FX 5600)</b>	Markasız

Çizelge 3.2. *İn vitro* RF alan maruziyet sistemi üretiminde kullanılan cihazlar

Cihazlar	Marka / Model
<b>Lazer Kesim Cihazı</b>	BystronicBySpeed 3015 4.4 KW
<b>Abkant Büküm Cihazı</b>	Amada HFB-0 125-3
<b>TIG (Tungsten Inert Gas) Kaynağı</b>	-

Çizelge 3.3. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi üretiminde kullanılan malzemeler

Malzemeler	Marka
Alüminyum Plaka	2 mm, Al-5754
RF Absorber	ETS-Lindgren FL-2250CL
Pleksiglas Plaka	2-5 mm, Markasız
RF Conta -1	Holland Shielding, Clip-on shield 6595
RF Conta -2	Holland Shielding, Standard Shield 700064
Düşük Kayıplı RF Kablo	Amphenol LMR-240
Dipol Anten (68 mm)	Amphenol LMR-240, upTech SMA
RF Konnektörler	upTech (N ve SMA tipi)
RF Kablo Kalkanı	Holland Shielding, Flexible Shielding Tube-4800
Alüminyum Kaplama	Alodin Kaplama
RF Absorber Yapıştırıcı	3M Hi-Strength 90 Sprey Yapıştırıcı
Pleksiglas Yapıştırıcı	Henkel Loctite 3430 Epoksi Yapıştırıcı
Pleksiglas Yalıtım Malzemesi	Henkel, Sista FT101

### 3.1.2. Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan kimyasallar ve cihazlar

#### Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan kimyasallar

Çizelge 3.4. Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan kimyasallar

Kimyasallar	Marka
<b>DMEM</b>	Life Tech (Gibco)
<b>200 mM L-Glutamine</b>	Life Tech (Gibco)
<b>Penicillin-Streptomycin</b>	Life Tech (Gibco)
<b>0.25% Trypsin-EDTA (1X)</b>	Life Tech (Gibco)
<b>FBS (Cert, USA Origin)</b>	Life Tech (Gibco)
<b>PBS</b>	Lonza

#### Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan kitler

Çizelge 3.5. Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan kitler

Kitler	Marka
<b>Cell Proliferation Reagent WST-1</b>	Roche (İsviçre)
<b>FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit-I</b>	BD Pharmingen (Amerika)
<b>High Pure RNA Isolation Kit</b>	Roche (İsviçre)

## Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan cihazlar

Çizelge 3.6. Hücre kültürü çalışmalarda kullanılan cihazlar

Cihazlar	Marka
CO2 İnkübatörü	Nüve EC 160 <sup>2</sup>
CO2 İnkübatörü	Memmert
Laminar Flow	Esco
Kantitatif Real-time PCR	Roche LightCycler 480 Instrument II
Akım Sitometri	BD FACSCalibur

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi tasarımı

*In vitro* Maruziyet Sisteminin tasarımı bilgisayar ortamında gerçekleştirilmiştir. Bunun için Maxwell denklemlerinin diferansiyel şeklinin merkezi fark denklemleri ile değiştirilip zaman ve konumda sayısallaştırılmasına dayanan Zamanda Sonlu Farklar (Finite Difference Time Domain, FDTD) tabanlı SEMCAD X üç boyutlu tam dalga simülasyon yazılımı kullanılmıştır. Bu amaçla iki adet simülasyon bilgisayarı ve iki farklı hızlandırıcı donanım kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Simülasyon ve optimizasyon çalışmaları dahil olmak üzere farklı koşullar için yaklaşık 7000 adet simülasyon gerçekleştirilmiştir.

<sup>2</sup> İnkübatör, içerisine kablo giriş/çıkışının gerçekleştirilebilmesi için özel üretilmiştir.

### Tasarım Parametreleri (Ön kabuller ve Temel parametreler)

- Maruziyet sisteminin çalışma frekansı olarak 1800 MHz ve 2100 MHz seçilmiştir.
- Dipol anten ( $\lambda/2$ ) tabanlı bir maruziyet sisteminin geliştirilmesi öngörülmüştür.
- Maruziyet sistemi CO2 inkübatörü içerisine sığacak boyutlarda tasarlanmıştır.
- Maruziyet sistemi içerisinde hava akışının sağlanabilmesi için hava kanallarının bulunmasına, fakat bu hava kanallarından RF alan sızıntısının minimum düzeyde tutulmasına özen gösterilmiştir.
- RF alan homojenitesinin yüksek olması için özen gösterilmiştir.
- Küçük boyutları nedeniyle alan homojenitesi için daha uygun olan 35 mm'lik petrilere uygun olarak tasarım gerçekleştirilmiştir.
- Dış alan kaynaklarının, maruziyet sistemi içerisine sızmasına dikkat edilmiştir.
- Maruziyet sistemi içerisindeki yansılardan kaynaklı RF alan homojenitesinin minimum düzeyde etkilenmesine özen gösterilmiştir.
- Birim güç başına elde edilen SAR değerinin, (SAR Veriminin) yüksek olmasına dikkat edilmiştir.
- Aynı anda çok sayıda örneğe maruziyet uygulayabilmek için Hacim veriminin yüksek olmasına dikkat edilmiştir.
- Çevre koşulları (CO2, nem, ısı) ve RF alanın mümkün olduğunca homojen dağılım göstermesi için, RF alan maruziyet sisteminin sade ve minimalist bir yapıda tasarlanmasına özen gösterilmiştir.
- Maruziyet sisteminin kolayca temizlenebilecek ve sterilize edilebilecek yapıda olmasına özen gösterilmiştir.

İn vitro RF alan maruziyet sisteminin tasarımı için, “Tasarım Simülasyonları (9 simülasyon paketi)” ve “Üretim Öncesi Optimizasyon Simülasyonları” olmak üzere 2 aşamalı simülasyon yöntemi kullanılmıştır.

Tasarım Simülasyonları'nda herbir aşama bir “simülasyon paketi” olarak tanımlanmış olup 9 simülasyon paketi içermektedir. Her simülasyon aşamasında farklı parametrelerin SAR değerine ve alan homojenitesine etkileri değerlendirilmiş ve bir sonraki simülasyon koşulları bir önceki simülasyonun sonucuna göre belirlenmiştir. Örneğin 1800 MHz frekansla başlanılan simülasyon çalışmaları, 2100 MHz ile sürdürülmüş ve sistem üretiminde bu frekans referans alınmıştır.



*İn vitro* RF alan maruziyet sisteminin tasarımında takip edilen simülasyon aşamaları (paketleri) sırasıyla aşağıda verilmiştir:

- i. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; tek bir petri için, dipol anten merkezinden *yataydaki uzaklık değişimine bağlı olarak*, kabin içermeyen durum için incelendi.
- ii. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; tek bir petri için, dipol anten merkezinden *dikey konumdaki uzaklık değişimine bağlı olarak*, kabin içermeyen durum için incelendi.
- iii. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; tek bir petri için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yataydaki uzaklık değişimine bağlı olarak* incelendi.
- iv. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; tek bir petri için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak*, incelendi.
- v. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; 3 petrinin olduğu durum için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak*, incelendi.
- vi. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; 4 petrili, tek katlı petrilerin kabinin köşesinde bulunduğu durum için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak*, incelendi.
- vii. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; 4 petrili, tek katlı petrilerin kabinin kenarında bulunduğu durum için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak*, incelendi.
- viii. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; 4 petrili ve çift katlı durum için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak*, petrilerin kabinin kenarlarında yada köşelerde buldukları koşullar ayrı ayrı incelendi.
- ix. 2100 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; 4 petrili ve çift katlı durum için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak*, petrilerin kabin kenarlarında bulunduğu durum için incelendi.

## Üretim Öncesi Optimizasyon Simülasyonları

Kabin boyutları ve Petri tutucular için en performanslı model, konum, boyutlar ile, alt ve üst kısımlardaki hava boşluklarının boyutlarının belirlenebilmesi için Optimizasyon çalışmaları gerçekleştirildi.

### **3.2.2. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi üretiminde kullanılan yöntemler**

Maruziyet sisteminin üretiminde alüminyum levhalar, lazer kesim cihazı ile uygun boyutta kesilmiş, abkant büküm cihazı ile uygun şekiller verilmiş ve Tig Kaynağı kullanılarak alüminyum malzemeler birbirlerine kaynaklanmıştır (Çizelge 3.2). Üretim ve montaj aşamasında kullanılan malzemeler Çizelge 3.3'te yer almaktadır.

### **3.2.3. Hücre kültürü**

Gliomalar, nöronları çevreleyen ve destek görevi gören glial hücrelerden köken alan habis beyin tümörleridir. U-118 MG de bir glioma olup Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2007 yılında, en agresif tümörlerin sınıflandırıldığı grup olan grade 4 olarak sınıflandırılmıştır.

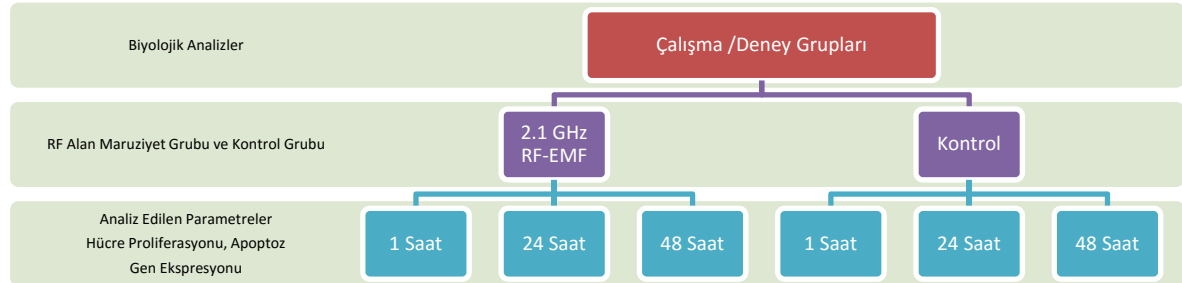
U-118 MG hücre hattı, 50 yaşındaki Kafkas kökenli bir erkekte elde edilmiştir. Morfolojisi karışık olup, hem glioblastoma hem de astrositoma hücreleri içermektedir. Farklı kaynaklardan elde edilmelerine rağmen U-138 MG hücre hattı ile büyük benzerlikler göstermektedir.

U-118 MG (HTB-15), insan glioblastoma hücre hattı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmunoloji Anabilim Dalında Prof. Dr. Ümit Bağrıaçık'tan temin edilmiştir. Hücre hattı, %10 Föetal Sığır Serum (FBS, Gibco), 100 µgr/ml penisilin ve 100 µgr/ml streptomisin içeren Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) besiyerinde kültüre edilmiştir.

### **3.2.4. Hücre kültürü için RF alan maruziyet protokolü**

2.1 GHz frekanslı RF alan maruziyetinin, U-118 MG insan glioblastoma hücre hattı üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla (i) kontrol, (ii) 1-saat maruziyet, (iii) 24-saat maruziyet, ve (iv) 48-saat maruziyet olmak üzere 4 farklı grup çalışılmıştır. Her grup için

RF maruziyet sonrası hücre proliferasyonu, apoptoz ve gen ifadenme düzeyleri incelenmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. 2.1 GHz frekanslı RF alan deney maruziyet grupları

RF alan maruziyet protokolü aşağıdaki verilmiştir:

- U-118 MG insan glioblastoma hücre hattı, 35 mm hücre kültür kaplarına, her kültür kabına  $2,5 \times 10^5$  hücre olacak şekilde eşit sayıda ekim yapıldı.
- Daha sonra hücreler, hücre kültür kabına yapışmaları ve strese girip, apoptoza gitmemeleri için CO<sub>2</sub> inkübatörde (37° C, %5 CO<sub>2</sub>, %95 nem) 24 saat süre ile inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon süresinin sonunda, 8 adet 35 mm hücre kültür kaplarına, eş zamanlı olarak 2.1 GHz, 3G modülasyonlu RF alan maruziyeti 1/24/48 saat süre ile uygulanmıştır.
- Maruziyet sonrası, hücreler eş zamanlı olarak in vitro RF alan maruziyet sisteminden çıkarılmıştır.
- Daha sonra hücreler, tripsin ile kaldırılarak falkon tüplerine alınmıştır.
- Falkon tüplere alınan hücrelerin üzerlerine PBS eklenerek 1200 devir/dakika'da santirüj edilip üst sıvısı uzaklaştırılmıştır.
- Pelet üzerine DMEM eklenerek hücre süspansiyonu hazırlanmış ve gerçekleştirilecek deneylere uygun biyolojik protokoller uygulanmıştır.

Hücrelerin RF alan maruziyetinden kaynaklı SAR değerleri, SEMCAD X V14.8 üç boyutlu EM alan simülasyon yazılımı kullanılarak tespit edilmiştir. Simülasyonda kullanılan malzemelerin dielektrik özellikleri aşağıda Çizelge 3.7.'de verilmektedir (Schuderer ve diğerleri, 2004).

Çizelge 3.7. Simülasyonda kullanılan malzemelere ilişkin dielektrik özellikler

	$\epsilon_r$	$\sigma$ (S/m)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )
<b>DMEM</b>	71	2.5	1000
<b>Pleksiglas</b>	2.5	0.001	1100
<b>RF Soğurucu</b>	2.3	0,76	70

2100 MHz frekanslı RF alan uygulamasından kaynaklı kültür hücrelerinin maruz kaldıkları 1 gr ortalama SAR değeri  $1,12 \pm 0,18$  W/kg olarak tespit edilmiştir.

### 3.2.5. Hücre canlılığı tespiti: WST-1 yöntemi

U-118 MG hücre hattında 2.1 GHz RF alan maruziyetinin hücre canlılığı üzerine etkileri Hücre Proliferasyon Reaktif WST-1 ile ELISA okuyucuda tespit edilmiştir.

- U-118 MG insan glioblastoma kültür hücreleri, 96 kuyucuklu, düz tabanlı, mikropiplaklar içine her kuyucuğa, son hacmi 100  $\mu$ l olacak şekilde  $1 \times 10^4$  hücre ekildi. Nemli ortamda bekletildi (37°C, %5 CO<sub>2</sub>).
- Her kuyucuğa 10  $\mu$ l/kuyucuk olacak şekilde, WST-1 eklendi.
- Hücreleri nemli bir atmosferde (37°C, %5 CO<sub>2</sub>), 4 saat süre ile inkübe edildi.
- Süre bitiminde, bir çalkalayıcı üzerinde 1 dakika boyunca iyice çalkalandı.
- Örneklerin absorbansı ELISA okuyucu kullanılarak ölçüldü. (450 nm, Referans dalga boyu 620 nm).

### 3.2.6. Apoptoz tespiti : Anneksin V-FITC/PI yöntemi

U-118 MG hücre hattında, 2.1 GHz RF alan maruziyetinin apoptoz üzerine etkileri FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit kullanılarak, akım sitometride tespit edilmiştir.

- Hücreler 2 kere soğuk PBS ile yıkandı, daha sonra konsantrasyon  $1 \times 10^6$  hücre/ml olacak şekilde Bağlama Tamponu (binding buffer) eklenerek süspansiyon oluşturuldu.
- 5 ml'lik bir kültür tüpüne, 100  $\mu$ l çözelti ( $1 \times 10^5$  hücre olacak şekilde) aktarıldı.
- Daha sonra 5  $\mu$ l FITC Annexin V ve 5  $\mu$ l PI eklendi.

- Hücreler hafifçe vortekslenip, oda sıcaklığında (25°C) karanlık bir ortamda 15 dakika boyunca inkübe edildi.
- Her tüpe 400 µl Bağlama tamponu eklendi ve 1 saat içinde akım sitometri ile analiz edildi.

### 3.2.7. Apoptotik ve proliferatif gen ekspresyonları

#### Hücre kültüründen Total RNA izolasyonu

2.1 GHz RF alan maruziyeti uygulanan, U-118 MG insan glioblastoma hücrelerinde, RNA izolasyonu, “High Pure RNA Isolation Kit” kullanılarak, aşağıda yazılı olan protokole uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Kontaminasyonun engellenmesi amacı ile saflaştırma işleminin tüm aşamaları biyogüvenlik kabininin içinde gerçekleştirilmiştir.

- Hücrelerin üzerine 200 µL soğuk PBS ve 400 µL Lizis tamponu eklenip 15 saniye vortekslendi.
- Filtre, toplama tüpüne yerleştirilip tüm karışım filtre üstüne aktarıldı.
- Tüp 9000 rpm’de 45 saniye santrifüj edilerek, toplama tüpünde toplanan sıvı atılıp filtre aynı tüpe tekrar yerleştirildi.
- Her bir örnek için 90 µL DNaz inkübasyon tamponu steril tüpe alındı ve 10µL DNaz I eklenerek, pipetaj ile karıştırıldıktan sonra karışım filtrenin ortasına bırakıldı. 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 500 µL’lik 1. yıkama çözeltisi filtre üzerine eklendi ve tekrar 9000 rpm’de 15 saniye santrifüj edildi. Filtre altında toplanan kısım atıldıktan sonra aynı toplama tüpü içerisine yerleştirildi.
- 500 µL’lik 2. yıkama çözeltisi filtre üzerine eklendi ve 9000 rpm’de 45 saniye santrifüj edildi. Filtre altında toplanan kısım atıldıktan sonra aynı toplama tüpü içerisine yerleştirildi.
- 200 µL’lik 3. yıkama çözeltisi filtre üzerine eklendi ve 13500 rpm’de 3 dk santrifüj edildi.
- Toplama tüpü atılarak, filtreli tüp, steril 1.5 ml’lik mikrosantrifüj tüpü içine yerleştirildi. Filtre üzerine 20-40 µL seyreltme çözeltisi eklendi ve 9000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Elde edilen RNA’ların miktarları ve saflığı “NanoDrop ND-2000 Spektrofotometre” cihazında ölçülerek RT-PCR’da kullanılabilecek kadar -80 °C derin dondurucuda saklandı.

### Tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezi (RT-PCR)

Hücreden RNA izolasyon protokolü ile elde edilen RNA'lar spektrofotometre'de (NanoDrop, ND-2000, ThermoScientific, ABD) 260/280 nanometre (nm) dalga boyunda ölçülerek mikrolitredeki mikrogram değerleri belirlendikten sonra, primer olarak Random Hekzamerler kullanılarak cDNA sentez kiti ile total RNA'dan cDNA sentezi gerçekleştirildi. cDNA sentezi sırasında kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.8'de verilmiştir. cDNA sentezi için Reverse Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) karışımı ince çeperli 0.2 ml'lik tüplere dağıtıldıktan sonra saflaştırılan total RNA üzerlerinde eklendi.

Çizelge 3.8. cDNA RT-PCR tepkime karışımı

	Son konsantrasyon	Hacim
Steril H <sub>2</sub> O-PCR grade	-	RNA miktarına göre değişken
Reaksiyon Tamponu	1x (8mM MgCl <sub>2</sub> )	4 µl
dNTP	1mM	2 µl
Random hegzamer primeri	60 µM	2 µl
RNaz inhibitörü	20 ünite	0.5 µl
Ters Transkriptaz	10 ünite	0,5 µl
Total RNA	1 µg	1 µg olacak şekilde

### RT-PCR protokolü

#### *RT-PCR için otomatik ısı döngüsü programı*

Otomatik ısı döngü cihazı, Çizelge 3.9'da belirtilen programa ayarlanarak elde edilen RNA'lardan cDNA sentezi elde edildi. Reaksiyon sonucunda elde edilen cDNA örnekleri Real-Time PCR'da kullanılmaya kadar -20°C'lik derin dondurucuda saklandı.

Çizelge 3.9. Otomatik ısı döngü cihazında uygulanan program

	Sıcaklık	Zaman	Döngü sayısı
Primer Bağlanması	25 °C	10 dk	1 döngü
Ters transkripsiyon	50 °C	60 dk	1 döngü
İnaktivasyon	85 °C	5 dk	1 döngü
Soğutma	4 °C	-	1 döngü

### Gen ifade düzeylerinin real-time PCR ile değerlendirilmesi

*CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *BAX*, *CYCD1*, *c-MYC* ve *c-FOS* genlerinin mRNA ifadesinin kantitatif değerlendirmesi Real-time PCR yöntemi ile Light Cycler 480™ (LC) cihazı kullanılarak belirlendi. Amplifikasyonlar 10 µl toplam tepkime hacmi içerisinde, cDNA, mRNA'ya özgü primerler, UPL probu ve LC TaqMan Master karışımı kullanılarak gerçekleştirildi. *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *BAX*, *CYCD1*, *c-MYC* ve *c-FOS* gen ifadenme miktarlarını normalize etmek için elde edilen cDNA örnekleri, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*) genine özgü primer ve UPL TaqMan probu kullanıldı ve *GAPDH* mRNA düzeyi referans olarak alındı. Seçilen genler ile ilgili özgün primer ve UPL prob listesi Çizelge 3.10'da verilmiştir. Kullanılan problemler Roche Diagnostic'ten temin edilmiştir. Tüm cDNA örnekleri her bir gen için en az üçer kez çalışılmıştır.

Çizelge 3.10. Gene özgü primer dizileri ve prob numaraları

Gen adı	Forward Primer	Reverse Primer	UPL Prob Numarası
<i>GAPDH</i>	5'- AGCCACATCGCTCAGACAC -3'	5'- GCCCAATACGACCAAATCC -3'	60
<i>CASP3</i>	5'- TGGAATTGATGCGTGATGTT -3'	5'- TGGCTCAGAAGCACACAAAC -3'	68
<i>CASP8</i>	5'-TCCAAATGCAAACCTGGATGA -3'	5'- TCCCAGGATGACCCTCTTCT -3'	62
<i>CASP9</i>	5'-CCATATGATCGAGGACATCCA-3'	5'-GACTCCCTCGAGTCTCCAGAT-3'	27
<i>BCL2</i>	5'- AGTACCTGAACCGGCACCT -3'	5'- GCCGTACAGTTCCACAAAGG -3'	75
<i>BAX</i>	5'- ATGTTTTCTGACGGCAACTTC -3'	5'- ATCAGTTCCGGCACCTTG -3'	57
<i>CYCD1</i>	5'- TGTCCACTACCGCCTCACA -3'	5'- CAGGGCTTCGATCTGCTC -3'	16
<i>c-MYC</i>	5'- GCTGCTTAGACGCTGGATTT -3'	5'- CACCGAGTCGTAGTCGAGGT -3'	75
<i>c-FOS</i>	5'- ACTACCACTCACCCGCAGAC -3'	5'- CCAGGTCCGTGCAGAAGT -3'	67

*CASP3, CASP8, CASP9, BCL2, BAX, CYCD1, c-MYC, c-FOS* ve *GAPDH* genleri için *real-time PCR* tepkime karışımı

*CASP3, CASP8, CASP9, BCL2, BAX, CYCD1, c-MYC, c-FOS* ve *GAPDH* genlerine uygun verilen primer ve probler kullanılarak *Real-time PCR* tepkimesi LC cihazında gerçekleştirildi. Tepkime karışımını hazırlamak için kullanılan bileşenler Çizelge 3.11’de verilmiştir.

Çizelge 3.11. *CASP3, CASP8, CASP9, BCL2, BAX, CYCD1, c-MYC, c-FOS* ve *GAPDH* *Real-time PCR* tepkime karışımı

	Son konsantrasyon	Hacim
dH <sub>2</sub> O	-	6.2 µL
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	4 mM	1.2 µL
Primer F (10 pmol/µl)	2.5 pmol	0.25 µL
Primer R (10 pmol/µl)	2.5 pmol	0.25 µL
TaqMan prob (100 pmol/µl)	10 pmol	0.1 µL
LC TaqMan karışımı (10x)	1x	1 µL
cDNA	-	1 µL

### Light-Cycler (LC) Deney Programı

*Real-time PCR* karışımları hazırlandıktan sonra kapiller tüplere dağıtıldı ve üzerine cDNA’lar eklendi. Kapiller tüpler 3000 rpm’de 10 sn santrifüj edildi. Tüpler cihaza yerleştirildikten sonra LC cihazında Çizelge 3.12’de belirtilen amplifikasyon programı kullanılarak *PCR* tepkimesi gerçekleştirildi. *CASP3, CASP8, CASP9, BCL2, BAX, CYCD1, c-MYC, c-FOS* ve *GAPDH* genleri için aynı *PCR* programı kullanıldı.



Çizelge 3.12. *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *BAX*, *CYCD1*, *c-MYC*, *c-FOS* ve *GAPDH* genlerinin ifade düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan Real Time PCR tepkime programı

Program 1. Ayrılma (Denatürasyon)			
Program Verisi	Değer		
Döngüler	1		
Analiz Modu	-		
Sıcaklık Hedefleri	Kısım 1		
Hedef Sıcaklık (°C)	95		
İnkübasyon zamanı (s:dk:sn)	10:00 dk		
Sıcaklık Geçiş Hızı (°C/sn)	20.0		
Program 2. Primer Bağlanması ve Uzama (Hibridizasyon ve Polimerizasyon)			
Program Verisi	Değer		
Döngüler	50		
Analiz Modu	Çoğalma		
Sıcaklık Hedefleri	Kısım 1	Kısım 2	
Hedef Sıcaklık (°C)	95	60	
İnkübasyon zamanı (s:dk:sn)	10 sn	20 sn	
Sıcaklık Geçiş Hızı (°C/sn)	20.0	10.0	
Program 3. Soğutma			
Program Verisi	Değer		
Döngüler	1		
Analiz Modu	-		
Sıcaklık Hedefleri	Kısım 1		
Hedef Sıcaklık (°C)	40		
İnkübasyon zamanı (s:dk:sn)	30 sn		
Sıcaklık Geçiş Hızı (°C/sn)	20.0		

Reaksiyon sonucu deney gruplarına ait *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *BAX*, *CYCD1*, *c-MYC*, *c-FOS* ve *GAPDH* genlerinin mRNA ifade düzeylerini gösteren Crossing point (Cp) değerleri kullanılarak Pfaffl ve karşılaştırmalı CT matematiksel metodları ile gruplar arasında mRNA ifade düzeylerindeki değişimler belirlendi. *GAPDH* mRNA düzeyi *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *BAX*, *CYCD1*, *c-MYC* ve *c-FOS* gen ifade düzeylerini normalize etmek amacı ile kullanıldı.

### 3.2.8. İstatistiksel analiz

İstatistik değerlendirme, hücre proliferasyonu ve apoptoz için Mann-Whitney testi ile, gen ekspresyonu çalışmaları içinse Karşılaştırmalı CT ( $\Delta\Delta Ct$ ) yöntemi kullanılarak  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  formülü (Livak, 2001) ile hesaplanmıştır.  $p < 0.05$ 'ten küçük olan değerler anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ile gösterilmektedir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. *In vitro* RF Alan Maruziyet Sistemine İlişkin Simülasyon Bulguları

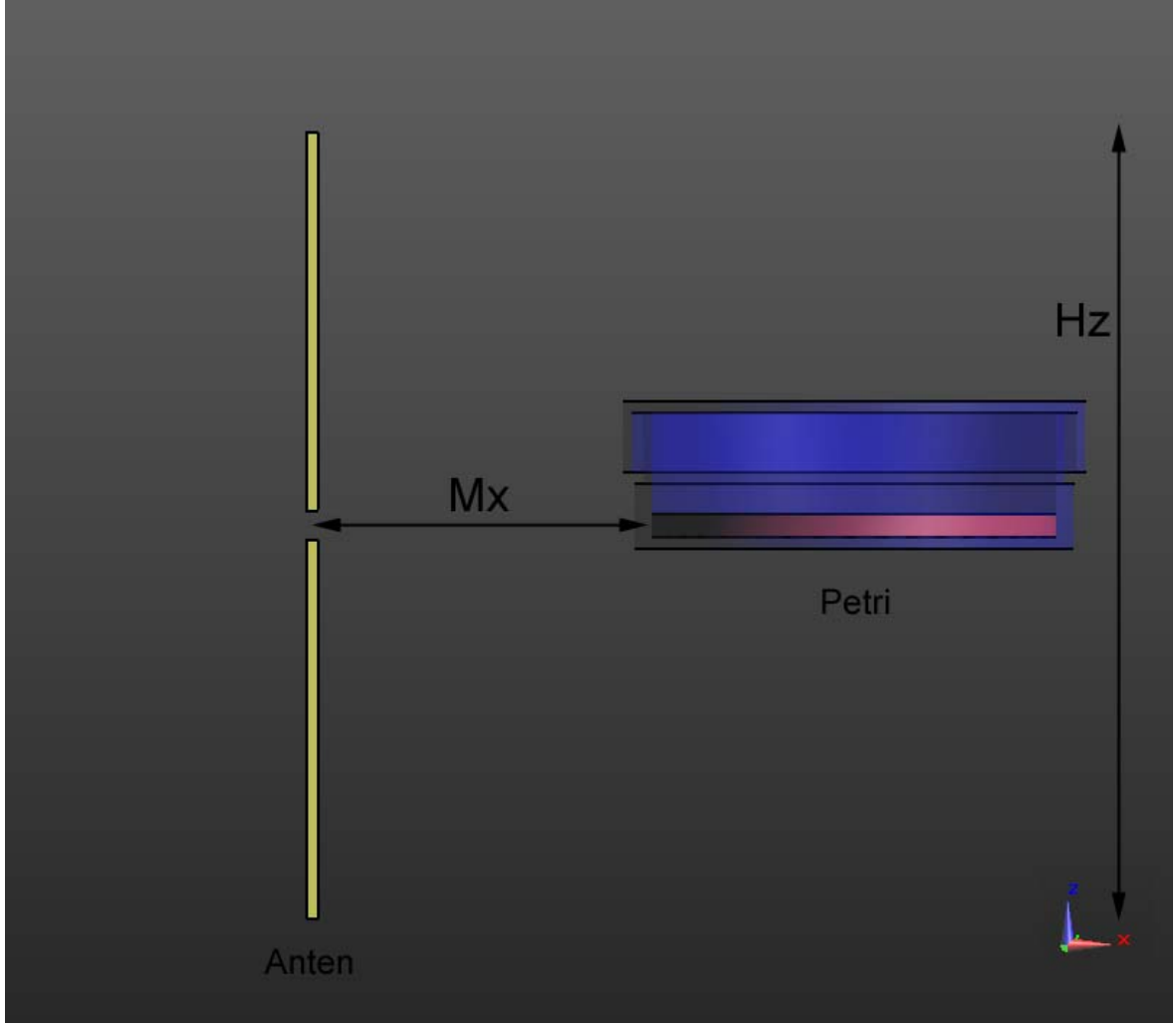
*In vitro* RF Alan Maruziyet Sistemine İlişkin Simülasyon çalışmaları iki aşamada gerçekleştirilmiştir;

- *Tasarım simülasyonları*
- *Optimizasyon simülasyonları*

*Tasarım Simülasyonları* 'nda her bir aşama bir "*simülasyon paketi*" olarak tanımlanmış olup 9 simülasyon paketi içermektedir (Sayfa 53). Bu paketlere ait simülasyon koşulları, SAR ve alan homojenitesine etkileri değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler dikkate alınarak bir sonraki "*simülasyon paketi*" için uygun parametreler belirlenmiştir.

Tasarım simülasyonlarını takip eden aşamada "*Üretim Öncesi Optimizasyon Simülasyonları*" gerçekleştirilmiştir.

Her simülasyon aşaması ile ilgili koşullar ve incelenen parametreler, o aşamanın başında tablo şeklinde verilmiştir. Ayrıca tablolarda 3 boyutlu konum bilgisini verebilmek için (Mx Hz) şeklinde bir gösterim kullanılmış olup, burada M boyutu, x (yatay konumda cm cinsinden) koordinatı, H boyutu, z (dikey konumda cm cinsinden) koordinatı göstermektedir (Şekil 4.1). Orijin noktası (0,0) olarak, dipol antenin dikey ve yatay konumdaki merkezi seçilmiştir. Belirtilen mesafeler bu orijin noktasından, petrinin en yakın kısmına olan uzaklığı göstermektedir.



Şekil 4.1. Simülasyon aşamasında kullanılan koordinat sistemi

Simülasyon boyutları, simülasyon koşullarına bağlı olarak 40 ila 125 milyon voksel arasında değişim göstermektedir. SAR değerleri, anten giriş gücünün 1 watt'a normalize edilmesi ile elde edilmiştir. *In vitro* RF alan maruziyet sisteminin tasarımı için kullanılan 10 aşamalı simülasyon paketine ilişkin bulgular aşağıda verilmektedir.

Bir sonraki bölümde çizelgelerde verilen,

- $\pm 3\text{dB} = 2$  katı artış/azalış
- $\pm 5\text{dB} = 3.16$  katı artış/azalış
- $\pm 0.025\text{dB} = 1$  katı artış/azalış

anlamına gelmektedir. Alan homojenitesindeki değişim, bu dB değerleri içindeki hacim yüzdesi olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1. Tasarım simülasyonları

- i. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; tek bir petri için, dipol anten merkezinden *yataydaki uzaklık değişimine bağlı olarak*, kabin içermeyen durum için incelendi.

Çizelge 4.1. Simülasyon paketi i. için incelenen koşullar

Frekans (MHz)	Petri Konumu	Sistemdeki Kat Sayısı	Kattaki Petri Sayısı	İncelenen Durum
<input checked="" type="checkbox"/> 1800	<input checked="" type="checkbox"/> Kabinsiz	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Katlı	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Petri	<input checked="" type="checkbox"/> Yatay Uzaklık
<input type="checkbox"/> 2100	<input type="checkbox"/> Kabinli	<input type="checkbox"/> 2 Katlı	<input type="checkbox"/> 3 Petri	<input type="checkbox"/> Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Kenar Ortasında		<input type="checkbox"/> 4 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay/Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Köşede			

Çizelge 4.2. Simülasyon paketi i. için hesaplanan değerler

Konum	SAR (W/kg)	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
<b>M1 H0</b>	0,119	44,89	65,74	0,44
<b>M2 H0</b>	0,064	51,32	73,75	0,49
<b>M3 H0</b>	0,042	54,49	77,41	0,52
<b>M4 H0</b>	0,030	57,20	79,42	0,53
<b>M5 H0</b>	0,022	59,01	80,73	0,60
<b>M6 H0</b>	0,017	60,35	81,82	0,64
<b>M7 H0</b>	0,014	61,74	82,80	0,47
<b>M8 H0</b>	0,011	63,08	83,70	0,48
<b>M9 H0</b>	0,009	64,35	84,54	0,45
<b>M10 H0</b>	0,008	65,22	85,33	0,44

Petrinin yatay konumda antene en yakın olduğu durum (M1 H0) için, SAR değeri diğer durumlara kıyasla en yüksek seviyede, alan homojenitesi en düşük seviyede bulunmuştur. Antene yaklaştıkça SAR değeri artarken, alan homojenitesinde bozulma gözlenmektedir.

- ii. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; tek bir petri için, dipol anten merkezinden *dikey konumdaki uzaklık değişimine bağlı olarak*, kabin içermeyen durum için incelendi.

Çizelge 4.3. Simülasyon paketi ii. için incelenen koşullar

Frekans (MHz)	Petri Konumu	Sistemdeki Kat Sayısı	Kattaki Petri Sayısı	İncelenen Durum
<input checked="" type="checkbox"/> 1800	<input checked="" type="checkbox"/> Kabinsiz	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Katlı	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay Uzaklık
<input type="checkbox"/> 2100	<input type="checkbox"/> Kabinli	<input type="checkbox"/> 2 Katlı	<input type="checkbox"/> 3 Petri	<input checked="" type="checkbox"/> Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Kenar Ortasında		<input type="checkbox"/> 4 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay/Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Köşede			

Çizelge 4.4. Simülasyon paketi ii. için hesaplanan değerler

Konum	SAR (W/kg)	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
M3 H0	0,042	54,49	77,41	0,52
M3 H1	0,177	59,48	92,36	0,55
M3 H2	0,487	73,83	94,16	0,79
M3 H3	0,757	79,08	95,13	0,79
M3 H4	0,824	82,84	96,46	0,80
M3 H5	0,708	85,77	97,52	0,82

Antenin merkezinden, uçlarına doğru ilerlerken hem SAR hem de alan homojenitesinde artış gözlenmektedir. Antenin uç kısmından daha yükseğe çıkıldığında ise SAR değeri azalmaya başlamaktadır.

- iii. 1800 MHz frekans'ta *SAR* ve alan homojenitesindeki değişim; tek bir petri için, metal kabinin kenar ortasında bulunan dipol anten merkezinden yataydaki uzaklık değişimine bağlı olarak incelendi.

Çizelge 4.5. Simülasyon paketi iii. için incelenen koşullar

Frekans (MHz)	Petri Konumu	Sistemdeki Kat Sayısı	Kattaki Petri Sayısı	İncelenen Durum
<input checked="" type="checkbox"/> 1800	<input type="checkbox"/> Kabinsiz	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Katlı	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Petri	<input checked="" type="checkbox"/> Yatay Uzaklık
<input type="checkbox"/> 2100	<input checked="" type="checkbox"/> Kabinli	<input type="checkbox"/> 2 Katlı	<input type="checkbox"/> 3 Petri	<input type="checkbox"/> Dikey Uzaklık
	<input checked="" type="checkbox"/> Kenar Ortasında		<input type="checkbox"/> 4 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay/Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Köşede			

Çizelge 4.6. Simülasyon paketi iii. için hesaplanan değerler

Konum	SAR (W/kg)	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
<b>M2 H0</b>	0,090	40,47	67,29	0,30
<b>M3 H0</b>	0,076	40,53	67,57	0,37
<b>M4 H0</b>	0,066	42,59	69,47	0,34
<b>M5 H0</b>	0,057	47,15	74,10	0,36
<b>M6 H0</b>	0,050	56,03	83,95	0,51

Bir metal kabin içerisinde bulunan petri içindeki numunede, kabinsiz duruma (Çizelge 4.2'ye) kıyasla daha yüksek *SAR* değerleri gözlenmiştir. Fakat alan homojenitesinin Çizelge 4.2'ye kıyasla azaldığı gözlenmiştir.

- iv. 1800 MHz frekans'ta *SAR* ve alan homojenitesindeki değişim; tek bir petri için, metal kabinin kenar ortasında bulunan dipol anten merkezinden yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak incelendi.

Çizelge 4.7. Simülasyon paketi iv. için incelenen koşullar

Frekans (MHz)	Petri Konumu	Sistemdeki Kat Sayısı	Kattaki Petri Sayısı	İncelenen Durum
<input checked="" type="checkbox"/> 1800	<input type="checkbox"/> Kabinsiz	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Katlı	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay Uzaklık
<input type="checkbox"/> 2100	<input checked="" type="checkbox"/> Kabinli	<input type="checkbox"/> 2 Katlı	<input type="checkbox"/> 3 Petri	<input type="checkbox"/> Dikey Uzaklık
	<input checked="" type="checkbox"/> Kenar Ortasında		<input type="checkbox"/> 4 Petri	<input checked="" type="checkbox"/> Yatay/Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Köşede			

Çizelge 4.8. Simülasyon paketi iv. için hesaplanan değerler

Konum	SAR (W/kg)	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
M2 H0	0,090	40,47	67,29	0,30
M2 H1	0,193	67,14	90,91	0,52
M2 H2	0,660	72,25	92,00	0,78
M2 H3	1,124	77,26	93,34	0,78
M2 H4	1,197	82,22	95,04	0,84
M3 H0	0,076	40,53	67,57	0,36
M3 H1	0,086	70,99	90,84	0,67
M3 H2	0,292	73,72	93,56	0,74
M3 H3	0,546	78,86	94,58	0,84
M3 H4	0,685	82,98	95,87	0,82
M4 H0	0,066	42,59	69,48	0,34
M4 H1	0,046	70,19	88,76	0,69
M4 H2	0,143	73,42	94,24	0,67
M4 H3	0,295	77,64	94,97	0,85
M4 H4	0,420	81,73	96,06	0,81
M5 H0	0,057	47,15	74,10	0,36
M5 H1	0,029	58,55	83,95	0,65
M5 H2	0,072	72,65	94,56	0,56
M5 H3	0,164	75,17	95,15	0,74
M5 H4	0,260	79,62	96,22	0,83
M6 H0	0,050	56,03	83,95	0,51
M6 H1	0,021	49,84	75,50	0,40
M6 H2	0,036	72,92	93,76	0,87
M6 H3	0,088	72,61	96,05	0,64
M6 H4	0,156	77,36	97,19	0,75

Daha önceki simülasyonlar ile uyumlu olarak en yüksek SAR değeri ve alan homojenitesi (M2 H4), petrinin yatayda antene en yakın olduğu, dikeyde ise antenin uç kısmına yakın yükseklikte bulunduğu konumda tespit edilmiştir.



- v. 1800 MHz frekans'ta SAR ve alan homojenitesindeki değişim; 3 petrili durum için, metal kabinin kenar ortasında bulunan dipol anten merkezinden yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak incelendi.

Çizelge 4.9. Simülasyon paketi v. için incelenen koşullar

Frekans (MHz)	Petri Konumu	Sistemdeki Kat Sayısı	Kattaki Petri Sayısı	İncelenen Durum
<input checked="" type="checkbox"/> 1800	<input type="checkbox"/> Kabinsiz	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Katlı	<input type="checkbox"/> 1 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay Uzaklık
<input type="checkbox"/> 2100	<input checked="" type="checkbox"/> Kabinli	<input type="checkbox"/> 2 Katlı	<input checked="" type="checkbox"/> 3 Petri	<input type="checkbox"/> Dikey Uzaklık
	<input checked="" type="checkbox"/> Kenar Ortasında		<input type="checkbox"/> 4 Petri	<input checked="" type="checkbox"/> Yatay/Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Köşede			

Çizelge 4.10. Simülasyon paketi v. için hesaplanan değerler

Petri No	Konum	SAR	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
1	<b>M2 H3</b>	0,971	77,54	93,87	0,78
2		0,974	77,50	93,81	0,79
3		0,968	77,48	93,73	0,89
Ortalama		0,971	77,49	93,80	0,78
1	<b>M2 H4</b>	1,040	82,99	95,72	0,85
2		1,049	83,01	95,52	0,83
3		1,042	83,00	95,47	0,81
Ortalama		1,043	83,00	95,56	0,82
1	<b>M3 H3</b>	0,516	79,61	95,16	0,92
2		0,524	79,64	95,03	0,72
3		0,522	79,59	95,07	0,80
Ortalama		0,521	79,61	95,10	0,78
1	<b>M3 H4</b>	0,651	83,54	96,42	0,81
2		0,669	83,58	96,28	0,83
3		0,666	83,55	96,32	0,82
Ortalama		0,662	83,59	96,33	0,82
1	<b>M4 H3</b>	0,291	78,20	95,47	0,85
2		0,300	78,45	95,49	0,79
3		0,299	78,47	95,54	0,76
Ortalama		0,297	78,42	95,48	0,84
1	<b>M4 H4</b>	0,418	82,19	96,52	0,82
2		0,442	82,05	96,58	0,87
3		0,441	82,09	96,57	0,84
Ortalama		0,434	82,08	96,55	0,83

Petri sayısının artışı, SAR değerinde azalmaya neden olurken, alan homojenitesinde ise artışa neden olmuştur. Daha önceki simülasyonla uyumlu olarak en performanslı durum M2 H4 konumunda tespit edilmiştir.

- vi. 1800 MHz frekans'ta *SAR* ve alan homojenitesindeki değişim; 4 petrili, tek katlı petrilerin kabinin köşesinde bulunduğu durum için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak* incelendi.

Çizelge 4.11. Simülasyon paketi vi. için incelenen koşullar

Frekans (MHz)	Petri Konumu	Sistemdeki Kat Sayısı	Kattaki Petri Sayısı	İncelenen Durum
<input checked="" type="checkbox"/> 1800	<input type="checkbox"/> Kabinsiz	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Katlı	<input type="checkbox"/> 1 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay Uzaklık
<input type="checkbox"/> 2100	<input checked="" type="checkbox"/> Kabinli	<input type="checkbox"/> 2 Katlı	<input type="checkbox"/> 3 Petri	<input type="checkbox"/> Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Kenar Ortasında		<input checked="" type="checkbox"/> 4 Petri	<input checked="" type="checkbox"/> Yatay/Dikey Uzaklık
	<input checked="" type="checkbox"/> Köşede			

Çizelge 4.12. Simülasyon paketi vi. için hesaplanan değerler

Petri No	Konum	SAR	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
1		0,869	78,04	94,08	0,75
2	<b>M2 H3</b>	0,869	78,04	94,08	0,75
3	<b>4 Petrili Köşede</b>	0,869	78,04	94,08	0,75
4		0,869	78,04	94,08	0,75
1		0,933	83,91	96,02	0,94
2	<b>M2 H4</b>	0,933	83,91	96,02	0,94
3	<b>4 Petrili Köşede</b>	0,933	83,91	96,02	0,94
4		0,933	83,91	96,02	0,94
1		0,484	79,80	95,29	0,89
2	<b>M3 H3</b>	0,484	79,80	95,29	0,89
3	<b>4 Petrili Köşede</b>	0,484	79,80	95,29	0,89
4		0,484	79,80	95,29	0,89
1		0,620	84,14	96,74	0,89
2	<b>M3 H4</b>	0,620	84,14	96,74	0,89
3	<b>4 Petrili Köşede</b>	0,620	84,14	96,74	0,89
4		0,620	84,14	96,74	0,89
1		0,287	78,38	95,84	0,85
2	<b>M4 H3</b>	0,287	78,38	95,84	0,85
3	<b>4 Petrili Köşede</b>	0,287	78,38	95,84	0,85
4		0,287	78,38	95,84	0,85
1		0,424	82,41	97,35	0,91
2	<b>M3 H4</b>	0,424	82,41	97,35	0,91
3	<b>4 Petrili Köşede</b>	0,424	82,41	97,35	0,91
4		0,424	82,41	97,35	0,91

4 petrili durumda, 3 petrili duruma göre, SAR değerlerinde kısmi azalma ve alan homojenitesinde artış olduğu gözlenmiştir.

- vii. 1800 MHz frekans'ta *SAR ve alan homojenitesindeki* değişim; 4 petrili, tek katlı petrilerin kabinin kenar ortasında bulunduğu durum için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı olarak* incelendi.

Çizelge 4.13. Simülasyon paketi vii. için incelenen koşullar

Frekans (MHz)	Petri Konumu	Sistemdeki Kat Sayısı	Kattaki Petri Sayısı	İncelenen Durum
<input checked="" type="checkbox"/> 1800	<input type="checkbox"/> Kabinsiz	<input checked="" type="checkbox"/> 1 Katlı	<input type="checkbox"/> 1 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay Uzaklık
<input type="checkbox"/> 2100	<input checked="" type="checkbox"/> Kabinli	<input type="checkbox"/> 2 Katlı	<input type="checkbox"/> 3 Petri	<input type="checkbox"/> Dikey Uzaklık
	<input checked="" type="checkbox"/> Kenar Ortasında		<input checked="" type="checkbox"/> 4 Petri	<input checked="" type="checkbox"/> Yatay/Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Köşede			

Çizelge 4.14. Simülasyon paketi vii. için hesaplanan değerler

Petri No	Konum	SAR	± 3db İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5db İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025db İçerisindeki Hacim Yüzdesi
1	<b>M2 H3</b> <b>4 Petrili Kenarda</b>	0,868	78,13	94,12	0,80
2		0,868	78,13	94,12	0,80
3		0,868	78,13	94,12	0,80
4		0,868	78,13	94,12	0,80
1	<b>M2 H4</b> <b>4 Petrili Kenarda</b>	0,925	83,83	96,01	0,87
2		0,925	83,83	96,01	0,87
3		0,925	83,83	96,01	0,87
4		0,925	83,83	96,01	0,87
1	<b>M3 H3</b> <b>4 Petrili Kenarda</b>	0,484	79,71	95,28	0,78
2		0,484	79,71	95,28	0,78
3		0,484	79,71	95,28	0,78
4		0,484	79,71	95,28	0,78
1	<b>M3 H4</b> <b>4 Petrili Kenarda</b>	0,605	83,89	96,48	0,81
2		0,605	83,89	96,48	0,81
3		0,605	83,89	96,48	0,81
4		0,605	83,89	96,48	0,81
1	<b>M4 H3</b> <b>4 Petrili Kenarda</b>	0,282	78,64	95,58	0,87
2		0,282	78,64	95,58	0,87
3		0,282	78,64	95,58	0,87
4		0,282	78,64	95,58	0,87
1	<b>M3 H4</b> <b>4 Petrili Kenarda</b>	0,400	82,37	96,61	0,96
2		0,400	82,37	96,61	0,96
3		0,400	82,37	96,61	0,96
4		0,400	82,37	96,61	0,96

Tek katmanlı petrilerin kenarda yada köşelerde bulunmasının, incelenen koşullar altında SAR ve alan homojenitesinde önemli bir farklılığa neden olmadığı gözlenmiştir.

viii. 1800 MHz frekans'ta *SAR* ve *alan homojenitesindeki* değişim; 4 petrili ve çift katlı durum için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı* olarak incelendi.

Çizelge 4.15. Simülasyon paketi viii. için incelenen koşullar

Frekans (MHz)	Petri Konumu	Sistemdeki Kat Sayısı	Kattaki Petri Sayısı	İncelenen Durum
<input checked="" type="checkbox"/> 1800	<input type="checkbox"/> Kabinsiz	<input type="checkbox"/> 1 Katlı	<input type="checkbox"/> 1 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay Uzaklık
<input type="checkbox"/> 2100	<input checked="" type="checkbox"/> Kabinli	<input checked="" type="checkbox"/> 2 Katlı	<input type="checkbox"/> 3 Petri	<input type="checkbox"/> Dikey Uzaklık
	<input checked="" type="checkbox"/> Kenar Ortasında		<input checked="" type="checkbox"/> 4 Petri	<input checked="" type="checkbox"/> Yatay/Dikey Uzaklık
	<input checked="" type="checkbox"/> Köşede			

Çizelge 4.16. Simülasyon paketi viii. için hesaplanan değerler

Petri No	Konum	SAR	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
1 - ALT		1,126	81,12	97,74	1,08
2 - ALT	<b>M2 H-2</b>	1,126	81,12	97,74	1,08
3 - ALT		1,126	81,12	97,74	1,08
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>	1,126	81,12	97,74	1,08
<b>4 Petrili Kenarda</b>					
1 - ÜST		0,990	78,99	95,53	0,82
2 - ÜST	<b>M2 H+2</b>	0,990	78,99	95,53	0,82
3 - ÜST		0,990	78,99	95,53	0,82
4 - ÜST		0,990	78,99	95,53	0,82
1 - ALT		1,132	80,74	97,60	0,80
2 - ALT	<b>M2 H-2</b>	1,132	80,74	97,60	0,80
3 - ALT		1,132	80,74	97,60	0,80
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>	1,132	80,74	97,60	0,80
<b>4 Petrili Köşede</b>					
1 - ÜST		0,983	78,27	95,27	0,80
2 - ÜST	<b>M2 H+2</b>	0,983	78,27	95,27	0,80
3 - ÜST		0,983	78,27	95,27	0,80
4 - ÜST		0,983	78,27	95,27	0,80
1 - ALT		0,732	84,50	98,59	0,79
2 - ALT	<b>M3 H-2</b>	0,732	84,50	98,59	0,79
3 - ALT		0,732	84,50	98,59	0,79
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>	0,732	84,50	98,59	0,79
<b>4 Petrili Kenarda</b>					
1 - ÜST		0,614	81,26	97,26	0,98
2 - ÜST	<b>M3 H+2</b>	0,614	81,26	97,26	0,98
3 - ÜST		0,614	81,26	97,26	0,98
4 - ÜST		0,614	81,26	97,26	0,98

Çizelge 4.16. (devam) Simülasyon paketi viii. için hesaplanan değerler

Petri No	Konum	SAR	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdəsi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdəsi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdəsi
1 - ALT			0,753	84,15	98,47
2 - ALT	<b>M3 H-2</b>		0,753	84,15	98,47
3 - ALT			0,753	84,15	98,47
4 - ALT	<b>Çift Kath</b>		0,753	84,15	98,47
	<b>4 Petrili Köşede</b>				
1 - ÜST			0,618	80,70	97,08
2 - ÜST	<b>M3 H+2</b>		0,618	80,70	97,08
3 - ÜST			0,618	80,70	97,08
4 - ÜST			0,618	80,70	97,08
1 - ALT			1,617	84,71	97,90
2 - ALT	<b>M2 H-3</b>		1,617	84,71	97,90
3 - ALT			1,617	84,71	97,90
4 - ALT	<b>Çift Kath</b>		1,617	84,71	97,90
	<b>4 Petrili Kenarda</b>				
1 - ÜST			1,482	83,36	97,10
2 - ÜST	<b>M2 H+3</b>		1,482	83,36	97,10
3 - ÜST			1,482	83,36	97,10
4 - ÜST			1,482	83,36	97,10
1 - ALT			1,633	84,79	98,05
2 - ALT	<b>M2 H-3</b>		1,633	84,79	98,05
3 - ALT			1,633	84,79	98,05
4 - ALT	<b>Çift Kath</b>		1,633	84,79	98,05
	<b>4 Petrili Köşede</b>				
1 - ÜST			1,477	83,12	96,93
2 - ÜST	<b>M2 H+3</b>		1,477	83,12	96,93
3 - ÜST			1,477	83,12	96,93
4 - ÜST			1,477	83,12	96,93
1 - ALT			1,120	87,35	98,58
2 - ALT	<b>M3 H-3</b>		1,120	87,35	98,58
3 - ALT			1,120	87,35	98,58
4 - ALT	<b>Çift Kath</b>		1,120	87,35	98,58
	<b>4 Petrili Kenarda</b>				
1 - ÜST			1,000	85,36	98,08
2 - ÜST	<b>M3 H+3</b>		1,000	85,36	98,08
3 - ÜST			1,000	85,36	98,08
4 - ÜST			1,000	85,36	98,08
1 - ALT			1,157	87,17	98,50
2 - ALT	<b>M3 H-3</b>		1,157	87,17	98,50
3 - ALT			1,157	87,17	98,50
4 - ALT	<b>Çift Kath</b>		1,157	87,17	98,50
	<b>4 Petrili Köşede</b>				
1 - ÜST			1,006	85,10	98,05
2 - ÜST	<b>M3 H+3</b>		1,006	85,10	98,05
3 - ÜST			1,006	85,10	98,05
4 - ÜST			1,006	85,10	98,05

Çizelge 4.16. (devam) Simülasyon paketi viii. için hesaplanan değerler

Petri No	Konum	SAR	$\pm 3\text{dB}$ İçerisindeki Hacim Yüzdesi	$\pm 5\text{dB}$ İçerisindeki Hacim Yüzdesi	$\pm 0.025\text{dB}$ İçerisindeki Hacim Yüzdesi
1 - ALT			1,643	87,24	98,43
2 - ALT	<b>M2 H-4</b>		1,643	87,24	98,43
3 - ALT			1,643	87,24	98,43
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>		1,643	87,24	98,43
	<b>4 Petrili Kenarda</b>				
1 - ÜST			1,544	86,67	98,31
2 - ÜST	<b>M2 H+4</b>		1,544	86,67	98,31
3 - ÜST			1,544	86,67	98,31
4 - ÜST			1,544	86,67	98,31
1 - ALT			1,665	87,26	98,41
2 - ALT	<b>M2 H-4</b>		1,665	87,26	98,41
3 - ALT			1,665	87,26	98,41
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>		1,665	87,26	98,41
	<b>4 Petrili Köşede</b>				
1 - ÜST			1,540	86,58	98,20
2 - ÜST	<b>M2 H+4</b>		1,540	86,58	98,20
3 - ÜST			1,540	86,58	98,20
4 - ÜST			1,540	86,58	98,20
1 - ALT			1,260	88,35	98,64
2 - ALT	<b>M3 H-4</b>		1,260	88,35	98,64
3 - ALT			1,260	88,35	98,64
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>		1,260	88,35	98,64
	<b>4 Petrili Kenarda</b>				
1 - ÜST			1,171	87,38	98,65
2 - ÜST	<b>M3 H+4</b>		1,171	87,38	98,65
3 - ÜST			1,171	87,38	98,65
4 - ÜST			1,171	87,38	98,65
1 - ALT			1,308	88,71	98,61
2 - ALT	<b>M3 H-4</b>		1,308	88,71	98,61
3 - ALT			1,308	88,71	98,61
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>		1,308	88,71	98,61
	<b>4 Petrili Köşede</b>				
1 - ÜST			1,177	87,34	98,74
2 - ÜST	<b>M3 H+4</b>		1,177	87,34	98,74
3 - ÜST			1,177	87,34	98,74
4 - ÜST			1,177	87,34	98,74

Petrilerin çift katlı olarak konumlandırılması, hem SAR değerleri açısından hem de alan homojenitesi açısından pozitif katkı sağlamıştır. Petrilerin kenarda yada köşede bulunmaları tek katmanlı yerleştirildiğinde olduğu gibi 2 katlı yerleştirildiğinde de önemli bir fark oluşturmamıştır.

- ix. 2100 MHz frekans'ta *SAR* ve alan homojenitesindeki değişim; 4 petrili ve çift katlı durum için, *metal kabinin* ortasında bulunan dipol anten merkezinden *yatay ve dikey uzaklık değişimine bağlı* olarak incelendi.

Çizelge 4.17. Simülasyon paketi ix. için incelenen koşullar

Frekans (MHz)	Petri Konumu	Sistemdeki Kat Sayısı	Kattaki Petri Sayısı	İncelenen Durum
<input type="checkbox"/> 1800	<input type="checkbox"/> Kabinsiz	<input type="checkbox"/> 1 Katlı	<input type="checkbox"/> 1 Petri	<input type="checkbox"/> Yatay Uzaklık
<input checked="" type="checkbox"/> 2100	<input checked="" type="checkbox"/> Kabinli	<input checked="" type="checkbox"/> 2 Katlı	<input type="checkbox"/> 3 Petri	<input type="checkbox"/> Dikey Uzaklık
	<input checked="" type="checkbox"/> Kenar Ortasında		<input checked="" type="checkbox"/> 4 Petri	<input checked="" type="checkbox"/> Yatay/Dikey Uzaklık
	<input type="checkbox"/> Köşede			

Çizelge 4.18. Simülasyon paketi ix. için hesaplanan değerler

Petri No	Konum	SAR	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
1 - ALT		1,508	70,99	92,39	0,54
2 - ALT	<b>M2 H-2</b>	1,508	70,99	92,39	0,54
3 - ALT		1,508	70,99	92,39	0,54
4 - ALT	<b>Çift Katlı 4 Petrili Kenarda</b>	1,508	70,99	92,39	0,54
1 - ÜST		1,339	69,26	91,14	0,70
2 - ÜST	<b>M2 H+2</b>	1,339	69,26	91,14	0,70
3 - ÜST		1,339	69,26	91,14	0,70
4 - ÜST		1,339	69,26	91,14	0,70
1 - ALT		1,055	72,30	94,91	0,84
2 - ALT	<b>M3 H-2</b>	1,055	72,30	94,91	0,84
3 - ALT		1,055	72,30	94,91	0,84
4 - ALT	<b>Çift Katlı 4 Petrili Kenarda</b>	1,055	72,30	94,91	0,84
1 - ÜST		0,885	70,28	92,99	0,55
2 - ÜST	<b>M3 H+2</b>	0,885	70,28	92,99	0,55
3 - ÜST		0,885	70,28	92,99	0,55
4 - ÜST		0,885	70,28	92,99	0,55
1 - ALT		1,848	75,69	94,05	0,75
2 - ALT	<b>M2 H-3</b>	1,848	75,69	94,05	0,75
3 - ALT		1,848	75,69	94,05	0,75
4 - ALT	<b>Çift Katlı 4 Petrili Kenarda</b>	1,848	75,69	94,05	0,75
1 - ÜST		1,688	74,40	93,08	0,72
2 - ÜST	<b>M2 H+3</b>	1,688	74,40	93,08	0,72
3 - ÜST		1,688	74,40	93,08	0,72
4 - ÜST		1,688	74,40	93,08	0,72

Çizelge 4.18. (devam) Simülasyon paketi ix. için hesaplanan değerler

Petri No	Konum	SAR	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 5dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	± 0.025dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi	
1 - ALT			1,450	75,52	94,79	0,70
2 - ALT	<b>M3 H-3</b>		1,450	75,52	94,79	0,70
3 - ALT			1,450	75,52	94,79	0,70
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>		1,450	75,52	94,79	0,70
	<b>4 Petrili Kenarda</b>					
1 - ÜST			1,291	74,12	94,05	0,63
2 - ÜST	<b>M3 H+3</b>		1,291	74,12	94,05	0,63
3 - ÜST			1,291	74,12	94,05	0,63
4 - ÜST			1,291	74,12	94,05	0,63
1 - ALT			1,817	77,27	94,72	0,61
2 - ALT	<b>M2 H-3.45</b>		1,817	77,27	94,72	0,61
3 - ALT			1,817	77,27	94,72	0,61
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>		1,817	77,27	94,72	0,61
	<b>4 Petrili Kenarda</b>					
1 - ÜST			1,679	76,29	94,02	0,79
2 - ÜST	<b>M2 H+3.45</b>		1,679	76,29	94,02	0,79
3 - ÜST			1,679	76,29	94,02	0,79
4 - ÜST			1,679	76,29	94,02	0,79
1 - ALT			1,509	76,64	95,03	0,72
2 - ALT	<b>M3 H-3.45</b>		1,509	76,64	95,03	0,72
3 - ALT			1,509	76,64	95,03	0,72
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>		1,509	76,64	95,03	0,72
	<b>4 Petrili Kenarda</b>					
1 - ÜST			1,372	75,32	94,53	0,69
2 - ÜST	<b>M3 H+3.45</b>		1,372	75,32	94,53	0,69
3 - ÜST			1,372	75,32	94,53	0,69
4 - ÜST			1,372	75,32	94,53	0,69
1 - ALT			0,774	72,40	96,04	0,56
2 - ALT	<b>M4 H-2</b>		0,774	72,40	96,04	0,56
3 - ALT			0,774	72,40	96,04	0,56
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>		0,774	72,40	96,04	0,56
	<b>4 Petrili Kenarda</b>					
1 - ÜST			0,618	70,03	93,99	0,61
2 - ÜST	<b>M4 H+2</b>		0,618	70,03	93,99	0,61
3 - ÜST			0,618	70,03	93,99	0,61
4 - ÜST			0,618	70,03	93,99	0,61
1 - ALT			1,142	75,28	95,32	0,63
2 - ALT	<b>M4 H-3</b>		1,142	75,28	95,32	0,63
3 - ALT			1,142	75,28	95,32	0,63
4 - ALT	<b>Çift Katlı</b>		1,142	75,28	95,32	0,63
	<b>4 Petrili Kenarda</b>					
1 - ÜST			0,998	73,37	94,51	0,68
2 - ÜST	<b>M4 H+3</b>		0,998	73,37	94,51	0,68
3 - ÜST			0,998	73,37	94,51	0,68
4 - ÜST			0,998	73,37	94,51	0,68



ix simülasyon paketi (2100 MHz) çalışmasında, bir önceki paket olan simülasyon viii (1800 MHz)'in benzer koşulları sınanarak frekanstan kaynaklanan değişimler tesbit edilmiştir.

Bu sonuçlara göre;

- Frekans 1800 MHz'den 2100 MHz'e çıkarken genel olarak, SAR değerleri artmış ve alan homojenitesini azalmıştır.
- **Her iki frekansı birden dikkate alarak gerçekleştirilecek optimizasyonda yaşanabilecek SAR ve homojenite uyumsuzlukları dikkate alınarak, tasarıma daha yeni bir teknoloji olan 2100 MHz frekansla devam edilmiştir.**

Gerçekleştirilen simülasyon çalışmaları sonucunda, 4 farklı *in vitro* RF Alan Maruziyet Sistemi Prototipi tasarlanmıştır (Şekil 4.1-4.6). Sistem prototipleri temel olarak 4 ana malzemeden/bileşenden oluşmaktadır. Bu malzemelerin neler olduğu ve hangi amaçlar ile tercih edildiği aşağıda belirtilmiştir.

#### Metal Kabin

- Dışarıdaki EM alanın, içeriye sızmasını önlemek,
- İç EM alanın dışarıya sızmasını önlemek,
- Yüksek iletkenlik nedeniyle, RF soğurucunun performanslı çalışmasını sağlamak,
- Darbelere karşı sistemi korumak,
- Nem, sıcaklık ve sterilizasyonda kullanılan (alkol, çamaşır suyu, klor) gibi çevresel etkenlere dayanıklı olması ve kolayca sterilizasyon işleminin uygulanabilmesi

#### RF Soğurucu

- *In vitro* RF alan maruziyet sistemi içerisindeki anten kaynaklı oluşan EM alanların, sistemin metal yüzeylerinden yansiyarak alan homojenitesini bozmasını engellemek amacıyla kullanılmıştır.
- Sistem içerisindeki mevcut alanı daha fazla küçültmemesi için, üçgen yapılı versiyonları yerine, daha küçük hacim kaplayan, yaklaşık 6 cm kalınlıklı düz plaka şeklinde olan RF soğurucular kullanılmıştır.

- RF soğurucu malzemenin tam performansla çalışabilmesi için, metal kabine tam temas etmesi gerekmektedir. Bu nedenle RF soğurucu malzeme metal kabin yakınında konumlandırılmıştır.

### Pleksiglas Destek Malzemesi

- RF soğurucu malzemenin nemden korunması,
- RF soğurucu malzemenin ortamı kontamine etmesini engellemek,
- Deneylede kullanılan malzemelerin RF soğurucuya zarar vermesini engellemek,
- Sert bir yüzey oluşturularak, her *in vitro* deney öncesi gerçekleştirilen sistem sterilizasyonunun, kolayca yapılmasını sağlamak,
- Petrileri yerleştirirken, RF soğurucuya takılmasını ve çeşitli kazalar yaşanmasını engellemek.

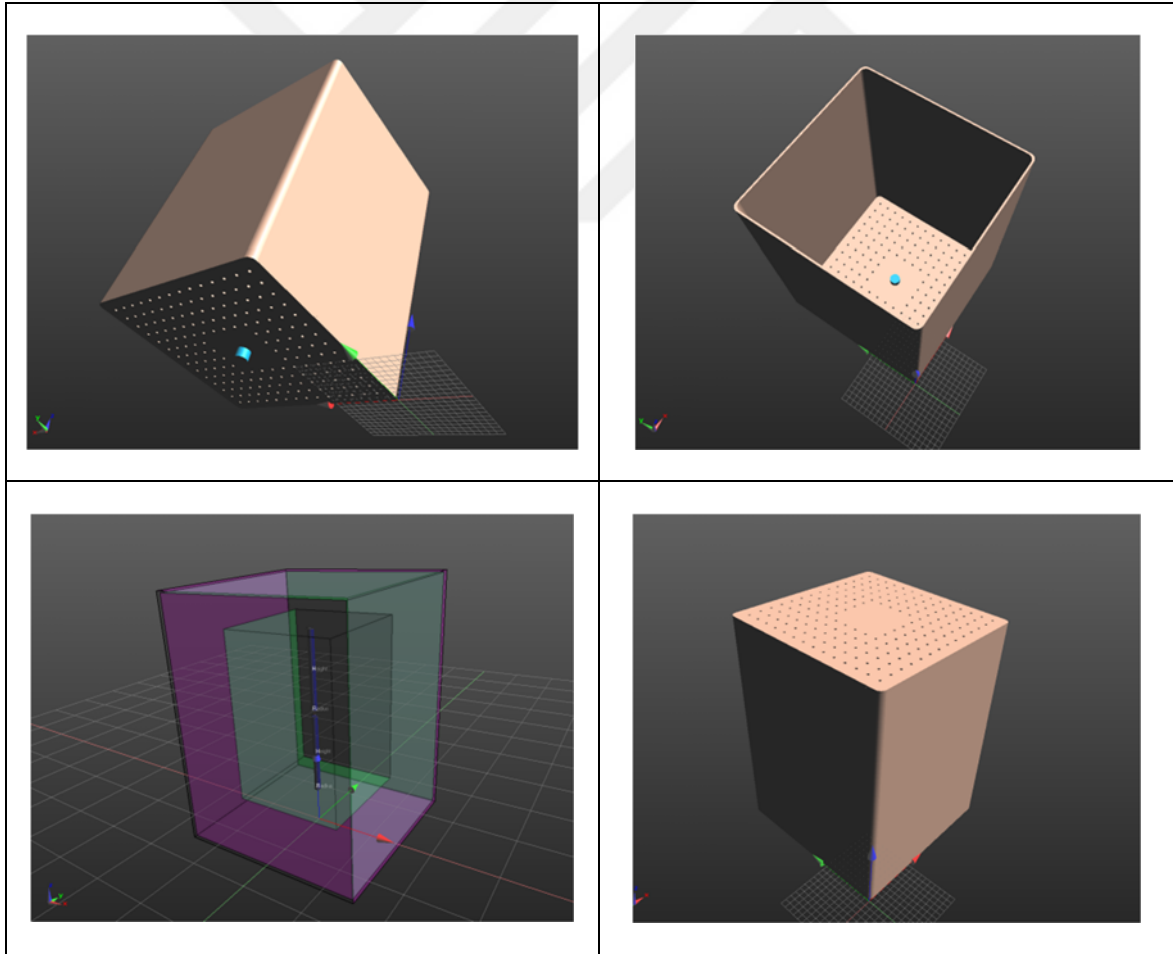
### Anten

- Dipol anten *dalga deseni*, çift katlı maruziyet sistemine izin veren bir yapıya sahiptir.
- Her katta birden fazla petriye eşzamanlı alan uygulanmasına olanak sağlaması nedeniyle Dipol antenin tercih edilmiş ve sistemde EM alan kaynağı olarak kullanılmak üzere, 68 mm uzunluğa sahip yarım dalga dipol anten tasarımı yapılmıştır.

Yukarda belirtilen koşullar dikkate alınarak, 4 farklı prototip (Prototip V-1 – Prototip V-4) tasarlandı.

### **Prototip V-1**

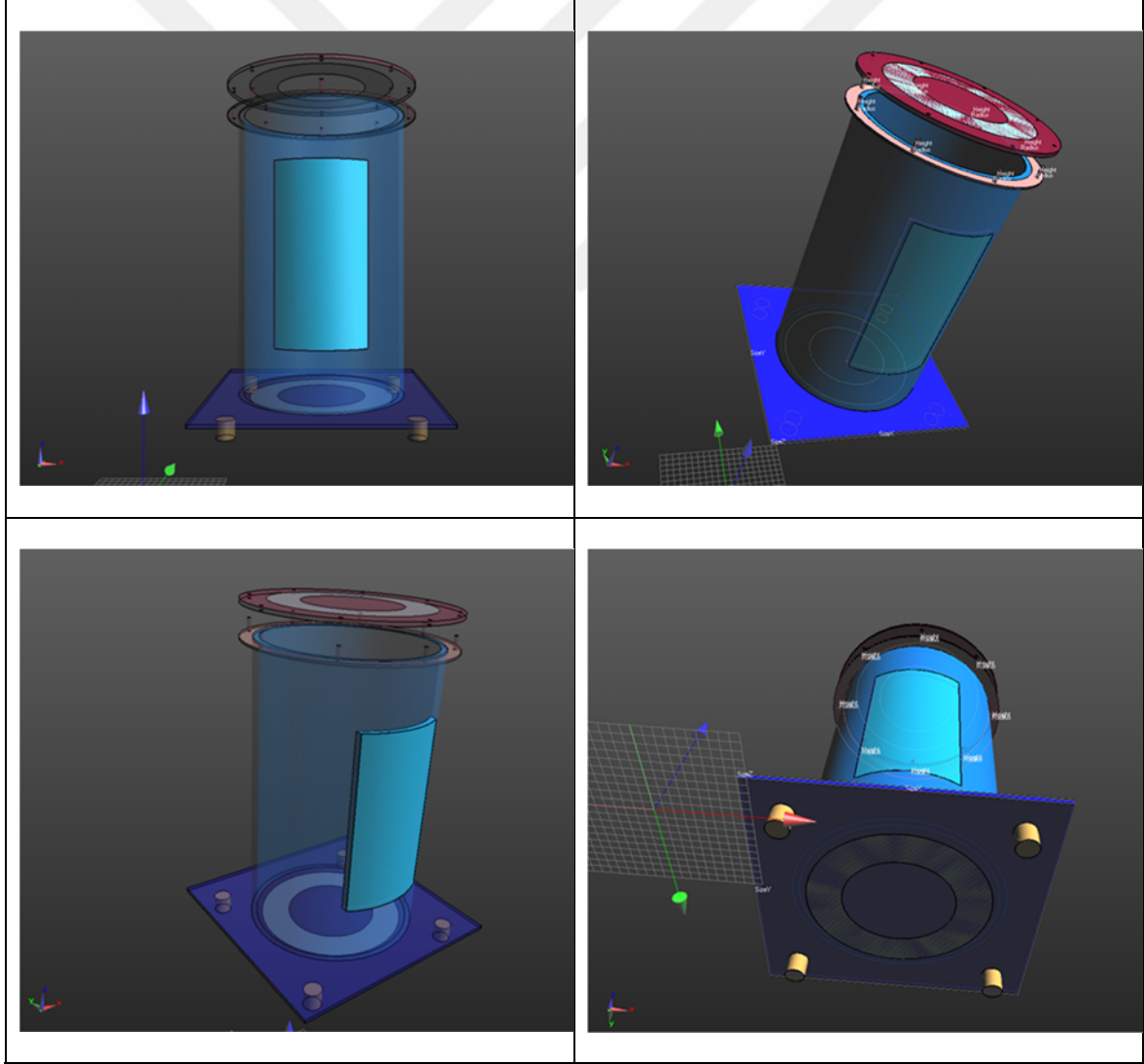
- *In vitro* RF alan maruziyet sistemi için ilk prototip olarak 30 x 30 x 40 cm (en x boy x yükseklik) boyutlarında dikdörtgenler prizması şeklinde metal bir kabin tasarlanmıştır (Şekil 4.2.).
- Prototip V-1, metal bir kabin, RF soğurucu malzeme ve antenden oluşmaktadır.
- RF alanın kabin içerisinde homojen dağılımına katkı sağlaması için kabinin yan kenarları yuvarlatılmıştır.
- Alt ve üst kısımda hava delikleri mevcuttur.
- Kabin içi yan kenarların 5.7 cm kalınlığındaki RF soğurucu malzeme ile kaplanacağı varsayılmıştır.
- Söz konusu prototip için RF alan kaynağı olarak dipol anten kabin içerisinde dikey konumlandırılmıştır.



Şekil 4.2. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi Prototip V-1'in farklı açılardan genel görünümü

### Prototip V-2

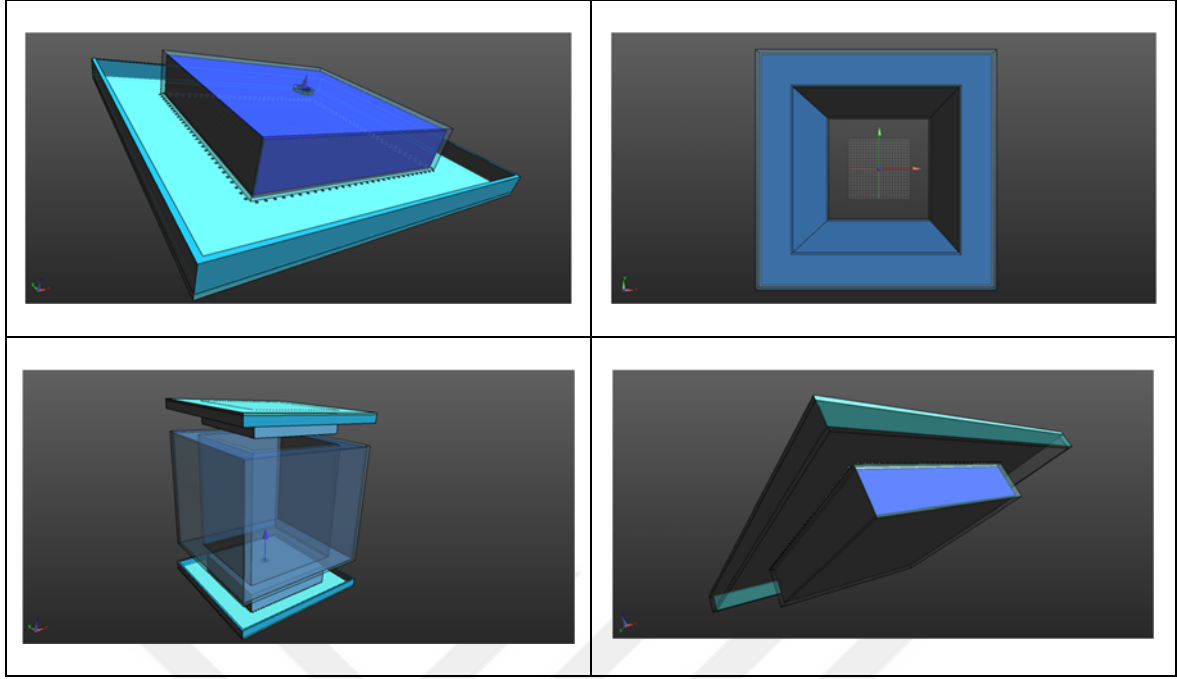
- RF soğurucu malzemenin sistem içerisinde fazla yer kaplaması, fiyatının yüksek oluşu, nem dayanımının sınırlı olması gibi nedenler ile Prototip V-1'den vazgeçilmiş ve 57 mm kalınlığa sahip RF soğurucu yerine bu işlevi görecek daha ince alternatif malzeme arayışına girilmiştir.
- Silindirik şekilli kabinin, dipol anten dağılım deseniyle daha uyumlu olması nedeniyle Prototip V-2 silindir şeklinde tasarlanmıştır (Şekil 4.3.).
- Prototip V-2, metal bir kabin, RF boya ve antenden oluşmaktadır.
- Petrileri yerleştirmek için sistemin ön tarafına, destek malzemelerinin yerleştirilmesi için ise sistemin üst tarafına kapak yerleştirilmiştir.
- Alt ve üst kapakta hava delikleri mevcuttur.



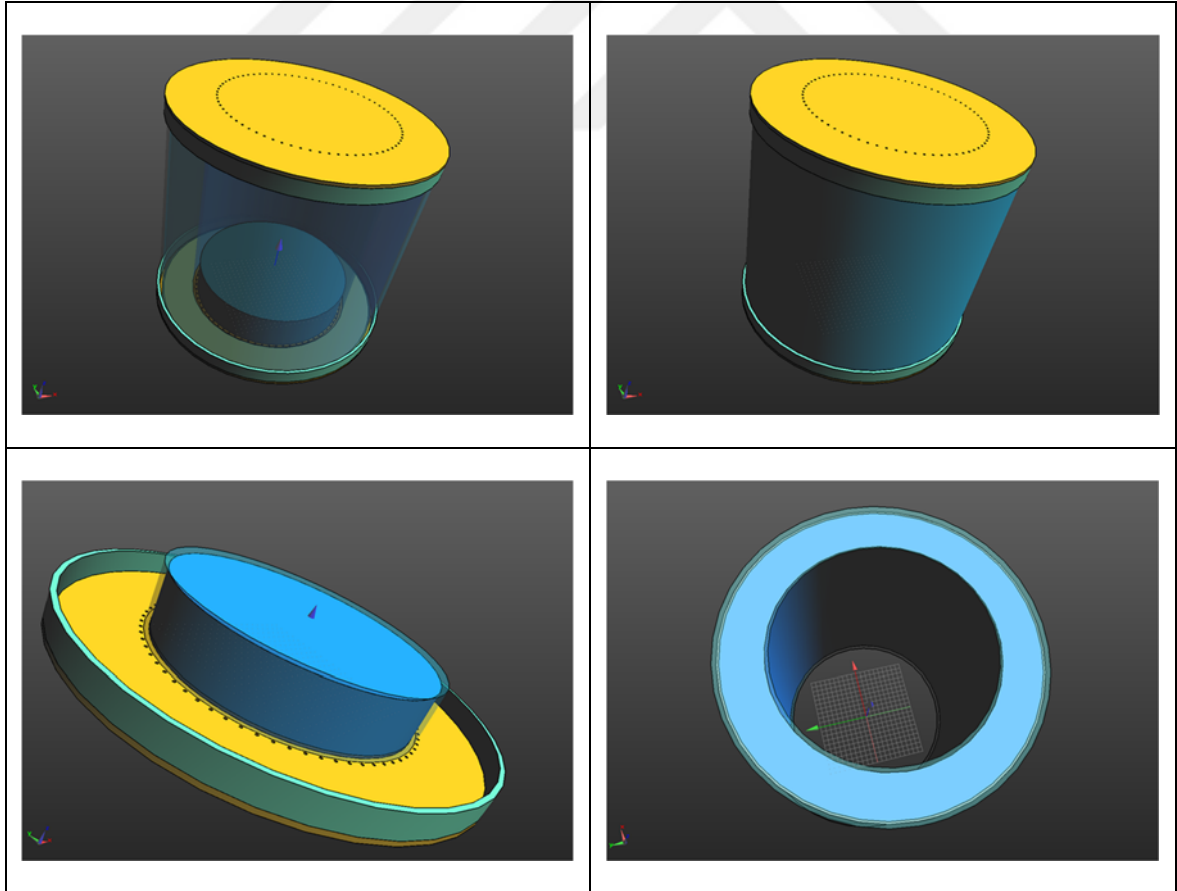
Şekil 4.3. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi Prototip V-2'in farklı açılardan genel görünümü

### **Prototip V-3**

- RF boyaların, soğurucu özelliğinin olmaması nedeniyle sistem için kullanımının uygun olmadığı tespit edilmiştir. Uygun RF soğurucu malzeme alternatifi bulunamaması nedeniyle Prototip V-2'den vaz geçilmiştir.
- Karbon emdirilmiş RF soğurucu süngerlerin nemden etkilenmeyeceği yeni bir prototip tasarlanmasına ihtiyaç duyulmuş ve Prototip V-3 tasarlanmıştır.
- Üretim aşamasındaki koşullara ve malzemelere bağlı olarak üretimde esneklik sağlaması amacıyla Prototip V-3, dikdörtgenler prizması (Şekil 4.4.) ve silindir (Şekil 4.5.) yapıları olmak üzere 2 farklı tipte tasarlanmıştır.
- Prototip V-3, metal bir kabin, RF soğurucu malzeme, pleksiglas destek malzemeleri ve antenden oluşmaktadır.
- Demonte ve sade bir tasarıma sahip olması nedeniyle üretimi kolaydır.
- Demonte ve sade yapısı nedeniyle sterilizasyon işleminin daha kolay yapılması mümkün olacaktır.
- Demonte yapısı nedeniyle yandan kapı açmaya gerek kalmamıştır.
- Sistemin iç yüzeylerinin pleksiglas ile kaplanması, RF soğurucu malzemenin, nemden ve basınçtan korunmasını mümkün kılmıştır.
- Hava kanalları, hava akışını engellemeyecek ve doğrudan içeri ya da dışarı akabilecek şekilde tasarlanmıştır.



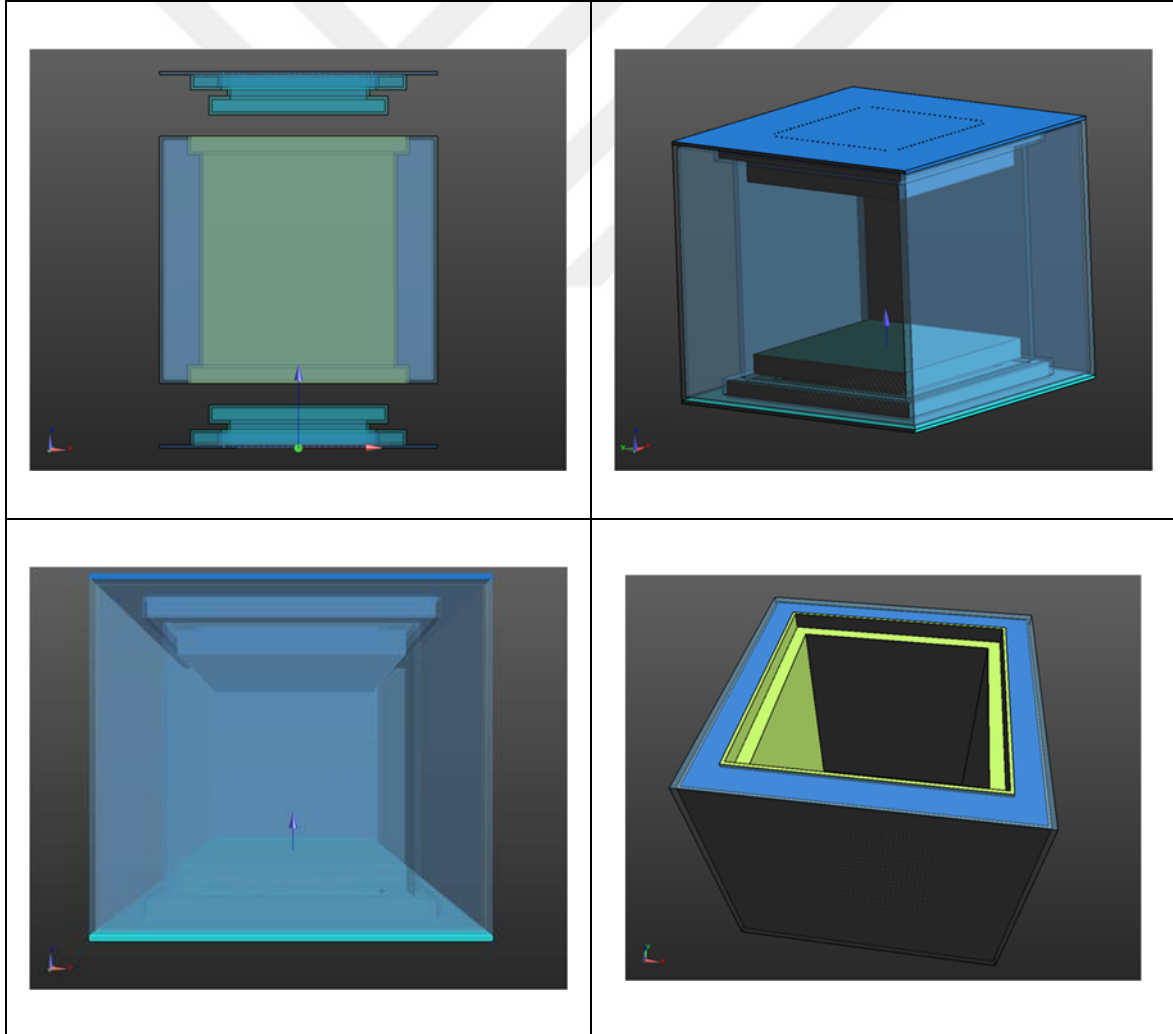
Şekil 4.4. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi Prototip V-3 (dikdörtgen yapılı) için farklı açılardan genel görünüm



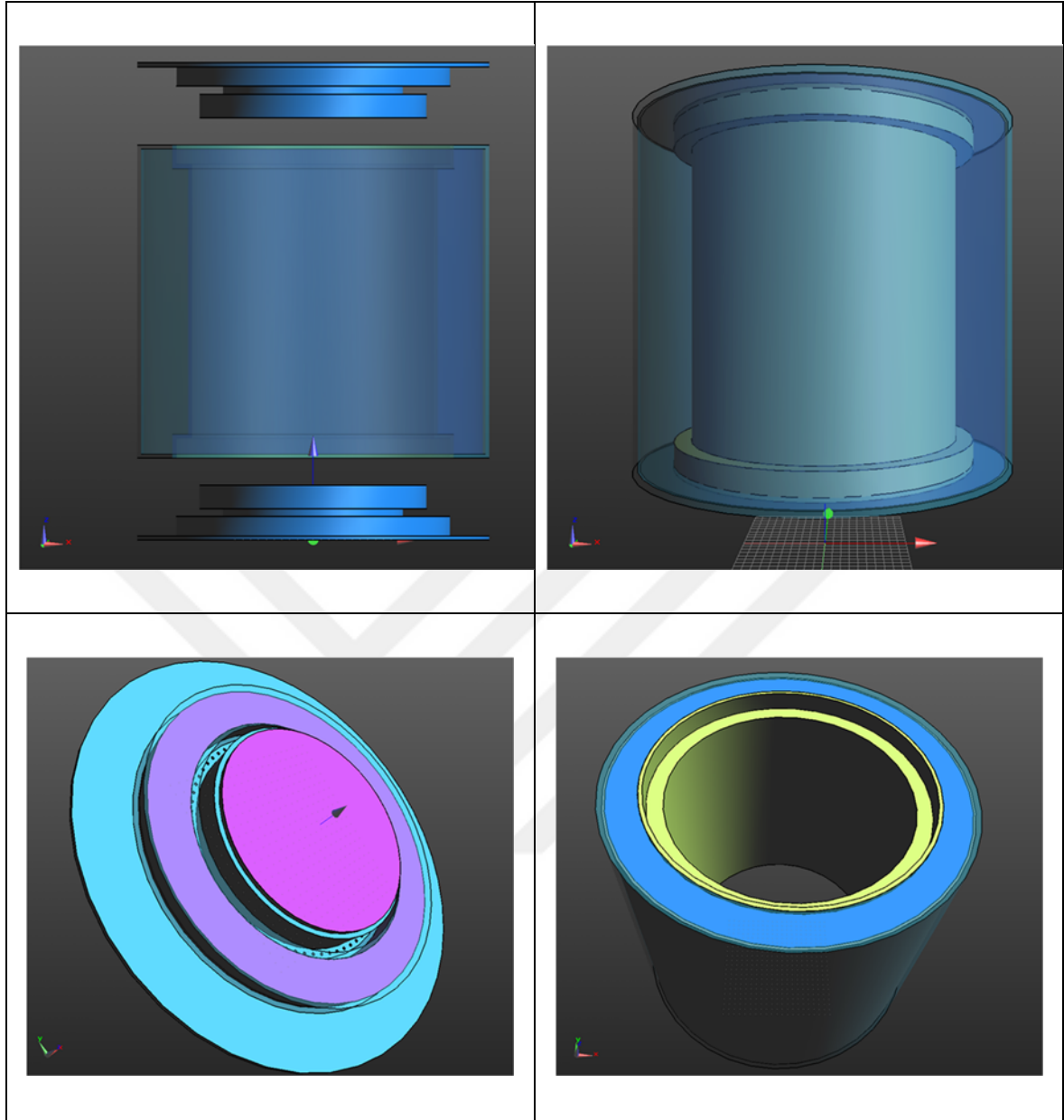
Şekil 4.5. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi Prototip V-3 (silindir yapılı) için farklı açılardan genel görünüm

### Prototip V-4

- Prototip V-4, RF alan maruziyet sistemindeki hava kanallarından alan sızıntısını minimuma indirmek üzere tasarlanmıştır.
- Gövde yapısı Prototip V-3 ile aynı olup, alt ve üst kapak yapıları farklıdır.
- Prototip V-4'de, hava akışı Prototip V-3'teki gibi doğrudan değilde, zig zag yaparak dışarı açılmaktadır. Böylece EM alan sızıntılarının minimuma indirilmesi sağlanabilecektir.
- Üretim aşamasındaki koşullara ve malzemelere bağlı olarak üretimde esneklik sağlaması amacıyla Prototip V-4'de, Prototip V-3 gibi dikdörtgenler prizması (Şekil 4.6.) ve silindir (Şekil 4.7.) şeklinde olmak üzere 2 farklı tipte tasarlanmıştır.



Şekil 4.6. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi Prototip V-4 (dikdörtgen yapılı) için farklı açılardan genel görünüm



Şekil 4.7. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi Prototip V-4 (silindir yapılı) için farklı açılardan genel görünüm



#### 4.1.2. Üretim öncesi optimizasyon simülasyonları

*In vitro* RF alan maruziyet sistemi tasarımı ile ilişkili olarak en kapsamlı simülasyon çalışmaları bu bölümde gerçekleştirilmiştir.

Tasarımı gerçekleştirilen 4 prototip arasından, üretim koşullarının uygunluğu, sterilizasyon işleminin kolayca uygulanabilmesi ve hava akımına minimum direnç göstermesi nedenleriyle, Prototip V-3'ün dikdörtgen yapılı olanının üretimine karar verilmiştir.

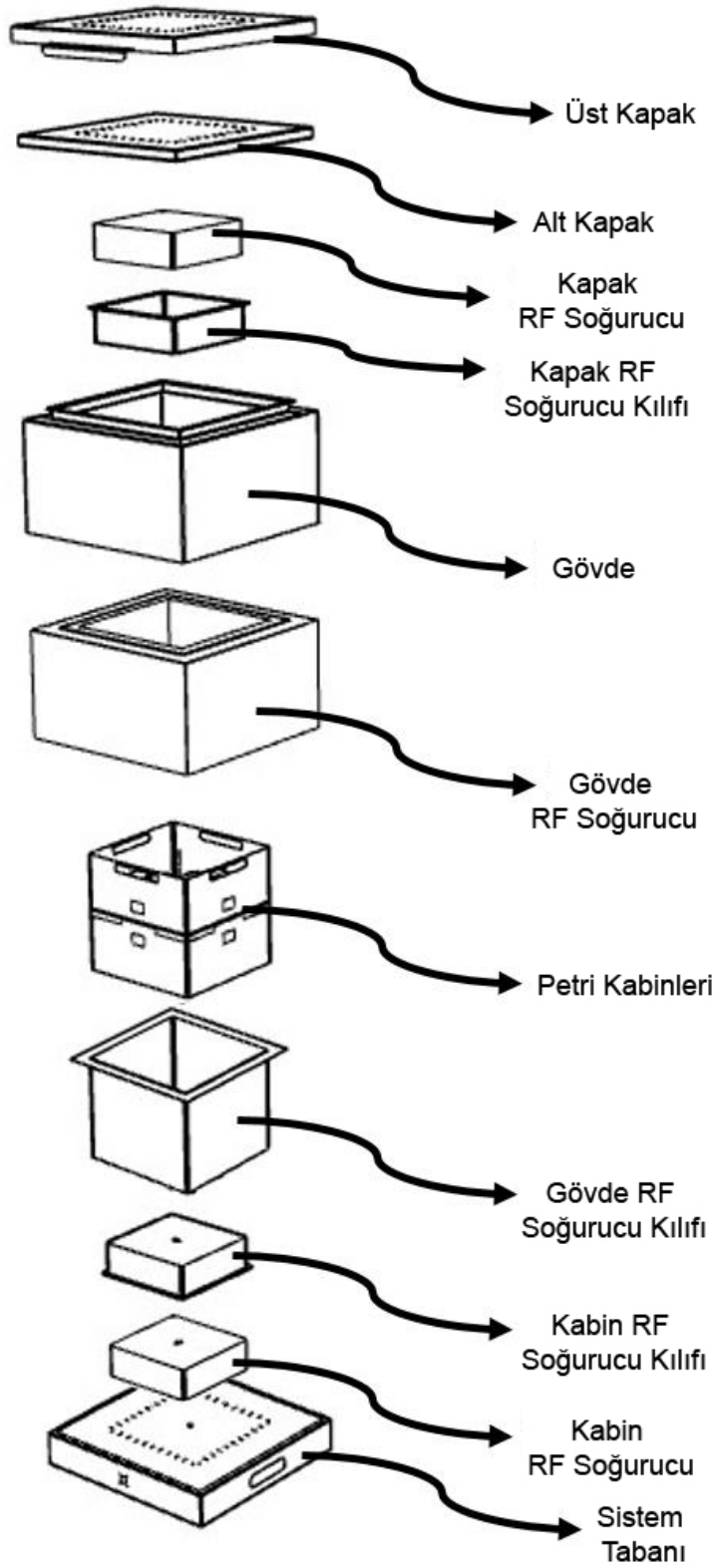
*In vitro* RF alan maruziyet sistemi içerisindeki bileşenler simülasyon sonuçlarına bağlı olarak tekrarlanan tasarımlarla optimize edilmeye çalışılmıştır. Prototip V-3'ün sistem performansını mümkün olan en yüksek seviyeye çıkarabilmek optimizasyon simülasyonları ile sağlanmış; kabin boyutları ile petri tutucular için en uygun model, konum ve boyutlar sayıları beşbin ile ifade edilen simülasyonlar sayesinde tesbit edilebilmiştir.

Tasarımı gerçekleştirilen *in vitro* RF alan maruziyet sistemi bileşenlerine ilişkin parça şeması Şekil 4.8.'de verilmektedir.

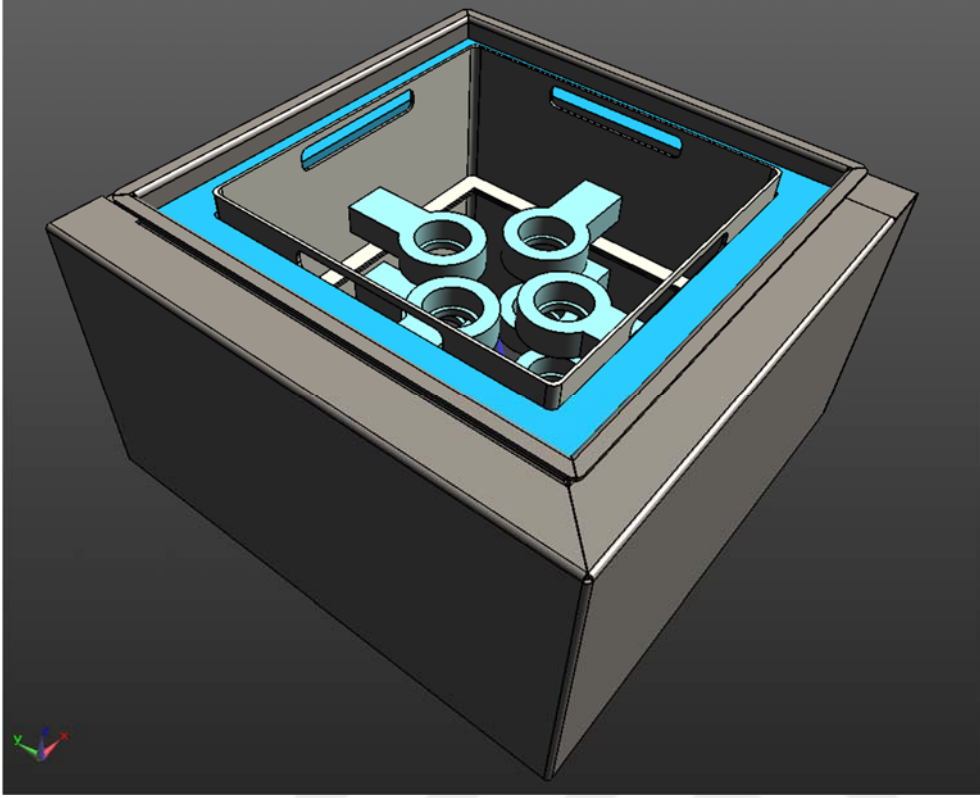
*In vitro* RF alan maruziyet sistemi, en dışta 2 mm kalınlığında metal, metalin iç yüzeyinde RF soğurucu malzeme ve RF soğurucu malzemeyi koruyan pleksiglas yüzeyler içeren bir yapı olarak tasarlanmıştır (Şekil 4.9).

35 mm hücre kültür kaplarının maruziyet sistemi içerisinde maksimum SAR verimi ve homojenitesinin elde edilebileceği konuma yerleştirilmesi amacıyla "Petri Tutucu" tasarlanmıştır. Pleksiglas malzemeden üretilmesi planlanan petri tutucular gövde ve kapak kısmı olmak üzere 2 parçalı bir yapıya sahiptir (Şekil 4.13).

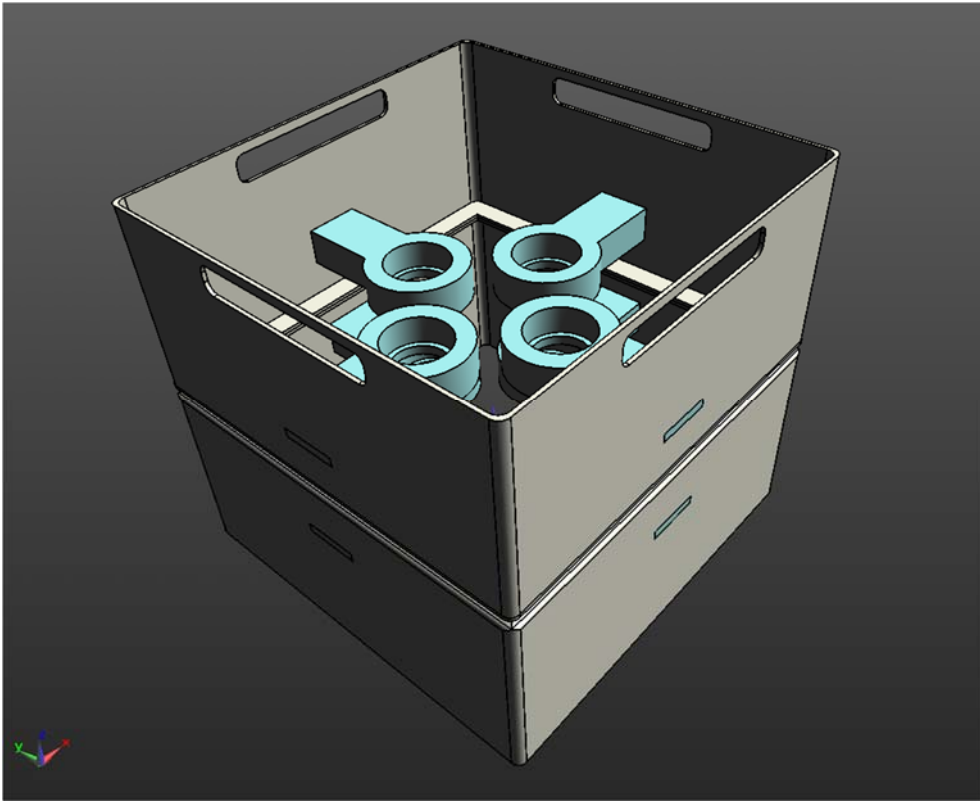
Ayrıca petri tutucuların sabit ve belirli konumda tutulmasına imkan veren alt ve üst "Petri Kabinleri", 2 mm kalınlığında pleksiglas malzeme olarak tasarlanmıştır. Alt ve üst petri kabinleri, birlikte Şekil 4.10'da ve ayrı ayrı genel görünümüleri ise Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de verilmektedir.



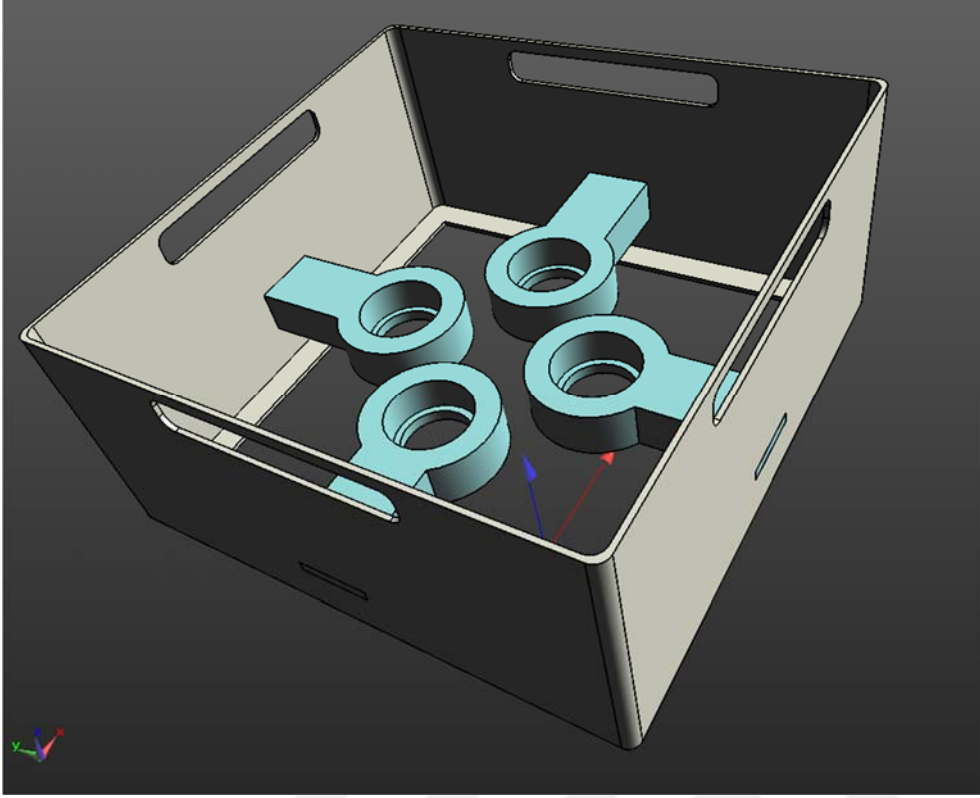
Şekil 4.8. Üretim öncesi optimizasyon simülasyonlarına uygun olarak tasarımı gerçekleştirilen *in vitro* RF alan maruziyet sistem bileşenlerine ilişkin parça şeması



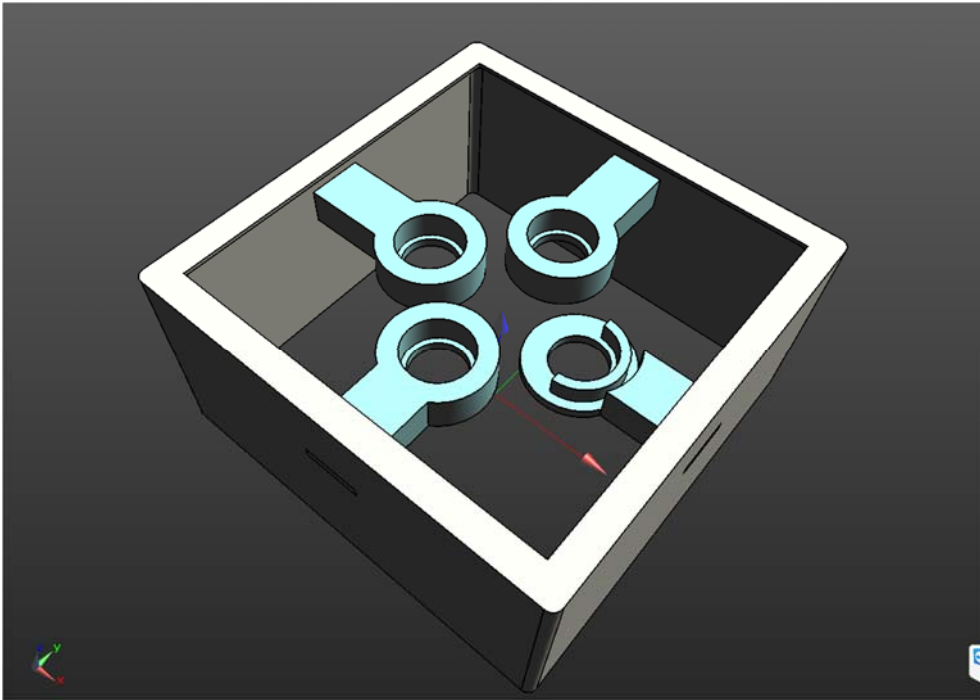
Şekil 4.9. *In vitro* RF alan maruziyet sisteminin, kapak açık genel görünümü



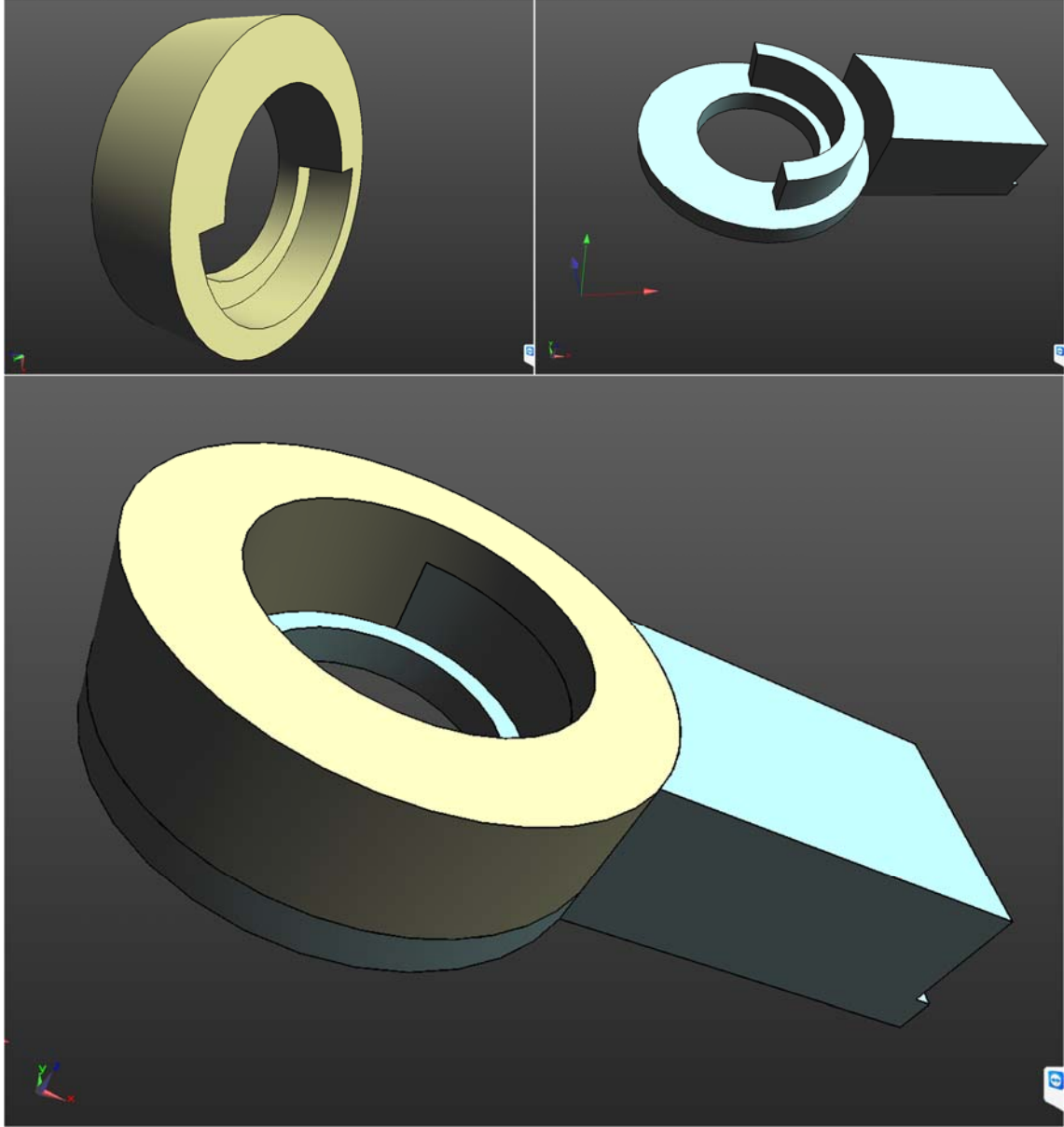
Şekil 4.10. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi, alt ve üst petri kabinlerinin birlikte genel görünümü



Şekil 4.11. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi, üst petri kabininin genel görünümü

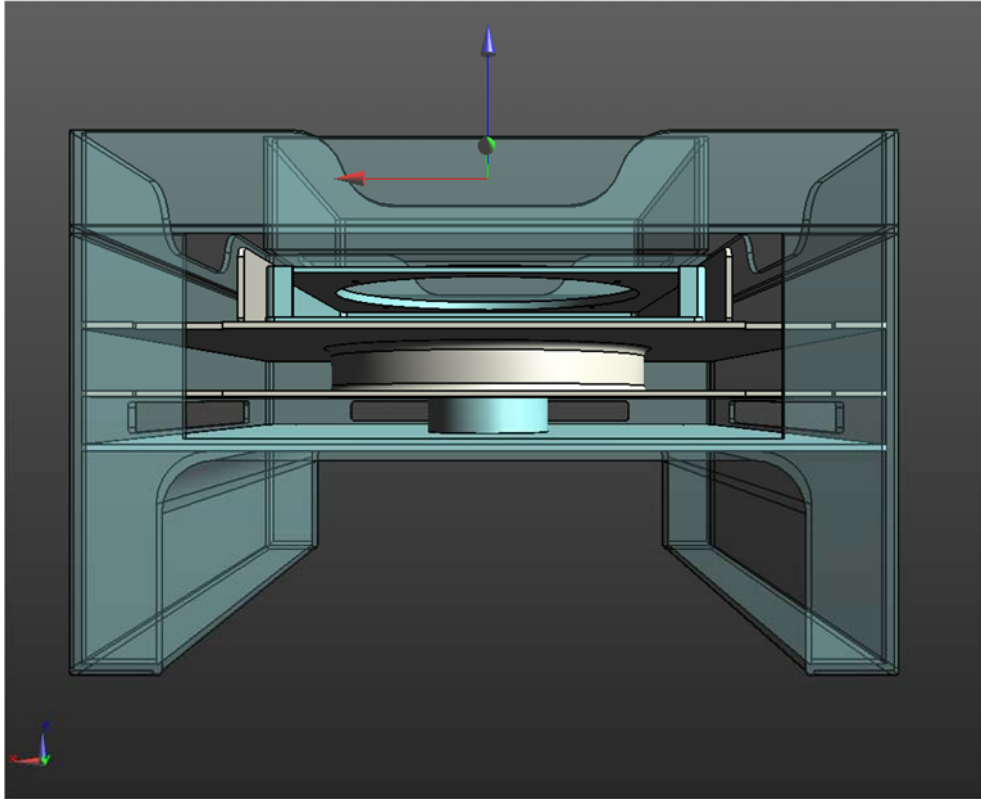


Şekil 4.12. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi, alt petri kabininin genel görünümü



Şekil 4.13. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi, Petri tutucu gövdesi ve kapağı'nın genel görünümü

Maruziyet sistemi içerisindeki hava RF alan kaynağı nedeniyle ısınabileceğinden, sistemde bir soğutucuya (fan) ihtiyaç duyulmaktadır. Sistem içerisindeki havanın ısınmasını engellemek amacıyla 3mm kalınlığa sahip pleksiden üretilmiş “Havalandırma Ünitesi” içerisinde kullanılan 20 cm çapında bir fan ile aktif soğutma sağlanmıştır (Şekil 4.14). Ayrıca bu ünite maruziyet sistemini taşıyıcı görevi de görmektedir. Böylece inkübatör içerisindeki su kabının konumu korunmuştur.



Şekil 4.14. *In vitro* RF alan maruziyet sisteminin havalandırma ünitesi

Optimizasyon çalışmaları sonucunda, *in vitro* RF alan maruziyet sisteminin SAR ve alan homojenitesine ilişkin tasarım değerleri Çizelge 4.19 ve 4.20’de verilmiştir. Bu çizelgelerde verilen,

- $\pm 3\text{dB} = 2$  katı artış/azalış
- $\pm 5\text{dB} = 3.16$  katı artış/azalış
- $\pm 0.025\text{dB} = 1$  katı artış/azalış

anlamına gelmektedir. Alan homojenitesindeki değişim, bu dB değerleri içindeki hacim yüzdesi olarak ifade edilmektedir.

Hücre kültür kabı içerisindeki biyolojik numunenin 10 gr'dan az olması nedeniyle SAR değerleri 1 gr için hesaplanmıştır.

Ortalama bir cep telefonunun SAR değeri olan 1 W/kg değerinde çalışabilmek için; anten giriş gücü olarak 23 dBm (0.2 W) tercih edilmiştir.

Vektör sinyal jeneratöründen elde edebilen maksimum çıkış gücü 25 dBm (0.316 W) olduğundan maksimum çıkış gücünde çalışabilmek amacıyla da bu değer tercih edilmiştir.

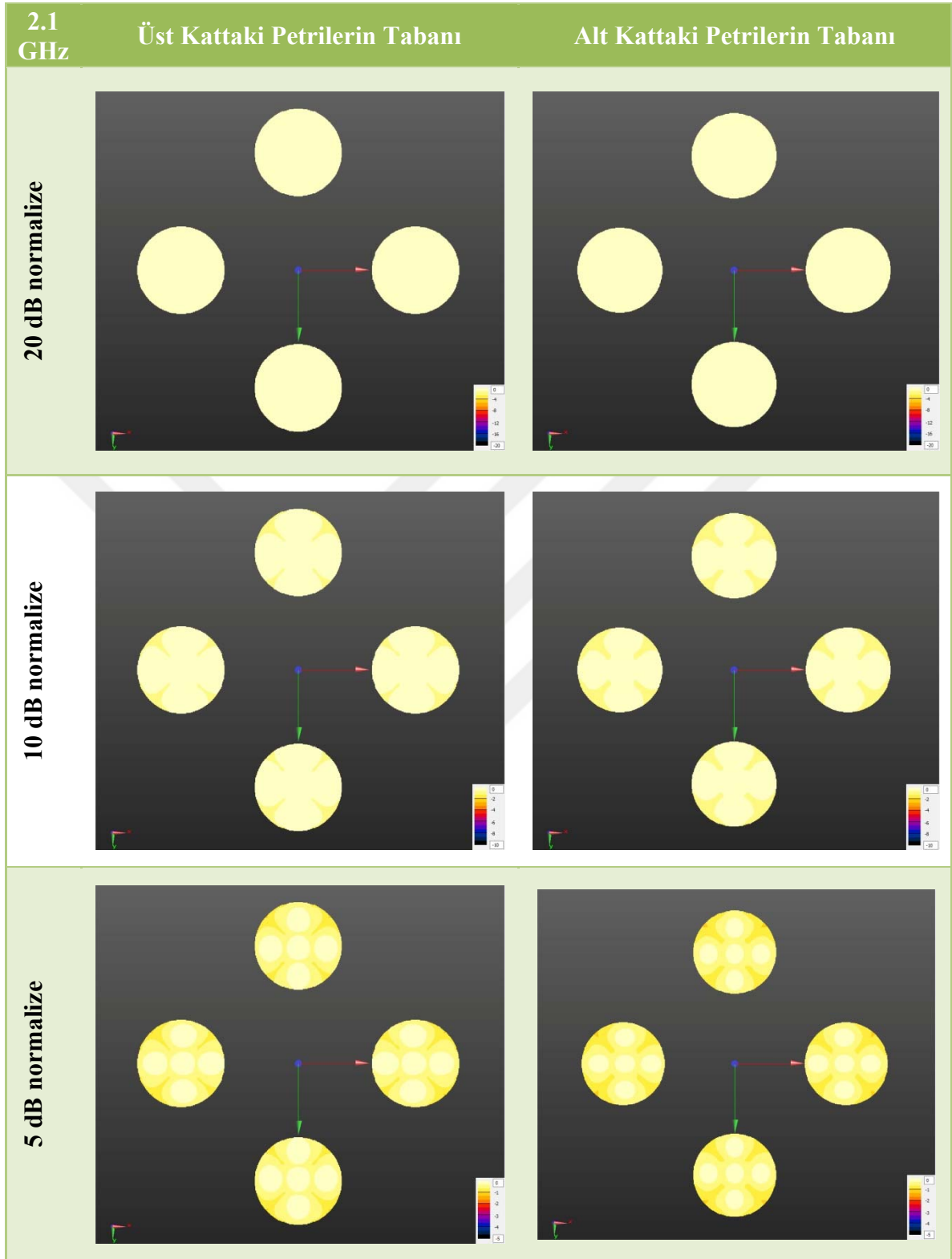
Optimizasyon simülasyonları sonucunda 1800 MHz ve 2100 MHz frekanslar için ayrı ayrı elde edilmiş olan SAR dağılım desenleri; daha net anlaşılabilmesi amacıyla farklı dB ölçeklerinde olmak üzere Şekil 4.15 ve 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.19. *In vitro* RF alan maruziyet sisteminin 2100 MHz, 23 dbm anten giriş gücü için SAR (W/kg) ve alan homojenite değerleri

				2100 MHz SAR	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
1gr SAR (W/kg) 23 dBm	Alt	Petri-1		1,0675	80,9648
	Alt	Petri-2		1,0674	80,9648
	Alt	Petri-3		1,0675	80,9648
	Alt	Petri-4		1,0674	80,9648
	Üst	Petri-5		1,0917	80,5209
	Üst	Petri-6		1,0917	80,5209
	Üst	Petri-7		1,0917	80,5209
	Üst	Petri-8		1,0917	80,5209

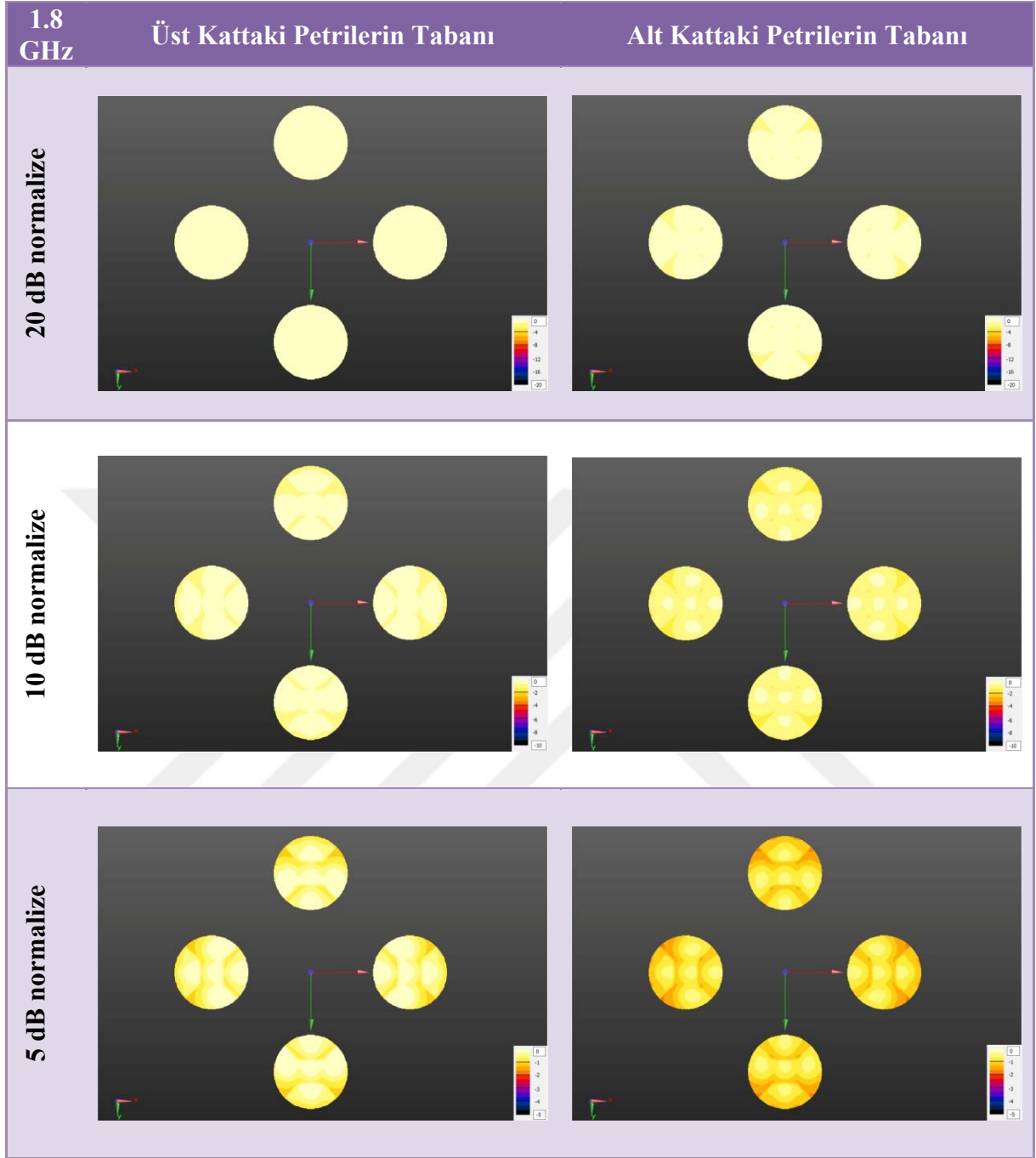
Çizelge 4.20. *In vitro* RF alan maruziyet sisteminin 1800 MHz, 25 dbm anten giriş gücü için SAR (W/kg) ve alan homojenite değerleri

				1800 MHz SAR	± 3dB İçerisindeki Hacim Yüzdesi
1gr SAR (W/kg) 25 dBm	Alt	Petri-1		0,7730	89,2576
	Alt	Petri-2		0,7731	89,2576
	Alt	Petri-3		0,7730	89,2576
	Alt	Petri-4		0,7731	89,2576
	Üst	Petri-5		0,8740	88,0865
	Üst	Petri-6		0,8740	88,0865
	Üst	Petri-7		0,8740	88,0865
	Üst	Petri-8		0,8740	88,0865



Şekil 4.15. 2.1 GHz'de *in vitro* maruziyet sisteminin 23 dBm için RF alan dağılım deseni





Şekil 4.16. 1.8 GHz'de *in vitro* maruziyet sisteminin 25 dBm için RF alan dağılım deseni

“*Tasarım Simülasyonları*” sonucunda 1800 MHz için, *SAR Verimi* yaklaşık 12.9 kat artarak, 0.12 (W/kg)/W’dan, 1.55 (W/kg)/W değerine ulaşmıştır. Aynı frekanstaki “*Üretim Öncesi Optimizasyon Simülasyonları*” sonucunda *SAR Verimi* 1.68 kat artarak, 1.55 (W/kg)/W’dan, 2,606 (W/kg)/W değerine ulaşmıştır. 2100 MHz için *SAR Verimi* yaklaşık olarak 5.4 (W/kg)/W elde edilmiştir.

İn vitro RF alan maruziyet sistemi alan homojenitesi açısından değerlendirildiğinde, 1800 MHz için  $\pm 3$ dB içerisindeki hacim yüzdesi, “*Tasarım Simülasyonları*” sonucunda %65’ten %84’e , “*Üretim Öncesi Optimizasyon Simülasyonları*” ile de %88.67 değerine ulaşmıştır (1800 MHz). Varyasyon Katsayısı 1800 MHz için 6.55 olarak tespit edilirken, 2100 MHz için 1.2 olarak tespit edilmiştir.

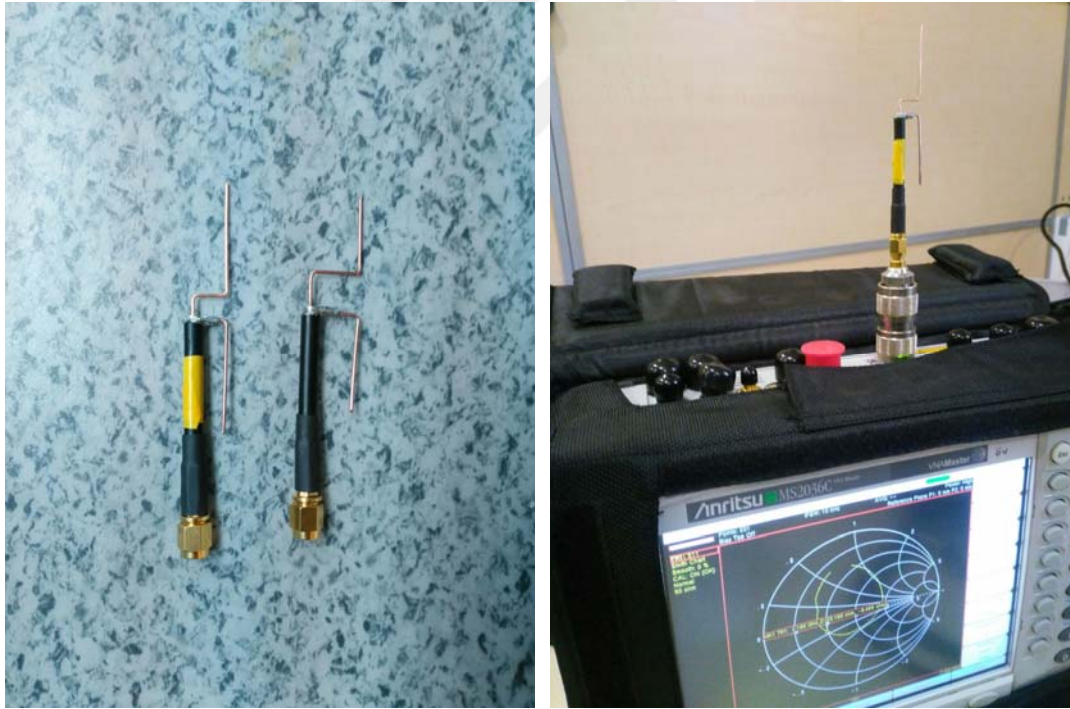
Tasarımını gerçekleştirdiğimiz in vitro RF alan maruziyet sisteminde, 8 adet 35 mm’lik hücre kültür kabına eşzamanlı olarak %80.7 homojenliğe sahip ( $\pm 3$ dB içerisindeki hacim yüzdesi) RF alan uygulanabilmesi maruziyet sisteminin yüksek alan verimliliğine sahip olduğunu göstermektedir.

## 4.2. *In vitro* RF Alan Maruziyet Sistemi Üretimi

*In vitro* RF alan maruziyet sisteminin tasarımı, “tasarım simülasyonları” ve “üretim öncesi optimizasyon simülasyonları” ile son haline ulaşmıştır. Simülasyon sonuçlarına uygun olarak tasarımı gerçekleştirilen sistemin üretimi için gerekli çalışmalar yapılmıştır.

### 4.2.1. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi anten bulguları

*In vitro* RF alan maruziyet sistemi bünyesinde kullanılmak üzere 68 mm uzunluğunda yarım dalga dipol anten kendi imkanlarımız dahilinde üretilmiştir. Anten üretimi için Amphenol LMR-240 düşük kayıplı RF kablo ve upTech SMA konnektör kullanılmıştır. Üretimi gerçekleştirilen anten test edilmiş ve SWR değeri 2.07 (yansıyan güç oranı %12.2) olarak ölçülmüştür (Resim 4.1.).



Resim 4.1. *In vitro* RF alan maruziyet sistemi anteni ve SWR ölçümü

#### 4.2.2. *İn vitro* RF alan maruziyet sistem bileşenlerinin üretimi ve montajı

*İn vitro* RF alan maruziyet sisteminin kapak ve gövde kısmı, 2 mm kalınlığında alüminyum plakadan imal edilmiştir. Alüminyum plakalar lazer kesim cihazı ile uygun boyutlarda kesilmiş, abkant büküm cihazı ile istenilen şekiller verilmiş ve TIG kaynağı kullanılarak alüminyum plakalar tek parça haline getirilmiştir. Kapak ve taban kısmında sistem içerisine hücrelerin yaşaması için gerekli olan hava girişini sağlamak üzere delikler açılmıştır. Alan sızıntısını minimum düzeyde tutmak için delik çapı 2 mm olarak seçilmiştir. Homojen alan maruziyeti için sistem tabanı ve yan yüzeyler simetrik olacak şekilde üretilmiştir. Sistemin iç yüzeylerindeki iletkenliğin bozulmaması ve korozyondan korunması için boyanmayıp sadece alodin kaplama yapılmıştır. Dış yüzeyde ise korozyona karşı önlem almak amacıyla alodin kaplama üzerine boya yapılmıştır.

Metal yüzeylerden kaynaklı yansımalar nedeniyle alan homojenitesinin bozulmaması için alüminyumdan imal edilen kabinin iç yüzeyi, RF soğurucu malzeme ile kaplanmıştır. RF soğurucu malzeme, elektrikli kıl testere kullanılarak uygun boyutlarda kesilmiştir. Alüminyum yüzeylere, RF soğurucu malzeme sprey yapıştırıcı (3M Hi-Strength 90) kullanılarak yapıştırılmıştır.

*İn vitro* RF alan maruziyet istemi iç yüzeylerinin, kolayca temizlenebilmesi, sterilize edilebilmesi, RF soğurucu malzemenin nemden ve aşınmalardan korunabilmesi için, pleksiglas malzeme ile kaplanmıştır. Pleksiglas destek malzemelerini alüminyum yüzeylere yapıştırmak için epoksi yapıştırıcı (Loctite 3430) kullanılmıştır. Nem sızdırmazlığının sağlanabilmesi için yalıtım malzemesi (Henkel Sista FT101) kullanılmıştır. Petri tutucu, petri kabinleri ve tüm pleksiglas destek malzemeleri lazer kesim cihazı kullanılarak uygun boyutlarda kesilerek işlenmiştir.

RF alan sızıntılarını önlemek amacıyla alüminyum kapak ve gövde arasında RF contalar (Holland shielding, Clip-on shield 6595 ve standart shield 700064) kullanılmıştır. Kablo girişinden kaynaklı RF zırhlamada bir sorun yaşanmaması için alüminyum gövde ile temaslı kablo kalkanı (Holland shielding, Flexible shielding Tube 4800) kullanılmıştır.

*İn vitro* RF alan maruziyet sisteminin montaj öncesi genel görünümü Resim 4.2'deki gibi olup, montaj sonrası durum ise Resim 4.3'te verilmektedir.

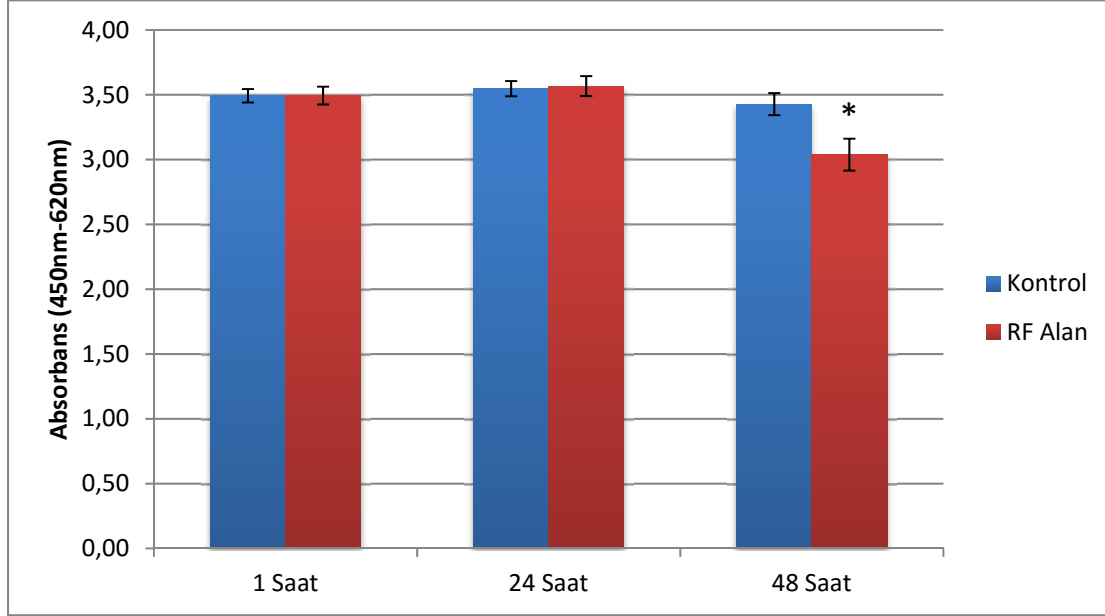




Resim 4.2. *In vitro* RF alan maruziyet sisteminin ve Havalandırma Ünitesinin farklı açılardan genel görünümü

### 4.3. Hücre Kültürü Çalışması ile İlgili Bulgular

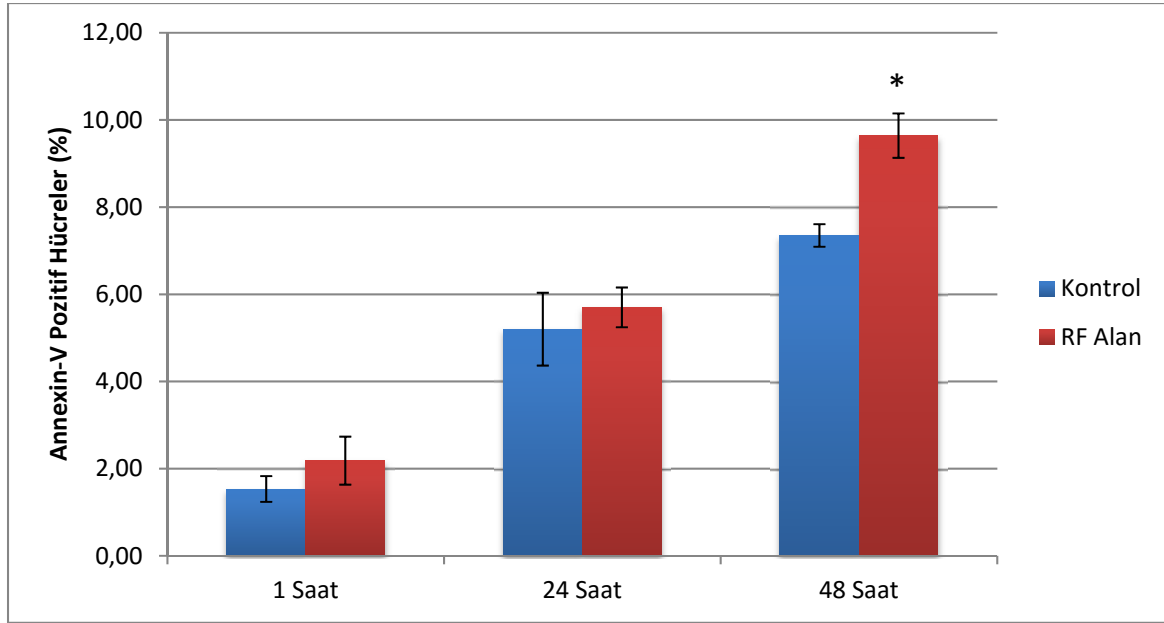
#### 4.3.1. Hücre canlılığı bulguları: WST-1 sonuçları



Şekil 4.17. U-118 MG, Kontrol ve RF alan maruziyet gruplarının, hücre canlılığı sonuçları

RF alanın hücre canlılığı üzerindeki etkilerini incelemek için U-118 MG insan glioblastoma hücreleri, 1, 24 ve 48 saatlik süreler boyunca 2.1 GHz frekanslı, 3G modülasyonlu RF alana maruz bırakıldı, hücre canlılığı WST-1 yöntemi ile tespit edildi. 1 ve 24 saat süre ile RF alan uygulanan, U-118 MG insan glioblastoma hücre hatlarında, hücre canlılığı açısından önemli bir değişim gözlenmemiştir. 48 saatli RF alana maruz kalan hücrelerde ise kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığında istatistiksel anlamda önemli azalma tespit edilmiştir.

### 4.3.2. Apoptoz bulguları: Anneksin V-FITC/PI sonuçları



Şekil 4.18. U-118 MG, Kontrol ve RF maruziyet gruplarının apoptoz sonuçları

2.1 GHz frekanslı, 3G modülasyonlu RF alana maruz bırakılan, U-118 MG insan glioblastoma hücrelerinde apoptozun nasıl etkilendiği Annexin-V-Fitc/PI yöntemi ile akım sitometride incelenmiştir. 1 ve 24 saat süreli RF alan uygulanan, U-118 MG insan glioblastoma hücre hattında, apoptozda istatistiksel açıdan önemli olmayan artış, 48 saatlik RF alan maruziyet grubunda ise kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan önemli artış tespit edilmiştir.

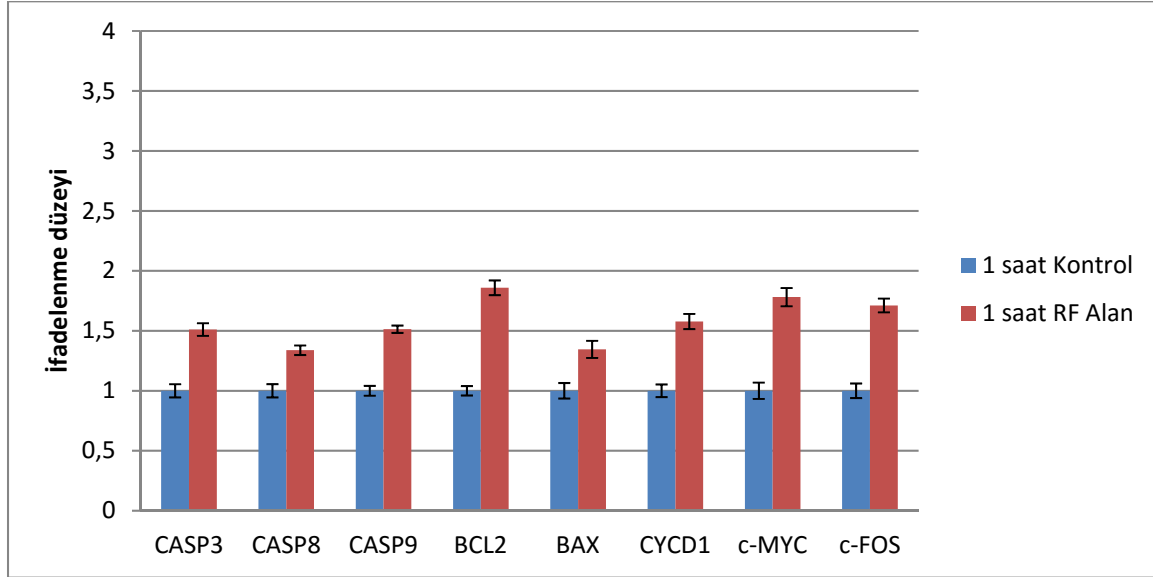
### 4.3.3. Apoptotik ve proliferatif gen ekspresyon bulguları

#### 2.1 GHz RF alanın *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *BAX*, *CYCD1*, *c-MYC* ve *c-FOS* Genlerinin İfade Düzeylerine Etkisi

Real Time PCR'da primerlerin ilgili gen dizileri ile bağlanması, bu genin ortamdaki derişimi ile doğru orantılıdır. U-118 MG hücreleri, 1, 24 ve 48 saatlik 2.1 GHz 3G modülasyonlu RF alan uygulanmasından sonra; hücrelerin *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *BAX*, *CYCD1*, *c-MYC* ve *c-FOS* genlerinin mRNA ifadenenme düzeyleri kontrolleri ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Bu genlerin mRNA düzeylerini belirlemek için kantitatif Real-time PCR (qRT-PCR) yöntemi kullanıldı.

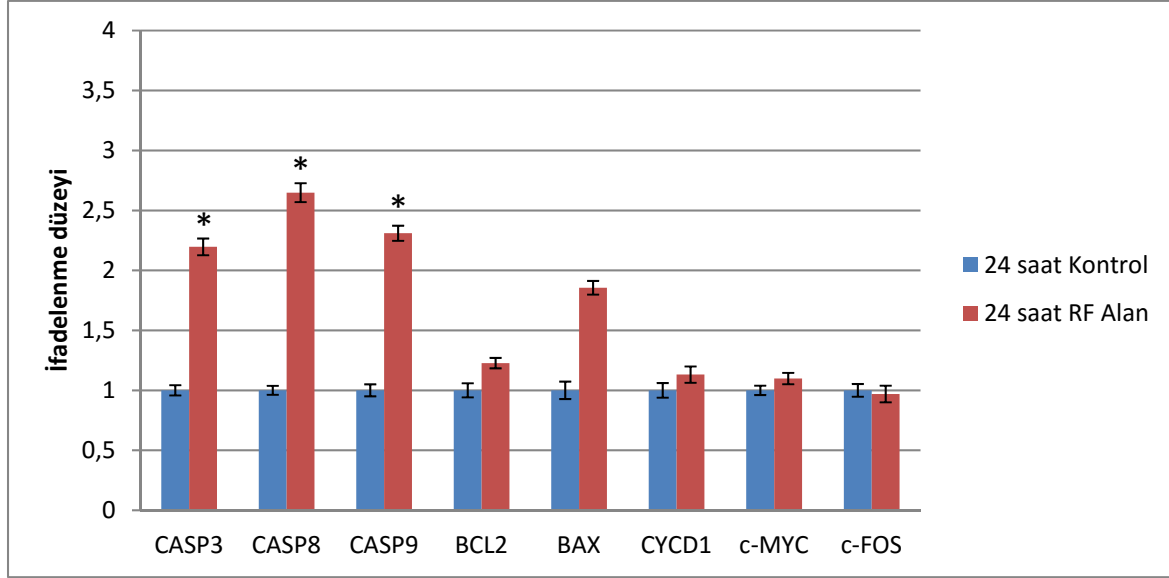


Her bir RF uygulama süresi için (1 saat, 24 saat ve 48 saat) gen ifade düzeylerinin kontrol gruplarına göre karşılaştırılmasıyla elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.



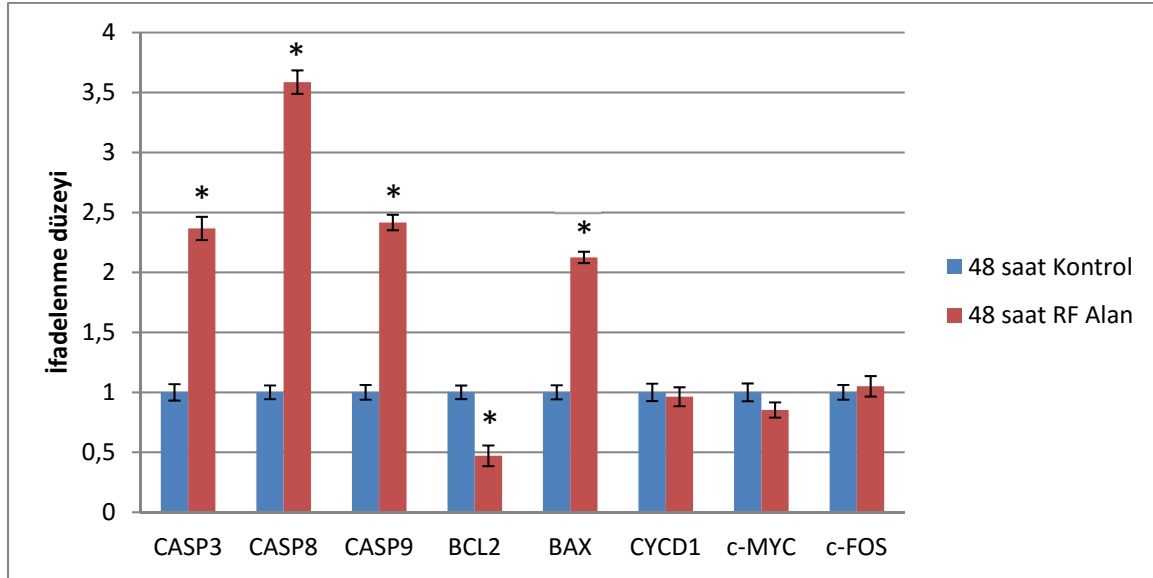
Şekil 4.19. U-118 MG, 1 saat RF alan maruziyet grubunda kontrole göre mRNA düzeylerindeki değişim

U-118 MG hücrelerinde **1 saatlik** RF alan maruziyeti sonunda gen ifadelenme düzeylerinde oluşan değişim Şekil 4.18’de verilmiştir. Apoptozda görev alan *CASP3*, *CASP8*, *CASP9* genleri ile anti-apoptotik özellikteki *BCL2* ve pro-apoptotik *BAX* geninin mRNA ifadelenme düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla artış gözlenirken, bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ( $p>0.05$ ). Bunun yanı sıra hücre döngüsünde görevli olan *CYCD1* geninin ve proliferasyonda görev alan *c-MYC* ile *c-FOS* genlerinin mRNA ifadelenme düzeylerinde gözlenen artışın da istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ( $p>0.05$ ).



Şekil 4.20. U-118 MG, 24 saat RF alan maruziyet grubunda kontrole göre mRNA düzeylerindeki değişim

U-118 MG hücrelerinde **24 saatlik** RF alan maruziyeti sonunda gen ifadenme düzeylerinde oluşan değişim Şekil 4.19’da verilmiştir. Apoptozda görev alan *CASP3*, *CASP8*, *CASP9* genlerinin mRNA ifadenme düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Bunun yanı sıra pro-apoptotik özellikteki *BAX* geninin mRNA ifadenme düzeyinin kontrol grubuna kıyasla arttığı, anti-apoptotik *BCL2* geninin mRNA ifadenme düzeyinin ise kontrol grubuna göre azaldığı, ancak bu artış ve azalışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ( $p > 0.05$ ). Hücre döngüsünde görev alan *CYCD1* geni ile proliferasyonda görev alan *c-MYC* ve *c-FOS* genlerinin mRNA ifadenme düzeylerinde ise değişiklik olmadığı gözlemlendi ( $p > 0.05$ ).



Şekil 4.21. U-118 MG, 48 saat RF alan maruziyet grubunda kontrole göre mRNA düzeylerindeki değişim

U-118 MG hücrelerinde **48 saatlik** RF alan maruziyeti sonunda gen ifadenme düzeylerinde oluşan değişim Şekil 4.20’de verilmiştir. 48 saatlik maruziyetin sonunda *CASP3*, *CASP8*, *CASP9* ve *BAX* genlerinin mRNA ifadenme düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla sırasıyla 2.4, 3.6, 2.4 ve 2.1 kat arttığı, *BCL2* mRNA ifade düzeyinin ise istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). *c-FOS* genlerinin mRNA düzeylerinde 48 saat uygulanan RF alan etkisi ile değişiklik oluşmadığı gözlemlendi Hücre döngüsünde görev alan *CYCD1* geni ile proliferasyonda görev alan *c-MYC* geni mRNA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı, ancak bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tesbit edildi ( $p > 0.05$ ).



## 5. TARTIŞMA

Her geçen gün daha da çok yaygınlaşan kablosuz iletişim teknolojileri ile birlikte, insanoğlunun RF alan maruziyeti daha da çok artmakta ve buna bağlı olarak RF alanların olası sağlık etkileri insanlar üzerinde tedirginlik yaratmaktadır. Literatürde mevcut olan ve RF alanların Merkezi Sinir Sistemi'ne (MSS) etkilerini inceleyen hücre kültürü çalışmalarında çelişkili sonuçlara rastlanmaktadır. RF alan maruziyetinden kaynaklı apoptoz ve gen ekspresyonunda önemli değişim gözlemlendiğini rapor eden çalışmalar (Liu, 2012; Lu, 2014; Perez-Castejon, 2009; Zhao, 2007) olduğu gibi, RF alan maruziyetinden kaynaklı etki gözlemeyen çalışmalar da (Liu, 2015; Chauhan, 2007; Sekijima, 2010; Sakurai, 2011) mevcuttur. Amerikan Ulusal Toksikoloji Programı (The US National Toxicology Program - NTP) tarafından erkek sıçanlar ile yapılan 2 yıllık araştırma sonucunda; RF alan maruziyeti ile gliomalar arasında ilişki gözlemlendiği rapor edilmiştir (Wyde ve diğerleri, 2016).

RF-EM alanlar, epidemiyolojik çalışmalara (INTERPHONE) dayanılarak IARC tarafından muhtemel karsinojen (Group 2B) olarak ilan edilmesine rağmen, in-vitro deney sonuçları bu konuda çelişkili ve yetersiz veriler içermektedir. Bu nedenle RF alanların MSS ile ilgili muhtemel etkileşim mekanizmalarını araştıran *in vitro* deneylerin sayısının artması önemlidir. Literatürdeki çelişkili verilerin, iyi tanımlanmamış maruziyet sistemlerinden kaynaklı olabileceği ifade edilmektedir (Kuster ve Schönborn, 2000). Bu nedenle *in vitro* RF alan çalışmaları için öncelikle maruziyet sisteminin tasarımı ve iyi tanımlanmış güvenilir bir deney sisteminin kurulması önem kazanmaktadır.

Bu tez kapsamında, RF alanların beyin kanserine etkisini *in vitro* düzeyde araştırmak planlanmış olduğundan, çalışmanın ilk adımında in vitro RF maruziyet sisteminin kurulması hedeflenmiştir. Bilgisayar ortamında SEMCAD X, 3 boyutlu EM alan simülasyon yazılımı kullanılarak 4 farklı *in vitro* RF alan maruziyet sistemi tasarlanmış, tasarımı yapılan 4 farklı prototip arasından en uygunu olduğu saptanan 3 numaralı *in vitro* RF Alan Maruziyet Sistemi Prototipinin üretimi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.4.).

Tasarımını gerçekleştirilen in vitro RF alan maruziyet sistemi, literatürdeki mevcut maruziyet sistemleri (Çizelge 2.2.) ile karşılaştırıldığında, TEM hücreli yapıların çoğundan daha yüksek SAR verimine ve alan homojenitesine sahip iken, dalga kılavuzları ile kıyaslandığında ise ortalama bir seviyeye yakın olarak gözükmektedir.

Cep telefonlarının kullanım pozisyonu nedeniyle RF alana en çok maruz kalan organımız beynimizdir. Beyin temel olarak nöronlar ve glial hücreler olmak üzere iki tip hücre içermektedir. Zhao ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada glial kökenli olan astrositlerin, nöronlara kıyasla RF alan maruziyetine karşı daha hassas olduğu rapor edilmiştir. Astrosit hücrelerinin RF alan maruziyeti konusundaki hassasiyeti Liu ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışma ile de doğrulanmıştır. RF alan maruziyetine karşı hücrelerin cevabı, hücre tipine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Liu, 2012; Nylund, 2006; Remondini, 2006).

Leszczynski ve arkadaşları tarafından farklı donörlerden elde edilen aynı tip iki hücre hattı, aynı maruziyet sistemi ve aynı koşullar uygulanmasına rağmen, hücre hatlarından elde edilen sonuçlar farklı olduğu rapor edilmiştir. Liu ve arkadaşları aynı maruziyet koşulları ve biyolojik işlemleri uygulamış olmasına rağmen astrosit hücrelerinde gözledikleri etkiyi, diğer gliomalarda gözlemleyememiştir.

Astrositlerin RF alan maruziyetine karşı daha hassas olduğu rapor edilen bu çalışmalar dikkate alınarak, **bu tez çalışmasında**; morfolojisinde hem glioblastoma hem de (astrosit kökenli) astrositoma hücreleri içeren **U-118 MG insan glioblastoma hücre hattı** ile çalışılması uygun görülmüştür.

Bu tez çalışması kapsamında in-vitro RF alan maruziyet sistemi tasarımı yapılmış, üretilmiş ve DSÖ tarafından grade IV olarak sınıflandırılan, en sık ve en agresif görülen beyin tümörü olan Glioblastoma hücre kültüründe RF alan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla 2100 MHz RF alana 1 saat, 24 saat ve 48 saat maruz bırakılan U-118 MG insan glioblastoma hücre hattında, hücre canlılığı, apoptoz ve gen ifadenme düzeyleri çalışılmıştır.

Literatürde U-118 MG insan glioblastoma hücre hattına RF alanın etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu nedenle tartışmanın bundan sonraki bölümünde, araştırma bulgularımızın karşılaştırması, köken olarak yakın hücre hatları üzerinden ve çalışılan her parametre için ayrı ayrı sunulmaktadır.

## **RF Alan Maruziyetinin Hücre Canlılığına Etkisi**

2.1 GHz frekanslı 3G modülasyonlu RF alan maruziyetinin U-118 MG insan glioblastoma hücre hattında, hücre proliferasyonu üzerine etkileri WST-1 kiti kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, 1 saat ve 24 saatlik maruziyetlerde kontrol gruplarına kıyasla; önemli bir değişim gözlenmezken, 48 saatlik maruziyet grubunda hücre canlılığının önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 5.1. RF alan maruziyetinin, glial hücreler ve gliomalarda (glioblastoma, astrositoma, vb.) hücre canlılığına etkisi

Çalışma	Hücre Tipi	Maruziyet Koşulları			Metod	Sonuç
		Frekans/Mod.	Süre	SAR		
Liu et al. (2015)	T98, A127, U251, U87	1950 MHz TD-SCDMA	12/24/48 Saat	5 W/kg	CCK-8	Önemli Bir Değişim Yok
Sekijima et al. (2010)	A172, H4, IMR-90	2.1425 GHz CW, W-CDMA	24/48/72/96 Saat	80/250/800 mW/kg	CellTiter-Glo (ATP kit)	Önemli Bir Değişim Yok
French et al. (1997)	U87	864.3 MHz CW	3 x 20dk x 7gün	8.1 mW/cm <sup>2</sup>	3H-Thymidine	Azalış Tespit edilmiş
Kang et al. (2014)	NIH3T3, U87, PC12, SH-SY5Y	837 MHz (CDMA), 1950 MHz (W-CDMA)	2 Saat	2 W/kg	MTT	Önemli Bir Değişim Yok
Liu et al. (2012)	Rat Astrosit, C6 Rat Glioma	1950 MHz TD-SCDMA	12/24/48 Saat	5.36 W/kg	CCK-8	Azalış Tespit edilmiş
Cao et al. (2009)	SHG44	900 MHz + Gama Işımı	2 saat x 3 gün	2/4/6 mW/cm <sup>2</sup> 5 Gy	MTT	Azalış Tespit edilmiş
Miyakoshi et al. (2005)	MO54	1950 MHz CW	2 Saat	2/10 W/kg	Coulter Particle Counter	Önemli Bir Değişim Yok
Stagg et al. (1997)	C6 Rat Glioma, Primer Rat Glial	836.55 TDMA	4/24 Saat, 14 Gün	0.59-59 uW/g, 0.15-15 uW/g	3H-Thymidine	Önemli Bir Değişim Yok
Perez-Castejon et al. (2009)	1321N1 (Astrositoma)	9.6 GHz (Pulsu)	15/30/60dk 24 Saat	0.4 mW/kg	Trypan Blue	24 Saat maruziyette Artış Tespit edilmiş

Literatürde RF alan maruziyetinin, glial hücreler ve gliomalarda (glioblastoma, astrositoma) hücre canlılığına etkisini inceleyen deneysel çalışma sayısı çok sınırlı olup, ulaşabildiğimiz tüm literatür Çizelge 5.1’de verilmektedir. Bu çalışmalardan 5 tanesinde RF alan maruziyetinden kaynaklı hücre canlılığında önemli bir etki gözlenmemiş, 3 çalışmada hücre canlılığında azalış tespit edilmiş, 1 çalışmada ise hücre canlılığı artmıştır.

Literatürde 2100 MHz RF alan maruziyetinin hücre canlılığına etkilerini inceleyen tek çalışma Sekijima ve arkadaşlarına (2010) ait olup yaptıkları çalışmada hücre canlılığında önemli bir değişim gözlenmemiştir.

Liu ve arkadaşları bu tez kapsamında çalışılan frekansa görece yakın bir değer olan 1950 MHz’de ve kendi maruziyet koşullarının farklı hücre hatlarına uygulandığı 2 ayrı çalışma

gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmalardan birinde (Liu, 2012) sıçan astrosit hücrelerinde etki gözlemlerine rağmen, diğer çalışmada (Liu, 2015) RF alan maruziyetinden kaynaklı önemli bir etki gözlemlenemediklerini rapor etmişlerdir. Bu durum RF alan maruziyetine hücrelerin, hücre tipine göre farklı yanıtlar verdiğini göstermektedir.

U87 hücre hattı ile çalışmış olan Kang (2014) ve French (1997); aynı hücre hattını ve yakın frekans değerlerini kullanmalarına rağmen farklı sonuçlar bulmuşlardır. Bu durumun modülasyon farkından, uygulama süresinden, RF alan doz değerinin farklı olmasından ya da farklı RF alan maruziyet sistemleri kullanılmasından kaynaklanabildiği düşünülmektedir. Görüldüğü üzere literatürdeki verilerin sınırlı ve çelişkili olması nedeniyle kıyaslama yapabilmek oldukça güçtür.

İnsan astrositoma (SHG44) hücreleri ile çalışmış olan Cao ve arkadaşları tarafından; önce 3 gün boyunca günde 2 saat farklı güçlerde 900 MHz RF alan ve sonrasında tek doz gama radyasyon uygulanan hücrelerde hücre canlılığının RF dozuna bağlı olarak önemli ölçüde azaldığı ve RF düzeyi arttıkça hücre canlılığında daha fazla azalma tespit edildiği rapor edilmiştir (Cao, 2009).

Miyakoshi ve arkadaşlarının çalışmasında, insan glioma (M054) hücrelerine 2 saatlik 1950 MHz RF alan uygulandığında, kontrol ve maruziyet grupları arasında önemli fark gözlenmemiştir (Miyakoshi, 2005).

Sıçan glioma (C6) hücreleri ile primer sıçan glial hücrelerinde 836.55 MHz RF alanın hücre canlılığını etkilemediği rapor edilmiştir (Stagg, 1997).

9.6 GHz RF alana 24 saat maruz kalan insan astrositoma (1321N1) hücrelerinin proliferasyonunda artış tespit edilmiştir (Perez-Castejon, 2009).

### **RF Alan Maruziyetinin Apoptoza Etkisi**

U-118 MG insan glioblastoma hücre hattına 1 saat, 24 saat ve 48 saat uygulanan 2.1 GHz 3G modülasyonlu RF alanın apoptoza etkisi akım sitometri ile incelenmiştir. 1 saat, 24 saat ve 48 saat maruziyet gruplarında maruziyet süresinin artışı ile birlikte apoptoz oranında artış gözlenmiştir. 1 saat ve 24 saatlik RF alan maruziyeti istatistiksel anlamda önemli bir fark



oluşturmamış, ancak 48 saat RF alan uygulamasının apoptozda istatistiksel anlamda önemli değişim oluşturduğu saptanmıştır.

RF alanların glial kökenli hücre kültürlerinde apoptoza etkilerini inceleyen literatüre bakıldığında, sayıları kısıtlı olan bu çalışmalarda RF alanın apoptozu arttığını (Liu, 2012; Cao, 2009) ya da apoptozda önemli bir değişim gözlenmediğini (Liu, 2015; Terro, 2012; Hirose, 2006) ifade eden raporlarla karşılaşılmaktadır.

Çizelge 5.2 'de verilen bu çalışmalardan RF alanların apoptozu etkilediğini rapor edenlerinde, genel olarak astrosit kökenli hücreler ile çalışılmış olduğu dikkat çekmektedir.

Çizelge 5.2. RF alan maruziyetinin, glial hücreler ve gliomalarda (glioblastoma, astrositoma, vb.) apoptoza etkisi

Çalışma	Hücre Tipi	Maruziyet Koşulları			Metod	Sonuç
		Frekans/Mod.	Süre	SAR		
Liu et al. (2015)	T98, A127, U251, U87	1950 MHz TD-SCDMA	12/24/48 Saat	5 W/kg	Annexin V-Fitc PI	Önemli Bir Değişim Yok (Apoptoz)
de Gannes FP et al. (2011)	SH-SY5Y, U87, CHME5, primer nöron	1800 MHz GSM Edge	1/24 Saat	2 W/kg 10 W/kg	DCFH-DA	Önemli Bir Değişim Yok (ROS)
Hirose et al. (2006)	A172, IMR-90	2.1425 GHz CW, W-CDMA	24/48 Saat 28 Saat	80/250/800 mW/kg	Annexin V-Fitc PI	Önemli Bir Değişim Yok (Apoptoz)
Kang et al. (2014)	NIH3T3, U87, PC12, SH-SY5Y	837 MHz (CDMA), 1950 MHz (W-CDMA)	2 Saat	2 W/kg	DCFH-DA	Önemli Bir Değişim Yok (ROS)
Liu et al. (2012)	Rat Astrosit, C6 Rat Glioma	1950 MHz TD-SCDMA	12/24/48 Saat	5.36 W/kg	Fitc	48 Saat Maruziyet Grubunda, Astrosit Hücrelerinde Apoptozda Artış Tespit Edilmiş
Cao et al. (2009)	SHG44	900 MHz + Gama Işını	2 saat x 3 gün	2/4/6 mW/cm <sup>2</sup> 5Gy	DNA Fragmentasyonu	Gama ışını ile birlikte uygulandığında, sadece Gama uygulanan gruba kıyasla Apoptozda Artış Tespit Edilmiş
Perez-Castejon et al. (2009)	1321N1 (Astrositoma)	9.6 GHz (Pulsu)	15/30/60dk 24 Saat	0.4 mW/kg	Hoechst - PI	Protein bazında Bcl-2 artmış, Bax Azalmış
Terro et al. (2012)	Primer Serebral Kortikal Rat Hücresi	900 MHz GSM	24 Saat	0.25 W/kg	DAPI + Western Blot (Casp3)	Önemli Bir Değişim Yok

RF alan maruziyetinden kaynaklı apoptotik etki inceleyen 5 çalışmada önemli bir etki gözlenmemiş, 2 çalışmada apoptozda artış tespit edilmiş, 1 çalışmada ise apoptoz azaldığı rapor edilmiştir.

U-118 MG insan glioblastoma hücre hattında RF alan maruziyetinin apoptoza etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2.1 GHz frekanslı tek çalışma olan Hirose ve arkadaşlarının (2006) çalışmasında apoptozda önemli bir değişim olmadığı rapor edilmiştir.

Liu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 1950 MHz'de aynı maruziyet koşullarının farklı hücre hatlarına uygulandığı 2 farklı çalışma gerçekleştirmişlerdir. Aynı maruziyet koşulları uygulanmasına rağmen sıçan astrosit ve C6 hücrelerinde (Liu, 2012) apoptozda önemli oranda artış görülmesine rağmen insan glioblastoma (U87 ve U251) hücre hatlarında (Liu, 2015) önemli bir değişim gözlenmemiştir. 1950 MHz frekanslı alan etkisinde C6 glioma hücre hattında önemli bir değişim gözlenmemiştir. Sıçan astrosit hücrelerine 12 saat, 24 saat ve 48 saat RF alan uygulandığında; 48 saat uygulamanın diğer gruplara kıyasla 3 kat daha fazla apoptoz oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu etki, 48 saat uygulama süresinin; çalışılan hücrelerin ikiye katlanma süresinin (doubling time of cell culture) üzerinde olması ile izah edilmiştir. Bizim çalıştığımız U-118 MG hücre hattı 48 saatten önce ikiye katlanma süresine ulaşmakta olduğundan 48 saat için etki gözlenmesi literatür ile uyumlu bulunmuştur. RF alan maruziyetine hücrelerin yanıtı, hücre tipine göre farklılık göstermektedir. Deneysel verilerin sınırlı ve çelişkili olması nedeniyle kıyaslama yapabilmek oldukça güçtür. (Liu, 2012). De Gannes ve arkadaşları, 1 saat ve 24 saat 1800 MHz GSM maruziyetinin apoptoza etkilerini; glioblastoma (U87), nöroblastoma (SH-SY5Y) ve insan mikroglia (CHME-5) hücrelerinde ROS tayini ile araştırmış ve önemli bir etki gözlemlemediklerini rapor etmişlerdir (de Gannes, 2011).

İnsan glioblastoma (A172) ve insan fibroblast (IMR-90) hücrelerinde 2.1 GHz RF alanın apoptoza etkisi Hirose ve arkadaşları tarafından incelenmiş, kontrol ve maruziyet grupları arasında önemli bir fark gözlenmediği rapor edilmiştir (Hirose, 2006).

Kang ve arkadaşları, 837 MHz ve 1950 MHz alanları birlikte, 2 saat süreyle, fare fibroblast hücresi (NIH3T3), insan glioblastoma (U87), sıçan feokromositoma (PC12) ve insan nöroblastoma (SH-SY5Y) hücre hatlarına uygulamışlar ve bu maruziyetin ROS'u etkilemediğini rapor etmişlerdir (Kang, 2014).

Cao ve arkadaşları, insan astrositoma (SHG44) hücre hattı ile yaptıkları araştırmada RF alan doz değeri arttıkça, apoptozun da arttığını rapor etmişlerdir (Cao, 2009).

İnsan astrositoma (1321N1) hücre hattına 24 saat süre ile 9.6 GHz frekanslı RF alan uygulanmış, antiapoptotik Bcl-2 proteininde önemli oranda artış, proapoptotik Bax proteininde ise önemli oranda azalış tespit edildiği belirtilmiştir (Perez-Castejon, 2009).

Terro ve arkadaşları tarafından primer serebral kortikal sıçan hücre hattına, 24 saat boyunca uygulanan 900 MHz GSM alanın apoptoz oluşumunu etkilemediği rapor edilmiştir (Terro, 2012).

Hücre proliferasyonu ve apoptozda RF alan maruziyetinden kaynaklı etkinin 48 saatlik maruziyet sonrasında gözlenmesi, hücrelerin ikiye katlanma süreleri açısından oldukça anlamlıdır. Bu nedenle RF alan maruziyeti ile ilgili hücre kültürü çalışmalarında, maruziyet süreleri belirlenirken hücrenin ikiye katlanma süresinin de dikkate alınmasının literatürdeki çelişkili çalışma sonuçlarını azaltma potansiyeli olduğunu düşünmekte ve önemsemekteyiz.

### **RF Alan Maruziyetinin Gen İfadeleme Düzeyine Etkisi**

U-118 MG insan glioblastoma hücre hattında 2.1 GHz frekanslı, 3G modülasyonlu RF alanın apoptotik ve proliferatif yolda görevli genlerin ekspresyonunu nasıl etkilediği, qRT-PCR kullanılarak analiz edildi.

1 saat RF alan grubunda, apoptoz ile ilişkili genlerin ifadeleme düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla artış gözlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 24 saatlik RF alan maruziyetinde *CASP8*, *CASP9* ve *CASP3* genlerinin ifadeleme düzeylerinde önemli oranda artış (up-regulation) gözlenmiştir.

48 saatlik RF alan etkisinde ise hem *CASP8*, *CASP9* ve *CASP3* genlerinin regülasyon miktarında artış, hem de *BAX* (up-regulation) ve *BCL2* (down-regulation) geninde önemli değişimler gözlenmiştir.

Glial kökenli hücre kültürleri, RF alanın gen ekspresyonu üzerindeki etkileri açısından incelendiğinde, hem ekspresyon seviyesinin önemli ölçüde değiştiğini (Liu, 2012; Lu, 2014; Zhao, 2007) ve hem de önemli bir değişimin gözlenmediğini (Liu, 2015; Sekijima, 2010;

Chauhan, 2007; Hirose, 2007; Qutob, 2006; Cao, 2009; Stagg, 1997; Sakurai, 2011) rapor eden çalışmalar mevcuttur.

Çizelge 5.3. RF alan maruziyetinin, glial hücreler ve gliomalarda (glioblastoma, astrositoma, vb.) gen ifadenmesi düzeylerine etkisi

Çalışma	Hücre Tipi	Maruziyet Koşulları			Metod	Sonuç
		Frekans/Mod.	Süre	SAR		
Liu et al. (2015)	U251, U87	1950 MHz TD-SCDMA	12/24/48 Saat	5 W/kg	qRT-PCR	Önemli Bir Değişim Yok
Sekijima et al. (2010)	A172, H4, IMR-90	2.1425 GHz CW, W-CDMA	24/48/72/96 Saat	80/250/800 mW/kg	DNA mikroçip, (GeneChip)	Önemli Bir Değişim Yok
Chauhan et al. (2007)	U87, Mono Mac-6	1.9 GHz Pulsu (Sürekli), Pulsu (5dk on/ 10dk off)	24 Saat, 6 Saat	0.1/1/10 W/kg	DNA mikroçip, qRT-PCR	Önemli Bir Değişim Yok (Sadece 1 saat 43C grubunda değişim var)
Hirose et al. (2007)	A172, IMR-90	2.1425 GHz CW, W-CDMA	2/24/48 Saat 2/28 Saat	80/250/800 mW/kg	DNA mikroçip	Önemli Bir Değişim Yok (Sadece 3 saat 43C grubunda değişim var)
Hirose et al. (2006)	A172, IMR-90	2.1425 GHz CW, W-CDMA	24/48 Saat 28 Saat	80/250/800 mW/kg	DNA mikroçip, RT-PCR	Önemli Bir Değişim Yok
Qutob et al. (2006)	U87	1.9 GHz (Pulsu)	4 Saat	0.1/1/10 W/kg	DNA mikroçip	Önemli Bir Değişim Yok (Sadece 1 saat 43C grubunda değişim var)
Liu et al. (2012)	Rat Astrosit, C6 Rat Glioma	1950 MHz TD-SCDMA	12/24/48 Saat	5.36 W/kg	RT-PCR	48 Saat Maruziyet Grubunda, Astrosit Hücrelerinde <b>Bax'ta artış, Bcl-2'de Azalış</b> , Kaspaz 3 proteininde Artış Tespit Edilmiş
Cao et al. (2009)	SHG44	900 MHz + Gama Işını	2 saat x 3 gün	2/4/6 mW/cm <sup>2</sup> 5 Gy	RT-PCR	Hsp70 geninde Önemli Bir Değişim Yok
Stagg et al. (1997)	C6 Rat Glioma, Primer Rat Glial	836.55 TDMA	4/24 Saat, 14 Gün	0.59-59 uW/g, 0.15-15 uW/g	3H-Thymidine	Önemli Bir Değişim Yok
Sakurai et al. (2011)	SVGp12	2.45 GHz CW	1/4/24 Saat	1/5/10 W/kg	DNA mikroçip, RT-PCR	DNA Mikroçipte 28 Gende değişim Gözlenmiş, bunlardan 22 gene RT-PCR'da bakılmış bir etki gözlenmemiş.
Lu et al. (2014)	N9 (Mikroglia), C8-D1A (Fare Astrosit)	1800 MHz GSM (5dk on/ 10dk off)	1/3/6/12/24 Saat	2 W/kg	RT-PCR	Her iki hücrede Pro-inflamatuvar Sitokinlerin gen ifadenmesi üzerinde etki tespit edilmiş. (STAT3 aktive olmuş)
Zhao et al. (2007)	Primer Astrosit, Primer Nöron	1900 MHz GSM	2 Saat	-	DNA mikroçip, RT-PCR	<b>Nöron</b> Hücrelerinde <b>Caps2/6, ASC</b> artmış. <b>Astrosit</b> Hücrelerinde <b>Caps2/6, ASC ve Bax</b> artmış.

Literatürde, glial hücreler ve gliomalarda mRNA düzeylerine RF alan maruziyetinin etkisini inceleyen deneysel çalışma sayısı sınırlı olup, ulaşabildiğimiz literatür Çizelge 5.3'de verilmektedir. Bu tabloda 9 çalışmada RF alan maruziyetinden kaynaklı gen ekspresyonunda önemli bir etki gözlenmemişken, diğer 3 çalışmada gen ifadenme düzeylerinde etki tespit

edilmiştir. U-118 MG insan glioblastoma hücre hattında, RF alan maruziyetinin etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

RF alan maruziyetinin, mRNA düzeylerini önemli oranda etkilediğini ifade eden 3 çalışmanın ortak noktası astrosit hücrelerinin kullanılmış olmasıdır. Bu çalışmalar, RF alan maruziyet deneylerinde, hücre tipinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

2.1 GHz çalışma frekansında literatürde 3 adet çalışma (Hirose, 2006; Hirose, 2007; Sekijima, 2010) mevcut olup, bu üç çalışmada da mRNA düzeylerine RF alanın önemli bir etkisi olmadığı rapor edilmiştir. Bu tez çalışması ile literatürdeki benzer 3 çalışmanın farklı sonuçlar elde etmesinin nedeni farklı hücre hatları kullanılması olarak düşünülmektedir. Bu 3 çalışmaya dikkat edildiğinde tek bir ekibin, aynı maruziyet sistemi ve aynı hücre hatlarını kullanarak aynı kararlı sonuçları aldığı görülmektedir. Bu veriler de maruziyet sistemi, maruziyet koşulları ve aynı hücre hatlarının kullanımı durumunda literatürdeki çelişkili deneysel verilerin azalabileceğini açıkça göstermektedir.

Liu ve arkadaşlarının çalışmasında, glioblastoma (U87 ve U251) hücre hatları 12, 24 ve 48 saat süre ile 1950 MHz RF alana maruz bırakılmış *BAX*, *BCL2*, *c-MYC* ve *EMP-1* genlerinin ifadenme düzeylerinde önemli bir fark gözlemlenmediği bildirilmiştir (Liu, 2015).

Glioblastoma (A172), nörogloma (H4) ve insan fibroblast (IMR-90) hücre hatlarına 24 saat ile 96 saat arasında 2.1 GHz RF alan maruziyeti uygulanan araştırmada DNA mikroçip kullanılarak gen ifadenme düzeyleri incelenmiştir. Deney sonucunda DNA mikroçipte bulunan 16000-19000 arasındaki genlerden %1'den daha azında değişim gözlenmiştir. H4 hücre hattında 2 kat ya da daha fazla değişim gözlenen gen sayısı 8, A172 hücre hattında 5, IMR-90 hücre hattında ise 1 tanedir. RF alan maruziyetinin gen ifadenme düzeyi profili üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı ifade edilmiştir (Sekijima, 2010).

Chauhan ve arkadaşlarının çalışmasında glioblastoma (U87) ve insan lösemi (Mono Mac-6) hücre hatlarına 6 ve 24 saat boyunca 1.9 GHz alan maruziyeti uygulanmış ve gen ifadenme düzeyinde önemli bir etki gözlenmediği belirtilmiştir. Buna karşın hücre hatlarına 1 saatlik 43°C sıcaklık uygulamasının gen ifadenme düzeyini değiştirdiği belirtilmiştir (Chauhan, 2007).

Hirose ve arkadaşları insan glioblastoma (A172) ve sağlıklı akciğer dokusuna ait (IMR-90) hücre hatlarını kullanarak yaptıkları çalışmada, 2.1 GHz alanı 2 saat ile 48 saat arasında değişen sürelerde uygulamışlar ve RF alanının *HSP* ile ilişkili genlerin ifadenenme düzeyinde dikkate değer bir farklılık oluşturmadığını rapor etmişlerdir. Pozitif kontrol (43°C 3 saat) grubunda ise *HSP* ile ilişkili genlerin ifadenenme düzeyinde önemli derecede artış tespit edildiği belirtilmiştir (Hirose, 2007).

Glioblastoma (A172) ve akciğer dokusuna ait (IMR-90) hücre hatlarına 2.1 GHz'lik RF alanının 24 saat ve 48 saat uygulandığı çalışmada *P53* geni ile ilişkili genlerde dikkate değer bir farklılık gözlenmediği rapor edilmiştir (Hirose, 2006).

Qutob ve arkadaşları RF alanının gen ifadenenme düzeyi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla glioblastoma (U87) hücre hattına 4 saat 1.9 GHz alan uygulamışlar ve gen ifadenenme düzeyi üzerinde bir etki tespit etmediklerini, fakat 43°C 1 saat sıcaklık uygulamasının (pozitif kontrol) strese bağlı genlerin ifadenenme düzeylerinde artışa neden olduğu ifade etmişlerdir (Qutob, 2006).

1950 MHz RF alana 12, 24 ve 48 saat süre ile maruz bırakılan sıçan astrosit ve C6 glioma hücrelerinin *Bcl-2* ve *Bax* gen ifadenenme düzeyleri incelendiğinde, 48 saatlik maruziyet uygulanan astrosit hücrelerinde *Bax*'ta önemli derecede bir artış gözlenirken, *Bcl-2* geninde ise önemli derecede ifadenenme düzeyinde bir azalış tespit edildiği belirtilmiştir (Liu, 2012).

Astrositoma (SHG44) hücrelerine 900 MHz RF alan ve takiben yapılan gama radyasyon uygulaması çalışmasında RF alan tek olarak uygulandığında *HSP70* gen ifadenenme düzeyinde artış gözlenirken, gama ışını ile birlikte uygulandığında önemli bir değişim gözlenmemiştir (Cao, 2009).

C6 sıçan glioma ve primer sıçan glial hücrelerine 836 MHz RF alan maruziyeti uygulanmış, sonuçlar değerlendirildiğinde primer sıçan glial hücrelerinin DNA sentez miktarında önemli bir etki gözlenmezken, C6 glioma hücrelerinde az miktarda ama istatistiksel açıdan önemli bir artış tespit edildiği ifade edilmiştir (Stagg, 1997).

Sakurai ve arkadaşları yaptıkları çalışmada insan astroglia (SVGp12) hücre hattına 1 saat, 4 saat ve 24 saat olmak üzere 2.45 GHz RF alan maruziyeti uygulamış ve gen ifadenenme

düzelelerine etkisini incelemişler ve deney sonucunda kontrol ve maruziyet grupları arasında önemli bir fark tespit edilemediği ifade edilmiştir (Sakurai, 2011).

Lu ve arkadaşlarının çalışmasında fare mikroglia (N9) ve astrosit (C8-D1A) hücreleri kullanılmış, 1 saat ile 24 saat arasında farklı maruziyet sürelerinde hücre kültürlerine 1800 MHz alan uygulaması gerçekleştirilmiş ve pro-inflamatuar sitokinler ile proteinlerin (IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , CCL2) gen ifadenme düzeyleri RT-PCR ile incelenmiştir. RF alan maruziyetinin mikroglia ve astrosit hücrelerinde, farklı STAT3 aktivasyonlarını da içeren pro-inflamatuar yanıtları indüklediği ifade edilmiştir (Lu, 2014).

Zhao ve arkadaşları tarafından primer nöron ve astrosit hücreleri kullanarak yapılan çalışmada 2 saat 1900 MHz, RF alan maruziyetinin apoptoz ile ilişkili genlerdeki ifadenme düzeyleri incelenmiştir. Deney sonucunda nöronlarda *Casp2*, *Casp6* ve *ASC* genlerinin ifade düzeylerinde bir artış gözlenirken, astrositlerde *Casp2*, *Casp6*, *ASC*, *Bax* genlerinde artış gözlenmiştir. Nöronlardaki gen ifadenme düzeylerindeki artış, cep telefonunun hem "konuşma" hem "bekleme" modunda gözlenirken, astrositlerde bu durum sadece "konuşma" modunda gerçekleşmiştir. Bu nedenle nöronların astrositlere göre daha hassas oldukları ifade edilmiştir. RF alan maruziyetinin apoptotik yolaktaki tüm genler üzerinde etkili olmadığı sadece belirli genleri etkilediği ifade edilmiştir (Zhao, 2007).

Özet olarak, U-118 MG insan glioblastoma hücre hattında RF alan maruziyetinden kaynaklı etkilerin, hücre proliferasyonu, apoptoz ve gen ekspresyonu ile değerlendirildiği bu çalışmada U-118 MG hücrelerinin RF alan maruziyetine yanıtının, RF alanın uygulama süresine bağlı olarak değişim gösterdiği saptandı. RF alan maruziyetinden kaynaklı en önemli etkiler, hücrelerin ikiye katlanma zamanını (doubling time) da içine alan 48 saatlik maruziyet grubunda gözlenmiştir. Diğer bir önemli nokta, gerçekleştirdiğimiz deney sonuçları RF alan maruziyetinden kaynaklı etkilere karşı astrosit kökenli hücrelerin hassas olduğunu göstermiştir. Bu sonuç ta literatür ile uyumlu bulunmuştur. Ancak gelecek çalışmalarda, RF alan etkilerinin araştırılacağı astrosit kökenli hücre hatlarının, hücrenin ikiye katlanma zamanının da dikkate alınarak, farklı güç ve frekanslarda incelenmesi gereklidir.





## 6. SONUÇ

Epidemiyolojik çalışmalar RF alan maruziyetine bağlı olarak kanser riskinde ve görülme sıklığında artışı işaret etse de RF alan maruziyeti ile ilgili deneysel çalışmalar çelişkili ve sınırlı veriler içermektedir. Dolayısıyla, hücre kültürü ortamında hipotezlerin kontrollü deneyler ile sınanabileceği *in vitro* ortamda deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Literatürdeki çelişkili deneysel verilerin ana kaynağı olarak, iyi tanımlanmamış maruziyet sistemleri gösterilmektedir. Bu nedenle iyi tanımlanmış maruziyet sistemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Sunulan çalışma, maruziyet sistemi kurulumu ve biyolojik deneyler olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilmiştir:

A. Deneylerin kalitesini ve güvenilirliğini arttırmak amacıyla *in vitro* RF alan maruziyet sisteminin tasarımı ve üretimi gerçekleştirilmiştir:

- Tasarımı gerçekleştirilen maruziyet sistemi inkübatör içerisine sığacak boyutlara sahiptir.
- 8 adet 35 mm hücre kültür kabına eş zamanlı olarak RF alan uygulanabilmektedir.
- yüksek SAR verimi ve alan homojenitesi nedeniyle kültür hücrelerine daha yüksek seviyelerde ve homojenlikte RF alanın uygulanabilmesi mümkün olabilmektedir.

B. U-118 MG insan gliblastoma hücre kültüründe, RF-EM alanların, hücre canlılığı, apoptoz ve gen ekspresyonu üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, U-118 MG insan gliblastoma hücreleri, 2.1 GHz frekanslı, 3G modülasyonlu RF alana 1 saat, 24 saat ve 48 saat sürelerle maruz bırakılmıştır. Hücrelerin RF alana yanıtı, hücre canlılığı için WST-1 yöntemiyle Eliza okuyucuda, apoptoz için Anneksin V-FITC/PI yöntemiyle akım sitometri cihazında, proliferatif ve apoptotik yolaktaki bazı genlerin mRNA ifadenme düzeylerindeki değişimler qRT-PCR ile tespit edilmiştir.

U-118 MG hücre hattı için, hücre canlılığı, apoptoz ve gen ekspresyonu testleri birlikte değerlendirildiğinde:

- 1 saatlik RF alan maruziyetinin önemli bir etkiye neden olmadığı,
- 24 saatlik RF alan maruziyetinin gen ifadenmesinde etkili olduğu fakat proteinin sentez (translasyon) aşamasına geçemediği
- 48 saatlik RF alan maruziyetinin hem gen hem de protein (WST-1 ve Akım Sitometri) düzeylerinde etkili olarak apoptozu indüklediği gözlemlenmiştir.

İncelenen deney koşullarında, RF alan maruziyetinin dışsal apoptotik yolak üzerinde daha etkili olabileceği gözlenmiştir.



## KAYNAKLAR

- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M., Roberts K., Walter P. (2015). *Molecular biology of the cell*. New York, NY, Garland Science, Taylor and Francis Group.
- Altunkaynak, B.Z., ve Özbek, E. (2008). Programlanmış Hücre Ölümü: Apoptoz Nedir?. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 6(2): 93-104.
- Ardoino, L., Lopresto, V., Mancini, S., Pinto, R., & Lovisolo, G. A. (2004). 1800 MHz in vitro exposure device for experimental studies on the effects of mobile communication systems. *Radiation Protection Dosimetry*, 112(3), 419-428.
- Baan, R., Grosse, Y., Lauby-Secretan, B., El Ghissassi, F., Bouvard, V., Benbrahim-Tallaa, L., ... and Straif, K. (2011). Carcinogenicity of radiofrequency electromagnetic fields. *The Lancet Oncology*, 12(7), 624-626.
- Barnes, F.S. and Greenebaum B. (2007). *Handbook of biological effects of electromagnetic fields. Bioengineering and biophysical aspects of electromagnetic fields*. Boca Raton, CRC/Taylor & Francis.
- Berenger, J.P. (1994). A perfectly matched layer for the absorption of electromagnetic waves. *Journal of Computational Physics*, 114(2), 185-200.
- Boyle, P., and Levin, B. (2008). *World cancer report 2008*. IARC Press, International Agency for Research on Cancer.
- Budak, G. G., Muluk, N. B., Öztürk, G. G., Budak, B., Apan, A., Seyhan, N., and Sanli, C. (2009). Effects of GSM-like radiofrequency on distortion product otoacoustic emissions in pregnant adult rabbits. *Clinical and Investigative Medicine*, 32(2), 112-116.
- Canseven A.G. (1998). Değişik şiddet ve süreli magnetik alanların deri hidroksprolin seviyesine etkisi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Canseven, A. G., Esmekaya, M. A., Kayhan, H., Tuysuz, M. Z., and Seyhan, N. (2015). Effects of microwave exposure and Gemcitabine treatment on apoptotic activity in Burkitt's lymphoma (Raji) cells. *Electromagnetic biology and medicine*, 34(4), 322-326.
- Cao, Y., Zhang, W., Lu, M. X., Xu, Q., Meng, Q. Q., Nie, J. H., & Tong, J. (2009). 900-MHz microwave radiation enhances gamma-ray adverse effects on SHG44 cells. *J Toxicol Environ Health A*, 72(11-12), 727-732.
- Chauhan, V., Qutob, S. S., Lui, S., Mariampillai, A., Bellier, P. V., Yauk, C. L., . . . McNamee, J. P. (2007). Analysis of gene expression in two human-derived cell lines exposed in vitro to a 1.9 GHz pulse-modulated radiofrequency field. *Proteomics*, 7(21), 3896-3905.

- Chou, CK, Bassen, H, Osepchuk, J, and Balzano, Q. (1996). Radio Frequency Elektromagnetic Exposure: Tutorial Review on Experimental Dosimetry. *Bioelectromagnetics*, 17,195-208
- Chou, CK, Guy, AW. (1977). *Microwave and RF dosimetry*. In Taylor LS, Cheung AY: *workshop on the physical basis of electromagnetic interactions with biological systems*. Proceedings of the Workshop Held at the University of Maryland, Collage Park, Md; 165-216
- Chou, CK, Guy, AW. (1985). *Research on Nonionizing Radiation: Physical Aspects in Extrapolating Infra Human Data to Man*. In Monathan JC,D'Andrea JA: *Behavioral Effects of Microwave Radiation Absorption*. Washington DC: HHS Publication FDA 85-8238; 135-149
- Cooper, G.M., and Hausman, R.E. (2006). *Hücre - Moleküler Yaklaşım*. İzmir Tıp Kitabevi.
- Çam, S. T., and Seyhan, N. (2012). Single-strand DNA breaks in human hair root cells exposed to mobile phone radiation. *International journal of radiation biology*, 88(5), 420-424.
- Çoskun, G. ve Özgür, H. (2011). Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması. *ARŞİV*, 20(3), 145-58.
- Durney C.H., Massodi H., Iskander M.F. (1986). *Radiofrequency Radiation Dosimetry Hadbook. 4 th ed. Utah: (Report TR-85-73) Brooks Air Force Base, TX: USAF School of Aerospace Medicine*.
- Esmekaya, M. A., Ozer, C., and Seyhan, N. (2011). 900 MHz pulse-modulated radiofrequency radiation induces oxidative stress on heart, lung, testis and liver tissues. *General Physiology and Biophysics*, 30(1), 84-9.
- Eşmekaya, M. A., Seyhan, N., and Ömeroğlu, S. (2010). Pulse modulated 900 MHz radiation induces hypothyroidism and apoptosis in thyroid cells: a light, electron microscopy and immunohistochemical study. *International journal of radiation biology*, 86(12), 1106-1116.
- French, P. W., Donnellan, M., & McKenzie, D. R. (1997). Electromagnetic radiation at 835 MHz changes the morphology and inhibits proliferation of a human astrocytoma cell line. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 43(1), 13-18.
- Gedney, S. D. (1996). An anisotropic perfectly matched layer-absorbing medium for the truncation of FDTD lattices. *IEEE transactions on Antennas and Propagation*, 44(12), 1630-1639.
- Guler, G., Tomruk, A., Ozgur, E., and Seyhan, N. (2010). The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in non-pregnant and pregnant rabbits and their newborns. *General Physiology and Biophysics*, 29(1), 59-66.
- Guler, G., Tomruk, A., Ozgur, E., and Seyhan, N. (2010). The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in non-pregnant and pregnant rabbits and their newborns. *General Physiology and Biophysics*, 29(1), 59-66.

- Guy, A. W. (1987). Dosimetry associated with exposure to non-ionizing radiation: very low frequency to microwaves. *Health Physics*, 53(6), 569-584.
- Guy, A. W., Chou, C. K., & McDougall, J. A. (1999). A quarter century of in vitro research: A new look at exposure methods. *Bioelectromagnetics*, 20(8), 522-522.
- Guy, A.W., Chou, C.K. and McDougall, J.A. (1999). A quarter century of in vitro research: A new look at exposure methods. *Bioelectromagnetics*, 20(8), 522-522.
- Güler, G., Ozgur, E., Keles, H., Tomruk, A., Vural, S. A., and Seyhan, N. (2015). Neurodegenerative changes and apoptosis induced by intrauterine and extrauterine exposure of radiofrequency radiation. *Journal of chemical neuroanatomy*.
- Güler, G., Ozgur, E., Keles, H., Tomruk, A., Vural, S. A., and Seyhan, N. (2016). Neurodegenerative changes and apoptosis induced by intrauterine and extrauterine exposure of radiofrequency radiation. *Journal of chemical neuroanatomy*, 75(Pt B):128-33.
- Güler, G., Tomruk, A., Ozgur, E., Sahin, D., Sepici, A., Altan, N., and Seyhan, N. (2012). The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in female and male infant rabbits. *International journal of radiation biology*, 88(4), 367-373.
- Hirose, H., Sakuma, N., Kaji, N., Nakayama, K., Inoue, K., Sekijima, M., . . . Miyakoshi, J. (2007). Mobile phone base station-emitted radiation does not induce phosphorylation of Hsp27. *Bioelectromagnetics*, 28(2), 99-108.
- Hirose, H., Sakuma, N., Kaji, N., Suhara, T., Sekijima, M., Nojima, T., & Miyakoshi, J. (2006). Phosphorylation and gene expression of p53 are not affected in human cells exposed to 2.1425 GHz band CW or W-CDMA modulated radiation allocated to mobile radio base stations. *Bioelectromagnetics*, 27(6), 494-504.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (2013). Non-ionizing radiation, Part 2: Radiofrequency electromagnetic fields. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans/World Health Organization, International Agency for Research on Cancer*, 102 (Pt 2), 1.
- İnce, S. (2001). FDTD Yöntemiyle İnsan Kafası Modelinde Elektromagnetik Etkilerin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- İnternet. GNRK Gazi Biyofizik URL:  
<http://gnrk.gazi.edu.tr/posts/view/title/elektromanyetik-alanlarin-saglik-ve-biyolojik-etkileri-uzerine-gazi-biyofizik-ve-gnrk-arastirmalari-33635>. Son Erişim Tarihi: 26.12.2016.
- İnternet. Ulukaya, E. Apoptozis ders notları. URL:  
[http://biyokimya.uludag.edu.tr/apoptozis\\_ders\\_notu.pdf](http://biyokimya.uludag.edu.tr/apoptozis_ders_notu.pdf) Son Erişim Tarihi: 26.12.2016.
- İnternet: Fenical G. Rule-of-Thumb for Calculating Aperture Size. URL:  
[https://www.digikey.hk/Web%20Export/Supplier%20Content/Laird\\_776/PDF/Laird](https://www.digikey.hk/Web%20Export/Supplier%20Content/Laird_776/PDF/Laird)

[EMI RuleofThumb Calculating Aperture Size.pdf](#), Son Erişim Tarihi: 26.12.2016.

İnternet: LearnEMC - Practical EM Shielding. URL:<http://learnemc.com/practical-em-shielding>, Son Erişim Tarihi: 26.12.2016.

Johnson, C.C., Guy, A. W. (1972). Nonionizing electromagnetic wave effects in biological materials and systems. *Proceedings of the IEEE*, 60(6), 692-718.

Kang, K. A., Lee, H. C., Lee, J. J., Hong, M. N., Park, M. J., Lee, Y. S., . . . Lee, J. S. (2014). Effects of combined radiofrequency radiation exposure on levels of reactive oxygen species in neuronal cells. *Journal of Radiation Research*, 55(2), 265-276.

Kato, M. (2006). *Electromagnetics in biology*. Tokyo, Springer.

Kayhan, H., Esmekaya, M. A., Saglam, A. S., Tuysuz, M. Z., Canseven, A. G., Yagci, A. M., & Seyhan, N. (2016). Does MW Radiation Affect Gene Expression, Apoptotic Level, and Cell Cycle Progression of Human SH-SY5Y Neuroblastoma Cells? *Cell Biochem Biophys*, 74(2), 99-107.

Kismali, G., Ozgur, E., Guler, G., Akcay, A., Sel, T., and Seyhan, N. (2012). The influence of 1800 MHz GSM-like signals on blood chemistry and oxidative stress in non-pregnant and pregnant rabbits. *International journal of radiation biology*, 88(5), 414-419.

Kuster N, Kastle R, and Schimid T. (1997b). *Dosimetric evaluation of mobile communications equipment with known precision*. IEICE Trans Commun; E80-B(5): 645-652.

Kuster, N., & Schönborn, F. (2000). Recommended minimal requirements and development guidelines for exposure setups of bio-experiments addressing the health risk concern of wireless communications. *Bioelectromagnetics*, 21(7), 508-514.

Lazzi, G. (1998). The Finite-Difference Time Domain method as Applied to The Dosimetry of Mobile Telephones. Doktora Tezi, The University of Utah Graduate School, USA.

Liu, Y. X., Li, G. Q., Fu, X. P., Xue, J. H., Ji, S. P., Zhang, Z. W., . . . Li, A. M. (2015). Exposure to 3G mobile phone signals does not affect the biological features of brain tumor cells. *BMC Public Health*, 15, 764.

Liu, Y. X., Tai, J. L., Li, G. Q., Zhang, Z. W., Xue, J. H., Liu, H. S., . . . Zhang, Y. (2012). Exposure to 1950-MHz TD-SCDMA electromagnetic fields affects the apoptosis of astrocytes via caspase-3-dependent pathway. *PLoS One*, 7(8), e42332.

Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>ΔΔCT method. *Methods*, 25(4), 402-408.

Lodish H., Berk A., Kaiser C.A., Krieger M., Scott M.P., Bretscher A., Ploegh H., Matsudaira P. (2008). *Molecular cell biology*. New York, NY, W.H. Freeman

- Lu, Y., He, M., Zhang, Y., Xu, S., Zhang, L., He, Y., . . . Zhou, Z. (2014). Differential pro-inflammatory responses of astrocytes and microglia involve STAT3 activation in response to 1800 MHz radiofrequency fields. *PLoS One*, 9(9), e108318.
- Matthes R. 1996. Non-Ionizing Radiation, Austria, ICNIRP-1/96
- Michaelson S.M. and Lin J.C. (1987). *Biological Effect and Health Implications of Radiofrequency Radiation*. 1 st ed. New York: Plenum Press.
- Miyakoshi, J., Takemasa, K., Takashima, Y., Ding, G. R., Hirose, H., & Koyama, S. (2005). Effects of exposure to a 1950 MHz radio frequency field on expression of Hsp70 and Hsp27 in human glioma cells. *Bioelectromagnetics*, 26(4), 251-257.
- Nylund, R., and Leszczynski, D. (2006). Mobile phone radiation causes changes in gene and protein expression in human endothelial cell lines and the response seems to be genome- and proteome-dependent. *Proteomics*, 6(17), 4769-4780.
- Ozgun, E., Güler, G., and Seyhan, N. (2010). Mobile phone radiation-induced free radical damage in the liver is inhibited by the antioxidants N-acetyl cysteine and epigallocatechin-gallate. *International journal of radiation biology*, 86(11), 935-945.
- Ozgun, E., Kismali, G., Guler, G., Akcay, A., Ozkurt, G., Sel, T., and Seyhan, N. (2013). Effects of prenatal and postnatal exposure to gsm-like radiofrequency on blood chemistry and oxidative stress in infant rabbits, an experimental study. *Cell biochemistry and biophysics*, 67(2), 743-751.
- Paffi, A., Apollonio, F., Lovisolo, G. A., Marino, C., Pinto, R., Repacholi, M., & Liberti, M. (2010). Considerations for developing an RF exposure system: A review for in vitro biological experiments. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 58(10), 2702-2714.
- Perez-Castejon, C., Perez-Bruzon, R. N., Llorente, M., Pes, N., Lacasa, C., Figols, T., . . . Azanza, M. J. (2009). Exposure to ELF-pulse modulated X band microwaves increases in vitro human astrocytoma cell proliferation. *Histol Histopathol*, 24(12), 1551-1561.
- Pfaffl, M. W., Horgan, G. W., & Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic acids research*, 30(9), e36-e36.
- Poullietier de Gannes, F., Haro, E., Hurtier, A., Taxile, M., Ruffie, G., Billaudel, B., . . . Lagroye, I. (2011). Effect of exposure to the edge signal on oxidative stress in brain cell models. *Radiation Research*, 175(2), 225-230.
- Qutob, S. S., Chauhan, V., Bellier, P. V., Yauk, C. L., Douglas, G. R., Berndt, L., . . . McNamee, J. P. (2006). Microarray gene expression profiling of a human glioblastoma cell line exposed in vitro to a 1.9 GHz pulse-modulated radiofrequency field. *Radiation Research*, 165(6), 636-644.
- Remondini, D., Nylund, R., Reivinen, J., Poullietier de Gannes, F., Veyret, B., Lagroye, I., . . . and Schlatterer, K. (2006). Gene expression changes in human cells after exposure to mobile phone microwaves. *Proteomics*, 6(17), 4745-4754.

- Repacholi, M. H. (1998). Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: Health effects and research needs. *Bioelectromagnetics*, 19(1), 1-19.
- Sadiku, MNO. (2000). *Numerical Techniques in Electromagnetics*. 2nd Edition. New York: CRC Press.
- Sakurai, T., Kiyokawa, T., Narita, E., Suzuki, Y., Taki, M., & Miyakoshi, J. (2011). Analysis of gene expression in a human-derived glial cell line exposed to 2.45 GHz continuous radiofrequency electromagnetic fields. *Journal of Radiation Research*, 52(2), 185-192.
- Samaras, T., Kuster, N., and Nebovetic, S. (2005). *Scientific report: Workshop on EMF health risk research lessons learned and recommendations for the future, presented at the Centro Stefano Franscini, Monte Verita, Switzerland*, Nov. 20–24.
- Schonborn, F., Burkhardt, M., and Kuster, N. (1998). Differences in energy absorption between heads of adults and children in the near field of sources. *Health Physics*, 74(2), 160-168.
- Schuderer, J., Samaras, T., Oesch, W., Spat, D., and Kuster, N. (2004). High peak SAR exposure unit with tight exposure and environmental control for in vitro experiments at 1800 MHz. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 52(8), 2057-2066.
- Sekijima, M., Takeda, H., Yasunaga, K., Sakuma, N., Hirose, H., Nojima, T., & Miyakoshi, J. (2010). 2-GHz band CW and W-CDMA modulated radiofrequency fields have no significant effect on cell proliferation and gene expression profile in human cells. *Journal of Radiation Research*, 51(3), 277-284.
- Sevgi, L. (1999). *Elektromagnetik problemler ve sayısal yöntemler*. İstanbul: Birsen Yayınevi.
- Sırav Aral, B. (2008). 900 MHz ve 1800 MHz radyo frekans radyasyonunun kan beyin bariyerine etkisi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Sırav, B., and Seyhan, N. (2011). Effects of radiofrequency radiation exposure on blood-brain barrier permeability in male and female rats. *Electromagnetic biology and medicine*, 30(4), 253-260.
- Speag AG. (2015). *SEMCAD X Reference Guide*. Zurich: SPEAG.
- Stagg, R. B., Thomas, W. J., Jones, R. A., & Adey, W. R. (1997). DNA synthesis and cell proliferation in C6 glioma and primary glial cells exposed to a 836.55 MHz modulated radiofrequency field. *Bioelectromagnetics*, 18(3), 230-236.
- Taflove, A. and Susan C.H. (2005). *Computational Electrodynamics The FiniteDifference Time-Domain Method*. 3 rd ed. Boston: Artech House, p. 51-10.
- Terro, F., Magnaudeix, A., Crochetet, M., Martin, L., Bourthoumieu, S., Wilson, C. M., Leveque, P. (2012). GSM-900MHz at low dose temperature-dependently downregulates alpha-synuclein in cultured cerebral cells independently of chaperone-mediated-autophagy. *Toxicology*, 292(2-3), 136-144.



- Tomruk, A., Guler, G., and Dincel, A. S. (2010). The influence of 1800 MHz GSM-like signals on hepatic oxidative DNA and lipid damage in nonpregnant, pregnant, and newly born rabbits. *Cell biochemistry and biophysics*, 56(1), 39-47.
- Tuysuz, M. F. (2014). An energy-efficient QoS-based network selection scheme over heterogeneous WLAN-3G networks. *Computer Networks*, 75, 113-133.
- Tüysüz, M.Z. (2007). Cep telefonu maruziyeti kaynaklı RF dozimetrimin FDTD yöntemi ile belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Wasoontarajoen, S. (2011). Dosimetric Characterization of a Waveguide-Based Exposure System for Laboratory Studies with Unrestrained Mice at 1.9 GHz. Doktora Tezi, Faculty of Graduate Studies and Research, University of Regina, Kanada.
- Wyde, M., Cesta, M., Blystone, C., Elmore, S., Foster, P., Hooth, M., ... & Walker, N. (2016). Report of Partial findings from the National Toxicology Program Carcinogenesis Studies of Cell Phone Radiofrequency Radiation in Hsd: Sprague Dawley SD rats (Whole Body Exposure). bioRxiv, 055699.
- Xu, S., Chen, G., Chen, C., Sun, C., Zhang, D., Murbach, M., . . . Xu, Z. (2013). Cell type-dependent induction of DNA damage by 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields does not result in significant cellular dysfunctions. *PLoS One*, 8(1), e54906.
- Yee, KS. (1966). Numerical Solution of Initial Boundary Value Problems Involving Maxwell's Equations in Isotropic Media. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 14: 302-307.
- Zhao, T. Y., Zou, S. P., & Knapp, P. E. (2007). Exposure to cell phone radiation up-regulates apoptosis genes in primary cultures of neurons and astrocytes. *Neurosci Lett*, 412(1), 34-38.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı,adı : Tüysüz, Mehmet Zahid  
Uyruğu : T.C.  
Doğumtarhiveyeri : 21.12.1977 / Şanlıurfa  
Medenihali : Bekar  
Telefon : 0 312 2024742  
Faks : 0 312 202 9023  
e-mail : mtuysuz@gazi.edu.tr

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı	2007
Lisans	Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü	2004
Lise	Şanlıurfa Anadolu Lisesi	1998

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2005	Gazi Üniversitesi / Ankara	Araştırma Görevlisi

### Yabancı Dil

İngilizce

## Yayınlar

- Canseven, A. G., Esmekaya, M. A., Kayhan, H., Tuysuz, M. Z., and Seyhan, N. (2015). Effects of microwave exposure and Gemcitabine treatment on apoptotic activity in Burkitt's lymphoma (Raji) cells. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 34(4), 322-326.
- Esmekaya, M. A., Canseven, A. G., Kayhan, H., Tuysuz, M. Z., Sirav, B., and Seyhan, N. (2016). Mitochondrial hyperpolarization and cytochrome-c release in microwave-exposed MCF-7 cells. *General physiology and biophysics*.
- Esmekaya, M. A., Seyhan, N., Kayhan, H., Tuysuz, M. Z., Kurşun, A. C., and Yağcı, M. (2013). Investigation of the Effects of 2.1 GHz Microwave Radiation on Mitochondrial Membrane Potential ( $\Delta\Psi$  m), Apoptotic Activity and Cell Viability in Human Breast Fibroblast Cells. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 67(3), 1371-1378.
- Esmekaya, M. A., Tuysuz, M. Z., Tomruk, A., Canseven, A. G., Yücel, E., Aktuna, Z., ... and Seyhan, N. (2016). Effects of cell phone radiation on lipid peroxidation, glutathione and nitric oxide levels in mouse brain during epileptic seizure. *Journal of Chemical Neuroanatomy*.
- Kayhan, H., Esmekaya, M. A., Saglam, A. S. Y., Tuysuz, M. Z., Canseven, A. G., Yagci, A. M., and Seyhan, N. (2016). Does MW Radiation Affect Gene Expression, Apoptotic Level, and Cell Cycle Progression of Human SH-SY5Y Neuroblastoma Cells?. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 1-9.
- Sirav, B., Tuysuz, M. Z., Canseven, A. G., and Seyhan, N. (2010). Evaluation of non ionizing radiation around the dielectric heaters and sealers: A case report. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 29(4), 144-153.



*GAZİ GELECEKTİR..*

