ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gulbanu YESYET

RADYOFREKANS ELEKTROMANYETİK RADYASYONA MARUZ BIRAKILMIŞ SIÇANLARDA İNFLAMATUVAR VE ANTİ-İNFLAMATUVAR SİTOKİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA-2019

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RADYOFREKANS ELEKTROMANYETİK RADYASONA MARUZ BIRAKILMIŞ SIÇANLARDA İNFLAMATUVAR VE ANTİ-İNFLAMATUVAR SİTOKİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gulbanu YESYET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 31/10/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

……	……..……..	……..
Prof.Dr. Salih ÇETİNER	Prof.Dr. Mustafa EMRE	Prof. Dr. Nizami DURAN
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Ç.Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: TYL-2018-11280

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak göstermeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

RADYOFREKANS ELEKTROMANYETİK RADYASONA MARUZ BIRAKILMIŞ SIÇANLARDA İNFLAMATUVAR VE ANTİ-İNFLAMATUVAR SİTOKİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gulbanu YESYET

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof.Dr. Salih ÇETİNER
Yıl: 2019, Sayfa: 63
Jüri : Prof.Dr. Salih ÇETİNER
: Prof.Dr. Mustafa EMRE
: Prof.Dr. Nizami DURAN

Günümüzde cep telefonları modern iletişimin ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Halen dünya çapında 2,71 milyar akıllı telefon kullanıcısı ve 5,13 milyar mobil cihaz kullanıcısı olduğu bilinmektedir. 2G ve 3G gibi cep telefonları 869-900 MHz, mobil iletişim için 935–960 MHz (GSM-900), GSM-1800'ler 1805-1880 MHz ve 3G ve Wi-Fi'lar 2110–2450 MHz iyonlaştırıcı olmayan RF-EMR yaydığı bildirilmiştir. Bu çalışmamızda 1800 MHz (SAR 0,15 W/kg, 1,74 W/m^2) RF-EMR'un immün sistem üzerindeki olası zararlı etkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda 32 adet sağlıklı Wistor albino erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar 6 hafta, haftada 5gün, günde 4saat olmak üzere elektromanyetik radyasyona maruz bırakıldı. Uygulama yapılmadan önce, uygulamanın 3. haftası ve uygulama sonrası kan örnekleri toplandı. ELISA tayin yöntemi ile inflamatuvar (IL-1, IL-12, IFN-γ,TNF-α) ve anti-inflamatuvar (IL-10, IL-4) sitokin düzeylerine bakıldı. Flow Sitometri yöntemi ile de Anneksin-V pozitif hücrelerin % oranları belirlendi. Sonuçlarımızda, RF-EMR'un uygulamasından sonra inflamatuvar sitokinlerden IL-1 ve IFN-γ'nın plazma düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış, TNF-α'nın plazma düzeyinin ise anlamlı bir şekilde azalma olduğu tespit edildi. IL-12'nin düzeyinde ise herhangi bir değişiklik saptanamadı. Anti-inflamatuvar sitokinler'in (IL-10 ve IL-4) plazma düzeylerinde ise herhangi bir değişiklik tespit edilmedi. Lenfosit hücrelerin Anneksin-V pozitiflik değerlerinde ise sadece canlı hücrelerin % oranlarında azalma saptandı.

Sonuç olarak, her ne kadar bu çalışmada bazı sitokinlerin plazma düzeylerinde anlamlı değişikler saptanmış olsa da bu sonuçların kendi içlerinde tutarlı olmaması nedeniyle RF-EMR uygulamalarının immün sistem üzerindeki etkilerinin olduğunu söylemek için henüz çok erken. Bu konu ile ilgili daha çok sayıda çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: RF-EMR, Sitokin, Apoptozis, GSM, ELISA

ABSTRACT

MSc THESIS

INVESTIGATION STUDY OF INFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINE LEVELS IN RATS EXPOSED TO RADIOFREQUENCY ELECTROMAGNETIC RADIATION

Gulbanu YESYET

ÇUKUROVA UNİVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

Supervisor : Prof.Dr. Salih ÇETİNER
Year: 2019, Page: 63
Jury : Prof.Dr. Salih ÇETİNER
: Prof.Dr. Mustafa EMRE
: Prof.Dr. Nizami DURAN

Today, cell phones have turned into a fundamental part of modern communication. It is currently realized that there are 2,71 billion cell phone users and about 5,13 billion mobile users around the whole world. Smart phones, for instance, 2G and 3G are 869-900 MHz, while the worldwide system for mobile communication (GSM-900) is 935–960 MHz, GSM-1800s are 1805-1880 MHz, and 3G and Wi-Fi are 2110–2450 MHz non-ionizers. RF-EMR has been reported also. In this study, 32 healthy Wistar albino male rats were utilized. Rats were exposed to electromagnetic radiation for about a month and a half, 5 days every week, 4 hours per day. Before the running the exposure, blood samples were collected at the 3rd week of the application and after the application. Inflammatory (IL-1, IL-12, IFN-γ, TNF-α) and anti-inflammatory (IL-10, IL-4) cytokine levels were measured by ELISA assay. Annexin-V positivity rate was determined by Flow Cytometry strategy. The outcomes results of our study, significant increments in IL-1 and IFN-γ plasma levels were seen in the application of RF-EMR. Nonetheless the plasma level of TNF-α was diminished. There was no alteration in the level of IL-12. Furthermore, there was no measurable change in plasma levels of anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-4. Annexin-V positivity estimations of lymphocyte cells were diminished just in % of living cells. Therefore as a result; although there were changes in the plasma levels of some certain cytokines in this investigation, it is too soon to state that RF-EMR applications effect on the immune system since these outcomes are not predictable in themselves. To have the option to state this, we think that more examinations are required regarding this subject.

Key Words: RF-EMR, Cytokine, Apoptosis, GSM, ELISA

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Günümüzde teknolojinin hızlı gelişmesiyle beraber hayatımıza giren mobil iletişim araçları yaşamımızın bir parçası haline gelmiştir. Her gün kullandığımız ve hayatımızı kolaylaştıran elektrik aletleri, baz istasyonları, kablolu kablosuz iletişim aletleri, radyo dalgaları vb. gibi cihazlardan yayılan radyo dalgalar (RF) ve mikrodalga (MW)'lar ile insanoğlu uzun zamandan beri sürekli temas halindedir. Elektromanyetik alanların (EMA) insan sağlığını etkileyebileceği öngörüsü nedeniyle bu konudaki bilimsel çalışmalar hız kazanmıştır. 2011 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı radyofrekans (RF) radyasyonları insan kanserojen 2B sınıf olarak tanımlamıştır. Bu durum değişik alanlarda EMR ile ilgili çok sayıda çalışmaların yapılmasını da tetiklemiştir.

EMR'nin olası etkilerini araştırmak amacıyla günümüzde insan ve hayvanlar üzerindeki çalışmalar devam etmektedir. Sayıları azda olsa elektromanyetik alanların, biyolojik etkileri ve immün sistem üzerindeki etkileri ile ilgili yayınlarda mevcuttur. Bu güne kadar bu konu ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, cep telefonlarıyla ilgili çalışmaların sayısı hem az hem de çelişkili ve tutarsız sonuçları içermektedir. Çalışmamız, konuyla ilgili tutarlı bir resim ortaya koyacak olması nedeniyle önemlidir. Bu çalışmada, RF-EMR'nin immün sistem üzerinde olası zararlı etkilerini göstermeyi amaçladık. Bunun için sağlıklı sıçanları (32 adet Wistor Albino cinsi erkek sıçan) belirli zaman periyotları içinde manyetik alan uygulamasına maruz bırakıldı. Manyetik alan uygulamasının belirli dönemlerinde bu hayvanlardan kan örnekleri alındı.

ELISA yöntemiyle plazma İnflamatuvar (IFN-γ,IL-1,TNF-α IL-12) ve anti inflamatuvar (IL-4, IL-10) sitokin düzeylerine bakıldı. RF-EMR'un hücre ölümü üzerine olan etkilerini göstermek amacıyla aynı örneklerden Flow Sitometri yöntemle de Anneksin-V pozitif lenfositlerin % değerleri tayin edildi.

Sonuç olarak, plazma sitokin düzeyleri açısından gruplar (kafes 1,kafes 2, kafes 3 ve kafes 4) arası karşılaştırmalarda anlamlı bir fark görülmedi. Ancak

zaman aralıkları dikkate alındığında (1.gün, 15.gün ve 30.gün) inflamatuvar sitokinlerden IL-1, IFN-γ, TNF-α'nın plazma düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edildi. Plazma IL-1 düzeyi, elektromanyetik radyasyon uygulamanın yapılmadığı 1.güne oranla uygulamanın yapıldığı 15. ve 30. günlerde artmış olduğu tespit edildi. Bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı ($P<0,001$). IFN-γ düzeyinde ise manyetik alanın uygulanmadığı 1. gün ile uygulamanın yapıldığı 15. ve 30.günler arasında bir fark görülmedi ancak 15. gün ile 30. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlendi ($P=0,002$). TNF-α'nın plazma düzeyi, elektromanyetik radyasyon uygulamanın yapılmadığı 1. güne oranla uygulamanın yapıldığı 15. ve 30. günlerde istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ($P<0,001$). IL-12'nin plazma düzeylerinde ise her iki durumda da herhangi bir değişiklik saplanmadı ($P>0,05$). Anti-inflamatuvar sitokinler (IL-4 ve IL-10) zaman aralıkları dikkate alınarak karşılaştırıldığında her iki durumda da herhangi bir değişiklik gözlenmedi ($P>0,05$).

Lenfosit hücrelerin Anneksin-V pozitifliği, gruplar (kafes 1,kafes 2, kafes 3 ve kafes 4) arası karşılaştırmada toplam canlı hücre sayısı uygulamanın ilk günü % 60,1±10,5 iken uygulamanın 30. gününde bu oran %57,0±9,1 düşmüştür. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P=0,026$). Gruplar arası karşılaştırmada erken apoptotik süreçteki hücrelerin % oranları uygulamanın yapılmadığı 1. gün ve 30. günlerdeki sonuçlarında anlamlı fark saptandı ($P<0,05$). Ancak 15. günkü sonuçlarda ise herhangi bir fark saptanmadı ($P>0,05$). Geç apoptotik süreçteki hücrelerin % değerlerinde ise uygulamanın 15. ve 30. günkü gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0,05$).

Lenfosit hücre düzeylerinin farklı zaman dilimleri arası karşılaştırmalarında ise canlı hücrelerin % değerlerinde uygulamanın 15. günü ile 30. günün sonuçları karşılaştırıldığında 30. günde anlamlı düzeyde azalma olduğu saptandı ($P_{15-30}=0,007$). Erken apoptotik ve geç apoptotik süreçlerdeki hücrelerin % oranında herhangi bir fark tespit edilmedi ($P>0,05$).

Sonuç, RF-EMR uygulamasından sonra, inflamtuvar sitokinlerden IL-1 ve IFN-γ'nın plazma düzeylerinde anlamlı artış, TNF-α'nın plazma düzeyinde ise anlamlı azalma olduğu tespit edildi. IL-12 düzeyinde ise herhangi bir değişiklik saptanmadı. Ayrıca anti-inflamatuvar sitokinlerden, IL-10 ve IL-4'ün plazma düzeylerinde istatistiksel olarak herhangi bir değişiklik görülmedi.

Canlı lenfosit hücrelerin % oranlarında azalma saptandı ancak Anneksin-V pozitifliği açısından RF-EMR uygulamasından önceki ve sonraki sonuçları arasında herhangi bir değişiklik tespit edilmedi.

Çalışmamızda her ne kadar bazı sitokin düzeylerinde anlamlı değişiklikler saptanmış olsa da bu sonuçlar kendi içlerinde ilişkili bulunmadı. Bu nedenle RF-EMR uygulamalarının immün sistem üzerindeki etkilerinin olduğunu söylemek için henüz çok erken. Bunun için daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın ileride bu konuda yapılacak çalışmalar için yol gösterici olacağını, bilime katkı sağlayacağını ve üniversitemize de bilimsel kazanç sağlayacağını düşünmekteyiz.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamı başarılı bir şekilde tamamlamamda emeği geçen başta danışman hocam Prof. Dr. Salih ÇETİNER'e her konuda yardımını esirgemeyen ve bana ikinci danışmanlık yapan sayın Prof. Dr. Mustafa EMRE hocam'a içten teşekkürlerimi sunarım. Bu iki yıllık eğitim süremde bana en kıymetli bilgisini sunmakla beraber her konuda yardımını esirgemeden hep beni desteklediği için sayın hocalarıma minnettarım.

Çalışma süremde Merkez laboratuvarında bana çalışma imkanını sağlayan başta laboratuvar sorumlusu Prof.Dr. Akgün YAMAN'a, çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen Merkez Laboratuvar çalışanlarına, ayrıca Flow Sitometri ile ilgili her şeyi öğrenmeme yardımcı olan ve bana bu konuda bilmediğim her şeyi baştan öğreten Flow Sitometri biriminde görevli Biyolog Hatice İRDAY, Tekniker Nevin TÜRKAN, Biyolog Fatma BARAN ve Biyolog Sonat SARI ablalarıma ve "İmmünoloji" biriminde görevli Kimyager Dr.Ersin AKGÖL'e, Teknisyen Handan VARAN'a, Tekniker Belma YİĞİT ve Hüsniye UÇAR ablalarıma teşekkürlerimi sunarım. Bu güzel kalpli insanlar bana hiç bir zaman yabancılık çektirmedi ve bana en büyük manevi destek sağladığı için tüm kalbimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu yola çıktığım ilk günden itibaren beni destekleyen, başarabileceğime inandıran ve her zaman yanımdan bulunan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gulbanu YESYET

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET III
TEŞEKKÜR VII
İÇİNDEKİLER VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ XII
ŞEKİLLER DİZİNİ XIV
SİMGELER VE KISALTMALAR XVI
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 3
2.1. Sitokin Nedir 3
2.2. Sitokinlerin Fonksiyonel Sınıflandırılması 4
2.2.1. Doğal İmmün Sistemi Düzenleyen Sitokinler 4
2.2.2. Edinsel (Adaptif) İmmün Sistemin Düzenleyici Sitokinleri 5
2.2.3. Hematopoezis Uyarıcı Sitokinker 5
2.3. İnflamatuvar Sitokinler 5
2.3.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF) 5
2.3.1.1. Tümör Nekrozis Faktörün Biyolojik Etkileri 6
2.3.2. İnterlökin-1 (IL-1) 6
2.3.3. İnterlökin-12 (IL-12) 7
2.3.3.1. IL-12'nin Biyolojik Etkileri 8
2.3.4. İnterferon Gamma (IFN-γ) 9
2.4. Anti-İnflamatuvar Sitokinler 9
2.4.1. İnterlökin-4 (IL-4) 10
2.4.1.1. IL-4'ün Biyolojik Etkileri 11
2.4.2. İnterlökin-10 (IL-10) 11
2.4.2.1. IL-10'un Biyolojik Etkisi 11

2.5. Apoptozis Nedir 12
2.6. Apoptozis ve Nekroz Arasındaki Farklılıklar 13
2.7. Radyasyon Nedir 15
2.8. Radyasyonun Sınıflandırılması 15
2.8.1. İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon (Elektromanyetik Radyasyonlar) 16
2.9. İyonlaştırıcı Radyasyon ve Etkileri 17
2.10. Elektromanyetik Radyasyonun Sağlık ve Biyolojik Etkileri 18
2.11. Elektromanyetik Radyasyonun İmmün Sistem Üzerindeki Etkileri 19
3. MATERYAL VE METOD 23
3.1. Radyofrekans Elektromanyetik Radyasyon (RF-EMR) Uygulama Düzeneği 23
3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması 25
3.2.1. Kontrol grubu 25
3.2.2. Uygulama grubu 25
3.3. Deney Hayvanlarından Kan Örneklerinin Toplanması 26
3.4. Metod 27
3.4.1. Anneksin-V (FITC) Tayin Yöntemi 27
3.4.2. İnflamatuvar ve Anti-inflamatuvar Sitokinlerin ELISA Tayin Yöntemi 29
3.5. İstatistiksel Analizi. 30
4. BULGULAR 31
4.1. Deney hayvanlarının çalışma öncesi, RF-EMR uygulamasının 15.gün ve çalışma sonrası vücut ağırlıkları 31
4.2. Deneklerin Kan Anneksin-V Düzeyleri 33
4.2.1. Kan Anneksin-V Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması 33
4.2.2. RF-EMR Uygulamasının Farklı Günlerindeki Kan Anneksin-V Düzeylerinin Karşılaştırması. 35
4.3. Plazma Sitokin Düzeyileri 39

4.3.1. Plazma Sitokin Düzeylerinin Kafesler Arası Karşılaştırması 39
4.3.2. Manyetik Alan Uygulamasının Farklı Günlerindeki Plazma Sitokin Düzeylerinin Karşılaştırmaları. 42
5. TARTIŞMA 51
KAYNAKLAR 55
ÖZGEÇMİŞ 63

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 4.1. Deneklerin manyetik alan uygulamalarının farklı günlerindeki vücut ağırlıklarının karşılaştırması 32
Çizelge 4.2. Kan Anneksin-V düzeylerinin kafesler arası karşılaştırması..... 34
Çizelge 4.3. Anneksin-V düzeylerinin manyetik radyason uygulamasının farklı günlerindeki karşılaştırması 36
Çizelge 4.4. Plazma Sitokin Düzeylerinin Kafesler arası karşılaştırması. 40
Çizelge 4.5. Plazma sitokin düzeylerinin manyetik alan uygulamasının farklı günlerindeki karşılaştırması. 43

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 2.1. İnflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler 10

Şekil 2.2. Farklı frekanslara karşılık gelen radyasyon tipleri 15

Şekil 2.3. İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik radyasyonların sınıflandırılması. 16

Şekil 2.4. . İnsanların maruz kaldığı (SAR:1-10-4 W/kg) Non-iyonize radyasyonlar 18

Şekil 3.1 EMR jeneratörü ve EMF RF Radyasyon güç ölçeri (A). RF-EMR'nın monopol antenle tek bölmeli kafesteki deneklere uygulanması (B). 24

Şekil 3.2. Sıçanlar 95x95x40 cm boyutunda dört bölmeli uygulama kafesine konup, RF jenaratörü 1800 MHz ve 1 Watt çıkış güçte çalıştırıldı (A). RF-EMR. Uygulaması sırasında sıçanlar antene yakın bölgede kümelendikleri gözlenmiştir (B).Maruziyet sonrası kafesin dört köşesinden yapılan sıcaklık ölçümlerinde anlamlı bir fark gözlenememiştir (C). 24

Şekil 3.3. Deney hayvanların sırt üst yatırılıp tespit edilerek kan almaya hazırlanması (A). Kalp ponksiyon yöntemi kullanılarak kan alma işlemi (B). 26

Şekil 4.1. RF-EMR uygulamasının canlı hücreler üzerindeki zaman değişim grafiği. **p>0,001 37

Şekil 4.2. Erken apoptotik süreçteki hücreler üzerine 1800 MHz RF-EMR uygulamasının zaman değişim grafiği. 38

Şekil 4.3. RF-EMR'un uygulaması Geç apoptotik ve Nekrotik hücreler üzerindeki zaman değişim grafiği. 39

Şekil 4.4. RF-EMR'un uygulamasının plazma IL-1 sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği. ***p<0,001; *p=0,10-0,05..... 44

Şekil 4.5. RF-EMR'un uygulamasının plazma IL-12 sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği. 45
Şekil 4.6. RF-EMR'un uygulamasının plazma IFN-γ düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği **p<0,001 46
Şekil 4.7. RF-EMR'un uygulamasının plazma TNF-α düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği. **p>0,001;***p<0,001 47
Şekil 4.8.. RF-EMR'un uygulamasının plazma IL-4 sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği. 48
Şekil 4.9. RF-EMR'un uygulamasının plazma IL-10 sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği. 49

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde olarak oran
^{0}C	: Santigrat
ASH	: Antijen Sunucu Hücreler
cm	: Santimetre
CNF	: Silier nörotrofik faktör
CW	: Sürekli dalga (Continues Wave)
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dsRNA	: Çift zincirli RNA (Double Stranded RNA)
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent analizi (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)
EMA	: Elektromanyetik alan
EMR	: Elektromanyetik radyasyon
FITC	: Floresan işaretli madde (Fluorescein isothiocyanate)
GSM	: Mobil cep telefonu (Global Sistem for Mobile Communıcations)
GHz	: Gigahertz
HIV	: İnsan immün yetmezlik virüsü (Human İmmunodeficiency Virus)
Hz	: Hertz
IL	: İnterlökin
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünoglobülin
kD	: Kilodalton
kbp	: Kilo baz çift
LPS	: Lipopolisakkarid
nm	: Nanometre
MHC	: Büyük Doku Uygunluk Kompleksi (Major Histocompatibility Complex)

MHz	: Megahertz
MW	: Mikro dalga (Microwave)
NK	: Doğal öldürücü (Natural Killer)
PRR	: Örgü tanıma reseptörleri (Pattern recognition receptors)
PAMP	: Patojen ilişkili moleküller örgüler (Pathogen-associated molecular pattern)
PS	: Fosfatidilserin
PI	: Propidium iodide
RPM	: Dakikadaki Dönme Sayısı (Revolution Per Minute)
RF	: Radyofrekans
STAT	: Signal transducer and activator transcription
SAR	: Özgül Soğurma Oranı (Specific Absorption Rate)
STL	: Sitotoksik T lenfosit
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TLR	: Toll-benzeri reseptör (Toll-like receptor)
Th	: Yardımcı T hücre (T-helper cell)
TUNEL	: Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labelling Assay
V	: Volt
WHO	: Dünya Sağlık Örğütü (World Health Organization)
W	: Watt
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gamma

1. GİRİŞ

1980 yılından itibaren kullanıma giren cep telefonu kullanıcı sayısında hızlı bir artış göstererek dünyada en çok kullanılan elektronik aletler arasında yerini almıştır. Ancak bu cihazların elektromanyetik radyasyon dalgaları üzerinden fonksiyon görmesi, sağlığa olumsuz etkileri olabileceği şüphesi her geçen gün artmaktadır. Cep telefonlarının yaygın kullanımı ve elektromanyetik alan yaratması ve bu alana maruz kalma durumu nedeniyle karsinojenik veya ko-karsinojenik etkileri olduğunu bildiren yayınlar az da olsa mevcuttur. Bazı yazarlar radyofrekans elektromanyetik radyasyonun (RF-EMR) immünotoksisiteye neden olabileceği ile ilgili endişelerini dile getirmişlerdir (Repacholi, Basten et al. 1997, French, Penny et al. 2001).

Bazı araştırmacılar, RF-EMR'nin hücre proliferasyonu, Ca^{++} seviyeleri ve serbest radikal oluşumunun genotoksik etkilerini değerlendirmek için immün hücreleri, tercihen de lenfositleri kullanmışlardır. Ancak sadece birkaç çalışma, immünolojik parametrelerle ilgili RF'a maruz kalmanın etkisini araştırmıştır (Boscolo, Di Sciascio et al. 2001, Gatta, Pinto et al. 2003, Zmyślony, Politanski et al. 2004).

İmmün Sistem; Vücudumuzu dışarıdan (enfeksiyon, toksik vb.) ve içeriden (kanser vb) gelecek tüm zararlı etkenlere karşı koruyan ve savunan hücreler, dokular ve moleküllerin toplamından oluşmuş sistemdir. Toksik bileşikler ve iyonlaştırıcı radyasyon gibi bazı faktörler, immün sisteminin bütünlüğünü bozarak immün yanıtları değiştirebilirler veya immün yanıt bozuklukları sonucu oluşan hastalıklara yol açabilirler. RF-EMR'nin immün hücreler üzerindeki olası zararlı etkileri hayvan modelleri, kemirgen, insan hücre kültürleri ve insan periferik kan lenfositleri kullanılarak araştırılmıştır (Gatta, Pinto et al. 2003, Ohtani, Ushiyama et al. 2015). Çalışmaların çoğunda RF-EMR'a maruz kalmanın biyolojik etkileri üzerine önemli değişiklikler oluşturduğunu bildirilmiştir (Chavdoula, Panagopoulos et al. 2010, Kesari, Siddiqui et al. 2013). Bazı çalışmalarda ise RF-

EMR'a maruz kalmanın kayda değer etkilerinin olmadığını bildirmişlerdir. RF-EMR'a maruz kalmanın kan hücreleri üzerindeki etkilerine dair birçok çalışma bildirilmiş olup özellikle kronik olarak RF-EMR'a maruz kalan bireylerin kan hücreleri üzerinde zararlı etkileri olduğunu bildirmiştir (Black and Heynick 2003, Gatta, Pinto et al. 2003, Nasta, Prisco et al. 2006, Tuschl, Novak et al. 2006, Jauchem 2008, Khamidova 2014, Boga, Emre et al. 2015). Elektromanyetik alan uygulamaları ile ilgili çalışmaların bazıları lenfositler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ancak elektromanyetik radyasyon uygulamalarının sitokinler üzerindeki etkilerini gösteren yayınların sayısı yok denecek kadar azdır.

Sitokinler, lenfosit aktivasyonu, proliferasyon, farklılaşma ve sağ kalım dahil olmak üzere immün yanıtları modüle ederek bağışıklık sisteminde merkezi bir rol oynayan düzenleyici proteinlerdir.

Bu çalışmada, RF-EMR'a maruz bırakılan sağlıklı sıçan periferik kanlarından inflamatuvar ve anti inflamatuvar sitokinler ile bu hücrelerdeki apoptozisi belirlemek amacıyla Anneksin-V düzeylerine bakılmıştır. İnflamatuvar sitokinlerden; IL-1, TNF-α, IFN-γ ve IL-12 ve anti-inflamatuvar sitokinlerden de IL-4, IL-10 düzeyleri araştırıldı. Ayrıca RF-EMR'un apoptozis üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla periferik kandaki lenfositlerin apoptotik hücre yüzey markeri olan Anneksin-V düzeyine bakılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Sitokin Nedir

Sitokinler, mikrop ve diğer antijenlere karşı yanıtta salgılanan, immün ve inflamatuar reaksiyonları düzenleyen polipeptit yapılı moleküllerdir. Bu sıvısal mediatörler, başlangıçta sadece immün sistem hücreleri tarafından salınan ve bağışıklık süreçlerini düzenleyen moleküller olarak tanımlanmıştır. Ancak günümüzde immün sistem dışı hücreler tarafından da üretildikleri ve immün sistemin dışındaki hücreleri de etkileyen çok sayıda sitokinin varlığı bildirilmiştir. Bu moleküller, immün sistemde önemli etkinlikleri olan, makrofaj, dendritik hücre ve nötrofil gibi fagositik hücreler ile lenfositler arasındaki iletişimi sağlayarak immün yanıtı düzenlerler (Zhang and An 2007).

Sitokinler; salgılandıkları hücre tipine göre adlandırılırlar. Mononükler fagositler tarafından salgılananlara monokin, lenfositler tarafından salgılananlara lenfokin, lökositler arasında mediatör olarak işlev görenlere interlökin, lökosit trafiğinden sorumlu olanlara ise kemokin adı verilmektedir (Dinarello 2000). Bunlar bazen tek başlarına bazen de birlikte hareket ederek farklı işlevleri yerine getirirler. Sitokinler aynı zamanda enfeksiyon etkenine karşı verilecek yanıtın tipini de belirlerler.

Bunların bir kısmı İmmün yanıtı **Th1** yönüne kaydırarak inflamatuvar etki gösterirler (IFN-γ,TNF-α IL-1,ve IL-12 gibi). Örneğin; IFN-γ, viral enfeksiyonların inhibisyonunda ve makrofaj aktivasyonunda önemli etkinliğe sahiptir. Makrofajlar aktive olunca da hem fagositik etkileri hem de fagosite ettikleri mikroorganizmaları öldürücü etkinlikleri artar. Bazıları da, İmmün yanıtı (IL-4 ve IL-10 gibi) **Th2** yönüne kaydırarak anti-inflamatuvar etki gösterirler. Bu özelliklerinin yanında bazı sitokinlerin, günümüzde çeşitli hastalıkların tedavisnde immün yanıtı modifiye etmek içinde kullanılmaktadırlar.

2.2. Sitokinlerin Fonksiyonel Sınıflandırılması

2.2.1. Doğal İmmün Sistemi Düzenleyen Sitokinler

Bu grupta yer alan sitokinler, enfeksiyon etkenlerine karşı genellikle mononükleer fagositer hücreler tarafından sentezlenirler. Bu hücreler patojenleri; PAMP (Patojen ilişkili moleküller örgüler) adı verilen moleküller aracılığı ile tanırlar. Bu moleküller patojenlerin çoğunda bulunan ve (normal vücut hücrelerde bulunmayan) evrimsel olarak korunan yapısal elemanlardır. Lipopolisakkarid (LPS) olarak ta bilinen peptidoglikanlar, bakterilerdeki glikoproteinlerde yer alan ancak memelilerde bulunmayan terminal mannoz, memeli hücrelerinde bulunmayan ancak virüslerin çoğunda bulunan çift zincirli RNA (dsRNA), memelilerin DNA'sında bulunmayan ancak bakteri DNAsının yapısında bulunan CG bakımından zengin metillenmemiş oligonükleotidler (CpG) (TLR9 tarafından tanınır) PAMP'lara örnektir (Chen, Chen et al. 2014).

Doğal immün sistemin fagositer hücreleri bu PAMP'leri tanımada yüzeylerindeki PRR'leri kullanırlar. PRR'ler; doğal immün sistemin fagositer hücrelerinde bulunan patojenlerin PAMP'larını tanıyan spesifik reseptörlerdir. Bunlar çeşitli patojenlerin PAMP'larına bağlanarak onların uzaklaştırılmasında etkili olurlar. PRR'ler, hücre dışı proteinler şeklinde, fagositer hücrelerin zarına bağlı şekilde veya sitoplazmada bulunabilirler. Toll-Benzeri Reseptörler (TLR), NOD-Benzeri reseptörler, çöpçü reseptörler, Mannoz reseptörü, opsoninler ve CD14 gibi moleküller PRR'lere örnektir. PRR'ler çoğunlukla makrofajlar olmak üzere dendritik hücreler ve bazı epitelial hücreler tarafından eksprese edilirler (Zipfel 2009).

PAMP/PRR ilişkisini takiben hücrelerin aktivasyonu gerçekleşir ve etkene uygun sitokin üretimi sağlanır. Bu esnada sitokinler aynı zamanda antijene özgü T hücre aktivitesini de uyarırlar (Oberholzer, Oberholzer et al. 2000, Kolls, McCray Jr et al. 2008, Abbas, Lichtman et al. 2014).

2.2.2. Edinsel (Adaptif) İmmün Sistemin Düzenleyici Sitokinleri

Bu grupta yer alan sitokinler, yabancı antijenin spesifik tanımasından sonra genellikle T hücreleri tarafından sentezlenirler. Bunlar antijene karşı oluşacak yanıtın tipini belirlemekle birlikte T ve B lenfositlerin çoğalmasını ve farklılaşmasını da uyarırlar (Carroll 2004).

2.2.3. Hematopoezis Uyarıcı Sitokinker

Bu sınıfta yer alan sitokinler; Kemik iliği strome hücreleri, lökositler ve diğer hücrelerden tarafından üretilirler. Bu sitokinler immatur lökositlerin uyarılmasında ve farklılaşmasında rol alırlar (Abbas, Lichtman et al. 2014).

2.3. İnflamatuvar Sitokinler

2.3.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)

TNF, gram negatif bakterileri ve diğer bakteriyel enfeksiyonlara karşı gelişen akut enfeksiyon yanıtının ana mediatörüdür. Aynı zamanda apoptozis ve inflamasyon süreçlerinde rol oynayan bir sitokindir. TNF ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda bu sitokinin gram-negatif bakterilerden üretilen LPS'lerine yanıt sonucunda üretildiği belirtmiştir. Bu sitokin aktive edilmiş T hücreler, NK hücreler ve Mast hücrelerden de salgılanır. Asıl işlevi mononükler fagosit hücrelerin aktifleşmesini uyarmaktır. Ayrıca otoimmün hastalıklardaki inflamasyonun başlamasında ve devam etmesinde de önemli etkinliği vardır (Dinarello 2000).

Tümör nekrozis faktörün α ve β olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. TNF-α çoğunlukla aktif makrofajlar ve monositler tarafından sentezlenir. Bununla birlikte aktif T hücreleri, B hücreleri, NK hücreleri, fibroblastlar, keratinositler, kupffer hücreleri, düz has hücreleri, bazofiller ve tümör hücreleri gibi çeşitli hücrelerden de sentezlenebilir. TNF-β ise başlıca T lenfositlerden salınır. Konak hücre üzerindeki etkileri TNF-α'ya benzer ancak etkisi ona göre daha zayıftır.

Hücreye TNF salınımına neden olan her hangi bir uyarı geldiğinde bu uyarı TNF'nin glikozillenmemiş tip II hücre zarı proteini olarak sentezlenmesine neden

olur. Bu uyarı sonucunda sentezlenen TNF monomeri **pro-TNF** olarak adlandırılır. TNF monomer sentezi devam ederken monomerlerin üçü bir araya gelerek hücre zarına bağlı TNF'yi meydana getirir ve bu kompleks **mTNF** (membrana bağlı TNF) olarak adlandırılır. Trimer yapıdaki bu m-TNF aktif haldeki TNF sitokininin kendisidir (Dinarello 1991, Akdis, Aab et al. 2016)

2.3.1.1. Tümör Nekrozis Faktörün Biyolojik Etkileri

Tümör nekrozis faktörün ana fizyolojik işlevi, nötrofil ve monosit hücrelerin enfeksiyon bölgelerindeki etkinliğini arttırmak ve bu hücreleri aktifleştirerek mikropların ortadan kaldırılmasını sağlamaktır. TNF, vasküler endotel hücrelerin adezyon moleküllerinin üretimini, nötrofil benzeri fagositer hücrelerin endotele yapışmasını, nötrofil ve makrofaj hücrelerin mikrobisidal aktivitesini uyarır (Abbas, Lichtman et al. 2014).

2.3.2. İnterlökin-1 (IL-1)

IL-1 aktive edilmiş mononükleer fagositlerden, dokuda bulunan monosit, makrofaj, lenfosit, nötrofil ve fibroblastlar tarafından sentezlenen inflamatuvar etkinliği olan bir sitokindir. Bu hücrelerin dışında uygun bir şekilde uyarıldıklarında keratinositler, endotelyal hücreler gibi diğer bazı hücreler tarafından da üretildikleri bildirilmiştir.

Biyolojik etkileri, TNF-α'ya benzer ve aynı zamanda T hücrelerinin aktive edilmesine yardımcı olur. IL-1'in IL-1α ve IL-1β olmak üzere iki formu vardır (Borthwick 2016). Her iki form %30 oranında benzerlik gösterir. Buna rağmen aynı hücre yüzey reseptörüne bağlanır ve aynı biyolojik etki gösterirler. TNF-α'dan farklı olarak etkinliği konsantrasyonuna bağlı olarak değişir. IL-1 düşük konsantrasyonda salgılandığında inflamasyonun ana mediatörü olarak işlev görür ve endotel hücreler tarafından lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırır. Yüksek konsantrasyonda salgılandığında ise dolaşıma katılarak yüksek düzeyde endokrin etki gösterir. Ayrıca IL-1 karaciğerden akut faz protein

sentezini, IL-6 sitokininin salınımını, kemik iliğinde nötrofil ve trombositlerin üretimini arttırır (Palomo, Dietrich et al. 2015, Akdis, Aab et al. 2016, Dinarello 2018).

2.3.3. İnterlökin-12 (IL-12)

IL-12, 35-kD (p35) ve 40kD (p40) molekül ağırlığındaki iki alt biriminden oluşan heterodimer yapıdaki bir sitokindir. P40 zinciri, IL-6 ve silier nörotrofik faktör (CNF) reseptörleri gibi bir çok sitokin reseptörleri ile homologdur. P35 ise IL-6, G-CSF ve tavuk myelomonositik büyüme faktörü gibi diğer sitokinlerin homoloğudur. P35 alt birimi çeşitli hücreler tarafından sentezlenirken, P40 birimi sadece fagositik hücreleri ve dendritik hücreleri tarafından sentezlenir. P40 ve P35 birimlerinin tek başlarına biyolojik aktiviteleri yoktur (Teng, Bowman et al. 2015).

IL-12, Aktive dendritik hücreleri ve makrofajlar tarafından salınır. Doğal immün yanıtta, bakteri ve virüslerin neden olduğu hücre içi enfeksiyonlara karşı oluşan önemli bir sitokindir. Bakteri LPS ve TLR sinyallerine cevap olarak üretilir ayrıca bu tür mikroplara karşı hücresel ve edinsel immün yanıtıda uyararak aynı zamanda doğal ve edinsel immün yanıt arasındaki iletişime de aracılık eder.

NK hücrelerin sitotoksik fonksiyonunun aktivatörü olarak tanımlanan IL-12 sitokininin asıl işlevi T hücre ve NK hücre tarafından IFN-γ'nın salınmasını uyarmak ve naif $CD4^+$ T hücresinin INF-γ salgılayan Th (T yardımcı) hücresine farklılaşmasını sağlamaktır. IL-12, in vitro olarak kanserli hasta lenfositlerini uyardıkları ve in vivo olarak ta tümör oluşturulan fare modellerinde anti tümör aktivatörlerini uyardıkları da gözlenmiştir.

Bazı araştırmalarda, $CD4^+$, $CD8^+$ T hücreleri, NK hücreleri ve INF-γ'nın IL-12'nin antitümör etkisine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. IL-12 reseptörü (IL-12R), tip I sitokin ailesinin bir üyesidir. IL-12 sitokinin molekül yapısının tanımlanması sonucunda bu reseptörün β1, β2 alt birimlerinden oluştuğu ve heterodimer bir yapı gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda IL-

12R'nin hemopoetik sitokin reseptör süper ailesinin bir üyesi olan gp130 ile homolog olduğu gösterilmiştir (Sun, He et al. 2015, Teng, Bowman et al. 2015).

2.3.3.1. IL-12'nin Biyolojik Etkileri

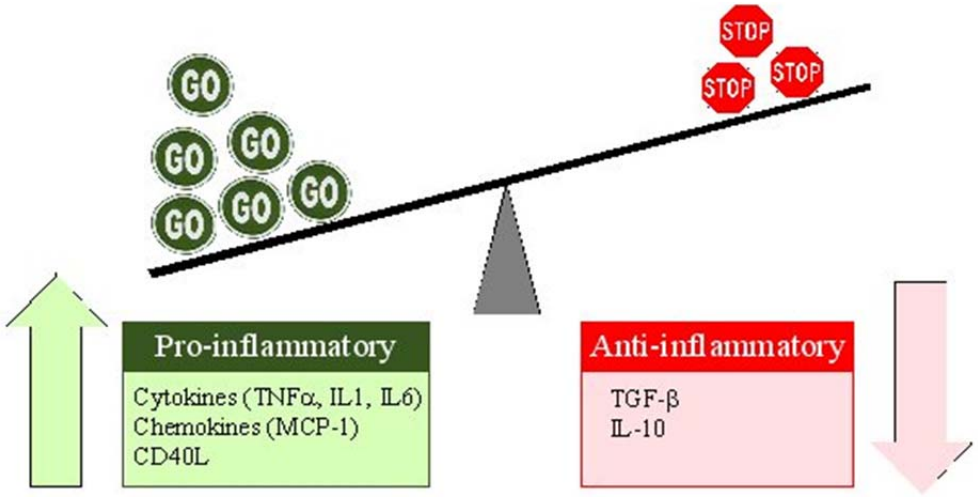
- Çeşitli enfeksiyon etkelnlerine yanıt olarak çoğunlukla makrofaj ve dendritik hücreler tarafından sentezlenip salınırlar.
- NK hücrelerini ve T lenfositlerini etkileyerek bu hücrelerden INF-γ'nın üretilmesini uyarır.
- Enfeksiyon etkenlerinin makrofajlar tarafından fagosite edilerek öldürülmesini sağlar.
- INF-γ ile birlikte aktif $CD4^+$ T lenfositlerin INF-γ üreten Th1 hücresine farklılaşmasını sağlar. Bunu hem $CD4^+$ T hücreleri üzerindeki direkt etki ile hem de IFN-γ sekresyonunu uyararak indirekt yolla gerçekleştirir.
- Aktive olmuş CD4+ T, CD8 + T hücreleri ile NK hücreleri üzerine etki ederek bu hücrelerin hem farklılaşmalarını ve hem de fonksiyonlarını uyarır. Bu şekilde hücresel immün yanıttı da arttırır.
- Aktifleşmiş NK hücreleri ve $CD8^+$ STL'in (Sitotoksik T lenfositler) sitotoksik işlevlerini de arttır.
- IL-12 aynı zamanda $CD8^+$ STL (Sitotoksik T lenfositleri)'inin güçlü bir uyaranıdır.
- Bilndiği üzere STL'leri ve NK hücreleri zaman zaman birlikte hareket ederek enfekte hücreleri ve malign dönüşümlü hücreleri ortadan kaldırırlar.
- IL-12, in vivo ve in vitro olarak bir yandan viral antijenler ve allo antijenler'e karşı spesifik STL oluşumunu arttırırken diğer yandan aktif CD8+ T hücrelerinin STL'lerine farklılaşmasını da uyarırlar.
- Ayrıca IL-12, STL ve NK hücrelerinin hedef hücrelere bağlanmasını sağlayan bazı adezyon moleküllerinin regülasyonunu da sağlar.

2.3.4. İnterferon Gamma (IFN-γ)

Çoğunlukla Th1 hücreleri tarafından daha az olarak ta Tc, Th (Th1) ve NK hücreleri tarafından da üretilen ve immün yanıtta önemli etkinliği olan inflamatuvar bir sitokindir. Makrofaj hücrelerinin önemli bir uyaranıdır. Bu hücrelerin fagosite etmiş oldukları mikropları öldürme etkinliğini arttırır. Böylece bu hücreler tarafından yutulan mikropların kısa sürede yok edilmesini sağlar. Hem doğal hem de edinsel (adaptif) bağışıklık yanıtta oldukça önemli fonksiyonu olan bir sitokindir. Birbirinin homoloğu olan ve iki polipeptit zincirinden oluşmuştur. IFN-γ R1, IFN-γ R2 reseptör olarak isimlendiren Tip II sitokin reseptörüne bağlanırlar ve etkilerini bu yolla gösterir. ASH'ler üzerindeki MHC Sınıf-I,II moleküllerinin ve kostimulatörlerin ekspresyonunu arttırır. B hücrelerinde özellikle bazı IgG alt grupların dönüşümünü (switchini) sağlar (Farelerde IgG2a). Aynı zamanda IL-4 bağımlı izotiplerde IgE ve IgG21 dönüşümünü sağlar. Nötrofilleri aktive eder ve NK hücrelerinin sitolitik etkilerini de arttırır (Chung 2001, Akdis, Aab et al. 2016).

2.4. Anti-İnflamatuvar Sitokinler

Anti-inflamatuvar sitokinler, proinflamatuvar sitokin yanıtını kontrol eden bir dizi immünoregülatör moleküllerden oluşmuşlardır. Sitokinler, insan immün yanıtını düzenlemek için spesifik sitokin inhibitörleri ve çözünür sitokin reseptörleri ile uyum içinde hereket ederler. İnflamasyonun uzaması ve sistemik bir hale gelmesi patolojik bir durumdur. Bu durumda anti-inflamatuvar mediatörler aktif hale geçer. İmmün sistemin düzenli işleyebilmesi için inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler sürekli bir denge halindedirler. En önemli anti-inflamatuvar sitokinler, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 ve IL-13'dir (Dinarello 2000, Opal and DePalo 2000, Chung 2001).



Şekil 2.1. İnflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler

2.4.1. İnterlökin-4 (IL-4)

IL-4, makrofajlar ve Th2 hücreleri tarafından üretilir. Birçok hücre tipi üzerinde pleiotropik etki gösteren 15 kD'lik bir polipeptittir. Naif Th hücrelerinin Th2 hücrelerinin dönüşümünü ve farklılaşmasını sağlar. Antikor oluşumu ile sonuçlanan süreci aktive eder. Ayrıca Ig sınıfının IgE izotipine dünüşümünü uyarır. Bunlara ek olarak, IFN-γ'nın hücresel immünitedeki etkilerini inhibe eder (Mao, Yin et al. 2016).

IL-4 reseptörü, IL-4 bağlanma afinitesine sahip tip 1 sitokin reseptörü ailesinden olan α alt birimi ve aynı zamanda diğer sitokin reseptörlerinin bir parçası olan γ alt birimden oluşan bir heterodimerdir. IL-4, T hücre üzerindeki reseptörüne bağlanması durumunda CD4+ T hücresinin Th2 hücresine prolifere olmasını ve farklılaşmasını uyarır. IL-4, STAT6 proteinini aktifleştiren ana sitokindir.

2.4.1.1. IL-4'ün Biyolojik Etkileri

IL-4, B hücrelerin IgE ankitor üretimini tetikleyen en önemli sitokindir. IgE antikorları, helmintik parazitlere karşı savunma sağlayan mast hücresi ve eozinofil-aracılı yanıtları etkin kılar ve alerjik hastalıkta da işlev yapar. Naif $CD4^+$ hücrelerin Th2 yardımcı hücresi olarak farklılaşmasını sağlar ve farklılaşmış Th2 hücreler için otokrin büyüme faktörü olarak işlev görür. Sitokinlerin genel özelliklerinden biri de bir hücre tipinin çoğalmasını, farklılaşmasını tetiklerken öbür hücre tipini işlevini baskılamak yönünde hareket edebilirler. Bu nedenle IL-4, bir yandan Th2 hücresinin farkılaşmasını sağlarken diğer yandan da Th1 ve Th17 hücrelerin etkinlerini inhibe ettiği belirtilmiştir (Punnonen, de Waal Malefyt et al. 1993, Mao, Yin et al. 2016)

2.4.2. İnterlökin-10 (IL-10)

IL-10 sitokini, çoğunlukla aktive edilmiş makrofajlar ve düzenleyici T hücreler tarafından salğılanan, makrofajlar ve dendritik hücelerin aktifleşmesini inhibe eden anti-inflamatuvar sitokinlerden biridir.Bu nedenle doğal immün yanıt ve hücresel immün yanıtın kontrolünde önemli rol oynar. IL-10, dimerik yapılı, non-kovalent bağlı sitokin ailesinin bir üyesidir. IL-10 reseptörü tip II sitokin ailesindendir, Jak1 ve Tyk2 Janus kinazalar ile bağlı iki zincirden oluşur. STAT3 (Transkripsiyonun sinyal iletici ve aktivatörü) proteini, IL-10 tarafından salınan en önemli downstream sinyal molekülüdür (Nikolaus, Bauditz et al. 1998)

2.4.2.1. IL-10'un Biyolojik Etkisi

IL-10, aktifleşmiş makrofaj ve dendritik hücrelerinden IL-12'nin salınmasını inhibe eder. Bilindiği gibi, IL-12 hücre içi mikroplara karşı doğal ve hücresel immün yanıt oluşmasını ve INF-γ salınımını uyaran ana mediatördür. Dolayısıyla IL-10 bu yolla hücresel immün yanıtıda baskılamaktadır. IL-10 kostimülatörler üretimini ve makrofajlar ve dendritik hücreler üzerinde MHC II

molekülünün sergilenmesini inhibe eder. Bu işlev sonucunda hücre aracılı immün yanıt sınırlandırılır ve T hücrelerin aktivasyonunu engeller (Chung 2001).

2.5. Apoptozis Nedir

Apoptozis, programlanmış hücre ölümü olarak adlandırılan fizyolojik bir olaydır. Apoptozis Yunanca ağaçtan düşen yaprak anlamına gelir. Ap; "ayrı", Ptosis; "düşme" demektir. Apoptozis terimi ilk kez 1972 yılında memeli hayvanların dokusunda meydana gelen hücre ölümünü tanımlamak için Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (Elmore 2007).

Organizmalardaki hücreler doğarlar ve belirli bir süre yaşarlar daha sonra ölürler (Bowen 1998). Bu yaşam süreleri hücreden hücreye farklılık göstermektedir. Örneğin, bazı hücreler birkaç gün yaşarken bazıları ise aylarca canlı kalabilirler. Sonuçta bunlarda apoptozise uğrarlar. Ancak bazıları yaşamımız boyunca bizimle birlikte yaşarlar. Söz konusu olan bu hücre ölümleri önceden programlandığı şekilde gerçekleşir. Tüm bu ölümler fizyolojik koşullarda gerçekleştiği için bu ölüm şekli fizyolojik hücre ölümü veya apoptozis olarak adlandırılır.

Bazen de virüs veya çevresel faktörlerin etkisi ile DNA'sı hasara uğramış hücreler, organizmanın zarar görmemesi için kendilerini öldürürler ve bunu organizmanın yararı için yaparlar. Yaranın iyileşmesi veya barsak hücrelerinin turnoverinde olduğu gibi doku homeostazisinin devamı için hücreler ortamdan ölerek kaybolurlar (cell deletion). İşte tüm bu kavramlar (programlanmış hücre ölümü, fizyolojik hücre ölümü, hücre intiharı, hücre kaybı) apoptozisle eş anlamlı olarak kullanılırlar.

Hücre ölümü (apoptozis) ve yeniden yapımı (mitozis) organizmadaki doku homeostazisinin devamı için gereklidir. Bu durum dinamik bir denge içerisinde yaşam boyunca devam etmektedir. Ancak apoptozis bazı durumlarda bozulur. Örneğin bazı viral enfeksiyonlarda virüs tarafından enfekte edilen hücre virüsün genom doğrultusunda virüse ait proteinleri sentezlerken kendi proteinlerini

yapamamaktadır bu da konak hücrenin ölümüne sebep olur. Benzer şekilde bazı nöro dejeneratif hastalıklarda da (Alzheimer,Parkinson vb) bilinmeyen bir şekilde apoptozisi indükleyen nöronların oluştuğu gözlenmiştir. İnsüline bağlı diyabette insülin salgılayan hücreler apoptozisle ölmektedirler. HIV enfeksiyonunda da $CD4^{+}$ hücreler virüs enfeksiyonu sonucunda apoptozla ölmektedirler (Zimmermann and Green 2001).

Çeşitli mediatörlerin apoptozise neden olduğu bilinmektedir. Örneğin, apoptotik süreç boyunca Ca^{++}'un hüre içine girişinde artış meydana gelir. Yine bazı onkogenlerin de apoptozisin kontrolünde etkili olduğunu gösteren çok sayıda bulgu mevcuttur. Bu genlerin bir kısmının apoptozisi indüklediği bir kısmının ise süprese ettiği saptanmıştır. C-myc, bcl-2 ve p-53 genleri bu konuda en fazla çalışmaların yapıldığı genlerdir (Hongmei 2012, Zhang, Chen et al. 2016).

Apoptozisin kanser gelişimindeki rolü onkologların ilgisini giderek daha fazla çekmektedir (Mor and Alvero 2016). Hormon eksikliği, ısı, sitotoksik kemoterapi ve radyasyona bağlı olarak da apoptozisin arttığı gözlenmiştir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda radyofrekans manyetik alanın apoptozisi yavaşlattığı veya engellediği ileri sürülmekledir. Bunu da Ca^{++}'un ekstra sellüler salınımını arttırarak, hücrelerin hem replikasyon sürelerini hemde yaşam sürelerini uzatarak etkisini gösterdiği ileri sürülmüştür. Bu durum, hasara uğramış hücreleri kurtarmada kullanılabilecek bir mekanizma gibi düşünülebilir. Benzer bir çalışmada da manyetik alanın timik hücrelerinde apoptozisi hızlandırdığı ancak böbrek ve karaciğer hücrelerinde ise her hangi bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (Elmore 2007, Ip, Weng et al. 2007, Shariffa 2018).

2.6. Apoptozis ve Nekroz Arasındaki Farklılıklar

İki çeşit hücre ölümü vardır. Bunlardan birisi apoptozis diğeri ise nekrozistir. Nekroz patolojik bir ölüm şeklidir. Ancak apoptozisin bundan farklı olarak hem patolojik hem de fizyolojik durumlarda meydana geldiği bilinmektedir.

Her iki tip hücre ölümü, fiziksel, morfolojik, biyokimyasal olarak ta farklılıklar göstermektedir (Elmore 2007).

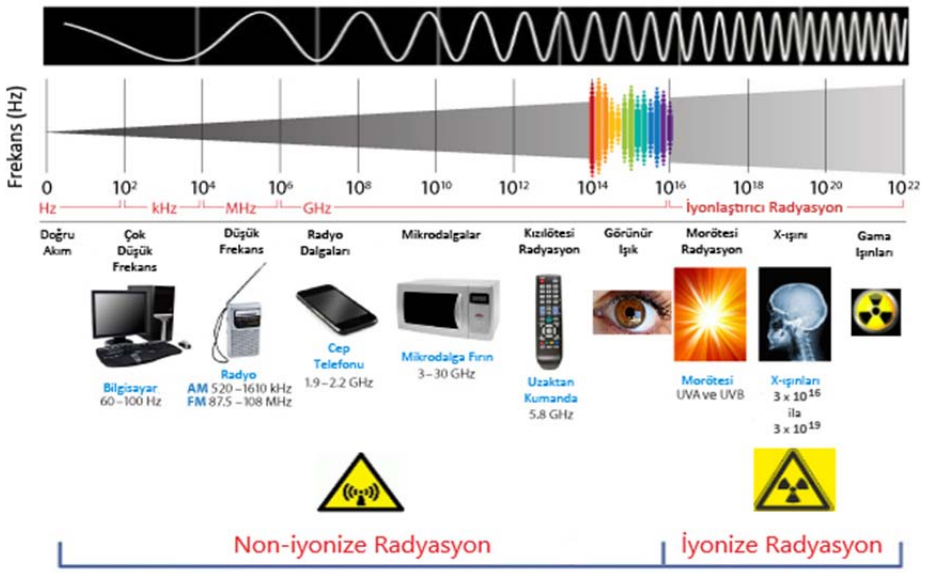
Hücre nekroza uğradığında bileşik hücre grubu etkilenirken, apoptozisde ise hücrelerin tekli olarak etkilendiği belirlenmiş. Nekrotik hücrelerde şişme meydana gelir ve bunun nedeni ise hücrenin içine aşırı miktarlarda sıvının girmesidir. Apoptotik hücrelerde tam tersine hücreler büzüşür ve küçülürler. Nekrotik hücreler plazma membranlarının bütünlüğününü kaybeder ve sonunda lizise uğrar. Apoptoziste ise hücre membranı bütündür. Apoptotik hücreler nekrotik hücrelerden farklı olarak apoptotik cisimciklere ayırılır. Apoptotik cisimcikler membranla kaplıdır; değişen miktarlarda nükleus veya diğer hücre içi yapılar içerirler. Hücre nekroza uğradığında çevreye kemotaktik maddeler yayılır ve inflamasyon uyarılır. Apoptozise uğrayan hücre ise çevreye herhangi bir kemotaktik madde yayamaz ve hemen yakınında bulunan makrofaj benzeri fagositer hücreler tarafından fagosite edilirler (Shariffa 2018).

Apoptozisin en önemli özgün yönü DNA molekülünün internukleozomal bölgelerden yaklaşık 180-200 kilo baz çifti veya bunun katları boyutunda DNA parçaları oluşturacak şekilde parçalanmasıdır. DNA'nın hangi enzim tarafından parçalanacağı hücrenin tipine ve uyaranın özelliğine göre değişir. Bu durum agaroz jel elektroforezinde merdiven görüntüsü imajının ortaya çıkmasına neden olur. Ancak bu durum hücre tipine bağlı olarak değişebilir ya da sadece yaklaşık 50 kilo baz çifti (kbp) boyutunda bir DNA fragmentasyonu da görülebilir (Kanduc, Mittelman et al. 2002).

Apoptotik hücrede görülen önemli değişikliklerden biri de normalde plazma membranının iç yüzünde bulunan fosfatidilserin'in erken evrede membranın dış yüzüne doğru yer değiştirmesidir. Bunlardan bir taneside Anneksin-V'tir. Bu fosfolipidin hücrenin dış yüzeyinde gösterilmesi o hücrenin apoptotik sürece girdiğinin bir göstergesidir. Bu mekanizma apoptotik hücrelerin komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmasını sağlar.

2.7. Radyasyon Nedir

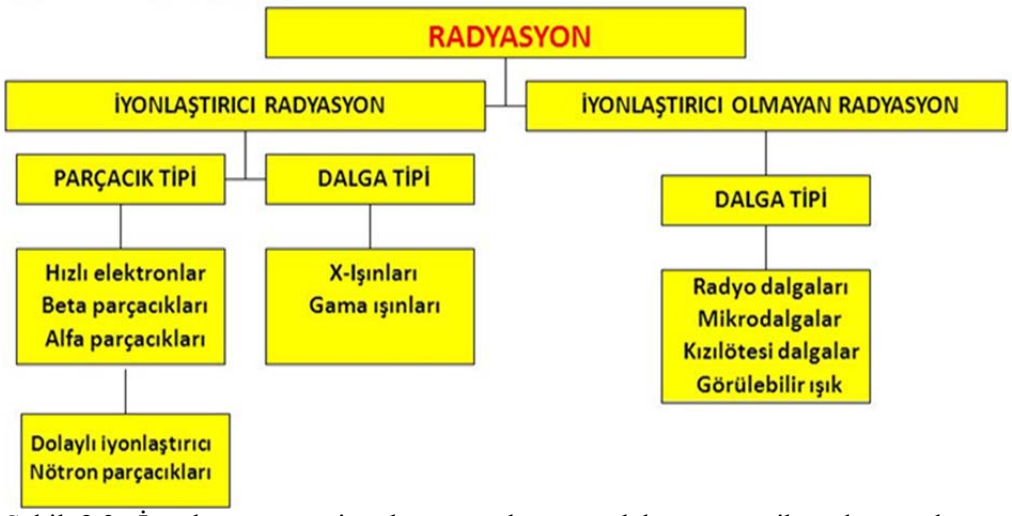
Radyasyon dalga veya parçacık halinde salınan enerjidir. Atom çekirdeğindeki nötron ve proton sayılarındaki dengesizlik ilave enerjiye neden olur. Bu enerji fazlalığı radyasyon (ışıma) olarak salınır. Bu salınım atom çekirdeğindeki proton sayısı ve nötron sayısı ile dengeleninceye kadar devam etmektedir (Donmez 2017). Öncede bahsedildiği gibi radyasyon 'parçacık' ve 'dalga' tipi olarak iki çeşitle incelenir. Parçacık radyasyonu belli bir kütle ve enerjiye sahip çok hızlı şekilde hareket eden minik parçacıklardır. Dalga radyasyon ise belli bir enerjiye sahip ancak kütlesi olmayan radyasyondur. Bu radyasyon tipi titreşim yaparak ilerleyen elektrik ve manyetik dalga gibidir.



Şekil 2.2. Farklı frekanslara karşılık gelen radyasyon tipleri (Saliev, Begimbetova et al. 2019)

2.8. Radyasyonun Sınıflandırılması

Radyasyonlar madde içine girerek atomları iyonlaştırabilmesi veya iyonlaştıramaması özelliklerine göre iki sınıfa ayırılır.



Şekil 2.3. İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik radyasyonların sınıflandırılması.

2.8.1. İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon (Elektromanyetik Radyasyonlar)

Elektromanyetik radyasyonun oluşmasına sebep olan yeni teknolojik ürünleri günlük yaşamımızda yoğun olarak kullanmaktayız. Yüksek gerilim hatları, TV ve bilgisayarlar, FM ve TV vericileri, mikrodalga fırınlar, mobil telefonlar, mobil telefon baz istasyonları kablosuz telefonlar, uydu antenleri ve verici antenler, radar antenleri, bluetooth, kablosuz internet, kablosuz ses ve görüntü sistemleri iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik radyasyonlardır. Bu radyasyonların enerjileri çok düşük olduğu için madde içerisine giremezler. Bunlar atomik bağları kırmak için yeterli enerjiye sahip değiller sadece maddenin atomlarını titreştirebilirler ve etkileştikleri ortamın sıcaklığını arttırabilirler. Yani düşük frekanslı veya düşük enerjili elektromanyetik dalgalar iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak adlandırılır. Mobil iletişim sistemlerinin neden oldukları ışınım iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgesi içinde yer almaktadır.

Mikrodalgalar, elektrik ve manyetik alandan oluşan yüksek frekanslı ve kısa dalga boylu elektromanyetik dalgalardır. Mikrodalga bölgesine ait frekans aralığı 300 MHz -300 GHz arasına, karşılık gelen dalga boyu aralığı ise 1mm–1m

arasında değişmektedir. Bu dalgalar telefon haberleşmeleri, radyo, radar, televizyon vericiler gibi iletişim araçlarında kullanılabilirler. 3 kHz - 300 GHz arasındaki frekans bölgesi radyofrekans (RF) bandı olarak tanımlanmıştır. Mikrodalga frekans bandı, RF bandı içinde yer alıp birkaç yüz MHz'ten birkaç GHz'e kadar olan frekans bandını kapsar. RF ve Mikrodalgalardan en çok etkilenen organlar göz ve testis olduğunu öne sürmüşler (Elder 2003, Aitken, Bennetts et al. 2005, Adams, Galloway et al. 2014). Bunların biyolojik etkilerine dair çok sayıda çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. Günümüzde bu dalgaların, hücre, doku, organlar üzerindeki etkilerini ve bunların her birisi ile nasıl etkileştiğini gösteren çok sayıda yayın mevcuttur (Mailankot, Kunnath et al. 2009, Dogan, Turtay et al. 2012, Houston, Nixon et al. 2016, Chauhan, Verma et al. 2017).

2.9. İyonlaştırıcı Radyasyon ve Etkileri

İyonlaştırıcı radyasyonların enerjileri çok daha büyük olduğu için madde içerisine girerek, atomların elektronlarını koparabilirler. İyonlaştırıcı radyasyonlar X ve Gamma ışınlar, alfa ve beta parçacıklar ve nötronlardan oluşmaktadır. Bu radyasyonların aktivitesi elektrik yükleri, şiddetleri veya kütleleri ile ifade edilirler (Bor 2015). X, Gamma ışınlar ve nötron radyasyon tipleri arasındakı doku içine girme (penetre olan) yeteneği en yüksek olanlardır. Alfa beta parçacıklar dokuya girme yeteneği daha düşük ancak doğrudan verildiği zaman etkilidirler. Radyasyonun biyolojik sistem üzerindeki etkisi radyasyonun gücü ve frekansına bağlıdır.

İyonlaştırıcı radyasonlar her bir molekülü etkileye bilir ancak hücreler düzeyde en çok DNA'yı etkilediği söylenmektedir (Desouky, Ding et al. 2015). Norrmal bölünme süresindeki hücreyi 2Sv=2Sievert radyasyon dozu öldürebilir.İyonlaştırıcı radyasyon direkt etkisi DNA zincirini kırar, ancak hücre içindeki moleküllerle etkileştiğinde oksijen radikallerini oluşturur ve bunlar DNA zincir kırmasına yol açmakla beraber bazı çeşitli bozukluklara yol açar. Hücre

tipine göre radyasyon duyarlılığı farklıdır. Hızlı bölünen hücrelerin duyarlılığı fazla iken bölünmeyen hücreler ise daha az duyarlılık göstermektedir. Bu nedenle hücreleri hızlı bölünmekte olan dokularda radyasyon hasarı erken görünürler (Yağmur, Bozbıyık et al. 2003). İyonlaştırıcı radyasyonların geç dönem etkilerinin de olduğu bildirilmiştir. Kanser ve genetik mutasyonların sonraki nesillerde ortaya çıkması benzer şekilde katarak gibi hastalıkların daha sonra ortaya çıkması radyasyonun dokular üzerindeki geç dönem etkilerinin bir sonucu olarak gösterilmektedir (Arslan 2017).



Şekil 2.4. .İnsanların maruz kaldığı (SAR:1-10^{-4} W/kg) Non-iyonize radyasyonlar

2.10. Elektromanyetik Radyasyonun Sağlık ve Biyolojik Etkileri

Düşük şiddetli elektromanyetik radyasyonlar doku ve hücre sistemleri üzerinde çeşitli etkiler göstermektedir. Özellikle DNA, RNA, protein sentezi, hücre bölünmesi, kanser gelişimi, hücre zarından kalsiyum giriş-çıkışı ve hücre membran yüzeyinde bir takım değişiklikler oluştuğu belirlenmiştir. Ayrıca doku ve hücrelerde bir takım biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler gözlenmiştir. Örneğin, protein ve nükleik asit metabolizmasında değişiklik, hormonal cevaplarda

değişiklik, yabancı antijene karşı immün yanıtta değişiklikler olduğu belirtilmiştir (Polk and Postow 1995)

EMR'un biyolojik etkilerini araştıran çalışmaların çoğunda çeşitli kanser türleri, lösemi ve lenfoma, kan beyin bariyeri geçirgenliğinin artması, beyin sıcaklığının, hücre ve DNA sentezinin artması, üremede azalma, kromozomal bozulmalar, beyin elektriksel aktivitesinin (EEG), kan basıncının artması, davranış bozukluğu, çocuklarda öğrenme güçlüğü gibi pek çok etkinin varlığını göstermektedir (Polk and Postow 1995). Son zamanlar yeni nesil çocukların cep telefonu ve çeşitli elektron aletler sıkıca kullanılması EMR'a daha çok maruz kalma imkan ortaya koymakla beraber çocuklara yönelen çalışmalar yapılmaktadır. Cep telefonlarının çocuklarda beyin delta dalgasını değiştirdiğine dair bulgular bulunmaktadır. Çocuklarla eşdeğer olarak hamilelerin EMR'dan etkilenme riski yüksek olduğu düşünülmektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı 2001 yılın Ekim ayında elektromanyetik alanları 2B sınıf karsinojen olarak tanımlamıştır. Bununla beraber Türkiyede Ankara Gazi Üniversitesi Gazi Biyofizik anabilim dalının WHO (Dünya Sağlık Örğütü) ile beraber düzenlediği "Sensitivity of Children to ElectroMagnetic Fields" Çocukların Elektromanyetik Alanlara Hassasiyeti'isimli toplantıda düşük frekanslı elektromanyetik alanların çocuk lösemisini iki kat arttırdığını duyurmuşlar (Seyhan 2010). Bu duyurular bu alanın daha çok dikkate alınması gerektiğini ve araştırmacıların bu konu ile ilgili daha çok bilimsel çalışmalar yapmasını tetiklemiştir.

2.11. Elektromanyetik Radyasyonun İmmün Sistem Üzerindeki Etkileri

Günümüzde hayatımıza hızlıca giren kablosuz iletişim sistem olan cep telefonu, mikrodalga fırın, baz istasyonları, televizyon, radyo gibi aletlerin artması ve bunlardan yayılan RF radyasyona daha sık maruz kalmanın insan sağlığı ile ilgili endişelere yol açmıştır. Bir çok laboratuvar çalışmaları RF radyasyona maruz kalmaın insan immün sistem üzerindeki etkilerine odaklanmıştır. Radyofrekans elektromanyetik radyasonun immün sistem üzerindeki etkilerini insan ve deney

hayvanlar kullanarak yapılan çalışmalar mevcuttur. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen veriler diğerleri ile tutarlı olmadığı ve çoğunlukla aynı çalışmada bile tutarlı bulguların olmadığı görülebilmektedir. Bu durum, farklı deney koşulları ve farklı yöntemler kullanılması ve öznelerin bireysel farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir (Emre) (Emre, 2019). Aşağıda RF-EMR'un immün sistem üzerindeki etkisini insan ve deney hayvanlarda yapılmış bazı çalışmalar sunulacaktır.

Cep telefonlar'dan yayılan 900 MHz radyasyonun fare dalak hücreleri üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada T ve B hücre proliferasyonunda herhangi bir değişiklik olmadığını, hücrelerin sitokin üretimini etkilemediğini ancak manyetik alan uygulamasının ikinci ve dördüncü haftalarda IFN düzeylerinde belirgin bir artış olduğunu belirlemişler. Bu değişiklik immün sistem başka etkenlere adapte olduğu gibi radyasyona da adapte olabileceğini düşündürmektedir (Gatta, Pinto et al. 2003). Deney hayvan ile yapılmış diğer bir çalışmada sıçanlar dokuz hafta boyunca her gün 20 saat RF sinyallerine (2.14 GHz, SAR 0.2 W/kg) maruz bırakılmıştır. Uygulama grubunu kontrol grubu ile karşılaştırdığında, aktive T hücrelerin sayısında, CD4/CD8 T hücre oranında, splenositler ve timositler arasındaki düzenleyici T hücrelerinin (T reg.) sayılarında herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (Emre , Ohtani, Ushiyama et al. 2015).

GSM module edilmiş RF-EMR'un insan immün sistem hücrelerinin fonksiyonel yeterliliği üzerinde olumsuz etkilerini araştırmışlar. Bu çalışmada 1W/kg SAR değerindeki 1950 MHz radyasyon kullanılmıştır. Lenfositlerde IL-2 ve IFN-γ üretimi, monositlerde ise IL-1 ve TNF-α üretimi monoklonal antikor ile değerlendirildi. İmmün ilgili gen aktivitesini belirlemede PCR yöntemi kullanıldı. Her bir parametre için en az 15 dönerden kan örnekleri değerlendirildi. Sonuç olarak elektromanyetik alana maruz kalmanın istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunamamıştır ve cep telefonlarından kaynaklanan emisyonların insan immün sistemi üzerindeki olumsuz etkilerle ilişkili olduğuna dair bir gösterge yoktur (Tuschl, Novak et al. 2006). Benzer bir çalışmada aynı şekilde 900 MHz (SAR

2W/kg) elektromanyetik radyasyonun periferik B hücre farklılaşması ve antikor üretimi üzerindeki etkisini incelemişler. Çalışmanın sonucu dalaktaki olgun foliküler B hücrelerini ve marjinal bölge B hücrelerini etkilemediğini ayrıca IgM ve IgG'nin serumdaki seviyesini etkilemediğini bildirmişler. Sonuç olarak, GSM modülasyon RF radyasyonunun B hücresi periferik kompartımanı ve antikor üretimi üzerindeki hiçbir etkisini göstermediği tespit edilmiş (Nasta, Prisco et al. 2006).

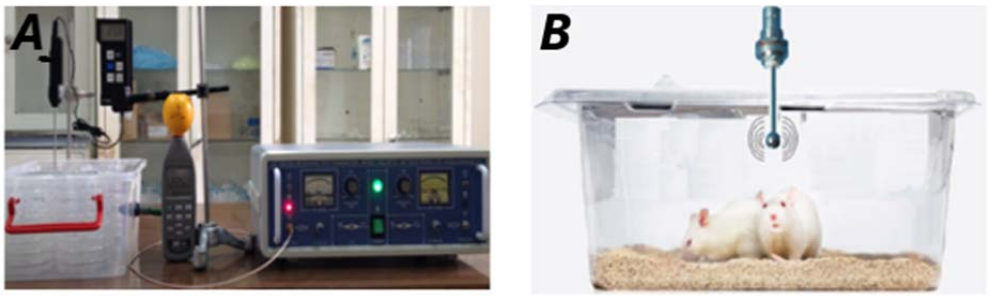
3. MATERYAL VE METOD

3.1. Radyofrekans Elektromanyetik Radyasyon (RF-EMR) Uygulama Düzeneği

Bu çalışmada 32 adet Wistor albino erkek sıçan kullanıldı ve deney hayvanlar dört eşit gruba ayrıldı. Her gruba aynı anda RF-EMR uygulandı. Çalışmamızda, Set Elektronik Telekomünikasyon Elektrik ve Güvenlik Sistemleri San. Tic. Ltd.Şti. tarafından dizaynı yapılan RF-EMR jeneratörü kullanıldı (Resim 1A). 95×95×40 cm boyutunda uygulama kafesi ayarlandı ve kafes eşit dörde bölündü (Resim 2A). Her bir bölmesi 1.Kafes, 2.Kafes, 3.Kafes, 4.Kafes olarak adlandırıldı ve her kafeste 8 adet sıçan olmak üzere haftada beş gün aynı saat aralığında (10:00-14:00), 1800 MHz RF-EMR'a maruz bırakıldı. Deney düzeneğinin monopol anten deneklerin vücuduna aynı mesafede eşit yayılacak şekilde sabitlendı. RF-EMR kaynağı olarak 1800 MHz'de çalışan ve 0–1 Watt çıkış verebilen (CW=Continues Wave) bir RF jeneratörü kullanıldı. 0,6 ms sinyal aralığında 217 Hz darbe modülasyon frekansında ve yarım dalga monopol anten tipi ile kafesteki sıçanlara RF-EMR uygulandı. Radyo frekans jeneratör 1 Watt güçte çalıştırılarak monopol antene yakın alandaki güç yoğunluğunun değişimi ElectroSmog meter (TES 593) taşınabilir güç ölçer ile ölçüldü. ElectroSmog cihazın probu X, Y ve Z eksenlerini ölçüp vektörel toplamını alabilir özellikteydi (Gajšek, Ziriax et al. 2001). RF-EMR uygulamasına bağlı oluşabilecek muhtemel ısı değişimleri, deney öncesi ve hemen sonrasında dört kanallı termometre kullanılarak takip edildi (Resim 2C). Elektrik alanın büyüklüğü 24–26 V/m (26 V/m ±% 9) idi. RF-EMR'un dozu, ölçülen elektrik alanı ve manyetik alanın büyüklüğünden (0.067 A/m) hesaplandı. Ortalama güç yoğunluğu (ExH) ise, yaklaşık 1.74 W/m^2 idi.

Çalışmada özgül soğurma oranı (SAR) değeri ölçülen elektrik alan dansitesi (V/m) ve güç yoğunluğu (mW/cm^2) referans alınarak hesaplanmıştır. SAR değerleri 0.008 – 0.15 W/kg arasında değişmekteydi. Dolayısıyla SAR değerleri aynı şart, yönelim ve anten gücü için hesaplandığında; tüm vücutta

0.15 W/kg değeri hesaplanmıştır (Gajšek, Ziriax et al. 2001, Peyman, Rezazadeh et al. 2001, Gajsek, Walters et al. 2002). Sıçanlar altı hafta boyunca günde 4 saat 1800 MHz, 26 V/m ve SAR 0.15 W/kg olan RF-EMR'a maruz bırakıldılar. Sıçan vücuduna en yakın noktada elektriksel alanın büyüklüğü 8 V/m idi. Deney düzeneğinin güç düzeyleri toplumsal amaçlarla kullanılan cep telefonlarının gösterdiği etkiye benzer değerde tutuldu. Çalışma 1800 MHz'de 100 dB'e kadar etkin olan RF korumalı odada gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1 EMR jeneratörü ve EMF RF Radyasyon güç ölçeri (A). RF-EMR'nın monopol antenle tek bölmeli kafesteki deneklere uygulanması (B).



Şekil 3.2. Sıçanlar 95x95x40 cm boyutunda dört bölmeli uygulama kafesine konup, RF jenaratörü 1800 MHz ve 1 Watt çıkış güçte çalıştırıldı (A). RF-EMR. Uygulaması sırasında sıçanlar antene yakın bölgede kümelendikleri gözlenmiştir (B).Maruziyet sonrası kafesin dört köşesinden yapılan sıcaklık ölçümlerinde anlamlı bir fark gözlenememiştir (C).

3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmamızda Çukurova Üniversitesi SABİDAM (Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi) tarafından temin edilen, ağırlıkları 199-263 gram arasında değişen 32 adet erkek Wistor albino cinsi erişkin rat kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kontrol grubu kendi içinde oluşturuldu. Deney başlamadan önce sıçanlar randomize olarak her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Her grubu birbirinden ayırt ederek daha iyi gözlemleyebilmek amacıyla kafesler 1.kafes, 2.kafes, 3.kafes ve 4.kafes şeklinde numaralandırıldı. Deney hayvanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda kaldı. Bu süreler içerisinde su ve yem gibi temel ihtiyaçları karşılandı. Ancak dört saatlik RF-EMR'a maruz kalma sırasında yem ve su kısıtlanması yapılmıştır.

3.2.1. Kontrol grubu

Bu çalışmamızda daha önceden var olması muhtemel enfeksiyonların sonuçlarımızı etkilememesi için deney boyunca kontroller kendi içinde oluşturularak çalışıldı. Deney hayvanlara herhangi bir uygulama yapılmadan önce her birinden ayrı ayrı kan örneği alındı. Bunlar kontrol olarak kullanıldı. Kan örnekleri tamamen toplandıktan sonra ertesi gün Anneksin-V düzeyine bakıldı. Daha sonra bu kanlar 3000 RPM'de 20 dakika santrifüj edildi plazmaları ayrıldı. Plazma örnekleri numaralandırılmış tüplere konuldu çalışma gününe kadar -40^0C de derin dondurucuda saklandı.

3.2.2. Uygulama grubu

Manyetik alan uygulaması pleksiglas'dan yapılmış kafesin içinde gerçekleştirildi. Her grupta 8 adet sıçan olmak üzere 4 grup aynı anda, 1800 MHz RF-EMR'a haftada 5 gün 6 hafta boyunca aynı saatler aralığında RF-EMR'ye maruz bırakıldı. Ard arda devam eden 5 günlük uygulamadan sonra 2 gün ara verildi. Her çalışma grubundaki sıçanlar standart mevsimsel ışık ve ısı koşullarında

(22^0 C-23.2^0 C) bulundurulmuştur. Uygulamanın 3. Haftası (15. gün uygulama yapıldıktan sonra) ve son olarak 6. haftada (uygulamanın 30.günü) sıçanlardan kan örneği alındı.

3.3. Deney Hayvanlarından Kan Örneklerinin Toplanması

Deney boyunca toplam 3 kez kan örneği alındı. Uygulama yapılmadan önce kontrol oluşturmak amacıyla, uygulamanın 15. günü ve uygulama bittikten sonra her hayvandan 1,5-2cc kan kalp ponksiyonu yöntemi ile EDTA'lı tüplere alındı (Resim 3B). Bunun için hayvanlara anestezi uygulanarak uyutuldu. Uyutulduklarından emin olduktan sonra hayvanlar sırt üst yatılarak tespit edildi. Kalp ponksiyon yöntemi ile kan almak için kalp vuruşunun en güçlü olduğu nokta işaret parmağıyla saptandı. Enjektör iğnesi orta hattın hafifçe solundan ksifoid kıkırdağın altından sokularak sternuma 20-30 derecede ilerletildi. Kalbe girildiğinden emin olduktan sonra yavaşça çekilerek kan alınım gerçekleştirildi. Pıhtılaşmayı önlemek için tüpler hafifçe alt üst edilerek çalkalandı (Resim 3A, 3B).

Alınan bu kan örneklerinden ilk önce Anneksin-V düzeyine bakıldı. Daha sonra örnekler 3000 RPM'de 20 dakika santrifüj edilerek kan plazmaları ayırıldı. İnflamatuvar, anti-inflamatuvar sitokin düzeyleri uygulama bittikten sonra toplu çalışılacağı için çalışma gününe kadar -40^{o}C de saklandı.



Şekil 3.3. Deney hayvanların sırt üst yatırılıp tespit edilerek kan almaya hazırlanması (A). Kalp ponksiyon yöntemi kullanılarak kan alma işlemi (B).

3.4. Metod

3.4.1. Anneksin-V (FITC) Tayin Yöntemi

Hücre membran lipidi olan fosfatidilserin (PS) normal ve sağlıklı hücrelerde hücre zarının iç tarafında yer alır ve sitoplazmik bir yerleşim gösterir. Hücrenin apoptotik sürece girmesi ile birlikte PS hücre zarının dış yüzüne çıkar. Anneksin V, hücrenin dış yüzeyine çıkan bu fosfatidilserine (PS) bağlanabilen bir proteindir. Bu nedenle hücre zarının dış yüzeyinde belirlenen PS'leri görünür kılmak amacıyla, floresan bir madde ile işaretlenmiş (FITC=Fluorescein isothiocyanate) Anneksin V kiti kullanılmaktadır. Nekrotik ve apoptotik sürece girmiş hücreleri aynı anda tespit etmek amacıyla Anneksin-V FITC (yeşil fluorescence) ile non-vital boya olan propidium iodide (kırmızı fluorescence) içeren çift florokrom işaretli monoklonal antikor kullanılmaktadır. Böylece aynı anda canlı hücreler (FITC-/PI-), erken apoptotik süreçteki hücreler (FITC+/PI-) ve geç apoptotik veya nekrotik hücreleri (FITC+/PI+) birbirinden bağımsız olarak tespit etmek mümkündür. Çalışmamızda Anneksin-V FITC Detection of Apoptosis (Beckman Coulter, USA) kiti kullanıldı.

Metodoloji.

Anneksin-V tayini;

Annekin-V pozitif hücrelerin tayininde Flow Sitometrik yöntem kullanıldı. Bu yöntem, apoptotik sürece henüz girmiş (erken apoptotik), daha önce girmiş (geç apoptotik) ve nekrotik (ölü) hücreleri belirlemek için kullanılan oldukça hassas bir yöntemdir.

Reaktiflerin hazırlanması:

1. 10 kat konsantre olan Binding buffer 1.7mL (İmmunotech,SAS) 10 kez distile su ile dilüe edilerek kullanıma hazır hale getirildi. Hazırlanan buffer buz kalıbı üzerine yerleştirildi.

2. 250µg Propidium Iodide (Invitrogen,USA) 1mL hazırlanmış binding buffer eklenerek çözüldü ve kullanıma hazır hale getirildi. Buda aynı şekilde buz kalıbı üzerine yerleştirildi.
3. Lyse (Beckman Coulter,France)×10 şeklinde örnek sayısına göre ayarlandı.
4. Reaktifler kullanıldıktan sonra 2-8^{0}C de saklandı.

Çalışma prosedürü:

1. Deney sayısı kadar Flow Sitometri tüp işaretlenerek hazırlandı.
2. Alınan kan örneklerinin hücre konsantrasyonları 5×10^5 hücre/ml'ye ayarlandı.
3. Her örnekten 200µl alınarak polstren tüplere aktarıldı.
4. Kandaki eritrositleri ortamdan uzaklaştırmak için her tüpe 1000µl Lysing solusyonu (Beckman Coulter, France) eklendi.
5. 4^{0}C sıcaklıkta 500×g ayarda 5 dakika santrifüj edildi ve üsteki süpernatant atıldı.
6. Tüpler vortekslendikten sonra 10 dakika buz kalıbı üzerine bekletildi.
7. Her bir örnek için bir boş tüp hazırlandı, her tüpe 5µl Annexin-V FITC ve 2.5µl kullanıma hazır PI boyaları konuldu.
8. Hazırlanan her tüpe 100µl Lysis edilmiş kan örnekleri eklendi.
9. 10 dakika karanlık ortamda ve buz kalıbı üzerinde inkübe edildi.
10. Her tüpe önceden hazırlanmış Binding buffer'dan 400 µl ilave edildi.
11. Örnekler analiz edilmek üzere Flow Sitometri chazından (Beckman Coulter, Navois, USA) geçirildiler.

Flow Sitometrik analiz ve değerlendirme;

Hücreler FL1 log/FL3 log'e karşı analiz edildi. Lenfositlerin olduğu hücre populasyonu kapılandı. Canlı hücrelerin (FITC-/PI-), Erken apoptotik hücrelerin (FITC+/PI-) ve geç apoptotik/nekrotik hücrelerin (FITC+/PI+) % oranları belirlendi.

3.4.2. İnflamatuvar ve Anti-inflamatuvar Sitokinlerin ELISA Tayin Yöntemi

ELISA, serum, plazma ve hücre kültür sıvılarından antijen veya antikoru tayin emek amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Şayet bir örnekte bilinen bir antijenin tayini yapılacak ise bu örnek solid bir yüzeye bağlanmış ve aranan antijene spesifik enzim işaretli antikoru ile birlikte reaksiyona sokulur. Bu örnekte aranan antijene spesifik antikor varsa antijenle birleşerek antijen/antikor kompleksini meydana getirir. (Antijene bağlanan antikor miktarı, var olan antijen miktarı ile orantılıdır). Bu kompleksi görünür kılmak için, ortama enzimin substratı eklenir. Renksiz substrat enzim ile reaksiyona girerek renkli bir ürüne dönüşür. Oluşan bu renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü ile aranan antikorun miktarı ölçülür. ELISA testinin direkt, indirekt ve sandviç ELISA gibi farklı uygulama şekilleri olmasına rağmen en sık kullanılanı sandviç ELISA yöntemidir. Bu çalışmada sandviç ELISA yöntemi ile çalışan sıçan spesifik mikro ELISA ('Sun Red' Biotechnology Company, China) Kiti kullanıldı.

Çalışma prosedürü:

1. -40^{0}C'de saklanan serum örnekleri çalışmadan bir gün önce derin dondurucudan çıkarılarak çözülmeleri ve oda ısısına gelmeleri için bir gece bekletildiler.
2. Kitler dolaptan çıkarıldıktan sonra oda ısısında 30 dakika bekletildi. Bu sıra da çalışılacak plazma örnekler hazırlandı.
3. Standart reaktifler prosedüre uygun dilüe edilerek hazırlandı.
4. Sırasıyla, standartlardan 50µl ve örneklerden de 40µl mikroplatelerin kuyucuklarına konuldu.
5. Her kuyucuğa önce 10µl spesifik antikor daha sonradan 50µl enzim işaretli anti insan antikoru (konjugat) eklendi ve plate'in üzeri kapatılarak 37^{0}C'de 60 dakika inkübe edildi.
6. Kuyucuklardaki bağlanmamış antikorları uzaklaştırmak amacıyla plateler 5'er kez yıkandı.
7. Tüm kuyucuklara sırasıyla önce 50 µl kromojen A solüsyonu daha sonra 50µl kromojen B solüsyonu eklendi ve 37^{0}C'de 10 dakika inkübe edildi.

8. İnkübasyon işlemini takiben kuyucuklara 50'şer µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırıldı.
9. Oluşan renk değişimi 450-650 nm'de okutularak sonuçlar analiz edildi.

3.5. İstatistiksel Analizi.

Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Sayısal ölçümler ortalama ve standart sapta (gerekli yerlerde ortanca ve minimum-maksimum) olarak özetlendi. Aynı bireyler üzerinde farklı zamanlarda yapılan sayısal ölçümlerinin zaman içindeki değişimimi karşılaştırmada varsayımların sağlanması durumunda Tekrarlı ölçümler analizi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Friendman testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma durumunda Bonferroni düzeltmeli P değerleri kullanılmıştır. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı. (SPSS referansı: IBM Corp.Released 2011. IBM SPSS Statisticsfor Windows, Version 20.0 Armonk,NY:IBM Corp.)

4. BULGULAR

4.1. Deney hayvanlarının çalışma öncesi, RF-EMR uygulamasının 15.gün ve çalışma sonrası vücut ağırlıkları

Deney hayvanların vücut ağırlıklarını elektromanyetik uygulamanın farklı günlerindeki ağırlık değerleri ile karşılaştırıldığında, uygulamanın 15. gününde bu oranın anlamlı olarak azalmış olduğu tespit edildi (P=0,009). Ancak uygulamanın 30. günü vücut ağırlıkları yeniden yükseldiği görüldü. 15. gün ile 30. günkü vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (P=0,007).

Çizelge 4.1. Deneklerin manyetik alan uygulamalarının farklı günlerindeki vücut ağırlıklarının karşılaştırması

	Kontrol (1. gün) X±SD Median(MinMax)	Uygulamanın 15. günü X±SD Median(MinMax)	Uygulamanın 30.günü X±SD Median(MinMax)	P1	P2	P_{1-15}	P_{1-30}	P_{15-30}
Vücut ağırlığı (gramm)	235,3±21,0 240,0(194;267)	224,3±26,7 225,5(152;266)	240,1±22,4 240,0(203;292)	0,002	0,007	0,009	1,000	0,007

P1: Uygulamanın ilk gün, 15.gün, 30.günler arasındakı karşılaştırılma
P2: Zaman içerisindeki değişiklerin karşılaştırması
P_{1-15}: İlk günle 15.gün karşılaştırması
P_{1-30}: İlk günle 30.gün karşılaştırması
P_{15-30}: 15.günle 30.gün karşılaştırması

4.2. Deneklerin Kan Anneksin-V Düzeyleri

4.2.1. Kan Anneksin-V Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Deneklerin kan Anneksin-V düzeyi ile ilgili bulgularına bakıldığında, Canlı hücrelerin % değerleri açısından kafesler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında uygulamanın ilk gün (kontrol) ile uygulamanın 15. günkü oranlarında istatistiksel anlamda herhangi bir fark saptanmadı ($P>0,05$). Ancak elektromanyetik uygulamanın 30. gününde kafesler arası karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamı fark saptandı ($P=0,026$). Erken apoptotik süreçteki hücrelerinin % değerlerinde uygulamanın yapılmadığı 1. ve 30. günlerdeki kafesler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında anlamlı farklar gözlenmiştir ($P_1=0,003$, $P_{30}<0,001$). Ancak 15.günkü kafeslerin kendi aralarındaki karşılaştırmalarında ise herhangi bir fark saptanamamıştır ($P>0,05$). Geç apoptotik süreçteki hücrelerin % değerlerinde ise ilk günkü kafesler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında herhangi bir değişiklik saptanamazken ($P>0,05$), elektromanyetik uygulamanın yapıldığı 15. gün ve 30. günlerdeki kafeslerin kendi aralarındaki karşılaştırmalarında ise istatistiksel anlamda bir fark tespit edildi ($P=0,022$, $P=0,026$).

Çizelge 4.2. Kan Anneksin-V düzeylerinin kafesler arası karşılaştırması

LENFOSİTLER		Birinci grup X±SD Median(MinMax)	İkinci grup X±SD Median(MinMax)	Üçüncü grup X±SD Median(MinMax)	Dördüncü grup X±SD Median(MinMax)	Toplam X±SD Median(MinMax)	P
Canlı Hücreler FITC (-) PI(-)	1	56,43±1,4 54,0(44-74)	63,8±13,3 64,5(46-87)	60,1±8,7 60,0(42-69)	60,0±9,2 60,5(47-70)	60,1±10,5 60,0(42-87)	0,779
	15	71,1±5,4 71,0(61-77)	67,5±4,0 66,0(64-74)	63,6±23,0 69,5(10-81)	58,1±11,5 57,0(42-79)	65,0±13,6 67,0(10-81)	0,085
	30	50,0±6,4 52,0(40-57)	61,6±9,2 65,0(49-72)	51,6±8,5 50,0(42-68)	62,0±5,7 61,0(53-69)	57,0±9,1 56,5(40-72)	0,026
Erken apoptotik süreçteki hücreler FITC(+); PI(-)	1	1,5±1,5 1,0(0-4)	4,2±3,0 4,5(1-9)	10,1±4,0 11,0(2-14)	11,8±7,7 14,0(0-23)	7,1±6,1 5,0(0-23)	0,003
	15	3,6±2,0 2,0(2-6)	7,1±4,0 7,5(1-12)	4,0±3,0 4,0(0-8)	3,0±3,1 1,5(1-10)	4,45±3,4 4,0(0-12)	0,110
	30	2,2±1,0 2,0(1-3)	3,3±1,1 4,0(1-4)	4,4±1,6 4,0(3-7)	7,6±1,1 7,0(6-9)	4,5±2,3 4,0(1-9)	<0,001
Geç apoptotik/Nekrotik hücreler FITC(+); PI(+)	1	4,3±2,1 4,0(2-7)	4,9±1,4 4,5(3-7)	5,5±2,0 6,0(2-8)	6,5±3,3 6,5(1-12)	5,3±2,4 5,0(1-12)	0,366
	15	3,4±1,5 3,0(2-6)	6,6±1,5 7,0(4-8)	4,9±1,7 5,5(1-6)	6,8±3,5 6,5(1-12)	5,5±2,5 6,0(1-12)	0,022
	30	3,4±1,5 3,0(2-5)	5,1±1,5 6,0(3-7)	3,7±1,0 4,0(2-5)	6,4±2,6 5,0(4-11)	4,8±2,0 4,5(2-11)	0,026

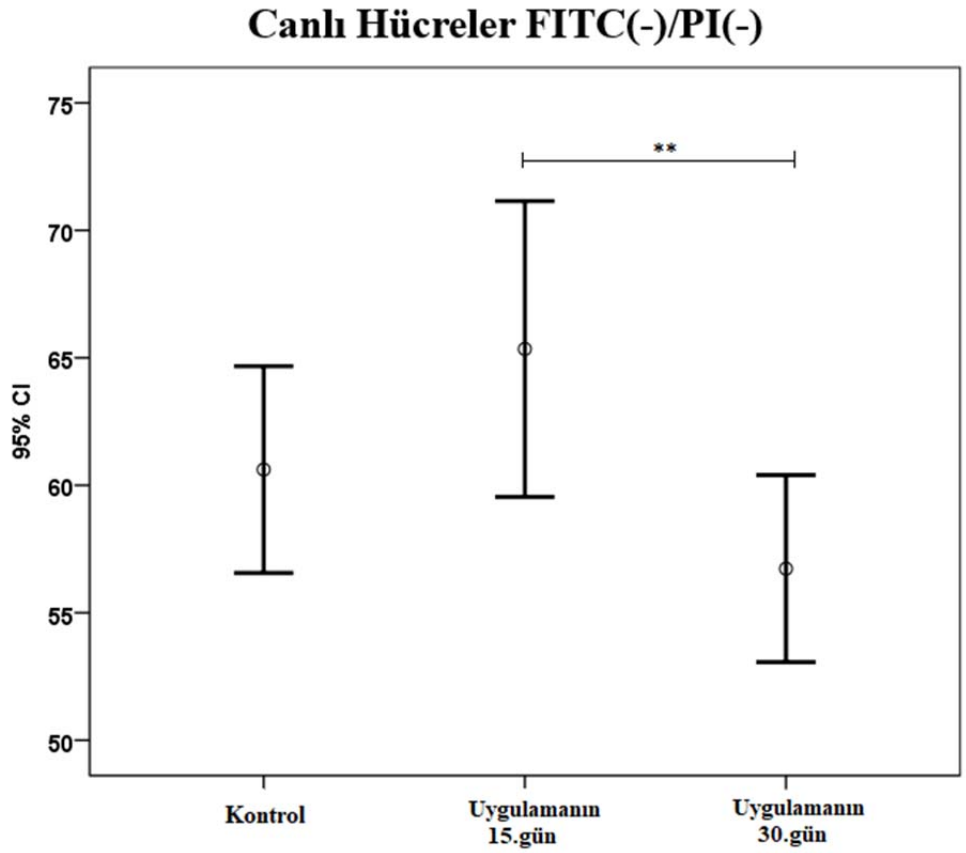
4.2.2. RF-EMR Uygulamasının Farklı Günlerindeki Kan Anneksin-V Düzeylerinin Karşılaştırması.

RF-EMR Uygulamasının farklı günlerindeki kan Anneksin-V düzeylerinin sonuçları karşılaştırıldıklarında, Canlı hücrelerin % oranları açısından P1 değeri anlamlı fark göstermiştir (P1=0,008). Erken apoptotik süreçteki hücrelerin oranlarının P1 ve P2 değerlerinde herhangi bir farklılık gözlenmedi (P1=0,227, P2=0,042). Geç apoptotik süreçteki hücrelerin P1değerlerinde anlamlı bir fark gözlenirken (P1=0,036), P2 değerlerinde herhangi bir değişiklik tespit edilemedi (P2=0,334).

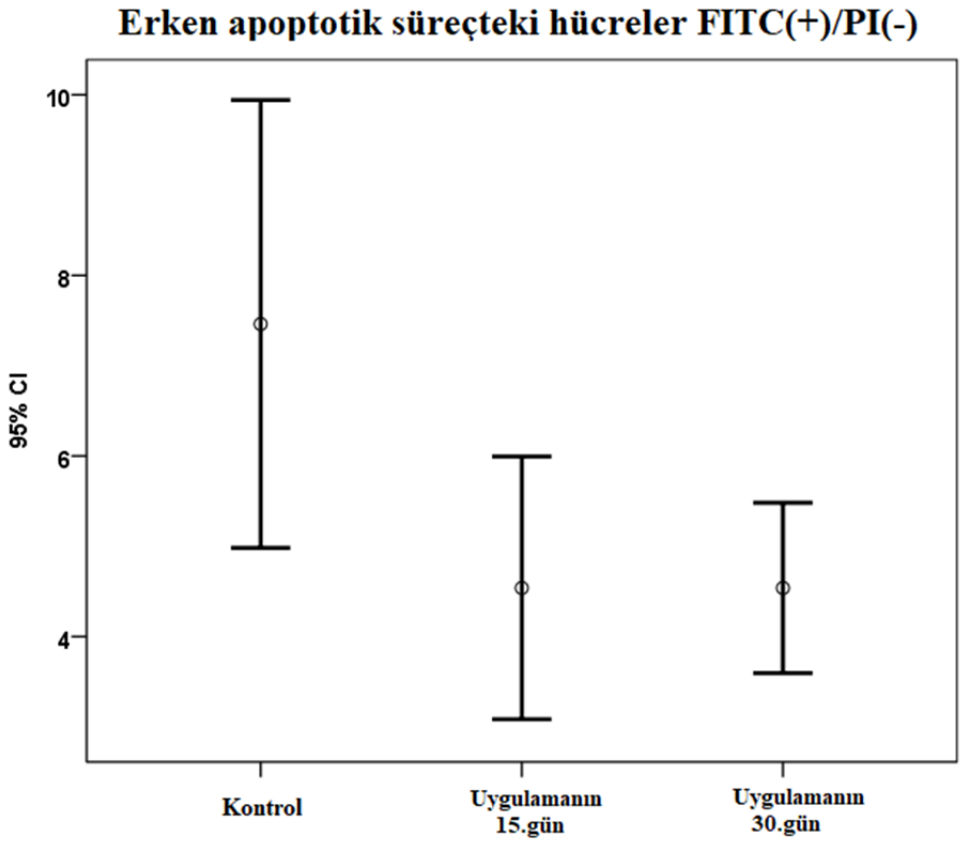
Çizelge 4.3. Anneksin-V düzeylerinin manyetik radyason uygulamasının farklı günlerindeki karşılaştırması

	Kontrol (1. Gün) X±SD Median(MinMax)	15. Gün X±SD Median(MinMax)	30.Gün X±SD Median(MinMax)	P1	P2	P_{0-15}	P_{0-30}	P_{15-30}
Canlı Hücreler FITC (-) PI(-)	60,1±10,5 60,0(42-87)	65,0±14,0 67,0(10-81)	56,7±9,1 56,5(40-72)	0,008	0,054	0,381	0,381	0,007
Erken apoptotik süreçteki hücreler FITC(+); PI(-)	7,1±6,1 5,0(0-23)	4,5±3,6 4,0(0-12)	4,5±2,3 4,0(1-9)	0,227	0,042			
Geç apoptotik/Nekrotik hücreler FITC(+); PI(+)	5,3±2,4 5,0(1-12)	5,5±2,5 6,0(1-12)	4,7±2,0 4,5(2-11)	0,036	0,334	0,436	1,000	0,066

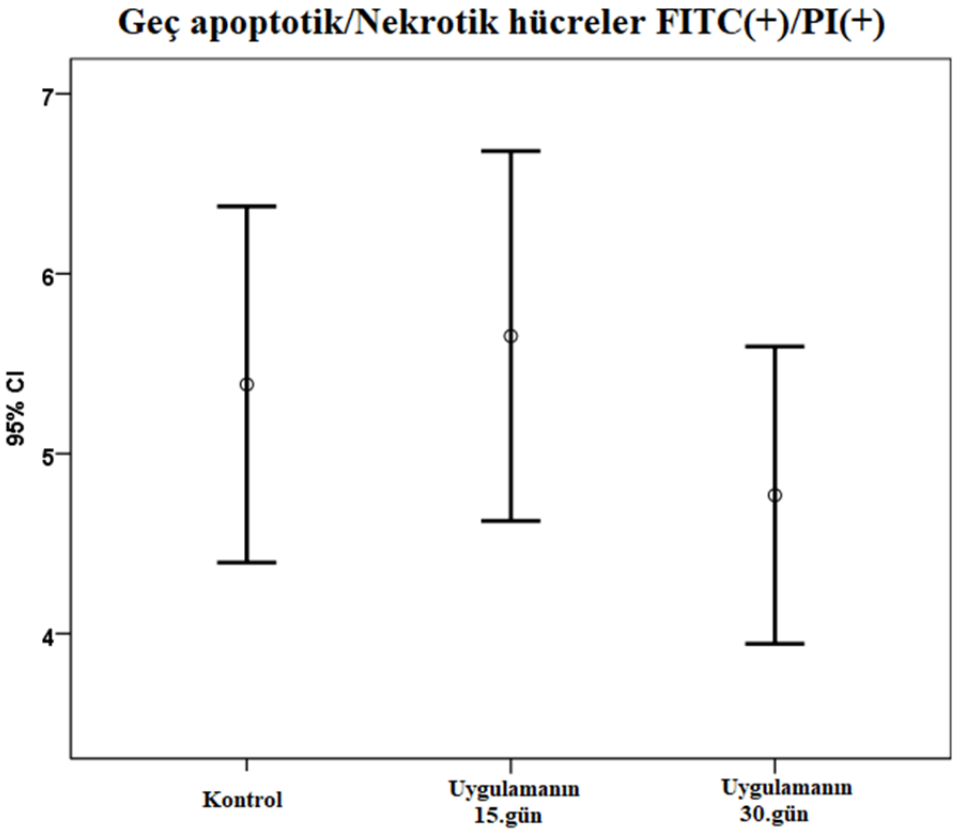
P1: Uygulamanın ilk gün, 15.gün, 30.günler arasındakı karşılaştırma
P2: Zaman içerisindeki değişiklerin karşılaştırması



Şekil 4.1. RF-EMR uygulamasının canlı hücreler üzerindeki zaman değişim grafiği. **p>0,001



Şekil 4.2. Erken apoptotik süreçteki hücreler üzerine 1800 MHz RF-EMR uygulamasının zaman değişim grafiği.



Şekil 4.3. RF-EMR'un uygulamasının geç apoptotik ve nekrotik hücreler üzerindeki zaman değişim grafiği.

4.3. Plazma Sitokin Düzeyileri

4.3.1. Plazma Sitokin Düzeylerinin Kafesler Arası Karşılaştırması

Çalışmamızda, plazma sitokin sonuçlarının kafesler arası karşılaştırmalarında istatistiksel anlamda bir fark saptanamadı (P>0,05).

Çizelge 4.4. *Plazma Sitokin Düzeylerinin Kafesler arası karşılaştırması.*

		Birinci kafes X±SD Median(MinMax)	İkinci kafes X±SD Median(MinMax)	Üçüncü kafes X±SD Median(MinMax)	Dördüncü kafes X±SD Median(MinMax)	P
IL-1 (pg/ml)	1	265,6±65,1 243,8(206,8-408,5)	196,2±86,7 222,0(0-268,0)	207,4±79,0 242,2(85,8-286,4)	210,3±59,7 207,2(132,0-299,0)	0,409
	15	240,5±1156,0 273,8(14,5-259,0)	229,3±58,6 261,1(119,1-280,0)	249,4±34,1 252,2(194,5-291,4)	284,7±41,8 280,0(226,8-344,1)	0,286
	30	331,8±81,7 328,3(247,0-419,6)	319,8±52,5 305,0(266,4-423,7)	298,4±71,2 294,9(225,2-431,5)	308,9±49,3 304,6(242,5-384,0)	0,811
IL-12 (pg/ml)	1	2,5±4,3 1,0(0,4-13,0)	1,4±1,7 0,8(0,3-5,4)	1,03±0,6 0,9(0,1-1,9)	1,06±1,04 0,7(0,3-3,5)	0,693
	15	1,0±0,6 0,8(0,3-1,9)	0,7±0,6 0,6(0,04-1,7)	0,8±0,5 0,7(0,1-1,6)	0,8±0,5 0,8(0,4-1,9)	0,580
	30	1,0±0,6 1,0(0,3-2,0)	0,7±0,2 0,6(0,5-1,0)	0,5±0,3 0,4(0,00-1,0)	1,1±0,2 1,07(0,8-1,4)	0,024
IFN-γ (pg/ml)	1	34,5±5,3 32,9(28,5-43,3)	31,1±6,4 32,4(19,0-40,3)	27,3±8,1 29,0(14,8-37,0)	26,2±9,0 28,9(11,0-34,5)	0,224
	15	30,0±2,3 29,0(28,0-34,4)	28,5±3,6 28,6(22,7-33,0)	26,8±5,2 28,0(14,7-30,7)	30,6±3,2 30,8(24,0-34,4)	0,189

	30	34,4±2,1 34,7(32,0-37,6)	34,0±1,9 34,0(31,6-36,9)	32,0±2,9 32,0(28,5-36,8)	31,5±3,4 32,1(25,7-35,4)	0,235
TNF-α (pg/ml)	1	70,1±12,6 71,2(49,5-85,3)	64,5±11,2 62,2(44,8-82,3)	57,8±15,7 61,1(23,7-71,5)	54,8±13,4 53,4(30,0-76,0)	0,166
	15	61,2±13,8 58,5(35,7-76,6)	49,0±16,9 46,8(25,3-73,7)	45,4±11,4 42,6(28,6-64,5)	44,0±8,8 43,3(31,8-60,3)	0,172
	30	47,6±7,5 49,1(38,6-57,1)	40,4±3,8 39,2(38,1-48,9)	39,4±9,7 35,0(31,4-58,3)	39,6±10,0 44,0(26,6-51,0)	0,203
IL-4 (pg/ml)	1	15,8±1,1 15,7(13,9-17,1)	15,7±1,7 16,0(12,8-17,6)	14,0±4,4 15,8(6,7-18,0)	14,4±2,3 14,9(10,4-17,0)	0,687
	15	12,1±6,0 15,2(0,00-17,1)	11,6±4,1 11,7(4,3-17,0)	14,2±3,4 15,8(7,8-17,0)	13,8±6,0 16,1(0-18,0)	0,333
	30	16,1±3,6 16,6(10,3-19,8)	18,0±1,8 17,5(16,1-21,2)	15,4±3,0 15,3(10,0-19,0)	14,1±7,0 17,1(0-19,6)	0,373
IL-10 (pg/ml)	1	55,1±21,0 57,6(26,1-83,9)	58,0±21,3 66,6(25,8-81,0)	59,8±19,0 57,7(31,8-85,0)	61,5±12,6 61,4(44,5-79,0)	0,957
	15	58,6±10,8 54,0(44,3-73,2)	52,4±15,0 52,7(29,0-79,3)	54,2±10,0 54,7(42,4-70,0)	52,4±11,4 48,8(37,0-68,5)	0,678
	30	59,5±18,8 62,5(28,7-76,3)	47,3±11,6 48,0(28,0-62,0)	45,3±5,2 45,5(37,2-52,9)	46,0±7,1 44,3(36,0-58,0)	0,250

4.3.2. Manyetik Alan Uygulamasının Farklı Günlerindeki Plazma Sitokin Düzeylerinin Karşılaştırmaları.

Elektromanyetik uygulamanın farklı günlerindeki plazma sitokin düzeyleri karşılaştırıldığında bazılarının düzeylerinde anlamlı farklar tespit edildi. Plazma IL-1 sitokin düzeylerinde P1ve P2 değerlerinin her ikisinde de farklılıklar gözlendi bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P1<0,001, P2<0,001). Yani uygulamanın ilk günkü sonuçları 15. günkü sonuçlarla karşılaştırdığında herhangi bir değişiklik yokken (P_{1-15}>0,05), ilk gün ile 30. gün (P_{0-30}<0,001) ve 15. gün ile 30. günkü (P_{15-30}=0,011) karşılaştırmalarda anlamlı değişiklik saptanmıştır. Plazma IFN-γ düzeylerinde P1 ve P2 değerlerinde de istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (P1=0,002, P2=0,009). RF-EMR uygulamasının 15. gün ile 30. günleri arasında anlamlı fark bulunmasına (P_{15-30}=0,002) rağmen, uygulamanın yapılmadığı ilk gün ile 15. ve 30. günler arasında herhangi bir fark gözlenmedi (P>0,05).

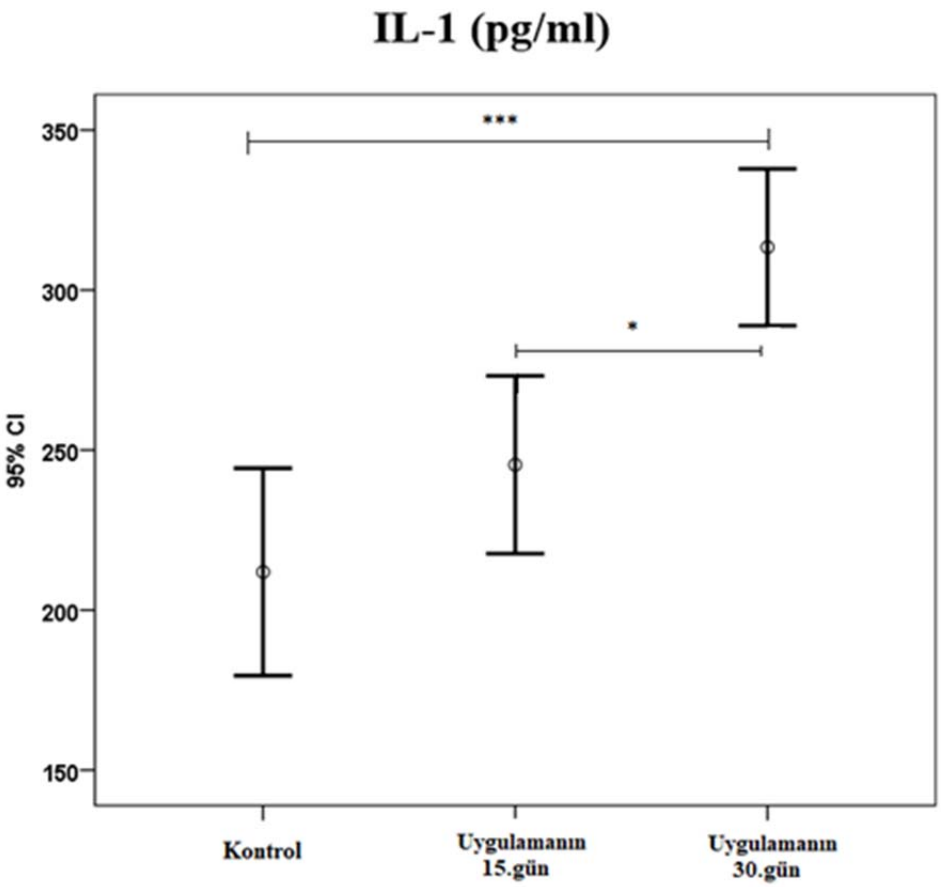
Plazma TNF-α sitokin düzeylerinde P1 ve P2 değerlerinin her ikisinde de anlamlı fark tespit edildi. (P1<0,001, P2<0,001). Elektromanyetik uygulamasının 15. gün ile 30. gün arasında ise herhangi bir değişiklik görülmedi (P_{15-30}>0,05). Ancak uygulamanın yapılmadığı ilk gün ile 15. ve 30. gün arasında anlamlı farklılık gözlendi (P<0,05). IL-4 sitokini'nin P2 değeri istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulunurken (P2=0,056), P1 değeri ise yüksek düzeyde anlamlıydı (P1=0,03). Plazma IL-12 ve IL-10 düzeylerinde istatistiksel olarak herhangi bir değişiklik saptanamadı (P>0,05).

Çizelge 4.5. *Plazma sitokin düzeylerinin manyetik alan uygulamasının farklı günlerindeki karşılaştırması.*

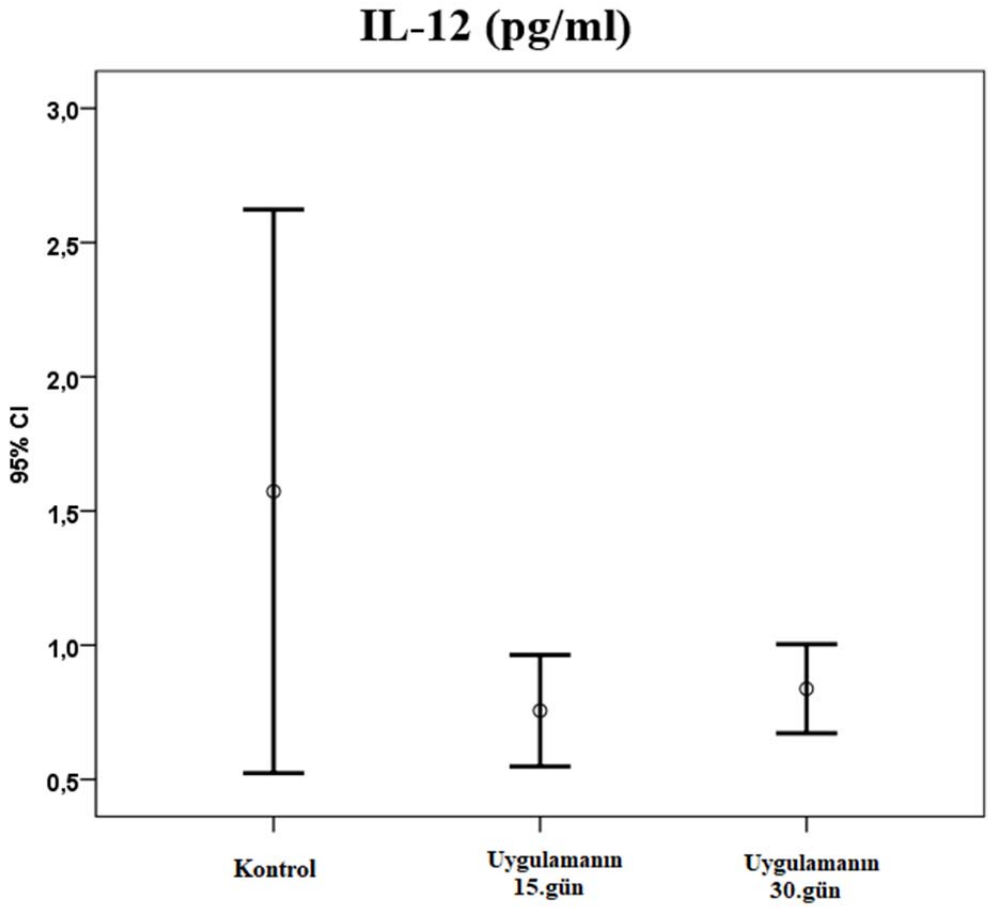
	Kontrol (1. günü) X±SD Median(MinMax)	Uygulamanın 15. günü X±SD Median(MinMax)	Uygulamanın 30.günü X±SD Median(MinMax)	P1	P2	P_{1-15}	P_{1-30}	P_{15-30}
IL-1 (pg/ml)	220,0±75,0 236,1(0,00-408,5)	251,4±68,0 266,2(14,6-359,0)	313,4±60,7 301,6(225,2-431,5)	<0,001	<0,001	0,636	<0,001	0,011
IL-12 (pg/ml)	1,5±2,4 0,9(0,1-13,0)	0,8±0,5 0,7(0,04-1,9)	0,8±0,4 0,9(0,00-2,0)	0,191	0,146			
IFN-γ (pg/ml)	29,7±7,7 31,0(11,0-43,3)	28,9±4,0 29,0(14,6-34,4)	33,0±2,8 33,0(25,7-37,6)	0,002	0,009	0,381	0,157	0,002
TNF-α (pg/ml)	62,0±14,0 62,5(23,7-85,3)	49,5±14,0 45,4(25,3-76,6)	41,3±8,3 39,2(26,6-58,3)	<0,001	<0,001	0,007	<0,001	0,497
IL-4 (pg/ml)	15,0±2,7 15,4(6,7-18,0)	13,0±5,0 15,0(0-18,0)	15,9±4,4 17,0(0-21,2)	0,030	0,056	1,000	0,080	0,055
IL-10 (pg/ml)	58,6±18,0 61,2(25,8-85,0)	54,2±11,6 53,0(29,1-79,3)	48,8±1,7 46,7(28,0-76,3)	0,076	0,048			

P1: Uygulamanın ilk gün, 15.gün, 30.günler arasındaki karşılaştırma

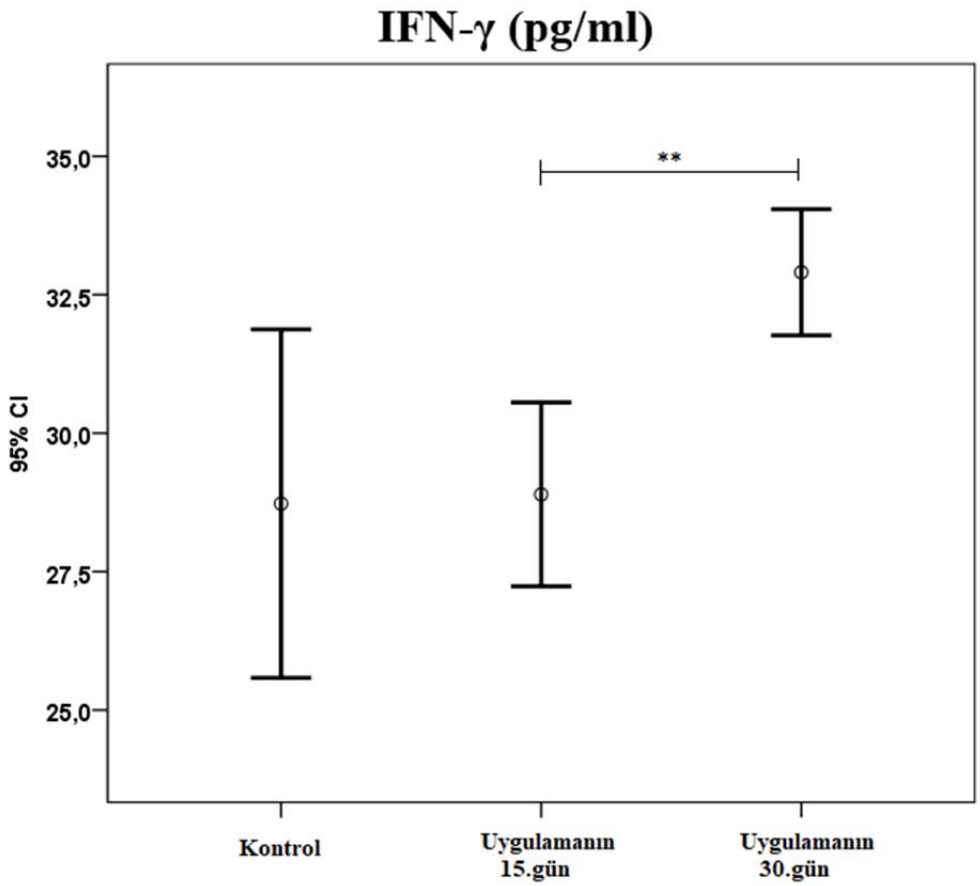
P2: Zaman içerisindeki değişiklerin karşılaştırması



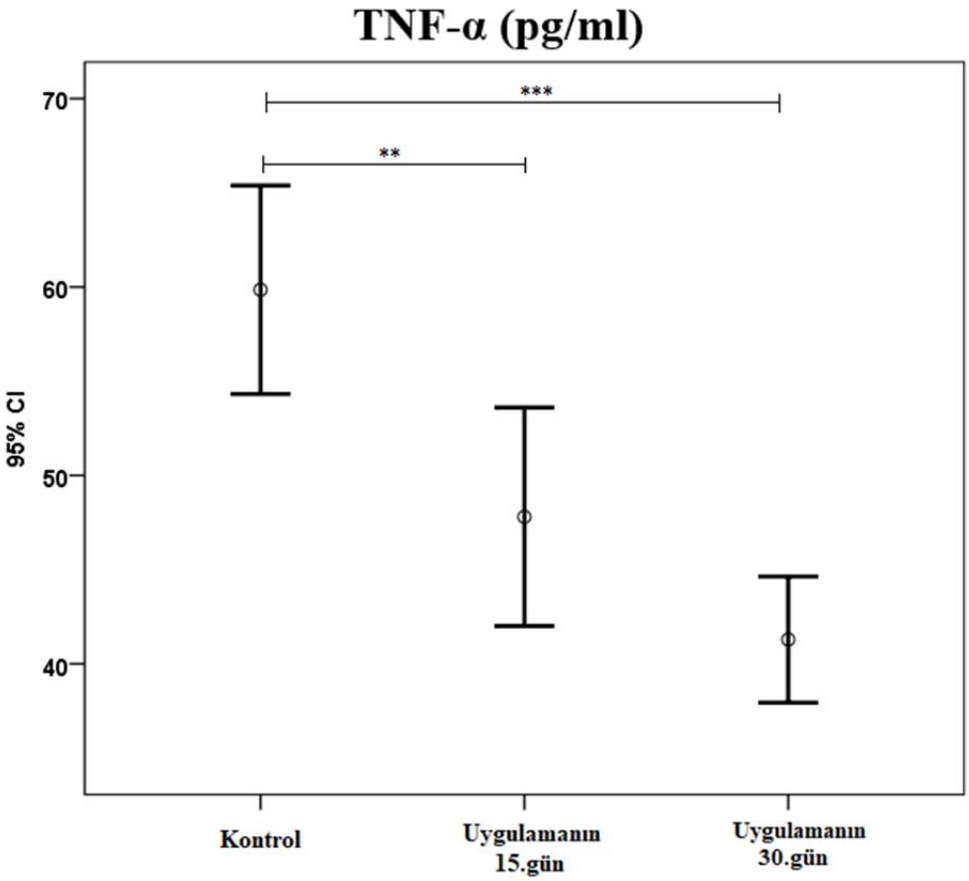
Şekil 4.4. RF-EMR'un uygulamasının plazma IL-1 sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği. ***p<0,001; *p=0,10-0,05



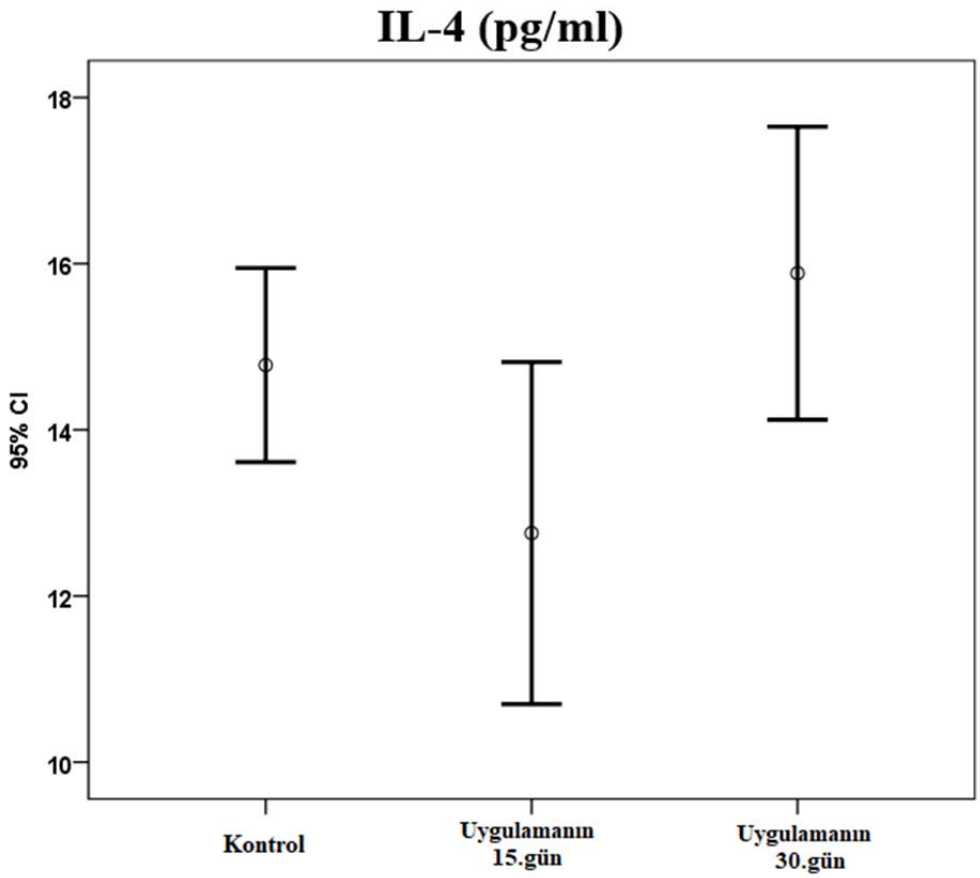
Şekil 4.5. RF-EMR'un uygulamasının plazma IL-12 sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği.



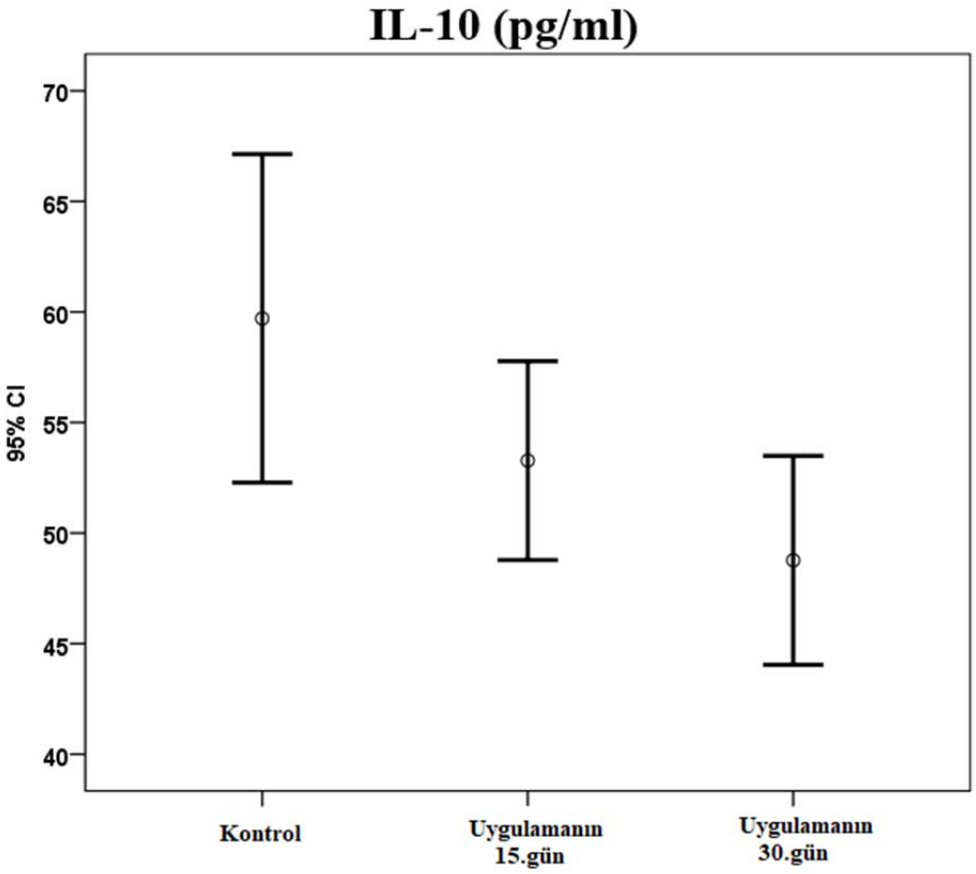
Şekil 4.6. RF-EMR'un uygulamasının plazma IFN-γ sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği **p<0,001



Şekil 4.7. RF-EMR'un uygulamasının plazma TNF-α sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği. **p>0,001;***p<0,001



Şekil 4.8. RF-EMR'un uygulamasının plazma IL-4 sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği.



Şekil 4.9. RF-EMR'un uygulamasının plazma IL-10 sitokin düzeyleri üzerindeki zaman değişim grafiği.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda hızla gelişmekte olan mobil iletişim teknolojileri günlük yaşamımızda yaygın olarak kullanılmaktadır. Uluslararası Kanser Araştırma Merkezince yapılan çalışmalara dayanarak 2011 yılında Cep telefonlar tarafından yayılan RF-EMR'u insan kaynaklı kanserojen 2B grubu sınıfına dahil etmiştir (Su, Yimaer et al. 2018). RF-EMR'un beyin aktivitesini olumsuz yönde etkilediği bu nedenle en fazla etkilenen organın beyin olduğu ileri sürülmüştür (Hossmann and Hermann 2003). RF-EMR'a maruz kalmanın baş ağrısı, uyku düzensizliği, çocuklarda öğrenme yeteneklerinde düzensizlikler gibi bazı sinir sistemi hastaları ile ilişkilendirilmiştir. Çevreciler de RF-EMR'un hava, su, ve gürültü kirliliğinden sonraki dördüncü tip kirlilik olduğunu öne sürmüşler (Lingvay, BORŞ et al. 2018).

Günümüzde her an kullandığımız cep telefonlarından yayılan RF-EMR'un başta kanser olmak üzere yüksek tansiyon, stress, hafıza kaybı gibi etkileri olduğu bildirilmiştir (Boga, Emre et al. 2015). Sınırlı sayıda olmakla birlikte Radyofrekans ve mikro dalgalarının immün sistemi üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalarda mevcuttur. Bu çalışmalarda RF dalgalarının lenfosit proliferasyonunda, fagositozda ve antikor üretiminde değişiklere neden olduğu ileri sürülmüştür. Ancak bu çalışmaların sayısının az olaması nedeniyle sonuçları tartışmalıdır (Black and Heynick 2003). Clear ve ark. 1996 yılında yapılan bir çalışmada RF radyasyona maruz bırakılan hücre kültürlerinde IL-12 uyarısının STL'in proliferasyon üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada IL-12'nin çeşitli konsantrasyonları kullanılmıştır (hücreler IL-12'içermeyen,düşük IL-12 konsantrasyonunda ve yüksek IL-12 içeren ortamlarda kültüre edilmişler). Hücreler yüksek SAR değerinde (25W/kg), 2450 MHZ radyasyona maruz bırakılmışlardır. Düşük konsantrasyonda IL-12 içeren hücre kültüründe STL proliferasyonunun anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Düşük SAR değerinde 2450MHz radyasyona maruz bırakıldıklarında hemen sonra STL'lerin prolifersasyonuda artış görülmüş. Ancak 24 saat sonra hücre artışının azaldığını gözlemişlerdir. Bu değişikliğin hücrelerin

radyasyona maruz kalma anındaki mitotik duruma bağlı olduğunu bildirmişler. Çalışmamızda 1800MHz 0,15 W/kg SAR değerinde RF-EMR'a 6 hafta boyunca haftada 5 gün günde 4 saat maruz bırakılmış sıçan kan plazma IL-12 düzeyinde herhangi bir değişiklik saptanmadı ($p>0,05$). Benzer şekilde çalışmayı Lucia Gatta ve ark.(Gatta, Pinto et al. 2003) fare lenfositleri üzerinde yapmışlar. Bu çalışmada GSM module edilmiş 900MHz RF-EMR'un izole edilmiş dalak hücrelerinde T/B lenfosit sayısına ve $CD4^+/CD8^+$ T hücre oranına bakmışlar. Ayrıca IL-12, IFN-γ sitokin düzeylerini de incelemişler. Çalışma sonucunda T/B hücre sayısı ve IL-12 sitokin düzeyinde herhangi deşiğişlik saptanmamış iken IFN-γ düzeyi uygulamanın ilk haftasında belirli düzeyde yükselmiş ancak uygulamanın 2-4 haftasında normal seviyeye döndüğünü bildirmişler. Çalışmamızda daha yüksek frekanslı (1800MHz) manyetik alan uygulamamıza rağmen aynı şekilde IL-12 düzeyinde değişiklik saptanmadı ancak IFN-γ düzeyi uygulamanın 30.günü (6.hafta) belirli düzeyde arttığını gözledik ($P<0,05$).

Ohtani,SH ve ark.(Ohtani, Ushiyama et al. 2015) yaptığı bir çalışmada ise 0,2W/kg SAR değerindeki 2,14GHz RF'a maruz kalmış deneklerde T hücre aktivitesi ve proliferasyonunu incelemişler. Ayrıca ELISA tayin yöntemi ile IL-4 sitokin düzeyine bakmışlar. Sonuçlarında IL-4 sitokin konsentrasyonunda değişiklik olmadığını bildirmişler. Bizim çalışmamızda plazma IL-4 sitokin düzeyi gruplar arası ve zaman içerisi karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).

Su,L ve ark. (Su, Yimaer et al. 2018) 2018 yılında RF-EMR'nin kültür edilmiş nörojenik hücrelerde DNA hasarı ve hücresel fonksiyon üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak; 24 saat, RF-EMR'a maruz kalan astrositlerde TNF-alfa, IL-6 ve IL-1 sitokinler düzeylerinde herhangi bir değişikliğin olmadığını bildirmişler. Daha sonra kültür ortama LPS eklemişler 1 saat boyunca bu sitokinlerin düzeyinde artış olduğunu tespit etmişler. Bu araştırmada 24 saat boyunca RF-EMR uygulamasına maruz bırakılan mikroglia ve astrosit hücrelerinin sitokin düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadığını ancak ortama

LPS eklenince bu sitokinlerin düzeylerinde artış olduğunu gözlemişler. Buna dayanarak araştırıcılar LPS'in mikroglia ve astrosit hücrelerini aktive ederek bu hücrelerin sitokin düzeylerinde artışa neden olabileceğini ileri sürmüşler.

Tuschl,H ve ark.(Tuschl, Novak et al. 2006) GSM modüle edilmiş RF'ın insan immün sistem hücreleri üzerindeki etkilerini araştırmışlar. Çalışmada lenfositlerde hücre içi IL-12, IFN-γ üretimini, monositlerde IL-1 ve TNF-α monoklonal antikor ile değerlendirilmiş. Sonuçlarda RF-EMR'a maruz kalmanın immün sistem hücrelerini etkilemediğini göstermiştir. Çalışmamızda da özet olarak benzer bulgular elde edildi. Her ne kadar bazı sitokinlerin düzeylerinde değişikliklere neden olmasına rağmen bu değişiklikler kendi içlerinde tutarlı olmadığı gözlendi. İmmün sistemin belirli bir düzen içerisinde işlemesi için inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler kendi içlerinde dengeli olarak düzenlenirler. Yani inflamatuvar sitokinlerin miktarları arttığında anti-inflamatuvar sitokinlerin miktarlarının azalması gerekmektedir. Çalışmamızdaki bu değişikliklerin muhtemelen hayvanların vücutlarındaki yerel bazı reaksiyonların etkisi sonucu gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir. Zira bizim deneklerin bazılarının testislerinde büyüme ve o bölgelerde kızarıklıkların olduğu gözlendi.

Çalışmamız süresince deney hayvanların vücüt ağırlıklarında da zaman içerisi anlamı bazı değişiklikler saptandı. Elektromanyetik uygulamanın yapılmadığı ilk gün ile uygulamanın yapıldığı 15.gün ve 30. Günler karşılaştırıldığında, 15. Günde vücut ağırlıkları anlamlı düzeyde azalırken (P=0,009) 30.gün anlamlı düzeyde artış olduğu tespit edildi (P=0,007). Bu değişikliklerin muhtemelen hayvanların uygulamanın ilk haftalarında ortamdaki bazı stres faktörlerden etkisi ile kilo kaybına uğradıklarını son haftalarda kendilerini toparlayarak ortama adapte olduklarını düşündürmektedir. Elektromanyetik alan ile yapılan çalışmaların bazılarında uygulamadan önce ve sonrasında hayvanların vücut ağırlıklarında herhangi bir değişiklik saptamamışlar (Yurekli, Ozkan et al. 2006, Taşpınar 2008, Alchalabi, Aklilu et al. 2015). Lerchl,A ve ark. (Lerchl, Krüger et al. 2008)'ları tarafından yapılan benzer bir

çalışmada ise verilen Radyofrekans'a bağlı olarak sıçanların (Djungarian hamsters) vücut ağırlıklarında değişiklilerin olduğunu saptamışlar. Bu araştırıcılar cep telefonlarında yayılan düşük frekanslı elektromanyetik uygulamanın vücüt ağırlıklarında %4 oranında geçici bir artışa neden olduğunu ancak yüksek frekanslı radyofrekansların vücut ağırlıklarında % 6'ya varan ve daha belirgin ve kalıcı bir artışlara neden olduğunu tespit etmişler.

Cep telefonlarından yayılan RF-EMR'nin apoptozis üzerindeki etkisini araştıran in vivo ve in vitro çalışmalar bulunmaktadır. Çalışmaların çoğunda RF-EMR'a maruz kalmanın apoptozis üzerine herhangi bir etkisi olmadığı görüşündedirler (Gurisik, Warton et al. 2006, Hirose, Sakuma et al. 2006, Lantow, Viergutz et al. 2006).

Apoptozisi belirleyen farklı çalışma metodları mevcuttur. Biz bu çalışmada RF-EMR'un kandaki lenfositlerin apoptozisi üzerine olan etkilerini araştırdık. Bu amaçla apoptotik sürece giren hücrelerin bir göstergesi olarak Anneksin-V pozitif hücrelerinin % lerini Flow Sitometri yöntemi ile tespit edildi. Çıkan sonuçlar elektromanyetik uygulamanın lenfosit hücrelerinin apoptitozu üzerine anlamlı düzeylerde bir etkisinin olmadığı doğrultusundaydı. Zaten apoptozisi belirleyen farklı yöntemlerle yapılan hücre kültürü çalışmalarında cep telefonlarında yayılan elektromantetik radyasyonun apoptozis üzerine bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır (Joubert, Leveque et al. 2007, Falzone, Huyser et al. 2010).

Sonuç olarak; her ne kadar bazı sitokin düzeylerinde anlamlı değişiklikler saptanmış olsa da kendi içlerinde ilişkili bulunmadı. Bu nedenle RF-EMR uygulamalarının immün sistem üzerindeki etkilerinin olduğunu söylemek için henüz çok erken. Bunun için daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Çalışmamızın, ileride bu konuda yapılacak çalışmalar için yol gösterici olacağını bilime katkı sağlayacağını ve üniversitemize de bilimsel kazanç sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

Abbas, A. K., et al. (2014). Cellular and molecular immunology E-book, Elsevier Health Sciences.

Adams, J. A., et al. (2014). "Effect of mobile telephones on sperm quality: a systematic review and meta-analysis." Environment international 70: 106-112.

Aitken, R. J., et al. (2005). "Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline." International journal of andrology 28(3): 171-179.

Akdis, M., et al. (2016). "Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β, and TNF-α: Receptors, functions, and roles in diseases." Journal of Allergy and Clinical Immunology 138(4): 984-1010.

Alchalabi, A. S., et al. (2015). "Exposure to 1800 MHz GSM-like radiofrquency electromagnetic field reduces follicular development and overall fertility of female rats." Asian Pacific Journal of Reproduction 4(3): 1-8.

Arslan, N. (2017). The Effects of Radiation on Biological Systems/Radyasyonun Biyolojik Sistemler Uzerindeki Etkileri. Nuclear Medicine Seminars, Galenos Yayinevi Tic. Ltd.

Black, D. R. and L. N. Heynick (2003). "Radiofrequency (RF) effects on blood cells, cardiac, endocrine, and immunological functions." Bioelectromagnetics 24(S6): S187-S195.

Boga, A., et al. (2015). "The effect of 900 and 1800 MHz GSM-like radiofrequency irradiation and nicotine sulfate administration on the embryonic development of Xenopus laevis." Ecotoxicology and environmental safety 113: 378-390.

Bor, D. (2015). "Radyasyon Nedir? Halkımız İçin Bilgilendirme Kılavuzu." Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fizik Mühendisliği.

Borthwick, L. (2016). The IL-1 cytokine family and its role in inflammation and fibrosis in the lung. Seminars in immunopathology, Springer.

Boscolo, P., et al. (2001). "Effects of electromagnetic fields produced by radiotelevision broadcasting stations on the immune system of women." Science of the Total Environment 273(1-3): 1-10.

Carroll, M. C. (2004). "The complement system in regulation of adaptive immunity." Nature immunology 5(10): 981.

Chauhan, P., et al. (2017). "Microwave radiation (2.45 GHz)-induced oxidative stress: Whole-body exposure effect on histopathology of Wistar rats." Electromagnetic biology and medicine 36(1): 20-30.

Chavdoula, E. D., et al. (2010). "Comparison of biological effects between continuous and intermittent exposure to GSM-900-MHz mobile phone radiation: Detection of apoptotic cell-death features." Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 700(1-2): 51-61.

Chen, Y.-Y., et al. (2014). "Endogenous molecules induced by a Pathogen-Associated Molecular Pattern (PAMP) elicit innate immunity in shrimp." PloS one 9(12): e115232.

Chung, F. (2001). "Anti-inflammatory cytokines in asthma and allergy: interleukin-10, interleukin-12, interferon-γ." Mediators of inflammation 10(2): 51-59.

Desouky, O., et al. (2015). "Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation." Journal of Radiation Research and Applied Sciences 8(2): 247-254.

Dinarello, C. A. (1991). "Inflammatory cytokines: interleukin-1 and tumor necrosis factor as effector molecules in autoimmune diseases." Current opinion in immunology 3(6): 941-948.

Dinarello, C. A. (2000). "Proinflammatory cytokines." Chest 118(2): 503-508.

Dinarello, C. A. (2018). "Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity." Immunological reviews 281(1): 8-27.

Dogan, M., et al. (2012). "Effects of electromagnetic radiation produced by 3G mobile phones on rat brains: magnetic resonance spectroscopy, biochemical, and histopathological evaluation." Human & experimental toxicology 31(6): 557-564.

Donmez, S. (2017). Radiation Detection and Measurement/Radyasyon Tespiti ve Olcumu. Nuclear Medicine Seminars, Galenos Yayinevi Tic. Ltd.

Elder, J. (2003). "Ocular effects of radiofrequency energy." Bioelectromagnetics 24(S6): S148-S161.

Elmore, S. (2007). "Apoptosis: a review of programmed cell death." Toxicologic pathology 35(4): 495-516.

Emre, M. "Radyofrekans ve düşük frekanslı elektromanyetik alanların bağışıklık sistemine etkileri." Journal of Immunology and Clinical Microbiology 3(4): 68-80.

Falzone, N., et al. (2010). "Mobile phone radiation does not induce pro-apoptosis effects in human spermatozoa." Radiation research 174(2): 169-176.

French, P. W., et al. (2001). "Mobile phones, heat shock proteins and cancer." Differentiation 67(4-5): 93-97.

Gajsek, P., et al. (2002). "Empirical validation of SAR values predicted by FDTD modeling." Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association 23(1): 37-48.

Gajšek, P., et al. (2001). "Predicted SAR in sprague-dawley rat as a function of permittivity values." Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association 22(6): 384-400.

Gatta, L., et al. (2003). "Effects of in vivo exposure to GSM-modulated 900 MHz radiation on mouse peripheral lymphocytes." Radiation research 160(5): 600-605.

Gurisik, E., et al. (2006). "An in vitro study of the effects of exposure to a GSM signal in two human cell lines: Monocytic U937 and neuroblastoma SK-N-SH." Cell biology international 30(10): 793-799.

Hirose, H., et al. (2006). "Phosphorylation and gene expression of p53 are not affected in human cells exposed to 2.1425 GHz band CW or W-CDMA modulated radiation allocated to mobile radio base stations." Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association 27(6): 494-504.

Hongmei, Z. (2012). Extrinsic and intrinsic apoptosis signal pathway review. Apoptosis and Medicine, InTechOpen.

Hossmann, K. A. and D. Hermann (2003). "Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system." Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association 24(1): 49-62.

Houston, B., et al. (2016). "The effects of radiofrequency electromagnetic radiation on sperm function." Reproduction 152(6): R263-R276.

Ip, S.-W., et al. (2007). "The role of Ca+ 2 on rhein-induced apoptosis in human cervical cancer Ca Ski cells." Anticancer Research 27(1A): 379-389.

Jauchem, J. R. (2008). "Effects of low-level radio-frequency (3 kHz to 300 GHz) energy on human cardiovascular, reproductive, immune, and other systems: a review of the recent literature." International journal of hygiene and environmental health 211(1-2): 1-29.

Joubert, V., et al. (2007). "No apoptosis is induced in rat cortical neurons exposed to GSM phone fields." Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association 28(2): 115-121.

Kanduc, D., et al. (2002). "Cell death: apoptosis versus necrosis." International journal of oncology 21(1): 165-170.

Kesari, K. K., et al. (2013). "Cell phone radiation exposure on brain and associated biological systems."

Khamidova, G. M. (2014). "The influence of radiofrequency electromagnetic radiation on the platelet aggregation." Int J Biomed 4: 155-158.

Kolls, J. K., et al. (2008). "Cytokine-mediated regulation of antimicrobial proteins." Nature Reviews Immunology 8(11): 829.

Lantow, M., et al. (2006). "Comparative study of cell cycle kinetics and induction of apoptosis or necrosis after exposure of human mono mac 6 cells to radiofrequency radiation." Radiation research 166(3): 539-543.

Lerchl, A., et al. (2008). "Effects of mobile phone electromagnetic fields at nonthermal SAR values on melatonin and body weight of Djungarian hamsters (Phodopus sungorus)." Journal of pineal research 44(3): 267-272.

Lingvay, D., et al. (2018). "Electromagnetic Pollution and its Effects on Living Matter." Electrotehnica, Electronica, Automatica 66(2).

Mailankot, M., et al. (2009). "Radio frequency electromagnetic radiation (RF-EMR) from GSM (0.9/1.8 GHz) mobile phones induces oxidative stress and reduces sperm motility in rats." Clinics 64(6): 561-565.

Mao, Y., et al. (2016). "A new effect of IL-4 on human γδ T cells: promoting regulatory Vδ1 T cells via IL-10 production and inhibiting function of Vδ2 T cells." Cellular & molecular immunology 13(2): 217.

Mor, G. and A. B. Alvero (2016). Apoptosis and Cancer, Springer.

Nasta, F., et al. (2006). "Effects of GSM-modulated radiofrequency electromagnetic fields on B-cell peripheral differentiation and antibody production." Radiation research 165(6): 664-670.

Nikolaus, S., et al. (1998). "Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation." Gut 42(4): 470-476.

Oberholzer, A., et al. (2000). "Cytokine signaling-regulation of the immune response in normal and critically ill states." Critical care medicine 28(4): N3-N12.

Ohtani, S., et al. (2015). "The effects of radio-frequency electromagnetic fields on T cell function during development." Journal of radiation research 56(3): 467-474.

Opal, S. M. and V. A. DePalo (2000). "Anti-inflammatory cytokines." Chest 117(4): 1162-1172.

Palomo, J., et al. (2015). "The interleukin (IL)-1 cytokine family–Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases." Cytokine 76(1): 25-37.

Peyman, A., et al. (2001). "Changes in the dielectric properties of rat tissue as a function of age at microwave frequencies." Physics in Medicine & Biology 46(6): 1617.

Polk, C. and E. Postow (1995). Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, -2 Volume Set, CRC press.

Punnonen, J., et al. (1993). "IL-10 and viral IL-10 prevent IL-4-induced IgE synthesis by inhibiting the accessory cell function of monocytes." The Journal of Immunology 151(3): 1280-1289.

Repacholi, M. H., et al. (1997). "Lymphomas in Eμ-Pim1 transgenic mice exposed to pulsed 900 MHz electromagnetic fields." Radiation research 147(5): 631-640.

Saliev, T., et al. (2019). "Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: Two sides of a coin." Progress in biophysics and molecular biology 141: 25-36.

Seyhan, N. (2010). "Elektromanyetik Kirlilik ve Sagligimiz/Electromagnetic Pollution and Our Health." Noro-Psikyatri Arsivi 47(2): 158.

Shariffa, K. (2018). "Apoptosis–Journey of a Cell in Life." University Journal of Surgery and Surgical Specialities 4(3).

Su, L., et al. (2018). "Effects of 1800 MHz RF-EMF exposure on DNA damage and cellular functions in primary cultured neurogenic cells." International journal of radiation biology 94(3): 295-305.

Sun, L., et al. (2015). "Interleukin 12 (IL-12) family cytokines: Role in immune pathogenesis and treatment of CNS autoimmune disease." Cytokine 75(2): 249-255.

Taşpınar, T. (2008). GSM 900 ve 1800 MHZ telefonların oluşturduğu manyetik alanın hematolojik parametreler ve kemik iliği üzerine etkilerinin karşılaştırılması, SDÜ Tıp Fakültesi.

Teng, M. W., et al. (2015). "IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases." Nature medicine 21(7): 719.

Tuschl, H., et al. (2006). "In vitro effects of GSM modulated radiofrequency fields on human immune cells." Bioelectromagnetics 27(3): 188-196.

Yağmur, F., et al. (2003). "Elektromanyetik dalgaların insan biyokimyası üzerine etkileri." Sted 12(8): 296-297.

Yurekli, A. I., et al. (2006). "GSM base station electromagnetic radiation and oxidative stress in rats." Electromagnetic biology and medicine 25(3): 177-188.

Zhang, J.-M. and J. An (2007). "Cytokines, inflammation and pain." International anesthesiology clinics 45(2): 27.

Zhang, S., et al. (2016). "The pivotal role of Ca 2+ homeostasis in PBDE-47-induced neuronal apoptosis." Molecular neurobiology 53(10): 7078-7088.

Zimmermann, K. C. and D. R. Green (2001). "How cells die: apoptosis pathways." Journal of Allergy and Clinical Immunology 108(4): S99-S103.

Zipfel, C. (2009). "Early molecular events in PAMP-triggered immunity." Current opinion in plant biology 12(4): 414-420.

Zmyślony, M., et al. (2004). "Acute exposure to 930 MHz CW electromagnetic radiation in vitro affects reactive oxygen species level in rat lymphocytes treated by iron ions." Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association 25(5): 324-328.

ÖZGEÇMİŞ

Ben Gulbanu YESYET 1993 yılında Moğolistanın Bayan-Ulgii şehrinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Bayan-Ulgii 'İkinci Orta Okul'da tamamladım. Lise öğrenimimi "Bilge-Tegin" lisesinde tamamladım. 2010-2015 yılları arasında MNUMS (Mongolian National University of Medical Science) Üniversitesi Biyomedikal Bölümü'nde lisans eğitimi aldım. 2015-2016 yılları arasında Bayan-Ulgii, Devlet Hastenesi Merkez Laboratuvarında İmmünolog olarak görev yaptım. 2016-2017 yılları arasında Çukurova Üniversitesi TÖMER'de Türkçe eğitim aldım. 2017 yılı Eylül'de Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.