

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**DÜŞÜK FREKANSLI SİNÜZOİDAL MANYETİK
ALANIN SIÇAN KAS ELEKTRİKSEL VE
MEKANİK AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Sevgi GÜNEŞ
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI

Tez No: 33

MERSİN 2013

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**DÜŞÜK FREKANSLI SİNÜZOİDAL MANYETİK
ALANIN SIÇAN KAS ELEKTRİKSEL VE
MEKANİK AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Sevgi GÜNEŞ
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından ~~BAP-SBE BF~~ (SG) 2010-2 02 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 33

MERSİN 2013

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyofizik Anabilim Dalı Doktora Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Düşük Frekanslı Sinüzoidal Manyetik Alanın Sıçan Kas Elektriksel ve Mekanik Aktiviteleri Üzerine Etkileri” başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 04/03/2013

Prof. Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyofizik Anabilim Dalı

Jüri Başkanı



Prof. Dr. Nurten ERDAL

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyofizik Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAŞAR

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Farmakoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



Doç. Dr. Ebru BALLI

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



Prof. Dr. Rüştü ONUR

Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



Bu Tez Enstitü Yönetim Kurulunun 06/03/2013 tarih ve 2013/59.. sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ülke MELEKÖĞLU



TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca, her aşamada değerli katkılar sunan, bu çalışmayı yönlendiren değerli hocam ve Anabilim Dalı Başkanım Prof. Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI'ya en içten saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca doktora eğitimim boyunca değerli bilgilerinden yararlandığım hocalarım Prof. Dr. Nurten ERDAL'a, Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU'na, teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince değerli katkıları olan Prof. Dr. Rüştü ONUR, Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAFŞAR, Prof. Dr. M. Y. Burak ÇİMEN, Prof. Dr. E. Arzu KANIK ve Doç. Dr. Ebru BALLI'ya teşekkür ederim. Zorda kaldığım noktalarda yorumlarıyla katkıda bulunan arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Oya ÖGENLER'e teşekkür ederim. Tez çalışmamda katkılarından dolayı çalışma arkadaşım Arş. Gör. Selma KORKUTAN'a teşekkür ederim. Çalışmamda bana destek olan bölüm arkadaşlarım Arş. Gör. Fatma SÖĞÜT ve Arş. Gör. Çağatay Han TÜRKSEVEN'e, Biyokimya Anabilim Dalı Arş. Gör. Dr. Mahmut AYDIN'a, Biyoistatistik Anabilim Dalı Arş. Gör. Didem Ovla'ya ve ismini saymadığım diğer arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Doktora eğitimimin her aşamasında çalışmalarına doğrudan ya da dolaylı olarak katkıda bulunanlara hissettiğim en içten minnet duygusunu ifade etmek istiyorum.

Tez dönemim boyunca anlayış ve sabrından dolayı sevgili eşim Selami ve küçük parmaklarıyla çalışmalarımın içinde gezinen kızlarım Selin ve Feyza Nil'e, yardımlarını ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen ve öğrenim hayatımı borçlu olduğum sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

Her konuda bana yardımcı olan, her zorlandığımda sen bu işi başarırısın diyerek bana her zaman güvenen babam Müslüm GÜNEŞ'e ve çok özlediğim annem Şemse GÜNEŞ'e ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ÖZET	xvii
ABSTRACT	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	10
2.1. Elektromanyetik Alan	10
2.1.1. Elektromanyetik Alan Tarihçesi	14
2.1.2. Elektromanyetik Alan Birimleri	15
2.1.3. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri	16
2.1.3.1. ELF-Manyetik Alanın Biyolojik Etkileri	17
2.1.3.2. Elektromanyetik Alan ve Biyolojik Sistem Etkileşim Mekanizması	18
2.1.3.3. Elektromanyetik Alanların Etki Mekanizmaları	19
2.2. İskelet Kaslarının Özellikleri	22
2.2.1. Miyozin Filamentleri	24
2.2.2. Aktin Filamentleri	25
2.2.3. İskelet Kaslarında Uyarılma-Kasılma Çiftlenimi	26
2.2.4. İskelet Kasının Kasılma ve Gevşemesindeki Aşamalar	29
2.3. Kas Uzunluğu ve Gerim	30

2.4. Kasılma Kuvvetinin Tedrici Artışı.....	32
2.4.1. Frekans (veya Dalga) Sumasyonu-Aynı Uyarı Şiddeti, Dereceli Kas Yanıtı	33
2.5. Diyafram Kası ve Frenik Sinir Anatomisi	33
2.5.1. Diyafram Kaslarının Lif Tipi Yapısı.....	34
2.6. İntrasellüler (Hücre İçi) Dinlenme Membran Potansiyeli	35
2.7. İntrasellüler (Hücre İçi) Aksiyon Potansiyeli	35
3. GEREÇ ve YÖNTEM	37
3.1. Deney Hayvanlarının Sağlanması	37
3.2. Çalışma grupları ve ELF-Manyetik Alan Uygulanması	37
3.3. Homojen ELF-Manyetik Alan Oluşturan Helmholtz Bobin Sistemlerinin Özellikleri	38
3.4. Hücre İçi Kayıt Sistemi ve Özellikleri	41
3.5. Kas Diyafram Örneklerinin Alınması	43
3.6. Dinlenme Membran Potansiyeli ve Hücre İçi Aksiyon Potansiyeli Kayıt Tekniği	45
3.7. Diyafram Kası Mekanik Yanıtlarının Kayıt Tekniği	48
3.7.1. Optimum Kas Boyunun (L_0) Belirlenmesi.....	51
3.7.2. Ölçülen İzometrik Sarsı Eğrisi Parametreleri ve Uyarı Protokolü.....	53
3.8. Biyokimyasal Analizler.....	59
3.8.1. Örnek Hazırlanması	60
3.8.1.1. Sodyum- Potasyum Adenozin Trifosfataz ($Na^+ - K^+$ ATPaz) Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi	60
3.8.1.2. İnorganik Fosfat Ölçümü	61
3.8.1.3. Total Antioksidan Kapasite (TAK) Düzeyi Ölçümü.....	62
3.8.1.4. Total Oksidan Kapasite (TOK) Düzeyi Ölçümü.....	63
3.9. Sıçan Kütleleri	63
3.10. Elektron Mikroskopik İnceleme.....	63
3.11. İstatistiksel Analiz	64
4. BULGULAR.....	66
4.1. Diyafram Kası Elektriksel ve Mekanik Aktivite Bulguları	66
4.1.1. Diyafram Kası Elektriksel Bulguları.....	66

4.1.1.1. Mikroelektrot Empedansı.....	66
4.1.1.2. Dinlenme Membran Potansiyeli	68
4.1.1.3. Hücre İçi Aksiyon Potansiyeli	69
4.1.1.4. Uyarı Akım Şiddeti	71
4.1.1.5. Aksiyon Potansiyeli Tepe (Peak) Latansı	72
4.1.1.6. Depolarizasyon Süresi	73
4.1.1.7. Genlik (Amplitude)	74
4.1.1.8. Süre (Duration).....	75
4.1.1.9. Alan (Area).....	76
4.1.1.10. %50 Repolarizasyon Süresi.....	77
4.1.1.11. Overshoot	78
4.1.2. Diyafram Kası Mekanik Bulguları	79
4.1.2.1. Bir Kas Şeridini Optimum Boyuna (L_0) Getiren Ön Gerim Değerleri.....	79
4.1.2.2. Kas Mekanik Aktivite Parametreleri	80
4.1.2.2.1. Tek Bir Uyarıya Yanıt Olarak Kaydedilen Sarsı Eğrisinin Kasılma Süresi (CT)	81
4.1.2.2.2. Tek Bir Uyarıya Yanıt Olarak Kaydedilen Sarsı Eğrisinin Yarı Gevşeme Süresi (%50 RT)	82
4.1.2.2.3. Tek Bir Uyarıya Yanıt Olarak Kaydedilen Sarsı Eğrisinin Toplam Süresi (TCT)	82
4.1.2.2.4. Tek Bir Uyarıya Yanıt Olarak Kaydedilen Sarsı Eğrisinin Tepe (Peak) Sarsı Kuvveti (P_{Tw})	82
4.1.2.2.5. Maksimum Tetanik Kuvvet (P_0)	83
4.1.2.2.6. Belirli Frekans Aralığında (T_w , 5-150 Hz) Uyarılara Karşı Oluşan Maksimum Kasılma Kuvvetleri	83
4.1.2.2.7. P_i/P_0 Oranları ($i=T_w$, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ve 150 Hz)	85
4.1.2.2.8. Belirli Frekans Aralığındaki (5-150 Hz) Uyarılara Karşı Oluşan Maksimum Kasılma Genliğine Ulaşma Süreleri.....	86
4.2. Sıçan Kütleleri.....	88
4.3. Biyokimyasal Bulgular.....	90
4.3.1. Serum Na^+ , K^+ , Cl^- ve Ca^{+2} Düzeyleri Bulguları	90

4.3.2. Total Oksidan Kapasite (TOK) ve Total Antioksidan (TAK) Bulguları .	93
4.3.3. Sodyum-Potasyum Adenozin Trifosfaz (Na-K ATPaz) Enzim Spesifik Aktivite Bulguları	96
4.4. Elektron Mikroskopik Bulgular	97
5. TARTIŞMA.....	102
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	109
7. KAYNAKLAR	111
ÖZGEÇMİŞ	122

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Elektrik alan ve akım uygulandığında oluşan elektrik alan ve buna eşlik eden manyetik alan .10	10
Şekil 2.2. Birbirine dik konumlu elektrik (EA) ve MA. Alanların yayılma doğrultularının titreşim doğrultularına dik olduğu görülmektedir.11	11
Şekil 2.3. Frekans ve dalga boylarına göre EM dalgaları sınıflandırılan EM spektrum12	12
Şekil 2.4. Kasta serbest radikal kaynakları Kısaltmalar: ONOO (peroksinitrit), H ₂ O ₂ (hidrojen peroksit), H ₂ O (su), O ₂ ⁻ (superoxide anion), OH [•] (hidroksil radikali), NO (nitrik oksit), MnSOD (manganez superoksit dismutaz), CuZnSOD (bakır-çinko superoksit dismutaz), GPX (glutatyon peroksidaz), Ca ⁺² (kalsiyum)21	21
Şekil 2.5. Sarkolemma adı verilen bir zarla çevrili olan kas lifleri23	23
Şekil 2.6. Aktin ve miyozin24	24
Şekil 2.7. A) Miyozin molekülünün, hafif ve ağır meromyozinden oluşan yapısı, kuyruk ve baş bölgelerinin gösterimi. B) Kalın miyozin filamentinde miyozin molekülleri baş kesimlerinin spiral düzenlenimi25	25
Şekil 2.8. Miyozin-Aktin filamentleri etkileşimi. a: Miyozin bağlanma bölgeleri kapalı, b: Miyozin bağlanma bölgelerinin açık olduğu görülmektedir.26	26
Şekil 2.9. Kas lifi yüzey zarında yayılan depolarizasyon, zarın lif içine uzantıları olan enine borucuklar (T-sistemi)27	27
Şekil 2.10. Bir kas lifinde Dihidropiridin (DHPR) ve Ryanodin (RyR) reseptörlerinin gösterilmesi ve Ca ⁺² iyonlarının ortama salınması28	28
Şekil 2.11. Kasılma ve gevşeme durumunda aktin ve miyozin etkileşimi30	30
Şekil 2.12. Kasılma ve gevşeme durumunda gerim dinlenme uzunluğu ilişkisi31	31
Şekil 2.13. Kasılma ve gevşeme durumunda gerim-kas uzunluğu arasındaki ilişki32	32
Şekil 2.14. Kas kasılmaları. A: tek tek kasılmalar, B: dalga sumasyonu, C: tetanik kasılma33	33
Şekil 3.1. Helmholtz bobin sistemi ve sistemde oluşan manyetik alan çizgileri. N: sarım sayısı, I: bobinlerden geçen akım, R: yarıçap38	38
Şekil 3.2. Faraday kafesi içerisindeki Helmholtz bobin sistemleri ve sistemlerin merkezindeki plastik sıçan kafesleri. A:Sistem I, B: Sistem II ve C: Sistemde kullanılan bobinlerin yandan görünümü.39	39
Şekil 3.3. Helmholtz bobin sistemi içinde sıçanların yerleştirildiği kafesdeki manyetik alan şiddetinin ölçüldüğü noktalar.41	41
Şekil 3.4. Dinlenme membran potansiyeli ve hücre içi aksiyon potansiyeli kayıt sisteminin şematik gösterimi.42	42
Şekil 3.5. Dinlenme membran potansiyeli ve hücre içi aksiyon potansiyeli kayıt sistemi.43	43
Şekil 3.6. İzole edilip Krebs solüsyonu içerisine alınmış sıçan diyaframı44	44
Şekil 3.7. Kosta ve tendon kısımlarından doku odacığı tabanındaki parafin üzerine sabitlenmiş Krebs solüsyonu içerisindeki sıçan diyafram kas şeridi (yaklaşık 4-5 mm genişliğinde ve 17-20 mm uzunluğunda).45	45
Şekil 3.8. Kosta ve tendon kısımlarından parafin üzerine sabitlenmiş sıçan diyafram kas şeridinin mikroskoptaki görüntüsü (yaklaşık 4-5 mm genişliğinde ve 17-20 mm uzunluğunda).46	46

Şekil 3.9. Kosta ve tendon kısımlarından parafin üzerine sabitlenmiş sıçan diyafram kas hücresinden kaydedilen örnek bir dinlenme membran potansiyeli kaydı.....	47
Şekil 3.10. Sıçan diyafram kasından elde edilen hücre içi aksiyon potansiyeli için örnek kayıt.	48
Şekil 3.11. Kas mekanik yanıtlarının kaydedilmesinde kullanılan izole organ banyosu sisteminin şematik gösterimi.	49
Şekil 3.12. Sıçan diyafram kas şeridinin asıldığı izole organ banyosu sistemi.....	50
Şekil 3.13. Optimum boyu (L_0) belirlenmiş sıçan diyafram kas şeridi	52
Şekil 3.14. Optimum uzunluğa getirilmiş sıçan diyafram kası izometrik sarsı eğrisi için örnek bir kayıt .53	
Şekil 3.15. Tek bir uyarıya yanıt olarak kaydedilmiş diyafram kası sarsı eğrisinden ölçülen parametreler (Ps: kasılma kuvveti, CT: kasılma süresi, %50 RT: yarı-gevşeme süresi ve TCT: toplam sarsı süresi)...	54
Şekil 3.16. Sıçan diyafram kasının A: 5 Hz ve B: 10 Hz frekanslı uyarılara karşı oluşturduğu sarsı eğrileri için örnek kayıtlar.....	55
Şekil 3.17. Sıçan diyafram kasının C: 20 Hz ve D: 40 Hz frekanslı uyarılara karşı oluşturduğu sarsı eğrileri için örnek kayıtlar.....	56
Şekil 3.18. Sıçan diyafram kasının E: 60 Hz ve F: 80 Hz frekanslı uyarılara karşı oluşturduğu kuvvet yanıtları için örnek kayıtlar.....	57
Şekil 3.19. Sıçan diyafram kasının G: 100 Hz ve H: 150 Hz frekanslı uyarılara karşı oluşturduğu kuvvet yanıtları için örnek kayıtlar.....	58
Şekil 3.20. İnorganik fosfattan hazırlanan standart konsantrasyonlara karşı 820 nm'deki absorban değerleri.....	62
Şekil 4.1. Bütün gruplarda dinlenme membran potansiyeli ve hücre içi aksiyon potansiyeli kayıtları sırasında kullanılan mikroelektrot empedanslarına ait ortalama ve %95 güven aralığı.	67
Şekil 4.2. Bütün gruplarda sıçan diyafram kas hücresinden kaydedilen dinlenme membran potansiyellerine ait ortalama ve %95 güven aralığı.	69
Şekil 4.3. Bütün gruplarda sıçan diyafram kas hücrelerinden aksiyon potansiyeli kaydı öncesinde elde edilen dinlenme membran potansiyellerine ait ortalama ve %95 güven aralığı.	71
Şekil 4.4. Bütün gruplar için hücre içi aksiyon potansiyeli oluşturan uyarı akım şiddeti değerlerinin ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p<0,001$).	72
Şekil 4.5. Hücre içi aksiyon potansiyeli tepe latansı için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$), b: KE ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$), c: ELF-MAD ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$).	73
Şekil 4.6. Hücre içi aksiyon potansiyeli depolarizasyon süresine ait ortalama ve %95 güven aralığı. b: KE ile karşılaştırıldığında ($p<0,001$), c: ELF-MAD ile karşılaştırıldığında ($p <0,01$).....	74
Şekil 4.7. Hücre içi aksiyon potansiyeli genlik değerine ait ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$).....	75
Şekil 4.8. Hücre içi aksiyon potansiyeli süresi için ortalama ve %95 güven aralığı.....	76
Şekil 4.9. Hücre içi aksiyon potansiyeli alan parametresi için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$)	77
Şekil 4.10. Hücre içi aksiyon potansiyelinin %50 repolarizasyon süresi için ortalama ve %95 güven aralığı.....	78
Şekil 4.11. Hücre içi aksiyon potansiyeli overshoot için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$).....	79
Şekil 4.12. Tek uyarı (T_w) ve farklı frekanslı uyarılar için kaydedilen kas sarsı kuvvetlerinin ortalama ve %95 güven aralığı	85

Şekil 4.13. Kas sarsılarının maksimum kasılma genliğine ulaşma sürelerinin ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında (* p<0,05), b: KE ile karşılaştırıldığında († p<0,001).	88
Şekil 4.14. Sıçan kütlelerinin aylık ölçümlerinin ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında (p < 0,05).....	90
Şekil 4.15. Bütün gruplarda serum K ⁺ değişimi için ortalama ve %95güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında (‡ p<0,01, † p<0,001).....	92
Şekil 4.16. Bütün gruplarda serum Ca ⁺² değişim için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında (p<0,01), b: KE ile karşılaştırıldığında (p<0,01), c: ELF-MAD ile karşılaştırıldığında (p<0,001).	93
Şekil 4.17. Bütün gruplarda doku TAK değerleri için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında (p <0,05), b: KE ile karşılaştırıldığında (p <0,05).....	95
Şekil 4.18. Bütün gruplarda serum TAK değerleri için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında (p<0,01).....	96
Şekil 4.19. Diyafram kas dokusu örneklerinde Na ⁺ -K ⁺ ATPaz spesifik aktivitesi için ortalama ve %95 güven aralığı.	97
Şekil 4.20. KD grubu. Kas hücrelerinin normal morfolojik özelliklere sahip olduğu, miyofibrillerin (mf) düzenli bir dizilim gösterdiği gözlenmektedir. Mitokondriyonlar (ok). x12000.....	98
Şekil 4.21. ELF-MAD grubu. Kas hücrelerinin normal morfolojik özelliklere sahip olduğu, miyofibrillerin (mf) düzenli bir dizilim gösterdiği gözlenmektedir. Mitokondriyonlar (ok), sarkoplazmik retikulum sisternaları (ok başı). x12000.	99
Şekil 4.22. KE grubu. Normal morfolojik özelliklere sahip kas hücresi izlenmektedir. Mitokondriyonlar (ok), miyofibriller (mf). x12000.....	100
Şekil 4.23. ELF-MAE grubu. Kas hücrelerinin normal morfolojik özelliklere sahip olduğu, miyofibrillerin (mf) düzenli bir dizilim gösterdiği gözlenmektedir. Mitokondriyonlar (ok), sarkoplazmik retikulum sisternaları (ok başı). x12000.....	101

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Elektromanyetik (EM) alan oluşturan bazı yapay ve doğal kaynaklar ve frekans aralıkları	14
Çizelge 2.2. Manyetik alan birimleri ve dönüşümleri.....	15
Çizelge 2.3. Diyafram kas lif tipi dağılımı ve özellikleri.....	35
Çizelge 2.4. Memeli kas hücrelerinin kararlı durumlarında yaklaşık iyon konsantrasyonları ve iyon denge potansiyelleri.....	36
Çizelge 3.1. Gruplara uygulanan ELF-MA şiddeti, uygulama süresi ve her bir gruptaki sıçan sayısı	38
Çizelge 3.2. Helmholtz bobin sistemlerinin (Sistem I ve II) tasarım özellikleri.....	40
Çizelge 3.3. Dokular sükröz çözeltisiyle homojenize edilmiş ve tablodaki pipetleme yapılmıştır.	61
Çizelge 3.4. Farklı derişimlerdeki fosfat çözeltilerinin 820 nm’de ölçülen absorbans değerleri.	62
Çizelge 4.1. Kontrol ve deney gruplarında kas şeritlerinden elde edilen dinlenme membran potansiyeli ve bu potansiyelleri kayıtlarken kullanılan mikroelektrot empedanslarının ortalama (Ort) ve standart sapma (Std. Sapma) değerleri.	67
Çizelge 4.2. Dinlenme membran potansiyeli, uyarı akım şiddeti ve aksiyon potansiyeli parametrelerinin Ortalama \pm Standart Sapma değerleri.	70
Çizelge 4.3. Bir mikrometre aracılığıyla bir kas şeridine uygulanan ve kası maksimum kuvvet oluşturacağı optimum boyuna getirecek ön gerim değerleri ve oluşan kuvvet cevapları için örnek veriler.	80
Çizelge 4.4. Kas mekanik aktivite parametrelerinin ortalama \pm standart sapma değerleri	81
Çizelge 4.5. Kas mekanik aktivitesinde tek uyarı (Tw) ve farklı frekanslarda uyaranlar için elde edilen sarsı kuvvetlerinin ortalama \pm standart sapma değerleri.....	84
Çizelge 4.6. Kas mekanik aktivite parametrelerinden P_i/P_0 oranları için ortalama \pm standart sapma değerleri. ($i=Tw$, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ve 150 Hz; Tw: Tek uyarı ile oluşan sarsı). $P_0=150$ Hz frekansındaki uyarıya karşı oluşan kuvvet.	86
Çizelge 4.7. Kas mekanik aktivitesinde farklı frekanslarda uyaranlar sonucu maksimum sarsı kuvvetlerine ulaşma sürelerinin ortalama \pm standart sapma değerleri.	87
Çizelge 4.8. Tüm gruplardaki sıçanların ölçüm dönemlerindeki kütlelerinin ortalama ve standart sapma değerleri.	89
Çizelge 4.9. Serumda ölçülen Na^+ , K^+ , Cl^- ve Ca^{+2} için gruplara ait ortalama ve standart sapma değerleri.	91
Çizelge 4.10. Grupların doku_TAK, serum_TAK ve doku_TOK ve serum_TOK parametreleri için ortalama ve standart sapma değerleri.	94

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

EM	Elektromanyetik
ELF	Oldukça Düşük Frekanslı
MA	Manyetik Alan
EA	Elektrik Alan
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NMRI	Nükleer Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRT	Manyetik Rezonans Tomografi
RF	Radyo Frekans
HF	Yüksek Frekans
VHF	Çok Yüksek Frekans
IF	Ara Frekans
T	Tesla
G	Gauss
NRRI	Ulusal Araştırma Enstitüsü (National Regulatory Research Institute)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ICNIRP	Uluslararası İyonlaştırıcı-Olmayan Işınmadan Korunma Komisyonu
MKS	Metre-Kilogram-Saniye

CGS	Santimetre-Gram-Saniye
MDA	Malondialdehit
GSH	Glutasyon
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentezi
PLC-γ1	Fosfolipaz C- γ 1
PIP₂	Fosfatidil İnositol Difosfat
IP₃	İnositol Trifosfat
DAG	Diaçilgliserol
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer)
EDL	Extensor Digitorum Longus
mT	Mili Tesla
λ	Dalga Boyu
h	Planck Sabiti
f	Frekans
Hz	Hertz
c	Işık hızı
ROS	Reaktif Oksijen Radikalleri
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
ONOO⁻	Peroksinitrit
SOD	Süperoksit Dismutaz

GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
CAT	Katalaz
NO	Nitrik Oksit
O₂^{•-}	Süperoksit Anyonu
OH[•]	Hidroksil Radikali
H₂O	Su
MnSOD	Manganez Süperoksit Dismutaz
CuZnSOD	Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz
GPX	Glutasyon Peroksidaz
LMM	Hafif Meromiyozin
HMM	Ağır Meromiyozin
Tn	Troponin
AP	Aksiyon Potansiyeli
SR	Sarkoplazmik Retikulum
DHPR	Dihidropiridin Reseptörü
RyR	Ryanodin Reseptörü
B	Manyetik Alan Akı Yoğunluğu
A/m	Amper / metre
Ca⁺²	Kalsiyum
K⁺	Potasyum
Na⁺	Sodyum
Cl⁻	Klor

ms	Mili Saniye
V/m	Volt/metre
mV	Mili Volt
½ RT	Yarı-Repolarizasyon Süresi
KD	Kontrol Dişi Grubu
ELF-MAD	Manyetik Alan Dişi Grubu
KE	Kontrol Erkek Grubu
ELF-MAE	Manyetik Alan Erkek Grubu
Ps	Sarsının Maksimum Kasılma Kuvveti
CT	Sarsının Kasılma Süresi
% 50 RT	Yarı Gevşeme Süresi
TCT	Toplam Sarsı Süresi
Pt	Peak (Tepe) Sarsı Kuvveti
P₀	Maksimum Tetanik Kuvvet
VARIAC	Varyak (Variable Transformer)
CSA	Kas Kesit Alanı
İSE	İyon Seçici Elektrot
TAK	Total Antioksidan Kapasite
TOK	Total Oksidan Kapasite
ATP	Adenozin Trifosfat
ABTS	2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)
EAS	Elektriksel Alan Stimülasyonu

ÖZET

Düşük Frekanslı Sinüzoidal Manyetik Alanın Sıçan Kas Elektriksel ve Mekanik Aktiviteleri Üzerine Etkileri

Günlük yaşamda kullanılan aletlerin manyetik alanları 0,1 μ T-2,5 mT arasında değişmekte olup, insan vücudunun ve doğal çevrenin manyetik alanından fazla olan bu değer, uyumu bozabilmektedir. Bu çalışmada günlük yaşamda maruz kalınan şiddette manyetik alana kronik maruziyet sonucu kas elektriksel ve mekanik parametrelerinin hücresel düzeyde etkilenip etkilenmediği araştırılmıştır.

Çalışmamızda, süttten yeni kesilmiş sıçan yavruları manyetik alan (8 dişi ve 7 erkek) ve kontrol grubu (7 dişi ve 7 erkek) olacak şekilde ayrılmıştır. Manyetik alan grubu 7 ay boyunca, 4 saat/gün olacak şekilde, 50 Hz frekanslı 1,5 mT şiddetinde manyetik alana maruz bırakıldı. Kontrol grubundaki sıçanlar Helmholtz bobin sistemi içerisinde sistem çalıştırılmadan aynı koşullarda ve sürelerde bekletildi. Çalışmada kas elektriksel ve mekanik aktivite kayıtlarının yanı sıra, serum ve dokudaki parametrelerin biyokimyasal analizi yapıldı ve diyafram kası elektron mikroskopik olarak incelendi.

Elektrofizyolojik değerlendirme sonucunda manyetik alan erkek grubunda tepe latans ve depolarizasyon süresinin, kontrol erkek grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak uzun olduğu gözlenmiştir. Manyetik alan dişi grubunda uyarı akım şiddetinin kontrol dişi grubundan düşük ($p<0,05$), alan parametresinin anlamlı olarak büyük ($p<0,05$) olduğu saptanmıştır.

Manyetik alanın kas mekanik aktivitesinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığı ($p>0,05$) saptanmıştır.

Dokuda total antioksidan kapasite için erkek kontrol ve manyetik alan grupları arasında, serum total antioksidan kapasite için de dişi kontrol ve manyetik alan grupları arasında farklılık ($p<0,05$) saptanmıştır. Serum K^+ ve Ca^{2+} manyetik alan dişi grubunda anlamlı olarak büyük ($p<0,05$), ancak Ca^{2+} miktarının manyetik alan erkek grubunda düşük ($p<0,05$) olduğu bulunmuştur.

Elektron mikroskopik sonuçlar, diyafram kas hücrelerinin manyetik alandan etkilenmediğini ve normal fizyolojik yapıda olduklarını göstermiştir.

Sonuç olarak, manyetik alana kronik maruziyet kasın mekanik aktivitesinde ve histolojik yapısında bir etki oluşturmazken, biyoelektriksel aktivitesinde bir değişim oluşturduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Manyetik alan, hücre içi dinlenme membran potansiyeli, hücre içi aksiyon potansiyeli, kas, elektrofizyoloji.

ABSTRACT

The Effects of Sinusoidal Low Frequency Magnetic Field on Muscle Electrical and Mechanical Activities in Rats

Magnetic fields of devices that used for everyday life vary between 0,1 μ T to 2,5 mT and this value, which is more than magnetic field of human body and natural environment, can impair the harmony. In this study, it was investigated that if exposure to magnetic fields in everyday life level at the cellular level was affected muscle electrical and mechanical parameters or not.

In our study, weaned rat pups were divided randomly in magnetic field group (8 females and 7 males) and control group (7 females and 7 males). The rats in the magnetic field group were exposed to magnetic field with 50 Hz frequency and 1.5 mT intensity 5 days in each week during the 7 months. Rats in the control group that also underwent same period and same conditions but no received magnetic field in Helmholtz coils. In the study, in addition to serum and tissue biochemical parameters, records of electrical and mechanical activity of the diaphragm muscle were also investigated.

As a result of electrophysiological evaluation, it was observed that duration of depolarization and peak latency were significantly longer in magnetic field male group compared to control male group ($p < 0,05$). The current of stimulation has decreased significantly in magnetic field female group, area has increased significantly, compare the female control group.

No significant difference in the muscle mechanical activity has been determined at magnetic field exposure ($p > 0,05$).

Tissue total antioxidant capacities were statistically significantly different between male magnetic field group and male control, and serum total antioxidant capacities were statistically significantly different between female magnetic field group and the control ($p < 0,05$). Serum K^+ and Ca^{2+} levels were found significantly higher in the female magnetic field group, but amount of Ca^{2+} was found significantly lower in male magnetic field group ($p < 0,05$).

Electron microscopy results showed that diaphragm muscle cells weren't affected by magnetic field and were in normal physiological structure.

It can be concluded that although chronic exposure to magnetic field has no effect on muscle mechanic activity and histological structure, bioelectrical activities has been changed ($p < 0,05$).

Keywords: Magnetic field, intracellular resting membrane potential, intracellular action potential, muscle, electrophysiology.

1. GİRİŞ

Canlı organizmalar, proteinlerin yapısından hücreler arası iletişime ve sinir sistemi fonksiyonlarına kadar düşük frekanslı elektromanyetik (EM) alanları kullanan elektrokimyasal sistemlerdir (1, 2).

Vücudumuzun her bölgesinde EM özellikler saptanmış olup, vücut manyetik alanının (MA) 10^{-6} - 10^{-9} G (Gauss) arasında değiştiği bildirilmiştir (3, 4). Vücudumuz, sıcaklığını 37°C 'de sabit tutmak için, besinleri yakması sonucu oluşan ısıyı sürekli olarak çevreye vermek zorundadır (1, 3). Vücudumuzda ısının yaklaşık %60'ı saniyede 10^{12} defa titreşim yapan EM dalgalarla (infrared radyasyon) uzaklaştırılmaktadır. Vücut MA'ları, yerkürenin jeomanyetik alan büyüklüğü (DC; 10^{-5} G ve AC; 3×10^{-5} - 10×10^{-5} G) ile karşılaştırıldığında çevremizdeki doğal alan olan yerkürenin MA'ı ile uyumlu olduğu görünmektedir. Teknolojinin sunduğu, yaşamımızı kolaylaştıran aletlerin EM alanları ise 1 mG (miliGauss) - 25 G arasında değişmekte olup, insan vücudunun ve doğal çevrenin EM alanından daha fazla olan bu değer uyumu bozabilmektedir (3, 4). Uyumu bozan bu EM enerjiler, yaşam kalitesini yükseltmekte yoğun olarak kullanılmaktadır. Sağlık alanında, güvenlik sistemlerinde ve günlük yaşamımızın her alanında EM sistemlere rastlamak olası hale gelmiştir. Akım taşıyan tüm kablolar, elektrikli aletler, yüksek gerilim hatları, televizyon (TV), bilgisayarlar, radyo, uydu antenleri, FM ve TV vericileri, mikrodalga fırınlar, mobil telefonlar, saç kurutma makinesi, elektrikli ısıtıcılar, röntgende kullanılan X ışınları ve kanser tedavisinde kullanılan gama ışınları çevrelerine EM dalgalar yayarak EM kirlilik oluşturan alanlardır (3, 4).

Ulusal ve uluslararası standartların üzerindeki EM kirlenmeye neden olan alanlar için, insanlar ve cihazlar üzerinde zararlı etkiler gösterdiğinden dolayı, çevreye yayılan güç açısından sınırlamalar getirilmiştir. Elektrikli bütün cihazlar, yaydıkları alanlardan dolayı diğer elektronik cihazlarda etkileşime (interferans) sebep olurlar (5, 6). Etkileşim aşırı olduğu zaman cihazlar bazı fonksiyonlarını yapamazlar, insanlarda ise biyolojik etkilere neden olurlar.

Gerek cihazlar üzerine ve gerekse biyolojik canlılar üzerine EM alanların etki oluşturmaları, EM alanın bazı fiziksel özelliklerine göre belirlenmektedir. Bu özellikler EM alanın;

- ✓ Kaynağa olan mesafesi (yakın veya uzak alan),
- ✓ Kaynak frekansı,
- ✓ Elektrik ve manyetik alan şiddeti,
- ✓ Dalga şekli (sinüzoidal, kare, üçgen gibi temel dalga formlarında olabildiği gibi bu formların karışımından oluşan formlarda da olabilir)
- ✓ Modülasyonu (sürekli dalga veya darbe modülasyonu) ve
- ✓ Maruziyet süresi (en önemli parametrelere biridir) vb.'dir.

Bunun yanı sıra, maruziyet sonucu vücuda EM enerjinin alınması; vücudun elektriksel iletkenliğine, elektriksel geçirgenliğine, vücut ölçülerine ve kütle özelliklerine bağlıdır (7, 8, 9).

Canlı ve cansızlara etki eden elektriksel alanlar;

1. Elektrik alan (EA)
2. Manyetik alan,
3. Elektromanyetik alan,

olarak üç grupta sınıflandırılabilir (10).

Uzayda birim yüke (+1 birimlik) etki eden kuvvete EA denir (11, 12).

Elektrik yüklerinin ivmelendirilmesi sonucu elektromanyetik dalgalar oluşmaktadır (13, 14, 15). Bir yerde elektrik alanının değişmesi MA'ı, MA'nın değişmesi de EA'ı oluşturmaktadır.

Elektromanyetik alanları, doğal ve insan kaynaklı EM alan olarak iki alt grupta incelemek olasıdır. Güneş, dünya, yıldızlar ve yıldırım vb. kaynaklar başlıca doğal EM alan kaynakları arasında sayılırken, teknoloji ile birlikte kullanımı gün geçtikçe artan bütün cihazlardan kaynaklanan EM alanları da insan kaynaklı olarak gruplandırabiliriz.

Yaşam boyunca insanlar aşağıdaki EM alanlara maruz kalmaktadırlar

1. Statik (sabit) manyetik alanlara (DC manyetik alanlar, magnetler, manyetik rezonans görüntüleme (sabit ve güçlü permanent magnet içeren MRI), nükleer manyetik rezonans görüntüleme (NMRI) veya manyetik rezonans tomografi (MRT) gibi tanı cihazları, endüstriyel elektroliz, ısıtma cihazları vb.),

2. Belli bir şiddet ve frekansa sahip olan sürekli manyetik alanlara (50 Hz frekanslı oldukça düşük frekanslı (ELF), radyo frekans (RF), yüksek frekans (HF), çok yüksek frekans (VHF) vb.),
3. Belli bir şiddet ve frekansa sahip olan pulslu MA'lara (pulslu terapi cihazları, RF puls gönderen MRI vb.).

Giderek yaygınlaşan EM alanların canlılar üzerindeki etkileri birçok bilim dalının ilgi alanı haline gelmekte ve bu konuda pek çok araştırma yapılmaktadır. İnsan sağlığı üzerine EM alanların olumsuz etkilerini 1900'lerin en önemli çevre problemlerinden biri olarak kabul etmiş olan ABD Ulusal Araştırma Enstitüsü (NRRI-National Regulatory Research Institute) yasal korunma önlemlerinin olması gerektiğini belirtmiştir (3).

Çevresel statik ve oldukça düşük frekanslı (ELF-Extremely Low Frequency, $f = 0-300$ Hz) elektrik ve MA'ların biyolojik etkileri ve bununla ilişkili çevresel sağlığı tehdit eden faktörler konusunda 1997 yılında uluslararası bir seminer verilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslararası İyonlaştırıcı-Olmayan Işınmadan Korunma Komisyonu (ICNIRP) gibi kuruluşlarca desteklenen seminere katılan uzman çalışma grupları, statik ve ELF elektrik ve MA'ların yol açtığı sağlığı tehdit eden faktörler konusunda yapılan araştırmaları yetersiz bulmuştur. Benzer biçimde, yaşamda ve çalışma ortamında bulunan seviyelerdeki statik EA'lara ya da 2×10^4 G şiddetinin altındaki akı yoğunluklarında statik MA'lara uzun süre maruz kalmanın, sağlığa zararlı etkileri konusunda daha ileri araştırmalar yapılması gerektiği düşünülmüştür (5). Dokunun maruz kaldığı çok zayıf EM sinyalin frekansı, dokunun frekans bandına uyumlu ise, MA yoğunluğu düşük şiddette olsa da dokunun normal fonksiyonlarını etkilemesi söz konusudur. Evde veya işyerlerinde maruz kalınan, elektrik kabloları, yüksek gerilim hatları ve elektrikli ev aletlerinden kaynaklanan elektrik ve MA'lar 50 Hz titreşimlidir. Manyetik alanların yayılmasına insan vücudu, duvar veya herhangi bir yalıtım malzemesi engel teşkil etmez. Bu nedenle canlı dokunun karşılaştığı MA doğrudan dokuya etki eder. Bu alan etkisiyle vücut içinde ve yüzeyinde bir akım oluşur. Oluşan akımın yoğunluğu vücut yüzeyinde en fazla, vücut içinde ise daha azdır.

Günlük yaşamımıza bu kadar çok girmiş olan EM alanların birçok etkisi bilinmekle beraber henüz netlik kazanmamış noktalar da vardır. Elektromanyetik alanların canlılar üzerindeki etkileri konusunda yapılan çalışmalarda statik MA (1

$T=10^4$ G) uygulanmasının uyarılabilme indeksini (aksonda uyarıya karşı oluşan cevap özellikleri) arttırıp, sinir iletim hızını değiştirmediği (16), elektrofizyolojik ölçümler ve miyelinli akson sayımları sonucu sinir rejenerasyonuna bir etkisinin olmadiğı (17) ileri sürölmektedir. Neuroblastoma hücrelerine (SH-SY5Y) hem DC 1, 5 ve 75 G hem de 60 Hz frekanslı 1 ve 5 G şiddetinde MA uygulanması sonucu membran potansiyeli veya transmembran akımların etkilenmediği (18), pulslu EM alan uygulanmasının sinir rejenerasyonunu arttırdiğı (19) saptanmıştır. Sinir hasarı yapılan sıçanlar pulslu MA'a (50 Hz ve 0,5 mT) 3 hafta boyunca maruz bırakılarak, MA'nın nöronal rejenerasyonu etkileyip etkilemediği araştırılmıştır (20). Yapılan fonksiyon testleri ve statik siyatik indeks formüllerinden elde edilen sonuçlara göre, nöron hücre gövdeleri üzerine sistemik bir etki yapmış olabileceği ve periferde çok etkili reinnervasyona neden olduğu sonucuna varılmıştır (20). Günlük yaşamda maruz kalınan değişik şiddetteki sinüzoidal MA'ların (50 Hz frekanslı 1, 2 ve 3 mT şiddetinde) periferik sinir rejenerasyonu üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmamızda, hasarlanmış sıçan siyatik sinir modeli kullanılmıştır (21). Bu çalışmada elektrofizyolojik yöntem kullanılarak, uygulanan şiddet ve frekanstaki MA'ların periferik sinir iletimi ve uyarılabilirliği üzerine etkisi olmadiğı, dolayısıyla periferik sinir rejenerasyonunu etkilemediği gösterilmıştir (21).

Fasiyal sinir hasarı yapılan sıçanlara 0,4 mT ve 120 Hz frekanslı pulslu EM alan uygulanmasından 2 hafta sonra bileşik aksiyon potansiyeli (AP) genlik, süre ve alanın anlamlı olarak arttığı, latansın ise değişmediği saptanmıştır (22). Maruziyetten 4 hafta sonra benzer olarak genlik ve alanın anlamlı olarak arttığı, diğer parametrelerin ise değişmediği görölmüştür. Bütün parametreler için 6. ve 8. haftalarda hiç bir istatistiksel anlamlı fark oluşmadığı, ayrıca histolojik olarak da fark olmadiğı bulunmuştur (22). Yapılan bir başka çalışmada, sıçan laringeal siniri cerrahi işlemlerle diseke edilmiş ve sıçanlar 12 hafta boyunca 0,4 mT şiddetinde pulslu EM alana maruz bırakılarak nöronal nitrik oksit sentezi (nNOS) ve fosfolipaz C- γ 1 (PLC- γ 1) değişimi araştırılmıştır. Pulslu EM alana maruz kalan aksonların kontrole göre yaklaşık 2 kat hızlı rejenere olduğu ve nNOS ve PLC- γ 1'in rejenere olan sinirlerde oldukça arttığı ifade edilmiştir (23). Sinir rejenerasyonunda nNOS'un yararlı bir etkisi olduğu ve rejenerasyon fazının ilk aşamalarında görev aldığı ileri sürölmektedir (23). Büyüme faktörlerinin aracılık ettiği sinyal iletim yolağında PLC- γ 1 çok önemli bir rol oynamaktadır (24). Büyüme faktörü, hücredeki PLC- γ 'ı aktive eder ve PLC- γ fosforillenir. Bu aşamadan sonra fosfatidil

inositol difosfat (PIP₂) fosforillenmiş PLC- γ 'daki fosforu alarak inositol trifosfat (IP₃) ve diaçilgliserol (DAG) oluşumuna neden olur. Oluşan IP₃ hem hücre membranından, hem de endoplazmik retikulumdan hücre içine Ca⁺² akışına sebep olmaktadır. DAG ise protein kinaz C'yi aktive etmekte ve protein kinaz C ile endoplazmik retikulumdan salınan Ca⁺², hücre morfolojisi ve metabolizmasının değişimi, proliferasyon ve sekresyon gibi olaylara neden olmaktadır (25). Başka bir çalışmada 90 Hz frekanslı ve 5 mT şiddetindeki EM alanın kan Ca⁺⁺, P⁺⁺⁺, Na⁺, K⁺, Cl⁻ düzeyleri üzerine etkileri araştırılmış, bütün gruplardaki farelerden 15., 30. ve 45. günlerde kan alınmıştır. Çalışma sonuçlarına göre Ca⁺⁺ düzeyinde sadece 30. günde anlamlı bir düşüş bulunmuştur. P⁺⁺⁺ düzeyinde hem 15. hem de 45. günde kontrole göre önemli bir artış tespit edilmiştir. Bütün dönemlerde plazma Na⁺ düzeyinde önemli bir artış, K⁺ ve Cl⁻ düzeyinde anlamlı bir düşüş olduğu görülmüştür (26). ELF-MA'nın biyoetkileri yönünden biyolojik iyonlar arasında en önemlisi Ca⁺² dir. Hücresel düzeyde yapılan bir çalışmada, düşük frekanslı MA kullanılarak sıçan feokromositoma PC-12D hücrelerinde patch clamp yöntemi ile hücre membranında Ca⁺⁺ iyon akışındaki değişim incelenmiştir. Obo ve ark.'ı (27) tarafından, MA'ın membran boyunca Ca⁺⁺ iyon akışında hiç bir değişiklik oluşturmadığı gösterilmiştir. İki grup inek, 30 gün boyunca 60 Hz, 10 kV/m elektrik ve 30 μ T MA'a maruz bırakılarak kan plazma örneklerinde ve serebral spinal sıvıda bulunan elementlerdeki değişim incelenmiştir (28). Maruziyet sonucu kan plazması Mg konsantrasyonunda düşme gözlenirken, serebral spinal sıvıda ise Fe ve Mn konsantrasyonunda düşüş, Ca ve P konsantrasyonunda ise artış gözlenmiştir (28).

Yukarıda değinildiği gibi, EM alana maruziyet sonucu kan plazmasında ve hücre düzeyinde bazı iyonların miktarlarında değişimlerin olduğu bildirilmiştir (25, 26, 28). Ancak, EM alan maruziyeti sonucu değişim gösteren iyon miktarlarının en önemli etki gösterebileceği parametre olan membran potansiyellerinin konusunda yeterli çalışma bulunmamaktadır. Mcleod'un (29) yaptığı bir çalışmada canlı dokunun mikroskopik yapısının kompleks olmasından dolayı, mikroeletrot yönteminin, biyolojik dokunun elektriksel alanla etkileşiminin anlaşılması açısından önemli olacağı belirtilmiştir. Çalışmamızda, EM alanın hücredeki iyon miktarları konusunda oluşturduğu değişimlerin (25, 26, 28) dinlenim membran potansiyeli ve hücre içi aksiyon potansiyeli üzerine olası etkileri konusunda bilgi elde edebilmek ve bu alandaki eksikliklere katkı

sunabilmek için, mikroelettrot yöntemi ile bu potansiyellerin kayıtlanması ve sonuçların yorumlanması hedeflenmiştir.

Manyetik alanların insanlarda serbest radikal metabolizması üzerindeki etkilerini gözlemek için malondialdehit (MDA), glutasyon (GSH) seviyeleri ve Na-K-ATPaz enzim aktivitesi ölçülen bir çalışmada, rutin olarak radyoloji bölümlerinde manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'ye alınan hastalar 16,18 dakika boyunca 1,5 T şiddetinde MA'a maruz bırakılmışlardır. Çalışma sonucunda MDA ve GSH düzeylerinin ve Na-K ATPaz enzim aktivitesinin MRG uygulamasından sonra değişmediği ileri sürülmektedir (30).

Blank (31) yaptığı çalışmada, düşük frekanslı EA ve MA'ın, Na⁺-K⁺ ATPazı da içeren birçok biyokimyasal sistem üzerine etkilerini, sistemlerin elektronları ile etkileşerek gösterdiğini bildirmektedir. Membranın iç yüzeyine Na⁺ iyonları (ve ATP-adenozin trifosfat) veya dış yüzeye K⁺ iyonları bağlandığı durumlarda Na⁺-K⁺ ATPaz ortaya çıkmaktadır (31, 32). Membranda bulunan Na⁺-K⁺ ATPaz benzeri enzimlerin etkisiyle oluşan iyonik gradyentler, ATP'nin parçalanması sonucu oluşan enerjiyi kullanırlar. Bir AP'i göreceli olarak küçük bir enerji ile tetiklenir ve hücre membranları boyunca iyonik gradyentlerde depolanmış enerjiden yararlanır. Düşük frekanslı elektrik ve MA'ların Na⁺-K⁺ ATPaz fonksiyonu üzerine oluşturdukları etkiyi, membranda iyon kanallarının konformasyonel değişimlerine katkıda bulunan hızlı yük hareketine neden olarak gerçekleştirdikleri gösterilmiştir (32).

Gundersen ve ark. (33) 60 ve 70 Hz frekansında 10⁻⁴ T şiddetinde MA'a maruz bırakılan sıçan kasında son plak potansiyelinin frekansındaki (nörotransmitter salınım frekansı) değişimleri incelemişler. Doğrusal 60 Hz frekanslı MA'a 10 dakika maruz bırakılma sonucunda son plak potansiyelinin frekansında %12 artış olduğu, ancak sirküler 60 Hz frekanslı MA'nın etkilemediği gözlenmiştir. Diğer yandan, doğrusal 70 Hz frekanslı MA'ın etkilememesine rağmen 70 Hz frekanslı sirküler MA'ın son plak potansiyelinin frekansında %4 kadar azalttığı bulunmuştur. Böylece uygulanan MA frekansının ve konfigürasyonunun da (doğrusal veya sirküler) önemli olduğu ileri sürülmektedir.

Soleus ve extensor digitorum longus (EDL) kaslarının kuvvet çıktısındaki değişimin incelendiği bir çalışmada sıçanlar 1,5 mT şiddetinde 50 Hz frekanslı

modülasyonlu MA'a 30 gün boyunca maruz bırakılmışlardır. Manyetik alan her iki kas için kasılma kuvvetini arttırmış, ancak kasılma zamanını azaltmıştır (34).

Yukarıda da değinildiği gibi yapılan çalışmalarda, EM alanın dokular üzerindeki etki mekanizmasının belli başlı iki yolla gerçekleşebileceği bildirilmektedir. Bu yollardan birisi, EM alanın hücre düzeyindeki iyon hareketlerinde bir etkiye neden olabileceği, diğeri ise serbest radikaller üzerinden etki gösterebileceği şeklindedir. EM alana maruziyetin iyon düzeyinde değişimlere neden olması ise, AP'i oluşumu gibi fizyolojik süreçlerde etkili olduğunu; ayrıca Ca^{+2} iyon düzeyinde gözlenen değişimlerin iskelet kası kontraksiyonunu da etkileyebileceğini düşündürmektedir.

İstanbul'da WHO tarafından 2004 yılında yapılan bir çalıştayda, hem ELF hem de RF-EM alanlara çocukların hassasiyeti ile ilgili uygun bilgileri elde edebilmek için belirleyici araştırmalara ihtiyaç duyulduğu ileri sürülmüştür. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer (IARC)), hayvan ve hücrelerde yapılan laboratuvar çalışmaları ve epidemiyolojik çalışmalara dayanarak ELF-MA ve çocukluk çağı lösemileri arasındaki ilişkiden dolayı ELF-MA'ı insanlar için olası bir kanserojen olarak kabul etmiştir (35).

Ayrıca gebelik döneminde annenin vücut yapısı ve vücudun EA ve akımları değiştiğinden dolayı embriyo veya fetusta değerlendirme yapılamamaktadır. Dielektrik özelliklerdeki farklılıklar ELF-MA'nın çocuklarda oluşacak sağlık riskleri noktasında dikkate alınması gerekmektedir. Memelilerde ELF-MA ve EA'lara prenatal maruziyetin gelişim üzerine güçlü yan etkileri olmadığı ileri sürülmektedir. Postnatal gelişim üzerine MA'nın (veya elektrik ve manyetik birlikte) bazı etkileri rapor edilmiş, ancak farklı çalışmalarda farklı yaklaşım ve metodlar kullanıldığından dolayı bulgularda tutarlılık elde etmenin oldukça zor olduğu belirtilmektedir (35).

Yapılan epidemiyolojik bir çalışmada (n= 2967) gebeliğin son 3 ayında 2×10^{-4} mT şiddetinde EM alana maruz kalan annelerin bebeklerinde intrauterin gelişme geriliği ve doğum ağırlığının düşük olup olmadığı araştırılmış ve intrauterin gelişme geriliği ve düşük doğum ağırlığı riskinin artmadığı saptanmıştır (36). Diğeri bir çalışmada ise, gebelik döneminde $0,63 \mu T$ 'dan büyük değerlerde 50 Hz frekanslı ELF-MA'a maruz kalan 89 denekte spontan düşük riskinin arttığı rapor edilmiştir (37). Yapılan bir kohort çalışmada prenatal dönemde 16 mG ve daha yüksek şiddette MA'a maruz bırakılan gebelerde (n=969 kişi) düşük riskinin arttığı ileri sürülmektedir (38).

Elektromanyetik alanın canlılarda iyonik düzeyde etkileri olmasının yanı sıra genel olarak EM alana kronik maruziyetin canlıların intrauterin ve yenidoğan evrelerinde de etkileri olabileceğini bildiren çalışmalar olması nedeniyle, çalışmamızda MA'nın yeni doğan sıçanlarda uygulanmaya başlanması ve son EM uygulanmasının erişkin döneme denk getirilmesi planlanmıştır. Böylece çalışmamızda, ELF-MA'nın iskelet kası elektriksel ve mekanik aktiviteleri üzerine etkileri incelenecek ve elde edeceğimiz verilerden iyonik düzeyde olan etkilerine bir açıklık getirilecektir.

EM alanların biyolojik dokular üzerinde belli başlı iki mekanizma yoluyla etkilerini gösterebileceği ve bunlardan birisinin hücre düzeyindeki iyon hareketleri ve diğlerinin ise serbest radikaller üzerinden olabileceği bildirilmektedir. EM alana maruziyetin iyon düzeyinde değişimlere neden olmasının ise, AP'i oluşumu gibi fizyolojik süreçlerde etkili olduğunu; ayrıca Ca^{+2} iyon düzeyinde gözlenen değişimlerin iskelet kası kontraksiyonunu da etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Böylece çalışmamızda, erişkinlik döneminden önce başlayan EM alan maruziyetinin 7 ay gibi oldukça uzun sayılabilecek bir süreçte, hem iyonik düzeydeki değişimleri ve hem de serbest radikaller üzerindeki etkileri konusuna bir açıklık getirilebilecektir.

Bu çalışmada, şehir şebeke frekansında (50 Hz titreşimli, sinüzoidal) ve çevreden maruz kalınan MA'lar mertebesinde olan 1,5 mT şiddetindeki MA'nın, iskelet kası elektriksel ve mekanik fonksiyonları üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla, sıçan diyafram kasının membran potansiyeli, intrasellüler AP'i ve kasılma kuvvetinin ölçüleceği in vitro bir araştırma planlandı. Bu çalışmada, iskelet kasının elektriksel ve mekanik aktivitesi üzerine MA'nın oluşturması muhtemel etkilerinin hangi mekanizma üzerinden gerçekleştiği açıklanmaya çalışıldı.

Bu çalışmanın sonunda elde edilen verilerin, kullanılan MA'nın olumsuz etkileri olduğunu göstermesi durumunda, MA'nın maruziyet dozu veya süresinde mümkün olduğunca kısıtlamaya gidilmesi gerektiği sonucuna ulaşılabilecektir.

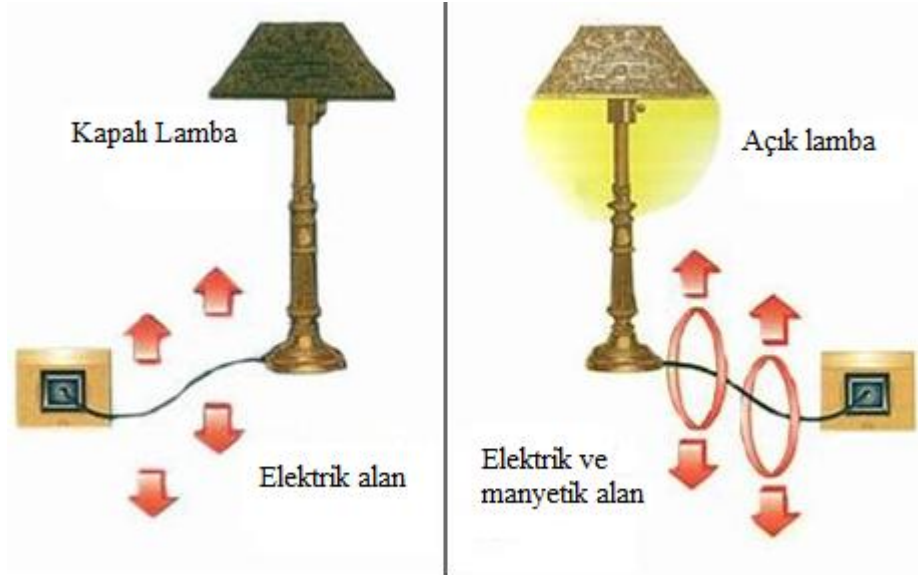
Keza, MA'nın hücre düzeyinde değişime neden olup olmayacağı, kas elektriksel aktiviteleri ve kasılma fonksiyonlarını hangi mekanizma üzerinden etkileyeceği açısından bu çalışma literatüre önemli katkılar sağlayacaktır. Bu çalışmada elektrofizyolojik bulguların yanısıra, hem biyokimyasal, hem de histolojik parametreler incelenecek olup, elde edilecek verilerin konuya oldukça farklı açılardan bakma olanağı

sağlayacağı ve böylece MA'a maruziyetin biyolojik sistemlere etki mekanizmaları konusuna çok yönlü ışık tutabileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

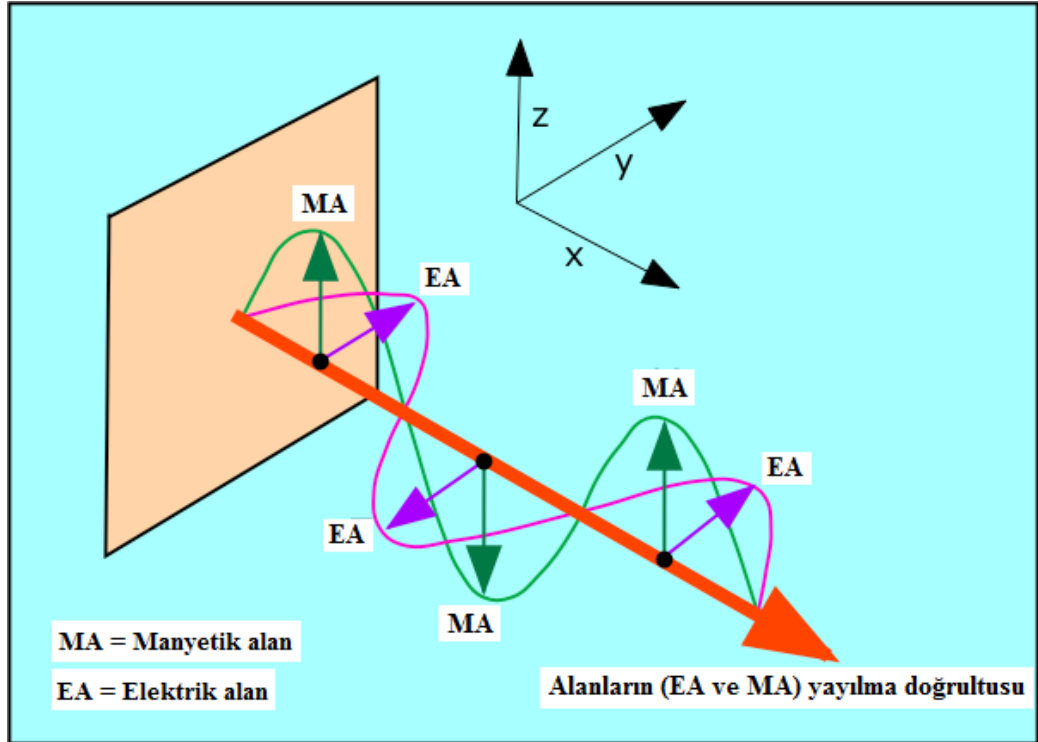
2.1. Elektromanyetik Alan

Elektrik ve manyetik alan bileşenlerine sahip olan EM alan, elektrik yüklerinin hareketi sonucunda uzayda oluşan değişikliklerdir. Elektrik alan, durgun elektrik yüklerinin çevresinde oluşur. Elektrik yükleri hareketli olduğunda, elektrik yüklerinin çevresinde bir MA oluşmaktadır. Şekil 2.1’de görüldüğü gibi, MA olmaksızın uzayda EA oluşabilir, ancak; uzayda MA oluşabilmesi için buna eşlik eden, uzayda değişiklik gösteren EA’ya ihtiyaç vardır (13). “Elektrik alandaki değişim sinüzoidal (sinüs fonksiyonunun şekli) bir eğri şeklindedir. Bir ortamda elektrik alanı değiştirmek için yüklü cisimleri ivmeli hareket ettirmek gerekir” (13).



Şekil 2.1. Elektrik alan ve akım uygulandığında oluşan elektrik alan ve buna eşlik eden manyetik alan (39).

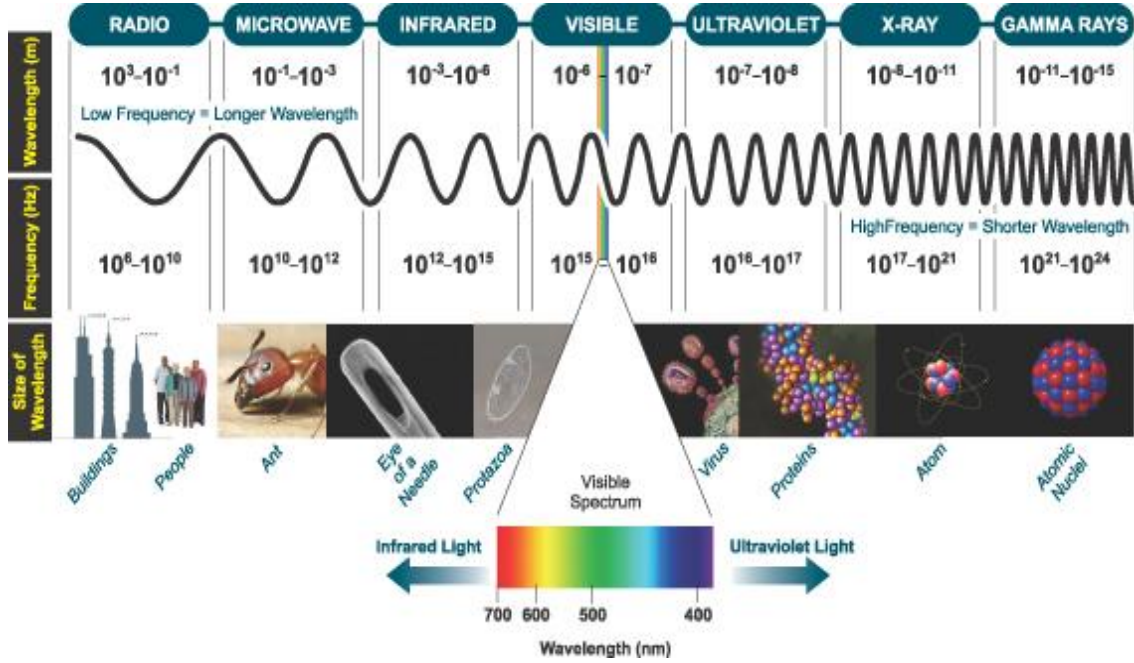
Birbirine dik konumlu manyetik ve elektriksel alanlar EM dalgalar olup, boşlukta aynı bir $c = 3 \cdot 10^8$ m/s hızı ile enine yayılım gösterirler (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Birbirine dik konumlu elektrik (EA) ve MA (40). Alanların yayılma doğrultularının titreşim doğrultularına dik olduğu görülmektedir.

Elektromanyetik alanın ana karakteristikleri frekansı ve dalga boyudur (11, 41).

“Elektromanyetik dalgalar, dalga boyu km’lerle ifade edilen radyo dalgalarından dalga boyu 10^{-16} m dolaylarına kadar inen γ ışınlarına kadar geniş bir aralığı kapsar. Spektrumdaki farklı bölgelerin oluşum mekanizmaları da madde ile etkileşim biçimleri de farklılıklar gösterir” (1). EM dalgalar frekanslarına ve dalga boylarına göre çeşitli gruplara ayrılmaktadır. Bu gruplandırma Şekil 2.3’te verilmiştir.



Şekil 2.3. Frekans ve dalga boylarına göre EM dalgaları sınıflandırılan EM spektrum (13, 42).

Gruplanan bu EM alanlar arasında belirlenmiş kesin frekans sınırları bulunmamaktadır. Oldukça düşük frekanslı (ELF, <300 Hz) başlayan EM spektrum, en yüksek frekanslı γ ışınları ile sonlanmaktadır (6, 43, 44).

Dalgasal ve tanecik özelliklerinde bir enerji yayılması olan EM dalgalar için yayılma hızı (c -ışık hızı), frekansı (f) ve dalga boyu (λ) arasında,

$$c = \lambda \cdot f \quad [\text{m/s}]$$

şeklinde bir ilişki vardır (1, 11, 45, 46). Foton olarak da bilinen EM enerji paketçığının enerjisi (Planck sabiti $h = 6,62 \cdot 10^{-34}$ J.s olmak koşulu ile)

$$E = h.f \quad [J]$$

olup, frekans ve enerji arasında doğru bir orantı vardır (1, 6). Elektromanyetik dalganın hızı, yayılma ortamı ile dalga boyuna bağlıdır ve bu EM dalganın frekansı ise kaynak tarafından belirlenir.

Maddelere etki edebilen EM dalga veya parçacık biçimindeki enerji yayılımına radyasyon denir. Maddedeki etkilerine göre, 1) iyonlaştırıcı (nükleer) ve 2) iyonlaştırmayan (noniyonize) EM alan olarak gruplandırılmaktadır (47).

1) İyonlaştırıcı (Ionizing) ışınım (radyasyon); hücrelerdeki molekülleri bir arada tutan atomik bağları iyonlaştırmaya [yani atomlardaki pozitif (proton) ve negatif (elektron) yükleri bir arada tutan yüksüz nötrona etki ile atomun yapısının bozulması] yetecek foton enerjisine sahip, atom ve molekülden elektron koparabilecek, yüksek frekanslı (10^{14} Hz'den yukarısı) EM dalgalarıdır. İyonlaştırıcı radyasyon olarak, X ve gama ışınları örnek verilebileceği gibi bazı kaynaklar tarafından ultraviyole (UV) ışınları da bu sınıfta değerlendirilmektedir (8, 47). Bu ışınların enerji değerleri 12 eV (elektron volt)'tan başlamaktadır. Bu ışınlarla uzun süreli maruziyet, DNA zincirinin bozulması ve canlı hücrelerdeki organellerin hasara uğraması gibi tehlikeli durumlara neden olabilmektedir.

2) İyonlaştırmayan (Nonionizing) ışınım ise; atomik bağları kırmak için yeterli enerjiye sahip olmayan fotonların oluşturduğu EM dalgalarıdır. Bunlar, görünür ışık, kızılötesi (infrared), mikrodalga, RF ve statik MA'lardır. Yani frekans tayfının 0- 1000 GHz'lik aralığı kapsamaktadır. Örneğin 300 GHz'de ölçülen enerji değeri 0,00125 eV olup, iyonlaştırıcı seviyeye göre oldukça düşüktür. Ancak, bu alanların mesafe, güç ve maruz kalma süresi gibi faktörlere bağlı olarak, kimyasal reaksiyon değişimlerine, hücre ve dokularda elektrik akımının indüklenmesi yoluyla vücutta ısınma oluşturarak biyolojik etkilere yol açabileceği ileri sürülmektedir (8, 47).

Çizelge 2.1.'de yapay ve doğal EM alan oluşturan bazı kaynaklar verilmiştir.

Çizelge 2.1. Elektromanyetik (EM) alan oluşturan bazı yapay ve doğal kaynaklar ve frekans aralıkları (8, 48, 49).

Frekans bölgesi	Frekans	Yapay EM Alan Kaynakları	Doğal EM Alan Kaynakları
Statik	0 Hz	VDU (Video Display Unit), sabit ve güçlü mıknatıs içeren MR, Tanı (Diagnostik) Cihazları, Endüstriyel Elektroliz Cihazları, Isıtma Cihazları	Mıknatıslar (magnetler), yerkürenin DC manyetik alanı (10^{-5} G)
ELF (Çok Düşük Frekans)	0-300 Hz	Güç Hatları, Yerel Dağıtım Hatları, Tren, Tramvay ve Araçlardaki Elektrik Motorları, Isıtma Cihazları	Yerkürenin AC MA ² (0,1-100 Hz ve $3-10 \times 10^{-5}$ G aralığı)
IF (Ara Frekans)	300 Hz – 100 kHz	Mağazalardaki Alarmlar, Handsfree (Elle tutulmadan kullanılan) Erişim Kontrol Cihazları, Metal Dedektörler ve Kart Okuyucuları, Isıtma Cihazları	–
RF (Haberleşme frekansı)	100 kHz – 300 GHz	Cep Telefonları, TV ve Radyo, Mikrodalga Fırın, Radar, Sabit ve Portatif Vericiler, Kişisel Mobil Cihazlar, RF puls gönderen MR, Sanayide kullanılan eritme fırınları	Dünya etrafındaki atmosfer, iyonosfer ve magnetosfer derin uzaydan kaynaklı radyasyona karşı korur. Bu korumayı delen EM alan frekans aralığı 10 MHz-37,5 GHz aralığındadır.

2.1.1. Elektromanyetik Alan Tarihçesi

Eski Yunan'da, (M.Ö.2000'li yıllarda) Magnesia bölgesindeki bazı gizemli kaya parçalarının metalleri çekmesiyle manyetizmanın farkına varılmış, M.Ö. 1100'lerde Çinli gemiciler pusulada mıknatıs kullanmışlardır (6, 11). Manyetizma bilinmesine rağmen, ilgili açıklamalar 19. yy başlarında yapılmıştır. Hans Christian Oersted (1820'de) pusula iğnesinin yakınındaki bir telden akım geçtiğinde pusula iğnesinin saptığını ve telin çevresinde MA olduğu sonucuna varmıştır.

Andre Marie Ampere (1775-1836 Fransız matematikçi ve fizikçi) üzerinden akım geçen iki telin birbirlerine kuvvet etki ettiğini ve tellerden aynı yönlü geçen akımlar sonucu tellerin birbirini çektiği, zıt yönlü akımlar geçirildiğinde ise ittiğini gözlemiştir.

Ampere, matematiksel olarak MA ile bu alanı oluşturan akım arasındaki ilişkiyi formülize etmeyi başarmıştır. Oersted, MA'nın elektrik akımından kaynaklandığını bulurken, Michael Faraday ise (1791-1867 İngiliz kimyacı ve fizikçi), bir elektirik devresi yakınında bulunan bir mıknatısı hareket ettirerek ya da mıknatıs yakınındaki bir devredenin akımını değiştirerek bir elektrik akımı oluşturulabileceğini göstermiştir.

İskoç bilim adamı James Clerk Maxwell (1831-1879) ise, ışığın bir EM dalga olduğunu bulmuş, elektrik ve manyetizmanın temel kanunları olan Maxwell diferansiyel denklemlerini yazarak EM kuramın kurucusu olmuştur (50).

2.1.2. Elektromanyetik Alan Birimleri

Manyetik alanın büyüklüğü, manyetik akı yoğunluğu ile ifade edildiği gibi, MA şiddetiyle de ifade edilebilir. Amerika ve Batı Avrupa ülkelerinde genellikle, MA şiddeti için manyetik akı yoğunluğu birimleri (Tesla veya Gauss) kullanılır. Doğu Avrupa ülkelerinde ise MA'lar, genellikle alan şiddet birimi olan Oersted ile ifade edilir. Ancak hücre, organ ya da tüm vücut gibi biyolojik yapılar yani metal olmayan ortamlar için manyetik akı yoğunluğu ile MA büyüklüğü aynı (1 Oersted = 1 Gauss = 0,1 mT) kabul edilebilir (51).

Elektromanyetik alanlar için metre-kilogram-saniye (MKS) ve santimetre-gram-saniye (CGS) sistemlerinde kullanılan birimler ve dönüşümleri çizelge 2.2'deki gibidir (11, 41).

Çizelge 2.2. Manyetik alan birimleri ve dönüşümleri (6).

Büyükük	Sistem	Birim	Dönüşümler
Manyetik alan şiddeti	MKS	Amper/metre (A/m)	1 A/m = 0,012566 Oe
	CGS	Oersted (Oe)	1 Oe = 79,58 A/m
Manyetik akı	MKS	Weber (Wb)	1 Wb = 1 volt-sn 1 Wb = 1 T.1 m ²
Manyetik akı yoğunluğu	MKS	Tesla (T)	1 T = 10 ⁴ G 1 T = 1 Wb/m ²
	CGS	Gauss (G)	1 G = 10 ⁻⁴ T = 1 Oe

Manyetik alan birimi, SI birim sisteminde Tesla (Nikola Tesla 1856-1943), CGS'de ise Gauss'dur (Johann Carl Friedrich Gauss 1877-1855). Aralarındaki bağıntı ise Çizelge 2.2'de görüldüğü gibi;

$$1 \text{ Tesla} = 10^4 \text{ Gauss}$$

şeklindedir.

Elektrik akımı gibi, “manyetik akı” da tanımlanmış olup, bir MA içerisindeki iletkenin geçen MA çizgilerinin kantitatif bir ölçüsüdür. Manyetik alan, iletkenin iki ucu arasında 1 volt'luk bir elektrik akımı oluşturuyorsa, bu iletkenin geçen manyetik akı saniyede 1 Weber'dir.

Birim yüzeyden geçen manyetik akıya “manyetik akı yoğunluğu” denir ve SI sistemindeki birimi Tesla'dır (52).

2.1.3. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri

Elektromanyetik dalgaların canlı organizmada oluşturduğu biyolojik etkileri belirlemek amacıyla, insan hücre ve dokularını temsil eden hayvan deneyleri ve matematiksel modellemeler yapılmaktadır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre ortaya çıkabilecek olası biyolojik etkiler şunlardır:

- Hücre veya hücre sistemlerine etkiler (moleküler, hücresel ve hücre içi sistemler üzerine etkiler),
- Genetik yapı ve gelişim üzerine etkiler (mutajenik, genetik, teratolojik, büyüme ve gelişmeye etkiler),
- Doku, hücre sistemleri ve gelişmiş organ üzerine etkiler (hematolojik, immünolojik etkiler, testisler üzerine, kardiyak fonksiyona etkiler, sinir sistemi ve davranış tepkileri üzerine etkiler),
- Metabolizma ve düzenleme sistemlerine etkiler (nöroendokrinolojik değişimler, klinik biyokimya ve metabolizma üzerine etkiler) (13, 53, 54).

2.1.3.1. ELF-Manyetik Alanın Biyolojik Etkileri

Oldukça düşük frekanslı MA'ların biyolojik etkilerine dair çok sayıda çalışma mevcuttur. Düşük şiddette EM alanlara uzun süre maruz kalan hücre ve dokularda yapılan çalışmalara göre;

- hücre yüzeyine ait özelliklerin,
- membrandan kalsiyum giriş-çıkışı ve bağlanmasının,
- DNA, RNA ve protein gibi biyomoleküllerin sentezinin,
- hücre bölünmesinin,

etkilendiği gözlenmiştir. Buna bağlı olarak hücre ve dokularda yapısal değişiklikler olduğu, hormonların etkilendiği, hormonal cevabın, karbonhidrat, nükleik asit ve protein metabolizmasının değiştiği, immün cevabın biyokimyasal ve fizyolojik olarak etkilendiği saptanmıştır (4, 53).

Deney hayvanlarının (sıçan, fare, maymun, kobay ve tavşan) ELF-EM alanlara maruz bırakılması sonucunda lenfosit, lökosit ve nötrofil sayılarında azalma, beyinde biyokimyasal ve yapısal değişimler, seratonin ve dopamin seviyelerinde azalma gibi bulgular mevcuttur. İletkenlik özelliklerine göre ELF alanlardan en çok etkilenen dokular beyin sıvısı ve kan, ikinci derecede etkilenen dokular ise göz sıvısı, tiroid, kas, gastrointestinal sistem, prostat ve testislerdir. ELF-MA melatonin sentezini yavaşlatarak uyku düzeninin bozulmasına neden olmaktadır (4, 53).

Yapılan laboratuvar çalışmalarına göre ELF-EM alanlara maruz kalan insanların, kan biyokimyası ve hematolojisinin değiştiği, nöroendokrin sistemde hormon salgılanmasında ve sindirim sisteminde değişimler olduğu gözlenmiştir. Sözü edilen etkilerin yanı sıra, sinir sisteminde, EEG dalga potansiyelinde değişim olduğu, davranış değişimlerine neden olduğu, kardiyovasküler sistem, kan basıncı ve EKG potansiyellerinin etkilendiği, deri sıcaklığının değiştiği ve fibroblastlarda DNA sentezinde artış olduğu saptanmıştır (4).

Hücre kültüründe yapılan bir çalışmada, 50 Hz frekanslı ve 5 mT şiddetinde EM alan uygulanan hücrelerin membran potansiyelinde kontrol grubuna göre

hiperpolarizasyon oluştuğu gösterilmiştir. Keza bu çalışmada EM alan uygulamasının hücre sayısında dşye yol açtığı bildirilmiştir (55).

Cecconi ve ark.'nın (56) yaptıkları bir çalışmada, 1,5 mT şiddetinde ELF-EM alana maruziyetin, pre-antral folikül kültüründe üreme için önemli bir ön koşul olan gelişim aşamasına ulaşacak folikül kapasitesini azalttığı ve böylece, dişi memeli üreme potansiyelini olumsuz yönde etkileyebileceği ileri srlmştir.

Postnatal sıçanlardan alınan serebellar granül nöron apopitozisi zerine 50 Hz ELF-MA'nın etkilerinin incelendiği bir çalışmada, serebellar granül nöronlardan oluşturulan hücre kültürleri 5 gün süresince 300 mT şiddetinde MA'a maruz bırakılmışlardır. Normal koşullar (5,4 mM K⁺) altında apopitozise uğraması beklenen serebellar granül nöronlarının, ELF-MA maruziyeti sonucunda apopitozisten korunduğu gözlenmiştir (57).

Yapılan bazı epidemiyolojik çalışmalar yerleşim yeri ve mesleki ELF-MA maruziyeti sonucunda artmış kanser riskini, özellikle çocukluk ağı lösemisi ve beyin kanserini rapor ederken, diğer bazı çalışmalar ise bu sonuçları doğrulamamıştır (58, 59, 60, 61).

2.1.3.2. Elektromanyetik Alan ve Biyolojik Sistem Etkileşim Mekanizması

Literatür incelemelerine göre, dikkate alınan etkileşim mekanizmaları řu şekilde gruplandırılmaktadır.

- 1) Termal etki (alanlardan kaynaklanan sıcaklık değişimlerine bağlı): 1 MHz üstünde başlayan bir etki olup, hücrelere uygulanan rezonans veya döndürme momenti (spin momenti) etkisi ile açığa çıkan ısı enerjisidir. Canlı organizmada ısıyı arttırmakta, termoregülatör merkezi ve biyokimyasal reaksiyonları etkilemektedir. Termal etki, vücudun maruz kaldığı EM enerjinin ısıya dönüşmesi ve vücut sıcaklığının artmasıdır. Oluşan sıcaklık artışı, ısının kan dolaşımı ile atılıp, dengelenmesine kadar sürmektedir. Düşük frekans bandındaki EM dalgaların sebep olabileceği sıcaklık artışı gerçekte çok düşüktür ve büyük olasılıkla vücudun normal mekanizmaları ile kolayca etkisizleştirilebilir (13).

- 2) Termal olmayan etki (elektrik veya MA'ların doğrudan etkileri ile ilişkili): a) moleküler güç, moleküler hareket ve atomik iyonizasyon üzerine EM dalga yayılımının etkileri, b) EM dalga yayılımının damarlar ve solunum üzerine etkileri (62, 63, 64).

Düşük frekanslı EM dalgaların foton enerjileri, atomları ve molekülleri iyonlaştıracak düzeyde değildir. Ortamdaki iyonlaştırıcı olmayan EM dalgaların etkisinde kalma sonucunda canlılarda yukarıda değinilen, termal ve termal olmayan etkiler oluşabilir (63).

Frekanstaki yükselmeye bağlı olarak enerji nüfuz etme derinliği azalır. Yüzeğe yakın bölgelerde EM alanlardan kaynaklanan enerjinin çoğunluğu soğrulur. Yüksek frekanslara göre alçak frekanslar çok daha derinlere ulaşabilmektedir. Bu nedenle düşük frekanstaki EM dalgalar derin anatomik yerleşimli dokuları daha fazla etkilemektedir. Bu açıklamalar doğrultusunda denilebilir ki, yüksek frekanslı MA'ların zararlı etkileri yüzeysel dokuları daha fazla etkilerken, düşük frekanslı MA'lar organizmanın derin dokularına kadar etki göstermektedir (54).

2.1.3.3. Elektromanyetik Alanların Etki Mekanizmaları

Son yıllarda birçok araştırmacı tarafından, iyonize olmayan EM alanların biyolojik sistemler üzerine etkileri incelenmiş ve bu alanların etki mekanizmaları açıklanmaya çalışılmıştır. Bu çalışmaların bir kısmı, biyolojik sistem üzerinde EM alan etkisinin reaktif oksijen radikallerinde (ROS) artış yoluyla olduğunu bildirmişlerdir. Serbest radikaller metabolizmada ara ürün olarak üretilip lipid, protein ve DNA'yı etkileyebilirler. Böylece serbest radikal üretimindeki herhangi bir artış DNA'da kimyasal hasar oranını arttırabilmektedir.

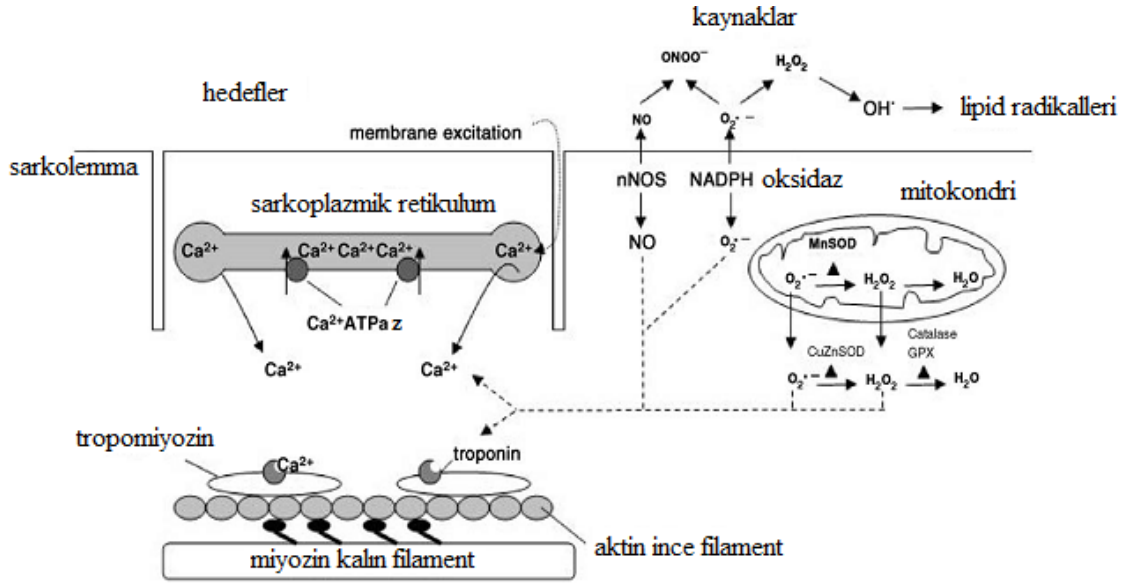
En önemli serbest radikallerden biri mitokondri kaynaklı süperoksit radikali (O_2^-), SOD aktivasyonu ile oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit ile nitrik oksitten (NO) oluşan peroksinitrittir ($ONOO^-$). Sürekli olarak üretilen bu radikaller SOD, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) tarafından detoksifiye edilmektedir. Aşırı serbest radikal üretimi antioksidan tüketimi ile sonuçlanıp, savunma mekanizması yetersiz kalmaktadır. Hücrede oksidan/antioksidan dengesinin bozulması,

lipid nükleik asit ve protein gibi hücrel moleküllerde hasarla sonuçlanmaktadır (65, 66, 67, 68).

Goraca ve ark.'nın (69) yaptıkları bir çalışmada 40 Hz frekanslı ve 7 mT şiddetinde MA'a 14 gün boyunca ve günde 30 ve 60 dakika olacak şekilde maruz bırakılan sıçanlardan alınan kan örneklerinde ve kalp dokusunda, antioksidan kapasite ve ROS oluşumu araştırılmıştır. Çalışma sonucunda MA'ın organizmanın antioksidan savunmasının yanı sıra kalp dokusunda ROS üretimini de etkilediği ve kalp dokusunda oksidatif stres oluşturduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışma bulgularına göre oksidatif stres parametreleri üzerine ELF-MA etkisinin uygulama süresine bağımlı olduğu da gösterilmiştir. Serbest radikaller metabolizmada ara ürün olarak üretilmekte olup lipid, protein ve DNA'yı etkileyebilmektedirler. Böylece serbest radikal üretimindeki herhangi bir artış DNA'da kimyasal hasar oranını arttırabilmektedir (70).

Ayrıca EM alanlara kısa süreli maruziyetin serbest radikal üretiminde artışa neden olmasının yanı sıra hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu ve iletimini de etkiliyor olabileceği bildirilmektedir (71, 72).

Kas lifleri sürekli olarak hem ROS hem de nitrik oksit (NO) üretirler (Şekil 2.4). İskelet kasında, hücrel fonksiyonların pek çoğunun ROS ve NO tarafından modüle edildiği bilinmektedir. Bu hücrel fonksiyonların; glikoz alımı, mitokondriyal metabolizma, gen transkripsiyonu, kas katabolizması ve kasılmanın düzenlenmesinde de önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir. Kanıtlar, kas kaynaklı ROS ve NO'ın kasılmayı düzenleyen hücrel komponentler üzerine karmaşık otokrin / parakrin etkilere sahip olduğunu göstermektedir (73).



Şekil 2.4. Kasta serbest radikal kaynakları. **Kısaltmalar:** ONOO⁻ (peroksinitrit), H₂O₂ (hidrojen peroksit), H₂O (su), O₂⁻ (süperoksit anyonu), OH⁻ (hidroksil radikali), NO (nitrik oksit), MnSOD (manganez süperoksit dismutaz), CuZnSOD (bakır-çinko süperoksit dismutaz), GPX (glutasyon peroksidaz), Ca⁺² (kalsiyum) (73).

Supinski (74), serbest radikallerin, intrasellüler-biyofiziksel süreçlerin pek çoğunun (sarkolemmal AP'i yayılması, sarkoplazmik retikulum kalsiyum kullanımı, mitokondriyal fonksiyon, kontraktıl protein etkileşimleri) işlevini etkileyip, değiştirerek kasın kuvvet üretim kapasitesinde değişikliklere neden olabileceğini bildirmiştir.

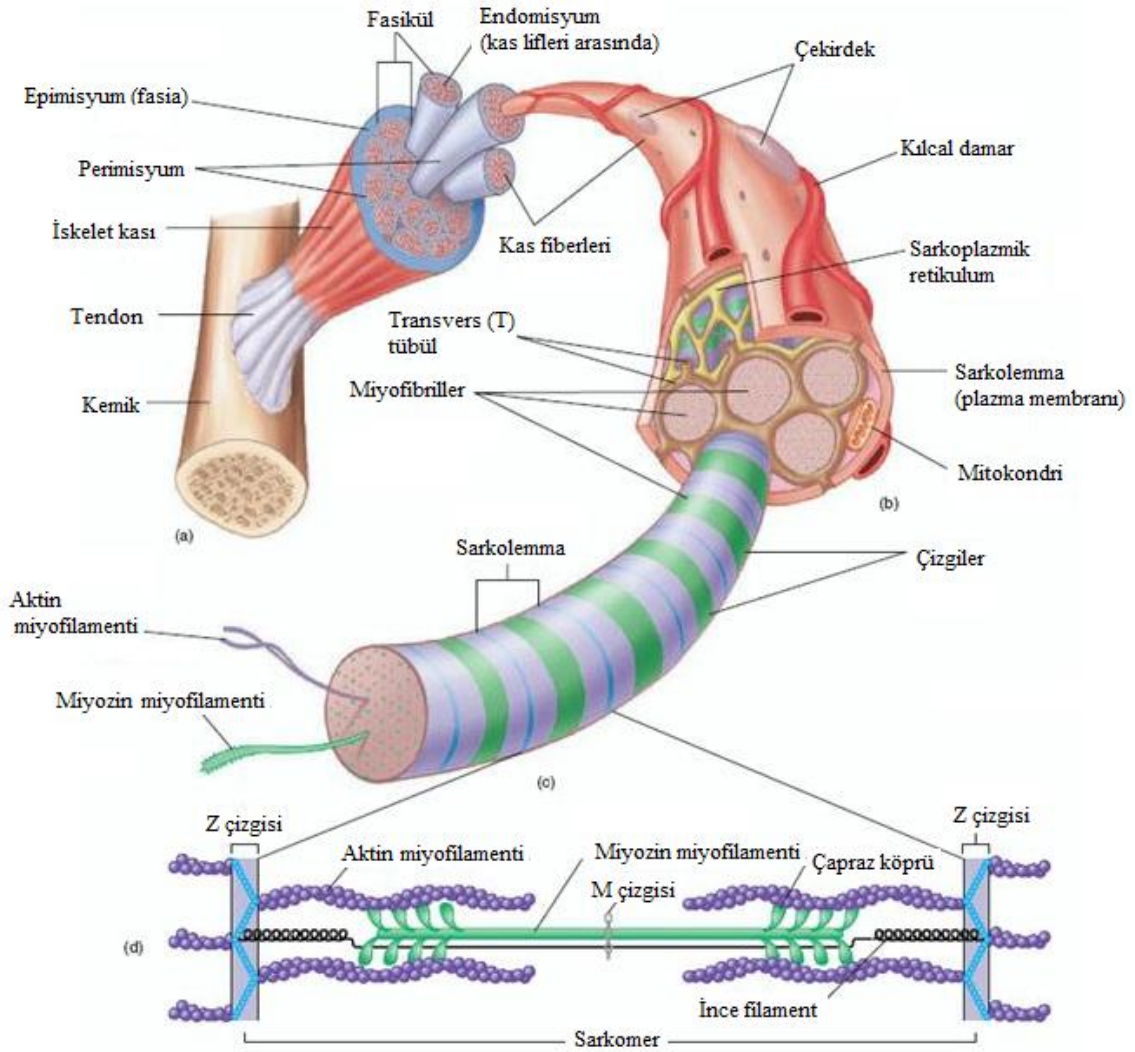
Kas hücre kültüründe yapılan bir çalışmada ELF-EM alana kısa süreli maruziyet sonucu tek bir kas hücrenin tepkileri tek hücre konfokal mikroskopi tekniği ile saptanmaya çalışılmıştır (75). Bu çalışmada, iskelet kas hücre fenotipinin bir in vitro modeli olan C2C12 kas hücreleri kullanılmıştır. Miyoblast ve miyotüp hücrelerinin 30 dakika boyunca 0,1 mT şiddetinde ELF-EM alana maruz bırakılması sonucunda ROS'da anlamlı bir fark bulunmazken, 1 mT şiddetine maruziyette ise H₂O₂ üretiminde kontrole göre anlamlı bir artış gözlenirken, O₂⁻ seviyelerinde bir fark oluşmamıştır. Kalitatif ve kantitatif olarak benzer sonuçlar miyotüp hücrelerinde de elde edilmiştir. Sonuç olarak ELF-EM alan maruziyetinin a) Mitokondriyal membran potansiyelinin azalmasına paralel olarak miyoblast ve miyotüplerde ROS üretimini artırdığı, b) katalaz ve glutasyon peroksidaz aktivite artışıyla hücrel detoksifikasyon sistemini aktive ettiği ve c) hücre içi Ca⁺² kanallarının, bir agonist (kafein) veya depolarize edici bir ajana

(KCl) maruz kalması durumunda hücrel reaktiviteyi ve miyotüplerde spontan aktiviteyi arttırarak hücre içi Ca^{+2} dengesini değiştirdiği bildirilmektedir (75).

Geçtiğimiz yıllarda ELF-MA'ların tümör oluşumuna neden olabileceğini bildiren birçok çalışma yapılmıştır. Aynı dönemlerde yapılan çalışmalar, tümör sürecinde apoptozisin rolünü belirlemiştir. Bu sonuçlar araştırmacıları MA'nın apoptozis üzerine etkilerini incelemeye yöneltmiştir. Bazı farklılıklar olmasına karşın, bir bütün olarak farklı deneysel protokoller uygulayan literatürlerde (76), MA'lara maruz kalan hücrelerin apoptosis sürecinde değişiklikler olduğu belirtilmektedir. Buna ek olarak, bu çalışmalarda, apoptotik süreçte Ca^{+2} iyonlarının rolünün önemli olduğu (76) ve statik MA maruziyeti sonucu Ca^{+2} miktarının arttığı da (69) bildirilmektedir.

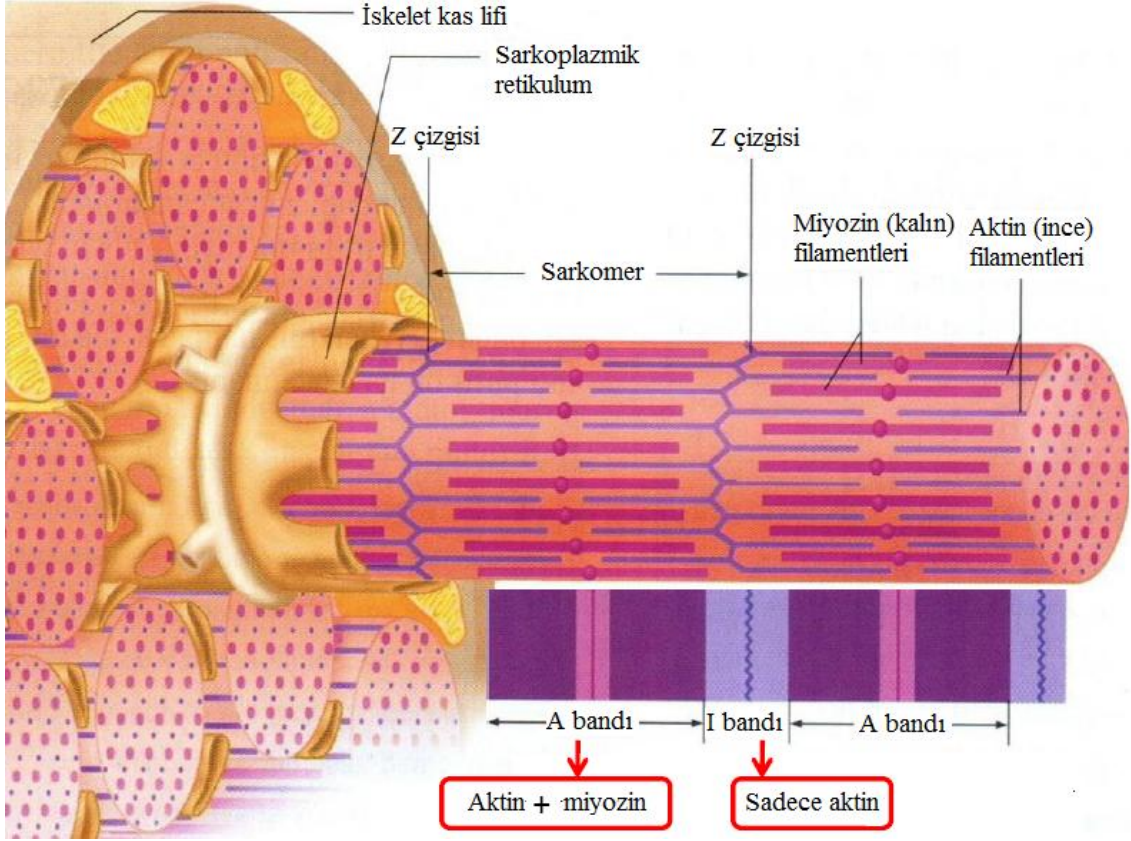
2.2. İskelet Kaslarının Özellikleri

“Hayvanların en belirgin karakteristiklerinden biri, bazı bölgelerini aktif biçimde kasıp gevşeterek yer değiştirebilmeleri, dışarıya karşı kuvvet uygulayabilmeleri ve iç yapabilmeleridir. Yüzyılımızda kas dokusunun kimyasal enerjiyi elektrik, ısı ve mekanik enerjiye dönüştürdüğü anlaşılmıştır. Bütün kasılma mekanizmalarındaki enerji gereksinimi ATP'nin ADP'ye hidrolizinden sağlanır. Kas kasılması aktin ve miyozin proteinleri arasındaki konformasyon değişimlerine bağlı etkileşimlerden doğar. İskelet kasları, uzunlukları kasın tüm boyunu kaplayabilen, 10-100 μ m kalınlıklı kas liflerinin yan yana gelmesi ile oluşur. Kas lifleri sarkolemma adı verilen bir zarla çevrilidir ve genellikle ortasında bir yerinden bir sinir lifi ile bağlantılıdır (Şekil 2.5). Bir kas lifi, hücre içi jelimsi sıvı içine dalmış 1000-2000 dolayındaki 0,5-2 μ m kalınlıklı miyofibrillerden oluşur” (1).



Şekil 2.5. Sarkolemma adı verilen bir zarla çevrili olan kas lifleri (77).

Miyofilament denilen iki tür protein eleman miyofibrilleri oluşturur. Miyofibril yaklaşık 1500 kalın görümlü miyozin filamentleri ve 3000 ince görümlü aktin filamentinden oluşur. Çift kırıcı özellikli miyozin filamentleri A bandını oluştururken, yalnızca izotropik yapıdaki aktin filamentleri ise I bandı olarak adlandırılmaktadır. Koyu renkli ve Z çizgisi denilen iki çizgi arasındaki bölgeye sarkomer denir. Sarkomerdeki A bandında, kasın uzatılması ile daha belirginleşen, aktin filamentlerinin bulunmadığı biraz aydınlık bölge H bandını oluşturmaktadır (Şekil 2.6). Kasılma sırasında sarkomer boyu kısalmış, I bantları daralmış, ancak A bantlarının genişlikleri değişmez (1).



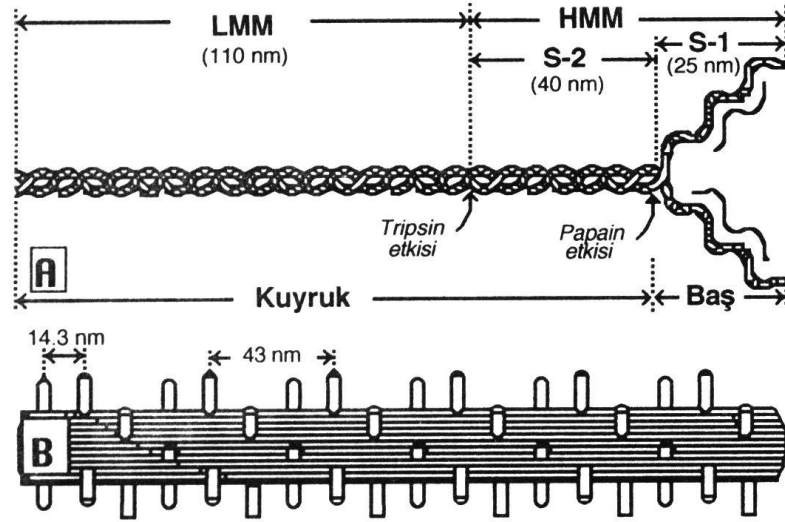
Şekil 2.6. Aktin ve miyozin (78).

2.2.1. Miyozin Filamentleri

Kalın miyozin filamentleri 14 nm çapında ve 1,6 µm uzunluğunda olup, bir kalın filament yan yana uzanmış yaklaşık 200-400 miyozinden oluşur. Miyozin molekülü, uzunluğu 140-150 nm, molekül ağırlığı 480 000 dalton olan bir proteindir. Bir miyozin molekülü tripsin enzimi etkisinde hafif meromyozin (LMM=Light Mero Myosin) ve ağır meromyozin (HMM=Heavy Mero Myosin) şeklinde iki parçaya; HMM'de papain enzimi etkisinde globüler yapıdaki S-1 ve çubuk benzeri S-2 alt parçalarına ayrılır.

Miyozin molekülünün çift sarmal yapıdaki LMM ve S-2 zincirleri kuyruk, globüler yapıdaki S-1 kesimi ise baş olarak adlandırılır (Şekil 2.7). Moleküllerin LMM kesimleri, muhtemelen aralarındaki elektrostatik etkileşimlerle kümelenerek miyozin filamentlerinin gövdesini oluştururlar. Baş kesimleri ise ATPaz enzimi görevini görür ve aktin filamentleri ile etkileşen çapraz köprü oluştururlar. Miyozin molekülü; LMM, S-2 ve S-1 kesimlerini birleştiren bağlantı yerlerinden bükülebilmektedir. Miyozin

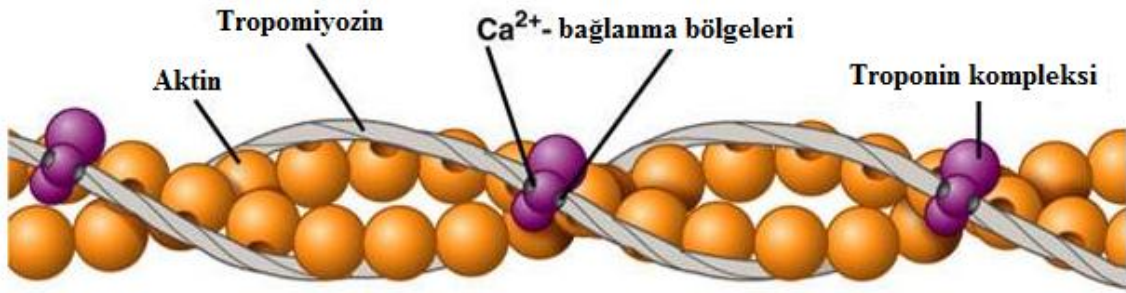
filamentini çapraz köprüye bağlayan S-2 kesimi esneklik özelliği göstermektedir (1). (Şekil 2.7)



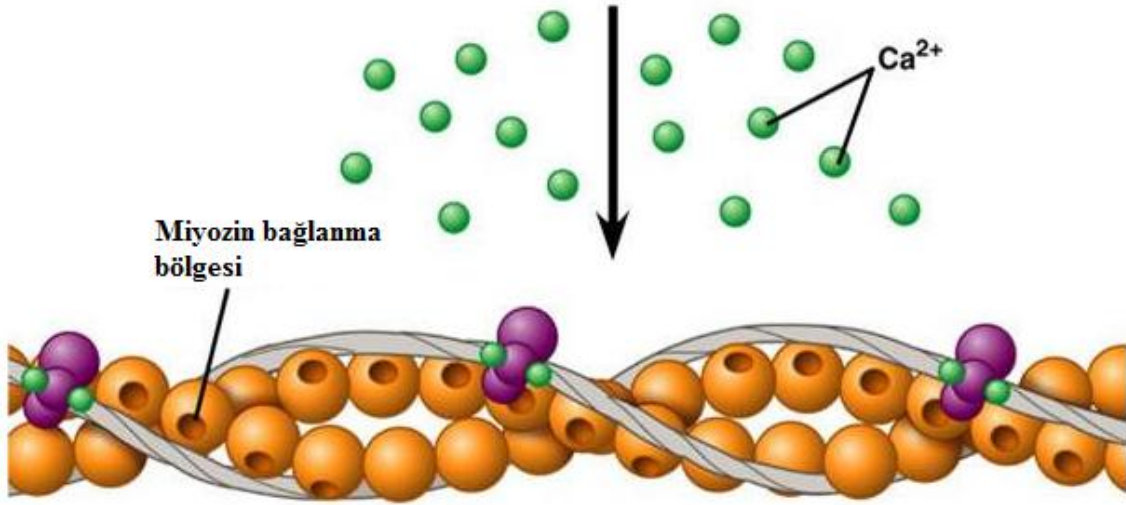
Şekil 2.7 A) Miyozin molekülünün, hafif ve ağır meromyozinden oluşan yapısı, kuyruk ve baş bölgelerinin gösterimi. B) Kalın miyozin filamentinde miyozin molekülleri baş kesimlerinin spiral düzenlenimi (1).

2.2.2 Aktin Filamentleri

Uzunlukları 1,5 μm , kalınlıkları 5 nm kadar olan ince aktin filamentleri üç farklı bileşenden meydana gelmektedir. Bileşenlerden biri ikili sarmal yapıdaki F-aktin proteini olup, bu protein globüler yapıdaki 42000 molekül ağırlıklı G-aktin moleküllerinin polimerizasyonundan oluşmuştur. G-aktin moleküllerine ATP bağlanabildiği, polimerizasyon sırasında ATP'nin ADP ve inorganik fosfata hidroliz olduğu, hidroliz sonrası ADP'nin aktine bağlı kaldığı anlaşılmıştır. Aktin filamentindeki aktif bölgelerin, G-aktin moleküllerine bağlı kalan ADP moleküllerince oluşturuldukları sanılmaktadır. İkinci bileşen yine ikili sarmal yapıda olan tropomyozin zinciridir. Üçüncü bileşen troponin (Tn) molekül ağırlığı 79000 dalton olan globüler bir proteindir ve üç alt bileşenden meydana gelmiştir (Şekil 2.8). Bunlardan Tn-I aktine, Tn-T tropomyozine, Tn-C ise Ca^{+2} iyonlarına ilgi gösterir (1).



(a) Miyozin bağlanma bölgeleri kapalı



(b) Miyozin bağlanma bölgeleri açık

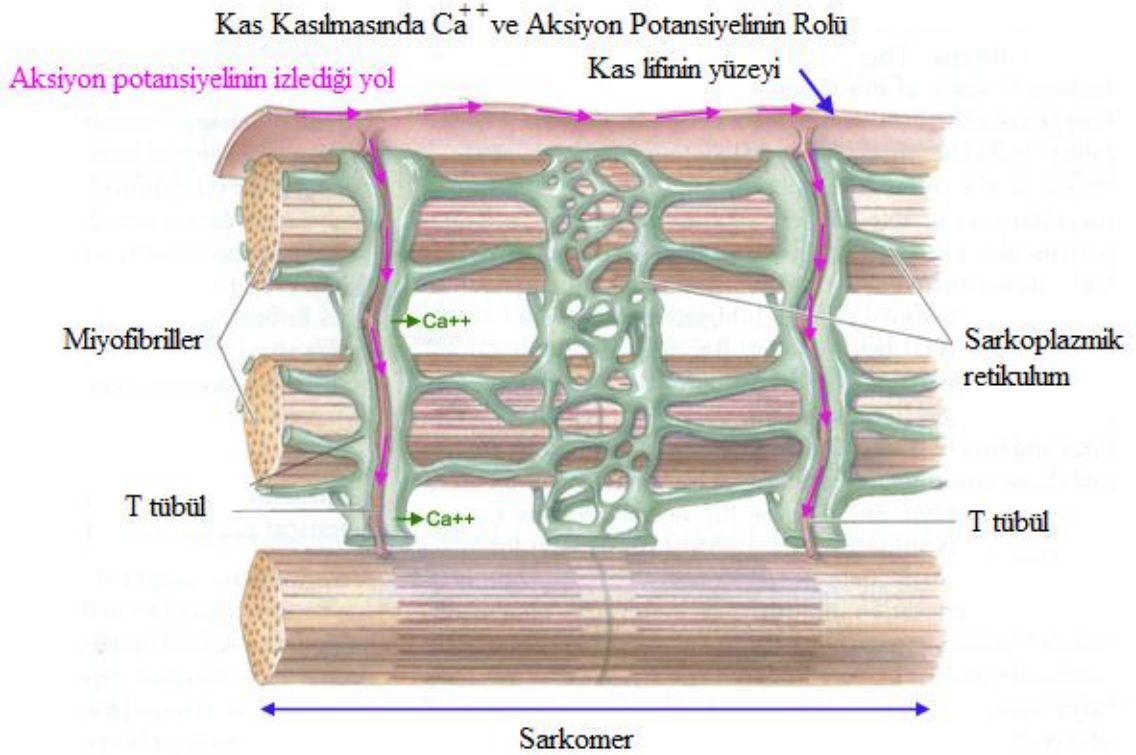
Şekil 2.8. Miyozin-Aktin filamentleri etkileşimi. a: Miyozin bağlanma bölgeleri kapalı, b: Miyozin bağlanma bölgelerinin açık olduğu görülmektedir (79).

2.2.3. İskelet Kaslarında Uyarılma-Kasılma Çiftlenimi

Bir iskelet kas lifi normal olarak orta bölümüne yakın bir yerden miyelinli bir sinirle innerve edilmiştir. Sinir-kas kavşağında sinaptik iletim sonrası kas lifi zarında oluşan son plak potansiyeli yeterli bir düzeye ulaşırsa, kas lifi zarında bir AP'i gelişir ve yayılır. Kas lifinde AP'nin gelişmesinden kasılmanın başlamasına kadar geçen olayların tümü uyarılma-kasılma çiftlenimi olarak adlandırılır. Kas AP'nin süresi 1-5 ms, iletim hızı ise nöronlardakine göre oldukça düşük ve 3-5 m/s kadardır (1).

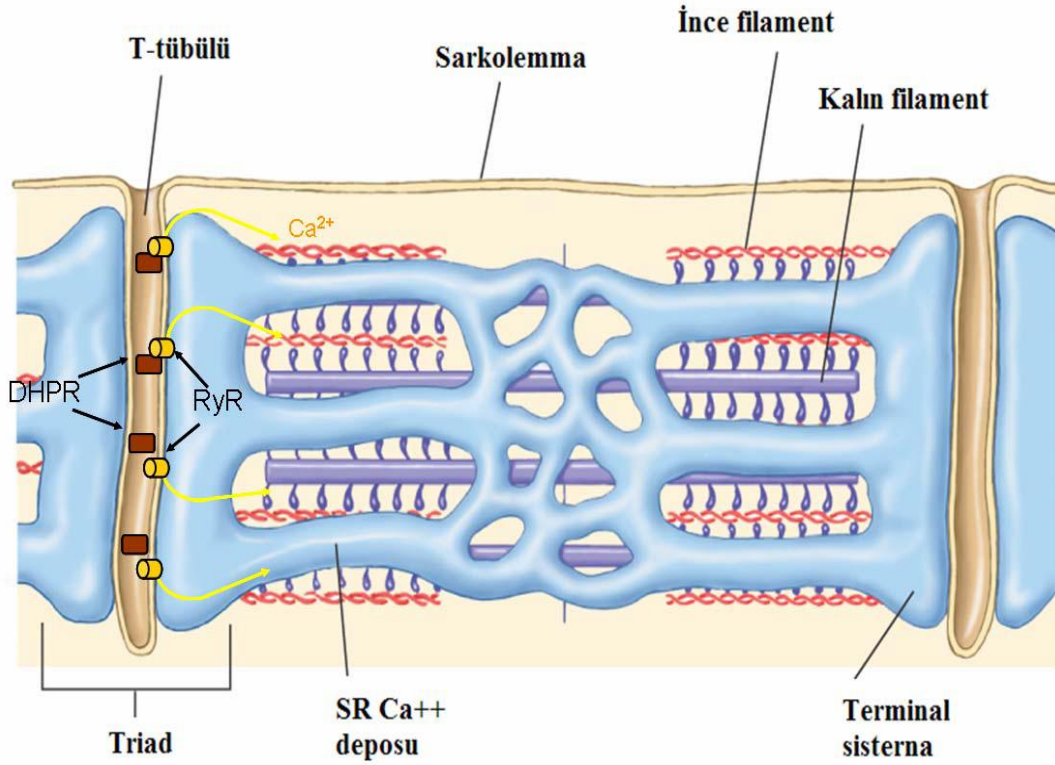
İskelet kaslarında kasılma için gerekli Ca^{+2} iyonlarının en önemli kaynağını sarkoplazmik retikulum (SR) oluşturmaktadır (Şekil 2.9). Kas lifi yüzey zarında yayılan

depolarizasyon, zarın lif içine uzantıları olan enine borucuklar veya kısaca T-sistem adı verilen oluşumlar aracılığı ile kısa sürede iç bölgelere de ulaşmaktadır. T-sistem zarları ile yakın temas halinde bulunan SR'un keseciklerinden Ca^{+2} salınmasında üç farklı mekanizmanın işlediği saptanmaktadır (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Kas lifi yüzey zarında yayılan depolarizasyon, zarın lif içine uzantıları olan enine borucuklar (T-sistemi) (77).

1. **Ca^{+2} tetiklemeli Ca^{+2} salınması:** Depolarizasyonla hücre dışından hücre içine giren Ca^{+2} iyonlarının etkisi ile SR'daki Ca^{+2} kanalları açılmakta, depolanmış Ca^{+2} iyonları hücre içi ortama salınmaktadır (Şekil 2.10).
2. **Elektriksel etkileşim:** Depolarizasyonun T-sistem aracılığı ile kas lifi içlerine kadar yayılması sonucunda, SR'un yakın bölgesindeki voltaja duyarlı Ca^{+2} kanal kapılarının açılmasına neden olmaktadır.
3. **Mekanik etkileşim:** Bazı kas liflerinde, T-sistem ile SR zarlarının temas halinde olduğu yerlerde proteinlerin sürtünmelerine dayalı mekanik etkileşimlerle de, SR'daki Ca^{+2} kanallarının açılabilirdiği gösterilmiştir (1).



Şekil 2.10. Bir kas lifinde Dihidropiridin (DHPR) ve Ryanodin (RyR) reseptörlerinin gösterilmesi ve Ca^{+2} iyonlarının ortama salınması (9,80).

İskelet kası hücrelerinde, kasılmanın başlatılmasında hücre içi mesajcı görevini üstlenen Ca^{+2} 'un sağlanmasında SR'dan salınma tek kaynak olmayıp, hücre dışı ortam da önemli bir Ca^{+2} kaynağıdır. Depolarizasyon sırasında dış zardaki voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının açılması ile kas hücresi içerisine Ca^{+2} iyonları girebilmektedir. Ancak bu kaynaktan Ca^{+2} sağlanmasında, sarkolemmada bulunan Na^{+} - Ca^{+2} değiş tokuş mekanizmasının da önemli rolü olduğu anlaşılmıştır. Bu mekanizmanın Na^{+} , Ca^{+2} iyonlarından hangisi için hücre içi ve dışındaki mol başına serbest enerji farkı büyükse o iyonun serbest enerji farkından enerjisini aldığı ve diğer cins iyonu yokuş yukarı taşıdığı saptanmıştır. Dinlenme koşullarında değiş tokuş mekanizmasının Na^{+} dağılımından enerjilenerek Ca^{+2} iyonlarını hücre dışına aktif taşıdığı, depolarizasyonu

izleyerek ise Ca^{+2} dağılımından enerjilenecek Ca^{+2} iyonlarını içeri pasif olarak taşıırken, karşıt Na^{+} iyonlarını da dışarı taşıdığı belirlenmiştir (1).

Sarkoplazmadaki serbest Ca^{+2} düzeyi yüksek kaldığı sürece kas kasılması devam eder. Ancak SR çeperlerinde sürekli çalışan aktif kalsiyum pompası Ca^{+2} iyonlarını retikulumun keseciklerine geri pompalamakta ve miyofibriller yakınlarındaki Ca^{+2} konsantrasyonunu oldukça düşük bir düzeye indirmektedir.

Gevşeme sırasında hücre içi Ca^{+2} düzeyinin düşürülmesinde de Na^{+} - Ca^{+2} değiş tokuş mekanizmasının rol aldığı anlaşılmıştır (1).

2.2.4. İskelet Kasının Kasılma ve Gevşemesindeki Aşamalar

A. Kasılmanın bölümleri:

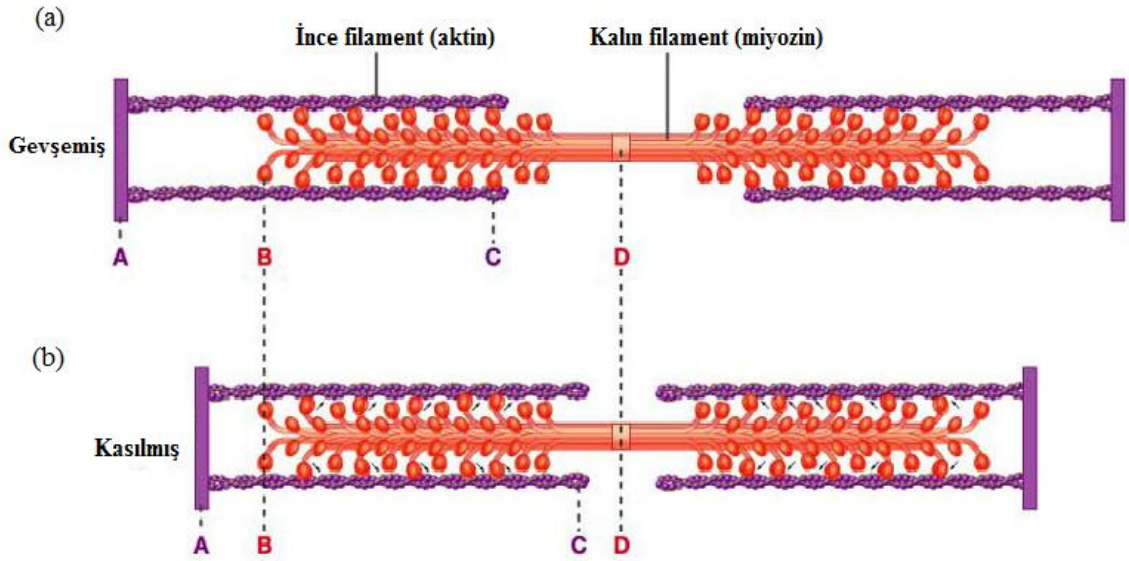
1. Aksiyon potansiyelinin, motor sinir boyunca kas lifindeki sonlanmasına kadar yayılması.
2. Nöron deşarjı ve motor son plakta asetilkolin transmitter salınması.
3. Asetilkolinin nikotonik asetilkolin reseptörüne bağlanması.
4. Son plak zarında Na^{+} ve K^{+} iletkenliğinin artması.
5. Son plak potansiyelinin oluşması.
6. Kas liflerinde AP'inin oluşumu.
7. Depolarizasyonun T tübülleri boyunca içeri doğru yayılması.
8. T-tübülleri birer Ca^{+2} kanalı olan dihidropiridin reseptörleri (Şekil 2.10) içerirler. Bu reseptörler SR'daki Ca^{+2} salınma kanalı olan Ryanodin reseptörlerine (Şekil 2.10) mekanik olarak bağlıdır. Aksiyon potansiyeli T-tübüllerine gelince bu mekanik bağlantıdan Ca^{+2} sitozole salınır. Bunun sonucu olarak sitozolde artan Ca^{+2} troponin C'ye bağlanır.
9. Ca^{+2} 'un sarkoplazmik retikulumun terminal sisternalarından serbestlenmesi ile kalın ve ince filamentlere difüzyonu.
10. Ca^{+2} 'un Troponin C'ye bağlanması, aktin üzerindeki miyozin bağlayan bölgelerin açılması.
11. Aktin ve miyozin arasında bağlantıların oluşması ve ince filamentlerin kalın filamentler üzerinde kayması ile kasılmanın meydana gelmesi (Şekil 2.11-b) (1).

B. Gevşemenin bölümleri:

- Ca^{+2} 'nin SR'a geri pompalanması (aktif transport, ATP kullanılır).

Bu transport inhibe edilirse, AP'i olmadığı halde gevşeme olmaz, bu sürekli kasılı kalma haline **kontraktür** denir.

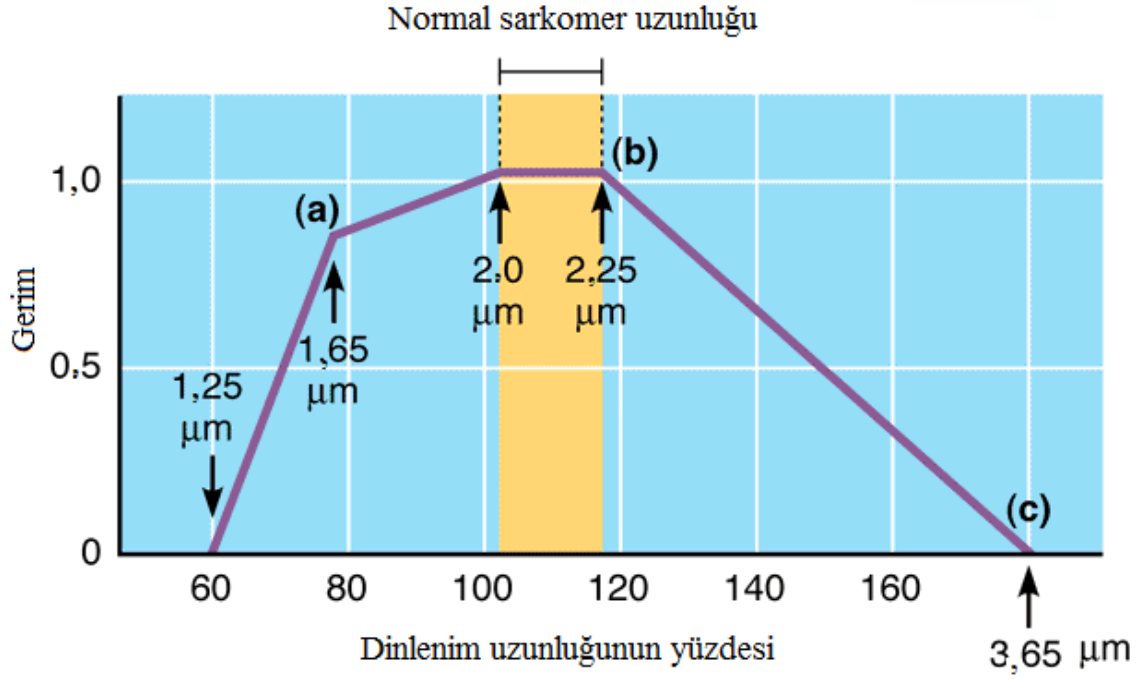
- Ca^{+2} 'nin troponinden ayrılması
- Aktin ve miyozin etkileşiminin son bulması (Şekil 2.11-a), (1).



Şekil 2.11. Gevşeme (a) ve kasılma (b) durumunda aktin ve miyozin etkileşimi (81).

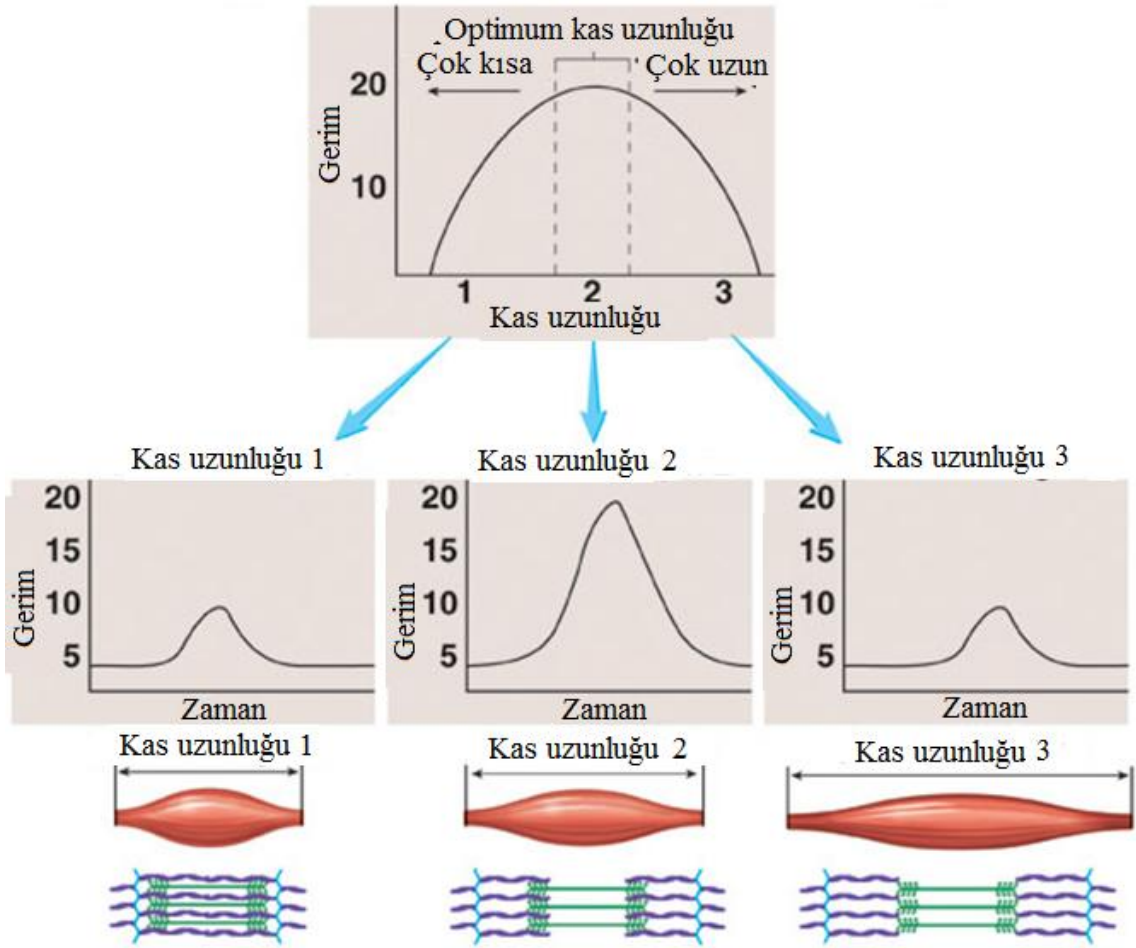
2.3. Kas Uzunluğu ve Gerim

Kas tarafından oluşturulan kuvvetin miktarı kasın uyarılmadan önceki uzunluğuna bağlıdır. Gerim ve dinlenme uzunluğunun yüzdesi olarak hesaplanan sarkomer uzunluğu arasında Şekil 2.12'deki gibi bir ilişki vardır. Sarkomerlerin boyu, dolayısıyla da kas fibrilinin boyu dinlenme uzunluğunun %80-120 (özellikle %100-120) arasındayken aktin ve miyozin filamanları arasındaki etkileşim maksimum düzeyde olduğundan, kuvvet üretebilme yeteneği de maksimum seviyededir.



Şekil 2. 12. Kasılma ve gevşeme durumundagerim dinlenim uzunluğu ilişkisi (82).

Kaslar doğal yapıları gereği tendonlar ile kemiklere bağlı olduğundan kas sarsı eğrisi Şekil 2.13'deki görüntüyü almaktadır.



Şekil 2. 13. Kasılma ve gevşeme durumunda gerim-kas uzunluğu arasındaki ilişki (83).

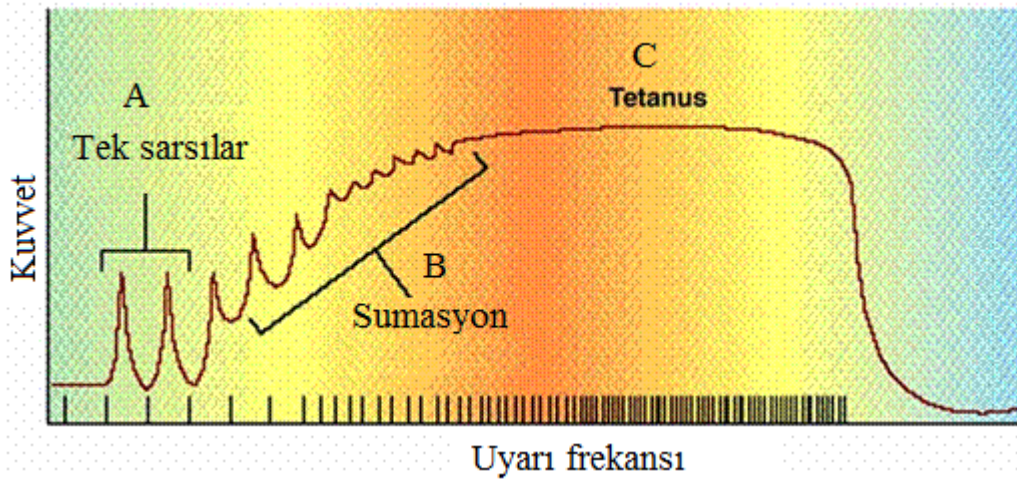
2.4. Kasılma Kuvvetinin Tedrici Artışı

İki veya daha fazla kasılmanın toplanması ile daha kuvvetli kasılmalar elde edilmesi mümkündür. İskelet kasında sumasyon adı verilen bu olay ikiye ayrılır:

1. Motor birim sumasyonu: Birden fazla motor birimin kasılmaya katılması ile kuvvetli kasılma elde edilmesi söz konusudur. Bu sumasyonu elde etmek için uyarının şiddeti artırılır.
2. Frekans (veya dalga) sumasyonu: Aynı motor ünite arka arkaya uyarılarak kasılmalar toplanır ve daha kuvvetli bir kasılma elde edilir. Bu sumasyonu elde etmek için uyarı frekansı artırılır.

2.4.1. Frekans (veya Dalga) Sumasyonu-Aynı Uyarı Şiddeti, Dereceli Kas Yanıtı

- Uyarı frekansında artış
 - Dalga sumasyonu (kasılma üzerine tek tek sarsıların toplam katkısı)
 - Bir uyarının uygulama hızında artış (frekans)
 - Art arda gelen sarsıların genliklerinde artış
 - Bir sonraki uyarı ulaşmadan önce gevşeme süresi kalmaması
- Tetanus (sürekli kasılma)
 - Bir diğeri tarafından izlenen kasılma
 - Kasın, uyarı frekansının artmış olması nedeniyle dinlenim evresine dönememesi ve böylece etkilerin toplanması
- Yorgunluk
 - Doğal olarak kasın ATP ve oksijeni biter, böylece lifler kasılamaz.



Şekil 2. 14. Kas kasılmaları. A: tek tek kasılmalar, B: dalga sumasyonu, C: tetanik kasılma (84).

2.5. Diyafram Kası ve Frenik Sinir Anatomisi

Diyafram, karın ve göğüs boşluklarını birbirinden ayıran kas, tendon ve fibröz zarlardan oluşmuş bir septumdur. Göğüs boşluğuna doğru konvektir. Diyaframın “apertura torasica inferior”a tutunan periferik kısmı müküler yapıdadır. Diyaframın

müsküler kısmı, “pars sternalis diafragmatis” “pars kostalis diafragmatis” ve “pars lumbalis diafragmatis” olarak üç bölüme ayrılır (85, 86).

Sternal kısım, ksifoid arka yüzünden başlayan iki müsküler band şeklindedir. Kostal kısım, son altı kaburganın kıkırdakları ve buraya yakın kemik bölümlerinden başlar ve “transversus abdominus” kasıyla birleşir. Lumbal kısım, sağ ve sol krus olarak adlandırılan tendinöz yapılardan oluşur. Bu iki yapı “hiatus aortikus”u çevreler ve çoğu kez zayıf olarak görülür (86).

Diyafiramın bu üç bölümü “sentrum tendineum”da sonlanıp, sentrum tendineum, diyafram kubbesinin ortasında ince, fakat kuvvetli liflerin birleşmesi sonucu oluşan bir yapıdır (85).

Foramen v. cava, diyaframda en yukarıda bulunan delik olup, 9. ve 10. torakal vertebralar arasındaki hizada bulunur. Bu delikten v. cava inferior ile birlikte sağ n. frenikus geçmekte olup, servikal pleksusun bir dalı olan n. frenikus diyaframın innervasyonunu sağlar (85, 87).

Diyafiramın torakal yüzeyine aa. phrenica inferiores dağılırlar. Bunlar aortanın dallarıdır. Ayrıca muskulofrenik ve perikardiyofrenik arterler diyaframı beslerler. Venleri aynı ismi alan yandaş venlerdir. Frenik sinir diyaframı çalıştıran tek motor sinirdir. Diyaframın duyuuları frenik sinir ve torakoabdominal sinirler tarafından taşınır. Diyafram istemli olarak çalışan çizgili bir kastır, fakat bu istemlilik belirli bir dereceye kadardır hiç kimse boğulma noktasını aşıncaya kadar soluğunu tutamaz.

2.5.1. Diyafram Kaslarının Lif Tipi Yapısı

Tüm diyafram kası lif tip dağılımının % 40 tip I, %27 tip IIa, ve %34 tip IIb olduğu bulunmuştur (88). Diyafram kas lifleri, tip I (yavaş-oksidatif), tip IIa (hızlı-yüksek oksidatif, glikolitik) ve tip IIb (hızlı-düşük oksidatif, yüksek glikolitik) olarak 3 grupta incelenebilmektedir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Diyafram kas lif tipi dağılımı ve özellikleri (88).

Özellikler	Tip I	Tip IIa	Tip IIb
Çapları	Küçük	Büyük	Küçük
Kasılma ve gevşeme hızları	Yavaş (yavaş miyozin ATPaz izoenzim aktivitesinden dolayı)	Hızlı ve kuvvetli	Hızlı
Sarkoplazmik retikulum sayıları ve kapasiteleri	Tip II'ye göre daha az	Yüksek (kalsiyum pompalama hızları yüksek)	Yüksek
Mitokondri sayısı ve büyüklüğü	Fazla	Düşük	Çok Fazla
Kas lifi başına düşen kapiller sayısı	Fazla	Düşük	Fazla
Miyoglobün miktarı	Fazla	Düşük	Fazla
Oksidatif kapasite	Yüksek	Düşük	Çok yüksek
Renkleri	Kırmızı	Beyaz	Kırmızı
Yorgunluğa karşı	Dirençli	Çabuk yorulurlar	Orta (Tip I ve Tip II arasında yer alır)

2.6. İntrasellüler (Hücre İçi) Dinlenme Membran Potansiyeli

Dinlenme durumundaki bütün hücreler, hücre içi dışına göre negatif bir potansiyele sahip olup, bu potansiyele dinlenme membran potansiyeli denmektedir (1, 89). Farklı hücrelerde -20 ile -100 mV arasında değişmektedir. Sıçan diyafram kası için dinlenme membran potansiyelinin -71 mV (90), -78 mV (91) ve -82 mV (92) gibi değerler aldığı görülmüştür.

2.7. İntrasellüler (Hücre İçi) Aksiyon Potansiyeli

Çizelge 2.4, kararlı durum potansiyeli -90 mV olan memeli kas hücrelerinin yaklaşık iyon konsantrasyonları ve iyon denge potansiyellerini göstermektedir (1). “Hücre zarlarının uygun koşullarda uyarılması sonucu, hücre içi potansiyel, dinlenme değerinden +30 ile +50 mV arasında pozitif bir değere kadar yükselebilmekte ve ardından dinlenme durumuna geri dönmektedir. Bir cins hücre için aynı değişim desenini oluşturan bu değişikliğe aksiyon potansiyeli denir” (1). Uyarılabilen bir hücre (veya doku), fiziksel, kimyasal veya elektriksel bir uyarın ile depolarize edilebilir.

Bunun için uyaran şiddetinin hücreye yeteri kadar pozitif yüklü iyon geçişine yol açması gerekir. Hücre içine (+) yük girişiyle, membran potansiyeli ateşleme seviyesine kadar (-50 veya -60 mV) değiştirilebilirse, Na⁺'un bütün voltaja bağlı kanalları açılacağından; Na⁺, hızla hücre içine akar ve bir aksiyon potansiyeli başlar. İyonların voltaj-kapılı kanallardan hareket etmesi sonucu aksiyon potansiyeli ortaya çıkar. Genellikle Na⁺, bazı durumlarda da Ca⁺² iyon kanallarının bu iyonların hücre içine hareketine izin vermesi membranı depolarize etmektedir. Membranın repolarizasyonundan sorumlu en önemli iyon ise K⁺'dur.

Çizelge 2.4. Memeli kas hücrelerinin kararlı durumlarında yaklaşık iyon konsantrasyonları ve iyon denge potansiyelleri (1).

İyon Cinsi	Konsantrasyon		Denge Potansiyeli (mV)	
	Hücreler arası sıvı (μmol/cm ³)	Hücre içi sıvı (μmol/cm ³)		
K A T Y O N	Na ⁺	145	12	+66
	K ⁺	4,1	150	-96
	H ⁺	3,8.10 ⁻⁵	13.10 ⁻⁵	-32
	Ca ⁺²	1,5	10 ⁻⁴	+129
	Diğerleri	5	-	-
A N Y O N	Cl ⁻	118	3,9	-90
	HCO ₃ ⁻	27	12	-21
Kararlı durum potansiyeli			-90 mV	

Diyafraam kasında yapılan bazı çalışmalarda, mikroelettrot yöntemi ile kaydedilen aksiyon potansiyeli genlik değerlerinin 85 mV (93), 90 mV (94) ve 80 mV (95) olduğu bildirilmiştir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Sağlanması

Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınmış olan çalışmamız için, 24 günlük (sütten yeni kesilmiş) (96), 29 adet Wistar Albino sıçan (15 dişi ve 14 erkek) standart ışık (sirkadyen ritme uygun olarak 12 saat gece, 12 saat gündüz), oda sıcaklığı (22-25 °C) (97) ve mevsimsel koşullarda, her kafeste 7 adet olacak biçimde plastikten yapılmış kafeslerde (20x35x45 cm boyutlarında) tutulmuşlardır. İçme suyu yukarıdan sarkıtılan, ucunda pipet bulunan cam şişelerde istenildiğinde ulaşılabilecek biçimde verilmiş, hazır palet yem kullanılmış ve her gün sıçanların kafesleri temizlenmiştir. Çalışmanın başlangıcında, bitiminde ve her ay olacak şekilde sıçan kütleleri kaydedilmiştir.

3.2. Çalışma Grupları ve ELF-Manyetik Alan Uygulanması

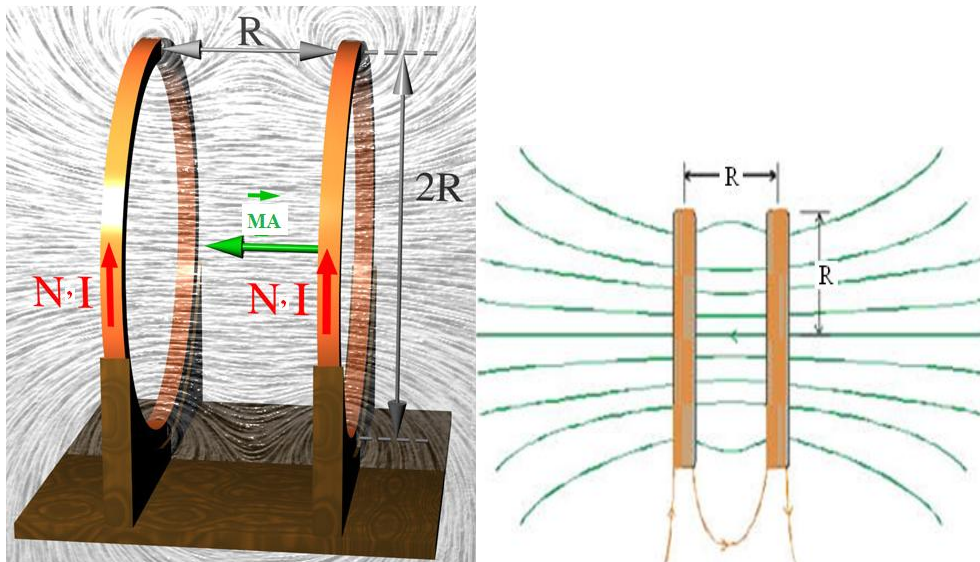
Çalışmada kontrol grubu sıçanları (7 dişi ve 7 erkek) 210 gün (7 ay) boyunca 50 Hz frekanslı sinüzoidal MA oluşturan Helmholtz bobin sistemi içerisinde, 30x20x13 cm ebatlarında plastik kafeslerde sistem çalıştırılmadan günün aynı zaman diliminde 4 saat bekletilmiştir. Manyetik alan maruziyet grubu ise (8 dişi ve 7 erkek) günün aynı saatlerinde sistem çalıştırılarak aynı süre boyunca ve aynı ebatlardaki plastik kafesler içinde 1,5 mT şiddetinde ELF-MA'a maruz bırakılmıştır. Çalışmadaki gruplar, uygulanan ELF-MA şiddetleri, maruziyet süreleri ve gruplardaki sıçan sayıları Çizelge 3.1'de verilmektedir.

Çizelge 3.1. Gruplara uygulanan ELF-MA şiddeti, uygulama süresi ve her bir gruptaki sıçan sayısı

Gruplar	ELF-MA Şiddeti (mT)	Uygulama Süresi (saat/gün)	Toplam Uygulama Süresi (gün)	Denek Sayısı (n)
Kontrol Dişi (KD)	0	4	210	7
Kontrol Erkek (KE)	0	4	210	7
ELF-MA Dişi (ELF-MAD)	1,5	4	210	8
ELF-MA Erkek(ELF-MAE)	1,5	4	210	7

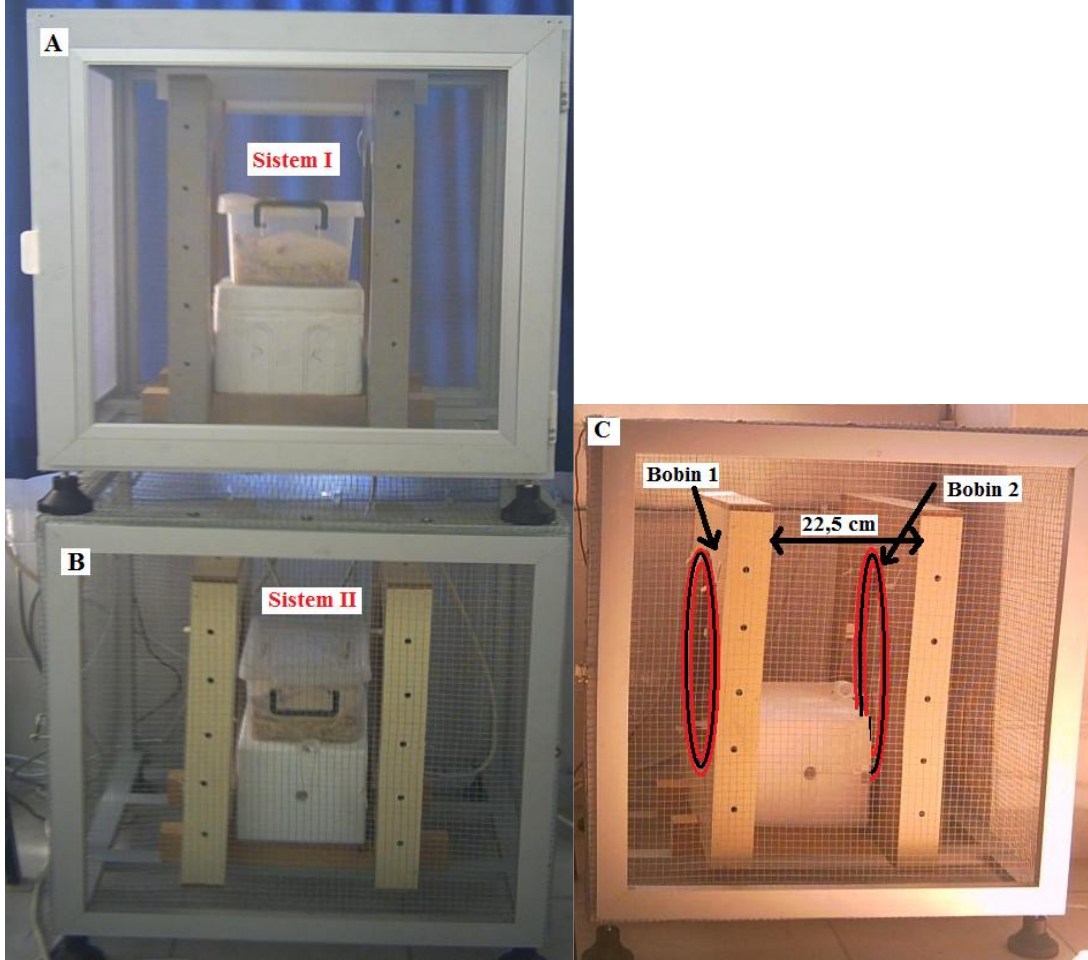
3.3. Homojen ELF-Manyetik Alan Oluşturan Helmholtz Bobin Sistemlerinin Özellikleri

Çalışmada ELF-MA oluşturmak amacıyla, bobin sisteminin merkezinde, radyal eksen boyunca oldukça homojen ve sabit MA oluşturan “Helmholtz Bobin Sistemi” kullanılmıştır (Şekil 3.1). Bu sistem aynı özellikte iletken malzemedен aynı sarım sayısı ve aynı yarıçapta hazırlanmış seri bağlı iki bobinden oluşmaktadır (2). Sistemi oluşturan iki adet bobin birbirinden yarıçapları kadar uzakta konumlandırılmış ve her iki bobine elde edilmek istenen MA miktarı ile orantılı bir akım uygulanmıştır (21,97,98).



Şekil 3.1. Helmholtz bobin sistemi ve sistemde oluşan manyetik alan çizgileri. N: sarım sayısı, I: bobinlerden geçen akım, R: yarıçap (99, 100).

Deney hayvanlarının, mevsim koşulları ve sirkadyen ritm değişikliklerinden en az etkilenmeleri, araştırmanın standart koşullarda gerçekleştirilebilmesi ve bu nedenle kısa sürede fazla sayıda hayvan ile çalışılabilmesi için araştırmamızda 2 adet Helmholtz bobin sistemi kullanıldı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Faraday kafesi içerisindeki Helmholtz bobin sistemleri ve sistemlerin merkezindeki plastik sıçan kafesleri. A:Sistem I, B: Sistem II ve C: Sistemde kullanılan bobinlerin yandan görünümü.

Faraday kafesi (70x65x65 cm) içerisindeki bobinler akım transformatöründen [VARIAC (Variable Transformer) Kutulu Varyak 2A Mühendislik Transformatör Regülatörü] sağlanan akımla (sistem I: 2,4 A ve sistem II: 3,5 A) beslenip elektriksel özellikleri ölçüldü. Bobinlerin akım besleme devresi ile olan bağlantısı on-off anahtarlarıyla sağlandı. Sistem I, 2,2 mm'lik emaye bakır telden 160 sarım olup; sistem II

ise, 0,5 mm'lik emaye bakır telden 1550 sarımdır. Sistem I ve II'de 50 Hz frekanslı 1,5 mT şiddetinde MA oluşturulduktan sonra, Gaussmetre (Sypris Test Measurement F.W. Bell 6010 Model Gaussmeter/Teslameter) ile oluşan MA şiddetleri ölçülüp, sıçanlar bu alana maruz bırakıldı. Gaussmetrenin kalibrasyonu için Zero Flux Chamber probu kullanılıp, sistemlerde sıcaklık ölçümleri ise thermocouple termometre (Gaussmetre ve multimetrenin sıcaklık ölçme problemleri) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2 Helmholtz bobin sistemlerinin tasarım özelliklerini göstermektedir.

Çizelge 3.2. Helmholtz bobin sistemlerinin (Sistem I ve II) tasarım özellikleri.

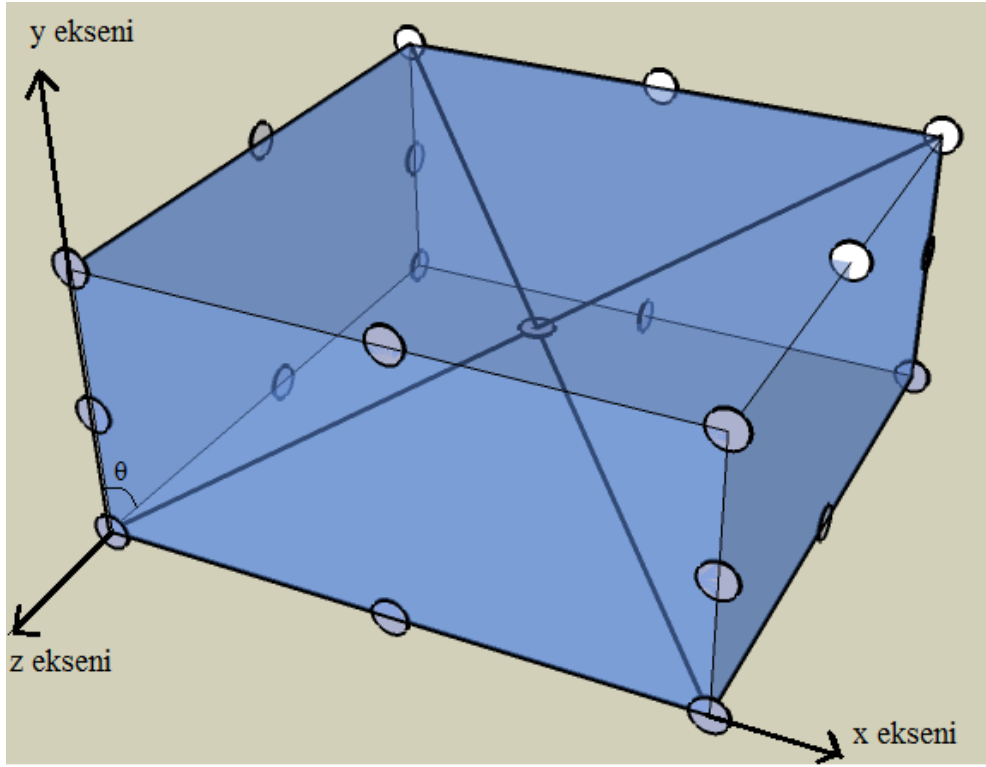
	Sistem I	Sistem II
Özdirenç ρ (Ω m)	$1,72 \times 10^{-8}$	$1,72 \times 10^{-8}$
İletken çapı (mm)	2,2	0,5
Sarım sayısı (N)	160	1550
H (mm)	41	47
A (mm)	205	220
B (mm)	230	225
r (cm)	21,5	22
R (Ω)/ bobin	2	187
R_T (Ω)/ bobin çifti	4	374

H: Bobin sarım kalınlığı, A: Bobin iç yarıçapı, B: Bobin dış yarıçapı, r: Bobin ortalama yarıçapı, R: Bobinin hesaplanan direnci, R_T: Bobin çiftinin hesaplanan toplam direnci.

Sistem I ve II'nin farklı noktalarında ölçümler yapılarak homojen MA oluşturup oluşturmadığı (homojenlik özelliği), sıcaklık özellikleri ve çalışma koşulları belirlendi. Ortam sıcaklığı deneyin birçok aşamasında ölçülüp, sistem içinde ve yakınında sadece $\pm 0,1$ °C'lik değişimlerin olduğu saptandı.

Sistemlerde eşzamanlı olarak farklı noktalarda kaydedilen MA ölçümleri ile sistemlerin homojenlik standardizasyonu kontrol etmek amacıyla, sistem I ve II'de

köşegenlerin kesiştiği nokta referans alınarak x, y ve z eksenleri boyunca (pozitif ve negatif yönlerde) farklı birçok noktada MA şiddet ölçümleri yapılmıştır. Hayvanların konulduğu kafes konumunda bütün köşegenlerde ve kenarların orta noktalarında, merkez ve merkez doğrultusundaki noktalarda MA şiddetleri ölçüldü (Şekil 3.3). Ölçüm alınan noktalar arasındaki MA şiddetinde yaklaşık $\pm 0,04$ mT'lık farklılıklar olduğu saptandı.



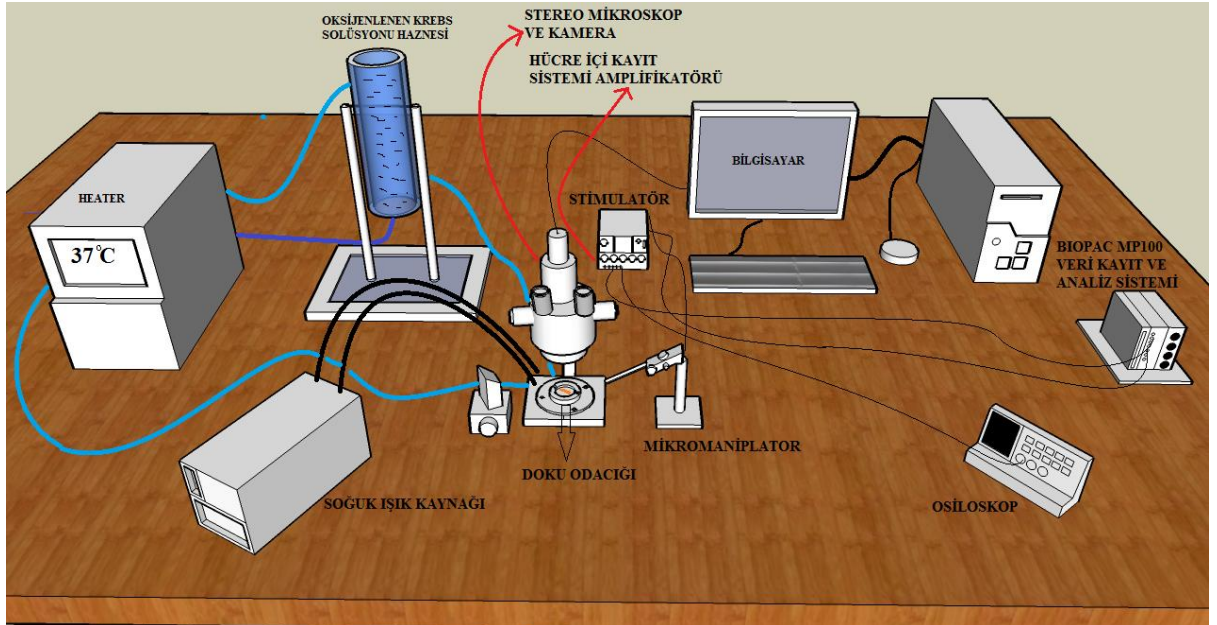
Şekil 3.3. Helmholtz bobin sistemi içinde sıçanların yerleştirildiği kafesdeki manyetik alan şiddetinin ölçüldüğü noktalar.

Çalışma boyunca deneyin birçok aşamasında (homojenlik testi, sıcaklık testi, ve sıçanlara MA uygulaması aşamalarında) laboratuarda kaydedilen doğal ortamın jeomanyetik alan değerinin 0,04- 0,05 mT olduğu saptandı.

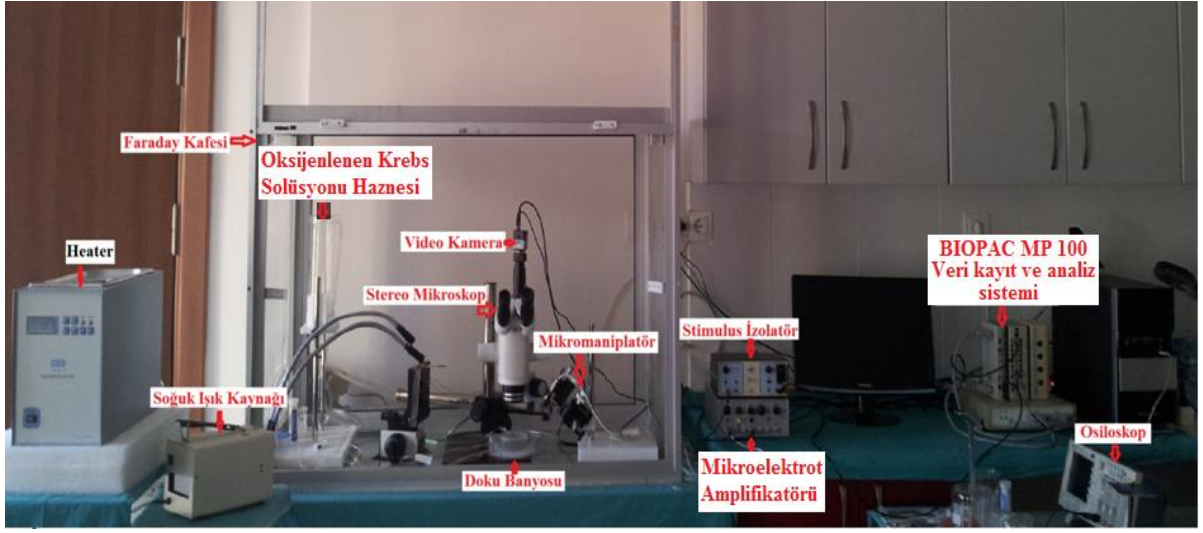
3.4. Hücre İçi Kayıt Sistemi ve Özellikleri

Kas hücrelerinin dinlenme membran potansiyelleri ve hücre içi AP'leri, hücre içi kayıt sisteminde (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5) kayıtlanmıştır. Hücre içi kayıt sistemi,

- Yüksek empedanslı amplifikatör (IE-251A Warner Instruments Company, Hamden, CT, USA) (101, 102, 103, 104)
- Doku kesitlerini görüntüleyen stereo binoküler mikroskop (Stereo Zoom Mikroskop/PZMIV –BS)
- Dijital kamera (MTV-32K9HP)
- Kasın yerleştirildiği banyo odacığı (22 ml’lik pleksiglas malzemeden yapıldı)
- Sıcaklık kontrollü doku perfüzyon sistemi (heating circulator/MODEL MAY WBC 3044-PR),
- Gaz karışım tüpü (%95 O₂ ve %5 CO₂)
- Stimulus izolator (SYS-A365 Constant Current Bipolar Stimulus Isolator, Rechargeable)
- Soğuk ışık kaynağı (NOVAFLEX Illuminator and Bifurcated Light - World Precision Instruments)
- Veri kayıt ve analiz sistemi (BIOPAC MP 100)
- Uyarıcı ve kaydedici elektrotların 3 boyutlu (x, y ve z düzleminde) hareket olanağı sağlayan iki adet mikromaniplatörden oluşmaktadır.



Şekil 3.4. Dinlenme membran potansiyeli ve hücre içi aksiyon potansiyeli kayıt sisteminin şematik gösterimi.



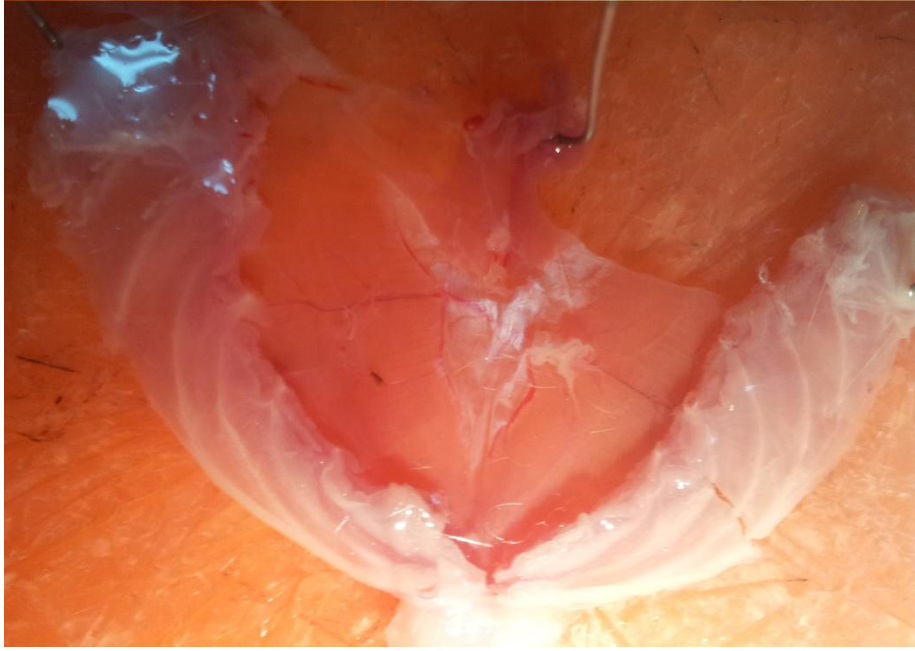
Şekil 3.5. Dinlenme membran potansiyeli ve hücre içi aksiyon potansiyeli kayıt sistemi.

Hücre içi kayıtlarda, hücre içine uyarı verilerek AP'i oluşturulabileceği gibi, elektriksel alan stimülasyonu (EAS) ile de hücre içi aksiyon potansiyelleri elde edilebilmektedir. Bu çalışmada, izole edilen diyafram kas şeritleri EAS ile uyarılarak, hücre içi AP'i elde edilmiştir. Uyarı oluşturmak amacıyla BIOPAC MP100 sisteminin stimülatöründen beslenen stimulus izolatorü (çıkış akımı 0,1-10 mA) kullanılmıştır.

3.5. Diyafram Kas Örneklerinin Alınması

Kronik olarak uygulanan ELF-MA maruziyet süresinin sonunda, kontrol ve deney grubunda yer alan sıçanlar, intramüsküler olarak ketamin ve xylazine karışımı ile (sırasıyla; 80 mg/kg ve 10 mg/kg) anestezi edilmişlerdir. Toraksları açılarak kalpten alınan kan, cam tüplere konulmuş ve elde edilen serum örnekleri biyokimyasal analizler yapıncaya kadar -80°C 'de derin dondurucuda saklanmıştır. Diyaframın çok hızlı bir şekilde izole edilmesine çalışılmış ve ilk olarak kasın elektron mikroskopik incelenmesinde kullanılması amacıyla sol ventral costal bölgeden (4x18 mm ebatlarında) bir şerit alınıp glutraldehit solüsyonu içerisine konulmuştur. Ardından izole edilen diyafram kas dokularından elde edilen diğer birkaç şerit (Şekil 3.6), sürekli

gazlanan (%95 O₂ ve %5 CO₂) Krebs çözeltisi [NaCl 118; KCl 4,8; CaCl₂ 2,5; MgSO₄ 1,2; NaHCO₃ 24; KH₂PO₄ 1,2; glukoz 11 (mmol/litre)] (105, 106, 107) içerisine alınırken, diğer kalan kas dokuları biyokimya analizlerinde kullanmak üzere cam tüplere konulmuş ve analiz yapılincaya kadar -80 °C’de derin dondurucuda bekletilmiştir.

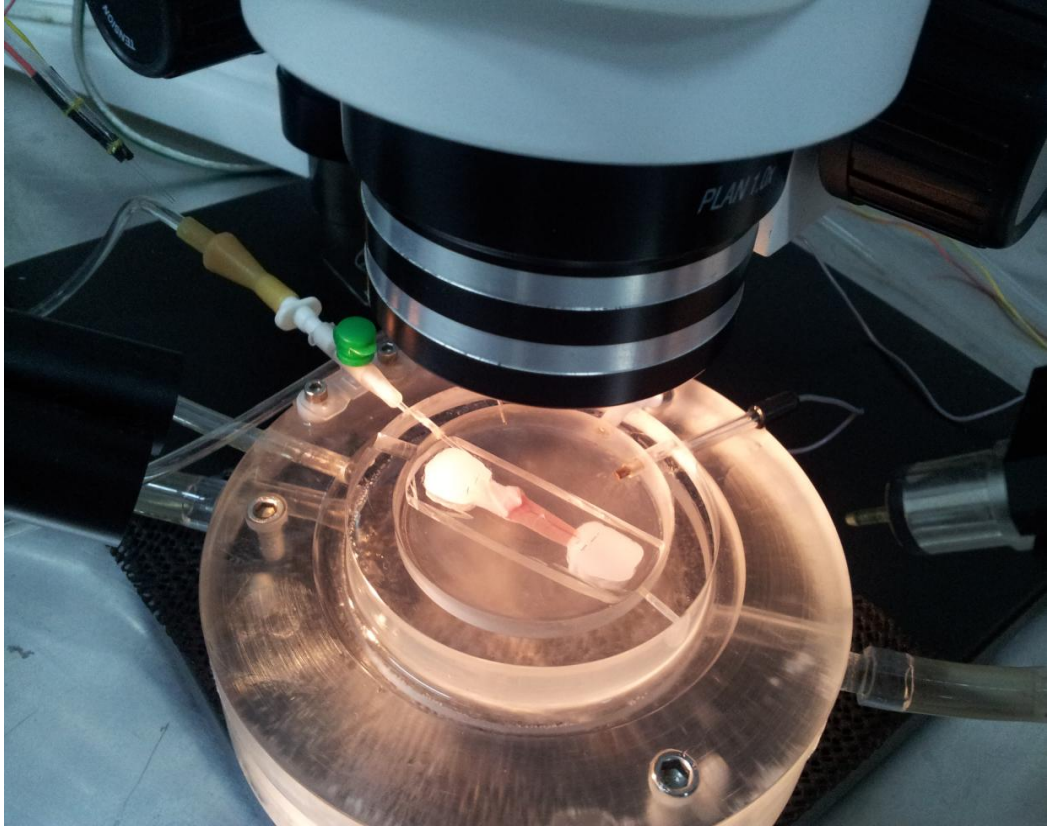


Şekil 3.6. İzole edilip Krebs solüsyonu içerisine alınmış sıçan diyaframı.

Gazlanan Krebs solüsyonu içerisindeki sol hemidiyaframda frenik sinirin kasa girdiği bölgeyi de içine alan 2 adet kas şeridi (yaklaşık 4-5 mm genişliğinde ve 17-20 mm uzunluğunda) izole edilerek hücre içi kayıt sistemine alınmış, dinlenim membran potansiyeli ve hücre içi AP’i kayıtları için kullanılmıştır. Sağ hemidiyaframın mid kostal bölgesinden izole edilen diğer 2 şerit (yaklaşık 4-5 mm genişliğinde ve 17-20 mm uzunluğunda) ise kas mekanik kayıtlarında kullanılmak üzere izole organ banyosu sistemine yerleştirilmiştir (108, 109).

3.6. Dinlenme Membran Potansiyeli ve Hücre İçi Aksiyon Potansiyeli Kayıt Tekniği

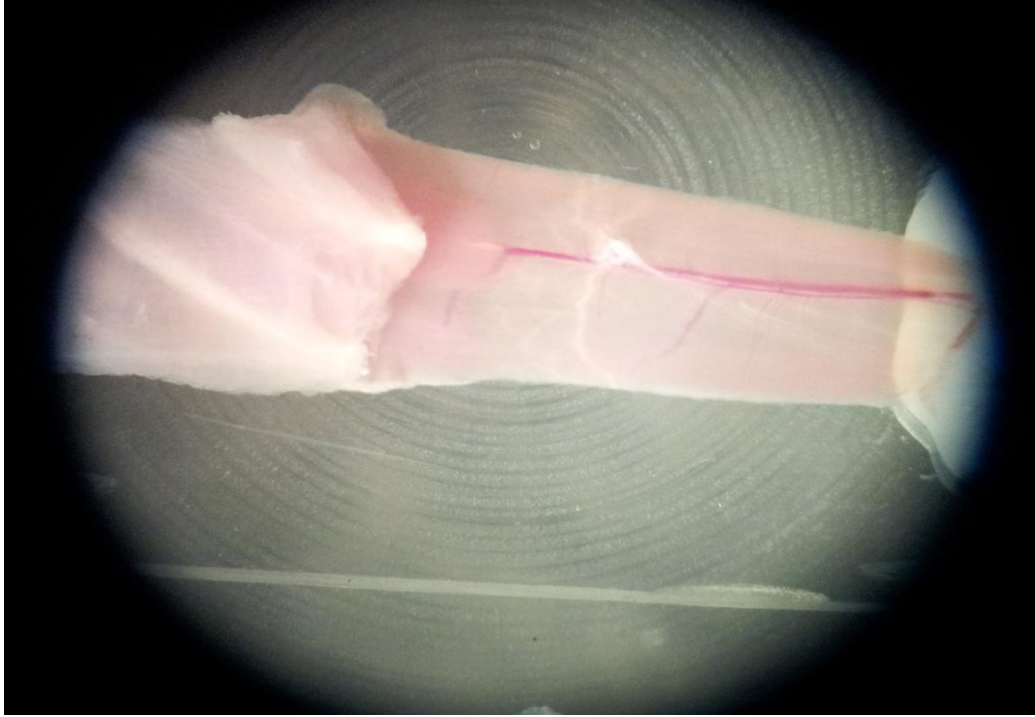
Sıçandan izole edilen diyafram kas şeritlerinin dengeye gelmesi için Krebs çözültisi içinde 1 saat beklendikten sonra, uçlarındaki tendon ve kosta kısımları ile birlikte iğne ile doku odacığının (22 ml hacimli kayıt odacığı) tabanındaki parafine sabitlenerek (Şekil 3.7), dinlenme membran potansiyelleri kaydedilmiştir (110).



Şekil 3.7. Kosta ve tendon kısımlarından doku odacığı tabanındaki parafin üzerine sabitlenmiş Krebs solüsyonu içerisindeki sıçan diyafram kas şeridi (yaklaşık 4-5 mm genişliğinde ve 17-20 mm uzunluğunda).

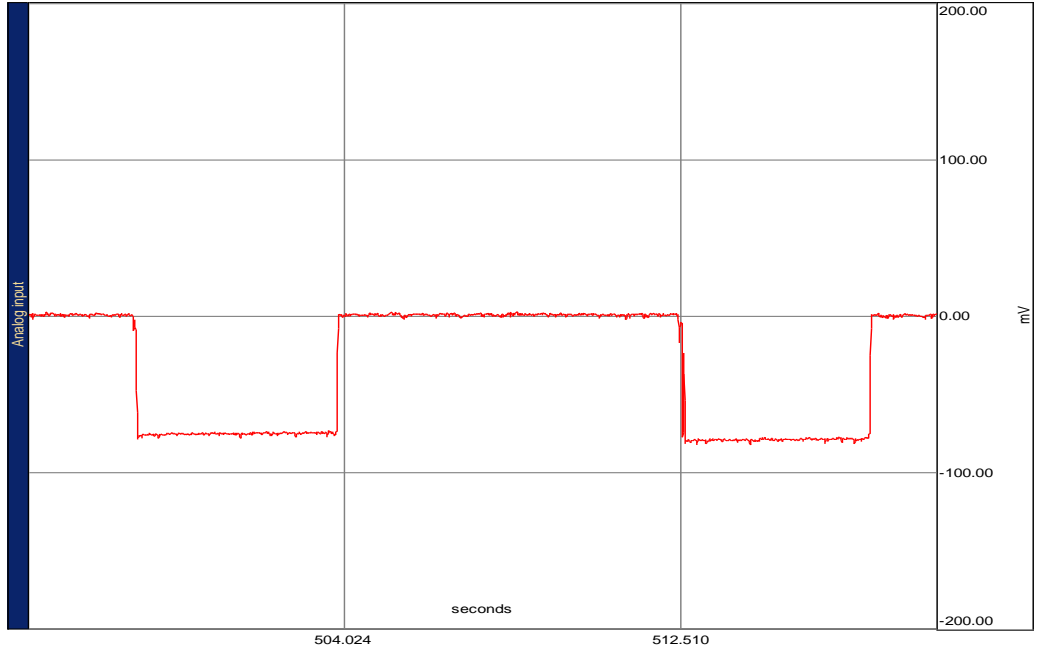
Bir rezervuarda pH'ı 7,3-7,4 olarak ayarlanmış olan Krebs solüsyonunun, sıcaklığı $37\pm 0,5$ °C'de tutularak sürekli (%95 O₂ ve %5 CO₂) gazlandırılıp, 2-3 ml/dk. hızında kas doku odacığına akışı sağlanmıştır (111, 112). Gazlanmanın rezervuarda yapılması sonucu doku odacığında gazlanmadan kaynaklanabilecek vibrasyon önlenmiştir. Hücre içi AP'i ve dinlenme membran potansiyelleri kaydedilirken

laboratuvar sıcaklığı 23 ± 1 °C arasında sabit tutulmuştur. Mikroelektrot kayıtları için izole edilip kosta ve tendon kısımlarından parafin üzerine sabitlenmiş sıçan diyafram kas şeridinin stereo mikroskop altındaki görüntüsü Şekil 3.8’de görülmektedir.



Şekil 3.8. Kosta ve tendon kısımlarından parafin üzerine sabitlenmiş sıçan diyafram kas şeridinin mikroskoptaki görüntüsü (yaklaşık 4-5 mm genişliğinde ve 17-20 mm uzunluğunda).

Mikroelektrot kayıtları için doku odacığı içerisinde referans elektrot olarak Ag/AgCl pellet elektrot kullanıldı. Mikroelektrotun cam pipetleri, dış çapı 1,5 ve iç çapı 1,12 mm olan ince duvarlı standart filamentli borosilikat kılcal cam borulardan (TW150F-4 World Precision Instruments, Inc.), mikroelektrot çekicilerle (PULL 1 World Precision Instruments, Inc.) uç dış çapları 0,5-1 μm olacak biçimde çekilerek elde edildi. Empedansı 5-25 M Ω arasında değişen mikroelektrotlar 3 M KCl ile doldurularak mikroelektrot tutucuya yerleştirildi (113, 114). Doku odacığı içerisinde Krebs çözeltisinde bekleyen diyafram kas şeridi içine mikroelektrotla girilerek her bir preparattan dinlenim membran potansiyeli (örnekleme hızı 200 örnek/s) kayıtları alındı (Şekil 3.9).



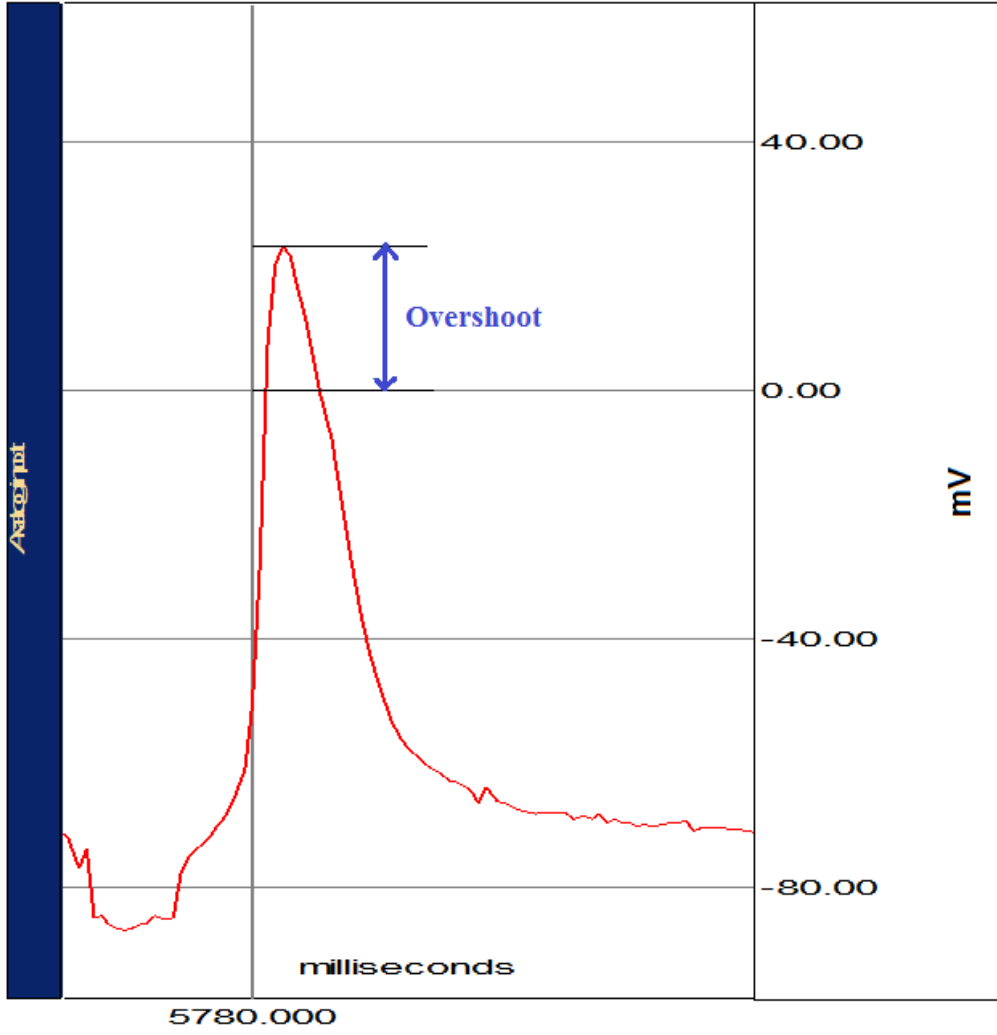
Şekil 3.9. Kosta ve tendon kısımlarından parafin üzerine sabitlenmiş sıçan diyafram kas hücresinden kaydedilen örnek bir dinlenme membran potansiyeli kaydı.

Aksiyon potansiyeli kayıtlanırken her bir diyafram kas hücresini uyarmak için 1 ms süreli ve şiddeti $2,71 \pm 1,77$ mA ile $7,69 \pm 1,69$ mA arasında değişen kare puls akımlar kullanılmış, kayıt sisteminin örneklem hızı 11.000 örnek/s olarak ayarlanmıştır. İzole sıçan diyafram kasından elde edilen hücre içi AP'i örneği Şekil 3.10'da görülmektedir.

Dişi ve erkekten oluşan kontrol ve deney gruplarındaki sıçanlardan kayıtlanan hücre içi AP'i eğrilerinden

- ✓ Tepe (peak) latans
- ✓ Genlik
- ✓ Depolarizasyon süresi
- ✓ Repolarizasyon süresinin %50'si
- ✓ Toplam süre (duration)
- ✓ Alan (area)
- ✓ Overshoot (sıfır mV potansiyelini aşan genlik değeri)

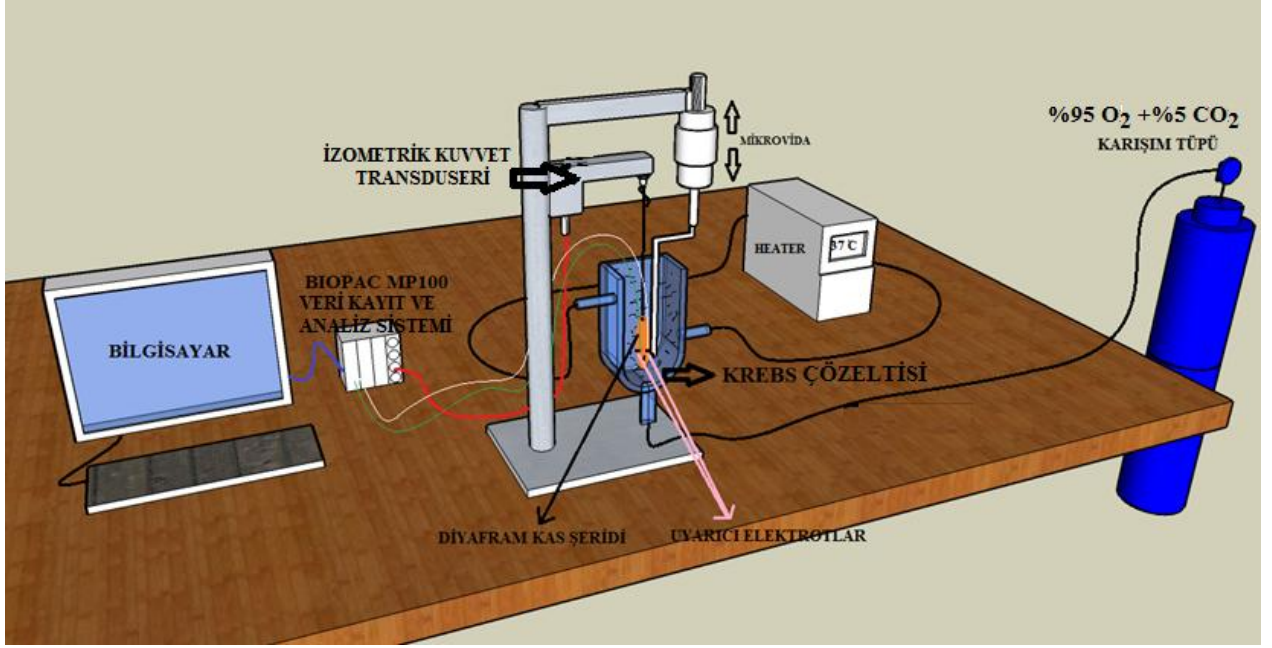
parametreleri değerlendirildi. Ayrıca bütün gruplarda AP'i elde edilirken, diyafram kasını uyarmak için kullanılan uyarı akım şiddetindeki değişimler de incelenmiştir.



Şekil 3.10. Sıçan diyafram kasından elde edilen hücre içi aksiyon potansiyeli için örnek kayıt.

3.7. Diyafram Kası Mekanik Yanıtlarının Kayıt Tekniği

Diyafram kası mekanik yanıtlarının kayıtlanmasında izole organ banyosu (Isolated Organ Bath Stand Set-IOB S99) ve izometrik kuvvet transduseri (FDT 05 Force Displacement Transducer) kullanılmıştır (Şekil 3.11 ve Şekil 3.12).



Şekil 3.11. Kas mekanik yanıtlarının kaydedilmesinde kullanılan izole organ banyosu sisteminin şematik gösterimi.



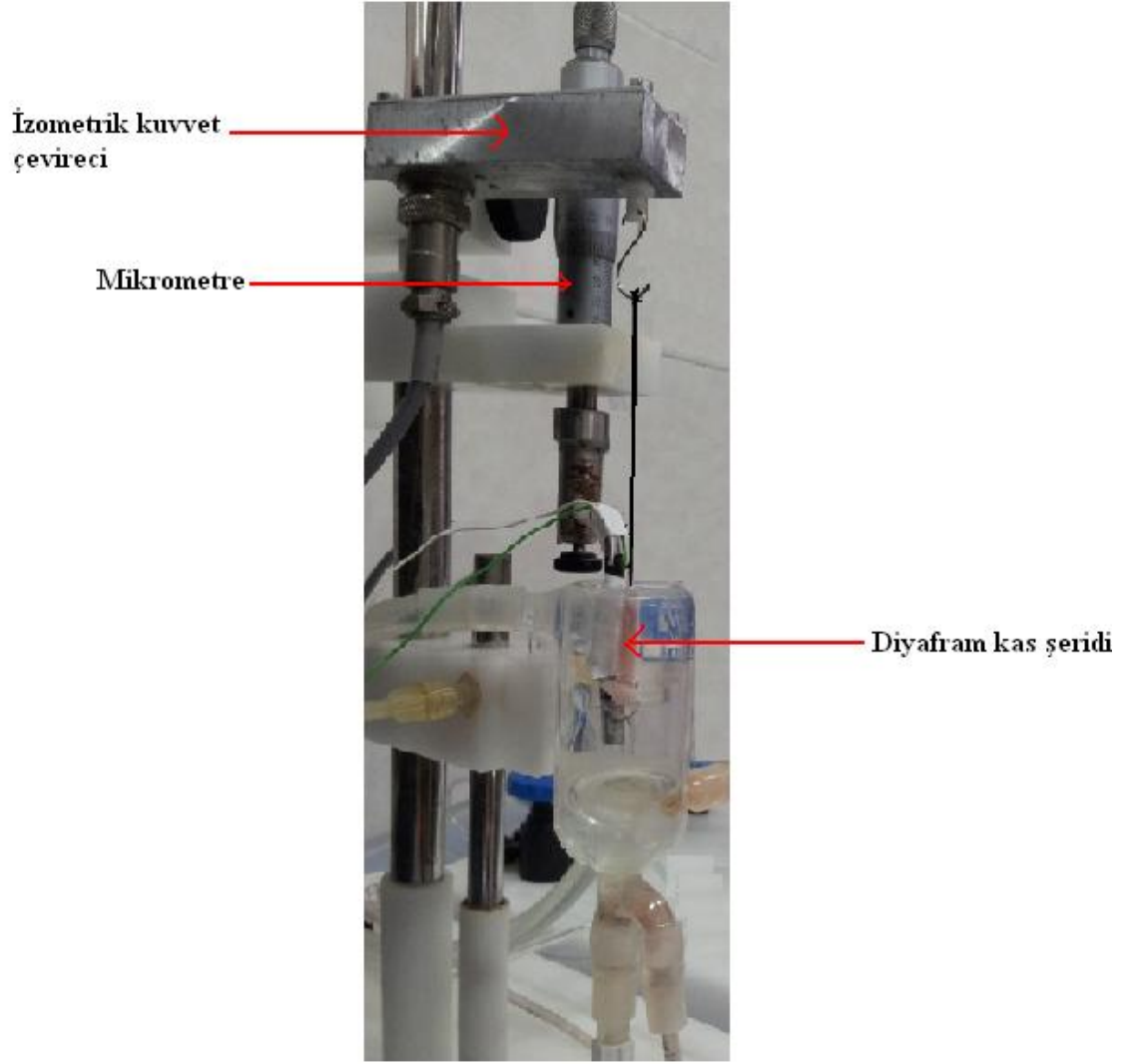
Şekil 3.12. Sıçan diyafram kas şeridinin asıldığı izole organ banyosu sistemi.

Kosta ve tendon kısımlarından 2-0'lık ipek süturla bağlanan kas şeritleri 10 ml'lik Krebs solüsyonu içeren organ banyosuna asılıp, iki adet platin tel elektrot arasına yerleştirilmiş ve elektrotların dokuya direkt olarak temas etmesi sağlanmıştır. Banyo solüsyonu, sıcaklığın kontrol edilebilmesini sağlayan ısıtıcı sirkülatör (Heating Circulator/Model MAY WBC 3044-PR) ile 37 °C'de tutulup, sürekli olarak %95 O₂ ve %5 CO₂ karışımı ile gazlanmıştır. Kas şeritlerinin bulunduğu Krebs solüsyonu 15'er dakikada bir değiştirilmiş ve kas şeritleri, banyo ortamına adapte olarak dengeye gelebilmeleri için bu ortamda 30 dakika bekletilmişlerdir (92, 115). İzole organ banyosuna asılı doku preparatlarının elektriksel stimülasyona (0,5 ms süreli ve 10 V genlikli kare puls) verdiği kuvvet yanıtları, izometrik kuvvet çevirecinden iletilen

yanıtları fark amplifikatörü aracılığıyla bilgisayar ortamına aktaran veri kayıt ve analiz sisteminde (BIOPAC MP100 Systems Inc.) kaydedilmiştir. Daha sonra kas mekanik sinyalleri, deney sonrası analizlerinin yapılması için, 16 bitlik bir A/D çevirici ünitesi yardımıyla ve uygun örnekleme aralığı (15000 örnek/s) kullanılarak dijital değerlere çevrildi.

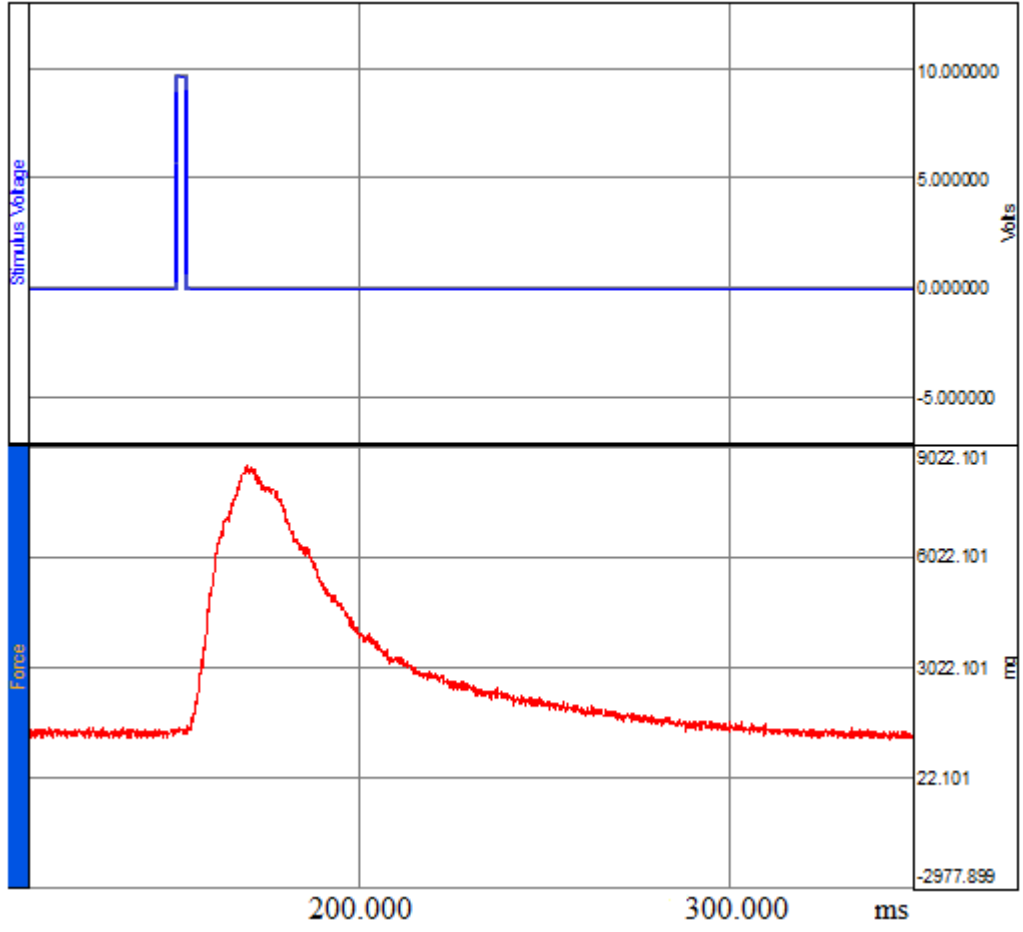
3.7. 1. Optimum Kas Boyunun (L_0) Belirlenmesi

Krebs solüsyonundaki dengeleme periyodundan sonra, her bir kas şeridi için, maksimum kasılma kuvvetinin elde edildiği optimum kas boyu (L_0) belirlenmiştir (Şekil 3.13). Her bir kas şeritinin tek ve farklı frekanslarda (5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ve 150 Hz) uyarılar için oluşturacağı izometrik kuvvet yanıtlarını kaydetmeden önce, her bir kas şeridini optimum L_0 boyuna getirecek olan ön gerim değerleri saptanmış ve her bir uyarı protokolü uygulanmadan önce kas şeritlerini optimum kas boyuna getirecek olan uygun ön gerim değerleri, kasın bir ucuna bağlı olan bir mikrometre aracılığı ile ayarlanmıştır.



Şekil 3.13. Optimum boyu (L_0) belirlenmiş sıçan diyafram kas şeridi.

Optimum uzunluğa getirilmiş olan kas şeridine ait örnek izometrik sarsı eğrisi Şekil 3.14'te görülmektedir.

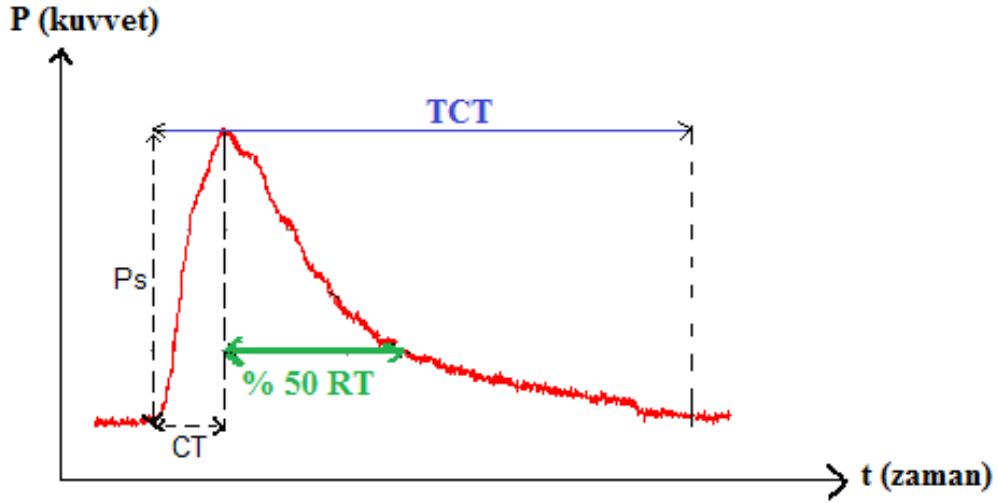


Şekil 3.14. Optimum uzunluğa getirilmiş sıçan diyafram kası izometrik sarsı eğrisi için örnek bir kayıt.

3.7.2. Ölçülen İzometrik Sarsı Eğrisi Parametreleri ve Uyarı Protokolü

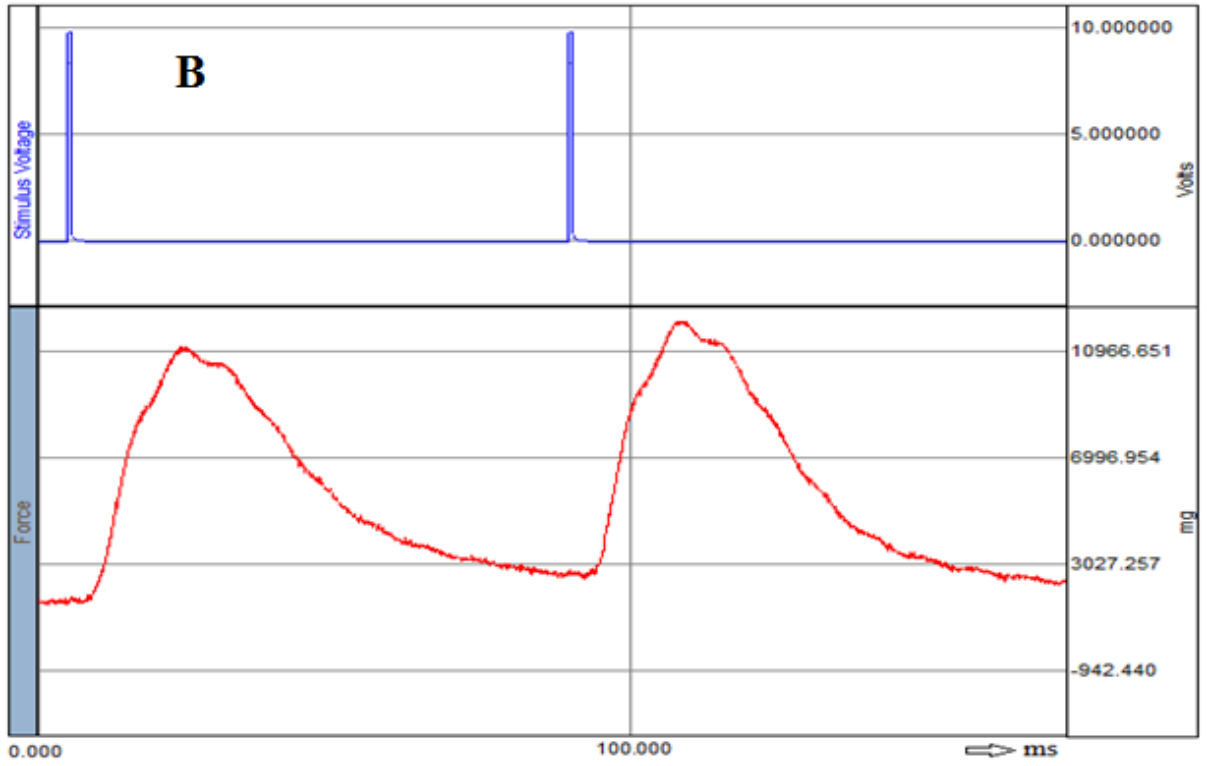
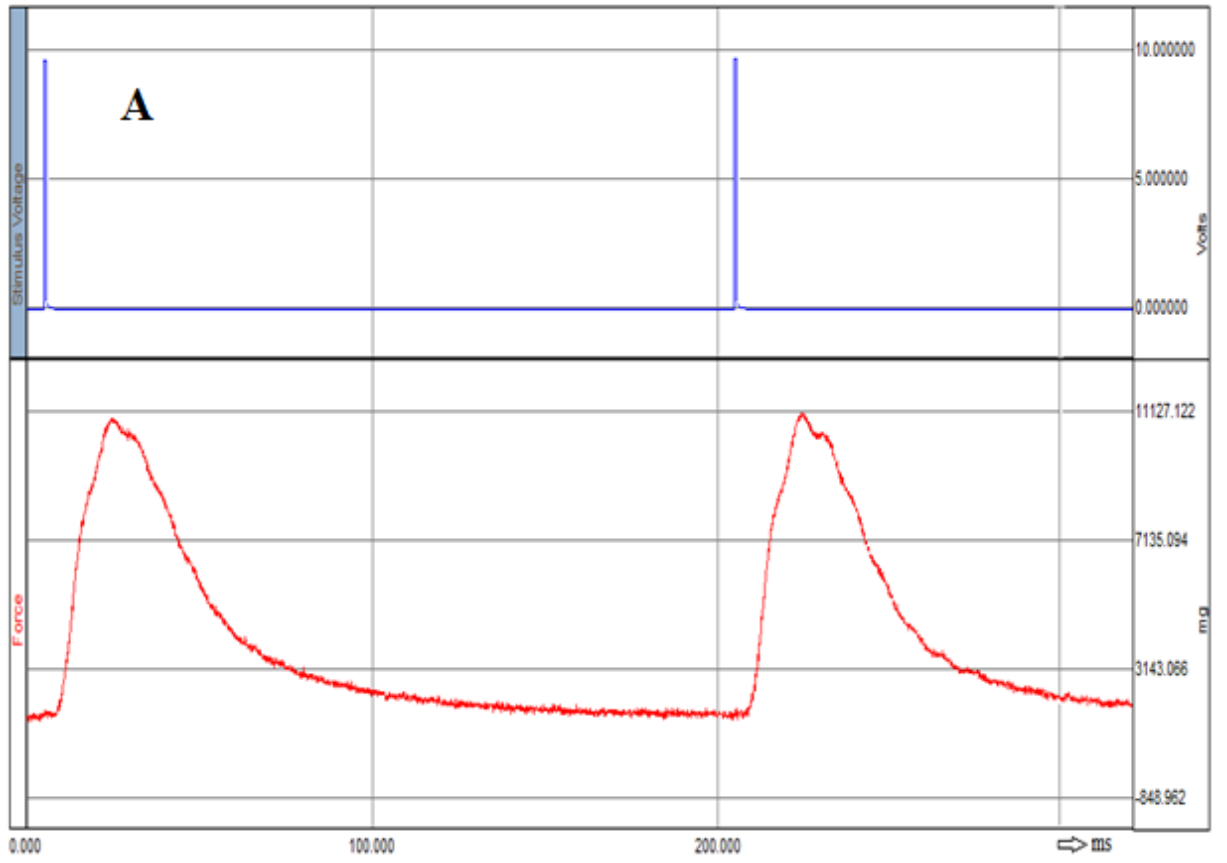
Her bir kas şeridi için kaydedilen izometrik sarsı eğrilerinden;

- ✓ Maksimum kasılma kuvveti (P_s),
- ✓ Kasılma süresi (CT),
- ✓ Yarı gevşeme süresi (% 50 RT) ve
- ✓ Toplam sarsı süreleri (TCT) ölçülmüştür (Şekil 3.15).

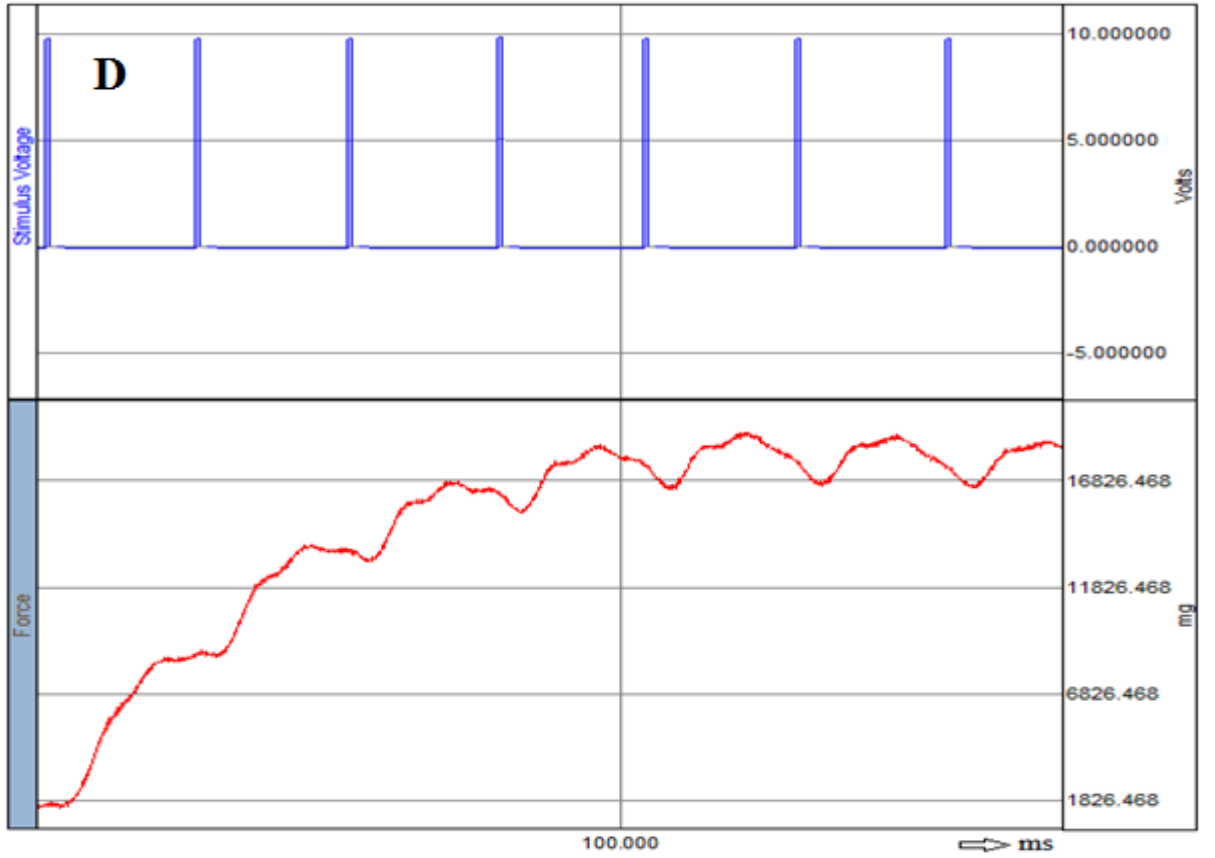
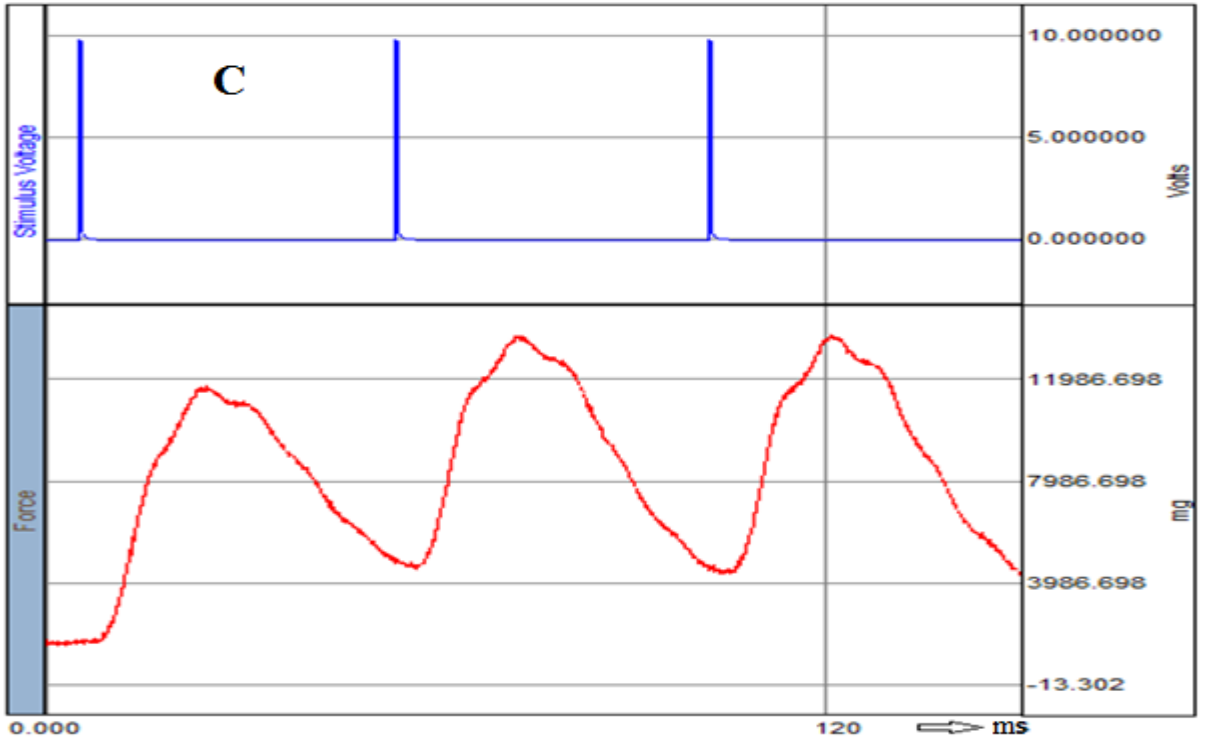


Şekil 3.15. Tek bir uyarıya yanıt olarak kaydedilmiş diyafram kası sarsı eğrisinden ölçülen parametreler (Ps: kasılma kuvveti, CT: kasılma süresi, %50 RT: yarı-gevşeme süresi ve TCT: toplam sarsı süresi).

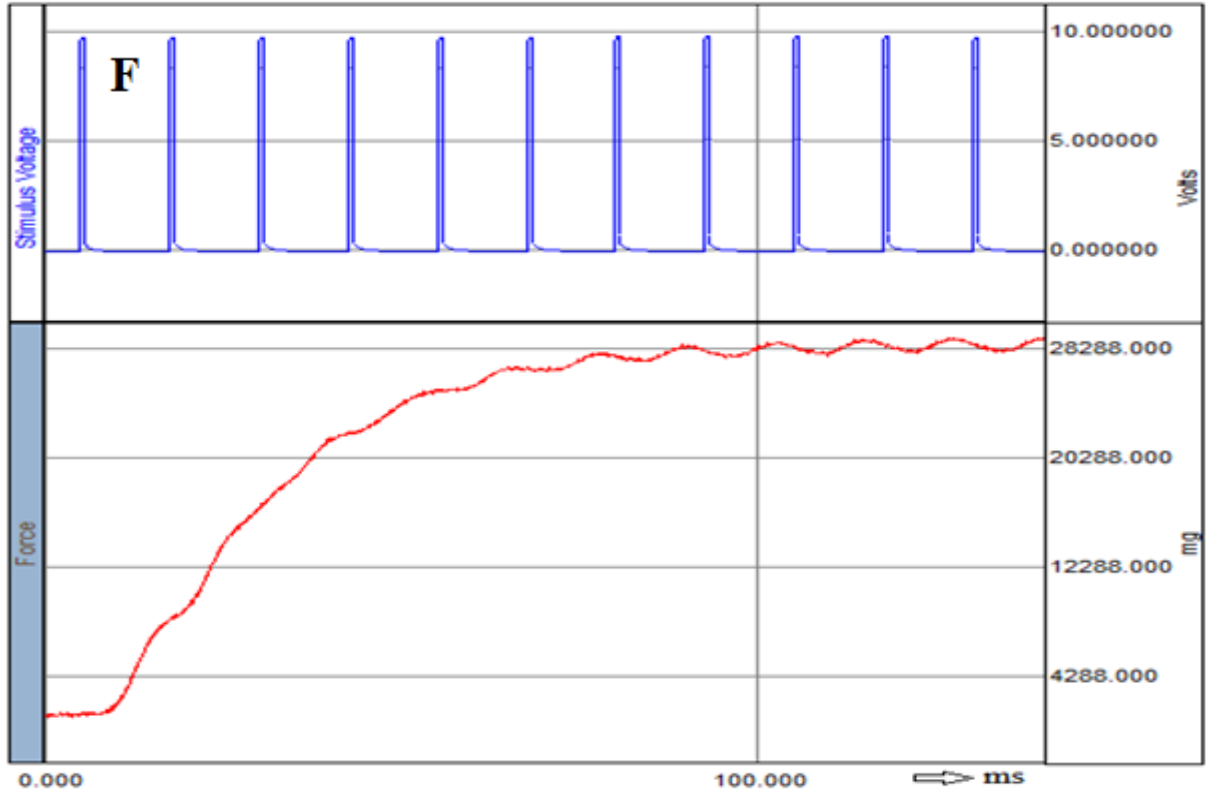
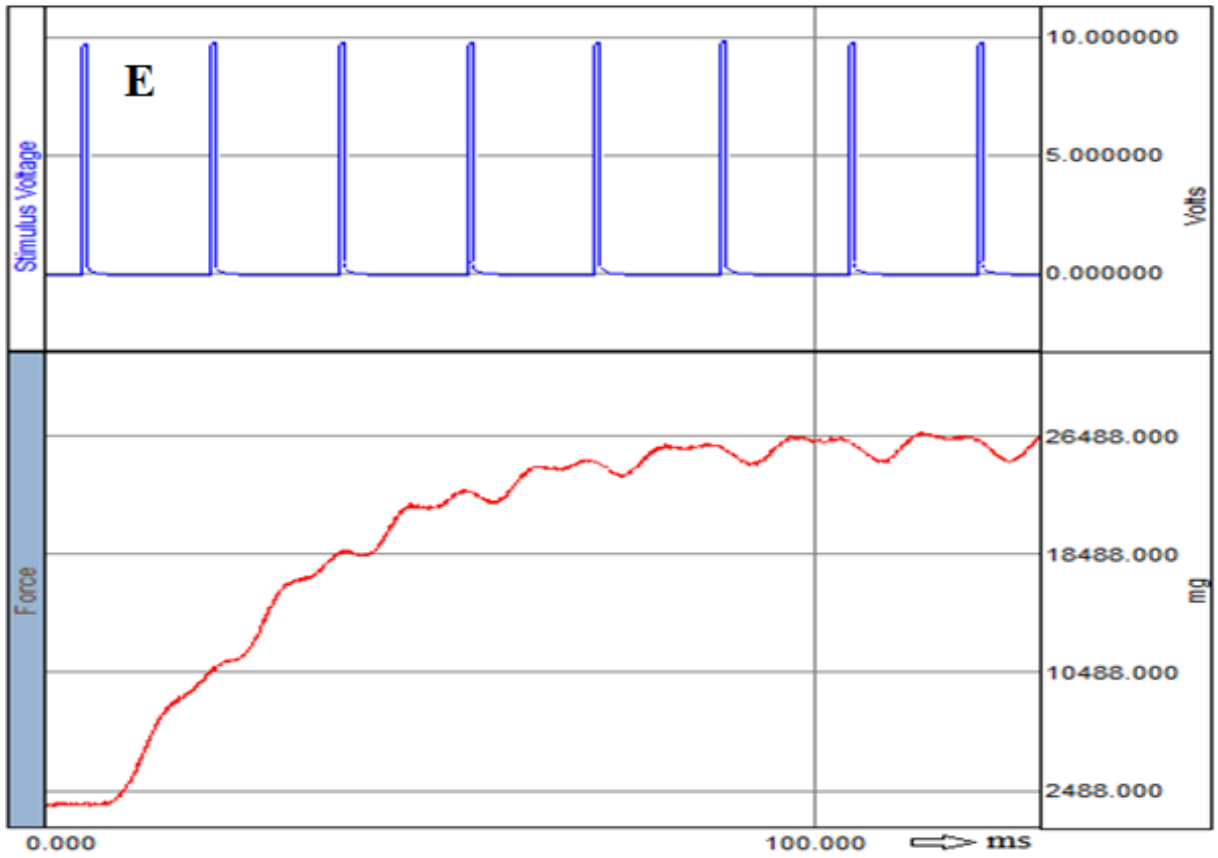
Her bir kas şeridini, kendi optimum boyuna getiren uygun ön gerimler saptanarak kasa uygulandıktan sonra, 5'er dakika ara ile 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ve 150 Hz frekanslı uyarılar verilmiş ve kas mekanik yanıtları kayıtlanmıştır (108, 110, 116). Alınan diyafram kası kuvvet yanıtları için örnek kayıtlar Şekil 3.16-19'da görülmektedir.



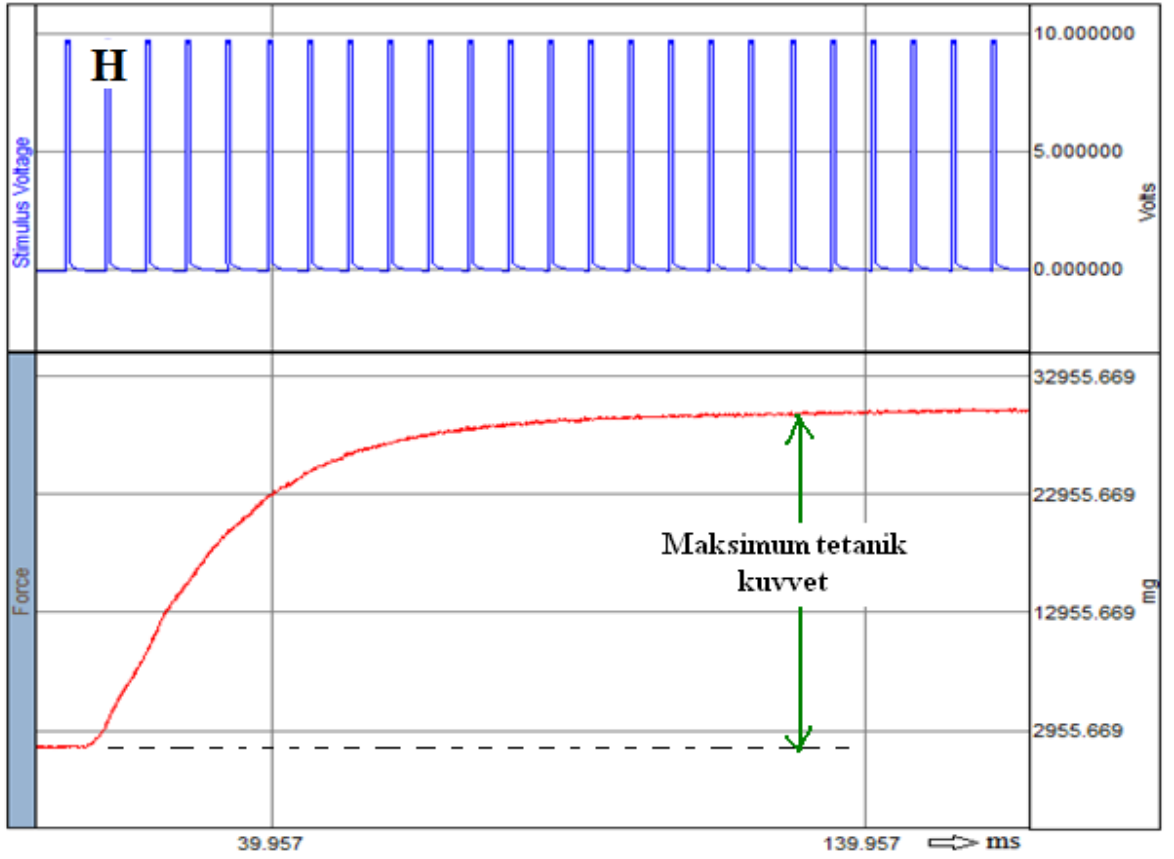
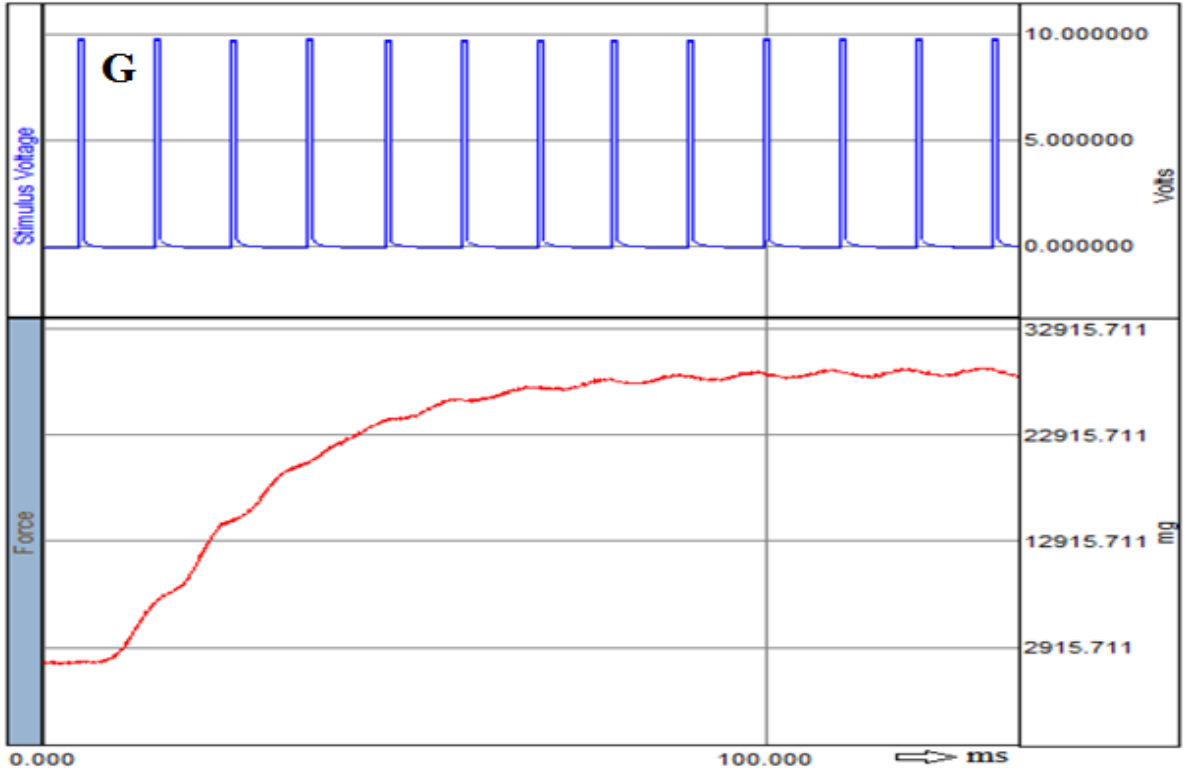
Şekil 3.16. Sıçan diyafram kasının **A**: 5 Hz ve **B**: 10 Hz frekanslı uyarılara karşı oluşturduğu sarı eğrileri için örnek kayıtlar.



Şekil 3.17. Sıçan diyafram kasının **C**: 20 Hz ve **D**: 40 Hz frekanslı uyarılara karşı oluşturduğu sarsı eğrileri için örnek kayıtlar.



Şekil 3.18. Sıçan diyafram kasının **E**: 60 Hz ve **F**: 80 Hz frekanslı uyarılara karşı oluşturduğu kuvvet yanıtları için örnek kayıtlar.



Şekil 3.19. Sıçan diyafram kasının **G**:100 Hz ve **H**:150 Hz frekanslı uyarılara karşı oluşturduğu kuvvet yanıtları için örnek kayıtlar.

Kayıtlar alındıktan sonra izole organ banyosundan alınan kas şeritleri kurutma kağıtları ile kurutulup, kütleleri hassas terazide, boyları ise bir cetvelle ölçüldü. Kas yoğunluğu $1,056 \text{ g/cm}^2$ alınarak kas kesit alanı (CSA), aşağıda verilen formül ile hesaplandı (117, 118, 119).

$$CSA = \frac{\text{kas kütlesi}(g)}{L_0(cm) \times 1,056 \text{ g/cm}^3}$$

Her bir uyarı protokolü için kaydedilen izometrik sarsı eğrilerinden kuvvet değerleri ölçülmüş ve her bir değer CSA'ya bölünerek normalize edilmiştir. İstatistiksel analizlerde, tepe sarsı kuvveti P_i ($i=Tw, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100$ ve 150 Hz), maksimum tetanik kuvvet P_0 (150 Hz frekansındaki uyarıya karşı oluşan kuvvet) ve her bir frekans değeri için hesaplanmış olan P_i/P_0 oranları değerlendirilmeye alınmıştır.

3.8. Biyokimyasal Analizler

Deney ve kontrol grubu sıçanlardan kalp içine girilerek alınan kan örnekleri 20 dakika oda ısısında bekletildikten sonra, 4000 rpm 'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi (26). Santrifüj edilen serum örneklerinden, aynı gün içerisinde Na^+ , K^+ , Cl^- ve Ca^{+2} düzeyleri, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında bulunan Roche Diagnostics Cobas Integra 800 cihazında ölçülmüştür. İyon seçici elektrot (İSE) prensibi ile Na^+ , K^+ ve Cl^- düzeyleri, kolorimetrik yöntem ile Ca^{+2} iyon düzeyi ölçülerek değerlendirilmiştir.

Çalışmanın sonunda, ELF-MA'ların kas dokusundaki $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz enzim spesifik aktiviteleri belirlenmiş ve ayrıca, hem doku ve hem de serumdaki serbest radikal metabolizması üzerindeki etkileri (Total Antioksidan Kapasite (TAK) ve Total Oksidan Kapasite (TOK) saptanmıştır.

3.8.1. Örnek Hazırlanması

Kardiyak kan, düz biyokimya tüplerine alınıp, oda sıcaklığında 20 dakika bekledikten sonra TAK ve TOK ölçümleri için santrifüj edilerek, serum örnekleri mikro santrifüj tüplerine alındı. Serum konulan mikro santrifüj tüpleri çalışma anına kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklandı. Çalışma öncesinde oda sıcaklığına getirilen serum örnekleri çalışıldı. Ayrıca uygun şekilde izole edilen diyafram doku örnekleri de -80 °C'de saklanıp, TAK, TOK ve Na⁺-K⁺ ATPaz aktivite ölçümleri için kullanıldı.

3.8.1.1. Sodyum-Potasyum Adenozin Trifosfataz (Na⁺-K⁺ ATPaz) Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Sodyum-potasyum adenozin trifosfataz aktivitesi, inkübasyon sırasında ortama 3 mM disodyum ATP eklenip, ATP'den açığa çıkan inorganik fosfat miktarının ölçülmesi prensibi ile belirlenmiştir (120, 121).

İşlem:

Aşağıda belirtilen şekilde hazırlanan tüp içerikleri 5 dakika su banyosunda tutulmuştur.

İnkübasyon ortamı= 100 mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 0,1 mM EDTA 30 mM Tris HCl, 3 mM ATP.

Tüp içerikleri Çizelge 3.3'e uygun şekilde hazırlanarak 5 dakika süresince 37 °C su banyosunda inkübe edilmiştir.

Çizelge 3.3. Dokular sükröz çözeltisiyle homojenize edilmiş ve tablodaki pipetleme yapılmıştır.

	Örnek	Örnek Körü	ATP körü
NaCl	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
KCl	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
MgCl ₂	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
EDTA	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Tris 287 mM	0,6 ml	0,6 ml	-----
Tris 306 mM	----	-----	0,7 ml
ATP	0,1 ml	0,1 ml	-----
Örnek	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml

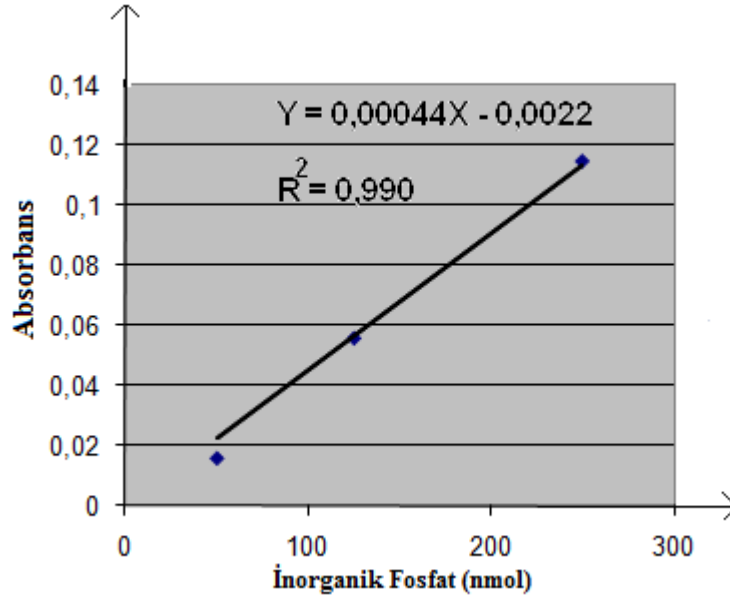
Örnek ve örnek körü tüplerine 0,1 ml 75 mM ATP eklenip, 30 dakika 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından tüpler buz banyosuna alınıp 5-10 dakika sonra reaksiyon durdurularak, her bir tüpe 1,2 ml askorbat-molibdat çözeltisi eklenmiştir. 10 dakika beklendikten sonra spektrofotometrede 820 nm'de oluşan inorganik fosfat ölçümü yapılmıştır. Örnek körü ile ATP körü için ölçülen absorbans değerlerinin toplamı, örnek için ölçülen absorbans değerinden çıkarılmış ve bu absorbans değerine karşılık gelen inorganik fosfat değeri kullanılmıştır.

3.8.1.2. İnorganik Fosfat Ölçümü

İnkübasyon ortamına eklenen ATP'den açığa çıkan inorganik fosfat Atkinson ve ark.'nın (122) önerdiği yöntemle göre yapılmıştır. Çizelge 3.4'te yapılan deneylerde standart fosfat çözeltileri kullanılarak bilinen fosfat derişimleri için 820 nm'de ölçülen absorbans değerleri ile Şekil 3.20'de inorganik fosfatın standart grafiği verilmiştir.

Çizelge 3.4. Farklı derişimlerdeki fosfat çözeltilerinin 820 nm’de ölçülen absorbens değerleri.

Fosfat (nmol)	Absorbans
250	0,115
125	0,056
50	0,016



Şekil 3.20. İnorganik fosfattan hazırlanan standart konsantrasyonlara karşı 820 nm’deki absorbens değerleri.

3.8.1.3. Total Antioksidan Kapasite (TAK) Düzeyi Ölçümü

Total Antioxidant Kapasite (Rel Assay Diagnostic, Türkiye) kiti kullanılarak TAK ölçümü yapılmıştır. Bu kitle redükte ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)) molekülü, hidrojen peroksit kullanılarak asidik ortamda (asetat tamponu 30 mmol/l pH 3,6) $ABTS^{*+}$ radikal katyonu oluşturmak amacıyla inkübe edilip okside edilir. Konsantre (koyu yeşil) $ABTS^+$ molekülü, asetat tamponu içerisinde daha stabildir. Koyu yeşil renk, daha konsantre ve yüksek pH'a sahip asetat tamponu içinde (0,4 mol/l pH 5,8) dilüe edilirken spontan olarak yavaşça

kaybolur. Bu renk kaybının hızı, örnekte bulunan antioksidan konsantrasyonu ile orantılıdır. Bu reaksiyon spektrofotometrede (660 nm'de) takip edilebilir ve ağarma hızı örnekteki total antioksidan kapasite (TAK) ile ters orantılıdır. Örnekteki antioksidanlar, renk oluşumunu, konsantrasyonları ile orantılı olarak önlemektedirler. Bu reaksiyon hızı, suda çözünen vitamin E'nin analogu olan Trolox (6-hidroksi-2.5.7.8-tetramethylchroman-2-karboksilik asit) ile kalibre edilir. Sonuçlar mmol Trolox equivalent/l olarak ifade edilmiştir (123, 124).

3.8.1.4. Total Oksidan Kapasite (TOK) Düzeyi Ölçümü

Total oksidan kapasite düzeyi, Total Oxidant Kapasite (Rel Assay Diagnostic, Türkiye) kiti kullanılarak yapılmıştır. Bu kitte; örnekte bulunan oksidanlar, ferro iyon (Fe^{+2})-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon (Fe^{+3}) haline getirmektedir. Reaksiyon ortamında bolca bulunan gliserol molekülleri ile oksidasyon reaksiyonu güçlendirilir. Xylenol orange ile ferrik iyon asidik ortamda renkli bileşik oluşturmaktadır. Renk yoğunluğu, örnekteki oksidan moleküllerinin miktarıyla ilişkilidir. Test hidrojen peroksit (H_2O_2) ile kalibre edilir ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit equivalent olarak ifade edilmiştir ($\mu mol H_2O_2 Eq./L$) (125).

3.9. Sıçan Kütleleri

Bütün gruplardaki sıçanların kütleleri çalışmanın başlangıcında ve ayda bir kez olmak üzere toplam 8 kere terazi (TEFAL Ovelys 79885-Fransa) ile tartıldı.

3.10. Elektron Mikroskopik İnceleme

Disseke edilen kas dokusu örnekleri, öncelikle $1 mm^3$ 'lük parçalara bölündü ve yaklaşık 4–6 saat %2,5'lük gluteraldehit solüsyonunda fikse edildi. Ardından %1'lik OsO_4 ile postfiksasyon yapıldı. Daha sonra dehidratasyon işlemi yükselen derecelerde

alkol kullanılarak gerçekleştirildi. Propilen oksitle şeffaflandırma ve resine alıştırma aşamalarından sonra, dokular resine (EMBed-812 Embedding Kit) gömüldü. 24 saatlik polimerizasyon işleminden sonra, bloklardan ultramikrotom (Leica Ultracut UCT125, Leica Avusturya-Viyana) ile öncelikle 1 µm kalınlığında yarı ince, sonra da 50-70 nm kalınlığında ince kesitler alındı. Yarı ince kesitler toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi ve hangi alandan ince kesit alınacağı belirlendi. Daha sonra alınan ince kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandı. Kontrastlanmış kesitler transmisyon elektron mikroskobu (Jeol JEM1011, Tokyo, Japonya) ile incelendi ve mikroskoba eklenmiş dijital kamera (Megaview III, Olympus GmbH, Germany) ile fotoğrafları çekildi. Bütün grupların kas örnekleri elektron mikroskopunda 12000 büyütmede elde edilmiştir.

3.11. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen veriler, MedCalc 12.3.0 ve SPSS 11.5.0 paket programları kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık derecesi olan p değeri 0,05 olarak alındı. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyum kontrolleri Kolmogrov Smirnov testi ile yapılmıştır.

Normal dağılıma uyumlu değişkenlerin özetlenmesinde ortalama±standart sapma değerleri verilirken, normal dağılıma uyumlu olmayan değişkenler için medyan (minimum-maksimum) değerleri verilmiştir.

Sürekli değişkenler arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki olup olmadığı Pearson ve Spearman korelasyon katsayıları ile değerlendirildi.

Çalışmanın başlangıcı ve izleyen her ayın sonunda bütün gruplardaki sıçanların kütleleri tartıldı. Erkek ve dişi sıçanlardan 8 ayrı zamanda (başlangıç ölçümü= 1. ölçüm, ilk ay ölçümü= 2. ölçüm, ...yedinci ay ölçümü= 8. ölçüm) alınan kütle ölçümleri için kontrol ve ELF-MA arasında farklılık olup olmadığı araştırılırken tekrarlayan ölçüm analizi yapıldı. Keza, belirli frekans aralığında (Tw, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ve 150 Hz) uygulanan uyarıya karşı oluşan kas sarsı eğrilerinin maksimum genlik ve bu genliğe ulaşma süreleri arasında farklılık olup olmadığı da tekrarlı ölçümler analizi (repeated measures) ile saptandı.

Sıçanların ölçüm dönemleri arasındaki kütle farkları bakımından grupların karşılaştırılmasında ise ANOVA kullanılmıştır. Her bir frekanslı uyaran için maksimum kasılma genliğine ulaşma süreleri bakımından gruplar (cinsiyet-deney) tek değişkenli genel doğrusal model kullanılarak, STATISTICA 8 paket programıyla karşılaştırılmıştır.

Farkın anlamlı çıktığı değişkenler için hangi gruplar arasında fark olduğunun testinde LSD post hoc istatistiği kullanılmıştır.

Biyofizik ve biyokimya parametreleri bakımından dişi-erkek cinsiyetleri ayrı olarak kontrol ve ELF-MA grupları karşılaştırılmasında ANOVA, Kruskal Wallis ve tek değişkenli genel doğrusal modeller kullanılmıştır. Farklılık çıkan grupları belirleyebilmek için LSD post-hoc testi yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Diyafram Kası Elektriksel ve Mekanik Aktivite Bulguları

Çalışmamızda ELF-MA'nın kas üzerine kronik etkilerini incelemek için, diyafram kas şeritlerinin elektriksel ve mekanik aktivite kayıtları değerlendirildi.

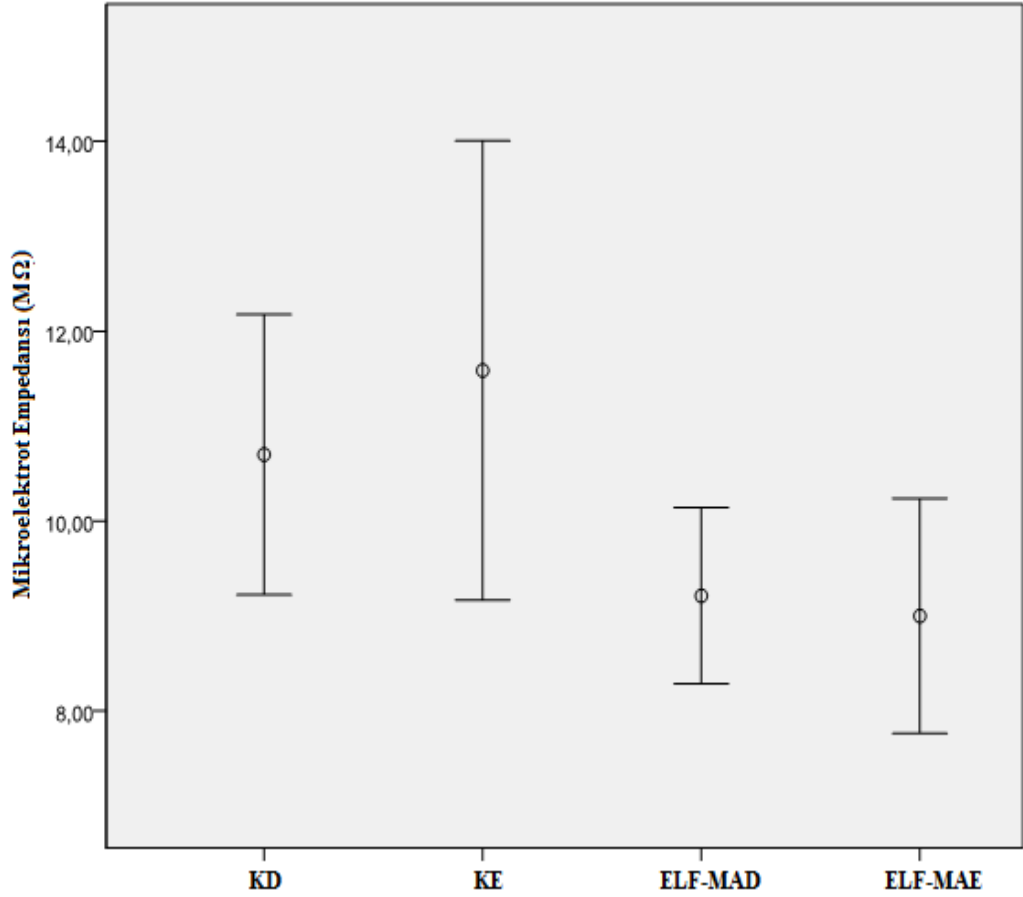
4.1.1. Diyafram Kası Elektriksel Bulguları

4.1.1.1. Mikroelektrot Empedansı

Mikroelektrot ile kas hücrelerine girmeden hemen önce, mikroelektrot Krebs çözeltisinde iken empedans ölçümleri yapılmıştır. Mikroelektrot empedansları açısından kontrol ve ELF-MA grupları arasında farklar araştırılırken tek değişkenli genel doğrusal model kullanılmıştır. Çalışmada, kas hücrelerinin dinlenim membran potansiyeli ve hücre içi aksiyon potansiyeli kayıtlarında kullanılan mikroelektrotların empedans değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Dinlenim membran potansiyeli ve aksiyon potansiyeli kayıtları kullanılarak kullanılan mikroelektrot empedansları, KD grubunda $10,70 \pm 1,60 \text{ M}\Omega$ iken ELF-MAD grubunda $9,21 \pm 1,11 \text{ M}\Omega$, KE grubunda $11,59 \pm 2,62 \text{ M}\Omega$ olup, ELF-MAE grubunda ise $9,00 \pm 1,34 \text{ M}\Omega$ olduğu saptanmıştır (Şekil 4.1). Mikroelektrot empedansı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Çizelge 4.1. Kontrol ve deney gruplarında kas şeritlerinden elde edilen dinlenme membran potansiyeli ve bu potansiyelleri kayıtlarken kullanılan mikroelektrot empedanslarının ortalama (Ort) ve standart sapma (Std. Sapma) değerleri.

	KD (n=7) (Ort±Std.Sapma)	KE (n=7) (Ort±Std.Sapma)	ELF-MAD (n=8) (Ort±Std.Sapma)	ELF-MAE (n=7) (Ort±Std.Sapma)
Dinlenme membran potansiyeli (mV)	-74,00±1,51	-76,01±4,41	-75,72±2,56	-73,29±2,84
Mikroelektrot empedansı (MΩ)	10,70±1,60	11,59±2,62	9,21±1,11	9,00±1,34



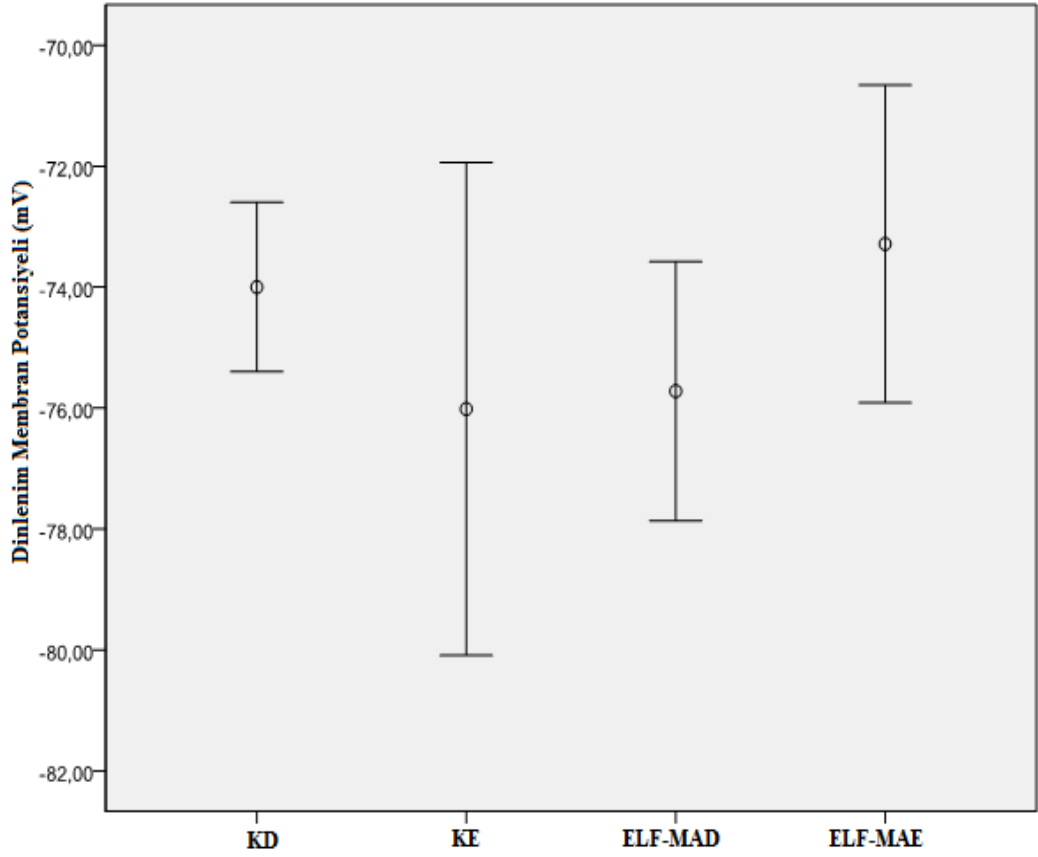
Şekil 4.1. Bütün gruplarda dinlenme membran potansiyeli ve hücre içi aksiyon potansiyeli kayıtları sırasında kullanılan mikroelektrot empedanslarına ait ortalama ve %95 güven aralığı.

4.1.1.2. Dinlenme Membran Potansiyeli

Bütün gruplardan izole edilen her bir kas şeritinde en fazla 45 hücreye girilerek dinlenme membran potansiyelleri kaydedilmiştir. Dinlenme membran potansiyelleri bakımından gruplar arası fark araştırılırken tek değişkenli genel doğrusal model kullanılmıştır. Dişi ve erkek cinsiyetlerinin hem kontrol hem de deney gruplarına ait diyafram kas şeritlerinden elde edilen dinlenme membran potansiyelinin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Kontrol dişi grubunda dinlenme membran potansiyeli $-74,00 \pm 1,51$ mV iken, ELF-MA maruziyetinden sonra bu değer $-75,72 \pm 2,56$ mV’a doğru bir miktar azalma (hiperpolarizasyon) göstermiştir. Kontrol erkek grubunda ise $-76,01 \pm 4,41$ mV olan dinlenme membran potansiyeli MA maruziyetinden sonra $-73,29 \pm 2,84$ mV’a kadar artmış (depolarizasyon) olmasına rağmen, hem erkek hem de dişi gruplarındaki bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur (Şekil 4.2).

Dinlenme membran potansiyeli ve mikroelektrot empedansı arasında korelasyon olup olmadığını saptamak için Pearson korelasyon analizi yapılmış ve herhangi bir grupta bu iki parametre açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ($p > 0,05$) elde edilememiştir.



Şekil 4.2. Bütün gruplarda sıçan diyafram kas hücresinden kaydedilen dinlenme membran potansiyellerine ait ortalama ve %95 güven aralığı.

4.1.1.3. Hücre İçi Aksiyon Potansiyeli

Çalışmamızda, hücre içi kas AP'i eğrileri kayıtlanırken, mikroelektrodun hücre içinde olduğunu belirlemek için öncelikle dinlenme membran potansiyelleri (mV) elde edilmiştir. Sonrasında, kayıtlayıcı elektrot hücre içinde iken, kas dokusu elektriksel alan uyarısı ile uyarılmış ve oluşan AP'i eğrileri kaydedilmiştir. Bütün gruplardan hücre içi kas AP'i eğrileri kayıtlanmadan hemen önce elde edilen dinlenme membran potansiyeli, AP'i oluşturmak için kasa uygulanan uyarı akım şiddetleri ve kayıt sonrası belirlenen AP'i parametrelerinin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

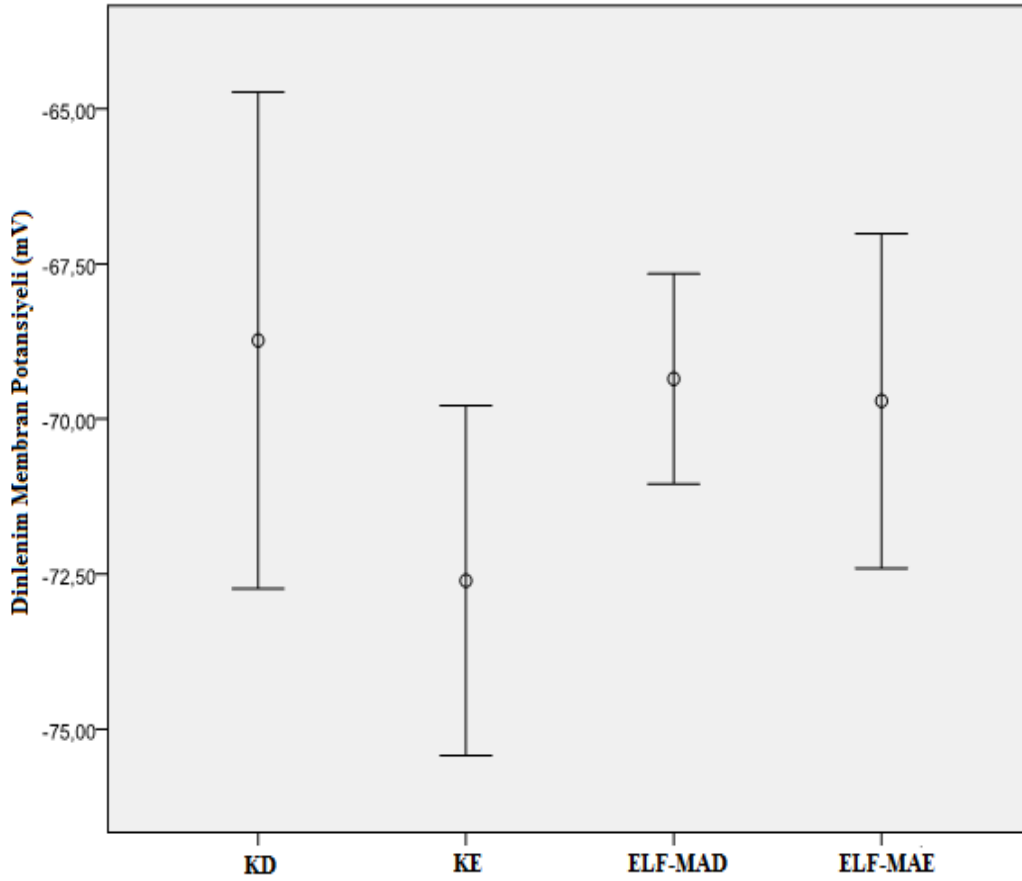
Dinlenme membran potansiyeli değerinin KD grubunda $-68,73 \pm 4,33$ mV olduğu ve ELF-MAD grubunda $-69,35 \pm 2,03$ mV'a düştüğü ancak bu değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.2). Erkek sıçanlarda ise $-72,61 \pm 3,05$ mV olan potansiyelin ELF-MAE grubunda $-69,71 \pm 2,92$ mV'a kadar arttığı fakat bu

artışın da anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3'te de görüldüğü gibi dinlenim membran potansiyelleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.2. Dinlenim membran potansiyeli, uyarı akım şiddeti ve aksiyon potansiyeli parametrelerinin Ortalama \pm Standart Sapma değerleri.

	KD	KE	ELF-MAD	ELF-MAE
	(n=7)	(n=7)	(n=8)	(n=7)
	(Ort \pm Std.	(Ort \pm Std.	(Ort \pm Std.	(Ort \pm Std.
	Sapma)	Sapma)	Sapma)	Sapma)
Dinlenim membran potansiyeli (mV)	-68,73 \pm 4,33	-72,61 \pm 3,05	-69,35 \pm 2,03	-69,71 \pm 2,92
Uyarı akım şiddeti (mA)	7,69 \pm 1,69	4,83 \pm 2,97	2,71 \pm 1,77 ^{a,†}	2,89 \pm 1,82 ^{a,†}
Tepe latans (ms)	2,49 \pm 0,57	1,90 \pm 0,28 ^{a*}	2,12 \pm 0,34	2,61 \pm 0,46 ^{b*,c*}
Depolarizasyon süresi (ms)	0,97 \pm 0,38	0,68 \pm 0,14	0,88 \pm 0,22	1,29 \pm 0,32 ^{b†,c‡}
Genlik (mV)	80,47 \pm 7,61	88,64 \pm 4,48 ^{a*}	82,60 \pm 6,04	85,29 \pm 2,76
Süre (ms)	6,95 \pm 1,17	7,22 \pm 1,09	7,87 \pm 0,78	7,72 \pm 1,00
Alan (mV.ms)	0,112 \pm 0,02	0,119 \pm 0,01	0,128 \pm 0,01 ^{a*}	0,129 \pm 0,01
%50 repolarizasyon süresi (ms)	2,96 \pm 0,59	3,28 \pm 0,48	3,48 \pm 0,35	3,23 \pm 0,53
Overshoot (mV)	11,93 \pm 4,67	15,08 \pm 2,72 ^{a*}	12,06 \pm 3,66	14,95 \pm 2,61

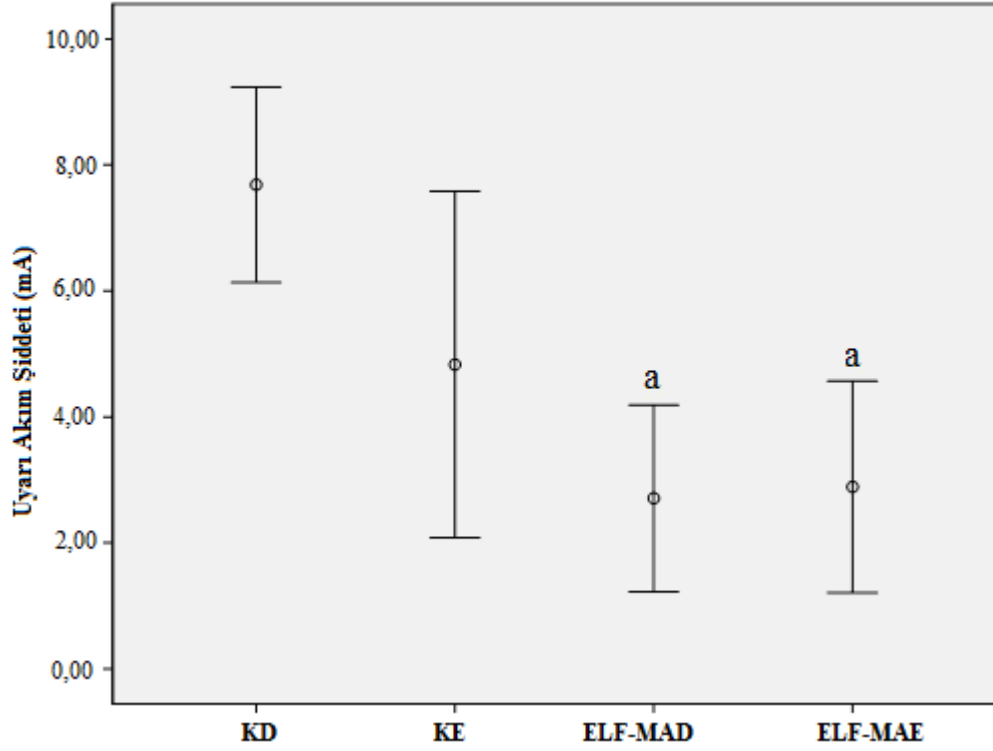
a: KD ile karşılaştırıldığında, b: KE ile karşılaştırıldığında, c: ELF-MAD ile karşılaştırıldığında,
* $p<0,05$, ‡ $p<0,01$, † $p<0,001$.



Şekil 4.3. Bütün gruplarda sıçan diyafram kas hücrelerinden aksiyon potansiyeli kaydı öncesinde elde edilen dinlenme membran potansiyellerine ait ortalama ve %95 güven aralığı.

4.1.1.4. Uyarı Akım Şiddeti

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi, KD grubunda $7,69 \pm 1,69$ mA olan uyarı akım şiddetinin, ELF-MAD grubunda $2,71 \pm 1,77$ mA’e kadar azalmış olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) olduğu bulunmuştur. KE grubunda ise $4,83 \pm 2,97$ mA olan uyarı akım şiddetinin, ELF-MAE grubunda $2,89 \pm 1,82$ mA’e kadar azaldığı, ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) saptanmıştır. Sonuç olarak; ELF-MA uygulanması hem dişi hem de erkek grubunda uyarı akım şiddetini azaltmış, ancak bu azalmanın sadece dişi grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0,05$) görülmüştür. Hücre içi AP’i oluştururken kullanılan uyarı akım şiddetinin bütün gruplara ait değerleri Şekil 4.4’te gösterilmektedir.



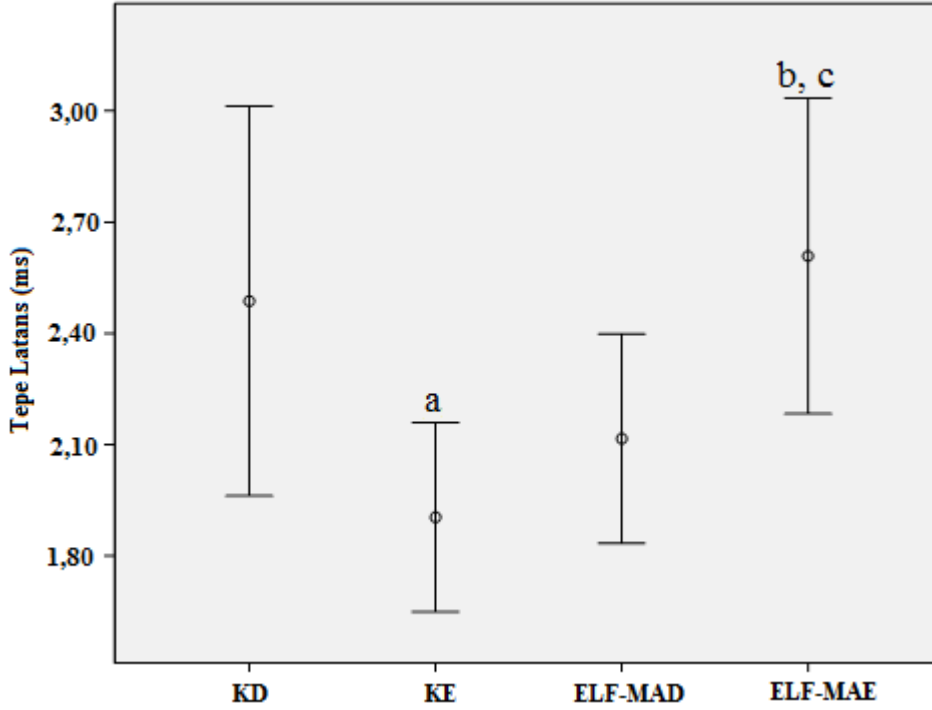
Şekil 4.4. Bütün gruplar için hücre içi aksiyon potansiyeli oluşturan uyarı akım şiddeti değerlerinin ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p < 0,001$).

4.1.1.5. Aksiyon Potansiyeli Tepe (Peak) Latansı

Yapılan analizler sonucu, KD ve KE gruplarında ölçülen latans değerleri (sırasıyla; $2,49 \pm 0,57$ ms ve $1,90 \pm 0,28$ ms) arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,016$) olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). Keza, KE grubu ile ELF-MAE grubuna ait latans değerlerinin (sırasıyla; $1,90 \pm 0,28$ ms ve $2,61 \pm 0,46$ ms) karşılaştırılması, MA uygulamasının latans değerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,005$) bir artışa neden olduğunu göstermiştir.

Kontrol dışı grubunda $2,49 \pm 0,57$ ms olan tepe latansın, ELF-MAD grubunda $2,12 \pm 0,34$ ms'ye kadar bir azalma gösterdiği ancak bu azalmanın anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) saptanmıştır. Ayrıca ELF-MAD grubunda $2,12 \pm 0,34$ ms olan latans değerinin ELF-MAE grubunda $2,61 \pm 0,46$ ms olduğu ve bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,033$) olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak MA maruziyeti, KD grubunda tepe latansı azaltıp KE grubunda ise arttırarak, (yani cinsiyetler üzerinde zıt bir etki oluşturarak)

kontrol grupları arasında başlangıçta var olan farklılığı tersine dönüştürüp yine anlamlı bir fark oluşturmuştur (Şekil 4.5).

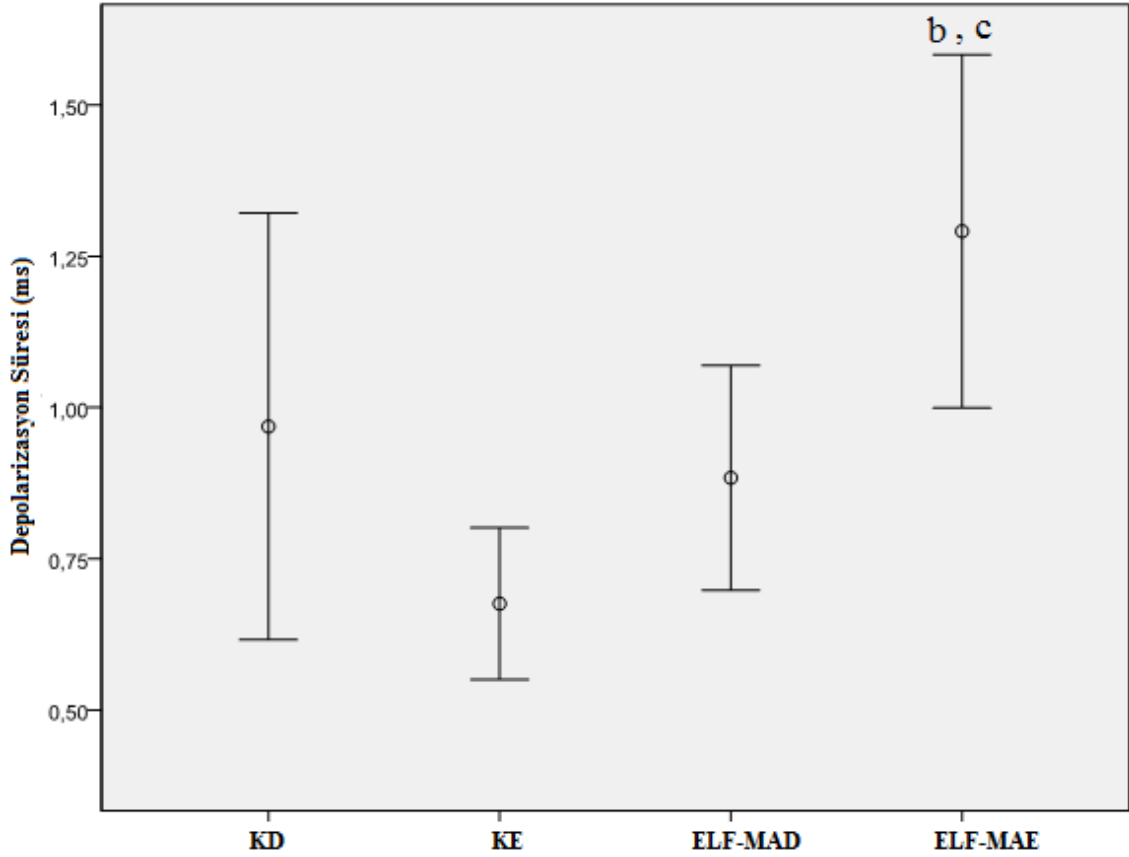


Şekil 4.5. Hücre içi aksiyon potansiyeli tepe latansı için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$), b: KE ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$), c: ELF-MAD ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$).

4.1.1.6. Depolarizasyon Süresi

Yapılan analizler sonucunda, KE grubunda $0,68\pm0,14$ ms olan depolarizasyon süresinin ELF-MAE grubunda $1,29\pm0,32$ ms'ye kadar arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). Maruziyet gruplarından ELF-MAD grubunun depolarizasyon süresi $0,88\pm0,22$ ms iken ELF-MAE grubunda bu değer $1,29\pm0,32$ ms olarak bulunmuş ve bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,009$) olduğu saptanmıştır. Dişi grubunda kontrole göre ELF-MA maruziyeti sonucu depolarizasyon süresinde (sırasıyla; $0,97\pm0,38$ ms ve $0,88\pm0,22$ ms) anlamlı olmayan ($p>0,05$) bir azalma tespit edilmiştir. Kontrol grupları arasında başlangıçta farklılık olmamasına rağmen, ELF-MA maruziyeti, erkek ve dişilerde zıt yönde bir etki yaparak depolarizasyon süresinin erkek sıçanlarda uzamasına, dişi sıçanlarda ise

azalmasına yol açmıştır. Ancak, erkek sıçanlarda gözlenen bu uzama anlamlı ($p<0,001$) olmasına karşın, dişilerde ELF-MA maruziyeti sonucu depolarizasyon süresinde oluşan azalmanın anlamlı olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir. Hücre içi AP'i parametrelerinden depolarizasyon süresinin gruplara göre ortalama ve %95 güven aralığı cinsinden değerleri Şekil 4.6'da gösterilmektedir.

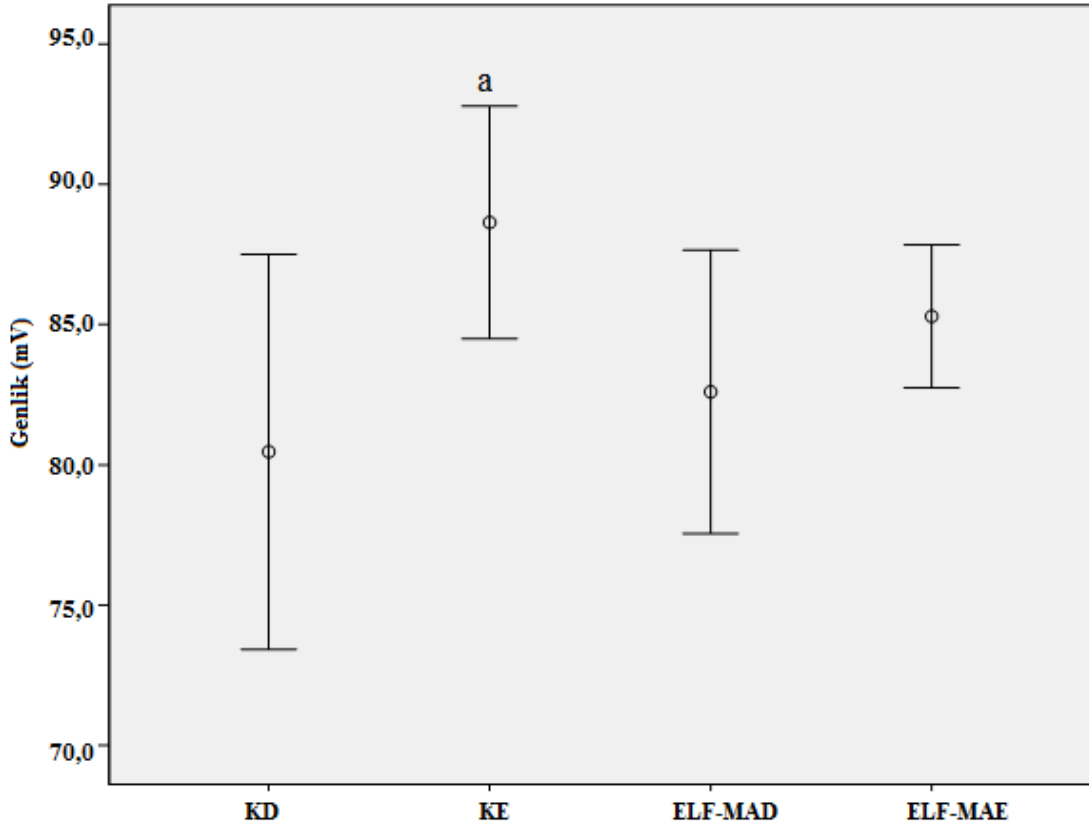


Şekil 4.6. Hücre içi aksiyon potansiyeli depolarizasyon süresine ait ortalama ve %95 güven aralığı. b: KE ile karşılaştırıldığında ($p<0,001$), c: ELF-MAD ile karşılaştırıldığında ($p<0,01$).

4.1.1.7. Genlik (Amplitude)

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi, aksiyon potansiyeli genlik değeri KD ve KE gruplarında (sırasıyla; $80,47\pm 7,61$ mV ve $88,64\pm 4,48$ mV) birbirinden anlamlı ($p=0,011$) olarak farklı bulunmuştur. Kontrol dişi grubunda $80,47\pm 7,61$ mV olan genlik değeri ELF-MAD grubunda ise $82,60\pm 6,04$ mV'a kadar istatistiksel olarak anlamlı

olmayan ($p>0,05$) bir artış göstermiştir. KE grubunda ise $88,64\pm 4,48$ mV olan genlik değeri ELF-MA maruziyeti sonrasında $85,29\pm 2,76$ mV'a kadar istatistiksel anlamlı olmayan ($p>0,05$) bir azalma göstermiştir. Hücre içi AP'i genliğinde KD ve KE grupları arasında başlangıçta var olan farklılığı, MA maruziyeti (cinsiyet üzerinde zıt etki yaparak) ortadan kaldırmıştır. Hücre içi AP'i parametrelerinden genlik için kontrol gruplarında başlangıçta var olan farklılığın dışında bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p>0,05$) bir fark saptanmamıştır. Hücre içi AP'inin ortalama ve %95 güven aralığı cinsinden genlik değerlerine ilişkin grafik Şekil 4.7'de gösterilmektedir.

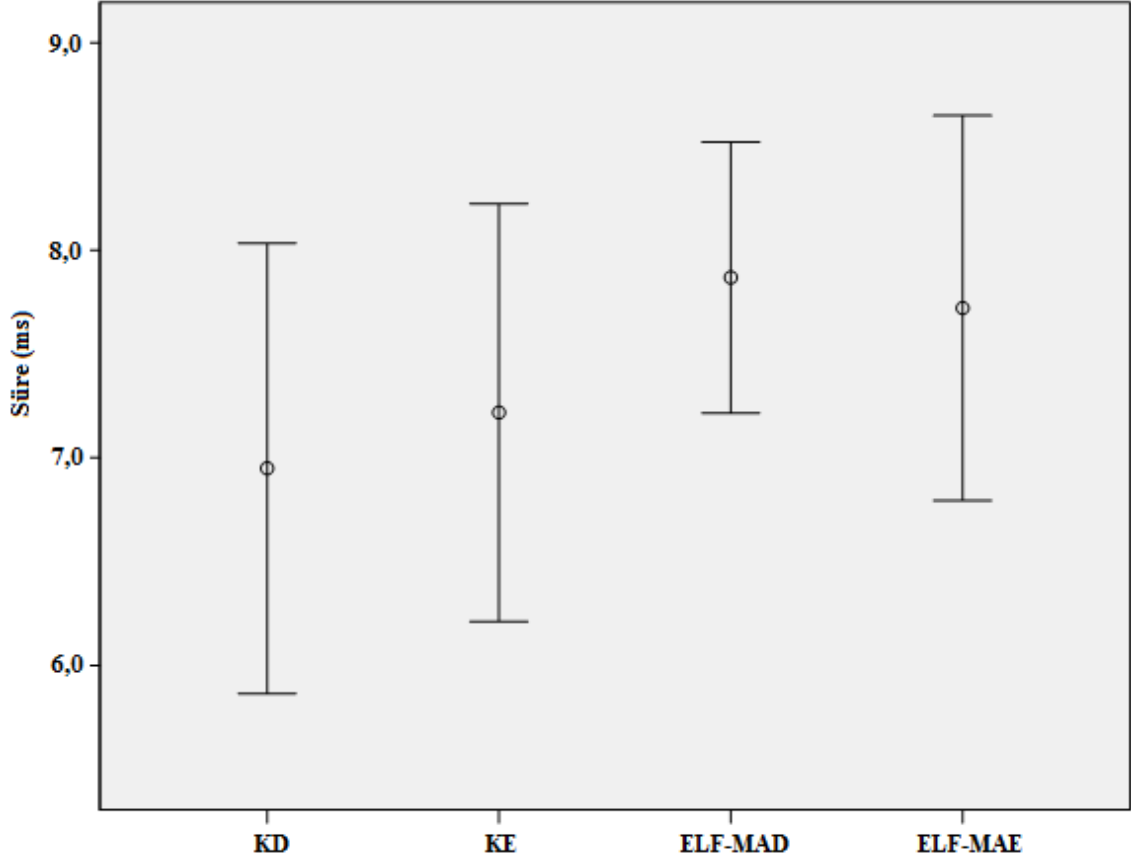


Şekil 4.7. Hücre içi aksiyon potansiyeli genlik değerine ait ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p<0,05$).

4.1.1.8. Süre (Duration)

Aksiyon potansiyeli süresi dikkate alındığında, her iki cinsiyette kontrole göre ELF-MA maruziyet gruplarında bir artış gözlenmekte olup (KD: $6,95\pm 1,17$ ms ve ELF-

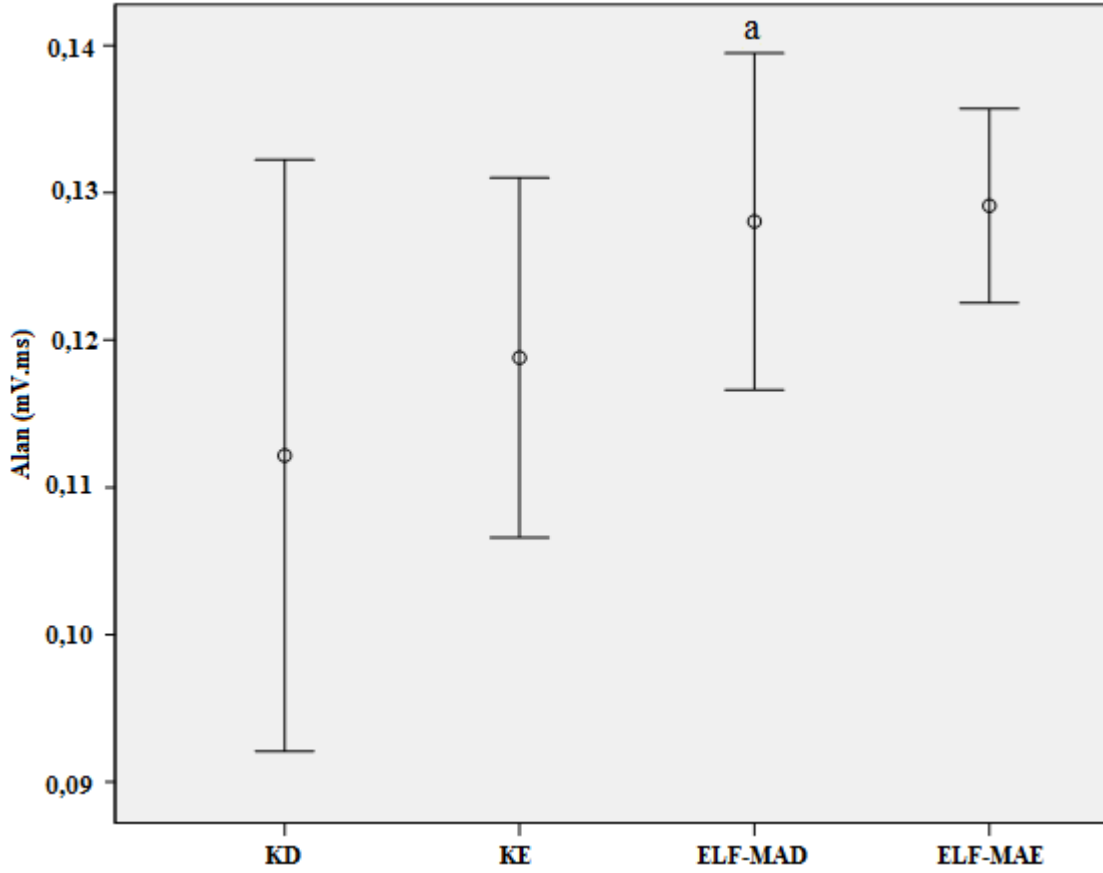
MAD: $7,87 \pm 0,78$ ms; KE: $7,22 \pm 1,09$ ms ve ELF-MAE: $7,72 \pm 1,00$ ms), ancak bu artışların istatistiksel olarak anlamlı ($p > 0,05$) olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Hücre içi aksiyon potansiyeli süresi için ortalama ve %95 güven aralığı.

4.1.1.9. Alan (Area)

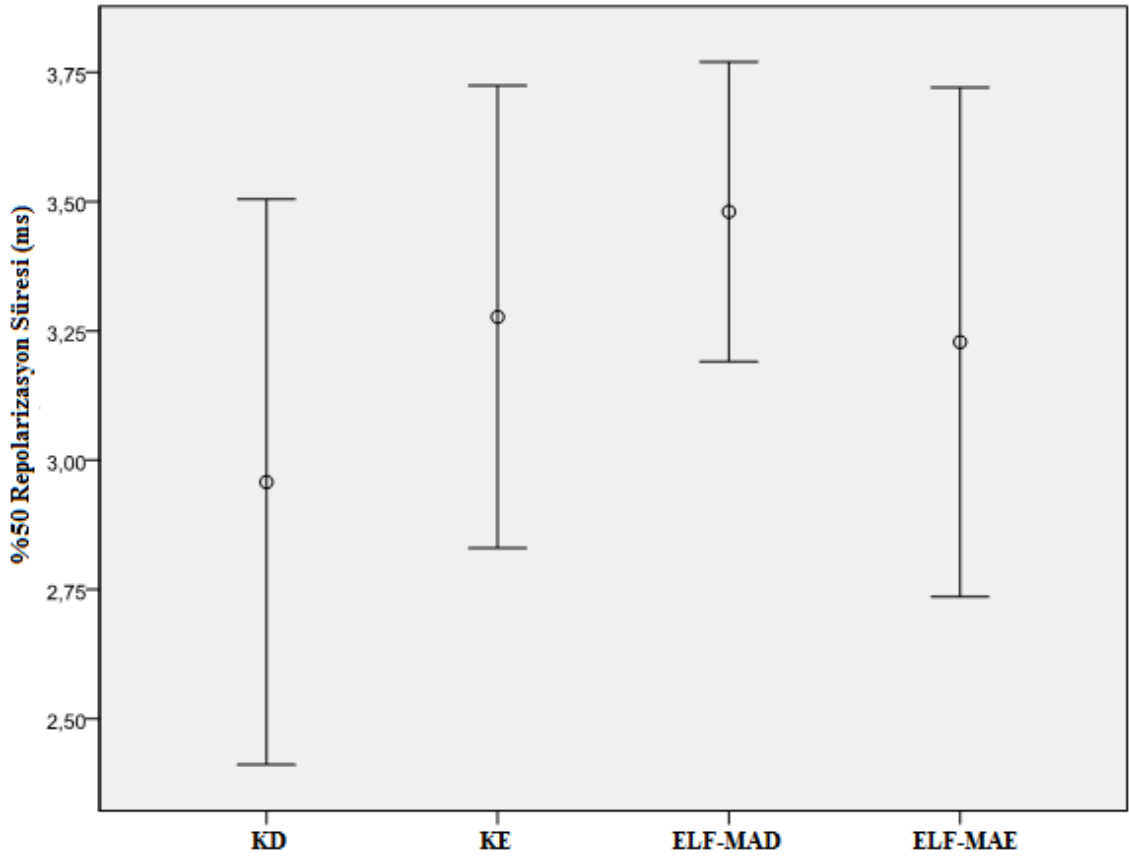
Hücre içi AP'nin alan parametresi değerlendirildiğinde, hem ELF-MAD hem de ELF-MAE gruplarında kontrole göre bir artış olduğu gözlenmiştir, ancak bu artış sadece ELF-MAD grubunda anlamlı bulunmuştur ($p = 0,049$). Kontrol dışı grubunda $0,112 \pm 0,02$ mV.ms olan alan değeri, ELF-MAD grubunda $0,128 \pm 0,01$ mV.ms'e kadar artmıştır. Alan açısından diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p > 0,05$) bir fark saptanmamıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Hücre içi aksiyon potansiyeli alan parametresi için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p < 0,05$).

4.1.1.10. %50 Repolarizasyon Süresi

ELF-MA maruziyeti, hücre içi AP'i parametrelerinden %50 repolarizasyon süresi için dişi grubunda bir artışa (KD: $2,96 \pm 0,59$ ms ve ELF-MAD: $3,48 \pm 0,35$ ms), erkek grubunda ise bir azalmaya (KE: $3,28 \pm 0,48$ ms ve ELF-MAE: $3,23 \pm 0,53$ ms) neden olmuş, fakat bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.10).

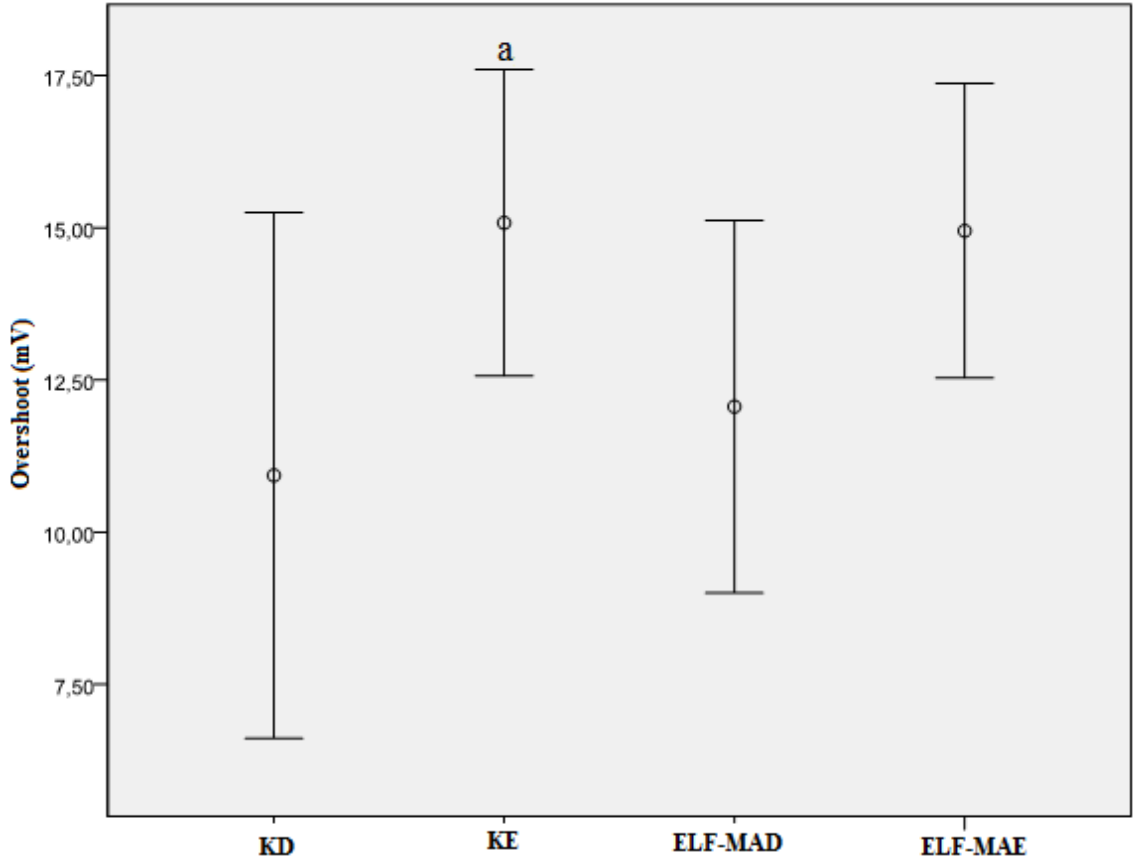


Şekil 4.10. Hücre içi aksiyon potansiyelinin %50 repolarizasyon süresi için ortalama ve %95 güven aralığı.

4.1.1.11. Overshoot

Hücre içi AP'i overshoot değerinin KE grubunda, KD grubuna göre (sırasıyla; $15,08 \pm 2,72$ mV ve $11,93 \pm 4,67$ mV) anlamlı ($p < 0,05$) olarak daha büyük olduğu (Çizelge 4.2) saptanmıştır.

Manyetik alan uygulanan gruplarla kontrol gruplarının karşılaştırılması sonucu, hücre içi AP'inin overshoot değeri KD grubunda $11,93 \pm 4,67$ mV iken, ELF-MAD grubunda $12,06 \pm 3,66$ mV'a ulaşmış ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol erkek grubunda ise $15,08 \pm 2,72$ mV olan overshoot değeri ELF-MAE grubunda $14,95 \pm 2,61$ mV'a düşmüş ve bu azalış miktarının da anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur (Şekil 4.11). Böylece MA alan uygulanması, overshoot değeri için cinsiyetler arasında başlangıçta gözlenen farklılığı ortadan kaldırmıştır.



Şekil 4.11. Hücre içi aksiyon potansiyeli overshoot için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p < 0,05$).

4.1.2. Diyafram Kası Mekanik Bulguları

4.1.2.1. Bir Kas Şeridini Optimum Boyuna (L_0) Getiren Ön Gerim Değerleri

Çizelge 4.3'te, bir kas şeridinin maksimum kuvvet oluşturacağı optimum boyu belirlenirken kas şeridine uygulanan ön gerim değerleri ve bu ön gerim değerlerinde, kasta oluşan kuvvet cevapları için örnek veri dizisi görülmektedir. Ön gerim uygulanan kaslarda kuvvet yanıtını oluşturmak için her seferinde 10 V genliğinde ve 0,5 ms süresinde kare puls uygulanmıştır. Çizelgede görüldüğü gibi, kasta maksimum kuvvet oluşturuluncaya kadar, uygulanan ön gerim miktarı artırılır ve ön gerimin artması karşılığında kuvvet cevabının azalmaya başladığı değerden bir önceki veri, o kas şeridi için uygun ön gerim değeri olarak kullanılır. Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi, örnekteki

kas şeridini maksimum kasılma kuvvetini oluşturacak optimum boya getiren ön gerim değeri 2,1 g olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.3. Bir mikrometre aracılığıyla bir kas şeridine uygulanan ve kası maksimum kuvvet oluşturacağı optimum boyuna getirecek ön gerim değerleri ve oluşan kuvvet cevapları için örnek veriler.

Uygulanan Ön Gerim (g)	Elde edilen kuvvet cevabı (mg)
1,8	2345
1,9	2830
2,0	3675
2,1	4327
2,2	3875

Çizelge 4.4'te hem dişi hem de erkek kontrol gruplarına (sırasıyla; KD: $1,85 \pm 0,29$ g ve KE: $2,59 \pm 0,29$ g) göre MA gruplarında (sırasıyla; ELF-MAD: $1,71 \pm 0,27$ g ve ELF-MAE: $1,96 \pm 0,29$ g) uygulanan ön gerimlerin bir miktar azaldığı fakat bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) görülmektedir.

4.1.2.2. Kas Mekanik Aktivite Parametreleri

Yapılan analizler sonucu elde edilen kas mekanik aktivite parametrelerinin ortalama±standart sapma değerleri Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Kas mekanik aktivite parametrelerinin ortalama \pm standart sapma değerleri.

	KD (n=7) (Ort \pm Std.Sapma)	KE (n=7) (Ort \pm Std.Sapma)	ELF-MAD (n=8) (Ort \pm Std.Sapma)	ELF-MAE (n=7) (Ort \pm Std.Sapma)
Uygulanan ön gerim (g)	1,85 \pm 0,29	2,59 \pm 0,29	1,71 \pm 0,27	1,96 \pm 0,29
Kasılma süresi (CT) (ms)	26,78 \pm 3,53	20,91 \pm 3,53	21,19 \pm 3,30	20,11 \pm 3,53
Yarı gevşeme süresi (%50 RT) (ms)	87,27 \pm 8,02	87,83 \pm 8,02	82,89 \pm 7,51	72,59 \pm 8,02
Toplam sarsı süresi (TCT) (ms)	200,94 \pm 17,70	194,28 \pm 17,70	185,74 \pm 16,56	164,99 \pm 17,70
Tepe (peak) sarsı kuvveti (P_{Tw}) (g/cm^2)	192,19 \pm 93,71	232,99 \pm 147,44	172,79 \pm 82,59	166,52 \pm 131,32
Maksimum tetanik kuvvet (P_0) (g/cm^2)	558,29 \pm 409,40	791,45 \pm 523,74	555,57 \pm 308,75	480,59 \pm 424,88

P_{Tw} = Tek uyarı ile oluşan sarsı eğrisinden elde edilen tepe sarsı kuvveti

P_0 =Frekansı 150 Hz olan uyarı katarına karşı oluşan maksimum tetanik kuvvet değerinin kas birim yüzey alanına bölünerek elde edilen değeri.

4.1.2.2.1. Tek Bir Uyarıya Yanıt Olarak Kaydedilen Sarsı Eğrisinin Kasılma Süresi (CT)

Genliği 10 V ve süresi 0,5 ms olan tek bir kare puls uygulanan kaslardan kayıtlanmış sarsı eğrilerinin kasılma süresinde, KD (26,78 \pm 3,53 ms) grubuna göre ELF-MAD (21,19 \pm 3,30 ms) ve KE (20,91 \pm 3,53 ms) grubuna göre ELF-MAE (20,11 \pm 3,53 ms) grubunda bir azalma gözlenmiş, ancak bu azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) saptanmıştır (Çizelge 4.4).

4.1.2.2.2. Tek Bir Uyarıya Yanıt Olarak Kaydedilen Sarsı Eğrisinin Yarı Gevşeme Süresi (%50 RT)

Tek bir kare puls (genliği 10 V ve süresi 0,5 ms) uygulanan kaslardan kayıtlanmış sarsı eğrilerinden ölçülen yarı gevşeme sürelerinin, KD grubunda $87,27 \pm 8,02$ ms iken ELF-MAD grubunda $82,89 \pm 7,51$ ms'ye; KE grubunda ise $87,83 \pm 8,02$ ms olan bu değer, ELF-MAE grubunda $72,59 \pm 8,02$ ms'ye azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.4). Ancak kontrol gruplarına kıyasla MA gruplarında oluşan bu azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur.

4.1.2.2.3. Tek Bir Uyarıya Yanıt Olarak Kaydedilen Sarsı Eğrisinin Toplam Süresi (TCT)

Tek bir kare puls uygulanan (genliği 10 V ve süresi 0,5 ms) KD grubundaki sıçan diyafram kaslarından kayıtlanmış sarsı eğrilerinin toplam süresinin $200,94 \pm 17,70$ ms iken, bu sürenin ELF-MAD grubunda $185,74 \pm 16,56$ ms'ye, aynı parametrenin KE grubunda $194,28 \pm 17,70$ ms'den ELF-MAE grubunda $164,99 \pm 17,70$ ms'ye kadar azaldığı ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

4.1.2.2.4. Tek Bir Uyarıya Yanıt Olarak Kaydedilen Sarsı Eğrisinin Tepe (Peak) Sarsı Kuvveti (P_{Tw})

Diyafram kası tepe sarsı kuvveti değerlendirildiğinde, hem KD'ye ($192,19 \pm 93,71$ g/cm²) kıyasla ELF-MAD ($172,79 \pm 82,59$ g/cm²) grubunda, hem de KE ($232,99 \pm 147,44$ g/cm²) ile karşılaştırıldığında ELF-MAE ($166,52 \pm 131,32$ g/cm²) grubunda bir azalış olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.4). Bu parametre açısından, MA maruziyeti sonucu cinsiyetler üzerine benzer bir etkinin olduğu, ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) saptanmıştır.

4.1.2.2.5. Maksimum Tetanik Kuvvet (P_0)

Çizelge 4.4'te görüldüğü gibi, tüm gruplardaki sıçanlardan izole edilen her bir kas şeridine, genliği 10 V ve süresi 0,5 ms olan kare pulsların oluşturduğu frekansı 150 Hz'lik uyarı katarı verildiğinde, tüm kas preparatlarından tam tetanik kuvvet elde edilmiştir. Maksimum tetanik kuvvet (P_0), KD grubuna göre ELF-MAD grubunda (sırasıyla; $558,29 \pm 409,40 \text{ g/cm}^2$ ve $555,57 \pm 308,75 \text{ g/cm}^2$) ve benzer şekilde KE grubuna kıyasla ELF-MAE grubunda (sırasıyla; $791,45 \pm 523,74 \text{ g/cm}^2$ ve $480,59 \pm 424,88 \text{ g/cm}^2$) azalmıştır. Ancak sözü edilen bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) saptanmıştır.

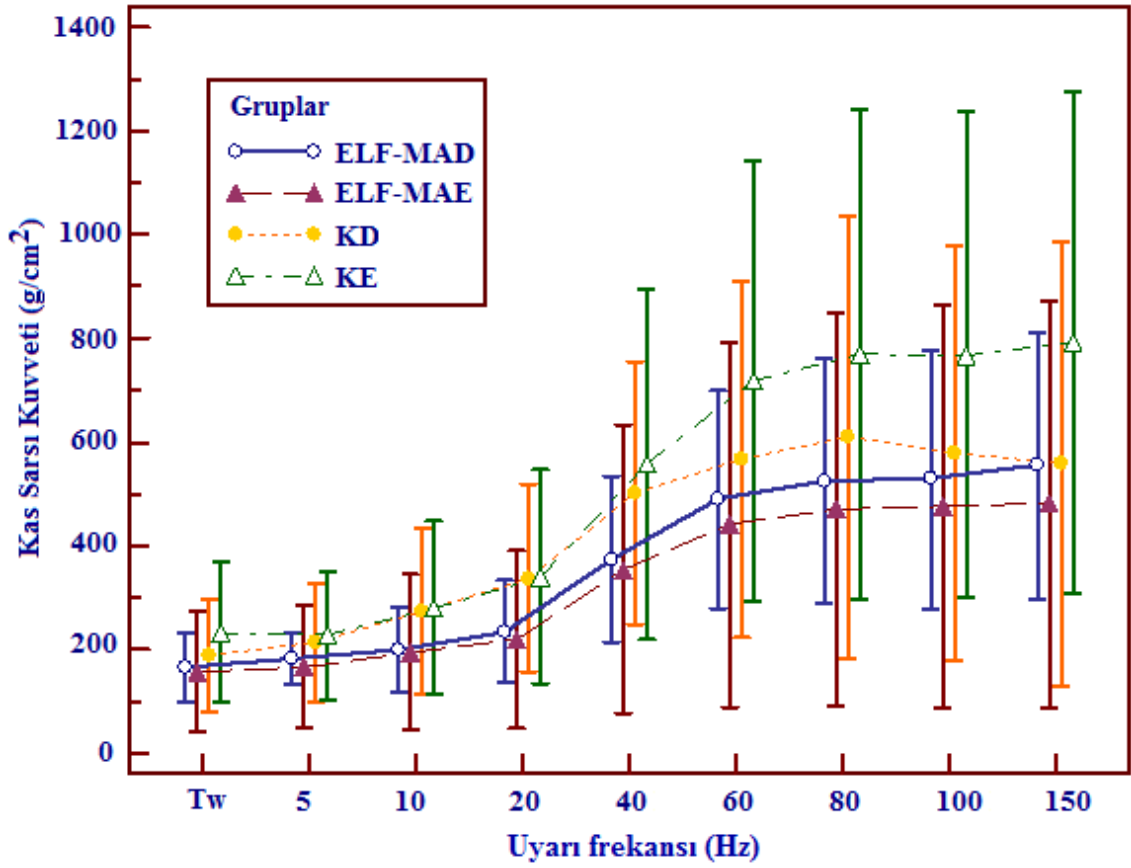
4.1.2.2.6. Belirli Frekans Aralığında (Tw, 5-150 Hz) Uyarılara Karşı Oluşan Maksimum Kasılma Kuvvetleri

Tek bir uyarı ve farklı frekanslarda uyarılar için kaydedilen izometrik sarsı eğrilerinden elde edilen kasılma kuvvetlerinin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.5'te verilmektedir.

Çizelge 4.5. Kas mekanik aktivitesinde tek uyarı (Tw) ve farklı frekanslarda uyarılar için elde edilen sarsı kuvvetlerinin ortalama \pm standart sapma değerleri.

Uyarı	KD	KE	ELF-MAD	ELF-MAE
Frekansı (Hz)	Sarsı kuvveti (g/cm ²) (Ort \pm Std.Sapma)	Sarsı kuvveti (g/cm ²) (Ort \pm Std.Sapma)	Sarsı kuvveti (g/cm ²) (Ort \pm Std.Sapma)	Sarsı kuvveti (g/cm ²) (Ort \pm Std.Sapma)
Tw	192,19 \pm 93,71	232,99 \pm 147,44	172,79 \pm 82,59	166,52 \pm 131,32
5	202,63 \pm 102,85	227,03 \pm 134,92	182,70 \pm 57,24	166,27 \pm 128,25
10	254,19 \pm 148,56	280,39 \pm 180,66	200,59 \pm 98,636	195,10 \pm 162,62
20	337,30 \pm 172,95	340,21 \pm 222,87	234,54 \pm 117,98	219,55 \pm 184,81
40	500,82 \pm 241,56	558,65 \pm 365,21	373,37 \pm 191,97	354,62 \pm 300,42
60	566,198 \pm 326,30	718,92 \pm 459,41	489,19 \pm 249,66	441,09 \pm 381,40
80	609,37 \pm 405,87	769,08 \pm 511,91	524,52 \pm 283,46	470,83 \pm 410,03
100	577,80 \pm 382,22	767,58 \pm 507,68	529,31 \pm 297,25	475,84 \pm 418,74
150	558,29 \pm 409,40	791,45 \pm 523,74	555,57 \pm 308,75	480,59 \pm 424,88

Her bir MA grubunun kendi kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda, kas sarsı kuvvetlerinde düşüşler gözlemlendiği, bunun erkek grubunda dişilere oranla daha fazla olduğu ancak bu azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) saptanmıştır (Çizelge 4.5). Tek uyarı ve farklı uyarı frekanslarına karşı oluşan sarsı kuvveti grafiği Şekil 4.12’de görülmektedir.



Şekil 4.12. Tek uyarı (Tw) ve farklı frekanslı uyarılar için kaydedilen kas sarsı kuvvetlerinin ortalama ve %95 güven aralığı.

4.1.2.2.7. P_i/P_0 Oranları ($i=Tw, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100$ ve 150 Hz)

Kronik olarak uygulanan ELF-MA maruziyeti sonrasında, her bir grup için tek bir kare puls ve farklı frekanslı uyarılar uygulanmış ve kaydedilen kasılma kuvvetleri kullanılarak P_i/P_0 oranları hesaplanmıştır. Çizelge 4.6'da P_i/P_0 değerleri ortalama ve standart sapma cinsinden verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda P_i/P_0 oranı açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.6. Kas mekanik aktivite parametrelerinden P_i/P_0 oranları için ortalama±standart sapma değerleri. (i=Tw, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ve 150 Hz; Tw: Tek uyarı ile oluşan sarsı). $P_0=150$ Hz frekansındaki uyarıya karşı oluşan kuvvet

	KD	KE	ELF-MAD	ELF-MAE
P_i/P_0	(n=7)	(n=7)	(n=8)	(n=7)
	(Ort±Std. Sapma)	(Ort±Std. Sapma)	(Ort±Std. Sapma)	(Ort±Std. Sapma)
P_{Tw}/P_0	0,44±0,24	0,49±0,54	0,45±0,30	0,49±0,21
$P_{5\text{ Hz}}/P_0$	0,48±0,23	0,46±0,45	0,42±0,26	0,50±0,22
$P_{10\text{ Hz}}/P_0$	0,59±0,29	0,50±0,39	0,49±0,27	0,54±0,20
$P_{20\text{ Hz}}/P_0$	0,75±0,39	0,54±0,30	0,54±0,24	0,58±0,17
$P_{40\text{ Hz}}/P_0$	1,02±0,27	0,83±0,41	0,79±0,22	0,86±0,16
$P_{60\text{ Hz}}/P_0$	1,10±0,19	1,02±0,39	0,99±0,17	1,01±0,11
$P_{80\text{ Hz}}/P_0$	1,11±0,19	0,98±0,16	1,03±0,14	1,05±0,09
$P_{100\text{ Hz}}/P_0$	1,08±0,17	0,97±0,11	1,03±0,13	1,05±0,10
$P_{150\text{ Hz}}/P_0$	1,02±0,06	1,00±0,06	1,05±0,05	1,05±0,09

4.1.2.2.8. Belirli Frekans Aralığındaki (5-150 Hz) Uyarılara Karşı Oluşan Maksimum Kasılma Genliğine Ulaşma Süreleri

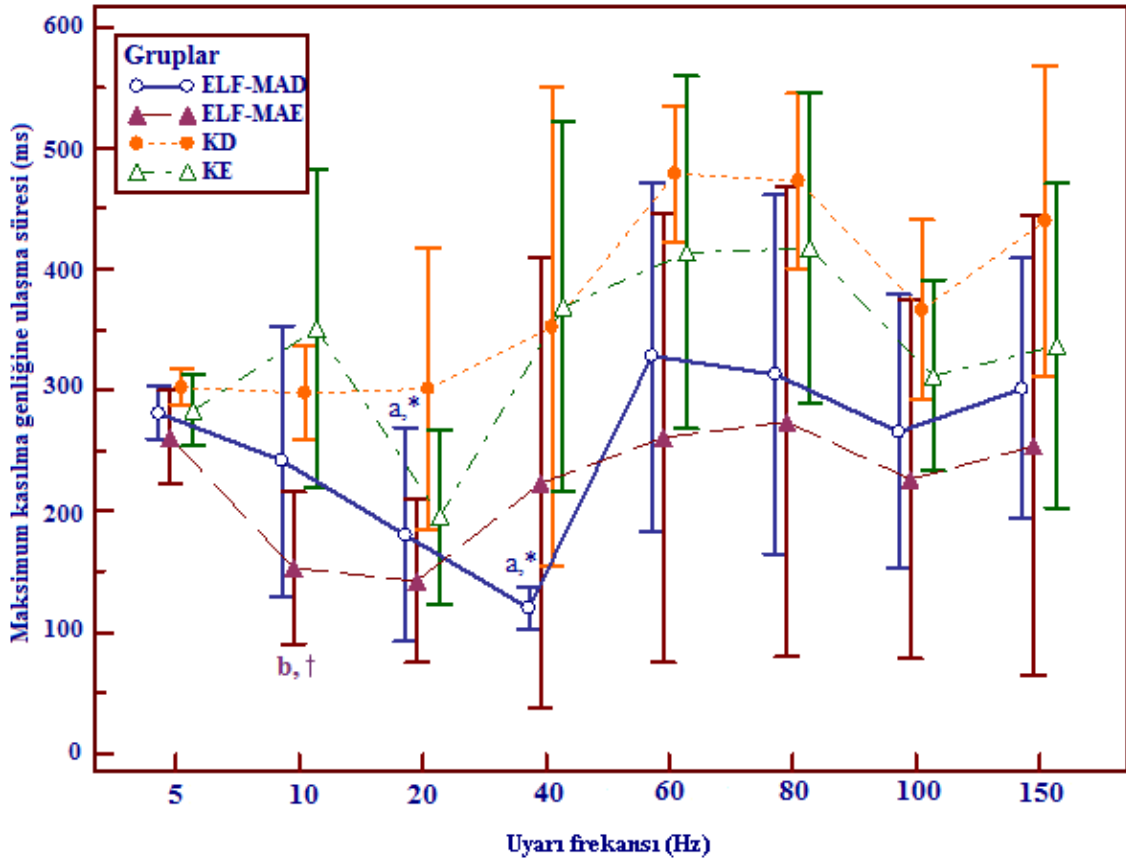
Farklı frekanslarda uyarılar için elde edilen izometrik sarsı eğrilerinin maksimum kasılma genliğine ulaşma süreleri Çizelge 4.7 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir.

Kontrol dışı grubunun ELF-MAD grubu ile karşılaştırılması sonucunda, 5, 10, 60, 80, 100 ve 150 Hz frekanslı uyarılar için elde edilen maksimum kasılma genliğine ulaşma sürelerinde gözlenen azalmanın anlamlı olmadığı, ancak sadece 20 ve 40 Hz frekanslı uyarı katarı uygulanması sonucu elde edilen maksimum kasılma genliğine ulaşma sürelerindeki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.7). Kontrol erkek grubunda ise ELF-MAE ile karşılaştırma bize sadece 10 Hz frekanslı uyarıda gözlenen azalmanın anlamlı olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.7. Kas mekanik aktivitesinde farklı frekanslarda uyaranlar sonucu maksimum sarsı kuvvetlerine ulaşma sürelerinin ortalama \pm standart sapma değerleri.

	KD	KE	ELF-MAD	ELF-MAE
	Süre (ms) (Ort\pmStd.Sapma)	Süre (ms) (Ort\pmStd.Sapma)	Süre (ms) (Ort\pmStd.Sapma)	Süre (ms) (Ort\pmStd.Sapma)
5 Hz	302,53 \pm 14,18	283,44 \pm 31,72	281,30 \pm 26,27	261,33 \pm 42,06
10 Hz	297,83 \pm 36,87	351,43 \pm 142,42	241,44 \pm 134,50	153,13 \pm 67,94 ^{b, †}
20 Hz	301,17 \pm 111,26	195,29 \pm 77,67	180,75 \pm 105,78 ^{a, *}	142,14 \pm 73,51
40 Hz	352,37 \pm 188,34	369,37 \pm 165,61	119,54 \pm 21,96 ^{a, *}	223,44 \pm 201,64
60 Hz	478,48 \pm 53,41	414,06 \pm 157,63	327,68 \pm 172,83	260,36 \pm 200,65
80 Hz	473,13 \pm 68,58	417,88 \pm 139,01	312,96 \pm 177,06	273,57 \pm 210,19
100 Hz	366,83 \pm 70,82	312,43 \pm 85,78	266,00 \pm 135,58	226,14 \pm 160,21
150 Hz	439,67 \pm 121,96	336,86 \pm 144,77	301,50 \pm 128,58	254,29 \pm 206,25

a: KD ile karşılaştırıldığında, b: KE ile karşılaştırıldığında. * $p<0,05$, † $p<0,001$.



Şekil 4.13. Kas sarsılarının maksimum kasılma genliğine ulaşma sürelerinin ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında (* p<0,05), b: KE ile karşılaştırıldığında († p<0,001).

4.2. Sıçan Kütleleri

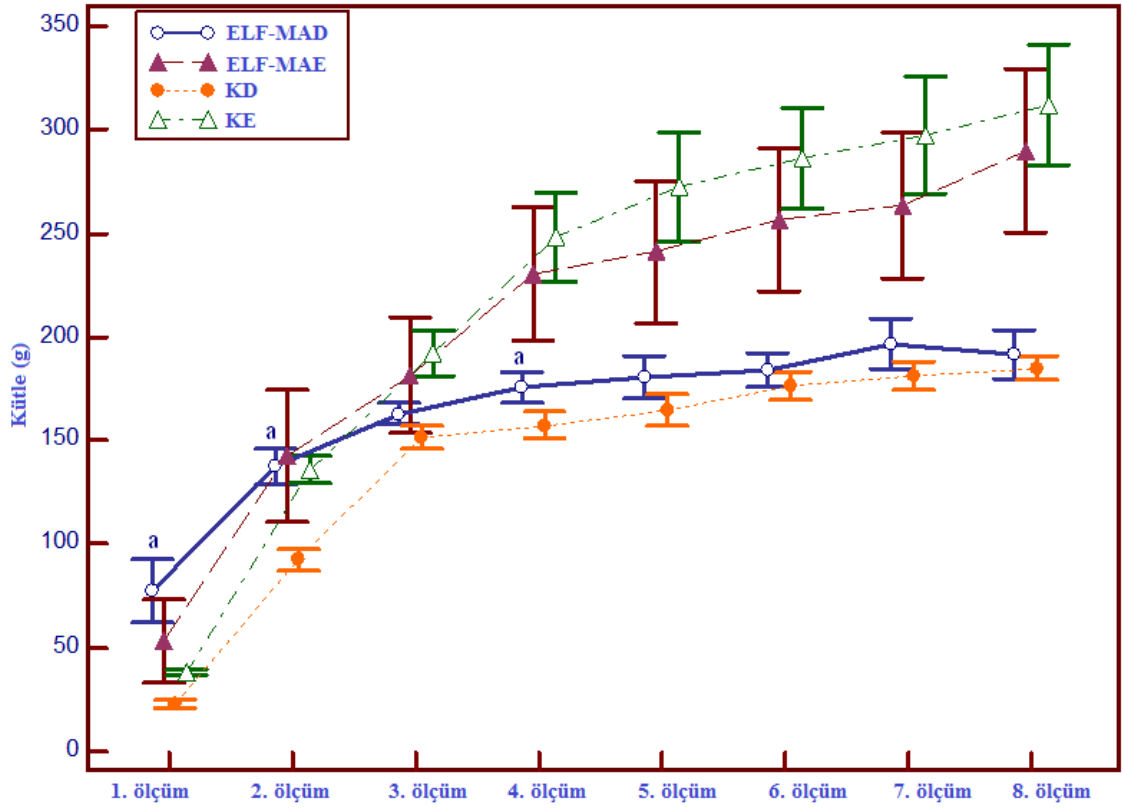
Tüm grupların ölçüm dönemlerindeki kütleleri için ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.8’de görülmektedir.

Çizelge 4.8. Tüm gruplardaki sıçanların ölçüm dönemlerindeki kütlelerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

	KD	KE	ELF-MAD	ELF-MAE
	Kütle (g) (Ort±Std.Sapma)	Kütle (g) (Ort±Std.Sapma)	Kütle (g) (Ort±Std.Sapma)	Kütle (g) (Ort±Std.Sapma)
1. ölçüm	22,86±3,78	38,29±5,74	77,33±4,08 ^a *	53,29±5,74
2. ölçüm	92,43±2,55	135,86±9,39	137,33±2,76 ^a *	142,43±9,39
3. ölçüm	151,71±2,08	192,29±8,71	162,83±2,24	181,43±8,71
4. ölçüm	157,29±2,72	248,57±11,13	175,50±2,94 ^a *	230,57±11,13
5. ölçüm	164,71±3,36	272,71±12,48	180,83±3,63	241,14±12,48
6. ölçüm	176,29±2,90	286,14±12,25	184,00±3,14	256,71±12,25
7. ölçüm	181,14±3,64	297,29±13,06	196,67±3,94	263,57±13,06
8. ölçüm	184,86±3,37	311,86±14,10	191,50±3,64	289,86±14,10

a: KD ile karşılaştırıldığında, *p < 0,05

Şekil 4.14 görüldüğü gibi, KE ve ELF-MAE grupları arasında yapılan analiz sonucunda kütle ölçümleri açısından hiç bir dönem için anlamlı fark olmadığı ($p>0,05$) saptanmıştır. Ancak, KD ve ELF-MAD gruplarının başlangıçtaki yani 1. ölçümde (sırasıyla; 22,86±3,78 g ve 77,33±4,08 g), ayrıca 2. (sırasıyla; 92,43±2,55 g ve 137,33±2,76 g) ve 4. ölçümlerde (sırasıyla; 157,29±2,72 g ve 175,50±2,94 g) elde edilen kütle değerleri arasında gözlenen anlamlı ($p<0,05$) farkın, diğer ölçüm dönemlerinde giderek azaldığı ve ortadan kalktığı saptanmıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Sıçan kütlelerinin aylık ölçümlerinin ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p < 0,05$).

4.3. Biyokimyasal Bulgular

4.3.1. Serum Na^+ , K^+ , Cl^- ve Ca^{+2} Düzeyleri Bulguları

Çizelge 4.9’da serum Na^+ , K^+ , Cl^- ve Ca^{+2} düzeyleri için gruplara ait ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir.

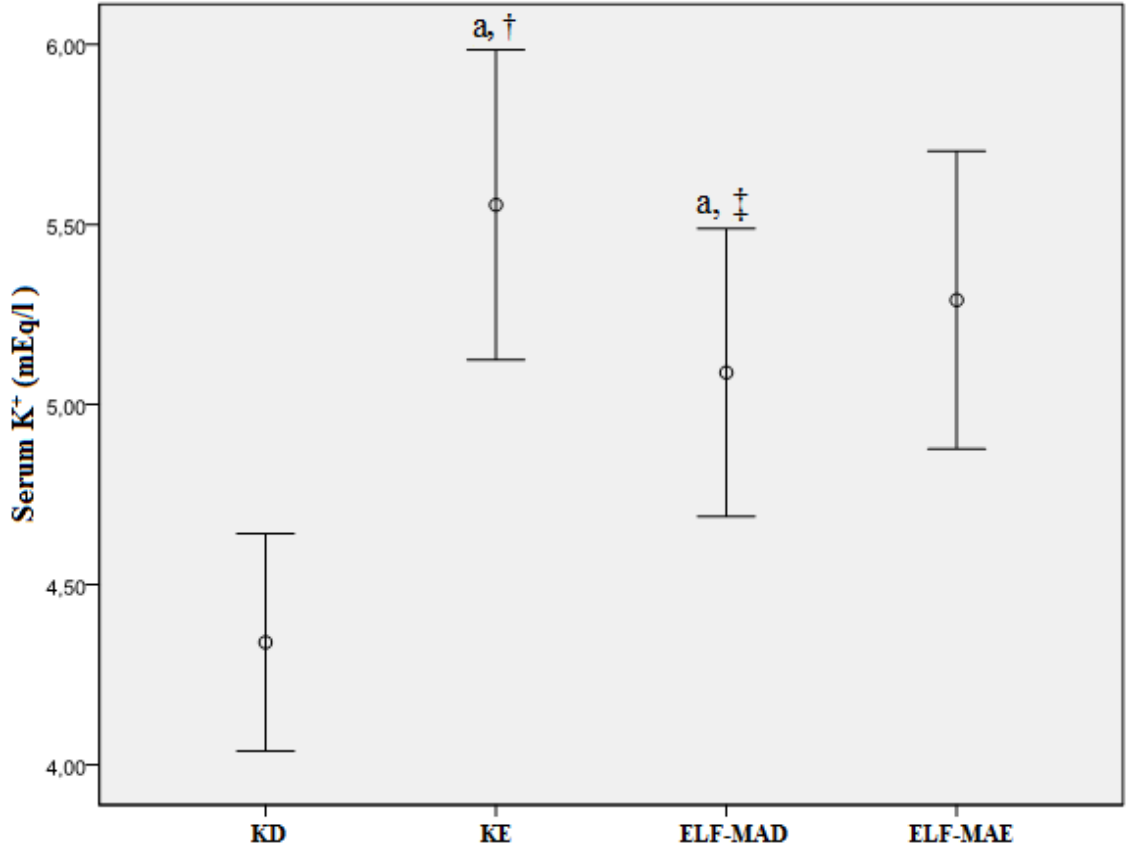
Çizelge 4.9. Serumda ölçülen Na⁺, K⁺, Cl⁻ ve Ca⁺² için gruplara ait ortalama ve standart sapma değerleri.

	KD (n=7) (Ort±Std.Sapma)	KE (n=7) (Ort±Std.Sapma)	ELF-MAD (n=8) (Ort±Std.Sapma)	ELF-MAE (n=7) (Ort±Std.Sapma)
Serum_Na⁺ (mEq/l)	139,00±2,89	140,00±3,70	138,37±2,72	139,29±1,38
Serum_K⁺ (mEq/l)	4,34±0,33	5,55±0,47 ^{a†}	5,09±0,48 ^{a‡}	5,29±0,45
Serum_Ca⁺² (mEq/l)	5,32±0,15	5,51±0,31	5,78±0,15 ^{a‡}	5,16±0,15 ^{b‡c†}
Serum_Cl⁻ (mEq/l)	103,00±3,37	101,00±4,08	99,38±2,39	100,14±1,68

a: KD ile karşılaştırıldığında, b: KE ile karşılaştırıldığında, c: ELF-MAD ile karşılaştırıldığında, ‡ p<0,01, † p<0,001.

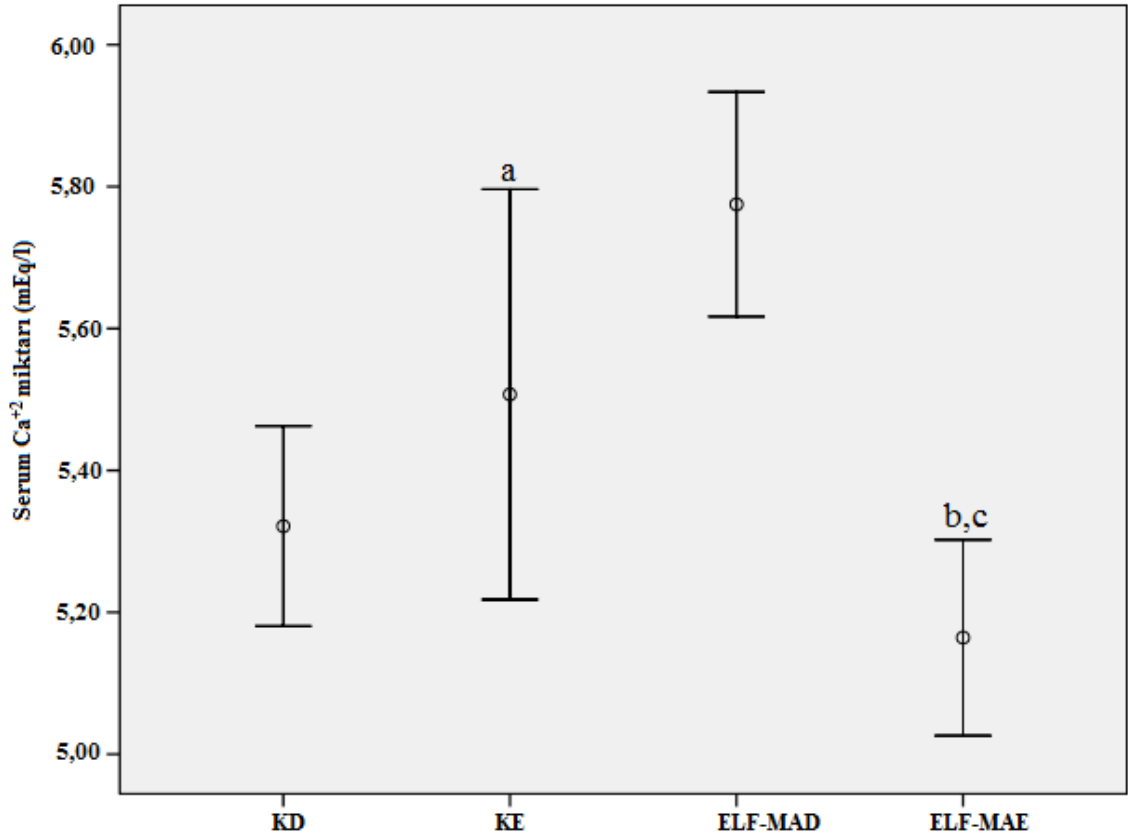
Serum Na⁺ ve Cl⁻ düzeyleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p>0,05).

Serum K⁺ düzeyi dikkate alındığında, Çizelge 4.9 ve Şekil 4.15'ten de görüldüğü gibi KE grubunda KD'ye göre (sırasıyla; 5,55±0,47 ve 4,34±0,33) anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (p<0,001). Serum K⁺ düzeyleri KD grubunda 4,34±0,33 mEq/l iken ELF-MAD grubunda 5,09±0,48 mEq/l'ye kadar artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,01).



Şekil 4.15. Bütün gruplarda serum K⁺ değişimi için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında (‡ p<0,01, † p<0,001).

Şekil 4.16'da serum Ca⁺² miktarı açısından KD ve KE grupları arasında anlamlı fark olmadığı (p>0,05) görülmektedir. Ancak, KD grubunda 5,32±0,15 mEq/l olan miktarın ELF-MAD grubunda 5,78±0,15 mEq/l'ye kadar arttığı (p<0,05), KE grubunda ise 5,51±0,31 mEq/l olan değer ELF-MAE grubunda 5,16±0,15 mEq/l'ye azaldığı (p<0,01) bulunmuştur. Böylece Ca⁺² miktarı açısından kontrol grupları arasında gözlenmeyen farklılık, MA maruziyeti nedeniyle, MA grupları arasında anlamlı bir fark (p<0,001) oluşmasına neden olmuştur.



Şekil 4.16. Bütün gruplarda serum Ca²⁺ değişim için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p<0,01$), b: KE ile karşılaştırıldığında ($p<0,01$), c: ELF-MAD ile karşılaştırıldığında ($p<0,001$).

4.3.2. Total Oksidan Kapasite (TOK) ve Total Antioksidan (TAK) Bulguları

Bütün gruplarda hem serum hem de doku TAK ve TOK verileri Çizelge 4.10'da görülmektedir.

Çizelge 4.10'da görüleceği üzere dokuda ölçülen TOK parametresi bakımından bütün deney grupları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Benzer olarak serumda TOK ölçümü bakımından da bütün deney grupları arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.10).

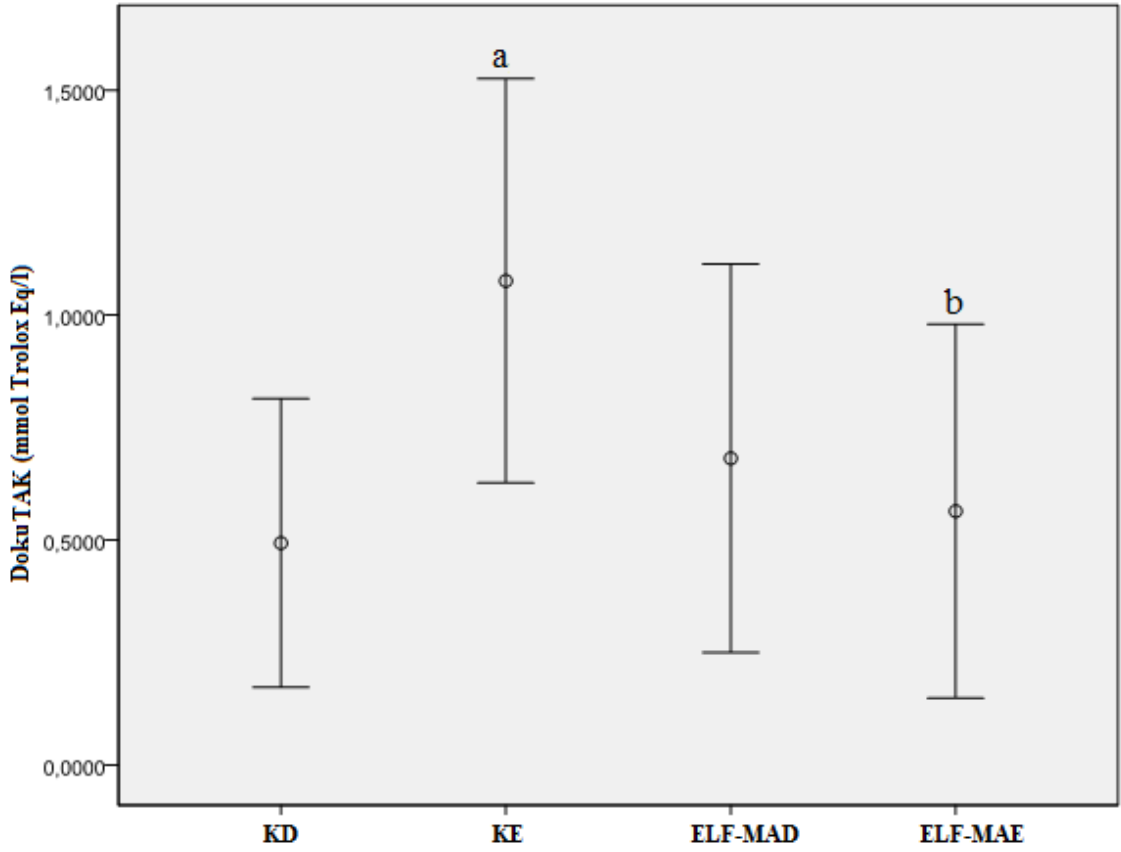
Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi KD grubunda $0,49\pm 0,17$ mmol Trolox Eq/l olan doku TAK miktarının KE grubunda $1,08\pm 0,17$ mmol Trolox Eq/l olduğu ve bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p=0,025$) (Şekil 4.17).

Maruziyet sonrasında KE grubuna göre ELF-MAE grubunda doku TAK miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu saptanmıştır (p=0,046).

Çizelge 4.10. Grupların doku_TAK, serum_TAK ve doku_TOK ve serum_TOK parametreleri için ortalama ve standart sapma değerleri.

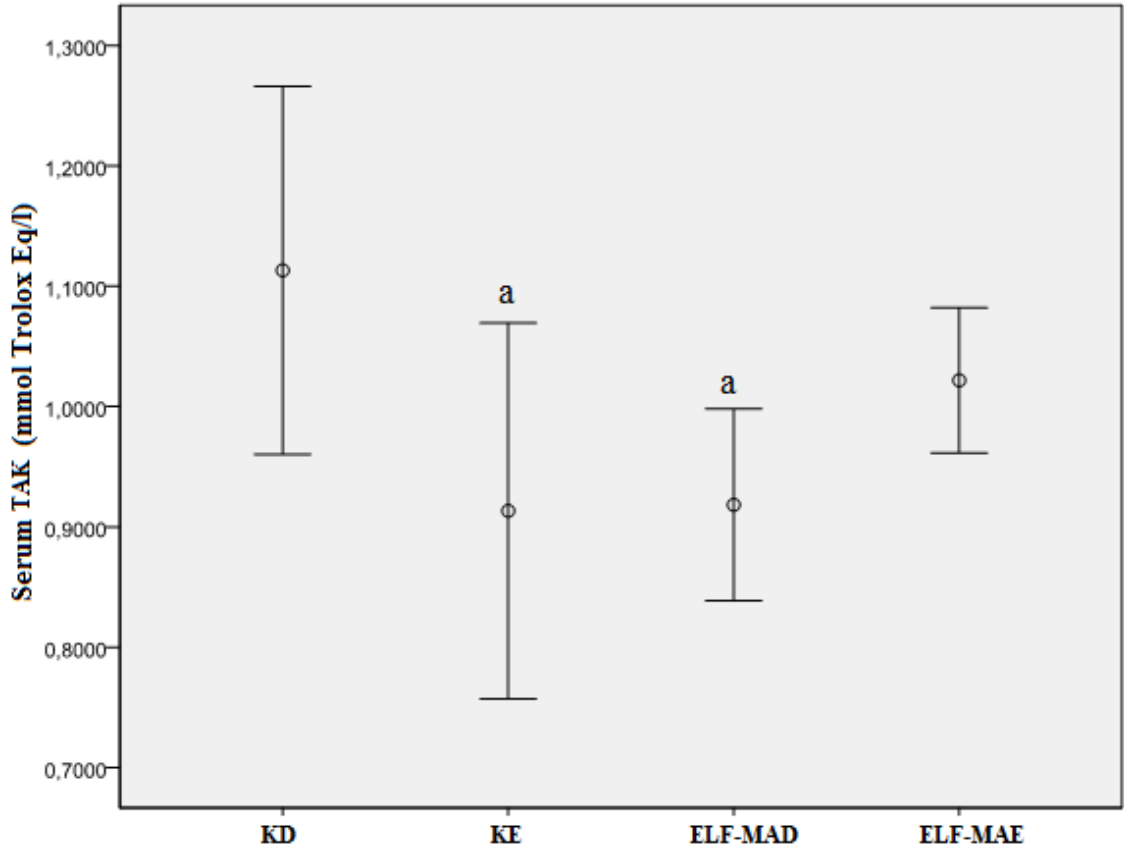
	KD (n=7) (Ort±Std.Sapma)	KE (n=7) (Ort±Std.Sapma)	ELF-MAD (n=8) (Ort±Std.Sapma)	ELF-MAE (n=7) (Ort±Std.Sapma)
DOKU_TAK (mmol Trolox Eq/l)	0,49±0,17	1,08±0,17 ^{a*}	0,68±0,16	0,56±0,17 ^{b*}
SERUM_TAK (mmol Trolox Eq/l)	1,11±0,05	0,91±0,05 ^{a‡}	0,92±0,05 ^{a‡}	1,02±0,05
DOKU_TOK (mmol H ₂ O ₂ Eq/l)	4,96±0,82	4,95±0,82	4,38±0,77	6,92±0,82
SERUM_TOK (mmol H ₂ O ₂ Eq/l)	3,10±1,50	5,07±1,50	5,28±1,41	4,51±1,50

a: KD ile karşılaştırıldığında, b: KE ile karşılaştırıldığında, * p <0,05, ‡ p <0,01.



Şekil 4.17. Bütün gruplarda doku TAK değerleri için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p < 0,05$), b: KE ile karşılaştırıldığında ($p < 0,05$).

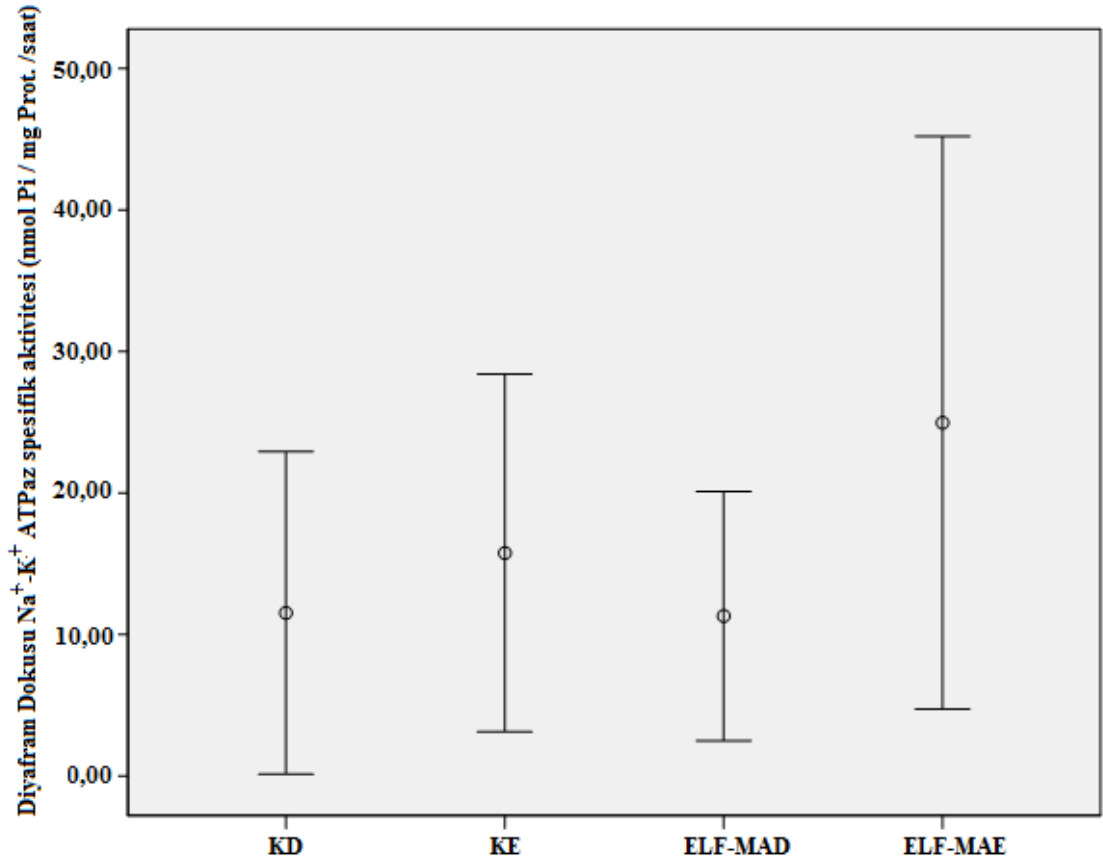
Serum TAK düzeyi dikkate alındığında, KD ve KE grupları arasında ($p=0,008$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.18). Aynı zamanda KD ($1,11 \pm 0,05$ mmol Trolox Eq/l) ile ELF-MAD ($0,92 \pm 0,05$ mmol Trolox Eq/l) gruplarında serum TAK düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p=0,008$) (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Bütün gruplarda serum TAK değerleri için ortalama ve %95 güven aralığı. a: KD ile karşılaştırıldığında ($p < 0,01$).

4.3.3. Sodyum-Potasyum Adenozin Trifosfaz ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz) Enzim Spesifik Aktivite Bulguları

Çalışmadaki bütün grupların diyafram kas dokusu örneklerinden elde edilen $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz aktivite enzim düzeyleri Şekil 4.19'da görülmektedir.

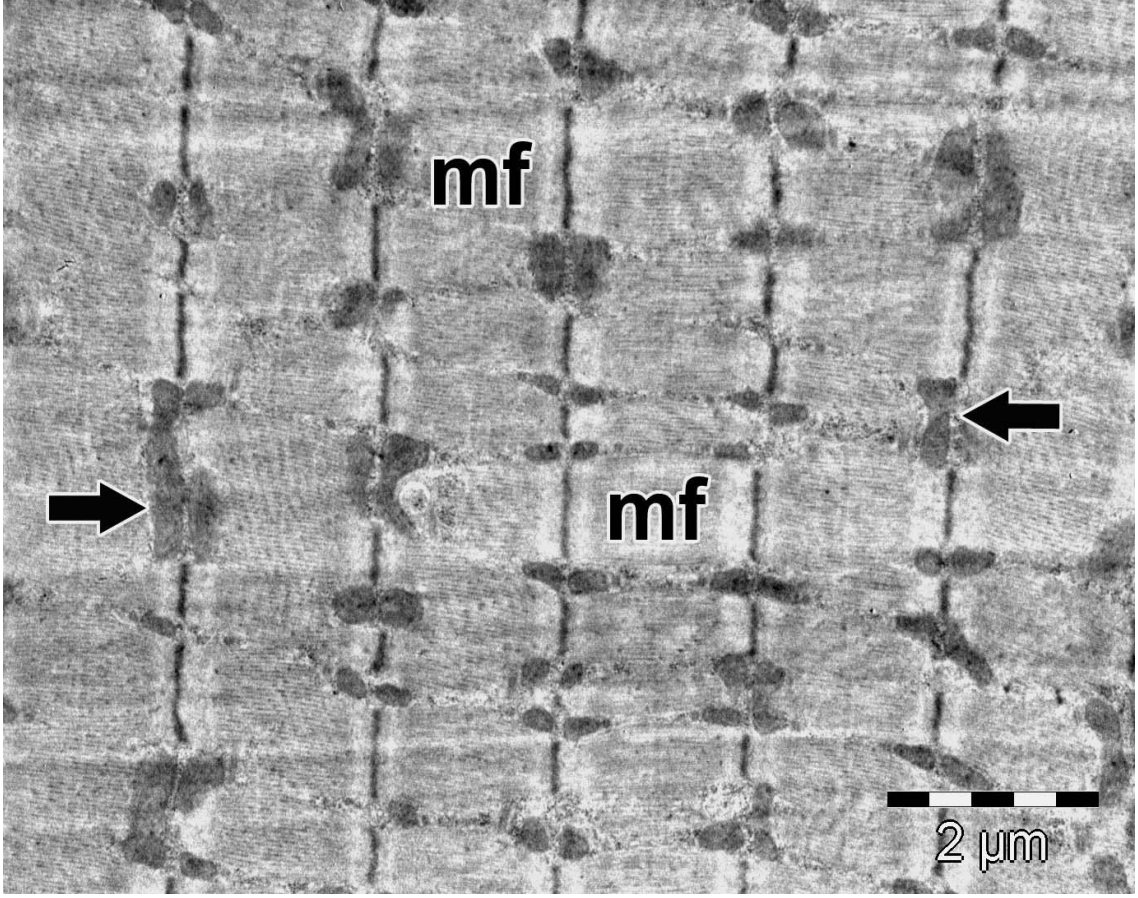


Şekil 4.19 Diyafram kas dokusu örneklerinde $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaz spesifik aktivitesi için ortalama ve %95 güven aralığı.

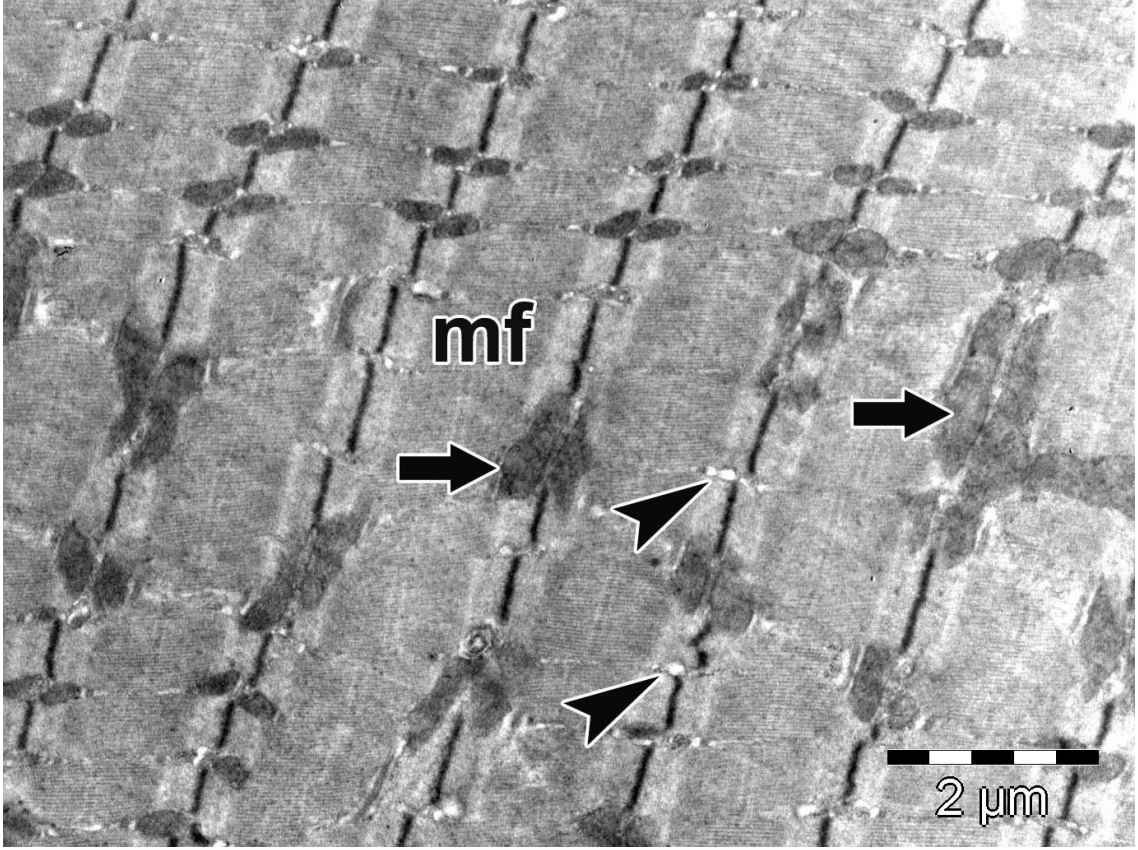
Sıçan diyafram kas dokularında $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaz aktivite düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

4.4. Elektron Mikroskopik Bulgular

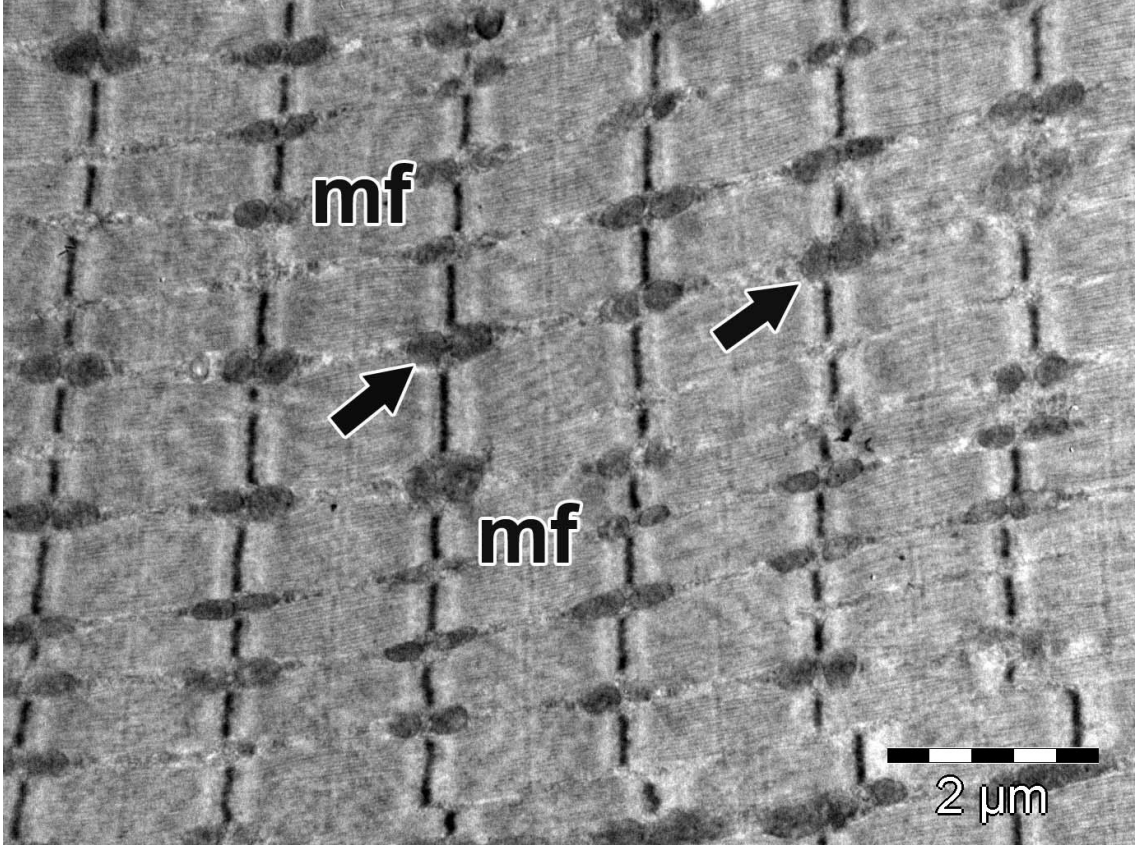
Çalışmadaki bütün grupların diyafram kas örnekleri elektron mikroskopunda 12000 büyütmede incelendi. Tüm gruplara ait örneklerde kas hücrelerinin normal morfolojik özelliklere sahip olduğu saptandı. Sarkoplazmada bulunan miyofibrillerin düzenli bir dizilim gösterdiği, sarkomer yapısının korunduğu, miyofibriller arasında bulunan mitokondriyonların, sarkoplazmik retikulum sisternalarının ve diğer organellerin normal yapıda oldukları izlendi. Sırasıyla KD (Şekil 4.20), ELF-MAD (Şekil 4.21), KE (Şekil 4.22), ELF-MAE grubu (Şekil 4.23).



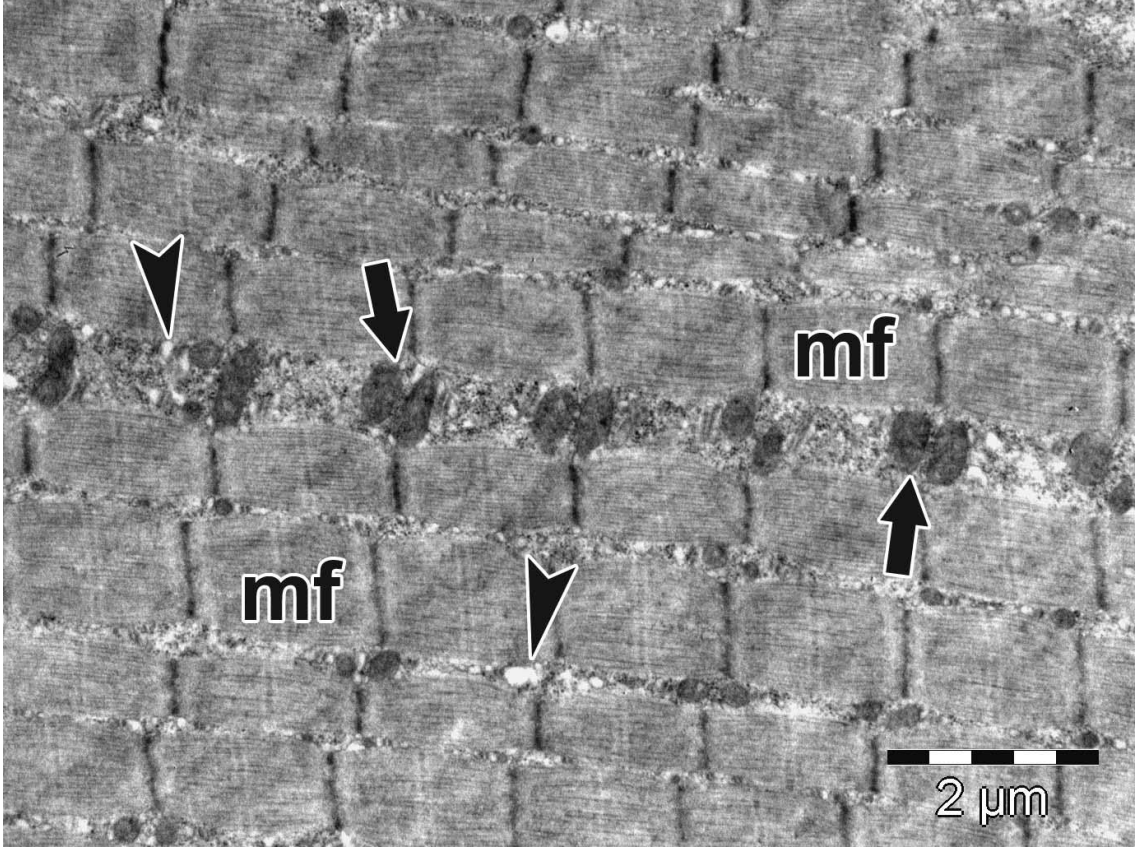
Şekil 4.20. KD grubu. Kas hücrelerinin normal morfolojik özelliklere sahip olduğu, miyofibrillerin (mf) düzenli bir dizilim gösterdiği gözlenmektedir. Mitokondriyonlar (ok). x12000.



Şekil 4.21. ELF-MAD grubu. Kas hücrelerinin normal morfolojik özelliklere sahip olduğu, miyofibrillerin (mf) düzenli bir dizilim gösterdiği gözlenmektedir. Mitokondriyonlar (ok), sarkoplazmik retikulum sisternaları (ok başı). x12000.



Şekil 4.22. KE grubu. Normal morfolojik özelliklere sahip kas hücresi izlenmektedir. Mitokondriyonlar (ok), miyofibriller (mf). x12000.



Şekil 4.23. ELF-MAE grubu. Kas hücrelerinin normal morfolojik özelliklere sahip olduğu, miyofibrillerin (mf) düzenli bir dizilim gösterdiği gözlenmektedir. Mitokondriyonlar (ok), sarkoplazmik retikulum sisternaları (ok başı). x12000.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda günlük yaşamda maruz kalınan şiddette sinüzoidal MA'a, kronik maruziyet sonucu kas elektriksel ve mekanik parametrelerinin etkilenip etkilenmediği araştırıldı. Yapılan literatür araştırması sonucu diyafram üzerine MA'ların etkileri konusunda birkaç makale bulunmasına rağmen bu konuda yapılmış hem elektriksel hem mekanik aktiviteyi değerlendiren ve elde edilen parametreleri biyokimyasal ve morfolojik sonuçlarla birlikte tartışan kapsamlı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Kas membran potansiyeli, göreceli olarak hücre içinde ve dışında bulunan Na^+ , K^+ ve Cl^- iyon konsantrasyonları ve bu iyonların hücre membranlarındaki geçirgenlikleri (permabiliteleri) ile belirlenir. Kas membranı, dinlenimde baskın olarak K^+ ve Cl^- 'a geçirgendir ve bu nedenle dinlenim potansiyeli bu iki iyonun denge potansiyeline yakındır. Bir AP'i sırasında Na^+ iyon geçirgenliğinde ani bir artış membran depolarizasyonu ve yük hareketi ile sonuçlanır ve oluşan biyokimyasal reaksiyon kaskadı sonucunda sarkoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınır. Ardından kas kasılması gerçekleşir. Belirli bir dinlenim potansiyeli için, daha büyük bir depolarizasyon (membran potansiyelinin ~ 0 ile 20 mV kadar değişimlerinde) membranda daha fazla yük hareketine neden olur ve bunun sonucunda sarkoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınımı artar ve daha güçlü bir kasılma gerçekleşir. Keza, AP'i kinetikleri de mekanik olarak etkin kasılma periyodunu değiştirerek kas kasılma performansını etkiler. Daha uzun aksiyon potansiyeli süresi, sarkoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınmasını artırır ve sonucunda kas kasılma kuvveti artar. Membran repolarizasyon hızı ve böylece aksiyon potansiyeli süresi, büyük ölçüde K^+ iletkenliğinin artış derecesi ve hızı tarafından belirlenir.

Hücre membran potansiyelindeki değişiklikler AP'i olarak isimlendirilmekte olup; AP'i parametrelerinden genlik, alan ve toplam süre, hücrede membran Na^+ ve K^+ transportu hakkında bilgi sağlamaktadır. Çalışmamızda hücre içi kas aksiyon potansiyeli kaydedebilmek için, kas hücresi dinlenimde iken EAS uygulanmış, böylece hücre içine doğru net iyonik akım (Na^+ akımı) aktive edilmiş ve bu da hücrede bir depolarizasyona yol açmıştır. Elektriksel alan stimülasyonu, stimülatörden çıkan

elektrotların kasın yerleştirildiği banyo odacığı içine yerleştirilmesi ve dokunun bu yolla uyarılmasıdır (126, 127, 128). Eğer EAS'nin şiddeti hücrenin dinlenme membran potansiyelini uyarı eşiğine getirirse (hep veya hiç yasası), bu depolarizasyon hücrede bir AP'i oluşturur.

Çalışmamızda kullanılan frekans ve şiddette kronik MA uygulanması, dinlenme membran potansiyelinde kontrol grubuna göre dişi ve erkek gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim oluşturmamıştır. Dişi ve erkek kontrol grubunda dinlenme membran potansiyeli değerleri sırasıyla; $-68,73 \pm 4,33$ mV ve $-72,61 \pm 3,05$ mV iken, aynı parametre dişi ve erkek deney grubunda sırasıyla, $-69,35 \pm 2,03$ mV ve $-69,71 \pm 2,92$ mV olarak bulunmuştur. İteğin ve ark.'ı tarafından (129) yapılan bir çalışmada, 20 mT (200 G) şiddetinde MA'a kronik olarak maruz bırakılan sıçanlardan izole edilen diyafram kasının dinlenme membran potansiyeli $-72,8 \pm 0,4$ mV olarak ölçülmüş ve kontrol grubuna ($-76,5 \pm 0,6$ mV) göre depolarizasyon yönündeki bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Modülasyonlu MA'nın (50 Hz frekanslı, 5 mT şiddetinde) 4 hafta süresince uygulandığı bir başka çalışmada, sıçan diyafram kası dinlenme zar potansiyelinin depolarize olduğu saptanmıştır. Dinlenme zar potansiyelini belirleyen en önemli etken hücre içi ($[K]_{iç}$) ve hücre dışı ($[K]_{dış}$) potasyum iyon konsantrasyonudur. Dinlenme zar potansiyeli ölçümü dolaylı olarak K hücre içi ve hücre dışı konsantrasyonları hakkında bilgi vermektedir. Yapılan çalışmada kontrol grubuna göre MA uygulanan grubun dinlenme zar potansiyelinin depolarize olduğu (sırasıyla; -78 mV ve -73 mV) bildirilmiştir (88). Dolayısıyla sözü edilen çalışmada modülasyonlu MA maruziyetinin $Na^+ - K^+$ pompasını etkilemiş olabileceği ve dinlenme zar potansiyelini azalttığı (depolarizasyon yönünde bir değişim meydana getirmiş olabileceği) ileri sürülmektedir. Bu durumun sonucu olarak da kas zarındaki bu değişimlerin kasılma gevşeme çiftlenimini ve ortamda Ca^{+2} 'un bulunma süresini etkileyerek kasılma kuvveti ve süresini etkilediği belirtilmektedir (88). Bizim çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmada yüksek şiddette, daha kısa süreli ve modülasyonlu MA maruziyetinin zar potansiyelini depolarize ettiği düşünülebilir.

Sıçan arka kök ganglion (dorsal root ganglion-DRG) hücre kültüründe yapılan bir başka çalışmada da dinlenme membran potansiyeli üzerine 50 Hz, 0,125 mT şiddetinde MA maruziyetinin kontrole göre anlamlı bir fark oluşturmadığı saptanmıştır

(130). Keza, Sprague–Dawley sıçan beyinlerinden izole edilen kortikal sinaptozom (veziküller ve çok sayıda mitokondri içeren nöron terminalleri) kültürleri üzerine 2 saat süresince frekansı 50 Hz olan 2 mT şiddetinde MA uygulaması sonucu mitokondriyal membran potansiyelinin etkilenmediği bulunmuştur (131).

Sağlıklı insanların deri diploid fibroblastlarından biyopsi alınarak oluşturulan hücre kültürleri üzerine 15 saat boyunca uygulanan 50 Hz frekanslı sinusoidal (5 dak. açık/10 dak. kapalı, 1 mT şiddetinde) MA'nın etkilerinin incelendiği bir çalışmada, membran potansiyeli üzerine MA'nın bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (132).

İskelet kasları, her biri hücreselektrofizyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde farklı roller oynayan ve aktivasyon süreçleri voltajla, kalsiyumla veya ATP ile düzenlenen çok sayıda K⁺ kanalları içermektedir (112). İçeri doğrultucu K⁺ iyon kanalları dinlenim membran potansiyeline ve böylece membran uyarılabilirliğine önemli katkılar sağlarken, gecikmiş doğrultucu K⁺ kanalları da AP'inin repolarizasyon evresinden ve buna ek olarak AP'i süresinden ve dolayısıyla sarkoplazmik retikulumdan Ca⁺² salınımından ve böylece kuvvet oluşumunun kontrol edilmesinden sorumludur (112, 114, 133). K⁺ kanalları, diyafram kasılma performansının düzenlenmesinde önemli roller oynamaktadır. Diğer K⁺ kanal türlerinin (yani ATP-duyarlı K⁺ kanalları ve Ca⁺² ile aktive olan K⁺ kanalları) göreceli olarak dinlenimde olan bir kasdaki elektrofizyolojik rolleri çok azdır. Çalışmamızda MA'a maruz bırakılan dişi sıçanlarda, depolarizasyon süresi ve tepe latans parametrelerinde fark bulunmazken, ELF-MAD grubunda kontrole göre aksiyon potansiyeli alanında artış olması, K⁺ kanal kinetiklerinin ve/veya K⁺ kanal sayılarının etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir. Keza, Şekil 4.10'da, ELF-MAD grubunda kontrole göre %50 repolarizasyon süresinde anlamlı olmasa da (p>0,05) bir artış olduğu görülmektedir.

Yine yukarıda değinilen 20 mT (200 G) şiddetinde MA kullanılarak diyafram kasında yapılan çalışmada kontrole göre latansın arttığı, AP'i genlik ve overshoot değerlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı azalmalar meydana geldiği bildirilmiştir (129). Sözü edilen bu çalışmada kontrol grubunda kas AP'i genlik ve overshoot değerleri sırasıyla; 100±0,8 mV ve 23,5±0,6 mV iken, aynı parametreler MA'a maruz bırakılan grupta sırasıyla, 90,3±0,5 mV ve 17,2±0,4 mV olarak saptanmıştır. Çalışmamızda MA'a maruz bırakılan erkek sıçanlarda tepe latansın artması sözü edilen çalışmayla benzerlik göstermesine karşın, AP'inin genlik ve overshoot parametresi

açısından kontrol ve deney gruplarımız arasında bir fark bulunmamıştır. Bu farklılığın sebebi diğer çalışmada kullanılan MA şiddetinin daha büyük olması olabilir. Çalışmamızda, kontrol grubuna göre MA'a maruz bırakılan erkek sıçanlarda tepe latans ve depolarizasyon sürelerinin artması (sırasıyla; tepe latans: $1,90 \pm 0,28$ ms ve $2,61 \pm 0,46$ ms; depolarizasyon süresi: $0,68 \pm 0,14$ ms ve $1,29 \pm 0,32$ ms) Na^+ kanal sayısı ve/veya Na^+ kanal kinetiklerinin MA'dan etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan literatür taraması sonucunda sıçan diyafram kasının mekanik aktivitesi üzerine MA'nın etkilerini belirten çok fazla çalışmaya rastlanmadı. Kullandığımız şiddet, frekans ve maruziyet süresinde MA'nın diyafram kas biyomekaniği üzerine etkilerini belirleyebilmek için izometrik kasılma parametreleri kullanıldı. Bunun için, diyafram kası supramaksimal elektriksel pulslarla uyarılarak, kas cevaplarındaki izometrik kasılma eğrileri analiz edilip, kasın mekanik özellikleri araştırıldı.

K^+ kanal türleri (örneğin, ATP-duyarlı ve Ca^{+2} 'la aktive olan K^+ kanalları) nispeten durağan kaslarda minör elektrofizyolojik roller alırken, aktif olarak kasılan kaslarda daha önemli olabilmektedirler (112).

Kas mekanik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, kronik MA maruziyeti sonucu kas sarsı kuvvetinde anlamlı azalma gözlenmiş ve bu bulgu MA'nın Ca^{+2} ATPaz aktivitesini artırma etkisine bağlanmıştır. Bu çalışma sonuçları, MA maruziyetinin ATPaz aktivitelerini değiştirebileceğini ve dolayısıyla, sıçan diyafram kasının biyoelektriksel ve biyomekanik özelliklerini değiştirdiğini ileri sürmektedir (129). Bizim çalışmamızda ise kas mekanik aktivitesinin hiç bir grupta etkilenmediği gözlenmiştir. Bu çalışma ile farklı mekanik etkinin saptanmasının nedeni çalışmamızda daha düşük şiddette MA kullanılmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Marchionni ve ark. (130) yaptıkları bir çalışmada sıçan DRG hücre kültüründe 50 Hz, 125 μT şiddetinde MA maruziyetinin Ca^{+2} kanal fonksiyonelliğini arttırdığını ve buna paralel olarak da Ca^{+2} 'la aktive olan K^+ kanallarının açık kalma zamanlarının artabileceğini göstermişler. Sürekli kasılma sonucu kas hücrelerinden dışarı K^+ iyon akışı, dinlenim membran potansiyelini daha depolarize ederek, serum K^+ miktarının artmasına neden olmaktadır (114). Bizim çalışmamızda kronik olarak uygulanan MA maruziyetinin sadece dişi grubunda serum K^+ miktarını artırdığı, buna karşın kasılma miktarının tüm uyarı protokollerinde (tek uyarı ve 5-150 Hz frekanslı uyarılar) kontrole göre azaldığı ancak bu azalmanın anlamlı olmadığı bulunmuştur. Yukarıdaki çalışmanın

(129) sonuçlarına göre, bu bulgu MA'nın Ca^{+2} ATPaz aktivitesini artırma etkisine bağlı olabilir. Benzer şekilde, kas mekanik aktivitesinde farklı frekanslarda uyaranlar sonucu maksimum sarsı kuvvetlerine ulaşma sürelerinin de MA gruplarında kendi kontrollerine göre kısaldığı ancak bu kısılmanın anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Deri diploid fibroblastlarından biyopsi alınarak oluşturulan hücre kültürleri üzerine 50 Hz frekanslı sinusoidal (5 dak. açık/10 dak. kapalı, 1 mT) MA'nın etkilerinin incelendiği çalışmanın sonucuna göre insan fibroblast hücrelerinde intrasellüler Ca^{+2} üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır (132). Çalışmamızda maddi ve teknik imkansızlıklar nedeniyle kas hücre içi Ca^{+2} miktarını saptamamız mümkün olmamıştır. Çalışmamızda sadece serum Ca^{+2} miktarı (ekstrasellüler Ca^{+2} miktarı) saptanmış olup, MA gruplarında kontrole göre farklı yönde değişimler (kendi kontrollerine göre MA uygulanan erkek sıçanlarda azalış, dişilerde ise artış) bulunmuştur.

Aksiyon potansiyelinin depolarizasyon ve ardından repolarizasyon evrelerinden sonra elektrojenik Na^{+} - K^{+} pompası ile hücre dışı ve içi arasındaki Na^{+} ve K^{+} dağılımı restore edilmektedir. Vücuttaki bütün uyarılabilir hücrelerin zarında bulunan Na^{+} - K^{+} pompasının görevi Na^{+} - K^{+} ATPase enzimi aracılığıyla, Na^{+} 'u hücre dışına, K^{+} 'u hücre içine pompalamaktır. Bu pompa içeriye pompaladığı her 2 K^{+} için, 3 Na^{+} 'u dışarıya pompalayarak devamlı olarak hücre içinde pozitif yük kaybı oluşturmaktadır (2/3). Bu süreç için Na^{+} - K^{+} pompasınca ATP enerjisi kullanılmaktadır (1, 134).

Salyangoz beyinlerinin 10 mT şiddetinde statik MA'a maruz bırakıldığı bir çalışmada Na^{+} - K^{+} ATPase aktivitesinin 2 kat artmış olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada statik MA'a maruziyetinden sonra AP'i süresinin kontrole göre kısalmış olduğu, interspike intervallerinin uzamış olduğu saptanmıştır. Statik MA'dan etkilenme sonucu Na^{+} - K^{+} pompa aktivitesinin artmasının, beyin nöronlarında patlama (burst) ritmini sürdüren intrasellüler Ca^{+2} 'un azalmasına neden olabileceği ileri sürülmektedir (135). Statik MA'nın nöronal membranları etkilemesini göstermesi bakımından bu sonuç önem taşımaktadır.

İskelet kası hücrelerinde, kasılmanın başlatılmasında hücre içi mesajcı görevini üstlenen Ca^{+2} 'un sağlanmasında SR'dan salınmanın yanısıra hücre dışı ortam da önemli bir Ca^{+2} kaynağıdır. Depolarizasyon sırasında dış zardaki voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının açılması ile kas hücresi içerisine Ca^{+2} iyonları girebilmektedir. Ancak bu kaynaktan Ca^{+2} sağlanmasında, sarkolemmada bulunan Na^{+} - Ca^{+2} değiş tokuş

mekanizmasının da önemli rolü olduğu anlaşılmıştır. Bu mekanizmanın Na^+ Ca^{+2} iyonlarından hangisi için hücre içi ve dışındaki mol başına serbest enerji farkı büyükse o iyonun serbest enerji farkından enerjisini aldığı ve diğer cins iyonu yokuş yukarı taşıdığı saptanmıştır. Dinlenme koşullarında değiş tokuş mekanizmasının Na^+ dağılımından enerjilenerek Ca^{+2} iyonlarını hücre dışına aktif taşıdığı, depolarizasyonu izleyerek ise Ca^{+2} dağılımından enerjilenerek Ca^{+2} iyonlarını içeri pasif olarak taşırken, karşıt Na^+ iyonlarını da dışarı taşıdığı belirlenmiştir (1).

Bizim çalışmamızda ise kronik olarak uygulanan ELF-MA maruziyeti sonucu serum Ca^{+2} miktarının erkek sıçanlarda azaldığı, dişilerde ise arttığı bulunmuştur. Serum Ca^{+2} miktarına bağlı olarak, kas kuvvetinin kısmen etkilenmesi gerekirken mekanik cevaplarda istatistiksel anlamlı bir etki oluşmaması, çalışmamızda kasılmanın sarkoplazmik retikulum deposundan salınan Ca^{+2} ile gerçekleştiğini düşündürmektedir. Dişi ve erkek sıçanlarda serum Ca^{+2} miktarlarının kontrole göre MA alan gruplarında zıt yönde bir değişim göstermesinin hangi mekanizma üzerinden olduğu ise iyi bir araştırma konusu olabilir.

Sprague–Dawley sıçan beyinlerinden izole edilen kortikal sinaptozom kültürleri üzerine 2 saat boyunca 2 mT şiddetinde MA uygulanması sonucu oksijen tüketiminin ve ATP üretiminin etkilenmediği bulunmuştur (131).

50 Hz frekanslı, sinüzoidal MA kullanılan bir çalışmada serbest radikal metabolizmasının etkilendiği ve çalışmanın bulgularına göre bu etkiyi immün sistem üzerinden gerçekleştirdiği ileri sürülmektedir (45). Oksidatif stres, serbest radikal üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması sonucu olabilir. Bu nedenle, oksidatif stres biyobelirteci olarak antioksidan tüketiminin araştırılması antioksidan miktarlarındaki azalış veya onların metabolitlerindeki artışın değerlendirilmesi ile olabilir. Bizim çalışmamızda erkek sıçan doku TAK değerinin MA maruziyet grubunda azalmış olduğu bulunmuştur. Dişilerde ise serum TAK değerinde bir düşüş olduğu saptanmıştır. TAK değerinin düşmesi oksidatif stresi arttırabileceğinden dolayı, oluşacak olan serbest radikal üretimini azaltmak için doğal ve yapay antioksidan kullanımının önerilebileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda diyafram kası elektron mikroskopik incelenmesi sonuçlarına göre kontrol grubu ile MA maruziyet grubu arasında morfolojik açıdan bir fark gözlenmemiştir. Modülasyonlu MA (50 Hz frekanslı, 5 mT şiddetinde) maruziyetinin

kullanıldığı bir başka çalışmada da, MA şiddeti bizim çalışmamızdan daha büyük olmasına karşın, morfolojik açıdan benzer sonuç bulunmuştur (88). Buna ek olarak, 50 Hz frekanslı ve 1,5 mT'lık, modülasyonlu MA'a 30 gün boyunca maruz bırakılan sıçan soleus ve EDL kaslarının elektron mikroskopik incelemelerinde çalışmamıza paralel sonuçlar bulunmuştur (9).

Epidemiyolojik bir çalışmada gebeliğin son 3 ayında 2×10^{-4} mT şiddetinde EM alana maruz kalan annelerin bebeklerinde intrauterin gelişme geriliği ve doğum ağırlığının düşük olup olmadığı araştırılmış ve intrauterin gelişme geriliği ve düşük doğum ağırlığı riskinin artmadığı saptanmıştır (36).

Yapılan bir çalışmada 50 Hz frekanslı EA kullanılmış ve EA'ın dişi sıçanlarda düşük doğum ağırlığı ve doğum sonrasında büyüme bozukluğuna neden olduğu (137), diğer bir çalışmada ise (5 mT ve 100 mT EM alan) 8 ay EM alan uygulanmasının erkek sıçan kütlelerinde istatistiksel anlamlı bir fark oluşturmadığı bildirilmektedir (138). Çalışmamızda, erkek sıçanların kütlelerinin kronik ELF-MA maruziyetinden etkilenmediği gözlenmiştir. Ancak, dişi grubunda MA maruziyetinden önce (1. ölçüm) KD ve ELF-MAD gruplarına ayrılan sıçanların kütlelerinde bulunan istatistiksel anlamlı farkın, maruziyet sonrasında 5. ölçümden itibaren ortadan kalktığı saptanmıştır. Bu sonuç, MA'ın dişilerde kütle artışını baskıladığını göstermektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yavru dişi ve erkek sıçanlar 50 Hz ve 1,5 mT'lık ELF-MA'a 210 gün boyunca günde 4 saat maruz bırakıldılar. Çalışmamızda, günlük yaşamda maruz kalınan şehir şebeke frekansında, sinüzoidal ELF-MA'ların diyafram kası elektriksel aktivitesi, mekanik, histolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkileri araştırıldı.

Elektriksel olarak, dinlenim membran potansiyeli, AP'i parametrelerinden genlik, süre, alan, tepe latans, depolarizasyon ve repolarizasyon süresi ve overshoot değerlerinde; mekanik olarak kas kasılma kuvveti ve süresinde; biyokimyasal olarak, Na⁺, K⁺, Ca⁺ ve Cl⁻ iyon düzeylerinde ve TAK, TOK seviyelerindeki değişiklikler araştırılmıştır. Yapılan literatür taramalarında tüm bu bulguları kapsayacak şekilde bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda kullanılan şiddette ELF-MA uygulanmasının dinlenim membran potansiyelini etkilemediğini, AP'i parametrelerinden sadece erkeklerde tepe latans ve depolarizasyon süresi üzerinde etkili olduğunu, genlik, area, %50 repolarizasyon süresi ve overshoot değerlerinde ise herhangi bir etki oluşturmadığı saptanmıştır. Dişilerde ise uyarı akım şiddetinin düştüğü ve alan parametresinin ise ELF-MA maruziyeti sonucunda arttığı bulunmuştur.

Çalışmamızda ELF-MA'a kronik maruziyet sonucunda sıçan diyafram kasının kasılma kuvvetlerinin etkilenmediği tespit edilmiştir.

Dokuda TAK için KE ve ELF-MAE grupları arasında ve serum TAK için de KD ve ELF-MAD grupları arasında farklılık olduğu saptanmıştır. Doku ve serum TOK değerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Serum K⁺ ve Ca⁺² miktarı MAD grubunda KD grubundan anlamlı olarak büyük, ancak Ca⁺² miktarının MAE grubunda KE grubundan düşük olduğu bulunmuştur. Serum Na⁺ ve Cl⁻ miktarlarının MA uygulanması sonucunda etkilenmediği saptanmıştır.

Elektron mikroskopik sonuçlar, diyafram kas hücrelerinin MA'dan etkilenmediğini ve normal yapıda olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak, MA'a kronik maruziyet kasın mekanik aktivitesinde ve histolojik yapısında bir etki oluşturmazken, biyoelektriksel aktivitesinde kısmen bir değişim oluşturduğu söylenebilir.

Manyetik alanların çizgili kas üzerine etkileri konusunda yapılan çalışmalarda birbiri ile çelişkili sonuçlar ileri sürülmektedir. Ancak farklı gruplar tarafından yapılan bu çalışmalarda MA'm şiddeti, frekansı, uygulama süresi, pulslu olup olmaması, MA'a maruz bırakılan doku türü vb. parametrelerin çok farklı olduğu görülmüş ve bu parametrelerin sonuçları etkileyebileceği izlenimi oluşmuştur. Bu konuda günümüze kadar yapılan çalışmaları bir arada değerlendiren bir istatistiksel meta analizi yapılarak sonuçların bir arada incelenmesi düşünölmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Pehlivan F.** Biyofizik. Ankara: Hacettepe Taş Kitapçılık, 2. Baskı, **1997**.
2. **Canseven AG.** Değişik şiddet ve süreli manyetik alanların deri hidroksiprolin seviyesine etkisi. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **1998**.
3. **Atalay NS.** Elektromanyetik kirlilik ve etkileri, korunma yöntemleri, WHO uluslararası elektromanyetik alan projesi, ulusal ve uluslar arası politikalar, **1999**.
4. **Seyhan N.** Elektromanyetik Kirlilik ve Sağlığımız. *Nöropsikiyatri Arşivi*, **2010**; 47(2): 158-161.
5. **Repacholi MH, Greenebaum B.** Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics*, **1999**; 20(3):133-160.
6. **Güneş S.** Değişik şiddetlerde uygulanan manyetik alanların rat elektrofizyolojik parametreleri üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik AD, Mersin, **2002**.
7. **Ermol C.** 900 ve 1800 MHz Mobil Telefonların Oluşturduğu Elektromanyetik Alanın Tendon İyileşmesine Etkisi: Ratlarda Deneysel Çalışma. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji AD, Isparta, **2008**.
8. **Güler İ, Çetin T, Özdemir AR, Uçar N.** Türkiye Elektromanyetik Alan Maruziyet Raporu, Bilgi Teknolojileri ve Gelişim Kurumu, Aralık **2010**.
9. **Pelit A.** AC Manyetik alana maruz bırakılan deneysel olarak oluşturulan diyabetli sıçanların extensor digitorum longus ve soleus kasının biyoelektrik, biyomekanik, biyokimyasal ve histolojik özellikleri. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, **2006**.
10. **Dinçer H.** Elektriksel Alanlar ve Canlılara Etkileri. Kocaeli Üniversitesi Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bölümü, Elektrik Mühendisliği, 435. sayı, Ocak **2009**.
11. **Serway R.A.** Physics for Scientist and Engineers, with Modern Physics, New York, 3rd ed., ser. Saunders Golden Sunburst Series, USA Saunders Collage Publishing, **1992**.
12. **Göküzüm B.** Manyetik Alanda Hareket Eden Yüklü Bir Parçacığın Hareket Denklemleri. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı, Kayseri, **2007**.

13. **Elmas O.** 50 Hz Elektromanyetik alan maruziyetinin kalp üzerine anlık etkisi. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Isparta, **2007**.
14. **Gücüyener Zaloğlu S.** Özel Geometriye Sahip Cisimlerin Kızılaltı Işımlarının Modellenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, **2010**.
15. **Saltık M, Kurt M, Kaymak M.** Gravitasyon Radyasyonu. *Mühendislik Bilimleri Dergisi*. **1996**; 2(3): 201-205.
16. **Hong CZ.** Static magnetic field influence on human nerve function. *Arch Phys Med Rehabil* **1987**; 68(3):162-164.
17. **Cordeiro PG, Seckel BR, Miller CD, Gross PT, Wise RE.** Effect of a high-intensity static magnetic field on sciatic nerve regeneration in the rat. *Plast Reconstr Surg*, **1989**; 83(2):301-308.
18. **Sonniera H, Kolomytkinb OV, Marino AA.** Resting potential of excitable neuroblastoma cells in weak magnetic fields *Cell. Mol. Life Sci.* **2000**, 57:514–520.
19. **Sisken BF, Kanje M, Lundborg G, Herbst E, KURTZ W.** Stimulation of rat sciatic nerve regeneration with pulsed electromagnetic fields. *Brain Res*, **1989**; 24;485(2):309-316.
20. **Bervar M.** Effect of weak, interrupted sinusoidal low frequency magnetic field on neural regeneration in rats: functional evaluation. *Bioelectromagnetics*, **2005**;26(5):351-356.
21. **Güneş S, Büyükakıllı B, Ankaralı H.** Değişik Şiddetteki Manyetik Alanların Hasarlanmış Sıçan Periferik Sinir Rejenerasyonu Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, **2008**;28(6):857-866.
22. **Byers JM, Clark KF, Thompson GC.** Effect of pulsed electromagnetic stimulation on facial nerve regeneration. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, **1998**;124(4):383-389.
23. **Kim SS, Shin HJ, Eom DW, Huh JR, Woo Y, Kim H, Ryu SH, Suh PG, Kim MJ, Kim JY, Koo TW, Cho YH, Chung SM.** Enhanced expression of neuronal nitric oxide synthase and phospholipase C-gamma1 in regenerating murine neuronal cells by pulsed electromagnetic field. *Exp Mol Med*, **2002**;34(1):53-59.
24. **Lee YH, Bae SS, Seo JK, Choi I, Ryu SH, Suh PG.** Interleukin-6-induced tyrosine phosphorylation of phospholipase C-gamma1 in PC12 cells. *Mol Cells*, **2000**;10(4):469-474.
25. **Tkachuk VA.** Phosphoinositide Metabolism and Ca²⁺ Oscillation. *Biochemistry (Mosc)*, **1998**;63(1):38-46.

26. **Eraslan G, Akdoğan M.** The effect of an electromagnetic field (60-90 Hz and 5 mT) on blood electrolyte (Ca^{++} , P^{+++} , Na^+ , K^+ , Cl^-) levels in male mice. *Türk J.Vet Anim Sci*, **2002**;26(6):1233-1236.
27. **Obo M, Konishi S, Otaka Y, Kitamura S.** Effect of magnetic field exposure on calcium channel currents using patch clamp technique. *Bioelectromagnetics*, **2002**; 23(4):306-314.
28. **Burchard JF, Nguyen DH, Block E.** Macro- and trace element concentrations in blood plasma and cerebrospinal fluid of dairy cows exposed to electric and magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, **1999**;20(6):358-364.
29. **McLeod KJ.** Microelectrode measurements of low frequency electric field effects in cells and tissues. *Bioelectromagnetics*, **1992**; Suppl 1:161-178.
30. **Topçu C, Gürbilek M, Aköz M, Açıkgozoğlu S.** Effect of magnetic fields on the Na^+ K^+ -ATPase activity of erythrocyte membrane and the levels of malondialdehyde and glutathione. *T Klin J MED Res*, **2002**;20(3):119-124.
31. **Blank M.** Do Electromagnetic Fields Interact With Electrons in the Na,K-ATPase? *Bioelectromagnetics*, **2005**; 26(8):677-683.
32. **Blank M.** Protein and DNA Reactions Stimulated by Electromagnetic Fields. *Electromagnetic Biology and Medicine*, **2008**; 27(1): 3–23.
33. **Gundersen R, Greenebaum B, Schaller M.** Intracellular recording during magnetic field application to monitor neurotransmitter release events: methods and preliminary results. *Bioelectromagnetics*, **1986**;7(3):271-281.
34. **Pelit A, Ozaykan B, Tuli A, Demirkazik A, Emre M, Günay I.** The effects of magnetic field on the biomechanics parameters of soleus and extensor digitorum longus muscles in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes Technol Ther*, **2008**;10(4):294-298.
35. **Kheifets L, Repacholi M, Saunders R, Van Deventer E.** The Sensitivity of Children to Electromagnetic Fields. *Pediatrics* 2005;116:e303, DOI: 10.1542/peds.2004-2541
36. **Bracken MB, Belanger K, Hellenbrand K, Dlugosz L, Holford TR.** Exposure to electromagnetic fields during pregnancy with emphasis on electrically heated beds: association with birthweight and intrauterine growth retardation. *Epidemiology*, **1995**; 6(3):263-270.
37. **Juutilainen J, Matilainen P, Saarikoski S, Laara E, Suonio S.** Early pregnancy loss and exposure to 50-Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, **1993**; 14(3):229–236.
38. **Li DK, Odouli R, Wi S, Janevic T, Golditch I, Bracken TD, Senior R, Rankin R, Iriye R.** A population-based prospective cohort study of personal exposure to magnetic fields during pregnancy and the risk of miscarriage. *Epidemiology*. **2002**;13(1):9-20.

39. http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/790/116/RUG01-001790116_2012_0001_AC.pdf (Erişim tarihi: 4/2/2013, Universiteit Gent Faculteit Politieke En Sociale Wetenschappen, Verkain Valerie)
40. <http://www.chem1.com/acad/webtext/atoms/atpt-2.html>-(Erişim tarihi: 29/8/2012 Light, particles and waves).
41. **Guru Bhag Singh, Hızıroğlu Hüseyin R.** Electromagnetic Field Theory Fundamentals. United States of America. New York, PWS Publishing Company. First Edition, **1998**. ISBN: 0534955045, 9780534955045.
42. <http://www.astro.virginia.edu/~rsl4v/PSC/light.html> (Erişim tarihi 28/8/2012, The Nature of Light)
43. **Prato FS, Carson JJ, Ossenkopp KP, Kavaliers M.** Possible mechanisms by which extremely low frequency magnetic fields affect opioid function. *FASEB J.* **1995**;9(9):807-814.
44. **Wolf FI, Torsello A, Tedesco B, Fasanella S, Boninsegna A, D'Ascenzo M, Grassi C, Azzena GB, Cittadini A.** 50-Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: possible involvement of a redox mechanism. *Biochim Biophys Acta*, **2005**;1743(1-2):120-129.
45. **Tuncel H.** 50 Hz. Frekanslı Sinüsoidal Magnetik Alanın Karsinogenezdeki rolünün MNU (N-methyl-N-nitrosourea) ile oluşturulan deneysel kolon tümörü modelinde araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, **1997**.
46. <http://www.nrao.edu/index.php/learn/radioastronomy/radiowaves#intro-> (Erişim tarihi 28/8/2012 Light Waves and the Electromagnetic Spectrum).
47. **Türkkan A.** Çocukluk Çağı Lösemileri ve Elektromanyetik Alan. *Güncel Pediatri*, **2009**;7(3):137-141.
48. **Tomruk A.** Radyo frekans radyasyonun; hamile ve hamile olmayan tavşanlarda DNA ve oksidatif hasara etkilerinin HPLC ve spektrofotometrik yöntemlerle incelenmesi. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik AD, Ankara, **2008**.
49. **Aydoğan FC.** Diz Ekleminde Kondral Defekt İyileşmesine, Elektromanyetik Alanın Etkileri: Sıçanlarda Deneysel Çalışma. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Isparta **2008**.
50. <http://iys.inonu.edu.tr/webpanel/dosyalar/1259/file/manyeticsense.pdf> (Erişim tarihi 31/8/2012 Manyetizma).
51. <http://www.mcw.edu/radiationoncology/ourdepartment/radiationbiology/Static-Electric-and-Magnetic-F.htm#.UEDWw8EaPfJ> (Erişim tarihi 31/8/2012 Static Electric and Magnetic Fields and Human Health).

52. **Bueche F, Wallach DL.** *Technical Physic.* 4th Edition, Canada: John Wiley& Sons, **1994**: 426-431. ISBN 047152462X, 9780471524625
53. **Şeker S, Çerezci O.** Çevremizdeki Radyasyon ve Koruma Yöntemleri. Bogaziçi Üniv. Yayınları, 1. Baskı, İstanbul, **1997**. ISBN: 9755180893, 9789755180892.
54. **Özgüner F, Mollaoğlu H.** Manyetik alanın organizma üzerindeki biyolojik etkileri. *SDÜ Tıp Fak, Derg.* **2006**;13(1): 38-41.
55. **Mega Tiber P, İnhan Garip A.** Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların lenfositlerin membran potansiyellerine etkisi. *Marmara Medical Journal*, **2008**; 21(3), 238-246.
56. **Cecconi S, Gualtieri G, Di Bartolomeo A, Troiani G, Cifone MG, Canipari R.** Evaluation of the effects of extremely low frequency electromagnetic fields on mammalian follicle development. *Hum Reprod*, **2000**;15(11):2319-2325.
57. **Oda T, Koike T.** Magnetic field exposure saves rat cerebellar granule neurons from apoptosis in vitro. *Neurosci Lett*, **2004**;365(2):83-86.
58. **Olsen JH, Nielsen A, Schulgen G.** Residence Near High Voltage Facilities And Risk Of Cancer in Children. *Bmj (Clin. Res. Ed.)*, **1993**; 307(6909), 891–895.
59. **Ahlbom IC, Cardis E, Green A, Linet M, Savitz D, Swerdlow A and ICNIRP (International Commission for Non-Ionizing Radiation Protection) Standing Committee on Epidemiology.** Review of the epidemiologic literature on EMF and Health. *Environ Health Perspect*, **2001**; 109(Suppl 6): 911–933.
60. **Aldrich TE, Easterly CE.** Electromagnetic fields and public health. *Environ Health Perspect*, **1987**; 75: 159–171.
61. **Repacholi M.** Concern that “EMF” magnetic fields from power lines cause cancer. *Sci Total Environ*, **2012**; 426:454-458.
62. **Foster KR.** Mechanisms of interaction of extremely low frequency electric fields and biological systems. *Radiat Prot Dosimetry*, **2003**;106(4):301-310.
63. **Pak NK.** Elektromanyetik dalgalar ve insan sağlığı sıkça sorulan sorular ve yanıtları. Tübitak Bilten **2001**.
64. **Ulukut Ö, Çömlekçi S.** Bazı Endüstriyel Elektrik ve Manyetik Alanlara Maruz Kalmada, Etkilenme Seviyelerinin Belirlenmesi. URSI- Türkiye **2004** İkinci Ulusal Kongresi, 8-10 Eylül, Bilkent Üniversitesi, Konferans kitapçığı 252-254, Ankara, Türkiye.

65. **Balci M, Devrim E, Durak I.** Effects of mobile phones on oxidant/antioxidant balance in cornea and lens of rats. *Curr Eye Res*, **2007**; 32(1): 21-25.
66. **Keklikçi U, Akpolat V, Özekinci S, Ünlü MK, Çelik MS, Tunik S.** Çok Düşük Frekanslı Manyetik Alanın Ratlarda Lens Üzerine Etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, **2008**; 35(4):249-253.
67. **Akdağ T, Sarıyıldız L.** Elektromanyetik alanlara maruziyet sonrası gözlenen bazı biyokimyasal değişiklikler. *Cumhuriyet Tıp Derg*, **2012**; 34: 534-539.
68. **Simko M.** Cell type specific redox status is responsible for diverse electromagnetic field effects. *Curr Med Chem*, **2007**;14(10):1141-52.
69. **Goraca A, Ciejka E, Piechota A.** Effects of extremely low frequency magnetic field on the parameters of oxidative stress in heart. *J Physiol Pharmacol*, **2010**;61(3):333-338.
70. **Adam L-H, Metcalfe JC, Hesketh R.** Biological responses to electromagnetic fields. *FASEB J*, **1998**;12(6):395-420.
71. **McLauchlan K.** Are environmental magnetic fields dangerous? *Physics World*, **1992**; 5(1): 41–45.
72. **Supinol R, Bottone MG, Pellicciari C, Caserinil C, Bottirolil G, Belleri M, Veicsteinas A.** Sinusoidal 50 Hz magnetic fields do not affect structural morphology and proliferation of human cells in vitro. *Histol Histopathol*, **2001**; 16(3): 719-726.
73. **Smith MA, Reid MB.** Redox modulation of contractile function in respiratory and limb skeletal muscle. *Respir Physiol Neurobiol*, **2006**;151(2-3):229-241.
74. **Supinski G.** Free radical induced respiratory muscle dysfunction. *Mol Cell Biochem*, **1998**;179(1-2):99-110.
75. **Morabito C, Rovetta F, Bizzarri M, Mazzoleni G, Fanò G, Mariggiò MA.** Modulation of redox status and calcium handling by extremely low frequency electromagnetic fields in C2C12 muscle cells: A real-time, single-cell approach. *Free Radic Biol Med*, **2010**;48(4):579-589.
76. **Santini MT, Ferrante A, Rainaldi G, Indovina P, Indovina PL.** Extremely low frequency (ELF) magnetic fields and apoptosis: a review. *Int J Radiat Biol*, **2005**;81(1):1-11.
77. <http://www.alexmed.edu.eg/me/mod/forum/discuss.php?d=7702#p57893>. (Erişim tarihi 28/05/2012 animation lazeez II muscle fiber/Sarah Gaudet)
78. <http://howmed.net/physiology/skeletal-muscle/> (Erişim tarihi 27/8/1012 Physiology Skeletal Muscle)

79. <http://www.proprofs.com/flashcards/upload/a7091936.jpg> (Erişim tarihi 3/2/2013 Muscle: Skeletal)
80. http://classconnection.s3.amazonaws.com/33/flashcards/602033/jpg/11_triad1311914282730.jpg (Erişim tarihi 28/8/2012 Skeletal Muscle).
81. <http://www.somasimple.com/images/myosin.jpg> (Erişim tarihi 28/8/2012 Soma Simple)
82. http://webanatomy.net/anatomy/length_tension_muscle.jpg (Erişim tarihi 28/8/2012 Relationship of tension to muscle length)
83. <http://quizlet.com/7784163/familiarize/embedv2?&m> (Erişim tarihi 26/02/2013 Muscle sarcomere length).
84. http://www.hhp.txstate.edu/hper/faculty/pankey/3317/ch08_files/frame.htm (Erişim tarihi 20/02/2013 Simple Twitch, Summation and Tetanus).
85. **Moore KL.** Clinically Oriented Anatomy (3th ed). Williams and Wilkins, Baltimore **1992**.
86. **Snell RS.** Clinical Anatomy For Medical Students (2nd ed). Little, Brown and Company, Boston **1981**.
87. **Arıncı K, Elhan A.** 2. Baskı. Anatomi Cilt 1, Güneş Kitabevi, Ankara **1997**.
88. **Demirkazık A.** AC Manyetik alanların deneysel olarak oluşturulan diyabetli sıçanların diyafram kaslarının mekanik özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik AD. Adana, **2005**.
89. **Karakaş S, Ungan P.** (Yönetici ve Editörler) TÜBİTAK-HÜ Lisans Üstü Yaz Okulu, Davranışın Biyolojik ve Fizyolojik Temelleri Ders notları. 6-17 Ağustos **1984** Samsun.
90. **Van Lunteren E, Moyer M.** Slowing of rat diaphragm action potential depolarization by endurance treadmill training. *Neurosci Lett.* **2003** Mar 27;339(3):175-8.
91. **Chibalin AV., Heiny JA., Benziane B.** **PLoS One** Chronic Nicotine Modifies Skeletal Muscle Na,K-ATPase Activity through Its Interaction with the Nicotinic Acetylcholine Receptor and Phospholemman. 2012;7(3):e33719. doi: 10.1371/journal.pone.0033719. Epub 2012 Mar 19.
92. **Souccar C, Lima-Landman MT, Ballejo G, Lapa AJ.** Mechanism of neuromuscular blockade induced by phentonium, a quaternary derivative of (-)-hyoscyamine, in skeletal muscles. *Br J Pharmacol.* **1998**;124(6):1270-1276.

93. **Van Lunteren E, Moyer M.** Streptozotocin-diabetes alters action potentials in rat diaphragm. *Respir Physiol Neurobiol.* **2003**;135(1):9-16.
94. **Van Lunteren E, Moyer M.** Electrophysiologic and inotropic effects of K⁺-channel blockade in aged diaphragm. *Am J Respir Crit Care Med.* **1998** Sep;158(3):820-6.
95. **Kelly SS, Ferry CB.** The origin of the effects of an anticholinesterase on the latencies of action potentials in mouse skeletal muscles. *Br J Pharmacol.* **1994**;111(3):747-52.
96. **Chakraborty G, Magagna-Poveda A, Parratt C, Umans JG, MacLusky NJ, Scharfman HE.** Reduced hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in neonatal rats after prenatal exposure to propylthiouracil (PTU). *Endocrinology.* **2012**;153(3):1311-6. doi: 10.1210/en.2011-1437.
97. **Martínez-Sámano J, Torres-Durán PV, Juárez-Oropeza MA, Verdugo-Díaz L.** Effect of acute extremely low frequency electromagnetic field exposure on the antioxidant status and lipid levels in rat brain. *Arch Med Res.* **2012**;43(3):183-189.
98. **Elmas O, Comlekci S, Koylu H.** Effects of short-term exposure to powerline-frequency electromagnetic field on the electrical activity of the heart. *Arch Environ Occup Health.* **2012**; 67(2):65-71.
99. <http://www.hlooser.ch/seite%201.html> (Erişim tarihi 4/3/2013 Helmholtzcoil/Short cylindrical coil)
100. <http://www.saburchill.com/physics/chapters/0047.html> (Erişim tarihi 4/3/2013 Field Produced by two Short Coils (Helmholtz Coils)).
101. **Ishikawa T, Takahashi T.** Mechanisms underlying presynaptic facilitatory effect of cyclothiazide at the calyx of Held of juvenile rats. *J Physiol.* **2001**; 533(Pt 2):423-431.
102. **Praetorius HA, Spring KR.** Bending the MDCK cell primary cilium increases intracellular calcium. *J Membr Biol.* **2001**;184(1):71-79.
103. **Lazrak A, Matalon S.** cAMP-induced changes of apical membrane potentials of confluent H441 monolayers. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* **2003**; 285(2):443-450.
104. **Ogawa M, Morita N, Tang L, Karagueuzian HS, Weiss JN, Lin SF, Chen PS.** Mechanisms of recurrent ventricular fibrillation in a rabbit model of pacing-induced heart failure. *Heart Rhythm.* **2009**; 6(6):784-792.
105. **Doruk N, Buyukakilli B, Atici S, Cinel I, Cinel L, Tamer L, Avlan D, Bilgin E, Oral U.** The effect of preventive use of alanyl-glutamine on diaphragm muscle function in cecal ligation and puncture-induced sepsis model. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* **2005**;29(1):36-43.

106. **Buyukafsar K, Nelli S, Martin W.** Formation of nitric oxide from nitroxyl anion: role of quinones and ferricytochrome c. *Br J Pharmacol*, **2001**;132(1):165-172.
107. **Bulbring E.** Observations on the isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat. *Br J Pharmacol Chemother*, **1946**;1:38-61.
108. **Jiao GY, Liu CL, Nie ZW, Liu DJ, He P, Liu J, Xia N, Li GS.** Altered diaphragmatic contractile properties after high airway pressure controlled mechanical ventilation. *Chin Med J*, **2006**;119(2):151-155.
109. **Sassoon CS, Caiozzo VJ, Manka A, Sieck GC.** Altered diaphragm contractile properties with controlled mechanical ventilation. *J Appl Physiol*, **2002**;92(6):2585-2595.
110. **Sara Y, Ertunc M, Onur R.** The role of nitric oxide on contractile impairment during endotoxemia in rat diaphragm muscle. *Eur J Pharmacol*, **2004**;505(1-3):177-186.
111. **Pousinha PA, Correia AM, Sebastião AM, Ribeiro JA.** Predominance of adenosine excitatory over inhibitory effects on transmission at the neuromuscular junction of infant rats. *J Pharmacol Exp Ther*, **2010**;332(1):153-163.
112. **Van Lunteren E, Moyer M, Dick TE.** Modulation of diaphragm action potentials by K(+) channel blockers. *Respir Physiol*, **2001**;124(3):217-230.
113. **Topçuoğlu MŞ, İteğin M, Günay İ, Tokcan A, Sıkacıkoğlu B, Salih OK, Ulus T.** Protamin sülfatın miyokartta oluşturduğu depresif etkiye kalsiyum kanallarının katkısının araştırılması. *Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, **1998**; 6:117-124.
114. **Van Lunteren E, Moyer M.** Wheel-running exercise alters rat diaphragm action potentials and their regulation by K⁺ channels. *J Appl Physiol*, **2003**;95(2):602-610.
115. **Orliaguet G, Langeron O, Coirault C, Fratea S, Coriat P, Riou B.** Effects of dantrolene on rat diaphragm muscle during postnatal maturation. *Anesthesiology*, **2001**;94(3):468-474.
116. **Roy RR, Zhong H, Monti RJ, Vallance KA, Edgerton VR.** Mechanical properties of the electrically silent adult rat soleus muscle. *Muscle Nerve*, **2002**;26(3):404-412.
117. **Van Balkom RH, Zhan WZ, Prakash YS, Dekhuijzen PN, Sieck GC.** Corticosteroid effects on isotonic contractile properties of rat diaphragm muscle. *J Appl Physiol*, **1997**;83(4):1062-1067.
118. **Koerts-De Lang E, Schols AM, Wouters EF, Gayan-Ramirez G, Decramer M.** Contractile properties and histochemical characteristics of the rat diaphragm after prolonged triamcinolone treatment and nutritional deprivation. *J Muscle Res Cell Motil*, **1998**;19(5):549-555.

119. **Nethery D, DiMarco A, Stofan D, Supinski G.** Sepsis increases contraction-related generation of reactive oxygen species in the diaphragm. *J Appl Physiol*, **1999**;87(4):1279-1286.
120. **Reading HW, Isbir T.** The role of cation-activated ATPases in transmitter release from the rat iris. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci*, **1980**; 65(2):105-116.
121. **Yücebilgiç G.** İnvivo ve invitro koşullarda lityumun wistar türü sıçanlarda beyin sodyum-potasyum adenozin 5' trifosfataz enzim kinetiğine etkisi. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya AD. Adana **1995**.
122. **Atkinson A, Gatenby AD, Lowe AG.** The determination of inorganic orthophosphate in biological systems. *Biochim Biophys Acta*, **1973**;320(1):195-204.
123. **Erel O.** A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, **2004**; 37 (4): 277– 285.
124. **Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A.** A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci*, **1993**; 84 (4); 407-412.
125. **Erel O.** A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, **2005**; 38 (12) 1103–1111.
126. **Cheng DK, Tung L, Sobie EA.** Nonuniform responses of transmembrane potential during electric field stimulation of single cardiac cells. *Am J Physiol*, **1999**;277(1 Pt 2):351-362.
127. **Honkar A, Hopkin R, Adeghate E, Singh J.** Contraction and Cation Contents of Skeletal Soleus and EDL Muscles in Age-Matched Control and Diabetic Rats. *Ann N Y Acad Sci*, **2006**; 1084: 442-451.
128. **Hekimoğlu A, Kervancıoğlu P, Çiçek R.** Klonidinin Sıçan İleumunda Meydana Getirdiği Gevşeme Yanıtları Üzerine Nitrik Oksitin Rolü. *FÜ Sağ Bil Derg*, **2007**: 21 (2): 49–54.
129. **Itegin M, Günay İ, Logoglu G, Isbir T.** Effects of static magnetic field on specific adenosine-5'-triphosphatase activities and bioelectrical and biomechanical properties in the rat diaphragm muscle *Bioelectromagnetics*, **1995**;16(3):147-151.
130. **Marchionni I, Paffi A, Pellegrino M, Liberti M, Apollonio F. et al.** Comparison between low-level 50 Hz and 900 MHz electromagnetic. *Biochimica et Biophysica Acta*, **2006**; 1758 (5): 597–605.
131. **Aldinucci C, Carretta A, Maiorca SM, Leoncini S, Signorini C, Ciccoli L, Pessina GP.** Effects of 50 Hz electromagnetic fields on rat cortical synaptosomes. *Toxicol Ind Health*, **2009**; 25 (4-5): 249-252. doi: 10.1177/0748233709103031.

132. **Pilger A., Ivancsits S, Diem E, Steffens M, Kolb HA, Rüdiger HW.** No effects of intermittent 50 Hz EMF on cytoplasmic free calcium and on the mitochondrial membrane potential in human diploid fibroblasts. *Radiat Environ Biophys*, **2004**; 43(3):203–207.
133. **Van Lunteren E, Manubay P.** Inotropic effects of the K(+) channel blocker TEA on dystrophic (mdx and dy/dy) mouse diaphragm. *Respir Physiol*, **2001**;125(3):249-254.
134. **Eroğlu A.** Kadmiyum, inko ve Kadmiyum+inko Etkisinde Kalan Tatlı Su Balığı *Oreochromis Niloticus*'da ATPaz Tepkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, **2001**.
135. **Nikolic L, Todorovic N, Zakrzewska J.** Involvement of Na⁺/K⁺pump in fine modulation of bursting activity of the snail Br neuron by 10 mT static magnetic field *J Comp Physiol A*, **2012**; 198 (7):525–540. doi: 10.1007/s00359-012-0727-0.
136. **Bracken MB, Belanger K, Hellenbrand K, Dlugosz L, Holford TR.** Exposure to electromagnetic fields during pregnancy with emphasis on electrically heated beds: association with birthweight and intrauterine growth retardation. *Epidemiology*, **1995**; 6(3):263-270.
137. **Karacaörenli A.** 50 Hz Şebeke Frekanslı Elektrik Alanın Sıçanlarda Yavru Gelişimi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta **2007**.
138. **Zecca L, Mantegazza C, Margonato V, Cerretelli P, Caniatti M, Piva F, Dondi D, Hagino N.** Biological Effects of Prolonged Exposure to ELF Electromagnetic Fields in Rats: III. 50 Hz Electromagnetic Fields. *Bioelectromagnetics* **1998**; 19(1):57–66.

ÖZGEÇMİŞ

01 Mart 1971'de Mersin'de doğdu. 1998 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümünden mezun oldu. 2001 yılında Mersin Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. 2001 yılında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrencisi oldu. 2004 yılında Yüksek Lisans mezunu oldu. 2004 yılında aynı Anabilim Dalında Doktora eğitimine başladı. 2001-2012 yılları arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalıştı.