

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**MANYETİK ALANIN SIÇANLARIN HEMOREOLOJİK
PARAMETRELERİ ve KANDAKİ ESER ELEMENT
DÜZEYLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. GÜLTEN ERKEN

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR. OSMAN GENÇ

DENİZLİ-2008

İş bu çalışma, Jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Fehmi ÖZGÜNER



Üye : Prof. Dr. Osman GENÇ



Üye : Doç. Dr. Z.Melek BOR KÜÇÜKATAY



Üye : Doç. Dr. Sebahat TURGUT



Üye : Doç. Dr. Günfer TURGUT



Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

22/01/2008


Prof. Dr. Zafer AYBEK
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Dekanı

TEŞEKKÜR

BaŐta tez danıŐmanım Sayın Prof.Dr. Osman Genç olmak üzere her birinin eğitimime sonsuz katkısı bulunan Fizyoloji Anabilim Dalında görevli öğretim üyeleri DoÇ.Dr. Melek Bor-Küçükatay, DoÇ.Dr. Sebahat Turgut, DoÇ.DoÇ.Dr. Vural Küçükatay, DoÇ.Dr. Günfer Turgut, Yrd.DoÇ.Dr. Melike Őahiner'e; tezimin her aŐamasında emeği geçen ve yanımda olan bölümümüz doktora öğrencisi, sevgili eŐim Haydar Ali Erken'e; tez çalıŐmam boyunca yardımlarını benden esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Simin Rota ve asistanlarına; Fen Edebiyat Fakültesi Analitik Kimya Bölümü öğretim üyesi DoÇ.Dr. Ümit Divrikli ve asistanlarına, Süleyman Demirel Üniversitesi Elektrik Elektronik Mühendisliği öğretim üyesi Yrd.DoÇ.Dr. Selçuk Çömleççi' ye, Deneysel Araştırma Biriminde görevli Veteriner Hekim Barbaros Őahin ve Muzaffer Sorkun'a, bölümümüz doktora öğrencisi Raziye KurŐunluoĐlu'na, morfoloji binasında görev yapan temel bilimler öğretim elemanları ve çalıŐanlarının yanında, asistan arkadaşlarıma sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Son olarak yaŐamımın bana verdiği en değerli hediye olan ailemin, her bireyine teŐekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR SAYFASI	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. ELEKTROMANYETİK ALAN TANIMI VE KAYNAKLARI	2
2.2. MANYETİK ALANIN ORGANİZMA ÜZERİNDEKİ BİYOLOJİK ETKİLERİ	3
2.3. KAN AKIMI, HEMOREOLOJİ VE HEMOREOLOJİNİN TEMEL İLKELERİ	3
2.3.1. KAN AKIŞKANLIĞINA ERİTROSİTİN REOLOJİK DAVRANIŞININ ETKİSİ	5
2.3.1.1. ERİTROSİT YAPISI VE ERİTROSİT MEMBRANININ ÖZELLİKLERİ	5
2.3.1.2. KAN AKIMI VE ERİTROSİTLER	7
2.3.1.3. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ VE ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER	8
2.3.1.4. ERİTROSİT AGREGASYONU VE ERİTROSİT AGREGASYONUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER	9
2.3.2. HEMOREOLOJİK PARAMETRELERİN ÖNEMİ	10
2.3.3. HEMOREOLOJİ VE OKSİDAN STRES	10
2.3.3.1. SERBEST RADİKALLERİN TANIMI VE ETKİLERİ	10
2.3.3.2. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	11
2.3.3.2.1. ENZİMATİK VE ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDAN SİSTEMLER	12
2.3.3.2.2. ESER ELEMENT KAVRAMI; ÇİNKO VE BAKIRIN FİZYOLOJİK ROLÜ	13
2.3.3.4. SERBEST RADİKALLERİN ERİTROSİTLERE ETKİLERİ	14
2.3.4. HEMOREOLOJİ VE SİYALİK ASİTLER	15
2.4. MANYETİK ALANIN HEMOREOLOJİYE ETKİSİ	17
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	18
3.1. DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI VE DENEYİN YAPILMASI	18
3.2. DENEY HAYVANLARI	19
3.3. DENEY DÜZENEĞİ	19
3.4. ANESTEZİ VE KAN ALINMASI	24
3.5. HEMOREOLOJİK PARAMETRELERİN ÖLÇÜMÜ	24
3.5.1. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	24
3.5.2. ERİTROSİT AGREGASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ	26
3.6. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	27
3.6.1. ERİTROSİTTE Cu-Zn SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	27
3.6.2. ERİTROSİTTE KATALAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	29
3.7. HEMOGLOBİN TAYİNİ	31
3.8. ERİTROSİT MEMBRANLARININ ELDE EDİLMESİ	31
3.9. ERİTROSİT MEMBRANLARINDA SİYALİK ASİT TAYİNİ	32
3.10. NUMUNELERDEKİ PROTEİNİN TAYİNİ	32
3.11. PLAZMA VE ERİTROSİTTE Cu VE Zn TAYİNİ	32
3.12. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	33
4. BULGULAR	34
4.1. HEMOREOLOJİK PARAMETRELER	34
4.1.1. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ	34
4.1.2. ERİTROSİT AGREGASYONU	37
4.2. ERİTROSİTTE Cu-Zn SÜPEROKSİT DİSMUTAZ VE KATALAZ AKTİVİTELERİ	38
4.3. ERİTROSİT MEMBRANINDA SİYALİK ASİT DÜZEYLERİ	40
4.4. PLAZMA VE ERİTROSİTTE, Zn İLE Cu DÜZEYLERİ	41
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇLAR	50
7. ÖZET	51
8. SUMMARY	52
KAYNAKLAR	53

TABLolar ÇİZELGESİ

- Tablo 2.1.:** Enzimatik olmayan antioksidanlar
- Tablo 4.1.:** 1 aylık maruziyette, farklı kayma kuvvetlerinde Elongasyon İndeksi değerleri
- Tablo 4.2.:** 3 aylık maruziyette, farklı kayma kuvvetlerinde Elongasyon İndeksi değerleri
- Tablo 4.3.:** 1 ve 3 aylık, günde 2.5 saatlik manyetik alan maruziyetiyle elde edilen eritrosit Cu/Zn-SOD aktivitesi değerleri
- Tablo 4.4.:** 1 ve 3 aylık, günde 2.5 dakikalık manyetik alan maruziyetiyle elde edilen eritrosit Cu/Zn-SOD aktivitesi değerleri
- Tablo 4.5.:** 1 ve 3 aylık, günde 2.5 saatlik manyetik alan maruziyetiyle elde edilen eritrosit katalaz aktivitesi değerleri
- Tablo 4.6.:** 1 ve 3 aylık, günde 2.5 dakikalık manyetik alan maruziyetiyle elde edilen eritrosit katalaz aktivitesi değerleri
- Tablo 4.7.:** 1 ve 3 aylık maruziyetle tüm grupların plazma çinko düzeyleri
- Tablo 4.8.:** 1 ve 3 aylık maruziyetle tüm grupların plazma bakır düzeyleri
- Tablo 4.9.:** 1 ve 3 aylık maruziyetle tüm grupların eritrosit çinko düzeyleri
- Tablo 4.10.:** 1 ve 3 aylık maruziyetle tüm grupların eritrosit bakır düzeyleri

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

- Şekil 2.1.:** Elektromanyetik dalga şeması
- Şekil 2.2.:** A: Eritrosit membran proteinlerinin yerleşimi
B: Eritrosit membranında spektrin zincirlerinin geri dönüşümlü katlanıp çözülmesi
- Şekil 3.1.:** Deney test düzeneği ve elektrik alan ölçüm bölgeleri
- Şekil 3.2.:** Deney düzeneğinde ölçülen elektrik alan değerleri
- Şekil 3.3.:** Deney düzeneğindeki üç boyutlu elektrik alan dağılımı
- Şekil 3.4.:** Sıçanda kafatasından beyin dokusuna elektromanyetik enerjinin aldığı yol
- Şekil 3.5.:** Lorca cihazının şematik görünüşü
- Şekil 3.6.:** Syllectogram (Eritrosit agregasyonun zamana karşı logaritmik eğrisi)
- Şekil 4.1.:** Farklı kayma kuvvetlerinde, 1 ay, günde 2.5 saatlik manyetik alan maruziyetinin, eritrosit elongasyon indeksi değerleri üzerine etkisi
- Şekil 4.2.:** Farklı kayma kuvvetlerinde, 1 ay, günde 2.5 dakikalık manyetik alan maruziyetinin, eritrosit elongasyon indeksi değerleri üzerine etkisi
- Şekil 4.3.:** Farklı kayma kuvvetlerinde, 3 ay, günde 2.5 saatlik manyetik alan maruziyetinin, eritrosit elongasyon indeksi değerleri üzerine etkisi
- Şekil 4.4.:** Farklı kayma kuvvetlerinde, 3 ay, günde 2.5 dakikalık manyetik alan maruziyetinin, eritrosit elongasyon indeksi değerleri üzerine etkisi
- Şekil 4.5.:** 1 ay ve 3 ay, günde 2.5 dakikalık manyetik alan maruziyetinin, bir eritrosit agregasyonu parametresi olan, amplitüd değerleri üzerine etkisi
- Şekil 4.6.:** 3 ay, günde 2.5 saatlik manyetik alan maruziyetinin, bir eritrosit agregasyonu parametresi olan, amplitüd değerleri üzerine etkisi
- Şekil 4.7.:** 1 aylık maruziyette eritrosit membranı siyalik asit miktarları

1. GİRİŞ

Toplumlar arası mesafelerin önemini yitirmesi nedeniyle küçülen dünyada, ulaşım ve iletişim araçlarının insan yaşamını kolaylaştırması, oluşturduğu çevresel kirlilik nedeniyle, beraberinde ödenilen bedeli de tartışılır hale getirmiştir. Dünyada kullanıcı sayısı her geçen gün artan cep telefonlarının oluşturduğu elektromanyetik kirlilik de tartışılmaya devam edilen bir konudur.

Elektromanyetik alan, hareket halindeki elektrik yüklü taneciklerin, bir gücün etkisi altında kaldıkları boşluk olarak tanımlanır (1). Doğadaki her madde bir manyetik alan oluşturur. İnsanın ve bulunduğu çevrenin manyetik alanları arasındaki etkileşim insan sağlığı için faydalı ya da zararlı olabilir (2).

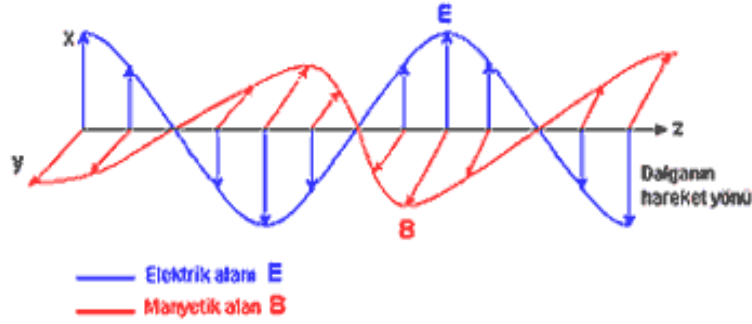
Hemoreoloji kavramı, kanın akışkanlık özelliklerini tanımlar (3). Yaygın görülen kardiyovasküler sistem hastalıklarında, kardiyovasküler risk faktörlerine sahip sağlıklı bireylerde, eritrosit yapısındaki bozukluklarla karakterli genetik hastalıkların bazılarında ve mikrovasküler bozukluklarla seyreden patolojilerde, eritrosit deformabilitesi ve agregasyonunun bozulduğu daha önce bildirilmiştir (4-8). Elektromanyetik alanın eritrosit membranına, elastikiyetine ve metabolizmasına etkisi hakkında yapılmış çalışmalar olmasına rağmen (9,10), yapılan literatür taramasında cep telefonlarının oluşturduğu manyetik alanın, eritrosit agregasyonu ve deformabilitesine etkisiyle ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı; cep telefonundan kaynaklanan manyetik alana maruz bırakılan erkek sıçanlarda; manyetik alanın, hemoreolojik parametrelerden, eritrosit deformabilitesi ve agregasyonuna etkisini saptamaktır. Ayrıca bu parametreleri etkilediği gösterilen (11,12) eritrosit antioksidan sistemi, eser element düzeyleri ve membran siyalik asit düzeyi üzerine manyetik alanın etkisini araştırmak, böylece hemoreolojik parametrelerdeki değişimin mekanizmasını kısmen aydınlatılabilmek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ELEKTROMANYETİK ALAN TANIMI VE KAYNAKLARI:

Voltajda oluşan veya oluşturulan farklılıklar elektrik alan oluştururken; elektrik akımlarının hareketi manyetik alan oluşumuyla sonuçlanır (13). Elektrik ve manyetik alanların birlikte var olması durumunda elektromanyetik (EM) dalgalardan söz edilir (14).



Şekil 2.1. : Elektromanyetik dalga şeması (14. kaynaktan alınmıştır)

Şekil 2.1.'de, ilerleyen EM dalganın hareketi $E \times B$ vektörü yönünde ve sağ el kuralına göre, z eksenine doğrudur. Elektrik ve manyetik alanlar, sırasıyla x-z ve y-z düzlemlerindeki iki sinüs dalgası şeklinde, birbirlerine dik olarak ilerlemektedirler. E ve B dalgaları, bir yılan benzer şekilde, eş zamanlı ve uyumlu olarak, ilerlerken kavisli şekillerini korurlar; fakat önlerinde yeni bir kavis oluştururken, arkalarındaki kavis yok olur (14).

EM alanların karakteri, bir EM dalganın saniyedeki osilasyon sayısı olan frekans ve ardışık iki dalga tepesi arasındaki mesafe olan dalga boyuyla tanımlanır. Çok yüksek frekanslı bazı EM radyasyonlar daha fazla enerji taşırlar ve "iyonize edici radyasyon" olarak bilinirler. Bunlar moleküller arası bağları kırabilirler. Moleküller arası bağları kıramayan radyasyonlara ise "iyonize edici olmayan radyasyon" adı verilir (13).

Dünyada, pusula iğnesinin hareketini sağlayan doğal manyetik alanlar dışında, insan yapımı EM alan kaynakları da bulunur. Bunlar içinde röntgen cihazları, cep telefonlarının baz istasyonları, radyo istasyonları gibi pek çok kaynak vardır (13). İyonlaştırıcı olmayan radyasyonun bir kaynağı olan cep telefonları, endüstriyel toplumlarda, giderek daha yaygın biçimde kullanılmaktadır. Cep telefonlarından yayılan EM dalgalar vücuda absorbe edildiğinde ısı artışı gibi etkiler oluştururlar (15). Bu etkilerin hangi dozda ortaya çıktığını tespit etmek için, bir dokunun kilogramı başına soğurulan EM güç olan “spesifik absorbsiyon oranı” (SAR) adlı birim kullanılır. EM radyasyonun soğurulmasının, vücutta 1 °C'den fazla ısı artışına yol açması durumunda, vücut için zararlı olduğu bildirilmiştir (16). Zararlı ısı artışına yol açmadan vücudun soğurabileceği maksimum EM güce, 1/50'lik bir güvenlik faktörü de eklenerek insanlar için elektromanyetik dalgalara güvenli maruziyetin sınırı 0,08 Watt/kg olarak belirlenmiştir (17).

2.2. MANYETİK ALANIN ORGANİZMA ÜZERİNDEKİ BİYOLOJİK ETKİLERİ

Pek çok araştırmacı tarafından, farklı SAR değerlerinde EM dalgaların sinir sistemine (16-20), kardiyovasküler sisteme (21), hematopoetik sisteme, uteroplasental fonksiyonlara, gelişme ve davranış parametrelerine olan etkileri (13) gösterilmiştir. Bunlar içinde artmış çocukluk çağı lösemi riski, katarakt, baş ağrısı, anksiyete, düşük doğum ağırlıklı bebek riski, depresyon, libido azalması, artmış epileptik atak sıklığı gibi bulgular mevcuttur (13,17,22,23).

2.3. KAN AKIMI, HEMOREOLOJİ VE HEMOREOLOJİNİN TEMEL İLKELERİ:

Akım, birim zamanda yer değiştiren sıvının hacmi olarak tanımlandığından; kan akımı, dolaşımın belirli bir noktasından belirli bir sürede geçen kan miktarı anlamına gelir (24). Ohm yasası olarak bilinen yasaya göre; bir kan damarı içindeki akımı belirleyen iki faktör vardır. Bunlardan birincisi; kanı damardan iten kuvvet olan, damarın iki ucu

arasındaki basınç farkı iken ikincisi kanın akışı sırasında oluşan sürtünmeyle ilişkili damar direncidir (25).

Kanın akış özellikleri, 20. yüzyılın başlarında, İskandinav bir patolog olan Robin Fahraeus tarafından araştırılmaya başlanmıştır. Fahraeus patolojik süreçlerde, kanın akışkanlığının ve süspansiyon stabilitesinin değiştiğini bulmuştur. Ancak, geçtiğimiz on yıllarda kan akımının dinamik doğası ve reolojik davranışı yaygın olarak çalışılmaya başlanınca, bu buluşlar hak ettikleri ilgiyi görebilmiştir (3).

19. yüzyılın ikinci yarısında, akışkanlarda, yavaş akım sırasında, basıncın akış hızıyla orantılı olarak düştüğü gözlenmiştir (3). Bu koşullarda sıvı partiküllerin, birbirlerine bitişik düzlemde (laminalar halinde), tüp duvarına paralel olarak, düzgün bir biçimde hareket ettikleri izlenir (24). Bu sırada damarın merkezindeki akım, kenarlardaki tabakalardan çok daha hızlıdır. Bunun sebebi ise damara değen tabakadaki sıvı moleküllerinin damar çeperi ile aralarındaki sürtünme kuvveti nedeniyle daha zor hareket etmesidir. Diğer sıvı tabakaları birbirinin üzerinden kayar (25,26). Bu tipteki akım "laminar akım" olarak adlandırılır. Sıvının akış hızı arttırıldığında ise akım karakteristiğinin düzensiz ve girdaplı bir hale geldiği gözlenir. Bu tipteki düzensiz akıma ise "türbülant akım" adı verilir. Akış hızı arttıkça türbülansın derecesi de artar. Türbülant akım koşullarında, akışkanın basıncı, akış hızının karesiyle doğru orantılı ve akışa karşı olan direnç, laminar akımdan büyüktür. Laminar akımda, kayma kuvvetinin kayma hızına oranı sıvıların akışkanlığını belirlemek için kullanılır. Bu ilişki laminalar arasındaki iç direnci belirler ve bu da sıvının viskozitesini yansıtır. Akışkanın viskozitesi bu oranla hesaplanabilir (3).

Hemoreoloji, kanın ve içerdiği şekilli elemanların akış ve deformabilite özellikleri ile ilgilenir (27). Kan, biyolojik olarak, çeşitli tipteki hücreler ve sıvı interselüler bir materyalden meydana gelmiştir (24). Reolojik olarak ise kan, hücresel elemanların katı kısmı oluşturduğu, katı-sıvı bir süspansiyondur.

Bununla birlikte, kayma kuvvetlerinin varlığında eritrositlerin sıvı benzeri davranışından ötürü, sıvı-sıvı emülsiyonu şeklinde de düşünülebilir (3).

Reolojik açıdan akışkanlar Newtoniyen sıvılar ve Newtoniyen olmayan sıvılar olarak iki ana gruba ayrılır. Newtoniyen sıvılarda, kayma kuvvetinin kayma hızına olan oranının sabit olduğundan, viskozite kayma kuvveti veya hızındaki değişikliklerden bağımsızdır (3). Newtoniyen olmayan sıvılarda kayma hızı arttırıldıkça sıvının viskozitesi azalabilir veya artabilir. Su Newtoniyen sıvıların örneği iken, kan Newtoniyen olmayan sıvılardandır (24).

2.3.1. KAN AKIŞKANLIĞINA ERİTROSİTİN REOLOJİK DAVRANIŞININ ETKİSİ:

2.3.1.1. ERİTROSİT YAPISI VE ERİTROSİT MEMBRANININ ÖZELLİKLERİ:

Eritrositler, akciğerlerden dokulara oksijen ve dokulardan akciğerlere karbondioksit taşımakla görevli, bikonkav disk şeklinde, özelleşmiş hücrelerdir. Kemik iliğinde gelişimini tamamlayan eritrositlerin dolaşımdaki ömrü ortalama 120 gün kadardır. Yaşam süresini tamamlamış eritrositler retiküloendotelyal hücrelerce parçalanırlar (29). Bu sürede yaklaşık 280 km kadar yol kat eden eritrositlerin sitoplazmalarının %34 kadarı, hemoglobin çözeltisi şeklindedir. Olgun eritrositlerin ortalama çapları 7,8 μm ve kalınlıkları en kalın yerde 2,5 μm , en ince yerde ise 1 μm kadardır. Ortalama hacimleri ise 90-95 μm^3 'tür. Olgun eritrositlerde çekirdek, mitokondri, lizozom, endoplazmik retikulum ve golgi gibi organeller bulunmamaktadır (28,29).

Eritrosit membranı çeşitli lipit ve protein komponentlerinin, yapısal ve biyokimyasal organizasyonu ile karakterlidir. Membranın %52'si protein, %40'ı lipit ve %8'i karbonhidrattan oluşur. Temel lipit komponenti, esterleşmemiş kolesterol ve fosfolipitlerdir. Fosfolipitlerin farklı çeşitleri, membranda asimetrik dağılımlardır. Eritrosit membranındaki proteinlerin analiziyle yüzden farklı protein türünün bulunduğu gösterilmiştir (28). Eritrosit membran proteinleri elektroforetik ayırımlarına göre band 1,2,2.1,3,4.1,4.2,5,6,7 ve 8 olarak adlandırılırlar. Periferik membran

proteinleri olan spektrin, aktin ve band 4.1 membranın sitoplazmik yüzeyinde yer alırlar. Spektrin esnek ve basil şeklinde bir moleküldür ve membran proteinlerinin %20-25 kadarını oluşturur. İki eş olmayan, alfa (band 1) ve beta (band 2), alt birimin bir araya gelmesinden oluşmuştur. İki alt birimin bir araya gelmesiyle oluşan heterodimer, yaklaşık olarak 100 nm uzunluğunda bir yapı oluşturur. Fonksiyonel spektrin, iki spektrin heterodimerinin oluşturduğu bir tetramerdir. Band 5 ise aktin adıyla bilinir. Aktin membran proteinlerinin % 5 ini oluşturur (28,30,31).

Çift katlı lipit tabakaya hidrofobik etkileşimlerle bağlı olan integral proteinler; Band 3 protein ve glikoproteinlerdir. Band 3 protein, eritrosit membranının majör integral proteinidir. Membran proteinlerinin % 15-20'sini oluşturur. Bu proteinin iki fonksiyonu; HCO_3^- ve Cl^- iyonlarını, bire bir değiştiren anyon pompası işlevi görmek ve membran iskelet proteinlerini lipit tabakaya bağlamaktır (28). Eritrosit membranında yer alan en önemli glikoproteinler, glikoproteinlerdir. Eritrosit çevresinde ileri derecede hidrofilik ve anyonik bir karbonhidrat kılıfı oluştururlar (30). Bunlar siyalik asitten zengin proteinlerdir ve eritrosit membran proteinlerinin yaklaşık olarak %2'sini oluştururlar. Hücre yüzeyinin negatif yüklü olmasının temel sebeplerinden biri olan siyalik asit, eritrositlerin birbirleriyle ve endoteli de içeren başka hücrelerle temasını azaltır. Temelde yapısal bir fonksiyon gören glikoproteinler, kan grup antijenlerini de taşırlar (28,30).

Spektrin, band 2, band 4.1 ve aktin, hücre şekli ve dayanıklılığını belirleyen en önemli proteinlerdir. Bu proteinler, kovalent olmayan bağlarla bağlanıp bir kompleks oluştururlar. Oluşan bu kompleks, periferik bir protein olan band 2.1 (ankirin) aracılığıyla band 3 proteinine bağlanır. Bir başka bağlantı noktası da band 4.1'in, glikoprotein C ile olan bağlantısıdır. Ortalama 10 birimden oluşan aktin oligomerlerine bağlanan spektrin tetramerleri, membranın altında ağ şeklinde bir yapı meydana getirirler. Bu yapı integral proteinlerce membranın lipit tabakasına bağlanıp, "membran iskeleti" olarak bilinen yapıyı oluşturur (28,30,32).

2.3.1.2. KAN AKIMI VE ERİTROSİTLER:

Poiseuille yasasına göre katı silindirik tüplerde, basit akışkanların akımına karşı olan direnç, geometrik ve reolojik faktörlerle belirlenir (24,33). Buna göre akıma karşı olan direnç, tüpün uzunluğu ve akışkanın viskozitesiyle doğru orantılı iken tüpün yarıçapının dördüncü kuvvetiyle ters orantılıdır (33). Laminar akım koşullarında, hücrelerin varlığının laminar akımı bozması, kan viskozitesinin, plazma viskozitesinden daha yüksek olmasına neden olur. Hücrelerin sayısı arttıkça doğru akım progresif olarak bozulur. Kanın hücresel elemanlarının konsantrasyonu yanında, reolojik özellikleri kan akışkanlığının en önemli belirleyicilerindedir (3,30).

Eritrositler, kan hücrelerinin kanın akışkanlığına yaptığı etkinin temel belirleyicileridir. Kanın damar içindeki davranışı incelendiğinde, kanın in vivo viskozitesi, viskometrede ölçülenden daha yüksek bulunur. Bunun sebebi akım sırasında eritrositlere etkiyen kayma kuvvetlerinin eritrositlerin şekil değiştirmelerine sebep olarak kanın viskozitesini düşürmesidir. Bu durum Poiseuille yasasına göre, akıma karşı direncin azalmasına sebep olur (3,33).

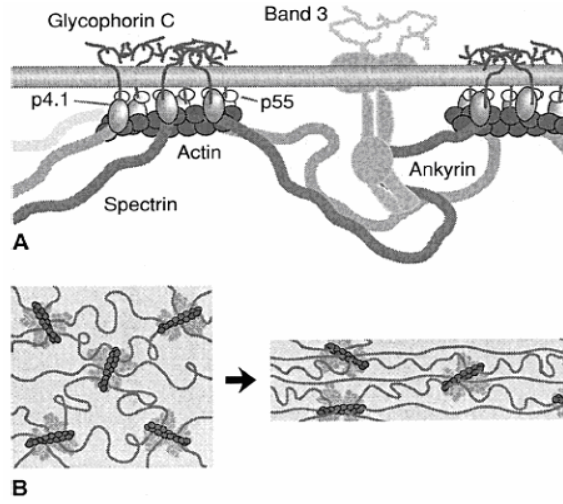
Sonuç olarak, damar geometrisi kadar kanın reolojik davranışı da hemodinamik direncin belirleyicisidir. Ayrıca hemoreoloji, damar geometrisini değiştirmek yoluyla vasküler engelin, yani vasküler düz kas tonusunun, büyüklüğünü de belirleyebilir (3).

Eritrositlerin bir diğer önemli reolojik özelliği, spontan olarak agregasyona eğilimli olmalarıdır. Normalde kan akımı eritrositler kapiller damarlara girmeden önce agregatların dağılması için yeterlidir ve kan akımının bu özelliği dokuların yeterli perfüzyonu için esansiyeldir (3,8).

2.3.1.3. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ VE ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Eritrosit deformabilitesi eritrositin kan akımı sırasında kendisine uygulanan kuvvetlere yanıt olarak şekil değiştirebilme yeteneğidir (33). Bu şekil değişikliğinin boyut ve geometrisi; eritrositlerin hücresel özellikleri,

onlara uygulanan kuvvetlere oryantasyonları ve bu oryantasyonun büyüklüğü tarafından belirlenir. Eritrositin şekil değişikliği, bunu oluşturan güçler ortadan kalktığında geri dönüşlüdür. Eritrositin hücre iskeleti, hücrenin dinamik-mekanik davranışını belirleyen en önemli etkidir (3). Şekil 2.2'de görüldüğü gibi membran deformabilitesi bir membran iskelet proteini olan spektrinin katlanıp açılmasına kritik olarak bağlıdır (3,35,36). Bu hücresel özelliklere ek olarak eritrositteki hemoglobin konsantrasyonuna bağlı olan eritrositin sitoplazmik viskozitesi ve eritrositin bikonkav diskoid geometrisi eritrosit deformabilitesini etkiler (3).



Şekil 2.2: A: Membran proteinlerinin yerleşimi B: Spektrin zincirlerinin geri dönüşümlü olarak katlanıp çözülmesi (37. kaynaktan alınmıştır).

Eritrositin deformabilitesini etkileyen bir faktör de onun hidrasyonudur. Hidrasyonun derecesini membranda bulunan aktif katyon pompası da etkiler (37). Eritrosit fazla hidrate olursa volüm artışına karşılık yüzey alanı değişmez ve hücre deformabilitesi azalır. Tersine hemoglobinin sitozolik konsantrasyonu artıp hücrenin hidrasyonu azalacak olursa, yine deformabilite azalır (3).

Membrandaki ATP bağımlı kalsiyum pompası; eritrositin intraselüler hacmin kontrolü, normal sitoplazmik viskozitesinin sürdürülmesi ve özel geometrisinin korunması için gereklidir (37). Bu pompa sayesinde normal

mekanik davranışın sürdürülmesi için gerekli olan hücre içi düşük kalsiyum seviyesi sürdürülebilir (3).

Deformabiliteyi etkileyen bir diğer faktör ise eritrositin yaşıdır. Yaşla birlikte eritrosit deformabilitesinin azalması; hücre şeklindeki, sitoplazmik viskozitedeki ve membran deformabilitesindeki değişikliklerin bir fonksiyonudur (38).

2.3.1.4. ERİTROSİT AGREGASYONU VE ERİTROSİT AGREGASYONUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER:

Eritrositler fibrinojen gibi molekülün varlığında agregat olma eğilimindedirler. Eritrositlerin oluşturdukları lineer agregatlara "rulo" adı verilir. Bu durumda eritrositler, üst üste konulmuş madeni para yığına benzerler. Lineer agregatların etkileşmesiyle, üç boyutlu agregatlar oluşur (3,27).

Kendi plazmalarında spontan agregatlar oluşturabilen eritrositlere kayma kuvvetleri uygulandığında, agregatların kolayca dağılabildikleri, fakat bu kuvvetler ortadan kalktığında eritrositlerin yeniden agregat olduğu gözlenmiştir. Oysa izotonik sodyum solüsyonları gibi solüsyonlarda bu agregatlar oluşmaz (3). Plazmanın agregat edici özelliğinin temel sorumlusu, fibrinojendir (24).

Eritrositin agregasyon süreci, agregasyon güçleri ve disagregasyon güçleri arasındaki denge olarak düşünülebilir (3). Agregasyonun boyutu, negatif yüke sahip hücrelerin arasındaki itme kuvveti, plazma proteinlerinin varlığında oluşan adezyon kuvveti ile kan akımı tarafından oluşturulan disagregat edici kayma kuvvetleri arasındaki dengeye bağlıdır (38).

Eritrosit agregasyonunu açıklamaya çalışan iki hipotez vardır. Bunlardan köprüleşme hipotezi, eritrositlerin birbirlerine bitişik yüzeylerine makromolekülleri adsorbe etmeleri ve böylece disagregasyon kuvvetlerini aşmalarıyla agregasyonun oluştuğunu ileri sürerken; deplezyon modeli eritrosit yüzeyinden makromoleküllerin uzaklaştırılmasıyla osmotik gradient

oluşumunun interselüler aralıktan bir sıvı hareketine neden olduğunu ve böylece hücrelerin birbirine yaklaştığını ileri sürer (3,30).

Sonuç olarak eritrositin kendi karakteristikleri, büyük oranda membrandaki siyalik asit miktarıyla belirlenen membran yüzey şarjı, membrana bağlı immünglobulin G ve hücrelerin maruz kaldığı in vivo çevre, eritrosit agregasyonunu etkiler (3,40).

2.3.2. HEMOREOLOJİK PARAMETRELERİN ÖNEMİ:

Kan akımının belirleyicilerinden olan hemoreolojik parametreler vücut homeostazisine duyarlıdır ve patofizyolojik koşullarda değişebilirler. Kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, sepsis gibi patolojik durumlar ve egzersiz gibi sıra dışı fizyolojik durumlardaki hemoreolojik değişimler daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (3,40). Bu değişimler patofizyolojik koşulların bir belirtisi olabileceği gibi patofizyolojik koşulların gelişiminde de rol alabilirler (41).

2.3.3. HEMOREOLOJİ VE OKSİDAN STRES:

2.3.3.1. SERBEST RADİKALLERİN TANIMI VE ETKİLERİ

Atomik ya da moleküler yapılarında eşlenmemiş tek elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküllere “serbest radikal” adı verilir. Bir moleküle elektron eklenmesi veya çıkarılması ya da bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik kopması sonucu, eşlenmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması, serbest radikal oluşumuna yol açabilir. Serbest radikaller elektron konfigürasyonlarını pozitif yükü dengelemeleri gerektiği için çok reaktiflerdir. Tek elektronunu bir başka moleküle verebilen serbest radikaller, bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilmektedirler. Sonuçta radikal olmayan bir yapı da radikale dönüşebilmektedir (28,34).

Tüm radikal türevlerinin üretimi için oksijen gereklidir. Reaktif oksijen türevlerinin (ROS) radikal olanları: Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), Hidroksil ($\cdot OH$), Peroksil (RO_2^{\cdot}), Alkoksil (RO^{\cdot}), Hidroperoksil (HO_2^{\cdot}), Alkoksil radikali, Semikinon

radikal ve hemoproteine bağlı serbest radikallerdir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asit (HOCl), Hipobromik asit (HOBr) ve peroksinitrit ($ONOO\cdot$) ise radikal olmayan ROS'lardır. Nitrojenin serbest radikalleri ise, Nitrik oksit (NO) ve nitrojen dioksittir (NO_2) (28,34).

Serbest radikaller hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda üretilirler. Örneğin oksijen radikalleri; sinyal transdüksiyonu, gen transkripsiyonu, hücrelerde çözünür guanilat siklaz aktivitesinin düzenlenmesi gibi kritik etkinliklerde rol alırlar. Bu arada patojenlerin, aktive makrofaj ve diğer immün sistem fagositleri tarafından öldürülmesine de aracılık ederler. Aynı biçimde NO neredeyse vücudun her hücrel ve organsal faaliyetinde yer alan yaygın sinyal moleküllerinden biridir (34,49).

Bununla beraber oksidan ve demir-sülfür içeren enzimlerin inhibitörü olarak serbest radikaller ve onların reaktif türevleri; protein, aminoasit, lipid ve DNA gibi biyomoleküllerin oksidasyonuna sebep olurlar. Bunun sonucu olarak hücrel hasar ve ölüme yol açabilirler (12,38). Serbest radikallerin sitotoksik etkileri memeli hücrelere hasar vererek iskemi reperfüzyon hasarı gibi pek çok kronik hastalığın patogeneğinde rol alabilir (48).

2.3.3.2. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ:

Çeşitli kaynaklar yoluyla serbest radikallere maruziyet, organizmada savunma mekanizmalarının gelişmesine sebep olur. Normal şartlarda antioksidanların intraselüler seviyeleriyle aktiviteleri arasında bir denge bulunur. Bu denge organizmanın yaşamını sürdürebilmesi ve sağlığı için esansiyeldir (12).

2.3.3.2.1. ENZİMATİK VE ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDAN SİSTEMLER

Tablo 2.1.: Enzimatik olmayan antioksidanlar (28. kaynaktan alınmıştır)

Seruloplazmin: Demirin yükseltgenmesini sağlar.	E vitamini ve analogları: Lipit peroksidasyon tepkimelerini engeller
Glutasyon, N-asetilsistein, metiyonin, kaptopril gibi tiyol grubu içeren bileşikler: Serbest radikallerin ve peroksitlerin tutucusudur.	A vitamini: Peroksitlere karşı doğrudan etki ederek onları inaktive eder
Transferrin: Demiri bağlar	C vitamini: Hidroksil ve süperoksit radikallerini direkt olarak temizleme yeteneği vardır
Hemoglobin: Oksidanları bağlar.	Bilirubin: Serbest radikal tutucusudur
Ürik asit: Hidroksil, peroksil ve süperoksit radikallerini tutar	Albümin: Bakırı bağlar
Glukoz: Hidroksil radikalini tutucusudur	Piruvat: H ₂ O ₂ tutucusudur
Taurin: Ksenobiotiklere bağlanma yeteneği vardır	Sistein: Hipoklorit ve serbest radikal temizleyici özelliği bulunmaktadır
Haptoglobin: Hemoglobini bağlar	Hemopeksin: Serbest haldeki hemi bağlar

Enzimatik antioksidanlar :

A. Süperoksit Dismutaz (SOD) : Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur. Süperoksit radikallerinin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizler ($O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). Bu güne kadar bu enzimin 5 farklı tipi bulunmuştur. Ökaryotik sitozolde ve intermembranöz aralıkta bulunan ve molekül ağırlığı 31.2 kDa olan tipi, her bir dimerik protein için birer molekül bakır ve çinko içerir. Çinko dayanıklılığı sağlarken, bakır aktiviteden sorumludur. Mangan içeren SOD'un bilinen iki tipinden biri 75 kDa ağırlığında ve mitokondri matriksinden bulunurken, diğeri 40 kDa ağırlığında ve E. Coli gibi bakterilerin sitozolünde yer alır. Diğer bir SOD tipi ise demir içerir ve E. Coli'nin periplazmik aralığında bulunur. Molekül ağırlığı 40 kDa'dır. 1984'te tanımlanan son SOD tipi ise 135 kDa ağırlığında bir tetramerdir. Ekstraselüler sıvı, ekstraselüler matriks ve hücre yüzeylerinde bulunur (28,42).

B. Hidroperoksidazlar:

Katalaz: Yapısal olarak bir hemoprotein olan katalazın molekül ağırlığı 248 kDa'dur ve non kovalent olarak, kendisine bağlı hem molekülü içerir. Kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunurlar. Hidrojen peroksit oluşum hızı düşükse veya elektron alıcısı konsantrasyonları yüksekse $H_2O_2 + AH_2 \rightarrow 2H_2O + A$ tepkimesini katalizler ve aktivitesi için demir gereklidir (28).

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Molekül ağırlığı 84 kDa'dur. Dört alt birimin her birinde, bir selenosistein yapısı içerir. Hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerin yıkılımını katalizleyerek membran lipitleri ve hemoglobini oksidan strese karşı koruyan bu enzim, etkisini glutasyonun yükseltgenmesi ile gerçekleştirir. Bir tripeptit olan glutasyonun normal koşullarda %98.9 kadar indirgenmiş (GSH) olarak %0.2'si ise yükseltgenmiş (GS-SG) olarak bulunur. Glutasyonun SH grubu indirgen olarak etki edip diğer glutasyon molekülüyle disülfid köprüsü kurar. Oluşan yükseltgenmiş glutasyon, NADPH kullanılan bir tepkimede glutasyon redüktaz ile GSH meydana getirir (28).

2.3.3.2.2. ESER ELEMENT KAVRAMI; ÇİNKO VE BAKIRIN FİZYOLOJİK ROLÜ:

Fizyolojik aktivitesi bilinen 23 elementin 11'i, vücut için esansiyel olmalarına rağmen, vücutta az miktarda bulduklarından "eser element" olarak adlandırılırlar (43).

Eser elementlerden bakır (Cu) ve çinko (Zn), son yörüngelerinde eşlenmemiş elektrona sahiptirler. Bu metaller enzimlerin aktif kısımların bir ögesidirler ve redoks reaksiyonlarına aracılık edebilirler (43).

Organizmada seruloplazmin proteiniyle taşınan Cu elementi karaciğer ve beyinde en yüksek konsantrasyonlarda olmak üzere, erişkin vücudunda yaklaşık 80 mg bulunur. Cu'nun hematopoez için esansiyel bir element olduğu bilinmektedir. Cu eksikliğine bağlı oluşan anemi, hipokrom mikrositer

anemidir. Bunun sebebi demirin hemoglobin üretiminde kullanılamayıdır (43,44).

Zn insan demirden sonra vücutta en çok bulunan eser elementtir. Plazmada ortalama 1 mg/L kadar bulunur. Plazmada seruloplazmin tarafından taşınır. Zn biyolojik membranlarda yapısal ve fonksiyonel bir rol oynar. Eksikliğinde yol açtığı patolojiler; Cu eksikliği, demir fonksiyonlarında bozulma, immün fonksiyonun baskılanması, HDL seviyesinin düşmesi ve DNA sentezinin bozulmasıdır. Yine Zn eksikliğinde, eritrositlerin hipotonik çözeltilerde hemolizinin arttığı ve eritrosit membran bileşiminin değiştiği gösterilmiştir (43,45,46). Zn, antioksidan etkisini akut ve kronik olarak gösterebilir. Kronik etkisini metalotiyonein gibi farklı antioksidan özellikli maddelerin miktarlarını arttırmak yoluyla yaptığı düşünülmektedir. Metalotiyoneinler radyasyon maruziyetini de içeren çeşitli koşullarda antioksidan etkili olabilirler. Yüksek oksidatif durumlarda metalotiyoneinler ortama Zn salarak hücrenin redoks durumunu değiştirebilir ve sonuçta sülfid ve disülfid değişimini sağlayabilirler. Zn'nun uzun süreli eksikliğinde organizmanın oksidan etkiye karşı daha duyarlı hale gelmesi, bu elementin antioksidan etkinliğine bir kanıttır (47). Akut etkisini ise proteinlerin sülfidril gruplarını stabilize ederek veya H_2O_2 'in redüksiyonuyla hidroksil radikali oluşumunu engelleyerek gösterebilir. Zn'nun akut antioksidan etkisine aracılık eden ikinci mekanizma ise redox reaksiyonlarına aracılık eden Cu ve demir gibi geçiş metallerini antagonize etmesidir (48).

2.3.3.3. SERBEST RADİKALLERİN ERİTROSİTLERE ETKİLERİ:

Eritrositler, dolaşımda yüksek oksijen basıncına maruz kalmaları, aynı zamanda oksijen radikalleri üretimine yol açan bir geçiş metali olan zengin demir içeriğine sahip olmaları ve böylece hem dış çevre hem de kendi metabolizmalarından kaynaklanan oksidan strese maruz kalmaları nedeniyle, serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hasara diğer hücrelerden daha yatkındırlar. Bu nedenle, bozulmuş antioksidan savunma veya artmış serbest oksijen radikali üretimi eritrositlerin oksidatif hasara

yatkınlığını arttırıp, eritrositlerde yapısal ve fonksiyonel bozulmaya yol açar (12,34).

Serbest radikaller, eritrositin hücrenel veya membranın mekanik özelliklerindeki değişikler oluşturmak yoluyla, hemodinamiyi çeşitli seviyelerde etkilerler. Bu etki, serbest oksijen radikallerinin arttığı sepsis sırasında, eritrosit deformabilitesindeki azalma, kan viskozitesinde ve damarlardaki dirençte artış saptanarak gösterilmiştir (11). Serbest oksijen radikalleri, eritrosit mekanik özelliklerinde bozulmaya yol açabilir. Bu etkiler antioksidan vitaminlerin uygulanmasıyla geriye dönebilmektedir (12,34).

ROS, eritrositlerde oluşturduğu önemli fonksiyonel değişiklikleri, eritrosit membranını ve sitoplazmik yapılarını etkilemek yoluyla ortaya çıkarır. Örneğin; methemoglobin, ferrik demirin oksidasyonu sonucu, demirin ferro formuna dönüşmesiyle oluşur ve eritrositte oksidan hasarın önemli bir göstergesidir (50). Süperoksit anyonu ve hidrojen peroksin eritrosit membranının akışkanlığını değiştirdiği, aynı zamanda membran proteinlerinin kendi aralarında ve hemoglobinle çapraz köprülerin oluşumuna yol açabildiği bildirilmiştir (51). Oksidan hasara maruz kalan eritrositlerde membranın katyon geçirgenliğinin arttığı ve eritrosit deformabilitesinin azaldığı gösterilmiştir (52). Süper oksit anyonlarıyla membran rijiditesi artar ve membran iskelet proteinlerinin kararlılığının azaldığı bildirilmiştir. Eritrosit deformabilitesinin oksidan hasarla değişiminin eritrosit iskelet proteinlerindeki bozulmayla ilişkilidir (12).

2.3.4. HEMOREOLOJİ VE SİYALİK ASİTLER:

Siyalik asitler 9 karbonlu bir şeker olan nöraminik asitten kaynaklanan yaklaşık 40 şekerin oluşturduğu bir ailedir. Fizyolojik koşullarda 1. pozisyondaki karboksil grubu ve 5. pozisyondaki amino grubundan oluşan yapısı siyalik aside negatif yük ve güçlü bir asit karakteri kazandırır. Amino grubu asetillenmiş olan siyalik asit formuna "N-asetil nöraminik asit" denilir ve siyalik asidin en yaygın bulunan formudur (53).

Siyalik asit negatif yüklü oluğu nedeniyle moleküllerin veya hücrelerin birbirini itmesi veya çekmesinde rol alabilir . Proteazların yıkıma karşı hücreyi koruyabilir. Endotel hücre yüzeyinde yer alan selektinlerle, lökosit yüzeyinde yer alan siyalik asit molekülleri adezyonda rol alır (53). Bu nedenle tümör metastazında da siyalik asit moleküllerinin rol alabileceği düşünölmektedir (54,55).

Eritrosit yüzeyindeki siyalik asitler genellikle infeksiyöz ajanlar tarafından da üretilen “nöraminidaz” enzimiyle yıkılırlar. Eritrositlerin yaşlanması sırasında bu yıkım artar. Bu süreçte eritrosit membranında bulunan siyalik asidin azalması eritrofagositozu arttırarak eritrosit yaşam süresini azaltıp anemiye yol açabilir (53).

Eritrosit membranının yüzey yükü, eritrosit agregasyonunu belirleyen parametrelerden biridir. Karboksil gruplarıyla, membrana bağlı siyalik asitler, eritrositin negatif yüzey yüküne katkıda bulunurlar. Nöraminidazla muamele edilmiş eritrositlerin yüzey şarjının yoğunluğunda bir azalma ve dekstranla indüklenen agregasyonlarında bir artma gözlenmiştir (38,53).

Elektromanyetik alanlara maruz kalındığında, hücre yüzeyindeki negatif yüklerin azalmanın daha önce gösterilmiş olduğu halde, bu etkinin büyüklüğü fiziksel parametrelere ve/veya uygulanan alanın tipine bağlıdır (56).

Sağlıklı bireylerde yaşlı eritrositlerin agregasyon eğilimi, genç eritrositlere göre daha fazladır. Eritrosit yaşlanmasıyla görölen bu farkın sebebi membran siyalik asit miktarında yaşla oluğan azalma olabilir (38). Yaşla birlikte membrandaki siyalik asit miktarının kaybı membran kalsiyum geçirgenliğinin değişmesiyle de sonuçlanabilir. Membran glikoproteinlerine bağlı siyalik asit, aynı zamanda membranın dış yüzeyindeki kalsiyum bağlayan temel komponenttir (57). Hadengue ve arkadaşlarının bildirdiğine göre eritrosit siyalik asit miktarında hücre yaşamının erken evrelerinde gözlenen azalma, eritrosit agregatlarının adhesiv enerjilerinin artmasıyla, kanın reolojik özelliklerini etkileyebilir (38).

2.4. MANYETİK ALANIN HEMOREOLOJİYE ETKİSİ:

Manyetik alanın kan akımı ve mikrovasküler damarlara etkisi için yapılmış çalışmalar olmasına rağmen (58) “Cep telefonlarının oluşturduğu manyetik alanın eritrosit deformabilitesine ve agregasyonuna etkisi nedir?” sorusunun yanıtı henüz bulunmamıştır. Fakat cep telefonlarının oksidatif stresi attığına dair yapılmış çalışmalar mevcuttur (59-61). EM radyasyonunun oksidan stres üzerindeki bu etkinliği için olası mekanizmaların;

- a. ROS'ları stabilize etmesi,
- b. Serbest demir miktarını artırarak Fenton reaksiyonu yoluyla H_2O_2 oluşumunu arttırması,
- c. Yukarıdaki basamağı takip eden lipit peroksidasyon süreçlerinin intraselüler depolardan kalsiyum sızmasına sebep olması,
- d. Sonrasında NO sentaz aktivitesi artışıyla, NO salınımının artışı,
- e. En sonunda da DNA ve hücredeki diğer moleküllerde hasar oluşması olduğu ileri sürülmüştür (60).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI VE DENEYİN YAPILMASI:

Deneyler, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi; Fizyoloji, Deneysel Araştırma Birimi, Biyokimya, Tıbbi Biyoloji laboratuvarlarında ve Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü laboratuvarında 02.04.2006 ve 15.08.2007 tarihleri arasında yürütüldü. Çalışma için Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan PAUDHEK-2006.06 numarasıyla onay alındı. Pamukkale Üniversitesi Deneysel Araştırma Biriminden sağlanan, ağırlıkları yaklaşık olarak 250-300 g olan, Wistar Albino cinsi, toplam 72 adet erkek sıçana temel olarak iki protokol uygulandı:

1. protokol: Hayvanlar 1 ay ve 3 ay süreyle; haftada yedi gün, günde 5 kere, 5'er dakikalık ara verilerek, 30 dakika manyetik alana maruz bırakıldı (30 dk maruziyet+5 dk ara+30 dk maruziyet+5 dk ara+30 dk maruziyet+5 dk ara+30 dk maruziyet+5 dk ara+30 dk maruziyet).

2. protokol: Hayvanlar 1 ay ve 3 ay süreyle; haftada yedi gün, günde 5 kere, yarım saat arayla, 0.5 dakika manyetik alana maruz bırakıldı (0.5 dk maruziyet+30 dk ara+0.5 dk maruziyet+30 dk ara+0.5 dk maruziyet+30 dk ara+0.5 dk maruziyet+30 dk ara +0.5 dk maruziyet).

1. protokolde deney grubundaki hayvanlar "A grubu", 2. protokolde deney grubundaki hayvanlar "B grubu" olarak adlandırıldı. Her deney grubu için, içinde oldukları düzenekte cep telefonu bulundurulmayan hayvanlardan oluşan bir kontrol grubu ve düzenekte cep telefonunun kapalı olarak bulundurulduğu hayvanlardan oluşan bir sham grubu oluşturuldu. Böylece her protokolde 2 deney grubu (A ve B grupları), her bir deney grubuna ait 2 sham (SA ve SB grupları) ve 2 kontrol grubu (KA ve KB grupları) olmak üzere, iki protokolde toplam 12 grup oluşturuldu.

Her çalışma grubunda, sıçanlar, standart ışık (12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünde), nem (%50) ve ısı koşullarında (22° C) bulunduruldu. Plastik kafeslerde barındırılan sıçanlara çeşme suyu ve standart sıçan yemi kısıtlanma olmaksızın verildi.

3.2. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmada ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 72 adet Wistar-Albino cinsi sıçan kullanıldı.

3.3. DENEY DÜZENEGİ

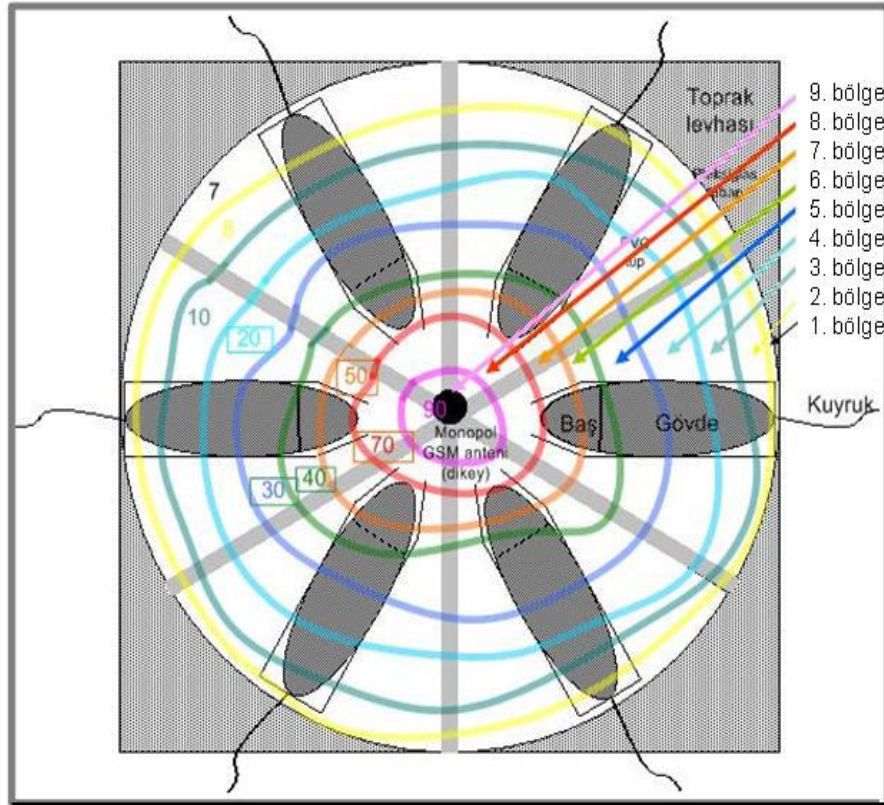
Tek seferde, altı adet sıçan, şekil 3.1.'de görüldüğü gibi havalandırması olan pleksiglastan kutular içine konuldu ve kutular merkeze uzaklıkları eşit olacak şekilde ışınal tarzda yerleştirildi. Hayvanları düzeneğe alıştırmak amacıyla, önce hayvanlara handling yapıldı. Ardından kutulara alıştıırılan hayvanların uygulama başladıktan sonra deney periyodunda her seferinde aynı kutuya girme eğilimi olduğu saptandı.

Bu çalışmada beyin dokusunda indüklenen E_{lokal} elektrik alan büyüklüğü ve SAR değerini bulmak için bu 900 MHz'te doku elektriksel özelliklerinin bilinmesi gerekmektedir. Beyin ortalama doku yerleşimi, kullanılan düzenekte 8. bölgededir. 8. bölgede ölçülen dış elektrik alan değeri $E_{du} = 70 \text{ V/m}$ 'dir. c boşlukta dalga (ışık) hızı, ω açısal hız, ϵ_r ortamın bağıl dielektrik sabiti ve μ_r ortamın bağıl permeabilitesi (=1) dir. Boşluk için $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7}$ ve $\epsilon_0 = 8.85 \times 10^{-12}$ 'dir.

900 MHz'te sıçan dokuları için ϵ_r , iletkenlik; σ , özgül ağırlık; ρ , göreceli geçirgenlik, değerleri bilimsel literatürde verilen tablolardan bulunabilir (62,63). Verilen doku özellikleri ile; biyolojik dokular gibi kayıplı ortamlarda, radyofrekans dalgaları zayıflayarak, aşağıdaki yayılma denklemi ile ilerlerler;

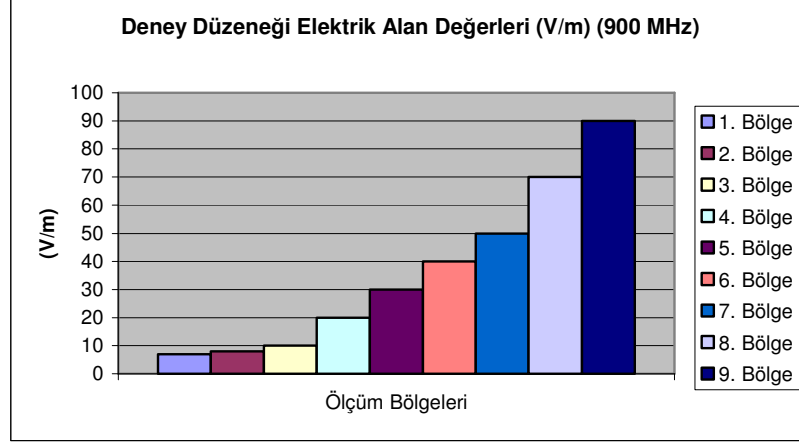
$$\gamma = j \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_r \mu_r} \sqrt{1 - j \frac{\sigma}{\omega \epsilon_0 \epsilon_r}}$$

Burada ω dalganın açısıl frekansı, c ışık hızı, ϵ_r ortamın bağıl dielektrik sabiti, μ_r ortamın bağıl manyetik permeabilitesi, σ ortamın iletkenliğidir.



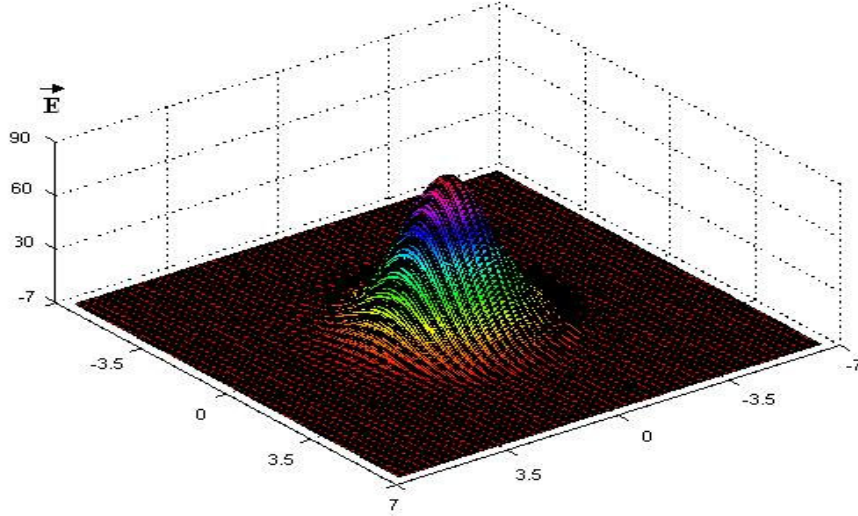
Şekil 3.1: 900 MHz manyetik alan maruziyeti için deney test düzeneği ve elektrik alan ölçüm bölgeleri (anten masanın ortasında, dikey konumda, 8 mm, monopol antendir)

Şekil 3.2'de düzenek üzerindeki ölçüm bölgelerine göre grafiksel ölçüm değerleri verilmektedir.



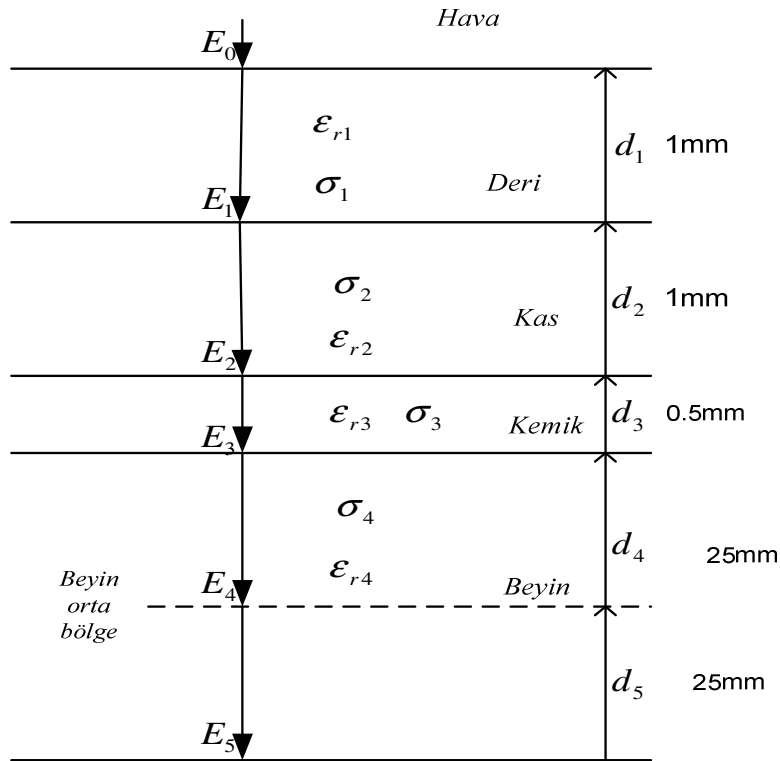
Şekil 3.2: Düzenekte ölçülen elektrik alan değerleri (9. Bölge masa ortasında, antene 5 cm mesafededir)

Şekil 3.3'de düzenek masasındaki 3 boyutlu elektrik alan dağılımı görülmektedir.



Şekil 3.3. Düzenekteki üç boyutlu elektrik alan dağılımı

$\gamma = \alpha + j\beta$ olarak ta yazılabilir. Burada α ortamın zayıflama, β ise faz katsayısıdır. Bir boşluk ortamında $|E_0|$ genliği ile ilerlerken, başka bir ortama ideal koşullarla giren dalga yeni ortamda $|E|$ genliğine sahip olacaktır. $|E| = |E_0| \times e^{-\gamma d}$ olarak bulunur. $|E_n|$, n'inci ortamdaki elektrik alanın hesaplanacak değeridir. γ_n , n'inci ortamda yayılma değişmezi ve d_n , n'inci ortam kalınlığıdır. Şekil 3.4.'de boşluktan gelen bir dikey polarize ve oryente olmuş dalğanın 3 katmanı geçerken ve 4. katmanda ilerlerken zayıflaması gösterilmektedir.



Şekil 3.4.: Sığanda kafatasından beyin dokuya elektromanyetik enerjinin aldığı yol

$$\frac{\sigma_1}{\omega \epsilon_{r1} \epsilon_0} = 0.28$$

$$\frac{\sigma_2}{\omega \epsilon_{r2} \epsilon_0} = 0.18$$

$$\frac{\sigma_3}{\omega \epsilon_{r3} \epsilon_0} = 0.29$$

$$\frac{\sigma_4}{\omega \epsilon_{r4} \epsilon_0} = 0.315$$

Bu değerlerin tümü de 1'e yakın kabul edilir. Yani elektromanyetik teoriye göre bu ortamlar kayıplıdır ve bu ortamlarda dalga yayılımı aşağıdaki gibi olmalıdır.

$\gamma_1 = 108.42 - 82.18^0 \Rightarrow \alpha_1 = 14.75$ bulunur. Öyleyse dalga d_1 mesafe ilerleyince elektrik alan değeri E_1 değerine düşecektir. $E_1 = E_0 \times e^{-\alpha_1 d_1}$ olacaktır.

Bu bilgilerin ışığında; $E_1 = 68.97$ V/m, $\alpha_2 = 17.77$ ve $E_2 = 67.75$ V/m, $\alpha_3 = 39$ ve $E_3 = 66.44$ V/m, $\alpha_4 = 18.48$ ve $E_4 = 41.85$ V/m bulunur. Böylece her dokuda indüklenen elektrik alan değeri bulunarak, o dokuda soğurulan EM enerjinin SAR değeri de tespit edilebilir.

$$SAR_{lokal} = \frac{E_{lokal}^2 \times \sigma}{\rho} \text{ W/kg}$$
 verildiğinden bu koşullarda yapılan

çalışmada beyin dokusunda (ortada) oluşan özgül soğurma oranı ortalaması $SAR_{lokal} = 1.42$ W/kg olacaktır. Literatürde "Carousel türü maruziyet" düzenekleri kullanılarak yapılan çalışmalardaki beyinde oluşan SAR değerinin çalışmamızdaki değerle uyuştuğu görölmektedir (64,65).

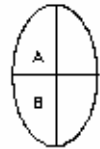
3.4. ANESTEZİ VE KAN ALINMASI:

DeneySEL periyodun sonunda hayvanlar ketamin (50 mg/kg) ve xylazine (5 mg/kg) kombinasyonuyla anesteziye edildi. Heparin (15 IU/ml) ile antikoagölasyonu sağlanan kan örnekleri abdominal aortadan alındı. Sonrasında hayvanlar kansızlaştırılarak telef edildi. Hemoreolojik parametreler kan alınmasını takip eden, en geç 4 saat içinde çalışıldı. Biyokimyasal analizler ve eser element tayini için tam kan örneklerinden elde edilen plazma ve eritrosit paketleri, çalışılıncaya dek, -25°C 'de, derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.5. HEMOREOLOJİK PARAMETRELERİN ÖLÇÜMÜ

3.5.1. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

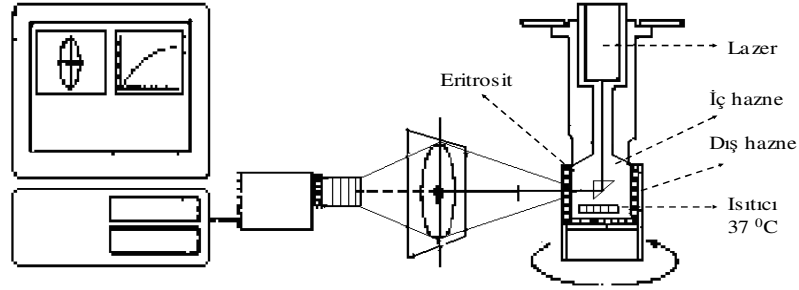
Eritrositler artan kayma kuvvetleriyle orantılı biçimde, dairesel biçimden giderek uzayan iğsi forma dönüşürler. Eritrositlerin şeklinde oluşan bu değişiklik, eritrositin şekil değiştirebilme yeteneğinin (deformabilitesinin) bir göstergesidir. Bu şekil değişikliği Elongasyon İndeksi (Eİ, uzama indeksi) olarak adlandırılan bir parametreyle değerlendirilir. Eritrosit deformabilitesi artış, Eİ'nde de bir artışa yol açar. Eİ'yi aşağıdaki formülle hesaplanabilir (66).

$$Eİ = \frac{(A - B)}{(A + B)}$$


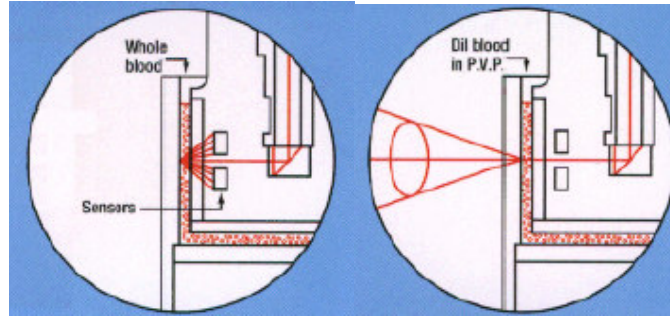
A: Eritrositin vertikal çapı
B: Eritrositin horizontal çapı

Bu çalışmada 25.02 mPa viskoziteye sahip 2 ml Polyvinyl pyralidone çözültisi içinde hazırlanan 10 µl tam kan süspansiyonu içindeki eritrositlerin Eİ'leri, 0.30 Pa - 30 Pa arasındaki, farklı kayma kuvvetleri varlığında hesaplandı. Eİ'leri otomatik olarak farklı kayma kuvvetleri oluşturabilen ve ölçüm yapabilen Lazer-Işınlı Optik Rotasyonel Hücre Analizörü olarak adlandırılan LORCA (Laser-Assisted Optical Rotational Cell Analyzer) cihazı ile hesaplandı (Şekil 3.5.). Bir bilgisayar ve yazıcı da içeren LORCA sistemi, silindirik yapıda iç içe, iki küvet sistemine sahiptir. Silindirik küvetler arasında

bulunan 0.3 mm'lik boşluğa flaş kanalı ile bağlantılı olan bir bölmeden, gerek manuel olarak gerekse bir pompa yardımı ile 1.5 ml test süspansiyonu konulabilmektedir. Işık kaynağı (640 nm, 4mW)'luk diode lazer ışını olup, bir prizma yardımıyla hassasiyet sensörü ve 37 °C'e ayarlanmış sıcaklık kontrol ünitesinden geçerek, iç silindire düşürülür. Sonrasında, süspansiyondaki eritrositlerin şekilleri projeksiyon ekranına yansıtılır. İki silindirin arasındaki boşluğa doldurulan eritrosit süspansiyonu, dıştaki cam silindirin, sistemi kontrol eden bilgisayar programı tarafından, uygun kayma kuvvetlerini oluşturmak üzere hesaplanan bir hızda döndürülmesi ile bu kuvvetlerin etkisinde bırakılarak, eritrositlerde şekil değişikliği oluşturulur. Lazer ve kamera sistemi ile görüntülenen eritrositlerin Eİ'i yine aynı program tarafından otomatik olarak hesaplanır ve sonuçları yazdırılır (66-68).



Bilgisayar Kamera Projeksiyon ekranı



Agregasyon ölçümü

Deformabilite ölçümü

Şekil 3.5.: LORCA cihazının Şematik Görünüşü (Kaynak 68'dan alınmıştır)

Uygulanan ortalama geometrik kayma kuvveti, bilgisayar programı tarafından aşağıdaki formül ile hesaplanmaktadır:

$$y = \frac{2w (r_1^2 \cdot r_2^2)}{r^2 (r_1^2 - r_2^2)}$$

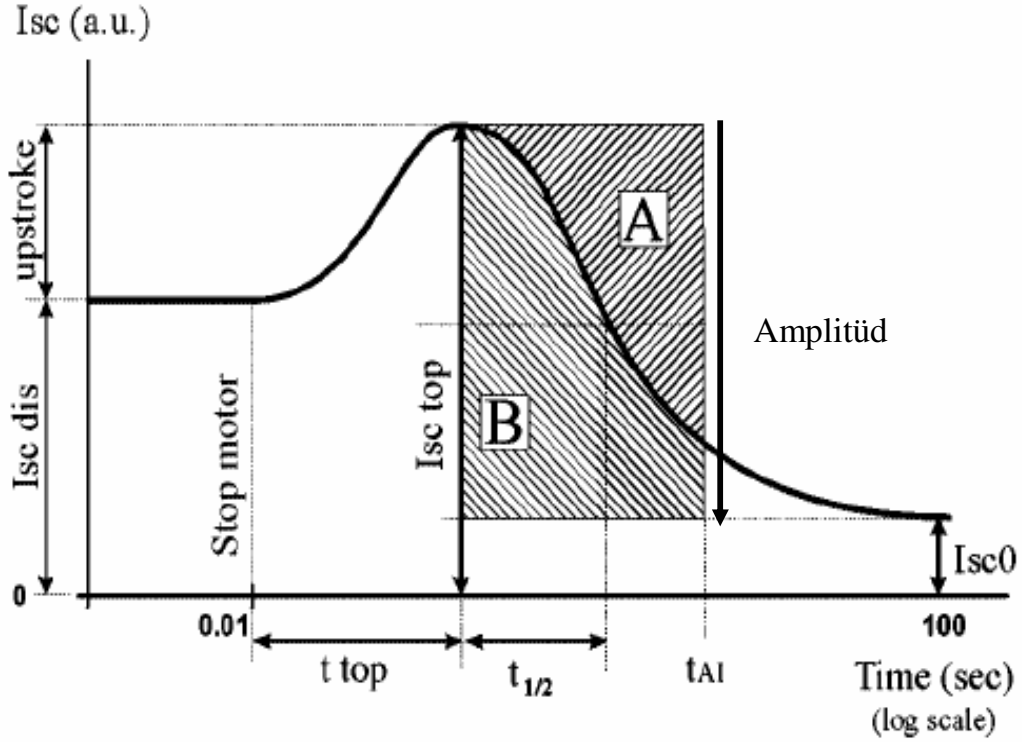
w = açısal hız = $2\pi N/60$ (N= dönme sayısı/dk)
r₁ = iç silindirin yarıçapı
r₂ = dış silindirin yarıçapı
r = boşluğun ortalama geometrik yarıçapı

3.5.2. ERİTROSİT AGREGASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Eritrosit agregasyon ölçümleri de aynı LORCA cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümün esası lazer ışığının geriye saçılması ilkesine dayanır. Eritrositlerin mevcut agregatları tamamen birbirinden ayrılacak şekilde, ayarlanabilir bir kayma hızında, yeterli süre döndürme işlemi uygulandıktan sonra döndürme işlemi aniden durdurularak, içsi hale gelip uzamış ve hıza uyum sağlamış eritrositlerin normal, bikonkav şekillerine dönmesi sağlanır. Bu süreç lazer ışığının geriye saçılan yoğunluğunda artışa neden olur, ve sonrasında agregasyon sürecinin başlaması ile lazerin geriye saçılan ışığının yoğunluğunda azalma gerçekleşir. Bilgisayar programı yardımı ile lazerin geriye saçılmasındaki bu değişikliklerin zamana karşı logaritmik bir eğrisi (Syllectogram) elde edilir (Şekil 3.6.). Yine bilgisayar programı ile agregasyonun bir göstergesi olan agregasyon indeksi parametresi otomatik olarak hesaplanır (67).

$$\text{Agregasyon İndeksi (AI)} = \frac{A}{A+B} \times 100\%, \text{ formülü ile hesaplanır (68).}$$

Bu çalışmada eritrosit agregasyonu ölçümü 1 ml, heparinize edilmiş tam kan örnekleri ile yapıldı, ve eritrosit agregasyonu ölçümü yapılmadan önce tam kan örneği 15 dakika boyunca ritmik hareketlerle karıştırılarak oksijenize edildi. Çalışmada tüm ölçümler, 37 °C'de ve tam kan örneklerine kendi plazmaları eklenip, çıkarılarak standart hematokrit (%40) değerinde yapıldı.



Şekil 3.6.: Syllectogram (Eritrosit agregasyonun zamana karşı logaritmik eğrisi) (67. kaynaktan alınmıştır)

3.6. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER

3.6.1. ERİTROSİTTE Cu-Zn BAĞIMLI SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (Cu-Zn SOD) AKTİVİTESİ TAYİNİ

Cu/Zn-SOD enzim aktivitesi tayininin prensibi adrenokrom oluşumuna yol açan epinefrinin otooksidasyonunun, Cu/Zn-SOD ile inhibisyon yüzdesine göre enzim miktarı hesaplamaktır. Adrenokromun maksimum absorbans verdiği 480 nm'deki absorbans değişikliği Cu/Zn-SOD inhibisyonuyla ilişkilidir.

Deney için $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ tamponu (0.3 M, pH:10.2), EDTA (0.75 M) ve 0.01 M HCl ile günlük hazırlanan Epinefrin (1.8 mM, pH: 2) çözeltileri kullanıldı (69).

Prosedürü gerçekleştirmek için eritrosit paketinden buzlu distile suyla %5 g Hb içeren hemolizat hazırlandı. Hazırlanan bu hemolizat daha sonra tamponla 500 kat dilüe edilerek ölçümde kullanıldı. Ortama en son 0.5 mL epinefrin eklenerek hemen karıştırılarak, spektrofotometrede, 480 nm'de köre karşı numune ve kontrol tüplerindeki absorbands değişimi 3 dakika boyunca izlendi.

Aşağıdaki tabloda kontrol ve numune tüplerine sırasıyla konulan maddeler görülmektedir. 0.0625, 0.125, 0.25 ve 0.5 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan Cu/Zn-SOD (Bovine eritrosit SOD, Sigma) standartları, 20 mM potasyum fosfat tamponu (pH: 7.4) içinde çözülerek, hazırlanan numune tüplerine hemolizatın yerine konularak çalışıldı. Tüm standartlar çift çalışılarak ortalamaları alındı.

	Kontrol	Numune
Tampon (µL)	550	550
EDTA (µL)	400	400
Hemolizat (µL)	-	50
Distile su (µL)	50	-
Adrenalin (µL)	500	500

Konsantrasyon-absorbans (% inhibisyon) değerleri arasında yapılan regresyon analiziyle elde edilen formülde % inhibisyon değeri yerine konularak numunelerdeki konsantrasyon ve ardından konsantrasyona göre SOD aktivitesi tespit edildi.

Kontrol tüpünde inaktif enzim kullanıldığı için, epinefrin kolayca nonenzimatik olarak adrenokroma oksitlendiğinden kontrol tüpündeki inhibisyon yüzdesi sıfır kabul edildi. Standart ve numune tüplerindeki inhibisyon yüzdesi Cu/Zn-SOD konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği için enzimin aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplandı.

Kontrol tüpünün $\Delta OD/dak$	100 aktif birim
Standardın $\Delta OD/dak$	X

$$X = [(\Delta OD \text{ standart/dak}) / (\Delta OD \text{ kontrol/dak})] \times 100$$

Standardın % inhibisyon değeri= 100-X

Kontrol tüpünün $\Delta OD/dak$	100 aktif birim
Numunenin $\Delta OD/dak$	Y

$$Y = [(\Delta OD \text{ numune/dak}) / (\Delta OD \text{ kontrol/dak})] \times 100$$

Numunenin % inhibisyon değeri= 100-Y

Numunenin % inhibisyon değeri bulunduktan sonra standart çalışması ile elde edilen formülde yerine konuldu. Sonuç %1 g Hb cinsinden verileceği için numunenin son hacmindeki Hb hesaplandı ve orantı kurularak, enzim aktivitesi, g başına Hb cinsinden bulundu (69).

3.6.2. ERİTROSİTTE KATALAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ:

Ölçüm için kullanılan yöntem H_2O_2 'in katalaz enzimi tarafından O_2 ve H_2O 'ya parçalanması sırasında reaksiyon karışımındaki absorbanstaki azalmanın 240 nm'de ölçümü prensibine dayanır (ϵ_{240} : $0.00394 \pm 0.0002 \text{ mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$).

Deney için; a) 6.81g KH_2PO_4 , bidistile su ile 1000 mL'ye tamamlandı. b) 8,90 g $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$, bidistile su ile 1000 mL'ye tamamlandı ve bu solüsyonlar, a ve b, sırası ile, 1:1,5 (v/v) oranında karıştırılarak fosfat tamponu (50 mmol/L, pH:7.0) hazırlandı. H_2O_2 (30 mmol/L)'den taze olarak 0,34 ml %30'luk H_2O_2 hazırlandı ve fosfat tamponu ile 100 ml'ye tamamlanır (69).

Solüsyonlar hazırlandıktan sonra eritrosit paketi ve soğuk distile su 1/5 oranında karıştırılıp vortekslenerek hemolizat elde edildi. Hemolizatın hemoglobin içeriği %5 g'a ayarlanarak, fosfat tamponu ile 1/500 oranında dilüe edildi. Kör ve numune tüpleri aşağıdaki tablodaki gibi hazırlandı ve reaksiyon H₂O₂ eklenmesiyle başlatıldı. Absorbanslar spektrofotometrik olarak saptandı. Başlangıç absorbansının, A=0.500 civarında olmasına dikkat edilerek 15 sn boyunca absorbanslar kaydedildi. 15. sn'deki ΔA₂₄₀'ın 0.100'den büyük ve 0.020'den küçük olmamasına dikkat edildi

Enzimin aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$k = 2.3/\Delta t \times \log (A_0/A_{15})$$

$$k = 2.3/15 \times \log (A_0/A_{15}) = 0.153 \times \log (A_0/A_{15}) \text{ s}^{-1} \text{ (ml)}$$

Litredeki k değeri hesaplanacağı için çıkan sonuç 1000 ile çarpıldı;

$$K = 153 \times \log (A_0/A_{15}) \text{ s}^{-1} \text{L}^{-1}$$

	Kör	Numune
Fosfat tamponu (μL)	700	-
Hemolizat (μL)	1400	1400
H ₂ O ₂ (μL)	-	700

Numune 2500 defa dilüe edildiği için bulunan değer 2500 ile çarpıldı, çıkan sonuç, stok hemolizattaki Hb %5 g olduğu için, 50'ye bölünerek katalaz enziminin k/g Hb cinsinden aktivite değeri bulundu;

$$k/g \text{ Hb} = [\log (A_0/A_{15})] / 50 \times 382500$$

Anormal kinetiği nedeniyle katalaz enzim aktivitesi ünitesi için "birinci derece reaksiyon sabiti (k)" kullanıldı ve eritrosit katalaz enziminin spesifik aktivitesi gram hemoglobin başına katalaz aktivitesi (k/g Hb) olarak verildi (69).

3.7. HEMOGLOBİN TAYİNİ

Drabkin yöntemiyle hemoglobin tayini yapıldı. Bu yöntem alkali ortamda hemoglobinin ferrisiyanür ile methemoglobine dönüşmesi ve oluşan methemoglobinin potasyum siyanür ile siyanmethemoglobin bileşimini oluşturması temeline dayanır. En son oluşan bileşiğin spektrofotometrede 546 nm'de verdiği absorbans hemoglobin konsantrasyonu ile orantılıdır.

Deney için; 1 g Sodyum bikarbonat, 0.2 g potasyum ferrisiyanür ve 0.05 g potasyum siyanür içeren karışım distile su ile 1000 ml'ye tamamlanan Drabkin's ayıracı kullanıldı. Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği şekilde hazırlandı (69).

Numune ve kör tüpleri oda ısısında, karanlık ortamda, 10 dakika bekletilerek 546 nm'de absorbans okundu. Hazırlanan standartlarla oluşturulan standart eğrisiyle numunelerdeki hemoglobin değeri hesaplandı (69).

	Numune	Kör
Drabkin's ayıracı (mL)	6	6
Eritrosit paketi (µL)	20	-

3.8. ERİTROSİT MEMBRANLARININ ELDE EDİLMESİ:

Eritrosit membranları Carrerias ve arkadaşlarının yöntemine göre elde edildi (70). EDTA ile koagülasyonu engellenerek alınan 1,5 ml'lik tam kan örnekleri 1400 xg'de 6 dakika santrifüj edilip plazmaları uzaklaştırıldı ve 150 mM NaCl, 10 mM TrisHCl (pH 7.4, 4°C) içeren izotonik çözeltiyle iki kere yıkandı. Sonrasında eritrositler 17 mM TrisHCl ve 0.1 mM EDTA içeren hipotonik çözeltide, 1:9 hacimde buz içinde hemoliz edildi ve 20.000 xg'de santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra membranlar beyazlayıncaya dek yıkama işlemi tekrarlandı. Elde edilen membranlar -20°C'de kullanılıncaya kadar saklandı.

3.9. ERİTROSİT MEMBRANLARINDA SİYALİK ASİT ÖLÇÜMÜ:

Eritrosit membranlarında, siyalik asit düzeyi periyodik asid/tiyobarbitürük asit yönteminin modifiye şekli ile ölçüldü (71). Absorbansları tayin edilen standartlara göre, lineer regresyon analizi yapılarak numunelerdeki siyalik asit miktarı saptandı. Siyalik asit miktarı için sonuçlar, eritrosit membranlarında tayin edilen protein miktarına göre $\mu\text{g}/\text{mg}$ protein olarak verildi.

3.10. NUMUNELERDE PROTEİN TAYİNİ :

Numunelerdeki proteinin tayini Lowry metodu ile yapıldı. Bu metod alkali çözeltide bakırın proteinle kompleks oluşturarak fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifi) redüklemesi ve koyu mavi bir renk oluşturması esasına dayanır. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (72).

Deney için CuSO_4 , Na_3Sitrat , Na_2CO_3 , NaOH çözeltileri ve Phenol-Folin-Ciocalteu reaktifi kullanıldı. Çalışma karanlık ortamda yapıldı.

Hazırlanan standartlarla spektrofotometrik olarak elde edilen eğriden, numunelerdeki protein konsantrasyonları belirlendi.

3.11. PLAZMA VE ERİTROSİTTE Zn ve Cu TAYİNİ:

Titrisol 1000 ± 0.002 gr (Merck) standart solüsyonundan Cu ölçümü için $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ve Zn için $0,5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 'lik standart çözeltiler hazırlandı. Kör olarak bidistile su kullanıldı. Perkin Elmer AAS 700, atomik absorpsiyon spektrofotometresinde (Ueberlingen, Germany) her elemente ait özel dalga boyu ışık veren HCL (Hollow Cathod Lamp) lambalarıyla Cu için 324.8 dalga boyu 0.7 slit aralığı ile 30 mA akım; Zn içinse 213.9 nm dalga boyu, 0.7 nm slit aralığı ve 30 mA akım, uygun hava- asetilen gaz karışımı, HCL ve BGC (Back Ground Correction) modları seçilerek, blank ve standart çözeltiler cihaza verilip cihaz kalibre edildi (73).

Tam kan örneklerinden santrifügasyonla elde edilen plazma ve eritrositler, bakır ve çinko düzeylerinin ölçüm aşamasına kadar dondurulmuş olarak bekletildi. Ölçümden hemen önce çözünen plazma örnekleri distile suyla 5 kat, eritrosit örnekleri ise 20 kat dilüe edildi (74). Ardından plazma ve eritrositte Zn ve Cu tayinleri yapıldı.

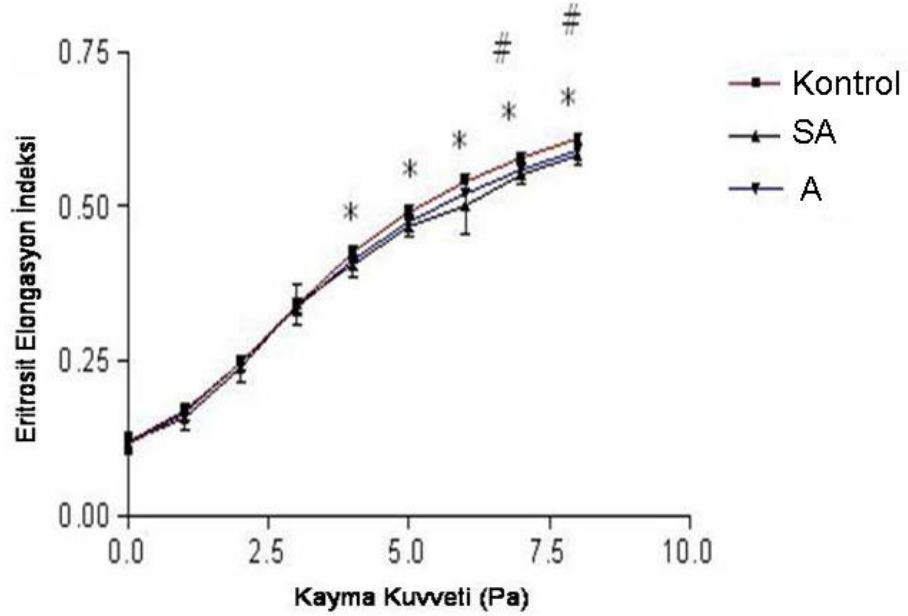
3.12. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER :

İstatistikler, Windows® uyumlu SPSS® 10.0 paket programı ile yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında parametrik testlerden one-way ANOVA testi ve onu izleyen Post Hoc Tukey testi ile nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi uygulanarak gruplar arası anlamlılık incelendi. Değerler aritmetik ortalama \pm standart sapma (Ort. \pm S.S) olarak verildi ve $p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. HEMOREOLOJİK PARAMETRELER:

4.1.1. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ:

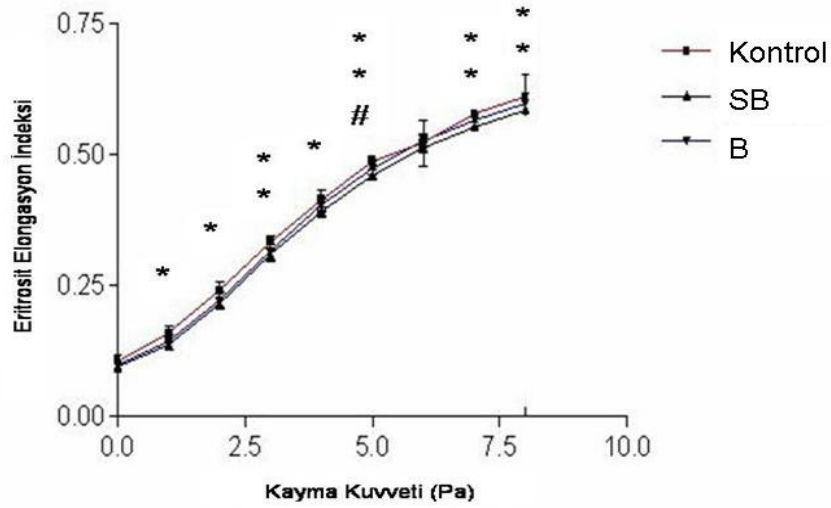


Şekil 4.1.: Farklı kayma kuvvetlerinde, 1 ay, günde 2.5 saatlik manyetik alan maruziyetinin, eritrosit elongasyon indeksi değerleri üzerine etkisi, Ort.±S.S.

* : SA grubunun kontrolden farkı, $p < 0.05$

: A grubunun kontrolden farkı, $p < 0.05$

Bu çalışmada, 1 aylık maruziyette, A grubunda 16,87 ve 30 Pa kayma kuvvetlerinde, SA grubunda 3 Pa, 5,33 Pa, 9,49 Pa ve 16,87 Pa kayma kuvvetlerinde eritrosit deformabilitesinin kontrol grubuna göre, anlamlı biçimde azaldığı bulundu (Şekil 4.1.). Yine 1 aylık maruziyette, B grubunda 5,33 Pa kayma kuvvetinde, SB grubunda 0,53 Pa, 0,95 Pa, 1,69 Pa, 3 Pa, 5,33 Pa, 16,87 ve 30 Pa kayma kuvvetlerinde eritrosit deformabilitesinin kontrol grubuna göre, anlamlı biçimde azaldığı bulundu (Şekil 4.2.).

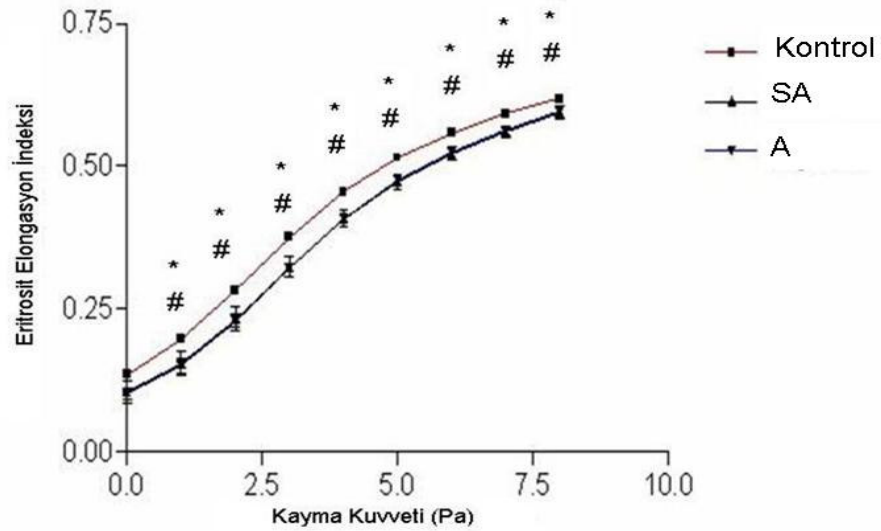


Şekil 4.2.: Farklı kayma kuvvetlerinde, 1 ay, günde 2.5 dakikalık manyetik alan maruziyetinin, eritrosit elongasyon indeksi değerleri üzerine etkisi, Ort. \pm S.S.

* : SB grubunun kontrolden farkı, $p < 0.05$

* : SB grubunun kontrolden farkı, $p < 0.01$

: B grubunun kontrolden farkı, $p < 0.05$



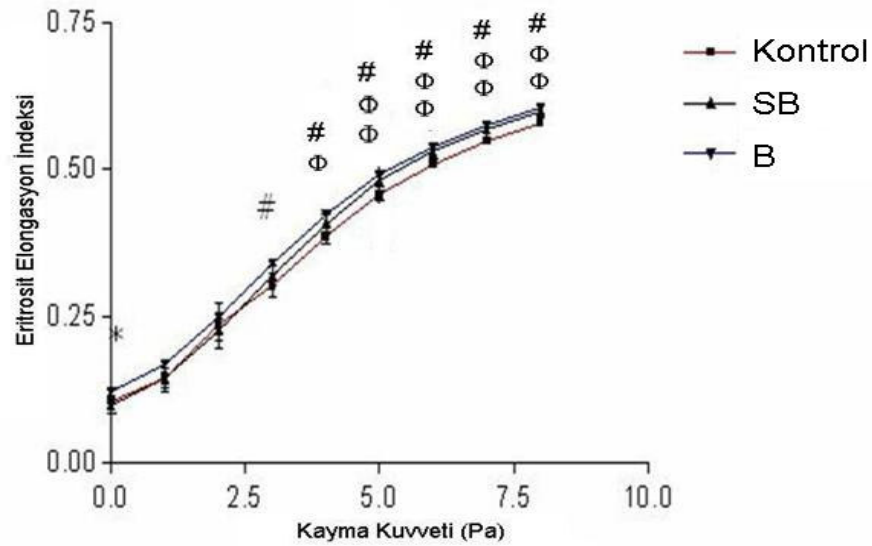
Şekil 4.3.: Farklı kayma kuvvetlerinde, 3 ay, günde 2.5 saatlik manyetik alan maruziyetinin, eritrosit elongasyon indeksi değerleri üzerine etkisi, Ort. \pm S.S.

* : SA grubunun Kontrol grubundan farkı, $p < 0.05$

: A grubunun Kontrol grubundan farkı, $p < 0.05$

3 aylık maruziyette uygulanan tüm kayma kuvvetlerinde eritrosit deformabilitesinin A ve SA gruplarında KA grubuna göre anlamlı biçimde azaldığı bulundu (Şekil 4.3.). Bunun yanında 0,30 Pa kayma kuvvetinde SB grubunun deformabilitesinin B grubuna göre azaldığı saptandı. Ayrıca 3 aylık maruziyette eritrosit deformabilitesinin, B grubunda 1,69 Pa, 3 Pa, 5,33 Pa, 9,49 Pa, 16,87 Pa ve 30 Pa kayma kuvvetlerinde; SB grubunda ise 3 Pa, 5,33 Pa, 9,49 Pa, 16,87 Pa ve 30 Pa kayma kuvvetlerinde KB grubuna göre, anlamlı biçimde arttığı bulundu (Şekil 4.4.).

1 ve 3 aylık maruziyette tüm grupların Ort.±S.S değerleri Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.4.: Farklı kayma kuvvetlerinde, 3 ay, günde 2.5 dakikalık manyetik alan maruziyetinin, eritrosit elongasyon indeksi değerleri üzerine etkisi, Ort.±S.S.

* : SB grubunun B grubundan farkı, $p < 0.05$

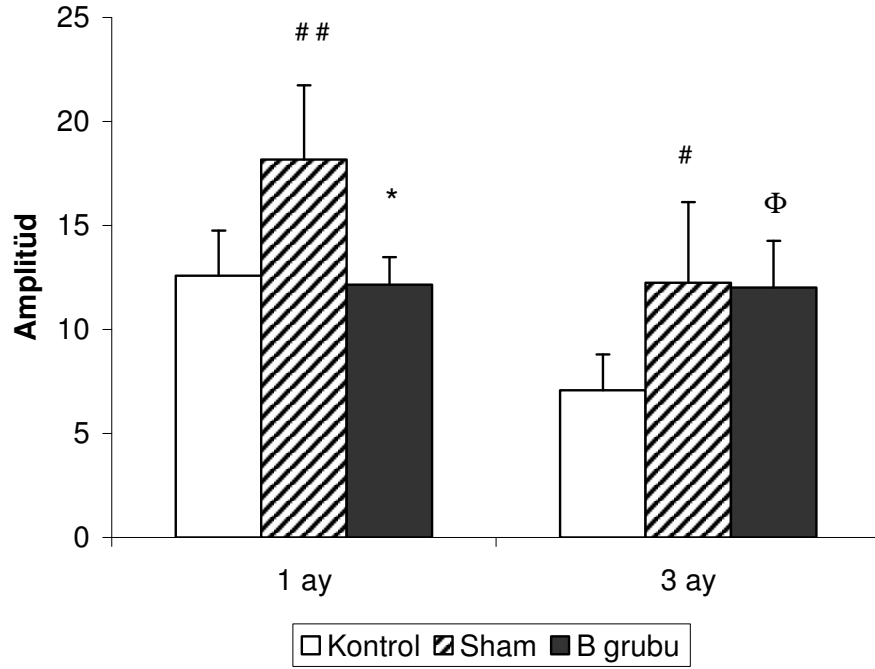
: B grubunun kontrolden farkı, $p < 0.01$

Φ: SB grubunun kontrolden farkı, $p < 0.05$

Φ : SB grubunun kontrolden farkı, $p < 0.01$

4.1.2. ERİTROSİT AGREGASYONU:

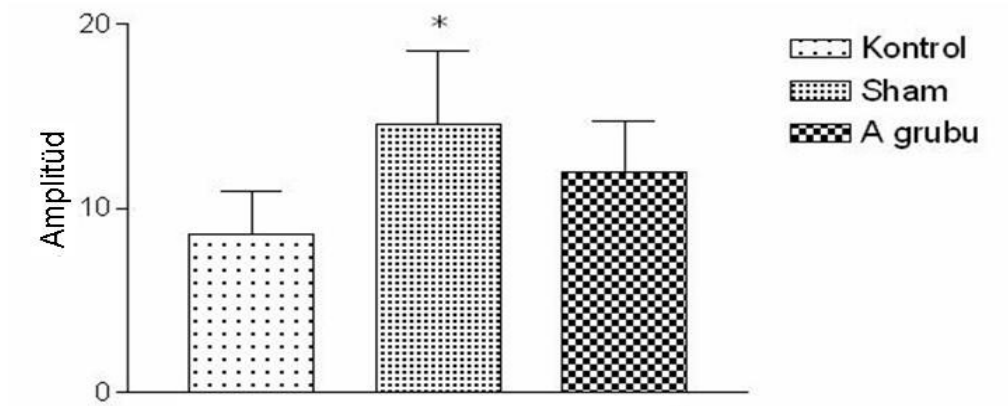
Bu çalışmada 1 aylık maruziyette, B grubunun eritrosit agregasyonunun SB grubuna göre anlamlı biçimde azaldığı ve SB grubunun eritrosit agregasyonunun kontrole göre anlamlı biçimde arttığı bulundu. Ayrıca 3 aylık gruplarda SB grubu ve B grubunda eritrosit agregasyonunun kontrole göre anlamlı oranda arttığı bulundu (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5.: 1 ve 3 ay, günde 2.5 dakikalık manyetik alan maruziyetinin, eritrosit agregasyonu üzerine etkisi, Ort.±S.S.

1 ay, *: B grubunun Sham grubundan farkı, $p<0.01$; ##: Sham grubunun kontrolden farkı, $p<0.01$

3 ay, Φ: B grubunun Kontrol grubundan farkı, $p<0.05$; #: Sham grubunun kontrolden farkı, $p<0.05$



Şekil 4.6.: 3 ay, günde 2.5 saatlik manyetik alan maruziyetinin eritrosit agregasyonu üzerine etkisi, Ort.±S.S.

*: Sham grubunun kontrol grubundan farkı, $p<0.05$

Bu çalışmada 3 aylık maruziyet grubunda, Sham grubunun agregasyonunun kontrole göre anlamlı biçimde arttığı (Şekil 4.6.), fakat diğer agregasyon parametreleri (AI ve t 1/2) üzerinde, manyetik alanın anlamlı bir etkinliği olmadığı bulundu. Manyetik alanın eritrosit agregasyonu üzerindeki anlamlı olmayan etkinliği, görsel veri olarak, metinde kullanılmadı.

4.2. ERİTROSİTTE Cu/Zn-SOD VE KATALAZ AKTİVİTELERİ:

Bu çalışmada, 1 aylık maruziyette SA ve A grubunun Cu/Zn-SOD aktivitesinin KA grubuna göre anlamlı biçimde arttığı saptandı (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3.: 1 ve 3 aylık A gruplarının Cu/Zn-SOD (U/gHb) değerleri, Ort.±S.S.

	Kontrol	Sham	A
1 ay	1806.36±387.30	3516.55±735.03*	3279.84±604.17*
3 ay	2997.24±374.55	3238.65±436.40	2964.39±659.44

*: Grupların Kontrol grubundan farkı, $p<0.05$

1 aylık maruziyette SB grubunun Cu/Zn-SOD aktivitesi, KB ve B grubuna göre anlamlı biçimde yüksek bulundu. 3 aylık maruziyette ise SB ve B gruplarında Cu/Zn-SOD aktivitesi KB grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulundu (Tablo 4.4.).

Tablo 4.4.: 1 ve 3 aylık B gruplarının Cu/Zn-SOD (U/gHb) değerleri, Ort.±S.S.

	Kontrol	Sham	B
1 ay	2019.09±501.66	3458.68±579.92*	2186.05±378.56
3 ay	3490.48±179.55	4054.12±209.40 [#]	3957.66±277.73 [#]

*:1 aylık maruziyette SB grubunun KB ve B grubundan farkı, p<0.05

[#]: 3 aylık maruziyette, grupların Kontrol grubundan farkı, p<0.05

Ayrıca A ve B grupları, Cu/Zn-SOD aktivitesi açısından, 1 ve 3 aylık maruziyet için karşılaştırıldığında, 1 aylık maruziyette A grubunun Cu/Zn-SOD aktivitesinin B grubuna göre anlamlı biçimde yüksek olduğu, 3 aylık maruziyette A grubunun aktivitesinin B grubuna göre anlamlı biçimde düşük olduğu bulundu. Bu sonuç görsel veri olarak kullanılmadı.

1 aylık maruziyette katalaz aktivitesi karşılaştırıldığında A ve SA grubunun katalaz aktivitesi KA grubuna göre; 3 aylık maruziyette ise SA grubunun katalaz aktivitesi KA ve A grubuna göre artmış bulundu (Tablo 4.5.).

1 aylık maruziyette SB ve B grubunun katalaz aktivitesinin KB grubuna göre anlamlı biçimde arttığı saptandı. Ayrıca 3 aylık maruziyette SB grubunun katalaz aktivitesinin B grubuna göre anlamlı biçimde arttığı bulundu (Tablo 4.6.).

Tablo 4.5. : 1 ve 3 aylık A gruplarının katalaz aktivitesi (CAT) (U/gHb) değerleri, Ort.±S.S.

	Kontrol	Sham	A
1 ay	257.31±83.20	407.38±93.81*	495.24±139.75*
3 ay	328.00±92.83	621.94±175.74#	269.34±56.92

*:1 aylık maruziyette, grupların Kontrol grubundan farkı, p<0.05

#: 3 aylık maruziyette SA grubunun KA ve A grubundan farkı, p<0.05

Tablo 4.6. : 1 ve 3 aylık B gruplarının CAT (U/gHb) değerleri, Ort.±S.S.

	Kontrol	Sham	B
1 ay	259.74±119.94	481.37±144.96*	538.10±70.98*
3 ay	443.86±118.85	539.44±140.96#	335.72±43.84

*:1 aylık maruziyette, grupların Kontrol grubundan farkı, p<0.05

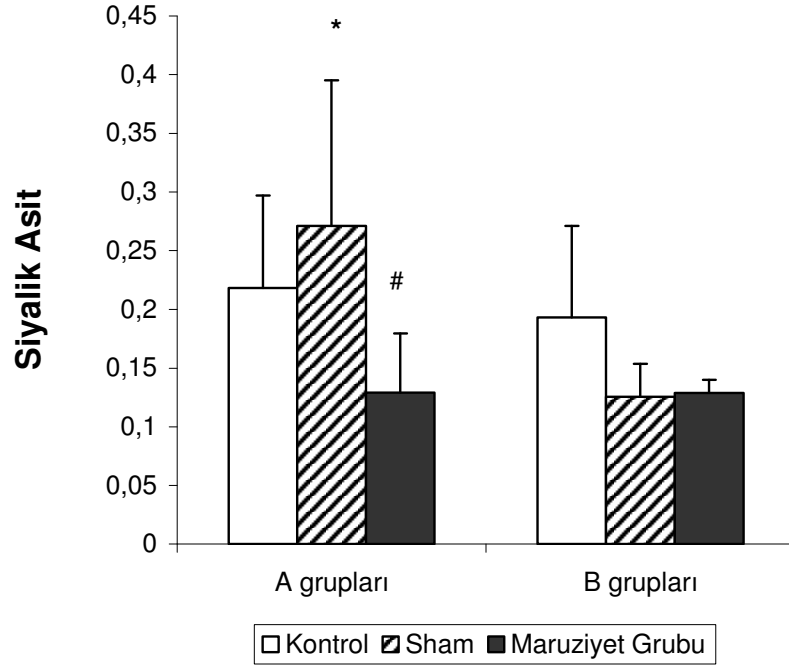
#: 3 aylık maruziyette SB grubunun B grubundan farkı, p<0.05

1 ve 3 aylık maruziyette, katalaz enzim aktivitesi bakımından, A ve B grupları arasındaki fark araştırıldı ve gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

4.3. ERİTROSİT MEMBRANINDA SİYALİK ASİT DÜZEYLERİ:

1 aylık protokol uygulanan gruplarda eritrosit membranı siyalik asit miktarı tayin edildi ve membran siyalik asit miktarı, SA grubunda, KA ve A

grubuna göre anlamlı biçimde yüksek bulundu (Şekil 3.7.). 3 aylık maruziyet gruplarında ise siyalik asit tayini yapılamadı.



Şekil 3.7.: 1 aylık manyetik alan maruziyetinde eritrosit membranı siyalik asit miktarları ($\mu\text{g}/\text{mg}$ protein), Ort. \pm S.S.

*: SA grubunun KA grubundan farkı, $p < 0,05$

: A grubunun KA grubundan farkı, $p < 0,05$.

4.4. PLAZMA VE ERİTROSİTTE ÇİNKO VE BAKIR DÜZEYLERİ:

Bu çalışmada uygulanan 1 ve 3 aylık maruziyette plazma çinko düzeyleri Tablo 4.7.'te gösterildi. Buna göre plazma çinko düzeyleri açısından gruplar arası bir fark bulunmadı.

1 aylık maruziyette B grubunun plazma bakır düzeyi, KB grubuna göre anlamlı biçimde yüksek ve SB grubuna göre anlamlı biçimde düşük bulundu. 3 aylık maruziyette plazma bakır düzeyinin, A grubunda, SA grubuna göre anlamlı biçimde arttığı saptandı (Tablo 4.8.).

Tablo 4.7.: 1 ve 3 aylık maruziyette plazma çinko düzeyleri (mg/L), Ort.±S.S.

	Kontrol(KA)	Sham(SA)	A	Kontrol(KB)	Sham(SB)	B
1 ay	10.28±2.99	10.20±2.31	13.05±8.27	10.39±6.23	8.88±3.54	11.28±2.83
3 ay	11.53±3.21	10.60±2.39	10.60±2.27	11.26±1.29	10.85±2.57	9.70±1.27

Tablo 4.8: 1 ve 3 aylık maruziyette plazma bakır düzeyleri (mg/L), Ort.±S.S.

	Kontrol(KA)	Sham(SA)	A	Kontrol(KB)	Sham(SB)	B
1 ay	3.82±1.01	4.70±1.85	2.48±0.88	2.93±0.61	6.41±2.99	3.73±0.69 ^{#*}
3 ay	3.02±1.01	2.30±0.68	4.35±1.79 ^Φ	3.49±0.74	1.91±0.64	3.53±1.10

*: 1 aylık maruziyette B grubunun KB grubundan farkı, p<0.05

#: 1 aylık maruziyette B grubunun SB grubundan farkı, p<0.05

Φ: 3 aylık maruziyette A grubunun SA grubundan farkı, p<0.05

1 aylık maruziyette B grubunda, eritrosit çinko düzeyi, KB ve SB gruplarına göre anlamlı biçimde düşük bulundu. Yine 1 aylık maruziyette eritrosit çinko düzeyi, A grubunda, KA ve SA gruplarına göre anlamlı biçimde düşük bulundu. 3 aylık maruziyette ise SA grubunun eritrosit çinko seviyesi, A ve KA grubundan anlamlı biçimde yüksek bulundu. 3 aylık B grubunun eritrosit çinko seviyesi, SB ve KB gruplarına göre anlamlı biçimde düşük bulundu (Tablo 4.9.).

Tablo 4.9.: 1 ve 3 aylık maruziyette eritrosit çinko düzeyleri (mg/L), Ort.±S.S.

	Kontrol(KA)	Sham(SA)	A	Kontrol(KB)	Sham(SB)	B
1 ay	6.61±1.32	6.20±0.92	4.63±0.10*	9.57±1.42	8.17±1.74	4.89±0.77 [#]
3 ay	3.84±0.20	4.63±0.45 ^Φ	3.73±0.50	4.55±0.59	4.50±0.73	3.41±0.10 [£]

*: 1 aylık maruziyette A grubunun KA ve SA grubundan farkı, p<0.05

[#]: 1 aylık maruziyette B grubunun KB ve SB grubundan farkı, p<0.05

^Φ: 3 aylık maruziyette SA grubunun KA ve A grubundan farkı, p<0.05

[£]: 3 aylık maruziyette B grubunun KB ve SB grubundan farkı, p<0.05

1 aylık maruziyette A grubunun eritrosit bakır düzeyi, SA ve KA gruplarına göre anlamlı biçimde düşük bulundu. Yine 1 aylık maruziyette, B grubunun eritrosit bakır düzeyi, SB ve KB gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulundu. 3 aylık maruziyette ise eritrosit bakır düzeyi, A grubunda SA ve KA grubundan anlamlı olarak düşük bulunurken, SA grubunda da KA grubundan anlamlı olarak düşük bulundu. Ayrıca 3 aylık maruziyette B

grubunun eritrosit bakır düzeyi, SB ve KB gruplarına göre anlamlı biçimde düşük; SB grubunda da KB grubuna göre anlamlı biçimde düşük bulundu (Tablo 4.10.).

Tablo 4.10.: 1 ve 3 aylık maruziyette eritrosit bakır düzeyleri (mg/L), Ort.±S.S.

	Kontrol(KA)	Sham(SA)	A	Kontrol(KB)	Sham(SB)	B
1 ay	0.71±0.29	0.61±0.09	0.28±0.07*	0.60±0.18	0.63±0.24	0.10±0.07#
3 ay	0.91±0.11	0.63±0.10 [£]	0.05±0.03 ^Φ	0.89±0.24	0.27±0.09 ^Ω	0.10±0.07 [¥]

*: 1 aylık maruziyette A grubunun KA ve SA grubundan farkı, p<0.05
#: 1 aylık maruziyette B grubunun KB ve SB grubundan farkı, p<0.05
Φ: 3 aylık maruziyette A grubunun SA ve KA grubundan farkı, p<0.05
£: 3 aylık maruziyette SA grubunun KA grubundan farkı, p<0.05
¥: B grubunun SB ve KB grubundan farkı, p<0.05
Ω: SB grubunun KB grubundan farkı, p<0.05.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda 1 aylık manyetik alan maruziyetinin tüm sham ve deney gruplarında kontrole göre eritrosit deformabilitesini azalttığı bulunmuştur. 3 aylık gruplarda ise A ve SA gruplarında, eritrosit deformabilitesi kontrole göre azalmıştır. Bu azalma manyetik alanın eritrositlerde oksidan stres üzerindeki etkinliğine bağlı olabildiği gibi eritrosit eser element düzeylerinde oluşturabileceği değişikliklere de bağlı olabilir.

Bu çalışmada manyetik alana maruz bırakılan sıçanlardan elde edilen eritrosit örneklerinde, oksidan stres parametresi olarak SOD ve katalaz enzim aktivitelerine bakılmıştır. 1 aylık tüm gruplarda SOD aktivitesinin arttığı ve B grubu hariç tüm maruziyet gruplarında bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. 3 aylık maruziyet gruplarında SA ve A gruplarında kontrole göre SOD aktivitesinde anlamlı bir değişiklik bulunmazken; SB ve B gruplarında SOD aktivitesi anlamlı olarak artmıştır. Eritrosit katalaz aktivitesi 1 aylık maruziyette tüm gruplarda kontrole göre anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur. 3 aylık maruziyette ise SA ve SB gruplarında katalaz aktivitesi, diğer gruplara göre anlamlı biçimde artmış bulunmuştur. Bu çalışmadaki bulgularla uyumlu olarak, Yürekli ve ark.'nın yaptığı çalışmada, bizim çalışmamızdaki SAR değerinden daha yüksek bir değer olan, 11,3 mW/kg SAR değerinde manyetik alana maruz bırakılan sıçanların kan örneklerinde, SOD aktivitesinin arttığı buna karşılık malondialdehit (MDA) seviyesinin düştüğü gösterilmiştir (75). Ayrıca, İrmak ve ark.'nın yaptığı çalışmada EM alan maruziyeti, tavşan beyrinde bakılan oksidatif stres parametrelerinden SOD seviyesini arttırırken MDA, katalaz ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerinde bir değişikliğe yol açmadığı bildirilmiştir (61). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada ise bizim çalışmamızdaki bulguların aksine EM radyasyon maruziyetinin, renal dokuda, katalaz, SOD ve GSH-Px seviyelerinde anlamlı bir azalmaya sebep olurken MDA seviyelerinde kontrole göre anlamlı bir artışa yol açtığı gösterilmiştir (64). İnsanlarda yapılan bir başka çalışma da, bizim çalışmamıza benzer şekilde

sonuçlanmış, sağlıklı erkek gönüllülerde telefon açık durumda fakat çalmaz iken maruziyetten 1, 2, 4 saat sonra MDA'nın plazma seviyesinde, anlamlı bir artış bulunmuştur (76). Ayrıca, bu kişilerin eritrosit SOD ve GSH-Px aktivitesinde anlamlı bir azalma varken, katalaz seviyelerindeki azalmanın kontrole göre istatistiksel olarak anlamsız olduğu bulunmuştur. İnsanlardaki bu çalışmanın sonuçları, EM alana akut maruziyetin, oksidatif strese etki ederek lipid peroksidasyonunu arttırdığını, SOD ve GSH-Px aktivitesini azalttığını göstermiştir (76). Bizim çalışmamızda SOD ve katalaz enzimlerinin aktivitelerinde manyetik alan maruziyetiyle saptanan artış, oksidan stresteki artışa karşılık meydana gelen bir kompensasyon mekanizması olarak yorumlanabilir. Bu çalışmada oksidan stres durumunda oluşan son ürünlerin miktarı tespit edilmemiştir. Bunun için, ileriki çalışmalarda manyetik alan maruziyetinde, oksidan stres düzeyini saptamakta kullanılan MDA ve alanin gibi parametrelerin, bakılan parametrelere eklenmesi gerekecektir.

Eritrosit Zn seviyesi, A ve B gruplarındaki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere, 1 aylık tüm maruziyet gruplarında kontrole göre azalmış bulunmuştur. 3 aylık maruziyet gruplarında ise eritrosit Zn düzeyi, maruziyet gruplarında, SA grubu hariç, azalmış ve B grubundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bir aylık gruplarda deformabilitede saptanan azalma, eritrosit Zn seviyesindeki azalmayla da ilişkili olabilir. Eritrosit deformabilitesinin fizyolojik önemi; büyük damarlardaki viskoziteyi azaltmasıyla birlikte, eritrositin kendisinden daha küçük çaptaki kapiller damarlardan geçmesiyle, doku için yaşamsal önemi olan optimal oksijenin, dokuya sağlanmasını mümkün kılmasıdır (77). Eritrosit deformabilitesinin temel belirleyicileri; eritrositin (temelde hemoglobinin konsantrasyonu ile belirlenen) internal viskozitesi, hacim/yüzey oranı ayrıca membranın viskoelastik özellikleridir (77,78). Memelilerin plazma membranındaki çinkonun fizyolojik fonksiyonlarından biri de membranın viskoelastik özelliklerine katkıda bulunmaktır (77). Ağır çinko eksikliğinde, membran lipid tabakasındaki akışkanlık artışıyla birlikte, membran proteinlerinin ve hücre yüzeyindeki siyalik asit kalıntılarının hareketinde de bir artış saptanmıştır

(79). Çinko eksikliğinin spektrin yapı ve fonksiyonunda bazı değişiklikler oluşturabileceği ileri sürülmüştür. Bu değişikliklerin mekanizması, çinko eksikliğinde görülen spektrin ve aktin gibi bazı iskelet proteinlerinin defosforilasyonunun artışı olabilir (80). Normal membran iskeleti, eritrosit deformabilitesi için vazgeçilmez bir koşul olup; anormal iskelet proteinlerinin varlığında veya iskelet proteinlerinin yokluğunda deformabilite bozulmaktadır (77). Böylece çinko eksikliğinde görülen membran iskelet fonksiyonlarındaki bozukluk membranın viskoelastik özelliklerini değiştirerek deformabiliteyi etkileyebilir. Tüm bunlardan başka diyetle alınan çinko eksikliğinin eritrositlerde hipotonik hemolize yatkınlığını arttırdığı (77,81), SOD seviyesini azalttığı buna karşılık artmış oksidatif stresin göstergesi olan plazma TBARS ve alanin düzeyini arttırdığı ve bu artışın diyetset antioksidanlarla düzeldiği saptanmıştır (45). Dolayısıyla artmış oksidan stres Zn eksikliğinde oluşan bu etkilerin altında yatan mekanizmalardandır.

Bu çalışmada, 1 aylık maruziyet gruplarında, eritrosit Cu düzeyleri, SB grubu hariç, kontrole göre azalmıştır. Bu azalma A ve B gruplarında anlamlı düzeydedir. 3 aylık maruziyet gruplarında eritrosit bakır düzeyleri tüm maruziyet gruplarında, kontrole göre anlamlı biçimde azalmış bulunmuştur. Daha önce bakır eksikliğiyle ilgili olarak yapılmış bir çalışmada, eritrositin yaşam süresindeki azalma, bozulmuş mekanik özellikleri olan eritrositlerin, dalakta fagositozuyla ilişkilendirilmiştir (44). Johnson ve Kramer' in yaptığı bu çalışmaya göre Cu eksikliği membranda 170 KD ağırlığındaki membran iskelet proteininin miktarını arttırmıştır. Yazarlar 170 KD ağırlıklı bu proteindeki artışı eritrosit SOD aktivitesinde olası bir azalmayla, membranda proteinler arası çapraz bağ oluşumuna bağlamışlardır. Membran iskelet proteinleri eritrosit deformabilitesi ve eritrosit yaşam süresiyle doğrudan ilişkilili moleküllerdir (44). Yapılan başka bir çalışmada Cu eksikliğinde artan eritrosit viskozitesinin eritrosit deformabilitesini azalttığı gösterilmiştir (82). Cu eksikliğinin oluşturduğu viskozite artışının mekanizması řu şekilde açıklanmıştır: Bakır eksikliğinde eritrosit SOD ve plazma lesitin-kolesterol açıl transferaz enzimlerinin seviyesi azalır. Bu sebeple hem membran lipitlerinin

peroksidasyonu hem de eritrosit kolesterol ve fosfolipit seviyesi artar. Tüm bu olaylar eritrosit deformabilitesinin azalmasına ve viskozitesinin artışına sebep olabilir (82).

Bu bilgilere göre maruziyet gruplarında eritrosit deformabilitesindeki azalma Zn eksikliği olduğu kadar bakır eksikliğine de bağlanabilir. Oysa SB ve B gruplarında yine eritrosit Cu düzeyi azalmış olmasına rağmen 3 aylık maruziyette eritrosit deformabilitesi kontrol grubuna göre artmış bulunmuştur. Manyetik alan maruziyetinde gözlemlenen, birbiriyle çelişkili sonuçlar için ileri sürülen teori "aktivasyon-inhibisyon teorisi"dir (58). Bu teoriye göre manyetik alan, etkinliğini, bir parametreyi arttırmak ya da azaltmak şeklinde gerçekleştirmez. Manyetik alan, etkinliği düzenlemek şeklinde bir yol izler. Manyetik alan, canlı organizmada uygulandığı süreçte, homeostazisi korumak için aktivasyon ya da inhibisyon olaylarından hangisi gerekiyorsa etkisini onu seçerek yapar (58). Manyetik alanla ilgili yapılmış çalışmalar, biyolojik sistemler için her zaman böyle düzenleyici bir etkinlikten söz edilemeyeceğini de ortaya koymaktadır (13,84).

Çalışmamızda EM alana maruz bırakılan gruplarda plazma eser element düzeyleri, maruziyet gruplarında 3 aylık A grubu ve 1 aylık SB grubu dışında anlamlı düzeyde değişiklik göstermemiştir. Eritrosit eser element düzeylerinde görülen azalmaya karşılık plazmada bu düzeyde bir değişikliğin görülmemesi; eser elementlerin ekstraselüler sıvıdan intraselüler sıvıya transportundaki bir azalma veya hücre içi kullanımında bir artış sonucu olabilir. Bu durumu açıklayabilmek için daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Agregasyon parametrelerinden amplitüdün, 1 aylık protokolde SB grubunda kontrole göre anlamlı biçimde arttığı, 3 aylık protokolde ise SB ve B gruplarında ayrıca SA gruplarında kontrole göre anlamlı biçimde arttığı görülmüştür. Normal koşullarda kan akımı, doku perfüzyonunu sağlamak için gerekli olan disagregasyonu sağlar. Eksternal olarak oksidanlara maruz

kalan eritrositlerin (xanthine oxidase–hypoxanthine system tarafından) kayma kuvvetlerin indüklediği disagregasyona daha dirençli hale geldiği bildirilmiştir (11). Bizim bulgularımızda AMP parametresinde gözlenen artış manyetik alanın etkisiyle oluşan artmış oksidan strese bağlanabilir. Yine Zn'nun eritrositlerde agregasyonu azalttığı bildirilmiştir (83). Bu çalışmada, manyetik alana maruz kalan gruplarda eritrosit Zn seviyesindeki azalma agregasyon artışıyla uyumlu bir bulgudur. Ayrıca bu çalışmadaki bir diğer bulgu 1 aylık maruziyette siyalik asit miktarında A grubunda anlamlı, B ve SB gruplarında anlamlı olmayan azalmadır. Eritrositin negatif yüzey yüküne sebep olan başlıca moleküller membrandaki siyalik asit molekülleridir (38). Daha önce manyetik alanın siyalik asit molekülleri üzerine etkinliğiyle ilgili yapılmış bir çalışmada, kültüre edilmiş insan deri fibroblast hücreleri, 0.2 T statik manyetik alana maruz bırakılmış ve elektron mikroskopunda incelendiğinde, siyalik asit kalıntılarının ekspresyonunda anlamlı bir azalma saptanmıştır (56). Eritrosit membranının negatif yüzey yükü eritrositlerin agregasyonunu etkilediğinden, bizim çalışmamızda manyetik alanın membran siyalik asit miktarında oluşturduğu azalma, negatif yükü azaltıp agregasyon eğilimini arttırmış olabilir (11,39).

Bu çalışmayla birlikte, mevcut bulgularla, cep telefonları gibi manyetik alan kaynaklarının insan vücudundaki etkinliği hala kesinlik kazanmamıştır. Bu alanda yapılan çalışmalar, giderek artarak sürececek gibi görünmektedir.

6. SONUÇLAR

1. Bu çalışmada, cep telefonundan kaynaklanan manyetik alanın, 1 aylık maruziyetle eritrosit deformabilitesini azalttığı, 3 aylık maruziyetle arttırdığı ayrıca maruziyetle eritrosit agregasyonunu arttırdığı görülmüştür. Manyetik alanın bu etkileri, bu çalışmada maruziyetle birlikte eritrosit eser element düzeyinin azalmasına, oksidan stresin artmasına ve eritrosit membranındaki siyalik asit düzeyinin azalmasına bağlanmıştır.
2. Bu çalışmada değerlendirilen bazı parametrelerin sonuçları, farklı deney gruplarında birbiriyle çelişkili gibi görünmekle birlikte, literatürde de manyetik alanla ilgili yapılan çalışmalar, çok geniş spektrumda, bazen de birbiriyle tutarsız sonuçlar vermiştir. Bunun sebebi uygulanan manyetik alanın frekans, süre gibi farklı parametreler açısından değişiklik göstermesi olabildiği gibi; “manyetik alanın etkinliğini bir parametreyi arttırmak ya da azaltmak şeklinde değil homeostazisi korumak amacıyla gerekli olan değişikliğe yol açtığı” şeklinde açıklanabilecek olan aktivasyon-inhibisyon teorisi olabilir.
3. Bu çalışmanın sonuçları ve literatür bulguları birlikte değerlendirildiğinde, cep telefonuna maruz kalan insanların, zararı hakkında kesin olarak kabul edilmiş bir veri olmamasına rağmen temkinli olmaları önerilebilir. Bu konuda alınacak önlem, maruziyet süresinin azaltılması ya da maruziyet mesafesinin uzatılmasını sağlayan hopperlörle konuşmanın tercih edilmesi olabilir.

MANYETİK ALANIN SIÇANLARIN HEMOREOLOJİK PARAMETRELERİ VE KANDAKİ ESER ELEMENT DÜZEYLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

GÜLTEN ERKEN

Cep telefonlarına maruz kalan birey sayısı her geçen gün artmakla beraber manyetik alanın insan sağlığına olan etkisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışma, dokuların oksijenizasyonu için esansiyel olan eritrosit deformabilitesi ayrıca bazı patolojik durumlarda arttığı saptanan eritrosit agregasyonuna, manyetik alanın etkisini ve bu etkinliğin ortaya çıkmasını sağlayan mekanizmaları araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Bu çalışmada erkek sıçanlar, cep telefonundan kaynaklanan 1800 MHz frekanslı manyetik alana, 1 ay ve 3 ay olmak üzere iki farklı süreyle; bu sürelerin her birinde iki farklı şekilde, telefon “açık fakat çalmazken” ve “çalarken”, maruz bırakıldı. Manyetik alan maruziyeti 1 aylık sürede, tüm maruziyet gruplarında eritrosit deformabilitesi ve agregasyonunu azaltırken, 3 aylık sürede, çalar durumdaki telefonla manyetik alana maruz kalan grupta eritrosit deformabilitesini arttırdı. Manyetik alanın oksidan stres üzerindeki etkinliği araştırıldığında, eritrosit SOD ve Katalaz enzimlerinin aktivitelerinin arttığı saptandı. Plazmada ölçülen eser element düzeylerinde anlamlı değişikliğe rastlanmazken, eritrosit eser element düzeylerinin maruziyetle azaldığı saptandı. Ayrıca 1 aylık maruziyette, cep telefonu açık fakat çalmazken, manyetik alana maruz kalan grupta, siyalik asit seviyelerinde düşme belirlendi.

Bu çalışmanın sonucunda; manyetik alanın, eritrosit eser element düzeylerini düşürdüğü, eritrositte oksidan stres düzeyini arttırdığı, buna karşılık bu artışın antioksidan enzim aktivitesindeki artışla kompanse edildiği; ek olarak eritrosit membranı siyalik asit miktarını bazı durumlarda azalttığı bulunmuştur. Manyetik alanın eritrosit üzerinde oluşturduğu etkilerin hemoreolojik parametrelerden eritrosit deformabilitesi ve agregasyonunu çoğunlukla bozduğu, fakat uygulama süresine bağlı olarak düzeltildiği de saptanmıştır.

EFFECTS OF MAGNETIC FIELD ON HEMORHEOLOGICAL PARAMETERS AND LEVEL OF BLOOD TRACE ELEMENTS IN RATS

GÜLTEN ERKEN

Although the number of the people who are exposed to mobile phones have increased, the effects of mobile phones on public health is not totally identified. The aim of this study is investigating the effects of magnetic field on erythrocyte deformability which is essential for tissues oxigenation, erythrocyte aggregation which increases in some pathological cases and underlying the mechanisms of these possible alterations.

In the current study, male rats were exposed to mobile phones with a magnetic field of 1800 MHz frequency for two different time periods (1 and 3 months). Two different protocols were applied for each time period: Mobile phones were in stand by position but not ringing in the first one and ringing in the second. The effects of magnetic field on oxidant stres and trace elements levels were also investigated to highlight the mechanism of these hemoreological alterations. An increase in the activity of erythrocyte SOD and Catalase enzyme was observed. Although no significant alterations in plasma trace elements levels were found there was a decline in erythrocyte trace elements levels. In addition, decline in sialic acid levels were observed in the group which were exposed to mobile phones in stand by position for 1 month.

It can be concluded that the effect of magnetic field on erythrocyte is usually impairing erythrocyte deformability and aggregation. Application period play a very important role on this effect. In conclusion this study shows that exposure to magnetic field reduces the level of erythrocyte trace elements and increases the level of erythrocyte oxidant stress. This increase compensated by the augmentation in the activity of antioxidant enzymes, on the other hand erythrocyte membrane sialic acid amount is reduced.

KAYNAKLAR

1. Çınar K. Elektromanyetik alan. Bilim ve Teknik Dergisi 2006; 465:80-81.
2. Bold A, Toros H, Şen O. Manyetik alanın insan sağlığı üzerindeki etkisi.
<http://www.sismikaktivite.org/makaleler/documents/manyetikalanetkisi.asp> adresinden 01.12.2007 tarihinde ulaşılmıştır.
3. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood Rheology and Hemodynamics. Semin Thromb Hemost 2003; 29:435-450.
4. Chien S. Red cell deformability and its relevance to blood flow. Annu Rev Physiol 1987; 49:177-192.
5. Bor-Kucukatay M, Turgut S, Emmungil G, Turgut G, Kucukatay V. Increased deformability of red blood cells is associated with a deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene. Tohoku J Exp Med 2006; 208(2):147-155.
6. Shiga T, Maeda N, Kon K. Erythrocyte rheology. Crit Rev Oncol Hematol 1990; 10(1):9-48.
7. Stoltz JF. Hemorheology: Pathophysiological significance. Acta Medica Portuguesa 1985; 6:4-13.
8. Neu B, Meiselman HJ. Depletion-Mediated Red Blood Cell Aggregation in Polymer Solutions. Biophysical Journal 2002; 83:2482-2490.
9. Ali FM, Mohamed WS, Mostafa MR. Effect of 50 Hz, 0.2 mT magnetic fields on RBC properties and heart functions of albino rats.

Bioelectromagnetics 2003; 24:535-545.

10. Dachà M, Accorsi A, Pierotti C, Vetrano F, Mantovani R, Guidi G, Conti R, Nicolini P. Studies on the possible biological effects of 50 Hz electric and/or magnetic fields: evaluation of some glycolytic enzymes, glycolytic flux, energy and oxido-reductive potentials in human erythrocytes exposed in vitro to power frequency fields. Bioelectromagnetics 1993; 14(4):383-391.
11. Baskurt OK, Temiz A, Meiselman HJ. Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties. Free Radic Biol Med 1998; 24(1):102-110.
12. Srour MA, Bilto YY, Juma M, Irhimeh MR. Exposure of human erythrocytes to oxygen radicals causes loss of deformability, increased osmotic fragility, lipid peroxidation and protein degradation. Clinical Hemorheology and Microcirculation 2000; 23:3–21.
13. <http://www.who.int/peh-emf/about/WhatisEMF/en/> adresinden 23.07.2007 tarihinde ulaşılmıştır.
14. http://www.biltek.tubitak.gov.tr/merak_ettikleriniz/index.php?kategori_id=4&soru_id=2621 adresinden 23.07.2007 tarihinde ulaşılmıştır.
15. Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M, Akyol O, Ozen S. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. Clin Chim Acta 2004; 340:153-162.
16. Hocking B, Westerman R. Neurological effects of radiofrequency radiation. Occup Med 2003; 53:123-127.
17. Westerman R, Hocking B. Diseases of modern living: neurological changes associated with mobile phones and radiofrequency radiation

in humans. *Neuroscience Letters* 2004; 361:13-16.

18. Salford LG, Brun AE, Eberhardt JL, Malmgren L, Persson BR. Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones. *Environ Health Perspect* 2003; 111:881-883.
19. Hogan MV, Wieraszko A. An increase in cAMP concentration in mouse hippocampal slices exposed to low-frequency and pulsed magnetic fields. *Neurosci Lett* 2004; 366:43-47.
20. Hossmann KA, Hermann DM. Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system. *Bioelectromagnetics* 2003; 24:49-62.
21. Jauchem JR. Exposure to extremely-low-frequency electromagnetic fields and radiofrequency radiation: cardiovascular effects in humans. *Int Arch Occup Environ Health* 1997; 70:9-21.
22. Ahlbom A, Green A, Kheifets L, Savitz D, Swerdlow A; ICNIRP (International Commission for Non-Ionizing Radiation Protection) Standing Committee on Epidemiology. Epidemiology of health effects of radiofrequency exposure. *Environ Health Perspect* 2004; 112:1741-1754.
23. Nakamura H, Matsuzaki I, Hatta K, Nobukuni Y, Kambayashi Y, Ogino K. Nonthermal effects of mobile-phone frequency microwaves on uteroplacental functions in pregnant rats. *Reprod Toxicol* 2003; 17(3):321-326.
24. Levy MN. Dolaşımın dinamiği. In: Berne MR, Levy MN, Koepfen BM, Stanton BA , eds. *Fizyoloji*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 2008:341-354.
25. Çeviren: Çalışkan S. Dolaşım sistemi:Basınç, akım ve direncin tıbbi fiziği. In: Guyton AC, Hall CE, ed. *Tıbbi Fizyoloji*. İstanbul: Nobel Tıp

Kitabevi, 2001:144-151.

26. Çevirenler: Dane Ş, Akar S, Gül M. Kan ve lenf akımının dinamiği. In: Ganong WF, ed. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002:560-565.
27. Popel AS, Johnson PC. Microcirculation and hemorheology. Annual Review of Fluid Mechanics 2005;37:43-69.
28. Onat T, Emerk K. Temel Biyokimya. İzmir: Saray Kitap Evi, 1996:873-881.
29. Çeviren: Yıldırım G. Alyuvarlar, anemi ve polisitemi. In: Guyton AC, Hall CE, ed. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001:382-391.
30. Mohandas N, Evans E. Mechanical Properties of the Red Cell Membrane in Relation to Molecular Structure and Genetic Defects. Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure 1994; 23:787-818.
31. http://media.wiley.com/product_data/excerpt/30/35273046/3527304630.pdf adresinden 13.07.2007 tarihinde ulaşılmıştır.
32. Pinder JC, Pekrun A, Maggs AM, Brain APR, Gratzer WB. Association State of Human Red Blood Cell Band 3 and its Interaction With Ankyrin. Blood 1995; 85:2951-2961.
33. Baskurt OK, Yalcin O, Meiselman HJ. Hemorheology and vascular control mechanisms. Clinical Hemorheology and Microcirculation 2004; 30:169-178.
34. Yedgar S, Hovav T, Barshtein G. Red blood cell intercellular interactions in oxidative stress states. Clinical Hemorheology and

Microcirculation 1999; 21:189–193.

35. Çevirenler: Ayyıldız M, Açar E. Vücutta dolaşan sıvılar. In: Ganong WF, ed. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002:515.
36. Discher DE. New insights into erythrocyte membrane organization and microelasticity. *Current Opinion in Hematology* 2000; 7:117–122.
37. Mohandas N, Shohet SB. The role of membrane-associated enzymes in regulation of erythrocyte shape and deformability. *Clin Haematol* 1981; 10(1):223-237.
38. Hadengue AL, Del-Pino M, Simon A, Levenson J. Erythrocyte Disaggregation Shear Stress, Sialic Acid, and Cell Aging in Humans. *Hypertension* 1998; 32:324-330.
39. Jan KM, Chien S. Role of Surface Electric Charge in Red Blood Cell Interactions. *The Journal of General Physiology* 1973; 6:638-654.
40. Baskurt OK. Pathophysiological significance of blood rheology. *Turk J Med Sci* 2003; 33:347-355.
41. Meiselman HJ. Hemorheologic alterations in hypertension: chicken or egg? *Clin Hemorheol Microcirc* 1999; 21:195-200.
42. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry Cell Biology* 2007; 39: 44-84.
43. Fraga CG. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine* 2005; 26:235–244.

44. Johnson WT, Kramer TR. Effect of Copper Deficiency on Erythrocyte Membrane Proteins of Rats. *J Nutr* 1987; 117:1085-1090.
45. Kraus A, Roth HP, Kirchgessner M. Supplementation with Vitamin C, Vitamin E or β -Carotene Influences Osmotic Fragility and Oxidative Damage of Erythrocytes of Zinc-Deficient Rats. *J Nutr* 1997; 127:1290–1296.
46. O'Dell BL. Role of Zinc in Plasma Membrane Function. *J Nutr* 2000; 130:1432-1436.
47. Powell SR. The Antioxidant Properties of Zinc. *J Nutr* 2000; 130:1447-1454.
48. Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radic Biol Med* 1990; 8:281-291.
49. Kayar E, Mat F, Meiselman HJ, Baskurt OK. Red blood cell rheological alterations in a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Biorheology* 2001; 38:405-414.
50. Chiu D, Kuypers F, Lubin B. Lipid peroxidation in human red cells. *Semin Hematol* 1989; 26(4):257-276.
51. McKenney J, Valeri CR, Mohandas N, Fortier N, Giorgio A, Snyder LM. Decreased in vivo survival of hydrogen peroxide-damaged baboon red blood cells. *Blood* 1990; 76:206-211.
52. Snyder LM, Fortier NL, Trainor J, Jacobs J, Leb L, Lubin B, Chiu D, Shohet S, Mohandas NJ. Effect of hydrogen peroxide exposure on normal human erythrocyte deformability, morphology, surface characteristics, and spectrin-hemoglobin cross-linking. *Clin Invest* 1985; 76:1971-1977.

53. Traving C, Schauer R. Sialic acid: Structure, function and metabolism. *Cell Mol Life Sci* 1998; 54:1330-1349.
54. Wongkham S, Bhudhisawasdi V, Chau-in S, Boonla C, Muisuk K, Kongkham S, Wongkham C, Boonsiri P, Thuwajit P. Clinical significance of serum total sialic acid in colangiocarcinoma. *Clin Chim Acta* 2003; 327:139-147.
55. Uslu E, Belce Aseymen P, Kökoğlu E. Effect of metastasis in colorectal cancer on serum total sialic acid levels. *Cerrahpaşa J Med* 2000; 31:231-234.
56. Pacini S, Gulisano M, Peruzzi B, Sgambati E, Gheri G, Gheri Bryk S, Vannucchi S, Polli G, Ruggiero M. Effects of 0.2 T static magnetic field on human skin fibroblasts. *Cancer Detect Prev* 2003; 27(5):327-332.
57. Kanbak G, Özdemir F, Caliskan F, Sahin F, İnal M. Betaine prevents loss of sialic acid residues and peroxidative injury of erythrocyte membrane in ethanol-given rats. *Cell Biochem Funct* 2007; 25:103–108.
58. McCay JC, Prato FS, Thomas AW. A literature review: The effects of magnetic field exposure on blood flow and blood vessels in the microvasculature. *Bioelectromagnetics* 2007; 28:81-98.
59. Oktem F, Ozguner F, Mollaoğlu H, Koyu A, Uz E. Oxidative Damage in the Kidney Induced by 900-MHz-Emitted Mobile Phone: Protection by Melatonin. *Archives of Medical Research* 2005; 36:350–355.
60. Regoli F, Gorbi S, Machella N, Tedesco S, Benedetti M, Bocchetti R, Notti A, Fattorini D, Piva F, Principato G. Pro-oxidant effects of extremely low frequency electromagnetic fields in the land snail *Helix*

aspersa. *Free Radic Biol Med* 2005; 39:1620-1628.

61. Irmak MK, Fadıllıoğlu E, Güleç M, Erdoğan H, Yağmurca M, Akyol Ö. Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits. *Cell Biochem Funct* 2002; 20: 279–283.
62. Peyman A, Rezazadeh AA, Gabriel C. Changes in the dielectric properties of rat tissue as a function of age at microwave frequencies. *Phys Med Biol* 2001; 46:1617-1629.
63. Gabriel C. Dielectric spectroscopy of biological materials: its role in dosimetry. In: Carlo GL, ed. *Wireless phones and health: Scitific progress*. Hingham, MA, USA: Kluwer Academic Publishers, 1998:33-45.
64. Schönborn F, Pokovic K , Kuster N. Dosimetric Analysis of the Carousel Setup for the Exposure of Rats at 1.62 GHz. *Bioelectromagnetics* 2004; 25:16-26
65. Dasdag S, Zulkuf Akdag M, Aksen F, Yilmaz F, Bashan M, Dasdag M, Çelik SM. Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats. *Urol Res* 1999; 27:219-223.
66. Başkurt OK, Meiselman HJ. Analyzing shear stress–elongation index curves: comparison of two approaches to simplify data presentation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004; 31:23–30.
67. Hardeman MR, Goedhart PT, Dobbe JGG, Lettinga KP. Laser assisted optical rotational cell analyzer (LORCA): a new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. *Clin Hemorheol Microcirc* 1994; 14:605-618.

68. Laser assisted optical rotational cell analyzer
<http://www.mechatronics.nl/products/download/lorca.pdf> adresinden
13.07.2007 tarihinde ulaşılmıştır.
69. Bilmen S. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz yetmezlikli ve normal bireylerin eritrosit ve plazmalarında lipid peroksidasyonu. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Antalya 1998.
70. Carreiras MM, Proverbio T, Proverbio F, Marín R. Preeclampsia and Na,K-ATPase activity of red blood cell ghosts from neonatal and maternal blood. *Biol Neonate* 2001; 79:5-8.
71. Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J Biol Chem* 1959; 234:1971-1975.
72. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-275.
73. Divrikli U, Horzum N, Soylak M, Elci L. Trace heavy metal contents of some spices and herbal plants from western Anatolia, Turkey. *International Journal of Food Science and Technology* 2006; 41:712–716
74. Mafra D, Silvia M, Cozzolino F. Erythrocyte zinc and carbonic anhydrase levels in nondialyzed chronic kidney disease patients. *Clinical Biochemistry* 2004;37:67– 71.
75. Yürekli Aİ, Özkan M, Kalkan T, Saybasılı H, Tuncel H, Atukeren P, Gumustas K, Seker S. GSM Base Station Electromagnetic Radiation and Oxidative Stress in Rats. *Electromagnetic Biology and Medicine* 2006;25:177–188.

76. Moustafa YM, Moustafa RM, Belacy A , Abou-El-Ela SH , Ali FM. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidase activities in human erythrocytes. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2001;26:605–608.
77. Robinson LJ, Card RT, Semple HA, Paterson PG. Erythrocyte deformability in zinc deficiency measured as a function of shear stress in the ektacytometer. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 1998;9:457-463.
78. Mohandas N, Chasis JA. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin Hematol* 1993;30:171-192.
79. Jay M, Stuart SM, McClain CJ, Palmieri DA, Butterfield DA. Alternations in lipid membrane fluidity and the physical state of cell-surface sialic acid in zinc-deficient rat erythrocyte ghosts. *Biochim Biophys Acta* 1987;897:507-511.
80. Paterson PG, Allen OB, Bettger WJ. Effect of Dietary Zinc Deficiency on the Endogenous Phosphorylation and Dephosphorylation of Rat Erythrocyte Membrane. *J Nutr* 1987;117:2096-2105.
81. Xia J, Browning JD, O'Dell BL. Decreased plasma membrane thiol concentration is associated with increased osmotic fragility of erythrocytes in zinc-deficient rats. *J Nutr* 1999;129:814-819.
82. Jain SK, Williams DM. Copper deficiency anemia: altered red blood cell lipids and viscosity in rats. *Am J Clin Nutr* 1988;48:637-640.
83. Brun JF. Hormones, metabolism and body composition as major

determinants of blood rheology: potential pathophysiological meaning.
Clin Hemorheol Microcirc 2002;26:63-79.

84. Hyland GJ. Physics and biology of mobile telephone. The Lancet
2000;356:1833-1836.