

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİMDALI

900 MEGAHERTZ ELEKTROMANYETİK ALANIN
ADÖLOSAN DÖNEMDE SIÇANLARIN BÜYÜME PLAĞI
ÜZERİNE ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Gökhan Tevfik ATEŞ

TRABZON 2017

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİMDALI

900 MEGAHERTZ ELEKTROMANYETİK ALANIN
ADÖLOSAN DÖNEMDE SIÇANLARIN BÜYÜME PLAĞI
ÜZERİNE ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Gökhan Tevfik ATEŞ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Servet KERİMOĞLU

TRABZON 2017

ÖNSÖZ

Hayata bakış penceremi daima güzele, hayra açan; kulağıma her zaman umut fısıldayan, hayat yolculuğunun onlarla daha da anlamlı hale geldiği, yaşama sevincim, hayattaki en kıymetlilerim eşim Neslihan ATEŞ, oğlum Kerem ATEŞ'e, her zaman öğütleriyle ve destekleriyle beni doğru yoldan şaşırtmayan babam Mehmet ATEŞ ve annem Necla ATEŞ'e, sevgi dolu kardeşlerim Gökçe ATEŞ, Göknur ATEŞ ve Emre ATEŞ'e , idealleri ile adeta önümüzde ışık olup, sadece bilimsel hayatıyla değil; aynı zamanda kaliteli hayat tarzı ve yaşam biçimiyle bize örnek olup gerektiğinde hocamız gerektiğinde de arkadaşımız olabilen ve tezimi hazırlamamda yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyip her daim yardımcı olan pek değerli hocam tez danışmanım Servet KERİMOĞLU ve histopatolojik inceleme aşamasında desteklerini esirgemeyen eşi Gökçen KERİMOĞLU'na, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'nda 2012–2017 yılları arasında gerçekleştirdiğim uzmanlık eğitimim süresince bilgi birikimlerini, tecrübe ve öngörülerini, anlayış ve sabır içinde benden esirgemeyen, uzman olarak yetişmemde büyük katkıları gördüğüm değerli hocalarım Prof. Dr. Celal BAKİ'ye, Prof. Dr. Mehmet YILDIZ'a , Prof. Dr. Çetin ÖNDER'e, Prof. Dr. Ahmet Uğur TURHAN'a, Prof. Dr. Hafız AYDIN'a, Prof. Dr. Osman AYNACI'ya, Doç. Dr. Atilla Çıtlak'a, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emre Baki'ye , Yrd. Doç. Dr. Orkun Gül'e, çalışma hayatımda samimi muhabbetleriyle daima içimi ferahlatan, kederlerimi unutturan dostluklarını ve arkadaşlıklarını her zaman yanımda hissettiğim asistan ağabeylerim ve kardeşlerime, üzerimde emeği olan ve beş sene boyunca iyisiyle kötüsüyle birlikte olduğum poliklinik, servis, ameliyathane hemşire ve personeline sonsuz saygılarımı sunar teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç : Bu çalışmada EMA'nın adölesan iskelet gelişimi üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi için; EMA'nın adölesan dönemde epifizyel büyüme plağı üzerine olabilecek muhtemel etkilerini araştırmayı amaçladık

Materyal metod: Sıçanlar rastgele 3 eşit gruba ayrıldılar. Kontrol grubuna (K) ilave herhangi bir uygulama yapılmadı. EMA etkisine maruz bırakılan gruptaki (E) sıçanlar her gün 1 saat süreyle kesintisiz 900 MHz EMA etkisine maruz bırakıldı. Sham grubuna (S) her gün bir saat EMA uygulanmaksızın pleksiglass fanus içinde tutuldu. Deney bitiminde sakrifiye edilen sıçanların bacakları diz ekleminden ampute edildi. Preperatta ratgele seçilen 3 farklı bölgeden epifizin total uzunluğu ve her bir zonun (dinlenme, proliferasyon, hipertrofi) uzunlukları ölçüldü. Ayrıca her bir preperatta rastgele seçilen 3 farklı alanda; epifizyal plağın kahverengi nukleuslu TUNEL (+) kırkırdak hücreleri apopitotik olarak kabul edilerek apopitotik hücrelerin sayısı yüzde olarak ifade edildi.

Bulgular : Apopitozun fizis katmanlarından en fazla hipertrofi katmanında gözükmesine rağmen elektromanyetik alana maruz kalan farelerin kontrol gruplarıyla kıyaslandığında hipertrofi katmanlarında apopitoz açısından anlamlı bir ilişki olmadığı görülmekte fakat proliferatif ve dinlenme katmanlarında anlamlı değişiklikler olduğu saptanmıştır. Fizis katmanları arasındaki uzunluklar karşılaştırıldığında toplam fizis katmanlarının uzunluğunun elektromanyetik alana maruz kalmayla değişmediği bunun yanında dinlenme katmanında elektromanyetik alana maruziyet ile anlamlı değişiklikler olduğu gözlemlenmiştir. Elektromanyetik alana maruziyet sonucunda fizisteki apopitoz ve katmanların tümünün uzunlukları arasındaki ilişkiye baktığımızda fizis katmanlarının toplam uzunluğu ile apopitoz arasında anlamlı bir ilişki olmadığı bunun yanında dinlenme katmanında EMA'a maruziyet ile apopitoz ve katman yükseklikleri arasında pozitif yönde ve anlamlı bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç : Sonuç olarak EMA, hem apopitozis hem de uzunluk anlamında fizisin bazı katmanlarında anlamlı değişikliklere neden olduğu gözlemlenmiştir. EMA 'nın fizisin normal yapısında değişikliklere neden olduğu açıkça belli olmasına rağmen bunun olumlu ya da olumsuz mu olduğu karmaşık olup bu konudaki çalışmaların daha ileri düzeyde yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler : Elektromanyetik alan , Büyüme plağı , Apopitozis, Adölesan Rat

SUMMARY

Purpose: In this study, our aim is to determine the probable effects of EMF's on epiphyseal growth plate in adolescent period for determining EMF's effects on adolescent skeleton development and preventing the problems that might be stem from those effects in adulytry period.

Material/Method: Rats are randomly divided into three equal groups. Any implementation is not applied to first group which is specified as control group (K). Rats are subjected to EMF effect (E) for one hour at same the time of every day. Sham groups rats are kept in bell glass every day for one hour without subjecting to EMF effects. At the end of the experiment, sacrificed rats' leg's knees are amputed. From three different area, total length of epiphysis and each zone's lengths are given in terms of micrometer. Also, In three different area that are randomly chosen at each preparate, chondrocytes are identified in three different zones (dinlenme, proliferasyon ve hipertrofik) of epiphysial plate. Tunel (+) cartilage cells with brown nucleus are accepted as apopitotik and apopitotik cells are stated in terms of percentages.

Findings: Despite the fact that apopitoz is observed mostly in hipertrofi layer, rats which are subjected to EMF do not have any meaningful relation in the sense of apopitos in hipertrofi layers compared to control groups. Though, meaningful changes are observed in proliferatif and dinlenme layers. When lengths between fizis layers are compared, It is observed that total lengths of fizis layers do not change with the EMF exposure. On the other hand, In dinlenme layer, meaningful changes are observed with EMF exposure. When we examine the relation between lengths of apoptoz in fizis and lengths of all layers, It is observed that as a result of EMF exposure there is no meaningful relation between total lengths of fizis layer and apopitoz. Besides, a positively and meaningful relation is observed between EMF exposure and apopitoz and layer heights.

Result: As a result, EMA has some meaningful effects on some layers of fizis in the context of both apopitozis and length. Although, It is obvious that EMA causes changes on normal structure of fizis, It is complicated to determine whether these are positive or negative and studies in this area are needed to be conducted at advanced levels.

Keywords: Electromagnetic field, growth plate, apopitozis, adolescent rat

İÇİNDEKİLER

ÖZET	II
SUMMARY	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TABLOLAR DİZİNİ.....	VI
RESİMLER DİZİNİ	VII
KISALTMALAR,SİMGELERVEFORMÜLLERDİZİNİ.....	VIII
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tarihçe.....	4
2.2 Tanımlar.....	5
2.2.1 Yük ve Alan Kavramı.....	5
2.2.1.1 Elektrik Alan.....	5
2.2.1.2 Manyetik Alan	6
2.2.1.3 Elektromanyetik Alan.....	7
2.2.2 Frekans, Dalga Boyu, Anten.....	8
2.2.3 Elektromanyetik Dalgalar ve Elektromanyetik Spektrum.....	8
2.2.4. Radyasyonun Sınıflandırılması.....	10
2.2.4.1 İyonlaştırıcı radyasyon	10
2.2.4.2 İyonlaştırıcı olmayan radyasyonlar	10
2.2.5 Özgül Soğurma Hızı	11
2.2.6 Cep Telefonları	11
2.3 Elektromanyetik Alanın Biyolojik Etkileri.....	12
2.3.1 Termal Etkiler.....	13
2.3.2 Termal Olmayan Etkiler	14
3. APOPİTOZ.....	19
3.1 Apoptotik Hücre Ölümünün Aşamaları.....	19
3.1.1 Apoptozun Başlatılması.....	20
3.1.2 Hücre İçi Proteaz Aktivasyonu.....	20
3.1.3 Hücrede Oluşan Morfolojik ve Biyokimyasal Değişiklikler	21
3.1.4 Fagositoz.....	21
3.2 İnsan Vücudunda Apoptozun Görüldüğü Durumlar	22

3.3 Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	23
4. BÜYÜME PLAĞI	23
4.1 Büyüme Plağı Histolojisi	25
4.1.1 Dinlenme (Rezerv) Zonu	25
4.1.2 Proliferatif Zon	25
4.1.3 Matürasyon (Hipertrofi, Vakuolizasyon) Zonu	26
4.1.4 Kalsifikasyon (Hücre Dejenerasyon) Zonu	26
4.1.5 Ossifikasyon Zonu	27
4.2 Büyüme Plağı Farklılaşmasının Düzenlenmesi	28
4.2.1 Epifizde Apoptoz	28
5. GEREÇ VE YÖNTEM	29
5.1 Deneysel Çalışma Aşaması	29
5.1.1. Deneysel Hayvanları	29
5.1.2. Sıçanların Çalışma Süresince Bakımı ve Laboratuvar Şartları	29
5.1.3. Deneysel Çalışma Planı	30
5.1.4. Deneysel Düzenekli ve Elektromanyetik Alan Oluşturulması	30
5.1.5. Epifiz Dokularının Elde Edilmesi	31
5.2. Histolojik Değerlendirme	31
5.2.1. Histomorfolojik değerlendirme	32
5.2.2. Apoptozun değerlendirilmesi	32
5.3. İstatistiksel Analizler	32
6. BULGULAR	34
6.1 Uzunluk	34
6.2 Apoptoz	37
7. TARTIŞMA	41
8. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47

Tablolar

Tablo 1 : Büyüme plağı katmanlarının 3 gruptaki uzunluk ölçümleri (ort:ortalama s.s:standart sapma).....	34
Tablo 2 : Büyüme plağı katmanlarının uzunluklarının EMA, Kontrol ve Sham grupları arasındaki karşılaştırma sonuçları ($p<0.001$ anlamlı).....	35
Tablo 3 : Büyüme plağı katmanlarının üç gruptaki apopitoz oranları (ort:ortalama, s.s:standart sapma).....	37
Tablo 4 : Büyüme plağı katmanlarının apopitoz oranlarının EMA, Kontrol ve Sham grupları arasındaki karşılaştırma sonuçları ($p<0.001$ anlamlı)	38
Tablo 5: Tüm katmanların uzunlukları ve apopitoz oranları arasında ki korelasyonu	40

RESİMLER

Resim 1: Elektrik alan vektörleri	6
Resim 2 : Sağ el Fleming kuralı	7
Resim 3 : Elektromanyetik (Z), Elektrik(E), Manyetik(B) alan dalgaları	8
Resim 4 : Elektromanyetik tayf; iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgelerinin frekanslara göre dağılımı	9
Resim 5 : Epifiz, fizis ve metafizin görüntüsü	24
Resim 6 : Büyüme plağının histolojisi ve zona göre fonksiyonları	27
Resim 7 : A ve B, Deney Hayvanlarının Barınmasında Kullanılan Tıp III Kafesler	29
Resim 8 : A -Elektromanyetik Dalga Düzeneği (Kafes Boş), (↓)Güç Kaynağı; (▼) ,Osilator; (→), Fanus. B- Elektromanyetik Dalga Düzeneği (Kafes dolu).....	30
Resim 9 : Elektromanyetik Alan Fanusunun Ölçüleri ve Ölçüm Noktalar	31
Resim 10 : Kontrol grubu (A) ‘na ait femur distal epifizi. Dinlenme zonu (R), Proliferasyon zonu (P),Hipertrofik ve kalsifiye hücre zonları (H&C) (H&E X200).....	35
Resim 11 : Sham Grubu (B) ‘na ait femur distal epifizi. Dinlenme zonu (R), Proliferasyon zonu (P),Hipertrofik ve kalsifiye hücre zonları (H&C) (H&E X200).....	36
Resim 12 : EMA Grubu (C) ‘na ait femur distal epifizi. Dinlenme zonu (R), Proliferasyon zonu (P),Hipertrofik ve kalsifiye hücre zonları (H&C) (H&E X200). Dinlenme zonunda uzunluk artışı gözlemlenmekte.....	36
Resim 13 : Kontrol grubu (A) ‘na ait femur distal epifizi. (▲) Apoptotik kondrosit, (*) Normal kondrosit. (A;TUNEL,X400)	38
Resim 14 : , Sham Grubu (B) ‘na ait femur distal epifizi. (▲) Apoptotik kondrosit, (*) Normal kondrosit. (B; TUNEL,X400).....	39
Resim 15 : EMA grubu (C,D) ‘na ait femur distal epifizi. (▲) Apoptotik kondrosit, (*) Normal kondrosit. (C, D; TUNEL, X400).....	39

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

CTL	: Sitotoksik T Lenfositler
EM	: Elektromanyetik
EMA	: Elektromanyetik Alan
EMD	: Elektromanyetik Dalga
EMR	: Elektromanyetik Radyasyon
EMS	: Elektromanyetik Spektrum
ETSI	: European Telecommunication Standardization Institute
FCC	: Federal Communication Commission
FM	: Frekans Modülasyonu
GHz	: Gigahertz
GSH-Px	: Glutathione Peroxidase
GSM	: Global System for Mobile
Hz	: Hertz
H&E	: Hematoksilen ve Eozin
IM	: Işık Mikroskobu
INIRC	: Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon Komitesi
IRPA	: Uluslararası Radyasyondan Korunma Kurumu
KHz	: Kilohertz
KTÜ	: Karadeniz Teknik Üniversitesi
MHz	: Megahertz
MDA	: Malondialdehit
MD	: Mikrodalga
MT	: Militesla

- NO** : Nitrik Oksit
- PEMA** : Pulsed Elektromanyetik Alan
- RAD** : Radiation Absorbed Dose
- RF** : Radyofrekans
- RFR** : Radyofrekans Radyasyon
- SAR** : Specific Absorbtion Rate
- SOD** : Superoksidismutaz
- T** : Tesla
- TBARS** : Yüksek Lipid Peroksidasyonu
- TdT** : Deoksinükleotidil Transferaz
- TNF** : Tümör Nekroz Faktörü
- TUNEL** : TdT-dUTP nick-end-labelling
- UHF** : Ultra High Frequency
- μT** : Mikrottesla

1. GİRİŞ

Çağımızda, çevre ve gürültü kirliliğinin yanı sıra modern teknolojinin ilerlemesiyle gittikçe artan sıklıkta kullanılan birçok cihaz, insanları manyetik alan etkisine maruz bırakarak “*elektromanyetik kirlilik*” oluşmasına etken olmuştur.

Elektromanyetik kirlilik; gözle görülemeyişi, etkisinin doğrudan hissedilemeyişi ve zararının uzun zaman süreci sonrasında ortaya çıkması nedeniyle insanlar tarafından yeterince önemsenmemektedir. Son yıllarda teknolojinin gelişmesi ile manyetik alan etkisi doğal yaşamımızın bir parçası haline gelmiş ve özellikle cep telefonlarının yaygınlaşması sonrası elektromanyetik alanın (EMA) insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri olabileceği fikri bilim insanlarının dikkatini çekmiştir. Giderek artan ölçüde cep telefonu kullanımı beraberinde insan sağlığı üzerine etkilerinin araştırıldığı çok sayıda ki araştırmanın yapılmasına da sebebiyet vermiştir (1).

Elektromanyetik radyasyon; iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olmak üzere iki gruba ayrılır. İyonlaştırıcı radyasyon; madde içerisinden geçişi sırasında enerjiyi ortama aktarırken ortamdaki atomları iyonlaştıran radyasyon türüdür. X ve γ (gamma) ışınları iyonlaştırıcı radyasyona örnek teşkil edebilir. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon düşük frekanslı olup yeterince enerjiye sahip olmadığından ortamdaki atomları iyonlaştıramaz (1). Radyo dalgaları, mikrodalgalar, sabit telekomünikasyon cihazları olan baz istasyonları, radyo ve televizyon vericileri ile elektrik iletim hatları, trafo merkezleri ve cep telefonlarının oluşturduğu EMA’lar iyonlaştırıcı olmayan radyasyon özelliğine sahiptirler (2).

Kullanımı gün geçtikçe artan cep telefonları, 217 Hz modülasyon frekansında ve 900-1800 MHz taşıyıcı frekansındaki sinyaller ile iletişim sağlamaktadırlar. Cep telefonlarından yayılmakta olan bu sinyaller bekleme modunda herhangi bir güç taşımazken konuşma moduna geçildiğinde 250 mW’a kadar ulaşabilmektedirler. Bu durum aşırı cep telefonu kullanan insanların EMA ‘a yoğun biçimde maruz kalmasına sebep olmaktadır (3,4).

EMA’lar hücre ve doku üzerine etkilerini farklı frekans ve güçlere bağlı olarak ısı ve ısı olmayan yollarla gösterirler. Yüksek frekanslı EMA’lar etkilerini ısı yolu ile;

genetik materyale (DNA), moleküler ve kimyasal bağlara, membran yapı ve fonksiyonlarına, hücre morfolojisine, çoğalma, apoptozis, vücut savunma sistemlerine gösterirler. Çok düşük frekanslı EMA'lar ise ısı olmayan yol ile; baş ağrıları, göz yanmaları, baş dönmeleri, yorgunluk, halsizlik gibi etkiler oluştururlar (1, 5, 6).

EMA'nın çeşitli organ ve dokularda olumsuz etkiler oluşturduğu yapılan çeşitli çalışmalar ile ortaya koyulmuştur (7-9). EMA biyolojik sistem üzerindeki etkilerini serbest radikallerin ömrünü uzatarak gerçekleştirir (10,11). Serbest radikallerin lipit peroksidasyonuna, oksidatif DNA hasarına ve protein fonksiyonunun bozulmasına neden oldukları görülmektedir. Yapılan çalışmalarda EMA etkisine maruz kalan sıçan dokularında antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durumda hücre hasarın oksidatif stres tarafından indüklenmesi apoptozise neden olabilir. Ayrıca serbest oksijen radikalleri apoptotik veya nekrotik hücre ölümünün başlamasında görev alabilirler (12).

EMA'nın çocukluk ve yetişkin beyin tümörleri, çocukluk çağı lösemisi, kadınlarda meme kanseri, nörodejeneratif hastalıklar, DNA hasarı gibi genotoksik etkiler ve immun sistem bozukluğuna neden olabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (13).

Günümüzde EMA'ya maruz kalma çocukluk yaşlarında başlamaktadır (14,15). EMA'ya maruziyet henüz gelişimini ve olgunlaşmasını tamamlamamış çocuk ve gençlerde daha fazla etki yaratacağı aşıkardır (16,17). Türkiye İstatistik Kurumu tarafından 2013 yılında yapılan araştırmaya göre 06-15 yaş grubu çocukların, %60,5'lik kısmının bilgisayar, %50,8'lik kısmının internet ve %24,3'lük bölümünün de cep telefonu kullandığı tespit edilmiştir. Yine aynı kurumca Türkiye'de yapılan çalışmalara göre bilgisayar kullanım yaş ortalaması 8, cep telefon kullanım yaş ortalaması ise 10'a kadar düşmüştür (18).

Erişkin hayata geçişte çocukların büyümesi ve gelişmesi için oldukça önemli bir evre olan adölesan dönemde iskelet sisteminin gelişmesi epifizyal büyüme plağı ile yakından ilişkilidir. Mezoderm kaynaklı ileri derecede özelleşmiş bir kıkırdak yapı olan büyüme plağı veya epifizyal büyüme plağı kemiğin uzunlamasına büyümesinden sorumludur (19).

Bu alışmada EMA'nın adölesan iskelet gelişimi üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi ve bunun sonucunda erişkin yaşamda neden olabileceği problemlerin önlenebilmesi için; EMA'nın adölesan dönemde epifizyel büyüme plağı üzerine olabilecek muhtemel etkilerini araştırmayı amaçladık. Araştırma için erkek sıçanlar postnatal 22. ile 59. günler arasındaki dönemde (adöloosan) 900 MHz'lik EMA'na maruz bırakıldı. Femur proximal büyüme plağı, histopatolojik olarak katmanlarının yükseklik kayıplarına ve bu durumun apoptozis ile ilişkisine bakılarak değerlendirildi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Dünyada doğal manyetik alanlar ve radyasyonlar, canlılığın evriminde doğal belirleyiciler olmuşlar ve canlı organizmalar da bu koşullara uyum sağlamışlardır. Ancak teknolojik gelişimler statik manyetik ve elektromanyetik alanlar oluşturarak doğal olmayan alanlar oluşturmuştur. Zamanla, bu alanların çevre koşulları ve canlılar üzerinde önemli etkileri olduğu gözlemlenmiş ve birçok araştırmaya vesile olmuştur.

Manyetizma; ilk olarak Yunanlılar, Çinliler ve Meksikalılar tarafından tanımlanmış. Bu zamandan itibaren birçok bilim adamı bu konuda hipotezler ortaya koymuş ve araştırmalar yapmıştır. Elektromanyetik alanların canlılar üzerindeki etkisi, 1900'lü yılların başında d'Arsonval ve Tesla tarafından gösterilmiş ve manyetik alanların tedavi amaçlı kullanılması konusunda araştırmalar yapılmaya başlanılmıştır. 1960'lı yıllarda uzay teknolojisinin gelişmesine bağlı olarak dünyanın yerçekiminin yokluğu, manyetik alanının yokluğu ve yüksek şiddetteki manyetik alanların varlığının, canlıları nasıl etkilendiğini araştıran çalışmalarda artış gözlemlenmiştir. Manyetik alanların kullanıldığı görüntüleme ve tanı cihazlarının 1970'li yıllarda hayatımıza girmesi ve sıklıkla kullanılmaya başlanması konu üzerinde yapılan araştırmaları arttırmıştır. 1980'li yıllarda yaşanan gelişmelere bağlı olarak bazı tanı yöntemlerinde kullanılan ve iyonlaşma oluşturmayan çok düşük frekanslı EMA'ların da hastalar üzerinde olumsuz etkileri olabileceğinin düşünülmesi ile bu alanda ciddi araştırmalar yapılmaya başlanmıştır (20).

Teknolojinin gelişimi ile yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalar (EMD) iyonlaşmaya sebep olarak organizmada çeşitli değişikliklere neden olurlar. 1980'lerden sonra elektromanyetik (EM) iletişim sistemleri, yüksek gerilim hatları ağı, elektrikli aletler, MR gibi tanı cihazları tarafından meydana gelen, iyonlaşmaya veya ısınmaya yol açmayan çok düşük frekanslı (< 60 Hz) elektromanyetik dalgaların ve sabit manyetik alanların yan etkileri olabileceği düşüncesi gelişmiştir. Bu alanların yaratabileceği çevre kirliliği kaygısı ve çok düşük frekanslı EMA'ların hücreyi nasıl

etkileyebileceğinin sorgulanması, bu alandaki araştırmaların gelişmesine neden olmuştur (20).

2.2 Tanımlar

2.2.1 Yük ve Alan Kavramı

Yük maddenin ana niteliklerinden biri olan temel parçacıklardan kaynaklanır ve bir cismin üzerinde biriken elektrik yükleri tarafından belirlenen bir niceliktir (21). Yük pozitif işaretli proton ve negatif işaretli elektron parçacıkları tarafından taşınmaktadır. Elektriksel olguların temelini, elektronların bir yerden bir yere göçmesi veya herhangi bir yerde birikmesi oluşturur. Yükler arası etkileşimi, yüklerin cinsleri oluşturur. Farklı işaretli yükler birbirini çekmesine rağmen aynı işaretli yükler birbirini iterler. Yükler arası kuvvetlerin bir sonucu olarak yükler arası etkileşimler oluşmaktadır.

Alan kavramı yüklerin birbirlerine olan etkilerini ve bu etkilerin yönünü açıklamak için ortaya konmuş bir kavramdır. Ayrıca alan, enerji ve momentum taşıyabilmektedir ve bu sayede alan madde ve enerji kadar gerçek bir yapıya sahip olmaktadır. Herhangi bir alana ait etki, yüklü parçaların birbirine olan uzaklığın karesi ile ters orantılıdır. Elektrik alan, manyetik alan ve bu iki alanın Faraday ve Maxwell tarafından birleştirilmesi ile oluşan elektromanyetik alan, alan kavramlarından en önemlileri olarak görülmektedir (22,23).

2.2.1.1 Elektrik Alan

Elektrik, yüklü parçacıkların yol açtığı fiziksel bir olgudur. Elektrik yüklerinin iki nokta arasında yer değiştirmesine de elektrik akımı denilmektedir. Birim zamanda iletkenin herhangi bir noktasından geçen yük miktarı bize iletken içindeki akımı vermektedir (24).

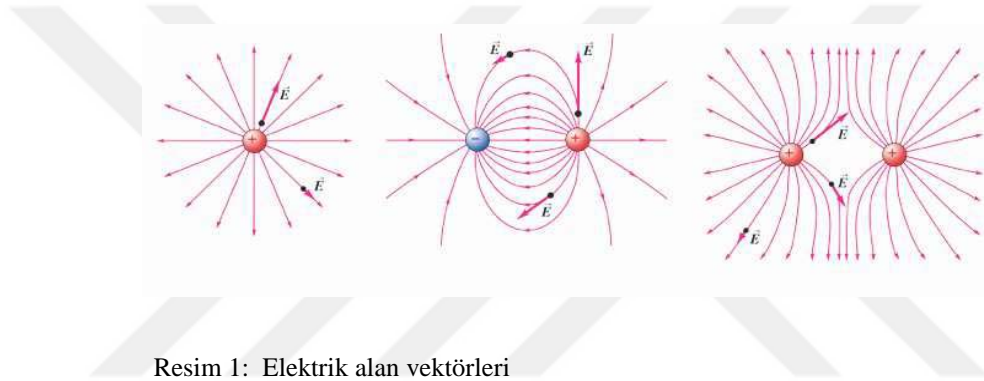
Elektrik alanı, elektrik yüklerinin birbirleri üzerinde yarattığı çekme veya itme kuvveti etkisidir. Coulomb yasasına göre elektrik alan, iki elektrik yükü arasındaki etkileşim sonucu meydana gelir (Resim 1). Deney sonuçları göstermiştir ki; (25)

1) Kuvvet yüklerin ürünü ile orantılıdır ve yükler arasındaki mesafe azaldıkça kuvvet artmaktadır.

2) Farklı kutuplu iki yük birbirini çekerken, aynı kutba sahip iki yük birbirini iter. Bunun sonucunda yükler bir kuvvet alanı oluşturur.

3) Yüklerin yerleştirildikleri ortamın elektriksel özellikleri kuvvetin büyüklüğünü etkilemektedir.

4) Kuvvet yüklerin birleşim çizgilerinde faaliyet göstererek bir vektör olarak ifade edilebilir.

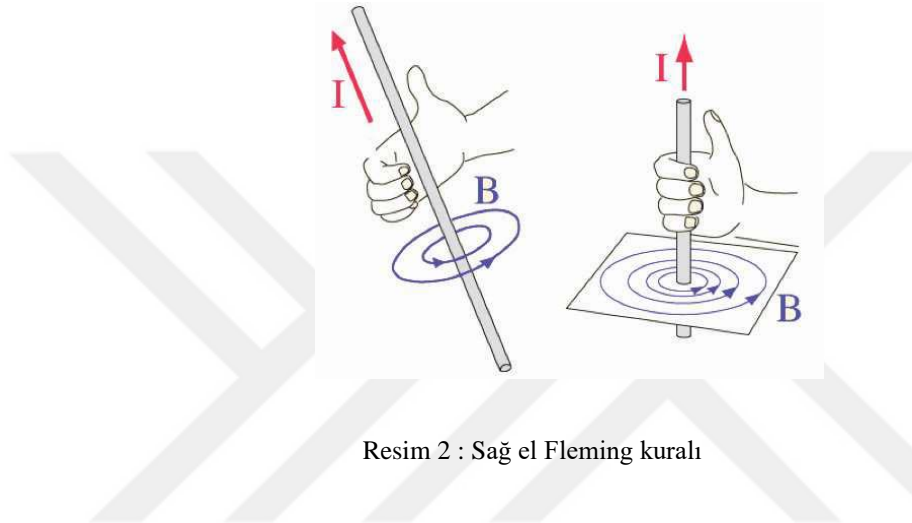


2.2.1.2 Manyetik Alan

Elektrik yükleri yer değiştirilmesi sonucu manyetik alan adı verilen bir elektrik akımı sirkülasyonu oluşur. Bu alan doğrudan gözle görülemeyen, kolayca hissedilemeyen ancak sonuçlarını görebildiğimiz ve hissedebildiğimiz bir olgudur. Teknolojinin gelişmesi ile kullanılan cihazlar sayesinde ölçülebilir hale gelmiştir. Çevremizde ki tüm maddelerin zayıf ya da güçlü bir manyetik alanı vardır. Tabiattaki tüm maddeler gibi insanın da bir manyetik alanı bulunmaktadır. İnsanlar kendi manyetik alanlarının yanı sıra buldukları çevreye ait manyetik alanın etkisi altındadırlar.

Manyetik alandan söz edilirken manyetik akı yoğunluğu (B), birimi “Tesla”[1 Tesla (T) = 10^{-3} militesla (mT) = 10^{-6} mikrottesla (μ T)]; manyetik alan şiddeti (H) ,birimi “A/m”(amper/metre) kavramlarından bahsedilir. Bu iki kavram ortam manyetik geçirgenliği ile birbirine $B=\mu H$ ilişkisi ile bağlıdır (26). Manyetik alandaki artış akımın

artışına paralel olarak artmaktadır. Bunun yanı sıra manyetik alan şiddeti mesafeye bağlı olarak hızla azalırken, engel teşkil eden nesnelere herhangi bir şekilde engellenmez. Kablo içerisinde hareket etmekte olan elektronların ilerlerken oluşturdukları manyetik alan elektrik akımının yönü ile ilişkilidir. Oluşan manyetik alanın yönünü belirlemek için sağ el Fleming kuralı kullanılır (Resim 2). Bu kural doğrultusunda bir bobinden elektrik geçirildiğinde başparmak elektrik akımının yönünü gösterirken diğer parmaklar manyetik alanın yönünü gösterir (27,28).

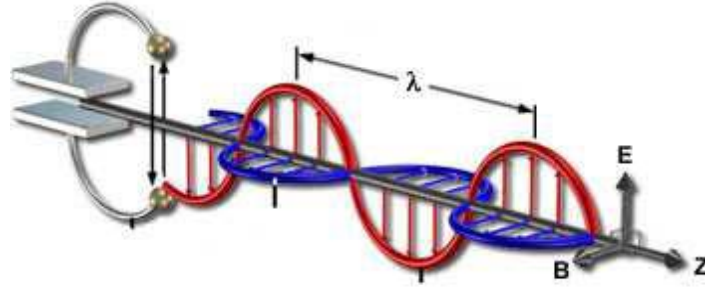


Resim 2 : Sağ el Fleming kuralı

Elektrik akımı dairesel şekilde sağdan sola doğru hareket etmekteyken, manyetik alanın yönü yukarıya doğru olmaktadır. Bunun aksine akım soldan sağa doğru zıt yönlü hareket ederse manyetik alanın yönü aşağıya doğru olacaktır. Akımın ilerlediği dairenin merkez noktasında manyetik alan yoğunluğu en yüksek düzeydedir. Manyetik alan yoğunluğu, akımın hızı ile doğru orantılı iken, bobinin uzunluğu ile ters orantılıdır (27, 29).

2.2.1.3 Elektromanyetik Alan

Hareket eden elektrik yüklü taneciklerin, bir gücün etkisi altında kaldıkları boşluk EMA'ı oluşturmaktadır. EMA ilişkili olduğu yüklerden ve akımlardan ayrı olarak düşünülse de elektrik alanı ile manyetik alanın karşılıklı etkileşimi sonucu oluşmaktadır (Resim 3). Elektromanyetik radyasyon (ışınım), elektromanyetik dalgalar (EMD) biçiminde yayılan enerji sonucu ortaya çıkmaktadır (30). EMA manyetik alan gibi gözle görülmez, hissedilmez fakat hassas cihazlarla ölçülüp, sonuçları saptanabilir. Doğadaki tüm varlıklar EMA'a sahiptir. Örneğin insan; kızılötesi EMA yaymaktadır (31, 32).



Resim 3. Elektromanyetik (Z), Elektrik(E), Manyetik(B) alan dalgaları

2.2.2 Frekans, Dalga Boyu, Anten

EMD'ların saniyede gerçekleştirdikleri salınım sayısına frekans (f) denir. Frekansın birimi Hertz (Hz)' dir. [1 Hz = 10^{-3} kHz (kilohertz) = 10^{-6} MHz (megahertz) = 10^{-9} GHz (gigahertz)] Birim yüzeyden geçen ortalama güç ise EMD şiddeti olarak adlandırılmaktadır ve (I) ile gösterilmektedir. EMD'nın bir salınımda aldığı yola ise dalga boyu (λ) denilmektedir ve dalga boyu birimi metre (m) ile ifade edilmektedir. Çeşitli frekanslarda bulunan EMD'lar, boşluğun bir transmisyon ortamı olarak kullanılması neticesinde haberleşme imkanı sağlamaktadırlar. EMD'lar ışıma ile boşluğa aktarılırlar. EMD'ların ışıma yaparak yayılabilmesi için antenler kullanılmaktadır. Antenler, gereken durumlarda, elektrik sinyallerini (voltaj ve akım) EMD'lara; EMD'ları da elektrik sinyallerine dönüştürmek için kullanılan araçlardır (33, 34).

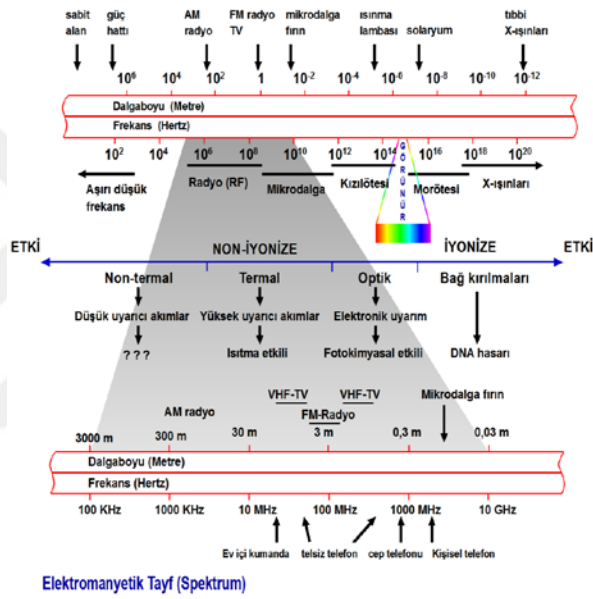
2.2.3 Elektromanyetik Dalgalar ve Elektromanyetik Spektrum

Manyetik alan ve elektrik alanların salınımları sonucu oluşan dalga hareketleri EMD olarak adlandırılır. EMD'lar uzayda ışık hızıyla hareket eden dalgalardır. Bir EMD'ya ait dalga boyu ve frekans ters ilişkilidir ve bu durum; Frekans (f) X dalga boyu (λ) = ışık hızı (c) şeklinde ifade edilir (35). EMD'ların boşluktaki yayılma hızı c'ye eşit olmasına rağmen, maddesel bir ortamdaki yayılma hızları ise c'den daha küçüktür (30).

EMD'lar, diğer bütün dalga hareketlerinde olduğu gibi, kırılma, kırınım, yansıma ve girişim özelliklerine sahiptirler. Ayrıca enine bir dalga hareketi oldukları için

kutuplanma özelliği de gösterirler. EMD'nın, bir ortamdan başka bir maddesel ortama geçişi sırasında dalgayı oluşturan elektrik ve manyetik alanlar yayılma doğrultusuna dik olmaktan çıkarlar ve yayılma doğrultusunda bileşenlere ayrılırlar. Ortaya çıkan bu bileşenler, dalganın yayılması sırasında enerji yitirmesine neden olurlar (30).

EMD'lar sahip oldukları frekans değerlerine göre özel adlarla ifade edilen gruplara ayrılırlar. Her bir farklı grupta bulunan EMD'nın farklı bir dalga boyu ve frekansı vardır. Dalgaların, dalga boyu ve frekansları göz önünde bulundurularak düzenlenmiş haline elektromanyetik spektrum (EMS) adı verilir (Resim 4).



Resim 4: Elektromanyetik tayf; iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgelerinin frekanslara göre dağılımı

Resim 4'e bakıldığında belirlenen gruplar içinde frekans sınırları kesin şekilde belirlenmiştir. Dalga boyları da farklılık göstermektedir. Cep telefonlarının, biyolojik dokular üzerindeki etkileriyle ilgili araştırmaların genellikle; 0.45 GHz–1, 9 GHz frekans spektrumunda yapılmış oldukları görülmektedir. (36, 37).

Frekans modülasyonu (FM): Taşıyıcı dalga frekansında meydana gelen değişimlerle ilgili bilgi veren modülasyon tipidir. FM'nun genellikle radyo yayınları için VHF (30–300 Hz.arası) frekanslarda kullanıldığı görülmektedir. Mikrodalgalar (MD) ise: Dalga boyu 30 cm (1 GHz) ile 1 mm (300 GHz) arasındaki EMD'lar olarak

tanımlanır. Bunun yanı sıra, Radyofrekans (RF) da, EMS'un 100 KHz ile 300 GHz arasındaki frekanslarıdır (33, 37). Günümüzde Türkiye'de kullanılan cep telefonlarından; GSM900'un frekans bandının 880–960 MHz, DCS1800'un frekans bandının ise 1710-1880 MHz olduğu bilinmektedir (33).

2.2.4. Radyasyonun Sınıflandırılması

Enerjinin bir ortamda dalga veya tanecik şeklinde yayılmasının sonucunda radyasyon meydana gelmektedir. Elektromanyetik radyasyon(EMR) ise EMD'nin herhangi bir ortamda yayılmasıdır. Radyasyon, genellikle iyonlaştırıcı radyasyon ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olmak üzere iki grupta incelenir (1, 38, 39).

2.2.4.1 İyonlaştırıcı radyasyon

İyonlaştırıcı radyasyon, madde içerisinden geçişi sırasında enerjisini ortama aktararak ortamdaki atomları doğrudan veya dolaylı olarak iyonlaştırabilen radyasyon türüdür. Dalga boyu küçülen EMR, herhangi bir madde ile karşılaştırıldığında “foton” ya da “kuantum” adı verilen enerji kümeleri gibi davranır. Bu tipteki EMR, x ve γ (gamma) ışınlarıdır. Enerjileri çok yüksek olan bu ışınlar moleküllere çarptıkları esnada onları iyonlaştırırlar ve molekül yapılarını bozabilirler. Bu nedenle de “iyonlaştırıcı elektromanyetik radyasyon” olarak adlandırılırlar (33, 38, 39). Radyasyonun enerji birimi, Rad (Radiation absorbed dose) olarak ifade edilir. Bir Rad, bir maddenin bir gramlık dokusunun absorbe ettiği enerji miktarıdır. Vücudun tamamının radyasyona maruz kaldığı durumlar dikkate alındığında 0–125 Rad arası dozlar çok az bulguya neden olurken; 125–250 Rad arası dozlar düzeltilebilir bulgulara, 250–400 Rad arası dozlar ise düzeltilemeyen bulgulara ve bazen ölüme sebep olabilmektedir. Ayrıca 500 Rad dozunun % 50 oranında ölüme, 700 Rad dozunun ise % 100 ölüme sebep olduğu bilinmektedir. 5-150 arasındaki Rad dozları da mutasyon yapabilen radyasyon dozu olarak kabul edilmektedir (40).

2.2.4.2 İyonlaştırıcı olmayan radyasyonlar

İyonize olmayan radyasyonlar, iyonlaştırıcı radyasyonların aksine daha düşük frekanslıdır. Ayrıca yeterince enerjiye sahip olmadıklarından dolayı ortamdaki

atomları iyonlaştıramazlar. Mobil iletişim sistemlerinin neden oldukları radyasyon türü bu gruba örnek olarak verilebilir (39, 41, 42).

2.2.5 Özgül Soğurma Hızı

Elektromanyetik enerjinin, vücut dokuları tarafından soğrulma hızı “özügöl soğurma oranı” (SAR=Specific Absorbtion Rate) olarak tanımlanmaktadır. Özügöl soğurma oranı (SAR), vücudun birim kütesine birim zamanda geçen enerjidir ve birimi Watt/kilogramdır (W/kg) (43). Radyofrekans radyasyonun (RFR) dokuda oluşturabileceğı zarar çeşitli etkenlere bağılı olmaktadır. Bu etkenlerin başında, radyasyonun enerjisi, radyasyonun doku ile yaptığı etkileşmenin türü, doku tarafından soğrulan enerji miktarı ve radyasyona maruz kalma süresi gelmektedir. Canlı dokularda soğrulan enerji miktarından çok, SAR değeri önem arz etmektedir (44).

Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon Komitesi (INIRC) ve Uluslararası Radyasyondan Korunma Kurumu (IRPA) yapmış oldukları çalışmalarla, insan sağılığı açısından zararlı olabilecek sınırlamaları “temel limitler” ve “türetilmiş limitler” olmak üzere 2 grupta tanımlamışlardır. Standartlara bakıldığında temel limit olarak “ortalama insan vücudunda, vücut sıcaklığını bir derece artıracak EM enerjinin soğurulmasının zararlı olduğı” tanımından yola çıkılarak, 4 W/kg değeri sınır olarak kabul edilmiştir. Kabul edilen bu değere göre kilogram başına dokuların soğurabileceğı en yüksek güç değeri 4Watt/kg olarak ifade edilmiştir. İşyerleri için 10 kat, genel meskûn yerler için 50 kat güvenlik payları esas alındığında, işyerleri için temel limit, 0,4 W/kg SAR ve halka açık genel yerler için temel limit 0,08 W/kg SAR olarak belirlenmiştir. İfade edilen bu değerler, insan vücudunun tümü için 6 dakikalık etkilenme süresi sonucunda verilen SAR değerleridir (45). Özügöl soğurma hızının doğrudan ölçülmesi olanaksız bir durumdur. Bu nedenle, sınır değerlerin belirlenmesinde kolay ölçülebilen ya da gözlemlenebilen parametreler kullanılmaktadır. Kullanılan bu parametreler; elektrik alan şiddeti, manyetik alan şiddeti ve güç yoğunluğudur (45).

2.2.6 Cep Telefonları

Cep telefonları, son 30 yıldır günlük hayatımızın vazgeçilmez bir parçası haline gelmiştir. Kullanımları ilk olarak 1981 yılında başlamış, sonraki yıllarda ise giderek

artış göstermiştir. Gelişen teknolojiye paralel olarak cep telefonları da kullanılmaya başladıkları ilk günden bugüne çeşitli özellikler kazanmışlardır. Birinci jenerasyon cep telefonları Analog olarak adlandırılmaktaydılar. Bu gruptaki mobil telefonların frekans hızları yaklaşık olarak 450 MHz civarındaydı. İkinci jenerasyon olarak ifade edilen cep telefonları ise 1990'lı yılların başında kullanılmaya başlanmış olup Global System for Mobile (GSM) özelliğinde dijital sistem cep telefonları olarak karşımıza çıkmışlardır. Bunların ardından hayatımıza giren üçüncü jenerasyon cep telefonları ise 2000'li yıllarda üretilmeye başlanmıştır. Bu grup cep telefonları daha öncekilerden farklı olarak 800-1900 MHz frekansa sahiptirler (46).

Cep telefonlarıyla iletişim, yüksek yerlere yerleştirilen baz istasyonları aracılığıyla sağlanmaktadır. Baz istasyonları, alıcı ve verici antenli sistemlerden oluşmaktadır. Bu sayede hücreli haberleşme sistemlerinde merkezi istasyon olarak görev yaparlar. Baz istasyonlarının olmadığı durumlarda cep telefonları ile iletişim sağlanamaz hale gelir. Cep telefonları sahip oldukları çalışma sistemleri sayesinde 800-2200 MHz arasındaki radyo frekanslarını kullanırlar ve iletişim bu sayede gerçekleşir. Ülkemizde kullanılan hücreli haberleşme sistemlerinden olan GSM 900' ün çalışma frekans aralığı 880-960 MHz ve yine DCS1800' ün frekans aralığı ise 1710-1880 MHz' dir (47). Cep telefonları ile baz istasyonları arasındaki iletişim EMD sayesinde gerçekleşmektedir. Baz istasyonlarının çalışmasından dolayı ortaya çıkan toplam elektromanyetik enerjinin sabit bir değeri yoktur. Ortaya çıkan bu değer kullanıcı yoğunluğuna göre değişmektedir. Avrupa ülkelerinde GSM baz istasyonlarının kuruluşlarına yönelik standartlar ETSI (European Telecommunication Standardization Institute) tarafından belirlenmektedir. Aynı şekilde baz istasyonlarının kurulumu için gereken standartlar Amerika Birleşik Devletleri'nde ise FCC (Federal Communication Commission) tarafından belirlenmektedir (33, 48, 49).

2.3 Elektromanyetik Alanın Biyolojik Etkileri

Biyolojik etki ile yan etki kavramları arasındaki farkı anlamak önemlidir. Biyolojik etki, elektromanyetik dalgalara maruz kalma sonucunda ortaya çıkıp belirlenebilir ya da canlıda dikkate değer fiziksel değişiklikler olduğu durumlarda gözlemlenebilir. Buna

rağmen yan etki ise biyolojik etkinin, vücut tarafından iyi tolere edilemediği durumlarda oluşur ve zararlı etkilere yol açar (50).

EMD'nın vücudumuzdaki dokulara temas etmesi sonucunda oluşturduğu EMA'nın şiddeti ve etkilediği dokunun özelliklerine göre; hücrelerdeki bazı moleküllere enerjilerini aktararak hücrelerin kimini az kimini ise daha çok etkilerler. Bu durum, ortamdaki iyonlaştırıcı olmayan EMD'nın etkisi sonucunda canlılarda termal (ısı) ve termal olmayan (kimyasal) iki tür etkinin oluşmasına neden olabilir (51-53). Isı etkisi resmi olarak kabul edilen dozlarda ya da daha yüksek değerlerde meydana gelirken; kimyasal etki tehlike sınırlarının altındaki daha düşük dozlarda meydana gelmektedir. Buna rağmen, uzun süre düşük dozdan etkilenme kısa süre yüksek dozdan etkilenmeden daha riskli kabul edilen bir durum olarak görülmektedir (51, 54).

2.3.1 Termal Etkiler

Termal etkiler, cisimlerin EMD ile etkileşmesi sonucunda, artan moleküler hareket ve sürtünmeden dolayı sistemde meydana gelen ısı artışı sonucunda ortaya çıkar (52). Vücut tarafından emilen EMA ısıya dönüşür ve bu durum vücut sıcaklığını artırır. Meydana gelen bu sıcaklık artışı, ısının kan dolaşımı ile atılarak dengelenmesine kadar devam eden bir süreçtir (53). İndüklenen alanlardan dolayı ısı artış kriteri $1C^{\circ}$ olarak belirlenmiştir. Genelde mevcut bulguların büyük kısmı, 1–2 W/kg'ın üstündeki SAR değerlerinde gözlemlenmiştir. Gönüllü insanlar katılımı ile gerçekleştirilen bir çalışmada; 4 W/kg'lık SAR değerini, insan vücudu ortalama sıcaklığını, 15–20 dakikada 0.2– 0.5 C° artırmış olduğu görülmüştür. (54). İnsan vücudu soğurulma karakteristiğine sahip bir yapıdadır. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda, RF frekans bandının; 400 MHz'den 3 GHz'e kadar olan aralığında ısı etkisi mevcuttur. Bu frekans arttıkça soğurulan enerji miktarı azalır ve sonucunda ısıtma etkisi artar (51, 54). EMA'a maruz bırakılan insanların vücut yüzeylerinde oluşan doku ısı artışının, idiyomatik durumlarda anlamlıyken iç organlardaki ısı artış miktarının önemsiz olduğunu ifade edilmiştir(55). Yapılan başka bir çalışmada ise konuşmaya hazır durumda olan cep telefonuna maruz bırakılan sıçanların rektal sıcaklıklarının istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (48). Ayrıca başka bir sonuca göre de 900 MHz EMA'nın, burun ve oksipital alanlarda deri ısısını yükselttiği ve meydana gelen bu ısı artışının

lokal vazodilatasyona bağlı olarak ortaya çıktığını, bunun yanısıra lokal vazodilatasyonda nazal bölgede artan nitrik oksit (NO) düzeylerinin etkili olduğu sonuçları da bildirilmiştir(56).

2.3.2 Termal Olmayan Etkiler

EMA, organizmanın sahip olduğu molekül ve atomları etkileyerek yapılarını bozmaktadır (57-59). Bu etkiler genellikle hücre tamir mekanizmaları ile düzeltilmektedir. Dzeltimenin mümkün olmadığı durumlarda ise hücre ölümleri veya kanser gibi ciddi rahatsızlıklara neden olabilecekleri gözlemlenmiştir (57, 60, 61).

EMA'nın termal olmayan etkileri ile ilgili in vivo deliller, yapılan başlıca hayvan deneylerinden elde edilmiştir. Cep telefonlarından kaynaklanan EMA'nın; nöronların elektrik aktivitesini, enerji metabolizmalarını, genomik yanıtlarını, nörotransmitter dengelerini ve kan beyin bariyerinin geçirgenliklerini etkilediği görülmektedir (62). Yine yapılan bir araştırmada; cep telefonlarından yayılan EMD'ların çocuklarda hafızada azalmaya, yorgunluk, kan ve uyku bozuklukları, beyin sinir hücrelerinde ve kan-beyin bariyeri geçirgenliğinde değişikliklere yol açtığına dikkat çekilmektedir. Bu nedenle cep telefonlarının 16 yaş altında kullanılmaması gerektiği belirtilmiştir (63). Kimyasal etkilere örnek olarak da beyin sinyallerindeki değişim, uykusuzluk, rüya görmede azalma, sinirlilik hali, Alzheimer ve Parkinson hastalığı gösterilebilir. Bu etkilerin hücrelerdeki büyük moleküllerin deformasyonu nedeniyle Ca-ATPaz ve Na-K-ATPaz enzimlerinin bozulması ve hücre dışına Ca⁺⁺, Na⁺ ve K⁺ kaçması sonucu oluştuğu düşünülmektedir (54).

EMA'nın gerek termal gerekse termal olmayan yollar ile biyolojik sistemler üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, EMD'ların hücre kromozom ve kromatin yapısında değişikliklere neden olarak hücrelerin DNA yapısında, hücre iskeletinde ve hücre zarında farklılaşmalar meydana getirdiği görülmektedir. Bu farklılaşmalar hücrelerin genetik yapılarını ve gelişme sikluslarını etkilemektedir (64). Yapılan bir araştırmadan elde edilen sonuçlara göre, düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan sıçanlarda, oksidatif DNA hasarı ve peroksidasyon oluştuğu buna rağmen, kontrol grubuna oranla daha yüksek lipid peroksidasyonu (TBARS) düzeylerine sahip oldukları saptanmıştır (65). Başka bir çalışmada ise düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan

sıçanların hücrelerindeki mitokondrial enzim miktarlarında azalma olduğu görülmüştür (66).

EMA'nın sinir sistemi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda ise çeşitli sonuçlara ulaşılmıştır. Bu çalışmaların birinde EMA'ya maruz kalan sıçanların beyin hücrelerinde DNA kırıklarının olduğu ve HL-60 ile HL60R soylarında DNA tamir oranlarında azalmanın olduğu ortaya koyulmuştur. (67-69). Bir diğer çalışmada ise düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan sıçanların beyin dokusunda superoksit radikal içeriklerin, lipid peroksidasyonunu artırdığı ve beyin dokusunun özellikle frontal korteksine zarar verdiği rapor edilmiştir (70). Yine yapılan başka bir çalışmada sıçanların thalamusunda ve beyin parankiminde bulunan mast hücrelerinin sayısında artış olduğu gözlenmiştir (71). Bunun yanı sıra, Cerebellum'un moleküler tabakasının kalınlığında azalmalar, purkinje hücrelerinde birikmeler olduğu ve bu hücrelerin sayılarının azaldığı gösterilmiştir (72). Yüksek frekanslı EMA'ya maruz bırakılan hipotalamik nöron hücre kültürleriyle yapılan çalışmada ise apoptoz, hücre sitoplazmasında Ca^{+2} 'nin arttığı ve mitokondri zar potansiyelinde azalma olduğu ve karakterize nekrozun geliştiği görülmüştür (73). Yapılan bu çalışmalardan elde edilen sonuçlara ek olarak, cep telefonlarının yaydığı radyofrekans dalgalarının, beyinde meydana getirebileceği diğer hastalıklar arasında bellekle ilgili bozukluklar da gösterilebilir (74).

Literatüre bakıldığında, EMA'nın genital sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde, EMA'ya maruz bırakılan sıçanların testislerinin normal doku yapısını kaybettiği, seminifer tübüllerde salgı artışı olduğu ve seminifer tübüllerdeki epitelyum hücre çekirdeklerinin piknotik ve nekrotik hal aldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca sertoli hücrelerinde meydana gelen artışın yanında spermatogoniumların, primer spermatositlerin, spermatid ve sperm sayılarının da azaldığı saptanmıştır (75). Sıçanlarda folikülogenez üzerine yapılan araştırmalara göre ise corpus luteum sayısı azalmakta buna rağmen, ovaryumdaki folikül sayısı kontrol grubuna göre artmaktadır. Ayrıca elde edilen başka bir sonuca göre, uterus endometriumu ve tuba uterinadaki epitelyal hücrelerin yüksekliğinin azaldığı; ovaryumun stromasındaki makrofaj sayısının arttığı, ve bunun yanı sıra çekirdekte büzüşme olduğu da gözlemlenmiştir (76). 900 MHz şiddetindeki EMD'lara maruz

birakılan sıçanlarla yapılan çalışmada ise endometrial hücrelerinde apoptoz gözlemlenmiş ve ortaya çıkan bu sonucun, doku hücrelerinde lipid peroksidasyon indeksi olan MDA (malondialdehit) miktarının artmasına bağlı olarak oluştuğu yorumu yapılmıştır (77).

EMA'nın kalp ritmi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar da mevcuttur. Buna göre, düşük frekanslı EMA'ya maruz kalan bireylerin kalp atım hızlarında azalma, EKG'lerinde değişme ve sistolik kan basınçlarında artma olduğu gözlemlenmiştir (78-80). Yapılan başka bir çalışmada ise, çalıştıkları ortamda EMA'ya maruz kalan kişilerde kalpte aritmi oluşumunun arttığı ayrıca dakikadaki kalp atım sayısının azaldığı ve bunlara bağlı olarak myokard infarktüsü riskinin arttığı saptanmıştır (79,80). Yine cep telefonlarından yayılan 2 Watt siddetindeki GSM 900 MHz frekanslı EMA'nın, yaşları 26 ila 36 arasındaki 10 gönüllü insanın baş kısmına uyguladıklarında, dinlenme halindeki insanların kan basıncında artışlar kaydedildiği görülmüştür (81).

EMA'nın immün sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalara bakıldığında, sıçanlarda TNF- α düzeylerinde, peritoneal makrofajlarda, dalakta bulunan T lenfosit sayısında ve T hücrelerinin proliferasyon yeteneklerinde artışa neden olduğu görülmüştür (82). Ayrıca EMD'lara maruz bırakılan sıçanların timus hücrelerine ait sitoplazmalarda veziküllerin, yoğunlaşmaların, piknotik değişikliklerin ortaya çıktığı ve damar endotellerinde de hipoplazi geliştiği gösterilmiştir (83).

Literatürde EMA'nın kan biyokimyası üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmaların olduğu da görülmektedir. EMA'ya maruz bırakılan sıçanların, kandaki elektrolit düzeyleri incelendiğinde K⁺ düzeyinde artış olduğu, bunun yanı sıra Na⁺ ve Ca⁺² düzeylerinde ise düzenli bir düşüş olduğu sonucuna ulaşılmıştır (84).

Yapılan in vitro çalışmalarda elde edilen sonuçlara bakıldığında, sıçanlardan alınan tendon, fibroblast ve kemik iliği hücrelerinin, kültür ortamında düşük frekanslı EMA etkisi ile hücrelerde apoptozisin başladığı görülmüştür (85). Ayrıca EMA'ya maruz kalan sıçanların böbrek tübül hücrelerindeki endoplazmik retikulum organellerinde de şişme olduğu gözlenmiştir (86).

EMA'ya ortalama değerden yüksek oranda, uzun süre boyunca maruz kalan hmile kadınların zor doğum yaptıkları da yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar arasındadır (87). Yine , ocuklarda görülen kanser türleri ve özellikle de lösemi ve iletişim hatlarına yakın yerlerde yaşama durumu arasında bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur. Hat işçileriyle yapılan çalışmalarda ise hematolojik değişiklikler, kan hücrelerinin sayılarında artışlar, kardiyovasküler sistem, sinir sistemi ve sindirim sisteminde işlevsel bozukluklar olduğu gözlemlenmiştir (88, 89). EMA'nın etkisinde kalan işçilerde Alzheimer hastalığının normal insanlara göre; erkeklerde 4.9 kat, kadınlarda ise 3.4 kat daha fazla ortaya çıktığı belirlenmiştir. Aynı zamanda, radyo operatörleri, endüstriyel donanım, telefon hattı ve trafo merkezlerinde çalışan işçilerde, parkinson hastalığı, alzheimer hastalığı, ve diğer bazı nörolojik bozuklukların görülme sıklıklarının da arttığı çalışmalardan elde edilen diğer sonuçlar arasındadır (90, 91).

Kobay domuzlar ile yapılan çalışmalarda ise, cep telefonlarından yayılan 900 MHz EMA'nın kobay domuzların beyin dokularında oksidatif strese neden olduğu ve domuzların vitamin seviyelerinin de değiştiği tespit edilmiştir (92). 7 gün süreyle günde bir saat 900 MHz'deki EMR'ye maruz kalan sıçanlarda; SOD ve GSH-Px aktivitelerinin azaldığı, oksidatif strese sebep olduğu ve ağızdan verilen, güçlü bir radikal temizleyicisi olan antioksidan Ginkgo biloba özütünün de beyin dokusundaki oksidan hasarını anlamlı şekilde önlediği tespit edilmiştir (93). 900 MHz dozundaki EMR'nin insan kanındaki lipid peroksidasyonunu yükselttiği ve bunun sonucunda SOD, GSH-Px aktivitelerinde de azalmalara yol açarak oksidatif hasara sebep olduğu rapor edilmiştir (94). Başka bir çalışmada da bir ay boyunca 900 MHz dalga frekansındaki cep telefonlarının yaydığı EMA'a maruz kalan bireylerin TSH yoğunlukları incelenmiştir ve %21 oranında bir düşüş olduğu saptanmıştır (95). Cep telefonundan yayılan 900 MHz'lik, EMR'un sıçanların böbrek dokusunda SOD, CAT, GSHPx aktivitelerini azalttığı, böbrek dokusundaki MDA ile idrardaki NAG seviyelerini arttırdığı ve sonucunda oksidatif strese sebep olduğu gösterilmiş ve melatoninin antioksidant özelliği ile böbrek dokusunda meydana gelen hasarda onarıcı etki yaptığını bildirilmiştir. Tavşanların proksimal tibialarının epifizyolosislerinde distraksiyon ile elektromanyetik stimulasyonun kemik formasyonu ve yeniden şekillenmesi üzerindeki etkilerini araştıran çalışmadan elde sonuca göre, elektromanyetik stimulasyonun, kemik formasyonunun hızına veya boyutuna herhangi bir etkisinin olmadığını saptamıştır (96).

50Hz ve 0 Hz (statik) alan etkilerinin sağlam sıçan kemiklerinde inutero ve neonatal olarak elektrik alana maruz bırakıp inceleyen çalışmada hem statik hem de 50 Hz elektrik alanın, sıçanların kemiklerinin erken gelişimini etkilediği görülmüştür. Ayrıca statik elektriğin etkilerinin 50 Hz'den daha belirgin olduğu sonucuna da ulaşılmıştır (97). Elektromanyetik stimülasyonun, SAOS-2 insan osteoblast proliferasyonu ve matriks üretimi üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada; dekorin, osteocalcin, osteopontin, tip I ile tip III kollajenin ve kalsiyumun elektromanyetik stimülasyon olmadan statik durumlarda 5 kat arttığı ve hücre proliferasyonunun da iki katı arttığı gözlemlenmiştir. Tüm bu verilerden yola çıkarak bu biyomateryalin, klinik uygulamalardaki kemik onarımlarında bir osteoinduktif implant olarak kullanılabilereği ileri sürülmüştür (98).

Pulsed elektromanyetik alanın (PEMA), osteoblast benzeri hücreler üzerindeki etkilerini araştıran başka bir çalışmada ise, PEMA'nın bu hücreleri geliştirdiği, bunun yanı sıra Ca^{++} bazal seviyesini yükselttiği görülmüştür. PEMA'nın hücre zarında etki ettiği, DNA sentezi ve hücre gelişimi için gerekli olan reseptörleri module ettiği de elde edilen diğer bir sonuçtur (99). Seçilmiş elektromanyetik alana (EMA) maruz kalan atlardaki kemik osteotomilerinin iyileşmesi üzerindeki etkilerinin araştırması yapılmış ve elektromanyetik yöntemlerle tedavi edilen osteotomilerin, tedavi edilmeyenlerle benzer olduğu durumu gözlemlenmiştir (100). Elektriksel bir stimülasyonun osteogenezise sebep olup olmadığının araştırıldığı çalışmada ise tavşan kemik ilikleri direkt elektrik akımı ile stimüle edilmiştir ve elektiksel uyarımla tetiklenmiş osteogenezis derecesinin doku çevresinden etkilendiği; elektriksel stimülasyonun, reaktif hücreler ve inflamasyon etrafına uygulandığında da osteogenesisin belirgin şekilde desteklediğini gösterilmiştir (101).

PEMA'nın atların metakarpal kemikleri üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla yapılan araştırmada düşük frekanslı PEMA'nın hem diafiz hem de metafizlerdeki kemik onarım sürecini etkilediği ve iskelet bölgesinde az osteogenetik hareketleriyle kemik onarımını ilerlettiği (diyafizlerde metafizlere karşı olarak) bulgusuna ulaşılmıştır (102).

PEMA'nın kemik doku yapılanmasındaki osteoblast proliferasyon ve farklılaşması üzerine etkisinin incelendiği başka bir çalışmada da PEMA'nın osteoblast proliferasyonu ve farklılaşmayı düzenleyici etkileri olduğu ileri sürülmüştür (103).

3. APOPİTOZ

Canlı hücreler iki farklı mekanizma ile ölürlür. Bu mekanizmalar nekroz ve apopitozdur. Nekroz; travmatik hücre ölümüdür ve hipoksi, aşırı ısı değişiklikleri, toksinler gibi hücre dışından gelen çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenler sonucunda gelişmektedir. Apopitoz ise genetik olarak kontrol edilen, yaşlanmış, fonksiyonunu yitirmiş, fazla üretilmiş, düzensiz gelişmiş ya da genetik olarak hasarlı hücrelerin, organizma için güvenli bir şekilde yok edilmelerini sağlayan hücre ölüm şeklidir. Apopitoz fizyolojik veya patolojik uyarılarla oluşurken nekroz patolojik bir şekilde gerçekleşir (104).

Yunancada “apo” *ayrı*, “ptosis” *düşen* anlamına gelmektedir. Apopitoz terimi literatürde ilk kez 1972 yılında Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR adlı araştırmacılar tarafından kullanılmıştır. Jel elektroforezi ile apopitozda endonükleazların aktive olarak DNA kırıklarına neden olduğu da ilk 1983'te gösterilerek apopitotik hücre ölümünün ilk biyokimyasal kanıtı elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuçtan sonra apopitoz araştırmacıların dikkatini çekmiş ve konuyla ilgili çalışmalar hızlı bir şekilde artmıştır (104, 105).

3.1 Apopitotik Hücre Ölümünün Aşamaları

Apopitoz hücre içinden veya dışından kaynaklanan uyarılarla başlatılan ve birbirini takip eden bir olaylar zinciridir. Bu uyarılar sırasıyla; apopitozun başlatılması, hücre içi proteazların (kaspazların) aktivasyonu, hücrede çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması ve fagositoz olarak ifade edilebilir (106).

3.1.1 Apoptozun Başlatılması

Apoptozun başlayabilmesi için öncelikle, ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirmek gerekir ki bunun için hücre içinden veya dışından bir sinyal ile karşılaşılması yeterlidir (104, 107).

Hücre dışından kaynaklanan sinyaller; çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği, ölüm reseptörlerinin aktivasyonu (Reseptör- Ligand etkileşmesi), Fas-Fas ligandı, Tümör Nekroz Faktörü (TNF), Sitotoksik T lenfositleri ve hücreleri etkileyen diğer dış etkenlerdir. Hücre içinden kaynaklanan sinyaller ise; DNA hasarı, hücre içi Ca^{++} seviyesindeki artış, hücre içi pH'da düşme, metabolik ve/veya hücre siklus bozukluklarıdır(107).

3.1.2 Hücre İçi Proteaz Aktivasyonu

İç ve dış sinyallerle hücre içerisinde bulunan ve kaspaz (caspase=cysteine-containing aspartate specific proteases) adı verilen proteaz aktive olur. İnsan hücrelerinde zimogen adı verilen ve inaktif formda bulunan ve aktif forma göre daha uzun bir polipeptid zinciri olarak bilinen 10'dan fazla kaspaz mevcuttur. Kaspazlar başlatıcı ve sonlandırıcı olmak üzere iki grupta toplanır. Ölüm reseptörleri adaptör proteinler aracılığıyla, iç sinyaller ise mitokondri aracılığı ile başlatıcı kaspazları aktive ederler. Bu durum zincirleme olarak diğer kaspazların da aktive olmasına neden olur. (107).

İç sinyallerle oluşan apoptozda mitokondri oldukça önemli rol oynamaktadır. Mitokondrinin dış zarında geçirgenliği ayarlayan proapoptotik ve antiapoptotik proteinler bulunmaktadır. Bunların en önemlisi de antiapoptotik olan bcl-2 grubu proteinlerdir. Bcl-2 proteini, mitokondri dış membranına ve apoptoz proteaz aktive edici faktör 1'e (Apaf 1) tutunur. Apoptotik sinyaller, Apaf 1'in mitokondriden ayrılmasına ve mitokondri dış membran geçirgenliğinin artmasına neden olur. Geçirgenliğin artışı ile mitokondrinin iki zarı arasında bulunan sitokrom c sitoplazmaya çıkar. Sitokrom c sitoplazmada Apaf 1, kaspaz 9 ve ATP ile birleşerek apoptozom oluşturur. Apoptozom da sonlandırıcı kaspaz olan kaspaz 3' ü aktive ederek apoptoza neden olur (108, 109).

Hücrede iç veya dış nedenlerle DNA hasarı oluştuğunda bazı genler aktive olarak hücreyi apoptoz gerçekleşmesi için uyarır. Bu genlerden en önemlisi p53 genidir ve insan tümörlerinin %50'den fazlasında mutasyona uğradığı belirlenmiştir. p53 geni normalde inaktif durumda bulunan bir genidir. DNA da herhangi bir hasar oluştuğunda aktif hale gelerek, DNA tamiri yapan proteinlerin transkripsiyonunu sağlar ve p21 genini harekete geçirir. p21 geni, hücrenin geç G1 fazında kalmasını ve S fazına geçmesini engeller. Böylece hücre siklusu durdurulur ve böylece oluşmuş olan DNA hasarlı hücrenin çoğalması engellenir. DNA tamiri yapan proteinler hasarı tamir edebilirse, hücre siklusundaki blok ortadan kalkar. Hücre hasarında meydana gelen tamir gerçekleşmezse p53 geni bax proteinini (bcl-2 grubu proteinlerden, proapoptotik) aktive eder ve mitokondri aracılığı ile hücrenin apoptoza giderek ölmesini sağlamış olur. Böylece DNAdaki hasarlı hücre ortadan kaldırılmış olur (106, 110, 111).

3.1.3 Hücrede Oluşan Morfolojik ve Biyokimyasal Değişiklikler

Hücrenin sitoplazma, nükleus ve plazma zarı gibi kendi organellerindeki çeşitli biyokimyasal ve fiziksel değişimler sonucunda apoptoza özgü morfolojiler oluşmaktadır(112). Apoptozun erken safhasında plazma zarı aracılığı ile hücrenin ekstrasellüler matriks ve diğer hücreler ile olan bağlantıları ayrılır. Ardından hücreler büzülerek komşu hücreler ile olan fiziksel ilişkilerini kaybederler (112, 113). Endoplazmik retikulum genişleyip ve sisternalar vezikül ve vakuollerini oluşturmak üzere kabarak sitoplazmada değişiklikler meydana gelir (112). Hücre çekirdeğinde ise kromatin yoğunlaşarak küçük yoğun kütleler olarak toplanır. Ardından nükleozomlar arasından endonükleazlar ile DNA parçalanır (114). Daha sonra plazma zarı kıvrılarak tomurcuklanır (112). Hücre çeşitli ebatlardaki zar küreleri olan apoptotik cisimcikler oluşturur (112). Plazma zarının iç yüzünde bulunan fosfatidil serin molekülü apoptozun erken evresinde zarın dış yüzüne geçerek komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmada ve apoptotik cisimciklerin fagositozunun gerçekleştirilmesinde önemli rol oynar (115).

3.1.4 Fagositoz

Plazma zarında sitoplazmik yüzeyinde bulunan fosfatidil serin, ATP bağımlı “fosfatidil serin flippaz” enzimi ile hücre zarına tutulur (112). Kaspazlar flippaz

enziminin etkisini yok ederek, fosfatidil serin molekülünün hücre zarının dış yüzüne geçmesine neden olur (112). Rekombinant olarak elde edilen Annexin V proteini fosfatidil serin ile kuvvetli şekilde bağlanarak apoptotik cisimciklerin ayrıt edilmesine neden olur (112, 113). Farklılaşmış apoptotik cisimcikler çevre hücreler ve makrofajlar tarafından tanınarak hızlıca fagosite edilerek ortadan kaldırılırlar (113).

3.2 İnsan Vücudunda Apoptozun Görüldüğü Durumlar

Apoptozis toplamda 30 ile 60 dakika arası gibi bir sürede tamamlanır (116). Apoptotik hücrelerin dokudan uzaklaştırılması ve yerine yenilerinin konulması ise günlük 10^{11} hücre olarak tahmin edilmektedir ve bu yetişkin bir bireyin total vücut ağırlığının her 18- 24 ayda bir değişimine eşittir (117).

Vücuttaki rejenerasyonun sağlanması ve hücrel homeostazın korunması gibi çok sayıda fizyolojik ve adaptasyon gerektiren durumda ve patolojik olaylarda apoptoz mekanizması kullanılır (107).

Embriyogenez ve fütogenez sırasında normal gelişimin sağlanması amacı ile oluşan hücrelerin bir kısmı da apoptoza gitmektedir. Özellikle sinir sistemi ve immün sistemin gelişiminde apoptoz önemli rol oynar (107, 118).

Apoptoz, erişkinlerin hormon yetmezliğine bağlı olarak gelişen organ gerilemelerinde, proliferasyona uğrayan hücre topluluklarında, tümörlerin özellikle regresyon dönemlerinde, sitokin yetersizliğinde T ve B lenfositlerin uzaklaştırılmasında, pankreas, parotis ve böbrek gibi organlarda kanal obstrüksiyonlarına bağlı olarak gelişen atrofilerde ve çeşitli viral hastalıklarda da rol almaktadır. Hücrel immün sistemi etkileyen bazı reaksiyonlarda da sitotoksik T lenfositler (CTL) aracılığı ile apoptoz gerçekleşir. Hücrelerde hasar oluşmasına neden olan; ısı, radyasyon, antikanserojen ilaçlar, hipoksi gibi bazı etkenler sıklıkla nekroza neden olurken, bazen düşük seviyelerde de olsa apoptoz oluşturabilirler (107. 119).

3.3 Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Apoptozisin saptanmasında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Apoptotik hücre morfolojisini belirlemek için ışık, faz kontrast, elektron, floresan, lazerli konfokal mikroskopları kullanılmaktadır. DNA kırıklarının belirlenmesi aşamasında ise Anneksin-V, TUNEL, jel elektroforezi, M-30, Kaspaz-3, Akım Sitometri, ELISA ve DNA Mikroarray gibi yöntemler tercih edilmektedir (39).

TUNEL “TdT-dUTP nick-end-labelling” sözcüklerinin kısaltılmasından gelir. TUNEL yöntemi DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlar. DNA uçları apoptotik parçalanma sonrasında DNA polimeraz veya Klenow fragmenti aracılığı ile işaretlenir. Fakat terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) ile yapılan işaretleme daha duyarlı olduğu bulunmuştur. TdT ve nonizotopik işaretli nükleotidler (sıklıkla biyotinli dUTP) kullanılarak yapılan in situ işaretleme ile konvansiyonel parafin kesitlerde floresan veya enzimatik görüntüleme aracılığıyla apoptotik hücreler diğer hücrelerden ayırt edilir(120).

4. BÜYÜME PLAĞI

Alanyazında fizis, epifizeal plak, epifizeal kartilaj ve epifizeal büyüme plağı şeklinde de adlandırılan büyüme plağı, mezoderm kaynaklı ileri derecede özelleşmiş bir kıkırdak olup epifiz ile metafiz arasında yer alır(121)

Intrauterin hayatın 7.-12. haftalarında görülmeye başlayan ve doğumda genellikle tüm kemiklerin gövdesinde bulunan ilk kemikleşme odağına primer kemikleşme merkezi (centrum ossificationis primarium) denilir. Uzun kemiklerin epifiz bölümüne gelen uç kısımlarında kemik taslağının iç kısmında yer alan ve sıklıkla doğumdan sonra görülmeye başlayan sekonder kemikleşme merkezleri (centrum ossificationis secundarium) görülür. Gittikçe büyüyen ve uçta yer alan bu kemik dokusu ile gövdenin kemik dokusu arasında cartilago epiphysialis adı verilen bir kıkırdak bölge kalır. Burası kemiğin uzunlamasına büyümesi açısından oldukça önemlidir. Epifiz ile diafiz arasında kalan bu aktif tabakaya büyüme çizgisi (linea epiphysialis) adı verilir. Bu çizgi büyümenin sonunda kapanır (122).

Uzun kemiklerde, periferel fibrokartilajinöz element olarak adlandırılan ve büyüme plağını çevreleyen iki yapı mevcuttur. Bu yapılar Ranvier Oluğu ve La Croix Yüzüğü'dür. Ranvier Oluğu geç büyüme için büyüme plağı çevresindeki kondrositleri besler. La Croix Yüzüğü ise perikondriyal fibröz yüzük olarak adlandırılan kemik ve fibröz doku bandıdır. Bu yapı fibröz bir doku desteği olup fizisi destekler(122).

Fizisin çevresini çepeçevre saran kıkırdak kalınlaşmasından oluşan Perikondriyal halka epifizde eklem kıkırdağına dönüşürken, metafizde periost ile birleşir. Perikondriyal halka ile birlikte Ranvier kemikleşme olukları immatür iskeletin ve büyüme plağı bütünlüğünün korunmasını sağlarlar. Bu kompleksin bir parçası olan Ranvier oluğu, germinal kıkırdak hücreleri seviyesinde yer alır. Kama şeklinde bir hücre topluluğudur ve periferik kısımları epifize doğru uzanır (121).

4.1 Büyüme Plağı Histolojisi

Büyüme plağı histolojik olarak incelendiğinde 5 bölgeye(zon) ayrıldığı görülür:

4.1.1 Dinlenme (Rezerv) Zonu

Hiyalin kıkırdak hücrelerince zengin bir bölgedir. Bu tabaka kondrostlerin temin edildiği bir tabakadır ve kondrositler aktif protein sentezi yapmalarından ötürü yüksek metabolik aktiviteye sahiptirler. Kondrositlerin bu özelliğinden ötürü bu tabakaya Germinal Zon veya Rezerv Zonu denilmektedir. Bu zon matriks üretimi ve depolanmasından sorumludur. Sekonder ossifikasyon bölgesine yakın komşuluğundan dolayı gelebilecek herhangi bir travma büyüme durmasına neden olmaktadır. Hücreler epifizyel damarların getirdiği mezankimal hücrelerden ve perikondriyal halkalardan elde edilir. Hücreler arası ekstraselüler matrik yoğun olmasından ötürü hücreler sferik ve relatif olarak sayıları azdır. kartilaj kanallarındaki aktif kan dolaşımının yeterli olmadığından parsiyel oksijen basıncı düşüktür ve bu da kondrositlerin proliferasyonunu engeller (123).

4.1.2 Proliferatif Zon

Bu zondaki kondrosit hücrelerinin görevleri matriks üretimi , selüler proliferasyon ve longitudinal büyüme sağlamaktır. Hücreler büyüme kıkırdağındaki tek

bölünebilme özelliğine sahip hücreleri olup hücreler hızla bölünerek çoğalır ve uzun kolonlar şeklinde sıralanırlar. Bölünen hücreler şişerek fizis hacmini arttırır ve tübüler kemiğin uzamasına neden olur. Kondrositler büyüme plağını delen epifizial arterle beslenirler ve kıkırdak kolonlardan 4-12 tanesine bir arter düşer. Damarlardan zengin bir tabaka olduğundan dolayı parsiyel oksijen basıncı yüksektir. Bu durum hücrelerin glikojen depolanmasına, mitokondrilerin de ATP üretilmesine ve aerobik metabolizma görülmesine neden olur. Zondaki kondrositlerin fonksiyonu, mitoz hızı, matriks miktarı bize fizisin longitudinal büyüme oranını verir. Zondaki mevcut hücre sayısı ile büyüme potansiyeli arasında doğru orantı mevcuttur (121, 123).

4.1.3 Matürasyon (Hipertrofi, Vakuolizasyon) Zonu

Bu zonun görevi, matriksin kalsifikasyonudur. Kıkırdak hücreler stoplazmarında glikojen biriktirerek büyümüşürler. Bu sebeptendir ki kondrositler büyük oranda genişlemiş ve sferik görülürler. Bu zonda aktif büyüme görülmeyip , hücre hipertrofisinden dolayı kemik uzunluğunda artış olur. Zonun en alt kısmında bulunan kondrosit boyutu proliferatif zonla karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 5 katıdır (121).

En tabandaki her bir hücre sütununda hücre membranlarında aşırı fragmentasyon görülür. Bu hücreler mitokondrileri dışında tüm stoplazmik komponentlerini kaybettiklerinden yaşamayan hücreler olarak değerlendirilir. Zonun üst yarısındaki kondrositlerde mitokondri ve hücre membranları kalsiyum ile yüklü iken alt yarısında bulunan kondrositlere bu durum tam tersidir. Bu özellik bize mitokondrial ve hücre membranı kalsiyumunun kartilaj kalsifikasyonu ile bağlantılı olduğunu düşündürmektedir. Hipertrofik zon, parsiyel oksijen basıncı çok düşük olduğundan avaskülerdir ve bunun sonucunda zonda anaerobik metabolizma görülür. Bu zonun alt yarısında ki hücreler mitokondriumlarında kalsiyum depolarlar. Hücreler için başka enerji kaynağı olmadığından glikojen kaynağı tükenen kondrositler, matriks kalsifikasyonu için mitokondriumlarındaki kalsiyumu serbestleştirirler (122).

4.1.4 Kalsifikasyon (Hücre Dejenerasyon) Zonu

Bu zonda kıkırdak hücreleri bozulmaya başlamıştır. Ortama kalsiyum çöker ve dokunun bazofilisi artar. Bu zonda kondrositlerin ölümü ve alkalen fosfataz üretimi

sonucu kartilaj matriksi longitudinal olarak kalsifiye olur. Ölen kondrositler, kısa bir zamanda vasküler mezenkimal dokunun invazyonu ile emilirler. Fizisin germinal hücrelerinin direkt travma sonucu hasar görmesi, dolaşımının bozulması veya kompresyona uğraması longitudinal kemik büyümesini durdurur (123).

4.1.5 Ossifikasyon Zonu

Bölgede oluşan encondral tipte yeni kemik dokusudur.

Zones Structures	Histology	Functions	Blood supply	PO ₂	Cell (chondrocyte) health	Cell respiration	Cell glycogen
Secondary bony epiphysis Epiphyseal artery							
Reserve zone		Matrix production Storage	Vessels pass through, do not supply this zone	Poor (low)		Anaerobic	High concentration
Proliferative zone		Matrix production Cellular proliferation (longitudinal growth)	Excellent	Excellent		Aerobic	High concentration (less than in above)
Hypertrophic zone	Maturation zone	Preparation of matrix for calcification	Progressive decrease	Poor (low)		Progressive change to anaerobic	Glycogen consumed until depleted
	Degenerative zone			Progressive decrease			
Zone of provisional calcification		Calcification of matrix	Nil	Poor (very low)		Anaerobic glycolysis	Nil
Last intact transverse septum Primary spongiosa		Vascular invasion and resorption of transverse septa	Closed capillary loops Good	Poor Good		Progressive reversion to	

Şekil 6 Büyüme plağının histolojisi ve zona göre fonksiyonları

Proliferasyon zondaki kıkırdak hücreleri kemik uzun eksenine doğru dizilip sitoplazmalarında madde depolamaya başlarlar. Madde depolayan hücreler büyüyerek hipertrofi zonunu oluştururlar. Hipertrofik zonda ki hücrelerde artan alkalin fosfat enzimi dışarı çıkarak kalsifikasyonu başlatır. Kalsifikasyondan sonra osteoklastlar kemik yıkım veya rezorbsiyon olaylarını gerçekleştirir. Rezorbsiyon sonucu ortaya

çıkan kemik kovuklarına periosteumdan osteoprogenitör hücreler gelerek osteoblastlara dönüşürler. Osteoblastlar kavitelelerin yüzeyine yerleşerek kemik matriks oluşturarak osteositlere dönüşürler. Matriks de ileride kalsifiye olmaktadır.

4.2 Büyüme Plağı Farklılaşmasının Düzenlenmesi

Hipertrofik hücreleri elimine etmenin iki mekanizması vardır. Bunlardan biri hücrelerin öldüğü apoptozistir. İkinci mekanizma ise olgun kondrositlerin kemik yapıcı hücrelere veya osteoblastlara dönüştüğü transdiferansiyasyon işlemidir (124). Transdiferansiyasyon işlemi için esaslı bir fenotipik değişiklik ve yeni genlerin ekspresyonu gerekir (125, 126).

4.2.1 Epifizde Apoptoz

Apoptozis gelişmekte olan büyüme plağında oluşmaktadır. Resting zondaki kondrositler aktif proliferasyona girdikten sonra farklılaşmaya başlarlar. Bu olayları takibinde apoptozis ve mineralizasyon gerçekleşir. Yaşlı ratlarda, daha genç ratlara göre büyüme hızı ve büyüme plağı genişliği azalmış, apoptozis özellikle hipertrofik zonlarda artmıştır. Apoptozisin başlamasında ki anahtar enzim sistein proteaz ailesi üyesi “caspase” lardır. Bütün hücrelerin stoplazmalarında apoptozisi aktive etmek üzere inaktif şekilde bulunurlar. İnvitro çalışmalarda yüksek fosfat içeriği olan kondrositlerde apoptotik aktivitenin artmış olduğu gösterilmiştir (127). Bu fenomen farklılaşmış kondrositlerde daha az farklılaşmamış kondrositlere göre daha sık görülür. Fosfattaki artış, kondrositlerdeki anormal mitokondri fonksiyonuna bağlıdır (128). Glukokortikoidler ve radyasyon da fosfat gibi apoptoziste artışa yol açar (128, 129). On gün boyunca glukokortikoidlerle tedavi edilmiş hayvanlarda, hipertrofik kondrositlerin apoptozis miktarında artış sonucu büyüme plağı genişliğinde azalma olduğu gösterilmiştir (128).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

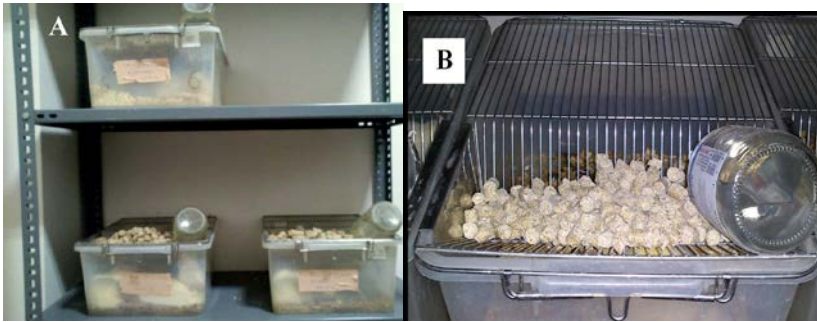
5.1 Deneysel Çalışma Aşaması

5.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi (KTÜ), Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra başlandı (Tarih: 13.07.2016, Sayı:33). Çalışmada ağırlıkları 283-439 gram arasında olan 24 adet 21 günlük Spraque Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden sağlanan sıçanların çalışma süresince bakımı, beslenmesi ve barınması aynı merkezde ki sıçan takip odalarında gerçekleştirildi.

5.1.2. Sıçanların Çalışma Süresince Bakımı ve Laboratuvar Şartları

Sıçanların bulunduğu ortama 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatma koşulları sağlandı. Deney süresi boyunca laboratuvardaki sıcaklık ortalama $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, nisbi nem ortalama $\%50 \pm 5$ olarak tutuldu. Sıçanlara, içme suyu ve standart sıçan yemi ile beslendi. Çalışma süresince sıçanların barınmasında standart kafesler kullanıldı (Resim 7).



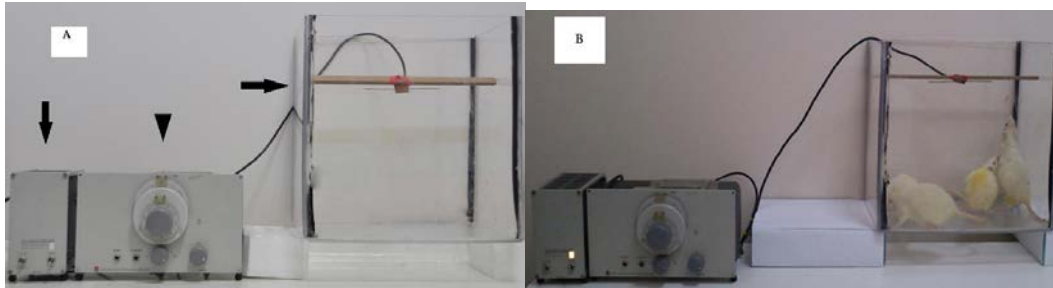
Resim 7: A ve B, Deney Hayvanlarının Barınmasında Kullanılan Kafesler

5.1.3. Deneysel Çalışma Planı

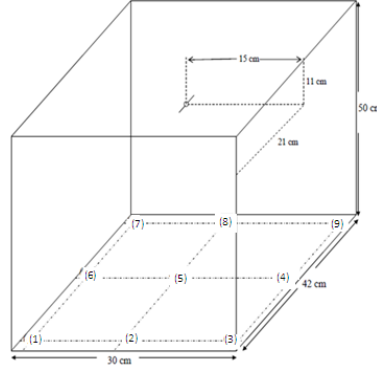
Sıçanlar rastgele 3 eşit gruba ayrıldılar. Gruplar postnatal 22. (PN 22) günden itibaren sakrifiye edildikleri postnatal 60.(PN 60) gün hariç aynı odada ve farklı kafeslerde tutuldular. Birinci grup, kontrol grubu (K) olup ilave herhangi bir uygulama yapılmadı. İkinci grup, EMA etkisine maruz bırakılan grup (E) olup bu sıçanlar her gün aynı saatte pleksiglass malzemedan yapılmış fanusun içinde, 1 saat süreyle kesintisiz 900 MHz EMA etkisine maruz bırakıldı. Son grup ise sham grubuydu (S) ve bu grup her gün bir saat EMA uygulanmaksızın pleksiglass fanus içinde tutuldu.

5.1.4. Deney Düzenegi ve Elektromanyetik Alan Oluşturulması

900 MHz'lik EMA oluşturulması için, çıkış gücü yaklaşık 300 mW ve frekansı 900 MHz'e ayarlı bir UHF (Ultra High Frequency) osilatörü kullanıldı. Osilatör çıkışı da bir koaksiyel kablo yardımıyla 1 mm çapa sahip bakır bir çubuktan yapılmış yarım-dalga dipol antenine bağlandı. Anten, pleksiglass malzemedan yapılmış bir fanusun açık yüzeyinden yaklaşık 11 cm içeriye, orta bölgesine yerleştirildi. Bu düzenek Hancı ve ark.'nın (7) çalışmasında kullandıkları düzenegin aynısıydı (resim 8A). E grubu sıçanlar bu fanus içerisine konularak her gün aynı saatlerde 1 saat süreyle kesintisiz 900 MHz'lik EMA'a maruz bırakıldı (Resim 8B). Osilatör çalışmaya başladığında ve kapatıldıktan hemen sonra sıçanlar fanusun içinde ve dışında iken hem fanusun içinden hem de dışından dokuz farklı noktadan elektrik alan yoğunluğu ölçüldü (Resim 9). Bu ölçümlerde 100 kHz-2.5 GHz ölçme aralığına sahip geniş bantlı bir alan ölçer cihazı (Chauvin-Arnoux) kullanıldı.



Resim 8: A -Elektromanyetik Dalga Düzenegi (Kafes Boş), (↓)Güç Kaynağı; (▼) ,Osilatör; (→), Fanus. B- Elektromanyetik Dalga Düzenegi (Kafes dolu)



Resim 9 Elektromanyetik Alan Fanusunun Ölçüleri ve Ölçüm Noktaları

5.1.5. Epifiz Dokularının Elde Edilmesi

Deney bitiminde tüm sıçanlar derin anestezi altında servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Sıçanların bacakları diz eklemi proksimalinde 2cm ve distalinde 1 cm olacak şekilde ampute edildi. Ardından deri ve yumuşak dokuların bir bölümü diseke edilen örnekler tespit için ayrı ayrı %10'luk formaldehid solüsyonu içeren numaralandırılmış kaplara konuldu.

5.2. Histolojik Değerlendirme

Dokuların takip, kesit alma ve boyanma işlemlerinin tümü KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. %10 luk Formaldehid içeren numaralı kavanozlardaki örneklerin 30 dakika sonra kanlanan solüsyonları değiştirildi ve dokular 48 saat süreyle fikse edildi. Kalan yumuşak dokular, tibia ve fibula diseke edilerek uzaklaştırıldı ve femura ait distal parça elde edildi (130).

Fiksasyonu tamamlanan distal femurun dekalsifikasyonu (kalsiyum tuzlarının dokudan uzaklaştırılması) için %10'luk formik asitle hazırlanmış dekalsifikasyon solüsyonu kullanıldı. Dekalsifikasyon işlemi süresince solüsyon iki günde bir yeniden hazırlanarak değiştirildi (131). Yirmi gün oda sıcaklığında bu şekilde dekalsifiye edilen dokular dört saat akarsuda yıkandıktan sonra, dehidratasyon için alkol serilerinden geçirildi ve ksilen ile şeffaflaştırılmanın ardından parafine gömüldü (132).

5.2.1. Histomorfolojik değerlendirme

Hazırlanan parafin bloklar Tam otomatik mikrotom (Leica RM2255, Leica Instruments, Nussloch, Germany) ile 5 mikrometre (μm) kalınlığında kesilerek numaralanmış lamalar üzerine alındı. Bu şekilde hazırlanan distal femur epifizine ait kesitler deparafinize edilerek hematoksilin ve eozin (H&E) boyama protokolü ile boyandı. Işık mikroskopunda (IM) (Olympus BX -51; Olympus Co., Tokyo, Japan) değerlendirildi ve mikroskoba entegre dijital kamera ile fotoğrafları çekildi (Olympus DP 71 Olympus Co., Japan). H&E boyalı her bir preparatta rastgele seçilen 3 farklı bölgeden X200lük büyütmede epifizin total uzunluğu ve her bir zonun (dinlenme, proliferasyon, hipertrofi) uzunlukları Analysis 5 Research software (Olympus Soft Imaging Solution GmbH, Münster, Germany) programında ölçülerek Mikrometre cinsinden verildi.

5.2.2. Apoptozun değerlendirilmesi

Femur distal epifizindeki apoptozisi değerlendirmek için parafin bloklardan 5 μm kesitler alınıp TUNEL (Terminal deoxynucleotidy transferase (TdT) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay) boyama tekniği kullanılan bir kitle ((In Situ Cell Death Detection Kit POD, catalog number: 11 684 817 910, Roche, Mannheim, Germany) boyandı. Her bir preparatta X400 lük büyütmede rastgele seçilen 3 farklı mikroskopik alanda; epifizyal plağın 3 farklı zonunda (dinlenme, proliferasyon ve hipertrofik) kıkırdak hücreleri (kondrositler) sayıldı. Kahverengi nükleuslu TUNEL (+) kıkırdak hücreleri apoptotik olarak kabul edildi. Her zondaki ve tüm epifizyal plaktaki apoptotik hücrelerin sayısı yüzde olarak ifade edildi (Apoptotik hücre sayısıX100/ Toplam hücre sayısı)

5.3. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmanın istatistik analizinde tamamlayıcı istatistik olarak yüzde , oran, orantı, ortalama, standart sapma kullanılmıştır. Grupların normal dağılıma uygunluğu Kruskal Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Parametrik koşul taşıyan gruplar Anova testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Post hoc testi olarak Bonferroni düzeltmesi yapılarak

anlamlılık değeri karşılaştırma sayısına bۆlünmüřtür. Gruplar arası korelasyon Pearson korelasyon testi ile değerlendirilmiştir.



6. BULGULAR

Deney süresi boyunca hiçbir ratta deneyden çıkartılmayı gerektirecek herhangi bir görsel problem ile karşılaşılmadı. Deney planlandığı şekil ve sürede tamamlandı. Elde edilen veriler histolojik olarak değerlendirildi. Bu işlemde fizis; dinlenme, proliferatif ve hipertrofi/kalsifikasyon tabakası olarak üç ayrı katman şeklinde göz önüne alındı.

6.1 Uzunluk

Katmanların uzunluk ölçümlerinden elde edilen veriler Tablo 1’de sunulmuştur. Buna göre, uzunluk açısından sadece dinlenme tabakasında E grubunda K ve S grubuna göre anlamlı derecede farklılık yaratan bir artış vardı (sırasıyla; p:0.001 ve p:0.001)(Resim 12). Diğer tabakalarda ise rakamsal farklılıklar olmasına rağmen bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 2).

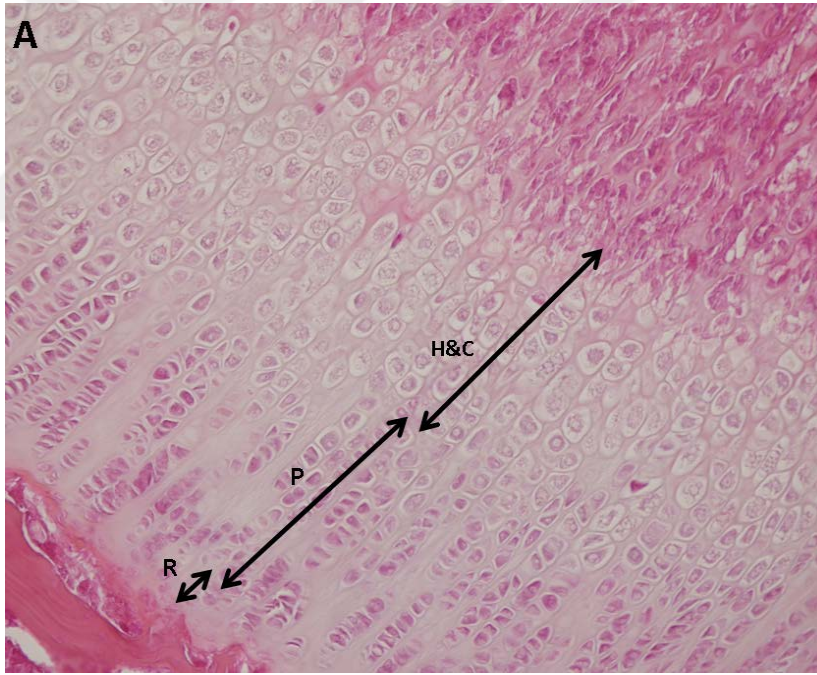
Gruplar	n(sayı)	Dinlenme		Proliferatif		Hipertrofi		Tüm Epifiz	
		Katmanı		Katman		Katman		Katmanları	
		Ort.	s.s	Ort.	s.s	Ort.	s.s	Ort.	s.s
EMA	8	36.43	5.73	200.79	39.81	228.19	40.52	486.43	78.24
Kontrol	8	27.22	3.02	234.22	31.71	195.39	30.69	461.46	70.35
Sham	8	27.07	3.73	236.57	32.71	186.55	42.77	466.87	70.78

Tablo 1 : Büyüme plağı katmanlarının 3 gruptaki uzunluk ölçümleri (ort:ortalama s.s:standart sapma)

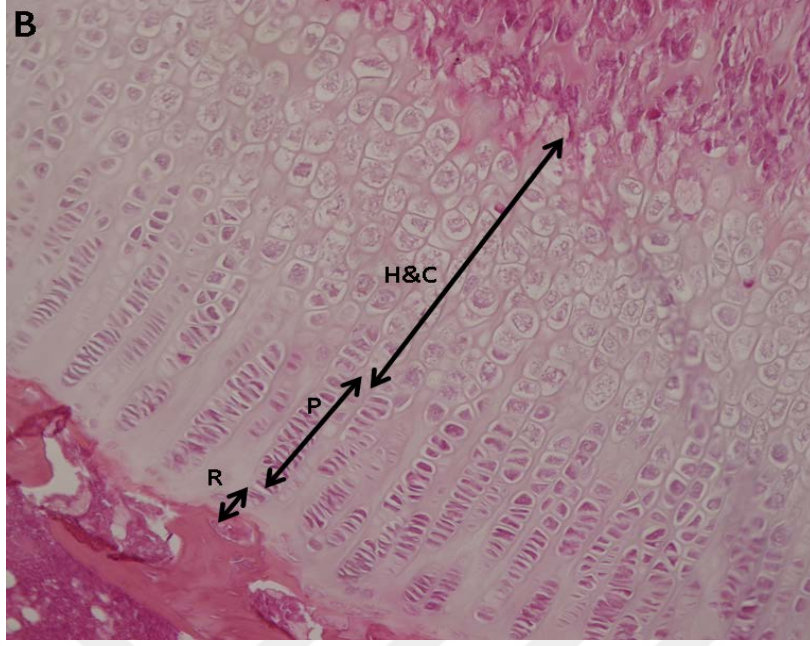
Yine fizisin uzunluğu total olarak değerlendirildiğinde de E grubu ile K ve S grupları arasında anlamlı bir fark elde edilemedi (Tablo 2). Yani bu bulgulara göre fizisin katmanlarından dinlenme tabakası uzunluk açısından EMA’dan en çok etkilenen bölge olmasına rağmen bu durum fizisin total uzunluğunda anlamlı bir fark yaratmamıştı.

	p (anlamlılık değeri)			
	Total	E-K	S-K	E-S
Dinlenme Katmanı	. <0,001	. <0,001	1.000	. <0,001
Proliferatif Katmanı	0.096	0.208	1.000	0.159
Hipertrofi Katmanı	0.097	0.306	1.000	0.124
Tüm Epifizyal plak Katmanları	0.775	1.000	1.000	1.000

Tablo 2 : Büyüme plağı katmanlarının uzunluklarının EMA, Kontrol ve Sham grupları arasındaki karşılaştırma sonuçları (p<0.001 anlamlı)



Resim 10 : Kontrol grubu (A) 'na ait femur distal epifizisi. Dinlenme zonu (R), Proliferasyon zonu (P), Hipertrofik ve kalsifiye hücre zonları (H&C) (H&E X200)



Resim 11 : , Sham Grubu (B) 'na ait femur distal epifizi. Dinlenme zonu (R), Proliferasyon zonu (P), Hipertrofik ve kalsifiye hücre zonları (H&C) (H&E X200)



Resim12 : EMA grubu (C)' na ait femur distal epifizi. Dinlenme zonu (R), Proliferasyon zonu (P), Hipertrofik ve kalsifiye hücre zonları (H&C) (H&E X200). Dinlenme zonunda uzunluk artışı gözlemlenmekte.

Elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucunda E grubunda fizisin en uzun katmanı hipertrofi katmanı (228.19 ± 40.52) iken bu durum K ve S gruplarında proliferatif katman (sırasıyla; 234.22 ± 31.71 ve 236.57 ± 32.71) olarak tespit edilmiştir (Resim 10, Resim 11).

6.2 Apoptoz

Katmanlardaki apoptozis (Resim 13, Resim 14, Resim 15) sayılarından elde edilen veriler Tablo 3'de sunulmuştur. Buna göre hem dinlenme hem de proliferatif tabakadaki apoptozis sayılarındaki artış E grubunda K ve S gruplarına göre anlamlı derecede artmıştı (sırasıyla $p:0.00$ ve $p:0.00$, dinlenme tabakası)(sırasıyla; $p:0.001$ ve $p:0.001$, proliferatif tabaka)(Tablo 4).

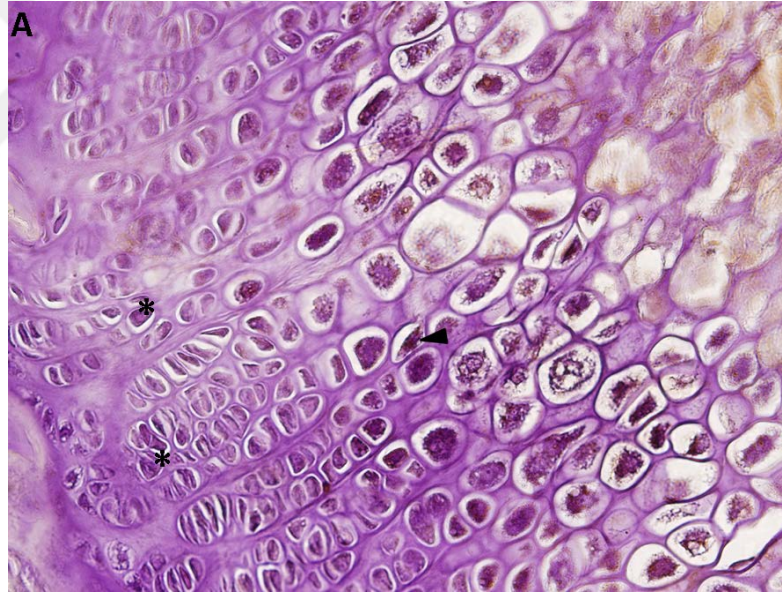
Gruplar	n(sayı)	Dinlenme Katmanı		Proliferatif Katman		Hipertrofi Katmanı		Tüm Epifiz Katmanları	
		Ort.	s.s	Ort.	s.s	Ort.	s.s	Ort.	s.s
EMA	8	4.38	1.30	20.68	4.37	24.00	8.18	36.63	6.23
Kontrol	8	0.25	0.46	12.63	3.25	29.63	7.21	23.25	4.98
Sham	8	0.63	1.06	13.25	3.58	28.13	8.46	25.63	3.29

Tablo 3: Büyüme plağı katmanlarının 3 gruptaki apoptoz oranları (ort:ortalama s.s:standart sapma)

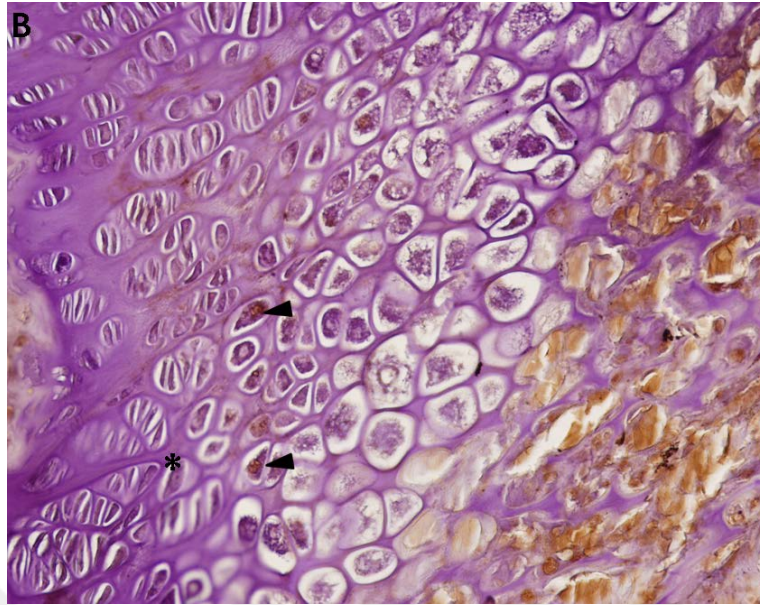
Hipertrofi/kalsifikasyon tabakasında gruplar arasında apoptozis açısından anlamlı fark olmamasına rağmen fizisin total değerlendirilmesinde E grubu K ve S grubuna göre anlamlı derecede farklı idi (sırasıyla; $p:0.00$ ve $p:0.001$). Rakamsal veriler değerlendirildiğinde fizis tabakalarından en çok apoptozis gözlemlenen tabaka her üç grupta da hipertrofi/kalsifikasyon tabakası olarak tespit edildi.

	p (anlamlılık değeri)			
	Total	E-K	S-K	E-S
Dinlenme Katmanı	<0,001	<0,001	1.000	<0,001
Proliferatif Katman	<0,001	<0,001	1.000	<0,001
Hipertrofi Katmanı	0.361	0.518	1.000	0.937
Tüm Epifizyal plak Katmanları	<0,001	<0,001	1.000	<0,001

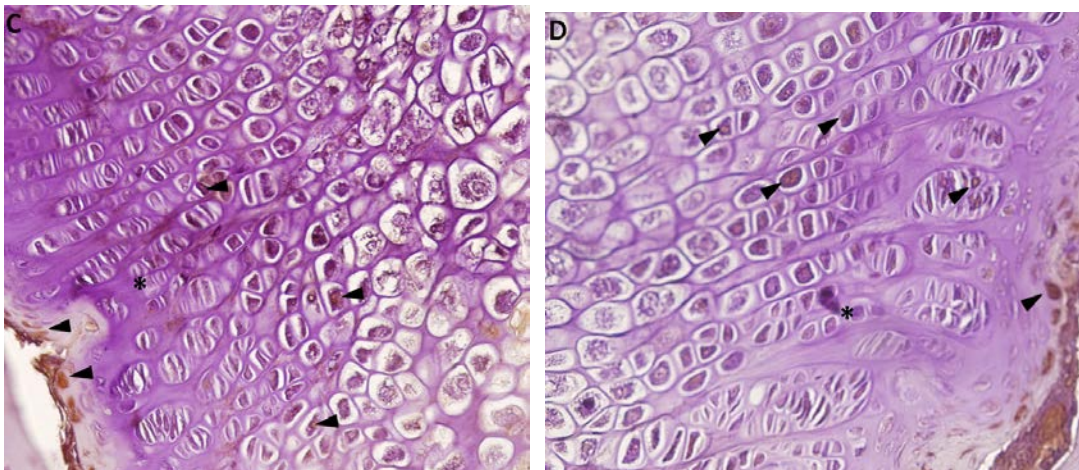
Tablo 4: Büyüme plağı katmanlarının apoptoz oranlarının EMA, Kontrol ve Sham grupları arasındaki karşılaştırma sonuçları (p<0.001 anlamlı)



Resim 13 : Kontrol grubu (A) 'na ait femur distal epifizisi. (▲) Apoptotik kondrosit, (*) Normal kondrosit. (A; TUNEL, X400)



Resim 14 : , Sham Grubu (B) 'na ait femur distal epifizi. (▲) Apopitotik kondrosit, (*) Normal kondrosit. (B; TUNEL, X400)



Resim 15: EMA grubu (C,D) 'na ait femur distal epifizi. (▲) Apopitotik kondrosit, (*) Normal kondrosit.(C, D; TUNEL, X400)

Katmanlar arasındaki apopitozis oranları ile uzunluk değerlerinin karşılaştırması yapılmış olup, fizisin total olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (p:0.998 r:-0.001). Katmanlar tek tek apopitozis ve uzunluk değerleri karşılaştırılması incelendiğinde dinlenme katmanı için yapılan korelasyonda pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmasına rağmen (p:<0.001 r:0.697) proliferatif ve hipertrofi katmanlarında anlamlı korelasyon saptanmamıştır (p:0.102, r:-0.341 proliferatif tabaka ve p:0.592, r:0.115 hipertrofi tabakası)(Tablo 5).

		APOPİTOZ			
		Dinlenme Katmanı	Proliferatif Katman	Hipertrofi Katmanı	Tüm Epifizyal Plak Katmanları
UZUNLUK	Dinlenme Katmanı	r = 0.697 p = <0.001			
	Proliferatif Katman		r= -0.341 p= 0.102		
	Hipertrofi Katmanı			r= 0.115 p= 0.592	
	Tüm Epifizyal plak Katmanları				r=-0.001 p= 0.998

Tablo 5 : Tüm katmanların uzunlukları ve apopitoz oranları arasında ki korelasyonu

7. TARTIŞMA

Çok sayıda doğal ve yapay kaynak etrafa EMD yaymaktadır. Teknolojinin gelişme hızına paralel olarak, insanların doğada bulunanın çok üstünde EMA'na maruz kalmaları da artmaktadır. Çağımızın ileri teknoloji ve internet çağı olduğu düşünülürse, insanların vazgeçilmezleri arasında başı çeken cep telefonu kullanımının oluşturduğu EMA'nın canlılarda meydana getirdiği etkiler hakkında ki endişelerin artması ve bunun sonucunda da birçok araştırmanın yapılması oldukça yerindedir. Yapılan araştırmalar sonucunda da EMA'ların insan sağlığı için zararlı olup olmadığı hakkında henüz bir fikir birliği oluşturulamamıştır (33, 133).

Çocuklar, olası olumsuz etkilere karşı gelişim dönemlerini tamamlamamış olmaları ve cep telefonunu yoğun kullanmaları nedeniyle risk grubundadırlar. Türkiye İstatistik Kurumu tarafından yapılan araştırmaya göre hanelerin % 96,8'inde cep telefonu veya akıllı telefon bulunmaktadır (134). Ayriyeten altı ile on beş yaş arası çocukların % 24,3'nün de cep telefonu kullandığı tespit edilmiştir. Cep telefonu kullanım yaşı ortalaması ise 10'a kadar düşmüştür (18). Tüm bu istatistiki değerler göz önünde bulundurulduğunda bu tez çalışmasında çocukluk yaş grubundaki cep telefonu kaynaklı EMA maruziyetinin iskelet sisteminin büyüme ve gelişmesi üzerine olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu nedenle uzunlamasına büyümede oldukça önemli olan büyüme plağında oluşabilecek muhtemel değişiklikler araştırılmıştır.

Erişkin hayata geçişte çocukların büyümesi ve gelişmesi için oldukça önemli bir evre olan adölesan dönemde iskelet sisteminin gelişmesi epifizyal büyüme plağı ile yakından ilişkilidir. Mezoderm kaynaklı ileri derecede özelleşmiş bir kıkırdak yapı olan büyüme plağı veya epifizyal büyüme plağı kemiğin uzunlamasına büyümesinden sorumludur (19). Çalışmamızda kullanılan ratlar postnatal 22. ve 59. günler arasında olacak şekilde seçilmiştir. Bu evre canlı organizmalarda büyüme ve gelişmenin sürdürüldüğü, sonrasında da erişkin dönemle devam eden adölesan dönemi kapsadığı için tercih edilmiştir (135).

Adölesan çocukların büyümesinde önemli bir yere sahip olan büyüme kıkırdağı beş katmandan oluşmaktadır. Bunlar kemiğin epifiz tarafından başlayarak dinlenme (Rezerv),

proliferatif, hipertrofik, kalsifikasyon ve ossifikasyon katmanlarıdır. Kondrositler hızlı bir şekilde proliferere olur (üremek, hızla çoğalmak), olgunlaşır ve büyüme plağındaki hipertrofik hücrelere dönüşür. Daha sonrasında matris kalsifikasyonu ve kondrositlerin programlı hücre ölümü ile sonuçlanan bu süreç hızla büyüyen hayvanlarda 24 saatte gerçekleşir. Farklılaşma anında kondrositlerin hücre içi hacminde 5 ila 10 kat artış gözlemlenmiştir (136). Hücrel büyüme teşvik eden faktörler tam olarak açık olmayıp iyon kanallarından su girişine yol açan değişikliklerin neden olduğu üzerinde durulmaktadır (124).

Tüm organizmalarda büyüme ve gelişme, hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını ve daha sonra uzaklaştırılmasını gerektirir. Hipertrofik hücreleri elimine etmenin iki mekanizması vardır. Bunlardan biri hücrelerin öldüğü apoptozis, ikinci mekanizma ise olgun kondrositlerin kemik yapıcı hücrelere veya osteoblastlara dönüştüğü transdiferansiyasyon işlemidir (124). Apoptoz, hücrelerin programlanan ölüme uğraması, büyüme plağı da dahil olmak üzere çoğu organın homeostazı için gerekli olan bir süreçtir (137-139). Büyüme plağındaki apoptozise uğramış hücreler, terminal diferansiye kondrositlerdir (140) Dinlenme zonundaki kondrositler aktif proliferasyona girdikten sonra farklılaşmaya başlarlar. Son olarak terminal diferansiye kondrosit haline dönüşerek, osteoblastik kemik oluşumu için bir kalıp görevi gören kalsifikasyon için matrisin hazırlanmasına neden olurlar. Kıkırdak matrisi kireçlendiğinde, terminal olarak farklılaşmış hipertrofik kondrositlerin ölümü ve çıkarılması, vasküler kanalların ve kemik iliği stromal hücrelerinin girişi için alan sağlar (141). Başlangıçta hipertrofik kondrositlerin, büyüme plakasının hipertrofik bölgesindeki besin maddeleri ve oksijen gerginliğinin tükenmesini içeren pasif bir süreçle öldüğü düşünülürken, bu işlemin aktif ve düzenlenmiş bir olay olduğu artık bilinmektedir. Böylelikle, büyüme plakasının hipertrofik bölgesindeki kondrositler, apoptoz uygulanan diğer hücrelerine benzer morfolojik özelliklere sahiptir (142). Morfolojik olaylar, önemli hücre içi yapıları hedefleyen ve metabolize eden bir dizi enzimin aktivasyonundan kaynaklanır (143, 144). Programlanmış ölüm geçiren hücrelerdeki morfolojik bulgular arasında nükleer kromatin yoğunlaşması, hücre büzüşmesi ve plazma zarının bozulması bulunur (137, 145).

EMA'nın fiziyel plağın normal büyüme döngüsü üzerindeki olası etkilerini gözlemleyebilmek için en önemli belirteçlerden birinin, bu katmanlardaki apoptozis

oranlarının değişiminin araştırılması olduğu aşıkardır. Çalışmamızdaki rakamsal veriler değerlendirildiğinde; fizis tabakalarından en çok apopitozis gözlemlenen tabakanın her üç grupta da hipertrofi/kalsifikasyon tabakası olduğu tespit edilmiştir. Bu durum literatürle uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Fakat hipertrofi/kalsifikasyon tabakasından elde edilen apopitozis oranlarında gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Bu durum kondrositlerin bu katmanda endokondral ossifikasyon yolundaki spontan olgunlaşmayı tamamlaması ve tüm organellerini kaybederek programlanmış hücre ölümüne ilerleyişte dış etkenlerden çok fazla etkilenmediği sonucunu düşündürtebilir.

Diğer taraftan fizisin hem dinlenme hem de proliferatif tabakalarındaki apopitozis sayılarındaki artış E grubunda K ve S gruplarına göre anlamlı derecede idi. Bu artış fizisin total değerlendirilmesinde E grubunun K ve S grubuna göre anlamlı derecede farklı olması ile de desteklendi. Bu sonuç fizisin normal döngüsündeki programlanmış hücre ölümü dengesinde bir takım bozulmaların olduğunu ortaya çıkartmaktadır. Yani EMA fizisin dinlenme ve proliferatif katmanlarındaki apopitozis oranlarını istatistiksel olarak anlamlı olacak derecede arttırmıştır. Dinlenme tabakası kondrositlerin temin edildiği bir tabakadır ve kondrositler aktif protein sentezi yapmalarından ötürü yüksek metabolik aktiviteye sahiptirler. Proliferatif tabakada ise kondrositlerin görevleri matriks üretimi, selüler proliferasyonu sağlamaktır. Dinlenme tabakasındaki ve proliferatif tabakada ki kondrositlerin aktif olarak çalışan hücreler olup dış etkenlerden etkilenerek apopitoza daha yatkın oldukları yorumu çıkarılabilir. Ayriyeten her iki katmandaki anlamlı apopitoz artışı bize EMA'nın fizis hattının ekleme yakın kısımlarını daha fazla etkileyebileceğini düşündürtmeye de neden olmuştur.

Dinlenme zonu, proliferatif kondrosit kolonlarında artış sağlayan kök hücre benzeri hücreler içermesinin yanın da büyüme plağını düzenleyici bir morfojeni de üretir. Bu morfojen, proliferatif kolonların aksının kemiğin uzun aksına paralel olmasını yönlendirir (146). Bu nedenle bu katmandaki bir zararlanmanın tüm fizisi ilgilendireceği aşıkardır. Çalışmamızdaki EMA maruziyetinin özellikle dinlenme katmanındaki apopitozisi artırmasına rağmen uzunluk artışına da neden olması bu açıdan önemli bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Kondrosit hipertrofisi iskeletin uzunlamasına büyümesinde önemli bir role sahiptir (147). Kondrosit yüksekliğindeki artışın uzun kemik büyümesinin % 44 ile % 59'undan sorumlu olduğu ve geri kalanın matriks sentezi ve kondrosit çoğalmasından kaynaklandığı gösterilmiştir (148, 149). Kondrosit farklılaşması ve hipertrofisini düzenleyen mekanizmalar tam olarak açıklığa kavuşturulamamış olup yapılmış araştırmalardan birkaç paradigma ortaya çıkarılmıştır: (1) endokondral ossifikasyon yolundaki kondrositler spontan olgunlaşmayı tamamlamak ve hipertrofiye girmek için hazırlanmıştır; (2) farklılaşma ve hipertrofinin negatif düzenleyicileri kritik derecede önemlidir; ve (3) embriyolojik gelişme sırasında bu süreci kontrol eden mekanizmaların, ergen gelişimi sürecini kontrol edenlerden farklı veya tamamlayıcı olması muhtemeldir (150-152). Kondrosit farklılaşmasının hem in vitro hem de in vivo modelleri, inhibitör faktörlerin yokluğunda, kondrositler kendiliğinden hipertrofiye girmektedirler. Kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler) ve reseptörlerinin, olgunlaşmanın kendiliğinden tamamlanmasından sorumlu olduğuna dair önemli kanıtlar vardır (151). Elektromanyetik alanların özellikle BMP'ler (BMP2 ve 4) ve mRNA üzerine olan etkileri ile kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olumlu etkilerini açıklayan çalışmalar vardır (153-155). Dolayısıyla EMA'nın fiziyel plak katmanlarının uzunlukları üzerine olan etkileri bu şekilde açıklanabilir.

Büyüme plağında karşılıklı gerçekleşen hücre çoğalması ve apoptozis oranları tahminen eşit olduğundan epifiz plağının kalınlığı değişmez. Bunun yerine diyafizin ortasından uzaklaşarak yerini değiştirerek kemiğin uzunlamasına büyümesine sebep olur (156).Yapılan bu çalışmada elde edilen bulguya göre fizis katmanları arasındaki uzunluklar karşılaştırıldığında toplam fizis katmanlarının uzunluğunun elektromanyetik alana maruz kalmayla anlamlı olarak değişmediği bulunmuş olup bu bulgu literatürü destekler niteliktedir. EMA maruziyeti ile dinlenme ve proliferatif katmandaki ve hatta total değerlendirmede anlamlı bir apoptoz artışına rağmen total epifiz uzunluklarının değişmemesi bize apoptozis ile uzaklaştırılan hücrelerin yerlerinin hemen doldurulduğunu ve genel itibariyle fizis kalınlığının sabit tutulmaya çalışıldığını düşündürmektedir.

Yapılan bu çalışma sonucu elektromanyetik alana maruziyeti sonucunda fizisteki apoptoz ve katmanların tümünün uzunlukları arasındaki ilişkiye baktığımızda, fizis katmanlarının toplam uzunluğu ile apoptoz arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bunun yanında dinlenme katmanının EMA'a maruziyeti ile apoptoz ve katmanın

uzunluğu arasında pozitif yönde ve anlamlı bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Dinlenme katmanı kondrositlerin temin edildiği tabakadır ve hem apoptoz artışı hem de bunun yanında yükseklik artışı gözlemlenmesi bizi bu katmandaki hücrelerin diğer bölgelerdeki hücre kayıplarını kompanse edebilmeleri için daha çok kondrosit ve ekstraselüler matriks üreterek apoptozis ile uzaklaştırılan hücrelerin yerini doldurmaya çalıştıkları şeklinde yorumlamamıza neden olmuştur. Eğer tam tersini düşünmek gerekirse EMA ile toplam büyüme plağında apoptozis oranında anlamlı artış sonucunda bu kadar hücre ölümünü kompanse edemeyen bir dinlenme tabakasının uzunluğunda azalma veya değişiklik olmaması gerekirdi. Fakat dinlenme katmanındaki apoptoz oranı ve katmanın uzunluğu arasındaki pozitif yöndeki anlamlı artış bize EMA'nın büyümeyi olumlu yönde etkileyebileceğini düşündürdü.

Epifiz kapanmasında iskelet olgunluğa yaklaştıkça, uzunlamasına kemik büyüme oranı azalır ve büyüme plakası kondrositlerinin proliferasyonu azalır. Bu azalmış büyüme oranı, proliferatif ve hipertrofik bölgelerdeki yüksekliğin azalmasına ve hipertrofik hücre boyutu ve kolon yoğunluğunun düşürülmesine bağlı olarak büyüme plakası genişliğinde kademeli bir düşüş de dahil fizisdeki yapısal değişikliklerle ilişkilidir (157). Yaptığımız bu çalışmada fizis katmanlarındaki canlı hücrelerin morfolojik veya biyokimyasal yapılarını değerlendirmemiş olmamız bir eksiklik olarak değerlendirilebilir. Fakat kemik büyümesinin durduğu epifiz kapanmasında da gözlemlendiği üzere katmanlardaki yükseklik azalması yaptığımız çalışmada gözlemlenmemiştir. Aksine dinlenme katmanının yüksekliğinde EMA' a maruziyeti ile anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Normal şartlarda büyüme plağında kondrosit gelişimi ve sonrasında apoptozis dengeli bir şekilde çalışarak fizis yükseliği sabit tutulmaktadır. Yaptığımız çalışmada da fizis yüksekliklerinde EMA'nın kontrol gruplarına göre anlamlı bir artışa neden olmamıştır.

Pek çok teknolojik üründen kaynaklanan EMA'ların ortaya çıkardığı etkiler, frekanslarına ve güçlerine bağlı olarak değişmektedir (158). EMA'lar dokular üzerinde termal olan ve termal olmayan (kimyasal) etkiler olacak şekilde iki tür etki ortaya çıkarırlar. Termal etkiler genellikle yerel ısı üretimi ilişkili iken termal olmayan etkiler enerji emilimi sonucunda dokularda meydana gelen değişikliklerle ilgilidir (159). Yüksek frekansa sahip EMA'ların, biyomoleküllerin sentezi [DNA, ribonükleik asit (RNA) ve protein], hücre bölünmesi, kanser oluşumu, kalsiyum alışverişinin yanı sıra ısı nedeniyle de

doku ve hücre yüzeyindeki membran bağlantıları üzerinde zararlı etkileri vardır. Bunların yanı sıra, doku ve hücrelerin hormonal cevaplarında değişiklik, nötrofil populasyonunda azalma, karbonhidrat, nükleik asit ve protein metabolizmasındaki değişiklikler, farklı antijenlere karşı bağışıklık yanıtlarındaki değişiklik ve serbest radikallerin artması gibi zararlı etkilerin olduğu da bilinmektedir (160). Çalışmamızda cep telefonu kaynaklı EMA'nın fizis üzerindeki etkileri değerlendirilmeye çalışılmıştır. Sonuçta hem apoptozis hem de uzunluk anlamında fizisin bazı katmanlarında anlamlı değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. Bu etkilerin fizisin normal yapısında değişikliklere neden olduğu açıkça belli olmasına rağmen bunun olumlu ya da olumsuz mu olduğu karmaşıktır.



8. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

900 Megahertz elektromanyetik alanın adölosan dönemde sıçanların büyüme plağı üzerine etkisini incelediğimiz çalışmamızda ;

Elde edilen bulgulara göre fizisin katmanlarından dinlenme tabakası uzunluk açısından EMA'dan en çok etkilenmişken bu durum dinlenme katmanında anlamlı bir artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Fakat dinlenme tabakasında ki bu anlamlı artış fizisin total uzunluğunda anlamlı bir fark yaratmamıştır.

Rakamsal veriler değerlendirildiğinde apopitozun fizis katmanlarından en fazla hipertrofi katmanında gözükmesine rağmen EMA'a maruz kalma ile anlamlı bir ilişki olmadığı gözlemlenmiştir. Bunun yanında proliferatif ve dinlenme katmanlarında ve hatta tüm katmanların değerlendirilmesinde EMA maruziyeti ile anlamlı değişiklikler olduğu saptanmıştır.

Katmanların tümü apopitozis ve uzunluk değerleri karşılaştırılması incelendiğinde EMA maruziyeti ile anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır. Katmanlar tek tek incelendiğinde sadece dinlenme katmanında EMA maruziyeti ile apopitoz ve uzunluk değerleri karşılaştırmasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

GSM mobil telefonlarından yayılan EMA 'nın adölosan dönemde sıçanların büyüme plağı üzerine etkisini araştırma amaçlı denek olarak insanlarla %99 benzerlikte olan rat modeli kullanılmıştır. Sonuç olarak EMA, hem apopitozis hem de uzunluk anlamında fizisin bazı katmanlarında anlamlı değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. Yaptığımız bu çalışmada fizis katmanlarındaki canlı hücrelerin morfolojik veya biyokimyasal yapılarını değerlendirmemiş olmamız bir eksiklik olarak değerlendirilebilir. EMA 'nın fizisin normal yapısında değişikliklere neden olduğu açıkça belli olmasına rağmen bunun olumlu ya da olumsuz mu olduğu karmaşık olup bu konudaki çalışmaların daha ileri düzeyde yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ermol C (2008). 900 ve 1800 MHz Mobil Telefonların Oluşturduğu Elektromanyetik Alanın Tendon İyileşmesine Etkisi: Ratlarda Deneysel Çalışma. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Isparta.
2. Erdem-Koç G (2014). Prenatal Dönemde Elektromanyetik Alana Maruz Bırakılan Sıçan Hipokampusunda Melatonin ve Omega 3'ün etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması Uzmanlık Tezi, Ondokuzmayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
3. Scenihr, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. Possible effects of Electromagnetic Fields (EMF) on Human Health. Brussels: European Commission. 2007
4. Kaplan S, Odacı E, Baş O, Sönmez OF. Elektromanyetik alanın canlı organizma ve insan üzerindeki etkisi. Samsun sempozyumu, 2011.
5. Marinelli F, La Sala D, Ciccioiti G, Cattini L, Trimarchi C, Putti S, Zamparelli A, Giuliani L, Tomassetti G, Cinti C (2004). Exposure to 900 MHz Electromagnetic field induces an unbalance between pro-apoptotic and pro-survival signals in Tlymphoblastoid leukemia CCRF-CEM cells. J. Cell Physiol 198: 324–332
6. Zhao TY, Zou SP, Knapp PE (2007). Exposure to cell phone radiation up-regulates apoptosis genes in primary cultures of neurons and astrocytes. Neurosci Lett 412: 34–38.
7. Hancı H, Odacı E, Aliyazıcıoğlu Y, Turan İ, Demir S, Çolakoğlu S. 2013. The effect of prenatal exposure to 900-MHz electromagnetic field on the 21-old-day rat testicle. Reprod Toxicol. 42:203-9.
8. Bas O, Sönmez F.O, Aslan A, İkinci A, Hancı H, Yıldırım M, Kaya H, Akça M, Odacı E. 2013. Pyramidal Cell Loss in the Cornu Ammonis of 32-day-old Female Rats Following Exposure to a 900 Megahertz Electromagnetic Field During Prenatal Day. Neuroquantology. 13-21. 4: 591-599.

9. Odacı E, İkinci A, Yıldırım M, Kaya H, Akça M, Hancı H, Sönmez OF, Aslan A, Okuyan M, Bas O. 2013. The Effects of 900 Megahertz Electromagnetic Field Applied in the Prenatal Period on Spinal Cord Morphology and Motor Behavior in Female Rat Pups. 4: 573-581.
10. Simko M, Mattsson MO (2004). Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro: possible immune cell activation. J Cell Biochem 93: 83-92.
11. Rollwitz J, Lupke M, Simko M (2004). Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow-derived promonocytes and macrophages. Biochim Biophys Acta 1674: 231-238.
12. Tayefi H, Kiray A, Kiray M, Ergur BU, Bagriyanik HA, Pekcetin C, Fidan M, Ozogul C (2010). The effects of prenatal and neonatal exposure to electromagnetic fields on infant rat myocardium. Arch Med Sci. 6(6):837-42.
13. Hardell L, Sage C. 2008. Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards. Biomed Pharmacother. 62(2):104-9.
14. Riley K. Tracing EMFs in building wiring and grounding. Tucson, AZ, Magnetic Science International. 1995.
15. Frank AL, Slesin L. Nonionizing radiation. Wallace RB, editor. Maxcy-Rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine, 14th edition. Stamford, CT: Appleton and Lange, 1998; 627-635
16. Schüz J. 2005. Mobile phone use and exposures in children. [Bioelectromagnetics.](#), Suppl 7:S45-50.
17. Leitgeb N. 2008. Mobile phones: are children at higher risk? [.Wien Med Wochenschr.](#) 158(12):36 41.
18. 06-15 Yaş Grubu Çocuklarda Bilişim Teknolojileri Kullanımı Ve Medya (2013), Türkiye İstatistik Kurumu , Sayı :15866 , 22 Agustus 2013

19. Tirelli E., Laviola G., Adriani W. 2003. Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents.
20. Azanza MJ, Moral AD. Cell membrane biochemistry and neurobiological approach to biomagnetism. Progress in neurobiology, 1994. 44: 517-601.
21. Durney, C.H, Massoudi H, Iskander M.F (2002). Radiofrequency Radiation Dosimetry Handbook. Fourth Edition. Brooks AFB.
22. NIRC of the IRPA (1988). Guidelines on limits of Exposure to Radio Frequency EM Fields in the Frequency Range from 100kHz to 300GHz. Health Physics, V. 54-1, pp. 115-123.
23. Edminister J (2000). Teori ve problemlerle elektromanyetik. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara; 313.
24. Alihemmati A (2006). Gebelik Döneminde Elektromanyetik Alana Maruz Bırakılan Ratlarda ve Yavrularda Melatonin'in Tiroid bezi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, İzmir.
25. Vorst AV, Rosen A, Kotsuka Y (2006). Rf/Microwave Interaction With Biological Tissues. Wiley-Interscience, New Jersey.
26. Stewart W (2000). Mobile Phones and Health. Independent Expert Group on Mobile Phones.
27. Necmabadi F. Radyoloji ve Radyasyon Fiziği, Tahran Üniversitesi Yayınevi. 1987, 32-44.
28. Halil Elrahman. Mıknatıs ve Elektriğin Temeli, Erkan yayınevi, İsfahan 1994. 255-284.
29. Kovetz A, Vanderlinde J. EMF, Electric and Magnetic Fields Associated with the Use of Electric Power. National Institute of Environmental Health Sciences. 2002. 1: 4- 9. <http://www.niehs.nih.gov/lemfrabid>.

30. Elmas O. 50 Hz elektromanyetik alan maruziyetinin kalp üzerine anlık etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Uzmanlık Tezi, 2007
31. J.Behari. Biological Effects and Health Implication of Radiofrequency and Microwave. INCEMIC-99; 12B.1: 449-452.
32. Pelit A. AC Manyetik Alana Maruz Bırakılan, Deneysel Olarak Oluşturulan, Diyabetli Sıçanların Extensor Digitorum Longus ve Soleus Kasının Biyoelektrik, Biyomekanik, Biyokimyasal Ve Histolojik Özellikleri. Doktora Tezi. 2006-Adana.
33. TÜBİTAK Bülten (2001). Elektromanyetik Dalgalar ve İnsan Sağlığı Sıkça Sorulan Sorular ve Yanıtları.
34. Bayrakçı E (2000). Elektromanyetik Alan Teorisi. Birsen Yayınevi, İstanbul
35. Kato M (2006). Electromagnetics in Biology. Springer, Japan; 31-60.
36. Preliminary Opinion on Possible effects of Electromagnetic Fields (EMF) on Human Health. Scientific Committee On Emerging And Newly Identified Health Risks (SCENIHR). Adopted by the SCENIHR by written procedure on 19 July 2006. European Commission Health & Consumer Protection Directorate- C-7.
37. Seyhan N. Elektromanyetik Kirlilik ve Etkileri, Korunma Yöntemleri, WHO Uluslararası Elektromanyetik Alan Projesi, Ulusal ve Uluslararası Politikalar. Mesleki Sağlık ve Güvenlik Dergisi. 2000; Ekim: 9-16.
38. Taktak F, Tiryakioğlu İ, Yılmaz İ (2005). GPS' de kullanılan elektromanyetik dalgaların insan sağlığına etkilerinin irdelenmesi. Harita ve Kadastro Mühendisleri Odası, II. Mühendislik Ölçümleri Sempozyumu, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul 23-25 Kasım 2005, 641-648.
39. Aydoğan FC (2008). Diz Ekleminde Kondral Defekt İyileşmesine, Elektromanyetik Alanın Etkileri: Sıçanlarda Deneysel Çalışma. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Isparta.

40. Taşpınar T (2008). GSM 900 ve 1800 MHz Telefonların Oluşturduğu Manyetik Alanın Hematolojik Parametreler ve Kemik İliği Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta.
41. Saygın M (2009). 2450 MHz Dalga Frekanslı Elektromanyetik Alanın Sıçanların Testislerinde Oluşturduğu Fizyopatolojik ve Yapısal Değişikliklerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Isparta.
42. Hayt HW, Buck JA (2006). Engeneering Electromagnetics. seventh ed. Mc Graw Hill Higher Education, Boston
43. Yüksesöylemez M. Radyofrekanslı elektromanyetik alanların insan dokularına etkileri üzerine bir inceleme. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, Yüksek Lisans Tezi, 2005
44. Aslan A. Elektromanyetik alanın kırık iyileşmesine etkisi: Ratlarda deneysel çalışma. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Uzmanlık Tezi, 2008.
45. Pakbaş İ. Cep telefonlarından yayılan 900 Mhz elektromanyetik alanın rat immün sistemi üzerine etkilerinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Uzmanlık Tezi, 2008.
46. H.W. Lo, M.C. Hung, Nuclear EGFR signalling network in cancers: linking EGFR pathway to cell cycle progression, nitric oxide pathway and patient survival, Habash RW, Elwood JM, Krewski D, Lotz WG, McNamee JP, Prato FS. Recent advances in research on radiofrequency fields and health: 2004-2007. *J Toxicol Environ Health* 2009; 12: 250-254.
47. Lin JC. Biological aspects of mobile communication fields. Department of Electrical Engeneering and Computer Science, University of Illinois at Chicago

48. Dasdag S, Ketani MA, Akdag Z, Ersay AR, Sari I, Demirtas OC, Celik MS (1998). Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats. *Urol Res* 27: 219-223.
49. Afacan E (2013). GSM Sistemleri. Gazi Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektrik Elektronik Mühendisliği Bölümü, Ankara, 1-95.
50. Özyılmaz C (2014). 900 Mhz Elektromanyetik Alanın Erişkin Erkek Sıçanların Testis Morfolojisi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Trabzon
51. Özen S. Mikrodalga frekanslı EM radyasyona maruz kalan biyolojik dokularda oluşan ısı etkisinin teorik ve deneysel incelenmesi. Doktora Tezi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektronik ve Haberleşme Y Müh, 2003.Sakarya
52. Cesur G. 900 MHz Elektromanyetik Alanın Hormonal Sistem Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. 2004 Isparta.
53. Yaykashlı, E.O. Cep Telefonu Radyasyonunun Sıçan (Wistar Albino) Karaciğer Dokusundaki Oksidant/Antioksidant Dengesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. 2006 Ankara.
54. Özen S. Canlıların Direkt Etkilendiği 27 Mhz–1000 Mhz Frekans Aralığındaki Elektromanyetik(EM) Enerji Kaynaklarının Oluşturduğu EM Enerji Yoğunluk Seviyelerinin Belirlenmesi, Sonuçların invitro-invivo Araştırmalar Ve Epidemiyolojik Bulgularla Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. 2000 Isparta
55. Christ A, Samaras T, Neufeld E, Klingensböck A, Kuster N. SAR distribution in human beings when using body-worn RF transmitters. *Radiat Prot. Dosimetry*. 2007;124(1): 6–14.
56. Paredi P, Kharitonov SA, Hanazawa T, Barnes PJ. Local vasodilator response to mobile phones *Laryngoscope* 2001; 111(1): 159–162.

57. Garaj-Vrhovac V, Fucic A, Horvat D (1992). The correlation between the frequency of micronuclei and specific chromosome aberrations in human lymphocytes exposed to microwave radiation in vitro. *Mutat Res* 281: 181-186.
58. Penafiel LM, Litovitz T, Krause D, Desta A, Mullins JM (1997). Role of modulation on the effect of microwaves on ornithine decarboxylase activity in L929 cells. *Bioelectromagnetics* 18: 132-141.,
59. Israel M, Zaryabova V, Ivanova M (2013). Electromagnetic field occupational exposure: non-thermal vs. thermal effects. *Electromagn Biol Med* 32: 145-154.
60. Wertheimer N, Savitz DA, Leeper E (1995). Childhood cancer in relation to indicators of magnetic fields from ground current sources. *Bioelectromagnetics* 16: 86-96.
61. Moulder JE, Foster KR (1995). Biological effects of power frequency fields as they relate to carcinogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med* 209: 309-324.
62. Hossmann KA, Hermann DM. Effects of Electromagnetic Radiation of Mobile Phones on the Central Nervous System. *Bioelectromagnetics* 2003; 24: 49–62.
63. Grigor'ev IuG. The electromagnetic fields of cellular phones and the health of children and of teenagers (the situation requiring to take an urgent easure). *RadiatsBiolRadioeco*, 2005; 45(4): 442–50.
64. Beljaev SYA, Kravchonko VG. Resonance Effect of Low-İntensity Millimeter Waves on the Chromatin Conformational State of Rat Thymocytes. *Natur Forsch (c)*.1994. 49(5-6): 325- 358.
65. Yokuş B, Çakır DÜ, Akdağ MZ, Sert C, Mete N. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electro magnetic fields. *Free Radical Research*. 2005. 39(3): 317- 323.
66. Nasrabadi H M (2009). Elektromanyetik Alanların Myokard ve Aort Üzerine Ultrastrüktürel, Apoptotik ve Oksidatif Etkileri. *Anatomi Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, İzmir*

67. Lai H, Singh NP. Melatonin and a spin-trap compound block radiofrequency electromagnetic radiation-induced DNA strand breaks in the rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 1997. 18: 446- 454.
68. Robinson JG, Pendleton AR, Monson KO, Murray BK, O'neill KL. Decreased DNA repair rates and protection from heat induced apoptosis mediated by electromagnetic field exposure. *Bioelectromagnetics* 2002. 23(2):106- 112.
69. Lai H, Singh NP. Magnetic-Field-Induced DNA Strand Breaks in Brain Cells of the Rat. *Environmental Health Perspectives*. 2004.112(6): 687- 694.
70. Jelencovic A, Janac B, Pesic V, Jovanovic DM, Vasiljevic I, Prolic Z. Effects of extremely low-frequency magnetic field in the brain of rats. *Brain Research Bulletin*, 2006. 68: 355- 360
71. Lisa L, Michael A, Stanley A. Differential effects of low frequency, low intensity (<6Mg) nocturnal magnetic fields upon infiltration of mononuclear cells and numbers of mast cells in lewis rat brain. *Toxicology letters*, 2000. 118: 9- 19.
72. Rad SJ, Damavendi F. Elektromanyetik alanın rat embriyolarının gelişimine etkileri ve epinefrin aracılığıyla bu etkinin önlenmesi. *Tebriz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1997. 34(33): 62- 68 (1376 Hicri Şemsi).
73. Meng L, Peng RY, Gao YB, Wang SM ve ark. Changes of apoptosis, mitochondrion membrane potential and Ca²⁺ of hypothalamic neurons induced by high power microwawe. *Zhonghua Lao Dong We*. 2006. 24(12): 739-741.
74. Leitgeb NC. Microwave ELF Electromagnetic Field Effect on Intercellular Communication Proceeding of 20 th Annual International. *Bioelectromagnetic*, 1998. 20: 798- 801.
75. Rad SJ, Dibazer F, Ahrabiyan G, Katibi M. Elektromanyetik alanın ratlardaki spermatogenez üzerine etkileri, *Tebriz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1994. 31(36): 55- 60.

76. Roushangar L, Rad SJ. Ultrastructural alterations and occurrence of apoptosis in developing follicles exposed to low frequency electromagnetic field in rat ovary. *Pak J Biol Sci.* 2007. 10(24): 4413- 4419.
77. Oral B, Güney M, Özgüner F, Karahan N ve ark. Endometrial apoptosis induced by a 900-MHz mobile phone: preventive effects of vitamins E and C. *Adv Ther.* 2006. 23(6): 957- 973.
78. Borjanovic SS, Jankovic SM, Pejovic Z. ECG Changes in Humans Exposed to 50 Hz Magnetic Fields. *J Occup Health.* 2005: 47: 391- 396.
79. Graham C, Cook MR, Cohen HD, Gerkovich MM. Dose Response Study of Human Exposure to 60 Hz Electric and Magnetic Fields. *Bioelectromagnetics.* 1994. 15: 447- 463.
80. Korpinen L, Partanen J, Uusitalo A. Influence of 50 Hz Electric and Magnetic Fields on the Human Heart. *Bioelectromagnetics.* 1993. 14: 329- 340.
81. S, Wrocklage C, Raczek J, Gailus T, Lüchting CH. Resting blood pressure increase during exposure to radio-frequency electromagnetic field. *Lancet* 351: 1857–1858, 1998.
82. Novoselova EG, Fesenko EE, Makar VR, Sadovikov VB. Microwaves and cellular immunity. II Immuno stimulating effects of microwave and naturally occurring antioxidant nutrients. *Bioelectro chem Bioenerg,* 1999. 49(1): 37- 41.
83. Zhitkevich TI, Bokut TB, Netukova NI. Effect of low intensity electromagnetic fields of industrial frequency on the ultrastructure and proliferative activity of rats timus cells. *Radiats Biol Radioecol.* 2001. 41(4): 401- 403
84. Eraslan G, Akdoğan M, Bilgili A, Kanbur M, Şahindokuyucu F. Elektromanyetik alanın (60-90 Hz ve 5 mT) diurnal ritimde kan elektrolit düzeyleri üzerine etkileri. *Turk J Vet Anim Sci.* 2002. 26: 1243- 1247
85. Blumenthal NC, Ricci J, Breger L, Zychlinsky A ve ark. Effects of Low-Intensity AC and/or DC Electromagnetic Fields on Cell Attachment and Induction of Apoptosis. *Bioelectromagnetics,* 1997. 18: 264- 272.

86. Nergiz Y, Ketani MA, Akdağ Z, Ersay AR, Çelik MS. Effect of Low-Intensity Microwave Radiation on Rat Kidney: An Ultrastructural Study. *Turk J Med Sci.* 2000. 30: 223- 227.
87. London SJ, Thomas DC, Bowman JD, Sobel E, Cheng, TC, Peters JM Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia. *Am J Epidemiol.* 1991; 134: 923-937.
88. Norden B, Romel C. Interaction Mechanisms of low-level Electromagnetic fields in living system. *Magnetic fields and cancer*, 1992. 2: 14- 21, 3: 23- 25.
89. Saffer JD, Thurstan SJ. Cancer risk and electromagnetic fields. *Nature*, 1995. 375: 22- 23.
90. Sunay Ç. Teknoloji ile birlikte gelen sorun elektromanyetik kirlilik; *Tubitak Bilim ve Teknik Dergisi Ocak 2000.* 386: 66.
91. Martin Rööslı, Manfred Lörtscher, Matthias Egger. Mortality from Neurodegenerative Disease and Exposure to Extremely Low-Frequency MAgnetic Fields: 31 years of Observations on Swiss Railway Employees. *Neuroepidemiology* 2007;28: 197- 206.
92. Meral ve Ark. Meral I., Mert H., Deger Y., Yoruk I., Yetkin A., Keskin S.Effects of 900–MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stres and some vitamin levels of guinea pigs.*Brain Res.* 2007;12;1169: 120–4
93. İlhan, A. Gurel, A. Armutcu, F. Kamılsı, S. Iraz, M. Akyol, O. Ozen, S. Gingko biloba prevents mobile phone-induced oxidative stres in rat brain. *Clin. Chim. Acta*, 2004; 340: 153–162.
94. Yasser M. Moustafa, Randa M. Moustafa, A. Belacy, Soad H. Abou-El-Ela, Fadel M. Ali. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidase activities in human erythrocytes. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2001; 26: 605–8.

95. De Seze R, Peray PF, Miro L. GSM radiocellular telephones do not disturb to secretion of antepituitary hormones in humans. *Bioelectromagnetics*, 1998;19: 271–278.
96. Van Roermund PM., Ter Haar Romeny BM., Hoekstra A., Schoonderwoert GJ., Brandt CJ., Van Der Sten SP., Roelofs JM., Scholten F., Visser WJ., Renooij W. Bone growth and remodeling after distraction epiphysiolosis of the proximal tibia of the rabbit. Effect of electromagnetic stimulation. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1991 May; (266): 304–12.
97. Okudan B, Keskin AU, Aydın MA, Cesur G, Çmlekçi S, Süslü H. DEXA analysis on the bones of rats exposed in utero and neonatally to static and 50 MHz electric fields. *Bioelectromagnetics*, 2006 Oct; 27(7): 589–92
98. Fassina L, Visai L, Benazzo F, Benedetti L, Calligaro A, De Angelis MG, Farina A, Maliardi V, Magenes G. Effects of electromagnetic stimulation on calcified matrix production by SAOS–2 cells over a Polyurethane porous scaffold. *Tissue Eng*, 2006 July;12(7).1985–99.
99. Stake T. Effect of pulsed electromagnetic fields (PEMF) on osteoblast–like cells. Alterations of intracellular Ca²⁺. *Kanagawa Shigaku*, 1990 March; 24(4): 692–701.
100. Sanders–Shamis M. Bramlage LR., Weisbrode SE., Gabel AA. A preliminary investigation of the effect of selected electromagnetic field devices on healing of cannon bone osteotomies in horses. *Equine Vet. J.* 1989 May; 21(3): 201–5.
101. Yonemori K., Matsunaga S., Ishidou Y., Maeda S., Yoshida H. Early effects of electrical stimulation on osteogenesis. *Bone*, 1996 Aug;19(2): 173–80.
102. Cane V. Botti P. Farnetti D. Soana S. Electromagnetic stimulation of bone repair: a histomorphometric study. *J Orthop. Res.* 1991 Nov;9(6): 908–17.
103. Tsai MT. Chang WH. Chang K. Hou RJ. Wu TW. pulsed electromagnetic fields affect osteoblast proliferation and differentiation in bone tissue engineering. *Bioelectromagnetics*, 2007 Oct;28(7): 519–28.

104. Thompson CB. Apoptosis. Editör, Paul WE. Fundamental Immunology. Lippincott Raven Publishers. 1999.
105. Wyllie AH, Duvall E. Cell death. Editör, McGee JO'D, Issacson PG, Wright N. Oxford Textbook of Pathology. USA, Oxford University Press 1992. vol 1: 142-147.
106. Oztürk F (2002). Apoptozis. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9(2) 143-148.
107. Mountz JD, Zhou T. Apoptosis and Autoimmunity. Editör, Koopman WJ. Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions. Lippincott Williams & Wilkins 2001.
108. Rodenburg RJT, Raats JMH, Pruijn GJM, van Venrooij WJ. Cell death: a trigger of autoimmunity? Bioessays 2000. 22: 627- 636.
109. Gobe G, Zhang XJ, Cuttle L ve ark. Bcl-2 genes and growth factors in the pathology of ischemic acute renal failure. Immunol Cell Biol 1999. 77(3): 279- 286.
110. Ferri KF, Kroemer G. Mitochondria-the suicide organelles. BioEssays 2001. 23: 111-115.
111. Hatton J. Pharmacological treatment of traumatic brain injury: A review of agents in Development CNS Drugs 2001. 15(7): 553- 581.
- 112 . Lawen A. (2003). Apoptosis-an introduction, BioEssays, 25:888-896.
113. Elmore S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death, Toxicologic Pathology, 35:495-516.
114. Robertson JD, Orrenius S, Zhivotosky B, (2000). Review: Nuclear events in apoptosis, Journal of Structural Biology, 129:346-358.
115. Yıldırım İ.H. , Koçak N. , Cing Yıldırım S. (2012). Programlı Hücre Ölümü; Literatür Bilgilerinin Türkçe Derlenmesi , Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi 2(3):58-66

116. Lipponen P, Aaltomaa S, Kosma VM, Syrjänen K. Apoptosis in breast cancer as related to histopathological characteristics and prognosis. *Eur J Cancer*. 1994; 30(14): 2068-2073.
117. Takahashi N, Kozai D, Kobayashi R, Ebert M, Mori Y, Roles of TRPM2 in oxidative stress, *Cell Calcium* 2011; 50: 279–287.
118. Afford S, Randhawa S ve ark. Apoptosis. *Mol Pathol* 2000. 53(2): 55- 63.
119. Pole RJ, Qi BQ, Beasley SW. Patterns of apoptosis during degeneration of the pronephros and mesonephros. *J Urol* 2002. 167(1): 269- 271.
120. Güleş Ö. , Eren Ü. (2008) Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler , Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi (2) 73-78
121. Kömür B. H. (2009) Epifizyodez Tekniklerinin Tavşan Modelinde İncelenmesi , Uzmanlık Tezi , Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İzmir
122. Kara S. , Epifiz Kırıklarının N-butyl-2-cyanoacrylate (nbca) ve Vida İle Tespitinin Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Radyolojik ve Histolojik Olarak Karşılaştırılması: Tavşanlarda Deneysel Çalışma, Uzmanlık Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık ve Araştırma Merkezi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Bolu
123. Frank H. Netter. The Netter Collection Of Medical Illustrations 8. Cilt Kas iskelet sistemi 2009;1:164-172.
124. Ballock RT, O'Keefe RJ, The biology of the growth plate, *J Bone Joint Surg Am*. 2003 Apr;85-A(4):715-26
125. Ahmed YA, Tatarczuch L, Pagel CN, Davies HM, Mirams M, Mackie EJ, Physiological death of hypertrophic chondrocytes, *Osteoarthritis Cartilage*. 2007 May;15(5):575-86. Epub 2006 Dec 13.
126. Solomon LA, Bérubé NG, Beier F, Transcriptional regulators of chondrocyte hypertrophy, *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2008 Jun;84(2):123-30.

127. Rajpurohit R, Mansfield K, Ohyama K, Ewert D, Shapiro IM, Chondrocyte death is linked to development of a mitochondrial membrane permeability transition in the growth plate, *J Cell Physiol.* 1999 Jun;179(3):287-96.
128. Silvestrini G, Ballanti P, Patacchioli FR, Mocetti P, Di Grezia R, Wedard BM, Angelucci L, Bonucci E, Evaluation of apoptosis and the glucocorticoid receptor in the cartilage growth plate and metaphyseal bone cells of rats after high-dose treatment with corticosterone, *Bone.* 2000 Jan;26(1):33-42.
129. Pateder DB, Eliseev RA, O'Keefe RJ, Schwarz EM, Okunieff P, Constone LS, Puzas JE, Rosier RN, The role of autocrine growth factors in radiation damage to the epiphyseal growth plate, *Radiat Res.* 2001 Jun;155(6):847-57.
130. Bancroft JD and Cook HC: *Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application.* Churchill Livingstone Medical Division of Langman Group UK Limited, London, England, 1994, pp. 373-413
131. Bancroft JD, Stevens A, Turner DR: *Theory and Practice of Histological Techniques.* Churchill Livingstone Medical Division of Pearson Profesional Limited, New York, USA, 1996, pp. 309-339.
132. Demir R: *Histolojik Boyama Teknikleri.* Palme Yayıncılık, Ankara, Türkiye, 2001, s. 1-49.
133. Poulis AF (2009). Reproductive and developmental effects of EMF in vertebrate animal models. *Pathophysiology* 16: 179-189.
134. Hanehalkı Bilişim Teknolojileri Kullanım Araştırması (2015), Türkiye İstatistik Kurumu, Sayı: 18660, 18 Ağustos 2015
135. Tirelli E., Laviola G., Adriani W. 2003. Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents.
136. Hunziker EB. Mechanism of longitudinal bone growth and its regulation by growth plate chondrocytes. *Microsc Res Tech.* 1994;28:505-19.

137. Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell death in development. *Cell*. 1999;96:245-54.
138. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell*. 1997;88:355-65.
139. Green DR. Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell*. 1998;94:695-8. Fujita I, Matsui N, Iio H,
140. Saura R, Mizuno K, Hirata S, Ishikawa H. Chondrocyte cell death by apoptosis in growth plate. *Trans Orthop Res Soc*. 1995; 20:470.
141. Skawina A, Litwin JA, Gorczyca J, Miodonski AJ. The vascular system of human fetal long bones: a scanning electron microscope study of corrosion casts. *J Anat*. 1994;185:369-76.
142. Shapiro IM, Hatori M, Rajpurohit R, Klatte KJ, Teixeira CC. Studies of fragmented DNA in the avian growth plate: evidence of apoptosis in terminally differentiated chondrocytes. *J Bone Miner Res*. 1995;10(SI):S351.
143. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science*. 1998;281:1322-6.
144. Salvesen GS, Dixit VM. Caspases: intracellular signaling by proteolysis. *Cell*. 1997;91:443-6.
145. Fraser A, Evan G. A license to kill. *Cell*. 1996;85:781-4.
146. Abad V. , Meyers JL , The Role of the Resting Zone in Growth Plate Chondrogenesis , *Endocrinology*, 2002 May, 143(5):1851–1857
147. Wilsman NJ, Farnum CE, Leiferman EM, Fry M, Barreto C. Differential growth by growth plates as a function of multiple parameters of chondrocytic kinetics. *J Orthop Res*. 1996;14:927-36
148. Farnum CE, Wilsman NJ. Converting a differentiation cascade into longitudinal growth: stereology and analysis of transgenic animals as tools for understanding growth plate function. *Curr Opin Orthop*. 2001;12:428-33.

149. Eerola I, Elima K, Markkula M, Kananen K, Vuorio E. Tissue distribution and phenotypic consequences of different type X collagen gene constructs in transgenic mice. *Ann N Y Acad Sci.* 1996;785:248-50.
150. Iwasaki M, Le AX, Helms JA. Expression of indian hedgehog, bone morphogenetic protein 6 and gli during skeletal morphogenesis. *Mech Dev.* 1997; 69:197-202.
151. Volk SW, Leboy PS. Regulating the regulators of chondrocyte hypertrophy. *J Bone Miner Res.* 1999;14:483-6.
152. Enomoto-Iwamoto M, Iwamoto M, Mukudai Y, Kawakami Y, Nohno T, Higuchi Y, Takemoto S, Ohuchi H, Noji S, Kurisu K. Bone morphogenetic protein signaling is required for maintenance of differentiated phenotype, control of proliferation, and hypertrophy in chondrocytes. *J Cell Biol.* 1998;140:409-18.
153. Joo, Y.H. , You, K.R. and Jung, H.S. ,(2015), Pulsed Pulsed Electromagnetic Fields Enhance Bone Morphogenetic Protein-2 Dependent-Bone Regeneration, *Journal of Dental Research* , 21(19-20), 2629-2637
154. Bodamyali, T. , Bhatt, B. , Hughes, F. J. , ve diğ. (1998) , Pulsed Electromagnetic Fields Simultaneously Induce Osteogenesis and Upregulate Transcription of Bone Morphogenetic Proteins 2 and 4 in Rat Osteoblasts in Vitro, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 250, 458-461
155. Nagai, M. , Ota, M. ,(1994) , . Pulsating Electromagnetic Field Stimulates mRNA Expression of Bone Morphogenetic Protein-2 and -4 , *Journal of Dental Research*, 73(10), 1601-1605
156. Aytakin Y. ve Solakoğlu, S (2006), *Temel Histoloji* , Nobel Yayıncılık, 148-152
157. Weise M, De-Levi S, Barnes KM, Gafni RI, Abad V, Baron J. Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:6871-6.

158. Irmak MK, Fadillioglu E, Guleç M, Erdogan H, Yagmurca M, Akyol O (2002). Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits. *Cell Biochem Funct* 20: 279-283.
159. Challis LJ (2005). Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics* 7: 98-106
160. Cenesiz M, Atakisi O, Akar A, Onbilgin G, Ormanci N (2011). Effects of 900 and 1800 MHz Electromagnetic Field Application on Electrocardiogram, Nitric Oxide, Total Antioxidant Capacity, Total Oxidant Capacity, Total Protein, Albumin and Globulin Levels in Guinea Pigs. *Kvfd* 17 (3): 357-362

