

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**CEP TELEFONLARINDAN YAYILAN 900 MHZ
ELEKTROMANYETİK ALANIN RAT İMMÜN SİSTEMİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. İlker PAKBAŞ

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ali K. ADİLOĞLU**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 1567-TU-07
proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA –2008

KABUL VE ONAY

Tıp Fakültesi Dekanlığına

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Uzmanlık Tez Savunma Tarihi: 24/04/2008

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ali Kudret ADILOĞLU S.D.Ü. Tıp Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Buket Cicioğlu ARIDOĞAN S.D.Ü. Tıp Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Mustafa DEMİRCİ S.D.Ü. Tıp Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Selçuk Kaya S.D.Ü. Tıp Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Ahmet KOYU S.D.Ü. Tıp Fakültesi

ONAY: Bu uzmanlık tezi, Fakülte Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim Kurulu Kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR
Dekan

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimi süresince bana yakın ilgi ve desteklerini esirgemeyen yol gösteren değerli hocalarım Anabilimdalı Başkanımız Sayın Doç. Dr. Buket Cicioğlu Arıdoğan'a, tez çalışmalarımı yöneten danışman hocam Doç. Dr. Ali Kudret Adiloğlu'na, Doç. Dr. Mustafa Demirci'ye, Doç. Dr. Selçuk Kaya ve Yrd. Doç. Dr. Emel Sesli Çetin'e verdikleri eğitim ve emek için teşekkür ederim.

Bu çalışmanın deney aşamasının yapılmasına imkan sağlayan Fizyoloji AD.'na ve deney düzeneği ile ilgili desteklerinden dolayı Mühendislik - Mimarlık Fakültesi Elektronik ve Haberleşme Müh. Bölümü Telekomünikasyon Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Selçuk Çömlekçi'ye teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım değerli asistan ve teknisyen arkadaşlarıma içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Radyasyon	2
2.1.1. Tanımlar	2
2.1.2. Radyasyonun Sınıflandırılması ve Elektromanyetik Yelpaze.....	3
2.1.3. Elektromanyetik Radyasyonun Canlılar Üzerindeki Etkileri:.....	4
2.1.4. Radyo Dalgaları (RF: 10^4 – 10^9 Hz) ve Mikro Dalgalara (MW: 10^8 – 10^{12} Hz) Maruz Bırakılan Deney Hayvanlarında (kobay, fare, tavşan, kedi, sıçan) Gözlenen Etkiler.....	5
2.1.5. Hücrel İletişim Sistemleri ve Baz İstasyonları	8
2.1.6. Standartlar ve Sınır Değerler.....	10
2.2. Bağışıklık Sistemi	12
2.2.1. Doğal Bağışıklık Sistemi.....	12
2.2.2. Edinsel Bağışıklık Sistemi	13
2.2.3. Bağışıklık Sistemi Organları – Lenfoid Organlar	13
2.2.3.1. Santral Lenfoid Organlar.....	13
2.2.3.2. Periferik Lenfoid Organlar	14
2.3. Lenfositler	14
2.3.1. B Lenfositler.....	15
2.3.2. T Lenfositler	15
2.3.2.1. Yardımcı T Lenfositler - $CD4^+$ T Lenfositler: T Helper Lenfositler (Th).....	20
2.3.2.2. Sitotoksik T Lenfositler (Tc) – $CD8^+$ T Lenfositler.....	22
2.3.3. Doğal Öldürücü Hücreler (Naturel Killer Hücreler, NK)	22
2.4. Sitokinler	23
2.4.1. İnterlökin 4 (IL–4).....	25

2.4.2. İnterlökin 10 (IL-10).....	25
2.4.3. İnterferon Gama (IFN- γ) (İmmün ya da Tip II İnterferon)	26
2.4.4. Tümör Nekrozis Faktör (TNF).....	26
2.5. Akım Sitometrisi (Flow Cytometry)	27
2.5.1. Akım Sitometrisi ile Hücrelerin Analizi	28
2.5.2. Akım Sitometrisi Analizi	29
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	30
3.1. Deney Düzenneği	30
3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması	31
3.3. Ratlardan Kan Alımı ve Serumun Ayrılması	32
3.4. Manuel Lökosit Sayımı	33
3.5. Akım Sitometrisi Analizi	33
3.6. Sitokin Tayini.....	34
3.7. İstatistiksel Değerlendirmeler	35
4. BULGULAR	36
4.1. 900 MHz EMA Grupları ile Kontrol Gruplarının Total Lökosit ve Lenfosit Alt Grup Yüzdelerinin Karşılaştırılması	37
4.2. 900 MHz EMA Grupları ile Kontrol Gruplarının IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ Değerlerinin Karşılaştırılması	38
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	39
6. ÖZET.....	44
7. SUMMARY	45
8. KAYNAKLAR	46

KISALTMALAR

CD	: Cluster of differentiation
DCS	: Digital Cellular System (1800 Mhz'de çalışan mobil sistem)
EMA	: Elektromanyetik alan
GSM	: Global System for Mobile Communications (mobil iletişim için küresel sistem)
HLA	: Human Leukocyte Antigen (İnsan lökosit antijeni)
Hz	: Hertz
ICAM-1	: Inter Cellular Adhesion Molecule-1 (Hücreler arası adezyon molekülü-1)
Ig	: İmmüoglobülin
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
LFA-1	: Lymphocyte Function Associated Antigen-1 (Lenfosit fonksiyonu ile ilgili antijen-1)
MHC	: Major Histokompabilite Kompleksi (Ana doku uygunluk kompleksi)
MHz	: Mega hertz
RF	: Radyofrekans
SAR	: Özgül soğurma hızı (specific absorption rate)
TCR	: T lenfosit hücre algacı
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör

ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ

Şekil 1: Elektromanyetik yelpaze (5).....	3
Şekil 2: Hücresel yapı (4).....	9
Şekil 3: Baz istasyonları ağı ve sabit ağ ile etkileşimi (4)	9
Şekil 4: Şematik olarak akım sitometrisi analizi (64).....	29
Şekil 5: Deney düzeneği.....	31
Tablo 1: Kontrolsüz etkilenme için sınır değerler (4).....	12
Tablo 2: Gruplara ait kanda total lökosit sayısı (mm^3), lenfosit grup ve alt gruplarının rölatif yüzdelerinin (%) median, minimum–maksimum ve p değerleri...	36
Tablo 3: Gruplara ait kanda sitokin düzeylerinin (pg/ml) median, minimum–maksimum ve p değerleri.....	37

1. GİRİŞ

Elektromanyetik alan (EMA) kaynaklarına, özellikle de cep telefonlarından yayılan radyofrekans (RF) dalgalarına bu cihazların kullanımının hızla yaygınlaşmasına paralel olarak giderek artan ölçüde maruz kalmaktayız. Bu dalgaların insan sağlığı üzerine zararlı etkilerinin olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır.

Son yıllarda cep telefonlarından yayılan radyasyonun yan etkileri üzerine yapılan çalışmalar hızla artmaya başlamış ve popüler araştırma konularından biri olmuştur.

Cep telefonlarından yayılan RF radyasyonun olası yan etkileri konusunda bir fikir birliği eksikliği vardır.

Bağışıklık sisteminin vücudumuzu enfeksiyon ve kansere karşı savunmada önemli rolü olmasına rağmen RF radyasyonun bağışıklık sistemi üzerine olası etkileri konusunda yapılan araştırmaların yetersiz olduğu görülmektedir.

Yayınlanmış olan çalışmaların çoğu, RF dalgalarının bağışıklık sistemine etkili olduğunu desteklememektedir. Bazı çalışmalar RF radyasyonun bağışıklık sisteminin bazı parametrelerine etkileri olduğunu göstermektedir (1, 68).

Mobil telefonların yaygın kullanımı ve elektromanyetik alan maruziyetinin karsinojenik etkileri ile ilgili raporlar RF radyasyonun bağışıklık sistemine olası toksisitesine olan ilgiyi arttırmıştır (2, 3). Kanser etiolojisinde en önemli yeri tutan bağışıklık sisteminin tam olarak çalışmamasının kanser hücrelerini yok etmede etkisiz kalacağı bilinmektedir. RF dalgalarının bağışıklık sisteminde yaratacağı olumsuz değişiklikler kansere de ön ayak olacaktır.

Cep telefonu kullanımının hemen bütün insanları ilgilendiren bir konu olduğunu; bağışıklık sistemine etkileri ile ilgili araştırmaların ve özellikle de in vivo çalışmaların yetersizliğini gördüğümüzden dolayı bu çalışmayı planladık.

Çalışmamızın amacı 900 MHz EMA'nın rat lenfosit alt gruplarında değişiklik yapıp yapmadığı, lenfositleri aktive edip etmediğini ve serum sitokin Th1 ve Th2 baskın yanıtına etkisini in vivo ve kontrollü olarak araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Radyasyon

Radyasyon (ışınım) genel anlamda enerjinin uzayda dalgalar ya da tanecikler (fotonlar) halinde yayılmasıdır. Isı, ışık ve radyo dalgaları günlük yaşamdan bildiğimiz ışıma yoluyla yayılma örnekleridir (4).

2.1.1. Tanımlar

Frekans:

Elektromanyetik dalgaların saniyede yaptığı salınım sayısına yani kendilerini tekrarlama sıklığına frekans denir.

Frekansın birimi Hertz (Hz)'dir. 1 Hz saniyede bir salınım; 1 kHz ya da kilohertz saniyede 1000 Hz; 1 MHz ya da megahertz saniyede bir milyon Hz; 1GHz ya da gigahertz saniyede bir milyar Hz ya da 10^9 Hz'dir (4).

Dalga Boyu:

Elektromanyetik dalgaların bir salınımda aldıkları yola dalga boyu denir. Dalga boyunun birimi mesafe birimleridir (4).

Anten:

Anten, elektrik sinyallerini (voltaj ve akım) elektromanyetik dalgalara ya da elektromanyetik dalgaları elektrik sinyallerine dönüştürmek için kullanılan araçtır(4).

SAR (Specific Absorption Rate), Özgül Soğurma Hızı:

Elektromanyetik enerjinin vücut dokuları tarafından soğurulma hızıdır. Birimi W/kg (Watt / kilogram)'dır. Bugüne dek yapılan araştırmalar insan vücudunun bir derecelik sıcaklık artışını düzenleyemediğini ve sorunlar yarattığını göstermektedir. İnsan vücudunda bir derece sıcaklık artışı için bir kilogram doku başına 4W güç soğurulması gerekmektedir. İnsanların genel yaşam alanlarında bu değerin 50'de biri olan 0,08 W/kg SAR sınır değeri olarak kabul edilmiştir (4).

Özgül soğurma hızının doğrudan ölçülmesi hemen hemen olanaksızdır. Bundan dolayı, sınır değerlerin belirlenmesinde kolay ölçülebilen ve/veya gözlemlenebilen parametreler kullanılmaktadır. Bu parametreler, elektrik alan şiddeti, manyetik alan şiddeti ve güç yoğunluğudur (4).

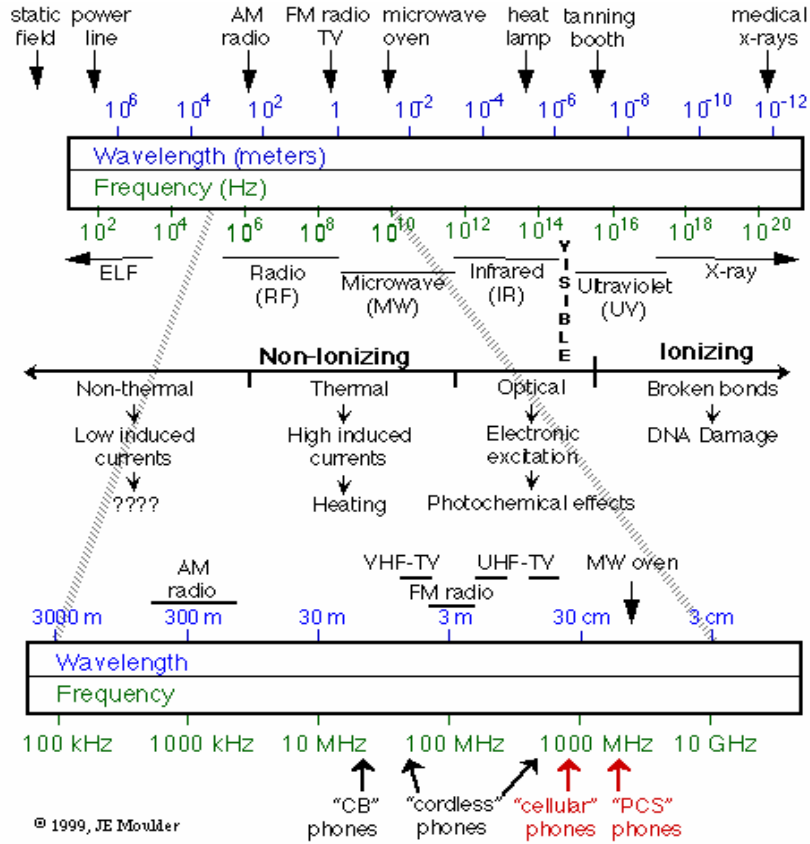
2.1.2. Radyasyonun Sınıflandırılması ve Elektromanyetik Yelpaze

Radyasyonun iki türü vardır. İyonlaştırıcı radyasyon ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon.

İyonlaşma atomlardan ve moleküllerden elektron koparılmasıdır.

Enerji yüklü fotonlardan oluşan elektromanyetik dalgalar, çarptıkları cisimlerden elektron kopararak iyonlaşmalarına yol açabilirler. Yüksek frekanslı ve dolayısıyla yüksek enerjili olan x ışınları ve gama ışınları iyonlaştırıcı radyasyonlardır (4).

Daha düşük frekanslı, bir başka deyişle düşük enerjili elektromanyetik dalgalar (RF gibi) ise iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak adlandırılırlar. Mobil iletişim sistemlerinin neden oldukları ışınm, iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgesi içinde yer almaktadır. İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgelerinin frekanslara göre dağılımı Şekil 1'deki "elektromanyetik yelpaze" üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 1: Elektromanyetik yelpaze (5).

Radyofrekans ve Mikrodalga Frekans Bandı:

3 kHz – 300 GHz arasındaki frekans bölgesi RF frekans bandı olarak tanımlanmıştır.

Mikrodalga frekans bandı, RF bandı içinde yer alıp birkaç yüz MHz'ten birkaç GHz'e kadar olan frekans bandını kapsar. Mikrodalga enerjinin en tanınmış ve en yaygın uygulaması 2450 MHz'de çalışan mikrodalga fırınlardır.

Türkiye'de kullanılan hücresel haberleşme sistemleri GSM900 ve DCS1800'dür.

GSM900'ün çalışma frekans bandı 880–960 MHz, DCS1800'ün frekans bandı ise 1710–1880 MHz'dir. Ayrıca, araç telefonlarında kullanılan NMT de hücresel bir haberleşme sistemidir ve çalışma frekansı 450 MHz'dir (4).

2.1.3. Elektromanyetik Radyasyonun Canlılar Üzerindeki Etkileri:

RF elektromanyetik dalgalarının foton enerjileri, atomları ve molekülleri iyonlaştıracak düzeyde değildir. Elektromanyetik radyasyonun göreceli olarak düşük frekanslı biçimleri olan görünen ışık, kızılötesi radyasyon ve RF dalgalar iyonlaştırıcı olmayan radyasyona örnektir.

Ortamdaki iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik dalgaların etkisinde kalma sonucunda canlılarda iki tür etki oluşabilir: Isıl etkiler ve ısıl olmayan etkiler.

Isıl etkiler, vücut tarafından yutulan elektromanyetik enerjinin ısıya dönüşmesi ve vücut sıcaklığını artırması olarak tanımlanır. Bu sıcaklık artışı, ısının kan dolaşımı ile atılarak dengelenmesine dek sürer. Cep telefonları gibi RF kaynaklarının sebep olabileceği sıcaklık artışı gerçekte çok düşüktür ve büyük olasılıkla vücudun normal mekanizmaları ile kolayca etkisizleştirilebilir. Cep telefonu ile beyinde oluşabilecek sıcaklık artışı ortalama 0,1 °C dolayındadır (4).

Isıl olmayan etkilere bağlı olarak RF dalgaların etkili olduğu iddia edilen bozukluk ve hastalıklar arasında beyin aktivitelerinde değişiklikler, uyku bozuklukları, dikkat bozuklukları, baş ağrıları bulunmaktadır. Ancak bu riskler çok yüksek deneysel dozlar ve sürelerde geçerli olabilir ve cep telefonları gibi kullanımlar için geçerli değildir.

Yüksek enerjili iyonlaştırıcı elektromanyetik dalgalar, DNA ve genetik malzemeyi kapsayan biyolojik dokuda hasara yol açabilen moleküler değişikliklere yol açabilirler.

Bu etkinin olabilmesi için dokunun x-ışınları ve gama ışınları gibi yüksek enerjili fotonlarla etkileşmesi gerekir (4).

2.1.4. Radyo Dalgaları (RF: 10^4 – 10^9 Hz) ve Mikro Dalgalara (MW: 10^8 – 10^{12} Hz) Maruz Bırakılan Deney Hayvanlarında (kobay, fare, tavşan, kedi, sıçan) Gözlenen Etkiler

Bilişim Toplumuna Giderken Elektromanyetik Kirlilik Etkileri Sempozyumu 1999 Açılış Konuşmaları bölümünde Prof. Dr. Nesrin Seyhan Atalay(Gazi Üniv. Tıp Fak. Biyofizik Abd. Başkanı) aşağıdaki bilgileri vermektedir.

Radyo Dalgaları (RF: 10^4 – 10^9 Hz) ve Mikro Dalgalara (MW: 10^8 – 10^{12} Hz) maruz bırakılan deney hayvanlarında (kobay, fare, tavşan, kedi, sıçan) gözlenen etkiler aşağıda verilmiştir. 0,45 GHz – 1,9 GHz aralığında yapılan çalışmalar cep telefonu (Cellular Phone, CP) etkilerini yansıtmaktadır ve altı çizili olarak verilmiştir (↑: artış, ↓: azalış'ı simgelemektedir).

İmmünolojik Etkiler

- Eritrositlerde ve lenfoblastlarda ↑ — 3,1 GHz (günde 120 dak/ 6 gün)
- T ve B Lenfositlerde ↑ — 0,026 GHz (günde 15 dak/ 1gün)
- Blastogenesis ↑

Sinir Sistemine Etkiler

- Hipotalamusta norepinefrin ↓ — 1,6 GHz (günde 10 dak/ 1gün)
- Hipotalamusta dopamin ↓ — 1,6 GHz (günde 10 dak/ 1gün)
- Hipotalamusta nöron büyümesi — 1,7 GHz (22 gün)
- Purkinje hücrelerinde ↓ — 2,45 GHz (günde 1260 dak/ 5 gün)
- Beyin hücreleri sıcaklığında ↑ — 2,45 GHz (günde 2,5–7 dak/ 1gün)
- EEG frekanslarında değişim

- BBB (kan–beyin bariyeri) geçirgenliğinde ↑ — 1,3 GHz (günde 20 dak/ 1gün)
- Beyinde peroksidaz ↑ — 2,45 GHz (günde 120 dak/ 1gün)
- Myelin dejenerasyonu — 3 GHz (günde 180 dak/ 90 gün)
- Glial hücre proliferasyonu — 3 GHz (günde 180 dak/ 90 gün)

Hematolojik Etkiler

- Hematokrit↑ — 24 GHz (günde 180 dak/ 1 gün)
- Beyaz kan hücreleri ↓ — 24 GHz (günde 180 dak/ 1 gün)
- Lenfosit ↑— 0,425 GHz (günde 240 dak/ 47 gün)
- Lökosit ↓ — 24 GHz (günde 180 dak/ 1 gün)
- Eritrosit ↓ — 2,45 GHz (günde 5 dak/ 1 gün)

Kardiyak Fonksiyonlara Etkisi

- Kalp hızı ↓ — 0,96 GHz (günde 60 dak/ 1 gün)
- Bradikardi — 0,96 GHz (günde 5–10 dak/ 1 gün)
- Taşikardi (başın maruziyeti) — 2,4 GHz (günde 60 dak/ 1 gün)
- Solunum hızı ↓ (sırtın maruziyeti) — 2,4 GHz (günde 20 dak/ 1 gün)
- EKG 'de değişimler (QT kısalması, T dalgasının yüksekliğinde↑) — 2,4 GHz(günde 20 dak/ 10 gün)
- Nabız ↑

Nöroendokrin Sisteme Etkileri

- Tiroid hormon ↑ — 3 GHz (günde 180 dak/ 48 gün)
- TSH ↓
- Serum thyroxine↓ — 2,45 GHz (günde 240–480 dak/ 1 gün)
- CS ↑ — 2,45 GHz (günde 240–480 dak/ 1 gün)
- Leutinizing hormon ↑ — 2,86 GHz (günde 360 dak/ 36 gün)
- Adrenal bez (ağırlık) ↑ — 2,45 GHz (günde 5 dak/ 6 gün)

Büyüme ve Gelişim Etkileri

- Vücut & Beyin ağırlığı ↓ — 2,45 GHz (günde 300 dak/ 16 gün)
- Fetus ağırlığı ↓ — 2,45 GHz (günde 100 dak/ 12 gün)
- Doğum sonrası ölüm ↑ — 2,45 GHz (günde 10 dak/ 1 gün)

Genetik Etkiler

- Akciğer hücrelerinde kromozom aberasyonu — 0,019 GHz (günde 30 dak/ 1 gün)
- Sperm hücrelerinde kromozom translokasyon — 9,4 GHz (günde 60 dak/ 10 gün)
- Mutasyon ↑ — 9,4 GHz (günde 0,03 dak/ 1 gün)
- Testis DNA 'sinin termal denatürasyon profilinde değişim — 1,7 GHz (günde 80 dak/ 1 gün)
- Interstisiyal hücrelerde değişim — 1,6 GHz (günde 100 dak/ 1 gün)
- Doku nekrozu — 1,6 GHz (günde 100 dak/ 1 gün)

Klinik kimya ve Metabolizma

- Nikotinamid adenin dinükleotid ↑ — 0,591 GHz (günde 0,5 dak/ 1 gün)
- ATP ↓ — 0,591 GHz (günde 0,5 dak/ 1 gün)
- Serum glikoz ↑ — 2,45 GHz (günde 120 dak/ 1 gün)
- Ürik asit ↑ — 2,45 GHz (günde 120 dak/ 1 gün)
- Beyinde demir ve manganez ↑ — 1,6 GHz (günde 10 dak/ 1 gün)
- Metabolik hız↓ — 2,45 GHz (günde 30 dak/ 1 gün)
- Eritrosit (elektroforez) mobilitesi ↑ — 1 GHz (günde 4, 8, 15, 30 dak/ 1 gün)

- Eritrositlerde K^+ efflux \uparrow — 2,45 GHz (günde 60, 120, 180, 240 dak/ 1 gün)
- Eritrositlerde Na^+ influx \uparrow — 2,45 GHz (günde 60, 120, 180, 240 dak/ 1 gün)
- Na^+ pasif transportu \uparrow — 2,45 GHz (günde 60 dak/ 1 gün)

Testisler Üzerindeki Etkiler

- Testiküler dejenerasyon — 9,27 GHz (günde 4,5 dak/ 295 gün)
- Testiküler lezyon — 10 GHz (günde 5 dak/ 1 gün)

Oküler Etkiler

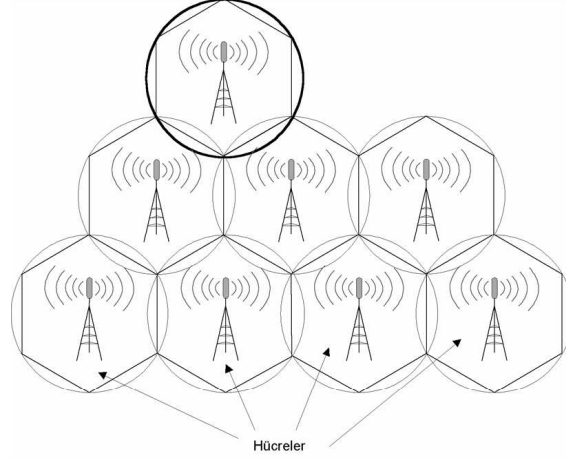
- Intraoküler sıcaklık \uparrow
- Katarakt gelişimi $\geq 800 \text{ W/m}^2$ (6).

2.1.5. Hücresel İletişim Sistemleri ve Baz İstasyonları

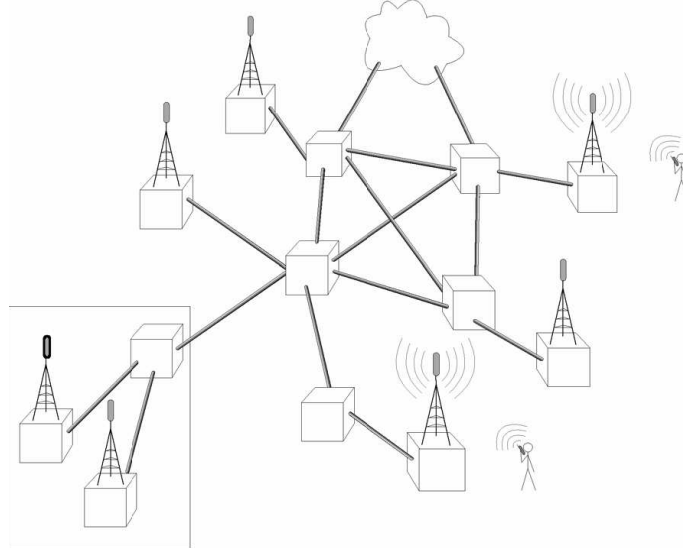
Mobil (gezgin) telefon sistemlerinde, haberleşmenin yapılacağı alan hücre adı verilen küçük alanlara bölünmüştür. Her hücrenin merkezinde bir baz istasyonu bulunur. Mobil telefonlar haberleşmelerini baz istasyonu üzerinden yaparlar. Baz istasyonları birbirlerine bir ağ yapısı şeklinde bağlıdırlar (Şekil 2 ve Şekil 3). Herhangi bir mobil telefondan gelen çağrı isteğinin ilgili kullanıcıya ulaştırılması bu ağ yapısı tarafından gerçekleştirilir (4).

Mobil telefonlarla baz istasyonları arasındaki iletişim, elektromanyetik dalgalar yoluyla gerçekleştirilmektedir.

Hücresel yapı sayesinde aynı anda daha çok kullanıcı haberleşebilir.



Şekil 2: Hücresel yapı (4)



Şekil 3: Baz istasyonları ağı ve sabit ağ ile etkileşimi (4)

Baz istasyonları, hücresel haberleşme sistemlerinde merkezi istasyon olarak görev yaparlar. Mobil telefonlar, diğer mobil telefonlarla ve sabit ağ telefonlarıyla baz istasyonlar üzerinden görüşme yapabilirler.

Bir baz istasyonunun aynı anda hizmet verebileceği görüşme sayısı sınırlıdır.

Baz istasyonu ve mobil telefon arasındaki uzaklık arttıkça, iletişimin sağlanabilmesi için hem kulanın hem de mobil telefonların çıkış güçlerinin artırılması gerekir.

Baz istasyonlarının neden olduğu toplam elektromanyetik enerji sabit bir değerde değildir; kullanıcı yoğunluğuna göre değişir. Hücredeki mobil telefon sayısı

ve aynı anda yapılan görüşme sayısı arttıkça, baz istasyonu anteninden yayılan elektromanyetik enerji de artar (4).

Mobil telefon, arama sırasında en yüksek çıkış gücü ile baz istasyonuna ulaşmaya çalışır.

Baz istasyonu ile bağlantı kurulduktan sonra çıkış gücü haberleşme sağlanabilecek en ekonomik seviyeye düşer. Mobil telefon ile baz istasyonu arasındaki uzaklık arttıkça daha yüksek çıkış güçlerinde haberleşme yapılması gerekir. Mobil telefonlar için 900 MHz'de en yüksek çıkış gücü 2 W, 1800 MHz'de 1 W'dır.

Elektromanyetik dalgalar binaların içine girebilirler. Bütün cisimler elektriksel iletkenliklerine bağlı olarak elektromanyetik dalgaları yansıtma ya da geçirme özelliğine sahiptir. Elektromanyetik dalgalar, bina duvarından geçerken havada yayılmalarına göre enerjilerinin daha büyük bir kısmını kaybederek zayıflarlar (4).

Elektrikle çalışan bütün cihazlar elektromanyetik enerji yayar.

2.1.6. Standartlar ve Sınır Değerler

Elektromanyetik alanların insan sağlığına etkileri konusunda birçok ülkede oluşturulan standart ve sınır değerlerin yanı sıra uluslararası standartlar ve sınır değerler de vardır.

Uluslararası alanda ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection – Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komitesi) tarafından belirlenen sınır değerler birçok Avrupa ülkesinde ve dünyanın farklı ülkelerinde en yaygın kabul gören değerler arasındadır. ICNIRP, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Dünya Çalışma Örgütü (ILO) tarafından resmen tanınan bağımsız bir araştırma kuruluşudur. ICNIRP Kılavuzu'nda (ICNIRP Guidelines) yer alan çalışmalar üniversiteler ve araştırma kuruluşları ile işbirliği yapılarak, çok sayıda mühendis, biyolog, fizikçi, epidemiyolojist ve ilgili başka bilim adamlarından oluşan disiplinlerarası bir ekip tarafından yürütülmüştür (4).

Amerika Birleşik Devletleri'nde bu sınır değerler FCC (Federal Communications Commission – Federal Komünikasyon Komisyonu) tarafından belirlenmekte ve bu sınır değerlerin belirlenmesinde IEEE (Institute of Electrical and

Electronics Engineers – Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Enstitüsü) ve ANSI (American National Standards Institute – Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü) tarafından oluşturulan standart değerler temel olarak alınmaktadır. IEEE/ANSI standartları da sınır değerlerin belirlenmesinde yaygın olarak kabul gören ve temel alınan değerlerdir (4).

Elektromanyetik alanların insan sağlığına etkileri konusunda oluşturulmuş sınır değerler frekansa göre değişiklik gösterir. Örneğin baz istasyonlarının çalışma frekanslarını içine alan 400–2000 MHz frekans bandında genel yaşam alanları için ICNIRP Kılavuzu’nda yer alan sınır değerler elektrik alan şiddeti için $1,375f^{1/2}$ V/m (f = frekans (MHz)); manyetik alan şiddeti için $0,0037f^{1/2}$ A/m ve elektromanyetik güç yoğunluğu için $f/200$ W/m² ifadeleriyle verilmiştir. Bu ifadelerle verilen sınır değerler altı dakikalık ölçüm sonucunda elde edilecek ortalama değerler içindir. Bunun yanında IEEE ve FCC standartlarında yer alan güç yoğunluğu üst sınırı 300–1500 MHz frekans aralığında $f/150$ W/m², 1500–100.000 MHz frekans aralığında 10,0 W/m² olarak verilmiş olup, bu ifadelerle verilen sınır değerler otuz dakikalık ölçüm sonucunda elde edilecek ortalama değerler içindir (4).

Bilimsel çalışmalar sonucunda insan vücut sıcaklığını 1 derece arttırabilecek alt değerler belirlenmiş, mesleği gereği bu tür radyasyonun etkisinde kalanlar için bu değerlerin güç yoğunluğu cinsinden 1/10’unun, genel insan yaşam alanları için ise 5 kat daha ek koruma faktörü eklenerek 1/50’sinin sınır değerler olarak alınması kabul edilmiştir (4).

Kontrollü ve kontrolsüz etkilenme için sınır değerler belirlenirken mesleği gereği elektromanyetik enerjinin etkisinde kalanların konu ile ilgili olarak bilgilendirilmiş ve gerekli önlemleri almış olabilecekleri varsayımı yapılmış ve genel yaşam alanlarında insanların kendi bilgi ve kontrolleri dışındaki etkilenmeleri düşünülerek kontrolsüz alanlar için sınır değerlere ek olarak 5 kat koruma faktörü eklenmiştir.

Buna göre genel yaşam alanlarında, GSM900 ve DCS1800 sistemleri için kontrolsüz etkilenme için sınır değerler Tablo 1’de verilmiştir (4).

Tablo 1: Kontrolsüz etkilenme için sınır değerler (4).

900 MHz için sınır değerler	ICNIRP	IEEE/FCC
Elektrik Alan Şiddeti	41,25 V/m	–
Manyetik Alan Şiddeti	0,111 A/m	–
Güç Yoğunluğu	4,5 W/m ²	6,0 W/m ²
1800 MHz için sınır değerler	ICNIRP	IEEE/FCC
Elektrik Alan Şiddeti	58,33 V/m	–
Manyetik Alan Şiddeti	0,157 A/m	–
Güç Yoğunluğu	9,0 W/m ²	10,0 W/m ²

2.2. Bağışıklık Sistemi

Bağışıklık sistemi; vücuda çeşitli yollardan girmiş olan yabancı antijenleri tanıyarak bunlara yanıt oluşturan doku, hücre ve moleküllerden oluşur. Canlının bu sistemi kullanarak kendisine yabancı olan antijen ve patojenleri tanıması ve bunlara karşı reaksiyon oluşturmaya bağışık yanıt denir. Bağışıklık ise patojenlere karşı gösterilen direnci ifade eder. Bağışıklık sistemi öncelikle karşılaştığı antijen ve patojenlerin kendisine yabancı olduğunu algılar (7, 8, 9).

Bağışıklık sistemi, fonksiyonel olarak doğal ve kazanılmış olarak ikiye ayrılır. Bu iki sistem arasında çift taraflı bir etkileşim vardır.

2.2.1. Doğal Bağışıklık Sistemi

Herhangi bir patojenle ilk karşılaşmada önemlidir ve ilk koruyucu engelleri oluşturur. Patojene karşı özel bir hafıza olmaksızın işlev görür. Ayrıca edinsel bağışıklığın farklılaşmasında da rol oynar.

Doğal bağışıklık sistemini oluşturan başlıca komponentler; epitelyal bariyerler, fagositler (nötrofiller, monosit/ makrofajlar, doğal öldürücü hücreler), kompleman sistemi, doğal bağışıklık sitokinleri, doğal bağışıklığın diğer plazma proteinleri (akut faz proteinleri)'dir. Ayrıca normal mikroflora, dokuların biyokimyasal özellikleri (mide ve idrar pH' sı) gibi mekanizmalar da bunlar arasında sayılabilir (7, 8, 9).

2.2.2. Edinsel Bağışıklık Sistemi

Başlıca özelliği antijene özgü olması ve belleğin bulunmasıdır. B ve T lenfositler edinsel bağışık yanıtın asıl aktörleridir.

Hücresele ve sıvısal olmak üzere iki tip edinsel bağışıklık vardır.

Edinsel bağışık yanıt yabancı antijenin tanınması, buna yanıt oluşturabilecek lenfositlerin çoğalması ve efektör hücrelere dönüşmesi ile başlar. Tanınan antijenin aktive olmuş hücreler tarafından ortadan kaldırılması ise efektör fazı oluşturur. Yabancı antijen ortadan kalktıkça bağışık yanıt azalır, sonunda aktive hücrelerin çoğu apoptozis ile ölür ve fagositik hücreler tarafından ortadan kaldırılır. Kalan hücreler ise bellek hücrelerini meydana getirir (10, 12, 14).

Lenfositlerin antijenlerle tekrar karşılaştıklarında hatırlamalarını sağlayan özgünlük ve bellek yetenekleri edinsel hücresele bağışık yanıtın temelidir.

Antikorlar, edinsel bağışıklığın bir bölümü olan sıvısal bağışıklığın elemanlarıdır. Antijenik uyarı sonucu B lenfositlerin farklılaşmasıyla oluşan plazma hücrelerince üretilirler (10, 12, 14).

2.2.3. Bağışıklık Sistemi Organları – Lenfoid Organlar

Lenfoid organlar santral (primer) ve periferik (sekonder) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Santral lenfoid organlar, yeni lenfositlerin antijene bağımlı olmaksızın otonom olarak olgunlaştıkları ve bağışık yanıt oluşturma yeteneği kazandıkları yerlerdir. Santral lenfoid organları kemik iliği ve timus oluşturur. Periferik lenfoid organlar ise, lenfositlerin antijenik uyarılara bağışık yanıtın başlatıldığı dalak, lenf düğümleri, tonsiller ve diğer lenfoid dokulardır (10, 11, 12, 13).

2.2.3.1. Santral Lenfoid Organlar

Kemik İliği: Retikulum lifleri ve retiküler hücrelerden oluşan gevşek bir stroma içinde yer alan, değişik olgunlaşma evrelerindeki kan hücreleri ve yağ hücrelerinden oluşur. B lenfositlerin gelişiminin ana yeri olmasının yanında olgun T lenfosit ve plazma hücrelerini de içerir (10, 11, 12, 13).

Timus: Kemik iliğinden göç eden T lenfositlerin olgunlaşarak olgun T lenfositlerine dönüştükleri organdır (10, 11, 12, 13).

2.2.3.2. Periferik Lenfoid Organlar

Dalak: Kırmızı ve beyaz pulpadan oluşur. Beyaz pulpada başlıca lenfositler kırmızı pulpada ise makrofajlar ve eritrositler bulunur. Kanı filtre etmek ve kandaki antijenleri yakalamakla görevlidir (10, 11, 12, 13).

Lenf Düğümleri: Lenf düğümünü çevreleyen kapsül trabekülalar oluşturarak lenf düğümünü korteks (ağırlıklı olarak B lenfositleri içerir), parakorteks (T lenfosit ve makrofajlar yer alır) ve medulla (plazma hücreleri bulunur) olmak üzere bölmelere ayırır. Kortekste B lenfosit hücre kümelerinin oluşturduğu birincil ve ikincil lenf folikülleri yer alır (10, 11, 12, 13).

Mukoza İlişkili Lenfoid Doku (MALT): Kısaca MALT adı verilen organize lenfoid dokular; sindirim, solunum ve ürogenital sistemleri döşeyen müköz membranların savunmasını üstlenmişlerdir. Tonsiller ve peyer plakları gibi yapılardan oluşur (10, 11, 12, 13).

2.3. Lenfositler

Bağışık yanıtın özgülüğü lenfositler tarafından sağlanır. Lenfositler, farklı antijenik determinantları özgül olarak tanıyan ve birbirinden ayırabilen tek hücre topluluğudur. Lenfositler, morfolojik olarak benzer olsalar da işlevlerine ve salgıladıkları proteinlerin yapısına göre farklılıklar gösteren belli başlı üç alt gruptan oluşurlar (15).

1. B lenfositler
2. T lenfositler
3. Doğal öldürücü hücreler

Tüm bu lenfositlerin birbirlerinden ayrılmasını sağlayan, fenotipik bir belirleyici gibi davranan bazı membran proteinleridir. Bu proteinlerin hücrelerin biyolojik işlevlerinde de önemli oldukları bilinmektedir. Bu proteinler "cluster of differentiation" (CD) olarak adlandırılan sınıflandırmada yer alıp, nümerik değerlerle tanımlanmışlardır (15).

2.3.1. B Lenfositler

Kemik iliğinden kaynaklanır ve erken dönemdeki olgunlaşmalarını burada tamamlarlar. Antikor oluşturabilen tek hücre topluluğudur. B lenfositlerin antijen reseptörleri hücre membranına bağlı olan antikorlardır. Antijenlerin bu antikorlarla karşılaşması ile B lenfosit hücreleri aktive olup antikor salgılayan efektör hücreler olan plazma hücrelerine farklılaşırlar (15).

2.3.2. T Lenfositler

Timus, T lenfositlerin gelişimi ve fonksiyonel hale gelebilmesi için temel organdır. Gestasyonun dördüncü haftasında timus 3–4. farengial yarıktan aşağı doğru ilerler ve üst mediastende V şeklinde epitelyal solid yapı meydana getirir. Fetal timus, gestasyonun üçüncü ayından itibaren işlevsel hale gelir (14,17).

Fetus'ta pro-timosit ($CD7^+$, diğer timosit belirteçleri negatif) fenotipi, fetusun karaciğer ve vitellüs kesesinde gebeliğin 7. haftasından itibaren görülmeye başlar. Hücrelerin timusa göçü gebeliğin 7–8'inci haftalarında gerçekleşir. Bunu, timositlerin CD2, CD3, T lenfosit hücre algacı (TCR), CD4 ve CD8 moleküllerini eksprese etmeleri izler. Fetal timusta $\gamma\delta$ (gama-delta) algaç sunumu 9., $\alpha\beta$ (alfa-beta) algaç sunumu 10. haftalarda başlar. Gebeliğin 14. haftasından itibaren majör timosit alt gruplarının hepsi mevcuttur. CD4 ve CD8 T lenfositleri ilk olarak karaciğer ve dalakta gebeliğin 14. haftasından itibaren görülürler ve T lenfositlerinin sayısı bundan sonra kanda artar. Bu artış, doğumdan 6 ay sonraya kadar devam eder ve sonra yavaş yavaş azalarak erişkindeki düzeye iner. Yenidoğanda T lenfosit sayısı ve total lenfosit sayısı, bir çocuk veya erişkindekinden fazladır. Fetal hayatta CD4/CD8 oranı 3,5 iken, doğumda bu oran 2,5 düzeyine iner. Erişkindeki düzeye ise 4 yaş civarında gelir ve 2 civarındadır. Gebeliğin ilk trimesterinde TCR repertuarı dardır. Doğumla birlikte genişler (14, 15, 16).

T lenfositleri, bu yönde farklılaşacağı belli olan bir kök hücreden gelişirler. Kemik iliği kaynaklı T lenfosit kök hücreleri, olgunlaşmak için seçici bir şekilde timus korteksine gelirler. Timustaki T lenfositlere timosit de denir. Prekürsör hücreler timusa girmeden önce matür T lenfositlere özgü olan yüzey belirteçlerini taşımazlar. Gelişen hücreler medullaya doğru hareket ederken timus stroması tarafından yönlendirilen bir dizi farklılaşmaya uğrarlar. Bu hücreler, öncü

hücrelerden olgun T lenfositlere geçişleri sırasında bazı yüzey belirleyicilerini kazanırken bazılarını da kaybederler (14, 16, 17).

Timustaki T lenfositleri (timosit) yüzeylerinde CD4 ve CD8 moleküllerini sergilemelerine göre 4 ana gruba ayrılabilir. CD4 ve CD8 bulundurmeyen çift negatif, her iki molekül de bulunduran çift pozitif ve sadece CD4 veya CD8 bulunduran tek pozitif hücreler. Kemik iliğinden timus korteksine ulaşan kök hücrelerden gelişen ilk hücrelerde (pro-T), TCR ve CD fenotipi oluşmamıştır (CD2⁻, CD3⁻, CD4⁻, CD8⁻). Timus içi farklılaşmanın en erken evresindeki hücreler CD2 gibi T lenfositleri için karakteristik yüzey moleküllerini eksprese ederler. Ayrıca CD71, CD38 ve CD7 yüzey molekülleri de bu erken evrede eksprese edilir. Hücreler, korteksten medüllaya hareket ederler ve gelişmeleri sırasında pre-T lenfositlerde CD2⁺, CD3⁻, CD4⁻, CD8⁻ bulunur. Bunu takiben CD2⁺, CD3⁺, CD4⁻, CD8⁻ fenotipine sahip (çift negatif) hücreler meydana gelir. Bu dönemde T lenfosit hücre algaç genlerinin düzenlenmesi başlayarak ilk T lenfosit hücre algacı sentezlenir. T lenfosit hücre algacının TCR-1 (γ / δ) ve TCR-2 (α / β) olmak üzere iki ayrı tipi vardır. İlk önce β , daha sonra da α zinciri sentez edilir. Çift pozitif hücrelere geçiş için β zincir sentezinin tamamlanmış olması gereklidir. TCR sentez edilirken intrasitoplazmik CD3 de eş zamanlı eksprese edilir. CD2⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ fenotipine sahip (çift pozitif) ve TCR taşıyıcı hücreler gelişir. Gerek timositler, gerekse lenfoid olmayan hücrelerden salgılanan sitokinlerin büyüme ve farklılaşmada etkili oldukları bilinmektedir. CD4⁺-CD8⁺ timositler timustaki olgun popülasyonu oluştururlar. Çoğu henüz olgunlaşmamış CD4⁺-CD8⁺ timositler büyük ve aktif olarak bölünen blast hücreler olup düşük düzeyde TCR $\alpha\beta$ kompleksini eksprese eden kortikal, küçük ve bölünmeyen hücrelere gelişirler. CD4⁺-CD8⁺ timositlerde TCR angajmanı, pozitif seleksiyonun erken indüksiyon fazının ağırlıklı bölümüdür. TCR-MHC(major histokompabilite kompleksi)-peptid etkileşimi tek başına CD4⁺-CD8⁺ timositlerin pozitif seleksiyonunu indüklemeye yetmez, bunun için gereken ko-stimülasyon MHC klas-II timik epitel hücrelerince sağlanır (14, 16, 18, 19, 20).

Timositler timus içerisinde olgun T lenfositlere dönüştükçe TCR ekspresyonu artar ve yüzeylerindeki CD4⁺ ve CD8⁺ moleküllerinden birini kaybederler. Sonunda, medüllada CD2 ve CD3 belirteçlerini ortak olarak taşıyan (CD2⁺-CD3⁺), ayrıca

birinde CD4⁺; diğesinde CD8⁺ belirteçlerinin yer aldığı (tek pozitif) iki farklı T lenfosit alt grubu oluşur. Bu hücreler kısa bir süre sonra post kapiller venül yoluyla dolaşıma katılır. Perifere geçmiş T lenfositlerde CD4 ve CD8 belirteçleri birlikte yer almazlar. Her iki T lenfosit alt grubunun özgülüğünü CD4 ve CD8 yüzey belirteçleri belirler. Timustaki tek pozitif (CD4⁺-CD8⁻) medüller timositler heterojen bir alt grubu oluştururlar. Hücrelerin büyük çoğunluğunu CD4⁺ CD25⁻ periferal bağışıklık efektör hücreler, daha azını da CD4⁺ CD25⁺ regülatör T lenfositleri oluşturur. Timusta CD4⁺-CD8⁻ timositler, CD4⁺-CD25⁺ T lenfositlerin esas kaynağıdır. Timositler, timustaki olgunlaşmalarını 3 gün içinde tamamlar. Olgunlaşma sırasında timositlerin %90'ından fazlası apoptoz ile ölür (14, 16, 18, 21).

Tüm timositlerin yaklaşık %1 timusu terk eder, geri kalanı timusta apoptoza uğrayarak ölür. Apoptoza uğrayan timositlerin %75'i CD4⁺-CD8⁺ (çift pozitif), %13'ü de CD4⁻-CD8⁻ (çift negatif) hücrelerdir. Apoptotik hücrelerin çoğunluğu CD4⁺-CD8⁺ lenfositlerin yüksek yoğunlukta bulunduğu kortiko-medüller bağlantı bölgesinde, daha az bir bölümü de kortekste tespit edilir. TCR repertuarının özgülüğü, gelişigüzel gen düzenlemeleri ile ortaya çıkar. İntratimik self peptid-MHC Klas-2 molekülleri, CD4⁺-CD8⁺ olgunlaşmamış timositlerin pozitif ve negatif seleksiyonu süresince T lenfosit repertuarını şekillendirir. Kendi MHC moleküllerine uygun (düşük) afinite gösteren TCR eksprese eden timositler, pozitif seçimle ölümden kurtulurlar ve bunların olgunlaşmalarına izin verilir (pozitif seleksiyon). Kendi MHC'sine affinitesi olmayan hücreler ölür. MHC bağımlı self toleran olan hücrelerin seçimi, hücre yüzeyinde CD3, CD4, CD8 ve TCR moleküllerinin sergilenmesine bağlıdır. Böylece periferde bulunan antijen sunucu hücrelerin sundukları antijenlerin tanınmaması ile sonlanacak bir durum engellenmiş olur. Hücrelerin seçilerek çoğalmaları veya ölmelerinde açık olmayan pek çok nokta vardır. T lenfositlerinin %95 kadarı α ve β zincirlerinin yer aldığı TCR-2'leri taşır (14, 16, 18).

İnsan T lenfositleri, CD4 ve CD8 farklılaşma belirteçleri dışında başlıca CD2, CD3, CD5, CD6, CD7 yüzey belirteçlerini; IL-1R, IL-2R, IL-6R, IFN- γ R, TNF-R gibi çeşitli sitokin algaçlarını ve LFA-1, ICAM-1 gibi adezyon moleküllerini eksprese ederler. Periferdeki T lenfositleri uyarıldıklarında yüzey antijen ekspresyonları da değişir. İlk önce CD25, CD26 sonra CD38, CD71 ve daha sonra da

HLA-DR yüzey antijenleri sergilenmeye başlar. Bir lökosit belirteci olan ve TCR sinyali için tirozin fosfataz aktivitesi gösteren CD45'in hücrenin aktivasyon durumuna göre değişen izoformları da T lenfositlerde eksprese edilir. CD45RA izoformu naif, CD45RO izoformu antijeni tanımış bellek durumunda olan T lenfositlerde yer alırlar. Ayrıca IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23, IL-25, IL-27, IFN- γ gibi çeşitli sitokinler de T lenfositlerinin gelişiminde ve aktive olmasında rol alırlar (15, 16).

Timusta olgunlaşmasını tamamlayan T lenfositlerinin dolaşıma hangi mekanizmalarla geçtikleri ve hangi alt gruplara farklılaşacağı kesin olarak bilinmemektedir. Olgun T lenfositleri; kan dolaşımına geçerek dalak, lenf nodülleri, peyer plakları gibi ikincil lenfoid dokulara giderler. Dolaşımdaki lenfositlerin %60-80 kadarını T lenfositleri oluştururlar. Periferik kandaki T lenfositlerinin üçte ikisi CD4, üçte biri CD8 yüzey belirteci taşır. (14, 15, 16, 18).

Timustan perifere geçen T lenfositleri orada çoğalırlar ve persiste olurlar. Periferdeki T lenfosit sayısının sabit tutulması, timik prekürsör havuzuna bağlı olmaksızın periferde hücre bölünmesi ile sürdürülür. T lenfosit repertuarı timusta şekillenir. Fakat T, lenfosit özelliklerinin bundan sonraki seçimi periferde olgun T lenfosit havuzunun ekspansiyonu ile sağlanır (16).

T Lenfosit Hücre Algacı (TCR)

T lenfositlerde yüzey immünoglobülinleri bulunmaz. Antijenik peptidlerin tanınması T lenfosit hücre algacı ile sağlanır. TCR, antijeni ancak MHC ile yaptığı kompleks sonrası tanır. TCR, immünoglobülinlerden hem yapısal hem de fonksiyonel olarak farklıdır. Hiçbir zaman salgılanmazlar. İki tip TCR tespit edilmiştir. T lenfosit hücre algacı genelde α ve β polipeptid zincirlerinden (TCR-2) oluşmuş heterodimer yapıda olup bu zincirler birbirine disülfid bağı ile bağlıdır. TCR-1 ise γ ve δ heterodimerlerden meydana gelir. Bu yapıyı bulduran T lenfositlerin α/β yapısını bulduranlardan önce ortaya çıktıkları, CD4 ve CD8 bulundurmadıkları, MHC'den bağımsız sitotoksitede rol aldıkları düşünülmektedir. TCR'nin sitoplazmik kısmı, çok kısa olması nedeniyle antijene bağlanma sonrasında sinyal oluşturamaz. Sinyal oluşumu ve iletiminden TCR ile ilişkili ilave polipeptid yapılar (CD3 kompleksi) sorumludur. Bu nedenle fonksiyonel T lenfosit algacı

TCR/CD3 kompleksi olarak tarif edilebilir. Periferik kandaki insan T lenfositlerinin yaklaşık % 95'i yüzeyinde TCR-2'yi bulundurur (14, 18, 22, 23, 24).

T lenfositler özgün yüzey belirteci olan CD3 ile, iki temel alt grubu ise CD4 ve CD8 yüzey belirteci ile özgün olarak tanınabilmektedir.

CD3

T lenfositlerde bulunmaktadır. CD3 kompleksi gama (γ), delta (δ), epsilon(ϵ), zeta (ζ) ve eta(η) polipeptid zincirlerinden oluşur. T lenfosit reseptör kompleksinin hücre içinde kalan bölümünü oluşturur. TCR heterodimerleri ile yan yana bulunur. En önemli görevi T lenfosit aktivasyonunda rol oynamasıdır. Sinyalin hücre içine naklinden sorumlu temel bir sinyal iletim molekülüdür. T lenfosit algacının hücre yüzeyine sunumunu ve bütünlüğünün korunmasını sağlar (14, 18, 25).

CD4

Yardımcı T (Th) lenfositlerin başlıca belirleyicisidir. CD4 molekülü glikoprotein yapıda olup 55 kDa(kilo dalton) ağırlığında tek bir polipeptid zincirinden oluşmuştur. CD4⁺ T lenfositlerin, antijen sunan hücrede bulunan MHC Sınıf II molekülüne bağlanmasında ve sinyal iletiminde yardımcı molekül olarak rol oynar. İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) CD4 molekülüne bağlanır (14, 18, 26).

CD8

Sitotoksik T lenfositlerin yüzey belirleyicisidir. Periferik kan T lenfositleri CD8 molekülü ya CD8 α zincirinden oluşmuş bir homodimer ya da CD8 α ve CD8 β zincirlerinin birlikte oluşturdukları heterodimer yapısındadır. CD8 molekülü hem MHC sınıf I molekülüne tutunmayı sağlamakta hem de sinyal iletimini kolaylaştırmaktadır (14, 18, 26).

CD25

IL-2 algacının α zinciridir. 55 kDa ağırlığında membran glikoproteinidir. IL-2R β ve IL-2R γ zincirleri ile nonkovalen birleşerek IL-2 algacını oluşturur. Temel hücre kaynak aktive T ve B lenfositler ile aktive makrofajlardır (27).

CD45

Lökositlerin ortak antijenidir. Lenfosit, monosit, granüosit ve timositlerde bulunur. Alt gruplardan CD45RA antijenle karşılaşmamış lenfositlerde (naif), 45RO ise bellek lenfositlerde bulunur (27, 28).

2.3.2.1. Yardımcı T Lenfositler - CD4⁺T Lenfositler: T Helper Lenfositler (Th)

Kandaki lenfositlerin %35–60 kadarını CD4⁺ Th alt grup lenfositler oluşturur. Th lenfositler kendi içinde 2 temel alt gruba (Th1 ve Th2) ayrılır. Daha sonra Treg hücreleri ve son yayınlarda özellikle otoimmün hastalıklarda sayıları artan Th17 hücreleri saptanmıştır. Tüm yardımcı T lenfositleri CD4 yüzey molekülüne sahiptirler. Ancak ürettikleri sitokinler ve fonksiyonları açısından farklıdırlar. Ortak bir prekürsör hücreden farklılaşarak gelişirler. Gelecek bağışık uyarılara göre IFN- γ salgılayan Th1 veya IL-4 salgılayan Th2 fenotipine farklılaşırlar. Th1 ve Th2 fonksiyon farklılığı önceden belirlenemez. Farklılaşma, onları bu tiplerden birine yönlendiren sinyallere bağlıdır (16, 18, 33, 39).

Yardımcı T lenfositleri, MHC Klas-II molekülleri ile sunulan peptidleri tanırlar. Antikor yapıcı B lenfositlerin ve sitotoksik T lenfositlerin aktivitelerini şiddetlendirirler. Th lenfositlerin azlığında efektör T ve B lenfositlerin antijene cevabı zayıf olur. Bu hücreler ayrıca çeşitli lenfokinler salgılayarak T lenfositlerin, monosit-makrofajların ve diğer bazı hücrelerin sayıca ve etkinlikçe artmalarını sağlarlar. Bu nitelikleri ile Th lenfositleri, bağışıklık sisteminin orkestra şefi hücreleridir (16).

Th1 Lenfositler

İnterferon gamma (INF- γ), IL-2, Tümör Nekrozis Faktör-beta (TNF- β) üretirler. Th1 lenfositler, B lenfositleri IgG₁ ve IgG₃ antikorlarını sentezlemeye yöneltir. Temel olarak INF- γ üreterek opsonizasyon sağlama, kompleman bağlayan antikor üretiminde artış ve makrofajların aktivasyonu sonucu antijenlerin yok edilmesi işlevlerini yürütürler. Th1 lenfositlerden üretilen sitokinler özellikle makrofajları ve sitotoksik T lenfositleri aktive eder. Th1 lenfositler asıl olarak sitolitik aktivite gösterirler ve hücrel bağışık cevapta etkin ve kilit rol oynarlar (14, 26, 29).

Th2 Lenfositler

Th2 lenfositler IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 gibi sitokinleri üretirler. Th2 lenfositler esas itibariyle sıvısal bağışık yanıtın gelişmesini etkilerler. B lenfositleri IgM, IgG₄ ve IgE sentezine yöneltirler. Ig switching'inden (IgM, IgG sentez switchingden) sorumludur. Böylece total IgG sentezi de artar. Antijenik uyarım sonucu çoğalan ve farklılaşan Th2 lenfositlerin salgıladığı IL-4, bir yandan B lenfositleri aktive ederek IgE sentezini, diğer yandan eozinofilleri aktive eden IL-5 sentezini uyarır. IgE, mast hücrelerinin aktivasyonuna katılır ve helmintleri kaplayarak eozinofiller tarafından parçalanmasını sağlar. Th2 lenfositler allerjik inflamasyon ve anti-paraziter bağışıklıkta önemli rol oynamaktadırlar. Th2 lenfositler tarafından üretilen bazı sitokinler makrofaj aktivasyonunu inhibe eder ve Th1 aracılığıyla yürütülen bağışıklığı baskılar. Bu hücreler, akut ve kronik enflamasyonu ve geç tipte hücresele aşırı duyarlılığı inhibe ederler (14, 26, 29).

Treg Hücreleri (Regülatör T Lenfositler)

Son 10 yılda regülatör T lenfositleri (Treg hücreleri) olarak adlandırılan ayrı bir hücre popülasyonunun varlığı ortaya konmuştur. Treg hücreleri, CD4⁺ CD25⁺ T lenfositleridirler. Bu hücrelerin keşfi hücre aracılı süpresyon, self tolerans ve adaptif bağışık yanıtın regülasyonu ile ilgili bilgilerde ilerlemeler kaydedilmesini sağlamıştır. Periferal kanda CD4⁺ T lenfositlerin yaklaşık % 5-25'ini oluşturlar. Bu hücreler, ayrıca CD45RB^{Lo}, CD5, OX40, CTLA-4, glukokortikoid-induced TNF reseptör (GITR), foxp3 gibi molekülleri de eksprese ederler (30, 31, 32, 33, 34, 35, 36).

Treg hücrelerinin regülasyon etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak yapılan çalışmalarda bazı özellikleri ortaya konmuştur.

Treg hücreleri, hem CD4⁺ hem de CD8⁺ T lenfositleri regüle eder. TGF-β ve IL-10 sentezleyerek efektör Th1 üzerinde inhibisyona neden olurlar. T lenfositlerin IL-2 üretimini ve proliferasyonunu baskırlarlar (30, 31, 37, 38).

Th17 Hücreler

IL-23 tarafından uyarılır ve IL-17 salgılayarak etkilerini gösterirler. IL-17, birçok doğal immünite efektör molekülün salgılanmasını indükler. Bunlar IL-6, akut

faz proteinleri, G-CSF ve prostaglandin E₂'dir. Il-17 nötrofil mobilizasyonunu da sağlar. TH17 lenfositlerin romatoid artrit, deneysel otoimmün ensefalomyelit ve bazı allerjen spesifik yanıtların patogenezinde de etkili oldukları saptanmıştır (39).

2.3.2.2. Sitotoksik T Lenfositler (Tc) – CD8⁺T Lenfositler

CD8 molekülü taşıyan T lenfosit alt grubudur. Periferik kan T lenfositlerin % 20–40' ını oluşturur. MHC sınıf I molekülü ile sunulan antijeni tanıyarak aktive olur ve sitotoksik fonksiyon yaparlar. Savunmada virüs, parazit ve hücre içi bakteri ile enfekte hücreler, tümör hücreleri, doku ve organ transplant hücreleri gibi organizmaya zararlı, ayrıca yabancı ve etkilenmiş hücelere doğrudan saldıran T lenfositlerdir. Öldürme işlevi, farklılaşmasına neden olan antijeni taşıyan hücreye spesifiktir. Hedef hücreyi yok ederken diğer komşu hücreler ve kendileri zarar görmezler. Dolayısıyla çok sayıda hedef hücreyi yok edebilirler. Membran bütünlüğünü bozarak hücreyi öldürürler. Sitotoksik T lenfositlerinde immünoglobülin için Fc reseptörü bulunmaz. Bu nedenle de antikor-bağımlı hücrel sitotoksiste göstermezler (14, 16, 18, 29).

Sitotoksik T lenfositler, sunulan antijeni tanıyınca hedef hücreyle sıkı bağlantılar oluştururlar. Hedef hücreyle temas edilen bölgeye Tc lenfositlerin granülleri ekzositozla boşaltılır. Bu granül içeriklerinden perforin, ortamdaki Ca⁺⁺ ile polimerize olarak hedef hücrede delikler oluşturur. Bu deliklerden veya endositozla hedef hücreye giren granzimler ise sitoplazma da bulunan kaspaz isimli enzimleri aktive ederek apoptozisi başlatır ve hücre ölümü gerçekleşir. Granzimleri aktive etmek için kullanılan ikinci yol ise kalsiyumdan bağımsızdır. Bu yolda aktive Tc lenfositlerden eksprese edilen Fas ligand(Fas L), hedef hücredeki Fas(CD95) adı verilen uyarıcı reseptörlerle ilişki kurar. Yine granzimler aktive olarak apoptozis uyarılır. Hedef hücelere bağlanmalarında pek çok adezyon molekülü (LFA-1, ICAM-1) görev yapar (14, 16, 18).

2.3.3. Doğal Öldürücü Hücreler (Naturel Killer Hücreler, NK)

Kemik iliği kökenli, büyük granüllü lenfosit morfolojisindeki hücrelerdir. NK hücreler periferik kandaki lenfoid hücrelerin % 10–15'ini oluşturur. Yüzeylerinde T lenfosit hücre reseptörü ve immünoglobülin (Ig) taşımazlar. Yüzey antijenleri

farklıdır. Adhezyon ve fagositoz özelliklerinin olmaması ile makrofajlardan ayrılırlar. Etkilerini göstermek için MHC'ye bağımlı değildirler. Yüzey antijenleri bakımından heterojen bir grup olmakla birlikte taşıdıkları CD16 (IgG için Fc reseptörü-Fc γ III) ve CD56 (Nöral hücre adezyon molekülü, N-CAM izoformu) molekülleri büyük ölçüde NK'lara özgüdür ve fenotipik olarak tanımlanmalarında kullanılır (40, 41, 42).

NK hücreleri hücre içi mikroorganizmalarla enfekte olmuş konak hücrelerini öldürmektedir. Spontan olarak litik aktivite gösterirler. Antikor veya antijenik stimülasyona gerek duymaksızın hedef hücreleri öldürme yeteneğine sahiptirler. Makrofajların ürettiği sitokinlerden olan IL-12, NK uyarıcı özelliğe sahiptir. NK hücreleri, IFN- γ sentezi ile makrofajları uyararak bu hücrelerce fagosite edilen mikroorganizmaların daha güçlü biçimde yok edilmelerini sağlar. Öldürme işlevini Tc lenfositler gibi yaparlar ancak önceden uyarılmayı gerektirmediğinden işlem hızlı gerçekleşir. Perforin ve granzmin gibi çeşitli enzimleri içeren büyük granüller sitoplazmalarında her zaman hazır bulunur. Tc lenfositlerde ise granüller, aktivasyon gerçekleştikten sonra belirmeye başlar. IgG için Fc reseptörü olan CD16 (Fc γ III) vasıtası ile antikora bağımlı hücrel sitotoksiste gösterir (40, 41, 43).

NK hücreler virüsle enfekte hücrelerin yok edilmesinde ilk yanıtı veren hücrelerdir. Tümör hücrelerine karşı savaşta önemli rol oynarlar. NK hücrelerinin ayrıca parazit, mantar, bakteri gibi mikrobiyal enfeksiyonların kontrolü ve sitokin üretimi gibi fonksiyonları da vardır.

2.4. Sitokinler

Bağışık ve bağışık olmayan çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan polipeptidler olan sitokinler, hücreler arası ilişkileri, bağışık yanıt ve enflamatuar olayları düzenleyen bağışıklık düzenleyici sinyal proteinleridir.100'den fazla sitokin tanımlanmıştır (45, 46, 47, 50).

En önemli sitokin üreten hücreler, Th lenfositler ve makrofajlardır. Sitokinler, doğal ve adaptif bağışıklığın aktivasyon ve efektör fazında üretilerek bağışıklık ve inflamatuvar yanıtların oluşmasını ve düzenlenmesini sağlarlar (44, 46, 49, 52).

Genellikle uyarılan hücreler tarafından salınırlar. Bir sitokin farklı hücreler tarafından üretilir. Bir sitokin diğer bazı sitokinlerin sentezini arttırabilir veya azaltabilir.

Sitokin sentez ve salınımı kısa süreli, kendini sınırlayan bir olaydır. Yarı ömürleri kısadır. Sitokinler öncül moleküller olarak depolanmazlar ve sentezleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Etkilerini hedef hücredeki özgül algaçlara bağlanarak yaparlar. Sitokin algaçları transmembran proteinleridir. Hücre dışı kısım sitokini bağlar, hücre içi kısım ise sinyal iletimini sağlar (45, 46, 47, 48, 50).

Sitokinler genellikle diğer sitokinlerin fonksiyonlarını etkilerler. İki sitokin birbirini antagonize eder veya aditif etki gösterebilir. Ya da bazı durumlarda sinerjik etki gösterebilirler. Bir sitokin birçok farklı hücre tipine etki edebilir (pleiotropi). Yani aynı sitokinin birden fazla etkisi olabilir (46, 47, 48, 49, 50).

Sitokinler, hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran algaçlarına bağlanarak etkilerini başlatırlar. Sitokinin etki yeri sitokini salgılayan hücrenin kendisi (otokrin etki), çevresindeki hücreler (parakrin etki) ya da dolaşıma salınan sitokinler tarafından uyarılan uzaktaki bir hücre olabilir (endokrin etki). Sitokinler, etkilerini genelde lokal olarak gösterirler (44, 45, 47, 50).

Fonksiyonlarına göre sitokinler 4 gruba ayrılabilir:

1. Doğal bağışıklığa aracılık eden sitokinler: TNF, IL-1, IL-6, TipI interferonlar.
2. Lenfosit aktivasyonu, proliferasyon ve diferansiasyonunu düzenleyen sitokinler: IL-2, IL-4, transforming büyüme faktörü-beta (TGF- β).
3. Bağışıklık aracılı enflamasyonu düzenleyen sitokinler: IL-5, IL-10, IL-12, interferon gama (IFN- γ).
4. Hematopoezi uyaranlar: IL-3, IL-7, IL-9, IL-11, granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF), monosit-makrofaj koloni stimulan faktör (M-CSF), granülosit koloni stimulan faktör (G-CSF).

Sitokinler, proinflamatuvar (IL-1, IL-6, TNF- α) ve antiinflamatuvar sitokinler (IL-4, IL-10, IL-13) olarak da ayrılabilir.

Th1 lenfositler TNF- α , IFN- γ , IL-2 ve IL-12'yi; Th2 lenfositler IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13'ü; Treg hücreler ise TGF- β salgılayarak Th17 hücreler IL-17 salgılayarak etkilerini gösterirler (37, 39, 44, 45, 48, 50).

2.4.1. İnterlökin 4 (IL-4)

IL-4, aktif CD4⁺ T lenfositler (özellikle Th2) ve mast hücreleri tarafından sentezlenir. 20 kDa ağırlığında olup 5. kromozom üzerinde bulunan genler tarafından kodlanır (44, 46, 48, 53). Temel fizyolojik etkisi allerjik olayları düzenlemektir. IgE antikollarının üretimi için temel belirleyicidir. B lenfositlerin proliferasyon, aktivasyon ve diferansiasyonunu artırır. Aktive olmuş B lenfositlerin gelişmesini ve IgG1 ve IgE üretebilmelerini sağlar (45, 47, 53, 54).

Th2 lenfositlerin gelişimi için en önemli uyarandır. Th2 lenfositlerin uyarılması eozinofil ve mast hücrelerinin proliferasyon ve etkinliğini artırır. Th1 lenfositlerin ise uyarımı ve işlevlerini baskılar. Makrofajlarda MHC sınıf II moleküllerinin ekspresyonunu artırır. IL-4, makrofaj aktivasyonunu inhibe eder. IFN- γ 'nın birçok makrofaj aktive edici etkisini bloke eder. Böylece hücresele bağışık yanıtı baskılar (46, 50, 53, 55).

2.4.2. İnterlökin 10 (IL-10)

18 kDa'luk bir sitokin olup özellikle CD4⁺ lenfositlerin Th2 alt grubu tarafından üretilir. Ayrıca bazı aktive B lenfositleri, bazı Th1 lenfositleri ve aktive makrofajlar tarafından da üretilir (46, 47, 49, 51).

IL-10'un inflamasyonda major downregülatör etkisi vardır. Konağın bağışık cevabının inhibitörüdür. Makrofajların sitokin (örn: TNF, IL-1) üretimini ve aktifleşmesini engeller (46, 48, 50).

Th1 lenfositlerinin salgıladığı sitokinlerin üretimini azaltır. Makrofajların T lenfosit aktivasyonundaki işlevlerini engeller. Bu ikinci etkiyi, Klas II MHC moleküllerinin ve bazı ko-stimulatörlerin ekspresyonunu azatarak yapar. Bu etkilerin sonucunda T lenfosit aracılığı ile gelişen bağışık yanıt inhibe edilir (48, 49, 51).

IL-10'un makrofajlar üzerine inhibitör etkilerine ek olarak B lenfositleri üzerine uyarıcı etkileri de vardır. Epstein-Barr virüsü (EBV) bir viral IL-10 analogu üreterek bağışıklık sistemini baskılar. Sonuçta B lenfositlerin proliferasyonu ile Burkitt Lenfoma gelişmesine neden olur (46, 49, 50, 56).

2.4.3. İnterferon Gama (IFN- γ) (İmmün ya da Tip II İnterferon)

Birçok interferon tipi tanımlanmıştır. Bunlar aminoasit sırasına göre sınıflandırılır. Tip I interferon grubunda IFN α , β ve ω vardır. Bu grubun antiviral etkinliği fazladır. Tip II interferon grubunda ise antiviral aktivitesi tip I kadar güçlü olmayan IFN- γ yer alır ve bu, immün interferon olarak da isimlendirilir (46, 49, 52).

IFN- γ , 21-24 kDa'luk alt gruplardan oluşan homodimer glikoproteindir. Başlıca CD8⁺ T lenfositler tarafından üretilir. Ayrıca Th1 lenfosit ve NK hücreler tarafından da üretilir. Doğal ve adaptif bağışıklıkta kritik öneme sahiptir. Makrofajların temel aktivatörüdür. IFN- γ uyarımı, makrofajlarda IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α gibi sitokinlerin ve nitrik oksitin sentezini indükler. Makrofajların mikrobisidal aktivitelerini arttıran potent bir aktivatördür (46, 49, 50).

IFN- γ , nötrofil ve damar endotel hücrelerini aktive eder. NK hücrelerin sitolitik aktivasyonunu artırır ve CD4⁺ T lenfositlerin Th1 alt grubuna farklılaşmasını attırır. Th2 lenfositlerin yapımını azaltarak IL-4 üretimini baskılar. IFN- γ , sınıf I ve II MHC molekül ekspresyonunu artırır. IFN- γ üretimi IL-2 ve IL-12 etkisiyle artarken, IL-4 ve IL-10 etkisi ile inhibe olur (46, 50, 52).

2.4.4. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)

İnsan TNF'si, nonglikolize bir transmembran protein olup molekül ağırlığı 17 kDa'dır. İki çeşit TNF vardır. Bunlar, genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (kaşektin) ile çoğunlukla aktif T lenfositlerden salınan TNF- β (lenfotoksin)'dir. TNF geni 6. kromozomun kısa kolu üzerindedir ve major histokompatibilite kompleksinin yakınına yerleşmiştir. Her iki TNF'nin de algaçları ortaktır ve biyolojik aktiviteleri benzerdir (48, 50, 57).

İki tip TNF algaacı vardır. Bunlar, sitotoksik aktiviteyi ve fibroblast proliferasyonunu arttıran TNF R-Tip I (75-80 kDa) ile T lenfosit proliferasyonuna neden olan TNF R-Tip II (55-60 kDa)dir. TNF'nin biyolojik etkilerinin çoğunluğu TNF-R1 algaaçları aracılığı ile olur. En önemli kaynağı da lipopolisakkarit ile aktive edilmiş makrofajlardır (46, 49, 50).

TNF; IL-1, IL-6, kemokinler ve TNF'nin kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. IL-6 ile sinerjik etki gösterir. İnflamatuar

lökositleri iltahabi bölgede toplar ve mikropları öldürecek şekilde aktive eder. Damar endotelinin prokoagulan ve antikoagulan aktiviteleri arasındaki dengeyi değiştirerek pıhtılaşma sistemini aktive eder. Endotel hücre yüzeyini adezyon molekülleri aracılığı ile daha yapışkan hale getirerek damar endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörlerini eksprese etmelerine neden olur (46, 49, 50, 52). TNF, hepatositlere etki ederek akut faz proteinlerinin sentezini artırır. IL-1 ile beraber endojen pirojen olarak etki ederek ateşi yükseltir. Ateşin TNF ve IL-1'e yanıt olarak yükselmesi sitokinle uyarılmış hipotalamus hücreleri tarafından artırılan prostaglandin E2 senteziyle olur. Lipoprotein lipaz aktivitesini artırarak ve iştahı azaltarak kaşeksiye neden olur (46, 47, 49, 50).

TNF, septik ve endotoksik şokun önemli bir mediatörüdür. Gram negatif bakteriyel sepsis durumlarında çok yüksek miktarda TNF üretilir. Serumdaki bu yoğun TNF, dolaşımında kollaps ve dissemine intravasküler koagülasyon (DIC)'a neden olur (49, 50, 52).

2.5. Akım Sitometrisi (Flow Cytometry)

Akım sitometrisi, bir sıvı akımı içerisinde hareket eden hücreleri büyüklüğüne ve granülaritesine bağlı olarak tek hücre seviyesinde araştırma imkanı sağlar. Akım sitometrisinde birçok teknik bir arada kullanılır. Akım sitometrisi sistemi, bilgisayar teknolojisi, optik, hidrodinamik odaklama ve elektronik alandaki teknik gelişmeler, monoklonal antikörlerin üretimi, sitokimyasal boyamalar ve florokrom kimyasındaki gelişmelerin birarada uygulanması ile ortaya çıkmıştır. Akım sitometrisi; süspansiyon halindeki hücrelerde yüzey ve hücre içi belirteçlerinin tipi ve miktarının belirlenmesi, B lenfositleri ile T lenfosit alt gruplarının tayini, lösemi ve lenfoma tiplmesi, DNA ve RNA içeriği, fagositoz, otoantikör tayini ve kromozom analizi gibi birçok konuda kullanılmaktadır. Akım sitometrisi ile hücreler teker teker incelenir ve hücrelerin fiziksel ve biyolojik özelliklerinin kantitatif ölçümleri yapılır. Hücrelerin çok sayıda parametresi arka arkaya ölçülebilir ve hücre alt grupları birbirlerinden ayırt edilebilir (58, 59, 60, 61). Akım sitometride analizler periferik kan, kemik iliği aspirat ve biyopsileri, serozal sıvılar, beyin omurilik sıvısı, bronkoalveolar lavaj sıvısı, deri, mukoza ve kitlelerden alınan biyopsi örnekleri üzerinde yapılabilir (62, 63).

Akım sitometrisinin klinikteki önemi şöyle özetlenebilir:

1. Çok sayıda hücreyi hızla sayabilme özelliği vardır.
2. Çok az sayıdaki neoplastik hücreyi geniş bir hücre grubu içerisinde saptama imkanı sağlar.
3. Sorting (ayırma) mekanizması hücre alt gruplarının ayırmasına ve heterojen hücre gruplarının saflaştırılmasına imkan sağlar.
4. Apoptozisin saptanmasında, floresan in-situ hibridizasyon (FISH) tekniği ve tümör kinetiğinin saptanmasında da akım sitometrisi kullanılmaktadır (58).

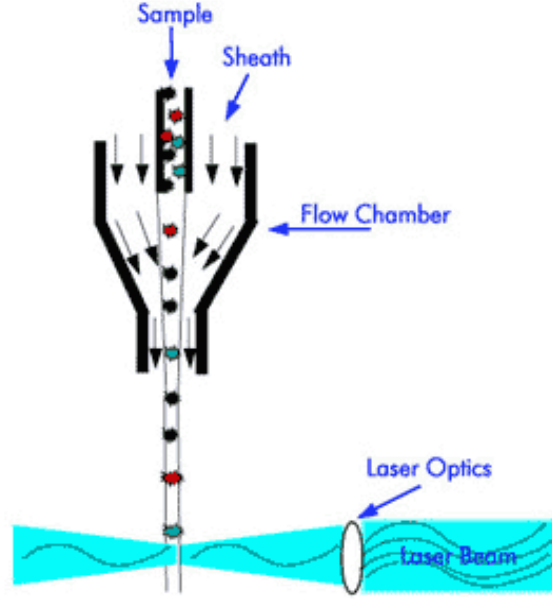
2.5.1. Akım Sitometrisi ile Hücrelerin Analizi

Akım sitometrisi analizinde ana kural, örnekteki hücrelerin süspansiyon haline getirilmesi ve monoklonal antikolarla işaretlenmesidir. Hücreler; saf olarak elde edildikten sonra bir veya daha fazla floresan bağlı monoklonal antikor veya diğer kromoforlar ile konjuge edilir. Bu floresan bağlı monoklonal antikora veya kromoforlara prob denir. Problar genellikle yüzey antijenine veya hücre içi elemanlara özgüdür. Hastalığın ön teşhisine göre o hastalığa ilişkin problar kullanılır (58, 59, 60, 61).

Direkt ve indirekt metodlar olmak üzere iki farklı immünfloresan işaretleme tekniği kullanılır. Direkt yöntemde antikorla konjuge olmuş florokrom madde [fluorescein isothiocyanate(FITC), rhodamin, phycoerythrin(PE)...vb.] kullanılır. İndirekt metotta ise süspansiyon halindeki hücelere ilkin işaretsiz monoklonal antikor bağlanır, bu antikora da işaretli monoklonal antikor bağlanır. Direkt metotta kullanılan antikorun monospesifik olması nedeniyle nonspesifik bağlanma ihmal edilecek kadar azdır. Ancak çok düşük dansiteye sahip yüzey antijenlerinin gösterilememesi bir dezavantajdır. İndirekt metodun avantajı çok düşük dansiteye sahip yüzey antijenlerini gösterebiliyor olmasıdır. Fakat nonspesifik bağlanma daha sık görülmektedir (58, 59, 60, 61).

2.5.2. Akım Sitometrisi Analizi

Akım sitometrisi; örnek toplayıcı ve taşıyıcı sistem, akış sistemi (sheath fluid), lazer kaynağı, sferik ve çapraz silindirik filtreler, odaklama aynaları, sinyal dedektörleri (optik sinyal ve elektrik sinyali), bilgisayar (data toplanması, saklanması, sunumu ve analizi) ve ayırma mekanizması (cell sorting) olmak üzere pek çok sistemin birleşmesinden oluşur.



Şekil 4: Şematik olarak akım sitometrisi analizi (64).

Süspansiyon halindeki işaretli hücreler belirli bir hava basıncı ile akış sisteminden geçirilir ve hücreler akış kabine gelirler. Bu kabinin geometrik şekli ve sıvının laminar akışı hücrelerin tek bir sıra halinde geçişini sağlar ve tek sıra halindeki hücreler lazer ışığı içinden geçerek görünür hale gelirler. Hücreye bağlı florokrom, lazer ışığı ile aktiflenir ve bu enerjiyle ışın yayar. Bu yayılan ışının yoğunluğuna göre hücre boyutu, içyapısı, yüzey morfolojisi ve hücrelerin canlılığı hakkında bilgi edinilir (58, 59, 60, 61).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Düzenegi

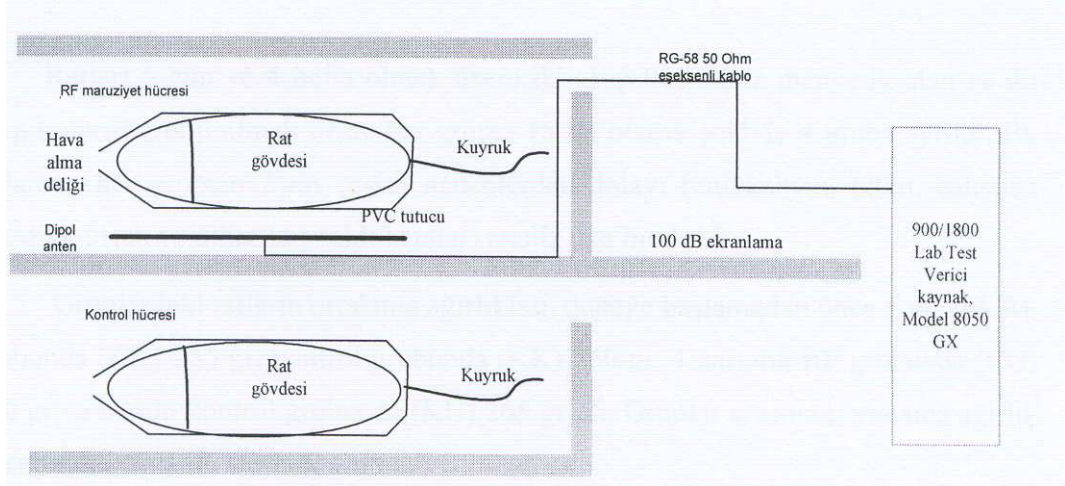
Bu çalışmada; ratlar cep telefonu benzeri sinyallere teker teker maruz bırakıldı.

Gerçekte 900 MHz darbeleri sinyal kullanan cep telefonu sisteminde tekrarlama frekansı 217 Hz ve darbe genişliği 0,6 ms(milisaniye)'dir (65) .

Deneyde kullanılan kaynak tam olarak bu işaretleri üretebilmektedir. Maruziyet esnasında her bir rat PVC (poli vinil klorid) tutucusunda 30 dk (dakika) süreyle tutuldu. Bu esnada kontrol grubundan bir denek hayvan da aynı tür PVC tutucusunda aynı ortam şartlarında RF maruziyetine bırakılmadan 30 dk süreyle tutuldu.

Maruziyet uygulama sistemi Chou ve arkadaşları tarafından uygulanan sistemdir (66). Yarım dalga dipol anten PVC tutucusunun hemen altında (3mm) sabitlendi. Deney odasında kontrol ile maruziyet ortamını birbirinden ayıran elektriksel iletken ekranın 900 MHz'teki ekranlama verimliliği 100 dB (desibel) kadardır. RF kaynak (SET ELEC.CO. 900/1800 Lab Test Transmitter, Model 8050 GX, Istanbul/Turkey) deney odasında bozucu etki oluşturabilecek diğer kaynakları tespit etmek için spektrum analizör PROMAX, AE-566 (Barcelona/Spain) model ve propları kullanıldı. Test vericisinin anteninden yayılan enerji, verici üzerindeki kontrol düğmesinden ayarlanabilmektedir.

Deneyde kullanılan RF emisyon limitleri, 900 MHz cep telefonu için standart kuruluşlarınca sınırlandırılmıştır (FCC, 1993). Deney esnasında emisyonun kurallara uygunluğu Süleyman Demirel Üniversitesi Elektronik Haberleşme Mühendisliği tarafından ölçülerek test edildi.



Şekil 5: Deney düzeneği

Şekil 5’de görüldüğü gibi test cihazını antene bağlayan kablo 50 Ohm’luk özel RF kablosudur. Bu düzenekte kontrol grubu maruziyet grubundan ve çevreden özel bir ekran ile ayrılmaktadır. Deneyin her aşamasında yansımalar, tekrarlar frekansı ve genlik satelitte recevier (PROMAX, MC-877C .Barcelona/Spain) cihazı kullanılarak gözlemlendi. Ayrıca Portable RF Survey System HOLADAY, HI-4417 (MN/USA) cihazı ve bu cihazın probu kullanılarak maruziyet grubunun maruz kaldığı elektrik alan büyüklüğü ölçüldü. Bu cihazın probu üç boyutlu olarak XYZ eksenlerinden gelen RF enerjiye ait elektrik alan büyüklüğünü toplamaktadır. Cihaz, ölçülen değeri sayısal olarak göstermektedir.

Değerlendirme esnasında rat eşdeğeri sayısal ve analog modeller ve bu modellere ait SAR değerleri olarak güç yoğunluğu (mW/cm^2) ve elektrik alan yoğunluğu (V/m) değerlerine ulaşıldı.

Cihaz, bu deney şartlarında hayvanın tüm vücut SAR değerini 0,008 W/kg ile 4,2 W/kg arasında değiştirebilmektedir.

Sonuç olarak, tüm vücutta 0,13 W/kg SAR değerine ulaşacak şekilde rat derisinin hemen üzerinde 5 (V/m) elektrik alan yoğunluğu olacak şekilde cihaz ayarlandı.

3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması

Çalışmamızda 22 haftalık 220–310 gr (gram) ağırlığında (ortalama 260 gr), 60 adet Sprague Dawley türü erkek rat kullanıldı. Ratlar Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarından temin edildi.

Ratlar; 5 gün ve 4 hafta olmak üzere iki grup 900 MHz manyetik alan ve iki grup kontrol grubu olmak üzere her grupta 15 rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Bu ratlardan her gruptan 2 rat çeşitli nedenlerden dolayı (enfeksiyon, ölüm, çalışılan testlerde insan ve cihaz kaynaklı hatalar) analiz dışı bırakıldı.

Gruplardaki ratların ortalama ağırlıkları, deneye başlamadan önce 5 günlük RF grubunda (CK) 255 gr, kontrol grubunda (KK) 260 gr, 4 haftalık RF grubunda (CU) 260 gr ve bunun kontrol grubunda (KU) 265 gr idi. Gruplar arasında ortalama ağırlık bakımından anlamlı bir fark yoktu.

Ratlara elektromanyetik alan uygulaması, Süleyman Demirel Üniversitesi Fizyoloji Elektromanyetik Alan Laboratuvarında yürütüldü. Ratlar standart mevsimsel ışık ve ısı koşullarında (22⁰C) tutuldu. Sınırlama yapılmadan çeşme suyu ve standart rat pellet yemi verildi.

I. 900 MHz Manyetik Alan Grupları:

Manyetik alan maruziyetini sağlamak için yukarıdaki şekilde şeması gösterilmiş olan dipol anten ve içine ancak bir ratın sığabileceği büyüklükteki PVC tutucu kullanıldı. Bu grup ratlar, tutucu içerisinde 900 MHz frekanslı manyetik alana günde 30 dakika maruz bırakıldı. Manyetik alan, 1. gruba 5 gün, 2. gruba da haftada 5 gün olmak üzere 4 hafta boyunca uygulandı. Uygulamanın bitiminden hemen sonra hayvanlardan genel anestezi altında kan alındı.

II. Kontrol Grupları:

3. ve 4. gruplar ise 1. ve 2. manyetik alan grupların kontrolü olarak manyetik alan uygulaması dışında aynı şartlara tabi tutuldu. Manyetik alan gruplardaki ratların manyetik alana maruz bırakılması esnasında dar PVC tutucu içine sokulmalarından dolayı yaşayacakları stresi kontrol gruplarındaki ratların da yaşaması amacıyla bu gruplardaki ratlar da aynı büyüklükteki tutucu içine sokularak manyetik alandan uzak bir ortamda bekletildi.

3.3. Ratlardan Kan Alımı ve Serumun Ayrılması

Ratlar, deney sonunda ketamin + ksilazin ile anestezi edildikten sonra vena cava'dan kan alındı. Kan örnekleri biyokimya tüplerine (Vacuette 8 ml jelli) ve

EDTA'lı tüplere nakledildi. Biyokimya tüplerine alınan kanlar 4000 devir/dk'da 5 dk santrifüj edilerek serumları elde edildi ve 1,5 cc'lik tüplere ayrılarak -20°C ve -80°C de saklandı. EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden manuel lökosit sayımı ve akım sitometri çalışması yapıldı.

3.4. Manuel Lökosit Sayımı

Lökosit sayma eriyiği; 30 ml glasiyal asetik asit, 0,4 gr kristal viole, distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlandı. EDTA'lı tüpe alınan kan lökosit sayma eriyiği ile 10 kat sulandırılarak thoma lamının sayma kamarasına yayılarak ışık mikroskobu altında sayım yapıldı. Bir büyük karedeki hacim $0,1\text{ mm}^3$ tür. Bir mm^3 için sayı 10 ile ve sonra kan 10 defa seyreltildiğinden 10 ile de çarpılıp 1mm^3 teki lökosit sayısı bulundu.

3.5. Akım Sitometrisi Analizi

Lenfositlerin immünofenotiplendirilmesi fluoresan izotiyosiyanat (FITC) veya pikoeritrin (PE) ile direkt bağlı monoklonal antikor(MoAb)'lar kullanılarak yapıldı. Lökosit yüzeylerindeki algaçlar çalışıldı.

Çalışmada kullanılan moAb'lar:

Anti-rat CD3 PE (Katalog no: 554833, BD Pharmingen, USA).

Anti-rat CD4 FITC (Katalog no: 554843, BD Pharmingen, USA).

Anti-rat CD8b FITC (Katalog no: 554973, BD Pharmingen, USA).

Anti-rat CD25 PE (Katalog no: 554866, BD Pharmingen, USA).

Anti-rat CD45 FITC (Katalog no: 554877, BD Pharmingen, USA).

Anti-rat CD45RA PE (Katalog no: 551402, BD Pharmingen, USA).

Çalışmada CD3 PE/CD4 FITC ve CD3 PE/CD8b FITC ile birlikte ikili olarak diğer moAb'lar ise ayrı tüplerde çalışıldı.

1. EDTA'lı tüplere alınan bir hacim (2 ml) venöz kan örneği beş hacim (10 ml) lysis buffer ile 50 ml'lik falcon tüplerinde oda ısısında eritrosit lizisine tabi tutuldu (Lysis buffer: 0,15 M NH_4Cl , 0,01 M KHCO_3 , 100 μM EDTA, 1000 ml distile su).

2. 800 devirde (rpm) 10 dakika santrifuj edildikten sonra pellet 25 ml phosphate buffer saline(PBS)'de çözülerek 1500 devirde 10 dakika santrifuj edildi (PBS: 0,005 M K₂HPO₄, 0,005 M KH₂PO₄, 0,014 M NaCl, 1000 ml distile su).
3. Pellet 2 ml PBS'te çözülüp 100'er µl hücre süspansiyonu 75 mm'lik polipropilen tüplere aktararak moAb'larla birleştirildi. 20 dakika oda ısısında karanlık alanda inkübasyon yapıldı.
4. Tüpler PBS ile doldurulup 1500 devirde 10 dakika santrifuj edildikten sonra pellet 300 µl PBS ile sulandırılıp akım sitometri cihazında okutuldu.

Tüm numuneler akım sitometri ile (FACS Calibur 3A, Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) çalışıldı ve sonuçlar CellQuest Pro yazılımı (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) ile analiz edildi. Sonuçlar forward scatter / side scatter ve side scatter / CD45 grafikleri yardımıyla oluşturulan lenfosit kapısındaki hücrelerin CD ile işaretli hücrelere oranları olarak hesaplandı ve yüzde olarak kaydedildi.

3.6. Sitokin Tayini

Serum sitokin düzeyleri ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemiyle çalışıldı. Bender Medsystems (Bender Medsystems GmbH Campus Vienna Biocenter 2 A-1030 Vienna, Austria, Europe) firmasının kitleri kullanıldı (rat IL-4; BMS628, rat IL-10; BMS629, rat IFN γ ; BMS621, rat TNF α ; BMS622).

Serumlar çalışma gününe kadar -20 °C 'de saklandı ve oda ısısında bir kez çözdürülerek sitokin çalışması için kullanıldı.

ELISA Test Protokolü

1. Kuyucuk tepsiyi iki kez tamponlu yıkama sıvısı (wash buffer) ile yıkandı (tamponlu yıkama sıvısı: 50 ml konsantre tamponlu yıkama sıvısı + 950 ml distile su).
2. Her bir sitokin için kullanılan kalibratörler seri dilüsyon yöntemi ile numune seyreltici ile seyreltildi. Çift taraflı 7'şer kalibratör kuyucuklarına 100'er µl numune seyreltici (sample diluent) eklendi ve çift taraflı ilk kuyucuklara hazırlanan kalibratörden 100'er µl koyularak seri dilüsyon

yapıldı. İlk kuyucuk boş kalacak şekilde 2 kuyucuğa 100'er µl numune seyreltici eklendi. Diğer kuyucuklara 50'şer µl numune seyreltici ve üzerine 50'şer µl serum konuldu.

3. Tüm kuyucuklara 50'şer µl biotin konjugat konuldu. Kuyucuk tepsiyi çalkalayıcıda oda ısısında iki saat inkübe edildi.
4. Kuyucuk tepsiyi üç kez tamponlu yıkama sıvısı ile yıkandı (TNFα dört kez). 100'er µl Streptavidin–HRP eklendi ve çalkalayıcıda oda ısısında bir saat inkübe edildi.
5. Kuyucuk tepsiyi üç kez tamponlu yıkama sıvısı ile yıkandı (TNFα dört kez). 100'er µl TMB substrate solusyonu eklendi ve kuyucuk tepsiyi oda ısısında inkübe edildi (IL–4 ve rat IL–10 10 dakika, TNFα 15, IFNγ 20 dakika).
6. 100'er µl stop solusyonu eklendi.
7. ELISA okuyucusunda (Organon teknika microwell system reader 530) 450 nm dalga boyunda okutuldu.

Sonuçlar curve expert 1,1 quadratik fit analiz programı ile değerlendirildi.

3.7. İstatistiksel Değerlendirmeler

İstatistiksel değerlendirme, "SPSS® 15,0 for Windows" istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Bağımsız farklı iki grubun karşılaştırılması Mann–Whitney U testi ile yapıldı. $p < 0,05$ olan değerler anlamlı kabul edildi. Her grup için ayrı ayrı median, minimum ve maksimum değerler hesaplandı.

4. BULGULAR

900 MHz dalga frekanslı elektromanyetik alanın bağışıklık sistemi üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmada, 5 günlük RF grubu (CK) ve kontrol grubu (KK) ile 4 haftalık RF grubu (CU) ve bunun kontrol grubu (KU)'na ait lökosit, lenfosit alt grupları ve sitokin sonuçları tablo 2 ve 3'te verilmiştir.

Tablolarda grup içi median, minimum ve maksimum değerler ile gruplar arası istatistiksel anlamlılık (p değerleri) da verilmiştir

Tablo 2: Gruplara ait kanda total lökosit sayısı (mm³), lenfosit grup ve alt gruplarının rölatif yüzdelerinin (%) median, minimum–maksimum ve p değerleri.

	GRUPLAR	Median (Min–Maks)	p
Total lökosit	CK	10 600 (7 400–14 000)	0,719
	KK	10 300 (8 100–12 600)	
	CU	10 100 (8 200–16 800)	0,980
	KU	10 600 (7 500–15 000)	
CD3 ⁺ (T lenfositleri)	CK	69,70 (58,00–82,50)	0,898
	KK	70,30 (65,00–86,10)	
	CU	69,00 (54,60–81,60)	0,858
	KU	65,10 (59,70–83,10)	
CD4 ⁺ (Yardımcı T lenfositleri)	CK	39,00 (23,10–52,60)	0,174
	KK	42,90 (33,40–51,20)	
	CU	46,80 (35,60–53,70)	0,837
	KU	46,10 (29,20–57,10)	
CD8 ⁺ (Sitotoksik T lenfositleri)	CK	30,40 (22,50–52,60)	0,608
	KK	30,00 (20,00–44,60)	
	CU	23,40 (20,00–32,50)	0,590
	KU	23,00 (17,50–30,10)	
CD45RA ⁺ (Naif T lenfosit belirteci)	CK	38,90 (25,00–90,00)	0,383
	KK	63,00 (24,90–71,70)	
	CU	68,30 (50,30–89,80)	0,521
	KU	61,90 (11,00–91,00)	
CD45 ⁺ (Panlkosit belirteci)	CK	76,60 (25,00–93,30)	0,980
	KK	75,00 (33,30–99,70)	
	CU	97,30 (94,40–99,10)	0,739
	KU	97,10 (94,60–99,30)	
CD25 ⁺ (T, B lenfosit ve Makrofaj aktivasyon belirteci)	CK	14,50 (2,10–65,00)	0,858
	KK	16,70 (1,10–47,50)	
	CU	22,40 (11,10–46,70)	0,182
	KU	18,00 (7,00–28,50)	

Tablo 3: Gruplara ait kanda sitokin düzeylerinin (pg/ml) median, minimum–maksimum ve p değerleri.

		Median (Min–Maks)	p
IL–4	CK	0,97 (0–2,15)	0,476
	KK	0,06 (0–2,04)	
	CU	0,98 (0–3,18)	0,075
	KU	0,79 (0–3,00)	
IL–10	CK	73,80 (0–153,00)	0,065
	KK	24,70 (0–327,00)	
	CU	81,60 (0–349,70)	0,101
	KU	42,20 (0–181,10)	
TNF– α	CK	20,60 (13,00–31,30)	0,898
	KK	17,00 (13,00–31,50)	
	CU	21,80 (15,00–31,40)	0,979
	KU	20,40 (14,00–45,10)	
IFN– γ	CK	11,00 (4,00–67,50)	0,316
	KK	14,00 (5,00–77,90)	
	CU	15,00 (9,00–143,00)	0,140
	KU	14,00 (5,00–58,00)	

4.1. 900 MHz EMA Grupları ile Kontrol Gruplarının Total Lökosit ve Lenfosit Alt Grup Yüzdelerinin Karşılaştırılması

Çalışmamız, ratların 900 MHz EMA'a 5 gün veya 4 hafta süreyle maruz kalmasının toplam lökosit sayısında, CD3, CD4, CD8, CD45RA ve CD25 yüzdelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yapmadığını göstermiştir ($p>0,05$).

Total lökosit, CD3, CD4, CD8, CD45RA ve CD25 p değerleri kısa (CK–KK) ve uzun (CU–KU) dönem EMA uygulaması için sırayla şöyledir. CD3: $p=0,898$ ve $p=0,858$; CD4: $p=0,174$ ve $p=0,837$; CD8: $p=0,608$ ve $p=0,590$; CD45RA $p=0,383$ ve $p=0,521$; CD25: $p=0,858$ ve $p=0,182$.

4 hafta süreli EMA grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ($p=0,182$) CD25⁺ lenfositlerde artış görülmüştür.

4.2. 900 MHz EMA Grupları ile Kontrol Gruplarının IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ Değerlerinin Karşılaştırılması

Deney hayvanlarının serumlarında sitokin değerleri ölçüldüğünde manyetik alan grupları ile kontrol gruplarının IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmadı ($p>0,05$).

IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ için p değerleri kısa (CK-KK) ve uzun

(CU-KU) dönem EMA uygulaması için sırayla şöyledir. IL-4: $p=0,476$ ve $p=0,075$; IL-10: $p=0,065$ ve $p=0,101$; TNF- α : $p=0,898$ ve $p=0,979$; IFN- γ : $p=0,316$ ve $p=0,140$.

İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da IL-4 değerlerinde 4 haftalık ($p=0,075$), IL-10 değerlerinde ise 5 günlük ($p=0,065$) ve 4 haftalık ($p=0,101$) EMA uygulamasında bir artış görülmüştür.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bağışıklık sistemi çok yönlü ve kapsamlı bir sistemdir. Dolayısıyla bağışıklık sistemi ile ilgili yaklaşımların da multiparametrik olması gerekmektedir. Bu sebeple bu çalışmada bağışıklık sistemini değerlendirmek için total lökosit sayısı, lenfosit alt grupları ve aktivasyon belirteçleri ile sitokin düzeylerini araştırdık.

Yapılan deneylerde GSM ayarlı mikrodalgaların sıçan ve farelerin lenfosit alt gruplarının yüzey fenotiplerine bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (67, 68).

Chagnaud ve Veyret, 10 ardışık gün boyunca günde 2 saat uygulanan GSM ayarındaki (900 MHz, ortalama 55 ve 200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ güçte, 1/8 doluluk oranı, 217 Hz tekrar oranı) mikrodalgaların Sprague–Dawley sıçanlarının lenfosit alt gruplarına ve normal mitojenik yanıtlarına etkisini, akım sitometrisi analizleri ve kolorimetrik metot kullanılarak araştırmışlardır. Splenik lenfositlerin yüzey fenotiplerinde [CD4, CD8, Ia Ag (B hücreler)] veya mitojenik aktivitelerinde herhangi bir değişiklik bulamamış ve düşük seviyede atımlı mikrodalgaların bağışıklık sisteminin bütünlüğüne etkisi olmadığını belirtmişlerdir (67).

Gatta ve ark.'1, 900 MHz GSM ayarında radyasyonun farenin dalak hücrelerine etkisini araştırmışlardır (1, 2 ve 4 hafta süreyle 2 saat/gün 1 veya 2 W/kg SAR maruziyeti). Radyofrekans radyasyon maruziyetinin periferik lenfositler üzerine olası etkilerini değerlendirmek için lenfosit alt gruplarının yüzdeleri ve fonksiyonel parametreler (proliferasyon, aktivasyon belirteçlerinin ekspresyonu, sitokin prodüksiyonu) analiz edilmiştir. 1,2 veya 4 hafta süreyle 1 veya 2 W/kg maruziyetin toplam dalak hücre sayılarına, B ve T lenfosit frekanslarına, T veya B lenfosit alt gruplarının CD69 ve CD25 ekspresyonuna bir etkisi saptanamamıştır. 1 hafta süreyle maruziyetin CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit alt gruplarında da etki oluşturmadığı gösterilmiştir (68).

Cep telefonu frekansında EMA kullanılarak yapılan ve lenfosit alt gruplarının değerlendirildiği insan çalışması literatür taramasında görülmedi. Ancak farklı EMA'ların kullanıldığı bazı çalışmalar mevcuttur.

Graham ve arkadaşlarının 40–60 yaş arasında 22 erkek 24 kadın deneği gece boyunca (23,00–07,00) 50 Hz, 28,3 mikro Tesla (μT) EMA'a maruz bıraktıkları

çalışmada CD3, CD4, CD8 ve NK hücre oranları açısından anlamlı fark bulunamamıştır. Aynı çalışmada total lökosit, monosit, granülosit ve lenfosit sayısı açısından da fark görülmemiştir (69).

Boscol ve ark.'ı radyo-televizyon yayın istasyonlarının çevresinde yaşayan ve bu nedenle en az 2 yıldır (ortalama=13 yıl) elektromanyetik alana maruz kalan kadınlardan aldıkları periferik kan örneklerinde bağışıklık sistemi ile ilgili reaksiyonlar göstermişlerdir. Elektromanyetik alana maruz kalan grupta kandaki NK $CD16^+CD56^+$, sitotoksik $CD3^-CD8^+$, B ve NK ile aktive olmuş $CD3^-HLA-DR^+$ ve $CD3^-CD25^+$ lenfositlerde istatistiksel olarak belirgin azalma görülmüştür. Elektromanyetik alana maruz kalan kadınlarda periferik kan mononükleer hücrelerinin blastogenezinin stimülasyon indeksi kontrol grubundakilerden daha düşük bulunmuştur. $CD3^+$, $CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD25^+$ lenfositlerde ise anlamlı fark görülmedi. Çalışma yüksek frekanslı elektromanyetik alanların kadınların periferik kanlarındaki sitotoksik aktiviteyi bir doz yanıt etkisi olmadan azalttığını göstermiştir (70).

Chagnaud ve Veyret ile Gatta ve ark.'ı, yaptıkları deneylerde bizim de kullandığımız gibi 900 MHz EMA'ı, Graham ve ark.'ı ise akut 50 Hz EMA'ı ve insan denekleri kullanmışlardır. Boscol ve ark.'nın çalışmasındaki EMA ve diğer koşullar ise farklıdır.

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada; 5 gün ve 4 hafta (haftada 5 gün), günde 30 dakika 900 MHz dalga frekansında EMA'a maruz bırakılan ratların lökosit sayısında, CD3, CD4, CD8, CD45RA ve CD25 oranlarında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı. 4 hafta süreli EMA grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ($p=0,182$) lenfositlerde CD25 ekspresyonunda artış görüldü. CD 25 ekspresyonu; T, B lenfosit ve makrofaj aktivasyonunu gösterir. Bu sonuçlar, yukarıda bahsettiğimiz araştırmacıların sonuçları ile uyumludur. Yaptığımız deney koşullarında cep telefonlarından kaynaklanan radyasyon ratların lenfosit alt gruplarında ve lenfosit aktivasyon belirteçlerinde anlamlı bir etki oluşturmadı.

Sitokinler; genelde küçük miktarları ile etkili olan, kısa yarı ömürlü, parakrin ve otokrin aktiviteleri yanında periferik dolaşım ile vücudun uzak bölgelerine

ulaşarak endokrin aktivite gösterebilen moleküllerdir. Bazı durumlarda serumda saptanabilir konsantrasyonlara ulaşabilirler.

Çalışmamızda serum örneklerinde Th1 cevabını değerlendirmek için TNF- α ve IFN- γ , Th2 cevabını değerlendirmek amacıyla da IL-4 ve IL-10 konsantrasyonları ölçüldü.

Gatta ve ark.'ı, 900 MHz GSM ayarında radyasyonun (1, 2 ve 4 hafta süreyle 2 saat/gün 1 veya 2 W/kg SAR maruziyeti) farenin dalak hücrelerine etkisini araştırdıkları çalışmada sitokin salgılanmasını da değerlenmişlerdir. Dalak hücre kültürlerinden elde edilip anti-CD3 ve anti-CD28 mAb ile stimüle edilen süpernatantlar IL-2 ve IFN- γ varlığı için analiz edilmiştir. Sonuçlar 1, 2 veya 4 hafta süreyle maruziyetin IL-2 üretimine etki etmediğini göstermiştir. Bununla beraber, farenin T lenfositleri 1 hafta süreyle 1 veya 2 W/kg RF radyasyona maruz kaldığında kontrol grubu veya yalancı maruziyet uygulanan gruba göre IFN- γ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. İlginç olarak, maruziyetten 2 veya 4 hafta sonra IFN- γ üretimi bütün gruplarda benzer seviyelerde tespit edilmiştir (68).

Tuschl ve ark.'ı tarafından yapılan çalışmada insan kanı kullanılarak bağışıklık hücreleri 1950 MHz GSM Basic, 1 mW/g SAR ve aralıklı modda (5 dk sinyal açık, 10 dk kapalı) ve maksimum 0,06 °C ısı değişimi olan ortamda 8 saat süresince ışınlanmıştır. Lenfositlerde IL-2 ve INF- γ , monositlerde IL-1 ve TNF- α intraselüler üretimi monoklonal antikorlar kullanılarak değerlendirilmiştir. Bağışıklıkla ilişkili genlerin aktiviteleri [IL-1 α ve β , IL-2, IL-2 algacı, IL-4, makrofaj koloni stimulating faktör (MCSF) algacı, TNF- α , TNF- α algacı] ve housekeeping genler real time PCR ile analiz edilmiştir. Lenfokin aktive killer hücrelerin (LAK hücreler) bir tümör hücre dizisine karşı sitotoksitesi akım sitometrik test kullanılarak gösterilmiştir. Işınlamanın istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi gösterilememiş ve mobil telefonlardan kaynaklanan emisyonların insan bağışıklık sistemine yan etkileri ile ilgili bir belirti bulunmamıştır(71).

Biz, deneyde kullandığımız 900 MHz RF radyasyonu dışında, farklı EMA ve koşulların olduğu çalışmaları da inceledik.

Ikeda ve ark.'nın yaptığı çalışmada aşırı düşük frekanslı manyetik alanlara maruziyetin sağlıklı gönüllü erkeklerden elde edilen insan periferik kan mononükleer hücrelerinin bağışıklık fonksiyonları üzerine etkileri; NK ve Lenfokinle Aktive Killer(LAK) aktiviteleri ile INF- γ , TNF- α , IL-2 ve IL-10 üretimi ölçülerek değerlendirilmiştir. Periferik kan mononükleer hücreler üç farklı elektromanyetik alana maruz bırakılmış: 50 ve 60 Hz'de doğrusal polarize (vertikal), dairesel polarize ve eliptik polarize. Manyetik değişim yoğunlukları vertikal alanda 500, 100, 20 ve 2 μ T(rms) olarak, döngüsel alanlarda 500 μ T olarak ayarlanmıştır. Deney çeşitlerinin tamamında 1 μ l/ml fitohemaglutinin ile stimüle edilen insan periferik kan mononükleer hücreler tarafından üretilen IL-10, TNF- α ve INF- γ 'nın üretiminde istatistiksel anlamlı supresyon ya da artış görülmemiştir (72).

Boscol ve ark'ın, radyo-televizyon yayın istasyonlarının çevresinde yaşayan ve bu nedenle en az 2 yıldır (ortalama=13 yıl) elektromanyetik alana maruz kalan kadınlardan aldıkları periferik kan örneklerinde PHA (fitohemaglutinin) ile inkübe edilmiş olan ve olmayan periferik kan mononükleer hücrelerinin in vitro ürettiği IL-2 ve INF- γ , kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük bulunmuştur. Diğer yandan, maruziyet altındaki kadınlar ve kontrol grubu arasında periferik kan mononükleer hücrelerin IL-4 ve IL-5 üretiminde anlamlı bir fark görülmemiştir(70).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada; kısa ve uzun süreli 900 MHz EMA'a maruz bırakılan ratların serum IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunamadı. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da IL-4 değerlerinde 4 haftalık (p=0,075), IL-10 değerlerinde ise 5 günlük (p=0,065) ve 4 haftalık (p=0,101) EMA uygulamasında bir artış görüldü. Gatta ve ark'nın çalışmasında 1 hafta süreyle uygulamada buldukları IFN- γ artışı bizim sonucumuz ile çelişmektedir. Ancak 4 haftalık EMA uygulamasında IFN- γ düzeylerinde fark oluşmaması bizim sonucumuz ile uyumludur. Boscol ve ark'nın çalışmasının şartları farklı olmakla birlikte INF- γ düzeylerini kontrol grubuna göre düşük bulmuşlardır. Bizim sonuçlarımız Gatta ve ark'nın çalışmasındaki 1 hafta süreyle uygulamada buldukları IFN- γ artışı ve Boscol ve ark'nın bulduğu INF- γ düşüklüğü haricinde yukarıda bahsettiğimiz araştırmaların sonuçları ile uyumludur.

İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da IL-4 değerlerinde 4 haftalık, IL-10 değerlerinde ise 5 günlük ve 4 haftalık RF uygulamasında bulduğumuz yükselme 900 MHz EMA'nın Th2 hücre cevabında artış oluşturabileceğini düşündürmektedir. Ancak bağışıklık sistemini bir bütün olarak ele aldığımızda bu sistemin bir parametresinde meydana gelen küçük bir değişikliğin sağlık açısından olumsuz etki oluşturması zordur. Cep telefonlarından kaynaklanan radyasyonun sitokin yanıtı açısından istatistiksel anlamlı bir etki oluşturmadığı ve bağışıklık sisteminin bu yönünün de etkilenmediği görüldü.

Sonuç olarak cep telefonu frekansında 900 MHz EMA kullanarak ratlar ile yaptığımız çalışmamızdaki veriler, baktığımız parametreler açısından bağışıklık sistemi üzerine istatistiksel olarak anlamlı olumsuz bir etki göstermemiştir. Bu çalışmadaki sonuçlar ve güncel literatür bilgileri, cep telefonu frekansındaki radyasyonun bağışıklık sistemine etkili olmadığı düşüncesini desteklemektedir. Ancak bu konuda daha ileri düzeyde ve uzun süreli çalışmalar yapılması gerekmektedir.

6. ÖZET

Son yıllarda cep telefonlarından yayılan 900 MHz radyo dalgası (RF) yan etkileri üzerine yapılan çalışmalar hızla artmaya başlamış ve popüler araştırma konularından biri olmuştur.

Biz, 900 MHz RF'nın rat lenfosit alt grup yüzdeleri ve lenfositler üzerindeki olası etkilerini in vivo ve kontrollü olarak çalışmayı amaçladık. Hem lenfosit alt grupları ile aktive lenfosit yüzdelerini, lenfosit hücre yüzey algaçlarını, florokrom maddelerle işaretlenmiş antikörlerle boyayıp akım sitometrik olarak inceledik; hem de serum sitokin düzeylerini Th1 ve Th2 baskın yanıtını anlayabilmek için ölçtük.

22 haftalık Spraque Dawley türü ratlar, sırasıyla 5 gün veya 4 hafta (haftada 5 gün) hergün 30 dakika 900 MHz RF manyetik alana maruz bırakılmış 2 RF grubu ve 2 kontrol grubuna ayrıldı. Kontrol grupları da manyetik alan uygulanması dışında aynı şartlara tabi tutuldu.

Çalışmaya analiz için her gruptan 13 rat dahil edilirken, enfeksiyon ve teknik problemler nedeniyle her gruptan 2 rat çalışmadan dışlandı.

Toplam lökosit sayısında, CD3, CD4, CD8, CD45RA ve CD25 lenfosit yüzdeleri ve IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde kısa dönem RF- kontrol ve uzun dönem RF-kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yoktu.

Sonuç olarak kısa dönem ve uzun dönem maruziyette RF ve karşılığı olan kontrol grupları arasında fark yoktu. Daha önceki çalışmalarla paralel olan sonuçlarımız cep telefonu RF maruziyetinin ratların bağışıklık sistem fonksiyonlarını değiştirmedini desteklemektedir.

Anahtar sözcükler: 900 MHz RF, rat, in vivo, lenfosit alt grupları, sitokin.

7. SUMMARY

The researches about the side effects of the 900 MHz radio-frequency (RF) radiation spread from cellular phones have increased and became one of the popular research areas.

We aimed to study the effect of 900 MHz RF on rat lymphocyte subgroup percentages and the possible activation effect on lymphocytes in a controlled in vivo study.

We detected lymphocyte subgroup and activated lymphocyte percentages by flow cytometric analysis with fluorochrome labeled antibodies bound to surface antigens of lymphocytes and detected serum cytokine profile of rats to figure out Th1 or Th2 dominance after RF exposure.

Twenty-two weeks old Sprague Dawley rats were divided into two RF and two respective control groups of which RF groups were exposed to 5 days or 4 weeks (5 days in a week) of 900 MHz RF magnetic fields for 30 minutes each day. Control group rats were kept in the same conditions except RF exposition. 13 rats of each group were included for analysis for the study where 2 rats from each group were excluded from the study because of infection and technical problems.

There were no statistically significant differences between short term RF-control and long term RF-control groups in total leucocyte count, CD3, CD4, CD8, CD45RA and CD25 lymphocyte percentages and in serum IL-4, IL-10, TNF- α and INF- γ concentrations.

As a result, there were no difference between RF and respective control groups in both short term and long term exposure. Our results, which were in parallel with previous studies, support that 900 MHz RF exposure does not change the immune system functions in rats.

Key words: 900 MHz RF, rat, in vivo, lymphocyte subgroups, cytokine.

8. KAYNAKLAR

1. Cleary SF, Liu LM, Merchant RE. In vitro lymphocyte proliferation induced by radio-frequency electromagnetic radiation under isothermal conditions. *Bioelectromagnetics*. 1990;11(1):47–56.
2. French PW, Penny R, Laurence JA, McKenzie DR. Mobile phones, heat shock proteins and cancer. *Differentiation*. 2001; 67(4–5):93–7.
3. Repacholi MH, Basten A, Gebiski V, Noonan D, Finnie J, Harris AW. Lymphomas in E mu-Pim1 transgenic mice exposed to pulsed 900 MHz electromagnetic fields. *Radiat Res*. 1997; 147(5):631–40.
4. Elektromanyetik dalgalar ve insan sağlığı sıkça sorulan sorular ve yanıtları Tubitak bilten.2001. www.biltek.tubitak.gov.tr/sandik/gsm.pdf (erişim tarihi: 25.03.2008).
5. www.cellular.co.za/gsm (erişim tarihi: 24.01.2007).
6. <http://www.emk.gazi.edu.tr/konferans.htm>. (erişim tarihi: 07.03.2007.)
7. Male D., Champion B., Cooke A. , Owen M.(ed.) The İmmune System. In *Advanced Immunology*. 2nd Ed. London , Gower Med Publ .1991 p.:1–15.
8. Male D., Roitt I . Adaptive and Innate Immunity In *Immunology*. İn: Roitt I. Brostoff J. Male D.(Eds), 2nd Ed. London, Churchill & Livingstone. 1989 p. :1–10.
9. Janeway CA jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002; 20:197–216.
10. Peter J. Delves D. Ivan M. The İmmune System. *N. Engl. J. Med*. 2000; 343:37–49.
11. Haynes BF. Fauci AS. Introduction of the İmmune System. İn.: Braunwald E. Fauci AS. Kasper DL (eds.) . *Harrison's Principles of İnternal Medicine*. 15nd Ed. New York, Mc Graw–Hill, 2001, p: 1805–1830.
12. Kuby H. Overview of the İmmune system and cell and organs of the immune system. İn *Immunology*. 3rd Ed. W.H. Freeman and Company, USA. 1997: 1–83.
13. Fike DJ. Cells and tissues of the immune system. İn: Sheehan C (ed.) *Clinical Immunology Principles and Laboratory Diagnosis* 2nd Ed.Philadelphia : Lippincott – Raven Publishers , 1997 p.: 7–18.
14. Punt JA, Singer A. T cell development. In: Rich RR, Fleisher TA, Schwartz BD, Shearer WT, Strober W (eds) . *Clinical Immunology Principles and Practice* 1nd Ed. St Louis, Mosby , 1997, p.: 157–176.
15. Dalva K, Beksaç M. Mononükleer hücrelerin maturasyonu. Ustaçelebi Ş.(editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara : Güneş Kitabevi ,1999, s.:153–159.
16. Kılıçturgay K. Kan hücrelerinin gelişimi. *İmmünoloji*. Bursa. Nobel &Güneş Kitabevi. 2003,s. :15–51.
17. Kindt TJ, Osborne BA. Cell & Organs of the Immune System. İn: Goldsby RA (ed.) . *Kuby Immunology*. 2nd Ed. New York. WH Freeman, 1994, p.:162–256.
18. Imboden JB. T Lymphocytes & Natural Killer Cells. In Stites DP, Terr AI, Parslow TG (eds). *Medical Immunology*. 9nd Ed. California , Appleton & Lange , 1997 , p.:130–145.

19. Robey E, Fowlkes BJ. Selective events in T cell development. *Annu Rev Immunol.* 1994;12:675–705.
20. Anderson G, Hare KJ, Jenkinson EJ. Positive selection of thymocytes: the long and winding road. *Immunol Today.* 1999; 20(10):463–8.
21. Chinen J, Finkelman F, Shearer WT. Advances in basic and clinical immunology. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 118(2):489–95.
22. Weiss A, Littman DR. Signal transduction by lymphocyte antigen receptors. *Cell.* 1994; 76(2):263–74.
23. Samelson LE, Donovan JA, Isakov N, Ota Y, Wange RL. Signal transduction mediated by the T-cell antigen receptor. *Ann N Y Acad Sci.* 1995 Sep 7;766:157–72.
24. Weiss A, Irving BA, Tan LK, Koretzky GA. Signal transduction by the T cell antigen receptor. *Semin Immunol.* 1991;3(5):313–24.
25. Aybay C. Antijen tanınması, salgısal ve hücresele immün yanıt. Ustaçelebi Ş.(ed.). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji.* Ankara : Güneş Kitabevi, 1999 s.: 177–185.
26. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000; 85(1):9–18;
27. Araslı M. Lökosit yüzey molekülleri. Yılmaz MT, Deniz G.(editörler). *Flow Cytometry ve Tıpta Kullanımı.* İstanbul: Bilim Medya Grup. Aktüel Tıp Dergisi, 1999s.:21–32.
28. Poppema S, Lai R, Visser L, Yan XJ. CD45 (leucocyte common antigen) expression in T and B lymphocyte subsets. *Leuk Lymphoma.* 1996; 20(3–4):217–22.
29. Sasada T, Reinherz EL. A critical role for CD2 in both thymic selection events and mature T cell function. *J Immunol.* 2001; 166(4):2394–403.
30. Takahashi T, Kuniyasu Y, Toda M, Sakaguchi N, Itoh M, Iwata M, Shimizu J, Sakaguchi S. Immunologic self-tolerance maintained by CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells: induction of autoimmune disease by breaking their anergic/suppressive state. *Int Immunol.* 1998; 10(12):1969–80.
31. Thornton AM, Shevach EM. CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production. *J Immunol.* 1998; 161(2):287–96
32. Malek TR, Yu A, Vincek V, Scibelli P, Kong L. CD4 regulatory T cells prevent lethal autoimmunity in IL-2Rbeta-deficient mice. Implications for the nonredundant function of IL-2. *Immunity.* 2002; 17(2):167–78.
33. Fehérvári Z, Sakaguchi S. CD4+ Tregs and immune control. *J Clin Invest.* 2004; 114(9):1209–17.
34. O'Garra A, Vieira PL, Vieira P, Goldfeld AE. IL-10-producing and naturally occurring CD4+ Tregs: limiting collateral damage.. *J Clin Invest.* 2004; 114(10):1372–8
35. Asano M, Toda M, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *J Exp Med.* 1996; 184(2):387–96.
36. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.* 1995; 155 (3):1151–64.

37. Marie JC, Letterio JJ, Gavin M, Rudensky AY. TGF-beta1 maintains suppressor function and Foxp3 expression in CD4+CD25+ regulatory T cells. 2005; 201(7):1061-7.
38. Hesse M, Piccirillo CA, Belkaid Y, Prufer J, Mentink-Kane M, Leusink M, Cheever AW, Shevach EM, Wynn TA. The pathogenesis of schistosomiasis is controlled by cooperating IL-10-producing innate effector and regulatory T cells. *J Immunol.* 2004; 172(5):3157-66.
39. Bi Y, Liu G, Yang R. Th17 cell induction and immune regulatory effects. *J Cell Physiol.* 2007; 211(2):273-8.
40. Ciccone E, Moretta A, Moretta L. Specific functions of human NK cells. *Immunol Lett.* 1992; 31(2): 99-103.
41. Özbal Y. Lenfoid organ ve hemopoyetik hücreler. Lenfosit. *Temel İmmünoloji*.1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1999 s: 1-68.
42. Yokoyama WM. Recognition structures on natural killer cells. *Curr Opin Immunol.* 1993; 5(1):67-73.
43. Warren HS, Smyth MJ. NK cells and apoptosis. *Immunol Cell Biol.* 1999; 77(1):64-75.
44. Bilgehan H. *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi.* İzmir. Barış Yayınları; 1999Ss. :81-92.
45. Bolaman Z, Müftüoğlu E, Bilgiç O, Ertan S. *İmmünoloji .Müftüoğlu E. Ed.).*İzmir, Saray Medikal Yayıncılık;1993 s.:77-100.
46. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. In; Parslaw TG, Stites OP, Terr AI, Imoden JB (eds). *Lange Medical Immunology.* 10nd Ed. New York: Lange Medical books/Mc Graw Hill;2001pp.:148-167.
47. Elgert KDA. *Immunology: Understanding the Immune System.* New York: Wiley Liss, A Jhon Wiley & Sons Inc Publishing Company;1996 p.:199-217.
48. Sharon J. *Basic Immunology.* Baltimore: Williams & Wilkins A Waverly Company; 1998 p.:107-123.
49. Erken E. Sitokinler. *Aktüel Tıp Dergisi* 1998; 3: 98-109.
50. Abbas AK, Lichtman AK, Rober JS (Eds). *Cytokines. Cellular And Molecular Immunology* 3nd Ed. Philadelphia: WB Saunders Company: 1997,p.:249-278.
51. Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol.* 1993;11:165-90
52. Vilcek, J. The cytokines: an overview. *The cytokines handbook.* In: Thomson AW, Lotze MT (Eds). 4nd Ed. Elsevier Science Ltd.2003 p.:3-19.
53. Jansen JH, Fibbe WE, Willemze R, Kluin-Nelemans JC. Interleukin-4. A regulatory protein. *Blut.* 1990; 60(5):269-74.
54. Takeda K, Kishimoto T, Akira S. STAT6: its role in interleukin 4-mediated biological functions. *J Mol Med.* 1997; 75(5):317-26.
55. O'Garra A, Murphy K. Role of cytokines in development of Th1 and Th2 cells. *Chem Immunol.* 1996;63 :1-13.

56. Gooding LR. Virus proteins that counteract host immune defenses. *Cell*. 1992; 71(1):5–7
57. Jäättelä M. Biologic activities and mechanisms of action of tumor necrosis factor–alpha/cachectin. *Lab Invest*. 1991; 64(6):724–42. .
58. Bilgiç S. Flow cytometry'nin çalışma mekanizması ve prensipleri. Yılmaz M.T. Deniz G.(editörler). *Flow Cytometry ve Tıpta Kullanımı*. İstanbul. Bilim Medya Grup. Aktüel Tıp Dergisi, 1999s.:1–9.
59. McCoy JP, Basic principles in clinical flow cytometry. In: Keren DF, Hanson CA, Hurtubise PE (eds). *Flowcytometry and Clinical Diagnosis*, Chicago: American Society of Clinical Pathologist Press, 1994; p.:26–55.
60. Nguyen A, Henry J.: Principles of Instrumentation. In: Henry J. (Ed). *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 20 nd Ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2001, p.:60–78.
61. Paxton H, Cunningham–Rundles S, and O'Gorman M.R.G., Laboratory evaluation of the Cellular Immun System. In: Henry JB (ed). *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 20 nd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001, p.:850–877.
62. Carey JL, Hanson CA, Flow cytometric analysis of leukemia and lymphoma. In: Keren DF, Hanson CA , Hurtubise PE, (ed) *Flowcytometry and Clinical Diagnosis*, Chicago: American Society of Clinical Pathologist Press, 1994; p.:197–308.
63. Stelzer GT, Marti G, Hurley A, McCoy P, Lovett EJ, Schwarz A. U.S.–Canadian consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematologic neoplasia by flow cytometry: standardization and validation of laboratory procedures. *Cytometry (Communication in Clinical Cytometry)*.1997; 30:214–230.
64. http://biology.berkeley.edu/crl/flow_images/fig1.gif.
65. Kuster, N. Compliance testing of handheld mobile communications equipment. In G. L. Carlo (Ed.), *Wireless phones and health: Scientific progress* Norwell, MA: Kluwer Academic Press. 1998 p.: 4754.
66. Chou CK, Chan KW, McDougall JA, Guy AW. Development of a rat head exposure system for simulating human exposure to RF fields from handheld wireless telephones *Bioelectromagnetics*. 1999;Suppl 4:75–92.
67. Chagnaud JL, Veyret B. In vivo exposure of rats to GSM–modulated microwaves: flow cytometry analysis of lymphocyte subpopulations and of mitogen stimulation. *Int J Radiat Biol*. 1999; 75(1):111–3.
68. Gatta L, Pinto R, Ubaldi V, Pace L, Galloni P, Lovisolo GA, Marino C, Pioli C. Effects of in vivo exposure to GSM–modulated 900 MHz radiation on mouse peripheral lymphocytes. *Radiat Res*. 2003; 160(5):600–5.
69. Graham C, Sastre A, Cook MR, Gerkovich MM. All–night exposure to EMF does not alter urinary melatonin, 6–OHMS or immune measures in older men and women. *J Pineal Res*. 2001; 31(2):109–13.
70. Boscol P, Di Sciascio MB, D'Ostilio S, Del Signore A, Reale M, Conti P, et al.. Effects of electromagnetic fields produced by radiotelevision broadcasting stations on the immune system of women. *Sci Total Environ*. 2001; 273(1–3):1–10.

71. Tuschl H, Novak W, Molla-Djafari H. In vitro effects of GSM modulated radiofrequency fields on human immune cells. *Bioelectromagnetics*. 2006; 27(3):188–96.
72. Ikeda K, Shinmura Y, Mizoe H, Yoshizawa H, Yoshida A, Kanao S, et al. No effects of extremely low frequency magnetic fields found on cytotoxic activities and cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Bioelectromagnetics*. 2003; 24(1):21–31.