

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇOK DÜŞÜK FREKANSLI VE ZAYIF ELEKTROMANYETİK ALANLARIN
TROMBOSİT AGREGASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Biyofizik Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Doktor
Engin SAĞDİLEK

İZMİR

2009

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇOK DÜŞÜK FREKANSLI VE ZAYIF ELEKTROMANYETİK ALANLARIN
TROMBOSİT AGREGASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Biyofizik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Doktor

Engin SAĞDİLEK

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gürbüz ÇELEBİ

İZMİR

2009

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan, Danışman:

Prof. Dr. Gürbüz ÇELEBİ

.....

Üye:

Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK

.....

Üye:

Prof. Dr. Lütfiye KANIT

.....

Üye:

Doç. Dr. Mahmut TÖBÜ

.....

Üye:

Doç. Dr. Murat PEHLİVAN

.....

Doktora Tezinin Kabul Edildiği Tarih: 15.01.2010

ÖNSÖZ

Günlük yaşamımızda çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlara giderek daha fazla maruz kalmamız, biyolojik etkilerinin araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu elektromanyetik alanların bilinen olası zararlarının yanı sıra, yararlı olarak kullanılabildiği alanlarda bulunmaktadır. Fizikle biyolojinin böylesine kesiştiği geniş bir alanda doktora tezimi yapmak, her iki alandaki bilgimi de geliştirme fırsatı bulmak, benim için büyük şans olmuştur.

Doktora öğrenciliğim boyunca, hem Biyofizik uzmanı olarak yetişmem hem de Tez Danışman Hocam olarak yeni bir alanda gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda, laboratuvarın kurulmasından projenin sonuçlandırılmasına kadar her süreçte, her türlü imkânı sağlayan hocam Prof. Dr. Gürbüz Çelebi'ye;

Uzakta olsa desteğini hep hissettiğim, beni bu doktorayı yapmaya yönlendiren hocam Prof. Dr. Kasım Özlük'e;

Projeyi ve tezlerimizi birlikte yürüttüğümüz, eleştirel ve akılcı bakış açısıyla çalışmamıza hep ivme kazandıran, çalışma arkadaşım Oğuz Sebik'e;

Tezimde gerek gönüllü, gerek uğraş olarak emeği geçen tüm doktora öğrencisi arkadaşlarıma, Biyofizik uzmanı olmamda katkıları bulunan Biyofizik Anabilim Dalı öğretim üyelerine;

Ve sevgileriyle bana güç veren aileme,

Çok teşekkür ederim.

İzmir; 15.12.2009

Engin SAĞDİLEK

İÇİNDEKİLER

Şekil Dizini	VI
Tablo Dizini	VIII
Kısaltmalar	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. ARAŞTIRMANIN KONUSU, AMACI ve ÖNEMİ	1
1.2. GENEL BİLGİLER	3
1.2.1. ELEKTROMANYETİK ALANLAR	3
1.2.1.1. Elektrik Alanı	3
1.2.1.2. Manyetik Alan	5
1.2.1.3. Elektromanyetik Dalgaların Genel Özellikleri	10
1.2.2. ELEKTROMANYETİK SPEKTRUM	12
1.2.2.1. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanlar	13
1.2.2.2. Orta Frekanslı Elektromanyetik Alanlar	13
1.2.2.3. Radyo Dalgaları	13
1.2.2.4. Mikro Dalgalar	13
1.2.2.5. Kızılötesi Işınlr	14
1.2.2.6. Görünür Işık	14
1.2.2.7. Mor Ötesi Radyasyon	14
1.2.2.8. X Işınları	15
1.2.2.9. Gama Işınları	15

1.2.3. MANYETİK ALANLARIN LABORATUVARDA ELDE	
EDİLMESİ	16
1.2.4. ELEKTROMANYETİK ALANLARIN BİYOLOJİK	
ETKİLERİ	19
1.2.4.1. ÇOK DÜŞÜK FREKANSLI ELEKTROMANYETİK	
ALANLARIN BİYOLOJİK ETKİLERİ	20
1.2.4.1.1. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanların	
Kalsiyum, Enzimler ve Hücre Membranı Üzerine	
Etkilerini Gösteren Belli Başlı Çalışmalar	24
1.2.4.1.2. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanların	
Trombositler ve Koagülasyon Üzerine Etkilerini	
Gösteren Çalışmalar	28
1.2.5. TROMBOSİTLER	29
1.2.5.1. Trombositlerin Yapısı ve Fonksiyonel Anatomisi	30
1.2.5.1.1. Işık Mikroskopisi	30
1.2.5.1.2. Elektron Mikroskopisi	30
1.2.5.1.3. Glikokalix	30
1.2.5.1.4. Plazma Membranı	30
1.2.5.1.5. Yüzey Bağlantılı Kanaliküler Sistem	30
1.2.5.1.6. Yoğun Tubuler Sistem	31
1.2.5.1.7. Hücre İskeleti	31
1.2.5.1.7.1. Aktin Mikrofilamentleri	32
1.2.5.1.7.2. Mikrotubuller	32
1.2.5.1.7.3. Membran İskeleti	33
1.2.5.1.8. Granüller	33

1.2.5.1.8.1. α Granüller	33
1.2.5.1.8.2. Yoğun Cisimcikler	34
1.2.5.1.8.3. Lizozomlar	34
1.2.5.1.8.4. Mikroperoksizomlar	35
1.2.5.1.8.5. Coated (“zırhlı”) Veziküller	35
1.2.5.1.9. Mitokondri	35
1.2.5.1.10. Glikojen	35
1.2.5.1.11. Membran Glikoproteinleri	37
1.2.5.1.11.1. GP IIb/IIIa	37
1.2.5.1.11.2. GP Ib/IX	37
1.2.5.1.11.3. GP Ia/IIa, GP IV, GP VI	37
1.2.5.2. Trombosit Adhezyonu, Aktivasyonu ve Agregasyonu	38
1.2.5.3. Trombositlerin ADP, Kollajen ve Epinefrin ile Uyarılmaları	42
1.2.6. OPTİK AGREGOMETRELER	43
1.3. HİPOTEZ	45
2. GEREÇ ve YÖNTEM	46
2.1. Denekler	46
2.2. Antikoagülanlı Tüplerin Hazırlanması	46
2.2.1. Heparinli tüpler	46
2.2.2. Sitrathlı tüpler	47
2.3. Kan Örneklerinin Alınması	47
2.4. Trombositçe Zengin ve Fakir Plazmaların Hazırlanması	47
2.5. Manyetik Alanın Uygulanması	48
2.6. Örneklerin Gruplandırılması	49
2.7. Agregasyonun Değerlendirilmesi	50

2.8. İstatistiksel Analiz	57
3. BULGULAR	61
4. TARTIŞMA	66
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	78
6. ÖZET	80
7. ABSTRACT	82
8. KAYNAKLAR	84
Özgeçmiş	95

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Elektromanyetik dalganın şematik gösterimi.	10
Şekil 2: Elektromanyetik spektrum.	12
Şekil 3: Helmholtz bobini.	16
Şekil 4: Çembersel bir bobin üzerinden geçen akım.	16
Şekil 5: Helmholtz bobinde oluşan düzgün manyetik alan.	18
Şekil 6: Trombositlerin yapısı ve fonksiyonel anatomisi.	36
Şekil 7: Trombositlerin adhezyon, aktivasyon, sentez, sekresyon, agregasyon ve koagulan aktivitelerinin şematik gösterimi.	41
Şekil 8: Trombositin ADP, kollajen ve epinefrin üzerinden aktivasyonu.	
Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların etkileri.	43
Şekil 9: Optik agregometre prensibinin şematik gösterimi.	44
Şekil 10: Optik agregometrelerdeki manyetik düzenek.	51
Şekil 11: Modifiye agregometrenin fotoğrafı.	53
Şekil 12: Standart agregometrenin ve bu çalışma için modifiye edilmiş halinin şematik diyagramı.	54
Şekil 13: Standart agregometre kuvvetlerinin ve mıknatıslarının değiştirilen kısımları ve yeni karıştırıcı millerin boyutları.	54
Şekil 14: ADP (a), kollajen (b) ve epinefrin (c, d) ile elde edilmiş agregasyon eğrileri ve değerlendirme parametreleri.	58, 59
Şekil 15: Agregasyon ölçümü başladığı andan itibaren, bilgisayardaki agregometre yazılımından izlenen eğriler.	60

Şekil 16: 1 mT-Heparin grubunda ADP ile uyarılan agregasyon grafiği örneği.	61
Şekil 17: 1 mT-Sitrat grubunda kollajen ile uyarılan agregasyon grafiği örneği.	61
Şekil 18: 6 mT-Heparin grubunda epinefrin ile uyarılan agregasyon grafiği örneği.	62
Şekil 19: 6 mT-Sitrat grubunda epinefrin ile uyarılan agregasyon grafiği örneği.	62
Şekil 20: Koagülasyon kaskadı.	67

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Elektrik ve manyetik alan büyüklüklerinin sembol ve birimleri.	6
Tablo 2: Maxwell Denklemleri.	8
Tablo 3: Helmholtz bobinde ölçülen manyetik akı yoğunlukları.	49
Tablo 4: Örnek grupları.	49
Tablo 5: Manyetik alan ve kontrol gruplarının, manyetik alan uygulamasının başında ve sonunda ölçülen sıcaklık değerleri.	50
Tablo 6: Trombosit agregasyonunu uyarmak için kullanılan ajanların test son konsantrasyonları ve TZP içine eklenen miktarları.	56
Tablo 7: 1 mT-Heparin grubunda, değerlendirilen parametrelerin kontrol ve manyetik alan grupları arasında karşılaştırması.	63
Tablo 8: 1 mT-Sitrat grubunda, değerlendirilen parametrelerin kontrol ve manyetik alan grupları arasında karşılaştırması.	63
Tablo 9: 6 mT-Heparin grubunda, değerlendirilen parametrelerin kontrol ve manyetik alan grupları arasında karşılaştırması.	64
Tablo 10: 6 mT-Sitrat grubunda, değerlendirilen parametrelerin kontrol ve manyetik alan grupları arasında karşılaştırması.	64

KISALTMALAR

AA: Araşidonik asit

AC: Adenilat siklaz

AC/DC: Alternative current/Direct current (Alternatif akım/Doğru akım)

ADP: Adenozin difosfat

AMP: Adenozin monofosfat

ATP: Adenozin trifosfat

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

CGS: Santimetre, Gram, Saniye Birim Sistemi

ÇDF: Çok Düşük Frekanslı

DAG: Diaçilgliserol

EMA: Elektromanyetik Alanlar

F: Faktör

GP: Glikoprotein

IARC: International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanseri Araştırmaları Kurumu)

İP₃: İnositol trifosfat

K: Kontrol

MA: Manyetik alan

mT: miliTesla

µT: mikroTesla

PAF: Trombosit aktive edici faktör

PGI₂: Prostaglandin I₂

PI₂: Fosfoinositol 4-5 difosfat

PKC: Protein kinaz C

PLC_β: Fosfolipaz C_β

PLC_{γ2}: Fosfolipaz C_{γ2}

SI: Système International d'Unités (Uluslararası Birim Sistemi)

T: Tesla

TFP: Trombositçe fakir plazma

TxA₂: Tromboksan A₂

TZP: Trombositçe zengin plazma

vWF: von Willebrand Faktör

1. GİRİŞ

1.1. ARAŞTIRMANIN KONUSU, AMACI ve ÖNEMİ

Giderek gelişen teknoloji ile birlikte elektrik enerjisi yaşamımızın her alanına girmektedir. Elektriği üretildiği yerden evimizdeki prize kadar getiren enerji nakil hatları ve günlük yaşamımızda kullandığımız her türlü elektrikli ve elektronik alet birer elektromanyetik alan kaynağıdır. Her geçen gün daha fazla maruz kaldığımız elektromanyetik alanların biyolojik sistemler üzerinde etkili olduğu uzun süredir bilinmektedir. 1979’da Wertheimer ve Leeper’in (83) çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar ile çocukluk çağı lösemileri arasında ilişki olduğunu göstermeleri, bu alanların toplum sağlığı açısından dikkate alınması gerekliliğini ortaya koymuştur. Sonraları yapılan birçok epidemiyolojik çalışmayı değerlendiren Uluslararası Kanseri Araştırmaları Kurumu (International Agency for Research on Cancer [IARC]) 2002 yılında, çok düşük frekanslı manyetik alanları “olası karsinojen – possible carcinogen” (2B) olarak sınıflandırmıştır (31).

Son yıllarda çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini ve kanser ile olası ilişkilerini açıklamaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların; normal hücrelerde ve tümör hücrelerinde proliferasyon, diferansiyasyon, apoptoz, DNA hasarı/tamiri ve gen ekspresyonu gibi süreçlerde etkili oldukları (3, 7, 8, 9, 10, 11, 51, 60, 78, 80, 81); lökositlerde ve tümör hücrelerinde serbest oksijen radikallerinin aktivitesini ve konsantrasyonunu arttırdıkları (3, 51, 60, 69); bazı enzimlerin aktivitesini değiştirdikleri (3, 6, 7, 10, 51, 60, 70); biyolojik membranların kararlılığını ve karakteristiklerini değiştirdikleri (3, 7, 51, 60, 70, 80); bazı ikinci haberci sistemler

üzerindeki etkileri ve özellikle intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu değiştirmeleri (3, 51, 60, 70, 80) birçok çalışmada gösterilmiştir.

Trombositler hemostazda ve trombozda merkezi role sahip kan hücreleridir. Bu hücreler, megakaryositlerin sitoplazmik parçacıklarıdır. Çekirdekleri yoktur. Vasküler hasar bölgesine yapışıp aktive olan trombositler, birçok uyarıcı ajanın etkisiyle şekil değiştirirler, granül içeriklerini ve sentezledikleri maddeleri salgırlar ve agregalar oluştururlar. Reseptörleri ve ikinci haberci sistemleri iyi bilinen trombositlerin fonksiyonları çeşitli yöntemlerle belirlenebilmektedir (27).

Bu çalışmanın amacı, zamanla değişen manyetik alanların diğer uyarıcı ajanlar eşliğinde trombosit aktivasyonunu etkileyip etkilemediğini araştırmaktır. Bu amaçla, 50 Hz frekanslı 1 mT (miliTesla) veya 6 mT şiddetinde manyetik alana maruz bırakılan, sitratla veya heparinle pıhtılaşması önlenmiş trombositçe zengin plazma örneklerinde *ADP*, *kollajen* ve *epinefrin* ile uyarılan trombositlerin agregasyonları, optik agregometre ile değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada, çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların farklı bir yöntem ve hücre grubuyla, doğrudan fonksiyona yönelik olarak incelenmesi ile elektromanyetik alanların biyolojik sistemler üzerindeki etkilerinin, etki mekanizmalarının ve yollarının daha iyi anlaşılması hedeflenmiştir.

1.2. GENEL BİLGİLER

1.2.1. ELEKTROMANYETİK ALANLAR

1.2.1.1. Elektrik Alanı

Elektrik ve manyetizma ile ilgili ilk bilgiler çok eskilere dayanır. Manyetizmanın, yaklaşık MÖ 2000 yıllarında bilindiği, Çin kaynaklarından anlaşılmaktadır. Eski Yunanlıların MÖ 700 yıllarında, elektrik ve manyetizma olaylarını gözlemledikleri bilinmektedir.

Elektrik alanları, durgun ya da hareketli elektrik yüklü parçacıklardan kaynaklanır. Elektrik yükünün en küçük taşıyıcısı *elektrondur* ve 1.6×10^{-19} C miktarında elektrik yükü taşır. Bir proton ise buna eşit artı (pozitif) yük taşır. Uluslararası Birim Sisteminde (Système International d'Unités, [SI]), yük birimi olarak Coulomb (C) kullanılır, bir Coulomb'luk yük 6.24×10^{18} elektronun yüküne eşittir. Bir iletkenin kesitinden birim zamanda geçen yük miktarına elektrik akımı denir, birimi amperdir (1 Amper [A] = 1 C/s). Metallerde elektrik yükü taşıyıcıları elektronlardır, sıvılarda ise hem elektronlar hem de iyonlar yük taşır.

Elektrik yüklerinin davranışı ile ilgili temel yasa *Coulomb Yasası*'dır. Buna göre aynı işaretten yükle yüklü cisimler birbirini iter, aksi işaretten elektrikle yüklü cisimler ise birbirini çeker. Aksi yüklerin birbirini çekmesi kütle çekim yasasına tıpa tıpa benzer; her iki durumda da çekim kuvvetleri iki yük (veya kütle) arasındaki mesafenin karesi ile ters orantılı, yüklerle (veya kütlelerle) doğru orantılıdır. Örneğin, yükler için, elektrikselsel çekim kuvveti (F_e), q_1 ve q_2 yükler, r aradaki mesafe olmak üzere, $[F_e = k_e \cdot q_1 \cdot q_2 / r^2]$ olarak ifade edilir. Burada k_e orantı sabitidir.

Herhangi bir yükün veya yük dağılımının çevresinde daima bir elektrik alanı vardır. Bu alan içine q_0 miktarında başka bir elektrik yükü (sınama yükü) konduğunda, yukarıdaki Coulomb Yasasına göre bu sınama yüküne bir kuvvet etki eder. Elektrik alanı bu kuvvet ve sınama yükü cinsinden ifade edilebilir, şöyle ki sınama yükünün birim miktarına düşen kuvvete *elektrik alanı* (E) denir, yani, $[E = F_e / q_0]$. Buna göre elektrik alanının biriminin Newton/Coulomb (N/C) olduğu görülecektir. Diğer taraftan, elektrik alanının aynı zamanda birim mesafeye (r) düşen elektrik potansiyeli (V) olduğu da gösterilebilir, yani, $[E = V / r]$ yazılabilir, birimi Volt/metre (V/m) olur.

Farklı yük dağılımlarının elektrik alanları da uzaya farklı dağılır. Örneğin, aksi işaretten eşit yükler taşıyan iki paralel plaka arasında, (plakaların boyutları iki plaka arasındaki mesafeden çok büyük ise) artı yüklü plakadan eksi yüklü plakaya yönelmiş düzgün bir elektrik alanı bulunur. Düzgün bir alan plakalar arasındaki her noktada elektrik alanının aynı olduğuna işaret eder. Düzgün alan her iki plakaya dik ve birbirine paralel oklarla gösterilir, okların yoğunluğu ise alanın şiddetini gösterir.

Bir yüzeyden geçen elektrik alan çizgilerinin sayısı ile elektrik akısı doğru orantılıdır. Elektrik alanı büyüklüğü ile alana dik A yüzölçümünün çarpımına *elektrik akısı* denir.

$$\Phi_E = E \cdot A \cdot \cos\theta$$

Φ_E : Elektrik akısı (Nm^2/C)

E: Elektrik alanı şiddeti (N/C)

A: Elektrik alanı çizgilerinin düştüğü yüzey alanı (m^2)

θ : Elektrik alanı ile yüzeyin normali arasındaki açı

1.2.1.2. Manyetik Alan

Mıknatıslar yeryüzünde doğal olarak bulunabildikleri gibi yapay olarak da üretilmektedir. Mıknatıslardan etkilenen ve mıknatıs haline getirilebilen maddelere *manyetik maddeler* adı verilir. Bir mıknatısın kuzey ve güney olmak üzere iki kutbu vardır. Manyetik alan çizgileri kuzey kutbundan çıkarak güney kutbunda sonlanır. Manyetik alan şiddeti kutuplarda maksimumdur. Bir mıknatıs ne kadar parçaya ayrılırsa ayrılısın yine çift kutupludur. Elektrik yükleri için olduğu gibi aynı kutuplar birbirini iter, zıt kutuplar birbirini çeker.

Manyetik alanları karakterize etmek için genellikle **B** sembolü ile gösterilen ve *manyetik akı yoğunluğu* adı verilen vektörel bir büyüklükten söz edilir. Manyetik alanı ifade eden diğer bir büyüklük ise *manyetik alan şiddetidir* ve **H** gösterilir. Manyetik akı yoğunluğu ile manyetik alan şiddeti arasında şu ilişki vardır:

$$B = \mu_0 \cdot H$$

Burada μ_0 boşluğun manyetik geçirgenliğidir, SI birimi henri/metre'dir (H/m), farklı ortamlar için değeri değişir. Manyetik alan şiddetinin birimi amper/metre (A/m) veya weber'dir (W). Manyetik akı yoğunluğunun birimi SI temel birimleri cinsinden şöyle tanımlanır:

$$B = \frac{N}{C \cdot m / s} = \frac{N}{A \cdot m} = \text{Tesla (T)}$$

(N: Newton, C: Coulomb, m: metre, A: amper, s: saniye)

Manyetik akı yoğunluğu W/m² olarak da ifade edilir. CGS (santimetre, gram, saniye) sistemindeki birimi ise Gauss'dur (G). 1 Tesla, 10⁴ Gauss'a eşittir.

(1 Tesla = 10³ miliTesla [mT] = 10⁶ mikroTesla [μT], 1 mT = 10⁻³ G)

Buraya kadar sözü edilen elektrik ve manyetik alan büyüklükleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Elektrik ve manyetik alan büyüklüklerinin sembol ve birimleri.

Tanımlar ve Birimler		
Sembol	Fiziksel Büyüklük (İlk terim en yaygın kullanılan terimdir)	SI Birimi
E	Elektrik alanı	Volt/metre (V/m) Newton/Coulomb (N/C)
B	Manyetik alan	Tesla (T) Weber/metre ² (W/m ²) Volt.saniye/metre ² (Vs/m ²)
	Manyetik endüksiyon	
	Manyetik alan yoğunluğu	
	Manyetik akı yoğunluğu	
H	Mıknatıslayıcı alan	Amper/metre (A/m)
	Manyetik alan şiddeti	
	Manyetik alan	
ε₀	Boşluğun permitivite sabiti	Farad/metre (F/m)
	Elektrik sabiti	
μ₀	Boşluğun geçirgenlik sabiti	Henri/metre (H/m)
	Manyetik sabit	Newton/Amper ² (N/A ²)

Manyetik alan bir doğal mıknatısın çevresinde var olduğu gibi elektrik akımı taşıyan bir iletkenin çevresinde de vardır. Akım, yani hareketli yükler taşıyan bir iletken bir manyetik alan içine konduğunda, iletkene, hem manyetik alana hem de akım doğrultusuna dik yönde bir kuvvet etki eder. Bu kuvvet yüklerin hızı (**v**) ile manyetik alan akı yoğunluğunun (**B**) vektörel çarpımından hesaplanır:

$$\vec{F}_B = q\vec{v} \times \vec{B} \quad \text{veya} \quad |F_B| = q \cdot v \cdot B \cdot \sin\theta$$

$\vec{F}_B$: Manyetik kuvvet (N) (vektör)

q: Yük (C) (skalar)

$\vec{v}$: Yükün hızı (m/s) (vektör)

θ: B ile v arasındaki açı

Eğer akım ($q \vec{v}$) ve $\vec{B}$ birbirine paralel iseler, $\sin 0 = 0$ olduğundan kuvvet sıfırdır. Diğer taraftan, bir iletken bir manyetik alan içinde hareket ettirilirse iletken içinde elektrik akımı oluşur.

Elektrik kuvvetleri ile manyetik kuvvetler arasında önemli farklar vardır.

— Elektriksel kuvvet elektrik alanı yönündedir, manyetik kuvvet ise manyetik alana diktir.

— Elektriksel kuvvet yüklü parçacığın hızından bağımsızdır. Manyetik kuvvet ise sadece hareket halindeki yüklü parçacıklara etkir.

— Elektrik kuvveti yüklü parçacık üzerinde iş yapar. Düzgün manyetik alan içinde hareket eden bir yük üzerinde ise iş yapılmaz. Yani, v hızı ile hareket eden bir yüke uygulanan manyetik alan, yükün hız vektörünün yönünü değiştirebilir, fakat hızın genliği ve yükün kinetik enerjisini değiştirmez.

Manyetik akı, kapalı bir yüzeyden geçen manyetik alan çizgilerinin sayısı ile orantılıdır. Bir yüzeyden geçen *manyetik akı*, yüzey ile manyetik alanın yüzeye dik bileşeninin skalar çarpımına eşittir.

$$\Phi_B = \vec{B} \cdot \vec{A} \rightarrow |\Phi_B| = B \cdot A \cdot \cos\theta$$

Φ_B : Manyetik akı ($T \cdot m^2$ veya Wb) (skalar)

B: Manyetik akı yoğunluğu (T) (vektör)

A: Alan (m^2) (vektör)

θ : Yüzeyin normali ile B arasındaki açı

Elektrik ve manyetizmanın gerçekte birbiriyle ilintili olaylar olduğu bilim adamlarınca 19. yüzyılın başlarına dek ortaya konulamadı. Hans Christian Oersted 1819'da, akım geçiren bir elektrik devresi yanına konulan pusula iğnesinin saptığını belirledi. Bundan kısa bir süre sonra Andre Ampere akım taşıyan bir elektriksel iletkenin diğerine uyguladığı manyetik kuvveti hesaplamak için gerekli nicel yasaları

keşfetti. Michael Faraday ve Joseph Henry 1831’de hemen hemen aynı zamanlarda, bir telin bir mıknatıs yakınında (veya eşdeğer biçimde bir mıknatısın bir tel yakınında) hareket ettirilmesiyle, telde bir akım oluştuğunu gösterdiler. James Clark Maxwell 1873’te bu gözlemleri ve başka deneysel olguları bugün bildiğimiz elektromanyetik yasalarını tanımlamakta temel olarak kullandı. Kısa bir süre sonra (1888) Heinrich Hertz, elektromanyetik dalgaları laboratuarda oluşturup, dedekte ederek, Maxwell’in öngörülerini doğruladı. Maxwell’in elektromanyetizmaya olan katkısı, formüle ettiği yasaların tüm elektromanyetik olayları açıklamaları bakımından özellikle önemlidir (Tablo 2).

Tablo 2: Maxwell Denklemleri

$\oint \mathbf{E} \cdot d\mathbf{A} = q / \varepsilon_0$	Gauss Yasası
$\oint \mathbf{B} \cdot d\mathbf{A} = 0$	Manyetizmada Gauss Yasası
$\oint \mathbf{E} \cdot d\mathbf{S} = -d\Phi_B / dt$	Faraday Yasası
$\oint \mathbf{B} \cdot d\mathbf{S} = \mu_0 i + \mu_0 \varepsilon_0 d\Phi_E / dt$	Ampere - Maxwell Yasası

E: Elektrik alanı (N/C, V/m)

B: Manyetik alan (T, Wb/m²)

dA: Sonsuz küçüklükte bir yüzey alanı elemanı (m²)

dS: Sonsuz küçüklükte bir mesafe elemanı (m)

q: Yük (C)

i: Akım (A)

Φ_B : Manyetik akı (Wb)

Φ_E : Elektrik akısı (Nm^2/C)

μ_0 : Boşluğun manyetik geçirgenliği (H/m)

ϵ_0 : Boşluğun elektrik geçirgenliği (permitivitesi) (F/m)

1. denklem *Gauss Yasası*'dır. Herhangi bir kapalı yüzeyden geçen toplam elektrik akısının bu yüzey içindeki net yükün ϵ_0 'a bölümüne eşit olduğunu ifade eder. Bu yasa, elektrik alanı ile onu doğuran yük dağılımı arasındaki ilişkiyi verir.

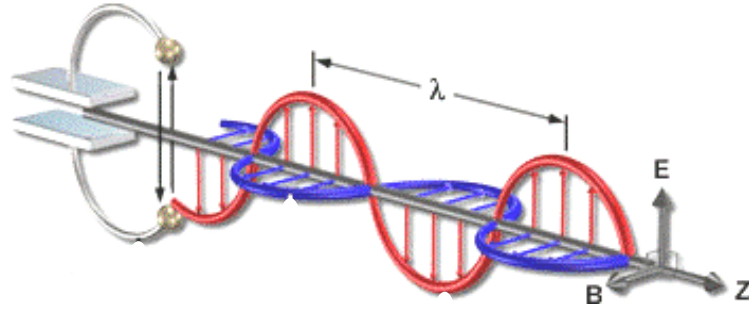
2. denklem *manyetizmada Gauss Yasası* olarak bilinir. Kapalı bir yüzeyden geçen net manyetik akının sıfır olduğunu ifade eder. Yani, kapalı bir hacme giren manyetik alan çizgilerinin sayısı, bu hacmi terk edenlerin sayısına eşittir. Bu manyetik alan çizgilerinin herhangi bir noktada başlayamayacağı ya da sona eremeyeceği anlamına da gelir.

3. denklem *Faraday'ın Endüksiyon Yasası*'dır. Bir elektrik alanının kapalı bir halka üzerinde alınan çizgisel integralinin, halkanın sınırladığı yüzeyden geçen manyetik akının zamansal değişikliğine eşit olduğunu belirtir. Faraday yasası, zamanla değişen bir manyetik alan içine yerleştirilen iletken halkada bir akım indüklendiğini ifade eder.

4. denklem *Ampere Yasasının* Maxwell tarafından düzenlenmiş şeklidir. Maxwell bu denkleme, sağdaki ikinci terimi eklemiştir. Bu yasa, değişen elektrik alanı ve elektrik akımının yol açtığı manyetik alanı tanımlar. Kapalı bir halka üzerinde alınan manyetik alan çizgisel integralinin, iki teriminin toplamına eşit olduğunu belirtir. İlk terim bu kapalı halkanın sınırladığı yüzeyden geçen net akımı verir. İkinci terim ise bu kapalı halkanın sınırladığı yüzeyden geçen elektrik akısının zamanla değiştiğini ifade eder. Maxwell bu düzenlemesi ile elektrik alandaki zamansal değişimin bir manyetik alan yarattığını göstermiştir. Maxwell'in bu

denkleme yaptığı katkı, elektromanyetik teorelin temelini oluşturur. Maxwell bu dört denklemden yararlanarak zamanla değişen elektrik ve manyetik alanların birbirleri ile ilişkili olduğunu, yani zamanla değişen elektrik alanın 4. denkleme göre hemen yanında bir manyetik alan yarattığını, ancak bu manyetik alanın da 3. denkleme göre bir elektrik alanı meydana getirdiğini ifade eder. Maxwell böylece elektrik ve manyetik alanların birbirlerini indükleyerek uzaya bir elektromanyetik dalganın yayılmasına yol açtıklarının teorik kanıtını göstermiştir (Şekil 1).

Literatürde elektromanyetik alanlar için, elektromanyetik dalga, elektromanyetik radyasyon, elektromanyetik ışın gibi farklı terimler kullanılmakta ise de hepsi aynı şeyi ifade eder.



Şekil 1: Elektromanyetik dalganın şematik gösterimi. Elektrik alanı (E), manyetik alan (B) ve elektromanyetik dalganın ilerleme yönü (z) birbirine diktir.

1.2.1.3. Elektromanyetik Dalgaların Genel Özellikleri

- Elektromanyetik dalgalar yüklerin ivmeli hareketinden kaynaklanır.
- Mekanik dalgaların aksine bir madde ortamı gerektirmezler.
- Titreşen yüklerden çok uzaklara gidebilirler.
- Enine (transvers) dalgalardır.

- Elektrik ve manyetik alan bileşenleri, birbirine ve dalganın yayılma doğrultusuna diktir.

- Uzayda ışık hızı ile yayılırlar, bu nedenle Maxwell haklı olarak ışığın bir elektromanyetik radyasyon olduğunu ileri sürmüştür. Işığın veya herhangi bir elektromanyetik dalganın uzaydaki hızı aşağıdaki bağıntıdan hesaplanabilir:

$$c = \frac{1}{\sqrt{\mu_0 \epsilon_0}}$$

$$c = 3 \times 10^8 \text{ m/s}$$

$$\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} \text{ T.m/A}$$

$$\epsilon_0 = 8.9 \times 10^{-12} \text{ C}^2/\text{N.m}^2$$

- Hızları ortamdan etkilenir. Yansıma, kırılma, kırınım ve girişim yaparlar.

- Bir elektromanyetik dalga içindeki elektrik ve manyetik alanlar aynı fazda olup, birbiri ile şu ilişki içindedirler:

$$E = c \cdot B$$

- Elektromanyetik dalgalar enerji taşırlar ve uzayda yayılırken yolları üzerindeki madde ortamına enerji aktarabilirler (lineer enerji transferi). Bir elektromanyetik dalga için, manyetik alanla ilgili anlık enerji yoğunluğu, elektrik alanla ilgili anlık enerji yoğunluğuna eşittir. Belli bir hacimdeki enerji iki alan tarafından eşit olarak paylaşılır. Elektromanyetik dalganın enerjisi aşağıdaki eşitlikle ifade edilir.

$$E = h \cdot f = h \cdot c / \lambda$$

E: Enerji (J)

h: Planck sabiti (6.62×10^{-34} J.s)

f: frekans (Hz, 1/s)

λ (= c/f): dalga boyu (m)

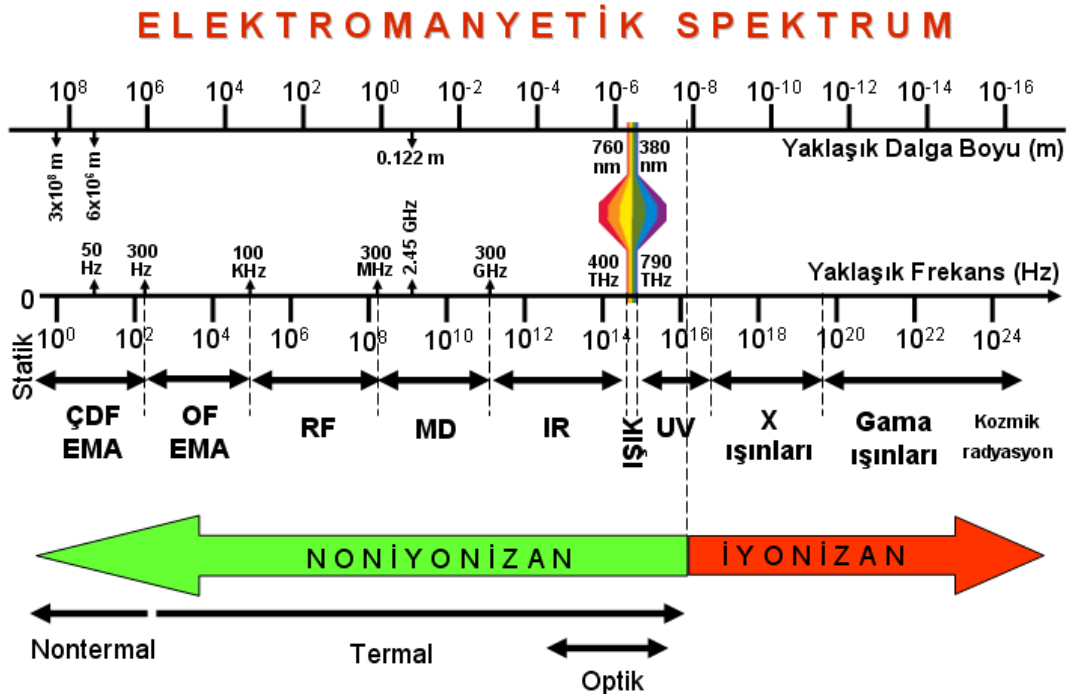
c: Işık hızı (3×10^8 m/s)

- Elektromanyetik dalgalar enerji gibi lineer momentuma da sahiptirler. Bu nedenle momentum bir yüzey tarafından soğurulduğunda yüzey üzerine basınç uygulanır.
- Hem dalga hem tanecik karakterlidirler. Düşük frekanslı elektromanyetik dalgalar, dalga teorisinin öngördüğü gibi, yüksek frekanslı dalgalar ise tanecik teorisinin öngördüğü şekilde davranırlar.
- Mıknatıslar, hareketsiz yükler ve doğru akım elektromanyetik dalga oluşturmaz.

(2, 4, 68, 89)

1.2.2. ELEKTROMANYETİK SPEKTRUM

Elektromanyetik spektrum, gama ışınlarından çok düşük frekanslı elektromanyetik dalgalara kadar yayılmış sürekli bir ışıma dizisidir. Elektromanyetik ışımanın fiziksel özellikleri bütün dizi için aynıdır. Spektrum sürekli (Şekil 2).



Şekil 2: Elektromanyetik spektrum.

Düşük frekanslı (uzun dalga boylu) elektromanyetik dalgalar düşük enerjilidir. Sıfır frekans statik elektrik veya statik manyetik alana karşılık gelir.

1.2.2.1. Çok Düşük Frekanslı (ÇDF) Elektromanyetik Alanlar (EMA)

(Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields [ELF EMFs])

Frekansı 0 – 300 Hz (bazı kaynaklarda 3 – 3000 Hz) aralığındaki elektromanyetik dalgalara bu ad verilir. Elli Hz'lik elektromanyetik dalga'nın dalga boyu 6000 km olup, yaklaşık dünyanın yarıçapı kadardır. Enerji dağıtım şebekesinden (50 – 60 Hz) ve elektrikle çalıştırılan her türlü elektrikli-elektronik aletten çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar yayılır. Son yüzyılda elektriğin yaşamımızdaki yerinin artmasıyla birlikte insanoğlu bu elektromanyetik dalgalara giderek daha fazla maruz kalmaktadır.

1.2.2.2. Orta Frekanslı (OF) Elektromanyetik Alanlar

(Intermediate Frequency Electromagnetic Fields [IF EMFs])

Frekansları 300 Hz – 100 KHz aralığındaki elektromanyetik dalgalar. Endüstride veya insan yaşamında kullanım alanları yoktur.

1.2.2.3. Radyo Dalgaları (Radyo Frekansı [RF])

(Radio Frequency Electromagnetic Fields [RF EMFs])

Frekansları 100 KHz – 300 MHz aralığındaki elektromanyetik dalgalar. Dalga boyları $10^4 - 10^{-1}$ m aralığındadır. Birçok alt sınıfı vardır. Atmosferin iyonosfer tabakası tarafından yansıtılıp, tuğla ve betondan kolaylıkla geçerler. Haberleşmede yaygın olarak kullanılırlar. Radyo, televizyon yayınları ve radarlar bu frekans aralığında çalışır.

1.2.2.4. Mikrodalgalar (MD) (Microwaves [MW])

Frekansları 300 MHz – 300 GHz aralığındaki elektromanyetik dalgalar. Dalga boyları $3 \times 10^{-1} - 10^{-4}$ m arasındadır. "Mikrodalga" terimi dalga boyunun 1 metreden

kısa olduğunu ifade eder. En çok bilinen kullanım alanları mikrodalga fırınlardır ($\lambda = 0.122$ m, $f = 2.45$ GHz). Mikrodalga frekans aralığı sudaki hidrojen ile oksijen arasındaki bağın titreşim frekansı mertebesinde olduğu için sulu ortamlara uygulanan mikrodalgalar H-O bağının titreşim frekansı ile rezonansa gelir. Böylece genliği artan titreşimler ortamda büyük miktarda ısı üretir. Bu olaydan yiyecekleri pişirmekte yararlanılır. Mikrodalgaların diğer bazı uygulamaları arasında radar, cep telefonu, kablosuz internet haberleşmesi, Bluetooth kulaklıklar, mağaza güvenlik sistemleri gibi uygulamalar sayılabilir.

1.2.2.5. Kızılötesi Işımlar (*Infrared radiation [IR]*)

Frekansları 300 GHz – 400 THz arasında ve dalga boyları 1 mm – 750 nm arasındadır. Sıcak cisimler tarafından yayılan bu ışınlar çevredeki soğuk cisimler tarafından soğurulur ve soğuk cisim ısınır.

1.2.2.6. Görülebilir Işık (*Visible light*)

İnsan gözünün algılayabildiği bu ışınlar, çok sıcak cisimlerden yayılırlar. Atom ve moleküllerdeki elektronların yeniden düzenlenmesi sonucu oluşurlar. Bu ışınların dalga boyları 380 – 760 nm, frekansları 790 – 400 THz aralığındadır. Elektromanyetik spektrumun çok küçük bir kısmını kapsarlar.

1.2.2.7. Mor Ötesi Radyasyon (*Ultraviolet light [UV]*)

Dalga boyları $4 \times 10^{-7} - 6 \times 10^{-10}$ m arasındaki dalga boylarını kapsar. Frekansları $7 \times 10^{14} - 7 \times 10^{16}$ aralığındadır. En önemli kaynağı güneştir. Güneşten gelen ultraviyole ışığın büyük bir bölümü stratosferdeki (atmosferin üst katmanı) ozon molekülleri tarafından soğurulur. Genel olarak üç alt sınıfı vardır. Ultraviyole A, (diğer sınıflamalarda yakın ultraviyole veya siyah ışık olarak da adlandırılır), görülebilir ışığa yakın olan bölgesidir. Dalga boyu 400 – 320 nm aralığındadır. Atmosferi geçer. Ultraviyole B, orta ultraviyole olarak da adlandırılır. Dalga boyu

320 – 200 nm arasındadır. Ultraviyole C (uzak ultraviyole veya vakum ultraviyole), dalga boyu 200 – 10 nm olan, enerjisi daha yüksek ultraviyole ışınlarıdır. Ozon tabakası tarafından tutulurlar.

1.2.2.8. X-Işınları (*X-Rays*)

Dalga boyları $10^{-8} - 10^{-12}$ m, frekansları $6 \times 10^{16} - 3 \times 10^{19}$ Hz aralığına düşen elektromanyetik dalgalardır. Atomun iç tabaka elektronlarından birinin, bir uyarılma ile boşalttığı enerji düzeyinin, buna en yakın tabaka elektronlarından biri tarafından doldurulması sırasında ortaya çıkarlar. Elektromanyetik spektrumda ultraviyole ışınları ile gama ışınları arasında yer alırlar. Her element için dalga boyları farklı, giricilikleri oldukça yüksek olan, karakteristik ışınlarıdır. Röntgen ışınları olarak da bilinen X-ışınları, yüksek enerjili elektronların metal bir hedefe çarptırılarak durdurulması sonucu yapay olarak elde edilirler ve tıpta radyografide kullanılırlar. Nötron yıldızları ve nebulalar gibi çok sıcak cisimler doğal X-ışınları yayınlr. Atmosferi geçemezler. Frekansları ve enerjileri çok yüksektir.

1.2.2.9. Gama Işınları (*Gamma Rays*)

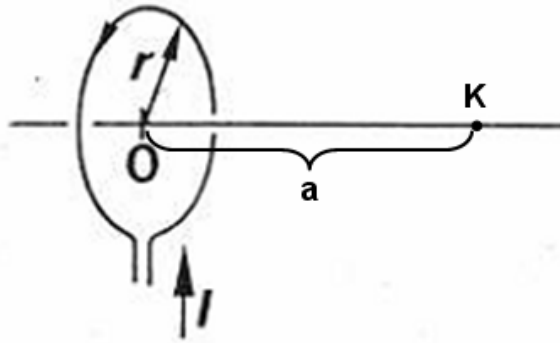
Doğal ve yapay radyo aktif maddelerin çekirdek reaksiyonlarında, çekirdeğin yeniden yapılanması sırasında enerji düzeyleri arasındaki farklılara karşılık gelen radyasyonlar uzaya gama ışınları olarak yayılırlar. Dalga boyları $10^{-10} - 10^{-14}$ m (frekansları $3 \times 10^{19} - 10^{23}$ Hz) aralığındadır. Gama ışınları spektrumun en kısa dalga boylu, en yüksek frekanslı ve enerjili ışınlarıdır. Uzaydan kaynaklanan gama ışınları atmosferi geçemezler (4, 51, 68, 87).

1.2.3. MANYETİK ALANIN LABORATUARDA ELDE EDİLMESİ

Manyetik alanların biyolojik etkilerini araştırmak amacıyla laboratuarlarda kullanılan en yaygın yöntemlerden biri *Helmholtz bobin* sistemidir. Sınırlı bir bölgede, istenilen şiddette, düzgün bir manyetik alan oluşturmak amacıyla kullanılır. Eş eksenli iki özdeş bobinden oluşur. Bobinler arası uzaklık, bir bobinin yarıçapı kadardır (Şekil 3).



Şekil 3: Helmholtz bobini.



Şekil 4: O merkezli, r yarıçaplı düzgün çembersel bir bobin üzerinden geçen I akımı. Simetri eksenini üzerinde, merkezden a kadar uzaktaki K noktası.

Şekil 4'teki gibi, düzgün çembersel bir bobinin simetri eksenindeki K noktasında manyetik akı yoğunluğunun değeri, *Biot-Sawart Yasası* kullanılarak aşağıdaki eşitlikle bulunur.

$$B = \frac{\mu_o \cdot N \cdot I \cdot r^2}{2 (r^2 + a^2)^{3/2}}$$

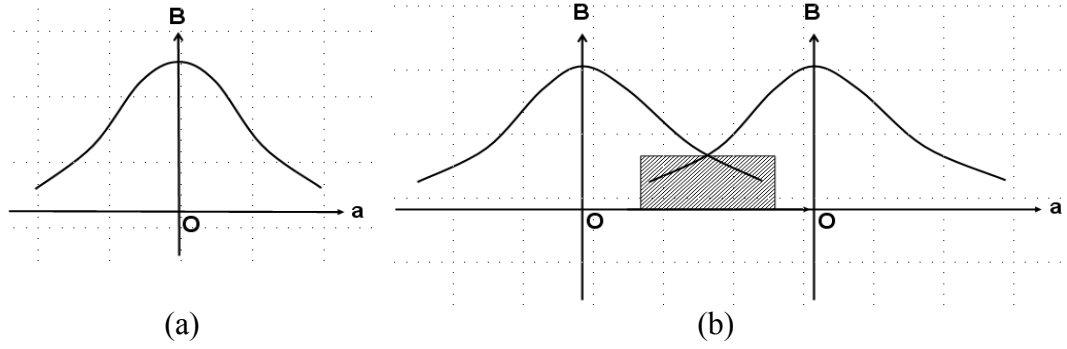
B: Manyetik akı yoğunluğu (T)

μ_o : Boşluğun manyetik geçirgenliği ($4\pi 10^{-7}$ H/m)

N: Bobinin sarım sayısı

I: İletkenden geçen akım (A)

Formülden de anlaşılacağı gibi merkezden uzaklaştıkça manyetik akı yoğunluğu hızla azalmaktadır (Şekil 5a). Tek bobin kullanmak yerine, yan yana, simetrik, özdeş iki bobin kullanıldığında, bobinlerin tam ortasında, belirli bir bölgede düzgün manyetik alan oluşacaktır. Bu bölge Şekil 5b'deki taralı kısım olarak gösterilmiştir. Bu taralı aralıkta, orta noktadan yatay eksen üzerinde uzaklaştıkça, bir bobine ait manyetik akı azalmasını, diğerinin manyetik akı artışı karşılayarak düzgün alan sistemi korunur.



Şekil 5: (a) Tek bobinde manyetik akı yoğunluğunun merkezden uzaklaştıkça azalması. (b) Helmholtz bobin sisteminde iki bobinin arasındaki bölgede (taralı alan), düzgün manyetik alan oluşur.

Helmholtz bobinde merkezde oluşan manyetik akı yoğunluğu aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$B = \frac{8 \cdot \mu_0 \cdot N \cdot I}{5^{3/2} \cdot r}$$

$$B = 8.99 \times 10^{-7} \frac{N \cdot I}{r}$$

B : Manyetik akı yoğunluğu (T)

μ_0 : Boşluğun manyetik geçirgenliği ($4\pi 10^{-7}$ H/m)

N : Bobinin sarım sayısı

I : İletkenden geçen akım (A)

r : Bobinin yarıçapı (m)

(34, 84, 88, 92)

1.2.4. ELEKTROMANYETİK ALANLARIN BİYOLOJİK ETKİLERİ

Elektromanyetik spektrumdan da görüldüğü gibi, oldukça geniş bir frekans bandına sahip elektromanyetik alanların canlılar üzerindeki etkileri sadece görülebilir ışık göz önüne alındığında bile son derece dikkat çekicidir. Biyolojik evrim sürecinde, güneşten gelen elektromanyetik dalgalara duyarlı yapıların görülebilir ışık algılamasına uzmanlaşması, yüksek canlılarda göz gibi bir organın ortaya çıkması ile sonuçlanmıştır. Bitkilerin fotosentezle enerji üretmeleri de yine ışıkla canlılar arasındaki etkileşimin en önemli göstergesidir.

Elektromanyetik dalgalar taşıdıkları enerjiyi karşılaştıkları cisimlere aktarabildiklerinden, yüksek enerjili dalgalar molekül ve bileşiklerdeki kimyasal bağların kırılmasına ve iyonların oluşmasına sebep olurlar. Yaklaşık 10 eV'un (elektron volt) üzerinde enerjiye sahip olan ve spektrumda ultraviyole B'den sonra gelen, ultraviyole C, X ve gama ışınları iyonize edici (iyonizan) ışınlardır. Atmosferden geçemeyen bu ışınlar canlılarda DNA hasarına sebep olduklarından, mutajendirler. Kuşkusuz, atmosfer oluşmadan önceki ilkel canlılar aşırı düzeyde iyonizan ışına maruz kalmışlardır. Diğer taraftan, zararlarının yanı sıra, günümüzde X ışınları insan vücudunun görüntülenmesinde (Radyografi) ve kanser tedavisinde (Radyoterapi), gama ışınları Nükleer Tıp'ta tanı ve tedavi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır.

On eV'dan daha az enerjiye sahip elektromanyetik dalgalar iyonize edici etkiye sahip değildir, bunlara *noniyonizan radyasyon* adı verilir. Noniyonizan elektromanyetik dalgaların büyük bir kısmı ulaştıkları madde ortamını ısıtırlar. Canlı madde söz konusu olduğunda bu etkiye *termal etki* denir. Radyo dalgalarının başlangıcı olan 100 KHz civarına kadar gözlenen termal etkilerin yanı sıra, radyo

dalgaları ve mikro dalgalar, biyolojik dokularda ve hücrelerde iyon hareketleri üzerinden indüktif akımlara da yol açabilirler.

Sıcak cisimlerden yayınlanan kızılötesi ışınları canlılar da yayınlırlar. Öyle ki bir hastanın vücut sıcaklığı 1 – 2 °C arttığında bu artış kızıl ötesi dedektörler tarafından algılanabilir.

Yüz KHz'den daha düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik dokularda ısı oluşturmadaıkları bilinmektedir. Bu yüzden bu elektromanyetik alanların biyolojik dokular üzerindeki etkilerine genel olarak *nontermal etkiler* adı verilir.

Statik elektrik ve manyetik alanların da biyolojik etkileri olduğu bilinmektedir. Dünya küre şeklinde bir mıknatıs gibidir. Bu yüzden çevresinde bir manyetik alan vardır. Dünya'nın manyetik alanı (Jeomanyetik alan), dünya'nın merkezine konmuş bir çubuk mıknatısın (dipol) oluşturduğu manyetik alana benzer. Bu dipolün eksenı, dünyanın dönme eksenıyle 11 derecelik bir açı yapar. Bu da coğrafi kuzey ve güney kutuplarının, manyetik kuzey ve güney kutuplarından farklı yerlerde olduğunu gösterir. Jeomanyetik alan kutuplarda yaklaşık 65 µT, ekvatorda ise 25 µT'dır. Göçmen kuşların, güvercinlerin ve martıların jeomanyetik alanı yön tayininde kullandıkları ve göç yollarını bu şekilde buldukları bilinir. Ayrıca köpek balıklarının elektromanyetik alanları algılayan elektroreseptör organlarının olduğu, avlanmada ve yön bulmada bu algılarını (electroreception) kullandıkları da bilinmektedir (1, 51, 60, 68, 90).

1.2.4.1. ÇOK DÜŞÜK FREKANSLI ELEKTROMANYETİK ALANLARIN BİYOLOJİK ETKİLERİ

Giderek gelişen teknoloji ve elektriğin artan kullanımına bağlı olarak, insanoğlu çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlara giderek daha fazla maruz

kalmaktadır. Güç santrallerinde üretilen elektrik, üretildiği yerden evimizdeki prize kadar alternatif akımla iletilir. Enerji naklinde kullanılan alternatif akımın frekansı Kuzey Amerika ve Güney Amerika'nın bazı ülkelerinde 60 Hz, diğer ülkelerde ve Türkiye'de 50 Hz'dir. Elektriğin üretildiği yerden, kullanıldığı noktaya kadar geçtiği her yerden çevreye 50 Hz'lik elektromanyetik dalga yayınlanır.

Günlük hayatta ev ve işyerlerinde kullandığımız tüm elektrikli ve elektronik aletlerden çevreye yayılan manyetik alanlar, cihazdan cihaza, markadan markaya farklılık gösterir. Ölçülen manyetik alan şiddetleri cihazın hemen yakınında 0.1 mT ile 2 mT arasında değişmektedir. En yüksek şiddetli manyetik alanlara saç kurutma makinesi, elektrikli traş makinesi, mikser gibi cihazlar neden olur. Manyetik alana maruziyeti bazı faktörler etkilemektedir. Cihazların kullanım durumunda iken insan vücuduna yakınlığı, kullanım süresi, aynı aletin farklı markaları elektromanyetik alan maruziyetini değiştirmektedir. Manyetik alan, cihazdan uzaklaştıkça hızla şiddetini kaybeder (51).

Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların insan sağlığına zararlı olabileceğine dair ipuçları ve konu ile ilgili çalışmalar, 20. yüzyılın son çeyreğinde ortaya çıkmaya başlamıştır. Wertheimer ve Leeper'ın (83) 1979'da, yüksek gerilim hatlarına yakın evlerde yaşayan çocuklarla, yüksek gerilim hatlarından uzakta yaşayan çocuklar arasında, lösemiye yakalanma riski açısından fark olduğunu göstermeleri, toplum sağlığı açısından dikkat çekici olmuştur. Sonrasında yapılan birçok epidemiyolojik çalışmanın sonucunda, günlük ortalama 0.4 μ T ve üzerinde manyetik alana maruz kalan çocuklarda çocukluk çağı lösemi riskinin iki katına çıktığı desteklenmiştir (1, 32). Dünya Sağlık Örgütü 1996 yılında, "Uluslararası Elektromanyetik Alan Projesi"ni (The International EMF Project) başlatmış ve 0-300 Hz arasındaki çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların insan sağlığına olası

zararlı etkilerinin araştırılmasına öncülük etmiştir (93). Yapılan çalışmalar sonucunda Uluslararası Kansere Araştırmaları Kurumu (International Agency for Research on Cancer [IARC]) 2002 yılında, çok düşük frekanslı manyetik alanları “olası karsinojen – possible carcinogen” (2B) olarak sınıflandırmıştır (31). Olası karsinojen sınıfında yer alan diğer maddeler arasında kahve (mesane kanseri için), salamura sebzeler (turşu), egzoz dumanı, kaynak dumanı, kloroform, cam yünü vb maddeler de bulunmaktadır (91).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar ile çocukluk çağı lösemileri, sinir sistemi kanserleri (beyin), lenfomalar, meme kanserleri arasında ilişki bulunduğunu gösteren çalışmalar olduğu gibi böyle bir ilişki bulunmadığını gösteren çalışmalarda bulunmaktadır. Gözlenen hastalıkların multifaktöriyel doğası, elektromanyetik alanlar ile kurulan ilişkinin kuşku ile karşılanmasına neden olmuştur (28, 32, 35, 46, 66, 78). Hücre kültürü çalışmalarının sonuçlarına göre elektromanyetik alanların direkt olarak kansere yol açmadığı, fakat kanseri destekleyici veya ilerletici olduğu üzerinde durulmaktadır. Ayrıca elektromanyetik alanlar mutajen etkiye maruz bırakılmış hücrede, mutasyon sıklığını arttırmırlar. Bu nedenle komutajenik veya kokarsinojenik olarak da adlandırılırlar (16, 17, 36, 37, 38, 40, 48, 71, 72, 79).

Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik sistemler üzerindeki etkilerine yönelik, hücre düzeyinden tüm vücut maruziyetine kadar (insan/hayvan) geniş kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır. Bugüne kadar elde edilen bilgilere göre elektromanyetik alanların canlılar üzerindeki başlıca etkileri aşağıdaki gibi özetlenebilir.

— Oksidatif strese neden olup, serbest oksijen radikallerinin aktivitesini, konsantrasyonunu ve yarılanma ömrünü arttırmırlar. Elektromanyetik alanların

hücrel stres faktörleri gibi etki gösterdikleri düşünülmektedir. “Heat Shock” proteinlerinin ekspresyonunu arttırmaları da bu düşünceyi desteklemektedir (3, 60, 69).

— Adenilat kinaz, alkalin fosfataz, ornitin dekarboksilaz, protein kinaz C (PKC) gibi bazı enzimlerin aktivitesini değiştirirler (3, 6, 7, 10, 60, 70).

— Biyolojik membranların kararlılıklarını ve karakteristiklerini değiştirip, iyon transport özelliklerini, özellikle kalsiyum akımını etkilerler (3, 31, 60, 70, 80).

— İntrasellüler ve ekstrasellüler kalsiyum dağılımını değiştirirler (60, 70, 80, 81).

— Melatonin düzeylerini etkilerler (melatonin supresyonu) (51, 61, 73).

— Nitrik oksit sentaz aktivitesini ve nitrik oksit üretimini artırır (45, 51, 61).

— Ligand proteinleriyle etkileşirler ve intramembran protein dağılımını etkilerler (3, 8, 60, 70, 80).

— Gen ekspresyonuna ve protein sentezine neden olurlar (3, 60, 78, 80, 81).

— Normal hücrelerin ve kanser hücrelerinin proliferasyonunu, DNA sentezini, RNA transkripsiyonunu etkilerler (3, 60, 80, 81).

— DNA hasarı indüklerler, hücre büyümesine veya hücre ölümüne yol açarlar (3, 60, 80, 81).

— Apoptozisi etkilerler (3, 60, 80, 81).

Çok düşük frekanslı (0 – 300 Hz) ve zayıf (< 1 mT) elektromanyetik alanların biyolojik dokular/hücreler üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Membrandaki veya membrana çok yakın bir bölgedeki molekülü veya molekülleri etkiledikleri ve cevabın ilk olarak burada başladığı düşünülmektedir. Etkilenen yapıların membrandaki iyon kanalları, reseptörler veya enzimler gibi membran pronteinleri veya intrasellüler proteinler olabileceği üzerinde durulmaktadır.

Elektromanyetik alanların biyolojik sistemleri etkilediğini gösteren çalışmaların yanı sıra, etkilemediğini, hatta tam ters yönde etkilediğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Sonuçların bu kadar çelişkili olmasının nedenleri arasında, araştırılan biyolojik sistemlerin tek bir proteinden, tüm bir organizmaya kadar geniş bir spektruma yayılmış olması sayılabilir. Bu çalışmalarda statik veya sinüzoidal dalga şeklinde ve şiddetleri 10^{-7} T'dan 10 T'ya kadar değişen manyetik alanlar kullanılır. Osilasyonlu alanların frekansları 0.05 Hz'den 230 Hz'e kadar değişebilmektedir. Uygulama süreleri de dakikalardan aylara geniş bir aralıkta değişmektedir. Şiddet, frekans, dalga şekli ve uygulama süresindeki değişiklikler, sonuçlardaki farklılıkların nedenleri arasındadır. Çalışmaların farklı fazlarda bulunan hücrelerde yapılması, hücrenin o anda aktif veya pasif olması ve hücrenin metabolik durumu gibi özellikler de olası nedenler arasındadır (78).

1.2.4.1.1. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanların Kalsiyum, Enzimler ve Hücre Membranı Üzerine Etkilerini Gösteren Belli Başlı Çalışmalar

Salamino ve arkadaşları (65), katalitik aktivitesi tamamen kalsiyuma bağlı bir proteaz olan kalpainin, hem intakt hücredeki (eritrosit) hem de çözeltideki formları üzerinde manyetik alanın etkilerini değerlendirmişlerdir. 10 dk. süre ile uygulanan 0.3 mT şiddetindeki, 230 Hz frekanslı sinüzoidal manyetik alanın, kalpainin aktivitesini büyük oranda düşürdüğünü ve bu düşüşün kalsiyumla ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Portaccio ve arkadaşları (56), 1–3 saat süre ile uygulanan 1 mT şiddetindeki 50 Hz frekanslı manyetik alanın çözünebilir peroksidaz enziminin katalitik aktivitesini, uygulama süresi ile orantılı olarak azalttığını göstermişlerdir. Aynı

araştırmacılar bir başka çalışmalarında (57) peroksidaz enzimi aktivitesindeki değişikliğin, manyetik alnın frekansı ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Dibirdik ve Kristupaitis'in iki çalışmasında (15, 39), 0.1 mT şiddetinde 60 Hz frekanslı manyetik alanın tavuk DT40 lenfoma b hücrelerinde protein tirozinkinazları aktive ettiği ve etkinin manyetik alan uygulamasının birinci dakikasında maksimuma ulaştığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda, tirozinkinaz aktivasyonunun, tirozinkinaz bağımlı fosfolipaz $C_{\gamma 2}$ ($PLC_{\gamma 2}$) aktivasyonuna yol açtığı, daha sonra da inositoltrifosfat (IP_3) ile PKC turnover hızının arttığı gözlenmiştir.

Sakurai ve arkadaşları (63), insülinoma hücrelerine 1 saat süre ile uygulanan 5 mT şiddetinde 60 Hz frekanslı manyetik alanın, bu hücrelerde potasyum klorür ile uyarılan insülin sekresyonunu anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir. Nifedipin'in (bir kalsiyum kanal blokeri) bu azalmayı önlediği görülmüştür. Aynı araştırmacılar bir diğer çalışmalarında (64) yine 5 mT şiddetinde 60 Hz frekanslı manyetik alan uygulamasının, HIT-T15 hücrelerinde (hamster kaynaklı insülin sekrete eden hücre serisi), glikoz ile uyarılan insülin sekresyonunu azalttığını ve bu azalmanın hücresel ATP/ADP oranındaki artışla ve sitozolik serbest kalsiyum konsantrasyonundaki artışla önlenabilir olduğunu göstermişlerdir.

Ravera ve arkadaşları (58), sığır retinasındaki basil hücrelerinin dış segmentlerindeki adenilat kinaz aktivitesinin, 75 Hz frekanslı 250 μ T şiddetinde manyetik alan uygulandığı sürece azaldığını göstermişlerdir. Enzimin membrandan ayrıştırılmasından sonra yapılan çalışmada ise enzim aktivitesinde düşüş görülmemiştir. Aynı araştırmacılar bir diğer çalışmalarında (59), enzim aktivitesini etkileyen manyetik alan eşik değerinin 125 μ T olduğunu, manyetik alan uygulamasının durdurulması ile birlikte enzim aktivitesinin yeniden normale döndüğünü göstermişlerdir. Yine bu gruptan Morelli'nin yapmış olduğu bir

Çalışmada (50), membranla ilişkili başka enzimlerin de (alkalen fosfataz, asetilkolinesteraz, fosfogliserat kinaz, adenilat kinaz, Ca ATPaz [kalsiyum pompası], Na/K ATPaz [sodyum-potasyum pompası], süksinikdehidrojenaz, fosfodiesteraz) elektromanyetik alanlardan etkilenip etkilenmedikleri araştırılmıştır. 73–151 μ T şiddetinde 75 Hz frekanslı manyetik alan uygulamasının alkalen fosfataz, asetilkolinesteraz, fosfogliserat kinaz ve adenilat kinaz enzim aktivitelerini uygulama süresince %54–61 oranında azalttığını bulmuşlardır. Manyetik alan uygulamasının kesilmesi ile birlikte enzim aktiviteleri normal düzeylerine dönmüştür. Ayrıca, manyetik alanın bu etkisinin membran bütünlüğü korunduğunda ortaya çıktığı gösterilmiştir.

Walleczek ve Budinger (82), sıçan timusu lenfositlerinde, 30 dk. süre ile uygulanan 3 Hz frekanslı 6.5 mT şiddetinde manyetik alan uygulamasının, hücreye konkalalin ile uyarılmış kalsiyum girişini azalttığını göstermişlerdir. Bu etkinin; kalsiyum sinyal yolağının aktivasyonu, hücrenin uyarılma durumuyla ve manyetik alan şiddetiyle (6.5–28 mT) ilişkili olduğunu bulmuşlardır.

Liburdy (41), 60 dk süre ile uygulanan 22 mT şiddetinde 60 Hz frekansında manyetik alanın, mitojenle uyarılmış timus lenfositlerine kalsiyum girişini artırdığını göstermiştir.

Grassi ve arkadaşları (25), 1–3 gün süre ile uygulanan 50 Hz frekanslı 1 mT şiddetinde elektromanyetik alanın, nöronlarda ve nöroendokrin hücrelerde proliferasyonu artırdığını, indüklenen apoptozu azalttığını ve bu etkilerin kalsiyum kanal blokajı ile tersine çevrildiğini göstermişlerdir. Patch-clamp yöntemi ile membrandan baryum akımının arttığını göstermişlerdir. Membrandan kalsiyum akımı artışının, plazma membranındaki voltaj kapılı kalsiyum kanal ekspresyonundaki artışa bağlı olduğunu göstermişlerdir.

Rosenspire ve arkadaşları (62), nötrofillere uyguladıkları 0.2 mT şiddetinde 0.05 Hz frekansındaki manyetik alanların, NAD(P)H konsantrasyonu, flavoprotein redoks potansiyeli, reaktif oksijen türevleri ve nitrik oksit sentezi üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. Tek bir hücreden gerçek zamanlı alınan kayıtlarda, metabolik frekansla rezonansa gelecek şekilde uygulanan manyetik alanların NAD(P)H konsantrasyonunu, reaktif oksijen türevlerini ve nitrik oksit sentezini arttırdığını göstermişlerdir. Kalsiyum ortamdan uzaklaştırıldığında bu etkilerin gözlenmediği, kalsiyumun ortama yeniden ilavesi ile tekrar ortaya çıktıkları görülmüştür. Gözlenen etkilerin manyetik alandan ziyade manyetik alanın indüklediği elektrik alanından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

McCreary ve arkadaşları (44), Jurkat hücrelerine 60 Hz frekansında 100 μ T şiddetinde osilatuar manyetik alan ile birlikte uyguladıkları 78 μ T şiddetindeki statik manyetik alanların, hiç manyetik alan uygulanmayan hücrelere göre, anti-CD3 ile uyarılan sitozolik kalsiyum konsantrasyonunda artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Bu etkinin hücrenin fazı ile bağlantılı olmadığını fakat hücrenin sinyal yollarından birinin uyarılmasıyla ilişkili olduğunu bulmuşlardır.

Gölfert ve arkadaşları (24), sıçan astrositlerindeki mikrovezikül transportuna manyetik alanların etkisini incelemişlerdir. 1 saat süre ile uygulanan 50 Hz frekansında 100 μ T şiddetinde manyetik alan, mikrovezikül taşıma hızını, manyetik alan uygulanmayan hücrelerinkine göre bariz şekilde artırmıştır. Araştırmacılar astrositlerin ısı stresine de (heat shock) benzer yanıt vermelerini göz önüne alarak elektromanyetik alanların hücre tarafından stresör bir etmen gibi algılandığını öne sürmüşlerdir.

Varani ve arkadaşları (75, 76), 90–240 dk. süre ile nötrofillere uyguladıkları 75 Hz frekanslı, 0.2-3 mT şiddetindeki pulslu manyetik alanların adenozin A₃ ve

adenozin A_{2A} reseptörlerinin yoğunluğunu ve fonksiyonunu etkilediğini göstermişlerdir.

1.2.4.1.2. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanların Trombositler ve Koagülasyon Üzerine Etkilerini Gösteren Çalışmalar

Caprani ve arkadaşları (13), endotelial hücre serilerinde prostasiklin (prostaglandin I_2 , $[PGI_2]$) ve tromboksan A_2 (TxA_2) sekresyonlarını araştırdıkları çalışmalarında, çevredeki elektrik alanından soyutlamak için 1 saat süre ile Faraday kafesi içine alınmış hücre serileri ile (50 mV/m elektrik alanı) kafes dışında tutulan (5 V/m elektrik alanı) hücre serileri arasında prostasiklin salgılanması açısından fark olduğunu bulmuşlardır. Faraday kafesinin dışında tutulan, dolayısıyla çevresel elektrik alanına maruz kalmış seride, prostasiklin salgılamasının azalmış olması, trombo-embolik riskin artmış olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Bu grup, sonraki bir çalışmalarında (14), insan umbilikal ven endotelial hücreleri üzerinde, manyetik alanların yine PGI_2 ve TxA_2 sekresyonu üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. 6 saat süreyle uygulanan, 0.2–20 μT şiddetindeki ve 200–500 ms puls genişliğindeki, 0.3–3 Hz frekanslı manyetik alanların, antiagregan (PGI_2) ve proagregan (TxA_2) ajanların sekresyonu üzerindeki etkileri, manyetik alanın frekansına, puls genişliğine ve şiddetine göre farklı bulunmuştur. Trombotik-hemorajik dengenin değişiyor olması risk olarak yorumlanmıştır.

Selmaoui ve arkadaşları (67), tüm gece boyunca 50 Hz frekanslı 10 μT şiddetindeki sürekli ve kesikli manyetik alana maruz bırakılan denekler ile kontroller arasında, hematolojik parametreler ve immün fonksiyonlar açısından bir farklılık bulunmadığını göstermişlerdir.

Vallejo ve arkadaşları (74), iki kuşaktan farelere uyguladıkları 50 Hz frekanslı 15 μ T şiddetindeki manyetik alanın etkilerini tromboelastogram ile değerlendirmişlerdir. Uzun süreli uygulanan elektromanyetik alanın erişkin dişi farelerde pıhtı oluşumunu bozduğunu göstermişlerdir.

Bildiğimiz kadarı ile literatürde, çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar ile doğrudan trombosit agregasyonunu değerlendiren bir çalışma yoktur.

1.2.5. TROMBOSİTLER

Trombositler, fizyolojik olarak kanamanın durdurulmasında (hemostaz) primer rol oynayan kan hücreleridir. İlk kez 1842 yılında, mikroskop altında farklı bir hücre olarak tanımlanmışlardır. Hemostatik tıkaçın oluşumunda temel rol oynadıkları 1885'te gösterilmiştir. 1950'lerde elektron mikroskopunun keşfi ile trombositlerin hemostazdaki ve trombozdaki rolleri hakkındaki bilgiler katlanarak artmıştır.

Trombositler, fizyolojik koşullarda kanamanın durdurulması gibi hayati görevlerde rol almakla birlikte, ateroskleroz gibi patofizyolojik koşullarda arteriyel trombüsün oluşumunda da rol oynayarak hayatı tehdit edebilirler. Yapılan son çalışmalarla trombosit fonksiyonları daha iyi anlaşılmış, inflamatuvar ve alerjik hastalıklarda, hatta kanser metastazında da rol oynadıkları ortaya konmuştur.

Trombositler, insan vücudundaki hemen hemen en küçük hücreler olup, kemik iliğinin en büyük hücreleri olan megakaryositlerin sitoplazmik parçacıklarıdır. Çekirdekleri yoktur. Dolaşımdaki kanın 1 μ l'sinde (1 mm^3) yaklaşık 150.000–400.000 trombosit bulunur. Dolaşımdaki ömürleri ortalama 10 gündür. Ömürleri boyunca herhangi bir vasküler hasara uğramamış, kanamanın durdurulmasında veya tromboz oluşumunda görev almamış trombositler, yaşam sürelerinin sonunda dalak tarafından dolaşımdan uzaklaştırılırlar (27).

1.2.5.1. Trombositlerin Yapısı ve Fonksiyonel Anatomisi

1.2.5.1.1. Işık Mikroskopisi

Wright-Giemsa boyası ile boyanmış kan yaymasında küçük, çekirdeksiz, oval veya yuvarlak şekilli olarak görünürler. Açık grimsi-mavi sitoplazmalarına homojen olarak yayılmış mor-kırmızı renkte granüller taşırlar.

1.2.5.1.2. Elektron Mikroskopisi

Trombositler elektron mikroskopunda düz, disk şeklinde, düzgün konturlu ve nadiren dikensi filopodlar taşıyan hücreler şeklinde görünürler. Yüzey bağlantılı kanaliküler sistemin, trombositin her tarafından rastgele dışa açılan invajinasyonları görülebilir. Bu kanaliküler sistem, trombosit aktive olduğunda granül içeriğinin egzosite edildiği yerdir (Şekil 6).

1.2.5.1.3. Glikokalix

En dışta trombositin saran, 15–20 nm kalınlıkta, ancak elektron mikroskopu ile görülebilen, glikoprotein, glikolipid, mukopolisakkarit ve plazma proteinleri içeren bir yapıdır. Lipid ve proteinlerindeki sialik asit rezidüleri membran yüzeyinin negatif yüklerle yüklenmesini sağlar. Bu yapı, sinyal iletimine aracılık eder. Ayrıca adhezyon ve agregasyonda görev alır.

1.2.5.1.4. Plazma Membranı

Tipik üç katmanlı membran yapısına sahiptir. Lipid çift tabakası glikolipidler, glikoproteinler ve kolesterol içerir. Ancak membran içi partiküllerin lipid katmanlarına dağılımı diğer hücrelerde olduğundan farklıdır; çoğunlukla membranın dışı bakan katmanına lokalize olmuşlardır.

1.2.5.1.5. Yüzey Bağlantılı Kanaliküler Sistem

Bu sistem *açık kanaliküler sistem* diye de adlandırılır. Sitoplazmanın her yerine yayılmış olan yılankavi bir yapıya sahiptir. Araştırmalar bu pencereci membran

sisteminin, plazma membranı ile süreklilik içinde ve dolayısıyla hücre dışı ile iletişim içinde olduğunu göstermiştir. Bu sayede trombosit yüzey alanı önemli derecede artmıştır. Trombosit madde giriş çıkışı için bir yol sağlar. Aynı zamanda, adhezyonu izleyen filopod oluşumunu destekleyen, trombositin yayılmasını güçlendiren hücre içi membran deposudur. Trombositin aktivasyonu ile birlikte trombosit yüzeyinde artan membran glikoproteinlerinin depo yeridir.

En dıştaki glikokaliks, hemen altındaki hücre membranı, hücre membranı ile bağlantılı ve dışarıya açılan yüzey bağlantılı kanaliküler sistem ve membranın hemen altında kalan bölge trombositin periferik bölgesi olarak tanımlanır. Trombositin ilk aktivasyonu ve ikincil habercilerin etkinleşmesi bu bölgede gerçekleşir.

1.2.5.1.6. Yoğun Tubuler Sistem

Yüzey bağlantılı kanaliküler sistemden farklı olan bu sistem, yaklaşık 40–60 nm çapında membranla kaplı tubullerden oluşan kapalı bir kanal sistemidir. Aslında bu yapı megakaryositin düz endoplazmik retikulumunun kalıntısıdır. Peroksidaz, glikoz-6-fosfataz, adenilat siklaz (AC), Ca ATPaz ve Mg ATPaz gibi enzimlerin bu yapı içinde bulundukları gösterilmiştir. Bu kanal sistemi hücre içi kalsiyum transportunda görevlidir. Çünkü aktivasyondan sonra çift valanslı katyonların selektif olarak bağlandığı, depolandığı ve salgılandığı yapı, bu kanal sistemidir. Ayrıca, prostaglandinler de burada sentezlenir. Trombositlerin yoğun tübüler sistemi ile yüzey bağlantılı kanaliküler sistemi, kas hücrelerinin, sırasıyla, sarkoplazmik retikulumuna ve transvers tübüler sistemine eşdeğer yapılardır.

1.2.5.1.7. Hücre İskeleti

Tüm trombosit proteininin %30-50'sini içeren hücre iskeleti temel olarak 3 yapısal bileşenden oluşmuştur.

1- Aktin mikrofilamentleri: Sitoplazmanın her yerine yayılan bir ağ oluşturmuşlardır.

2- Mikrotübüller: Trombositin periferine halkalar şeklinde yerleşmişlerdir.

3- Membran iskeleti: Plazma membranının içe bakan yüzeyinin hemen altında kısa aktin filamentlerinden oluşmuş bir ağıdır.

Bu yapılar birbirinden farklı olmakla birlikte aralarında bağlantılar vardır.

1.2.5.1.7.1. Aktin mikrofilamentleri

Trombositin hücre iskeleti aktin, miyozin ve bunlarla ilişkili proteinler içerir. Trombosit proteininin %20-30'u aktinden oluşmuştur. Aktinin iki formu vardır; G-Aktin (globüler-monomer aktin) ve F-Aktin (filament-polimer aktin). Trombosit uyarılmamış halinde iken aktin filamentlerinin %30-40'ı polimer haldedir. Monomer aktinin kararlılığı, polimerizasyonu engelleyen proteinler tarafından sağlanır. Trombositin aktivasyonu, iskeletin organizasyonunu değiştirir. Trombosit diskoid şeklini hızla kaybederek yuvarlaklaşırlar ve filopodları oluşur. Aktivasyonla polimerize aktin oranı hızla %60-70'lere yükselir. Periferdeki aktin monomerleri polimerize olurlar ve bu yeni filament yığını, gelişen filopodların içini doldurur. Miyozin hafif zincirinin fosforilasyonu, miyozinin aktine bağlanmasıyla sonuçlanır. Aktin miyozin etkileşimi sonucu oluşan kasılma kuvveti, granüllerin merkezde toplanması ve filopodların oluşması için gereklidir.

1.2.5.1.7.2. Mikrotübüller

Elektron mikroskopunda, 8-24 tubulden oluşan demetler halinde görünürler. 25 nm çapındaki mikrotübül demeti plazma membranının hemen altında yer alır fakat onunla temasta değildir. Diskoid yapının kutuplarında yer alırlar, trombositin diskoid formunu desteklerler. Uyarılmamış trombositte polimer halindedirler. Trombositin aktivasyonu mikrotübüllerin organizasyonunu bozar ve trombosit şekil değişikliği ile sonuçlanır.

1.2.5.1.7.3. Membran iskeleti

Membran iskeletinin kısa aktin filamentleri, mikrotübül halkalarıyla birlikte, plazma membranının iç yüzeyinin hemen altında uzanırlar. Trombositin diskoid şeklinin korunmasına katkıda bulundukları gibi, trombosit adhezyonu ve yayılmasında da görev alırlar. Ayrıca bu yapılar, transmembran glikoproteinlerin sitoplazmik uçları ile ilişki içindedirler ve plazma membranının hücre iskeletine tutunmasını kolaylaştırırlar. Membran glikoproteinlerinden (GP) GP IIb/IIIa ve GP Ib/IX, membran iskeletiyle ilişkili içindedir.

1.2.5.1.8. Granüller

Trombositler 4 çeşit granül içerirler.

- 1- α granüller
- 2- Yoğun cisimcikler (Dense Bodies)
- 3- Lizozomlar
- 4- Mikroperoksizomlar

α granüller ve yoğun cisimcikler morfolojik olarak farklıdır ve elektron mikroskopunda ayırt edilebilirler. Oysa lizozom ve mikroperoksizomların görülebilmesi için sitokimyasal enzimlerle boyanmaları gerekir. Trombositin bir uyarıcı ajanla uyarılmasını takiben granüller, yüzey bağlantılı kanaliküler sistemin kanallarıyla birleşirler ve içeriklerini bu kanallara boşaltırlar.

1.2.5.1.8.1. α Granüller

Baskın granül tipidir. Genellikle yuvarlak veya oval biçimlidirler ve çapları 300–500 nm arasındadır. α granüller elektron mikroskopunda morfolojik olarak 3 farklı bölgeye ayrılırlar. Bu farklı bölgelerde yer alan proteinler, çeşitli yöntemlerle tam olarak lokalize edilebilmişlerdir.

- Granül matrisinde **proteoglikanlar** (platelet faktör 4, β tromboglobulin), **adhesiv glikoproteinler** (von Willebrand Faktör [vWF], fibronektin, vitronektin, trombospondin), **hemostaz faktörleri** (Fibrinojen, Faktör V [F V], F VIII, F XI, F XIII, kininojenler, plazminojen, protein S), **hücrel mitojenler** (Platelet-derived growth factor [PDGF], Transforming growth factor β [TGF β], Epidermal growth factor [EGF], interlekin β , vb), **proteaz inhibitörleri** (α 2-macroglobulin, α 2-antitrypsin, α 2-antiplasmin, plazminojen aktivator inhibitör 1 [PAI1], C1 inhibitor), **immünoglobulinler** (IgG, IgA, IgM) ve **albumin** bulunur.
- Granül membranında **GTP bağlayan proteinler** (rab4, GMP-33, Rap I), **reseptörler ve antijenler** (GP Ib/IX, GP IIb/IIIa, GP IV, P-selektin, Osteonektin, CD 9, PECAM-1) bulunur.

1.2.5.1.8.2. Yoğun cisimcikler

Öküz gözü (bull's eye) diye de adlandırılan bu cisimcikler, çapları 200–300 nm olan, koyu bir merkezi alan ve bunun çevresinde açık bir hale şeklinde görülen yapılardır. Her trombositte bunlardan yaklaşık 5 adet bulunur. Trombositin en elektron yoğun organelleridir. Temel içerikleri **adenin nükleotidleridir** (ADP ve ATP'nin nonmetabolik havuzu). ADP daha çoktur. Ayrıca **GTP, GDP, pirofosfat, kalsiyum, magnezyum, histamin ve serotonin** de içerirler. Membranında **GTP bağlayan protein** (Rap I), **GP Ib, GP IIb/IIIa, P-selektin** ve **granülofizin** de bulunur.

1.2.5.1.8.3. Lizozomlar

175–200 nm çaplı ufak veziküllerdir. pH 3.5 ile 5.5 arasında aktif olarak çalışan **asithidrolazları** ve **glikohidrolazları** içeren yegane yapılardır. Trombositin aktivasyonunu takiben içeriklerinin salınımı α granüllere ve yoğun cisimciklere göre yavaş ve tam değildir. Salınımları için kollajen veya trombin gibi çok güçlü uyarıcı ajanlara ihtiyaçları vardır. Hemostatik cevaptan öte liziste görev alırlar.

1.2.5.1.8.4. Mikroperoksizomlar

90 nm çaplı ufak gran llerdir. Sayıları azdır. Hidrojen peroksiti parçalayan **katalazi** içerirler.

1.2.5.1.8.5. Coated (“zırhlı”) veziküller

70–90 nm çaplı, orta derecede elektron yoğunluğuna sahip ve kendine özgü membranları olan yapılardır. Bu veziküllerin membranlarının, plazma membranında ve yüzey bağlantılı kanaliküler sistemin membranının da var olduğu bazı yöntemlerle gösterilmiştir. Bu veziküller, **plazma içeriğini** plazmadan granüllere taşırlar. Trombositlerin ADP ile uyarılmaları sayılarını arttırır.

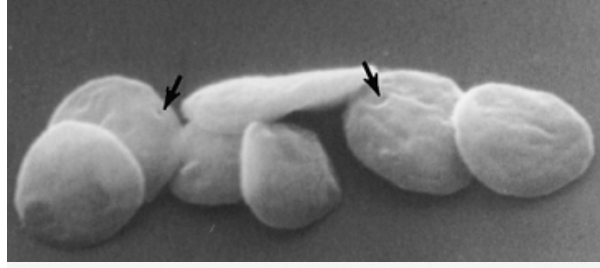
1.2.5.1.9. Mitokondri

Diğer h credekilerden tek farkları küçük olmalarıdır. Bir trombositte 7 adet dolayında mitokondriyon bulunur. Elektron taşıma zinciri ve sitrik asit sikl s  reaksiyonlarının yer aldığı, enerji üretim merkezidir.

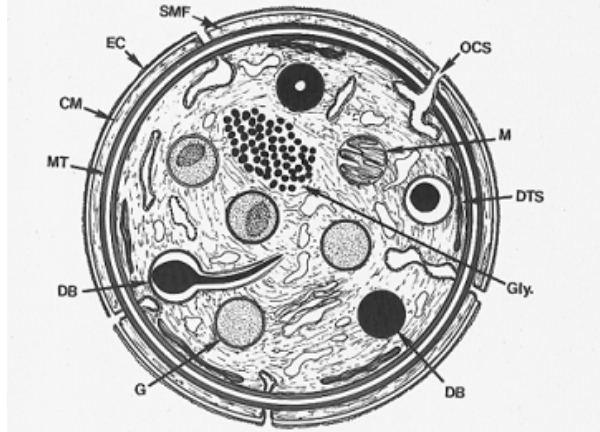
1.2.5.1.10. Glikojen

Trobositlerde küçük glikojen partikülleri veya glikojenle ilgili birbirine yakın partikül kitleleri bulunur. Bunlar metabolizmada rol oynarlar (26).

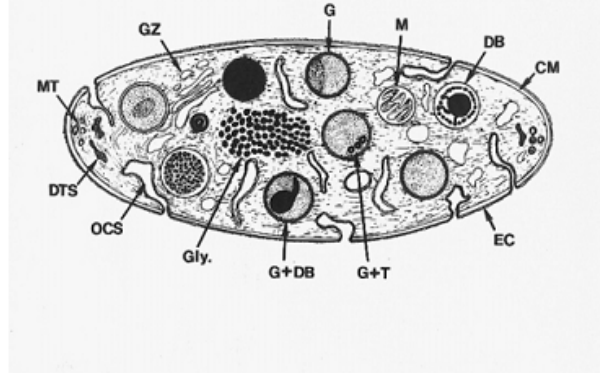
a



b



c



Şekil 6: (a) Aktive olmamış, diskoid biçimdeki trombositlerin tarayıcı elektron mikroskobu ile mikrografi. Oklar yüzey bağlantılı kanaliküler sistemin dışa açıldığı yerleri göstermektedir. (b) Diskoid haldeki bir trombositin tam ortasından enine kesitinin şematik çizimi. (c) Diskoid haldeki bir trombositin tam ortasından dikine kesitinin şematik çizimi. [EC: Exterior coat (Glikokalix); CM: Cellular membrane (Hücre membranı); SMF: Submembrane filaments (Membran iskeleti); CS: Surface-connected canalicular system (Yüzey bağlantılı kanaliküler sistem); DTS: Dense tubular system (Yoğun tubuler sistem); MT: Microtubules (Mikrotubuller); Gly: Glycogen (Glikojen); M: Mitochondria (Mitokondri); G: Granules (Granüller); DB: Dense bodies (Yoğun cisimcikler); GZ: Golgi Zone (Golgi cisimciği); G+T: Granüler tubul].

(Platelets, in Thrombotic and Non-thrombotic Disorders: Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics. Eds: Paolo Gesele, Clive P. Page, Valentin Fuster, Jos Vermynen. Cambridge University Press, 2002.)

1.2.5.1.11. Membran glikoproteinleri

Genellikle reseptör görevi gören integral membran proteinleridir.

1.2.5.1.11.1. *GP IIb/IIIa*

Trombosit hücre membranının başlıca reseptörüdür. Esas olarak fibrinojen reseptörü olup, vWF, fibronektin ve vitronektini de bağlayabilir. GP IIb/IIIa kompleksleri adhezyon ve agregasyonda görev alırlar. Uyarılmamış trombositin hücre membranında yaklaşık 40.000–80.000 reseptör vardır. Hücre içi havuzdaki 20.000–40.000 reseptör ise α granülleri ile yüzey bağlantılı kanaliküler sistem membranlarında yer alır. Trombosit uyarıldığında GP IIb/IIIa konformasyonel değişikliğe uğrar. Bu değişiklik sonucu trombositler fibrinojen ve vWF'le daha güçlü bağlanır. Birbirine yakın trombositlerin GP IIb/IIIa'ları arasında kurulan fibrin çapraz köprüleri sayesinde agregasyon gerçekleşir.

1.2.5.1.11.2. *GP Ib/IX*

Trombosit ile vWF arasındaki etkileşime aracılık eder ve adhezyonun ilk aşamasında rol alır. GP Ib/IX'un fonksiyonunu tam olarak yapabilmesi için GP V ile nonkovalent bir kompleks oluşturması gerekir (GP Ib/IX/V).

1.2.5.1.11.3. *GP Ia/IIa, GP IV, GP VI*

Kollajen reseptörleridir. Özellikle adhezyonda ve kollajenle trombositin aktive olmasında görevlidirler.

GP Ic/IIa, $\alpha_v\beta_3$ gibi membran glikoproteinleri de bulunmaktadır. Laminin, fibronektin, fibrinojen, vitronektin, osteopontin gibi subendotelyal doku ve granül içeriğinde bulunan maddelerin trombositlerle etkileşimlerinde aracılık ederler. Özellikle adhezyonda görevlidirler (27).

1.2.5.2. Trombosit Adhezyonu, Aktivasyonu ve Agregasyonu

Trombositlerin ve koagülasyon faktörlerinin, vasküler hasar bölgesinden kan kaybının durdurulması için pıhtıyı oluşturmaları ve kanama durduktan sonra o bölgede kanlanmanın tekrar başlaması için pıhtının çözünmesini sağlamaları, çok özelleşmiş bir dizi süreç sonucu gerçekleşir. Vasküler hasar bölgesinde önce vazokonstriksiyon olur. Kan akımıyla hasar bölgesine gelen trombositler o bölgeye yapışırlar. Hasarlı bölgede artan trombosit uyarıcı ajanların ve aktive olan koagülasyon faktörlerinin de etkisiyle trombositler aktive olur ve fibrin köprüleriyle bir araya gelerek agregalar oluştururlar. Mekanik bir tıkaç olan pıhtı kanın damar dışına çıkmasını önler. Hasarlı damar duvarının iyileşme sürecine de katkıda bulunan pıhtı, hasarın tamiri ile birlikte çözünür ve kan akımı tekrar sağlanır.

Trombositlerin vasküler hasar bölgesine yapışmaları ve aktive olmaları, birçok uyarıcı ajana ve olaya bağlıdır. Öncelikle vasküler endotelin hasarı ile açığa çıkan subendotelyal doku ve vWF aracılığı ile trombositler hasar bölgesine yapışırlar (adhezyon). Bu ilk temasta esas rolü oynayan faktör GP Ib/IX/V ile vWF arasındaki etkileşimdir. Ayrıca GP Ia/IIa - kollajen, GP Ic/IIa - fibronektin, GP Ic'/IIa - laminin, GP IV - kollajen etkileşimleri de adhezyonda rol alır. Böylece trombositler vasküler hasar bölgesini örten yapışık, tek katlı bir tabaka oluştururlar. Trombositlerin vasküler hasar bölgesine yapışmaları ve aktivasyonun başlamasıyla birlikte o bölgede yoğunlaşan uyarıcı ajanlar (kollajen, trombin, ADP, serotonin, epinefrin, TxA₂, trombosit aktive edici faktör [PAF]) spesifik reseptörleri üzerinden trombositleri uyarırlar ve agregasyona katkıda bulunurlar. Şekil değiştiren ve granül içerikleri ile sentezledikleri TxA₂ ve PAF gibi maddeleri salgılayan trombositler agregalar oluştururlar. Agregasyon hücre membranındaki fibrinojen reseptörlerinin aktivasyonu ile gerçekleşen fibrinojene bağımlı bir hücreler arası adhezyon olayıdır.

Uyarıcı ajanların trombositler üzerindeki reseptörleri, çoğunlukla G protein bağlantılı reseptör ailesindendir. Reseptörlerin özgülüğüne bağlı olarak G proteinlerin farklı alt tipleri uyarılır ve trombosit farklı hücre içi yollar üzerinden aktive olur. Aynı zamanda iyon kanallarına bağlı iyonotropik reseptörleri olan ajanlar da vardır. Bunlar çoğunlukla kalsiyum kanallarını aktive ederek hücre içine hızlı kalsiyum girişini sağlarlar.

Uyarıcı ajanın G protein bağlayan reseptörünü uyarması ile birlikte G_i ve G_z proteinlerin α alt birimleri, trombosit membranının iç yüzeyinde yer alan adenilat siklazı (AC) inhibe ederek, trombosit içi siklik adenosin monofosfat (cAMP) konsantrasyonunu düşürür. cAMP bağımlı protein kinazların inhibe olması sonucu spesifik sinyal proteinlerinin fosforilasyonu engellenir ve trombosit aktive olur. Bu spesifik sinyal proteinlerinin en önemlilerinden biri “vazodilatasyon ile uyarılan fosfoprotein”dir (Vasodilator-stimulated phosphoprotein [VASP]). Prolinden zengin protein ailesinin bir üyesi ve hücre iskeleti ile ilişkili bir protein olan VASP, aktif haldeyken fibrinojen reseptörlerinin (GP IIb/IIIa) trombosit membranında ekspresyonuna aracılık eder. Endotel kaynaklı siklik nükleotid (cAMP, cGMP) arttırıcı vazoaktif ajanların (EDRF, PGI_2 , PGD_2) trombosit aktivasyonunu baskıladıkları bilinmekte ve bu etkilerini VASP fosforilasyonunu arttırarak oluşturdukları ileri sürülmektedir.

G_q proteini α alt birimlerinin uyarılması ile fosfolipaz C β (PLC_β) aktive olur ve trombosit membranındaki fosfoinositol 4-5 difosfat’tan (PIP_2) IP_3 ve diaçilgliserol (DAG) sentezlenir. IP_3 üzerinden hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması ve DAG üzerinden PKC’nin uyarılması da trombosit aktivasyonuna yol açar.

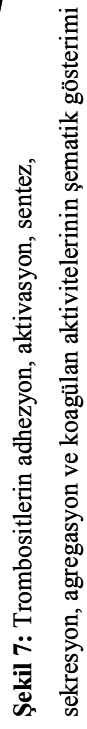
Trombosit içi kalsiyum konsantrasyonunun artması miyozin hafif zincir kinazı aktive eder; miyozin hafif zincirlerinin fosforile olması trombositte şekil

değişikliğine yol açar. Granüller merkezde toplanır, psödopodik uzantılar oluşur ve ardından sekresyon gerçekleşir. Kalsiyumun fosfolipaz A₂'yi aktive etmesi ile hücre membranı fosfolipitlerinden araşidonik asit (AA) sentezlenir. AA'ten siklooksijenaz ve tromboksan sentaz enzimlerinin katalizi ile güçlü bir uyarıcı ajan olan TxA₂ sentezi gerçekleşir. Aynı zamanda membran fosfolipitlerinden PAF sentezi de olur. Trombosit α ve yoğun granüllerinin ve sentezlenen TxA₂ ve PAF'ın sekresyonu sonucu trombositler daha da uyarılırlar.

PKC, P47 proteinini fosforile eder. Bu proteinin aktive olması, fibrinojen reseptörlerinin hücre membranına ekspresyonuna ve sekresyona katkıda bulunur.

Trombosit aktivasyonu ilerlerken hücre membranında bulunan F V ve F IX reseptörleri de aktif hale geçer. Plazmada bulunan veya granül sekresyonuyla açığa çıkan F IX'u bağlayıp aktif hale getiren F IX reseptörü *Tenaz* kompleksinin oluşumunu sağlar. **F IXa**, **F VIIIa** ve **kalsiyum**dan oluşan Tenaz kompleksi F X'u aktif hale getirir. Reseptörüne bağlanıp aktif hale gelen **F Va**, Tenaz kompleksinin aktifleştirdiği **F Xa**, ve **kalsiyum**dan oluşan *Protrombinaz* kompleksi de protrombini trombine çevirir. Sonuçta oluşan trombin bir yandan koagülasyon mekanizmasının son ürünü olan fibrini meydana getirirken, bir yandan da güçlü bir trombosit uyarıcı ajan olarak görev yapar (30).

Şekil 7'de özetlenen bu karmaşık aktivasyon mekanizmalarının sonucu olarak trombosit agregasyonu meydana gelir, koagülasyon mekanizması aktive olur ve hemostatik tıkaç (pıhtı) oluşur.



1.2.5.3. Trombositlerin ADP, Kollajen ve Epinefrin ile Uyarılması

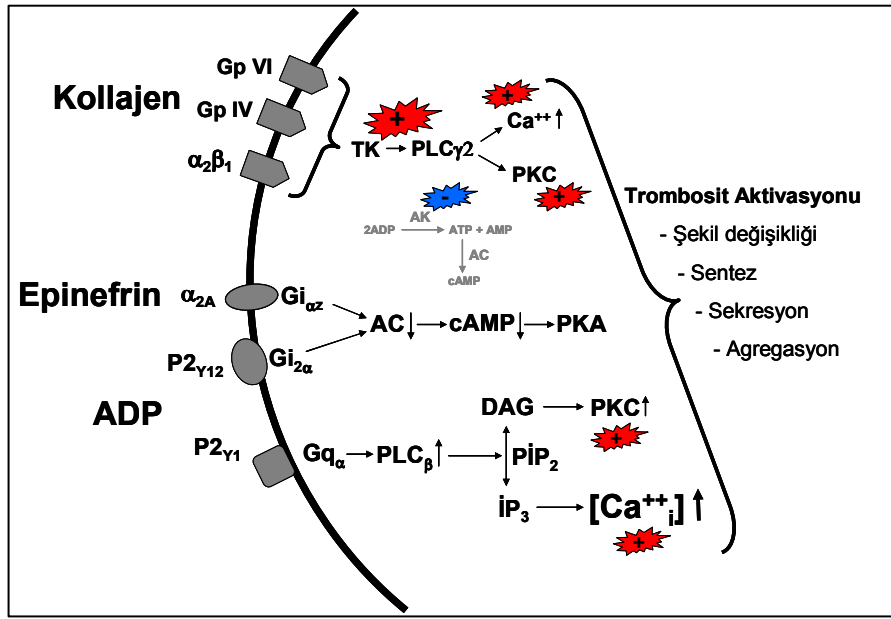
Adenin nükleotidleri (ATP, ADP, AMP) P2 reseptörleri ile etkileşirler. Endotel, epitel, sinir, düz kas ve kan hücreleri gibi birçok hücrede P2 reseptörlerinin çeşitli alt tipleri bulunur. Bunlar P2Y ve P2X olarak başlıca iki sınıfta toplanır. P2Y reseptörleri, G proteini bağlayan *metabotropik* reseptörlerdir. P2X reseptörleri ise ligand kapılı *iyonotropik* reseptörlerdir. Trombositlerde ADP reseptörlerinden biri olan P2Y₁ reseptörleri, G proteinin Gα_q birimini aktive ederek, PLCβ'nın aktifleşmesini sağlar. ADP P2Y₁₂ reseptörleri ise G proteinin Gα_{i2} alt birimini aktive ederek, AC'nin inhibe olmasını sağlar (Şekil 8). P2X₁ reseptörleri önceden ADP reseptörü olarak tanımlanmaktaydı. Ancak son zamanlarda bunların ATP reseptörü oldukları gösterilmiştir. ATP'nin bu reseptöre bağlanması ile birlikte kalsiyum kanalı açılarak hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasına katkıda bulunur.

Trombositin ADP ile uyarılmasında P2Y₁ ve P2Y₁₂ reseptörlerinin birlikte aktive olmaları gerekir. P2Y₁ reseptörlerinin uyarılması ile trombositte şekil değişikliği ve agregasyon meydana gelir. P2Y₁₂ reseptörlerinin uyarılması tam bir agregasyon oluşturmazsa da diğer uyarıcıların düşük konsantrasyonda meydana getirdikleri agregasyonu pekiştirdiği ve sekresyonu sağladığı saptanmıştır.

Kollajen vücutta en bol bulunan proteinlerden biri olduğu gibi, damar duvarının da başlıca bileşenidir. Hasar alanından yayılan, subendotel dokunun en önemli trombotik etkenidir. Güçlü bir trombosit uyarıcı ajandır.

Trombosit membranının kollajen reseptörleri GP Ia/IIa (α₂β₁), GP VI, GP IV'dır. Bu reseptörler sinyallerini genellikle tirozin kinazları aktive ederek iletirler. Aktif hale gelen tirozin kinazlar PLCγ₂'yi aktive ederek hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasını ve PKC'nin aktive olmasını sağlar (Şekil 8).

Epinefrin trombosit agregasyonunu aktive eden zayıf uyarıcı ajanlardan biridir. Epinefrin trombosit membranındaki α_{2A} adrenerjik reseptörleri üzerinden $G_{i\alpha z}$ proteinini aktive eder, bu da AC'ı inhibe eder. AC'ın inhibe olması ile cAMP azalır ve trombosit aktive olur (Şekil 8). Epinefrinin AC'ı inhibe etmesinin yanı sıra, TxA_2 sentezini uyardığı, dolaylı olarak PLC'yi aktive ettiği ve sekresyona yol açtığı da bilinmektedir (27, 30, 47).



Şekil 8: Trombositin ADP, kollajen ve epinefrin üzerinden aktivasyonu. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların başka hücreler üzerinde gözlenen etkileri.

(+, $\uparrow$: Aktivasyon; -, $\downarrow$: İnhibisyon)

1.2.6. OPTİK AGREGOMETRELER

Laboratuvarlarda trombosit fonksiyonlarını değerlendirmekte kullanılan birçok yöntem vardır. Bunlar içinde optik agregometreler tarihsel olarak ilk icat edilenlerdendir. Gustav Born'un 1960'lı yılların başındaki agregasyon çalışmaları 1962 yılında ilk agregometrenin yapılması ile sonuçlanmıştır. Bu agregometreye Born

Optik agregometreler, modifiye edilmiş spektrofotometrik cihazlardır. Sistem, trombositçe fakir plazmanın ışık geçirgenliğini (transmitans) %100, trombositçe zengin plazmanın ışık geçirgenliğini %0 gösterecek şekilde kalibre edilir. Trombositçe zengin plazma belirli bir hızda karıştırılırken uyarıcı ajan ilave edilir. Uyarıcı ajanın etkisiyle trombositler aktive olur ve birbirlerine yapışarak agregalar oluştururlar. Oluşan agregalar çöker ve sonuç olarak ortamın ışık geçirgenliği artar. Işık geçirgenliğindeki bu artış trombosit agregasyonunun bir ölçüsüdür (Şekil 9) (33).



1.3. HİPOTEZ

Trombositler; yapıları, fonksiyonları, reseptörleri ve hücre içi ikincil haberci yolları iyi tanımlanmış hücrelerdir. Optik agregometreler ile agregasyon fonksiyonları çok iyi bir şekilde değerlendirilebilir.

Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu arttırdıkları, PKC'yi aktive ettikleri ve adenilat kinazı inhibe ettikleri önceki çalışmalarda gösterilmiştir.

Trombosit aktivasyonu hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasıyla, PLC'nin aktivasyonu ve AC'nin inhibisyonu ile sağlanmaktadır. PLC'nin PKC'yi aktive ettiği ve adenilat kinaz'ın adenin nükleotidleri üzerinde etkili olduğu düşünülürse, çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların trombositleri aktive edici etkiye sahip olabilecekleri öne sürülebilir (Şekil 8). Ayrıca, elektromanyetik alanların hücreleri hangi mekanizmalar üzerinden etkiledikleri hususu, trombositlerde reseptörleri ve ikinci haberci sistemleri iyi bilinen uyarıcı ajanlar kullanılarak araştırılabilir. Bu çalışmada bu konular araştırılmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ege üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'nun 06.05.2008 tarihli ve 07-7.1/14 sayılı onayı ile Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'nde yer alan, "İnsan Bireylerle İlgili Tıbbi Araştırmalar için Etik İlkeler" dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız, yalnızca laboratuvar materyali kullanılarak yapılmış deneysel bir çalışmadır. Deneyler, 2009 Ocak-Nisan dönemi ve 2009 Eylül ayında, Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yapılmıştır.

2.1. Denekler

Deneyler, 19-51 yaşları arasında, (ortalama yaş: 34.4 yıl) sağlıklı 80 denekten alınan kan örnekleri üzerinde yapıldı. Denekler, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim elemanı, öğrencisi, personeli ve yakınları olup, araştırma hakkında bilgilendirildikten sonra yazılı onayları alınarak çalışmaya dâhil edildiler. Kişisel ve aile hikâyesinde herhangi bir kanamalı durum veya hastalık olanlar, son 10 gün içinde trombositleri etkilediği bilinen herhangi bir ilaç (aspirin, non-steroid antiinflatuar ilaçlar, antibiyotik, antihistaminik veya antidepresanlar) alanlar, son 2 gün içinde alkol almış olanlar, sigara içenler ve akut enfeksiyon geçirenler çalışmaya dâhil edilmedi.

2.2. Antikoagülanlı Tüplerin Hazırlanması

2.2.1. Heparinli tüpler

25000 U/5 ml intravenöz enjeksiyonluk heparin içeren flakondan (Héparine sodique Panpharma, PANPHARMA S.A. France), insülin enjektörü ile 0.01 ml (50 U) heparin çekilerek, 10 ml'lik vacutainerlı tüpe kondu. Deneklerden kan alındığında 5 U/ml heparinle koagülasyonu önlenmiş tam kan örnekleri elde edildi.

2.2.2. Sitrathlı tüpler

Molekül ağırlığı 294.10 g/mol olan tri-Sodium citrate dihydrate (MERCK, Germany) tuzundan 0.106 M'lık (%3.116) 500 ml çözelti hazırlandı (15.58 g tuz, distile suda çözündürülerek 500 ml'ye tamamlandı). Bu çözeltiden insülin enjektörü ile 1 ml alınarak 10 ml'lik vacutainerlı tüpe kondu. Deneklerden kan alındığında (sitrath/kan: 1/9) 0.0106 M sitrathla koagülasyonu önlenmiş tam kan örnekleri elde edildi.

2.3. Kan Örneklerinin Alınması

Deneklerin kan örnekleri sabah 08.30–10.00 arası, aç karnına, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji Kliniği Kan Alma odasında, kan almada görevli hemşireler tarafından, daha önce hazırlamış olduğumuz heparinli veya sitrathlı tüplere alındı. Her gün tek bir denekten alınan kan örneği üzerinde çalışıldı. Kan alma işleminden önce deneğin sakin ve dinlenmiş olmasına dikkat edildi. Kan antecubital venden 21 G iğne kullanılarak alındı. Her denekten 4 tüp (yaklaşık 40 ml) kan alındı.

2.4. Trombositçe Zengin ve Fakir Plazmaların Hazırlanması

Her denekten alınan 4 tüp kan 50 ml'lik büyük bir tüpe boşaltıldıktan sonra tüp 3 kez alt üst edildi. Karışmış kan 4 santrifuj tüpüne paylaştırılıp, 10 dk. süre ile 200 G'de santrifuj edildi. Her tüpte üstte kalan trombositçe zengin plazma (TZP) kısımları pipetle çekilerek tek bir tüpte toplandı. Tüp alt üst edildikten sonra iki eşit kısma ayrıldı. Biri manyetik alan (MA), diğeri kontrol (K) olarak işaretlendi. Tüplerin ağzları parafilm ile kapatıldı. TZP'ler alındıktan sonra altta kalan sediment 2000 G'de 15 dk. daha santrifuj edildi. Bu kez üstte kalan plazma trombositçe fakir plazma (TFP) olup, agregometre kalibrasyonunda kullanılmak üzere ayrı bir tüp içine alındı.

2.5. Manyetik Alanın Uygulanması

Manyetik alan, özel olarak yaptırılmış Helmholtz bobinde uygulandı (AYGEM Plastik ve Elektrik San. ve Tic. Ltd. Şti. İzmir, Türkiye). Helmholtz bobini, kontrplaktan yapılmış dairesel karkas üzerine, 2 mm çaplı bakır telden, bobin başına 350 sarım içerecek şekilde imal edildi. Bobinler arası uzaklık 272 mm, bobin yarıçapı 279 mm idi. Yukarıdaki değerler Helmholtz bobinde manyetik akı yoğunluğunu veren formülde yerlerine konduğunda, B için:

$$B = 8.99 \times 10^{-7} \frac{N \cdot I}{r}$$

$$\begin{aligned} B &= 8.99 \times 10^{-7} \times 350 \times I / 0.279 \\ &= 1.128 \times 10^{-3} \times I \text{ (T)} \\ &= 1.128 \times I \text{ (mT)} \end{aligned}$$

bulunmuştur. Bu teorik değer laboratuvarında yapılan manyetik akı ölçümleri ile doğrulanmıştır. Bobinleri seri veya paralel bağlayarak, doğru akım kaynağından (statik) veya varyaktan (50 Hz) sabit akım uygulanarak ölçülen manyetik akı yoğunlukları Tablo 3'te verilmiştir. Ölçümler, TZP örneklerinin yerleştirildiği bobin merkezinden F.W. BELL 5180® Hall Effect gaussmetresi ile yapılmıştır.

Manyetik alan grubu TZP örneklerine 1.5 saat süre ile 1 mT veya 1 saat süre ile 6 mT şiddetinde 50 Hz frekanslı manyetik alan uygulandı. Kontrol grubu TZP örnekleri laboratuvarın bobinlerden uzak bir konumunda aynı süre ile bekletildi. Kontrol grubunun bulunduğu bölgede manyetik akı yoğunlukları, maksimum 0.15 mT DC ve 0.21 mT AC, minimum 0.05 mT DC ve 0.12 mT AC olarak ölçüldü.

Tablo 3: Helmholtz bobin çiftinin birbirine seri veya paralel bağlı durumlarında uygulanan doğru akım (statik) veya 50 Hz alternatif akım için ölçülen manyetik akı yoğunlukları.

Akım (I) [A]	Manyetik Akı Yoğunluğu (B) [mT]			
	Seri		Paralel	
	Statik	50 Hz	Statik	50 Hz
0.9		1.00		
1	1.16	1.27	0.64	0.63
2	2.36	2.29	1.23	1.18
3	3.50	-	1.76	1.75
4	4.59	-	2.34	2.26
4.5 / 5	5.14	-	2.89	2.84
10				5.63
10.4				6.00

2.6. Örneklerin gruplandırılması

İki farklı antikoagülan madde ile alınan kan örnekleri ve iki farklı şiddette uygulanan manyetik alan ile dört deney grubu oluşturulmuştur. Her deney grubunun manyetik alan uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) TZP örnekleri Tablo 4'deki gibi isimlendirilmiş ve sınıflandırılmıştır.

Tablo 4: Örnek grupları.

	1 mT-Heparin	1 mT-Sitrat	6 mT-Heparin	6 mT-Sitrat	Toplam
Denek sayısı (n)	30	30	10	10	80
♀ / ♂	17 / 13	14 / 16	4 / 6	5 / 5	40 / 40
Yaş (ort ± ss) (min-mak)	34.9 ± 7.9 (20-48)	33.1 ± 6.7 (19-51)	32.3 ± 6.2 (22-43)	35.2 ± 6.5 (24-49)	34.0 ± 7.1 (19-51)

Manyetik alan uygulama süresince, MA ve K TZP örneklerinin çevresinden sıcaklık ölçümleri de yapılmıştır (Digital Thermometer TPM-10). Sıcaklık ölçümlerinin ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri Tablo 5’te verilmiştir. Son sıcaklıklar ile ilk sıcaklıklar arasındaki farkların ortalaması 1 mT MA grubu için 0.1 C°, kontrol grubu için -0.2 C°, 6 mT MA grubu için 2.0 C°, kontrol grubu için 0.2 C° bulunmuştur. 6 mT MA grubunda son ile ilk sıcaklıklar arasındaki maksimum fark 3.6 C°’ı geçmese de (22.1–18.5), süre uzadıkça sıcaklık farkı arttığından, bu grupta manyetik alan uygulaması 1 saat ile sınırlandırılmıştır.

Tablo 5: Manyetik alan ve kontrol gruplarının, manyetik alan uygulamasının başında ve sonunda ölçülen sıcaklık değerleri. (Ort ± ss, min–mak)

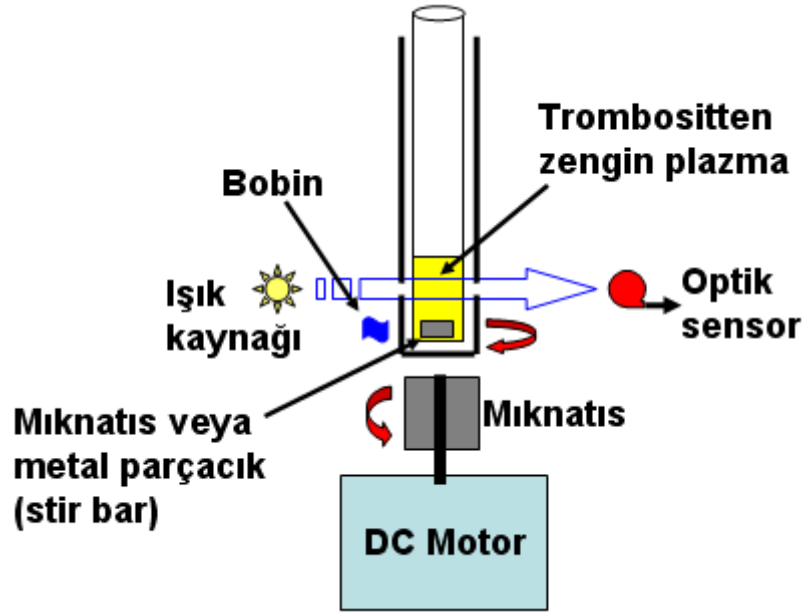
Koşul	Sıcaklıklar (°C)	
	1 mT MA	K
İlk	21.4 ± 1.2 (18.7–23.6)	21.3 ± 1.2 (18.3–23.5)
Son	21.5 ± 1.1 (18.4–24.5)	21.1 ± 1.1 (18.3–23.5)
	6 mT MA	K
İlk	20.2 ± 0.8 (18.5–21.7)	20.2 ± 0.6 (18.4–20.9)
Son	22.2 ± 0.6 (20.6–23.2)	20.4 ± 0.6 (19.2–21.7)

2.7. Agregasyonun Değerlendirilmesi

Agregasyon ölçümü Platelet Aggregation Profiler® PAP-4CD (BIO/DATA CORPORATION, USA) optik agregometre cihazında yapıldı.

Standart agregometrelerde agregometre küvetine yerleştirilen TZP örnekleri bir manyetik karıştırıcı ile karıştırılır. TZP tüpünün içine, laboratuvarlarda balık diye

de adlandırılan küçük bir çubuk mıknatıs veya metal parçacık (stirrer bar) konur. Küvetin altında bir DC motoruna monte edilmiş ikinci bir mıknatıs vardır. Bu mıknatıs döndükçe tüpün içindeki çubuk mıknatısı da döndürür. Dönen çubuk mıknatıs TZP örneğini karıştırır (Şekil 10).



Şekil 10: Genel olarak agregometrelerde TZP örneğinin karıştırılması için kullanılan manyetik düzenek. TZP örneğinin içine atılan çubuk mıknatıs, alttaki DC motorun üzerindeki başka bir mıknatıs ile döndürülür.

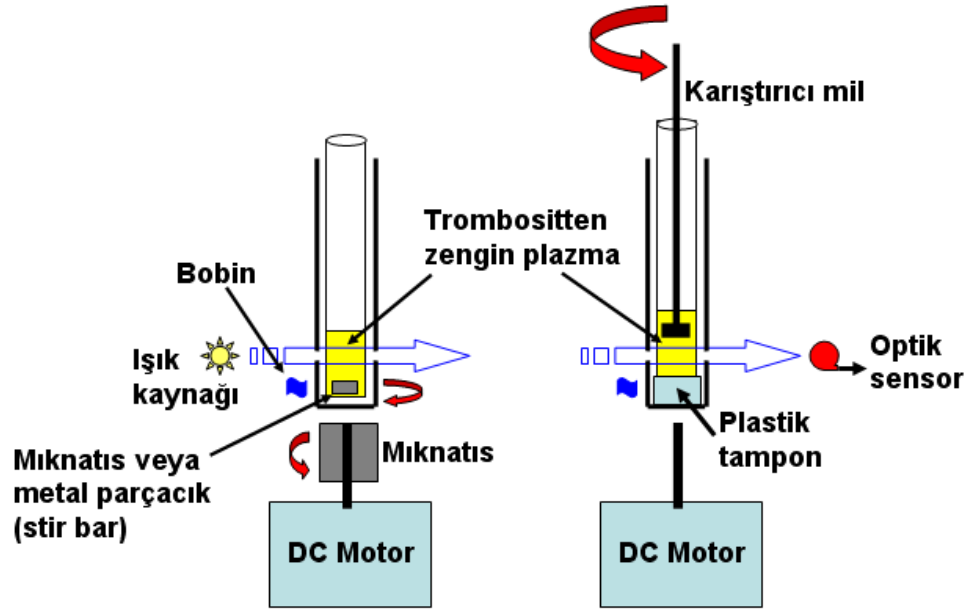
Çalışmamızda kullanılan agregometrede, TZP içine konan ve DC motoruna monte edilmiş silindirik mıknatısların maksimum manyetik akı yoğunlukları sırasıyla, uçlarda 65–75 mT, yan yüzeylerde 15–25 mT olarak ölçülmüştür. Bu değerler bizim etkisini gözlemek istediğimiz akı değerlerinin (1–6 mT) çok üstündedir, yani cihazın kendisinin ürettiği manyetik alan test için dışarıdan

uygulanan alanlardan çok daha büyüktür. Bu durumda eğer agregasyon üzerinde herhangi bir manyetik alan etkisi varsa bile bu, cihazın ürettiği manyetik alan tarafından maskelenecektir.

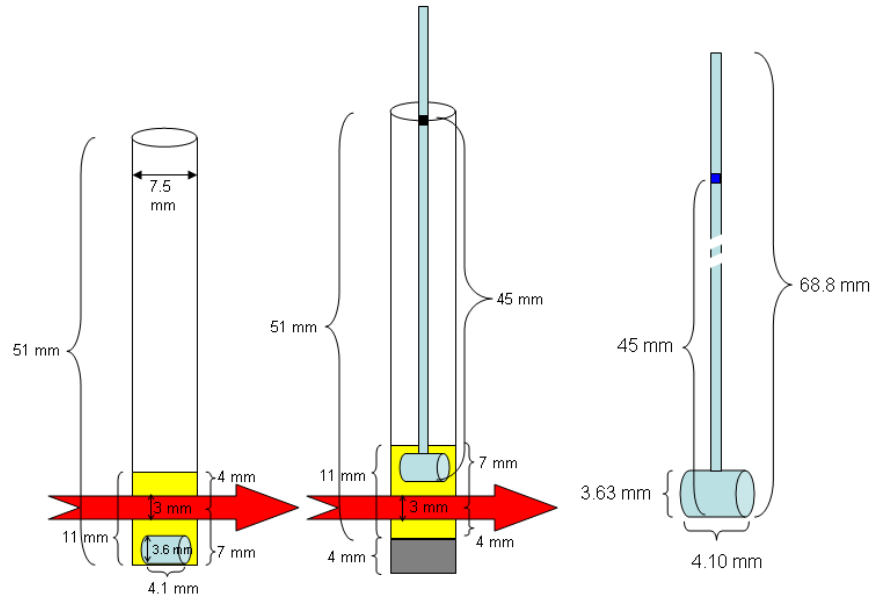
Bu nedenle bu çalışma için, agregometre cihazı modifiye edilerek manyetik karıştırıcıyı devre dışı bırakan mekanik bir karıştırıcı imal edildi ve kullanıldı. Bunun için cihaz üzerine hem yatay hem düşey doğrultuda hareket edebilen bir platform monte edildi. Platform üzerine de iki mil yatağı sabitlendi. Mil yatakları ince lastik bir kayışla, hızı ayarlanabilen bir DC motor miline kenetlendi. Mil yataklarından birinin dönen parçasına bir optik sayaç yerleştirilerek, milin dakikadaki devir sayısı sürekli olarak LCD ekranda görüntülendi. Karıştırıcının mekanik ve elektronik aksamı BAU Otomasyon Şirketi ile ortak çalışmalarla yapıldı. Miller kendi kurumumuzun atölyelerinde imal edildi. Mil uçlarına cihazın orijinal karıştırıcı çubuk mıknatısları ile aynı boyutlarda, mıknatıslanmayan krom malzemeden yapılmış parçalar kaynatıldı. Daha sonra miller saydam koruyucu kaplama spreyi (3M Scotch® 1601, Germany) ile kaplandı. Karıştırıcı milinin örnek küvetine gelen ışığı kesmemesi için mil küvet içine belli bir derinliğe kadar batırıldı. Ayrıca, aynı amaçla örnek tüpü agregometre tabanına yerleştirilen plastik bir tamponla 4 mm yükseltildi. Agregometrenin mekanik karıştırıcı ile kullanılacak 1. ve 2. kanallarına ait DC motorlar üzerindeki mıknatıslar çıkarıldı. Modifiye edilmiş agregometrenin fotoğrafı ve şematik çizimleri Şekil 11, 12 ve 13'te gösterilmiştir.



Şekil 11: Standart agregometrenin modifiye edilmiş hali. TZP örneğini karıştırma işlemi, agregometrenin üzerine yerleştirilmiş yatay ve düşey hareketli platforma sabitlenmiş DC motor ve ona kenetli millerle sağlanır. Mekanik karıştırıcı milinin, açısal hızı devir/dk olarak bir LCD ekranda görüntülenir.



Şekil 12: Standart agregometrenin ve bu çalışma için modifiye edilmiş halinin şematik diyagramı.



Şekil 13: Standart agregometre kuvetlerinin ve mıknatıslarının değiştirilen kısımları ve yeni karıştırıcı millerin boyutları.

Bu şekilde modifiye edilmiş bir agregometrede TZP örneğinin içinde karıştırıcı çubuk mıknatıs bulunmadığından cihaz ölçme moduna geçmez. Çünkü bu durumda cihaz hem çubuk mıknatısın varlığı hem de gönderdiği açısal hız bilgisinden yoksun kalır. Bu sorunu çözmek için sisteme, çubuk mıknatısın karşısına rast gelen bobinde üretilen sinyali taklit edip devreye veren bir fonksiyon jeneratörü ilave edilmiştir (PCGU 1000, 2 MHz USB PC Function Generator, Velleman Instruments, Belgium). Böylelikle cihaz tekrar ölçme moduna geçer duruma getirilmiştir.

Modifiye edilmiş agregometre ile testlere başlarken, önce miller yataklarına takılıp, kuvetlere yerleştirilmiş agregasyon tüplerinin ağızlarına göre, eşit seviyede olmaları sağlandı. Sonra karıştırıcı çalıştırılıp 900 devir/dk.'lık açısal hıza ayarlandı ve hızın sabitleşmesi beklendi. TFP ile ışık geçirgenliği %100'e kalibre edildi. TZP agregometre kuvetlerine yerleştirilip, sistem ölçüm moduna getirildikten sonra, uyarıcı ajanlar eklendi. Daha sonra karıştırıcılar TZP tüplerinin içine millerin işaretli yerlerine kadar dikkatlice indirildi. Agregasyon süreci, agregometrenin bilgisayardaki yazılımından izlendi.

Manyetik alan uygulama süresince (1 veya 1.5 saat) bekleyen MA ve K TZP örnekleri, iki kez alt üst edildikten sonra agregasyon tüplerine kondu.

Uyarıcı ajanlar olarak ADP, kollajen ve epinefrin (BIO/DATA CORPORATION, USA) kullanıldı. Test son konsantrasyonları ve TZP içine konan uyarıcı ajan miktarları Tablo 6'da verilmiştir. Her seferinde, agregometrenin 1. ve 2. kanallarında, MA x K veya K x MA karşılaştırması önce ADP, sonra kollajen, en son da epinefrin ile yapıldı.

Tablo 6: Trombosit agregasyonunu uyarmak için kullanılan ajanların test son konsantrasyonları ve TZP içine eklenen miktarları.

	Test son konsantrasyonu	Uyarıcı ajan miktarı (µl)	TZP Miktarı (µl)
ADP	4 µM	10	490
Epinefrin	20 µM	10	490
Kollajen (Heparin)	38 µg/ml	10	490
Kollajen (Sitrata)	95 µg/ml	25	475

Agregasyon ölçümlerinde değerlendirilen parametreler Şekil 14’te gösterilmiştir. Agregasyon eğrisinin **eğimi** %10–20 agregasyon değerleri arasındaki bölüm göz önüne alınarak hesaplanmıştır. **Maksimum agregasyon (%)**, agregasyon eğrisinin maksimuma ulaşp, en az 1 dk bu seviyede kaldığı aralıkta ölçülmüştür. **Eğri altındaki alan**, karıştırıcının TZP’ye girdiği andan itibaren, grafiğin düzleşmeye başladığı 4, 5 veya 6. dakikalar arasındaki alandır.

Standart agregometrede epinefrin ile yapılan ölçümlerde hem primer hem sekonder agregasyon gösteren bifazik eğriler elde edilir. Bu çalışmada kullanılan modifiye edilmiş agregometrede, koagülasyonu sitratla önlenmiş örneklerin hiçbirinde epinefrinle uyarmada bifazik eğri gözlenmemiştir. Koagülasyonu heparinle önlenmiş örneklerin (toplam: 30+10=40) agregasyon eğrilerinin 26’sı bifazik karakterde, diğer 14’ü ise değildir. Bifazik eğri gözlenen epinefrinle uyarılan agregasyonlarda **eğim–1**, **primer agregasyon (%)**, **geçiş zamanı (s)** ve **eğim–2** (%30–40 arası) ayrıca ölçülmüştür (Şekil 14 d)

Uyarıcı ajanın verilmesi esnasında pipet ucunun ışığı kestiği anlar agregasyon başlamadan önceki çentikler halinde gözlenmektedir (Şekil 14-15). ADP ve epinefrin ile uyarılan agregasyon, karıştırıcının TZP’nin içine girmesiyle bir anda hızla başlarken, kollajenle uyarmada daha yavaş bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Standart

bir agregometre ile ölçümde de ADP ve epinefrinle uyarılan agregasyon hızla başlarken, kollajenle uyarılan agregasyon belli bir gecikme (lag zamanı) ile başlar (Şekil 14).

Birinci kanala uyarıcı ajan verildikten ortalama 11 sn sonra ikinci kanala uyarıcı ajan verilmiş, daha sonra da ortalama 18 sn içinde karıştırıcı TZP'nin içine indirilmiştir (Şekil 15).

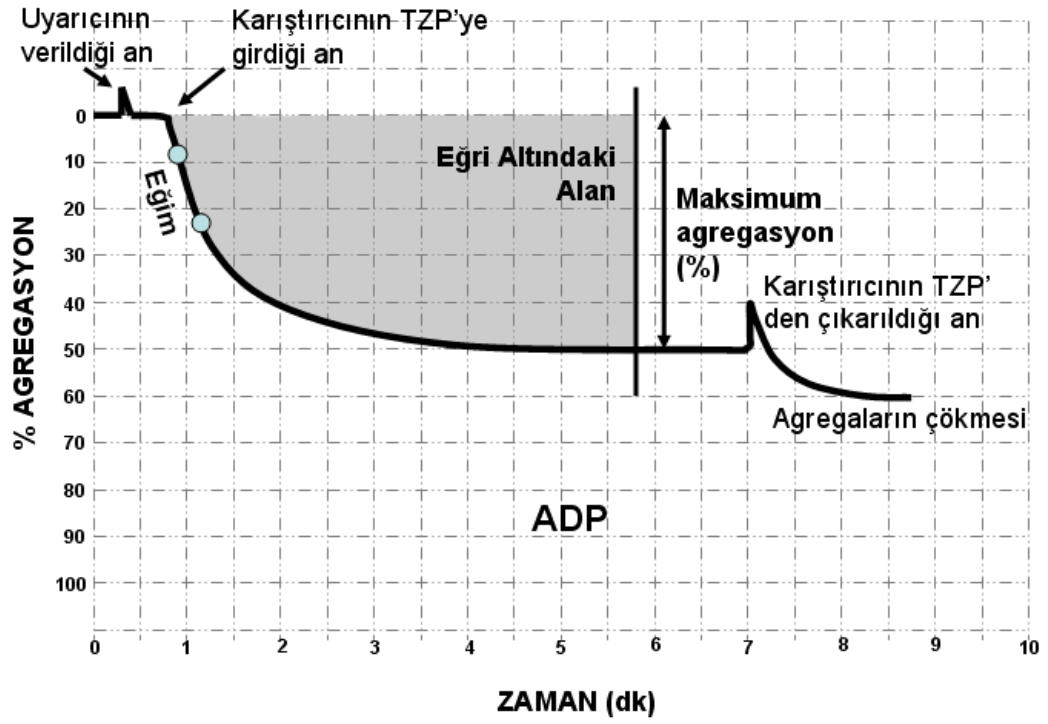
Maksimum agregasyona ulaşıp grafik düzleştikten sonra karıştırıcı TZP tüpünden çıkarılmıştır. Karıştırıcı çıkarılırken grafikte yine bir çentik gözlenmiştir. Sonraki yaklaşık bir dakika içinde TZP'de oluşan agregaların dibe çökmesiyle çözeltinin ışık geçirgenliği ortalama olarak %11.8 (11.8 ± 6.2 , [0.0–30.4]) oranında artmıştır (Şekil 15). Grafik tekrar düzleşince test sonlandırılmıştır.

Değerlendirilen parametre değerleri, agregometre ait bilgisayar yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır.

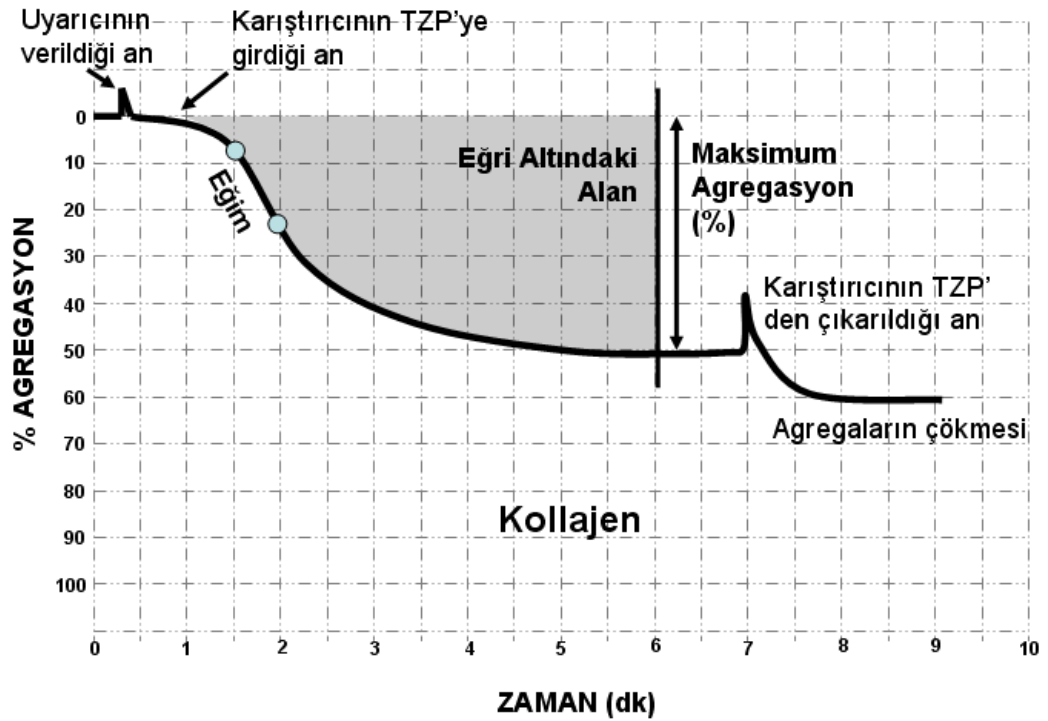
Yukarıda anlatılan tüm işlemler denekten kan alınmasından sonraki en geç 2.5 saat içinde tamamlandı. (TZP örneklerinin hazırlanması: 30 dk. manyetik alan uygulanması: 60–90 dk. agregasyon ölçümü: 30 dk).

2.8. İstatistiksel Analiz

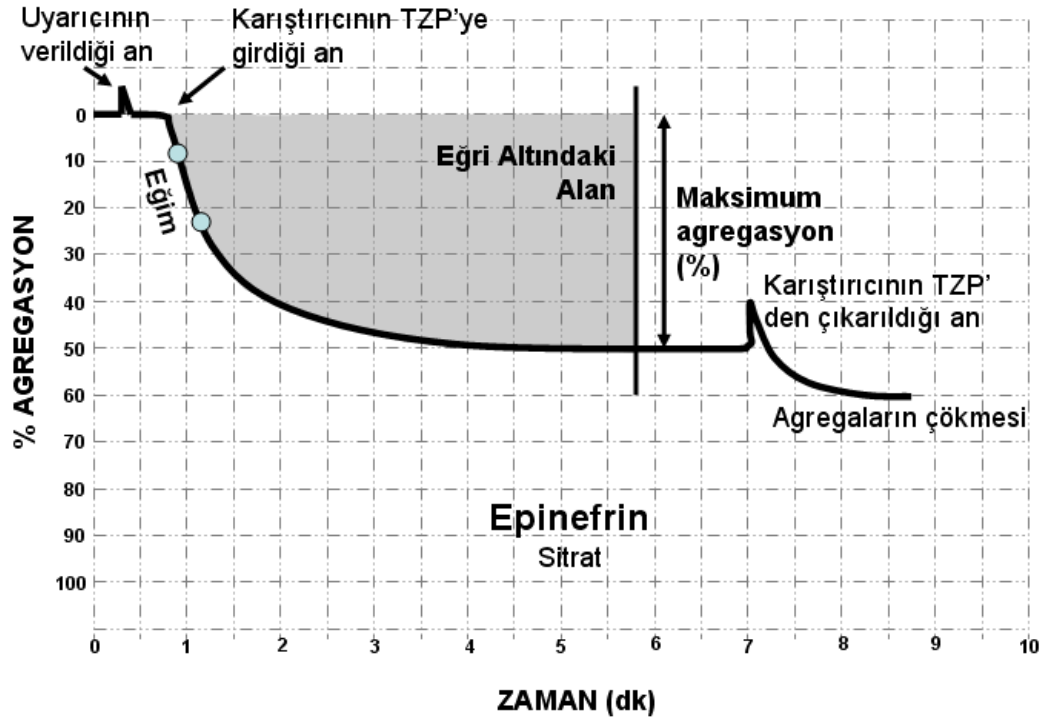
Değerlendirilen parametreler tablolarda ortalama $\pm$ standart sapma ve minimum-maksimum değerler olarak gösterilmiştir. MA ve K grupları arasındaki karşılaştırma 1 mT grubunda Eşleştirilmiş t-test ile, 6 mT grubunda Wilcoxon Sıra Toplamları Testi'yle yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ kabul edildi.



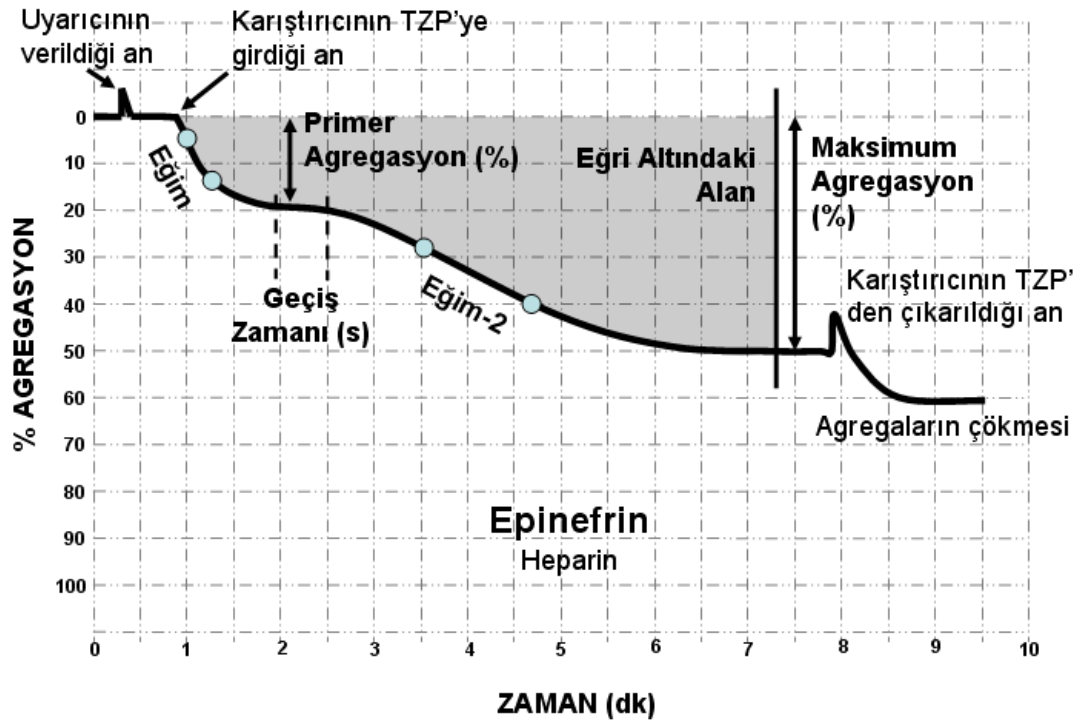
Şekil 14 (a)



Şekil 14 (b)

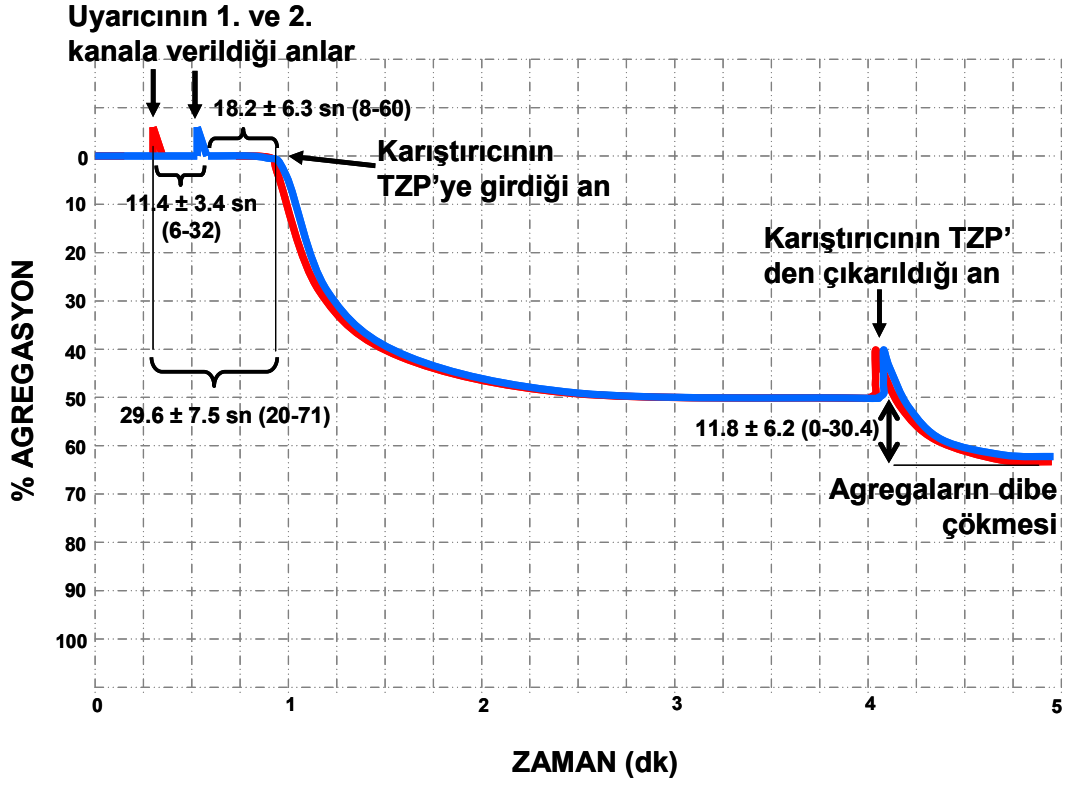


Şekil 14 (c)



Şekil 14 (d)

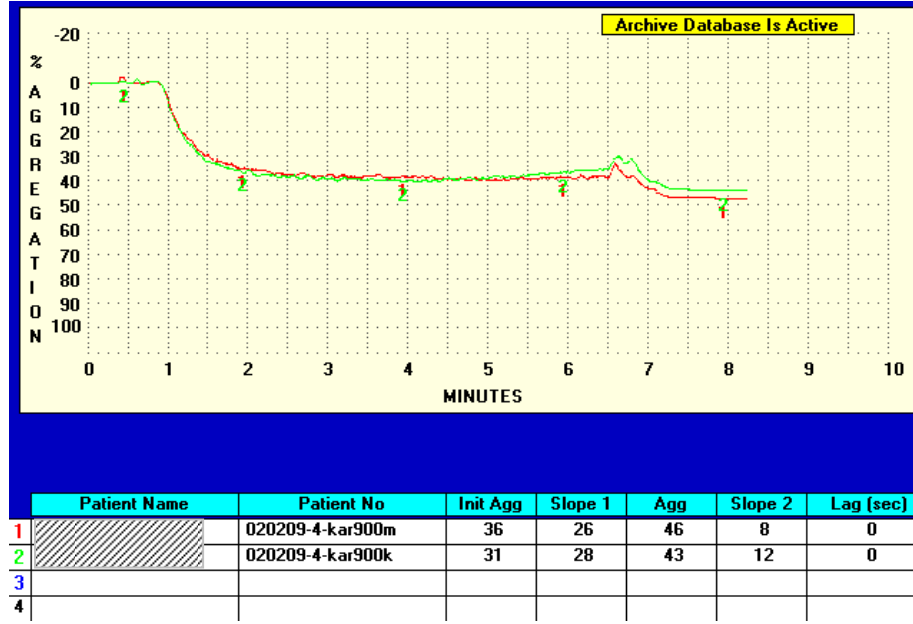
Şekil 14: ADP (a), kollajen (b) ve epinefrin (c, d) ile elde edilmiş agregasyon eğrileri ve değerlendirme parametreleri.



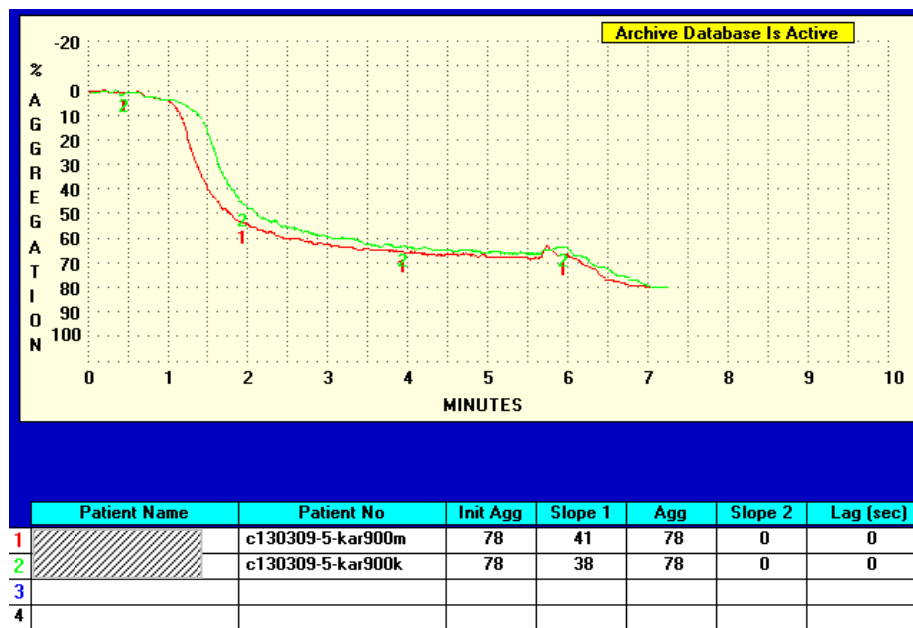
Şekil 15: Agregasyon ölçümü başladığı andan itibaren, bilgisayardaki agregometre yazılımından izlenen eğriler. 1. kanal ile 2. kanala ortalama 11 sn arayla uyarıcı ajanlar verilmekte, 2. kanala uyarıcı ajan verildikten sonra yaklaşık 18 sn içinde karıştırıcı TZP'nin içine indirilmektedir. Maksimum agregasyona ulaşıldıktan sonra karıştırıcı TZP'nin içinden çıkarılmakta ve agregaların dibe çökmesi ile yaklaşık %12'lik artış gözlenmektedir. Verilen zamansal değerler ADP ve epinefrin ile uyarılan tüm agregasyon ölçümlerinden (80+80=160) elde edilen değerlerin ortalamasıdır. Agregaların dibe çökmesi ile görülen maksimum agregasyon artışı ADP, kollajen ve epinefrin ile uyarılan tüm agregasyon ölçümlerinden (80+80+80=240) elde edilen değerlerin ortalamasıdır.

3. BULGULAR

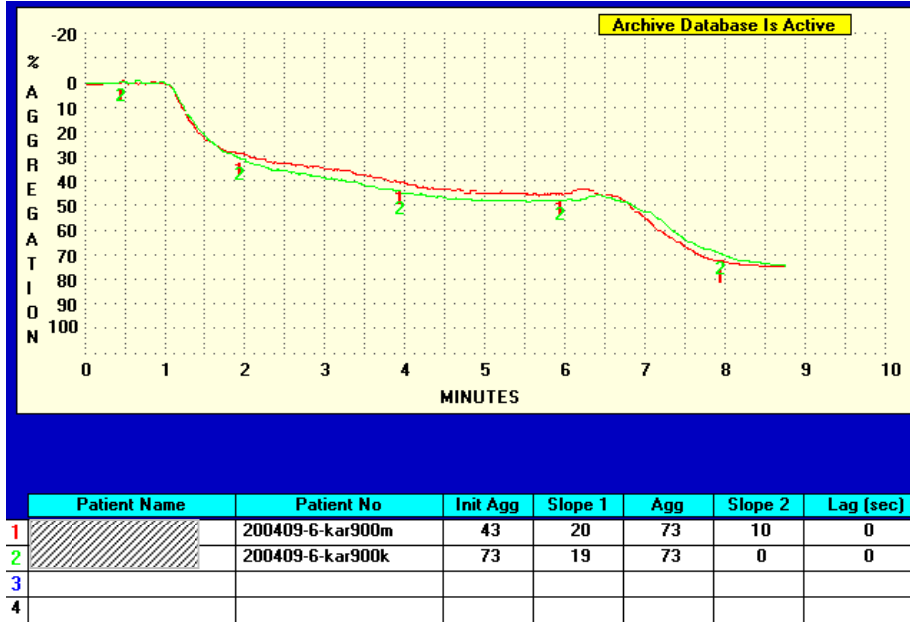
Elde edilen agregasyon eğrilerinin birer örneği aşağıdaki şekillerde verilmiştir.



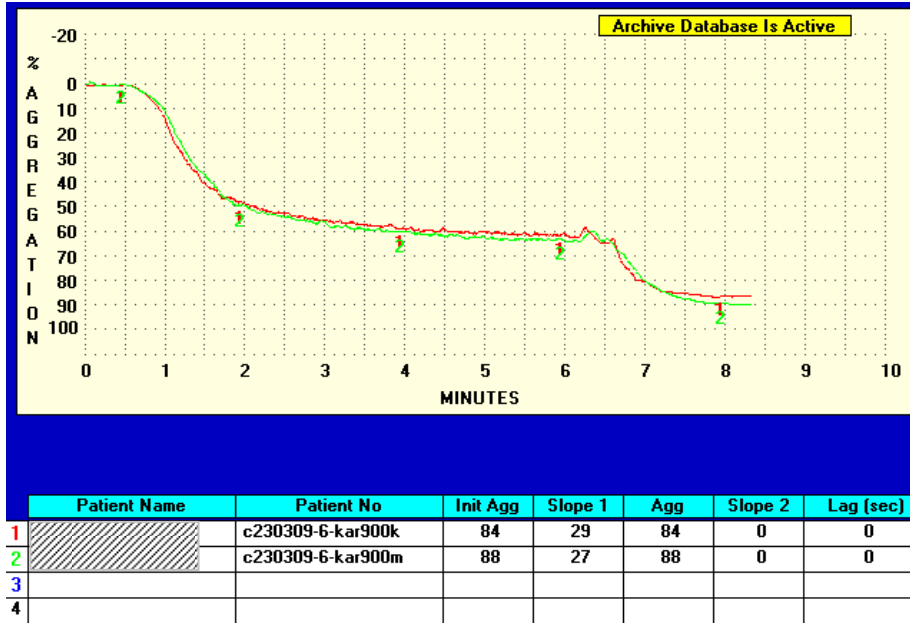
Şekil 16:
1 mT-
Heparin
grubunda
ADP ile
uyarılan
agregasyon
grafığı
örneği.



Şekil 17:
1 mT-
Sitrata
grubunda
kollajen ile
uyarılan
agregasyon
grafığı
örneği.



Şekil 18:
6 mT-
Heparin
grubunda
epinefrin ile
uyarılmış
agregasyon
grafığı
örneği.



Şekil 19:
6 mT-
Sitrat
grubunda
epinefrin ile
uyarılmış
agregasyon
grafığı
örneği.

Değerlendirilen parametrelerin birbirleri ile karşılaştırmaları aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 7: 1 mT-Heparin grubunda, değerlendirilen parametrelerin kontrol (K) ve manyetik alan (MA) grupları arasında karşılaştırması.

1 mT-Heparin (n=30)				
		MA	K	p
ADP	Eğim	42.4 ± 17.1 (16-86)	42.3 ± 15.9 (20-86)	0.854
	Mak Agr (%)	44.7 ± 14.8 (22.274.6)	44.7 ± 14.3 (19.2-76.2)	0.944
	Alan	158.6 ± 74.2 (57-303)	157.0 ± 75.4 (58-309)	0.419
Kol	Eğim	31.2 ± 11.0 (17-57)	32.0 ± 11.9 (16-64)	0.311
	Mak Agr (%)	47.2 ± 13.5 (24.4-70.4)	47.2 ± 13.4 (24.6-71.0)	0.949
	Alan	182.6 ± 60.5 (89-343)	182.8 ± 59.6 (87-322)	0.948
Epi	Eğim-1	23.5 ± 8.9 (7-46)	23.1 ± 9.0 (7-45)	0.640
	Pri Agr (%)	17.8 ± 15.9 (0-47.2)	17.0 ± 14.9 (0-45.4)	0.227
	Geçiş Zamanı	31.5 ± 30.1 (0-91)	28.6 ± 28.1 (0-99)	0.114
	Eğim-2	2.6 ± 2.7 (0-9)	3.0 ± 2.9 (0-11)	0.118
	Mak Agr (%)	42.9 ± 14.3 (21.0-73.4)	43.3 ± 15.5 (15.2-71.6)	0.652
	Alan	159.9 ± 55.5 (51-266)	162.9 ± 60.1 (34-264)	0.413

Tablo 8: 1 mT-Sitrat grubunda, değerlendirilen parametrelerin kontrol (K) ve manyetik alan (MA) grupları arasında karşılaştırması.

1 mT-Sitrat (n=30)				
		MA	K	p
ADP	Eğim	36.0 ± 10.0 (18-54)	35.7 ± 9.6 (16-51)	0.688
	Mak Agr (%)	50.5 ± 14.9 (17.6-72.8)	50.9 ± 14.6 (14.6-71.0)	0.604
	Alan	189.0 ± 71.7 (22-298)	190.5 ± 71.8 (20-293)	0.623
Kol	Eğim	39.7 ± 14.7 (16-69)	37.5 ± 14.2 (13-64)	0.013
	Mak Agr (%)	54.9 ± 14.1 (24.0-80.4)	54.1 ± 14.5 (21.6-77.4)	0.033
	Alan	196.3 ± 69.4 (53-313)	189.8 ± 70.6 (64-322)	0.175
Epi	Eğim	34.3 ± 12.3 (6-55)	33.6 ± 12.6 (9-53)	0.275
	Mak Agr (%)	53.1 ± 13.7 (21.0-72.2)	52.7 ± 14.2 (17.6-72.8)	0.387
	Alan	201.3 ± 63.6 (65-297)	199.5 ± 64.2 (57-288)	0.303

Tablo 9: 6 mT-Heparin grubunda, değerlendirilen parametrelerin kontrol (K) ve manyetik alan (MA) grupları arasında karşılaştırması.

6 mT-Heparin (n=10)				
		MA	K	p
ADP	Eğim	52.7 ± 13.9 (30-68)	52.0 ± 14.6 (27-68)	0.355
	Mak Agr (%)	53.0 ± 8.7 (35.6-63.6)	53.7 ± 10.5 (32.6-71.0)	0.610
	Alan	185.6 ± 56.0 (88-272)	188.3 ± 60.3 (80-290)	0.341
Kol	Eğim	36.5 ± 16.5 (16-61)	36.0 ± 16.0 (14-63)	0.633
	Mak Agr (%)	54.8 ± 10.9 (38.4-67.6)	55.6 ± 11.5 (35.6-69.4)	0.326
	Alan	204.5 ± 63.8 (119-290)	206.1 ± 63.6 (115-287)	0.759
Epi	Eğim-1	23.4 ± 7.2 (8-36)	22.7 ± 7.1 (8-33)	0.590
	Pri Agr (%)	21.4 ± 15.6 (0-41.2)	21.3 ± 15.7 (0-37.8)	0.833
	Geçiş Zamanı	27.9 ± 22.8 (0-62)	36.3 ± 27.7 (0-68)	0.075
	Eğim-2	1.9 ± 1.5 (0-4)	1.8 ± 1.4 (0-3)	0.655
	Mak Agr (%)	43.7 ± 14.0 (15.8-60.6)	43.9 ± 13.2 (19.2-64.6)	0.683
	Alan	155.5 ± 67.0 (38-274)	151.1 ± 62.4 (47-236)	0.646

Tablo 10: 6 mT-Sitrat grubunda, değerlendirilen parametrelerin kontrol (K) ve manyetik alan (MA) grupları arasında karşılaştırması.

6 mT-Sitrat (n=10)				
		MA	K	p
ADP	Eğim	33.5 ± 9.6 (19-50)	33.5 ± 12.6 (15-56)	0.944
	Mak Agr (%)	45.6 ± 11.2 (21.0-60.0)	47.6 ± 12.9 (22.2-70.0)	0.313
	Alan	146.5 ± 57.4 (52-244)	156.0 ± 71.9 (50-294)	0.357
Kol	Eğim	35.2 ± 8.4 (23-48)	34.0 ± 8.3 (21-46)	0.356
	Mak Agr (%)	50.7 ± 11.4 (36.2-70.4)	50.1 ± 11.2 (33.2-67.6)	0.341
	Alan	154.4 ± 54.6 (85-252)	149.2 ± 54.6 (86-271)	0.507
Epi	Eğim	31.4 ± 6.6 (22-45)	30.8 ± 7.6 (18-44)	0.553
	Mak Agr (%)	49.4 ± 10.1 (36.2-68.2)	49.4 ± 11.1 (31.4-69.4)	0.859
	Alan	150.5 ± 50.4 (89-244)	149.0 ± 52.2 (88-240)	0.573

Tablolardan da görüldüğü gibi, MA ile K grupları arasında, değerlendirilen parametrelere ilişkin toplam 42 karşılaştırma yapılmıştır. 1 mT-Sitrat grubundaki kollajen ile uyarılmış agregasyon ölçümlerinin karşılaştırması dışındaki, tüm karşılaştırmalarda, p değeri oldukça yüksek değerlerdedir. Sitratla koagülasyonu önlenmiş kandan elde edilen TZP örneklerine, 1.5 saat süre ile 50 Hz frekansında 1 mT şiddetinde manyetik alan uygulanması, kollajen ile uyarılan agregasyonu anlamlı bir şekilde etkilemiştir. Manyetik alan kollajen ile uyarılan agregasyonun eğimini ve maksimum değerini arttırmıştır. Eğimi ortalama 2.2 birim, maksimum agregasyonu ortalama %0.8 gibi oldukça küçük değerlerde artırmış olsa da, MA ile K karşılaştırmalarının birbirine oldukça yakın, korelasyonların çok yüksek olduğu (korelasyon katsayısı en düşük 0.89'dur) yukarıdaki tablolarda, anlamlı çıkan p değerleri ile diğerleri arasında 10–15 kat fark olması dikkat çekicidir.

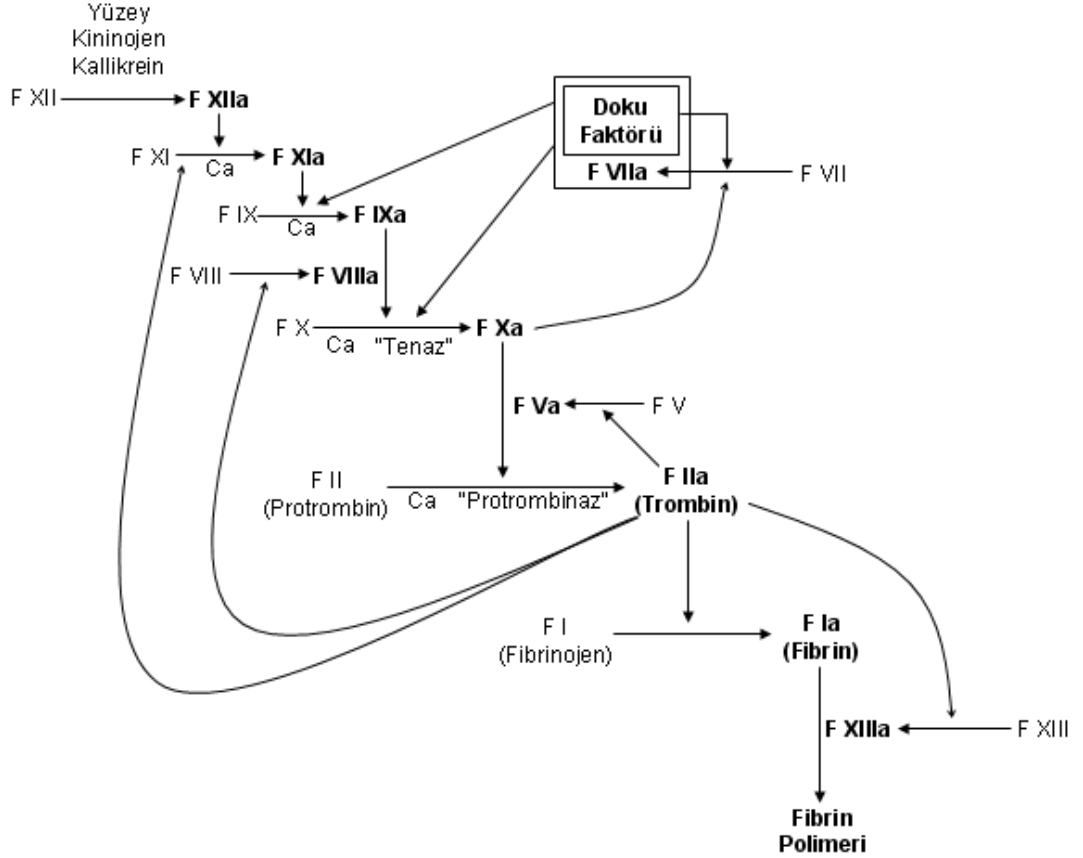
4. TARTIŞMA

Her geçen gün daha fazla maruz kaldığımız elektromanyetik alanların, biyolojik sistemler üzerindeki etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışma ile farklı bir hücre grubu ve fonksiyon üzerinde de elektromanyetik alanların etkili olduğu ortaya konmuştur.

Çalışmamızda, 50 Hz frekansında, 1 veya 6 mT şiddetinde manyetik alan kullanıldı. Koagülasyonu sitratla veya heparinle engellenmiş TZP örneklerine 1 veya 1.5 saat süreyle manyetik alan uygulandı. Manyetik alan ve kontrol grubu TZP örneklerinin agregasyonları ADP, kollajen ve epinefrin ile uyarılarak optik agregometrede değerlendirildi. Sonuçta 1.5 saat süreyle uygulanan 1 mT şiddetindeki manyetik alanın, koagülasyonu sitratla önlenmiş TZP örneklerinde, yalnızca kollajen ile uyarılan agregasyonu etkilediği gösterildi. Manyetik alan uygulamasının kontrole göre, kollajen ile elde edilen agregasyon grafiğinin eğimini ve maksimum değerini arttırdığı bulundu.

Elektromanyetik alanların olası etkilerini daha iyi ayırt edebilmek amacıyla, çalışmamızda iki farklı antikoagülan madde kullanıldı. Herhangi bir kanama durumunda, trombüs oluşumunda veya in vitro değerlendirmek amacıyla deney tüpüne alınan kanda trombositlerle birlikte koagülasyon faktörleri aktive olur. Koagülasyon kaskadının son ürünü fibrindir. Fibrin monomerleri, polimerleşerek trombositler arasında bağlar kurar ve pıhtının oluşmasını sağlar. Fibrinogeni fibrin haline dönüştüren koagülasyon faktörü trombindir (F IIa) (Şekil 20). Eğer aktif trombin oluşumu önlenirse fibrin oluşamayacağından pıhtı oluşmaz. Antikoagülan

maddelerin kullanım amacı trombin oluşumunu engelleyerek kanın pıhtılaşmasını önlemektir (30).



Şekil 20: Koagülasyon kaskadı.

Heparin, hızlı antikoagülan özelliklerinden dolayı akut klinik durumlarda ilk seçilen antikoagülanlardan biridir. Etkilerini *Antitrombin* üzerinden gösterir. Antitrombin damar endoteli ve karaciğerde sentez edilen doğal bir inhibitör olup trombin ve diğer bazı koagülasyon faktörlerine yavaş bir şekilde bağlanarak onları nötralize eder. Vücuda heparin verildiğinde Antitrombin ile bağlanarak onun etkisini 1000 kat kadar artırır. Heparin/Antitrombin kompleksi başta trombin (F IIa) olmak

üzere F XIIa, F XIa, F Xa ve F IXa'yı inhibe eder. Diğer bir mekanizma da *Heparin kofaktör II* aracılığıyla trombinin inaktive edilmesidir (30, 54).

Çalışmamızda kullanılan diğer antikoagülan madde olan sitrat bir kalsiyum şölatıdır. Koagülasyon kaskadının hemen hemen her ara basamağında görevi olan kalsiyum, pıhtının oluşmasında temel faktörlerden biridir. Ekstrasellüler ortamdaki kalsiyumun sitratla bağlanması, pıhtı oluşmasını önler (30).

Elektromanyetik alanların biyolojik etkilerinin araştırıldığı özellikle hücre düzeyindeki birçok çalışmada, kalsiyumun etkilendiği ve gözlenen/araştırılan etkide kalsiyumun rolü olduğu üzerinde durulmaktadır. Kalsiyum hücre içi birçok işlevde rol alan, önemli bir ikincil habercidir. Özellikle hücre içinde hareket ve güç gerektiren işlevlerin temel faktörüdür. Örneğin, akson terminallerindeki veziküllerden sinaptik aralığa nörotransmitter salınmasında; kasta aktin-miyozin etkileşiminin sağlanıp kontraksiyonun oluşmasında kalsiyum gereklidir (19). Trombositlerde de granüllerin salınabilmesi, filopodik uzantıların oluşması, trombositin şekil değiştirmesi için kalsiyum gereklidir (30).

Trombositteki intrasellüler kalsiyum konsantrasyonu artışı esas olarak yoğun granüllerden sağlanır. Trombosit aktive olduğunda, özellikle ADP ve kalsiyumun depo yeri olan yoğun granüllerdeki kalsiyum kanalları açılır ve trombosit içi kalsiyum konsantrasyonu artar. Hücre membranında da kalsiyum kanalları bulunur. Fakat bu kanallar hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artışına daha az katkıda bulunurlar (30).

Birçok çalışmada çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların membrandan kalsiyum geçişini ve intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmaların bazıları, ortamda kalsiyumun var olup olmaması veya etkisinin antagonize edilmesiyle, ilgili fonksiyonun değiştiğini gösteren çalışmalardır. Bazı

Çalışmalarda da patch-clamp yöntemiyle kanallardan geçen kalsiyum akısının değıştiğı ve kalsiyum kanalı gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (5, 18, 25, 41, 43, 44, 55, 62, 82,).

Çalışmamızda TZP örneklerine uyguladığımız manyetik alanın trombositlerdeki kalsiyum üzerinde etkili olabileceğini ve bunun dolaylı olarak agregasyon fonksiyonuna yansıyabileceğini düşünüyorduk. Kalsiyum üzerinden gözlenebilecek etkilerin, koagölasyonu heparinle engellenmiş gruplarda ortaya çıkması daha olası iken, deneylerimizde, heparin grubu örneklerinin hiçbirinde manyetik alanın etkisi gözlenmemiştir (Tablo 7, 9). Kalsiyumun trombosit agregasyonundaki rolüne rağmen, agregasyon ölçümlerinde, manyetik alanın kalsiyumu etkilediğine dair bir ipucu gözlenmemiştir. Yine de intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu değerlendirebilecek başka yöntemler denemeden kesin bir şey söylemek zordur.

Koagölasyonu sitratla önlenmiş grupta, 1 mT şiddetindeki manyetik alanın etkili olup, 6 mT şiddetindeki manyetik alanın etkili olmaması ilginçtir (Tablo 8, 10). 6 mT manyetik alan grubundaki denek sayısının az olması, belki küçük olan bir etkinin yakalanamamasında pay sahibi olabilir. Denek sayısının az olmasının yanı sıra bu grupta akla takılan diğer bir sorunda sıcaklık artışıdır. Manyetik alan grubu ile kontrol grubu arasında ortalama 2 C° sıcaklık farkı gözlenmiştir (Tablo 5). Çalışmamızda kullandığımız Helmholtz bobinde 6 mT şiddetinde manyetik alan oluşturabilmek için 10 A gibi yüksek bir akım gerekir (Tablo 3). Bu yüksek akım zamanla ısınmaya sebep olmuştur. Manyetik alan uygulama süresinin başlangıcı ile sonu arasındaki sıcaklık farkı maksimum 3.6 C°'yi geçmemiştir. Bu sıcaklık farkının trombosit fonksiyonunu ne kadar etkilediğı, manyetik alanın olası bir etkisini nötralize edip etmediğı gibi sorular akla takılmaktadır.

Diğer taraftan, özellikle enzim aktivasyonu ve inhibisyonu çalışmalarında manyetik alanın belli bir şiddet aralığında etkili olduğu gözlenmiştir (57, 65). 6 mT şiddetindeki manyetik alanın bu çalışmada araştırılan trombosit agregasyonuna etkili olmamasının nedeni 6 mT şiddetindeki alanın söz konusu etkili aralığın dışında kalmasına bağlanabilir. 1 mT'nin altında ve 1-6 mT arasındaki değerler araştırılarak bu konuya açıklık getirilebilir.

Antikoagülan olarak sitratın kullanıldığı 1 mT manyetik alan grubunda, etkinin sadece kollajen ile uyarılan agregasyonda gözlenmesi, ADP ve epinefrin ile uyarılan agregasyonda gözlenmemesi ilgi çekicidir (Tablo 8). ADP P2Y₁₂ reseptörleri ve epinefrin üzerinden uyarılan trombosit agregasyonu, ikincil habercilerden itibaren ortak bir yol izler (AC'nin inhibe olması ve cAMP'nin azalması) (Şekil 8). Ravera ve arkadaşları (58) bu yolakla dolaylı yoldan ilişkili olabilecek bir çalışma yapmışlardır. Bu araştırmacılar sığır retinasındaki basil hücrelerinin dış segmentlerindeki adenilat kinaz aktivitesinin, 75 Hz frekanslı 250 µT şiddetinde manyetik alan uygulandığı sürece %55 azaldığını göstermişlerdir. Manyetik alanın kesilmesi ile aktivite geriye dönmüştür. Adenilat kinaz şu reaksiyonunu kataliz eder.



ATP'den de AC katalizi ile cAMP sentez edilir (85, 86).

Adenilat kinaz aktivitesinin baskılanmasının, cAMP oluşumunu dolaylı olarak azaltacağı ve adenin nükleotidlerinin dengesini değiştireceği düşünülebilir. Bu da trombosit aktivasyonu ile sonuçlanabilir. Fakat çalışmamızda bu yolağın etkinliğine dair bir bulgu gözlenmemiştir. Bunun nedeni bizim çalışmamızda manyetik alanın agregasyondan önce uygulanması olabilir. Manyetik alanın

agregasyon ölçümü sırasında uygulanması, trombositlerde bu yolağın manyetik alandan etkilenip etkilenmediğinin araştırılmasına yardımcı olabilir.

Agregasyonun ADP P2Y₁ reseptörleri üzerinden uyarılması PLC_β'nin aktivasyonu ile başlar. Sonrasında hücre içi kalsiyum artışı ve PKC aktivasyonu gözlenir. Kollajen ile uyarılan agregasyon tirozin kinazlar üzerinden PLC_{γ2}'nin aktivasyonu ile başlar. Sonrasında yine hücre içi kalsiyum artışı ve PKC aktivasyonu olur (30). Yani kollajen ve ADP'nin trombositte aktive ettikleri yollar, PLC'nin farklı alt tiplerinden sonra benzer bir yol izler (Şekil 8). Tirozin kinazların ve PLC_{γ2}'nin, 0.1 mT şiddetinde 60 Hz frekanslı manyetik alan uygulaması ile aktive oldukları ve bunun sonunda İP₃ ve PKC turnover hızının arttığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir (15, 39). Bizim çalışmamızda da yalnızca kollajen ile uyarılan agregasyonda agregasyon grafiğinin eğiminin ve maksimum değerinin manyetik alan uygulaması ile artması, manyetik alanın tirozin kinaz ve PLC_{γ2} aktivasyonuna yol açtığını desteklemektedir.

Çalışmamız, 1 mT şiddetinde 1.5 saat süre ile uygulanan 50 Hz manyetik alanın, tirozin kinaz ve PLC_{γ2} aktivasyonuna yol açtığını dolaylı olarak desteklemiştir. Fakat bu etkinin antikoagülan olarak heparin kullanılan grupta gözlenmemesini açıklamak zordur. Heparinle koagülasyonu önlenmiş TZP örneğinin kollajenle uyarılmasında bazı faktörler tirozin kinaz - PLC_{γ2} yolağını etkiliyor olabilir. Bu faktörlerin daha ileri düzeyde araştırılması konuya açıklık getirecektir.

Manyetik alan tek bir tüpteki TZP örneğine uygulandıktan sonra tüp Helmholtz bobinden çıkarılarak, kontrol grubu TZP örneğinin bulunduğu tüple birlikte agregometrenin yanına getirilmiştir. Modifiye agregometremizin mekanik karıştırıcısının bir çift mili olmasından dolayı agregometrenin iki kanalından birine manyetik alan örneği diğerine kontrol örneği konularak ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Agregasyon ölçümlerinde manyetik alan–kontrol karşılaştırması önce ADP ile uyarılan örnekler üzerinde, ikinci olarak kollajenle uyarılan örnekler üzerinde, en son da epinefrinle uyarılan örnekler üzerinde yapılmıştır. Her örnek için agregasyon yaklaşık 10 dk süre ile izlenmiştir. ADP ile uyarılan örneklerin agregasyon süreci, örnek manyetik alandan çıkarılır çıkarılmaz değerlendirilebildiği halde, kollajen ile uyarılan örneklerin agregasyonu manyetik alandan çıkarıldıktan 10 dk. sonra başlatılabilmiş, epinefrin ile uyarılan örneklerinki ise manyetik alandan çıkarıldıktan 20 dk. sonra başlatılabilmektedir. ADP ve epinefrinle uyarılmış örneklerin agregasyonları manyetik alan ve kontrol grubu arasında farklı olmadığı halde kollajenle uyarılmış örneklerde farklı bulunmuştur. Bu gözlem kollajenle uyarılan örneklerde, manyetik alanın kaldırılmasından sonra bile etkisinin devam ettiğine işaret eder. Manyetik alan kesildikten sonra etkinin ne kadar süre ile devam ettiği araştırılması gereken bir konudur.

1 mT-Sitrat grubunda kollajen ile uyarılan agregasyonun grafiğinde eğimin ve maksimum agregasyonun arttığı çalışmamızda gösterilmiştir. Eğimin ve maksimum agregasyonun artmasının eğri altında kalan alanı da arttırması beklenir (Şekil 14b). Böyle bir artış gözlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (MA: 196.3 ± 69.4 [53-313], K: 189.8 ± 70.6 [64-322]; $p=0.175$) (Tablo 8). Kollajen ile uyarılan agregasyonun en önemli özelliği, uyarıcı ajanın verilmesinden belli bir zaman sonra (lag-gecikme) agregasyonun başlamasıdır (33). Bu gecikmeden dolayı eğri altındaki alanın artışı maskelenmiştir.

Bu çalışmanın amaçları için modifiye ettiğimiz agregometreden elde ettiğimiz agregasyon ölçümleri standart agregasyon ölçümlerinden farklıdır. Öncelikle TZP'yi yukarıdan karıştırmak (standart agregometrede aşağıdan) oluşan agregaların karıştırıcı milin baş kısmının çevresinde toplanmasına sebep olmuştur. Bu etki,

agregasyon sürecinin sonunda karıştırıcının TZP'nin içinden çıkarılmasından sonra agregaların dibe çökmesi ile maksimum agregasyonun artmasından açıkça anlaşılmaktadır (Şekil 15). Ayrıca, antikoagülan olarak sitrat kullanılan grubun hiçbirinde epinefrin ile uyarılan agregasyon bifazik bir eğri göstermemiştir (Şekil 14c, 19). Oysa epinefrinin standart agregasyon eğrisi bifaziktir. Önce primer agregasyon gözlenir, sekresyon olur ve sekresyona bağlı sekonder agregasyon ile bifazik eğri oluşur (33). Yukarıdan karıştırmanın primer agregasyon ile sekonder agregasyonu birleştirdiği anlaşılmaktadır. Böyle bir durum standart agregometrede yüksek ADP dozları kullanıldığı zaman da gözlenir (33). Yukarıdan karıştırma işleminin agregasyon üzerindeki bu etkileri daha ayrıntılı olarak araştırılmalıdır.

Çoğu çalışmada 50/60 Hz manyetik alanların etkisi değerlendirilmiştir. Daha çok elektrik şebekesinden kaynaklanan ve çocukluk çağı lösemileriyle ilişkilendirilen bu frekanslardaki elektromanyetik alanlar laboruvarlarda da kolaylıkla elde edilebilir. Şehir şebekesi ayarlanabilir gerilim kaynağı ile (varyak) doğrudan bir Helmholtz bobine bağlanabilir. Bazı çalışmalarda farklı frekanslar da kullanılmıştır. Örneğin, 0.05 Hz gibi oldukça düşük bir frekansta, (NAD(P)H salınım frekansı) nötrofiller üzerine uygulanan manyetik alanın NAD(P)H konsantrasyonunu, reaktif oksijen türevlerini ve nitrik oksit üretimini arttırdığı gösterilmiştir (62). Başka bir çalışmada, 230 Hz frekansında sinüzoidal manyetik alanın kalpain'nin aktivitesini büyük oranda düşürdüğü gösterilmiştir (65). Bir başka grup araştırmacı 0.3–3 Hz aralığında PGI_2 ve TxA_2 'nin sekresyonunu değerlendirmişlerdir (14). Bu çalışmalar, trombositlerde de farklı frekansların etkili olup olamayacağını düşündürmektedir. İstenilen frekanstaki bir sinyali, bir akım amplifikatöründe, 1 A gibi yüksek değerlere çıkararak bir bobin sistemini beslemek oldukça zor bir işlem olmakla birlikte trombosit agregasyonunu farklı frekanslarda araştırmak yararlı olacaktır.

Trombosit aktivasyonu ve agregasyonu oldukça karmaşık bir olaydır. Agregometrede trombositler her hangi bir uyarıcı ajanla uyarıldıktan sonra, ilk aktivasyon o uyarıcı ajanın etkisiyle başlar. Uyarıcı ajan reseptörüne bağlanır ve kendi yolağı üzerinden aktivasyonu başlatır. Trombosit bir kez aktive olduktan sonra granüllerin salınması (ADP, ATP, kalsiyum, serotonin, vWF, vitronektin, fibronektin vb.), hücre içinde membran fosfolipitlerinden vazoaktif ajanların sentezlenmesi (TxA₂, PAF) ve salınması, koagülan faktörlerin aktive olması gibi birçok süreç olaya karışır. Bu bağlamda agregometrede trombosit agregasyonunu başlatmak için kullanılan uyarıcı ajanlar, en çok agregasyonun başladığı ilk anları etkiler. Bu nedenle uyarıcı ajan ve yolağı hakkında esas bilgiyi agregasyon eğrisinin eğimi içerir (12). Çalışmamızda da kollajen ile uyarılan agregasyondan elde edilen grafiğin eğimi, maksimum agregasyona göre manyetik alandan daha çok etkilenmiştir (Tablo 8). Bu da kollajenin ikincil habercilerinin, aktivasyon yolağının (Şekil 8) manyetik alandan etkilendiğinin farklı bir göstergesidir.

Uyarıcı ajanla trombosit aktivasyonu başlatıldıktan sonra agregasyon, birçok farklı hücre içi yolağın aktive olması ile gerçekleşir. Sonuçta agregometrede gözlenen eğri, trombositin agregasyon fonksiyonunun toplu bir göstergesidir. Manyetik alan hücre içi herhangi bir mekanizmayı etkilese dahi, bunun agregometredeki agregasyon eğrisine büyük farklar olarak yansımaları beklemek pek doğru olmaz. Bu bağlamda 1 mT-Sitrat grubundaki kollajen ile uyarılan agregasyondan elde edilen grafiğin eğimindeki ve maksimum agregasyonundaki değişikliklerin neden küçük olduğu daha iyi anlaşılabilir. Manyetik alanın agregometrede ölçülen agregasyona etkisinin çok küçük olmasından ziyade, etkinin çoğunlukla hep aynı yönde olması önem taşır ve istatistiksel olarak anlamlı farkın ortaya çıkmasının nedeni de budur (Tablo 8).

Çalışmamızın yöntemi gereği önce manyetik alan uygulanmış sonra agregasyon üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Literatürde, manyetik alan uygulanırken fonksiyonda değişiklik olduğunu gösteren birçok çalışma vardır (50, 58, 59). Bizim çalışmamızda manyetik alanın tam agregasyon değerlendirilirken uygulanmasının, agregasyonu etkileyip etkilemeyeceği merak konusudur.

Çalışmayı kısıtlayan faktörlerden biri manyetik alanın uygulanabileceği süredir. Kanın alınmasından sonra en geç 4 saat içinde agregometre deneylerinin tamamlanması gerekliliği (33) manyetik alan uygulama süresini sınırlamaktadır. Kanın alınmasından sonra yaklaşık 30 dk. içinde TZP'nin elde edilmesi ve agregasyon deneylerinin yaklaşık 30–40 dk. sürmesi nedeniyle manyetik alan uygulanacak süre en fazla 2.5–3 saattir. Bizim uyguladığımız 1.5 saatlik manyetik alanın, kollajen ile uyarılan agregasyonu etkilediği gözlenmiştir. Ancak daha kısa veya daha uzun sürelerle uygulanacak manyetik alanın bu etkide bir değişikliğe neden olup olmayacağı ve maksimum etkinin ne zaman görüleceği akla gelen sorulardır.

Çalışmamız için tasarlanan karıştırıcı, standart agregometrede TZP'yi karıştıran mıknatısların etkisini ortadan kaldırmıştır. Oysa agregometre ve karıştırıcı da ek birer elektromanyetik alan kaynağıdır. Karıştırıcı TZP'den biraz uzakta olsa da, TZP doğrudan doğruya agregometrenin içine konmaktadır. Karıştırıcı millerinin ucunda ve agregometrede TZP tüplerinin bulunduğu küvetlerin içinde yapılan manyetik alan ölçümlerinde, değerler kontrol grubunun laboratuvarında beklediği konumun değerleriyle (Maksimum 0.15 mT DC ve 0.21 mT AC, minimum 0.05 mT DC ve 0.12 mT AC) benzer bulunmuştur. Manyetik alanın, kaynağından uzaklaştıkça uzaklığın karesiyle ters orantılı olarak hızla azalması ve ölçüm yapılan yerlerin elektromanyetik alan kaynaklarından santimetreler mertebesinde de olsa

biraz daha uzak olması, elde edilen ölçüm değerlerinin kontrol grubuna benzerliğini açıklayabilir.

Agregasyon çalışmalarında sonuçlar genellikle agregasyon grafiğinin maksimum değeri üzerinden değerlendirilir. Çalışmamızda elde edilen agregasyon ölçümleri agregometrenin yazılımı ile bilgisayarda ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir. Maksimum agregasyonla birlikte değerlendirilen diğer parametreler çalışmanın gücünü artırmıştır (Şekil 14).

Denek sayısının 1 mT sitrat/heparin gruplarındaki (n=30) yeterliliği çalışmanın gücünü arttıran bir diğer faktördür. İstatistiksel değerlendirme hem parametrik (eşleştirilmiş t-test) hem de parametrik olmayan testlerle (Wilcoxon sıra toplamları testi) yapılmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların, genel bir başlık olarak hemostaz üzerine etkilerine dair, literatürde çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Caprani ve arkadaşları, PGI₂ ve TxA₂ sekresyonu üzerine yaptıkları ilk çalışmalarını tromboembolik riskin artışı yönünde, ikinci çalışmalarını trombo-hemorajik dengenin değiştiği yönünde yorumlamışlardır (13, 14). Doğrudan trombosit agregasyonu ve koagülasyon faktörleri üzerine yapılmış bir kaç çalışma 1980’li yıllarda, Polonya dergilerinde yayınlanmıştır (20, 21, 22, 23). Bu çalışmalarda deney hayvanlarına statik manyetik alan uygulanmış ve akabinde trombositler ve koagülasyon üzerine testler yapılmıştır. Yalnızca özetlerine ulaşılabilen bu makalelerde statik manyetik alanın trombositleri ve koagülasyonu aktive ettiğini gösteren bulgular vardır. Bugüne kadar çok az araştırılmış olan bu konuda gerçekleştirdiğimiz kendi çalışmamız ilgi uyandırıcı sayılabilir. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik etkilerinin araştırılmasında trombositler yeni bir alan oluşturabilir.

Epidemiyolojik çalışmalarda kanserle ilişkilendirilen, hücre kültürü çalışmalarında kokarsinojen olarak adlandırılan çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar, sonuçta IARC tarafından olası karsinojen faktör olarak sınıflandırılmıştır. Zararlı etkilerinin araştırılmasının yanı sıra, elektromanyetik alanların olumlu etkilerinden de yıllardır yararlanılmakta ve yeni çalışmalarla insanlığın yararına olabilecek yönleri keşfedilmektedir.

Fizik tedavide özellikle ağrının giderilmesinde ve ortopedi de kemik kırıklarının iyileştirilmesinde noniyonizan elektromanyetik alanlar çok eskiden beri kullanılmaktadır (29, 42, 52). Son çalışmalarda nöral kök hücrelerinin ve kardiyak kök hücrelerinin diferansiyasyonunda çok düşük frekanslı ve zayıf manyetik alanların kullanılması, büyük ilgi uyandırmıştır (18, 55). Nötrofil ve lenfositlerin çok düşük frekanslı elektromanyetik alanlar ile polarize hale getirilmeleri, bağışıklık sistemini güçlendirmek gibi düşüncelerin doğmasına sebep olmuştur (61, 62, 70). Manyetik alanların insülin sekresyonunu azaltması, bunlardan çeker hastalığının tedavisinde de yararlanılabileceğini düşündürmektedir (63, 64). Ayrıca, manyetik alanların anjiogenez sürecini uyardığı ve yara iyileşmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (49, 53, 77).

Yararlarıyla ve zararlarıyla etki mekanizmaları tam olarak bilinmeyen elektromanyetik alanların insanlığı bir süre daha meşgul edeceği ileri sürülebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Frekansı 50 Hz, şiddeti 1 mT olan manyetik alanın, 1.5 saat süreyle, koagülasyonu sitratla önlenmiş TZP örneklerine uygulanması, kollajen ile uyarılan agregasyon grafiğinin eğimini ve maksimum agregasyonunu anlamlı olarak arttırmıştır. ADP ve epinefrin ile uyarılan agregasyonlarda, koagülasyonu heparinle önlenmiş veya 6 mT şiddetinde manyetik alan uygulanan gruplarda herhangi bir farklılığa rastlanmamıştır. Sonuç olarak, 1 mT-Sitrat grubunda kollajenle uyarılan agregasyonda meydana gelen bu farklılık, kollajenin aktivasyon yolağı olan tirozin kinazların ve PLC γ 2'nin, uygulanan manyetik alandan etkilenmiş olduğunu düşündürmektedir.

Öneriler

- 1- Trombosit fonksiyonlarını ölçen farklı yöntemlerle, çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların trombositler üzerindeki etkileri değerlendirilebilir.
- 2- Trombositlerde tirozin kinazların ve PLC γ 2'nin aktivasyonunu değerlendirebilecek yöntemlerle manyetik alanın etkileri değerlendirilebilir.
- 2- Etkinin gözlemlendiği manyetik alan şiddet değerleri, manyetik alan uygulama süreleri ve 50 Hz dışındaki frekans değerleri araştırılabilir.
- 3- Manyetik alan uygulandıktan sonra etkisinin ne kadar süre ile devam ettiği araştırılabilir.
- 4- Manyetik alanın neden sitrat grubunda etki edip heparin grubunda etki etmediği araştırılabilir.

5- Agregasyon ölçölürken uygulanabilecek manyetik alanın, agregasyon üzerindeki etkisi değlerlendirilebilir.

6- Yüksek şiddetli manyetik alanlar elde etmek için Helmholtz bobindeki ısınma problemi giderilmelidir.

6. ÖZET

ÇOK DÜŞÜK FREKANSLI VE ZAYIF ELEKTROMANYETİK ALANLARIN TROMBOSİT AGREGASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Teknolojik gelişmelerle birlikte her geçen gün daha fazla maruz kaldığımız elektromanyetik alanların biyolojik sistemler üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Özellikle membrandan kalsiyum akımını değiştirmeleri ve bazı enzimlerin aktivitelerine etkileri, birçok farklı hücre üzerinde gösterilmiştir. Bu çalışmada 1 mT ve 6 mT şiddetindeki, 50 Hz frekanslı manyetik alanların, trombositlerin agregasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır.

Sağlıklı gönüllülerden sitratla veya heparinle koagülasyonu önlenmiş kan örnekleri alındı. Bu örnekler 200 G'de 10 dk. santrifuj edilerek trombositten zengin plazma örnekleri hazırlandı. İki eşit kısma ayrıldı. Bir kısım, Helmholtz bobinde 1.5 saat süreyle 1 mT şiddetinde veya 1 saat süreyle 6 mT şiddetinde, 50 Hz frekanslı manyetik alana maruz bırakıldı. Diğer kısım kontrol grubu oldu. Manyetik alan ve kontrol grubu trombositten zengin plazma örnekleri aynı anda modifiye edilmiş optik agregometrede değerlendirildi. Optik agregometredeki modifikasyon, trombositten zengin plazma örneğini karıştıran mıknatıs düzeneğini elimine etmek amacıyla yapıldı. Agregasyonu uyarıcı ajan olarak ADP, kollajen ve epinefrin kullanıldı. Agregasyon grafiklerinin eğimleri, maksimum değerleri ve eğri altında kalan alanları, kontrol ve manyetik alan grupları arasında karşılaştırıldı.

Dört grup oluşturuldu [1 mT-Heparin (n=30), 1 mT-Sitrat (n=30), 6 mT-Heparin (n=10), 6 mT-Sitrat (n=10)]. Yalnızca 1 mT-Sitrat grubunda etki gözlemlendi.

Manyetik alanın kollajen ile uyarılan agregasyonda, agregasyon grafiğinin eğimini ve maksimum değerini anlamlı olarak arttırdığı bulundu.

Trombosit agregasyonunu uyarmak için kullandığımız ajanların, trombositleri aktive ettikleri yollar çok iyi bilinmektedir. Her üç uyarıcı ajanda farklı yollar üzerinden intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu artırır ve protein kinazları aktive eder. Kollajenin ADP ve epinefrinden farklı tirozin kinazlar üzerinden fosfolipaz C_γ'yi aktive etmesidir. Uygulanan manyetik alanın tirozin kinaz ve fosfolipaz C_γ aktivasyonuna neden olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: elektromanyetik alanlar, trombosit agregasyonu, optik agregometre

7. ABSTRACT

THE EFFECTS OF EXTREMELY LOW FREQUENCY AND WEAK ELECTROMAGNETIC FIELDS ON PLATELET AGGREGATION

It is long known fact that the electromagnetic fields that we are exposed to have effects on biological systems. Especially effects such as changes in transmembrane calcium fluxes and some enzymatic activities have been reported for many different cell types. The aim of this study is to investigate the effects of 1 mT and 6 mT, 50 Hz magnetic fields on platelet aggregation.

Blood taken from healthy volunteers was anticoagulated with either citrate or heparin. The platelet rich plasma acquired through centrifuging the anticoagulated whole blood at 200 G for 10 minutes was portioned into two equal parts. One part was exposed to 1 mT, 50 Hz magnetic field for 1.5 hours or 6 mT, 50 Hz magnetic field for 1 hour using a Helmholtz coil, and the other part was used as the control. The platelet rich plasma samples from both groups were evaluated using a modified optical aggregometer. An external mixer was designed and implemented instead of the aggregometer's own plasma mixing system which used small magnets, to eliminate the possible effects of the magnetic fields from the small magnets. ADP, collagen and epinephrine were used as the aggregation inducing agents. The slopes of the aggregation curves, the maximum aggregation values and the areas under the aggregation curves were calculated and compared for the exposure and control groups.

Four groups were formed [1 mT-Heparin (n=30), 1 mT-Citrate (n=30), 6 mT-Heparin (n=10), 6 mT-Citrate (n=10)]. Only in the 1 mT-Citrate group an effect was observed. It was found that exposure to magnetic fields increased collagen induced aggregation parameters: slopes of the aggregation curves and the maximum aggregation values.

The pathways through which the inducing agents we have used activate platelets are well known. Each of the three inducing agents increase intracellular calcium levels and activate protein kinases through different pathways. Collagen as opposed to ADP and epinephrine activates phospholipase C_γ through tyrosine kinases. It is conceivable that magnetic field exposure leads to the activation of tyrosine kinases and phospholipase C_γ .

Keywords: electromagnetic fields, platelet aggregation, optical aggregometer

8. KAYNAKLAR

- 1- Ahlbom, A., and Feychting, M. (2003). Electromagnetic Radiation. *Brit Med Bull*, 68: 157–165.
- 2- Aksoy, M., Bal, S., Yağız, H. ve ark. (2006). ÖSS Fizik II, Güvender Yayınları, İstanbul, s: 12–557.
- 3- Andriola Silva, A.K., Silva, E.L., Egito, E.S.T., and Carrico, A.S. (2006). Safety concerns related to magnetic field exposure. *Radiat Environ Bioph*, 45: 245–252.
- 4- Avundukluoğlu, M.A. (2007). Fizik Terimleri Sözlüğü, Ötüken Neşriyat, İstanbul.
- 5- Baureus Koch, C.L.M., Sommarin, M., Persson, B.R.R., Salford, L.G., and Eberhardt, J.L. (2003). Interaction Between Weak Low Frequency Magnetic Fields and Cell Membranes. *Bioelectromagnetics*, 24: 395–402.
- 6- Blank, M. (2005). Do Electromagnetic Fields Interact With Electrons in the Na,K-ATPase? *Bioelectromagnetics*, 26: 677-683.
- 7- Blank, M. (2008). Protein and DNA Reactions Stimulated by Electromagnetic Fields. *Electromagn Biol Med*, 27: 3–23.
- 8- Blank, M., and Goodman, R. (1997). Do Electromagnetic Fields Interact Directly With DNA? *Bioelectromagnetics*, 18: 111–115.
- 9- Blank, M., and Goodman, R. (1999). Electromagnetic Fields May Act Directly on DNA. *J Cell Biochem* 75: 369–374.
- 10- Blank, M., and Goodman, R. (2004). Initial Interactions in Electromagnetic Field-Induced Biosynthesis. *J Cell Physiol*, 199: 359–363.

- 11- Blank, M., and Goodman, R. (2008). A Mechanism for Stimulation of Biosynthesis by Electromagnetic Fields: Charge Transfer in DNA and Base Pair Separation. *J Cell Physiol*, 214: 20–26.
- 12- Breddin, H.K. (2005). Can platelet aggregometry be standardized? *Platelets*, 16(3/4): 151–158.
- 13- Caprani, A., Richert, A., and Flaud, P. (2004). Experimental Evidence of a Potentially Increased Thrombo-Embolic Disease Risk by Domestic Electromagnetic Field Exposure. *Bioelectromagnetics*, 25: 313–315.
- 14- Caprani, A., Richert, A., Guglielmi, J.P., and Flaud, P. (2008). Preliminary Study of Pulsed-Electromagnetic Fields Effects on Endothelial (HUVEC) Cell Secretions—Modulation of the Thrombo-Hemorrhagic Balance. *Electromagn Biol Med*, 27: 386–392.
- 15- Dibirdik, I., Kristupaitis, D., Kurosaki, T., et all. (1998). Stimulation of Src Family Protein-tyrosine Kinases as a Proximal and Mandatory Step for SYK Kinase-dependent Phospholipase C γ 2 Activation in Lymphoma B Cells Exposed to Low Energy Electromagnetic Fields. *J Biol Chem*, 273 (7): 4035–4039.
- 16- Ding, G.R., Yaguchi, H., Yoshida, M., and Miyakoshi, J. (2000). Increase in X-Ray-Induced Mutations by Exposure to Magnetic Field (60 Hz, 5 mT) in NF-kB-Inhibited Cells. *Biochem Bioph Res Co*, 276: 238–243.
- 17- Ding, G.R., Nakahara, T., Hirose, H., et all. (2004). Extremely low frequency magnetic fields and the promotion of H₂O₂-induced cell death in HL-60 cells. *Int J Radiat Biol*, 80 (4): 317–324.
- 18- Gaetani, R., Ledda, M., Barile, L., et all. (2009). Differentiation of human adult cardiac stem cells exposed to extremely low-frequency electromagnetic fields. *Cardiovasc Res*, 82: 411–420.

- 19- Ganong, W.F. (2003). Review of Medical Physiology, 21st Ed. McGraw-Hill, New York.
- 20- Gorczyńska, E., and Wegrzynowicz, R. (1983). Effect of the magnetic field on the process of blood coagulation in guinea pigs. *Physiol Chem Phys Med NMR*, 15(6): 459-468.
- 21- Gorczyńska, E. (1986). Dynamics of the thrombolytic process under conditions of a constant magnetic field. *Clin Phys Physiol Meas*, 7(3): 225-235.
- 22- Gorczyńska, E. (1986). The effect of static magnetic field on fibrinogen degradation products level in rabbits with thrombosis. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*, 30(3): 269-273.
- 23- Gorczyńska, E. (1988). Fibrinolytical processes in rabbits activated by the magnetic field. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*, 32(4): 391-396.
- 24- Gölfert, F., Hofer, A., Thümmel, M., Bauer, H., and Funk, R.H.W. (2001). Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields and Heat Shock Can Increase Microvesicle Motility in Astrocytes. *Bioelectromagnetics*, 22: 71–78.
- 25- Grassi, C., D'Ascenzo, M., Torsello, A., et al. (2004). Effects of 50 Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca^{2+} channels and their role in modulation of neuroendocrine cell proliferation and death. *Cell Calcium*, 35: 307–315.
- 26- Greer, J.P., Foerster, J., and Lukens, J.N. eds. (2003). Wintrobe's Clinical Hematology, 11th Ed. Lippincott Williams & Wilkins.
- 27- Gresele, P., Page, C.P., Fuster, V., and Vermeylen, J. eds. (2002). Platelets, in Thrombotic and Non-thrombotic Disorders: Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics. Cambridge University Press, Cambridge.

- 28- Gurney, J.G., and Wijngaarden, E. (1999). Extremely low frequency electromagnetic fields (EMF) and brain cancer in adults and children: Review and comment. *Neuro-Oncology*, 1: 212–220.
- 29- Hannouche, D., Petite, H., and Sedel, L. (2001). Current Trends In The Enhancement Of Fracture Healing. *J Bone Joint Surg [Br]*, 83-B(2): 157-164.
- 30- Hoffman, R., Benz, E.J., Shattil, S.J., et all, eds. (2005). Hoffman: Hematology: Basic Principles and Practice. 4th ed. Elsevier, Philadelphia.
- 31- IARC. (2002). Non-ionizing radiation. Part I. Static and extremely low-frequency electric and magnetic fields. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 80: 1–395.
- 32- ICNIRP (International Commission for Non-Ionizing Radiation Protection) Standing Committee on Epidemiology: Ahlbom, A., Cardis, E., Green, A., et all. (2001). Review of the Epidemiologic Literature on EMF and Health. *Environ Health Perspect*, 109 (suppl 6): 911–933.
- 33- Jarvis, G.E. (2004).Platelet Aggregation: Turbidimetric Measurements. In: Gibbins, J.M., Mahaut-Smith, M.P., eds. Platelets and Megakaryocytes: Volume 1, Functional Assays. Humana Pres, New Jersey; s: 65–76.
- 34- Javor, E.R., and Anderson, T. (1998). Design of a Helmholtz Coil For Low Frequency Magnetic Field Susceptibility Testing. *IEEE*, 4: 912–917.
- 35- Kheifets, L., and Shimkhada, R. (2005) Childhood Leukemia and EMF: Review of the Epidemiologic Evidence. *Bioelectromagnetics (suppl.)*, 7: 51–59.
- 36- Koyama, S., Nakahara, T., Hirose, H., et all. (2004). ELF electromagnetic fields increase hydrogen peroxide (H₂O₂)-induced mutations in pTN89 plasmids. *Mutat Res-Gen Tox En*, 560: 27–32.

- 37- Koyama, S., Nakahara, T., Sakurai, T., et al. (2005). Combined Exposure of ELF Magnetic Fields and X-rays Increased Mutant Yields Compared with X-rays Alone in pTN89 Plasmids. *J Radiat Res*, 46: 257–264.
- 38- Koyama, S., Sakurai, T., Nakahara, T., and Miyakoshi, J. (2008). Extremely low frequency (ELF) magnetic fields enhance chemically induced formation of apurinic/aprimidinic (AP) sites in A172 cells. *Int J Radiat Biol*, 84 (1): 53 – 59.
- 39- Kristupaitis, D., Dibirdik, I., Vassilev, A., et al. (1998). Electromagnetic Field-induced Stimulation of Bruton's Tyrosine Kinase. *J Biol Chem*, 273 (20): 12397–12401.
- 40- Lai, H., and Singh, N.P. (2004). Magnetic-Field-Induced DNA Strand Breaks in Brain Cells of the Rat. *Environ Health Perspect*, 112: 687–694.
- 41- Liburdy, R.P. (1992). Calcium signaling in lymphocytes and ELF fields: Evidence for an electric field metric and a site of interaction involving the calcium ion channel. *FEBS Lett*, 301 (1): 53–59.
- 42- Markov, M.S. (2007). Magnetic Field Therapy. *Electromagn Biol Med*, 26: 1–23.
- 43- McCreary, C.R., Thomas, A.W., and Prato, F.S. (2002). Factors Confounding Cytosolic Calcium Measurements in Jurkat E6.1 Cells During Exposure to ELF Magnetic Fields. *Bioelectromagnetics* 23: 315–328.
- 44- McCreary, C.R., Dixon, S.J., Fraher, L.J., et al. (2006). Real-Time Measurement of Cytosolic Free Calcium Concentration in Jurkat Cells During ELF Magnetic Field Exposure and Evaluation of the Role of Cell Cycle. *Bioelectromagnetics*, 27: 354–364.
- 45- McKay, J.C., Prato, F.S., and Thomas, A.W. (2007). A Literature Review: The Effects of Magnetic Field Exposure on Blood Flow and Blood Vessels in the Microvasculature. *Bioelectromagnetics*, 28: 81–98.

- 46- McKinney, P.A. (2005). Central Nervous System Tumours in Children: Epidemiology and Risk Factors. *Bioelectromagnetics (suppl.)*, 7: 60–68.
- 47- Michelson, A.D. ed. (2007). Platelets, Second Edition. Elsevier, Philadelphia.
- 48- Miyakoshi, J., Koji, Y., Wasaka, T., and Takebe, H. (1999). Long-term Exposure to a Magnetic Field (5 mT at 60 Hz) Increases X-ray-induced Mutations. *J Radiat Res*, 40: 13–21.
- 49- Monache, S.D., Alessandro, R., Iorio, R., et al. (2008). Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields (ELF-EMFs) Induce InVitro Angiogenesis Process in Human Endothelial Cells. *Bioelectromagnetics*, 29: 640-648.
- 50- Morelli, A., Ravera, S., Panfoli, I., and Pepe, I.M. (2005). Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on membrane-associated enzymes. *Arch Biochem Biophys*, 441: 191–198.
- 51- NRPB, (National Radiological Protection Board). (2001). ELF Electromagnetic Fields and the Risk of Cancer: Report of an Advisory Group on Non-ionizing Radiation. Vol: 12, No:1.
- 52- Odell, R.H., and Sorgnard, R.E. (2008). Anti-inflammatory Effects of Electronic Signal Treatment. *Pain Physician*, 11: 891-907.
- 53- Patruno, A., Amerio, P., Pesce, M., et al. (2009). Extremely low frequency electromagnetic fields modulate expression of inducible nitric oxide synthase, endothelial nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in the human keratinocyte cell line HaCat: potential therapeutic effects in wound healing. *Brit J Dermatol*, 2009 DOI 10.1111/j.1365-2133.2009.09527.x.
- 54- Payzın, S. (2006). Antitrombotikler (Antitrombin tedavisi). *Anadolu Kardiyol Derg*, 6 (1): 20-24.

- 55- Piacentini, R., Ripoli, C., Mezzogori, D., Azzena, G.B., and Grassi, C. (2008). Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields Promote In Vitro Neurogenesis Via Upregulation of Cav1-Channel Activity. *J Cell Physiol*, 215: 129–139.
- 56- Portaccio, M., De Luca, P., Durante, D., et all. (2003). InVitro Studies of the Influence of ELF Electromagnetic Fields on the Activity of Soluble and Insoluble Peroxidase. *Bioelectromagnetics*, 24: 449–456.
- 57- Portaccio, M., De Luca, P., Durante, D., et all. (2005). Modulation of the Catalytic Activity of Free and Immobilized Peroxidase by Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields: Dependence on Frequency. *Bioelectromagnetics*, 26: 145–152.
- 58- Ravera, S., Repaci, E., Morelli, A., et all. (2004). Electromagnetic field of extremely low frequency decreased adenylate kinase activity in retinal rod outer segment membranes. *Bioelectrochemistry*, 63: 317– 320.
- 59- Ravera, S., Repaci, E., Morelli, A., et all. (2004). Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields on the Adenylate Kinase Activity of Rod Outer Segment of Bovine Retina. *Bioelectromagnetics* 25: 545–551.
- 60- Repacholi, M.H., and Greenebaum, B. (1999). Interaction of Static and Extremely Low Frequency Electric and Magnetic Fields with Living Systems: Health Effects and Research Needs. *Bioelectromagnetics*, 20: 133–160.
- 61- Robertson, J.A., Thomas, A.W., Bureau, Y., and Prato, F.S. (2007). The Influence of Extremely Low Frequency Magnetic Fields on Cytoprotection and Repair. *Bioelectromagnetics*, 28:16-30.

- 62- Rosenspire, A.J., Kindzelskii, A.L., Simon, B.J., and Petty, H.R. (2005). Real-Time Control of Neutrophil Metabolism by Very Weak Ultra-Low Frequency Pulsed Magnetic Fields. *Biophys J*, 88: 3334–3347.
- 63- Sakurai, T., Satake, A., Sumi, S., et all. (2004). An Extremely Low Frequency Magnetic Field Attenuates Insulin Secretion From the Insulinoma Cell Line, RIN-m. *Bioelectromagnetics*, 25: 160–166.
- 64- Sakurai, T., Koyama, S., Komatsubara, Y., et all. (2005). Decrease in glucose-stimulated insulin secretion following exposure to magnetic fields. *Biochem Bioph Res Co*, 332: 28–32.
- 65- Salamino, F., Minafra, R., Grano, V., et all. (2006). Effect of Extremely Low Frequency Magnetic Fields on Calpain Activation. *Bioelectromagnetics*, 27: 43–50.
- 66- Schüz, J., Svendsen, A.L., Linet, M.S., et all. (2007). Nighttime Exposure to Electromagnetic Fields and Childhood Leukemia: An Extended Pooled Analysis. *Am J Epidemiol*, 166: 263–269.
- 67- Selmaoui, B., Bogdan, A., Auzaby, A., et all. (1996). Acute Exposure to 50 Hz Magnetic Field Does Not Affect Hematologic or Immunologic Functions in Healthy Young Men: A Circadian Study. *Bioelectromagnetics*, 17: 364–372.
- 68- Serway, R.A., and Beichner, R.J. eds, (2002). Fen ve Mühendislik İçin Fizik: Elektrik ve Manyetizma – Işık ve Optik – 2, Palme Yayıncılık, Ankara, s: 708–1103.
- 69- Seyhan, N., and Güler, G. (2006). Review of In Vivo Static and ELF Electric Fields Studies Performed at Gazi Biophysics Department. *Electromagn Biol Med*, 25: 307–323.

- 70- Simko, M., and Mattsson, M. (2004). Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields as Effectors of Cellular Responses in Vitro: Possible Immune Cell Activation. *J Cell Biochem*, 93: 83–92.
- 71- Sul, A.R., Park, S.N., and Suh, H. (2006). Effects of Sinusoidal Electromagnetic Field on Structure and Function of Different Kinds of Cell Lines. *Yonsei Med J*, 47 (6): 852 – 861.
- 72- Testa, A., Cordelli, E., Stronati, L., et all. (2004). Evaluation of Genotoxic Effect of Low Level 50 Hz Magnetic Fields on Human Blood Cells Using Different Cytogenetic Assays. *Bioelectromagnetics*, 25: 613–619.
- 73- Touitou, Y., Bogdan, A., Lambrozo, J., and Selmaoui, B. (2006). Is melatonin the hormonal missing link between magnetic field effects and human diseases? *Cancer Cause Control*, 17: 547–552.
- 74- Vallejo, D., Torre, M., Sanz, P., and Picazo, M.L. (2003). Effects of Extremely Low Frequency Magnetic Fields on Blood Coagulation in Mice: An Initial Study. *Electromagn Biol Med*, 22: 133–147.
- 75- Varani, K., Gessi, S., Merighi, S., et all. (2002). Effect of low frequency electromagnetic fields on A_{2A} adenosine receptors in human neutrophils. *Brit J Pharmacol*, 136, 57–66.
- 76- Varani, K., Gessi, S., Merighi, S., et all. (2003). Alteration of A₃ adenosine receptors in human neutrophils and low frequency electromagnetic fields. *Biochem Pharmacol*, 66: 1897–1906.
- 77- Vianale, G., Reale, M., Amerio, P., et al. (2008). Extremely low frequency electromagnetic field enhances human keratinocyte cell growth and decreases proinflammatory chemokine production. *Brit J Dermatol*, 158: 1189–1196.

- 78- Vijayalaxmi, and Obe, G. (2005). Controversial Cytogenetic Observations in Mammalian Somatic Cells Exposed to Extremely Low Frequency Electromagnetic Radiation: A Review and Future Research Recommendations. *Bioelectromagnetics*, 26: 412-430.
- 79- Villarini, M., Moretti, M., Scassellati-Sforzolini, G., et all. (2006). Effects of co-exposure to extremely low frequency (50 Hz) magnetic fields and xenobiotics determined in vitro by the alkaline comet assay. *Sci Total Environ*, 361: 208–219.
- 80- Volpe, P. (2003). Interactions of zero-frequency and oscillating magnetic fields with biostructures and biosystems. *Photoch Photobio Sci*, 2: 637–648.
- 81- Volpe, P., and Eremenko, T. (2007). Mechanisms of the target response to magnetic fields and their correlation with the biological complexity. *Environmentalist*, 27: 387–393.
- 82- Walleczek, J., and Budinger, T.F. (1992). Pulsed magnetic field effects on calcium signaling in lymphocytes: dependence on cell status and field intensity. *FEBS Lett*, 314 (3): 351–355.
- 83- Wertheimer, N., and Leeper, E. (1979). Electrical wiring configurations and childhood cancer. *Am J Epidemiol*, 109(3): 273–284.
- 84- Yamazaki, K., Fujinami, H., Shigemitsu, T., and Nishimura, I. (2000). Low Stray ELF Magnetic Field Exposure System for InVitro Study. *Bioelectromagnetics*, 21: 75–83.
- 85- http://en.wikipedia.org/wiki/Adenylate_kinase
- 86- http://en.wikipedia.org/wiki/Cyclic_adenosine_monophosphate
- 87- http://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_spectrum
- 88- http://en.wikipedia.org/wiki/Helmholtz_coil

- 89- http://en.wikipedia.org/wiki/Maxwell's_equations
- 90- <http://en.wikipedia.org/wiki/Shark#Electroreception>
- 91- <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/crthgr02b.php>
- 92- <http://physicsx.pr.erau.edu/HelmholtzCoils/index.html>
- 93- <http://www.who.int/peh-emf/en/>

ÖZGEÇMİŞ

22.09.1974 tarihinde Eskişehir’de doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Eskişehir’de tamamladım. 1997 yılında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi’nden mezun oldum. Kasım–1997, Ocak–2001 tarihleri arasında Isparta’nın Yenişarbademli İlçesi ve Sütçüler/Kesme Kasabasında sağlık ocağı hekimliği yaptım. Şubat–2001, Şubat–2004 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda Fizyoloji Uzmanlığımı “Kardiyovasküler Hastalarda Antitrombotik Tedaviye Yanıtın Optik Agregometre ve PFA–100 ile İncelenmesi” isimli tezimle tamamladım. Ağustos–2004, Temmuz–2005 tarihleri arasında Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda askerlik görevimi yerine getirdim. 2003–2004 öğretim yılı bahar döneminde, Uludağ Üniversitesi adına, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı’nda Biyofizik doktorası yapmaya başladım.

Türk Biyofizik Derneği üyesiyim. Evliyim, Pelin isminde bir kızım var.