

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELEKTROMANYETİK ALANLARIN MYOKARD
VE AORT ÜZERİNE ULTRASTRÜKTÜREL,
APOPİTOTİK VE OKSİDATİF ETKİLERİ**

HAMİD TAYEFİ NASRABADİ

ANATOMİ DOKTORA TEZİ

İZMİR- 2009

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELEKTROMANYETİK ALANLARIN MYOKARD
VE AORT ÜZERİNE ULTRASTRÜKTÜREL,
APOPİTOTİK VE OKSİDATİF ETKİLERİ**

ANATOMİ DOKTORA TEZİ

HAMİD TAYEFİ NASRABADI

Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Amaç KIRAY

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2005.KB.SAG.070 sayı ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
TABLO LİSTESİ	VI
ŞEKİL LİSTESİ	VII
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	1
YABANCI DİLDE ÖZET	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. TARİHÇE.....	5
2.2. ELEKTROMANYETİK ALAN.....	5
2.2.1. Elektromanyetik Alan Oluşumunu Açıklayan Temel Teoriler.....	6
2.2.1.1. Helmholtz Teorisi:.....	6
2.2.1.2. Selenoid Boru Teorisi.....	6
2.2.2. Frekanslara Göre Elektromanyetik Alanlar.....	6
2.2.3. Elektromanyetik Alanların Ölçü Birimleri.....	7
2.2.4. Elektromanyetik Dalgalar.....	7
2.2.5. Elektromanyetik Spektrum	8
2.2.6. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Sistemler Üzerindeki Genel Etkileri.....	8
2.2.6.1. EMA'ya Maruz Kalan İnsanlar Üzerinde Yapılan Araştırmalar.....	8
2.2.6.2. Deney Hayvanları Üzerinde Yapılan Araştırmalar.....	10
2.2.6.3. EMA'nın Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkilerini İnceleyen Araştırmalar.....	11
2.2.7. Elektromanyetik Alanların Canlılar Üzerindeki Olası Etki Mekanizmaları.....	12
2.3. SERBEST RADİKALLER	13
2.3.1. Serbest Radikaller Teorisi	13
2.3.2. Serbest Radikallerin Tanımı ve Yapısı	14
2.3.3. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri	15
2.3.3.1. Oksijen Merkezli Serbest Radikaller	15
2.3.3.2. Oksijen Merkezli Olmayan Serbest Radikaller	15

2.3.3.3. Radikal Olmayan Reaktif Oksijen Türleri.....	15
2.3.4. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	15
2.3.4.1. Endojen Kaynaklar.....	16
2.3.4.1.1. Mitokondrial Ve Endoplazmik Retikulum Elektron Transport Zinciri.....	16
2.3.4.1.2. Nötrofil Fagositoz Sistemi.....	16
2.3.4.1.3. Ksantin Oksidaz Sistemi.....	17
2.3.4.1.4. Araşidonik Asit Metabolizması.....	17
2.3.4.1.5. Enzimatik Olmayan Reaksiyonlar.....	17
2.3.4.2. Eksojen Kaynaklar.....	17
2.3.5. Serbest Radikaller ile Oluşan Hüresel Hasarlar.....	18
2.3.5.1. Lipid Peroksidasyonu.....	18
2.3.5.2. Dna Ve Serbest Radikal Hasarı.....	18
2.3.5.3. Proteinler Ve Serbest Radikal Hasarı.....	19
2.3.5.4. Karbonhidratlar Ve Serbest Radikal Hasarı.....	19
2.3.6. Antioksidan Savunma Mekanizmaları.....	19
2.3.6.1. Antioksidan Savunma Enzimleri.....	20
2.3.6.1.1. Süperoksid Dismutaz (Sod).....	20
2.3.6.1.2. Katalaz (Cat).....	21
2.3.6.1.3. Glutasyon Peroksidaz (Gpx).....	21
2.4. APOPİTOZ.....	22
2.4.1. İnsan Vücutunda Apopitozun Görüldüğü Durumlar.....	22
2.4.2. Apopitotik Hücre Ölümünün Aşamaları.....	23
2.4.2.1. Apopitozun Başlatılması.....	23
2.4.2.1.1. Hücre Dışından Kaynaklanan Sinyaller.....	24
2.4.2.1.2. Hücre İçinden Kaynaklanan Sinyaller.....	24
2.4.2.2. Hücre İçi Proteazların Aktivasyonu.....	24
2.4.2.3. Hücrede Oluşan Biyokimyasal ve Morfolojik Değişiklikler.....	25
2.4.2.3.1. Biyokimyasal Değişiklikler.....	26
2.4.2.3.2. Morfolojik Değişiklikler.....	26

2.4.2.4. Fagositoz.....	26
2.4.2.5. Kalp'te Apoptoz.....	27
2.4.2.5.1. Kalp'te Apoptoza Yol Açan Mekanizmalar.....	27
2.4.2.6. Damarlarda Apoptoz.....	29
2.4.2.7. Manyetik Alanların Apoptozun İndüklenme Mekanizmalarına Etkileri.....	29
2.5. KALP VE AORTA'NIN ANATOMİSİ.....	30
2.5.1. KALP (Cor).....	30
2.5.1.1. Kalbin Dış Görünüşü ve Oluşumları.....	30
2.5.1.2. Kalbin İç Görünüşü ve Oluşumları.....	31
2.5.1.3. Kalp Duvarının Yapısı.....	31
2.5.2. AORTA.....	32
2.6. KALP VE AORTA'NIN HİSTOLOJİSİ.....	33
2.6.1. Kalp.....	33
2.6.1.1. Tunikalar.....	33
2.6.1.2. Fibröz İskelet.....	33
2.6.1.3. Kapakçıklar.....	34
2.6.1.4. Kalp Atımını Kontrol Eden Yapılar.....	34
2.6.1.5. Kalp Kası.....	34
2.6.2. Kan Damarlarının Genel Yapısı.....	36
2.6.2.1. Tabakalar.....	36
2.6.2.2. Arterler.....	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	39
3.2. EMA OLUŞTURULMASI.....	39
3.3. DOKU ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI.....	40
3.3.1. Işık Mikroskobu ile Doku Takibi.....	41
3.3.2. Cresyl Violet ile Boyama Yöntemi.....	41
3.3.3. TUNEL Tekniği ile Boyama.....	42
3.3.4. İndirekt İmmünohistokimya Yöntemi.....	42
3.4. HOMOJENİZASYON.....	43
3.5. ENZİM AKTİVİTELERİ VE MDA DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI.....	43

3.6. ELEKTRON MİKROSKOBU İLE İNCELEME.....	44
3.7. İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME.....	44
4. BULGULAR.....	45
5. TARTIŞMA.....	59
5.1. MDA DÜZEYLERİ.....	60
5.2. SOD VE GPX AKTİVİTELERİ.....	63
5.3.TUNEL VE CASPASE-3 BOYAMA YÖNTEMLERİ KULLANILARAK ELDE EDİLEN IŞIK MİKROSKOBU BULGULARI.....	65
5.4. ELEKTRON MİKROSKOBU BULGULARI.....	68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	73
7. KAYNAKLAR.....	75

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Yetişkin sıçanlarda intima, media kalınlıkları ve lamel sayısı....56

Tablo 2. Yavru sıçanlarda intima, media kalınlıkları ve lamel sayısı.....56

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Yetişkin MDA değerleri	45
Şekil 2. Yavru MDA değerleri	46
Şekil 3. SOD enzim aktiviteleri	47
Şekil 4. Yavru SOD enzim aktiviteleri	47
Şekil 5. GPx enzim aktiviteleri	48
Şekil 6. Yavru GPx enzim aktiviteleri	48
Şekil 7. TUNEL-pozitif hücre sayısı	51
Resim 1. H&E boyama.....	49
Resim 2. Yavru H&E boyama.....	49
Resim 3. TUNEL boyama.....	50
Resim 4. Yavru TUNEL boyama.....	50
Resim 5: Caspase-3 immunohistokimyasal boyama.....	51
Resim 6: Yavru Caspase-3 immunohistokimyasal boyama	52
Resim 7. Kontrol grubu kalp dokusu elektron mikroskopik görüntüleri.....	53
Resim 8. EMA grubu kalp dokusu elektron mikroskopik görüntüleri.....	53
Resim 9. Yavru kontrol grubu elektron mikroskopik görüntüleri.....	54
Resim 10. Yavru EMA grubu elektron mikroskopik görüntüleri.....	54
Resim 11. Aort H&E boyama.....	55
Resim 12. Yavru Aort H&E boyama.....	55
Resim 13. Kontrol grubu aort dokusu elektron mikroskopik görüntüleri.....	57
Resim 14. EMA grubu aort dokusu elektron mikroskopik görüntüleri.....	57
Resim 15. Yavru kontrol grubu aort elektron mikroskopik görüntüsü.....	58
Resim 16. Yavru EMA grubu aort elektron mikroskopik görüntüleri.....	58

KISALTMALAR

EMA:	Elektromanyetik alan
T:	Tesla
mT:	mili Tesla
μ T:	micro Tesla
Hz:	Hertz
MHz:	Mega Hertz
G:	Gauss
mG:	mili Gauss
V/m:	Volt/metre
SOD:	Süperoksit dismutaz
CAT:	Katalaz
GPx:	Glutasyon peroksidaz
GSH:	Glutasyon
GR:	Glutasyon redüktaz
MDA:	Malondialdehit
TBARS:	Thiobarbituric acid reactive substances
ROS:	Reaktif oksijen türleri
TNF:	Tümör nekroz faktörü
NO:	Nitrik oksit
PGI ₂ :	Prostacyclin
TxA ₂ :	Thromboxane A ₂
AV:	Atrioventriküler
EKG:	Elektrokardiyografi
Hsp:	Heat shock proteins
HE:	Hematoksilen Eozin
TUNEL:	Terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling
TEM:	Transmission Elektron Mikroskop
EM:	Elektron mikroskop

ÖZET

ELEKTROMANYETİK ALANLARIN MİYOKARD DOKUSUNDA ULTRASTRÜKTÜR, APOPİTOZİS VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİLERİ

Hamid Tayefi Nasrabadi

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD Balçova, İzmir

Günümüzde elektrik enerjisinin dağılımı ve kullanımı çok artmış olmasına bağlı olarak elektrik akımına eşlik eden Elektromanyetik Alana (EMA) maruz kalmaktan kaçınmak olanaksız hale gelmiştir. Bu çalışmanın amacı; prenatal ve yetişkin dönemde maruz kalınan EMA'nın sıçan kalp dokusundaki etkilerini biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirmektir.

Çalışmada yetişkin grubu için Wistar cinsi (250-300 g) erkek sıçanlar kullanıldı. Yavru grubu için 10 adet Wistar gebe sıçandan doğan yavrular kullanıldı. Sıçanlar sham (n=14), EMA (n=14), yavru-sham (n=20) ve yavru-EMA (n=30) olarak gruplandırıldı. Yetişkin sıçanlara 2 ay süreyle 4 saat/gün, 3 mT EMA uygulandı. Yavru sıçanlara intrauterin dönemde ve doğum sonrası 20 gün süreyle 4 saat/gün, 3 mT EMA uygulandı.

Yetişkin ve yavru EMA gruplarında kalp lipid peroksidasyonu seviyeleri sham gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri yetişkin ve yavru EMA gruplarında sham gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulundu. Yetişkin ve yavru EMA gruplarında apoptotik hücreler sham gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Elektron mikroskopik incelemede, mitokondriyel dejenerasyon, miyofibril kaybı, sarkoplazmik retikulumda dilatasyon ve perinükleer vakuolizasyon saptandı.

Sonuç olarak, bu çalışmanın bulguları EMA'nın miyokard dokusunda oksidatif stress, apoptozis ve morfolojik patolojiye neden olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlara göre, EMA'nın olumsuz etkilerinin oluşmasında serbest radikaller aracı olabilir.

Anahtar kelimeler: Elektromanyetik alan, kalp, oksidatif stress, apoptozis, ultrasutrüktür

SUMMARY

The Effects of Electromagnetic Fields on Oxidative Stress, Apoptosis and Ultrastructure of Rat Myocardium

Hamid Tayefi Nasrabadi

Dokuz Eylul University Medical School Department of Anatomy, Balçova, İzmir

Electromagnetic fields (EMF) have adverse effects due to widespread use of the electromagnetic energy on biological systems. The aim of this study was to investigate the effect of prenatal and postnatal exposure to EMF on rat myocardium by biochemical and histopathological evaluation.

In this study, adult Wistar male rats (250-300 g) were used for postnatal exposure to EMF. Ten pregnant Wistar rats were used for prenatal exposure of EMF. Rats were divided in four groups as follows; sham (n=14), EMF (n=14), infant-sham (n=20) and infant-EMF (n=30). Rats in EMF group were exposed to EMF of 3 mT, 4 h/day, 7 days/week for 2 months. The half of the pregnant rats was exposed to EMF of 3 mT, and the other half to sham condition during gestation. After parturition, rat pups in EMF-exposed five litter from birth until postnatal day 20 were exposed to EMF of 3 mT for 4 h/day, 7 days/week

In EMF-exposed groups, lipid peroxidation levels significantly increased compared to sham groups. Superoxide Dismutase and glutathione peroxidase activities decreased significantly in EMF-exposed groups compared to sham groups. TUNEL staining showed that the number of TUNEL positive cells increased significantly in EMF-exposed rats compared with sham. Under electron microscopy, there were mitochondrial degeneration, reduction in myofibrils, dilated sarcoplasmic reticulum and perinuclear vacuolization in EMF-exposed rats.

In conclusion, the results show that prenatal and postnatal exposure to EMF causes oxidative stress, apoptosis and morphologic pathology in myocardium of rats. The results of our study indicate a probable role of free radicals in the adverse effects of prenatal exposure to EMF. Further studies are needed to demonstrate whether the EMF exposure can induce adverse effects on rat myocardium.

Key words: Electromagnetic field, myocardium, oxidative stress, apoptosis, ultrastructure

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yüzyılda teknolojinin hızla gelişmesi ile birlikte günlük yaşam için gerekli olan birçok aktivite elektriğe bağımlı hale gelmiştir. Evlerde ve işyerlerinde pek çok işin yapılabilmesi için gerekli olan alet ve makineler elektrik enerjisi ile çalışmaktadır. Bu alanlarda kullanılan elektriğin frekansı 50- 60 Hz'dir. Bu frekanstaki bir elektriksel güç, bir elektromanyetik alan (EMA) meydana gelmesi için yeterlidir. EMA'ya maruz kalmak biyolojik sistemlerde yan etkiler oluşturarak istenmeyen sonuçlara neden olmaktadır (1,2,3,4,5,6). EMA'nın DNA ve nükleer kondensasyon üzerine olan etkisi, membran lipidlerini ve buna bağlı olarak iyon transportunu bozmasıdır (6,7,8). EMA hücre proliferasyonu, hücre siklusu, protein sentezi ve gen ekspresyonu gibi birçok temel hücre fonksiyonu etkilemektedir (2,6). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, yoğun elektrik kullanımına bağlı alanlarda iş yapanlarda, EMA maruziyeti sonucu lösemi ve beyin kanseri vakalarında artış olduğunu göstermiştir. EMA'ya maruz kalan insanlarda, spontan abortus, düşük doğum ağırlığı ve konjenital malformasyonlar görülmektedir. Bunların nedeni EMA'nın, embriyo morfogenezisi, hücre proliferasyonu farklılaşması ve apoptozis üzerine olan etkileridir (8). EMA'nın hücre davranışlarını etkileyen mekanizmalarından birisi, hücre membran yapısını ve membranın küçük moleküllere olan geçirgenliğini etkilemesidir. Diğer mekanizma, kimyasal reaksiyonları etkileyerek serbest radikal üretimini artırmasıdır (8,9). Serbest radikaller aerobik hücrelerde metabolik süreçlerle üretilir; lipit, protein, karbonhidrat, DNA gibi hücre içi biyomoleküllerin oksidasyonuna yol açar. Sonuçta hücre fonksiyonlarda istenmeyen değişimler ortaya çıkar. Biyomembranların içerdiği doymamış lipidlerin oksidatif değişimi, lipidlerin peroksidasyonunu ve ardışık degradasyonunu başlatır. Sonuçta hücre membranının yapısal bütünlüğü bozulur. Serbest radikaller biyolojik sistemlerde antioksidan enzimler tarafından temizlenir. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, süperoksit anyonunu elimine eder. Katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX), hidrojen peroksiti temizler (9, 10). EMA'nın, farklı mekanizmalar sayesinde, tüm organlar üzerine etkisi olabilmektedir. EMA maruziyetine bağlı olarak, kardiyovasküler sistemin etkilendiğini ve kardiyovasküler nedenli mortalite oranlarının arttığını gösteren literatür sınırlı sayıda (11). Bunun yanında EMA'nın kardiyovasküler sisteme ait yapıların morfolojisi üzerine olan etkilerini gösteren çalışmalar da azdır (12).

EMA maruziyetinin neden olabileceği kardiyovasküler sonuçların belirlenmesi, EMA'nın kardiyovasküler sisteme ait yapıların morfolojisi üzerine olan etkilerini ortaya

koymanın yanı sıra, günümüzde maruziyetten kaçınmak mümkün olmadığı için çeşitli anti-apoptotik veya antioksidan destek yaklaşımlarının değerlendirilmesi açısından da önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı, postnatal ve ergin dönemdeki ratlarda, EMA'nın kalp ve damar yapıları üzerine olan etkilerini incelemektir. Bu amaçla, uzun süreli EMA'ya maruz bırakılan ratlarda, aort ve myokard dokusunun ince yapısı ve bu dokulardaki apoptotik değişiklikler incelenmiştir. Ayrıca myokard dokusunda lipid peroksidasyonu (MDA) düzeylerine ve antioksidan enzim aktivitelerine bakılarak, ortaya çıkan değişikliklere serbest radikal oluşumunun aracılık edip etmediği araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe:

Dünyanın doğal manyetik alanı (0.02-0.07 mT) ve doğal elektromanyetik radyasyonları, canlılığın evriminde doğal belirleyiciler olmuşlar ve canlı organizmalar bu koşullarla uyum içinde gelişmişlerdir. Ancak teknolojik gelişim doğal olmayan statik manyetik ve elektromanyetik alanlar yaratmıştır. Zaman içinde, bu alanların çevre koşulları ve canlılar üzerindeki etkileri önemli bir soru ve sorun haline gelmiştir.

Manyetizma; Yunanlılar, Çinliler ve Meksikalılar tarafından bulunduğu beri, birçok bilim adamı bu konuda hipotezler ortaya koymuş ve araştırmalar yapmıştır. EMA'nın canlılar üzerindeki etkisi, 1900'lü yılların başında d'Arsonval ve Tesla tarafından gösterilmiştir. Bu önemli gelişmeden sonra manyetik alanların tedavi amaçlı kullanılması konusunda araştırmalar yapılmıştır. 1960'lı yıllarda yapılan uzay çalışmaları, dünyanın yerçekiminin ve manyetik alanının yokluğunda veya yüksek şiddetteki manyetik alanların varlığında canlıların nasıl etkilendiğini araştıran çalışmalara ivme kazandırmıştır. 1970'li yıllarda, manyetik alanların kullanıldığı görüntüleme ve tanı cihazları geliştirilmeye başlanmış ve konu üzerinde yapılan araştırmalar artmıştır. 1980'li yıllarda, bazı tanı yöntemlerinde kullanılan iyonlaşma oluşturmeyen çok düşük frekanslı EMA'nın hastalar üzerinde olumsuz etkileri olabileceği düşünülmüş ve bu alanda ciddi araştırmalar yapılmıştır (13).

Teknolojinin gelişimi sonucu ortaya çıkan yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalar iyonlaşmaya yol açarak organizmada değişimlere neden olurlar. Yüksek gerilim hatları ağı, elektromanyetik iletişim sistemleri, elektrikli aletler, MR gibi tanı cihazları tarafından meydana gelen iyonlaşmaya veya ısınmaya yol açmayan çok düşük frekanslı (< 60 Hz) elektromanyetik dalgaların ve sabit manyetik alanların yan etkileri olabileceği kanısı 1980'lerden sonra gelişmiştir. Bir yandan bu alanların yaratabileceği çevre kirliliği kaygısı diğer yandan bu çok düşük frekanslı EMA'nın hücreyi nasıl etkilediğini sorgulayan bilimsel meraklar, bu alandaki araştırmaların gelişmesine yol açmıştır (13).

2.2. Elektromanyetik Alan:

Manyetik ve elektrik alanların kökenleri, her zaman yüklere bağlıdır. Elektrik alanı, bir gözlemciye göre duran yüklerin (parçacıkların) oluşturduğu bir alan çeşididir. Manyetik alan ise bir gözlemciye göre düzgün doğrusal (ivmesiz) hareket eden yüklerin oluşturduğu bir alandır. Faraday ve Maxwell, zamana bağlı olarak değişen manyetik alanın bir elektrik alan

oluşturacağını ve aynı zamanda, zamana bağlı olarak değişen elektrik alanın bir manyetik alan oluşturacağını buldular ve formüleştirdiler. Bu formüle göre, EMA aslında manyetik alanla elektrik alanın birleşmiş halidir. Bir elektron ya da hareketsiz yükü olan bir cisim kendi çevresinde bir elektrik alanı oluşturur. Elektronun ya da yüklü cismin sahip olduğu yük hareketli ise çevrede manyetik (mıknatıslı) bir alan oluşur. İşte bu iki alana birlikte elektromanyetik alan denir (14)

Elektrik akımı, kendi etrafında şiddeti ile orantılı büyüklükte bir manyetik alan oluşturur. Elektrik akımının şiddeti arttıkça etrafında oluşan manyetik alanın şiddeti de artar. Manyetik alanın yoğunluğu kabloya yakın kısımda fazla iken kablodan uzaklaştıkça azalmaktadır (14).

2.2.1. Elektromanyetik Alan Oluşumunu Açıklayan Temel Teoriler

2.2.1.1. Helmholtz Teorisi:

Bu teorinin temeli sağ el Fleming kanununa dayanmaktadır. Hareket halindeki elektronlar bir kabloda ilerlerken oluşturdukları manyetik alan elektrik akımının yönü ile ilişkilidir. Manyetik alanın yönünü tespit etmek için sağ el Fleming kuralı kullanılır. Bu kurala göre bir bobinden elektrik geçirildiğinde başparmak elektrik akımının yönünü gösterirken diğer parmaklar manyetik alanın yönünü gösterir (14, 15).

Akım dairesel olarak sağdan sola doğru hareket ederken, manyetik alanın yönü yukarıya doğru olur. Eğer akım tam zıt yönde, soldan sağa doğru hareket ederse manyetik alan aşağıya doğru olacaktır. Manyetik alanın yoğunluğu akımın ilerlediği dairenin merkezinde en üst düzeydedir. Manyetik alanın yoğunluğu, akımın hızı ile doğru orantılı iken, bobinin uzunluğu ile ters orantılıdır (14, 16).

2.2.1.2. Selenoid Boru Teorisi:

Bu yöntemde bir borunun etrafına teller sarılarak bir bobin oluşturulmuştur. Bu borunun içindeki ve merkez eksenindeki manyetik alan eşittir, ancak borunun iki ucundaki manyetik alan eşit değildir (14, 15) .

2.2.2. Frekanslara Göre Elektromanyetik Alanlar:

Elektrik enerjisi ile üretilen zamana bağlı olarak değişen elektromanyetik alan, çok düşük frekanslı alanların bir örneğidir. Çok düşük frekanslı alanlar genellikle 300 Hz frekansına sahiptir. Diğer teknolojilerle üretilen orta frekanslı alanlar 300 Hz ile 10 MHz aralığında ve radyofrekans alanları 10 MHz ile 300 GHz aralığındadır.

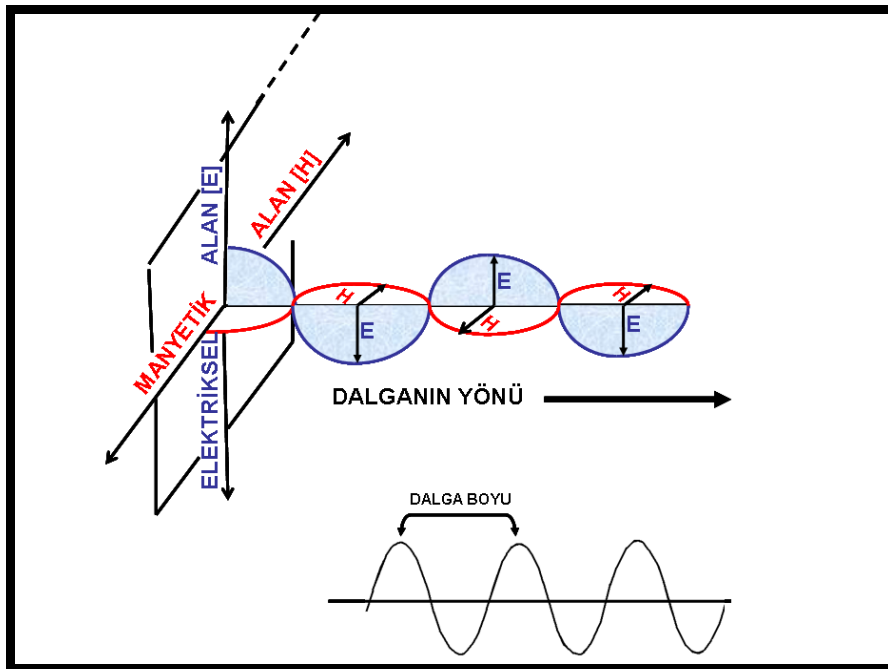
EMA'nın insan vücudundaki etkileri bu alanların büyüklüğüne bağlı değildir, ancak frekans derecelerine ve enerjilerine bağlıdır. Çok düşük frekanslı EMA'nın başlıca kaynakları, bütün elektrikli güç kaynakları ve elektrikle kullanılan araçlardır. Orta frekanslı EMA'nın başlıca kaynakları, bilgisayar ekranları, alarm ve güvenlik sistemleridir. Radyo frekans alanlarının başlıca kaynakları ise radyo, TV, radar, cep telefonları ve mikrodalga fırınlarıdır (16).

2.2.3. Elektromanyetik Alanların Ölçü Birimleri:

Elektrik ve manyetik alanlar, elektrik akımının bulunduğu güç kaynakları ve kablolardan oluşan elektrik tesisatının döşeli olduğu yerlerde görülür. Ev ve işyerlerinde bulunan elektriksiz alanlar volt/metre (v/m) ile ölçülür. Elektrikli ev aletlerinden kaynaklanan manyetik alanlar tesla (T), militesla (mT) veya mikrottesla (μT) ile değerlendirilirler. Bazı ülkelerde kullanılan diğer bir EMA birimi de gauss'tur (G) ($1T=10000G$, $1T=1.000.000 \mu T$, $1\mu T=10 mG$) (15, 16).

2.2.4. Elektromanyetik Dalgalar:

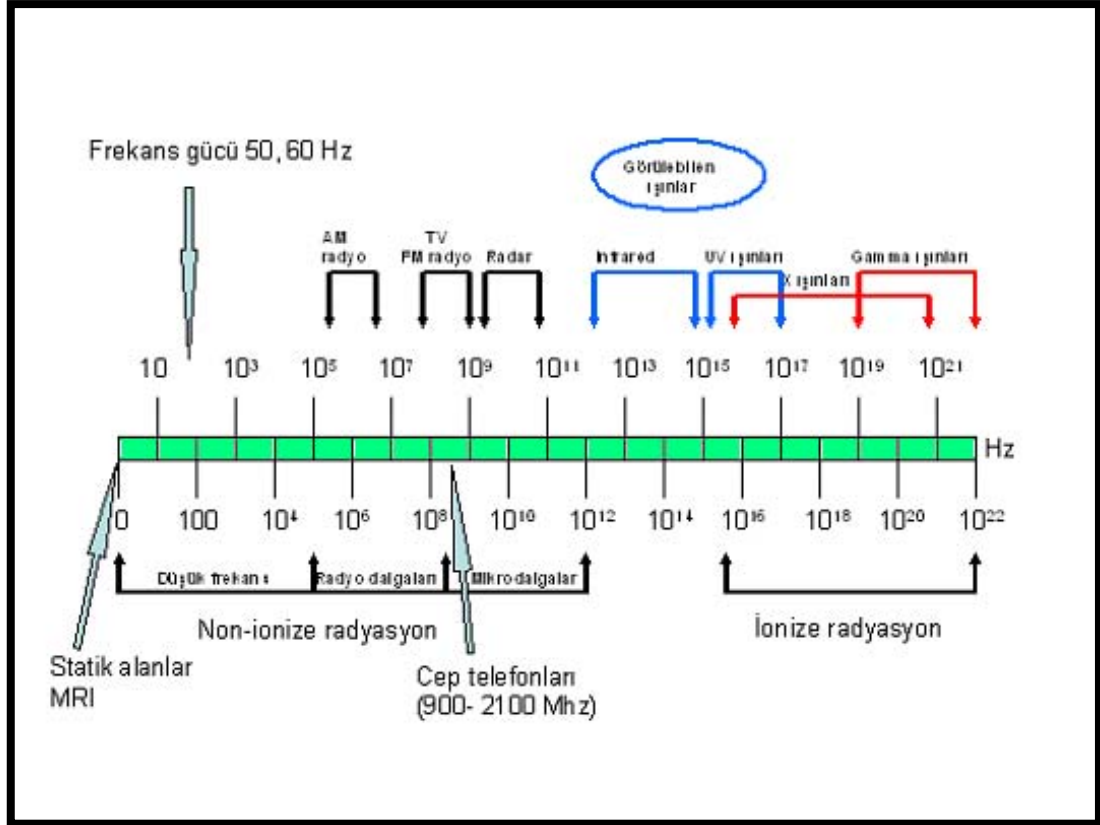
Elektromanyetik dalgalar, aynı hızla yayılma doğrultusunda birbirine dik düzlemler içinde bulunan elektriksiz ve manyetik bileşenlerden oluşurlar. Zamana bağlı olarak değişen (sinüzoidal) bir manyetik alan, iletken bir maddeye veya canlıya uygulanırsa bu manyetik alan vektörüne dik bir elektrik alan meydana gelir (Şekil 1) (16).



Şekil 1: Sinüzoidal Elektromanyetik Dalgalar

2.2.5. Elektromanyetik Spektrum:

Elektromanyetik dalgalar, frekanslarına ve dalga boylarına göre ayrılmışlardır. Elektromanyetik spektrum, görünen ışığı, ultraviyole dalgaları, infrared dalgaları, mikrodalgaları, radyo dalgalarını ve X ışınlarını içerir (Şekil 2). Güneş, yerküre ve diğer cisimler farklı dalga boylarında elektromanyetik dalga yaymaktadırlar (16).



Şekil 2: Elektromanyetik Spektrum

2.2.6. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Sistemler Üzerindeki Genel Etkileri:

2.2.6.1. EMA'ya Maruz Kalan İnsanlar Üzerinde Yapılan Araştırmalar:

Günümüzde pek çok elektrikli sistemden çevreye yayılan iyonlaşmaya yol açmayan dalgaların bulunduğu elektromanyetik alanlar geniş bir spektrumu oluşturmaktadır. Bu spektrum içinde bulunan sistemler, yüksek gerilim hatlarından radarlara, basit iletişim araçlarından televizyon ve radyo vericilerine, ofis ve evlerdeki elektrikli aletlerden (elektrikli battaniye, traş makinesi, bilgisayar ekranı vb.) trafo merkezlerine kadar farklı alanları kapsamaktadır (17). Elektromanyetik dalgaların organizmalar üzerinde olumsuz etkilerinin olup olmadığı günümüzde çok tartışılan bir konudur. EMA'nın insan vücuduna etkilerini

neler olduğunu ortaya konulması amacı ile birçok araştırma yapılmıştır ve bu etkilerin radyasyonun şiddetine, frekansına, polarizasyonuna ve radyasyona maruz kalınan süreye bağlı olduğu bildirilmiştir (18).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda yüksek gerilim hatlarının yakınında yaşayanlarda kanser sıklığının arttığı ortaya konmuştur (3, 19, 20, 21, 22). Hat işçilerinde yapılan çalışmalarda ise hematolojik değişiklikler, kan hücrelerinin sayılarında artışlar, sinir sistemi, sindirim sistemi ve kardiyovasküler sistemde işlevsel bozukluklar gözlemlenmiştir (21, 22). 1994'te ABD'de ve Finlandiya'da yapılan araştırmalarda, EMA'nın etkisinde kalan işçilerde Alzheimer hastalığının normal insanlara göre, erkeklerde 4.9 kat, kadınlarda 3.4 kat daha fazla görüldüğü belirlenmiştir. Radyo operatörleri, endüstriyel donanım işçileri, telefon hattı işçileri ve trafo merkezinde çalışan işçilerde, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve diğer bazı nörolojik bozuklukların görülme sıklığının arttığı ortaya çıkmıştır (23, 24).

Elektromanyetik dalgaların çocuklarda da; kan kanseri riskini artırdığını, kan tablosunu değiştirdiğini, baş dönmesi ve baş ağrılarına neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır (21, 25). Yüksek voltajlı EMA'da çalışan kişilerde yapılan bir araştırmada, eritrositlerin zarlarında yapısal değişikliklerin olduğu gösterilmiştir (26).

Düşük frekanslı (60Hz) EMA'ya maruz kalan kişilerde, melatonin düzeyinin azaldığı ve buna bağlı olarak bu kişilerde meme kanseri oluşma riskinin arttığı gösterilmiştir (27, 28,29). Ayrıca nöroendokrin enzimlerin salgılanmasını etkilenerek uyku fazlarının bozulduğu belirlenmiştir (30).

Gebeler üzerinde yapılan çalışmalar, yaşanan çevreden yayılan elektromanyetik dalgaların (elektrikli battaniye veya bilgisayar kullanımı, tıbbi tedavi cihazları maruziyeti gibi) spontan abortus, düşük doğum ağırlığı, erken doğum, intrauterin büyüme geriliği ve konjenital anomaliler gibi bir takım istenmeyen etkilere yol açtığını göstermiştir (31, 32).

Yüksek frekanslı EMA'ya maruz kalan kadınlarda yapılan araştırmada astrositoma I ve IV, uterus kanseri ve multiple myelom görülme sıklığı ve bu kadınların çocuklarında lösemi ve beyin tümörü oluşma riskinin arttığı belirlenmiştir (33). Bunun yanında EMA'ya maruz kalanlarda HSP düzeylerinin (heat shock proteins) kronik olarak düşük olduğu gösterilmiştir (34). Ayrıca insan fibroblast hücrelerinde kromozom uyumsuzluklarında artış olduğu gösterilmiştir (35).

2.2.6.2. Deney Hayvanları Üzerinde Yapılan Çalışmalar:

EMA'nın sinir sistemi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, EMA'ya maruz kalan ratların beyin hücrelerindeki genomların etkilenip DNA kırıklarının oluştuğu, HL-60 ve HL60R soylarında EMA'nın etkisi ile DNA tamir oranlarında azalmanın olduğu belirtilmiştir (36, 37, 39). Düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan ratların beyin dokularında superoksit radikal içeriklerin, lipid peroksidasyonunu belirgin olarak artırdığını saptamışlar ve buna bağlı olarak beyin dokusunun özellikle frontal korteksin zarar gördüğünü rapor etmişlerdir (49). Ayrıca thalamus'ta ve beyin parankiminde bulunan mast hücrelerinin sayısı artma gözlenmiştir (45). Cerebellum'un moleküler tabakasının kalınlığının azaldığı, purkinje hücrelerinde birikmeler olduğu ve bu hücrelerin sayısının azaldığı, ayrıca granüler tabakanın kalınlığında azalma olduğu gösterilmiştir (38). Yüksek frekanslı EMA'ya maruz bırakılan hipotalamik nöron hücre kültürlerinde apoptoz, hücre sitoplazmasında Ca⁺² artması ve mitokondri zar potansiyelinde azalma ile karakterize nekrozun geliştiği görülmüştür (52).

Elektromanyetik dalgaların hücrelerin genetik yapıları ve gelişme siklusları üzerinde etki ederek hücre kromozom ve kromatin yapısında değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Bu değişikliklere neden olan olaylar DNA yapısında, hücre iskeletinde ve hücre zarında meydana gelen farklılaşmalardır (40). Düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan ratlarda oksidatif DNA hasarı ve peroksidasyon oluştuğu saptanmıştır. Gün boyunca manyetik alanda bırakılan ratlarda kontrol grubundan daha yüksek lipid peroksidasyonu (TBARS) düzeyleri saptanmıştır (47). Bir başka çalışmada düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan ratların hücrelerindeki mitokondrial enzimlerin miktarlarında azalma olduğu saptanmıştır (43,44).

EMA'nın genital sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, EMA'ya maruz kalan ratların testislerinin normal doku yapısını kaybettiği, seminifer tubullerdeki salgının arttığı, spermatogoniumların, primer spermatositlerin, spermatid ve sperm sayılarının azaldığı, seminifer tübüllerdeki epitelyum hücre çekirdeklerinin piknotik ile nekrotik hal aldığı ve sertoli hücrelerinde artış olduğu görülmüştür (41). EMA'ya maruz kalan ratlarda, folikülogenez üzerinde yapılan araştırmaya göre ovaryumdaki folikül sayısı kontrol grubuna göre artmakta, corpus luteum sayısı azalmaktadır. Ayrıca ovaryumun stromasındaki makrofaj sayısının arttığı, uterus endometriumu ve tuba uterinadaki epitelyal hücrelerin yüksekliğinin azaldığı ve çekirdekte büzüşme olduğu görülmüştür (42). 900 MHz şiddetindeki elektromanyetik dalgalara maruz bırakılan ratların endometrial doku hücrelerinde lipid

peroksidasyon indeksi olan MDA miktarının arttığı görülmüştür. Bu sonuç, 900 MHz'lik radyasyonun endometrium hücrelerinde apoptoza neden olduğunu göstermektedir (53).

EMA'nın immün sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, ratlarda T hücrelerinin proliferasyon yeteneklerinin arttığı gösterilmiştir. Çalışmanın sonucunda, TNF- α düzeylerinde, peritoneal makrofajlarda ve dalakta bulunan T lenfosit sayısında artış saptanmıştır (46). 7 mT'lık statik manyetik alana ve demir iyonlarına maruz bırakılan rat lenfositlerinde ROS içeren serbest radikal reaksiyonlarının lipid peroksidasyonunu uyararak hücre ölümünü artırdığı görülmüştür (48). Elektromanyetik dalgalara maruz bırakılan sıçanların timüs hücrelerinin sitoplazmalarında veziküllerin, piknotik değişikliklerin ve yoğunlaşmaların ortaya çıktığı, damar endotellerinde de hipoplazi geliştiği gösterilmiştir (5).

EMA'nın kan biyokimyası üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda EMA'ya maruz bırakılan ratların kan elektrolit düzeyleri incelendiğinde Na⁺ ve Ca⁺² düzeylerinde düzenli bir düşüş, K⁺ düzeyinde ise artış görülmüştür (50).

Yapılan in vitro çalışmalarda sıçanlardan alınan tendon fibroblast ve kemik iliği hücreleri kültür ortamında düşük frekanslı elektromanyetik dalgalara maruz bırakılmış ve sonuçta hücrelerde apoptozisin başladığı görülmüştür. Bu da elektromanyetik dalgaların hücre metabolizmasında ve hücre iskeletinde değişiklikler yaptığını göstermektedir (51).

Elektromanyetik dalga alan sıçanların böbrek tübül hücrelerindeki endoplazmik retikulum organellerinde şişme olduğu gözlenmiştir (54).

2.2.6.3 Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkilerini İnceleyen Araştırmalar:

EMA'nın kap ritmi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, düşük frekanslı EMA'ya ve radyofrekans dalgalarına maruz kalan kişilerin EKG'lerinde değişimler, sistolik kan basınçlarında artma ve kalp atım hızlarında azalma olduğu saptanmıştır (55,56,57,58). Çalıştıkları ortamda EMA'ya maruz kalan kişilerde yapılan çalışmalarda, kalpte aritmi oluşumunun arttığı, dakikadaki kalp atım sayısının azaldığı ve bunlara bağlı olarak myokard infarktüsü riskinin arttığı gözlenmiştir (57,58,59,60,61, 63).

Mikrodalgalara maruz kalan myokard hücrelerinde mikrodalganın dozuna bağlı olarak hücre zarlarının akışkanlığının ve dengelerinin bozulduğu, buna bağlı olarak da hücrede patolojik değişikliklere giden bir dizi farklılaşmanın geliştiği saptanmıştır (62).

EMA'nın damar duvarı üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan insan vasküler endotel hücrelerinin kalsiyum metabolizmasında ortaya çıkan değişikliklerin endotel hücre fonksiyonlarını etkilediği gösterilmiştir (64).

Büyükbaş hayvan koroner damarlarında ve kemiricilerin aortlarındaki düz kasların proliferasyonunu artırdığı görülmüştür (65). Düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan farelerde lökosit ve endotel etkileşimi üzerine yapılan bir çalışmaya göre, endotele-bağlı lökositler belirgin olarak artmaktadır (66) Elektromanyetik dalgaların endotel hücreleri üzerindeki etkilerini araştırmak amacı ile yapılan çalışmalarda, endotel hücrelerinden salgılanan PGI2 miktarının azaldığı buna karşılık TxA2 salgısının arttığı gösterilmiştir. Bu değişiklikler sonucunda tromboz ve ateroskleroz plağı oluşumunu engelleyen endotel hücrelerinin görevlerini yapamamasına bağlı olarak kalp damarlarında tıkanmaların ve iskemik olayların ortaya çıktığı iddia edilmiştir. Ayrıca endotel hücrelerinin proliferasyon ve tübül formasyonu derecelerinin arttığı da gösterilmiştir (70, 71, 72). Elektromanyetik dalga alan sıçanların beyin damarlarındaki endotel hücreler arasındaki bağların yapılarında değişiklikler olduğu ve bu bağların açıldığı görülmüştür. Araştırmacılar bu sonuçlara dayanarak damarlardaki bazal membran ile endotel hücreleri arasında bir açıklık ortaya çıktığını söylemişlerdir (73).

50Hz'lik elektromanyetik dalgalara maruz bırakılan deney hayvanlarının kalp hücrelerinde MDA ve NO miktarı azalmıştır (67). Yüksek dozda elektromanyetik dalgalara maruz bırakılan kardiyomyosit hücre kültüründe, hücre şekillenmesinin bozulduğu ve hücre canlılığının azaldığı görülmüştür. Bunun nedeni olarak da hücre zarının geçirgenliğinin değişmesiyle ortaya çıkan hücre içi iyon konsantrasyonundaki değişiklik gösterilmiştir (68). Düşük frekanslı EMA'ya maruz kalmanın myokard hücrelerindeki Hsp70 protein miktarında artışa neden olduğu rapor edilmiştir (69).

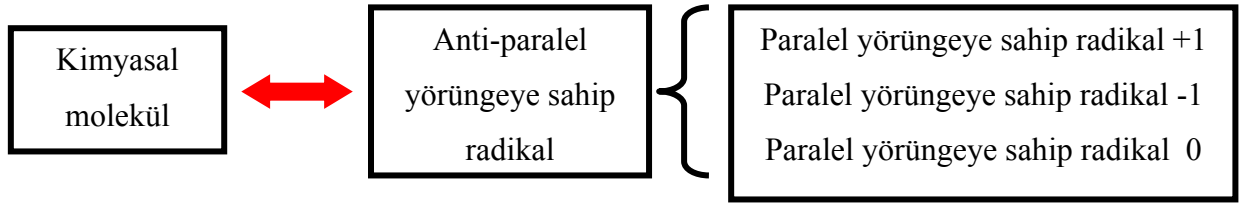
2.2.7. Elektromanyetik Alanların Canlılar Üzerindeki Olası Etki Mekanizmaları:

Elektromanyetik alanlar, serbest radikal yoğunluğunu artırıp biyokimyasal reaksiyonlara etki ederler. Değişen reaksiyonlara bağlı olarak da hücre hasarı ortaya çıkmaktadır. Bir kimyasal reaksiyona giren serbest radikaller tepkimeye girdikleri organik maddeden bir bağ koparıp elektron kazanırlar. Bunun sonucunda serbest radikal tepkimeye girdiği maddeyi de serbest radikal haline çevirir. Elektronlar atomların çevresinde bir yörüngede dönmektedir. Elektronlar kimyasal bağ oluşumuna katıldıkları zaman anti-paralel yörüngelerde dönerler. Bir kimyasal bağ oluşumu için elektronların yörüngelerde anti-paralel dönmesi gerekmektedir. Şu anda bilinen elektronların kimyasal reaksiyonlarda yörüngelerini değiştirmedikleridir. Kimyasal bağa katılmış olan elektronlar bağ kırıldıktan sonra serbest radikaller oluştururlar. Bu serbest radikallerdeki yörüngeler anti-paraleldir ancak daha sonra yörüngeler değişebilirler. Birbirine yakın serbest radikaller oluştuğunda tekrar kararlı

duruma dönmek için birbirleri ile bağ oluşturmaları beklenir. Ancak serbest radikaller hızla paralel yörüngelere dönüp reaksiyona girmezler. Anti-paralel yörüngeye sahip serbest radikallerin hızla paralel yörüngeye dönüşüp birbirleri ile tekrar bağ oluşturmalarını engelleyen bir mekanizma olması gereklidir (74).

Elektromanyetik alanlar, elektronların yörüngelerine 2 şekilde etki etmektedirler:

- 1) Çekirdek ve elektron arasındaki çok zayıf olan etkileşime 'hyper-fine interaction' denir. EMA, bu etkileşime anti-paralel yörüngedeki elektronu paralel yörüngeye çevirerek etki ederler. Buna bağlı olarak, bağ kırılır ve serbest radikal oluşur.
- 2) Paralel yörüngedeki elektronların enerjileri başlangıçta eşittir fakat EMA'ya maruz kaldıkları zaman bu eşitlik bozulmaktadır. Paralel yörüngede oluşan elektronlar 3 türdür (74).



2.3. Serbest Radikaller:

2.3.1. Serbest Radikaller Teorisi:

Serbest radikaller teorisi ilk kez 1956'da Harman tarafından ileri sürülmüştür, temel olarak genetik ve çevresel faktörlerle değiştirilebilen bir sürece dayanmaktadır (75,76). Yaşa bağlı fizyolojik ve moleküler değişimler türe ve dokuya özgü özellikler göstermektedir. Harman'a göre yaşlanma, serbest radikal reaksiyonu sonucu modifiye olan biyomoleküllerin seviyesindeki artma ile birliktedir. Biyomoleküllere sadece serbest radikaller değil radikal olmayan reaktif oksijen veya nitrojen türleri de etki etmektedir, bu sebeple oksidan moleküller reaktif oksijen ve nitrojen türleri olarak da isimlendirilebilir (77,78).

Oksidan stres, hücrel antioksidan defansların reaktif oksijen türleri (ROS) seviyesini toksik eşiğin altında tutmakta yetersiz kalması olarak tanımlanabilir. Bu durum, ya aşırı ROS üretimi ya da antioksidan defansların yetersizliği sonucu veya her iki durumun birlikte bulunması sebebiyle oluşur (79).

2.3.2. Serbest Radikallerin Tanımı ve Yapısı:

Son yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren molekül, iyon veya bileşikler başka moleküller ile etkileşime girerek bu molekülden elektron alır veya verirler. Başka moleküllerle kolaylıkla elektron alışverişine girebilen bu moleküllere serbest radikaller denir. Serbest radikaller reaktif bir yapıya sahip olup eşlenmemiş elektronlarını paylaşmak için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerler (78,80).

Serbest radikaller üç şekilde oluşabilir (81):

1. Non-radikal bir molekülden tek bir elektron kaybı:



2. Non-radikal bir molekülün tek bir elektron kazanması.



3. Homolitik yarıma. Normal bir molekülün kovalan bağının homolitik yarılması sonucu eşleşmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması.



2.3.3. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri:

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri aşağıda özetlenmiştir (81,82):

2.3.3.1. Oksijen merkezli serbest radikaller:

- Süperoksid radikali (O_2^{\bullet})
- Hidroksil radikali ($\bullet OH$)
- Alkoksil radikali (RO^{\bullet})
- Peroksil radikali (RO_2^{\bullet})
- Hidroperoksil radikali (HO_2^{\bullet})

2.3.3.2. Oksijen merkezli olmayan serbest radikaller:

- Karbon merkezli (Lipid radikalleri)
- Alkoksi radikalleri
- Sülfür merkezli (Sülfür radikali)
- Hidrojen merkezli (Hidrojen radikali)
- Demir merkezli (Perferil radikali)
- Azot merkezli (Nitrik oksid ,Nitrojen dioksid)

2.3.3.3. Radikal olmayan reaktif oksijen türleri:

- Ozon (O_3)
- Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- Hipoklorik asid ($HOCl$)
- Singlet oksijen (1O_2)
- Peroksinitrit ($ONOO$)

2.3.4. Serbest Radikallerin Kaynakları:

Organizmada serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açan endojen ve eksojen kaynaklar bulunmaktadır.

2.3.4.1. Endojen kaynaklar:

- Mitokondrial ve endoplazmik retikulum elektron transport zinciri
- Nötrofil fagositoz sistemi
- Ksantin oksidaz sistemi
- Araşidonik asit metabolizması
- Enzimatik olmayan reaksiyonlar

2.3.4.1.1. Mitokondrial ve endoplazmik retikulum elektron transport zinciri:

İnsan vücudu tarafından alınan oksijenin yaklaşık %85'i mitokondrial elektron transport zincirinde kullanılmaktadır. Mitokondriler adenosin trifosfat (ATP) üretimi için esas kaynağı oluşturan organellerdir. Metabolik enerji üretimi için öncelikle yağ asidi veya glukoz oksidize olur ve elektron taşıyıcıları [örneğin, nikotin adenin dinucleotid (NAD), flavin mononucleotid (FMN), flavin adenin dinucleotid (FAD)] yoluyla elektron kaybederler. Sonuç olarak indirgenmiş NAD (NADH) ve flavinler (FMNH₂ ve FADH₂) oluşur. NADH ve indirgenmiş flavinler iç mitokondrial membranda tekrar oksidize olurken organizmanın temel yakıtı olan ATP kazanılmaktadır (81). Oksidasyon basamaklı bir şekilde gerçekleştiği için enerji salınımı da yavaş yavaş olmaktadır. NADH'dan ayrılan elektronlar zincirdeki enzimlerin yapısında bulunan demir iyonlarının indirgenmesinde kullanılmaktadır. Elektron transport zincirinde en son oksijeni kullanan oksidaz enzimi, sitokrom oksidazdır. Sitokrom oksidaz demir ve bakır iyonları içerir. Bu metaller oksijenin indirgenmesinde rol oynarlar (76,82). Elektron transport zincirinin erken basamaklarında birkaç elektron oksijene doğru sızmakta ve bu sızma superoksit radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır. Normal şartlarda mitokondride indirgenen oksijenin %1-3'ü superoksit radikali oluşturabilmektedir. Mitokondri hasar gördüğü zaman sızma artmakta ve dolayısıyla superoksit radikalleri de artmaktadır (77,83).

Endoplazmik retikulumda da NADPH-P450 redüktaz enzimindeki flavinlerden oksijene elektron kaçağı olmakta ve superoksit radikalleri oluşmaktadır (81).

2.3.4.1.2. Nötrofil fagositoz sistemi:

Nötrofil ve makrofajların plazma membranında bulunan NADPH oksidaz enzim sistemi aktive olunca (bakteriel enfeksiyon gibi durumlarda) superoksit radikali oluşur, superoksit

radikali de hidrojen peroksida indirgenir. Mikroorganizmalara karşı savaşmada temel mekanizma olan bu olay solunumsal patlama olarak adlandırılır (81,82).

2.3.4.1.3. Ksantin oksidaz sistemi:

Organizmaya alınan oksijenin %10-15'i mitokondride kullanılmaz, değişik oksidaz ve oksijenaz sistemleri tarafından doğrudan veya kimyasal (enzimik olmayan) tepkimeler yolu ile kullanılır. Ksantin ve hipoksantinün ürik asite oksidasyonu ksantin dehidrogenaz enzimi tarafından katalizlenmektedir ve elektronlar oksijene değil NAD^+ üzerine aktarılmaktadır, böylece normal koşullarda ROS üretimi olmamaktadır (81,82). İskemi sırasında sitozolik kalsiyum artması sonucu hücre içi proteazlar aktive olarak ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza dönüştürür. İskeminin başlamasıyla ATP katabolizması sonucu oluşan adenzin, inozine, inozin de hipoksantine dönüşür. Böylece dokularda biriken hipoksantin ve ksantin reperfüzyonla gelen O_2 ile ksantin oksidaz enzimi aracılığıyla birleşerek O_2^{\bullet} oluşur (84).

2.3.4.1.4. Araşidonik asit metabolizması:

Prostoglandin sentezindeki ilk basamak olan yağ asiti substratının elde edilmesi için fosfolipaz A_2 enzimi aktive olarak membran lipidlerinden arşidonik asiti ayırmaktadır. Araşidonik asitin eikozonoidlere (prostaglandin, lökotrien ve tromboksan) enzimatik oksidasyonu sırasında ROS oluşumu görülmektedir (81).

2.3.4.1.5. Enzimatik olmayan reaksiyonlar:

Biyolojik olarak öneme sahip birçok molekül demir ve bakır gibi geçiş metallerinin katalizörlüğünde moleküler oksijen tarafından otooksidasyona uğramakta ve superoksit radikali oluşturmaktadır. Bu moleküller gliseraldehit, adrenalın, noradrenalın gibi hormonlar ve dopamin gibi nörotransmitterleri kapsamaktadır (83,85).

2.3.4.2. Eksojen kaynaklar:

- İyonizan radyasyon
- Hepatotoksinler (Karbon tetraklorür)
- Ksenobiyotikler
- Redoks siklusu yapan maddeler(paraquat, nitrofurantoin)
- Kemoterapötikler (Adriamisin)
- Hava kirliliği
- Sigara (81,86)

2.3.5. Serbest Radikaller ile Oluşan Hücresel Hasarlar:

Serbest radikaller lipidler, proteinler ve DNA gibi hücresel bileşenlerde oksidan hasar oluşturmaktadır. Serbest radikallerin organizmada oluşturduğu ana etkiler şunlardır:

- Lipid Peroksidasyonu
- DNA ve serbest radikal hasarı
- Proteinler ve serbest radikal hasarı
- Karbonhidratlar ve serbest radikal hasarı

2.3.5.1. Lipid Peroksidasyonu:

Serbest radikal hasarının esas süreci lipid peroksidasyonu olarak kabul edilmektedir. Yaşlanmayla birlikte dokularda oksidize lipid kalıntısı olan lipofussin pigmenti birikmektedir. Biyolojik membranlar, yüksek oranda doymamış yağ asiti (PUFA) içerirler ve serbest radikal hasarına karşı çok hassastırlar (82, 87).

Membrana yapışık poliansatüre yağ asitleri özellikle hidroksil radikali tarafından saldırıya uğrar ve yağ asiti zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile lipid peroksidasyonu başlar. Böylece bir yağ asiti zinciri radikal özellik kazanır. Lipid radikallerinin moleküler oksijenle reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksid radikali meydana gelir. Bu radikal diğer yağ asitlerini etkileyerek serbest radikal zincir reaksiyonunu başlatır. Lipid peroksidasyonu lipid peroksitlerinin malondialdehit (MDA) ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona erer (81). Membran lipidlerinin yaşlanmaya bağlı peroksidasyonu, membran bütünlüğünün bozulmasına ve sonuç olarak sinyal iletimi veya iyon geçirgenliği gibi yaşamsal fonksiyonlarda bozulmaya yol açar. Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak tiobarbiturik asitle reaksiyona giren maddeler (TBARS) içeriği doku, idrar veya plazma örneklerinde ölçülmektedir (88,89).

2.3.5.2. DNA ve serbest radikal hasarı:

ROS herhangi bir hücresel yapı veya moleküle saldırabilir, bununla birlikte yaşlanma süreci düşünüldüğünde esas hedeflerinden birinin DNA olduğu anlaşılmaktadır. ROS pürin ve pirimidin bazlarında kimyasal modifikasyonlara neden olabilir ve oksidatif baz modifikasyonları mutasyonla sonuçlanabilir (75). Hidroksil radikali DNA'nın bütün bazlarında modifikasyon oluştururken, singlet oksijen öncelikle 8-hidroksilasyon yoluyla guanin bazını modifiye etmektedir. DNA hasarı deoksinukleotidleri ve bazıları serbestleştirir

endonukleaz ve glikozilaz enzimleriyle onarılmaktadır. Bazılar direk olarak idrara atılır, deoksinukleotidler ise idrara atılmadan önce mononukleotidlere metabolize edilir. Oksidasyona uğrayan nukleotidlerin idrarda bulunmaları bu sürecin patolojik olmayan koşullarda da oluştuğunu göstermektedir. Oksidatif DNA hasarını belirlemek için idrarda 8-hidroksiguanin ve 8-hidroksi-2-deoksiganosin ölçümü yapılmaktadır (90,91).

2.3.5.3. Proteinler ve serbest radikal hasarı:

Proteinler ve proteinlerin yapıtaşı olan aminoasitler de serbest radikallerin hedeflerindedir. Serbest radikaller kovalan olarak proteinlere bağlanırlar. Membran lipidlerinin oksidasyonu sonucu oluşan lipid radikalleri proteinlere hasar verebilmekte ve proteinlerin parçalanmasına neden olmaktadır, ayrıca lipoproteinlerin oksidasyonu ateroskleroz gibi vasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır (83).

Proteinlerin amino asit yan zincirlerinin oksidatif hasarı sonucu protein oksidasyon ürünleri ve karbonil türevleri oluşabilmektedir. Serbest radikaller, proteinlerde parçalanmaya ve polimerizasyona yol açarlar. Proteinlerdeki karbonil grupları, oksidatif hasarın göstergesi olarak kabul edilmektedir. Serbest radikal hasarının bir göstergesi olarak protein oksidasyon ürünleri, spektrofotometrik yöntemle doku veya plazma örneklerinde ölçülebilmektedir (83,88).

2.3.5.4. Karbonhidratlar ve serbest radikal hasarı:

Hidroksil radikallerinin karbonhidratlara, özellikle glikoza etki etmesi sonucu peroksil radikalleri oluşmaktadır. Ayrıca glikoz, aldehit grubu içermesi nedeniyle toksik etki yapabilmektedir. Aldehitler reaktif maddelerdir ve proteinler ile DNA'ya bağlanarak enzimatik olmayan glikasyonlarına yol açarlar. Glikasyon reaksiyonu glikoz seviyeleri yükseldiğinde daha kolay oluşur ve diabetli hastaların bazı proteinlerinde saptanabilir (81,83).

Glikasyon ürünlerinin serbest radikallerle oksidasyonu sonucu ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşur. AGE birikimi doku hasarına neden olur, kollajen dokuda birikmesi elastikiyet kaybına ve böbrekte bazal membran hasarına neden olabilir (81).

2.3.6. Antioksidan savunma mekanizmaları:

Okside olabilen bir maddenin oksidasyonunu geciktiren ya da önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanmaktadır (87). Belirli bir düzeye kadar olan oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir seviyede bulunan doğal endojen antioksidan moleküller

tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli bir düzeyin üzerinde oluşur veya antioksidanlar yetersiz kalırsa, oksidan moleküller organizmanın yapı taşları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asid ve yararlı enzimleri hasara uğrattırır (82,92).

Antioksidan savunma sistemi aşağıdaki komponentlerden oluşur (75,81,87):

- Serbest radikalleri ve diğer reaktif türleri ortadan kaldıran enzimler: Superoksid Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx).
- Demir ve bakır iyonları gibi pro-oksidanların etkilerini en aza indiren proteinler: transferrin, haptoglobulin.
- Düşük moleküler ağırlıklı ajanlar: glutasyon, α -tokoferol. Askorbik asit ve α -tokoferol gibi bazı düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar diyetle alınır. Beslenme ve antioksidan savunma mekanizmaları arasında özel bir ilişki bulunmaktadır.
- Biyomolekülleri hasarlanmaya karşı koruyan diğer moleküller: ısı, şok proteinleri.
- İlaçlar: sitokinler (TNF ve interlökin), demir şelatörleri (desferroksamin, dimetil tioüre, seruloplasmin), ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipurinol), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin lokal anestezipler, Ca kanal blokerleri, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar), mannitol, barbitüratlar, flavonoidler, trimetazidin, indepamid, H₂ reseptör blokerleri.

2.3.6.1. Antioksidan savunma enzimleri:

2.3.6.1.1. Süperoksid dismutaz (SOD):

SOD, oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan ve süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir. Bu enzim sadece süperoksid radikale etki eder. Enzimatik olmayan koşullarda çok yavaş olan süperoksidin dismutasyonunu hızlandırarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluşturmaktadır. Karaciğerde SOD aktivitesi kalbe göre dört kat daha fazladır. Memeli dokularında SOD enzimi temelde hücre içi yerleşimlidir, %10 kadarı hücre dışında bulunmaktadır (81). SOD'un üç farklı formu bulunmaktadır (81,93,94):

1. Bakır ve çinko içeren (Cu-Zn SOD) dismutazlar (Sitozolik SOD): Bu formda enzimin aktif bölgesinde bakır ve çinko bulunmaktadır. Enzim protein yapısındadır ve hücrelerin sitoplazmasında yerleşmiştir. Çinkonun stabiliteyi sağladığı, bakırın ise aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çinkonun ayrılması geri dönüşümsüz iken bakır geri dönüşümlü

olarak ayrılıp tekrar bağlanabilir. Isınmaya, proteazlara ve üre gibi ajanlarla denaturasyona karşı dirençlidir. Cu-Zn SOD karaciğer, beyin ve testiste en yüksek, akciğer ve pankreasta ise en düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır.

2. Manganez içeren (Mn-SOD) dismutazlar (Mitokondrial SOD): Mitokondri matriksinde bulunan Mn-SOD birbirinin aynı olan iki alt birimden oluşur ve her alt birim başına birer atom mangan bağlıdır. Aktif bölgeden manganın uzaklaştırılması katalitik aktiviteyi ortadan kaldırır. Isı veya kimyasallarla denaturasyona karşı CuZnSOD'a göre daha dayanıksızdır.

3. Demir içeren dismutazlar (FeSOD): Enzimin bu formunda, aktif bölgede demir iyonu taşınmaktadır. Hücre matriksinde yerleşmiştir ve iki protein alt ünitesi vardır. Yapısal olarak Mn-SOD'a büyük benzerlik göstermesine rağmen her iki enzim de aktif bölgelerinde kendi metal iyonları olduğu zaman çalışabilmektedir. Mn-SOD enziminin endojen süperoksid radikallerine karşı, Fe-SOD enziminin ise eksojen radikallere karşı koruyucu etki gösterdiği kabul edilmektedir. Azid ile inhibisyona karşı çok duyarlıdır. FeSOD bitkilerde ve bazı bakteri türlerinde bulunmaktadır (81,95).

2.3.6.1.2. Katalaz (CAT):

Katalaz, peroksidazlar grubunun bir üyesidir. Aktif bölgesinde *hem* grubu içermektedir. Hidrojen peroksidin ortadan kaldırılmasını katalizlemektedir. Katalaz, düşük hızlarda H₂O₂'nin olduğu durumlarda peroksidatif tepkimeyle, H₂O₂ oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle H₂O₂'i suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır. Beyindeki aktivitesi karaciğere göre daha düşüktür. Enzim özellikle karaciğerde yoğun olarak bulunmaktadır, beyin, kalp ve iskelet kasındaki seviyeleri daha düşüktür (81,95).

2.3.6.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx):

GPx, hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin temizlenmesinde görevlidir. Dört adet protein alt ünitesinden oluşmuştur ve her biri aktif bölgesinde selenyum atomu taşımaktadır (79). GPx, hidrojen peroksiti indirgenmiş glutatyonla bağlayarak suya indirgenmesini sağlamaktadır. Bu reaksiyon sırasında indirgenmiş glutatyonu (GSH) yükseltgenmiş glutatyonla çevirir (GSSG). GSH düşük moleküler ağırlıklı ve tiyol (-SH) içeren bir tripeptiddir. Reaksiyona giren glutatyonlar disülfid bağları ile bağlanarak indirgeyici özelliklerini yitirirler, bu sebeple GSSG'nin tekrar GSH'a döndürülmesi gerekmektedir. Bu reaksiyon NADPH bağımlı bir enzim olan glutatyon redüktaz tarafından katalizlenir. Reaksiyonda kullanılan NADPH ise pentoz fosfat yolundan sağlanır (79,96,97).

GPx iki tip enzim içermektedir. Birincisi, klasik tip GPx'dir ve plazmada düşük seviyelerde bulunmaktadır. Plazmada GSH seviyesi de çok düşük olduğu için GPX enzimi olarak fonksiyon görüp görmediği tam olarak bilinmemektedir. İkincisi, fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidazdır. Bu enzim yağ asidi ve kolesterol hidroperoksidleri azaltmakla görevlidir (81).

2.4. Apoptoz:

Yaşamakta olan hücreler iki farklı mekanizma ile ölürlür. Bu mekanizmalar nekroz ve apoptozdur. Nekroz; hipoksi, aşırı ısı değişiklikleri, toksinler gibi hücre dışından gelen çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenler sonucunda gelişen travmatik hücre ölümüdür. Apoptoz ise yaşlanmış, fonksiyonunu yitirmiş, fazla üretilmiş, düzensiz gelişmiş veya genetik olarak hasarlı hücrelerin, organizma için güvenli bir şekilde yok edilmelerini sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür. Nekroz patolojik bir olaydır. Apoptoz ise fizyolojik veya patolojik uyaranlarla oluşabilir.(98)

Fizyolojik olarak oluşan hücre ölümü uzun yıllardır bilinmesine rağmen "apoptosis" terimi ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından kullanılmıştır. Yunancada "apo" ayrı, "ptosis" düşen anlamındadır.

1983 yılında Duke ve ark, jel elektroforezi ile apoptozda endonükleazların aktive olarak DNA kırıklarına neden olduğunu göstermiştir. Böylece apoptotik hücre ölümünün ilk biyokimyasal kanıtı elde edilmiştir. Bu tarihten sonra apoptoz ile ilgili çalışmalar hızlı bir şekilde artmıştır (98,99).

Apoptoz rejenerasyon ve tamir olaylarında, hücrel homeostazın sağlanmasında ve organ büyüklüklerinin korunmasında önemlidir. Apoptozun artması nörodejeneratif hastalıklara, AIDS'de görülen lenfosit yetersizliğine; azalması ise malignite ve otoimmün hastalıklara yol açabilir (98, 100-107).

2.4.1. İnsan Vücudunda Apoptozun Görüldüğü Durumlar:

Vücuttaki rejenerasyonun sağlanması ve hücrel homeostazın korunması gibi çok sayıda fizyolojik ve adaptasyon gerektiren durumlarda ve patolojik olaylarda apoptoz mekanizması kullanılır. Aşağıdaki durumlarda apoptoz sıklıkla görülmektedir (108):

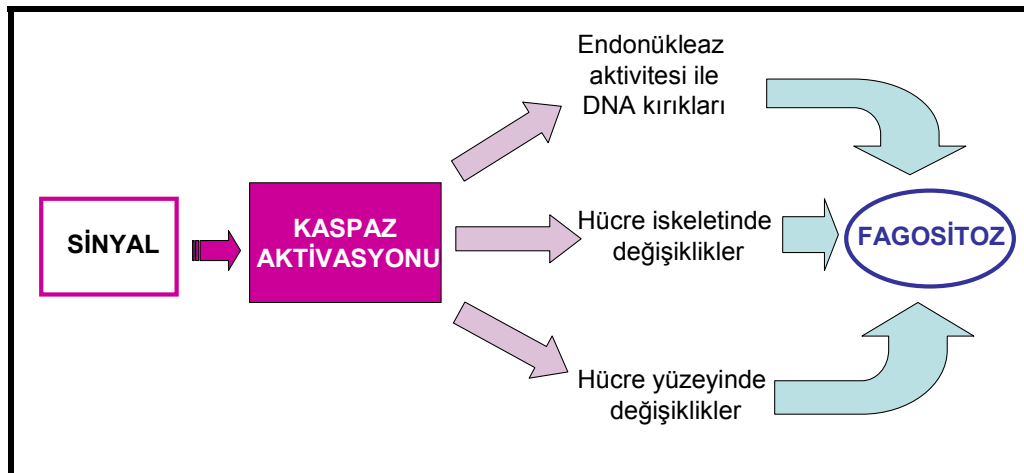
- Embriyogenez ve fütogenez sırasında normal gelişimin sağlanması amacı ile oluşan hücrelerin bir kısmı apoptoza gitmektedir. Özellikle sinir sisteminin ve immün sistemin gelişiminde apoptoz önemli rol oynar (100,108).

- Erişkinlerde hormon yetmezliğine bağlı olarak gelişen organ gerilemelerinde apopitoz rol alır.
- Proliferasiyona uğrayan hücre topluluklarında apopitoz sık oluşur.
- Tümörlerde, özellikle regresyon dönemlerinde apopitoz görülür.
- T ve B lenfositleri, sitokin yetersizliğine bağlı olarak apopitoza gidebilirler.
- Hüresel immün sistemi etkileyen bazı reaksiyonlarda sitotoksik T lenfositler (CTL) aracılığı ile apopitoz oluşur.
- Pankreas, parotis ve böbrek gibi organlarda kanal obstrüksiyonlarına bağlı olarak gelişen atrofilerde apopitoz izlenir.
- Çeşitli viral hastalıklarda apopitoz görülür.
- Hücrelerde hasar oluşturan ısı, radyasyon, antikanserojen ilaçlar, hipoksi gibi bazı etkenler genellikle nekroza neden olurken, bazen düşük seviyelerde apopitoz oluşturabilirler (108,111).

2.4.2. Apopitotik Hücre Ölümünün Aşamaları:

Apopitoz hücre içinden veya dışından gelen sinyallerle başlatılan ve birbirini takip eden bir olaylar zinciridir. Bu zincir hücrenin fagositozu ile sona erer. Bu aşamalar aşağıda sıralanmıştır (98)(Şekil 3):

- Apopitozun başlatılması
- Hücre içi proteazların (kaspazların) aktivasyonu
- Hücrede morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması
- Fagositoz



Şekil 3: Apopitoz basamakları.

2.4.2.1. Apoptozun Başlatılması:

Hücrenin apoptoza gidebilmesi için ilk önce, ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirecek bir sinyalle karşılaşması gerekir. Bu sinyal hücre içinden veya dışından gelebilir.(98,108)

2.4.2.1.1. Hücre Dışından Kaynaklanan Sinyaller:

- Çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği
- Ölüm reseptörlerinin aktivasyonu (Reseptör- Ligand etkileşmesi)
- Fas-Fas ligandı
- Tümör Nekroz Faktörü (TNF)
- Sitotoksik T lenfositleri
- Hücreleri etkileyen diğer dış etkenler (108)

2.4.2.1.2. Hücre İçinden Kaynaklanan Sinyaller:

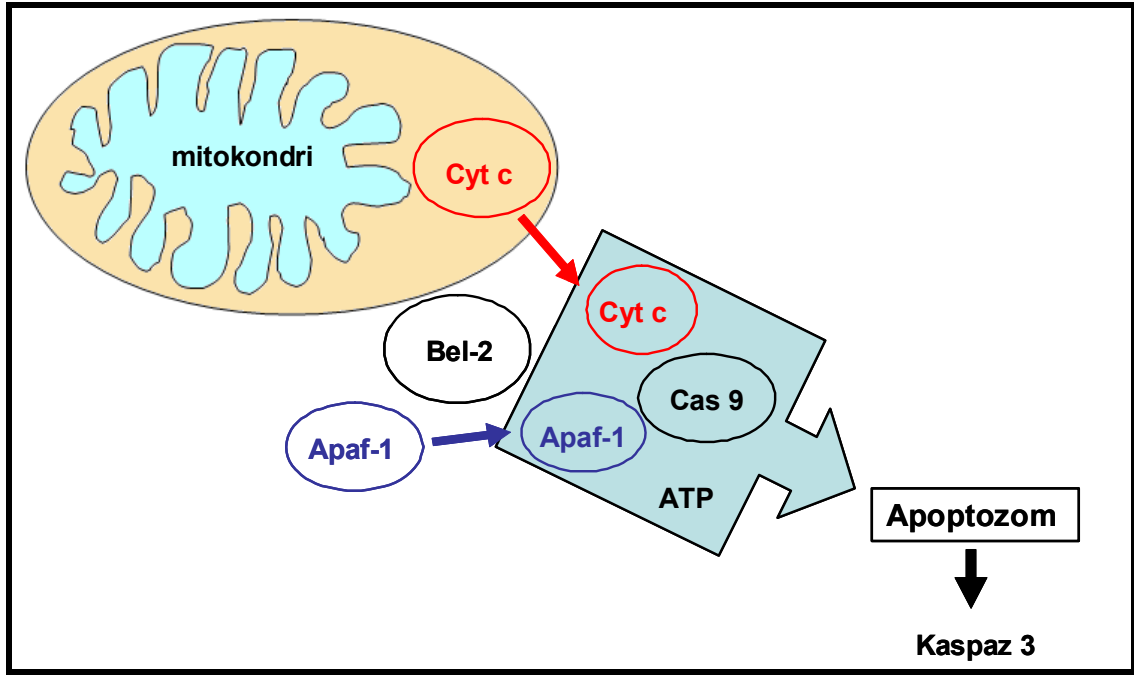
DNA hasarı, hücre içi Ca^{++} seviyesinde artış, hücre içi pH'da düşme, metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları hücreyi apoptoza götüren merkezi hücre ölüm sinyallerini başlatabilmektedir.

2.4.2.2. Hücre İçi Proteazların Aktivasyonu:

İç ve dış sinyallerle hücre içinde bulunan bir grup proteaz aktive olur. Bu proteazlara kaspaz (caspase = cysteine-containing aspartate specific proteases) adı verilmektedir. İnsan hücrelerinde 10'dan fazla kaspaz tespit edilmiştir. Sağlıklı hücrelerde kaspazlar, enzimatik olarak inaktif formda ve aktif forma göre daha uzun bir polipeptid zinciri olarak bulunurlar. Buna zimogen form denir. Kaspazlar başlatıcı ve sonlandırıcı kaspazlar olarak iki grupturlar. Ölüm reseptörleri adaptör proteinler aracılığı ile, iç sinyaller ise mitokondri aracılığı ile başlatıcı kaspazları aktive ederler. Aktive olan başlatıcı kaspazlar da, zincirleme olarak diğer kaspazları aktive ederler (108).

İç sinyallerle oluşan apoptozda mitokondri önemli rol oynamaktadır. Sinyaller dış mitokondri zarında geçirgenlik artışına neden olurlar. Hücrede mitokondri dış zarının geçirgenliğini ayarlayan proteinler vardır. Bunların en önemlisi bcl-2 grubu proteinlerdir. Bu grubu oluşturan proteinlerin bir kısmı antiapoptotik, bir kısmı ise proapoptotiktir. Bcl-2 proteini antiapoptotiktir. Bu protein, mitokondri dış membranına ve apoptoz proteaz aktive edici faktör 1'e (Apaf 1) tutunur. Hücrenin içinden kaynaklanan apoptotik sinyaller Apaf 1'in mitokondriden ayrılmasına neden olur. Bu ayrılma dış mitokondri zarının geçirgenliğini artırır. Geçirgenliğin artması, mitokondrinin iki zarı arasında bulunan sitokrom c'nin

sitoplazmaya çıkmasına neden olur. Sitokrom c sitoplazmada Apaf 1, kaspaz 9 ve ATP ile birleşir. Oluşan bu yapıya apoptozom denir. Apoptozom, sonlandırıcı kaspaz olan kaspaz 3' ü aktive ederek apoptoza neden olur (113,114) (Şekil 4).



Şekil 4: Apoptoz sırasında hücre içi sinyallerle aktifleşen mitokondrial yol

Hücrede iç veya dış nedenlerle DNA hasarı oluştuğunda aktive olan bazı genler, hücrenin apoptozuna neden olabilir. Bu genlerden en önemlisi p53 genidir. İnsan tümörlerinin %50'den fazlasında mutasyona uğradığı tespit edilen p53 geninin, kanser oluşumunu önlemede kritik rol oynadığı kabul edilmektedir. Normalde inaktif durumda bulunan p53 geni, DNA hasarı oluştuğunda aktifleşerek p21 genini harekete geçirir. p21 geni hücrenin geç G1 fazında kalarak, S fazına geçmesini engeller. Böylece hücre siklusu durdurularak oluşmuş olan DNA hasarlı hücrenin çoğalması engellenir. p53 geni DNA tamiri yapan proteinlerin transkripsiyonunu sağlar. Bu proteinler DNA hasarını tamir edebilirse, hücre siklusundaki blok kalkar. Hücre hasarının tamiri başarılı olmazsa p53 geni bax proteinini (bcl-2 grubu proteinlerden, proapoptotik) aktive ederek mitokondri aracılığı ile hücrenin apoptoza giderek ölmesini sağlar. Böylece DNA hasarlı hücre ortadan kaldırılmış olur (108,115,116).

2.4.2.3. Hücrede Oluşan Biyokimyasal ve Morfolojik Değişiklikler:

2.4.2.3.1. Biyokimyasal Değişiklikler:

Sonlandırıcı kaspazlar aktive olduktan sonra sitoplazmada ve çekirdek içinde hedef proteinleri yıkarlar. Buna bağlı olarak, hücrede üç önemli değişiklik oluşur (**Şekil 3**) (108, 117):

- 1- DNA kırıklarının oluşması
- 2- Hücre iskeletinin yıkılması
- 3- Hücre membran değişiklikleri

2.4.2.3.2. Morfolojik Değişiklikler:

Hücreler özelleşmiş yüzeysel yapılarını ve diğer hücrelerle olan temas yüzeylerini kaybederler. Su kaybederek küçülürler, büzüşürler. Sitoplazmanın yoğunlaştığı, organellerin birbirlerine yaklaştığı izlenir. Membranlar bütünlüklerini korurlar. Organeller genel olarak sağlamdır. Bazen ribozomlarda çökme izlenebilir. Sitoplazmada yüzeye paralel yerleşmiş mikrofilaman kümeleşmeleri ve endoplazmik retikulumda geçici genişlemeler görülür. Bu genişlemelerin sitoplazmadaki suyun endoplazmik retikuluma geçmesi ile oluştuğu sanılmaktadır. Dilatasyona uğrayan sisternalar hücrenin yüzeyi ile birleşerek yüzeyde krater manzarası oluşturur. Mitokondriler genellikle normal yapılarını korurlar (108) .

En önemli değişiklikler çekirdekte izlenir. Kromatin çekirdek membranına yakın kısımlarda yoğunlaşarak, değişik şekil ve büyüklüklerde çöker. Elektron mikroskop ile bakıldığında kromatinin yoğun granüler yarım ay, hilal veya yüzük şeklinde çekirdek membranının iç yüzünde yerleştiği izlenir. Çekirdekte de hücrede olduğu gibi büzüşme görülür. Bazen membranla sarılı olarak birkaç parçaya ayrılabilir. Nükleer porlar kromatinin membrana komşu olmadığı bölgelerde yoğunlaşırlar (108).

Apoptotik süreç ilerledikçe hücrelerde sitoplazmik çıkıntılar oluşur. Hücre daha sonra membranla çevrili küçük parçalara bölünür. Bunlara “apoptotik cisim” adı verilir. İçlerinde sitoplazma ve sıkıca paketlenmiş organeller bulunur. Bazılarında çekirdek parçaları da mevcuttur (108).

2.4.2.4. Fagositoz:

Apoptotik cisimler çevredeki parankim hücreleri ve fagositler tarafından fagosite edilerek dokudan temizlenirler (108). Apoptotik hücreler, histopatolojik olarak veya sözü edilen morfolojik değişikliklerin ultrastrüktürel dökümantasyonu ile tanınabilmektedir. Nükleer DNA kırıklarının histokimyasal olarak tanınması, terminal deoksinükleotidil transferaz aracılığında deoksiüridin trifosfat nick-end (TUNEL) işaretleme tekniği ve agaroz

jel elektroforezi aracılığıyla merdiven şeklindeki DNA kırıklarının görülmesi ile mümkün olmaktadır (118).

2.4.2.5. Kalp'te Apoptoz:

Apoptoz, kardiyovasküler sistemin normal embriyolojik gelişimi süresince ve yetişkinlerde kalpte ve damarlarda ortaya çıkmaktadır. Kardiyak organogenez esnasında conotruncal bantlar içindeki apoptoz, bulbus cordis'in oluşumu süresince oluşan biçim değiştirmeye neden olmaktadır. Postnatal olarak sağ ventrikül içindeki kardiyomiyositlerin apoptozu fetal dolaşımdan erişkin dolaşıma geçiş esnasında kas kütesinin azalmasına yol açar. Kardiyak ileti sistemi; gebeliğin ilk aylarında meydana gelmektedir; fakat doğum sonrası periyotta önemli değişikliklere uğramaktadır. Miyositler ve seyrek kollajen yapı embriyolojik sinus düğümünü oluşturmaktadır. Doğumdan sonra miyositler; uzun silindirik değişici hücreler aracılığıyla birbirine bağlı küçük yuvarlak P hücre gruplarına değişmektedir. Kalan miyositlerin apoptozu kollagen birikimlerinde son bulur. Buna karşın; doğumda atrioventriküler düğümde çok miktarda P hücreleri bulunmaktadır. Erişkin AV düğümünde; merkezi fibröz cisim apoptoz ile tüm etkin kısa devreleri kaybeder ve sadece His demetine yakın olan AV düğümünün alt kısımlarındaki küçük ve etrafa yayılmış olan P hücre grupları kalır. Apoptozun olmaması ve AV düğümünde iletili dokunun bulunmaya devam etmesi tekrarlayan taşiaritmilere yol açar. Geciken apoptoz; genç yaşlarda görülen hayatı tehdit eden ve kendiliğinden oluşan aritmileri açıklayabilir. Buna karşın; aşırı apoptoz bradiaritmilere ve ani kardiyak ölümlere yol açabilir (119).

Erişkin kardiyovasküler sistemdeki apoptoz, kronik kalp yetmezliğinde, aritmojenik sağ ventriküler displazisinde, akut myokard enfarktüsünde, normal kardiyak yaşlanma sürecinde ve kardiyomiyopatilerde görülmektedir (118).

2.4.2.5.1. Kalp'te Apoptozu Yol Açan Mekanizmalar:

- *Mitokondriyal Yolak:* Kardiyak miyositler oldukça büyük miktarlarda enerjiye gereksinim duyarlar. Kardiyak miyositin içindeki total hücre içi hacminin yaklaşık %30'u mitokondriden oluşmaktadır. Apoptoz, ekstrinsik ölüm reseptör yolağına ek olarak iç mitokondriyal yolak nedeniyle de aktive olabilir. Mitokondri, intrinsik yolakta büyüme faktörlerinin kaybı, kalsiyum veya hipoksi gibi çeşitli hücrel stres sinyalleri ile aktive olur ve bu uyarılara karşı yanıt olarak sitokrom c, apoptozu neden olan faktör (AIF), Smac/Diablo, endonükleaz G (endo G) ve sitozol içindeki prokaspazlar gibi pro-apoptotik faktörleri salgılar. Sitokrom c'nin salınması apoptoz sürecinde kritik bir adımdır. Sitokrom c,

sitozole salındığı zaman, apopitozom olarak bilinen makromoleküler kompleksi oluşturmak üzere ATP, Apaf-1 ve kaspaz 9 ile birleşir. Böylece kaspaz 3 aktivasyonu ve apopitoz tetiklenir (120).

- Kardiyak hücrelerde mitokondri başlangıçlı apopitozun, hücre ölümünde önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Birçok araştırmacı, farklı apopitotik uyarılar verilen kardiyak miyositlerden ve izole edilen kardiyak mitokondrilerden sitokrom c salgılandığını göstermişlerdir. Mitokondriyal yolağın aktivasyonu ve kardiyak miyosit kültürlerinde sitokrom c'nin salgılandığı, hipoksi, glikoz yoksunluğu, kokain ve reaktif oksijen uygulanan modellerde rapor edilmiştir. Mitokondriyal yolağın aktivasyonunun iskemi/reperfüzyon hasarında rol oynadığı, iskemi/reperfüzyon hasarı yaratılan modellerde mitokondriden sitokrom c salgılandığı ve kaspaz -9 aktivasyonu oluştuğu gösterilerek kanıtlanmıştır (120).

- *Reaktif oksijen türleri:* Apopitoz, yaşlanma, iskemi/reperfüzyon ve kalp yetmezliği gibi durumlarda reaktif oksijen örneklerinin (ROS) salınması ve üretimi ile ilişkili olaylar süresince meydana gelmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda kardiyak miyositlerde oksidatif stresin apopitoza neden olabildiği gösterilmiştir. Çok fazla ROS üretimi mitokondriyal hasara ve disfonksiyona sebep olmaktadır. Örneğin, hidrojen peroksidin neden olduğu apopitoz, miyojenik hücre hattında (H9C2) mitokondriyal membran potansiyelinin bozulması ve sitokrom c'nin hızla salınması ile birlikte meydana gelmektedir. Bundan başka kalp yetmezliğinin çalışıldığı fare modelindeki kalplerde ROS üretiminin ve mitokondriyal disfonksiyonunun arttığı saptanmıştır. Buna ek olarak bazı çalışmalarda ROS'un üretimi ile iskemi/reperfüzyon hasarı arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir. İskeminin kendisi bazı hücre ölümlerine neden olurken, reperfüzyon hızlanmış apopitotik hücre ölümü ile ilişkilidir. Reperfüzyonun ilk birkaç dakikası içinde serbest radikal üretimi patlaması olmaktadır. Örneğin tavuk miyosit kültüründe reperfüzyondan sonra, sitokrom c salınımı, bunu takiben kaspaz aktivasyonu ve hücre ölümü görülmüştür (120).

- *Kalsiyum:* Çeşitli fizyolojik süreçlerde önemi olan ikinci haberci bir iyonudur. Bununla birlikte hücre içi kalsiyum seviyelerindeki değişiklik apopitoza neden olan yolları aktive edebilmektedir. Yapılan bir çalışmada, ekstraselüler kalsiyum miktarındaki artışın kardiyak miyositlerde apopitoza neden olduğu gösterilmiştir (120).

2.4.2.6. Damarlarda Apoptoz:

Embriyoda çift olan büyük damarların ve birçok aortik arkın absorbe edilmesi ve büyük damarların erişkindeki şeklinin oluşması için yaygın apoptoza gereksinim vardır. Bu süreçteki hatalardan önemli vasküler anomaliler sorumludur. Akut arteriyel balon hasarından sonra, geri dönüşümlü darlık görülen lezyonlardaki düz kas hücrelerinde, ileri derece aterosklerotik plaklarda, safen ven greftlerinde, spontan hipertansiyonda apoptoz gözlenmektedir. Birbirinden tamamen farklı bu patolojik süreçlerin temel özellikleri dikkate alındığında, vasküler düz kas hücrelerinin apoptozunun vasküler yeniden yapılanmada önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Vasküler düz kas hücreleri damar duvarı içinde tüm yaşam boyunca hem bölünürler hem de apoptoza uğrarlar. Bununla birlikte normal erişkin arterleri çok düşük apoptotik veya mitotik belirtiler gösterirler. Hastalıklı dokularda inflamatuvar sitokinler, inflamatuvar hücreler ve modifiye kolesterol gibi lokal olarak etki eden faktörlerin yanı sıra değişen kan basıncı gibi sistemik etki gösteren faktörler de bulunur. Bu faktörler proliferasyon ve apoptoz dengesinin bozulmasından sorumludurlar (121)

2.4.2.7. Manyetik Alanların Apoptozun İndüklenme Mekanizmalarına Etkileri:

Hücrelerde manyetik alanların etkileri oldukça karmaşık bir seri olaylar zincirini kapsamaktadır. Manyetik alanlar, hücrelerin iyon dengesinde, özellikle kalsiyum dengesi ve transportundaki değişikliklere neden olurlar. Hücrelerde bozulan iyon dengesini açıklamak ve bu konudaki manyetik alan etkilerini aydınlatmak üzere çok sayıda teorik modeller oluşturulmuştur. Buna karşın henüz kabul edilen bir model yoktur. Bu nedenle bu konuda kuramsal ve deneysel modeller geliştirilmelidir.

Daha önce geliştirilen modellerden biri McLeod and Liboff'un geliştirdiği iyon cyclotron rezonans (ICR) modeli, diğeri de Lednev, Blanchard ve Blackman'ın geliştirdiği kuantum mekanik etkileşim modelidir. ICR modelinde , serbest iyonlar statik bir manyetik alanda cyclotron frekansı ile taşınmaktadır ve uygun frekanstaki ELF manyetik alanlardan etkilenebilmektedir. İyonların özellikle membran yakınlarındaki bu hareketleri yanlış sinyallere neden olup normal hücre fonksiyonlarını bozmaktadır. Kuantum modelinde ise manyetik alanlar biyolojik olarak kanal proteinlerine bağlı aktif iyonlar ile karşılıklı etkileşim halindedir ve kendi kendine kanalların açılıp kapanması ile ilgilidir. Kuantum modeli mükemmel görünmemesine karşın son zamanlarda Baureus, Koch ve arkadaşları tarafından da deneysel olarak desteklenmiştir (122).

İyon cyclotron rezonans ve güçlü titreşim modellerine göre hücrelerde manyetik alanların olası etkileri, hücrenin veya organellerin içinde ve dışında bulunan serbest iyonlar üzerindeki etkilerine bağlıdır. Manyetik alan bu iyonlar üzerinde özellikle kalsiyum iyonunda rol oynar ve belki de fosfoinositol döngüsü nedeniyle yanlış sinyallere neden olur. Cyclotron rezonans modelinde, serbest iyonların taşınması cyclotron frekansı ile bozulmaktadır. Güçlü titreşim modelinde serbest iyon taşınmasındaki bu karışıklık güçlü titreşimler ile meydana gelmektedir. Her iki durumda da manyetik alanlar hücre fonksiyonunu bozarlar (122).

Kuantum modeline göre hücrelerdeki manyetik alanların olası etkileri, manyetik alanların biyolojik olarak aktif iyonlar ile (özellikle kalsiyum iyonu) etkileşime girmesi, kanal proteinlerine bağlanması ve kanalların açılıp kapanmasını etkilemesi ile ilgilidir. Sonuçta hücrenin iyon dengesi değişmekte ve hücre fonksiyonları bozulmaktadır (122).

2.5. Kalp Ve Aorta'nın Anatomisi:

2.5.1. Kalp (Cor):

Dolaşım sisteminin merkezi organı olan kalp, pericardium denilen özel bir zarla sarılı olarak, göğüs boşluğunun mediastinum medius kısmında, iki akciğer arasında yer almaktadır.

2.5.1.1. Kalbin dış görünüşü ve oluşumları:

Koni şeklinde olan kalbin, taban kısmına basis cordis ve tepe kısmına apex cordis denilir. Kalp'te atrium dextrum, atrium sinistrum, ventriculus dexter ve ventriculus sinister olmak üzere 4 boşluk vardır. Bu boşlukları birbirinden ayıran bölmelerin dış duvara tutunduğu yerlerde oluklar bulunur. Bunlardan atriumlarla ventrikülleri birbirinden ayıran oluğa sulcus coronarius denir. Atriumlar arasındaki oluklardan ön taraftaki görülmez, arka taraftaki ise az belirgindir. Ventrikülleri ayıran oluklara sulcus interventricularis anterior ve sulcus interventricularis posterior denir.

Kalbin dört yüzü ve dört kenarı vardır. Konveks olan ön yüzüne facies sternocostalis (anterior), diafragma üzerine oturan, alt yüzüne facies diaphragmatica (inferior), akciğerlerin mediastinal yüzlerine bakan sağ ve sol yüzlerine facies pulmonalis dextra ve sinistra denir. Kenarları, margo superior (üst kenar), margo inferior (alt kenar), margo sinister (sol kenar) ve margo dexter (sağ kenar) adını alırlar.

Sternokostal yüzün üst sağ tarafında auricula dextra (sağ kulakçık), sol tarafında auricula sinistra (sol kulakçık) görülür (123).

2.5.1.2. Kalbin İç Görünüşü ve Oluşumları:

Septum interatriale, septum interventriculare ve septum atrioventriculare denilen üç bölme kalbin dört boşluğunu birbirinden ayırır. Bu boşluklara atrium cordis dextrum, atrium cordis sinistrum, ventriculus dexter ve ventriculus sinister denir.

Kalbin iç yüzünde kas liflerinden oluşan kabartılar bulunur. Bunlardan atriumlarda yer alanlara mm.pectinati, daha kabarık olan ve ventriküllerde yer alanlarına ise trabeculae carnea denir. Trabecula carnea'nın üç tipi vardır. Birincisi, tüm uzunluğunca ventrikül duvarına yapışık olan basit çıkıntılar şeklindedir. İkincisi, bir köprü şeklinde olup sadece iki ucu ventrikül duvarına yapışiktır. Üçüncü tip ise, sadece bir ucu ile ventrikül duvarına yapışır ve diğer ucu ventrikül boşluğunda sebest olarak sonlanır. Bu serbest uçlara, chorda tendinea adı verilen fibröz lifler tutunur. Üçüncü tip çıkıntılara m.papillaris adı verilir.

Sağ ventrikülde m.papillaris anterior ve posterior olmak üzere iki adet papillar çıkıntı vardır. Bazen septum interventriculare'de mm.papillares septales denilen küçük birkaç çıkıntı bulunabilir. Trabecula septomarginalis denilen kas yapılı bir bant, koyun ve bazı memeli hayvanlarda gayet belirgindir. İnsanlarda ise sıklıkla septum interventriculare'den m.papillaris anterior'un köküne doğru uzanır. Bu bant içinde kalbin iletim yollarından crus dextrum'un terminal dallarından biri geçer.

Sol ventrikülde iki adet papillar kas, m.papillaris anterior ve posterior vardır. Bunlar sağ taraftakilerden daha kalındır (123).

2.5.1.3. Kalp duvarının yapısı:

Kalp içten dışa doğru endocardium, myocardium ve epicardium olmak üzere üç tabakadan oluşur. Ayrıca pericardium denilen torba şeklindeki bir zarla da dıştan sarılmıştır. Bu zar kalbe yapışık değildir.

Endocardium: Kalp boşluklarının iç yüzleri, kalp kapakçıkları, m.papillaris, chorda tendinea, m.pectinati ve trabecula carnea'ları örten ince, düz ve parlak bir zardır. Histolojik olarak iki tabakalı olan bu zarın iç tabakasını ,tek katlı endotel hücreleri oluşturur. Kalp kasına yapışık olan dış tabakasını ise kollagen lifler, elastik lifler ve bir miktar da düz kas lifleri oluşturur.

Myocardium: Yapı itibariyle kısmen çizgili, kısmen de çizgisiz kaslara benzerler. Kalp kası, birbiri içine girmiş oldukça karışık bir dizilim gösteren kas lifi bantlarından oluşur. Bunlar da sinirlerini, düz kas lifleri gibi otonom sistem'den alırlar. Kas lifleri birbirine bağ dokusu ile bağlanarak huzmeleri, huzmeler de tabakaları oluşturur. Atrium ve ventrikülleri

saran kaslar birbirinin devamı olmayıp,aralarında kalp iskeleti bulunur.Bu nedenle atrium ve ventriküller ayrı ayrı çalışabilirler. Kalp kası liflerini atriumları saran lifler, ventrikülleri saran lifler ve fasciculus atrioventricularis(His huzmesi)olmak üzere üç grupta toplayabiliriz.

Atriumları saran kas tabakası, ventrikül duvarından daha ince olup, seyir yönleri farklı olan iki tabakadan oluşur.

Ventriküllerin kas tabakası atriumlarınkinden daha yakın ve daha karışık bir dizilim gösterirker. Kanı gövdeye pompalayan sol ventrikül duvarı,sağ ventrikülün yakkaşık 3 katı kalınlığındadır.Burada myocardium 3 tabakalıdır ve her bir tabakadaki liflerin farklı yönlerde seyreder.Fakat lifler birbirinin devamı şeklindedir.Kalp iskeletinden başlayan bir kas lifi dış tabakada longitudinal olarak tepeye doğru uzanır.Bu kas lifi,kalp iskeleti ile tepe arasındaki mesafenin çeşitli noktalarında yön değiştirerek sirküler şekilde seyreder ve orta tabakayı oluşturur.Yine aynı kas lifi iç tabakayı oluşturan longitudinal lifler şeklinde yukarı doğru uzanarak kalp iskeletinde son bulur.

Epicardium: Dış tabaka olup, kalbi saran seröz torbanın(pericardium serosum)visseral yaprağından(lamina visceralis)ibarettir. Lamina visceralis,lamina parietalis ile uzanır.Yassı epitelyum hücrelerinden oluşan seröz perikard yaprakları,seröz bir sıvı salgırlar.Potansiyel bir boşluk olan cavitas pericardiaca'da biriken bu sıvı,kalbin çalışmasl esnasında visseral ve parital yaprakların birbirleri ile olan sürtünmelerini azaltır/yok eder (123).

2.5.2. Aorta:

Dolaşım sisteminin ana damarıdır. 3 cm çapında olan aorta, sol 3. kıkırdak kaburganın alt kenarı seviyesinde ve sternum'un sol yarısının sol ventrikülden başlar.Burada manubrium sterni'nin ortası hizasına çıktıktan sonra,sol akciğer kökü üzerinde sola ve arkaya doğru yön değiştirir.Göğüs boşluğunun arka duvarında ve omurganın sol tarafında olmak üzere aşağı doğru iner. 12.torakal omurun alt kenarı hizasında diafragmanın arka bölümünün orta kısmında bulunan hiatus aorticus'dan geçerek karın boşluğuna girer. Karın boşluğunda 4. lumbal omurun alt kenarı hizasında terminal dalları olan a.iliaca communis dextra ve sinistra'ya ayrılır. Buraya kadar olan seyri esnasında birçok dal vermesi nedeniyle,başlangıçta 3cm olan çapı azalarak 1.75 cm ye kadar iner.Aorta pars ascendens aortae,arcus aortae ve pars descendens aortae olmak üzere üç bölüme ayrılır.Pars descendens aortae'nin de göğüs boşluğunda bulunan bölümüne pars thoracica aortae, karında bulunan bölümüne de pars abdominalis aortae denilir (123).

2.6. Kalp Ve Aorta'nın Histolojisi:

2.6.1. Kalp:

Kalp, kanı dolaşım sistemine ritmik kasılımlarla pompalayan kas kitlesinden oluşmuş bir organdır. Aynı zamanda atrial natriüretik faktör denen bir hormonun üretiminden sorumludur. 3 tabakalı bir duvar yapısı vardır. İçte endokardiyum, ortada miyokardiyum, dışta perikardiyum (Yun. peri + kardio, kalp). Kalbin merkezindeki fibröz bölge, yani fibröz iskelet kalp kası hücrelerinin kökenini aldığı ve yerleştiği bir bölüm olmasının yanı sıra kapakçıkların da temelini oluşturur (124).

2.6.1.1. Tunikalar:

Endokardiyum, damarlardaki intima ile aynı yapıdadır. Tek katlı yassı endotel hücreleri düz kas hücrelerinin yanı sıra elastik ve kollajen liflerden oluşan gevşek bağ dokusu tabakası üzerine oturmuştur. Endokard ile miyokard arasında subendokardiyal tabaka olarak adlandırılan bir bağ dokusu vardır, bu tabaka sinir, damar ve kalbin uyarı iletim sistemi hücrelerini (purkinje hücreleri) içerir.

Miyokardiyum tunikaların en kalınıdır. Kalp kası hücrelerinden oluşan bir tabaka, kalp boşluklarını, karmaşık bir spiral biçiminde sarar. Bu şekildeki çok sayıda tabaka fibröz kalp iskeleti içine gömülmüştür. Bu hücrelerin yerleşimleri aşırı derecede farklılıklar gösterir, küçük bir alandan yapılmış histolojik bir preparata bile değişik yönlere uzanan hücrelere rastlanır. Kalp kası hücreleri 2 grupta sınıflandırılır: Kontraktıl hücreler ve kalp vurusunu sağlayan elektrik uyarısını üreten ve ileten iletilici hücreler.

Epikardiyum kalbi saran seröz bir yapıdır, perikardiumun visseral tabakasını oluşturur. Dıştan tek katlı yassı epitel (mezotelyum) ile örtülüdür. Bu epitel ince bir bağ dokusu ile desteklenmiştir. Gevşek bağ dokusundan oluşmuş subepikardiyal tabakada venler, sinirler ve sinir ganglionları mevcuttur. Kalbi çevreleyen yağ dokusu bu tabakada birikir (124).

2.6.1.2. Fibröz İskelet:

Yoğun bağ dokusundan oluşur. Başlıca bileşenleri septum mebranaceum, trigona fibrosa ve anuli fibrosidir. Bu yapılar değişik yönlere doğru giden kalın kollajen liflere eşlik eden yoğun bağ dokusundan oluşmaktadır Bazı yerlerde fibröz kıkırdak nodülleri bulunur (124).

2.6.1.3. Kapakçıklar:

Kalp kapakçıkları her iki tarafında endotel tabakası bulunan yoğun fibröz bağ dokusuna (elastik ve kollajen liflerden oluşan) sahiptir. Kapakçıkların tabanı fibröz iskeletin anulus fibrozuslarına bağlanmıştır (124).

2.6.1.4. Kalp Atımını Kontrol Eden Yapılar:

Kalbin uyarı üreten ve ileten yapıları atriyum ve ventriküllerin uyumlu çalışmasını ve kalbin etkin bir pompa şeklinde çalışmasını sağlar.

Sinoatriyal düğüm kalbin uyarı odağıdır ve en hızlı ritmik aktiviteye sahiptir. Vena kava superiorun sağ atriyuma girdiği yere yakındır. Nodal hücreler küçülmüş ve daha az miyofibrille sahip özelleşmiş atrial kas hücreleridir. Nodal hücreler geniş bir nodal arterin etrafında yoğunlaşmış olarak bulunur. Sinoatriyal düğümdeki elektrik depolarizasyonu özelleşmiş hücrelerin oluşturduğu internodal yollarla atrioventriküler düğüme ulaşır, bu özelleşmiş kas hücreleri sağ atriyumun endokardiyumunun hemen altında uzanırlar. Nodal hücreler sinoatriyal hücrelerle aynıdır. Buna ek olarak önemli miktarda yağ dokusunun yanı sıra daha geniş arteriyoller burada bulunmaktadır.

Purkinje hücrelerinin oluşturduğu atrioventriküler His demeti, fibröz iskelete penetre olur ve sağ ve sol dal demetlerini oluşturmak üzere bölünür. Sol dal tekrar 2'ye bölüne peksine kadar gidip ters istikamete yönelip kalp hücrelerine gap junctionlarla bağlanırlar. Bu düzenlenim, ventriküler kontraksiyon uyarısını, ilk önce kasılarak, kanı ventriküllerden dışarıya atmak zorunda olan kalbin apeksine doğru iletilmesini sağlar. Kontraksiyon dalgası sonra kalbin tabanına yönelir (pulmoner ve aort kapakları). Purkinje hücrelerinin çapı normal kalp kası hücrelerinden belirgin şekilde büyüktür.

Otonom sistemin hem sempatik hem de parasempatik bölümleri kalbi innerve ederler ve kalbin tabanında geniş bir pleksus yaparlar. Sinoatriyal ve atrioventriküler düğümlere yakın yerleşimli ganglionik sinir hücreleri ve sinir lifleri bulunur. Bunlar sinoatriyal düğümün görevi olan kalp atım uyarısının oluşmasını etkilememelerine karşın kalp ritmini etkilerler. Parasempatik (vagal) uyarılar kalp vurusunu yavaşlatırken, sempatik sinirler uyarı odağının ritmini hızlandırır (124).

2.6.1.5. Kalp Kası:

Embriyonun gelişimi sırasında ilkel kalp tüpünün splanknik mezoderm hücreleri zincirisi uzantılar halinde dizilirler. İskelet kasındaki sinsisyum hücreleri halinde kaynaşmak yerine, kalp hücreleri birbirlerinin uzantıları arasında kompleks bağlantılar oluştururlar. Zincirdeki

hücreler çoğunlukla dallanır ve komşu zincirdeki hücelere tutunurlar. Böylece kalp, sıkı bir örgü demeti halinde düzenlenmiş olan hücrelerden oluşur, bu şekilde tipik kasılma dalgasının ventriküllerin dış bölümüne doğru açılarak yayılması sağlanır.

Olgun kalp kası hücreleri yaklaşık 15 µm çapında ve 85-100 µm uzunluğundadır. Bunlar iskelet kasında olduğu gibi enine çizgilenen bandlaşmalar gösterirler. Çok çekirdekli iskelet kasının tersine her kalp kası hücresinin sadece 1 ya da 2 adet, merkezde yerleşmiş soluk boyanan çekirdeği vardır. Zengin bir kapiler ağ içeren ince bir endomisyal bağ dokusu kılıfı kas hücrelerini sarar.

Kalp kasını diğerlerinden ayıran tek tipik özellik düzensiz aralıklar ile kalp hücrelerinin oluşturduğu zincirleri çaprazlayan koyu boyanan enine çizgilerin bulunmasıdır. Bunlar diskus interkalaris olarak bilinen komşu kalp kası hücreleri arasındaki yüzlerde bulunan oldukça kompleks bağlantılardır. Bağlantılar düz bir kat şeklinde ve basamak biçiminde gözlenebilir. Basamaksı bağlantılarda 2 bölge ayırılabilir; enine bölüm, lifleri dik açı ile çaprazlayanlar, lateral bölüm, miyofilamanlara paralel uzanan kısımlardır. Disklerde başlıca 3 bağlantı kompleksi vardır. Fasya adherens, diskin tranvers bölümlerinde özelleşmiş membran çıkıntılarıdır, terminal sarkomerlerde aktin filamanları için kanca işlevi görürler. Aslında, yarı-Z bandları olarak tanınırlar. Makula adherensler (desmozomlar) sabit kasılma durumunda birbirlerinden tamamen uzaklaşmamaları için kalp kası hücrelerini bağlarlar. Diskin lateral bölümünde gap junctionlar (neksus) komşu hücreler arasında iyonik süreklilik sağlar. İyon bağlanmasının önemi, belli hücre zincirindeki kasılma sinyalinin hücreden hücreye bir dalga halinde yayılmasını sağlayan sinsisyum olarak davranmasıdır.

Kalp kası hücrelerinde kasılma proteinlerinin yapısı ve fonksiyonu gerçekte iskelet kasındaki gibidir. Ancak T tübül sistemi ve sarkoplazma retikulumu, kalp miyositlerinde düzenli dizilmemiştir, T tübülleri ventrikül kaslarında iskelet kasındakinden daha çok sayıda ve daha büyüktür. Kalp T tübülleri memeli iskelet kasındaki gibi A-I bağlantısında değil Z bandı hizasında yer alır. Sarkoplazma retikulumu çok iyi gelişmemiştir ve miyofilamanlar boyunca gelişigüzel yayılırlar. Farklı olarak kalp kasında ayrı miyofibriller demetler de bulunmaz.

Kalp hücrelerinde triadlara sık olarak rastlanmaz. Çünkü T tübülleri sadece sarkoplazma retikulumu sisternasının bir taraftaki genişlemesi ile bağlantı kurar. Yani kalp kası bir T tübülü ve bir sarkoplazma retikulumu sisternasının düzenlenmiş şekli olan diadlar ile karakterizedir.

Kalp kası hücreleri çok sayıda mitokondri içerir. Bunlar sitoplazmanın %40'ından fazlasını oluşturur, çünkü kalp kası devamlı oksidatif metabolizmaya ihtiyaç duyar. İskelet kasında bu oran yalnızca %2'dir. Kalbin ana yakıtı olan yağ asitleri lipoproteinlerle kalp kası hücrelerine taşınır, yağ asitleri, kalp kası hücrelerinde gözlenen çok sayıda lipid damarları içinde trigliseridler halinde depolanır. Çok az miktarda glikojen de bulunur. Bunlar stres durumunda enerji üretimi için glikoza yıkılabilirler. Uzun yaşayan hücreler içinde çok rastlanan lipofuksin pigment granülleri (yaşlılık granülleri) kalp kası hücrelerinin çekirdek kutuplarına yakın bulunur.

Atrium ve ventrikül kasları arasında yapısal açıdan birkaç farklılık vardır. Kalp kasının iki tipinde de miyofilamanların düzenlenmesi birbiriyle aynıdır. Ancak atrial kaslar dikkati çekecek kadar az sayıda T tübüllerine sahiptir ve hücreler daha küçüktür. Membranla sınırlı granüllerin her biri yaklaşık 0.2-0.3 µm çapındadır, kalp kası çekirdeğinin her iki kutbunda bulunurlar ve bu bölgedeki Golgi kompleksi ile bağlantılıdır. Bu granüller sağ atriumdaki kas hücrelerinde daha fazladır (yaklaşık 600/ hücre), ancak sol atrium, ventriküller ve vücudun başka değişik yerlerinde de bulunurlar. Bu atrial granüller yüksek molekül ağırlıklı atrial natriüretik faktör, aurikülin ya da atriopeptin olarak bilinen bir hormonun öncülleridir. Bu hormon böbrekler üzerine etkiyerek sodyum ve su kaybına yol açar ve antidiüretik hormon ya da aldesteronun tersi işlev görürler (124).

2.6.2. Kan Damarlarının Genel Yapısı:

En küçük damarlar olan kapiler ve venüllerle tabakalar büyük ölçüde basitleşmiş olmasın karşın, bütün kan damarları yapısal özellikleri bakımından birçok ortak özelliğe sahiptir. Kan damarlarının yapısı fizyolojik ihtiyaçlara uyumludur. Bu yüzden pulmoner arterlerin (düşük basınçlı sistem) duvarları, karotis ya da renal arterler gibi sistemik arterlerin (yüksek basınçlı sistem) duvarlarına oranla daha incedir.

Geniş arterler, orta boy arterler ve küçük arterler arasında ayırım için kesin bir kriter bulunmadığını da belirtmek gerekir. Kan damarları süreklilik gösteren bir sistemdir, bu yüzden çeşitli sınıflandırmaların çakışması doğaldır. Genelde sınıflandırmada temel alınan boyut ya da doku bileşimidir (müsküler, elastik, vb.) (124).

2.6.2.1. Tabakalar:

Kan damarları genelde aşağıdaki katmanlardan veya tunikalardan oluşur (Latince tunika, katman)

A. Tunika İntima: İntima damarın iç yüzeyini döşeyen endotel hücrelerinin oluşturduğu bir kattır. Hücreler bazal lamina üzerinde bulunurlar. Bu hücrelerin her gün % 1'i yenilenir. Endotelin altında seyrek düz kas hücreleri içerebilen gevşek bağ dokusunun oluşturduğu subendotel tabakası bulunur. Bu tabakada eğer varsa bağ dokusu lifleri ve düz kas hücreleri uzamına bir düzenlenme gösterir. Arterlerde intima, iç elastik lamina ile mediadan ayrılmıştır. Bu lamina elastinden ibarettir ve üzerinde madde geçişine izin vererek, damar duvarının derinliklerinde yerleşen hücrelerin beslenmesini sağlayan aralıklar (pencereler-fenestralar) bulunmaktadır.

B. Tunika Media: Başlıca sarmal biçiminde dizilmiş düz kas hücrelerinin oluşturduğu konsantrik tabakalardan oluşur. Bu kas hücreleri arasında elastik lifler ve lameller, retiküler lifler ile proteoglikan yapılar vardır. Düz kas hücreleri bu hücre dışı matriksin hücre sel kaynağıdır. Daha büyük arterlerde media ile adventisya tabakası arasında ince bir eksternal elastik lamina mevcuttur. Kapiler ve post kapiler venüllerde media tabakası perisit denilen hücrelerden oluşur.

C. Tunika Adventisya: Uzamına dizilim gösteren kollajen ve elastik liflerden oluşur. Adventisyadaki kollajen, tip-1 kollajendir; retiküler liflerden zengin olan media'da, çoğunlukla kollajen bulunur. Adventisya tabakası genellikle içinden geçtiği organın etrafını saran bağ dokusu ile kaynaşır (124).

2.6.2.2. Arterler:

Bu yapılar kanı dokulara taşır. Başlangıç yerlerindeki basınç değişikliklerine direnç gösterip, uç bölgelere kadar kan akımını düzenlerler.

Arterler boyutlarına göre: arteriyoller, müsküler ya da orta boy arterler, büyük çaplı, geniş ya da elastik arterler şeklinde sınıflandırılabilir. Genel olarak aynı çapa sahip arter ve venlerin duvarları karşılaştırıldığında arterin duvarı daha kalındır.

A. Arteriyoller: Bu damarların çapı 0.5 mm den azdır ve oldukça dar bir lümen e sahiptir. Lümen devamlı kapilerlerdekine benzer şekilde endotel hücreleriyle örtülmüştür.

Subendotelial tabaka çok incedir, büyük arteriyoller hariç internal elastik lamina bulunmaz. Media müskülerdir ve genellikle 1-5 tabaka sirküler seyirli düz kastan oluşmuştur. Adventisya incedir ve eksternal elastik lamina yoktur.

B. Müsküler Arterlerler: İnsan vücudundaki isimlendirilmiş arterlerin çoğu müsküler arterlerdir. Subendotelial tabakanın biraz daha kalın ve bir miktar düz kas içermesi dışında intima arteri-yollerdeki ile aynıdır, internal elastik lamina önemli bir yer tutar. Mediada 40

tabakaya dek varabilen düz kas hücreleri bulunabilir ancak arter küçülürken tabaka sayısı da azalır. Bu hücreler elastik lamellerin yanısıra (damar ölçüsüne bağlı olarak) retiküler lifler ve proteoglikanlarla desteklenmiştir. Daha geniş olan müküler arterlerde eksternal elastik lamina bulunur. Adventisya kollajen ve elastik lifler az sayıda fibroblast ve yağ hücrelerinden oluşur. Vasa vasorum, lenfatikler ve sinirler bulunur bu yapılar medianın dış kısmına doğru penetre olabilirler.

C. Büyük Elastik Arterler: Aort ve büyük dallarını kapsar. Mediada elastin yoğun olduğundan sarı renkte görülür. Bu tip arterler aşağıdaki özelliklere sahiptir: Müküler artere göre intima daha kalındır. Subendotelyal tabaka kalındır. Subendotelyal tabakadaki bağ dokusu lifleri uzunlamasına yerleşim gösterir. Damarların ritmik kontraksiyon ve dilatasyonları esnasında hücrelerin endotel tabakasının bükülmelerinde önemli rol oynarlar. İnternal elastik lamina bulunmasına karşın belirgin değildir. Bunun sebebi diğer tabakadaki elastik lamina ile benzer olmasıdır.

Mediada yaşla beraber sayısı artan konsantrik yerleşimli bir dizi delikli elastik lamina katmanı mevcuttur (yeni doğanda 40, erişkinde 70 adet bulunur). Oluştuktan sonra özellikle yaşlı hayvanlarda elastik yapılar metabolik olarak durağanlaşır (bu özellik otoradyografik çalışmalarda gösterilmiştir). Elastin birikmesi ile bu tabaka gittikçe kalınlaşır. Elastik lamina arasında düz kas, retiküler lifler ve esas olarak kondroitin sülfat içeren ara madde bulunur.

Dış sınırlayıcı laminası olmayan tunika adventisya, daha az gelişmiştir, elastik ve kollajen lifler içerir (124).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI:

Bu çalışmada Wistar cinsi yetişkin ve yavru sıçanlar kullanıldı. Tüm hayvanlar deney sonlanıncaya kadar Deney Hayvanları Laboratuvarlarında standart koşullarda bakıldı. Herhangi bir sebeple deneyi devam ettiremeyecek olan (enfeksiyon, düşük, ölü doğum vs) ya da deneyler bitmeden yaşamı sonlanan hayvanlar deney ve istatistik kapsamından çıkarıldı. Çalışmada yetişkin grubu için Wistar cinsi (250-300 g) erkek sıçanlar kullanıldı. Yavru grubu için 10 adet Wistar gebe sıçandan doğan yavrular kullanıldı. Sıçanlar sham (n=14), EMA (n=14), yavru-sham (n=20) ve yavru-EMA (n=30) olarak gruplandırıldı. Yetişkin sıçanlara 2 ay süreyle 4 saat/gün, 3 mT EMA uygulandı. Yavru sıçanlara intrauterin dönemde ve doğum sonrası 20 gün süreyle 4 saat/gün, 3 mT EMA uygulandı. Yenidoğan yavrular postnatal 21. gün anneden alınarak sakrifiye edildi. Çalışma grupları aşağıdaki şekilde oluşturuldu:

I. grup: Yetişkin sham kontrol. EMA'ya maruz kalmayan yetişkin erkek sıçanlar (n=14)

II. grup: Yetişkin deney. EMA'ya maruz kalan yetişkin erkek sıçanlar (n=14)

III. grup: Postnatal sham kontrol. İntrauterin dönemde EMA'ya maruz kalmayan yavrular (n=20)

IV. grup: Postnatal deney. İntrauterin dönemde EMA'ya maruz kalan yavrular (n=30)

3.2. EMA OLUŞTURULMASI:

EMA oluşturmak için 50 Hz frekanslı alternatif akım ile 3 mT EMA meydana getiren helmholtz bobin sistemi kullanıldı (**Şekil 5**). EMA'nın şiddeti bir transformatör ve teslametre (FW Bell, 5170) aracılığıyla kontrol edildi. EMA sistemi birbirinden 33 cm aralıklı yerleştirilen 95 cm çaplı iki bakır bobinden oluşturuldu. Bobinler ahşap bir çerçeveye monte edilen 320 sarımlı, 2.5 mm çaplı bakır tellerden oluşturuldu. Sıçan kafesleri bobinlerin arasına yerleştirildi. Bu sistemle aynı anda 2 kafese EMA uygulanabilmektedir (125).



Şekil 5: Çalışmada kullanılan Helmholtz bobin sistemi.

Sıçanlar günde 4 saat boyunca 3 mT EMA'na maruz bırakıldı. Maruz kalma süresince tüm sıçanlar plastik kafeslere yerleştirildi. Sham grubundaki sıçanlar aynı ortamda tutuldu fakat EMA uygulanmadı.

3.3. DOKU ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI:

Maruziyet süresi biten sıçanların tümü, 24 saat sonra eter anestezisi altında sakrifiye edildi. Sıçanların yarısına önce izotonik NaCl, ardından %10 formalin ile intrakardiyak perfüzyon yapıldı. Sağ atriuma kesi yapılarak kanın dışarı akışı sağlandı, serum gelmeye başlayınca izotonik infüzyonu kesilerek formalin infüzyonuna başlandı. Perfüzyonun ardından kalp (myokard) ve aort dokusu çıkarıldı ve %10 formalinde 2 gün bekletildi, ardından bir gece suda bekletildi. Rutin histolojik takip işlemlerinin ardından dokular parafine gömüldü. Mikrotom yardımıyla (Leica RM2255) myokard ve aort dokusundan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak örnekler lizinli lamlara yerleştirildi. Her hayvandan sol ventriküle denk gelen 3'er kesit alınarak sırasıyla H&E, TUNEL ve caspase-3 antikoruna boyandı. Aort kesitlerine H&E boyası uygulandı.

3.3.1. Işık Mikroskobu ile Doku Takibi:

Uygulanan işlemler sırası ile aşağıda belirtilmiştir:

1. Fiksasyon: 48 saat % 10 formalin
2. 24 saat akarsuda yıkama
3. % 70 etil alkol 20 dk
4. % 80 etil alkol 20 dk
5. % 96 etil alkol 20 dk
6. Aseton I 20 dk
7. Aseton II 20 dk
8. Aseton III 20 dk
9. Aseton IV 20 dk
10. Ksilol I 30 dk
11. Ksilol II 30 dk
12. 60°C'lik etüvde erimiş parafin I 1 saat
13. Parafin II 1 saat
14. Parafin içinde bloklama

3.3.2. H&E ile boyama:

- 1-Ksilol I 20dk
- 2-Ksilol II 10dk
- 3- Ksilol II 10 dk
- 4- % 95 alkol 1 dk
- 5-%80 alkol 1 dk
- 6-%70 alkol 1 dk
- 7-%60 alkol 1 dk
- 8-Distile su 5 dk
- 9-Hematoksilen 10 dk
- 10-Akarsu 10 dk
- 11- Eozin 2 dk

12-%70 alkol	1 dk
13- %80 alkol	1 dk
14-%95 alkol	1 dk
15-Ksilol (3 değişim)	30-60dk
16-Entellan ile kapama	

3.3.3. TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling) Tekniği ile Boyama:

Dokudaki apoptotik hücreleri göstermek amacı ile her hayvandan alınan bir kesit TUNEL tekniği ile boyandı. Bu teknik için In situ cell death detection TUNEL system, POD kiti (Roche) kullanıldı. Kesitler boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 3 değişim ksilol ile deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Kesitler 15 dakika 20 µg/ml proteinase K ile enkübe edildikten sonra, distile su ile 5 dakika yıkandı. Doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük H₂O₂ (Merck, Germany) uygulandıktan sonra 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu (PBS; Phosphate Buffered Saline Solution, DBS, Pleasanton, CA) ile yıkanan kesitler TdT-enzimi 37°C de 1 saat enkübe edildi. Ardından tampon solüsyonu ile oda sıcaklığında 10 dakika yıkanan kesitler anti-streptavidin-peroksidaz ile 30 dakika enkübe edildi. Tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler TUNEL reaksiyonunun görünürlüğünü saptamak amacıyla diaminobenzidine (DAB, Roche Diagnostics, Germany) ile boyandı. Distile su ile yıkandıktan sonra Harris hematoksilen ile zemin boyaması yapılan kesitler %80 ve %95'lik alkollerde dehidratasyon ve 30'ar dk 3 değişim ksilol ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı.

3.3.4. İndirekt İmmünohistokimya Yöntemi:

Kesitler 24 saat 60°C etüvde bekletildikten sonra immunohistokimyasal yöntemle boyandı. Caspase-3 immunreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla rat spesifik anti-caspase-3 (1:100; Neomarkers, Fremont, CA) antikoru kullanıldı. Lizinli kesitler üç değişim ksilol ile deparafinizasyon işlemine tabi tutuldu. Ardından azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Proteinaz K solüsyonu içinde 37°C etüvde 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük Hidrojen peroksit uygulandı. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler caspase-3 antikoru ile bir gece +4°C'de enkübe edildi. Ertesi gün fosfatlı tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler biyotinlenmiş sekonder antikor ile 30 dk enkübe edildi.

Sekonder antikor Vector Elite ABC kit (Vector Labs, Burlingame, CA) ile bağlandıktan sonra antikor-biyotin-avidin-peroksidaz kompleksi 0.02% Diaminobenzidin (DAB) kullanılarak görünür hale getirildi. Zemin boyaması Harris hematoksilen ile yapıldı. Dereceli alkollerde dehidratasyon işlemi gerçekleştirilen kesitler ksilol ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı.

3.4. HOMOJENİZASYON:

Tüm sıçanların kalan yarısının yaşamları, servikal dislokasyon ile sonlandırıldı. 1-2 dakika içinde soğuk zemin üzerinde kalbin sol ventrikülü ve aort disseke edildi. Her dokudan 1x1 mm büyüklüğünde örnekler elektron mikroskopik inceleme için ayrıldı. Kalan dokular soğuk serum fizyolojik ile hemen yıkandı, ventrikül örnekleri lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA), antioksidan enzimler Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx) ölçümü için homojenize edildi. Doku örnekleri ultrasonik homojenizatörde (Bandelin Sonopuls, Germany) 2 ml soğuk PBS içinde homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri buzla soğutulmuş ortamda yapıldı. Homojenatlar +4°C'de 600 g'de 10 dk santrifüj edilerek MDA ölçümü için ependorf tüpüne ayrıldı, geri kalan homojenat +4°C'de 10000 g'de 20 dk süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatant enzim ve protein ölçümleri için ayrılarak -70 °C'de saklandı. 30 gün içinde ölçümler yapıldı.

3.5. ENZİM AKTİVİTELERİ VE MDA DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI:

MDA değerleri The Bioxytech MDA-586 (Oxis International, USA) ticari kiti ile spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Sonuçlar µM olarak ifade edildi.

SOD ve GPx enzim aktiviteleri Oxis Research kitleri kullanılarak spektrofotometre (HachLange, DR5000) ile ölçüldü. Enzim aktiviteleri hazırlanan süpernatantlardan ölçüldü ve sonuçlar ünite/mg protein (U/mg pr) ± Standart Hata (SH) olarak gösterildi.

SOD aktivitesi Bioxytech SOD-525 (Oxis International, USA) kiti ile ölçüldü. SOD' un rolü, oksidatif enerji süreçleri sırasında oluşan toksik süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu sağlamaktır. Kiti çalışma yöntemi süperoksit radikalleri oluşturmak üzere ksantin ve ksantin oksidazı kullanır. Oluşan süperoksit radikalleri 2-(4-iodophenil)-3-(4-nitrophenol) -5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) ile tepkimeye girerek kırmızı renk oluşturur. Yöntemin temeli, bu tepkimenin SOD tarafından inhibisyon derecesine dayanır.

GPx aktivitesi Bioxytech GPx-340 (Oxis International, USA) kiti ile saptanmıştır. Bu kit Paglia ve Valentine'in tanımladığı yöntemle göre hazırlanmıştır. GPx, kümen hidroperoksit

ile glutatyonun (GSH) oksidasyonunu katalizler. Glutatyon redüktaz (GR) ve NADPH varlığında, okside glutatyon (GSSG) indirgenmiş formuna (GSH) çevrilir, bu sırada NADPH okside olarak NADP' ye dönüşür. Spektrofotometrede 340 nm'de absorbansdaki azalma ölçülür.

Doku protein ölçümleri RANDOX'un U/CSF protein kitiyle yapıldı. Kitin çalışma prensibinde önce örnek magnezyum iyonlarını uzaklaştırmak ve proteini çöktürmek amacıyla EDTA içeren alkalın solüsyonla karıştırılır, sonra benzethonyum klorid eklenir, turbidite oluşturarak spektrofotometrede 600 nm' de absorbans okunur.

3.6. ELEKTRON MİKROSKOBU İLE İNCELEME:

Dokulardaki ince yapının değerlendirilmesi amacıyla her gruptaki 3'er denekten 1x1 mm büyüklüğünde doku örnekleri alındı. Örnekler %2.5'luk glutraldehid içinde fikse edildi. %1'lik osmiumtetraoksit içinde postfiksasyon yapıldıktan sonra dereceli alkollerde dehidratasyon işlemleri yapıldı. Doku örnekleri propilen oksitten geçirildikten sonra araldit içine gömülerek 60°C etüvde polimerizasyon için 48 saat bekletildi. Ultrince kesitler uranil asetat-kurşun sitrat ile boyanarak Zeiss Libra 120 TEM ile incelendi.

3.7. İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME:

Tüm veriler ortalama \pm SH olarak gösterildi. Grupların ortalamaları arasındaki farklar SPSS programında Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirildi. $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi esas alındı.

4. BULGULAR:

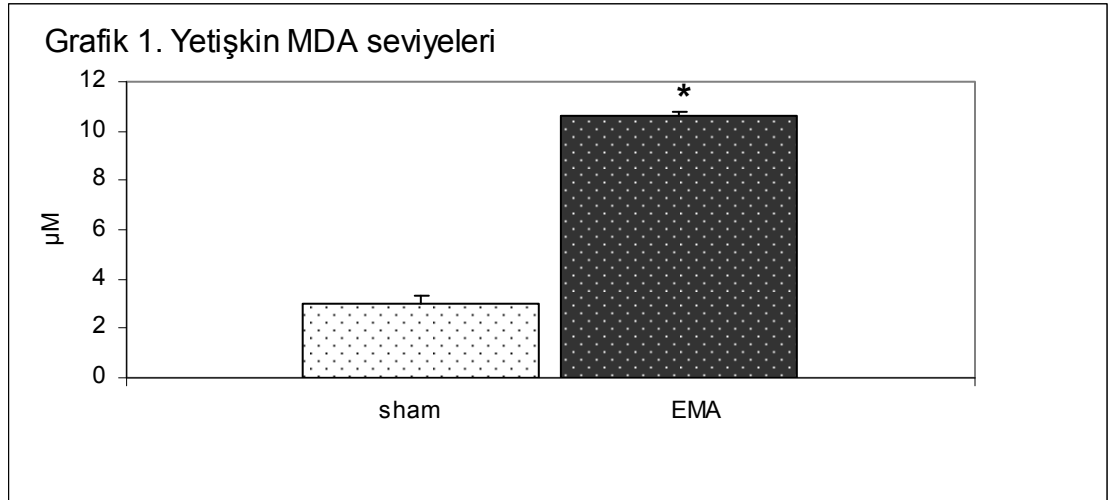
4.1. Kalp

4.1.1. MDA değerleri

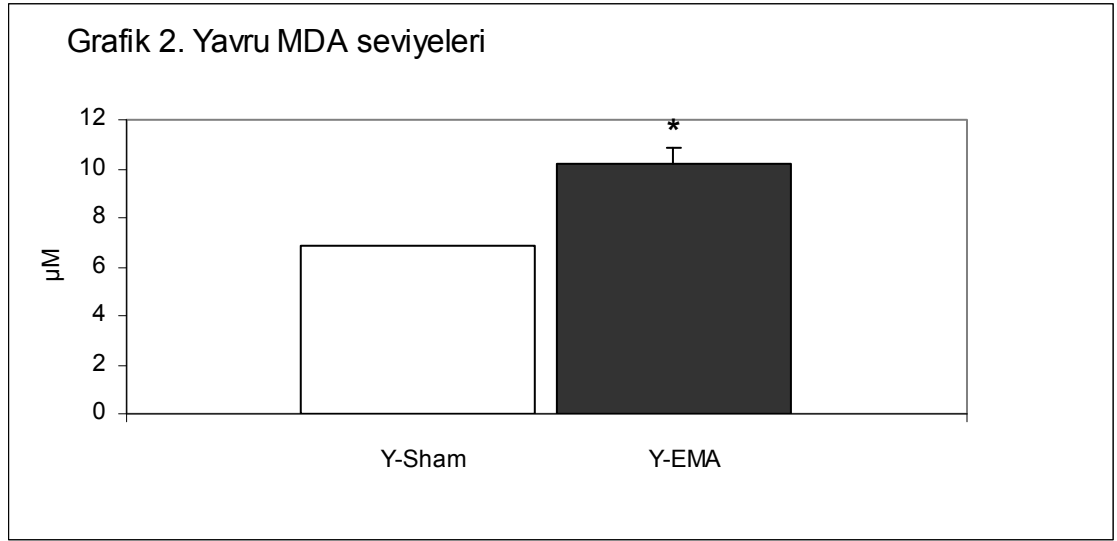
Yetişkin sıçanlarda grupların ortalama MDA sonuçları Grafik 1’de gösterilmektedir. EMA grubunun MDA değerleri sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Sham grubunun ortalama MDA değeri $2.99 \mu\text{M}$ (± 0.37 SH), EMA grubunun ortalama MDA değeri $10.64 \mu\text{M}$ (± 0.18 SH) bulunmuştur.

Yavru sıçanlarda grupların ortalama MDA sonuçları Grafik 2’de gösterilmektedir. EMA grubunun MDA değerleri sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Sham grubunun ortalama MDA değeri $6.84 \mu\text{M}$ (± 0.27 SH), EMA grubunun ortalama MDA değeri $10.21 \mu\text{M}$ (± 0.63 SH) bulunmuştur.

Grafik 1: Yetişkin MDA değerleri



Grafik 2: Yavru MDA değerleri



* Sham grubuna göre anlamlı olarak farklı (p<0.05)

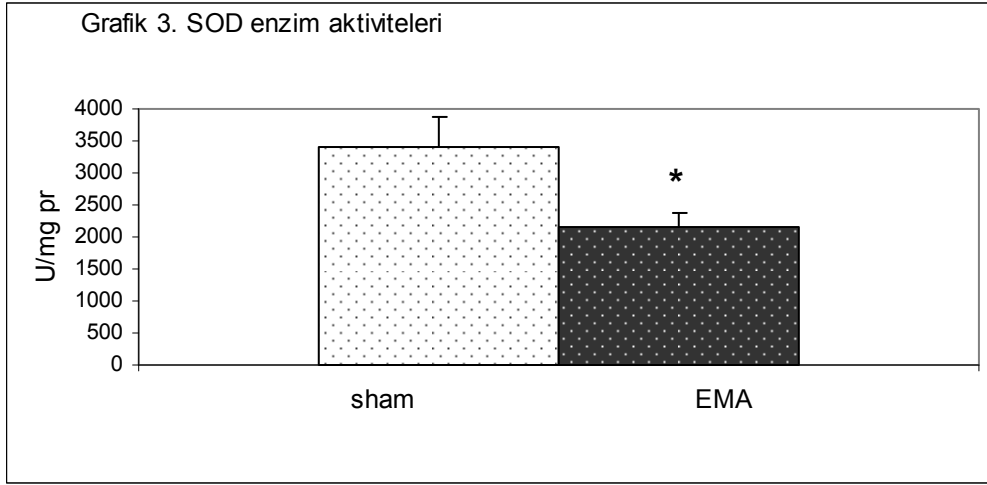
Y; Yavru

4.1.2. SOD ve GPx enzim aktiviteleeri

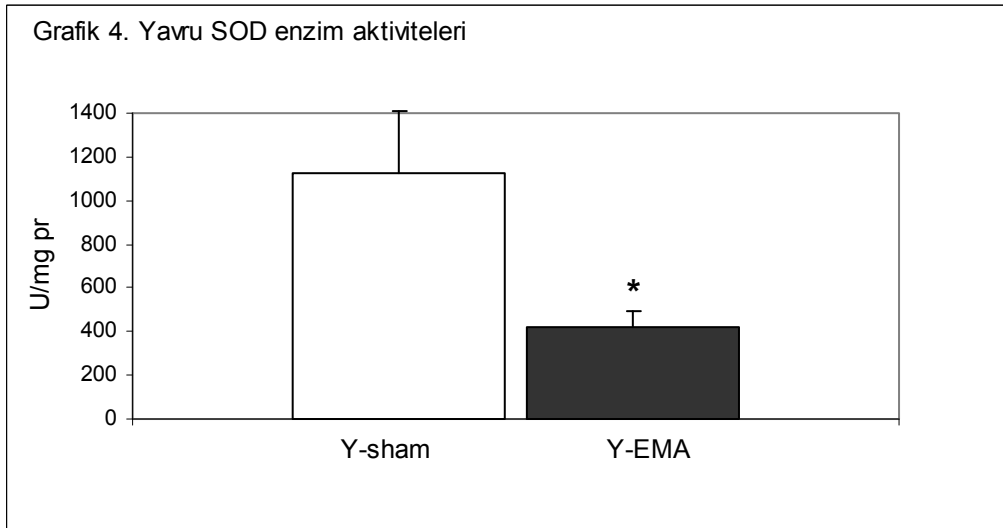
Yetişkin sıçanlarda grupların ortalama SOD enzim aktivitesi sonuçları Grafik 3’de gösterilmektedir. EMA grubunun SOD enzim aktivitesi sham grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0.05). Sham grubunun ortalama SOD aktivitesi 3407,17 U/mg pr (\pm 472,7 SH), EMA grubunun ortalama SOD aktivitesi 2159,82 U/mg pr (\pm 222,5 SH) bulunmuştur.

Yavru sıçanlarda grupların ortalama SOD enzim aktivitesi sonuçları Grafik 4’de gösterilmektedir. EMA grubunun SOD enzim aktivitesi sham grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0.05). Sham grubunun ortalama SOD aktivitesi 1125 U/mg pr (\pm 288,5 SH), EMA grubunun ortalama SOD aktivitesi 425,3 U/mg pr (\pm 65,6 SH) bulunmuştur.

Grafik 3: SOD enzim aktivitesi

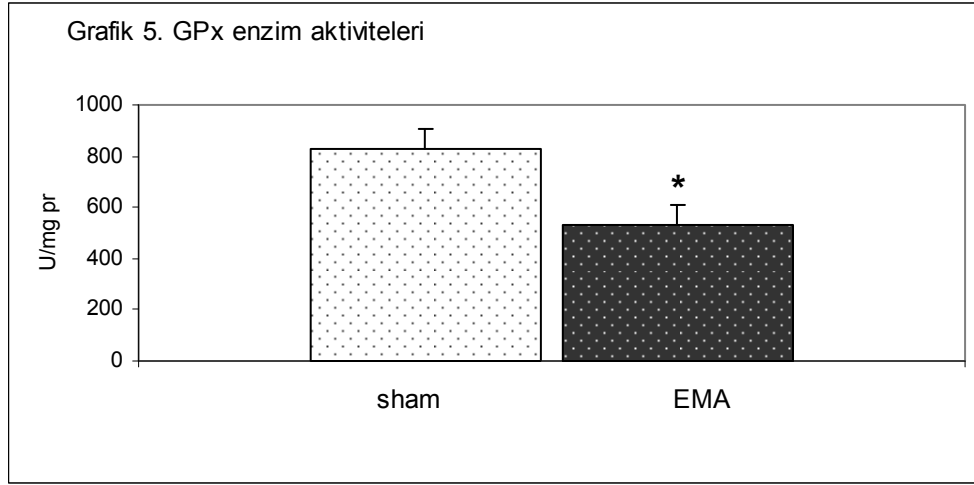


Grafik 4: Yavru SOD enzim aktivitesi

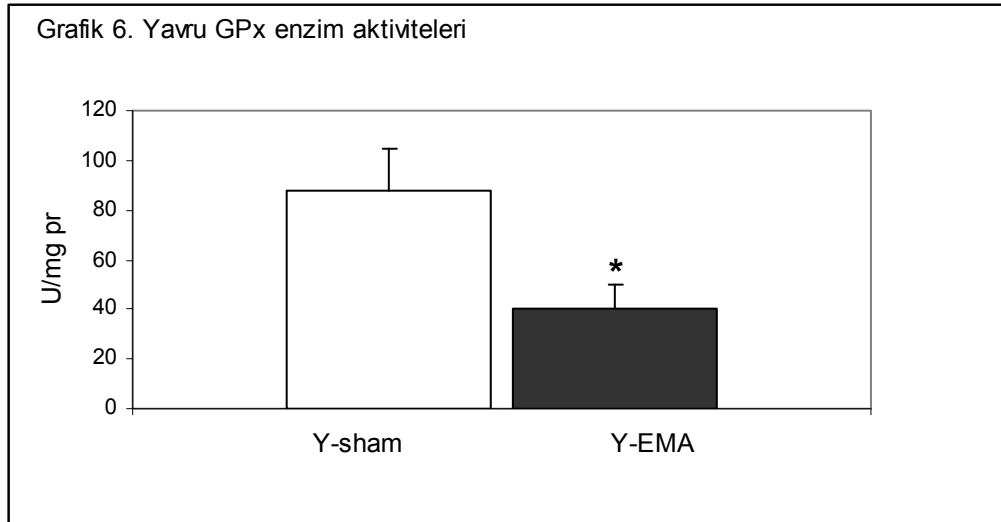


Y; Yavru

Grafik 5: GPx enzim aktivitelemi



Grafik 6: Yavru GPx enzim aktivitelemi



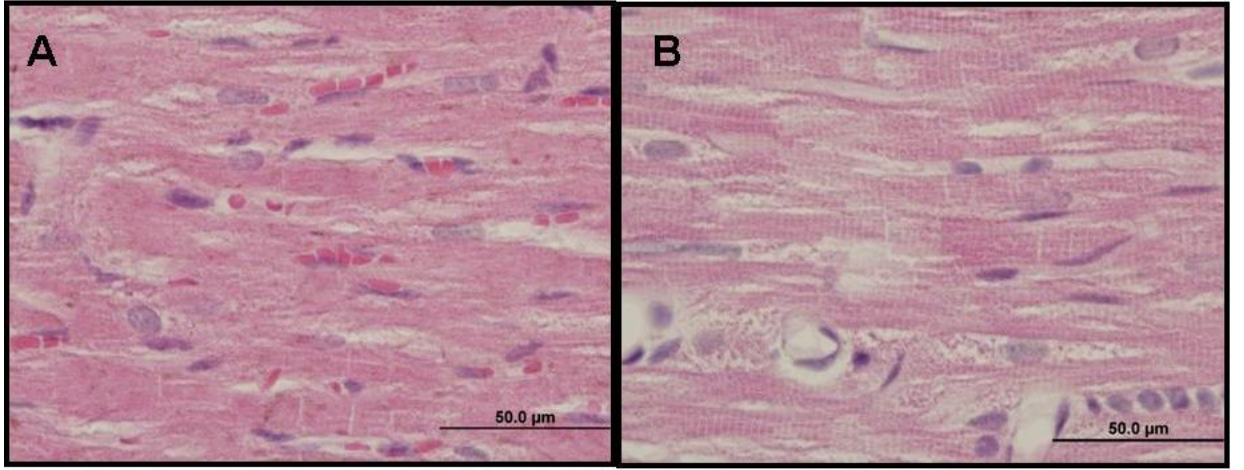
Y; Yavru

4.1.3. Işık mikroskopik bulgular

4.1.3.1. H&E boyama

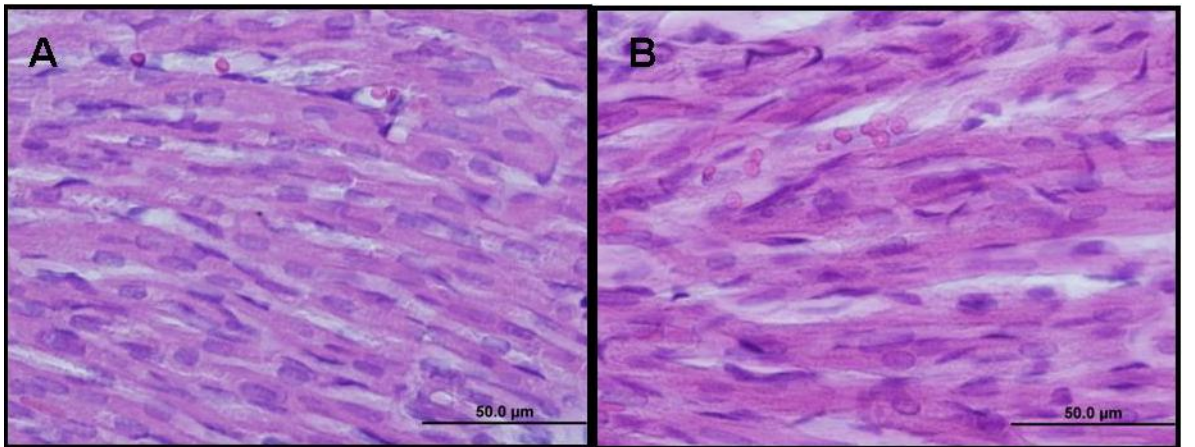
Yetişkin sıçanlarda H&E boyamasına ait resimler resim 1’de, yavru sıçanlarda H&E boyamasına ait resimler resim 2’de gösterilmiştir. H&E boyaması ile yapılan değerlendirmede gruplar arasında fark görülmemiştir. Kalp dokusu normal histolojik görünümündedir.

Resim 1. H&E boyama



A; sham, B; EMA grubu

Resim 2. Yavru H&E boyama

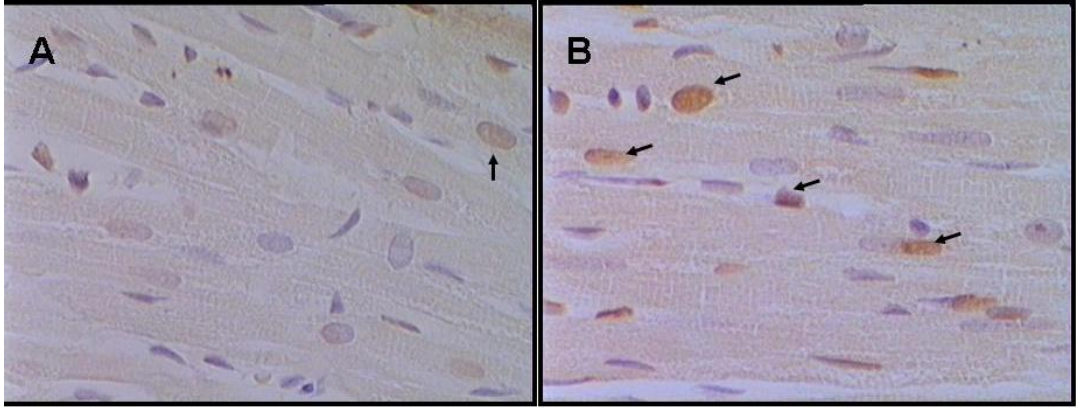


A; Yavru-sham, B; Yavru-EMA grubu

4.1.3.2. TUNEL boyama

Yetişkin sıçanlarda TUNEL boyamasına ait resimler resim 3’te, yavru sıçanlarda TUNEL boyamasına ait resimler resim 4’te gösterilmiştir. TUNEL-pozitif hücreler oklarla gösterilmiştir. EMA grubunda TUNEL-pozitif hücreler sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (Grafik 7, $p<0.05$).

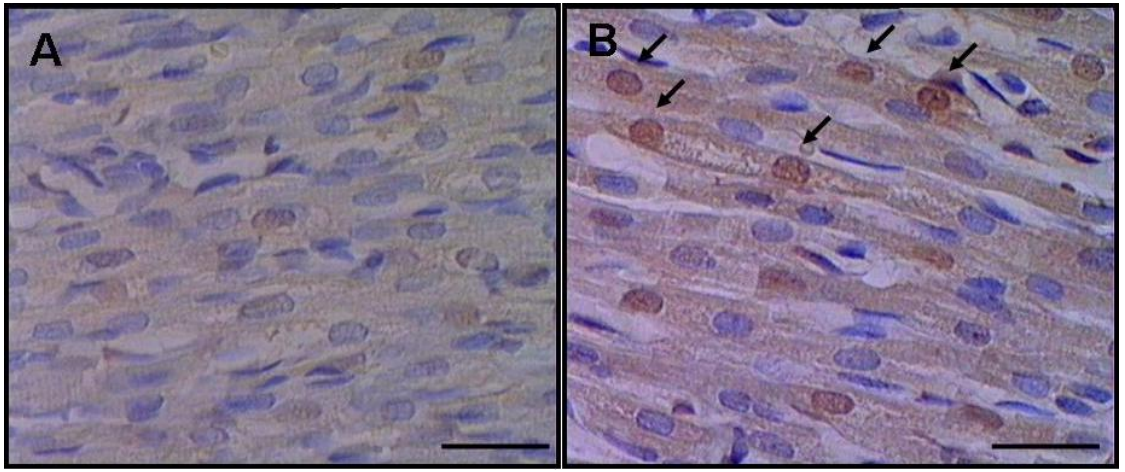
Resim 3. TUNEL boyama



A; sham, B; EMA grubu

TUNEL (+) çekirdekler kahverengi (oklar) olarak görülmektedir (40X).

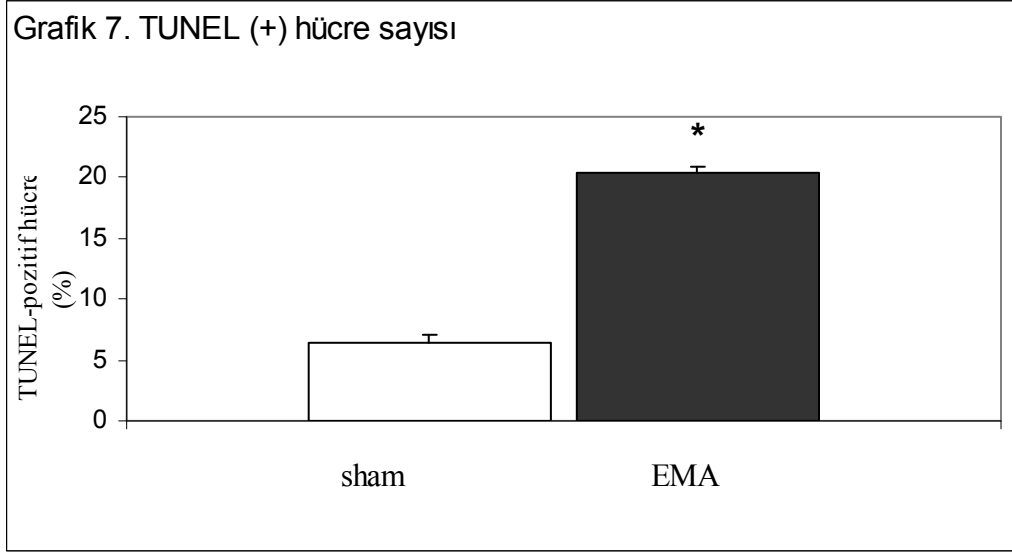
Resim 4. Yavru TUNEL boyama



A; Yavru-sham, B; Yavru-EMA grubu

TUNEL (+) çekirdekler kahverengi (oklar) olarak görülmektedir (40X).

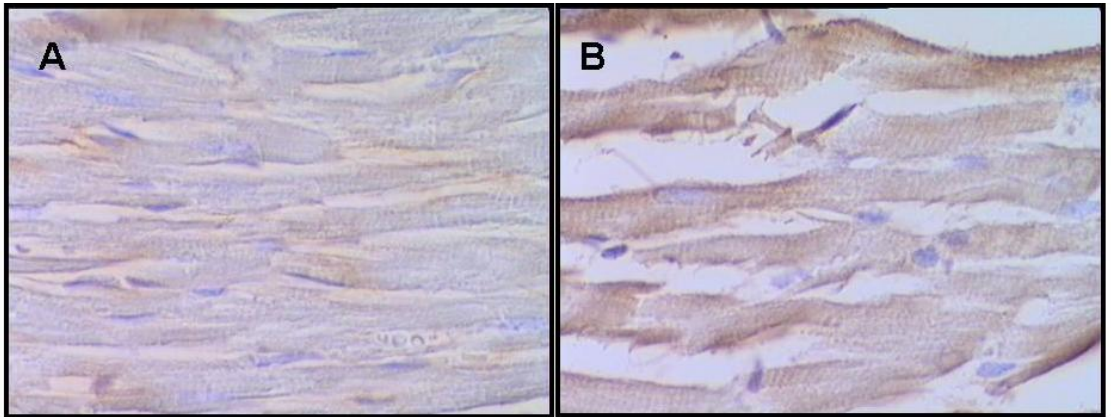
Grafik 7. TUNEL pozitif hücre sayısı



4.1.3.3. Caspase-3 immunohistokimyasal boyama

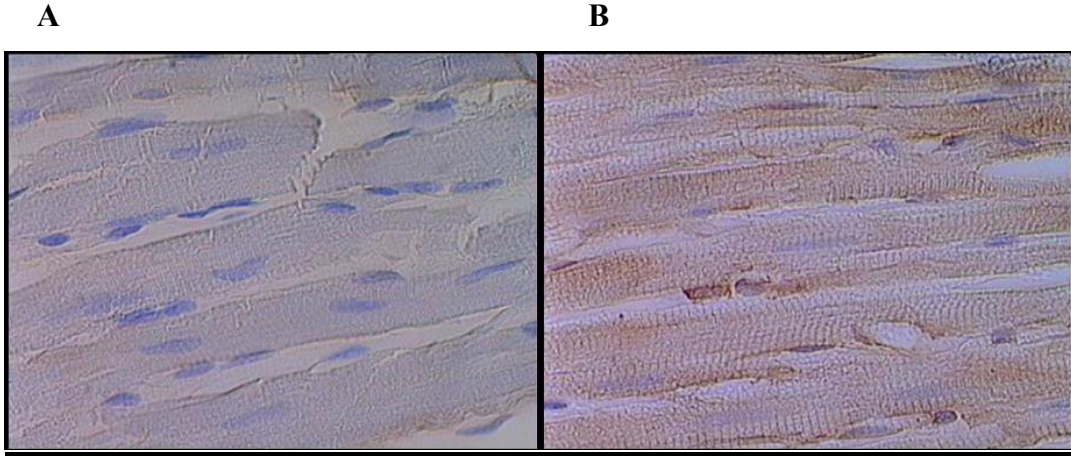
Yetişkin sıçanlarda caspase-3 immunohistokimyasal boyamasına ait resimler resim 5'de, yavru sıçanlarda caspase-3 immunohistokimyasal boyamasına ait resimler resim 6'da gösterilmiştir. EMA grubunda caspase-3 immunreaktivitesi sham grubuna göre daha yüksek gözlemlendi.

Resim 5: Caspase-3 immunohistokimyasal boyama



A; sham, B; EMA grubu (40X)

Resim 6: Yavru Caspase-3 immunohistokimyasal boyama



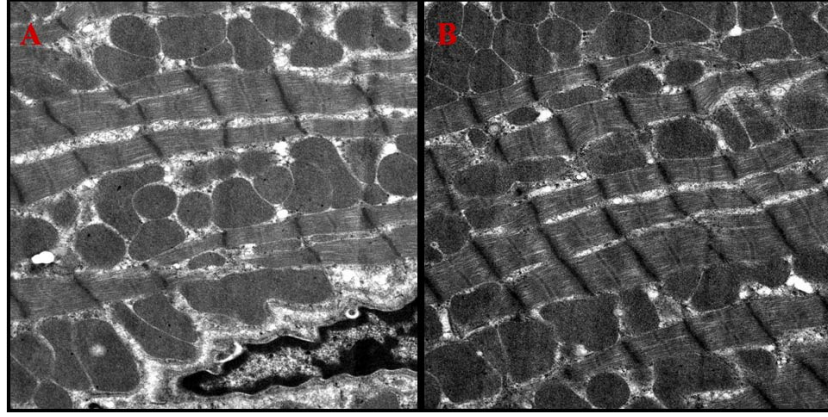
A; Yavru-sham, B; Yavru-EMA grubu (40X)

4.1.3.4. Elektron mikroskopik bulgular

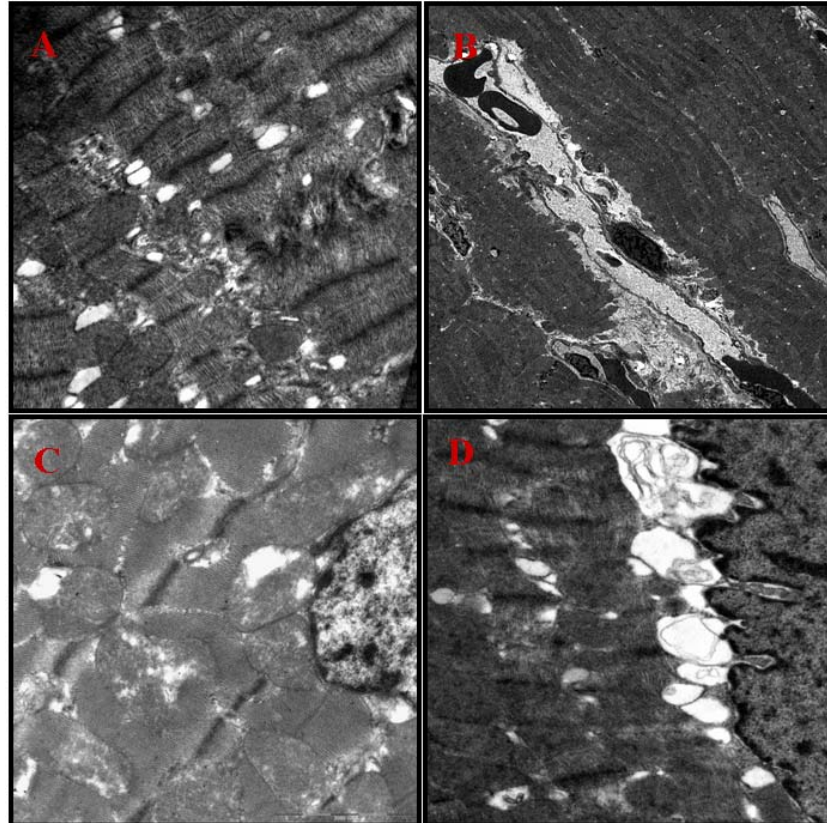
Yetişkin sıçanların elektron mikroskopik görüntüleri resim 7 ve 8'de, yavru sıçanların elektron mikroskopik görüntüleri resim 9 ve 10'da gösterilmiştir. Yapılan elektron mikroskopik incelemede; kontrol grubu kalp dokusu örneklerinde hücresel yapılar ve mitokondriler normal olarak izlendi (Resim 7A-B). EMA grubunda sarkoplazmik retikulumda dilatasyon (Resim 8A, D), hücre membranının altında miyofibrillerde kayıp (Resim 8B), mitokondrilerin bir kısmında dejenerasyon (Resim 8C) ve perinükleer vakuolizasyon (Resim 8D) saptandı.

Yavru sıçanların yapılan elektron mikroskopik incelemesinde; kontrol grubu kalp dokusu örneklerinde hücresel yapılar ve mitokondriler normal olarak izlendi (Resim 9A1-A2). EMA grubunda (Resim 10B1-B2); mitokondrilerde şişme, intrasellüler ödem, myofibriller fragmentasyon (kırmızı oklar), perivasküler ödem (*), perinükleer ödem (*), bazı mitokondrilerde kristalizis ve şişme, (kırmızı oklar) myofibriller fragmentasyon (kırmızı oklar) saptandı.

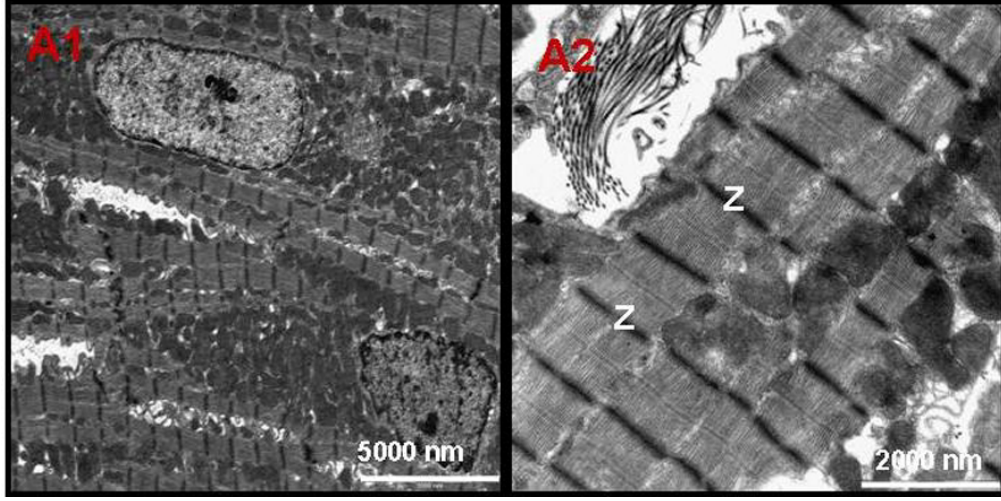
Resim 7. Kontrol grubu kalp dokusu elektron mikroskopik görüntüleri



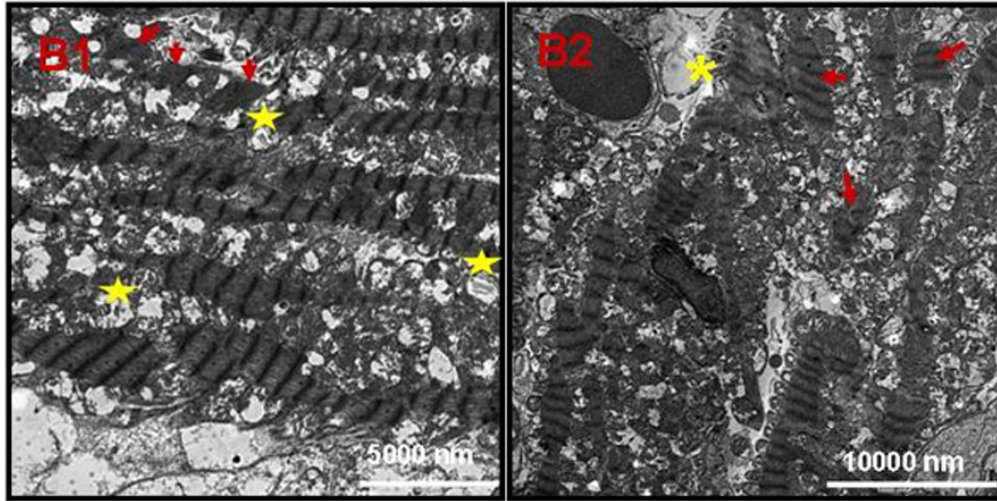
Resim 8. EMA grubu kalp dokusu elektron mikroskopik görüntüleri



Resim 9. Yavru kontrol grubu elektron mikroskopik görüntüleri



Resim 10. Yavru EMA grubu elektron mikroskopik görüntüleri



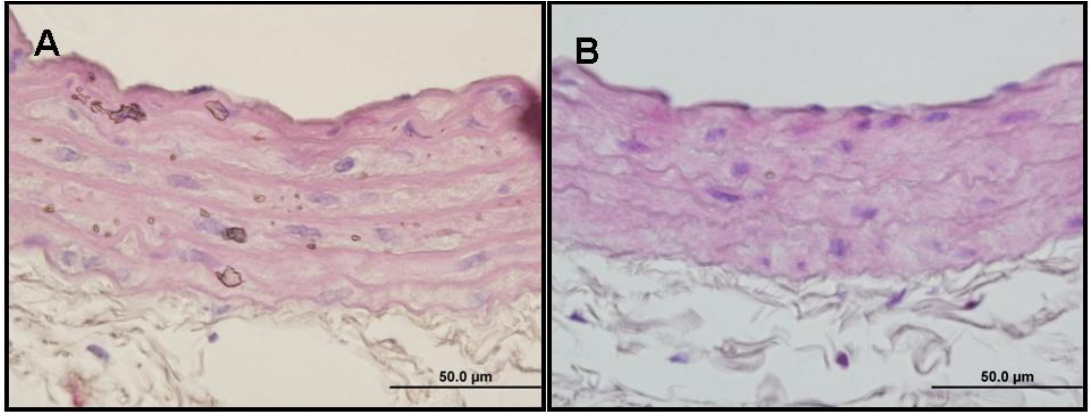
4.2. Aort

4.2.1. Işık mikroskopik bulgular

4.2.1.1. H&E boyama

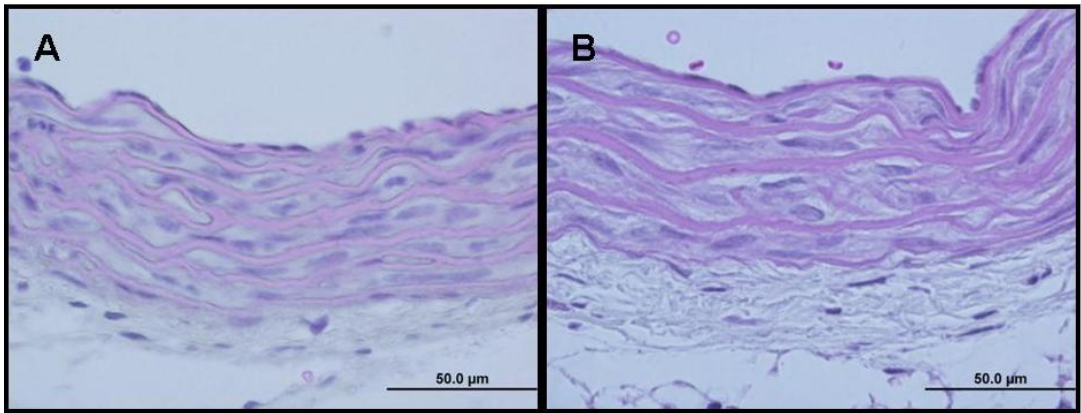
Yetişkin sıçanlarda H&E boyamasına ait resimler resim 1’de, yavru sıçanlarda H&E boyamasına ait resimler resim 2’de gösterilmiştir. H&E boyaması ile grupların intima ve media tabakalarının kalınlıkları ve mediadaki elastik lamel sayıları ölçülerek değerlendirildi (Tablo 1, 2). Yapılan analizde sadece yetişkin sıçanlarda lamel sayılarında gruplar arasında fark bulundu (Tablo 1, $p<0.05$). Diğer parametrelerde gruplar arasında fark görülmedi.

Resim 11. Aort H&E boyama



A; sham, B; EMA grubu

Resim 12. Yavru Aort H&E boyama



A; Yavru-sham, B; Yavru-EMA grubu

Tablo 1. Yetişkin sıçanlarda intima, media kalınlıkları ve lamel sayısı

YETİŞKİN	INTIMA (µm)	MEDIA (µm)	LAMEL
sham	5,18±0,45	76,57±3,20	8,14±0,26
EMA	4,76±0,43	73,99±6,46	5,66±1,15*

*Sham grubuna göre anlamlı olarak farklı

Tablo 2. Yavru sıçanlarda intima, media kalınlıkları ve lamel sayısı

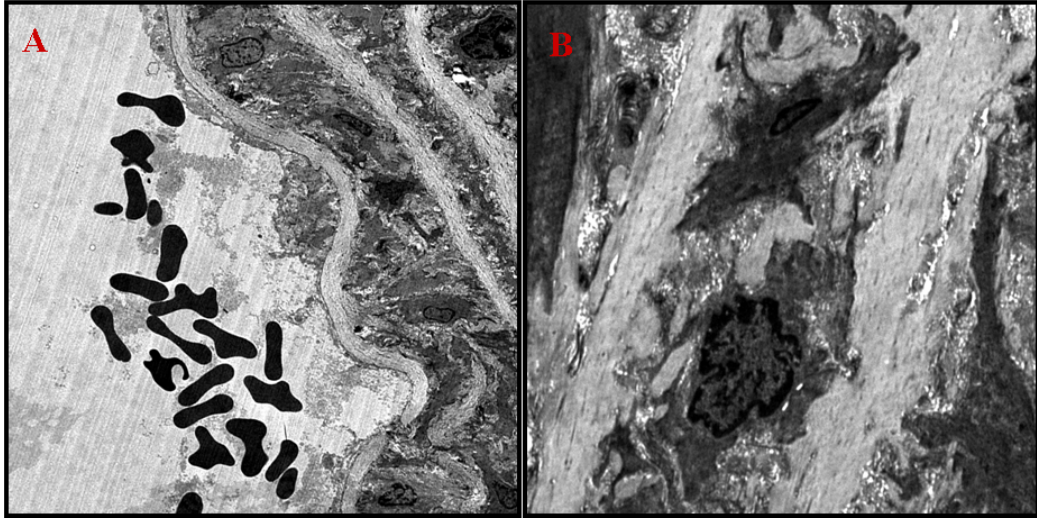
YAVRU	INTIMA (µm)	MEDIA (µm)	LAMEL
sham	4,73±0,25	60,40±4,76	6,50±0,50
EMA	4,58±0,12	58,51±4,12	5,57±0,61

4.2.1.2. Elektron mikroskopik bulgular

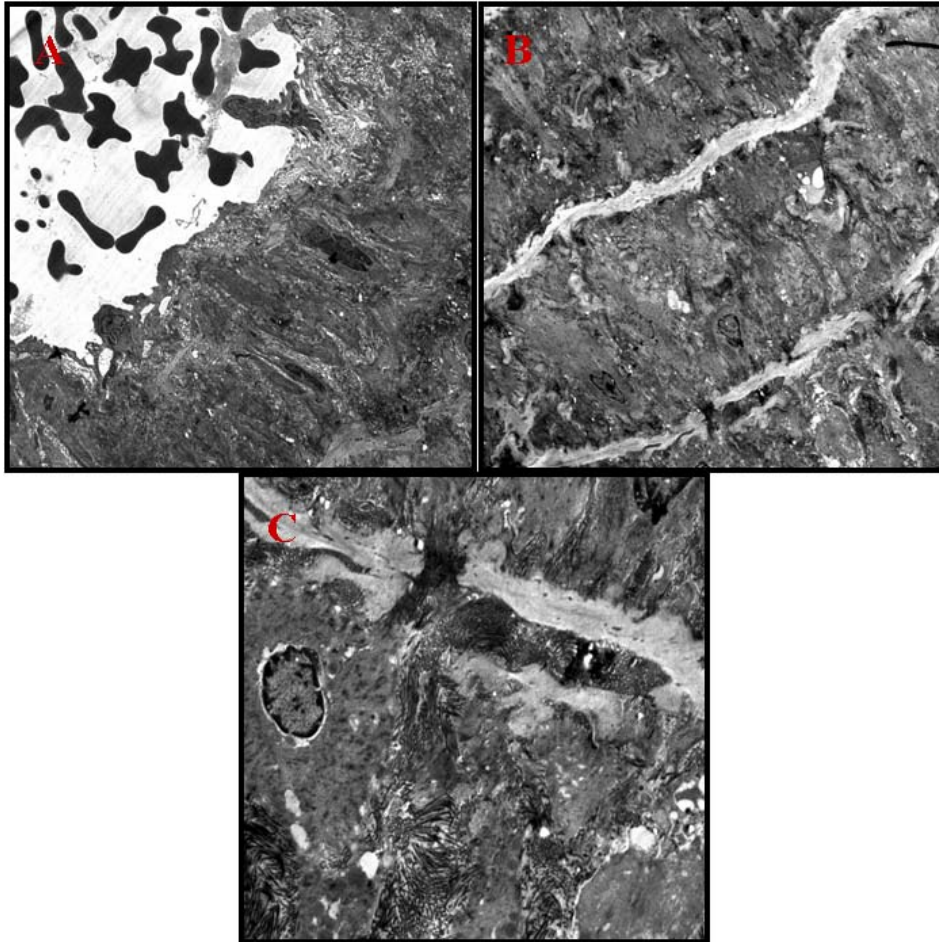
Yetişkin sıçanların elektron mikroskopik görüntüleri resim 13 ve 14’de, yavru sıçanların elektron mikroskopik görüntüleri resim 15 ve 16’da gösterilmiştir. Yapılan elektron mikroskopik incelemede; kontrol grubu aort örneklerinde endotel hücreleri ve tunika media normal yapıda izlendi (Şekil 13A-B). EMA grubunda; subendotelial tabakada bağ doku artışına bağlı tunika intima kalınlaşması (Şekil 14A), tunika mediada elastik membranlarda incelme (Şekil 14B), düz kas hücreleri arasında ekstrasellüler matrikste kollagen fibrillerin yapıya hakim olduğu gözlemlendi (Şekil 14C).

Yavru sıçanların yapılan elektron mikroskopik incelemesinde; kontrol grubu aort örneklerinde endotel hücreleri ve tunika media normal olarak izlendi (Resim 15). EMA grubunda; endotel hücrelerinde dejeneratif vakuoller, piknotik çekirdekler (Resim 16A), tunika mediada ekstrasellüler matriks dejenerasyonu (Resim 16B) saptandı.

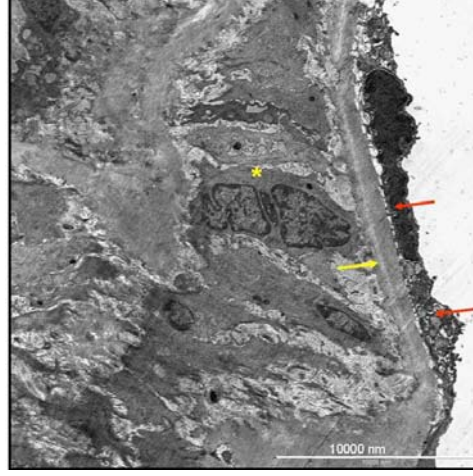
Resim 13. Kontrol grubu aort dokusu elektron mikroskopik görüntüleri



Resim 14. EMA grubu aort dokusu elektron mikroskopik görüntüleri

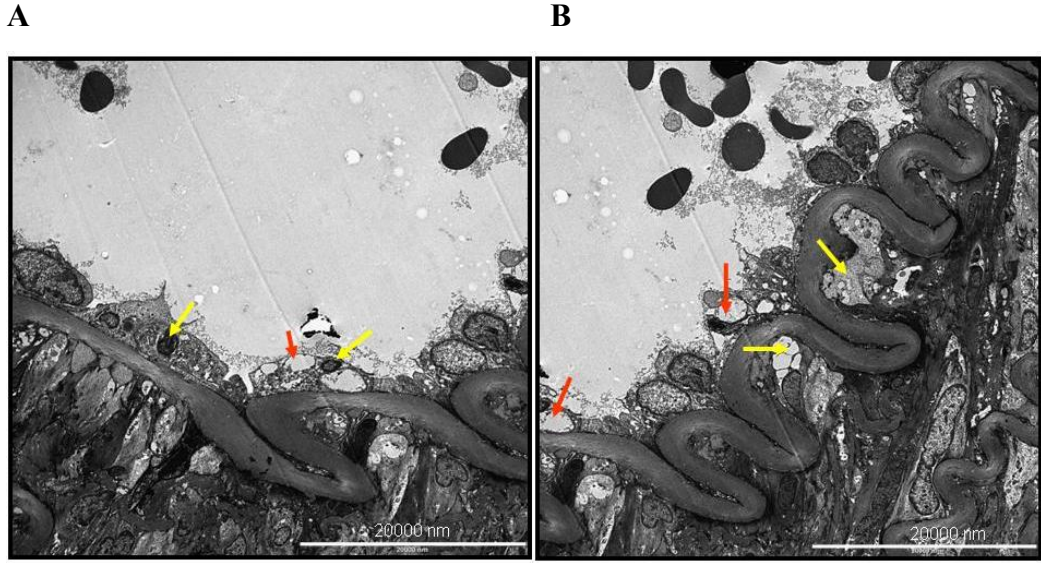


Resim 15. Yavru kontrol grubu aort elektron mikroskopik görüntüsü



Endotel hücreleri (kırmızı oklar),membrana elastika interna (yeşil oklar), düz kas hücreleri (*)

Resim 16. Yavru EMA grubu aort elektron mikroskopik görüntüleri



A; Endotel hücrelerinde dejeneratif vakuoller (kırmızı ok), piknotik çekirdekler (sarı oklar). **B;** Endotel hücrelerinde dejeneratif vakuoller (kırmızı oklar), tunika mediada ekstrasellüler matriks dejenerasyonu (sarı oklar)

5. TARTIŞMA

Günümüzde elektrik enerjisinin dağılımı ve kullanımı çok artmış ve buna bağlı olarak da elektrik akımına eşlik eden EMA'ya maruz kalmaktan kaçınmak olanaksız hale gelmiştir. Günlük yaşantıda sürekli olarak düşük düzeyde EMA'ya maruz kalınmaktadır (1,2,3,4,5,6). Son yıllarda konuyla ilgili yapılan yoğun araştırmalara karşın EMA'nın biyolojik sistemlerde oluşturduğu değişiklikler ve etki mekanizmaları halen tam olarak açıklanamamıştır (125,126).

EMA maruziyeti ile kanser riski arasındaki ilişkiyi araştıran pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre kanser oluşma riski EMA'ya maruz kalmakla doğru orantılı olarak artmaktadır (6,18-22,25,27-29,33,69,127, 128). Bu ilişkinin saptanması konunun toplumsal önemini artırmaktadır.

EMA'nın biyolojik sistemleri etkileme mekanizmalarının kanser gibi hastalıkların oluşmasına nasıl neden olduğu bilim adamları tarafından araştırılmaktadır. Yapılan in vitro çalışmalar, EMA'nın hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz üzerine potansiyel etkilerini ortaya koymuştur (2,6,8,42,48,51-53,108,115,116,128-131). Bazı araştırmalara göre, EMA'nın hücreyi etkileyen mekanizmalarından biri olasılıkla membran yapısını ve geçirgenliğini bozarak çalışır (50,73,132,133). İleri sürülen diğer bir mekanizmada ise EMA serbest radikal üretimini arttıran kimyasal reaksiyonlarla etkileşmektedir. Serbest radikaller, doza, maruziyet süresine ve hücre veya dokunun tipine göre değişen etkiler oluşturmaktadırlar. Serbest radikallerin oluşturduğu DNA hasarı, mutasyonlara ve sonuçta karsinogeneze yol açmaktadır (6,35,39,40,47,48,69,134-137).

EMA'nın hücrede strese yol açtığını gösteren çalışmalar arasında Hsp70 proteini üzerinde çalışan araştırmalar da vardır. Hsp 70 proteini stres durumlarında hücreyi korumak için artan bir proteindir. Bu çalışmalar, Hsp 70 protein miktarının EMA'ya maruz kalındığı durumlarda myokard ve damarların endotel hücrelerinde arttığını göstermektedirler (69,138,139).

Bu çalışmada, uzun süreli EMA'ya maruz bırakılan ratlarda aort ve myokard dokusunda ortaya çıkan apoptotik değişimler TUNEL ve Caspase-3 boyamaları yapılarak ışık mikroskobu ile incelendi. Bu hücrelerin ince yapısında ortaya çıkan değişiklikler de elektron mikroskobu ile incelendi. Ayrıca bu değişikliklere neden olan mekanizmanın, serbest radikal oluşumu ile ilgisini araştırmak için, myokard dokusunda lipid peroksidasyonunu belirleyen

MDA düzeylerine ve antioksidan enzimler olan SOD ve GPx'in aktivitelerine bakıldı. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, benzer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırıldı.

7.1. MDA Düzeyleri:

Tablo 1: Hücrelerde EMA'ya bağlı olarak değişen MDA düzeylerini araştıran çalışmalar:

Araştırmacı	EMA şiddeti	Uygulama Süresi	Tür	Doku tipi	MDA düzeyi
Asken F, 2006	50 Hz, 1 mT	3 saat /gün, (50-100 gün)	rat	Uterus, ovaryum	↑
Yokuş B, 2005	50 Hz, 0.97 mT	3 saat /gün, (50-100 gün)	rat	kan	↑
Jajte J, 2001	SMF 7 mT	3 saat	rat	lenfosit	↑
Jelenkovic A, 2005	50 Hz, 0.5 mT	7 gün	rat	beyin	↑
Seyhan N, 2006	50 Hz, 1-2 mT	4saat /gün, (5 gün)	guinea pig	Akciğer, böbrek	↑
		8saat /gün, (5 gün)			↓
Yasser MM, 2001	900 MHz	1,2,4 saat	insan	kan	↑
Oral B, 2006	900 MHz	30 dakika/gün (30 gün)	rat	Endometrium	↑
Liu Y, 2002	50 Hz, 0,2, 0,6 mT	2 hafta	fare	Beyin, karaciğer	↑
Bediz CS, 2006	50 Hz	5 dakika/gün (6 ay)	rat	Beyin, kan	↑
Buczynski A, 2005	50 Hz	30, 90 dk	insan	kan	↑
Canseven AG, 2008	50 Hz, 1 mT	4 sa/gün (5 gün)	guinea pig	Karaciğer, kalp	↑
	50 Hz, 2 mT	4 sa/gün (5 gün)			↑
	50 Hz, 3 mT	8 sa/gün (5 gün)			↓

Tohumoğlu G, 2007	50 Hz, 1-2 mT	4 sa/gün (5 gün)	guinea pig	böbrek	↑
		8 sa/gün (5 gün)			↓
Meral İ, 2007	900 MHz	12 sa/gün (30 gün)	guinea pig	Beyin, kan	↑
Ferreira AR, 2006	800-1800 MHz	7.5 sa/gün (6 gün)	rat	Beyin	↔
Özgüner F, 2005	900 MHz	30 dakika/gün, (10 gün)	rat	kalp	↑
Bizim çalışmamız	50-60 Hz	4 sa/gün (40-60 gün)	rat	kalp	↑

Asken ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların uterus ve ovaryumlarındaki MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (140). Yokuş ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların plasmalarındaki MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (47). Jajte ve arkadaşları, statik manyetik alana maruz bıraktıkları ratların lenfositlerinde bıraktıkları MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (48). Jelenkovic ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların beyin hücrelerindeki MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (49). Seyhan ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları iki grup guinea piglerin akciğer ve beyin hücrelerindeki MDA düzeylerini araştırmışlardır. 1. grubu günde 4 saat süreyle ve 2. grubu günde 8 saat süreyle EMA'ya maruz bırakmışlar ve sonuçta 1. grubun MDA düzeylerinin yükseldiğini, buna karşılık 2. grubun MDA düzeylerinde azalma olduğunu görmüşlerdir. Bu durumu kısa süreli maruziyette lipid peroksidasyonu arttığı için ortaya çıkan oksidatif strese bağlı olarak uzun süreli maruziyet durumunda savunma mekanizmasının aktive olması ile açıklamışlardır (141). Yaser ve arkadaşları, yüksek frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları gönüllü 12 erkeğe ait kan örneklerinde, plasmadaki MDA düzeylerini incelemişler ve MDA düzeyinin artmış olduğunu görmüşlerdir (9). Oral ve arkadaşları, yüksek frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların endometriyumlarındaki MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (53). Liu ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları farelerin beyin ve karaciğer hücrelerindeki MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (133). Bediz ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların beyin ve kan hücrelerindeki MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (142). Buczynski ve

arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları insandan alınan kan örneklerini incelemişler ve plateletlerdeki MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (143). Canseven ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları üç grup ratların karaciğer ve kalp dokularında MDA düzeylerine bakmışlar ve günde 4 saat EMA'ya maruz bıraktıkları 2 grupta MDA düzeylerinin yükseldiğini, günde 8 saat EMA'ya maruz bıraktıkları bir grupta ise MDA düzeylerinin azaldığını görmüşlerdir (67). Tohumoğlu ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları iki grup guinea piglerin böbrek hücrelerindeki MDA düzeylerine bakmışlar. Günde 4 saat EMA'ya maruz bıraktıkları grupta MDA düzeylerinin yükseldiğini, günde 8 saat EMA'ya maruz bıraktıkları grupta ise MDA düzeylerinin azaldığını görmüşlerdir (144). Meral ve arkadaşları, yüksek frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları guinea piglerin beyin ve kan hücrelerinde MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (145). Ferreira ve arkadaşları, yüksek frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların beyin hücrelerindeki MDA düzeylerinin EMA'ya maruz kalmadan önceki değerler ile aynı olduğunu görmüşlerdir (146). Özgüner ve arkadaşları, yüksek frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların kalp hücrelerinde bıraktıkları MDA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir (147). Bu çalışmada, düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan erişkin ve yavru ratların myokard hücrelerindeki MDA düzeylerinin artmış olduğu görüldü.

Elektromanyetik alanlar, serbest radikal yoğunluğunu artırıp hücredeki bir takım biokimyasal reaksiyonları etkilerler. Etkilenen biokimyasal reaksiyonlara bağlı olarak biyomembranların içerdiği doymamış lipidlerin oksidatif değişimi, lipid peroksidasyonunu başlatır. Lipid peroksidasyonu, lipid peroksitlerinin MDA ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona erer. Lipid peroksidasyonunun varlığını hücrede gösteren parametre, hücredeki MDA düzeyidir.

Bu çalışmanın ve diğer çalışmaların sonuçlarına göre, hem düşük ve hem de yüksek frekanslı EMA'a gün içinde kısa sürelerle ama uzun zaman dilimleri süresince maruz bırakılan deneklerin çeşitli dokularındaki hücrelerde MDA düzeylerinin arttığı görülmektedir.

Ancak Seyhan, Canseven ve Tohumoğlu'nun çalışmalarında gün içinde uzun süreli olarak EMA'ya maruz bırakılan deneklere ait doku örneklerinde bakılan MDA düzeylerinin azalmış olduğu görüldü. Bunun nedeninin belli bir zamandan sonra hücrelerdeki savunma mekanizmalarının aktive olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

7.2. SOD ve GPx aktiviteleri:

Tablo 2: Hücrelerde EMA'ya bağlı olarak değişen SOD ve GPx düzeylerini araştıran çalışmalar:

Araştırmacı	EMA şiddeti	Uygulama Süresi	Doku tipi	SOD aktivitesi	GPx aktivitesi
Özgüner F, 2005	900 MHz	30 da/gün, (10 gün)	rat (kalp)	↓	↓
Jelenkovic A, 2006	50 Hz, 0.5 mT	7 gün	rat (beyin)	↑	-
Yaser MM, 2001	900 MHz	1,2,4 saat	insan (kan)	↓	↓
Güler G, 2004	Düşük frekanslı elektrik alan	8 sa/gün, 3 gün	Guinea pig (dalak, testis)	↑	-
Elhag MA, 2007	900 MHz	15 da/ gün, 4 gün	rat (kan)	↓	-
Türközer Z, 2008	50 Hz (elektrik alan)	8sa / gün 3 gün	Guinea pig (beyin)	↔	↔
Sharifian A, 2009	50 Hz, 8.8-84 mT	Sürekli maruziyet	46 elektrikçi erkek (kan)	↓	↓
Güler G, 2007	Düşük frekanslı elektrik alan	8 sa/gün, 3 gün	Guinea pig (kan)	↑	-
Amara S, 2007	250 mT statik manyetik alan	1-3 saat	Monosit hücre kültürü	↔	↔
Güler G, 2006	Statik elektrik alan	1-10 gün	Guinea pig (kan, karaciğer, akciğer, böbrek)	↑	-
	50 Hz (elektrik alan)			↑	-
Bizim çalışmamız	50-60 Hz, 3 mT	4 saat/ gün 40-60 gün	Rat (kalp)	↓	↓

Özgüner ve arkadaşları, yüksek frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların myokard hücrelerinde baktıkları SOD ve GPx aktivitelerinde azalma olduğunu görmüşlerdir (147). Jelenkovic ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların beyin hücrelerinde baktıkları SOD aktivitesinde artma olduğunu görmüşlerdir (49). Yaser ve arkadaşları, yüksek frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları gönüllülerden aldıkları kan örneklerinde baktıkları, SOD ve GPx aktivitelerinde azalma olduğunu görmüşlerdir (9). Güler ve arkadaşları, düşük frekanslı elektrik alana maruz bıraktıkları guinea piglerin dalak ve testislerinden aldıkları hücrelerde baktıkları SOD aktivitesinde artma olduğunu görmüşlerdir (148). Elhag ve arkadaşları, yüksek frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların kan hücrelerinde baktıkları SOD aktivitelerinde azalma olduğunu görmüşlerdir (149). Türközer ve arkadaşları, elektrik alana maruz bıraktıkları monosit hücre kültüründe baktıkları SOD ve GPx aktivitelerinde herhangi bir değişme olmadığını görmüşlerdir (150). Sharifian ve arkadaşları, işleri dolayısıyla düşük frekanslı EMA'ya sürekli olarak maruz kalan elektrik çalışanlarından aldıkları kan örneklerinde baktıkları, SOD ve GPx aktivitelerinde azalma olduğunu görmüşlerdir (151). Güler ve arkadaşları, düşük frekanslı elektrik alana maruz bıraktıkları guinea piglerin kan hücrelerinde baktıkları SOD aktivitesinde artma olduğunu görmüşlerdir (152). Amara ve arkadaşları, statik manyetik alana maruz bıraktıkları guinea piglerin beyin hücrelerinde baktıkları SOD ve GPx aktivitelerinde herhangi bir değişme olmadığını görmüşlerdir (153). Güler ve arkadaşları, düşük frekanslı elektrik alana ve statik elektrik alana maruz bıraktıkları iki grup guinea piglerin kan, karaciğer, akciğer ve böbrek hücrelerinde baktıkları SOD aktivitesinde her iki grupta da artma olduğunu görmüşlerdir (154).

Bu çalışmada, düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan erişkin ve yavru ratların myokard hücrelerindeki SOD ve GPx düzeylerinde azalma olduğu görüldü. Bu çalışmanın ve karşılaştırılan diğer çalışmaların sonuçlarına göre, uzun süreli düşük frekanslı EMA'ya ve kısa süreli de olsa yüksek frekanslı EMA'ya maruz kalan hücrelerde SOD ve GPx aktivitelerinde azalma olduğu görülmektedir (9,147,149,151). Elektrik ve elektromanyetik alanların frekanslarını düşük tutan ve kısa süreli maruziyet uygulayan çalışmaların sonuçlarına göre, bu şartlara maruz kalan hücrelerde SOD ve GPx aktivitelerinin yükselmiş olduğu görülmektedir (49,148,152,154). İki çalışmanın sonucuna göre, çok düşük frekanslı elektrik ve manyetik alanlara kısa süreli maruz bırakılan hücrelerde SOD ve GPx aktivitelerinde herhangi bir değişiklik olmadığı görülmektedir (150,153).

Organizmalarda hücre içindeki oksidan maddeler ile antioksidan maddeler arasında bir denge vardır. Serbest radikallerde artışa veya antioksidan maddelerde ki azalmaya bağlı olarak bu denge bozulabilir. Oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması lipid peroksidasyonuna giden biokimyasal reaksiyonlar zincirini başlatır. Bu sonuçlara göre, EMA'nın lipid peroksidasyonuna neden olan stres faktörlerinden biri olduğu görülmektedir. EMA'ya maruz kalmak, antioksidan enzimler olan SOD ve GPx 'in hücredeki konsantrasyonlarının değişmesinden sorumludur.

EMA'nın frekans derecesi ve maruz kalınma süresi fazla ise SOD ve GPx'in hücredeki konsantrasyonları azalmaktadır. EMA'nın frekans derecesi ve maruz kalınma süresi az ise SOD ve GPx konsantrasyonları yükselmektedir.

7.3. TUNEL ve Caspase-3 Boyama Yöntemleri Kullanılarak Elde Edilen Işık Mikroskobu Bulguları:

Lee ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan farelerden alınan testis hücreleri TUNEL boyama yöntemi kullanılarak ışık mikroskobunda incelenmiş ve TUNEL (+) testis germ hücreleri görülmüştür. TUNEL (+) hücreler apopitoza bağlı olarak görülür ve EMA hücrede apopitoza yol açan bir etkendir sonucuna varılmıştır (155). Roushangar ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan ratlardan alınan ovaryum hücreleri TUNEL boyama yöntemi kullanılarak ışık mikroskobunda incelenmiş ve TUNEL (+) hücreler görülmüştür. TUNEL (+) hücreler apopitoza bağlı olarak görülür ve EMA hücrede apopitoza yol açan bir etkendir sonucuna varılmıştır (42). Yoon-Won ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan farelerden alınan testis hücreleri TUNEL boyama yöntemi kullanılarak ışık mikroskobunda incelenmiş ve TUNEL (+) testis germ hücreleri görülmüştür. TUNEL (+) hücreler apopitoza bağlı olarak görülür ve EMA hücrede apopitoza yol açan bir etkendir sonucuna varılmıştır (129).

Tablo 3: Hücrelerde EMA'ya bağlı olarak TUNEL ve caspase-3 boyama yöntemleri ile görülen hücreleri araştıran çalışmalar:

Araştırmacı	EMA şiddeti	Uygulama Süresi	Doku Tipi	Apoptoz	
				TUNEL(+)	Caspase-3(+)
Lee JS, 2005	60 Hz, 0.1-0.5 mT	24 sa/gün 8 hafta	Fare (testis)	+	-
Roushangar L, 2007	50-60 Hz 3 mT	4 sa/gün 6 ay	Rat (ovaryum)	+	-
Yoon-Won K, 2009	60 Hz	16 hafta sürekli	Fare (testis)	+	-
Liu Y, 2003	50 Hz 0.2-6 mT	2 hafta	Rat (Beyin , karaciğer)	+	-
Oral B, 2006	900 MHz	30 dk/ gün 30 gün	Rat (endometrium)	-	+
Bizim çalışmamız	50-60 Hz, 3 mT	4 saat/ gün 40-60 gün	Rat (kalp)	+	+

Liu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan ratlardan alınan beyin ve karaciğer hücreleri TUNEL boyama yöntemi kullanılarak ışık mikroskopunda incelenmiş ve TUNEL (+) hücreler görülmüştür. TUNEL (+) hücreler apoptoza bağlı olarak görülür ve EMA hücrede apoptoza yol açan bir etkidir sonucuna varılmıştır (156). Bu çalışmada, düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan erişkin ve yavru ratların myokard hücreleri TUNEL boyama yöntemi kullanılarak ışık mikroskopunda incelendi ve TUNEL (+) hücreler görüldü. TUNEL (+) hücrelerin apoptoza bağlı olarak görülmesinden yola çıkarak EMA hücrede apoptoza yol açan bir etkidir sonucuna varıldı. Oral ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, yüksek frekanslı EMA'ya maruz bırakılan ratlardan alınan endometriyum hücreleri Caspase-3 boyama yöntemi kullanılarak ışık mikroskopunda incelenmiş ve Caspase-3 ile boyanmış hücreler görülmüştür. Bu hücreler

apoptoza bağılı olarak görülür ve EMA hücrede apoptoza yol açan bir etkidir sonucuna varılmıştır (53).

Bu çalışmada, TUNEL (+) hücreler ile gösterilen apoptozun varlığını desteklemek amacıyla aynı şekilde elde edilen bir başka grup myokard hücresi caspase-3 yöntemi ile boyandı. Caspase-3 boyasını alan hücrelerin görülmesi dokuda oluşan apoptozu destekleyen bir bulgudur. Lai ve arkadaşları, 2 saat süre ile düşük frekanslı EMA verdikleri ratların beyin hücrelerini fluorescent mikroskopta incelemişler ve apoptotik hücreler görmüşlerdir. Çalışmanın sonucuna göre EMA beyin hücrelerinde apoptoza neden olmaktadır (39). Blumenthal ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları rat hücre kültürlerini faz-kontrast mikroskop kullanarak incelemişler ve daha önceden birleşmiş olan hücrelerin ayrıştığını görmüşler ve bunun bir apoptoz başlangıcı olduğundan yola çıkarak EMA'nın hücrelerde apoptozu başlattığını söylemişlerdir (131). Meng ve arkadaşları, yüksek güçte mikrodalga verdikleri sinir hücresi kültürlerini faz-kontrast mikroskop kullanarak incelemişler ve hücrelerde apoptozun başladığını görmüşlerdir. Çalışmada apoptozun varlığını desteklemek için sitoplazma içinde Ca(2+) konsantrasyonunu ve mitokondrilerdeki membran potansiyelini ölçmüşlerdir. Sonuçta Ca(2+) konsantrasyonunda artma ve mitokondri membran potansiyelinde azalma olduğunu göstermişlerdir. Apoptozu kanıtladıktan sonra EMA'nın hücrelerde apoptoza neden olduğunu söylemişlerdir (52). Simko ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA uyguladıkları insan hücre kültürlerini fluorescent mikroskobunda incelemişler ve bu hücrelerdeki apoptoz bulgularının kontrol grubuna göre arttığını göstermişlerdir. EMA'nın hücrede apoptoza neden olduğunu söylemişlerdir (130). Lai, Blumenthal, Meng ve Simko'nun çalışmalarında EMA'nın apoptoza neden olduğu farklı yöntemlerle gösterilmiştir. Tüm bu sonuçlar, bu çalışmanın hipotezi olan EMA'nın hücrelerde apoptoza neden olduğunu desteklemektedirler. Ye ve arkadaşlarının, ratlarda myokard enfarktüsü oluşturduktan sonra HE ve TUNEL boyama yöntemleriyle boyadıkları myokard hücrelerinde TUNEL (+) apoptotik hücre varlığını gösterdikleri çalışmanın sonucuna göre myokard enfarktüsü hücrelerde apoptoza neden olan bir faktördür (157). Di Napoli ve arkadaşları, izole rat kalplerinde iskemi-reperfüzyon uygulayarak Tunel boyama ile myositik apoptoz varlığını göstermişlerdir (158). Backlund ve arkadaşları myokard enfarktüsü oluşturdukları rat kalplerindeki miyosit hücrelerinde diabet ile apoptoz arasındaki ilişkiyi incelemek için yaptıkları çalışmada, myokard enfarktüsü ve diabetin hücrelerde apoptoza yol açtığını TUNEL ve caspase-3 boyama teknikleri kullanarak gördükleri apoptotik hücre varlıklarıyla

kanıtlamışlardır (159). Sam ve arkadaşları, myokard enfarktüsü oluşturdukları fare kalplerinde TUNEL boyama yöntemi ile apoptotik hücre varlığını göstermişlerdir (160). Qi ve arkadaşları tavşanlarda kalp yetmezliği oluşturduktan sonra TUNEL boyama yöntemi ile apoptotik hücrelerin varlığını göstermişlerdir (161).

Ye, Di Napoli, Backlund, Sam ve Qi'nin çalışmaları myokard enfarktüsü, iskemi-reperfüzyon ve kalp yetmezliği gibi stres yaratan etkiler sonucunda hücrede apoptoz ortaya çıktığını kanıtlamaktadır. Bu çalışmada, EMA'ya maruz bırakılan ratların kalp hücrelerinde de apoptoz ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlardan yola çıkarak, EMA'nın hücrelerde stres yaratan bir faktör olduğu söylenebilir.

7.5. Elektron Mikroskobu Bulguları:

Okruhlicova ve arkadaşlarının, hipertansiyonlu ratlarda kronik sosyal stresin aortun endotel hücrelerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada, elektron mikroskobu ile bu hücrelerde ortaya çıkan mitokondri yıkımı, vakuol oluşumu, lizozom sayısında artış, Weibel-Palade cisimleri ve hücreler arasındaki bağlantılarda değişiklikler görülmüştür. Bu bulgular hücredeki lokal yıkımı gösteren bulgulardır (162). Aksen ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz kalan ratların uterus ve ovaryum hücrelerinde oluşan yapısal değişiklikleri elektron mikroskobu ile değerlendirdikleri çalışmada, ovaryumlardaki germinal epitel hücrelerde ultrastrüktürel bozulma, hücre organellerinde azalma, nukleus ve nukleolusta düzensizlik, hücre sitoplazmasında lipid vakuollerinin artışı, heterokromativ görüntü ve nukleusun tipik yapısının kaybolduğunu gözlemişlerdir. Benzer değişiklikler uterusda da gözlenmiştir. Ayrıca, MAD konsantrasyonunun ovaryumlarda ve uterusda artmış olduğu da görülmüştür (140). Kim ve arkadaşları, fareleri 8 hafta boyunca düşük frekanslı EMA etkisi altında bırakmışlar ve elektron mikroskobunda inceledikleri testis germ hücrelerinde, hücre yapısı bozulmuş spermatogoniumlarda apoptozda görülen bulgulara benzeyen nukleer kromatin yoğunlaşması gözlemişlerdir (129). Romo ve arkadaşları, farelere 14 hafta boyunca kronik olarak düşük frekanslı EMA uygulayarak, adrenal bez hücrelerinde oluşan histolojik değişiklikleri elektron mikroskobunda incelemişlerdir. Sonuç olarak, hücre kapsülünün genişlediği, zona glomerulosa ve zona fasciculata'nın her ikisinin infiltre olmasıyla birlikte hiperplazik mikronodüllü, dilate kristalli şişkin mitokondriler ve genişlemiş zona glomerulosa yapısı, çeşitli fusinofilik hücre grupları, displazi, hiperplazi, hipertrofi ve az oranda adenom, zona retikularis'te lipid içeriği ve mitokondri sayısı artmış hücrelerin görüldüğünü rapor etmişlerdir (163). Roushangar ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada elektromanyetik

dalgaların ratların ovaryumlarındaki folikül hücrelerinin sitoplazmalarında vakuollere ve granüloza hücrelerindeki mitokondriaların cristalarında kayıplara neden oldukları elektron mikroskobu ile gözlenmiştir (42). Zhitkevich ve arkadaşları yaptıkları çalışmada düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakılan ratların timüs hücrelerini elektron mikroskobunda incelemişler ve hücrelerin stoplazmalarında veziküllerin ve yoğunlaşmanın oluştuğunu, damar endotellerinde hipoplazi geliştiğini, hücre nukleuslarında piknotik değişiklikler görüldüğünü rapor etmişlerdir (5). Nergiz ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada EMA'ya maruz kalan ratların böbreklerindeki tübül hücreleri elektron mikroskobu ile incelenmiş ve hücrelerde endoplazmik retikulum ve mitokondri gibi zarı olan organellerde şişme oluştuğu gözlenmiştir (54). Ronchi ve arkadaşları, broad band EMA'ya maruz bıraktıkları ratlarda yaptıkları çalışmada, ratların myokard hücrelerini elektron mikroskobunda incelemişler ve bu hücrelerde sarkoplazmik retikulumda hafif şişme, interkalat disk junctionlara yakın olarak nadir fokal sitoplazmik vakuolizasyon oluşumları ve matrikslerinde silinme, kristalarında parçalanma ve genel yapısında şişme ile belirgin mitokondriyal değişiklikler görmüşlerdir (69). Liu ve arkadaşları, ratlarda myocardial iskemi-reperfüzyon modeli uygulayıp elektron mikroskopta görülen myokard hücre değişikliklerini araştırmışlardır. Myokard iskemisi oluşturulan hücrelerde şişme olduğu, myofibrillerin kaybolduğu veya organizasyonlarının bozulduğu, mitokondrilerin şiştiği, kristaların kaybolduğu, zarlarının kısmen yırtıldığı ve çok sayıda vakuol oluştuğu saptanmıştır (164). Öztay ve arkadaşları, hipertiroidi olan farelerin myokard hücrelerini elektron mikroskobu ile incelemişler ve hipertiroidin kalpteki etkisini araştırmışlardır. Sonuçta kardiyomiyositlerin uzadığını, birbirleri ile olan bağlantılarının bozulmuş ve nukleuslarının uzamış olduğunu, mitokondrilerinin oldukça büyük ve dejenerasyona uğramış olduğunu görmüşlerdir (165). Cheng ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ratlarda diabetes oluşturmuşlar ve diabetesin myokard hücreleri üzerindeki etkisini elektron mikroskobu ile incelemişlerdir. Sonuçta miyosit mitokondrilerinde şişme ve krista kayıpları olduğunu rapor etmişlerdir (166). Zhang ve arkadaşları ratlarda diabetes geliştirerek myokard hücrelerindeki değişiklikleri araştırmışlardır. Elektron mikroskobunda, myokard hücrelerinde miyofibril içeriğinin azaldığını, kırıldığını ve miyoflament düzeninin bozulduğunu; mitokondrilerde şişme, kristalarında kırılmalar ve vakuolizasyon olduğunu; sarkoplazmik retikulumlarda genişleme ve içlerinde büyük vakuollerin oluştuğunu görmüşlerdir (167). Yaras ve arkadaşlarının çalışmasında, diyabetik ratların myokard hücreleri elektron mikroskobu ile incelendiğinde, kardiyomiyositlerin çapının azaldığı,

miyofilamanet ve miyofibrillerin Z çizgilerinde değişikliklerin olduğu, miyofibril dejenerasyonu ve kaybı olduğu görülmüştür. Mitokondrilerde krista ve granüler matriks kaybı, artmış sayıda lipid damlaları saptanmıştır (168). Bartel ve arkadaşları nifurtimox toksisitesinin kalp üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada, ratların ventrikül miyositlerini elektron mikroskobu ile incelemişler ve miyositlerin normal yapısının bozulduğunu, sitoplazmada geniş ödemli alanlar olduğunu, kromatin diziliminin bozulması ile karakterize pleomorfizm içeren nükleer değişikliklerin ortaya çıktığını görmüşlerdir. Transvers tübüler sistem ve sarkoplazmik retikulumlarda şişme görülmektedir. Dejeneratif miyofibril değişiklikleri ise paralel dizilimin bozulması, Z bantların kaybı, sarkomer bozulması, lizis, kalın ve ince filamentlerin silinmesi ile karakterizedir. Mitokondriyal bozulma şişme ve krista ayrışmasıyla kendini göstermektedir (169). Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında ciddi akut pankreatit ve obstruktif sarılıkta ratların myokard hücrelerinde meydana gelen değişiklikler elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Sonuçta, interkalat disk genişlemesi, mitokondrilerin şişmesi ve mitokondri kristalarının bozulması, myokard hücrelerinde apoptoz bulguları, miyofilaman ve sarkomer düzeninde bozulmalar görülmüştür (170). Rajkovic ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların tiroid hücrelerindeki değişiklikleri elektron mikroskobu ile incelemişler ve sonuçta hücrelerde büyük kolloid damlalar oluştuğunu, hücre nükleusu, granüler endoplazmik retikulum ve lizozomlarda değişiklikler olduğunu rapor etmişlerdir (171).

Khaki ve arkadaşları düşük frekanslı EMA verdikleri ratların seminifer tübül hücrelerindeki değişiklikleri elektron mikroskobu ile incelemişler ve sonuçta myoid hücrelerdeki polyribosom sayılarının azaldığını, pinositotik vesiküllerin ve glikojen granüllerinin oluştuğunu, mitokondrilerin çoğunda kristaların ve myoid hücreler arasındaki bağlantıların kaybolduğunu görmüşlerdir (172).

Jauchem ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'nın ve radyofrekans radyasyonunun insanlarda oluşturduğu kardiyovasküler etkileri araştırmışlar ve sonuçta EMA'ya maruz kalmanın EKG değişiklikleri ve kalp atım hızında azalmaya neden olduğunu söylemişlerdir (55). Borjanovic ve arkadaşları, gönüllü kişilere düşük frekanslı EMA vermişler ve Bu kişilerde EKG değişiklikleri ve kalp hızında düşme olduğunu göstermişlerdir (56).

Jauchem ve arkadaşları, ratlara yüksek frekanslı EMA uygulayıp termal dağılımı ve kardiyovasküler etkileri araştırmışlardır. Kalp hızı radyasyon uygulandığı sürece artmış olarak gözlenmiştir (11). Wilen ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada radyofrekans operatörleri ile

kontrol grubunu karşılaştırmışlar ve deney grubundakilerin kalp hızının akşam saatlerinde daha düşük olduğunu saptamışlardır. Bu durumun kalbin parasempatik aktivitesindeki artış ile ilişkili olduğunu söylemişlerdir (173).

Graham ve arkadaşları, 18 gönüllüyü 6 saat boyunca düşük frekanslı EMA'ya maruz bırakarak kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri araştırmışlar ve sonuç olarak kalp atım hızında yavaşlama ve EKG'de değişiklikler olduğunu göstermişlerdir (57). Korpinen ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'nın insan kalbi üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada, nakil hattı işçileri ile kontrol grubundakilerin EKG bulgularını karşılaştırmışlar ve sonuçta işçilerin EKG'lerinde ekstrasistoller veya aritmiler görmüşlerdir (58). Jeong ve arkadaşları, düşük frekanslı EMA'ya maruz bıraktıkları ratların EKG'lerinde belirgin değişiklikler ortaya çıktığını saptamışlardır (63). Creasey ve arkadaşları yaptıkları çalışmada hızlı transport sistemlerinde çalışan insanlarda EMA'nın kalp aritmilerinde artış yaptığını saptamışlardır (59).

Villoresi ve arkadaşları EMA'ya maruz kalan işçilerde kontrol grubuna göre myokard enfarktüsü olgularında artış olduğunu gözlemişlerdir (61).

Bu çalışmada, biri yetişkin diğeri anne karnında olan iki grup rat üzerinde düşük frekanslı EMA uygulanmış ve daha sonra her iki gruptan alınan kalp ve aort hücreleri elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Yetişkin grup ratların myokard hücrelerinde görülen elektron mikroskobu bulguları, sarkoplazmik retikulumlarda dilatasyon, hücre membranının altında miyofibril kaybı, bir kısım mitokondride dejenerasyon, perinükleer vakuolizasyon ve perinükleer bölgede organel artışıdır. Bu gruba ait aort hücrelerinde görülen elektron mikroskobu bulguları, subendoteliyal tabakada bağ dokusu artışına bağlı olarak gelişen tunika intima kalınlaşması, tunika medyada elastik membranlarda incelme, düz kas hücreleri arasında ekstrasellüler matrikste kollajen fibrillerin yapıya hakim olması şeklindedir.

Diğer gruptaki ratların myokard hücrelerinde görülen elektron mikroskobu bulguları ise mitokondrilerde şişme, intrasellüler ödem, miyofibrillerde fragmantasyon, perivasküler ve perinükleer ödem, bazı mitokondrilerde kristalleşme, şişme ve miyofibrillerde fragmantasyon şeklindedir. Bu gruba ait aort hücrelerinde görülen elektron mikroskobu bulguları, endotel hücrelerinde dejeneratif vakuoller ve piknotik çekirdekler, tunika medyada ekstrasellüler matrikste ve elastik membranlarda dejenerasyon görülmesi ile karakterizedir.

Hayvanlar üzerinde EMA uygulanarak yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığında incelenen dokuların farklı olmasına rağmen elektron

mikroskobunda görülen hücresel değişikliklerin benzer olduğu görülmektedir (5,42,54,129,140,163,171,172). Ronchi'nin çalışmasında bu çalışmaya benzer şekilde EMA'ya maruz bırakılan ratlarda, myokard hücrelerindeki elektron mikroskop bulguları rapor edilmiştir. Ronchi'nin bulguları ile bu çalışmanın bulguları aynıdır (69).

Hayvanlar üzerinde farklı stres faktörleri yaratarak çeşitli dokularda ortaya çıkan değişiklikleri elektron mikroskobu ile inceleyen çalışmaların sonuçları, EMA ile ortaya çıkan çalışmalarda görülen hücresel değişiklikler ile benzerlik göstermektedir (162,164-170).

Bu çalışmaların hepsinde, elektron mikroskobunda görülen hücresel değişiklikler, hücre yapılarında bozulmalar olduğunu göstermektedir. Diabet, hipertansiyon, iskemi, akut pankreatit gibi diğer stres faktörlerinin neden olduğu hücresel değişikliklerin EMA'ya maruz kalan hücrelerde de görülmesi EMA'nın hücre yapısında yıkıcı etkilere neden olduğunu desteklemektedir.

EMA etkisinin, hücrelerde morfolojik değişiklikler yapmasının yanı sıra kardiyovasküler sistem fizyolojisini bozan başka etkilerini ratlarda (11,63) ve insanlarda (55,56,57,58,59,61,173) araştıran diğer çalışmaların sonuçları, EMA'ya maruz kalmanın EKG'de, kalp ritminde ve kalp hızında değişikliklere neden olduğunu göstermektedir.

8. SONUÇ VE ÖNERİLER:

Günümüzde elektrik gücünün dağılımı ve kullanımı çok artmış olduğu için elektrik akımına eşlik eden EMA'ya maruz kalmaktan kaçınmak olanaksız hale gelmiştir. Günlük yaşantımızda sürekli olarak düşük seviyede EMA'ya maruz kalmaktayız. Son yıllarda konuyla ilgili yapılan yoğun araştırmalara rağmen EMA'nın biyolojik sistemlerde oluşturduğu değişiklikler ve etki mekanizmaları halen tam açık değildir. Yapılan embriyolojik çalışmalar farklanmamış preimplantasyon döneminde kimyasallar, çevresel faktörler veya teratojenik ajanlara maruz kalan embriyonun düzeltici gelişim potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Gastrulasyon veya organogenezis dönemlerinde embriyo risk faktörlerine karşı çok daha yüksek duyarlılık göstermektedir. Bu dönemlerde maruz kalma fetus gelişimi ve fonksiyonel maturasyonunu etkilemektedir.

EMA'ya maruz kalma ile kanser riski arasında korelasyon saptanması konunun toplumsal önemini arttırmaktadır. Bu nedenle, EMA'nın biyolojik sistemlerdeki etkisi yoğun şekilde çalışılmaktadır. In vitro çalışmalar EMA'nın hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz üzerine potansiyel etkilerini ortaya koymuştur. Hücre davranışlarını etkileme mekanizması olasılıkla membran yapısı ve küçük moleküllerin geçirgenliğini etkilemesi sonucu oluşmaktadır. Bu yollardan birisi voltaj-kapılı kalsiyum kanallarının ekspresyonunu artırması ve dolayısıyla kalsiyum akımındaki artıştır. İleri sürülen diğer bir mekanizma da EMA'nın serbest radikal üretimini arttıran kimyasal reaksiyonlarla etkileşmesidir. Serbest radikaller doz, maruz kalma süresi ve hücre veya dokunun tipine göre değişen etkiler oluşturmaktadır. Serbest radikallerin oluşturduğu DNA hasarı mutasyonlara ve sonuçta karsinogenezise yol açabilmektedir.

Normal fetal gelişim için gerekli olan apoptozis, kardiyovasküler sistem gelişiminde de rol oynamaktadır. Yetişkin kardiyovasküler sistemde ise apoptozis çeşitli hastalıklardan normal yaşlanmaya kadar birçok alanda görülebilmektedir. DNA hasarı oluşturan ajanlar, sitokinler ve oksidan stres gibi spesifik fizyolojik veya patolojik tetikleyiciler apoptozise yol açabilmektedir. Bu tetikleyicilerin miyokard hücrelerinde apoptoza yatkınlığı arttırdığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bu nedenle hastalık veya sağlıkta kardiyovasküler sistemde apoptozisin regülasyonu yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesi ve insan sağlığı açısından önem taşımaktadır.

EMA, hücre üzerinde etki mekanizmasına göre değişen etkiler oluşturmaktadır. EMA'ya maruz kalma tüm biyolojik sistemlerde yan etki oluşturabilmekte ve kanser oluşumuna kadar ulaşabilen sonuçları nedeniyle insan sağlığı açısından önemli bir unsur teşkil etmektedir. Bu çalışmada organizma için hayati önem taşıyan kalp ve damar dokularında EMA'nın yetişkin ve yavru dönemlerindeki etkileri incelenmiştir. EMA'nın miyokardial apoptozisteki rolü incelenmiş, ayrıca oksidatif stres parametreleri üzerine olan etkisi de çalışılarak aralarında korelasyon olup olmadığı belirlenmiştir. EMA'ya miyokard hücrelerinin ince yapısındaki yanıtları da bu çalışmada incelenmiştir. EMA'ya maruz kalmanın neden olabileceği kardiyovasküler sonuçların belirlenmesi günümüzde etkilenmekten kaçınmak mümkün olamadığı için çeşitli anti-apoptotik veya antioksidan destek yaklaşımlarının değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır. Konuyla ilgili olası temel yan etkilerin belirlenmesi EMA'ya maruz kalmanın sınırlandırılması veya konuyla ilgili terapotik destek kullanımının araştırılması açısından yeni yaklaşımlar sağlayacaktır.

9. KAYNAKLAR

1. Savitz DA, Liao D, Sastre A, Kleckner RC and Kavet R. Magnetic field exposure and cardiovascular disease mortality among electric utility workers. *American JE*. 1999. 149(2): 135- 142.
2. Gagnon ZE, Newkirk C, Conetta JA, Sama MA, Sisselman S. Teratogenic effect of broad band electromagnetic field on neonatal mice. *J Environ Sci Health part A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2003. 38(11): 2465- 2481.
3. Minder CE, Pfluger DH. Leukemia, brain tumors and exposure to extremely low frequency electromagnetic fields in Swiss Railway employees. *Am J Epidemiol*, 2001. 153(9): 825- 835
4. Villeneuve PJ, Agnew DA, Johnson KC, Mao Y. Brain canaer and occupational exposure to Magnetic fields among men:results from a Canadian population-based case-control study. *Int J Epidemiology*. 2002. 31: 210- 217.
5. Zhitkevich TI, Bokut TB, Netukova NI. Effect of low intensity electromagnetic fields of industrial frequency on the ultrastructure and proliferative activity of rats timus cells. *Radiats Biol Radioecol*. 2001. 41(4): 401- 403.
6. Wolf FI, Torselloa A, Tedescoa B, Fasanellaa S, Boninsegnaa A, D'Ascenzob M, Grassib C, Azzenab GB, Cittadina A. 50-60 Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cells proliferation and DNA damage: Possible involvementof a redox mechanism .*Biochimica et Biophysica Acta*. 2005. 1743: 120- 129.
7. Volpe P, Parasassi T, Esposito C, Ravagnan G, Giusti AM, Pasquarelli A, Eremenko T. Cell membran lipid molecular Dynamics in a solenoid versus a magnetically shielded room. *Bioelectromagnetics*, 1998. 19(2): 107- 111.
8. Ishisaka R, Kano T, Inai Y, Nakahara H, Akiyama J, Yoshioka T, Utsumi K. Effects of a magnetic field on the various functions of subcellular organelles and cells. *Pathophysiology*, 2000. 7: 149- 152.
9. Moustafa YM, Moustafa RM, Belacy A, Abou-El-Ela SH, Ali FM. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidase activities in human erythrocytes. *Jornal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2001. 26: 605- 608.

10. Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamilsı S, Iraz M, Akyol O, Ozen S. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta*. 2004. 340: 153- 162.
11. Jauchem JR, Ryan KL, Frei MR. Cardiovascular and thermal responses in rats during 94 GHz irradiation. *Bioelectromagnetics*, 1999. 20(4): 264- 267.
12. Tenforde TS, Gaffey CT, Moyer BR, Budinger TF. Cardiovascular alterations in Macaca Monkeys exposed to stationary magnetic fields: experimental observations and theoretical analysis. *Bioelectromagnetics*, 1983. 4(1): 1- 9.
13. Azanza MJ, Moral AD. Cell membrane biochemistry and neurobiological approach to biomagnetism. *Progress in neurobiology*, 1994. 44: 517-601.
14. Necmabadi F. *Radyoloji ve Radyasyon Fiziği*, Tahran Üniversitesi Yayınevi. 1987, 32- 44.
15. Halil Elrahman. *Mıknatıs ve Elektriğın Temeli*, Erkan yayınevi, İsfahan 1994. 255- 284.
16. Kovetz A, Vanderlinde J. EMF, Electric and Magnetic Fields Associated with the Use of Electric Power. National Institute of Environmental Health Sciences. 2002. 1: 4- 9. <http://www.niehs.nih.gov/lemfrabid>.
17. Polk C. Biological effects of low-level low frequency electric and magnetic fields. *IEEE Transactions on education*, 1991. 34(3): 243- 244.
18. Gandhied OP. Special Issue on biological effects and medical applications of electromagnetic energy. *Proce IEEE*, 1980. 68: 173.
19. Greeman DL. Health and E.M. *Phys BULL*, 1987. 345.
20. Moulder JE, Foster KR. Is there a link between exposure to power frequency electric fields and cancer? *IEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*, 1999, 18: 109- 116.
21. Norden B, Romel C. İnteraction Mechanisms of low-level Electromagnetic fields in living system. *Magnetic fields and cancer*, 1992. 2: 14- 21, 3: 23- 25.
22. Saffer JD, Thurstan SJ. Cancer risk and electromagnetic fields. *Nature*, 1995. 375: 22-23.
23. Sunay Ç. Teknoloji ile birlikte gelen sorun elektromanyetik kirlilik; *Tubitak Bilim ve Teknik Dergisi Ocak* 2000. 386: 66.

24. Martin Rösli, Manfred Lörtscher, Matthias Egger. Mortality from Neurodegenerative Disease and Exposure to Extremely Low-Frequency Magnetic Fields: 31 years of Observations on Swiss Railway Employees. *Neuroepidemiology* 2007;28: 197- 206.
25. London SJ, Thomas C. Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia. *Am J Epidemiol*, 1999. 134: 223- 931.
26. Paksu C, Erdal N, Erdal ME, Oğuzkan S. Yüksek gerilim hattında çalışan ve yakınında yaşayan bireylerin eritrosit membran proteinlerinin Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid jel disk elektroforez yöntemi ile araştırılması. *Tr. J. of Biology*. 1999. 23: 23- 30.
27. Davis S, Mirick DK, Stevens RG. Residential magnetic fields and The risk of breast cancer. *Am J Epidemiol*, 2002. 155(5): 446- 454.
28. De Sezer, Ayoub J, Peray P, Miro L, Touitou Y. The effects of radiocellul telephones on the circadian patterns of melatonin secretion, Achronobiological rhythm marker. *J Pineal Res*, 1999. 27(4): 237- 242.
29. Martinez Soriano F, Gimenez Gonzalez M, Armanazas E, Ruiz Torner A. Pineal 'synaptic ribbons' and serum melatonin levels in the rat following the pulse action of 52-Gs (50 Hz) magnetic fields: an evaluative analysis over 21 days. *Acta Anat*, 1992. 143: 289- 293.
30. Borbely AA, Huber R, Graft T, Gallmann E, Achermann P. Pulsed high frequency fields effects human sleep and sleep electroencephalogram. *Neurosclett*, 1999. 275(3): 207- 210.
31. Güven S, Kart C, Güvendağ Güven E.S. The Effects of Electromagnetic Field on Pregnancy. *J Turkish-German Gynecol Assoc*, 2007. 8(4): 431- 436.
32. Pawel William. Computer dangers. *Bite Jur*, 1993. 1: 41- 62.
33. Hakansson N, Floderus B, Gustavsson P, Johansen C, Olsen JH. Cancer incidence and magnetic field exposure in industries using resistance welding in Sweden. *Occup Enviromed*, 2002. 59(7): 481- 486.
34. Dicarolo A, White N, Guof, Garrett P, Litovitz T. Chronic electromagnetic field exposure decreases HSP 70 Levels and Lowers cytoprotection. *J Cell Biochem*, 2002. 84(3): 445- 454.

35. Winker R, Ivancsits S, Pilger A, Adlkofer F, Rüdiger HW. Chromosomal Damage in Human Diploid Fibroblasts by Intermittent Exposure to Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields. *Mutation Research*. 2005. 585: 43- 49.
36. Lai H, Singh NP. Melatonin and a spin-trap compound block radiofrequency electromagnetic radiation-induced DNA strand breaks in the rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 1997. 18: 446- 454.
37. Robinson JG, Pendleton AR, Monson KO, Murray BK, O'Neill KL. Decreased DNA repair rates and protection from heat induced apoptosis mediated by electromagnetic field exposure. *Bioelectromagnetics* 2002. 23(2):106- 112.
38. Rad SJ, Damavendi F. Elektromanyetik alanın rat embriyolarının gelişimine etkileri ve epinefrin aracılığıyla bu etkinin önlenmesi. *Tebriz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1997. 34(33): 62- 68 (1376 Hicri Şemsi).
39. Lai H, Singh NP. Magnetic-Field-Induced DNA Strand Breaks in Brain Cells of the Rat. *Environmental Health Perspectives*. 2004.112(6): 687- 694.
40. Beljaev SYA, Kravchonko VG. Resonance Effect of Low-Intensity Millimeter Waves on the Chromatin Conformational State of Rat Thymocytes. *Natur Forsch (c)*.1994. 49(5-6): 325- 358.
41. Rad SJ, Dibazer F, Ahrabiyan G, Katibi M. Elektromanyetik alanın ratlardaki spermatogenez üzerine etkileri, *Tebriz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1994. 31(36): 55- 60.
42. Roushangar L, Rad SJ. Ultrastructural alterations and occurrence of apoptosis in developing follicles exposed to low frequency electromagnetic field in rat ovary. *Pak J Biol Sci*. 2007. 10(24): 4413- 4419.
43. Chiang H, Yao GD, Zhou SY. Effects of microwave iron exposure at various power densities on mitochondrial enzymes in mouse brain. *J Bioelectricity*, 1984. 3:361- 366.
44. Yao GD, Chiang H. Study on effects of microwave irradiation on ultramicrostructure of hypothalamus in mice. *Radiation Protection*. 1985. 5: 191- 195.
45. Lisa L, Michael A, Stanley A. Differential effects of low frequency, low intensity (<6Mg) nocturnal magnetic fields upon in filtration of mononuclear

- cells and numbers of mast cells in lewis rat brain. *Toxicology letters*, 2000. 118: 9- 19.
46. Novoselova EG, Fesenko EE, Makar VR, Sadovikov VB. Microwaves and cellular immunity. II Immuno stimulating effects of microwave and naturally occurring antioxidant nutrients. *Bioelectro chem Bioenerg*, 1999. 49(1): 37- 41.
47. Yokuş B, Çakır DÜ, Akdağ MZ, Sert C, Mete N. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electro magnetic fields. *Free Radical Research*. 2005. 39(3): 317- 323.
48. Jajte J, Grzegorzcyk J, Zmyslony M, Rajkowska E. Effect of 7 mT static magnetic field and iron ions on rat lymphocytes: apoptosis, necrosis and free radical processes. *Bioelectrochemistry*, 2002. 57: 107- 111.
49. Jelencovic A, Janac B, Pesic V, Jovanovic DM, Vasiljevic I, Prolic Z. Effects of extremely low-frequency magnetic field in the brain of rats. *Brain Research Bulletin*, 2006. 68: 355- 360.
50. Eraslan G, Akdoğan M, Bilgili A, Kanbur M, Şahindokuyucu F. Elektromanyetik alanın (60-90 Hz ve 5 mT) diurnal ritimde kan elektrolit düzeyleri üzerine etkileri. *Turk J Vet Anim Sci*. 2002. 26: 1243- 1247.
51. Blumenthal NC, Ricci J, Breger L, Zychlinsky A ve ark. Effects of Low-Intensity AC and/or DC Electromagnetic Fields on Cell Attachment and Induction of Apoptosis. *Bioelectromagnetics*, 1997. 18: 264- 272.
52. Meng L, Peng RY, Gao YB, Wang SM ve ark. Changes of apoptosis, mitochondrion membrane potential and Ca²⁺ of hypothalamic neurons induced by high power microwawe. *Zhonghua Lao Dong We*. 2006. 24(12): 739-741.
53. Oral B, Güney M, Özgüner F, Karahan N ve ark. Endometrial apoptosis induced by a 900-MHz mobile phone: preventive effects of vitamins E and C. *Adv Ther*. 2006. 23(6): 957- 973.
54. Nergiz Y, Ketani MA, Akdağ Z, Ersay AR, Çelik MS. Effect of Low-Intensity Microwave Radiation on Rat Kidney: An Ultrastructural Study. *Turk J Med Sci*. 2000. 30: 223- 227.
55. Jauchem JR. Exposure to extremely-low-frequency electromagnetic fields and radiofrequency radiation: cardiovascular effects in humans. *Int Arch Occup Environ Health*. 1997: 70: 9- 21.

56. Borjanovic SS, Jankovic SM, Pejovic Z. ECG Changes in Humans Exposed to 50 Hz Magnetic Fields. *J Occup Health*.2005; 47: 391- 396.
57. Graham C, Cook MR, Cohen HD, Gerkovich MM. Dose Response Study of Human Exposure to 60 Hz Electric and Magnetic Fields. *Bioelectromagnetics*.1994. 15: 447- 463.
58. Korpinen L, Partanen J, Uusitalo A. Influence of 50 Hz Electric and Magnetic Fields on the Human Heart. *Bioelectromagnetics*.1993. 14: 329- 340.
59. Creasey WA, Goldberg RB. Safety of High Speed Guided Ground Transportation Systems: Potential Health Effects of Low Frequency electromagnetic due to Maglev and other Electric Rail Systems. *Dot-FRA/ORD*. 1993. 32(2): 31- 93.
60. Miller G. Exposure guidelines for magnetic fields. *Am Ind Hyg Assoc J*, 1982. 48: 957- 968.
61. Villoresi G, Breus TK, Iucci N, Dorman I, Rapoport SI. The influence of geophysical and social effects on the incidences of clinically important pathologies. *Phys med*, 1994. 10: 79- 91.
62. Deng H, Song ZJ, Wang DW, Yang H ve ark. Study on the membrane protein conformational changes and mechanisms of myocardial cell irradiated by pulse microwawe. *Guang Pu Xue Guang Pu Fen Xi*, 2006. 26(8): 1437- 1440.
63. Jeong JH, Kim JS, Lee BC, Min YS ve ark. Influence of exposure to electromanyetic field on the cardiovascular system. *Autonomic & Autacoid Pharmacology*, 2005. 25: 17- 23.
64. Takahaski K, Kuroki M, Doge F, Sawasaki Y ve ark. Effects of low-frequency electric fields on the intracellular Ca +2 response induced in human vascular endothelial cells by vasoactive substances. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2002. 21(3): 279- 286.
65. Köbbert C, Berndt A, Bierbaum T, Sontag W ve ark. Low-Energy Electromagnetic Fields Promote Proliferation of Vascular Smooth Muscle Cells. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2008. 27: 41- 53.
66. Ushiyama A, Masuda H, Hirota S, Ohkubo C. Subchronic effects on leukocyte-endothelial interactions in mice by whole body exposure to extremely low frequency electromagnetic fields. *In vivo*, 2004. 18(4): 425- 432.

67. Canseven AG, Coşkun S, Seyhan N. Effects of various extremely low frequency magnetic fields on the free radical processes, natural antioxidant system and respiratory burst system activities in the heart and liver tissues. *Indian J Biochem Biophys*, 2008. 45(5): 326- 331.
68. Deng H, Wang D, Peng R, Wang S ve ark. The Electroporation Effects of High Power Pulse Microwave and electromagnetic pulse irradiation on the membranes of cardiomyocyte cells and the mechanism therein involved. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, 2005. 22(4): 672- 676.
69. Ronchi R, Marano L, Braidotti P, Bianciardi P ve ark. Effects of Broad Band Electromagnetic Fields on HSP70 Expression and İschemia-Reperfusion in rat hearts. *Life Sciences*, 2004. 75: 1925- 1936.
70. Caprani A, Richert A, Guerbaoui S, Guglielmi JP ve ark. Preliminary Study of Pulsed-Electromagnetic Fields Effects on Endothelial Cells Line Secretions; Evidence of a Potential Increased Thrombotic Risk. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2004. 23(1): 45- 54.
71. Caprani A, Richert A, Guglielmi JP, Flaud P. Preliminary Study of Pulsed-Electromagnetic Fields Effects on Endothelial (HUVEC) Cells Secretions- Modulation of the Thrombo- Hemorrhagic Balance. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2008. 27: 386- 392.
72. Monache SD, Alessandro R, Iorio R, Gualtieri G ve ark. Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields (ELF-EMF s) Induce In Vitro Angiogenesis Process in Human Endothelial Cells. *Bioelectromagnetics*, 2008. 29: 640- 648.
73. Leitgeb NC. Microwave ELF Electromagnetic Field Effect on İntercellular Communication Proceeding of 20 th Annual İnternational. *Bioelectromagnetic*, 1998. 20: 798- 801.
74. Mclauchlan KA. A possible mechanism for the effects of electromagnetic fields on biological cells. *Science & Technology*, 1989. 48: 46- 48.
75. Ashok BT, Ali R. The aging paradox: free radical theory of aging. *Experimental Gerontology*, 1999. 34: 293- 303.
76. Wickens AP. Ageing and the free radical theory. *Respiration Physiology*, 2001. 128: 379- 391.

77. Schöneich C. Reactive oxygen species and biological aging: a mechanistic approach. *Experimental Gerontology*, 1999. 34: 19- 34.
78. Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB*. 1997. 11: 118- 124.
79. Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *European Journal of Biochemistry*, 2000. 267: 4904- 4911.
80. Reiter RJ. Aging and oxygen toxicity: relation to changes in melatonin. *Age*, 1997. 20: 201- 213.
81. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York. Oxford Science Publications. 1999.
82. Tamer L, Polat G, Eskandari G. Serbest radikaller. *Mersin Üniv. Tıp Fakültesi Dergisi*. 2000. 1: 52- 58.
83. Dean RT, Fu S, Stocker R. Biochemistry and pathology of radical mediated protein oxidation. *Biochemistry Journal*, 1997. 324: 1- 18.
84. Chung HY, Baek BS, Song SH. Xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase and oxidative stress. *Age*, 1997. 20: 127- 140.
85. Winterbourn CC, Kettle AJ. Radical-radical reactions of superoxide: a potential route to toxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003. 305: 729-736.
86. Semsei I. On the nature of aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2000. 117: 93- 108.
87. Rikans LE, Hornbrook KR. Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1997. 1362: 116- 127.
88. De Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN. Biomarkers of free rad damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radicals in Biology & Medicine*, 1999. 26: 202- 226.
89. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation initiated by superoxide dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. *FEBS Letters*, 1984. 172(2): 245- 249.
90. Toussaint O, Remacle J, Dumont P. Oxidative stress induced cellular senescence. *Encyclopedia of Life Sciences*, 2002. 1- 6.

91. Deby C, Goutier R. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutases. *Biochemical Pharmacology*, 1990. 39: 399- 405.
92. Yu BP. Approaches to anti-aging intervention: the promises and the uncertainties. *Mechanisms of Ageing and Development*, 1999. 111: 73- 87.
93. Hartog GJM, Haenen GR, Vegt E. Superoxide dismutase:the balance between prevention and induction of oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 203. 145: 33- 39.
94. Allen RG. Oxidative stress and superoxide dismutase in development, aging and gene regulation. *Age*, 1998. 21: 47- 76.
95. Vatassery GT. Vit E and other endogenous antioxidants in the CNS. *Geriatrics*, 1998. 53: 525- 527.
96. Pajovic SB, Saicic ZS, Spasic MB. Effects of progesterone and estradiol benzoate on glutathione dependent antioxidant enzyme activities in the female rats. *General Physiology and Biophysic*, 1999. 18: 35- 44.
97. Sastre J, Pallardo FV, Vina J. Glutathione, oxidative stress and aging. *Age*, 1996. 19: 129- 139.
98. Thompson CB. Apoptosis. Editör, Paul WE. *Fundamental Immunology*. Lippincott-Raven Publishers. 1999.
99. Wyllie AH, Duvall E. Cell death. Editör, McGee JO'D, Issacson PG, Wright N. *Oxford Textbook of Pathology*. USA, Oxford University Press 1992. vol 1: 142- 147.
100. Afford S, Randhawa S ve ark. Apoptosis. *Mol Pathol* 2000. 53(2): 55- 63.
101. Yılmaz S, Aylı M. Apoptozis. *Güncel Gastroenteroloji Aralık* 2000: 362- 368.
102. Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *BMJ* 2001. 322: 1536- 1538.
103. Sjöström J, Bergh J. How apoptosis regulated, and what goes wrong in cancer? *BMJ* 2001. 322: 1538- 1539.
104. Barinaga M. Is apoptosis key in Alzheimer' disease? *Science* 1998. 281: 1303- 1304.
105. Gibson RM. Does apoptosis have a role in neurodegeneration? *BMJ* 2001. 322: 1539- 1540.

106. Hirose Y, Yoshimi N, Suzui M, et al. Expression of bcl-2, bax, and bcl-XL proteins in azoxymethane-induced rat colonic adenocarcinomas. *Mol Carcinog* 1997. 19: 25-30.
107. Parton M, Dowsett M, Smith I. Studies of apoptosis in breast cancer. *BMJ* 2001. 322: 1528- 1532.
108. Mountz JD, Zhou T. Apoptosis and Autoimmunity. Editör, Koopman WJ. *Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions*. Lippincott Williams & Wilkins 2001.
109. Carlson BM. *Human Embryology & Developmental Biology*. 2nd ed. St. Louis: Mosby Inc 1999. 148: 190, 222.
110. Lodish H, Berk A, Ziporsky SL ve ark. *The Dynamic Cell. Molecular Cell Biology*. 4th ed. New York, WH Freeman &Co. 2000.
111. Pole RJ, Qi BQ, Beasley SW. Patterns of apoptosis during degeneration of the pronephros and mesonephros. *J Urol* 2002. 167(1): 269- 271.
112. Jersak M, Bischof P. Apoptosis in the first trimester human placenta: the role in maintaining immun privilege at the maternal-foetal interface and in the trophoblast remodelling. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002. 100(2): 138- 142.
113. Rodenburg RJT, Raats JMH, Pruijn GJM, van Venrooij WJ. Cell death: a trigger of autoimmunity? *Bioessays* 2000. 22: 627- 636.
114. Gobe G, Zhang XJ, Cuttle L ve ark. Bcl-2 genes and growth factors in the pathology of ischemic acute renal failure. *Immunol Cell Biol* 1999. 77(3): 279- 286.
115. Ferri KF, Kroemer G. Mitochondria-the suicide organelles. *BioEssays* 2001. 23: 111- 115.
116. Hatton J. Pharmacological treatment of traumatic brain injury: A review of agents in *Development CNS Drugs* 2001. 15(7): 553- 581.
117. Sheikh MS, Fornace AJ Jr. Role of p53 family members in apoptosis. *J Cell Physiol* 2000. 182: 171- 181.
118. Fox JC, Patel VV. Apoptosis and the Cardiovascular System. *ACC Current J*. 1998. 7(2): 13- 15.

119. Narula J, Kharbanda S, Khaw BA. Apoptosis and the Heart. *Chest* 1997. 112: 1358- 1362.
120. Gustafsson AB, Gottlieb RA. Mechanisms of Apoptosis in the Heart. *J Clin Immunology*, 2003. 23(6): 447- 459.
121. Bennett MR. Apoptosis in the Cardiovascular System. *HEART*, 2002. 87: 480- 487.
122. Santini MT, Ferrente A, Rainaldi G, Indovina P ve ark. *Int J Radiat. Biol* 2005. 81(1): 1- 11.
123. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi*, 2. cilt. 3. Baskı. Güneş Kitabevi, Ankara. 2001. 2-10, 18- 20.
124. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Temel Histoloji*. Editör, Yener Aytekin. Barış Kitabevi, İstanbul. 1998. 11: 191- 197, 202, 209- 210, 213- 216.
125. Podd J, Abbott J, Kazantzis N, Rowland A. Brief exposure to 50 Hz, 100 μ T Magnetic Field: Effects on reaction time, accuracy and recognition memory. *Bioelectromagnetics*, 2002. 23: 189- 195.
126. Ishiaka R, Kanno T, Inai Y, Nakahara H, Akiyama J ve ark. Effects of magnetic fields on the various functions of subcellular organelles and cells. *Pathophysiology*, 2000. 6: 174- 186.
127. Bellavite P, Signorini A. Biological Effects of Electromagnetic Fields, in *Fundamen Research in Ultra-High Dilution and Homeopathy*. The Netherlands, 2003. 18(2): 127- 142.
128. Robison JG, Pendleton AR, Monson KO, Murray BK, O'Neill KL. Decreased DNA Repair Rates and Protection from Heat Induced Apoptosis Mediated by Electromagnetic Field Exposure. *Bioelectromagnetics*. 2002. 23: 106- 112.
129. Kim YW, Kim HS, Lee JS, Kim YJ, Lee SK, Seo JN, Jung KC, Kim N, Gimm YM. Effects of 60 Hz 14 μ T Magnetic Field on the Apoptosis of Testicular Germ Cell in Mice. *Bioelectromagnetics*. 2009, 30: 66- 72.
130. Simko M, Kriehuber R, Weiss DG, Luben RA. Effects of 50 Hz EMF Exposure on Micronucleus Formation and Apoptosis in Transformed and Nontransformed Human Cell Lines. *Bioelectromagnetics*, 1998. 19: 85- 91.

131. Blumenthal NC, Ricci J, Breger L, Zychlinsky A ve ark. Effects of Low-Intensity AC and/or DC Electromagnetic Fields on Cell Attachment and Induction of Apoptosis. *Bioelectromagnetics*, 1997. 18: 264- 272.
132. Ali FM, S Mohamed W, Mohamed MR. Effect of 50Hz, 0,2 mT magnetic fields on RBC properties and heart functions of albino rats. *Bioelectromagnetics*.2003, 24(8): 535- 545.
133. Liu Y, Weng E, Zhang Y, Hong R. Effects of extremely low frequency electromagnetic field and its combination with lead on the antioxidant system in mouse. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2002. 20(4): 263- 265.
134. Wolf FI, Torsello A, Tedesco B, Fasanella S ve ark. 50 Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: Possible involvement of a redox mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2005.1743: 120- 129.
135. Sadegi A, Asgari M. *Basic of Pathology*, World Publications, Tehran,1992. 112- 122.
136. Hall EJ. *Radiobiology for Radiologists*, Editör, Hüseyin Fardrani. Müderris Üniversitesi Basımevi, Tahran, 1990. 12- 15.
137. Yang R, Chen J, Deng Z, Liu X. Effect of Vitamin E on Morphological Variation of Retinal Ganglion Cells After Microwave Radiation. *Wei Sheng Yan Jiu*, 2001. 30(1): 31- 33.
138. Alfieri RR, Bonelli MA, Pedrazzi G, Desenzani S ve ark. Increased levels of inducible HSP70 in Cells Exposed to electromagnetic fields. *Radiat Res*.2006. 165(1): 95- 104.
139. Bernardini C, Zannoni A, Turba ME, Bacci L ve ark. Effects of 50 Hz Sinusoidal Magnetic Fields On Hsp27, Hsp90 Expression in Porcine Aortic Endothelial Cells (PAEC) *Bioelectromagnetics*, 2007. 28: 231- 237.
140. Asken F, Akdağ MZ, Ketani A, Yokuş B ve ark. Effect of 50-Hz 1-mT magnetic field on the uterus and ovaries of rats (Electron microscopy evaluation). *Med Sci Monit*. 2006. 12(6): 215- 220.
141. Seyhan N, Canseven AG. In Vivo Effects of ELF MFs on Collagen Synthesis, Free Radical Processes, Natural Antioxidant System, Respiratory Burst System,

142. Bediz CS, Baltacı AK, Moğulkoç R, Öztekin E. Zinc supplementation ameliorates electromagnetic field-induced lipid peroxidation in the rat brain. *Tohoku j. Exp. Med.* 2006. 208: 133- 140.
143. Buczynski A, Pacholski K, Dziedziczak BM, Henrykowska G ve ark. The assessment of oxygen metabolism selected parameters of blood platelets exposed to low frequency magnetic radiation in cars- in vitro studies. *Rocz Akad Med Białymst.* 2005. 50 (1): 23- 25.
144. Tohumoglu G, Canseven AG, Çevik A, Seyhan N. Formulation of ELF magnetic fields' effects on MDA level and myeloperoxidase activity in kidney using genetic programming. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 2007. 86: 1- 9.
145. Meral İ, Mert H, Mert N, Değer Y ve ark. Effects of 900-MHz EMF emitted from cellular phone on brain oxidative stres and some vitamin levels of guinea pigs. *Brain Res.* 2007. 1169: 120- 124.
146. Ferreira AR, Bonatto F, Pasquali MAB, Polydoro M ve ark. Oxidative stres effects on the central nervous system of rats after acute exposure of ultra high frequency EMF. *Bioelectromagnetics*, 2006. 27: 487- 493.
147. Özgüner F, Altınbaş A, Özaydın M, Doğan A ve ark. Mobile-phone induced myocardial oxidative stres: protection by a novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester. *Toxicology and Industrial Health*, 2005. 21: 223- 230.
148. Güler G, Seyhan N, Arıcıoğlu A. Effects of electric fields on radical and antioxidant enzyme levels. *Gazi Med J*, 2004. 15: 101- 106.
149. Elhag MA, Nabil GM, Attia AM. Effects of electromagnetic field produced by mobile phones on the oxidant and antioxidant status of rats. *Pak J Biol Sci*, 2007. 10(23): 427 4274.
150. Türközer Z, Güler G, Seyhan N. Effects of exposure to 50 Hz electric field at different strengths on oxidative stressand antioxidant enzyme activities in the brain tissue of guinea pigs. *Int. J. Radiat. Biol.* 2008. 84(7): 581- 590.

151. Sharifian A, Gharavi M, Pasalar P, Aminian O. Effect of extremely low frequency magnetic field on antioxidant activity in plasma and red blood cells in spot welders. *Int Arch Occup Environ Health*, 2009. 82: 259- 266.
152. Güler G, Türközer Z, Seyhan N. Electric field effects on guinea pig serum: the role of free radicals. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2007. 26: 207- 223.
153. Amara S, Douki T, Ravanat JL, Garrel C ve ark. Influence of a static magnetic field (250 mT) on the antioxidant response and DNA integrity in THP1 cells. *Phys. Med. Biol.* 2007. 52: 889- 898.
154. Güler G, Seyhan N, Arıcıoğlu A. Effects of static and 50 Hz alternating electric fields on superoxide dismutase activity and TBARS levels in guinea pigs. *Gen. Physiol. Biophys.* 2006. 25: 177- 193.
155. Lee JS, Ahn SS, Jung KC, Kim YW ve ark. Effects of 60 Hz electromagnetic field exposure on testicular germ cell apoptosis in mice. *Asian J Androl*, 2004. 6(1): 29- 34.
156. Liu Y, Hong R, Yu YM, Weng E. Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on apoptosis and cell cycle of mouse brain and liver cells. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2003. 21(5): 339- 341.
157. Ye L, Du X, Xia J, Ping J. Effects of rHu-EPO on myocyte apoptosis and cardiac function following acute myocardial infarction in rats. *J Huazhong Univ Sci Technology Med Sci*, 2005. 25(1): 55-58.
158. Di Napoli P, Maggi A, Spina R, Barsotti L ve ark. Simvastatin and ischemia-reperfusion damage: its effects on apoptotic myocyte death and on the endothelial expression of nitric-oxide synthetase in an experimental model of the isolated rat heart. *Cardiologia*, 1999. 44(1): 69- 74.
159. Backlund T, Palojoki E, Saraste A, Eriksson A ve ark. Sustained cardiomyocyte apoptosis and left ventricular remodeling after myocardial infarction in experimental diabetes. *Diabetologia*, 2004. 47: 325- 330.
160. Sam F, Sawyer DB, Chang DLF, Eberli FR ve ark. Progressive left ventricular remodeling and apoptosis late after myocardial infarction in mouse heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000. 279: 422- 428.

161. Qi B, Cao L, Wang L, Zhou J. Study on apoptosis and expression of P53, bcl-2, Bax in cardiac myocytes of congestive heart failure induced by ventricular pacing. *J Tongji Med Univ*, 2001. 21(3): 202- 205.
162. Okruhlicova L, Dlugosova K, Mitasikova M, Bernatova I. Ultrastructural Characteristics of Aortic Endothelial Cells in Borderline Hypertensive Rats Exposed to Chronic Social Stress. *Physiol Res*, 2008. 57(2): 31- 37.
163. Romo MA, Picazo ML, Miguel MP, Royuela M, Bardasano JL. Histopathological Changes in Mouse Adrenal Gland Under Second-Generation Chronic Exposure to 50-Hz Magnetic Fields. II. Females. *Electro-And Magnetobiology*. 1997. 16(2): 177- 193.
164. Liu X, Shen J, Jin Y, Duan M, Xu J. Recombinant human erythropoietin (rhEPO) preconditioning on nuclear Factor- κ B (NF- κ B) activation & proinflammatory cytokines induced by myocardial ischaemia-reperfusion. *Indian J Med Res*. 2006. 124: 343- 354.
165. Öztay F, Ergin B, Üstünova S, Balcı H ve ark. Effects of Coenzyme Q10 on the Heart Ultrastructure and Nitric Oxide Synthase during Hyperthyroidism. *Chinese Journal of Physiology*. 2007. 50(5): 217- 224.
166. Cheng M, Gao H, Xu L, Li B ve ark. Cardioprotective Effects of Grape Seed Proanthocyanidins Extracts in Streptozocin Induced Diabetic Rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2007. 50(5): 503- 509.
167. Zhang CH, Lu J, Yu XJ, Sun L ve ark. Ameliorative Effect of Captopril and Valsartan on an Animal Model of Diabetic Cardiomyopathy. *Biol.Pharm.Bull*. 2008. 31(11): 2045-2049.
168. Yaraş N, Sariahmetoğlu M, Bilginoğlu A, Aydemir-Köksoy A ve ark. Protective action of doxycycline against diabetic cardiomyopathy in rats. *British Journal of Pharmacology*. 2008. 155: 1174- 1184.
169. Bartel LC, Montalto de Mecca M, Fanelli SL, Rodriguez de Castro C ve ark. Early Nifurtimox- Induced Biochemical and Ultrastructural Alterations in rat Heart. *Human & Experimental Toxicology*. 2007. 26: 781- 788.
170. Zhang X, Feng G, Zhang J, Cai Y ve ark. Protective effects of *Salvia Miltiorrhizae* on the Hearts of Rats with Severe Acute Pancreatitis or Obstructive Jaundice. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2009. 10(3): 193- 202.

171. Rajkovic V, Matavulj M, Johansson O. Light and electron microscopic study of the thyroig gland in rats exposed to power-frequency electromagnetic field. *The journal of experimental biology*, 2006. 209: 3322- 3328.
172. Khaki AA, Tubbs RS, Shoja MM, Rad JS ve ark. The effects of an elecromagnetic field on the boundary tissue of the seminiferous tubules of the rat: a light and transmission electron microscope study. *Folia Morphol (Warsz)* 2006. 65(3): 188- 194.