

CEP TELEFONLARINDAN YAYILAN 900 MHZ ELEKTROMANYETİK ALANIN SIÇAN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ali Kudret Adiloğlu,¹ Dr. Ahmet Koyu,² Dr. İlker Pakbaş³ Dr. Mehmet Fehmi Özgüner²

¹ Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

² Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, Isparta

³ Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Isparta

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, 900 MHz radyo dalgasının (RD) sıçan lenfosit alt grup yüzdelere ve lenfositler üzerindeki aktivasyon belirteçlerine olan olası etkilerini in vivo olarak saptamaktır.

Materyal ve Metod: Yirmi iki haftalık Sprague Dowley cinsi sıçanlar, kısa çalışma, kısa kontrol, uzun çalışma ve uzun kontrol olmak üzere toplam 4 gruba ayrıldı. Her grupta 15'er sıçan çalışmaya alındı, ancak çalışma esnasında enfeksiyon ve teknik problemler nedeniyle her gruptan 2 sıçan çalışmadan dışlandı ve analizlere 13 sıçan dahil edildi. Kısa ve uzun çalışma grubu sıçanları sırasıyla 1 ve 4 hafta, haftada beş gün günde 30 dakika RD'ye maruz bırakıldı ve kısa ve uzun kontrol grupları da çalışma gruplarına eşdeğer zamanlarda -RD maruziyeti hariç- aynı şartlarda tutuldu. Bu işlem sonrası; total lökosit sayımı, akım sitometrik inceleme ile lenfosit alt grupları ve aktive olmuş lenfositlerin yüzdeleri monoklonal antikorlarla

işaretleme sonrası saptandı. Aynı gruplarda, serum sitokin düzeyleri de Th1 veya Th2 baskın yanıtı saptayabilmek için ölçüldü.

Bulgular: Toplam lökosit sayılarında, CD3, CD4, CD8, CD45RA ve CD25 lenfosit yüzey reseptörü yüzdelerinde ve serum IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde kısa ve uzun dönem çalışma ve ilgili kısa ve uzun dönem kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmadı.

Sonuç: Kısa ve uzun dönem RD çalışma ve ilgili kontrol grupları arasında bakılan parametrelerde fark saptanmamıştır. Bir ay süreyle cep telefonu RD maruziyetinin sıçanların lenfosit altgruplarında değişiklik oluşturmadığını ve Th1 veya Th2 yanıtı uyarmadığını söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Bağışıklık sistemi, cep telefonu, elektromanyetik alanlar, radyo dalgası, sıçan Nobel Med 2012; 8(2): 41-48

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF 900 MHZ ELECTROMAGNETIC FIELDS EMITTED FROM CELL PHONES ON RAT IMMUNE SYSTEM

ABSTRACT

Objective: The aim of present study was to investigate the probable effects of 900 MHz radiofrequency (RF) radiation on rat lymphocyte subgroup percentages and activation markers on the lymphocytes in vivo.

Material and Method: Twenty-two weeks old Sprague Dowley rats were divided into four groups as: short study, short control, long study and long control (1-4). A final number of 13 rats per group were approved for analysis from 15 rats per group because of infection and technical problems. Short and long study groups were exposed to 900 MHz RF radiation for 1 week and 4 weeks respectively, 5 days a week, 30 minutes each day. The corresponding short and long control groups were exposed

to the same conditions for the same time like study groups, except RF exposure. After this procedure, total leucocytes/ml, lymphocyte subgroups' percentages, and the percent of activated lymphocytes were detected by flow cytometry. Serum cytokine levels were measured for determining the Th1 or Th2 dominant response in the same rat groups.

Results: Total leukocyte counts, CD3, CD4, CD8 percentages and CD45RA and CD25 lymphocyte activation markers, and serum levels of IL-4, IL-10, TNF- α and IFN- γ levels were not significantly different among the short and long term RF and corresponding short and long control groups.

Conclusion: Our results show that RF exposure of one month does not influence the lymphocyte percents and activations as well as Th1 or Th2 response.

Key Words: Immune system, cellular phone, electromagnetic fields, radio frequency, rat *Nobel Med 2012; 8(2): 41-48*

GİRİŞ

Elektromanyetik alan (EMA) kaynaklarına ve özellikle de cep telefonlarından yayılan radyo dalgalarına (RD) -bu cihazların kullanımının hızla yaygınlaşmasına paralel olarak- artan ölçüde maruz kalmaktayız. Bu dalgaların insan sağlığına zararlı etkilerinin olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır.¹⁻³

Son yıllarda cep telefonlarından yayılan radyasyonun yan etkileri üzerine yapılan çalışmalar hızla artmaya başlamıştır. RD ve diğer cihazların çevreye yaydığı EMA'nın, insanlar üzerinde fiziksel ve nöral asteni (halsizlik), uyku bozuklukları, baş ağrısı, miyalji, ekstremitelerin dizestezi gibi olumsuz etkilere neden olduğu yapılan birçok deneysel çalışma ile gösterilmiştir.⁴⁻⁶ Benzer şekilde, yüksek frekanslı elektromanyetik (EM) dalgalarının endokrin ve sinir sistemi üzerine olumsuz etkileri olabileceğini gösteren pek çok çalışma mevcuttur.⁷⁻⁹

2 yıl (ortalama=13 yıl) elektromanyetik alana maruz kalan kadınlardan alınan periferik kan örneklerinde bağışıklık sistemi parametrelerinde değişiklikler saptanmışlardır. Elektromanyetik alana maruz kalan grupta, kandaki CD3⁺-CD16⁺, CD3⁺-CD8⁺, CD3⁺-CD25⁺ B hücreleri, CD3⁺-HLA-DR⁺ B hücreleri ve aktive olmuş NK lenfositlerinde istatistiksel olarak belirgin azalma saptanmıştır.¹⁰ In vitro nöron hücrelerinde yapılan çalışmalarda, RD maruziyeti, kolinerjik hücrelerin proliferasyonunu ve kortikal hücrelerin yaşayabilirliğini değiştirmemiştir.¹¹ Primer nöron kültürlerinin 1800 MHz RD'ye maruziyeti 8-hidroksi guanine seviyelerini arttırarak mitokondriyel DNA'nın oksidatif hasarına sebep olmuştur.¹²

Radyo dalgası radyasyonunun bağışıklık sistemi üzerine olası etkileri konusunda yapılan araştırmalarda zararlı olduğuna dair kesin kanıtlar bulunmamakla beraber tamamen zararsız diyebilecek kadar kapsamlı çalışmalar da yoktur.¹³ Mobil telefonların yaygın kullanımı ve elektromanyetik alan maruziyetinin karsinojenik etkileri ile ilgili raporlar RD'nin bağışıklık sistemine olan olası istenmeyen etkilerini araştırmaya olan ilgiyi artırmıştır.^{14,15} Hücrel bağışıklık sisteminin tam olarak çalışmaması sonucu kanser hücrelerini yok etme işleminin yetersiz düzeyde kalacağı bilinmektedir. Bu bulgular göz önüne alındığında cep telefonu maruziyetinin bağışıklık sistemi üzerine istenmeyen etkilerine yönelik daha kapsamlı, prospektif in vivo bir çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızın amacı, 900 MHz RD maruziyetinin lenfosit alt grupları yüzdelere ve lenfosit aktivasyonuna olan olası etkilerini ve serum sitokin profiline etkilerini in vivo olarak araştırmaktır. Bu çalışmada, serum örneklerinde Th1 cevabını değerlendirmek için TNF- α ve IFN- γ , Th2 cevabını değerlendirmek amacıyla da IL-4 ve IL-10 düzeylerinin ölçülmesi planlandı. Bir başka deyişle, RD'ye maruz kalmanın hücrel veya sıvısal bağışıklık sistemlerinden birisinin uyarılmasına neden olup olmadığını saptamaktır.

MATERYAL ve METOD

Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları ve Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında yapılmıştır. Sıçan deneyleri, 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (www.nap.edu/catalog/5140.html) prensipleri doğrultusunda →

yapılıp hayvan hakları korunmuştur. Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulundan onay almıştır.

Deney Düzenegi

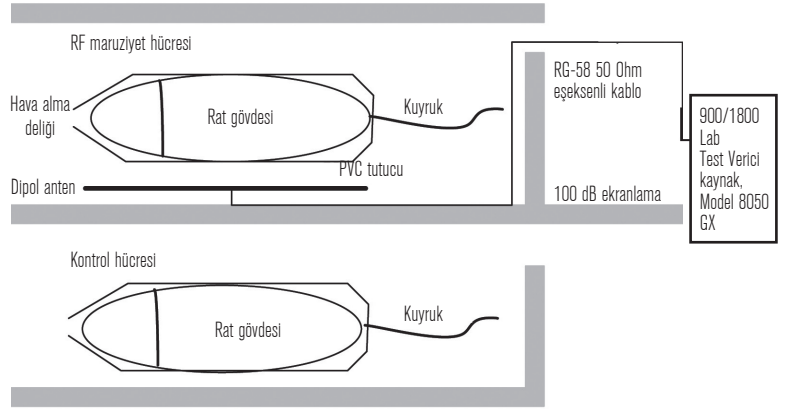
Deney hayvanlarına uygulanan RD maruziyeti için kurulan sistem, Chou ve ark. tarafından kurgulanmış deney düzenegi sistemidir.¹⁶ Deneyde kullanılan RD düzeneginde, 900 MHz darbeleri sinyali kullanan cep telefonu sisteminde tekrarlama frekansı 217 Hz ve darbe genişliği 0,6 ms (milisaniye)'dir.¹⁷ Yarım dalga dipol anteni, PVC tutucusunun hemen altından (3 mm) sabitlenmiştir. Deney odasında, kontrol ile maruziyet ortamını birbirinden ayıran elektriksel iletken ekranın 900 MHz'deki ekranlama verimliliği 100 dB (desibel) kadardır. RD kaynağı (SET ELEC. CO. 900/1800 Lab Test Transmitter, Model 8050 GX, İstanbul/Türkiye) deney odasında bozucu etki oluşturabilecek diğer kaynakları tespit etmek için spektrum analizör PROMAX, AE-566 (Barcelona/Spain) model ve problemleri kullanılmıştır. Test vericisinin anteninden yayılan enerji, verici üzerindeki kontrol düğmesinden ayarlanabilmektedir.

Deneyde kullanılan RD emisyon limitleri, 900 MHz cep telefonu için standart kuruluşlarca sınırlandırılmıştır (FCC, 1993). Deney esnasındaki emisyonun kurallara uygunluğu Süleyman Demirel Üniversitesi Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği tarafından ölçülerek test edilmiştir.

Şekil 1'de görüldüğü gibi test cihazını antene bağlayan kablo 50 Ohm'luk özel RD kablosudur. Bu düzenekte kontrol grubu, çalışma grubundan ve çevreden özel bir ekran ile ayrılmıştır. Deneyin her aşamasında yansımalar, tekrarlama frekansı ve genlik satelitte receiver (PROMAX, MC-877C. Barcelona/Spain) cihazı kullanılarak gözlenmiştir. Ayrıca Portable RD Survey System HOLADAY, HI-4417 (MN/USA) cihazı ve bu cihazın probu kullanılarak maruziyet grubunun maruz kaldığı elektrik alan büyüklüğü ölçülmüştür. Bu cihazın probu üç boyutlu olarak XYZ eksenlerinden gelen RD enerjisine ait elektrik alan büyüklüğünü toplamaktadır. Cihaz, ölçülen değeri sayısal olarak göstermektedir.

Değerlendirmede SAR (spesifik soğurma oranı) değerleri olarak yeterli güç yoğunluğu (mW/cm^2) ve elektrik alan yoğunluğu (V/m) ($3,31 (mW/cm^2)$) değerlerine ulaşılmıştır ve manyetik alan değeri 0,013 (A/m) olarak ölçülmüştür. Cihaz, bu deney şartlarında hayvanın tüm vücut SAR değerini 0,008 ile 4,2 W/kg arasında değiştirebilmektedir.

Bu çalışmada, termal ve termal olmayan etkilerin kü-



Şekil 1. Deney düzeneginin şematik çizimi



Resim 1. 900 MHz radyo dalgası üreten cihaz ve düzenegi

mülatif sonuçlarını görmek için, tüm vücutta 0,13 W/kg SAR değerine ulaşacak şekilde, sıçan derisinin hemen üzerinde 5 V/m elektrik alan yoğunluğu oluşturmak üzere cihaz ayarlanmıştır. (Resim 1)

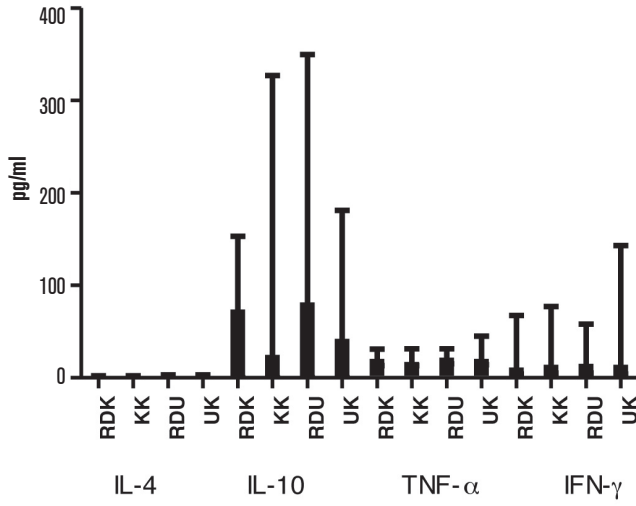
900 MHz GSM şebekeleri için kabul edilen E (V/m) ve S ($\mu W/cm^2$) sınır değerleri sırasıyla 42 V/m ve 10 mW/cm² dir. Bizim değerlerimiz sınır değerlerinin altındadır.

Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması

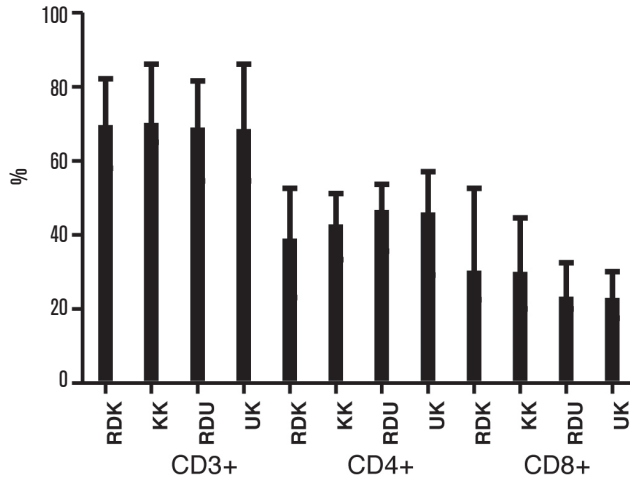
Çalışmamızda 22 haftalık 220-310 gr ağırlığında (ortalama 260 gr), 60 adet Sprague Dowley türü erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir.

Yirmi iki haftalık Sprague Dowley cinsi sıçanlar, kısa çalışma (RD radyasyonuna maruz bırakılan), kısa kontrol, uzun çalışma ve uzun kontrol olmak üzere toplam 4 gruba ayrıldı. Her grupta 15'er sıçan çalışmaya alındı, ancak çalışma esnasında enfeksiyon, ölüm, çalışılan testlerde insan ve cihaz kaynaklı hatalar nedeniyle her gruptan 2 sıçan çalışmadan dışlandı ve analizlere 13 sıçan dahil edildi. →

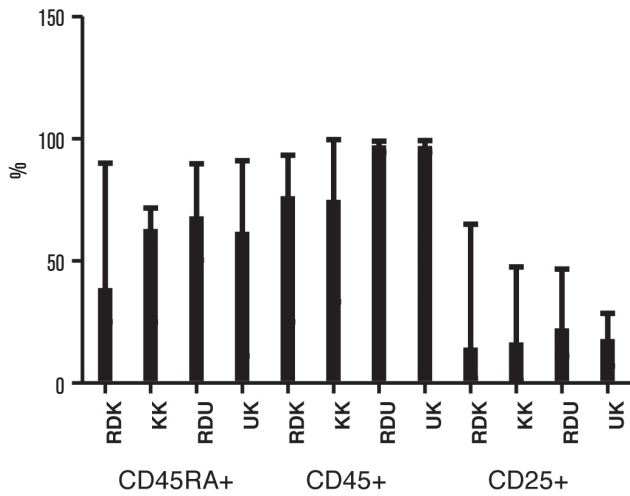
CEP TELEFONLARINDAN YAYILAN 900 MHZ ELEKTROMANYETİK ALANIN SİÇAN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI



Şekil 2. Çalışma gruplarına ait serum sitokin düzeylerinin (pg/ml) ortanca (minimum-maksimum) değerleri. RDK: radyo dalgası kısa, KK: kısa kontrol, RDU: radyo dalgası uzun, UK: uzun kontrol, IL-4: interlekin-4, IL-10: interlekin-10, TNF-α: tümör nekroz faktörü-α, IFN-γ: interferon-γ.



Şekil 3. Çalışma gruplarına ait lenfosit alt gruplarının toplam lenfositte yüzde olarak oranları. Yüzdeler ortanca (minimum-maksimum) değerler üzerinden hesaplanmıştır. RDK: radyo dalgası kısa, KK: kısa kontrol, RDU: radyo dalgası uzun, UK: uzun kontrol



Şekil 4. Çalışma gruplarına ait lökosit belirteçlerinin toplam lökositlere yüzde olarak oranları. Yüzdeler ortanca (minimum-maksimum) değerler üzerinden hesaplanmıştır. RDK: radyo dalgası kısa, KK: kısa kontrol, RDU: radyo dalgası uzun, UK: uzun kontrol

Gruplardaki sıçanların deney öncesi ortalama ağırlıkları, 5 günlük RD grubunda (RDK) (Radyo frekansı kısa) 255 gr, kontrol grubunda (KK) (kontrol kısa) 260 gr, 4 haftalık RD grubunda (RDU) (radyo frekansı uzun) 260 gr ve bunun kontrol grubunda (KU) (kontrol uzun) 265 gr idi. Gruplar arasında ortalama ağırlık bakımından anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$) Sıçanlara elektromanyetik alan uygulaması, Süleyman Demirel Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Elektromanyetik Alan Laboratuvarında yürütüldü. Sıçanlar, standart mevsimsel ışık ve ısı koşullarında (22 °C) tutuldu ve sınırlama yapılmadan çeşme suyu ve standart sıçan pellet yemi ile beslendi.

I. 900 MHz Manyetik Alan Grupları

Manyetik alan maruziyetini sağlamak için Şekil-1 de şeması gösterilmiş olan dipol anten ve içine ancak bir sıçanın sığabileceği büyüklükteki PVC tutucu kullanıldı (Şekil 2). Bu grup sıçanlar, tutucu içerisinde 900 MHz frekanslı manyetik alana günde 30 dk. maruz bırakıldı. Manyetik alan, kısa gruba 5 gün (RDK), uzun gruba (RDU) da haftada 5 gün olmak üzere 4 hafta boyunca uygulandı. Uygulamanın bitiminden hemen sonra hayvanlardan genel anestezi altında kan alındı.

II. Kontrol Grupları

Kısa (KK) ve uzun kontrol (KU) grupları ise kısa ve uzun RD gruplarıyla birlikte, manyetik alan uygulaması dışında aynı şartlara tabi tutuldu. Manyetik alan gruplarındaki sıçanların manyetik alana maruz bırakılması esnasında dar PVC tutucu içine sokulmalarından dolayı yaşayacakları stresi kontrol gruplarındaki sıçanların da yaşaması amacıyla bu gruplardaki sıçanlar da aynı büyüklükteki tutucu içine sokularak manyetik alandan uzak ancak ortam şartları aynı olan şartlarda bekletildi.

Sıçanlardan Kan Alımı ve Serumun Ayrılması

Sıçanlardan, deney sonunda ketamin (80 mg/kg, ip) + ksilazin (10 mg/kg, ip) ile anestezi uygulandıktan sonra, vena cava'dan kan alındı. Kan örnekleri biyokimya tüplerine (Vacuette 8 ml jelli) ve EDTA'lı tüplere nakledildi. Biyokimya tüplerine alınan kanlar 1878 g'de 5 dk. santrifüj edilerek serumları elde edildi ve 1,5 cc'lik tüplere ayrılarak -80 °C de saklandı. EDTA'lı tüplerden alınan kan örneklerinden aynı gün manuel lökosit sayımı ve akım sitometri çalışması yapıldı.

Manuel Lökosit Sayımı

Lökosit sayma eriyiği; 30 ml glacial asetik asit+0,4 gr kristal viyole, damıtık su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlandı. EDTA'lı tüpe alınan kan, lökosit sayma eriyiği →

ile 10 kat sulandırılarak Thoma lamının sayma kamerasına yayıldı ve ışık mikroskobu altında sayım yapıldı.

Akım Sitometrisi Analizi

Lenfositlerin immünofenotiplendirilmesi, fluoresan izotiyosiyanat (FITC) veya phycoerytrin (PE) ile direkt bağlı monoklonal antikorlar (MoAb) kullanılarak, lökosit yüzeylerindeki reseptörler çalışıldı. Çalışmada CD3 PE/CD4 FITC ve CD3 PE/CD8b FITC ile birlikte ikili olarak, CD45, CD45RA ve CD25 ise ayrı tüplerde teker teker çalışıldı.

Tüm numuneler akım sitometri ile (FACS Calibur 3A, Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) çalışıldı ve sonuçlar CellQuest Pro yazılımı (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) ile analiz edildi. Sonuçlar forward scatter/side scatter ve side scatter/CD45 grafikleri yardımıyla oluşturulan lenfosit kapısındaki hücrelerin CD ile işaretli hücrelere oranları olarak hesaplandı ve yüzde olarak kaydedildi.

Sitokin Ölçümü

Serum sitokin düzeyleri ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) yöntemiyle çalışıldı. Serumlar çalışma gününe kadar -80 °C 'de saklandı ve bir kez çözülürken sitokin çalışması için kullanıldı. Çalışmada, Bender Medsystems (Bender Medsystems GmbH Campus Vienna Biocenter 2 A-1030 Vienna, Austria) firmasının kitleri kullanıldı (rat IL-4; BMS628, rat IL-10; BMS629, rat IFN γ ; BMS621, rat TNF α ; BMS622). Sonuçlar, Curve Expert 1.1 Quadratik Fit analiz programı ile çizilen doğrusal eğriler üzerinden değerlendirildi.

İstatistiksel Değerlendirmeler

İstatistiksel değerlendirmeler, "SPSS® 15.0 for Windows" istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Bağımsız iki grubun karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapıldı. $p < 0,05$ olan değerler anlamlı kabul edildi. Her grup için ayrı ortanca, minimum ve maksimum değerler hesaplandı.

BULGULAR

900 MHz dalga frekanslı elektromanyetik alanın bağımlılık sistemi üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmada, kısa grup olarak RDK ve KK'ye, 4 haftalık uzun grup olarak RDU ve KU'ya ait lökosit, lenfosit alt grupları ve sitokin sonuçları Tablo 1, 2 ve 3'te, ve grafiksel olarak da, Şekil 2, 3 ve 4'te gösterilmiştir. Tablolarda grup içi ortanca, minimum ve maksimum değerleri ile gruplar arası istatistiksel anlamlılık (p değerleri) verilmiştir.

Tablo 1: Gruplara ait toplam lökosit sayısı (/mm³), lenfosit alt gruplarının toplam lenfositlere oranlarının yüzde olarak değerleri

Gruplar	Toplam lökosit	CD3+ (T lenfositleri)	CD4+ (Yardımcı T lenfositleri)	CD8+ (Sitotoksik T lenfositleri)
I-RDK (n=13)	10600 (7400-14000)	69,70 (58,00-82,20)	39,00 (23,10-52,60)	30,40 (22,50-52,60)
II-KK (n=13)	10300 (8100-12600)	70,30 (65,00-86,10)	42,90 (33,40-51,20)	30,00 (20,00-44,60)
III-RDU (n=13)	10100 (8200-16800)	69,00 (54,60-81,60)	46,80 (35,60-53,70)	23,40 (20,00-32,50)
IV-UK(n=13)	10600 (7500-15000)	68,65 (54,60-86,10)	46,10 (29,20-57,10)	23,00 (17,50-30,10)
p değerleri				
I-II	0,719	0,898	0,174	0,608
III-IV	0,980	0,858	0,837	0,590

Yüzdeler ortanca (minimum-maksimum) değerler üzerinden hesaplanmıştır. RDK: radyo dalgaları kısa, KK: kısa kontrol, RDU: radyo dalgaları uzun, UK: uzun kontrol

Çalışma sırasında hayvanlarda belirgin bir davranışsal değişiklik gözlemlenmemiştir. Çalışmamızda, sıçanların 900 MHz EMA'ya 5 gün veya 4 hafta süreyle maruz kalmasının toplam lökosit sayısında ve CD3, CD4, CD8, CD45, CD45RA ve CD25 yüzdelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yapmadığı gösterilmiştir ($p > 0,05$) (Tablo 1 ve Tablo 2).

Dört hafta süreli RD grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ($p = 0,182$) CD25⁺ lenfositlerde artış görülmüştür (Tablo 2). Kısa ve uzun 900 MHz RD maruziyeti sonrası RD ve kontrol grupları arasında ölçülen IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 3). Kısa ve uzun RD uygulamaları sonrası IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmasının (RDK-KK) ve (RDU-KU) p değerleri sırası ile şöyledir: IL-4: $p = 0,476$ ve $p = 0,075$; IL-10: $p = 0,065$ ve $p = 0,101$; TNF- α : $p = 0,898$ ve $p = 0,979$; IFN- γ : $p = 0,316$ ve $p = 0,140$.

İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da 4 haftalık RD uygulaması sonrası IL-4 değerlerinde ($p = 0,075$) ve 5 günlük RD uygulaması sonrası IL-10 değerlerinde ($p = 0,065$) bir artış görülmüştür (Tablo 3).

TARTIŞMA

Cep telefonlarının ve baz istasyonlarının yaydığı radyasyonun insan dokularında oluşturduğu zararları ve ısı etkisini ifade etmek için SAR (spesifik absorbtion ratio-spesifik soğurma oranı) değeri belirlenmiş ve standartlar getirilmiştir. İnsan vücut sıcaklığını 1°C artıran elektromanyetik enerji soğurulmasının insana zararlı olduğu kabul edilmiştir. Bu değer: 4 Watt/kg'dır. Bu değer 10'da 1'i meslekleri gereği elektromanyetik alanlara maruz kalanlar için (0,4 W/kg), 50'de 1'inin ise genel halk maruziyeti için (0,08 W/kg) limit değer olarak kabul edilmiştir.¹⁸⁻²⁰ Literatür çalışmalarında araştırmacılar 0,1 W/kg SAR değerinden sonra

CEP TELEFONLARINDAN YAYILAN 900 MHZ ELEKTROMANYETİK ALANIN SIÇAN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tablo 2: Gruplara ait kan lökosit belirteçlerinin toplam lökositlere oranının yüzde olarak değerleri

Gruplar	CD45RA+(Naif T lenfosit belirteci)	CD45+(Panlökosit belirteci)	CD25+ (T, B lenfosit ve Makrofaj aktivasyon belirteci)
I- RDK (n=13)	38,90 (25,00-90,00)	76,60 (25,00-93,30)	14,50 (2,10-65,00)
II- KK (n=13)	63,00 (24,90-71,70)	75,00 (33,30-99,70)	16,70 (1,10-47,50)
III-RDU (n=13)	68,30 (50,30-89,80)	97,30 (94,40-99,10)	22,40 (11,10-46,70)
IV-KU (n=13)	61,90 (11,00-91,00)	97,10 (94,60-99,30)	18,00 (7,00-28,50)
p değerleri			
I-II	0,383	0,980	0,858
III-IV	0,521	0,739	0,182
Yüzdeler ortanca (minimum-maksimum) değerler üzerinden hesaplanmıştır. RDK: radyo dalgaları kısa. KK: kısa kontrol, RDU: radyo dalgaları uzun, UK: uzun kontrol			

biyolojik fonksiyonların değiştiğini rapor etmektedirler.²¹ Bu çalışmada, sıçanlara 0,13 W/kg SAR değerine ulaşacak şekilde RD uygulaması yapılmıştır.¹⁹

Bağışıklık sistemi kabaca, sıvısal ve hücrel bağışık yanıt mekanizmalarından oluşur. Bağışıklık sisteminde olan değişiklikleri anlayabilmek için hem bağışıklık sistemi hücrelerini, hem de serumdaki belirteçleri saptamak gerekir. Yapılan bazı çalışmalarda, GSM dalgalarının sıçan ve farelerde, lenfosit alt grupları oranlarında değişikliğe yol açmadığı bulunmuştur.^{22, 23}

Chagnaud ve Veyret, 10 ardışık gün boyunca günde 2 saat uygulanan GSM ayarındaki (900 MHz, ortalama 55 ve 200 μ W/cm² güçte, 1/8 doluluk oranı, 217 Hz tekrar oranı) mikrodalganın Sprague-Dawley sıçanlarının lenfosit alt gruplarına ve normal mitojenik yanıtlarına etkisini, akım sitometrik analiz ve kolo-rimetrik metod kullanılarak araştırmışlardır. Dalak lenfositlerinin yüzey fenotiplerinde [CD4, CD8, Ia Ag (B hücreler)] veya mitojenik aktivitelere herhangi bir değişiklik bulunamamış ve düşük seviyede atımlı mikrodalgaların bağışıklık sisteminin bütünlüğüne etkisi olmadığını belirtmişlerdir.²²

Gatta ve ark., 900 MHz GSM ayarında RD'nin farelerin dalak hücreleri üzerine etkisini araştırmışlardır (gruplar 1, 2 ve 4 hafta süreyle 2 saat/gün 1 veya 2 W/kg SAR maruziyeti olarak düzenlenmiştir). Radyofrekans radyasyon maruziyetinin periferik lenfositler üzerine olası etkilerini değerlendirmek için lenfosit alt gruplarının yüzdeleri ve fonksiyonel parametreler (proliferasyon, aktivasyon belirteçlerinin ekspresyonu, sitokin üretimi) analiz edilmiştir. 1, 2 ve 4 hafta süreyle 1 veya 2 W/kg maruziyetin toplam dalak hücre sayılarına, B ve T lenfosit frekanslarına, T veya B lenfosit alt gruplarının CD69 ve CD25 ekspresyonuna bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Bir hafta maruziyetin CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit alt gruplarına da etkisi olmadığı gösterilmiştir.²³ Cep telefonu frekansında EMA kullanılarak yapılan ve lenfosit alt gruplarının değerlendirildiği insan çalışması, bildiğimiz kadarıyla bulunma-

maktadır. Ancak, farklı EMA'ların kullanıldığı birkaç çalışma vardır. Graham ve ark.'nın 40-60 yaş arasında 22 erkek ve 24 kadın deneğin gece boyunca (23.00-07.00) 50 Hz, 28,3 mikro Tesla (μ T) EMA'ya maruz bırakıldıkları çalışmada CD3, CD4, CD8 ve NK hücre oranları açısından anlamlı fark bulunamamıştır. Aynı çalışmada total lökosit, monosit, granülosit ve lenfosit sayısı açısından da fark görülmemiştir.²⁴

Prisco ve arkadaşları, X-ışını ile ışınlanmış farelere, in vitro şartlarda RD-maruziyetli ve sham maruziyetli kemik iliği hücreleri enjekte etmişler; 3 ve 6 hafta sonra gruplar arasında timus ve dalak hücrelenmesini karşılaştırmışlar ve hücre farklılaşması (CD4/CD8 oranları), hücre sayıları, B ve T hücresi proliferasyonu ve IFN- γ üretimi bakımından bir fark saptamamışlardır.²⁵

Boscol P ve ark., elektromanyetik alana maruz kalan kadınlarda periferik kan mononükleer hücrelerinin blastogenezinin stimülasyon indeksi kontrol grubundakilerden daha düşük bulunmuştur. CD3⁺, CD4⁺, CD3⁺-CD8⁺, CD3⁺-CD25⁺ lenfositlerde ise anlamlı fark görülmemiştir. Çalışma, yüksek frekanslı elektromanyetik alanların kadınların periferik kanlarındaki sitotoksik aktiviteyi, bir doz yanıt etkisi olmadan azalttığını göstermiştir.¹⁰

Chagnaud ve Veyret ile Gatta ve ark., yaptıkları deneylerde bizim de kullandığımız gibi 900 MHz EMA'yı, Graham ve ark. ise 50 Hz EMA'yı, ve insan deneklerini kullanmışlardır.²²⁻²⁴ Boscol ve ark.'nin çalışmasında ise, EMA ve diğer koşullar farklıdır.¹⁰

Bizim çalışmamızda; 5 gün ve 4 hafta (haftada 5 gün), günde 30 dk. 900 MHz dalga frekansında EMA'ya maruz bırakılan sıçanların lökosit sayısında, CD3, CD4, CD8, CD45, CD45RA ve CD25 oranlarında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmamıştır. 4 hafta süreli EMA grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da (p=0,182) lenfositlerde CD25 ekspresyonunda artış görülmüştür. CD 25 ekspresyonu; T, B lenfosit ve makrofaj aktivasyonunu göstermektedir. Bu sonuçlar, yukarıda belirtilen araştırmacıların sonuçları ile uyumludur.

Sitokinler, küçük miktarlarda bile etkili olabilen, kısa yarı ömürlü, parakrin ve otokrin aktiviteyi yanında, periferik dolaşım ile vücudun uzak bölgelerine ulaşarak endokrin aktivite gösterebilen moleküllerdir. Bazı durumlarda serumda saptanabilir konsantrasyonlara ulaşabilirler. Gatta ve ark., 900 MHz GSM ayarında radyasyonun (1, 2 ve 4 hafta süreyle 2 saat/gün 1 veya 2 W/kg SAR maruziyeti) farelerin dalak hücrelerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, sitokin salgılanmasını da değerlendirmişlerdir. Dalak hücre kültürlerinden elde edilip anti-CD3 ve anti-CD28 moAb ile uyarılan süpernatantlar IL-2 ve IFN- γ varlığı için analiz edilmiştir. Sonuçlar →

1, 2 veya 4 hafta süreyle maruziyetin IL-2 üretimine etki etmediğini göstermiştir. Bununla beraber, farenin T lenfositleri, 1 hafta süreyle 1 veya 2 W/kg RD radyasyona maruz kaldığında, IFN- γ düzeyi, kontrol grubu veya yalancı maruziyet uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. İlginç olarak, maruziyetten 2 ve 4 hafta sonra IFN- γ üretimi bütün gruplarda benzer seviyelerde saptanmıştır.²³

Tuschl ve ark. tarafından yapılan çalışmada, insan kanı kullanılarak bağışıklık hücreleri 1950 MHz GSM Basic, 1 mW/g SAR ve aralıklı modda (5 dk sinyal açık, 10 dk kapalı) ve maksimum 0,06 °C ısı değişimi olan ortamda 8 saat süresince ışınlanmıştır. Lenfositlerde IL-2 ve INF- γ , monositlerde hücre içi IL-1 ve TNF- α üretimi monoklonal antikorlar kullanılarak değerlendirilmiştir. Bağışıklıkla ilişkili genlerin aktiviteyi [IL-1 α ve β , IL-2, IL-2 reseptörü, IL-4, makrofaj koloni stimulating faktör (MCSF) reseptörü, TNF- α ve TNF- α reseptörü] ve housekeeping genleri gerçek zamanlı PCR ile analiz edilmiştir. Lenfokin aktive killer hücrelerin (LAK hücreler) bir tümör hücre dizisine karşı sitotoksitesite akım sitometrik test kullanılarak gösterilmiştir. Sonuçta, ışınlanmanın istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanmamış ve mobil telefonlardan kaynaklanan emisyonların insan bağışıklık sistemine menfi etkileri bulunamamıştır.²⁶

Bu çalışmada, deneyde kullandığımız 900 MHz RD radyasyonu dışında, farklı EMA ve koşulların olduğu çalışmaları da inceledik.

Ikeda ve ark.'nın yaptığı çalışmada, 50 ve 60 Hz manyetik alanlara maruziyetin sağlıklı gönüllü erkeklerden elde edilen insan periferik kan mononükleer hücrelerinin bağışıklık fonksiyonları üzerine etkileri; NK ve LAK aktiviteyi ile INF- γ , TNF- α , IL-2 ve IL-10 üretimi ölçülerek değerlendirilmiştir. Periferik kan mononükleer hücreler 50 ve 60 Hz'de doğrusal polarize (vertikal), dairesel polarize ve eliptik polarize olmak üzere üç farklı elektromanyetik alana maruz bırakılmıştır. Manyetik değişim yoğunlukları dik alanda 500, 100, 20 ve 2 μ T(rms) olarak, döngüsel alanlarda 500 μ T olarak ayarlanmıştır. Deney çeşitlerinin tamamında 1 μ l/ml fitohemaglutinin ile uyarılmış insan periferik kan mononükleer hücreleri tarafından üretilen IL-10, TNF- α ve INF- γ düzeylerinde istatistiksel anlamlı baskılanma ya da artış görülmemiştir.²⁷

Boscol ve ark., radyo-televizyon yayın istasyonlarının çevresinde yaşayan ve bu nedenle en az 2 yıldır (ortalama=13 yıl) elektromanyetik alana maruz kalan kadınlardan aldıkları periferik kan örneklerinde PHA (fitohemaglutinin) ile inkübe edilmiş olan ve olmayan periferik kan mononükleer hücrelerinin in vitro ürettiği IL-2 ve INF- γ , kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük bulunmuştur. Diğer yandan, maruziyet

Tablo 3: Gruplara ait serum sitokin düzeylerinin (pg/ml) ortanca (minimum-maksimum) değerleri

Gruplar	IL-4	IL-10	TNF- γ	IFN- γ
I- RDK (n=13)	0,97 (0-2,15)	73,80 (0-153,00)	20,60 (13,00-31,30)	11,00 (4,00-67,50)
II- KK (n=13)	0,06 (0-2,04)	24,70 (0-327,00)	17,00 (13,00-31,50)	14,00 (5,00-77,90)
III-RDU (n=13)	0,98 (0-3,18)	81,60 (0-349,70)	21,80 (15,00-31,40)	15,00 (5,00-58,00)
IV-UK (n=13)	0,79 (0-3,00)	42,20 (0-181,10)	20,40 (14,00-45,10)	14,00 (4,00-143,00)
p değerleri				
I-II	0,476	0,065	0,898	0,316
III-IV	0,075	0,101	0,979	0,140

RDK: radyo dalgaları kısa, KK: kısa kontrol, RDU: radyo dalgaları uzun, UK: uzun kontrol

altındaki kadınlar ve kontrol grubu arasında periferik kan mononükleer hücrelerinin IL-4 ve IL-5 üretiminde anlamlı bir fark görülmemiştir.¹⁰ Sonuç olarak çalışma, yüksek frekanslı elektromanyetik alanların, kadınların periferik kanlarındaki sitotoksik aktiviteyi (Th1) bir doz yanıt etkisi olmadan azalttığını göstermiştir.

Bizim çalışmamızda; kısa ve uzun süreli 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan sıçanların serum IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmadı. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da IL-4 değerlerinde 4 haftalık (p=0,075), IL-10 değerlerinde ise 5 günlük (p=0,065) EMA uygulamasında bir artış görüldü. IL-10 düzeylerindeki artış, Th1 fonksiyonlarında baskılanmaya neden olmaktadır. IL-4 değerlerindeki artış da (Th2 aktivasyonu) Th1 baskılanması olduğunu desteklemektedir. Bu bulgumuz da Boscol ve ark.'nın sonuçları ile uyumludur.

Gatta ve ark.'nın çalışmasında 1 hafta süreyle uygulamada, buldukları IFN- γ artışı bizim sonucumuz ile çelişmektedir.²³ Ancak 4 haftalık EMA uygulamasında IFN- γ düzeylerinde fark oluşmaması bizim sonucumuz ile uyumludur. Boscol ve ark.'nın çalışmasının şartları farklı olmakla birlikte INF- γ düzeylerini kontrol grubuna göre düşük bulmuşlardır.¹⁰ Bizim sonuçlarımız Gatta ve ark.'nın çalışmasındaki 1 hafta süreyle RD maruziyetinde buldukları IFN- γ artışı ve Boscol ve ark.'nın bulunduğu INF- γ düşüklüğü haricinde yukarıda bahsettiğimiz araştırmaların sonuçları ile uyumludur.^{22,23}

İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da, IL-4 değerlerinde 4 haftalık, IL-10 değerlerinde ise 5 günlük RD uygulamasında saptanan yükselme, 900 MHz EMA'nın Th1 baskılanması ve Th2 hücre cevabında artış oluşturabileceğini düşündürmektedir. Ancak bağışıklık sisteminin bir bütün olarak düşünülmesi durumunda bu sistemin bir parametresinde meydana gelen küçük bir değişikliğin bağışıklık sistemi tarafından kısa sürede kontrol edilebileceği ve bariz olumsuz etkilerin bizim deney düzeni zamanı içerisinde oluşmadığı söylenebilir. Ancak çok daha uzun süreli maruziyetin bu dengeyi bozup bozmayacağı elimizdeki verilerle öngörülemez ve →

**CEP TELEFONLARINDAN
YAYILAN 900 MHZ
ELEKTROMANYETİK
ALANIN SİÇAN
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

yıllarla ifade edilebilecek uzun süreli maruziyet deneyleri yapılması daha fikir verici olabilir.

SONUÇ

Cep telefonu frekansında 900 MHz EMA kullanarak sıçanlar ile yaptığımız çalışmamızdaki veriler, deneyimizdeki maruziyet süreleri içerisinde baktığımız

parametreler göz önüne alındığında bağışıklık sistemi üzerine istatistiksel olarak anlamlı olumsuz bir etki göstermemiştir.

Bu çalışmadaki sonuçlar ve güncel literatür bilgileri, cep telefonu frekansındaki radyasyona 1 aylık maruziyetin bağışıklık sistemine pozitif veya negatif yönde etkili olmadığı düşüncesini desteklemektedir.

i	İLETİŞİM İÇİN: Dr. Ali Adiloğlu 19. Sok. 16/6 İsrailçevleri 06500-Emek, Ankara aliadiloglu@gmail.com
✓	GÖNDERİLDİĞİ TARİH: 22 / 04 / 2010 • KABUL TARİHİ: 27 / 10 / 2010

KAYNAKLAR

1. Oktem F, Ozguner F, Mollaoglu H, et al. Oxidative damage in the kidney induced by 900-MHz-emitted mobile phone: protection by melatonin. *Arch Med Res* 2005; 36: 350-355.
2. Koyu A, Cesur G, Ozguner F, et al. Effects of 900 MHz electromagnetic field on TSH and thyroid hormones in rats. *Toxicol Lett* 2005; 157: 257-262.
3. Ozguner M, Koyu A, Cesur G, et al. Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Med J* 2005; 26: 405-410.
4. 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.
5. Selmaoui B, Lambrozo J, Touitou Y. Endocrine functions in young men exposed for one night to a 50-Hz magnetic field. A circadian study of pituitary, thyroid and adrenocortical hormones. *Life Sci* 1997; 61: 473-486.
6. Cox DR. Communication of risk: health hazards from mobile phones. *Journal of the Royal Statistical Society: Series A (Statistics in Society)* 2003; 166: 241-245.
7. Lai H. Research on the neurological effects of non-ionizing radiation at the University of Washington. *Bioelectromagnetics* 1992; 13: 513-526.
8. Lu ST, Lebda N, Michaelson SM, et al. Serum-thyroxine levels in microwave-exposed rats. *Radiat Res* 1985; 101: 413-423.
9. Michaelson SM. Biological Effects and Dosimetry of Non-Ionizing Radiation: Radiofrequency and Microwaves Energies. New York: NATO Advanced Study Institutes Series: Series A, Life Sciences. 1983; 49.
10. Boscol P, Di Sciascio MB, D'Ostilio S, et al. Effects of electromagnetic fields produced by radio-television broadcasting stations on the immune system of women. *Sci Total Environ* 2001; 273: 1-10.
11. Del Vecchio G, Giuliani A, Fernandez M, et al. Effect of radiofrequency electromagnetic field exposure on in vitro models of neurodegenerative disease. *Bioelectromagnetics* 2009; 30: 564-572.
12. Xu S, Zhou Z, Zhang L, et al. Exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation induces oxidative damage to mitochondrial DNA in primary cultured neurons. *Brain Res* 2010; 1311: 189-196.
13. Cleary SF, Liu LM, Merchant RE. In vitro lymphocyte proliferation induced by radio-frequency electromagnetic radiation under isothermal conditions. *Bioelectromagnetics* 1990; 11: 47-56.
14. French PW, Penny R, Laurence JA, et al. Mobile phones, heat shock proteins and cancer. *Differentiation* 2001; 67: 93-97.
15. Repacholi MH, Basten A, Gebiski V, et al. Lymphomas in E mu-Pim1 transgenic mice exposed to pulsed 900 MHz electromagnetic fields. *Radiat Res* 1997; 147: 631-640.
16. Chou CK, Chan KW, McDougall JA, et al. Development of a rat head exposure system for simulating human exposure to RF fields from handheld wireless telephones. *Bioelectromagnetics* 1999; 4: 75-92.
17. Kuster, N. Compliance testing of handheld mobile communications equipment. In G. L. Carlo (Ed.), *Wireless phones and health: Scientific progress* Norwell, MA: Kluwer Academic Press 1998. p. 4754.
18. CENELEC, European Committee for Electrotechnical Standardization. 2001. Basic standard for the measurement of Specific Absorption Rate related to human exposure to electromagnetic fields from mobile phones (300 MHz to 3 GHz). EN 50361: 2001.
19. IEC TC106, International Electrotechnical Commission Technical Committee. Procedure to determine the Specific Absorption Rate (SAR) for hand-held mobile telephones in the frequency range of 300 MHz to 3 GHz. Committee Draft 106/24/CD, IEC 62209/200X, 2002, p. 106.
20. IEEE SCC34, Institute of Electrical and Electronics Engineers Standards Coordinating Committee. Recommended Practice for Determining the Peak Spatial-Average Specific Absorption Rate (SAR) in the Human Body Due to Wireless Communications Devices: Experimental Techniques. Draft CBD 1.0, IEEE Std P1528-200X. 2002, p. 34.
21. Hossmann KA, Hermann DM. Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system. *Bioelectromagnetics* 2003; 24: 49-62.
22. Chagnaud JL, Veyret B. In vivo exposure of rats to GSM-modulated microwaves: flow cytometry analysis of lymphocyte subpopulations and of mitogen stimulation. *Int J Radiat Biol* 1999; 75: 111-113.
23. Gatta L, Pinto R, Ubaldi V, et al. Effects of in vivo exposure to GSM-modulated 900 MHz radiation on mouse peripheral lymphocytes. *Radiat Res* 2003; 160: 600-605.
24. Graham C, Sastre A, Cook MR, et al. All-night exposure to EMF does not alter urinary melatonin, 6-OHMS or immune measures in older men and women. *J Pineal Res* 2001; 31: 109-113.
25. Prisco MG, Nasta F, Rosado MM, et al. Effects of GSM-modulated radiofrequency electromagnetic fields on Mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 2008; 170: 803-810.
26. Tuschl H, Novak W, Molla-Djafari H. In vitro effects of GSM modulated radiofrequency fields on human immune cells. *Bioelectromagnetics* 2006; 27: 188-196.
27. Ikeda K, Shinmura Y, Mizoe H, et al. No effects of extremely low frequency magnetic fields found on cytotoxic activities and cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Bioelectromagnetics* 2003; 24: 21-31.