

**T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**DIŐI RATLARDA NON İYONİZE RADYASYONUN OVER
DOKUSUNDAKİ APOPTOZİS ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. HİLAL USLU YUVACI

ANKARA 2009

**T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**DİŞİ RATLARDA NON İYONİZE RADYASYONUN OVER
DOKUSUNDAKİ APOPTOZİS ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. HİLAL USLU YUVACI

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. NİLGÜN TURHAN

ANKARA 2009

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimleriyle yetişmemde büyük emeği olan, tez çalışmamın her aşamasında beni yönlendiren, hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Nilgün Turhan' a, engin bilgi ve tecrübeleriyle eğitimime önemli katkıları olan hocam Doç. Dr. Hasan Kafalı ve kendilerinden birçok şey öğrendiğim uzmanlarıma, rotasyon yaptığım kliniklerde değerli bilgilerini benimle paylaşan Prof. Dr. Cenap Dener ve Prof. Dr. Doğan Ünal' a, beş yıl boyunca aynı çalışma ortamını paylaştığım asistan arkadaşlarıma, hemşire ve personelimize teşekkür ederim.

Biofizik laboratuvarında radyofrekans deney sistemini kullanarak deney yapma imkanı sağlayan GÜTF Biofizik AD. Başkanı Prof. Dr. Nesrin Seyhan ve laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Dr. Bahriye Sırav' a, patoloji preparatlarının hazırlanmasında ve değerlendirilmesinde büyük emekleri olan Yard. Doç. Dr. Hacer Haltaş' a teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi uzmanlık eğitimim süresince de bana her konuda destek vererek bugünlere gelmemde büyük payları olan sevgili annem, babam ve kardeşlerime, sabır, destek ve güveni için çok sevdiğim eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2009

Hilal Uslu Yuvacı

ÖZET

İletişim teknolojisindeki gelişmeler ve teknolojinin bu alanda sunduğu olanakların geniş kitlelere yayılması ile kullanımı her geçen gün artan cep telefonları, radyo ve televizyon vb. bir yandan hayatımızı kolaylaştırırken diğer yandan da elektromanyetik radyasyon yayarak bir takım sağlık sorunlarına yol açabilmektedirler. Bu elektromanyetik alanların biyolojik etkileri konusunda henüz tam olarak bilinmeyen birçok nokta bulunduğundan son zamanlarda bilimsel çalışmalara konu olmuştur.

İnsan ve diğer memeli overlerinde anne karnında başlayan oosit kaybı yaşam boyu devam eder. Kemoterapi, radyoterapi, sigara, çevresel kimyasallar bu atrezi sürecini hızlandırarak folikül rezervlerinin çok daha çabuk tükenmesine neden olurlar. Standart cep telefonlarının elektromanyetik radyasyon ürettikleri ve bu nedenle vücutta çeşitli doku hücrelerinde oksidatif stresi ve apoptozisi arttırdıkları yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. İyonize elektromanyetik dalgaların overde apoptozis oluşturup oluşturmadığını araştıran çalışmalar yapılmıştır, ancak non iyonize radyasyon etkisi ile yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu deneysel araştırmada, amacımız 1800 MHz GSM modülasyonlu radyofrekans radyasyonunun (RFR) dişi ratlarda ovaryan apoptozise etkisinin hematoksilen eosin boyanma ile histomorfolojik olarak incelenmesidir. Çalışmanın sonucu olarak, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 1800 MHz RFR' un, dişi ratların over dokusundaki atretik folikül sayılarının oranına istatistiksel olarak anlamlı etkisi bulunamadı ($p>0.05$). Cep telefonlarından kaynaklanan RFR' un apoptotik etkilerini araştırmak için yeni deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELER: Elektromanyetik alan, cep telefonu, ovaryan apoptozis, rat

ABSTRACT

With developments in communication technology and the widening of opportunities offered by technology in this field and mobile phones, radio and television broadcast is rising with each passing day, also these new technologies make life smooth for us but also pave the way for health problems via dissemination of electromagnetic radiation. Since there are still many points remaining unknown about the biological effects of electromagnetic waves, these points have become the subject matter of recent scientific studies.

Oosit deprivation started in pregnancy period in human and other mammals continues lifelong. Chemotherapy, radiotherapy, cigarette, environmental chemicals cause the exhaustion of follicle reserves faster by accelerating the atresia period. The fact that standard mobile phones produce electromagnetic radiation and raise the level of oxidative stress and apoptosis has been displayed in numerous studies. Although there are studies exploring whether ionizing electromagnetic waves create apoptosis in ovaries or not, no studies dealing with the effect of non ionization radiation exist.

In this experimental research, we have aimed to investigate if there is any effect of 1800 MHz GSM modulated radio frequency radiation (RFR) on apoptosis in ovaries of female rats by hematoxylin eosin staining under a light microscope. The results of this study showed that 1800 MHz RFR did not have a significant effect on the ratios of atretic follicles in rat ovaries when compared with the control group ($p > 0.05$). There is need for further experimental studies in which apoptotic effects of RFR emitted from cellular phones will be studied.

KEYWORDS: Electromagnetic field, mobile phone, ovarian apoptosis, rat

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
KISALTMALAR ve SİMGELER	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Elektromanyetik Alanlar	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Elektromanyetik alan (Elektromanyetik dalga)	3
2.1.3. Elektromanyetik spektrum (Elektromanyetik tayf)	5
2.1.4. İyonize ve non iyonize radyasyon	9
2.1.5. Elektromanyetik radyasyonun biyolojik etkileri.....	10
2.1.6. Radyo frekans alan kaynakları.....	12
2.2. Mobil Telefonlar	13
2.2.1. Özgül soğurma oranı (SAR)	14
2.3. Apoptozis	15
2.3.1. Tanım	15
2.3.2. Apoptozisin fizyolojik olaylar ve hastalıklarla ilişkisi	16
2.3.3. Apoptozis ve nekroz morfolojisi.....	17
2.3.4. Apoptozisin düzenlenmesi	19
2.3.5. Apoptozis mekanizmaları	22
2.3.6. Ovaryan apoptozis	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	30
3.1.1. Radyo frekans radyasyon deney sistemi	30
3.2. Deney	32
3.2.1. Deney hayvanları	32
3.2.2. Deney grupları	33
3.2.3. Deney düzeneneği	34
3.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasallar	36
3.4. Yöntem.....	36
3.5. Over Dokusundaki Apoptotik Hücrelerin Tayini	38
3.5.1. Hematoksilen eozin boyanma prosedürü	38
3.6. İstatistiksel Analiz.....	38
4. BULGULAR.....	40
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ	52
KAYNAKLAR	53

KISALTMALAR ve SİMGELER

AIF	: Apoptosis Inducing Factor
Apaf-1	: Apoptotic protease activating factor-1
B	: Manyetik alan
c	: Işık Hızı
CAD	: Caspase-Activated DNase
E	: Elektrik Alan
ELF (Extremely Low Frequency)	: Oldukça Düşük Frekans Aralığı ($0 < f < 300$ Hz)
EM (ElectroMagnetic)	: Elektromanyetik
f (Frequency)	: Frekans
FADD	: Fas-associated death domain
G	: Gauss
GHz	: Gigahertz
GSM	: Küresel Mobil İletişim Sistemi
HE	: Hematoksilen eosin
HtrA2/Omi	: High-temperature requirement
Hz	: Hertz
IFN	: İnterferon
ICAD	: Inhibitor of CAD
IR (Infrared)	: Kızılötesi
kHz	: Kilohertz
LF (Low Frequency)	: Düşük Frekans ($300 \text{ Hz} < f < 3 \text{ kHz}$)
MHz	: Megahertz
MW (Microwave)	: Mikrodalga

RF (Radio Frequency)	: Radyo Frekans (3 kHz < f < 300 GHz)
RFR	: Radyofrekans Radyasyon
Sit C	: Sitokrom C
SAR (Specific Absorbtion Rate)	: Özgül Soğurma Oranı
T	: Tesla
TNF	: Tümör nekroz faktör
TRAIL	: TNF-related apoptosis-inducing Ligand
UV (UltraViolet)	: UltraViole-Mor Ötesi
Q (q)	: Elektrik Yüğü
λ	: Dalga Boyu

1. GİRİŞ

İletişim teknolojisindeki gelişmelerin, geniş kitlelere yayılması sonucunda her geçen gün daha çok elektromanyetik dalga yayan kaynaklara maruz kalmaktayız. Bu kaynaklar arasında radyo, televizyon, bilgisayar, cep telefonu, baz istasyonu, radarlar, tıbbi ve endüstriyel uygulamalarda kullanılan çeşitli cihazlar sayılabilir. Kullanılan bu cihazlar, yaşantımıza kolaylıklar sağlamanın yanında, oluşturdukları elektromanyetik alan ile çevre ve insan sağlığı açısından risklere yol açabilmektedir.

Doğal ve insan yapımı kaynaklar tarafından yayılan elektromanyetik dalgaların biyolojik etkileri henüz tam olarak bilinmediğinden son yirmi yıldır insan sağlığına zararlı etkileri tartışılmaktadır. Elektromanyetik dalgaların biyolojik etkilerinin ve bu etkilere yol açabilecek fiziksel değişkenlerin anlaşılması için yapılan deneysel ve modelleme çalışmaları son zamanlarda artmıştır.

Elektromanyetik dalgaların etkisiyle bazı hücre organellerinin ve birçok enzimin yapı ve fonksiyonlarının bozulduğu yapılan biyokimyasal çalışmalarda bildirilmiştir (1-3). Ayrıca, çalışmaların bazılarında manyetik alan maruziyeti sonrasında kanser riskinin de arttığı gösterilmiştir (4-7). Elektromanyetik radyasyonun insan sağlığı üzerine zararlı etkilerini bildiren çalışmalar sonucunda bu konunun önemli bir halk sağlığı problemi haline geldiği görülmektedir.

Elektromanyetik dalga oluşturan cihazlar arasında kullanımlarının hızla yaygınlaşması nedeniyle cep telefonlarının önemi artmaktadır. Standart cep telefonlarının radyofrekans radyasyon yaydığı, vücutta çeşitli doku hücrelerinde apoptozisi arttırdığı ve oksidatif stres aracılığıyla zararlı etkilere neden olabildiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (8,9). Üçüncü nesil cep telefonlarının da ortaya çıkışıyla günlük yaşamda daha çok radyo frekans radyasyona maruziyet söz konusu

olacaktır. Halen biyolojik etkileri tartişılan elektromanyetik dalgaların sonuçları netleşmeden maruz kaldığımız radyofrekans radyasyon daha fazla artacaktır.

İnsan overinde doğumda mevcut olan yaklaşık 2 milyon primordiyal folikülün birçoğu menopoza kadar zamanla atreziye uğrayarak fonksiyonunu kaybetmektedir. Overde prenatal ve postnatal dönemde normal ve patolojik durumlarda oluşan apoptozisten sorumlu olan pek çok intrasellüler mekanizma ortaya konulmuştur (10-13). Bazı genetik ve moleküler faktörler bu durumlarda oluşan apoptoziste indükleyici rol oynarken bazıları inhibisyona yol açarlar (14,15). Kemoterapi, radyoterapi, sigara ve çevresel kimyasallar apoptozis aracılığı ile ölüme yol açarak folikül rezervlerinin çok daha çabuk tükenmesine neden olurlar (16). Literatürde iyonlaşmaya yol açan elektromanyetik dalgaların over dokusunda apoptozis oluşturduğunu gösteren pek çok çalışma (17,18) mevcutken, non iyonize radyasyonun etkilerini araştıran çalışma sayısı oldukça sınırlıdır.

Yaptığımız bu deneysel araştırmada ısı etkisinin olmadığı düşük doz radyo frekansa (RF) maruz bırakılan dişi Wistar Albino sıçanlarda ovaryan apoptozis araştırıldı. Bu amaçla Türkiye’ de cep telefonu ve baz istasyonlarında çalışma frekansı olarak kullanılan 1800 MHz frekanslı RF alanı kullanıldı. Gruplarda sham uygulama ve RF uygulama sonrasında over dokusunda oluşabilecek apoptozis hematoksilen eozin ile boyanmış kesitlerde histomorfolojik olarak araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektromanyetik Alanlar

2.1.1. Tarihçe

1864' de ilk kez James Clerk Maxwell çevremizdeki enerjinin boşlukta elektrik ve manyetik dalgalar şeklinde iletildiğini matematiksel olarak ifade etmiştir. Çeyrek yüzyıl sonra da Hertz yüksek frekansta ışık hızında salınan elektromanyetik dalgaları tanımlamıştır. 1896 yılında Guglielmo Marconi bir radyo sinyalinin kablosuz olarak okyanus ötesi uzak bir mesafeye taşımıştır. Nagelschmidt yüksek frekanslı akımların derin doku ısıtıcı etkisini terapötik amaçlı olarak 1908' de kullanmıştır (19).

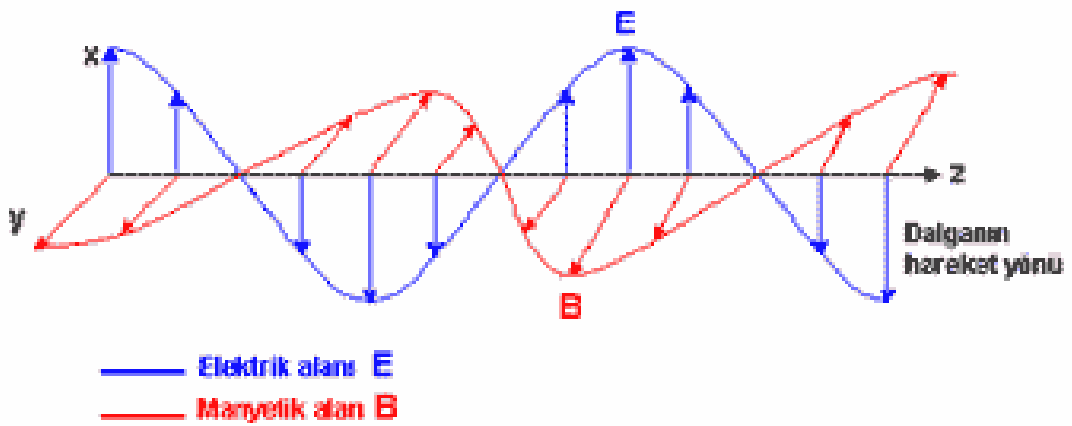
Telefon ise 1876' da Alexander Graham Bell tarafından keşfedilmiştir. 1973 yılında Motorola firmasından Martin Cooper ilk defa elde taşınabilir telefonu tasarlamıştır. 10 yıl sonra da Motorola firması tarafından bu ürün Motorola DynaTAC 8000X adıyla satışa sunulmuştur (20). ABD' de mobil telefon kullanıcı sayısı kısa sürede 1 milyonu aşmıştır (21).

2.1.2. Elektromanyetik alan (Elektromanyetik dalga)

Bir elektrik yükünün hareketi sonucunda uzayda oluşan değişikliklere elektromanyetik alan denir. Elektromanyetik alan terimi belirli bir yerde elektromanyetik enerjinin varlığını göstermek için kullanılır. Elektromanyetik alanların bileşenleri elektrik ve manyetik alandır. Elektrik alan (E) elektrik yüklerinin var olduğu bir ortamda yüklerin birbirine uyguladığı kuvvet olarak tanımlanabilir. Birimi Newton/Coulomb (Nt/C) veya Volt /metre (V/m) ile gösterilir.

Durgun elektrik yükleri çevresinde elektrik alanları oluşurken yük hareketliyse ayrıca elektrik yüklerinin çevresinde manyetik alan (B) oluşur. Manyetik alan birimi Tesla (T) ya da Gauss (G) olarak ifade edilir. (1 Tesla=10⁴ Gauss) Manyetik alan olmaksızın uzayda elektrik alan oluşabilir ancak uzayda manyetik alan oluşabilmesi için buna eşlik eden uzayda değişiklik gösteren elektrik alanına ihtiyaç vardır. Hareket eden bir yükün oluşturduğu elektrik ve manyetik alanlar sürekli birbirini etkiler. Sürekli olarak ardışık bir şekilde tekrarlanan bu alan yaratma işlemi ortamda ilerleyerek devam eder. Zamanla sinüzoidal olarak değişen elektrik ve manyetik alanların oluşturduğu düzleme dik doğrultuda belirli bir hızla yayılan enerjiye elektromanyetik dalga denir (Şekil 1).

Çevremizdeki enerjinin boşlukta elektrik ve manyetik dalgalar şeklinde iletildiği ilk kez Maxwell tarafından matematiksel olarak ifade edilmiştir. Elektromanyetik alan teorisine göre boşlukta elektrik ve manyetik alan vektörleri birbirine diktir ve elektrik ve manyetik alanlar birbirlerine dik düzlemlerde dalga şeklinde salınırlarken, bu düzlemlerin ara kesiti boyunca da ışık hızı ($c = 3 \times 10^8$ m/sn) ile hareket ederler (22).



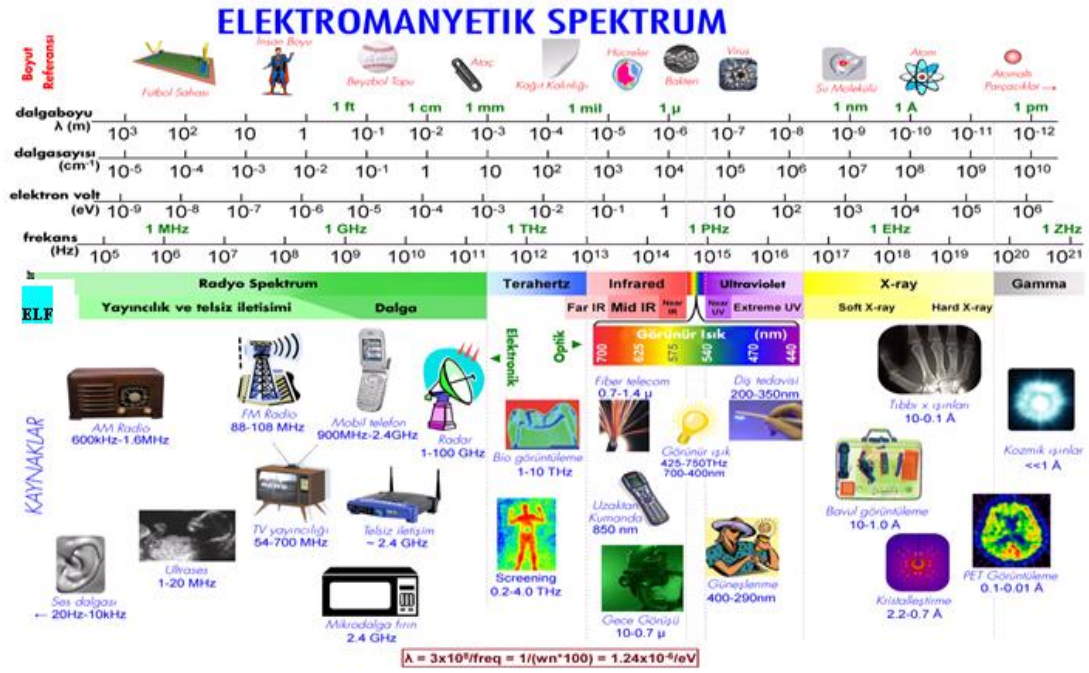
Şekil 1. Elektromanyetik Dalga Yayılımı (23).

Elektromanyetik alanların hızı dalga boyu (λ) ve frekans (f) ile ifade edilebilir. Frekans elektromanyetik dalgaların saniyede yaptığı salınım sayısı, yani elektromanyetik dalgaların tekrarlama sıklığıdır. Birimi Hertz (Hz)' dir. 1 Hz saniyede bir salınım, 1 kilohertz (kHz) saniyede 10^3 Hz, 1 Megahertz (MHz) saniyede 10^6 Hz, 1 gigahertz (GHz) saniyede bir milyar Hz veya 10^9 Hz' dir (24). Frekansı ' f ' olan bir dalga için bir salınımda tam bir dalganın oluştuğu uzaklık dalga boyu olarak tanımlanır. Dalga boyunun birimi mesafe birimleridir. Frekans ve dalga boyu arasındaki ilişki ' $\lambda=c/f$ ' dir. Buradaki ' c ' ortamdaki ışık hızıdır (25).

Elektromanyetik dalgalar biçiminde yayılan enerjiye elektromanyetik radyasyon (ışınım) denir (22,26). Birimi Joule veya eV' tur. EM dalganın enerjisi frekansına bağlıdır. Planck sabiti ($h=6.626 \times 10^{-34}$ j/Hz) ve frekansın çarpımından bulunur. Örneğin frekansı 10^{16} Hz olan bir dalganın enerjisi $= 6.626 \times 10^{-34} \times 10^{16} = 6.62 \times 10^{-18}$ Joule olur. $1 \text{ eV} = 1.602 \times 10^{-19}$ Joule olduğundan bu dalganın enerjisi 41.32 eV olarak bulunur (27).

2.1.3. Elektromanyetik spektrum (Elektromanyetik tayf)

EM dalgaların frekanslarına, dalga boylarına veya enerjilerine göre sıralanması EM spektrumu oluşturur (Şekil 2). Spektrumdaki gruplar arasındaki frekans sınırları kesin olarak belirlenmiş değildir. Aşırı Düşük Frekans (Extremely Low Frequency – ELF), Düşük Frekans (Low Frequency -LF), Radyo Frekans (Radio Frequency - RF), mikrodalga (Microwave - MW), kızıl ötesi radyasyon (Infrared Radiation - IR), görünür ışık (visible light), mor ötesi (Ultra Violet -UV) ışın, X ışını, Gama (γ) ışını ve kozmik ışınlar artan frekansa göre spektrumdaki elektromanyetik dalgalardır.



Şekil 2. Elektromanyetik Spektrum (Elektromanyetik Tayf) (28).

Elektromanyetik spektrum bileşenlerinin frekansları, dalga boyları ve foton enerjileri farklıdır (Tablo 1). EM spektrumun bileşenlerinin enerjileri 1.2×10^{-11} - 1.2×10^6 eV arasında çok geniş bir aralıkta değişir. Fotonun enerjisi dalga boyuyla ters orantılıdır, kısa dalga boylu fotonun enerjisi daha büyüktür. Bir dalganın titreşim frekansı ne kadar büyükse dalga o kadar çok enerjiye sahiptir. Buna bağlı olarak elektromanyetik dalgaların ışık hızında hareket etmelerine karşın dalga boylarının, frekans ve enerjilerinin farklı olması nedeni ile maddeler ve biyolojik sistemlerle etkileşimleri farklıdır (29). Spektrumun başında 0 ile 300 Hz frekansları arasındaki en düşük frekanslı alanlar yer alır. Ülkemizde elektriğin üretim ve dağıtımını çok düşük frekanslı (50 Hz) alternatif akım halinde yapılmaktadır ve elektrikli araçların çoğu bu frekansta çalışmaktadır. Evde kullanılan TV, fırın, bulaşık makinesi, çamaşır makinesi,

saç kurutma makinesi ve elektrikli battaniye yanında sanayide ve tıpta kullanılan pek çok cihazdan da farklı şiddetlerde çok düşük frekanslı manyetik alan yayılmaktadır.

Düşük frekans ve radyo dalgaları daha çok televizyon ve radyo yayıncılığının yanı sıra cep telefonunda, baz istasyonlarında ve radar sistemlerinde, diatermi, Manyetik Rezonans Görüntüleme gibi tıbbi uygulamalarda kullanılır.

Mikrodalgalar ise yine cep telefonu ve baz istasyonları ile beraber mikrodalga fırınlarda, radarlarda, uydu haberleşmeciliğinde kullanılır. Mikrodalga ve RF alanların frekansları MW' nin alt sınırı RF'in üst sınırı içine girecek şekilde iç içedir. Bazı kaynaklarda ise kesin bir şekilde bu alanlar birbirinden ayrılmıştır. Genellikle MW için frekanslar 10^9 Hz - 10^{12} Hz arasında değişirken RF için ise bu aralıklar 3×10^3 - 1×10^9 Hz arasındadır. RF içinde yer alan LF dalgaların frekansları ise 300 Hz – 30 kHz aralığında değişir (30).

Oda sıcaklığında veya daha yüksek sıcaklıktaki tüm yapılar ve canlılar IR radyasyon oluşturur. Güneş görünür ve ultraviyole ışığın en önemli kaynağıdır. X-ışınları tıbbi amaçlı görüntülemeye kullanılır. Spektrumun yüksek enerjiye sahip bileşenlerinden biri γ ışınları iken diğer en yüksek frekanslı ışınlar kozmik ışınlardır.

Tablo 1. Elektromanyetik Alanların frekans, dalga boyu ve foton başına enerji değerleri (28,30).

Radyasyon Tipi	Frekans Aralığı	Dalga boyu	Foton başına enerjileri
İyonizan	> 3.000 THz	< 100 nm	> 12.40 eV
Mor Ötesi	(THz)	(nm)	(eV)
UV-C	3000-1070	100-280	12.40-4.43
UV-B	1070-952	280-315	4.43-3.94
UV-A	952-750	315-400	3.94-3.10
Görünür Işık	750-385 THz	400-780 nm	3.10-1.59 eV
Kızıl Ötesi	(THz)	(μ m)	(meV)
IR-A	385-214	0.78-1.4	1590-886
IR-B	214-100	1.4-3	886-413
IR-C	100-0.3	3-1000	413-1.24
Mikrodalgalar	(GHz)	(mm)	(μ eV)
EHF (Extremely High Frequency)	300-30	1-10	1240-124
SHF (Super High Frequency)	30-3	10-100	124-12.4
Radar	56-0.23	5.4-1300	230-0.95
UHF (Ultra High Frequency)	3-0.3	100-1000	12.40-1.24
Radyo Frekans Alanlar	(MHz)	(m)	(neV)
VHF (Very High Frequency)	300-30	1-10	1240-124
HF (High Frequency)	30-3	10-100	124-12.4
MF (Medium Frequency)	3-0.3	100-1000	12-1.24
Düşük Frekanslar	(kHz)	(km)	(peV)
LF (Low Frequency)	300-30	1-10	1240-124
VLF (Very Low Frequency)	30-0.3	10-100	124-12.4
ELF (Extremely Low Frequency)	<0.3	>100	<12.4

2.1.4. İyonize ve non iyonize radyasyon

EM dalgalar biyolojik etkileri açısından iyonlaştırma özelliklerine göre iyonize ve non-iyonize radyasyon olarak sınıflandırılmaktadır (31). İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgelerinin frekanslara göre dağılımı, kaynakları ve bunların vücutta bilinen etkileri Tablo 2’ de gösterilmiştir.

Spektrumda Tera Hertz dalgalar (Tera Hertz ışık, T-ışını, T ışığı gibi isimlerde alabilir), İR radyasyonun bir kısmı, MW, RF radyasyon, LF ve ELF radyasyon iyonlaştırıcı olmayan (non-iyonize) radyasyon olarak bilinir (32).

Tablo 2. İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgelerinin frekanslara göre dağılımı, kaynakları ve bunların vücutta bilinen etkileri (33).

İYONİZE OLMAYAN RADYASYON						İYONİZE RADYASYON					
RADYO FREKANSLARI VE MİKRODALGALAR						Kızıl	Mor	X-GAMA IŞINLARI			
Frekans	Çok	Çok	Düşük	Radyo	Mikro	Ötesi	Ötesi	Yumuşak	Sert X	Gama	
Aralıkları	Düşük	Frekanslar	Frekanslar	Frekansları	Dalgalar			X ışınları	ışınları	ışınları	
Tipik	Taşıma,	Denizcilik	Haberleşme	Haberleşme	Flüoresan	Görünür	Flüoresan	Medikal	Nükleer	Patlama	
Uygulamalar	Dağıtma, İç	Haberleşme	Cihazları	Cihazları,	Lambalar	Işık	Lambalar				
(Kaynaklar)	tesisat,	Cihazları		Radar, Fırın							
	Endüstride										
	kullanılan										
	cihazlar										
Bilinen	Kan	Merkezi	Katarakt,	Katarakt,	Katarakt	Göz	Deri	Kanser,			
Etkiler	hastalıkları,	Sinir	Doğumsal	Düşük,		yorulması	kanseri,	Genetik hasar,			
	Lösemi,	Sistemi	zararlar,	Doğumsal		ve Göz	Katarakt	Erken doğum			
	Kanser,	Etkileri,	Merkezi	zararlar,		gerilmesi					
	Hücre	İmmun	sinir sistemi	Genetik							
	büyümesi,	sistem		hasar							
	Embriyo	etkileri,									
	etkileri	Hücre zarı									
		etkileri									

RF alanların frekansları çeşitli kaynaklara göre 3 kHz - 300 GHz aralığında değişmektedir. Bu frekans değerlerine karşılık gelen dalga boyları sırasıyla 100 m ve 1 mm' dir. 300 GHz' in altında daha düşük RF aralığındaki frekansların enerjileri biyolojik yapılarda iyonlaşmaya neden olan enerjiden (1 eV) çok düşük olduğundan RF radyasyon non-iyonize radyasyondur (33-35).

İyonlaşma madde içerisinden geçerken elektromanyetik alanın enerjisini ortama aktarmak suretiyle atomların ve moleküllerin yörüngelerinde hareket etmekte olan elektronları koparmasıdır (36). İyonize radyasyon elektron koparabilecek kadar yüksek enerjilidir. İyonlaşmayla kimyasal reaksiyonlara neden olduğu için kanser yapıcı olarak bilinir. Moleküllerin iyonizasyonu için 2×10^5 fotonun soğurulması ve bu nedenle 1 eV' luk enerjiye ihtiyaç vardır (37).

Gama ışınları ve X ışınları (frekans aralığı 3×10^{20} - 10^{16} Hz) ile daha düşük frekanslı UV radyasyon, görünür ışık ve İR ışının bir bölümü, yüksek frekansa ve çok yüksek enerjiye sahiptirler. Çarptıkları cisimlerden elektron kopararak onların iyonlaşmalarına yol açtıkları için iyonize radyasyon olarak bilinirler (38).

2.1.5. Elektromanyetik radyasyonun biyolojik etkileri

RF alanlar ve biyolojik etkileri ile ilgili ilk çalışmalar Rus bilim adamları tarafından II. Dünya savaşında radar sistemlerini kullanan teknisyenlerin şikayetlerinin incelenmesi ile başlamıştır. 1980' ler sonrasında batı dünyası da RF ve mikrodalga radyasyonun insan vücuduna etkilerini incelemiştir. Bu RF yayan kaynakların günlük yaşamda artık birçok alanda kullanılması nedeni ile tüm dünyada insan vücudu ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon-elektromanyetik kirlilik arasındaki ilişkiler ve etkilenmelerle ilgili çalışmalar 1990' lardan beri devam etmektedir (40). Son dönemde yapılan araştırmalar

düşük miktarda ama uzun süreli maruziyetlerden doğabilecek sağlık etkilerini incelemek yönündedir (41).

RF dalgalarının termal (ısıl) ve non-termal (termal olmayan, ısıl olmayan) olmak üzere iki tip etkisi vardır. Termal etkiler ısı artışı yapabilecek düzeyde RF alan uygulaması ile vücut tarafından soğurulan elektromanyetik enerjinin ısıya dönüşerek vücut sıcaklığını arttırması ve ısı artışına bağlı biyolojik değişiklikler meydana getirmesi olarak tanımlanır (42). Termal etkiler dokunun elektromanyetik dalga ile etkileşmesi sonucu artan moleküler hareket ve sürtünme nedeni ile oluşur. Sıcaklık artışına bağlı olarak hücreler ölebilir veya mutagenез oluşabilir. Hücrelerin ölmesine neden olan referans sıcaklık 43 °C olarak belirlenmiştir (38). Sıcaklık artışı, ısının kan dolaşımı ile dengelenmesine dek sürer. Ancak mobil telefon ve baz istasyonları antenleri gibi RF dalga kaynaklarının sebep olabileceği sıcaklık artışı gerçekte çok düşüktür. Vücudun normal mekanizmaları ile kolayca etkisizleştirilebilir. Bugüne kadar oluşturulan 0 – 300 GHz frekans aralığının güvenlik standartları termal etkiler dikkate alınarak hazırlanmıştır.

Non-termal etkiler vücutta ısı artışı yapmadan biyolojik değişikliklere neden olan radyofrekans etkisidir (42). Isıl olmayan etkilere bağlı olarak RF dalgaların etkili olduğu iddia edilen bozukluk ve hastalıklar arasında beyin dokusunda Ca^{+2} iyon geçişinin değişimi, EEG dalgalarında görülen beyin aktivitelerinde değişiklikler, uyku bozuklukları, dikkat ve davranış bozuklukları, baş ağrıları, lenfositlerin yeteneklerinin azalması, spermde kromozomal değişimler, hücre içi enzim aktivitesinin değişimi, sinir ve kas hücrelerinin aktivasyonu bulunmaktadır (38).

2.1.6. Radyo frekans alan kaynakları

RF alan kaynakları doğal ve yapay (insan yapımı) alan kaynakları olmak üzere iki gruba ayrılır. Doğal radyo frekans alan kaynakları güneşten, yıldırım gibi atmosferik deşarjlardan, uzak yıldızlardan, uzayın derinliklerinden ve insan vücudundan kaynaklanan elektromanyetik alanlardır (25). Dünyanın etrafındaki atmosfer, iyonosfer ve magnetosfer, derin uzaydan kaynaklı radyasyona karşı dünyayı doğal olarak korur. Bu zırhı delerek geçen elektromanyetik alan frekans aralığı 10 MHz - 37.5 GHz' dir (19).

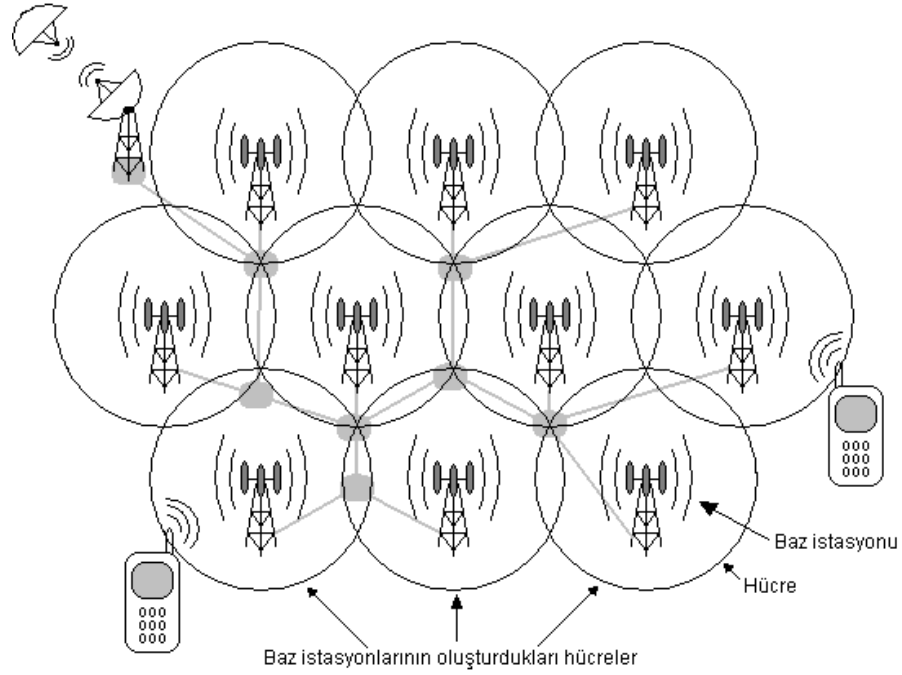
Günlük hayatın her alanında kullanılan birçok elektronik cihaz oluşturdukları elektromanyetik dalgalar nedeni ile yapay radyo frekans alan kaynaklarıdır. Kullanılan elektronik sistemlerin çokluğu dikkate alınırsa günlük hayat aslında bu manyetik alanlar içinde sürdürülmektedir. Ev ve işyerlerinde kullanılan bilgisayarlar, mikrodalga fırınlar, telsiz telefonlar, uzaktan kumanda cihazları, güvenlik sistemleri, radyo frekanslı kimlik belirleme sistemleri vb. cihazların, TV ve radyo vericileri, cep telefonları, radarlar, bluetooth' lar, telsizler, çağrı cihazları, baz istasyonları gibi iletişim araçlarının yanı sıra tıbbi ve endüstriyel uygulamalarda kullanılan çeşitli aletler yapay RF kaynaklarını oluşturmaktadır.

Yapay RF alan kaynaklarının şiddetleri oldukça yüksek olduğundan teknolojik gelişmelerle birlikte yeryüzünün elektromanyetik alanı da hızla artmaktadır. Sonuçta bu alanların belirlenmesi ve kontrolü gittikçe önem kazanmaktadır. Radyasyondan korunmak için radyasyon kaynağının fiziksel özellikleri, biyolojik sistemlerle etkileşimi bilinmelidir.

2.2. Mobil Telefonlar

Son yıllarda teknolojik gelişmelerin günlük yaşamdaki etkileri en çok mobil haberleşme sistemlerinde öne çıkmaktadır. Cep telefonu kullanıcı sayısı şu anda GSM (Global System for Mobile Communication, Mobil iletişim için küresel sistem) Birliği web sayfası verilerine göre 3.2 milyarı geçmiş durumdadır (43). Buna göre elektromanyetik alan kaynakları arasında özellikle cep telefonlarından ve baz istasyonlarından yayılan radyofrekans dalgaları giderek artan ölçüde geniş kitleleri etkilemektedir. Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü başta olmak üzere çeşitli kuruluşlar bu konuda kapsamlı çalışmalar başlatmışlardır.

Cep telefonu bir radyo vericisi ve alıcısının birlikte tek bir elektronik cihaz içine yerleştirilmiş şekli olarak düşünülebilir. İki cep telefonu birbirleriyle doğrudan iletişim kuramazlar. Düşük güçteki bu cihazlar hücreli haberleşme sistemlerinde merkezi istasyonlar olarak görev yapan yüksek yerlere yerleştirilmiş baz istasyonları aracılığı ile sinyal olarak ve göndererek iletişimi sağlarlar. Haberleşmenin yapılacağı alan “hücre” denilen küçük alanlara bölünmüştür. Bal peteğine benzetilen ağ yapısındaki hücrelerin merkezinde alıcı-verici antenli sistemlerden oluşan baz istasyonu bulunur. Herhangi bir cep telefonundan gelen çağrı isteğinin başka bir kullanıcıya ulaştırılması bu ağ yapısı tarafından gerçekleştirilir (Şekil 3) (44).



Şekil 3. Baz istasyonları hücresel ağ yapısı ve cep telefonu ile etkileşim (45).

Cep telefonları elektromanyetik dalgalar oluşturarak baz istasyonları ile iletişim sağlamaktadır. Mobil haberleşme sistemleri iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgesi içinde spektrumun 800–2200 MHz frekans aralığında çalışmaktadır. Türkiye’ de kullanılan hücresel haberleşme sistemleri GSM 900 ve DCS 1800’ dür. GSM 900’ ün çalışma frekans bandı 880-960 MHz, DCS 1800’ ün frekans bandı ise 1710-1880 MHz’ dir (24).

2.2.1. Özgül soğurma oranı (SAR)

Özgül Soğurma Oranı (SAR-Specific Absorption Rate), RF’ e maruz kalan dokularda elektromanyetik enerjinin, dokular tarafından soğurulma hızıdır. SAR genellikle RF radyasyonun 100 kHz - 10 GHz aralığında biyolojik etkilerinin tanımlanmasında kullanılır.

Dokular tarafından soğurulan elektromanyetik radyasyon dokuda sıcaklık artışına neden olur. İnsan vücudunda 1 derece sıcaklık artışı oluşturan elektromanyetik enerji bir kilogram doku başına 4 W olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle biyolojik etki gözlenebilecek doz olan 4 W/kg'lık SAR değeri insanlar için güvenlik standardı olarak temel alınmıştır. Mesleki maruziyet için bu değerin 10' da 1' i (0,4 W/kg), insanların genel yaşam alanlarında bu değerin 50' de 1' i (0,08 W/kg) temel alınarak güvenlik standardı limit değerleri oluşturulmuştur. Elektromanyetik alanların insan sağlığına etkileri konusunda birçok ülkede oluşturulan standart ve sınır değerlerin yanı sıra uluslararası standartlar ve sınır değerler de vardır (33, 46).

Ülkemizde cep telefonları 900 MHz ve 1800 MHz frekanslarında çalışmaktadır. Cep telefonlarının özellikleri aynı olmadığı gibi, yaydıkları RFR' da aynı değildir. Cep telefonlarının yaydıkları radyasyonu SAR değerlerini bilerek tahmin etmek mümkündür. Değişik model ve markalarda cep telefonlarının SAR değerlerine firmaların kendi web sitelerinden ulaşılabilir (47).

2.3. Apoptozis

2.3.1. Tanım

Hücre ölümüyle ilgili ilk bilgiler 1920 yılında ışık mikroskopunun ve yeni boya yöntemlerinin keşfedilmesi ve ilk olarak 'nekrozun' tanımlanmasıyla başlamıştır. Morfolojik olarak ayrı bir hücre ölüm biçimini tanımlamak için, 1972 yılında ilk defa Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 'apoptozis' terimi kullanılmıştır (48,49). Apoptozis, "sonbaharda yaprakların ağaçtan tek tek dökülmesi" anlamına gelen, "programlanmış

hücre ölümü veya fizyolojik hücre ölümü" için kullanılan, Yunanca kökenli bir kelimedir (50-52).

Programlı hücre ölümü veya apoptozis; morfolojik olarak özgün, enerji gereksinimi olan birçok patolojik ve fizyolojik süreçte rol alan, genlerle yönetilen bir mekanizmadır. Henüz programlı hücre ölümünde birbirini izleyen moleküler basamakların neler olduğu tam olarak bilinmemektedir (53).

2.3.2. Apoptozisin fizyolojik olaylar ve hastalıklarla ilişkisi

Apoptozis, fetusun implantasyonundan organogenezise kadar embriyolojik dönemden başlayarak; tüm yaşam boyunca birçok gelişim basamağında önemli rol oynar. Normal hemostazis mekanizması olarak menstruasyonda endometriyumun dökülmesi, ovaryan folikül atrezisi, laktasyonun kesilmesinden sonra meme bezlerinin küçülmesi gibi hormona bağlı değişikliklerde; deri, barsak epitel gibi hücre yenilenmesinin hızlı olduğu dokularda hücre gruplarının azaltılmasında; immün sistemin gelişimi ve uygun şekilde çalışmasında olduğu gibi birçok fizyolojik olayda da etkin rol almaktadır. Buna ek olarak; hipertermi, radyasyon, sitotoksik kemoterapi, hipoksi gibi nekroz oluşturan zararlı ajanların yaptığı hücre hasarları; HIV-1, HCV gibi bazı viral hastalıklar veya immün reaksiyonlara yanıt olarak oluşan sitotoksik T lenfositleri ile oluşturulan hücre ölümü gibi patolojik süreçlerde de apoptozis oluşmaktadır (54).

Bir dokuda olmaması gerekirken gerçekleşen veya hızlanmış ya da tam tersine yavaşlamış apoptozis nedeniyle, HIV ve HCV enfeksiyonu gibi viral enfeksiyonlar, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar, ateroskleroz ve iskemik hasar, otoimmün hastalıklar ve kanser meydana gelebilmektedir (55). Genellikle tümör dokularında proliferasyonun artmasına bağlı olarak apoptoziste artış

izlenirken, B hücreli lenfomada olduğu gibi bazı tümörlerde apoptozis azalması tümör gelişimine neden olabilmektedir (56).

Günümüzde apoptozisde rol alan biyokimyasal ve genetik komponentlerin tanımlanması ve apoptotik sürece müdahale edilerek yeniden düzenlenmesine yönelik çalışmaların yapılması; kanserler, viral enfeksiyonlar ve otoimmün bozukluklar gibi birçok hastalığa yeni tedavi yaklaşımları açısından umut vermektedir (55,57).

2.3.3. Apoptozis ve nekroz morfolojisi

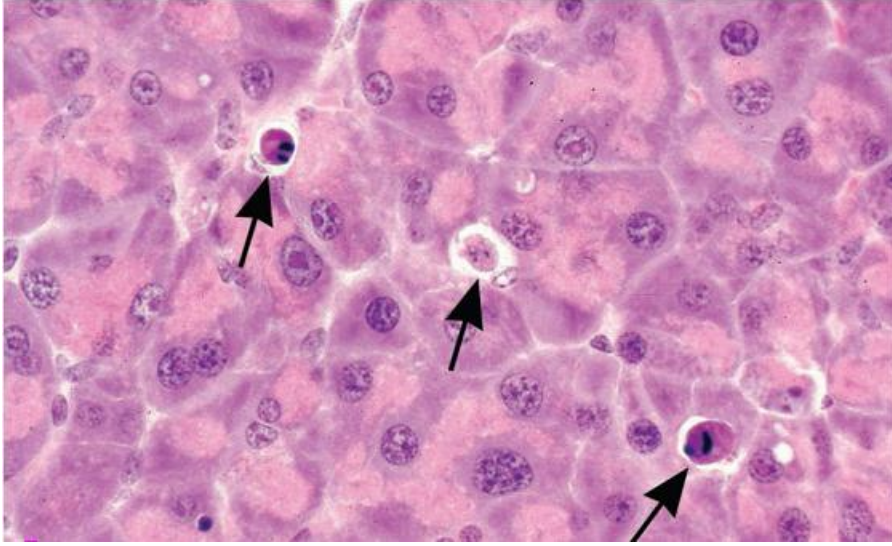
Apoptozis, klasik hücre ölüm şekli olan nekrozisden morfoloji ve mekanizma açısından daha özgün bir hücre ölümüdür (Tablo 3). Yapılan çalışmalarda, ışık ve elektron mikroskopunda apoptozis sırasında oluşan morfolojik değişiklikler tanımlanmıştır (58). (Şekil 4,5)

Tablo 3. Apoptoz ve nekrozun başlıca özellikleri (55).

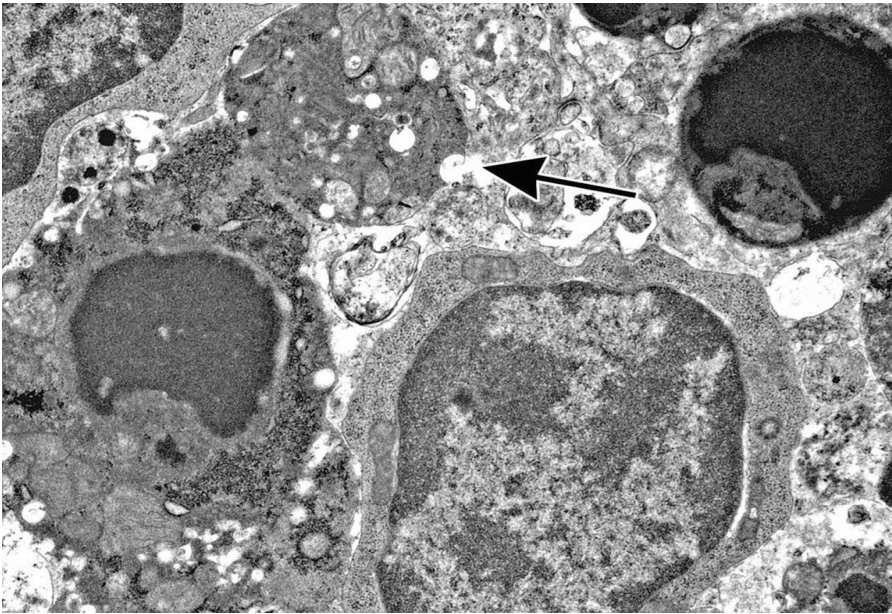
Apoptozis	Nekroz
Tek hücre veya küçük hücre kümesi	Sıklıkla komşu hücreler
Hücrede büzüşme katlanma	Hücre şişmesi
Piknosis ve karyoreksis	Karyolisis, piknosis, karyoreksis
İntakt hücre membranı	Hücre membranında parçalanma
Apoptotik cisimde sitoplazmanın tutulması	Sitoplazmada dağılma
İnflamasyon yoktur	İnflamasyon varlığı

Apoptozisin erken dönemlerinde, ışık mikroskopunda apoptozisin en önemli karakteristik özelliği; kromatininin nükleus membranının çevresinde kondanse olması ve hücre boyutlarında küçülme/büzüşme, sitoplazmada koyulaşma izlenir (48).

Hematoksilen eosin boya ile yapılan histolojik incelemede genellikle tek bir hücre veya küçük bir grup hücrenin apoptozisden etkilendiği görülür. Apoptotik hücreler koyu eozinofilik sitoplazma ve yoğun mor boyanmış nükleer kromatin parçaları ile yuvarlak veya oval kümeler şeklinde görülür.



Şekil 4. Oklar fare ekzokrin pankreasında kondanse sitoplazma ve hiperkromatik boyanmış nükleer kromatin parçaları şeklinde apoptotik hücreleri göstermektedir (55).



Şekil 5. Elektron mikroskobu hücresel değişiklikleri daha iyi gösterir. "apoptotik cisimcikler" (55).

Apoptozis sürecinde, hücre zarının hasarlanıp içeriğini çevre dokuya salgılamaması, makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından hemen fagositozun gerçekleştirilmesi, ortadan kaldırılan hücrelerden anti-inflamatuar sitokinlerin üretilmemesi nedeniyle inflamasyon yanıtı gelişmemektedir (59).

Nekroz ise, apoptozisten farklı olarak; genelde geniş alanları ve hücreleri etkileyen, enerji depolarında ani azalma ve hücre zarı geçirgenliğinin bozulmasını takiben hücre ve organellerde şişme sonucunda organel membranı ve hücre zarı bütünlüğünün bozulması ve rüptüre olmaları ile karakterize kontrolsüz ve pasif bir süreçtir (55,60,61). Hücre membran bütünlüğünün bozulması sitoplazmik içeriğin çevre dokulara yayılmasına ve kemotaktik sinyaller göndererek inflamasyonun uyarılmasına neden olur (59).

2.3.4. Apoptozisin düzenlenmesi

Apoptozisin genetik mekanizması ilk kez *Caenorhabditis elegans* isimli nematodun embriyo gelişim sürecinde 1090 somatik hücreden 131 hücrenin apoptozisle ölmesini düzenleyen genlerin tanımlanması ile ortaya konmuştur (62).

Apoptozisi başlatan faktörler, büyüme faktörlerinin geri çekilmesi, sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarında artış, tümör nekroz faktör (TNF), Transforming Growth Factor β , Fas/FasL sisteminin, p53' ün aktive olması, viral veya bakteriyel enfeksiyonlar ve glukokortikoidler şeklinde sıralanabilir. Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi çeşitli zararlı uyarılar, yüksek dozlarda nekroz oluştururken, hafif dozlarda apoptozis meydana getirebilirler (55,63).

2.3.4.1. p53

p53, genotoksik olaylarla oluşan hücre hasarı ile aktive olur. P53 protein ürünü, DNA zarar gördüğünde, doğrudan DNA'ya bağlanarak hasarı tanıdıktan sonra, DNA tamir proteinlerini harekete geçirir. G1' de hücre siklusunun durmasını indükleyerek tamir için gerekli zamanı kazanır veya DNA tamir edilemeyecek kadar zarar gördüğünde apoptozisi başlatır. Henüz mekanizmalar yeteri kadar tanımlanmasa da, p53 bcl-2 ailesinin proteinlerinin regülasyonunda kritik rol oynamaktadır (64).

2.3.4.2. Kaspazlar

Memeli hücrelerinin çoğunda sitoplazmada inaktif proenzim formunda bulunan kaspazlar, bir kez aktive olunca proteolitik olarak birbirlerini aktifleştirerek proteaz kaskadının (şelale tarzı reaksiyon dizisi) başlamasını sağlarlar (55,63). Sistein proteaz ailesinden olan kaspazlar, proteinleri aspartik asit bulunan bölgelerden keserler. Böylece kaspazların kısıtlı proteolizisi nedeniyle, hücrede lizis olmadan apoptotik cisimcikler meydana gelir ve apoptotik morfolojinin oluşumunda rol alırlar (51).

Tanımlanmış 10 major kaspaz, başlatıcılar 'initiators' (caspase 2,-8,-9,-10), infazcı 'executioner' (caspase 3,-6,-7) ve inflamatuvar kaspazlar (caspase 1,-4,-5,-13) olarak kategorize edilirler. Kaspaz aktivasyonu, hücre yüzey ölüm reseptörlerinin aktivasyonu veya mitokondriden salıverilen sitokrom c' nin Apaf-1' i indüklenmesi ve prokaspaz 9' a bağlanması ile gerçekleşir (65).

2.3.4.3. Bcl-2

Foliküler B hücreli lenfomaların çoğunda, t(14:18) translokasyonunun, bir protoonkogen olan bcl-2 gen aktivasyonuna ve bcl-2 proteinin aşırı ortaya çıkmasına neden olduğu gösterilmiştir. Birçok hücre bazlı çalışmada, bcl-2' nin aşırı ortaya çıkması ile apoptozise direnç geliştiği, hücrenin yaşamını sürdürmesini sağladığı ve fare modellerinde de bcl-2' nin onkojenik potansiyeli olduğu belirtilmiştir (66,67).

Bcl-2 gen ailesinin 20' den fazla üyesi tanımlanmış, yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre antiapoptotik ve proapoptotik olmak üzere 2 alt gruba bölünmüştür. Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w, BAG gibi bazıları apoptozis inhibitörüdür (antiapoptotik). Bcl-10, Bax (Bcl-2-associated X protein), Bak, Bid, Bad, Bim, Bik ve Blk ise apoptozisi uyarır ve pro-apoptotik genler olarak tanımlanır (68,69).

Bcl-2 ilişkili proteinler, hücreyi öldürücü ya da koruyucu gibi hareket ederek, apoptozisi negatif veya pozitif olarak kontrol edebilir. Bcl-2 ve alt gruplarının fonksiyonları, apoptozisi nasıl kontrol ve koordine ettikleri henüz tam olarak bilinmese de, mitokondri membranını hedeflemesi nedeni ile apoptotik hücrede mitokondri fonksiyonlarının kontrolü açısından önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (66,67,70).

Apoptotik sinyalin alınmasından sonra sitoplazmada bulunan proapoptotik bcl-2 proteinleri (özellikle Bax proteinleri), mitokondri membranının seçici iyon geçirgenliğini azaltabilir. Membrandaki bu değişiklikler nedeniyle, sitokrom c ve Apoptosis Inducing Factor (AIF) gibi faktörler sitoplazmaya geçerler. AIF, doğrudan kromatin kondansasyonu ve nüklear fragmentasyona neden olur. Sitokrom c, ATP varlığında Apoptosis protease-activating factor 1' e (Apaf-1) bağlanarak Apaf-1' de oligomerizasyona neden olur. Bu kompleksin prokaspaz-9' a bağlanması ile

'apoptosom' oluşur. Prokaspaz-9' un aktivasyonu ile kaspaz kaskadı aktivasyonu başlatılır (71,72).

2.3.5. Apoptozis mekanizmaları

Yapılan çalışmalarda, apoptozis sürecinde ekstrinsek veya ölüm reseptör yolak, intrinsek veya mitokondriyal yolak şeklinde adlandırılan iki ana apoptotik yolağın ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümünü içeren perforin-granzim yolağının varlığı gösterilmiştir Tüm apoptozis yolakları kaspaz-3 ayrımıyla başlatılan infaz yolağında birleşirler (Şekil 6) (73).

2.3.5.1. Ekstresek yolak

Ekstresek yolak, tumour necrosis factor (TNF) reseptör gen ailesinin üyeleri olan 'ölüm reseptörlerinin' (Fas, tumour necrosis factor receptor (TNFR), interferon (IFN) ve TNF-related apoptosis-inducing Ligand (TRAIL) receptors) aktive olması ile apoptozisi başlatır (74). Bu reseptörlerin, hücre dışında sistinden zengin bağlanma bölgeleri (domain), sitoplazmik tarafta ise 80 aminoasitten oluşan 'ölüm bağlantı bölgesi' (death domain) adı verilen bağlanma bölgeleri vardır. Ölüm bağlantı bölgeleri sitoplazmik adaptör proteinlere bağlanarak, ölüm sinyalinin hücre yüzeyinden hücre içine aktarımında kritik rol oynar (75).

Ekstresek yolakta ardarda gelişen olaylar en iyi Fas/FasR ve TNF- α /TNFR1 modelleri ile tanımlanmıştır. Bu yolak virüsle infekte hedef hücrelerin ortadan kaldırılması, tümör hücrelerinin öldürülmesi gibi birçok patolojik durumda hücrelerin uzaklaştırılmasında önemli rol oynar. T hücreleri ve NK hücreleri üzerinde bulunan Fas ligandının, FasR (CD95) reseptörüne bağlanması sonucunda sitoplazmik uzantısı olan

FADD (Fas-associated death domain), TNF ligandının TNF reseptörüne bağlanması ile de sitoplazmik kısım olan TRADD (TNF reseptör associated death domain) sitoplazmik adaptör proteinlere bağlanır (76). Prokaspaz-8' in oto-katalitik aktivasyonuna neden olarak ölüm başlatıcı sinyal kompleksi (death-inducing signaling complex, DISC) oluşturulur ve apoptozisin infaz fazı tetiklenir (77).

2.3.5.2. İntrensek yolak

İntrensek yolak, mitokondriyal başlangıçlı, reseptörden bağımsız, doğrudan hücre içi hedeflere etki eden sinyaller üreterek apoptozisi başlatır. Hücre içindeki pozitif veya negatif bir sinyal, intrinsek yolağı başlatabilir. Negatif sinyaller büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve hormonların eksikliğini içerirken, pozitif sinyaller ise radyasyon, toksinler, hipoksi, hipertermi, viral enfeksiyonlar ve serbest radikallerdir.

Tüm bu uyarılar, çift zarlı organeller olan mitokondrielerde transmembran potansiyel kaybına ve iç membranının geçirgenliğinde bir değişime yol açar. Pro-apoptotik proteinlerden ilk grup Sit C, Smac/DIABLO (Second mitochondrial activator of caspases/direct IAP binding protein with low PI) ve serin proteazı HtrA2/Omi (High-temperature requirement) intermembran boşluktan sitozole salınır. Bu proteinler kaspaz aracılıklı mitokondriyal yolağı aktive ederler (78,79).

Sitokrom c' nin Apaf-1' e ve prokaspaz-9' a bağlanması ile oluşan "apoptosom" kompleksi ile kaspaz kaskadı aktivasyonu başlar (71). Smac/DIABLO ve HtrA2/Omi ise apoptozis inhibitör proteinlerinin (inhibitors of apoptosis proteins, IAP) aktivitesini potent olarak inhibe ederek apoptozisi devam ettirir (80,81).

AIF, endonükleaz G ve CAD (Caspase-Activated Deoxyribonuclease) hücrenin ölümüne teslim olduğu geç dönemde mitokondriden salınan ikinci grup pro-apoptotik

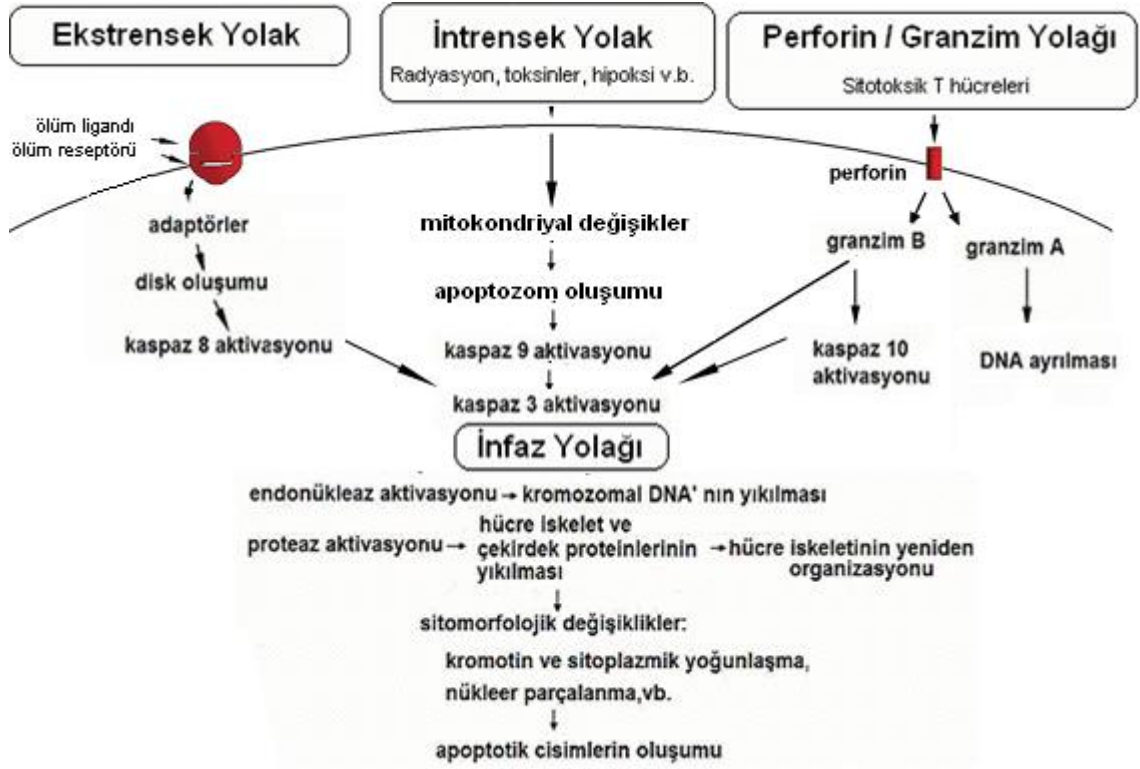
proteinlerdir. AIF, DNA' nın parçalara ayrılmasına ve periferal nükleer kromatinin yoğunlaşmasına neden olur. Endonükleaz G ise, AIF gibi kaspaz bağımsız çalışarak, nükleer kromatini parçalayıp oligonükleozomal DNA parçaları üretir (82).

Hücrede bir kompleks halinde bulunan CAD (Kaspazla aktifleşen deoksiribonükleaz) ve onun inhibitörü ICAD (inhibitor of caspase-activated deoxyribonuclease), apoptotik hücrelerde aktif kaspaz-3 ile ayrılır. CAD çekirdekteki oligonükleozomal DNA' yı parçalar ve kromatin yoğunlaşmasına neden olur (83).

2.3.5.3. Perforin/granzim yolağı

Sitotoksik T lenfositler (CTL), hedef hücrelerini ekstrensek yolak aracılığıyla öldürmektedir (84). Ayrıca, patojenle infekte hücelere ve tümör hücelerine sitotoksik etkilerini yeni bir yolak olan, perforin-granzim yolağı ile gösterebilirler. Sitotoksik T lenfositler ve Naturel Killer (NK) hücrelerinin sitoplazmik salgı granülleri içinde serin proteazlar olan granzim A ve granzim B yanında pore-forming protein (perforin) bulunur (85).

CTL reseptörü, hedef hücreye bağlandığında, hücreler arası boşluğa salınan sitoplazmik granüllerden açığa çıkan perforin hedef hücrede transmembran dairesel bir por oluşturur. Granzim B ise, perforinlerin oluşturduğu porlardan reseptör aracılığı ile bir vezikül içinde hedef hücreye girer. Perforinler hücre içine giren vezikülden granzim B'nin serbest kalmasını sağlar. Granzim B hızlı bir şekilde, proteinleri aspartat kalıntılarına ayırarak, DNA fragmantasyonunu ve prokaspaz-10' u aktive eder. Böylece kaspaz 3 aktivasyonu ile infaz yolağı başlatılmış olur. Granzim A ise, sitotoksik T hücre ile başlatılmış apoptoziste önemlidir. Perforinle sinerjik olarak kaspaz bağımsız yolağını aktive eder (55).



Şekil 6: Apoptoziste yollar (68).

2.3.5.4. İnfaz Yolağı

Bu fazı, infaz kaspazlarının aktivasyonu başlatır. Kaspaz-3, kaspaz-6, kaspaz-7 “efektör” veya “infazcı” kaspazlardır. Hücrede apoptozise ait morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olurlar (86). Kaspaz-3’ ün en önemli infaz kaspazı olduğu, özellikle endonükleaz ve CAD’ ı aktive ettiği ve herhangi bir başlatıcı kaspazla (kaspaz-8, kaspaz-9, kaspaz-10) aktive olduğu düşünülmektedir.

Nükleer materyal, internükleozomal bölgelerden 180-200 baz çifti büyüklüğünde endonükleazın aktivasyonu ile oldukça özgül şekilde parçalanır (87). İmmün elektroforez yapıldığında “ladder patern” olarak isimlendirilen merdiven şeklinde bir görünüm oluşur (88). CAD, apoptozisin karakteristik bulgularından biri olan kromatin kondansasyonuna ve oligonükleozomal DNA fragmentasyonuna neden olur (83).

Kaspaz-3 ayrıca hücre iskeletinin tekrar düzenlenmesini ve hücrenin apoptotik cisimciklere parçalanmasını uyarır (89).

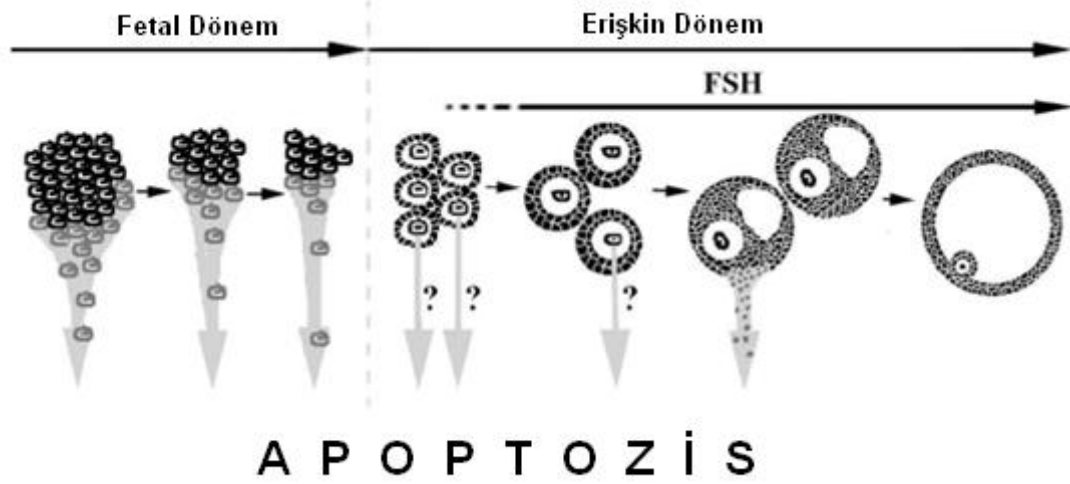
Apoptozisin son aşaması, apoptotik hücrelerin komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınması ve fagosite edilmesidir. Apoptotik hücrelerin tanınması plazma membranındaki değişikliklerle olur. Apoptotik hücrelerin yüzeyinde fosfolipid asimetrisi olması, normalde hücre membranının iç tabakasında olan fosfatidil serinin dış yüzeye çıkması inflamatuvar olmayan fagositik tanımayı kolaylaştırır. Hücrelerin erkenden ortadan kaldırılmasına izin verir. İnflamatuvar olmayan bu cevaptan esas olarak bu sürecin erken, etkili gerçekleşmesi ve hücresel bileşenlerin salınmaması sorumludur (55).

2.3.6. Ovaryan apoptozis

Apoptozis, insan reproduktif yaşamında özellikle ovaryan gelişim ve fonksiyonunda büyük bir rol oynar. İnsanlarda ovaryan foliküler rezerv, fetal hayatta foliküllerin gelişimi sırasında, oositlerin tedricen azaltılmasıyla oluşturulmaktadır (90). Mayotik anomalilerin ortadan kaldırılmasını sağlayarak kalite kontrolünün yapılması, somatik komşu hücrelerden hayatta kalmayı sağlayan faktörlerin üretiminin azalması gibi ovaryan foliküler rezervde azalmayı açıklayan çeşitli hipotezler olmasına rağmen, oogenezis, folikülogenezis, oosit kaybı, folikül seçimi ve apoptozis hakkında moleküler düzeyde bildiklerimiz hala yetersizdir (91).

Embriyonik ektodermden köken alan primordiyal germ hücreleri, gestasyonun 4. haftasından kısa bir süre sonra yolk kesesinden gonadal kabartıya göç ederler. Gonada ulaştıktan sonra hızla mitozla çoğalarak, sayıları yaklaşık 7 milyona ulaşır. Gebeliğin ikinci yarısından doğuma kadar bu sayı, oositlerin apoptotik ölümü ile hızla azaltılarak,

yaklaşık 2 milyona kadar düşer. Doğumdan sonra da oositlerin birçoğu ölmekte ve puberteye kadar over foliküllerinin çoğu kaybolmaktadır (Şekil 7) (92).



Şekil 7: Fetal ve erişkin dönemde foliküler gelişim ve apoptozis (93).

Puberte başlangıcında, overde 300-500 bin kadar folikül mevcuttur. Erişkin yaşamı sırasında her menstruel sıklusta sadece bir veya iki folikül ovulasyona uğrayacağı halde yaklaşık 1000 folikül gelişmeye başlar. Genellikle, sadece bir folikülde ovulasyon olurken kalan foliküllerin sonu apoptotik hücre ölümü ile atrezidir. Sonuçta, kadın üreme çağı boyunca yaklaşık 450 folikülde ovulasyon olacaktır. Puberte ve menopoza arasındaki dönemde, yaklaşık 250 bin folikül atreziye uğrayacaktır (92,94).

Foliküler gelişim ve hayatta kalma süreci granüloza hücreleri, teka hücreleri, stromal–intersitsiyel hücreler ve oositlerden gelen otokrin ve parakrin sinyaller içeren büyüme faktörlerine bağlıdır. Overde birçok moleküler mekanizma, birbirinden farklı proapoptotik ve prosurvival moleküller aracılığı ile düzenlenmektedir. Bu moleküllerin bazıları bcl-2 ailesi üyeleri, TNF ve kaspazlar gibi apoptozisde, Bcl-2, Bax, FSH, inhibin, Fas ligand ve kaspazlar gibi bazıları folikül seçiminde ve Fas/Fas ligand, kaspaz-3, Bax ise luteolizisde rol almaktadır (95).

Granüloza hücrelerinde birçok reseptör ve sinyallerin apoptozise yol açtığı bilinmektedir. Buna rağmen, apoptozisde birçok molekülün rol alması (Fas, kaspazlar, TNF, p53, IFN, endotelinler), bu moleküllerin hem apoptotik (TGF- β , interlekin-6, androjenler, reaktif oksijen radikalleri, bax, Fas antijenleri, p53, TNF ve kaspazlar) hem de yaşamı devam ettirici (gonadotropinler, insulin-like growth factor-1, interlekin-1 β , epidermal growth factor, basic fibroblast growth factor, TGF α , bcl-2, bcl-x1) olarak çalışması ve sonucun bu moleküller arasındaki hassas dengeye bağlı olması nedeniyle hala belirsizlikler vardır (96).

Fetus ve erişkin overlerinin granüloza hücrelerinde Bcl-2 (pro-survival) ve Bax (pro-apoptotik) ekspresyonunun gösterilmesi, bu genlerin atrezideki muhtemel rollerini düşündürmektedir (97). Bcl-2 protein ekspresyonu 19–33. gebelik haftaları arasında aşırı apoptotik aktiviteyi ortadan kaldırmak için insan fetal overlerinin tüm komponentlerinde gösterilmiştir (98). Bcl-2 eksik farelerde folikül sayılarının azalmış olması (99), bcl-2'nin aşırı ekspresyonunun azalmış foliküler apoptozise yol açması (93), bax eksik farede aşırı granüloza hücresi ile birlikte anormal foliküllerin bulunması (100) ve diğer foliküllerle karşılaştırıldığında atretik foliküllerde bax ekspresyonunun fazla olması (101) gibi farklı deneysel bulgular bcl-2'nin ovaryan apoptozisdeki rolünü desteklemektedir.

TNF reseptör ailesi üyeleri, TNF- α ve Fas (ve ligandları) ovaryan atrezide kritik rol oynar. Sadece sağlam granüloza hücrelerindeki apoptozisde değil, atretik antral foliküllerde ve embriyonik gonadlarda da bu reseptörler gösterilmiştir (102). Sağlıklı foliküllerle karşılaştırıldığında, atretik teka ve granüloza hücrelerinde artmış FasL mRNA gözlenmesi (103), Fas'ın granüloza hücre apoptozisini uyarma yeteneğininin gösterilmesi (104), granüloza hücrelerinde TNF proteinleri ile ilişkili bir çok ölüm

bağlantı bölgelerinin ekspresyonunun izlenmesi (105) gibi deneysel bulgular TNF ailesinin rollerini desteklemektedir.

Ovaryan apoptozisde ana efektör moleküller olan kaspazlar granüloza hücrelerinde hücre yüzey reseptörleri ve bcl-2 ailesi proteinleri ile iki yoldan aktive edilirler. İnsan granüloza hücrelerinde kaspaz-1, kaspaz-3, Apaf-1 ekspresyonunu deneysel kanıtlar desteklemektedir (106). Kaspaz-3, overde sağlam foliküllerde granüloza hücrelerinde bulunmaz iken, sağlam korpus luteumun luteal ve tekal hücrelerinde ve atretik foliküllerin granüloza hücrelerinde eksprese edilmektedir (107).

Apoptotik granüloza hücrelerinde p53 protein ekspresyonunun olması, p53' ün atrezide muhtemel rolünün olduğunu gösterir (108). p53 ekspresyonunun inhibisyonun apoptotik granüloza hücrelerinde önemli bir azalma ile ilişkili olması (108), bcl-2 ve bax gen transkripsiyonunu düzenleyerek apoptozisi uyarması (109) gibi farklı deneysel bulgularla apoptozisdeki rolü desteklenmektedir.

Overlerde intrauterin hayatta başlayıp yaşam boyu devam eden oosit kaybı kemoterapi, radyoterapi, sigara gibi çevresel kimyasallar ile artmaktadır. Serbest radikaller ve radyasyon hücreyi intrinsek yolak üzerinden apoptozise götüren muhtemel nedenler arasında yer almaktadır. Son zamanlarda oldukça fazla miktarda maruz kaldığımız elektromanyetik radyasyon kaynaklarına bağlı olarak diğer birçok dokuda olduğu gibi over dokusunda da apoptozis artabilir. Bizim araştırmamızda, ısı etkisinin olmadığı “Radyo Frekans Deney Sistemi” kullanılarak, cep telefonu ve baz istasyonlarının çalışma frekansı olan 1800 MHz RF alanı uygulaması yapılarak dişi Wistar Albino sıçanlarda ovarian dokuda apoptozisin araştırılması planlandı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik AD ve Gazi Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Araştırma Merkezi' nin (GÜDAM) katılımları ile yapılmıştır. Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneysel Yerele Etik Kurulu Başkanlığı' nın G. Ü. ET-09.037 kod numaralı etik kurulu onayı alınmıştır.

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.1.1. Radyo frekans radyasyon deney sistemi

RF sinyal kaynağı olarak Agilent Technologies HP 8648 B sinyal jeneratörü kullanılmıştır. Sinyal Jeneratörü; Frekans Aralığı 9 kHz – 2 GHz, çözünürlüğü 1 Hz, doğruluğu $\pm 3 \times 10^{-6}$ Hz, güç Aralığı (+10/+20 dBm) – (-136 dBm), AM, FM puls modülasyonları yapabilen genel özelliklere sahiptir (Şekil 8,9).

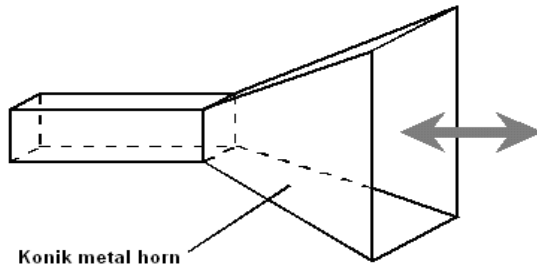


Şekil 8. Sinyal jeneratörü.



Şekil 9. Sinyal jeneratörü.

Sistemde alan yayılımı için ‘ETS Lindgren 3164–04 horn anteni’ kullanılmıştır (Şekil 10, 11). Horn anteni mikrodalga ve RF sinyallerinin gönderilmesi veya alınması için kullanılan anten tiplerinden biridir. Konik görüntüsünden dolayı ‘horn anten’ ismini almıştır. Horn antenin çalışma frekans aralığı 700 MHz – 6 GHz arasında değişmektedir. Sinyal jeneratörüne horn anten bağlanarak RF radyasyon uygulamaları yapılmıştır.



Şekil 10. Horn anten.



Şekil 11. Horn anten

3.2. Deney

3.2.1. Deney hayvanları

Çalışmada GÜDAM’ da yetiştirilen, kontrol grubunda ortalama ağırlıkları $238,6 \pm 19,5$ gram olan, radyofrekans grubunda ortalama ağırlıkları $227,3 \pm 16,5$ gram olan genç yetişkin, Wistar Albino cinsi, 6-9 haftalık toplam 12 adet dişi rat kullanıldı. Deney şartlarının standardizasyonunun sağlanması için maruz kalınan RF alanlar, laboratuvar ortamının ELF alanı, sıcaklık ve nem sürekli kontrol altında tutuldu. GÜDAM’ da bekletilen deney hayvanları çalışma boyunca 22 ± 1 °C’ de, % 45 nem oranında, plastik kutular içerisinde, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngülerinde tutuldu. Deney hayvanları çalışma öncesinde aynı ortamda 10 günlük adaptasyon dönemini tamamladılar. Deney hayvanlarına laboratuvardaki bu bekleme süreleri boyunca sınırsız su ve yem sağlanmıştır.

3.2.2. Deney grupları

Gruplar kontrol (sham), radyofrekans (GSM modülasyon) grupları olmak üzere aşağıdaki gibi tanımlanmışlardır (Şekil 12,13). Gruplardaki denek sayısı 'n' ile ifade edilmektedir.

Grup A: (Kontrol grubu = sham grup) (n = 6) Bu gruptaki ratlar üçlü gruplar halinde plastik kutularda GÜDAM laboratuvarından Biyoelektromagnetik Laboratuvarına alınarak 20 dak/gün, 5 gün/hafta, 1 ay boyunca herhangi bir uygulama yapılmadan sinyal jeneratörü kapalı durumda iken radyofrekans verilmeden bekletildi.

Grup B: (Radyofrekans grubu = GSM modülasyon grubu) (n =6) GÜTF Biyofizik Anabilim Dalı' nda kurulmuş olan “**Radyo Frekans Deney Sistemi**” ile GSM modülasyonlu (cep telefonları ve baz istasyonları sinyallerine eşdeğer özellikte) 1800 MHz radyofrekans uygulaması yapılacak ratlar üçlü gruplar halinde şeffaf plastik kutularda GÜDAM laboratuvarından Biyoelektromagnetik Laboratuvarına alınarak 20 dak/gün, 5 gün/hafta, 1 ay boyunca elektromanyetik radyasyona maruz bırakıldı.



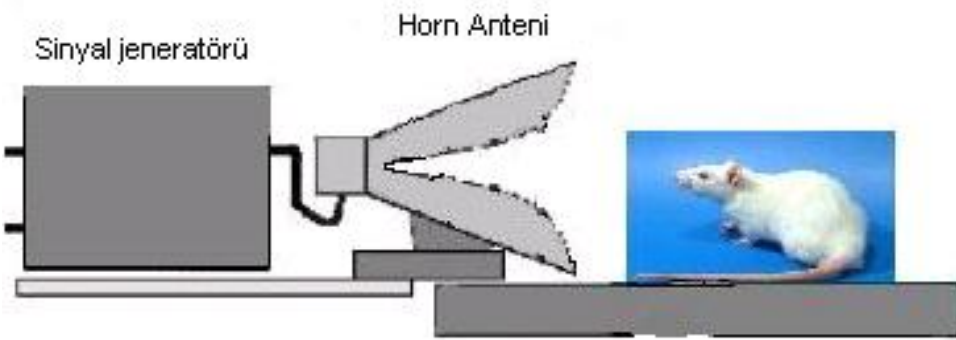
Şekil 12. Deney grupları.



Şekil 13. Deney hayvanları plastik kutulara yerleştirildi.

3.2.3. Deney düzeneneği

Bütün grupların eşit mesafede sham veya RF alana maruziyetlerinin sağlanması ve 10 cm mesafenin yakın alan mesafesi olarak tanımlanması nedeni ile maruziyet uzaklığı olarak 10 cm. seçilmiştir (Şekil 14,15,16). Bir kişinin cep telefonu ile günlük ortalama görüşme süresi 20 dakika tahmin edilerek, maruziyet süresi 20 dakika olarak belirlenmiştir.



Şekil 14. Deney düzeneneği.



Şekil 15. Deney düzeneği.



Şekil 16. Deney sırasında deney hayvanları horn antenden 10 cm. uzaklıkta plastik kutu içerisine yerleştirildi.

3.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasallar

1. Ketamin hidroklorür (Ketalar-Pfizer)
2. Xylazine hidroklorür (Alfazyne %2 enjektabl-Alfasan)

3.4. Yöntem

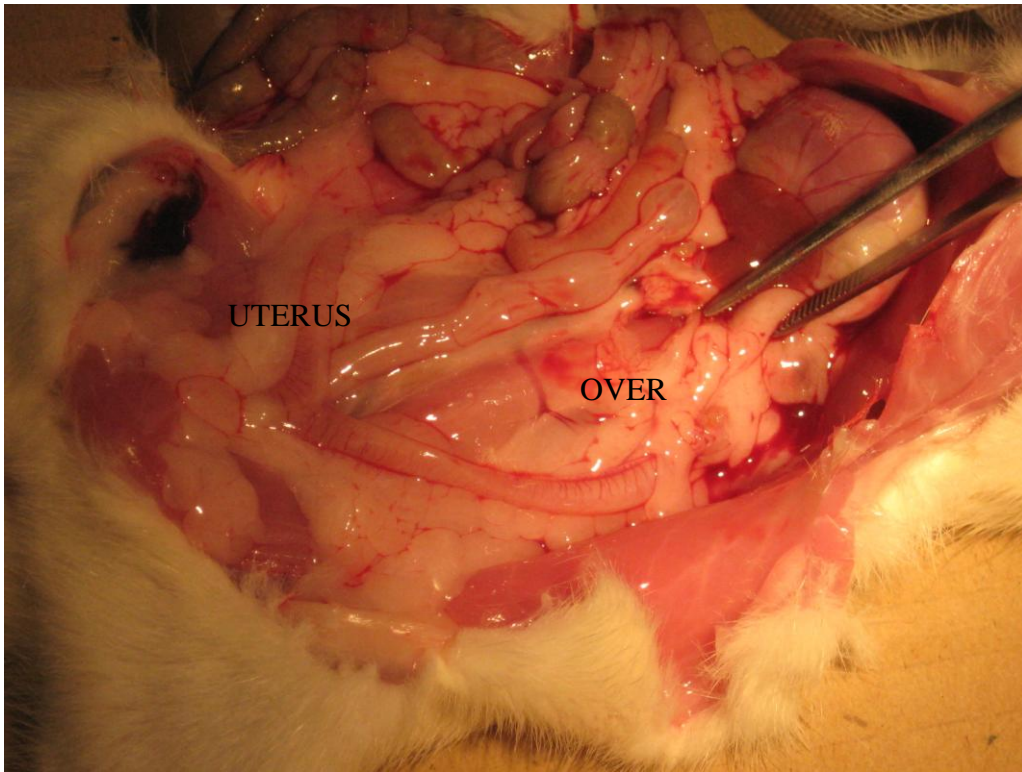
Ratlara 1 aylık süre sonunda, hassas terazi ile tartıldıktan sonra, 45 mg / kg ketamin (i.m) ve 5 mg / kg xylazine (i.m) ile genel anestezi verildi. Diseksiyona başlamadan önce tüm ratların vaginal smearleri alındı. Ratların overleri zedelenmeden çıkarıldıktan sonra, soğuk izotonik ile 20-30 saniye kadar yıkanarak kan ve yağ dokuları uzaklaştırıldı. Daha sonra overler % 10 formalin solüsyonu içinde apoptozisi değerlendirmek için soğuk ortamda Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji laboratuvarına götürüldü (Şekil 17,18,19).



Şekil 17. Rat ağırlığı hassas terazide tartıldı.



Şekil 18. Diseksiyon öncesi ratlara anestezi verildi.



Şekil 19. Rat uterus ve overi.

3.5. Over Dokusundaki Apoptotik Hücrelerin Tayini

3.5.1. Hematoksilen eozin boyanma prosedürü

Kontrol ve radyofrekans grubuna ait ratlardan elde edilen over dokuları %10' luk nötral formalinde bir gece fikse edildi. Rutin doku takibi sonrası parafine gömülen dokulardan alınan 4-5 mikronluk kesitler hematoksilen eosin (HE) ile boyandı. Boyanan kesitler Olympus BX51 mikroskobunda incelendi. Her iki over dokusunda izlenen foliküller primordial, primer, sekonder (preantral), tersiyer (antral), erken atretik, geç atretik, korpus luteum olmak üzere 7 gruba ayrıldı. Primordial folikül grubuna primer oosit çevresinde basıklaşmış, mitoz göstermeyen granüloza hücrelerinden oluşmuş foliküller, primer folikül grubuna oositi çevreleyen tek tabaka küboidal şekilli granüloza hücrelerinden oluşmuş foliküller, sekonder (preantral) folikül grubuna 3-5 tabakadan oluşmuş mitoz gösteren granüloza hücrelerinden oluşmuş foliküller, tersiyer (antral) folikül grubuna sekresyon sonucu oluşan antrum içeren granüloza hücrelerinden oluşan foliküller, erken atretik folikül grubuna granüloza tabakası incelmış, en az 5 piknotik granüloza hücre nükleusu bulunan, teka hücre tabakası hipertrofiye gitmiş foliküller, geç atretik folikül grubuna teka interna tabakası luteinize olmuş bazal membranları kalın ve hyalinize foliküller dahil edildi. Erken ve geç dönem atretik folikül sayıları toplam folikül sayısına oranlandı. Kontrol ve çalışma grubundaki yüzdeleri karşılaştırıldı.

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapılmıştır. Foliküllerdeki atrezi sayılarının kontrol ve radyofrekans gruplarının

karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Tanımlayıcı değer olarak aritmetik ortalama±standart sapma, ortanca ve minimum-maksimum değerler verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık sınırı 0.05 olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

Deney süresince hayvanlarda normal bir gelişim seyri izlenirken ölüm gözlenmedi. Çalışmada kullanılan ratların ağırlıklarının ortalaması kontrol grubunda 238.6 ± 19.5 , radyofrekans grubunda ise 227.3 ± 16.5 gram idi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0.302$). Vajinal smearler değerlendirildiğinde RF grubundaki bir deneğin smear sonucu luteal fazda izlenirken, diğerleri foliküler fazda izlendi.

Tablo 4. Kontrol ve radyofrekans gruplarındaki folikül sayıları.

Folikül	Kontrol Grubu (n=6)			Radyofrekans Grubu (n=6)			P
	Ort±SD	Ortanca	Min- Max	Ort±SD	Ortanca	Min- Max	
Primordiyal	2,5±0,7	2,5	1-4	3,8±3,6	3	0-9	1,000
Primer	2,8±1,9	1,3	0-6	2,7±1,6	2,5	0-5	0,518
Sekonder	4,4±2,7	3	2-9	3,6±2,9	3,3	0-8	0,686
Tersiyer	0,9±0,9	0,8	0-2	0,4±0,5	0,3	0-1	0,356
Korpus luteum	11,0±5,3	11,3	4-18	5,6±4,9	4,5	0-12	0,108

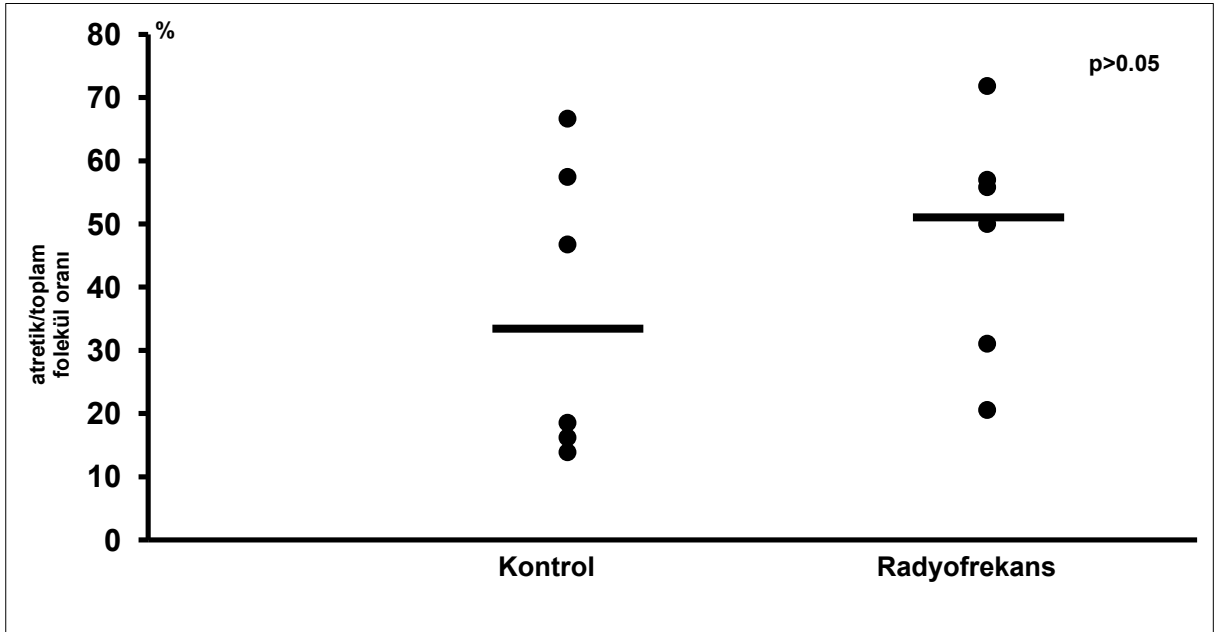
Kontrol ve radyofrekans grupları arasında folikül sayılarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı ($P>0.05$).

Tablo 5: Kontrol ve radyofrekans gruplarında atrezi sayıları.

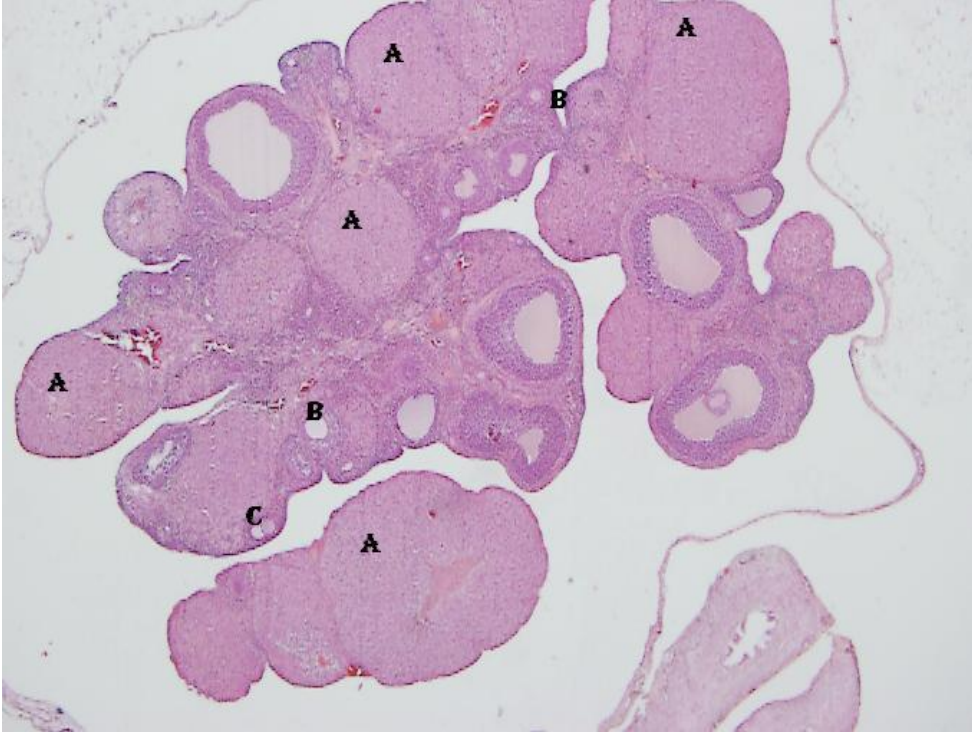
	Kontrol Grubu (n=6)			Radyofrekans Grubu (n=6)			P
	Ort±SD	Ortanca	Min- Max	Ort±SD	Ortanca	Min-Max	
Erken atretik	3,2±1,0	3	2-5	4,4±3,7	4,5	0-10	0,514
Geç atretik	8,4±7,1	7,3	2-19	9,3±6,6	9,3	2-19	0,809
Toplam atretik	11,6±7,4	9,8	5-22	13,8±9,2	11,5	3-25,5	0,574
Atretik/T.folikül oranı (%)	36,6±23,2	32,6	13,9-66,7	47,5±18,6	52,9	20,6-71,8	0,337

Kontrol ve radyofrekans grupları arasında atretik folikül sayılarının toplam foliküllere oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ($p>0.05$).

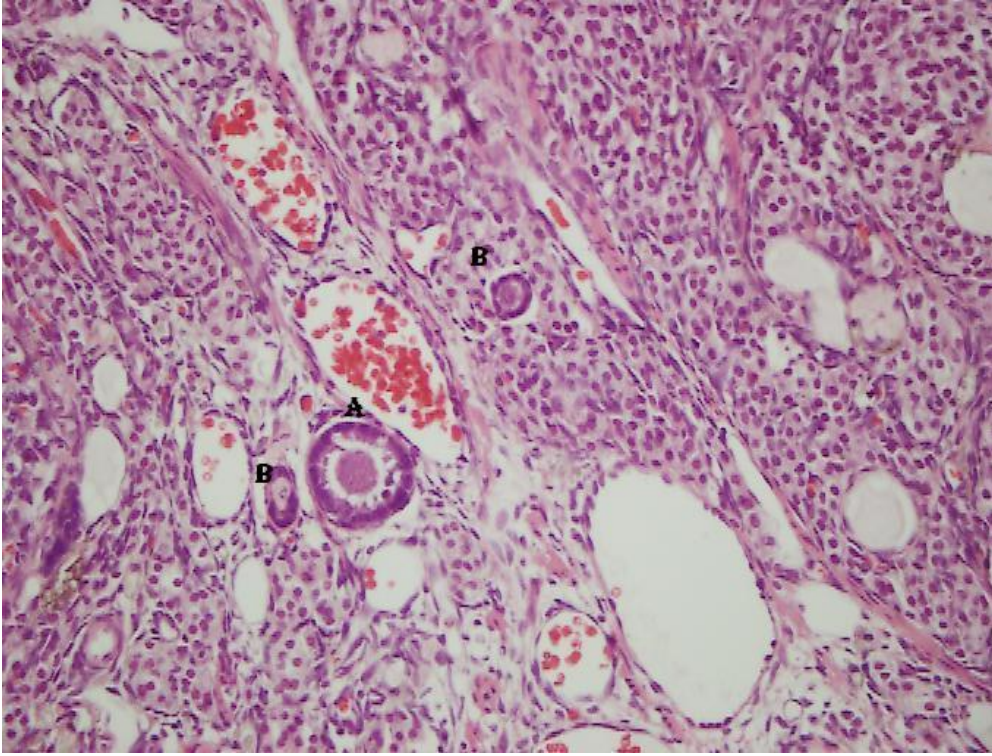
Grafik 1: Kontrol ve Radyofrekans gruplarında atretik folikül/ toplam folikül oranları.



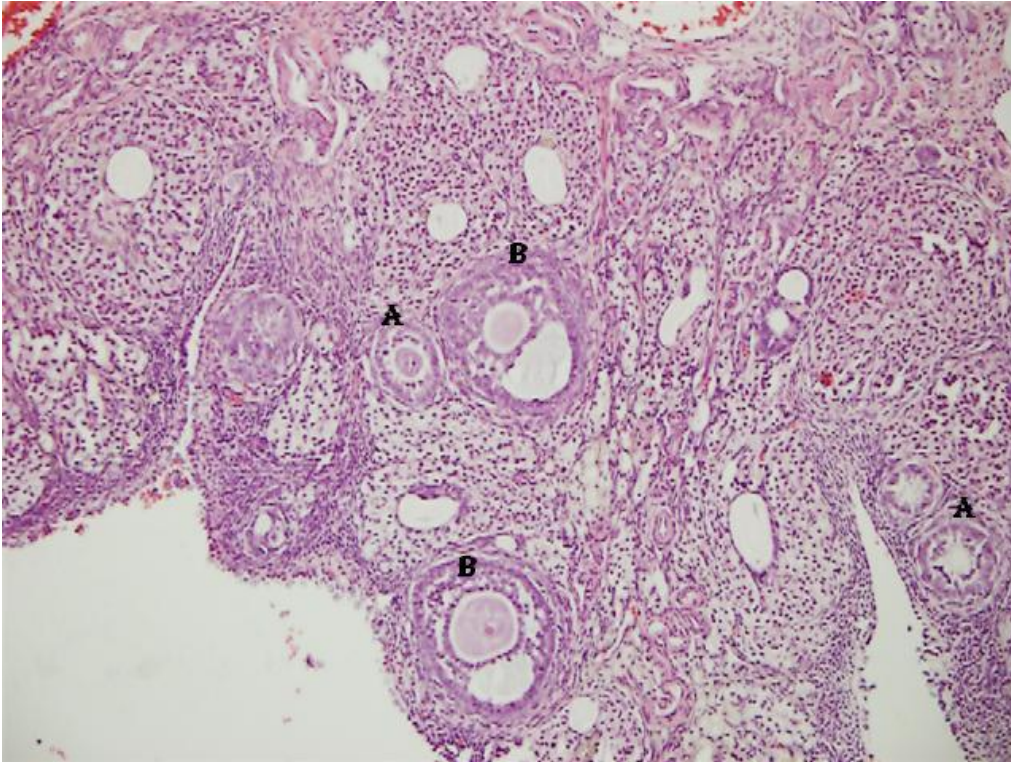
Erken ve geç atretik foliküllerin tüm foliküller içindeki oranları incelendiğinde; kontrol grubunda atretiklerin oranı $0,366 \pm 0,232$ (ortanca= $0,326$), radyofrekans grubu için $0,415 \pm 0,210$ (ortanca= $0,405$) olarak bulunmuştur. İki grup karşılaştırıldığında anlamlı farklılık tespit edilemedi ($p=0,423$).



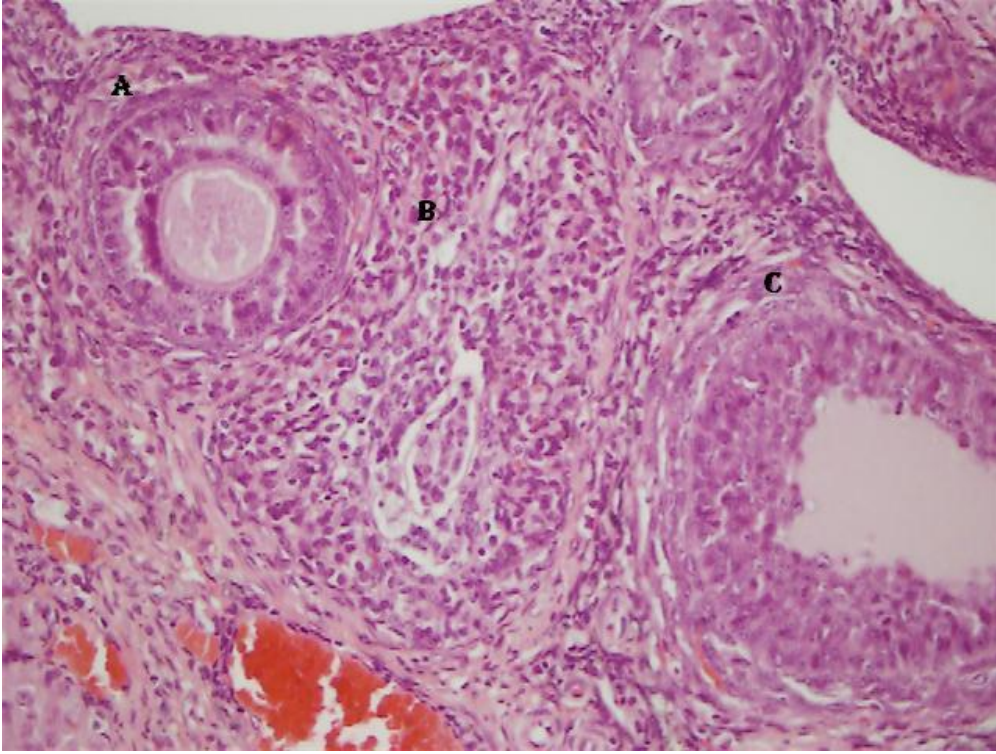
Şekil 20. Çok sayıda korpus luteum (a), sekonder (b), tersiyer (c) foliküller. (Kontrol grubu, HEX40)



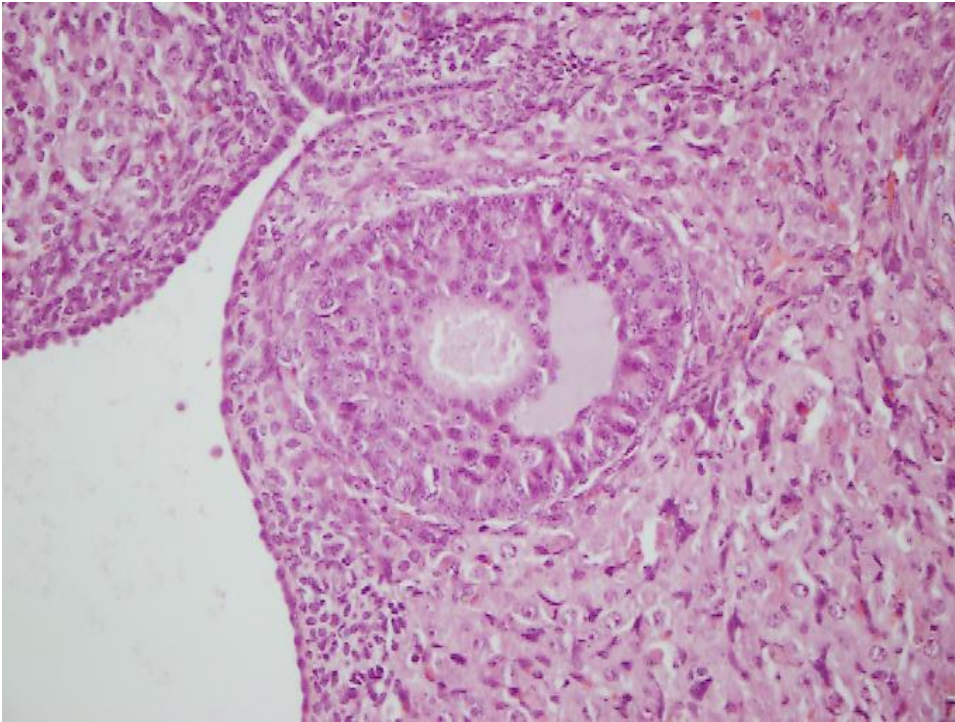
Şekil 21. Over stromasında iki sıra granüloza hücrelerinden oluşmuş primer (a) ve basıklaşmış tek sıralı granüloza hücreleri ile karakterli primordiyal (b) foliküller. (Kontrol grubu, HEX400)



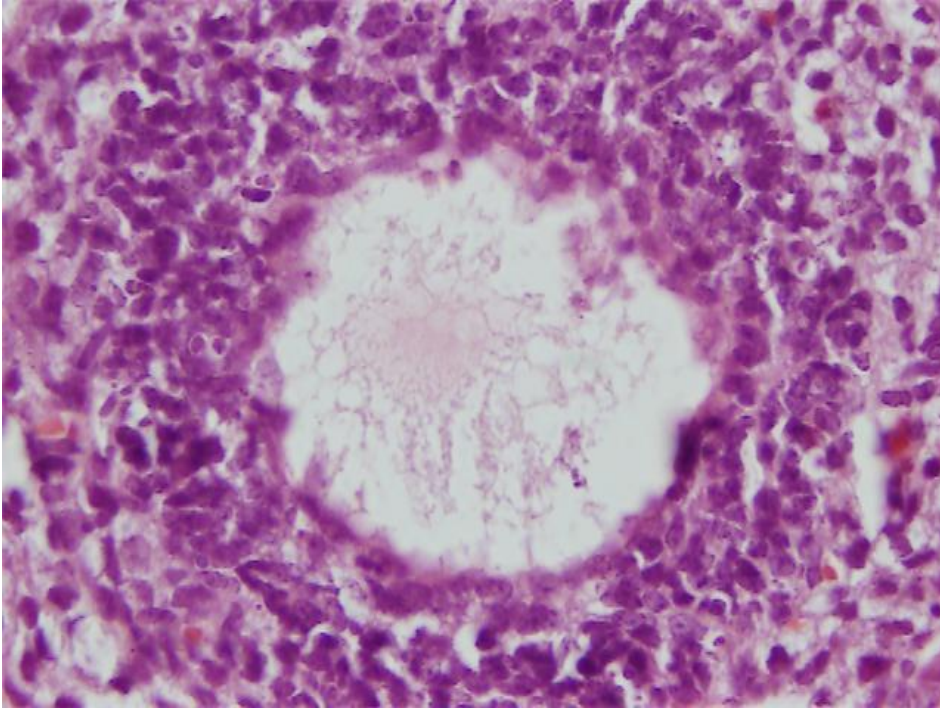
Şekil 22. Merkezde küçük sekonder folikül (a), çevrede tersiyer foliküller (b). (Kontrol grubu, HEX400)



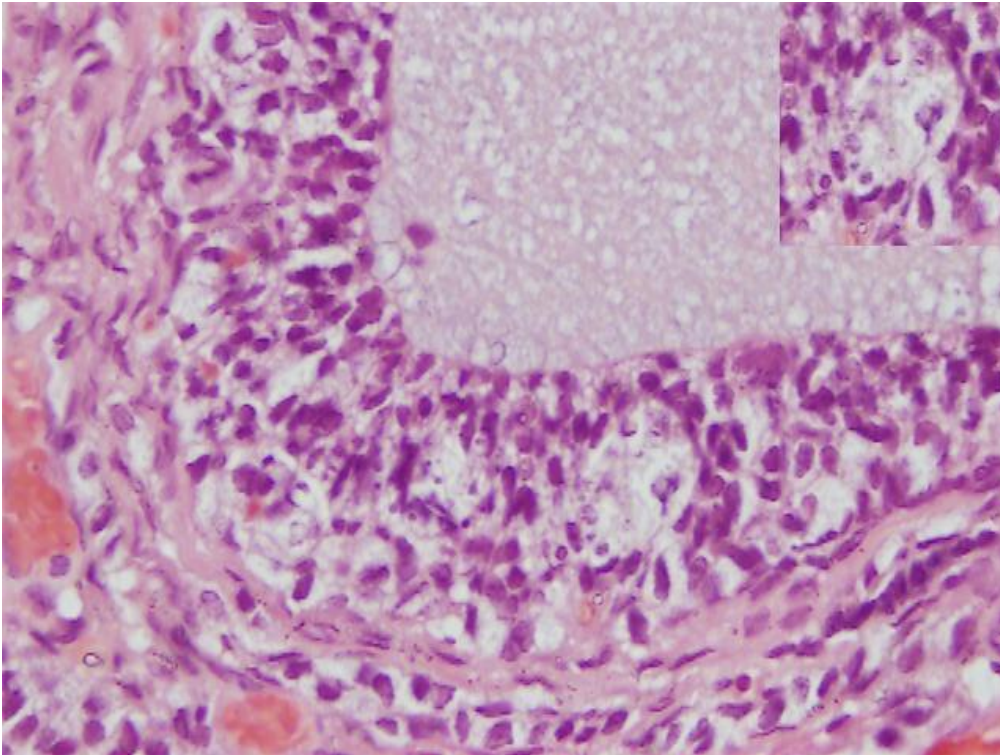
Şekil 23. Sekonder folikül (a) komşuluğunda geç (b) ve erken (c) atretik foliküller. (Kontrol grubu, HEX400)



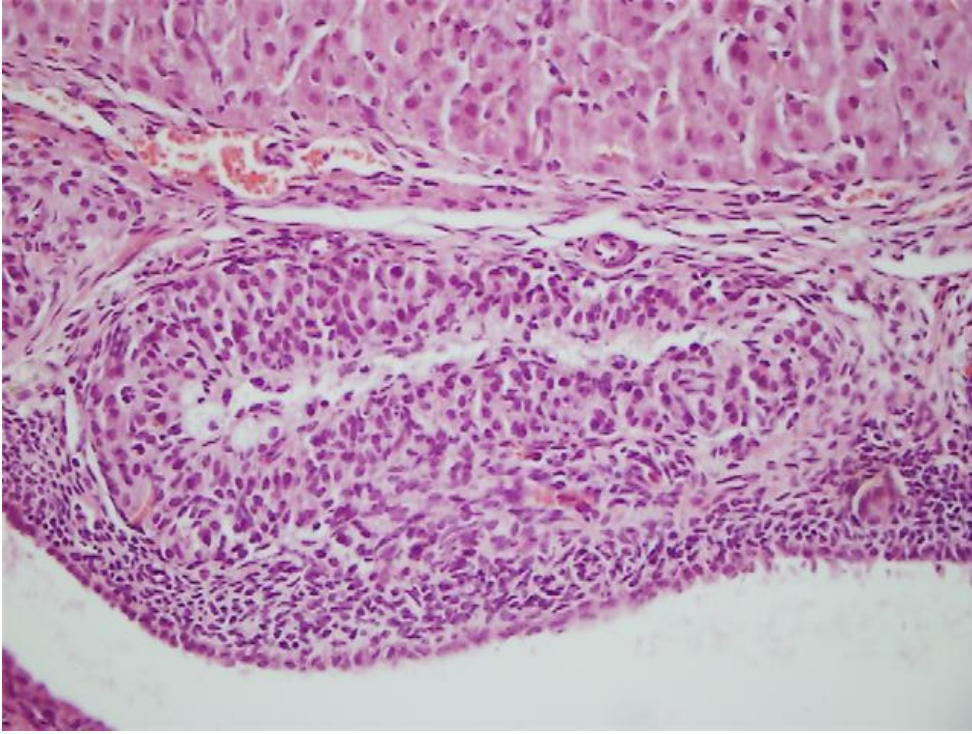
Şekil 24. Over yüzey epiteli altında stromada tersiyer (antral) folikülün yakından görünüşü. (Kontrol grubu, HEX400)



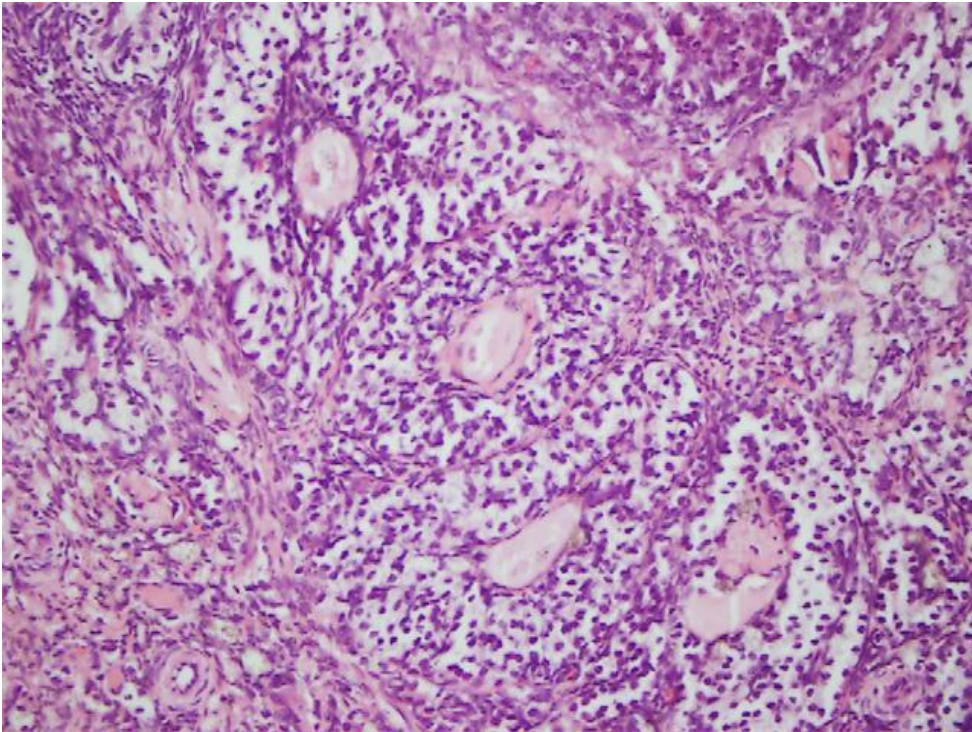
Şekil 25. Erken atretik bir folikül. Granüloza hücrelerinde yaygın apoptozis. (Radyofrekans grubu, HEx1000)



Şekil 26. Granüloza tabakasında belirgin incelmeye ve granüloza hücrelerinde yaygın apoptozis izlenen folikül duvarı. (Sağ üst köşedeki küçük kare: apoptotik cisimler) (Radyofrekans grubu, HEx1000)



Şekil 27. Yüzey epiteli altında lümeni yarık şeklinde, bazal membranında kalınlaşma olan geç atretik folikül. (Radyofrekans grubu, HEX400)



Şekil 28. Çok sayıda bazal membranları hyalinize görünümde geç atretik foliküller. (Radyofrekans grubu, HEX400)

5. TARTIŞMA

Günümüzde prenatal ve postnatal dönemde fizyolojik ve patolojik durumlarda oluşan ovaryan apoptozisten sorumlu olan pek çok intrasellüler mekanizma, yolaklar, reseptörler ve sinyaller tanımlanmıştır. Bazı genetik ve moleküler faktörler apoptoziste indükleyici rol oynarken bazıları inhibisyona yol açarlar (12,13). Kemoterapi ajanları, radyoterapi, sigara gibi çevresel kimyasalların da hücrelerde apoptozis aracılığı ile ölüme yol açtığı ve atrezi sürecini hızlandığı birçok çalışmada gösterilmiştir (10,15,16). Foliküler gelişim ve hayatta kalma süreci birbirinden farklı proapoptotik ve prosurvival moleküller aracılığı ile birçok mekanizma tarafından düzenlendiğinden ovaryan apoptozis konusunda belirsizlikler hala devam etmektedir (95,96).

Yaptığımız deneysel araştırmada ısı etkisi oluşturmayan 1800 MHz frekanslı RF alana maruz bırakılan dişi Wistar Albino sıçanlarda ovaryan apoptozis araştırıldı. Gruplarda sham uygulama ve RF uygulama sonrasında over dokusunda oluşabilecek apoptotik hasar hematoksilen eozin ile boyanmış kesitlerde histomorfolojik olarak değerlendirildi. Kontrol ve radyofrekans grupları arasında overde atretik folikül sayılarında ve atretik foliküllerin toplam foliküllere oranında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı.

Elektromanyetik alan kaynaklarından özellikle cep telefonlarının kullanımları hızla yaygınlaşmaktadır. Cep telefonlarının baz istasyonları ile iletişimi elektromanyetik radyasyonun non iyonize radyasyon grubunda yer alan RF dalgaları ile sağlanmaktadır. Son yıllarda cep telefonlarından yayılan radyasyona giderek artan ölçüde maruz kaldığımızdan bu alanda yapılan çalışmalar hızla artmaktadır, ancak sonuçlar üzerinde hala bir fikir birliği sağlanamamıştır.

Literatürde elektromanyetik alanın üreme sistemine etkileri farklı çalışmalarda araştırılmıştır (30). Yapılan çalışmalarda dişi ve erkek üreme sistemlerinin non iyonize radyasyonun muhtemel hedefleri arasında oldukları ileri sürülmekle birlikte bu konuda yapılan çalışmaların sonuçları arasında da uyum yoktur. Buna göre elektromanyetik alanın üreme ve gelişmeye etki edip etmediği henüz kesin olarak tanımlanmamıştır (110,111). Özellikle testislere ve spermatogeneze etkilerinin araştırıldığı çalışmalar daha fazladır.

İyonize elektromanyetik dalgaların (γ ve X ışınları vb.) over dokusunda apoptozis oluşturduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır ancak non iyonize radyasyonun etkilerini gösteren çalışma sayısı oldukça sınırlı ve sonuçlar tartışmalıdır (17,112). Bu nedenle çalışmamızın bu alandaki literatüre önemli katkıları olacağı şüphesizdir.

Cep telefonlarının ve baz istasyonlarının biyolojik yapılara etkileri frekans ve güçlerine bağlı olarak farklılıklar göstermektedir (113). Cep telefonları gibi RF kaynaklarının oluşturacağı sıcaklık artışı gerçekte çok düşüktür ve büyük olasılıkla vücudun normal mekanizmaları ile kolayca etkisizleştirilebilir (24). Cep telefonu ile oluşan zararlı etkilerin termal etkilerden çok maruziyet süresi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (5).

Gül ve ark. (114) 2009 yılında cep telefonu kaynaklı mikrodalgaların rat overine toksik etkilerini araştırdıkları çalışmada gebelik süresince grubun birine 12 saat/gün cep telefonu maruziyeti sağlanırken diğer grup kontrol olarak alınmıştır. Doğum sonrası yavru dişi ratların sağ overleri değerlendirildiğinde folikül sayısında azalma çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sonuç olarak intrauterin cep telefonu maruziyetinin overlere toksik etkisi olduğu gösterilmiştir. Literatürde diğer çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da ratlara intrauterin

radyofrekans uygulaması yapılmıştır. Ancak teknik yetersizlikler nedeniyle uygulanan elektromanyetik alan şiddeti ve frekansı ölçülememiştir. Bizim çalışmamızda farklı olarak standart bir radyofrekans deney sistemi kullanılarak ölçülebilir düzeyde radyofrekans alanı oluşturulmuştur. Cep telefonu ve baz istasyonlarında çalışma frekansı olarak kullanılan 1800 MHz frekanslı RF alanı kullanılmıştır. Ayrıca fetuslere değil dişi yetişkin ratlara direk radyofrekans uygulaması yapılarak üreme çağındaki radyofrekans etkisi değerlendirilmek istenmiştir.

Gül ve ark.'nın (114) çalışmasında radyofrekans uygulama süresi 12 saat/gün olarak alınırken bizim çalışmamızda bir kişinin cep telefonu ile ortalama görüşme süresi 20 dakika/gün olarak belirlenmiştir. Ancak bir ay süre ile uygulama yapılmıştır. Gün içerisinde devamlı olarak yakın mesafede taşıdığımız ve uzun süreli konuşmalar da yaptığımız cep telefonlarıyla bir aydan daha uzun süreli maruziyetin planlandığı çalışmalara gerek vardır.

Literatürde over dokusu dışındaki dokularda da değişik sürelerde ve farklı frekanslarda radyofrekans uygulamaları yapılarak apoptozis araştırılmıştır. Cep telefonlarının vücutta çeşitli doku hücrelerinde apoptozisi arttırdığı ve oksidatif stres aracılığıyla zararlı etkilere neden olabildiği yapılan bazı çalışmalarla ortaya konmuştur. Güney M. ve ark. (115) 900 MHz RF dalgalarının rat endometriyum dokusunda apoptozis ve oksidatif stresi arttırdığını, Vit E ve C tedavisinin bu değişiklikleri azalttığını tespit etmişlerdir.

Joubert V. ve ark. (116) deneysel şartlarda primer rat nöron kültürlerine 24 saat süre ile devamlı 900 MHz RF uygulaması sonrasında kaspaz 3 aktivitesinin ve apoptozisin istatistiksel olarak anlamlı arttığını göstermişlerdir. Yine Zhao TY. ve ark. (117) yaptıkları çalışmada araştırmacılar primer nöron ve astrosit kültürlerinde 1900 MHz

RF dalgaları üreten cep telefonunun apoptozisle ilgili genlerin ekspresyonunu araştırmışlar. Cep telefonu kaynaklı RF dalgalarına kısa süreli maruziyete rağmen beyinden elde edilen hücrelerde apoptotik elemanların arttığını ve nöronların astrositlere göre bu etkiye daha duyarlı olduklarını göstermişlerdir.

Yılmaz ve ark. (118) RF grubunda 1 ay boyunca 20 dak/gün (7 gün/hafta) konuşma modundaki cep telefonundan kaynaklanan 900 MHz RF dalgalarına maruz bırakılan, sham grubunda ise aynı süre boyunca cep telefonu kapatılarak RF uygulaması yapılmadan bekletilen erkek ratların beyin ve testis dokularında immunhistokimyasal yöntemle apoptozisi araştırmışlardır. Radyofrekans grubu ile sham grubundaki ratların testis ve beyin dokularında bcl-2 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi konuşma süresi 20 dakika belirlenmiştir ancak RF sağlayıcı olarak cep telefonu kullanılması, daha düşük frekansta radyofrekans uygulamasının yapılması ve apoptozisi değerlendirmek için testis ve beyin dokusunda anti-apoptotik bcl-2 protein boyamasının kullanılması yönüyle farklılık göstermektedir. Bu çalışmada bizim çalışmamızla benzer şekilde sadece konuşma ve sham modundaki cep telefonlarından kaynaklanan radyofrekans uygulaması yapılmış ve kullanılmadan açık olarak bekleyen (stand-by modu) cihazın etkileri incelenmemiştir.

Daşdağ ve ark.' da (119) 2008 yılında bir GSM simülatörü tarafından üretilen 900 MHz RF dalgalarına 10 ay boyunca 2 saat/gün (7 gün/hafta) maruziyetin rat seminifer tübüllerinde spermatogoniyalar üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla testis dokularında apoptozisi göstermek için kaspaz-3' ün immunhistokimyasal olarak boyanması yöntemini kullanmışlardır. Cep telefonunun ürettiği RF dalgalarına maruziyetin rat testis dokusunda apoptozis oluşturmadığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da bizim çalışmamızla benzer olarak RF sağlayan bir sistem kullanılarak

ölçülebilir RF uygulaması yapılmıştır. Farklı olarak, düşük frekanslı elektromanyetik alan 10 ay gibi uzun bir süre uygulanarak testis dokusunda apoptozis araştırılmıştır. Uzun süre uygulamaya rağmen istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir.

6. SONUÇ

Yaşamın her alanında yaygın biçimde kullandığımız birçok cihaz elektromanyetik dalgalar oluşturmaktadır. Teknolojik gelişmelerle birlikte yeryüzünün elektromanyetik alanı da hızla artmaktadır. Buna göre elektromanyetik alan kaynakları arasında, kullanımları arttığı için, özellikle cep telefonlarından ve baz istasyonlarından yayılan radyofrekans dalgaları geniş kitleleri etkilemektedir. Bu elektromanyetik alanların belirlenmesi ve kontrolü gittikçe önem kazanmaktadır. Tüm dünyada elektromanyetik alanın muhtemel biyolojik etkilerinin ve etki mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik hücresel düzeyde çalışmalar yapılmaktadır. Fakat cep telefonlarından yayılan RF radyasyonun olası etkileri konusunda hala bir fikir birliği sağlanamamıştır ve çalışma sonuçları tartışmalıdır.

Bizim çalışmamıza göre günlük 20 dak. 1800 MHz GSM modülasyonlu radyofrekans radyasyona maruziyetin ratların over dokusunda apoptozis üzerine etkisinin olmadığı bulundu. Denek sayısının az olması, günlük ve toplam RF uygulama sürelerinin kısa olması bu sonucun ortaya çıkmasında etkili olabilir.

Günümüzde farklı SAR değerleri olan cep telefonlarının gün içerisinde her yaş grubundaki kişiler tarafından devamlı yakın mesafede taşınması ve uzun süren konuşmaların yapılması sonucu daha fazla radyofrekans radyasyona maruz kaldığımız düşünüldüğünde, bu konuda geniş serili, uzun süreli elektromanyetik radyasyon maruziyetinin olduğu, ileri düzeyde çalışmaların yapılmasını önermekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Somosy Z. Radiation response of cell organelles. *Micron* 2000; 31:165-81.
2. Schirmacher A, Winters S, Fischer S, Goeke J, Galla HJ, Kullnick U, Ringelstein EB, Stögbauer F. Electromagnetic Fields 1,8 (GHz) increases the permeability to sucrose of the blood brain barrier in vitro. *Bioelectromagn.* 2000; 21: 338-345.
3. Seyhan N, Canseven AG. In vivo effects of ELF MFs on collagen synthesis, free radical processes, natural antioxidant system, respiratory burst system, immune system activities, and electrolytes in the skin, plasma, spleen, lung, kidney, and brain tissues, *Electromagn Biol Med.*, 2006; 25(4): 291–305.
4. Lahkola A, Auvinen A, Raitanen J, Schoemaker MJ, Christensen HC, Feychting M, Johansen C, Klæboe L, Lonn S, Swerdlow AJ, Tynes T, Salminen T. Mobile phone use and risk of glioma in 5 North European Countries. *Int J Cancer.*, 2007; 120(8):1769–1775.
5. Moustafa YM, Moustafa RM, Belacy A, Abou-El-Ela SH, Ali FM. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidant activities in human erythrocytes. *J Pharm Biomed Anal.*, 2001 Nov;26(4):605-8.
6. Hardell L, Mild KH, Carlberg M. Case-control study on the use of cellular and cordless phones and the risk for malignant brain tumours. *Int J Radiat Biol.*, 2002; 78: 931–936.
7. Hardell L, Mild KH, Carlberg M. Further aspects on cellular and cordless telephones and brain tumours. *Int J Onco.*, 2003; 22:399–407.
8. Oral B, Guney M, Ozguner F, Karahan N, Mungan T, Comlekci S, Cesur G. Endometrial apoptosis induced by a 900-MHz mobile phone: preventive effects of vitamins E and C. *Adv Ther.*, 2006; 23(6):957-73.
9. Meral I, Mert H, Mert N, Deger Y, Yoruk I, Yetkin A, Keskin S. Effects of 900-MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stress and some vitamin levels of guinea pigs. *Brain Res.* 2007 Sep 12;1169:120-4. Epub 2007 Jul 17.

10. Tilly JL, Kolesnick RN. Sphingolipids, apoptosis, cancer treatments and the ovary: investigating a crime against female fertility. *Biochim Biophys Acta.*, 2000; 1585:135-138,
11. Markstrom E, Svensson EC, Shao R, Svanberg B, Billig H. Survival factors regulating ovarian apoptosis - dependence on follicle differentiation. *Reprod.*, 2002; 123:23-30.
12. Tilly JL. The molecular basis of ovarian cell death during germ cell attrition, follicular atresia and luteolysis. *Front Biosci.*, 1996; 1:1-11.
13. Tilly JL. Apoptosis and ovarian function. *Rev. Reprod.*, 1996; 1:162-172.
14. Falcone T, Attaran M, Bedaiwy MA, Goldberg MJ. *Fertil. Steril.*, 2004; 81(2):243-257.
15. Morita Y, Perez GI, Maravei DV, Tilly KI, Tilly JL. Targeted expression of Bcl-2 in mouse oocytes inhibits ovarian follicle atresia and prevents spontaneous and chemotherapy-induced oocyte apoptosis in vitro. *Mol Endocrinol.* 1999; *Molecular Endocrinology* 13 (6): 841-850.
16. Revel A, Laufer N. Protecting female fertility from cancer therapy. *Mol. And Cell. Endocr.*, 2002; 187:83-91.
17. Lee CJ, Park HH, Do BR, Yoon YD, Kim JK. Natural and radiation-induced degeneration of primordial and primary follicles in mouse ovary. *Animal Reproduction Science* 2000; 59:109–117.
18. Lee CJ, Yoon YD. γ Radiation-induced follicular degeneration in the prepubertal mouse ovary *Mutation Research* 2005; 578: 247–255.
19. Lin JC. *Advances in Electromagnetic Fields in Living Systems*, New York, Volume 1, Plenum Press, 1994.
20. http://en.wikipedia.org/wiki/Motorola_DynaTAC
21. <http://inventors.about.com/library/weekly/aa070899.htm>
22. Giancoli DC. *Elements of Physics*, New Jersey, Prentice Hall Inc, 1985.
23. www.escience.anu.edu.au
24. <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/sandik/gsm.pdf>.
25. Matthes R. *Non-Ionizing Radiation*, Austria, ICNIRP–1/96, 1996.
26. Keller FJ, Gettys WE, Skove MJ. *Physics*, New York, McGraw-Hill Inc, 1995.

27. Holliday D, Resnick R. Fundamentals of Physics, 2nd ed, Singapore, John Wiley & Sons Inc, 1981.
28. Sırav B. 900 MHz ve 1800 MHz Radyo Frekans Radyasyonun Kan Beyin Bariyerine Etkisi, Doktora Tezi, Ankara, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.
29. Wilson J, Hawkes JFB. Optoelectronics, Cambridge, Prentice Hall, 1989.
30. Kalkan T. VIII. Ulusal Biyofizik Kongresi, Çevre Kirliliği Panel Konuşmaları, İstanbul, 1998.
31. Şeker S, Çerezci O. Radyasyon Kuşatması: Elektriğin ve nükleer enerjinin sağlığımıza etkileri. Boğaziçi Üniversitesi Yayınevi. İstanbul, 2000.
32. Michaelson SM, Lin JC. Biological Effects and Health Implications of Radiofrequency Radiation, New York, Plenum Press, 1987.
33. Özgüner F, Mollaoğlu H. Manyetik alanın organizma üzerindeki biyolojik etkileri. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. 2006; 13(1): 38-41.
34. ICNIRP 1998 Standards: Guidelines for Limiting Exposure to Time Varying Electric, Magnetic and Electromagnetic Fields (Up to 300 GHz), International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, Health Physics, 1998; 74: 494–522.
35. FCC (Federal Communications Commission) OET (Office of Engineering & Technology): Evaluating Compliance with FCC Guidelines for Human Exposure to Radiofrequency Electromagnetic Fields, Edition 97–01, OET Bulletin 65, August 1997.
36. IEEE Standards: IEEE Standards for Safety Levels with Respect to Human Exposure to Radio Frequency Electromagnetic Fields, 3 kHz to 300 GHz, IEEE Std. C95.1, 1999.
37. Questions and Answers about Biological Effects and Potential Hazards of Radiofrequency Electromagnetic Fields, Federal Communications Commission Office of Engineering & Technology, OET Bulletin 56, Fourth Edition, August 1999.
38. Challis LJ. Review: Mechanisms for Interaction Between RF Fields and Biological Tissue, Bioelectromagnetics Supplement 2007; 7: 98-106.

39. Suess MJ, Benwell-Morison DA. Non-Ionizing Radiation Protection, 2nd ed, Geneva, WHO, 1989.
40. Adey WR. Biological effects of electromagnetic fields. *J Cell Biochem.*, 1993; 51 (4): 410–6.
41. Vijayalaxmi Leal BZ, Meltz ML, Pickard WF, Bisht KS, Roti Roti JL, Straube WL, Moros EG. Cytogenetic studies in human blood lymphocytes exposed in vitro to radiofrequency radiation at a cellular telephone frequency 835.62 MHz, FDMA. *Radiat Res.*, 2000; 155(1): 113-21.
42. Repacholi M. Low level exposure to RF electromagnetic fields: Health effects and research needs. *Bioelectromag.*, 1998; 19: 1–19.
43. <http://www.gsmworld.com/index.shtml>.
44. Dünya Sağlık Örgütü (WHO-World Health Organization) web sitesi 2008 Available from: URL: www.who.int/peh-emf
45. Koç A. Antioksidanların Cep Telefonu İle Oluşturulmuş Testiküler Apoptozis Ve Oksidatif Stres Üzerine Etkileri, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2008.
46. İnsanların Elektromanyetik Alanlara Maruz Kalması-Yüksek Frekanslar (10 KHz-300 GHz), Türk Standartları Enstitüsü, TS ENV 50166-2, Nisan 1996.
47. The Complete SAR List For All Phones (Europe) [online]. 2008 [cited 2008 Feb 8] Available from: URL: <http://www.sarvalues.com/eu-complete.html>.
48. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.*, 1972; 26(4):239-57.
49. Kerr JF. History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology* 2002; 181: 471–4.
50. Tomatır AG. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. *T Klin Tıp Bilimleri* 2003; 23:499-508.
51. Israels LG, Israels ED. Apoptosis. *The Oncologist* 1999; 4:332-9.
52. Nagata S. Fas ligand-induced apoptosis. *Annual Review of Genetics* 1999; 33:29-55.
53. Formigli L, Papucci L, Tani A, Schiavone N, Tempestini A, Orlandini GE, Capaccioli S, Orlandini SZ. Aponecrosis: morphological and biochemical exploration of a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis. *J Cell Physiol.*, 2000; 182:41–9.

54. Norbury CJ, Hickson ID. Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 2001; 41:367–401.
55. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.*, 2007; 35(4): 495-516.
56. Soini Y, Paakkö P, Lehto VP. Histopathological evaluation of apoptosis in cancer. *Am J of Pathology* 1998; 153:1043-9.
57. Hart S. The drama of cellular death. *Bioscience* 1994; 44:451-5.
58. Hacker G. The morphology of apoptosis. *Cell Tissue Res.*, 2000; 301:5–17.
59. Kurosaka K, Takahashi M, Watanabe N, Kobayashi Y. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *J Immunol.*, 2003; 171:4672–9.
60. Thompson EB. Apoptosis. *Annual Review of Physiology* 1998; 60:525-32.
61. Nanji AA, Hiller-Sturmhöfel S. Apoptosis and necrosis: two types of cell death in alcoholic liver disease. *Alcohol Health and Research World* 1997; 21:325-30.
62. Hoepfner DJ, Hengartner MO, Schnabel R. Engulfment genes cooperate with ced-3 to promote cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2001; 412:202–6.
63. King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. *Annual Review of Physiology* 1998; 60:601-17.
64. Schuler M, Green DR. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochem Soc Trans.*, 2001; 29: 684–8.
65. Rai NK, Tripathi K, Sharma D, Shukla VK. Apoptosis: a basic physiologic process in wound healing. *Int J Low Extrem Wounds* 2005; 4:138–44.
66. Cory S, Huang DC, Adams JM. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis. *Oncogene* 2003; 22:8590–8607.
67. Kirkin V, Joos S, Zornig M. The role of Bcl-2 family members in tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1644:229–49.
68. Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *British Medical Journal* 2001; 322:1536-8.
69. Budihardjo I, Oliver HLM. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 1999; 15:269-90.
70. Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science* 2004; 305:626–9.

71. Hill MM, Adrain C, Duriez PJ, Creagh EM, Martin SJ. Analysis of the composition, assembly kinetics and activity of native Apaf-1 apoptosomes. *Embo J.*, 2004; 23: 2134–45.
72. Johnson DE. Programmed cell death regulation: basic mechanisms and therapeutic opportunities. *Leukemia* 2000; 14:1340-44.
73. Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:277–88.
74. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001; 104:487–501.
75. Suliman A, Lam A, Datta R, Srivastava RK. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and -independent pathways. *Oncogene* 2001; 20:2122–33.
76. Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science* 2002; 296: 1635–6.
77. Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH, Peter ME. Cytotoxicity dependent APO-1 (Fas/CD95)- associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *Embo J.*, 1995; 14:5579–88.
78. Saelens X, Festjens N, Vande Walle L, van Gurp M, van Loo G, Vandenabeele P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. *Oncogene* 2004; 23:2861–74.
79. Garrido C, Galluzzi L, Brunet M, Puig PE, Didelot C, Kroemer G. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria. *Cell Death Differ.*, 2006; 13:1423–33.
80. Van Loo G, Van Gurp M, Depuydt B, Srinivasula SM, Rodriguez I, Alnemri ES, Gevaert K, Vandekerckhove J, Declercq W, Vandenabeele P. The serine protease Omi/HtrA2 is released from mitochondria during apoptosis. Omi interacts with caspase-inhibitor XIAP and induces enhanced caspase activity. *Cell Death Differ.* 2002; 9(1):20-6.
81. Schimmer AD. Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice. *Cancer Res.*, 2004; 64(20):7183-90.
82. Joza N, Susin SA, Daugas E, Stanford WL, Cho SK, Li CY, Sasaki T, Elia AJ, Cheng HY, Ravagnan L, Ferri KF, Zamzami N, Wakeham A, Hakem R, Yoshida H, Kong YY, Mak TW, Zuniga-Pflucker JC, Kroemer G, Penninger JM. Essential role

- of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 2001; 410:549–54.
83. Susin SA, Daugas E, Ravagnan L, Samejima K, Zamzami N, Loeffler M, Costantini P, Ferri KF, Irinopoulou T, Prevost MC, Brothers G, Mak TW, Penninger J, Earnshaw WC, Kroemer G. Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis. *J Exp Med.*, 2000; 192:571–80.
 84. Brunner T, Wasem C, Torgler R, Cima I, Jakob S, Corazza N. Fas (CD95/Apo-1) ligand regulation in T cell homeostasis, cell-mediated cytotoxicity and immune pathology. *Semin Immunol.*, 2003; 15:167–76.
 85. Trapani JA, Smyth MJ. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat Rev Immunol.*, 2002; 2:735–47.
 86. Narula J, Kharbanda S, Khaw BA. Apoptosis and the Heart. *Chest* 1997; 112:1358-62.
 87. Gavrieli Y, Sherman Y, Sasson SAB. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *The Journal of Cell Biology* 1992; 119:493-501.
 88. Slee EA, Adrain C, Martin SJ. Executioner caspase-3, -6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis. *J Biol Chem* 2001; 276:7320–6.
 89. Sakahira H, Enari M, Nagata S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature* 1998; 391:96–9.
 90. Hussein MR. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms, *Human Reproduction* 2005; 11:162–178.
 91. Monniaux D. Oocyte apoptosis and evolution of ovarian reserve. *Gynecol Obstet Fertil.*, 2002; 30:822–826.
 92. Vaskivuo TE, Tapanainen JS. Apoptosis in the human ovary. *Reprod Biomed Online* 2003; 6:24–35.
 93. Morita Y, Tilly JL. Oocyte apoptosis: like sand through an hourglass. *Dev Biol.*, 1999; 213:1–17.
 94. Nilsson EE, Skinner MK. Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor ve promotes primordial follicle development. *Biol Reprod* 2003; 69:1265–1272.

95. Komatsu K, Manabe N, Kiso M, Shimabe M, Miyamoto H. Soluble Fas (FasB) regulates luteal cell apoptosis during luteolysis in murine ovaries. *Mol Reprod Dev.*, 2003; 65:345–352.
96. Jiang MR, Li YC, Yang Y, Wu JR. c-Myc degradation induced by DNA damage results in apoptosis of CHO cells. *Oncogene* 2003; 22:3252–3259.
97. Nvedkar TD, Dharma SJ. Expression of bcl(xs) ve c-myc in atretic follicles of mouse ovary. *Reprod Biomed Online* 2001; 3:221–225.
98. Abir R, Orvieto R, Dicker D, Zukerman Z, Barnett M, Fisch B. Preliminary studies on apoptosis in human fetal ovaries. *Fertil Steril.*, 2002; 78:259–264.
99. Ratts VS, Flaws JA, Kolp R, Sorenson CM, Tilly JL. Ablation of bcl-2 gene expression decreases the numbers of oocytes ve primordial follicles established in the post-natal female mouse gonad. *Endocrinology* 1995; 136:3665–3668.
100. Perez GI, Robles R, Knudson CM, Flaws JA, Korsmeyer SJ ve Tilly JL(1999) Prolongation of ovarian lifespan into advanced chronological age by Bax-deficiency. *Nat Genet* 21,200–203.
101. Kugu K, Ratts VS, Piquette GN, Tilly KI, Tao XJ, Martimbeau S, Aberdeen GW, Krajewski S, Reed JC, Pepe GJ, Albrecht ED, Tilly JL. Analysis of apoptosis ve expression of bcl-2 gene family members in the human ve baboon ovary. *Cell Death Differ.*, 1998;5:67–76.
102. Kim JM, Yoon YD, Tsang BK. Involvement of the Fas/Fas ligand system in p53-mediated granulosa cell apoptosis during follicular development and atresia. *Endocrinology* 1999;140: 2307–2317.
103. Porter SB. Current status of clinical trials with anti-TNF. *Chest* 1997; 112:339–341.
104. Hakuno N, Koji T, Yano T, Kobayashi N, Tsutsumi O, Taketani Y, Nakane PK. Fas/APO-1/CD95 system as a mediator of granulosa cell apoptosis in ovarian follicle atresia. *Endocrinology* 1996; 137: 1938–1948.
105. Bridgham JT, Johnson AL. Expression and regulation of Fas antigen and tumor necrosis factor receptor type I in hen granulosa cells. *Biol Reprod.*, 2001; 65:733–739.

106. Fenwick MA, Hurst PR. Immunohistochemical localization of active caspase-3 in the mouse ovary: growth and atresia of small follicles. *Reproduction* 2002; 124:659–665.
107. Boone DL, Tsang BK. Caspase-3 in the rat ovary: localization and possible role in follicular atresia and luteal regression. *Biol Reprod.*, 1998; 58:1533–1539.
108. Tilly JL, Tilly KI, Kenton ML, Johnson AL. Expression of members of the bcl-2 gene family in the immature rat ovary: equine chorionic gonadotropin-mediated inhibition of granulosa cell apoptosis is associated with decreased bax and constitutive bcl-2 and bcl-xlong messenger ribonucleic acid levels. *Endocrinology* 1995; 136:232–241.
109. Amsterdam A, Keren-Tal I, Aharoni D. Cross-talk between cAMP and p53-generated signals in induction of differentiation and apoptosis in steroidogenic granulosa cells. *Steroids* 1996; 61:252–256.
110. Svendstal BM, Johnson KJ. Fetal loss in mice exposed to magnetic fields during early pregnancy. *Bioelectromagnetics* 1995; 16:284–289.
111. Farrell JM, Litovitz TL, PenaWel M, Montrose CJ, Doinov P, Barber M. The effect of pulsed and sinusoidal magnetic fields on the morphology of developing chick embryos. *Bioelectromagnetics* 1997; 18: 431–438.
112. Zhang H, Zhang X, Yuan Z, Li X, Li W, Zhou Q, Min F, Xie Y, Liu B, Duan X. Germ cell loss induced by 12C6+ ion irradiation in young female mice. *J Radiat Res.*, 2006; 47(2):131-4.
113. Hoyes KP, Cai WB, Potten CS, Hendry JH. Effects of bcl-2 deficiency on radiation response of clonogenic cells in small and large intestine, bone marrow and testis. *Int. J. Radiat. Bio.*, 2000; 76:1435–1442.
114. Gul A, Celebi H, Uğraş S. The effects of microwave emitted by cellular phones on ovarian follicles in rats, *Arch Gynecol Obstet.*, 2009; 280(5):729-33.
115. Guney M, Ozguner F, Oral B, Karahan N, Mungan T. 900 MHz radiofrequency-induced histopathologic changes and oxidative stress in rat endometrium: protection by vitamins E and C. *Toxicol Ind Health.*, 2007; 23(7):411-20.
116. Joubert V, Bourthoumieu S, Leveque P, Yardin C. Apoptosis is Induced by Radiofrequency Fields through the Caspase-Independent Mitochondrial Pathway in Cortical Neurons. *Radiat. Res.*, 2008; 169: 38-45.

117. Zhao TY, Zou SP, Knapp PE. Exposure to cell phone radiation up-regulates apoptosis genes in primary cultures of neurons and astrocytes. *Neurosci Lett.*, 2007; 412(1):34-8.
118. Yilmaz F, Dasdag S, Akdag MZ, Kilinc N. Whole-body exposure of radiation emitted from 900 MHz mobile phones does not seem to affect the levels of anti-apoptotic bcl-2 protein. *Electromagn Biol Med.*, 2008; 27(1):65-72.
119. Dasdag S, Akdag MZ, Ulukaya E, Uzunlar AK, Yegin D. Mobile phone exposure does not induce apoptosis on spermatogenesis in rats. *Arch Med Res.*, 2008; 39(1):40-4.