

38217

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

**ELEKTRİK ALANIN DOKU  
HİDROKSİPROLİN DÜZEYİNE  
ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GÖKNUR GÜLER**

**TEZ YÖNETİCİSİ  
DOÇ. DR. NESRİN SEYHAN**

**ANKARA - 1994**

## İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
1. Giriş.....	1
2. Genel Bilgiler.....	4
2.1. Tarihçe.....	4
2.2. Elektrik Alan ve Sığa .....	11
2.3. Membran'ın Elektrik Özellikleri.....	20
2.3.1. Hücre Zarı İçin Elektriksel Eşdeğer Devreler.....	21
2.3.1.1. Pasif Zar Modeli ve Kablo Teorisi.....	21
2.3.1.2. Aktif Zar İçin Elektriksel Eşdeğer Devre.....	23
2.4. Dokuların Elektrik Özellikleri.....	25
2.5. Modelleme Çalışmaları: Doku Elektrik Alanı ve Akımların Saptanması.....	35
2.6. Kollagen'in Yapısı ve Elektriksel Özellikleri.....	42
3. Materyal ve Metot.....	47
3.1. Materyal.....	47
3.2. Metot.....	48
3.2.1. Çalışma Grupları.....	48
3.2.2. Elektrik Alanın Oluşturulması.....	49
3.2.2.1. Dikey Elektrik Alanın Uygulanması ve Gerilim Devresi... 50	
3.2.2.2. Yatay Elektrik Alanın Uygulanması ve Gerilim Devresi... 50	
3.2.3. Elektrik Alanın Hesaplanması.....	54
3.2.3.1. Dikey Elektrik Alanın Hesaplanması.....	54
3.2.3.2. Yatay Elektrik Alanın Hesaplanması.....	56
3.2.4. Karaciğer Dokusunda Hidroksiprolin Miktar Tayini.....	58

3.2.4.1. Dokuların Alınması ve Örnek Solüsyonların Hazırlanması.....	59
3.2.4.2. Spektrofotometrik Okuma ve Hidroksiprolin Miktarının Hesaplanması .....	60
3.2.4.3. İstatistik Değerlendirmede Kullanılan Testler.....	64
4. Bulgular ve Sonuçlar.....	75
4.1. Sonuçlar.....	77
5. Tartışma.....	79
6. Özet.....	90
7. Summary.....	91
8. Ekler.....	92
8.1. Tablolar.....	92
8.2. İstatistik Değerlendirmelere Ait Bilgisayar Çıktıları.....	95
8.3. Kısaltmalar.....	98
9. Kaynaklar.....	99
10. Özgeçmiş.....	111

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Elektrik alanın dokuya etkisi çok sayıda araştırmanın konusunu teşkil etmektedir. Bu konudaki araştırmaların cazibesini hücrenin sahip olduğu elektrik özellikler nedeni ile, elektriksel değişimlere karşı duyarlı olması oluşturmaktadır. Elektrik alanlardan farklı biçimde etkilenebilen farklı kısımlardan oluşan ve homojen olmayan bir yapıya sahip olan membranlar, yüzeylerine dik olarak uygulanan elektrik alanlar için gözenekli katılar gibi davranırlar. Elektrik alanların membran iletkenliği üzerinde değişiklik yapabilmesine bağlı olarak membranlar, çeşitli iyonlara karşı gözenekliliklerini değiştirebilecek yapıya sahiptirler<sup>13,16,39,50,70,93</sup>. Hücre membranları arasında iyon ve moleküllerin geçişine ilişkin bu değişim hücrenin performansı veya yapısını oluşturdukları dokuların performansında değişimlere neden olur. Örneğin kalp kası her biri özel işlevler üstlenmiş değişik türden hücrelerden oluşur. Bir kısmı kalbin otomatik ritmini oluştururken, bir kısmı uyarı iletimini, diğer bir kısmı ise kasılma işlevlerini üstlenmiştir. Kalpte kasılma işlevini gören hücrelerden geçen olumsuz bir akım kalbin çalışma temposunu ve pompalama kapasitesini değiştirir<sup>71,93</sup>.

Elektrik alanın metabolik, davranışsal, fizyolojik ve immunolojik etkileri bakteriler, böcekler, bitkiler ve memeli hücreler gibi değişik sistemlerde incelenmiştir<sup>16,21,24,27,31,35,36,37,43,50,56,59,60,77,83</sup>.

Çok sayıda araştırmacı ise kemik iyileşmesinin elektrik alan ve elektrik akımı ile hızlandırılması üzerine çalışmışlardır<sup>4,9,12,32,33</sup>. Bu konuda yeni olan ve henüz araştırılmaya başlanan ise evre Elektrik Alanı ile Doku Elektrik Alanı etkileşimidir. Enerji hatları, elektrik motorları ve modern hayatın gereği olan tüm elektrikli araç ve gereçlerin herbiri birer elektrik alan kaynağıdır. En önemli etki

güç dağıtım sistemlerinin ürettiği yayılan alanlardır. Çevremizde hepimizin maruz kaldığı elektrik alanları şöyle sıralayabiliriz<sup>87,93,97</sup>.

**a) Atmosferdeki DC Elektrik Alan:**

- . Normal havada: 120-150 V/m
- . Yıldırımlı havada: 10.000 V/m

**b) Elektrikli ev aletlerinin elektrik alanı:**

- . Elektrik ampülü: 2 V/m
- . Saç kurutma makinası: 40 V/m
- . Mikser: 50 V/m
- . Elektrikli tren: 60 V/m
- . Elektrikli battaniye: 250 V/m
- . Yüksek gerilim kablosu: 8000 V/m

Dışarıdan uygulanan elektrik alanların yanısıra canlı organizmasında daima mevcut olan elektriksel olayları şu şekilde özetleyebiliriz:

. Isısal, kimyasal ve mekanik etkilerden dolayı, sinir hücrelerinden beyne elektriksel uyarılar gider ve buna karşılık sinir sistemi kas ve bez fonksiyonları için elektriksel uyarılar doğurur. Merkezi sinir sistemi 1000 kadar farklı türden, 75 trilyon ( $10^{12}$ ) dolayında sinir hücresinden oluşmuş dev bir elektronik sistemdir<sup>39,83,93</sup>.

. İnsan ve hayvanların vücut yüzeylerinde eş potansiyel çizgilerinin var olduğu ve ölçülebileceği; bu çizgilerin sinir sistemi dağılımına dik olduğu ve omuriliğin diğer vücut bölgelerine göre daha pozitif potansiyele sahip olduğu saptanmıştır<sup>7,8,14</sup>.

. Kemik büyümesi ve yaralanmadan sonraki kemik gelişimi elektrik akımıyla ilişkilidir. Çünkü kemiğin protein içeriği olan kollagen piezoelektrik yapıdadır. Kemik strese maruz kaldığında elektriksel potansiyel oluşur. Bu potansiyel büyümeyi stimüle eder. Kollagen ve kemiğin yapısındaki minerallerin yarı iletkenliği 1964'te saptanmıştır<sup>4,9,12,32,33,44,57,68,84,85,102</sup>.

. İstirahat halindeki hücrenin içi ve dışı arasında 60 mV-100 mV'luk potansiyel fark vardır. Hücrenin iç ve dış ortamı arasındaki potansiyel fark  $10^7$  V/m'lik elektrik alan meydana getirirken,  $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ 'lik kapasitans (sığa) yaratır<sup>39,70,83</sup>.

Gerek dışarıdan uygulanan gerekse biyolojik sistemlerde mevcut olan elektrik alanlar dokular üzerine farklı şekillerde enerji transfer ederler<sup>93</sup>:

1. Elektrik alanlar, bir atomun serbest elektronlarına kinetik enerji verir.

2. Elektrik alanlar, atom ve moleküldeki elektrik dipollere etki eder.

Polarizasyon olarak isimlendirilen bu olaya ilişkin sürtünme nedeniyle dokularda ısı oluşur.

Canlı organizmada bulunan hücrelerin oluşturduğu elektrik alan; çevredeki (atmosfer) doğal elektrik alan ve tüm elektrikli aletlerin elektrik alanından etkilenmektedir. Bu nedenle çalışmamızda dışarıdan uygulanacak olan elektrik alanın vücut elektrik alanı ile etkileşiminin kollagen sentezine etkisi araştırıldı. Çalışmanın başlangıcında kollagen sentezinin elektrik alanının değişik vektörel uygulamalarından farklı etkileneceği hipotezlendi. Bu hipotezlemenin doğruluğunu uygulanan elektrik alanı yönünü  $90^\circ$  değiştirerek araştırdık. Bu nedenle etkisi incelenen her şiddetteki elektrik alanın yönü değiştirilerek ve fakat aynı şiddette tekrar uygulanarak kollagen sentezine etkisi araştırıldı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. TARİHÇE

Elektrik alan ve ELF (Extremely Low Frequency) etkisi insanlarda ve hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarda dört konuda incelenmiştir:

- . Nörofizyolojik ve davranışsal
- . Biyokimyasal
- . Klinik ve fizyolojik
- . Üreme ve ölüm

#### Nörofizyolojik ve Davranışsal

Gavalas ve arkadaşları (1970-1976), ilk çalışmalarında maymunları 7-75 Hz'de 1-100 V/m'lik elektrik alana maruz bırakmışlardır. Önceden şartlandırılmış 5 sn'lik aralıklarla cevap veren maymunlarda 7 Hz'de 7 V/m ve 10V/m'lik elektrik alanlarda cevap aralığının sırasıyla 0.4 sn ve 0.12 sn'ye indiği gözlenmiştir. Diğer çalışmalarında ise 20 dakika süreyle 6 Hz ve 16 Hz'de civciv beynine 10 kV/m'lik, kedi beynine ise 56 kV/m'lik elektrik alan uygulamışlar ve beyindeki Ca salınımının azaldığını saptamışlardır. 1976 yılında yaptıkları başka bir araştırmada da 10 kV/m (7 Hz) ve 56 kV/m (7 Hz ve 75 Hz)'lik elektrik alanın maymunlarda EEG piklerinde değişime neden olduğunu gözlemişlerdir<sup>35,36,37</sup>.

Kaczmarek ve Adey, kedi beyinde agar elektrodlar yardımıyla 20-60 mV/cm'lik elektrik alan oluşturarak  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  ve GABA (Gama Amino Bitirik Asit) salınımında artış saptamışlardır<sup>50</sup>.

Bawin ve arkadaşları, 0.5, 3, 6, 9, 11, 16, 20, 25 ve 35 Hz'de 2-5 mV/mm'lik elektrik alanın kedi beyindeki  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  salınımına etkisini

araştırdılar. Sonuçta beyindeki  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  salınımının 6 Hz'de % 10.1, 9 Hz'de %14.3, 11 Hz'de % 16, 16 Hz'de %18.5, 20 Hz'de ise %9.5 arttığını ancak 25 Hz ve 35 Hz'de bir değişim olmadığını tespit etmişlerdir<sup>13</sup>.

Civciv beyin dokusunda yapılan in vitro araştırmada 16 Hz'de 6-40 V/m'lik elektrik alanın Ca salınımını artırdığı saptanmıştır<sup>16</sup>.

12 saat süreyle 7 gün boyunca 60 Hz'de 30 kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan gorillerin çevreyle ilişkilerinde ve gerginlik durumunda bir değişim gözlenmezken, aynı elektrik alana 3 hafta boyunca maruz bırakıldıklarında gorillerin çevreyle ilişkilerinde % 28 ve gerginliklerinin % 40 arttığı gözlenmiştir. Bu sonuç elektrik alana maruz kalma süresinin önemli olduğunu ortaya koymaktadır<sup>21,27</sup>.

60 Hz'de 65 kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan sıçanlarda perifer sinir fonksiyonlarında etki gözlenmemiş buna karşılık neuromuscular fonksiyonlarda önemli değişimler ve sempatik ganglion'un uyarılabilirliğinde artış saptanmıştır. 26 kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan civcivlerin motor aktivitelerinde % 28 artış tespit edilmiştir. 10-75 kV/m'lik elektrik alanda ise farelerde aşırı aktivite gözlenmiştir<sup>97</sup>.

30 gün boyunca 100 kV/m (60 Hz)'lik elektrik alanda farelerde sinirsel uyarımlarda ve büyüme oranında artış saptanmıştır. Ayrıca bu elektrik alan şiddetinde nötrofillerde artış, lenfositlerde ise azalma görülmüştür<sup>93</sup>.

### **Biyokimyasal**

Marino ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada sıçanlar 30 gün boyunca dikey doğrultuda 6-197 V/cm'lik, yatay doğrultuda ise 3-98 V/cm'lik elektrik alanlara maruz bırakıldı. 197 V/cm'lik elektrik alanda albümin miktarında artış,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  globülinlerde azalış olmuştur. 28 V/cm'lik dikey elektrik alanın



albümin miktarını artırdığı fakat  $\gamma$  globülinlerin azalmasına neden olduğu saptanmıştır. Benzer fakat daha zayıf etkiler yatay elektrik alanda tespit edilmiştir<sup>59</sup>. Yaptıkları diğer bir araştırmada ise 60 Hz'de 35 gün boyunca 150V/cm'lik dikey ve 100 V/cm'lik yatay elektrik alana maruz bırakılan farelerin 1. ve 2. nesillerinde vücut ağırlığı azalırken, ölüm oranında artış saptanmıştır. 3. nesil farelerde özellikle dikey elektrik alanın yataydan daha etkili olduğu gözlenmiştir. Marino'nun her iki çalışmasında elektrik alan şiddetinin yanında doğrultusunda önemli olduğunu göstermektedir<sup>58</sup>.

14 gün süreyle 80-160 V/cm'lik elektrik alana maruz kalan hayvanlarda anormal kromozom hücrelerinin sayısında artış saptanmıştır<sup>59</sup>.

Wolpaw ve arkadaşları (1989), maymunlara 3-30 kV/m'lik elektrik alan uyguladılar. Ancak deneklerin ağırlığında ve performansında, kan kimyası ( $\text{Ca}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , inorganik fosfat,  $\text{CO}_2$ , albümin, bilirubin, kolesterol, glukoz, protein, trigliserid) ve kan hücrelerinin (eritrosit, lökosit, lenfosit, nötrofil) sayısında meydana gelen değişim istatistiksel anlamda farklı değildi<sup>96</sup>.

15 kV/m'lik elektrik alanda 30 gün süreyle bırakılan farelerde  $\gamma$  globülinde % 20'lik azalma, albüminde % 7'lik artış ve corticosterone düzeyinde %40'luk azalma görülmüştür. Ayrıca vücut ağırlığında azalma meydana gelmiştir. Elektrik alana maruz bırakılan farelerde güçlü ve sürekli sıvı tüketimi olduğu dikkat çekmiştir<sup>83</sup>.

Dacha ve arkadaşları (1993), 50 Hz'de 0.1-20 kV/m'lik elektrik alan ve 0.002-2 G şiddetindeki magnetik alanın insan eritrositlerindeki bazı glikolitik enzimlerin (hegzokinaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, 6-phosphoglukonat dehidrogenaz, fosfofruktokinaz, piruvatkinaz) aktivitelerinde, glukoz tüketiminde, laktat üretiminde, adenin nükleotid (ATP, ADP, AMP) konsantrasyonunda ve

glutasyon azalışındaki değişimin istatistiksel olarak önemli seviyede olmadığını gözlemişlerdir<sup>24</sup>.

5 kV/m'lik elektrik alanın kemik kırıklarının iyileşmesini geciktirdiği, 100 kV/m'lik elektrik alanın ise kemik gelişiminde bir değişime neden olmadığı tespit edilmiştir. Buna karşılık 5 Hz'de 330 kV/m'lik ve 30 Hz'de 10kV/m'lik elektrik alanların kemik gelişimini hızlandırdığı ortaya çıkmıştır<sup>97</sup>.

Embriyonik civciv tibiasının günde 24 saat süreyle 3 gün boyunca  $10^{-5}$  V/cm'lik elektrik alana maruz bırakılması sonucunda hidroksiprolin seviyesinde % 29'luk bir artış gözlenmiştir. Aynı elektrik alan şiddeti 30 dakika süreyle 3 gün uygulandığında hidroksiprolin seviyesinde % 83 artış, kemik hücrelerine [<sup>3</sup>H] timidin bağlanabilirliğinde ise % 45'lik artış meydana gelmiştir<sup>31</sup>.

Elektrik alanın kırıktağ hücrelerindeki DNA sentezine etkisini araştırmak amacıyla civcivler 5 Hz'de 1166 V/cm'lik elektrik alana bırakılmış, DNA sentezinin arttığı saptanmıştır. DNA sentezinde meydana gelen değişim [<sup>3</sup>H] timidin bağlanabilirliğindeki değişimle tespit edilmiştir<sup>77</sup>.

60 Hz'de 65 kV/m'lik elektrik alanın farelerde kırmızı kan hücrelerinin (RBC) sayısını artırdığı, 5 kV/m'lik elektrik alanın RBC sayısını azalttığı, 25, 50 ve 65 kV/m'lik elektrik alanların ise beyaz kan hücrelerinin (WBC) sayısını artırdığı ve 50 Hz'de 0.01-100 kV/m'lik elektrik alanın fare, sıçan, köpek ve tavşanlarda lökosit düzeyini artırdığı saptanmıştır<sup>97</sup>.

Nessler ve arkadaşları, 7, 14, 21 ve 42 gün boyunca 7- $\mu$  Amp doğru akım uygulayarak flexör tendonunda prolin ve hidroksiprolin seviyesindeki değişimi gözlediler. Prolin seviyesinde 7. günde kontrollere nazaran % 91, 42.

günde % 40'lık artış, hidroksiprolin miktarında ise 7. günde % 255, 42. günde de % 60 artış saptadılar<sup>68</sup>.

Marino ve arkadaşları ise akciğer tümörlü farelere 3 V'da 2 mA'lik doğru akım uygulayarak tümörün çapının küçüldüğünü tespit etmişlerdir<sup>60</sup>.

### **Klinik ve Fizyolojik**

400-500 kV'luk gerilimin mevcut olduğu yeraltı istasyonunda 15-27 kV/m'lik elektrik alanda 8-10 ay çalışan 45 işçi üzerinde yapılan klinik çalışmalarda 37 işçide başağrısı, uyuşukluk ve halsizlik, 30-40 yaşları arasındaki erkeklerin 1/3'ünde cinsel güçsüzlük, 28 vakada sinirsel patoloji, 26 vakada santral sinir sistemi fonksiyonel bozukluğu, 11'inde arterial kan basıncı düzensizlikleri, aşırı terleme ve titremeler, 4 kişide daha ciddi damar, sinir ve salgısal bozukluklar, 6 vakada kırmızı ve beyaz hücre sayılarında değişiklikler ortaya çıkmıştır. Amerika'da ise telgraf hattı işçilerinde 5 yılı aşkın süre ile tıbbi muayeneler yapılmış, fakat elektrik alana bağlı herhangi bir patolojiye veya şikayete rastlanmamıştır<sup>83</sup>.

Fulton ve arkadaşları, yüksek gerilim hatlarının geçtiği bir bölgede yaşayan çocuklarla, bu etkiye maruz kalmayan bölgelerdeki çocuklarda lösemi görülme oranları arasında elektrik alana bağlı bir fark gözlememişlerdir<sup>34</sup>.

50 Hz'de 14 kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan tavşanların Purkinje sinir hücrelerinde mikrotubullerin sayısında azalış, neurofilamentlerde ise artış saptanmıştır<sup>43</sup>.

Hinkle ve arkadaşları, kültür ortamında yaptıkları çalışmada 7-190 mV/mm'lik elektrik alanda sinir hücrelerinin ve 36-170 mV/mm'lik elektrik

alanda ise kas hücrelerinin elektrik alan boyunca gelişim gösterdiğini tespit etmişlerdir<sup>45</sup>.

Svetina ve arkadaşları, 10 kHz frekanslı  $2.1 \times 10^4$  kV/m'lik elektrik alanın fosfolipid veziküllerinde deformasyona neden olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmayı 1993 yılında 1-100 kHz'de 18 kV/m'lik elektrik alan şiddeti için tekrarladıklarında benzer sonuçlar elde etmişlerdir<sup>72,81</sup>.

45-75 Hz'de 0.1-3.4 kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan sıçan ve civcivlerin vücut ağırlıklarında bir değişim gözlenmezken, 60 Hz'de 5-160 kV/m'lik elektrik alanda vücut ağırlığında düşüş saptanmıştır<sup>97</sup>.

### Üreme ve Ölüm

10.5 ay süreyle 160 kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan erkek farelerin üretkenliklerinde bir değişim gözlenmemiştir. Her ne kadar deneklerin dişi yavruları kontrollerin dişi yavruları ile aynı oranda büyüme gösterecek olsa da, erkek yavrularda belirgin ölçüde vücut ağırlığında düşüş saptanmıştır<sup>83</sup>.

Greenberg ve arkadaşlarının, 765 kV'luk iletim hatlarının altına yerleştirdikleri bal arısı kovanları üzerinde yaptıkları çalışmada, 4.5 kV/m'lik elektrik alana maruz kalan arıların ölüm oranlarında % 64 artış görülmüştür. Aynı çalışmada 8.3 kV/m'lik alana maruz kalan yuvalardaki arıların yaz boyunca hiç bal üretmediği ve ağırlıklarında azalma olduğu, ayrıca kışın kovandaki tüm arıların öldüğü saptanmıştır<sup>93</sup>.

Krueger ve arkadaşları, 60 Hz'de metal plakalara 950 V uygulayarak oluşturdukları 1.6 kV/m'lik elektrik alana maruz bıraktıkları tavukların yumurta üretiminde % 68 artış gözlemişlerdir<sup>56</sup>.

50-60 Hz'de 0.7 V/m'lik elektrik alanın kullanılmasıyla balçık küfü kültürlerinin üreme dönemlerinde değişiklik tespit edilmiştir<sup>83</sup>.

Moss, günde 12 saat süreyle 1 gün, 5 gün ve 1 ay boyunca 12 V/cm'lik elektrik alana maruz kalan farelerde 5. günden sonra ölüm yüzdesinde artış saptamıştır. Elektrik alan uygulama süresi arttıkça ölüm oranında artış gözlenmiştir<sup>66</sup>.

60 Hz'de 30-60 kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan sıçan ve domuzlarda 1. ve 2. nesillerde sakatlık oranında artış saptanmıştır<sup>97</sup>.

### **Hidroksiprolin Tayin Yöntemleri ve Gelişimi**

Hidroksiprolin tayin metodu ilk defa Neuman ve Logan (1950) tarafından geliştirilerek uygulamaya konulmuştur. Neuman-Logan'ın bu metodu, Baker ve arkadaşları (1953), Martin ve Axelrod (1953), Wierbicki ve Deatherage (1954), Miyada ve Tappel (1956), Aronson ve Elvehjem (1956), Grunbaum ve Glick (1956), Antonacopoulos (1957), Lollar (1958), Leach (1960), Woessner (1961), Stegemann ve Stalder (1967) tarafından modifikasyonlara uğramıştır. Bu modifikasyonlarda güdülen amaç oksidasyonda kullanılan hidrojen peroksidin ( $H_2O_2$ ) gereği gibi parçalanabilmesini sağlamak ve deneylerin tekrarında renk oluşumunda aynı sonuçları alabilmek olmuştur<sup>5,25,69,87-91,95</sup>.

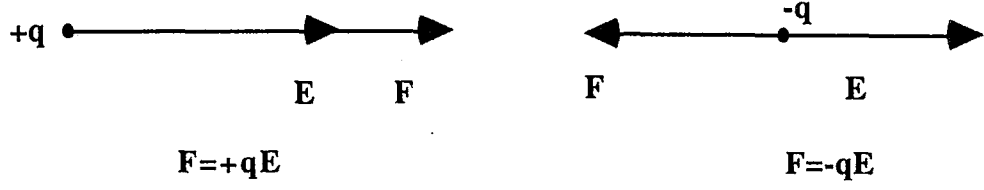
Wierbicki-Deatherage ve Stegemann-Stalder hidroliz safhasında 6N HCl ve  $SnCl_2$  kullanılmasını, Lollar ve Antonacopoulos ise hidrolizin  $H_2SO_4$  ile yapılmasının uygun olacağını önerdiler. Woessner hidroliz işlemini 130°C'de, Stegemann-Stalder ve Antonacopoulos ise 105°C'de yaptılar. Miyada ve Tappel, 6 N  $H_2SO_4$  yerine 1.5 N  $H_2SO_4$  kullandılar. Möhler ve Volley hidroliz işleminde HCl ve  $H_2SO_4$  kullanmak suretiyle yaptıkları çalışmada aynı miktarda

hidroksiprolin elde ettiler. Aynı çalışmada hidroliz aşamasında istenmeyen maddelerin oluşmasını önlemek için  $\text{SnCl}_2$ 'ün kullanılması gerektiği önerildi. Neuman-Logan, hidroksiprolin oksidasyonunu 0.01 M  $\text{CuSO}_4$ , 3.5 N NaOH ve %6  $\text{H}_2\text{O}_2$  solüsyonları ile 80°C su banyosunda 5 dakika bekleterek yapmışlardır. Baker ve Antonacopoulos, 0.01 M  $\text{CuSO}_4$  yerine 0.05 M  $\text{CuSO}_4$  solüsyonunun kullanılmasını önermişlerdir. Grunbaum ve Glick % 2  $\text{H}_2\text{O}_2$ , Lollar ise %1.8  $\text{H}_2\text{O}_2$  solüsyonu kullanmışlardır. Miyada Tappel hidrojen peroksidin fazlasını parçalamak için ısıtma işleminin 30 dakika süre ile 80°C'de, Antonacopoulos 75°C ve 10 dakikada Leach ise 40°C'de yapılmasını uygun görmüşlerdir. Neuman-Logan; renk teşekkülü sırasında, numuneleri 16 dakika süre ile 70°C'lik su banyosunda bekletmiştir. Antonacopoulos ise bu işlemin 20 dakika süre ile 75°C'de yapılmasını önermiştir<sup>5,25,46,87-91,95</sup>.

Hidroksiprolin oksidasyonunda yalnızca Stegemann-Stalder ve Woessner Kloramin-T, diğer araştırmacılar ise hidrojen peroksit kullanmışlardır. Dahl ve Persson aynı numuneyi Kloramin-T ile ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  ile okside ederek hidroksiprolin miktar tayini yapmışlar ve neticede Kloramin-T kullanılarak yapılan tayin işleminin daha hassas sonuçlar verdiğini saptamışlardır. Bu çalışmada Stegemann-Stalder ve Lollar'ın hidroksiprolin metodları kullanılmıştır. Stegemann-Stalder'in yönteminin daha hassas bir method olduğu saptanmıştır<sup>25</sup>.

## 2.2. ELEKTRİK ALAN VE SIĞA

Elektrikle yüklü bir cismin etrafı yeni bir özellik kazanır. Bu özellik elektrikle yüklü cisimlere kuvvet etkime özelliğidir. Elektrikle yüklü cisimlere, elektriksel kuvvet etkime özelliği gösteren bir bölgede elektrik alan (E) vardır. Elektrik alan içerisindeki her yüklü ( $\pm q$ ) cisme bir kuvvet (F) etki eder. Pozitif yükler için kuvvet elektrik alan ile aynı yönlüdür (Şekil 1)<sup>15,40,41</sup>.



Şekil 1: Elektrik alanda bulunan bir elektrik yüküne etkiyen kuvvet<sup>40</sup>

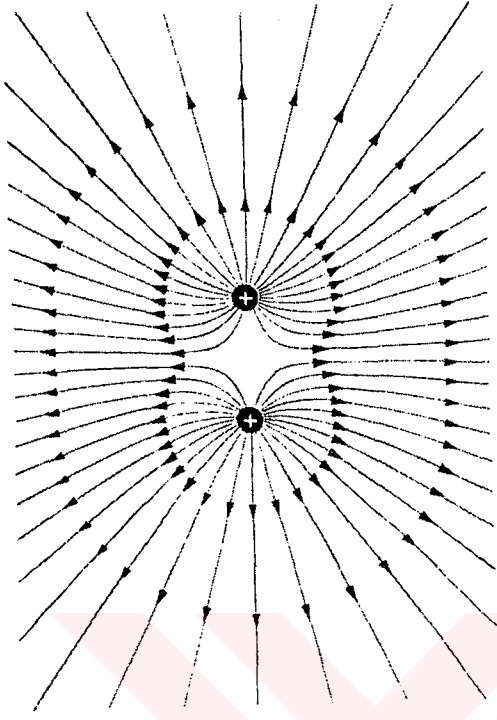
Çok sayıda noktasal yükün bulunması halinde oluşan bileşke elektrik alan,

$$\vec{E} = \sum_i k \frac{Q_i}{r_i^2} \vec{r}_i$$

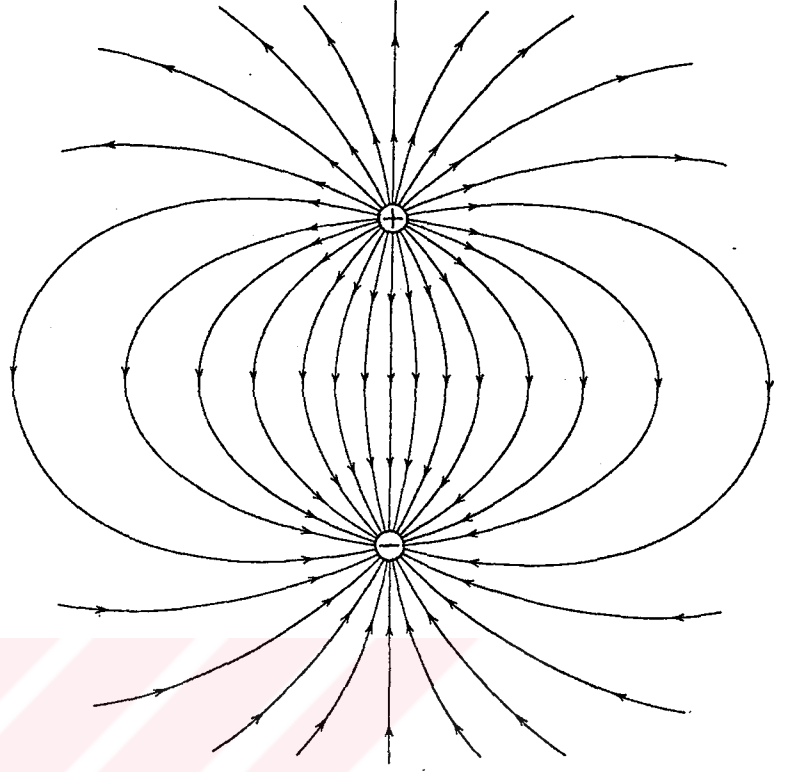
$r_i$ :  $Q_i$  yükünün seçilen noktaya uzaklığı

$\vec{r}_i$ : Bu doğrultudaki birim vektördür.

Elektrik alanda alan şiddeti vektörlerine teğet olan geometrik çizgilere kuvvet çizgileri denir ve elektrik alan, kuvvet çizgilerini çizerek de temsil edilebilir. Kuvvet çizgisinin herhangi bir noktadaki teğeti, o noktadaki elektrik alanın yönünü verir. Birim yüzeyden alana dik olarak geçen kuvvet çizgilerinin sayısı elektrik alan vektörünün mutlak değeri ile orantılıdır. Alan çizgilerinin sık olduğu yerlerde elektrik alan büyüktür<sup>41</sup>.

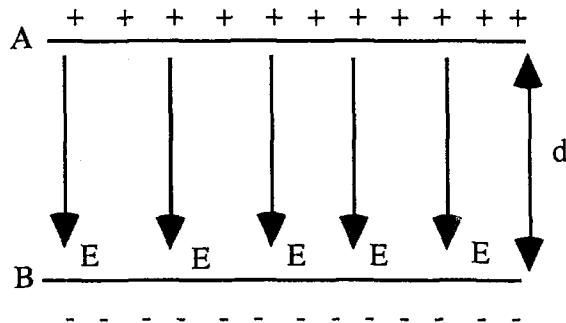


Şekil 2a: İki eşit pozitif yükün oluşturduğu kuvvet çizgileri<sup>41</sup>.



Şekil 2b: İki eşit ters işaretli yükün oluşturduğu kuvvet çizgileri<sup>41</sup>.

Alan şiddeti vektörleri birbirine paralel ve şiddetce eşit ise oluşan elektrik alan düzgün elektrik alandır. Böyle bir elektrik alan içinde bulunan bir elektrik yüküne her noktada aynı şiddetli ve aynı yönlü bir kuvvet etki eder. Zıt yüklü paralel iki metal levha arasında düzgün elektrik alanı oluşturmak mümkündür<sup>15,40,75</sup>.



Şekil 3: Düzgün elektrik alan eldesi<sup>40</sup>.



Şekil 3'deki paralel A ve B levhaları arasındaki potansiyel fark, alanın her noktasında elektrik alan şiddeti sabit olduğundan,

$$V_{BA} = V_A - V_B = -\vec{E} \cdot \vec{d} = V$$

ile ifade edilir<sup>40</sup>.

E ile d'nin doğrultularının aynı olması halinde

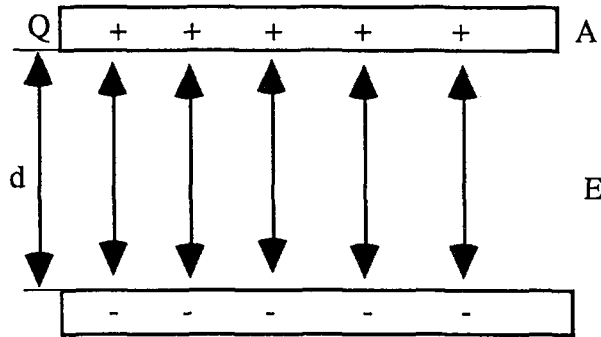
$$V = -\vec{E} \cdot \vec{d} = -E d$$

$$E = \frac{V}{d} (\text{Volt / metre}) \text{ dir}$$

V/d oranına potansiyel gradyan denir ve seçilen doğrultudaki alan şiddeti bileşeni verir.

Biri pozitif diğeri negatif yüklü paralel iki metal levhadan oluşan bir sistem yük depolama kapasitesine sahiptir. Böyle bir sisteme kondansatör (Şekil 4) adı verilir. Yüklü bir kondansatörün plakaları arasında oluşan elektrik alanda; elektrik enerjisi depolanır. Çünkü kondansatörler güçlü elektrik alanları küçük bir hacimde tutabilen düzeneklerdir<sup>15,42</sup>.

Kondansatör plakaları arasındaki uzaklık, plakaların boyutlarına oranla küçükse, plakalar arasında düzgün elektrik alanı oluşur<sup>42</sup>.



Şekil 4: Plakaları arasındaki uzaklık (d) ve plaka alanı (A) olan paralel plakalı bir kondansatör<sup>42</sup>.

V potansiyeli ile yüklediğimiz ve plakaları arasında boşluk bulunan bir kondansatörün birim potansiyel için yük tutma kapasitesi, kondansatörün sığa'sıdır ve

$$C = \frac{Q}{V} = \frac{\epsilon_0 A}{d} \text{ (Coulomb / Volt = Farad)}$$

ile ifade edilir<sup>26,75</sup>.

A: Plakaların alanı (m<sup>2</sup>)

d: Plakalar arası mesafe (m)

$\epsilon_0$ : Boşluğun geçirgenliği ( $8.85 \times 10^{-12} \text{ C}^2/\text{N.m}^2$ )

Q: Yük miktarı (coulomb)

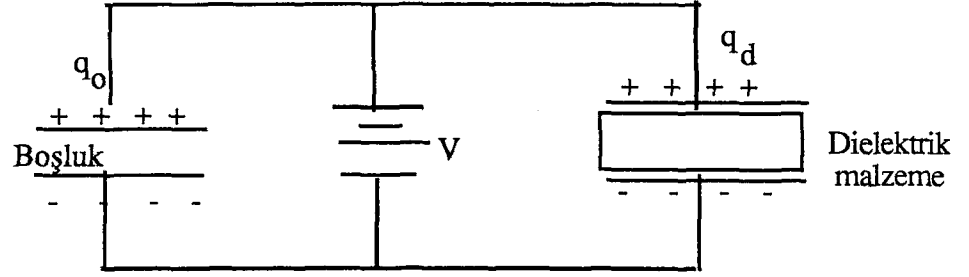
V: Potansiyel fark (Volt)

C: Sığa (coulomb/Volt)

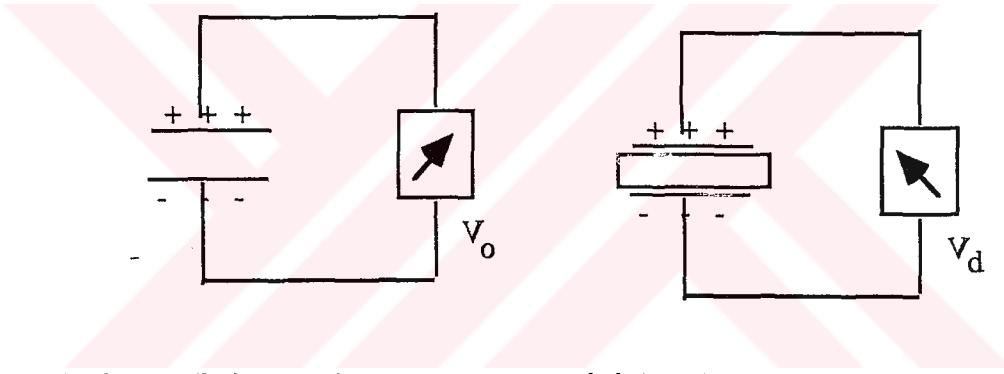
Kondansatör plakaları arasında boşluk yerine bir dielektrik malzeme konulduğunda aynı potansiyel farkı için dielektriğin bulunduğu kondansatörde yük, malzemenin dielektrik sabiti (K) kadar artar (Şekil 5a). Plakaları arasında dielektrik malzeme bulunan bir kondansatör için sığa da boşluğa oranla K kadar artacaktır<sup>15,26,42</sup>.

$$C = \frac{K \epsilon_0 A}{d}$$

Bazı dielektrik malzemelerin dielektrik sabitleri Tablo 1'de verilmiştir.



Şekil 5a: Aynı potansiyelle (V) yüklenen her iki kondansatörden sağdaki daha çok yük tutar ( $q_d > q_0$ )<sup>42</sup>.



Şekil 5b: Eşit yük ile yüklenen her iki kondansatörden sağdaki daha küçük potansiyele sahiptir ( $V_d < V_0$ )<sup>42</sup>.

Şekil 5a'da birbirine eş, fakat birinin plakaları arasında dielektrik bulunan iki kondansatör verilmektedir. Batarya her iki kondansatörün plakaları arasında aynı potansiyel farkı oluşturur. Plakaları arasında dielektrik materyal bulunan kondansatörün plakaları arasındaki potansiyel fark (Şekil 5b) ve oluşan elektrik alan boşluk bulunana göre K çarpanı kadar daha küçükken, sıa K çarpanı kadar artacaktır ve nicel olarak

$$V_d = \frac{V_0}{K}, E_d = \frac{E_0}{K}, C_d = KC_0$$

şeklinde ifade edilir<sup>15,42</sup>.

$V_o$  : İçinde boşluk bulunan kondansatörün plakaları arasındaki potansiyel fark,

$V_d$  : İçinde dielektrik malzeme bulunan kondansatörün plakaları arasındaki potansiyel fark,

$E_o$  : İçinde boşluk bulunan kondansatörün plakaları arasında oluşan elektrik alan,

$E_d$  : İçinde dielektrik malzeme bulunan kondansatörün plakaları arasında oluşan elektrik alan,

$C_o$  : İçinde boşluk bulunan kondansatörün plakaları arasındaki sığa,

$C_d$  : İçinde dielektrik malzeme bulunan kondansatörün plakaları arasındaki sığa,

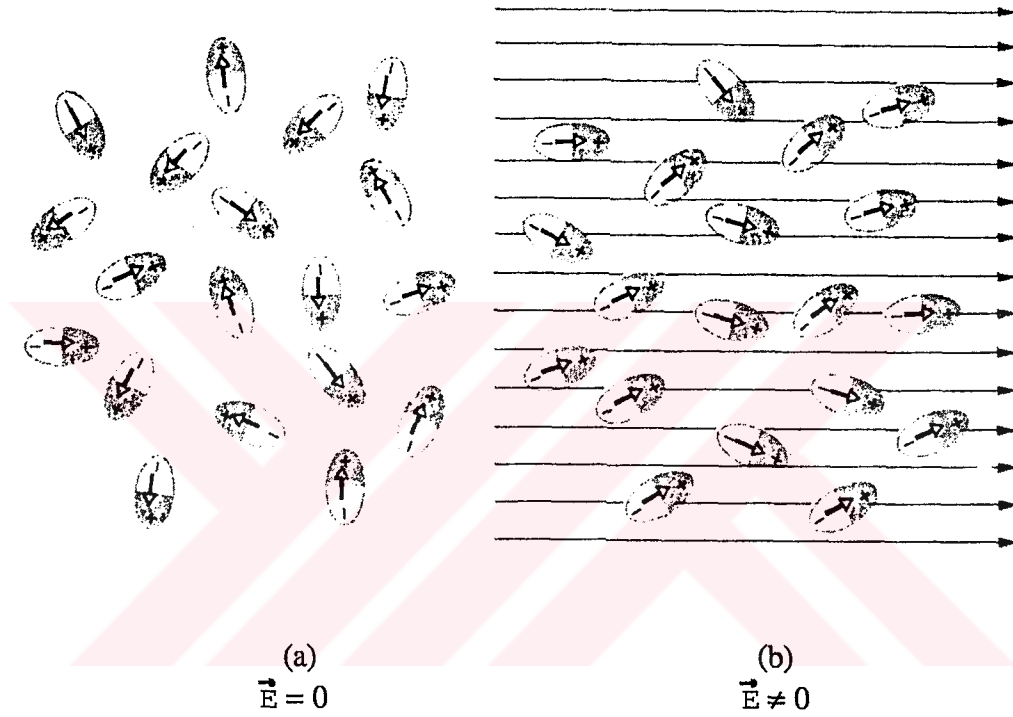
K : Malzemenin dielektrik sabiti

**TABLO 1: Bazı dielektrik malzemelerin dielektrik sabit değerleri<sup>42</sup>.**

MATERYAL	DIELEKTRİK SABİTİ (K)
Boşluk	1.0000
Hava	1.00005
Titanium Dioksid	100.0000
Hücre Membranı	5.0000-10.0000
Neopsin	6.9000
Porselen	6.5000
Mika	5.4000
Tahta	5.0000
Pyreks cam	4.5000
Transformatör yağı	4.5000
Kuartz	3.8000
Kağıt	3.5000
Polyester	2.6000
Su (100°C)	55.3000
Su (0°C)	88.0000

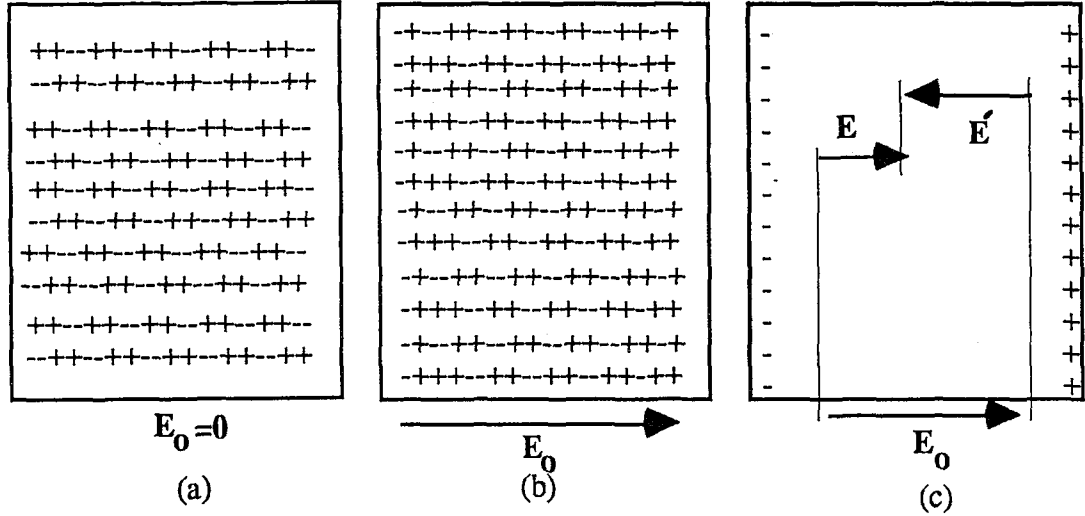
Bazı dielektrik maddelerin molekülleri, su molekülünde olduğu gibi, daimi bir elektrik dipol momentine (P) sahiptir. Böyle maddelerin (polar maddeler) dipol momentleri, bir dış elektrik alan içine konulduğunda elektrik alan vektörü ile

aynı doğrultuya gelmeye çalışırlar (Şekil 6). Moleküller sabit bir ısısal uyarılma içinde bulduklarından, dipol momentlerinin dış elektrik alan doğrultusu ile çakışma miktarları, elektrik alan şiddetinin artması ile doğru orantılıdır<sup>42</sup>.



**Şekil 6: a-Daimi elektrik dipol momentine sahip moleküller elektrik alan yok iken tümüyle gelişigüzel bir dağılım gösterirler. b-Elektrik alan uygulandığında dipol momentleri kısmen alanla paralel duruma geçer<sup>42</sup>.**

Polar yapıda olmayan dielektrik madde tümü ile nötr olmasına karşın elektrik alan etkisinde pozitif yüklerin alan doğrultusunda, negatif yüklerin ise alana zıt yönde bir kuvvete maruz kalması sonucu polarize olur ve negatif yüzeyde oluşan yük miktarı pozitif yüzeyde oluşan yük miktarına eşittir (Şekil 7)<sup>15,42</sup>.



Şekil 7: a-Pozitif ve negatif yüklerin gelişigüzel dağılım gösterdiği bir dielektrik dilim. b-Dielektrik, bir kondansatörün paralel plakaları arasına konularak bir  $E_0$  elektrik alanı uygulandığında pozitif ve negatif yük merkezleri birbirinden ayrılır ve dilimin yüzleri yüklenir. c-Yüzey yükleri dilim içinde  $E_0$  alanına karşı koyan bir  $E'$  alanı oluşturur. Dielektrik içindeki toplam alan  $E = E_0 + E'$  dir<sup>42</sup>.

Dielektrik içinde yükler, dış elektrik alana ters yönde bir elektriksel alan ( $E'$ ) oluştururlar (Şekil 7c). Dielektrik içinde bileşke alan  $E$ ,  $E'$  ve  $E_0$  'ın vektörel toplamına eşittir. Bileşke alan  $E_0$  ile aynı yönde olup mutlak değeri ondan daha küçüktür. Dielektrik malzeme bir elektrik alan içine konulduğunda, indüklenme sonucu oluşan elektriksel alan, dış elektriksel alanı azaltacak biçimdedir. İndüklenme sonucu yüzey yüklerinin neden olduğu elektrik alandaki bu düşüş

$$E = \frac{E_0}{K}$$

şeklinde ifade edilir<sup>15,40,42</sup>.

### 2.3. MEMBRAN'IN ELEKTRİK ÖZELLİKLERİ

Hücre zarları, temel yapı maddeleri lipid ve protein olan, süpermoleküler yapıda, dinamik, organize sistemlerdir. Lipid ve fosfolipid molekülleri bir iskelet üzerine yerleşmiş polar ve bu nedenle hidrofilik bir baş ile polar olmayan ve bu nedenle hidrofobik iki karbon kuyruğundan oluşur<sup>2,20,22,29,39,70,102</sup>.

Lipid ve fosfolipidler sulu bir ortam içinde bulduklarında, hidrofobik kısımları su molekülleri tarafından dışlanır. Bu nedenle lipid molekülleri ya misel adı verilen küresel biçimde (Şekil 2a), ya da çift tabaka (bilayer) biçiminde kümelenirler<sup>2,20,22,29,70,102</sup>.

Hücre zarlarındaki lipid çift tabakası, suda çözünmüş iyon ve moleküllerin geçişine engel oluşturarak, hücre bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynar<sup>20,22,30,70,102</sup>.

Hücre zarlarının kalınlıkları 6-10 nm arasındadır. Hücre zarı, kalınlığının çok küçük olması nedeni ile  $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$  gibi çok büyük bir sığaya sahiptir. Kapasitif davranış yanında iletkenlik özelliği de gösteren zarların sızıntı direnci  $10^2$ - $10^5$  ohm.  $\text{cm}^2$  arasındadır. Zarın iki tarafı arasında 60 mV'luk bir potansiyel farkı olduğunda, zar içinde  $10^7$  V/m gibi oldukça yüksek şiddetli bir elektriksel alan kurulur. Bu potansiyel fark 150 mV'a çıkarıldığında dielektrik yapı bozulur ve zardan büyük bir akım geçer (Tablo 2)<sup>22,29,49,70</sup>.

**TABLO 2: Hücre zarının özellikleri<sup>70</sup>.**

Kalınlık (nm)	6-10
Sığa ( $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ )	0.5-1.3
Direnç ( $\text{ohm}\cdot\text{cm}^2$ )	$10^2$ - $10^5$
Su geçirgenliği (m/s)	$(0.4-400)\cdot 10^{-6}$
Yüzey gerilimi (N/m)	0.03-0.100
Bozulma potansiyeli (mV)	100-150

Hücre zarı ve civarı bir kondansatör özelliği göstermektedir. Kondansatörün yüklü plakaları yerine hücre içi ve dışı iyonlar, iletkenleri ayıran yalıtkan yerine hücre zarı düşünülebilir. Hücre zarının kalınlığı  $\sim 100 \text{ \AA}$  olduğundan, düzlem kondansatör yaklaşımı yapmak mümkündür<sup>40</sup>.

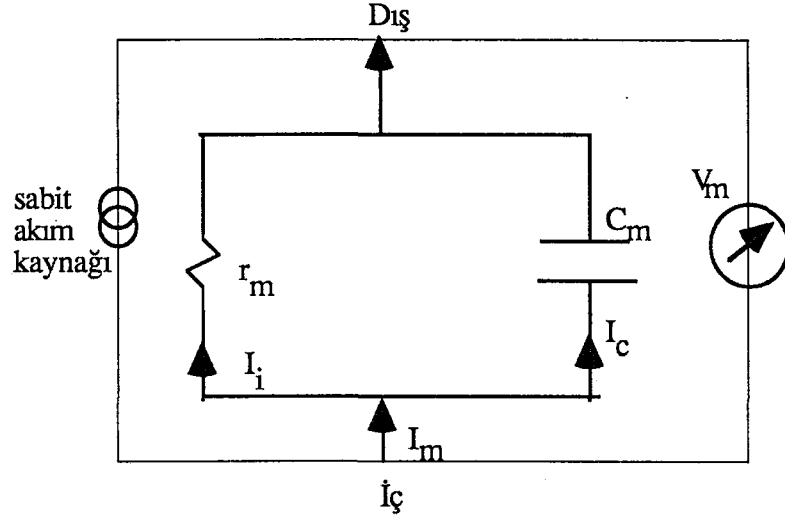
### 2.3.1. Hücre Zarı İçin Elektriksel Eşdeğer Devreler

#### 2.3.1.1. Pasif Zar Modeli ve Kablo Teorisi

Uyarının oluşumu ve yayılması ile ilgili gözlenen olayları açıklamak için birçok model ve kuram (teori) geliştirilmiştir. Bu konuda önemli bir model ve ona dayalı teori pasif zar modeli ve kablo teorisi olarak adlandırılır<sup>70,102</sup>.

Belli bir uzunluğa sahip olan iletkenin etrafının yüksek dirençli bir yüzeyle kaplanarak, yine iletken bir ortama daldırılması ile oluşturulan sisteme **kablo** denir. Sinir lifleri de, zarlarının yüksek dirençleri nedeni ile, bu anlamda birer kablodur. Kablo teorisine göre zar pasif olarak ele alınır. Burada pasif sözcüğü, hücre zarının direnç ve kapasitansının uygulanan potansiyele bağlı olarak değişmediğini ifade eder<sup>30,70,102</sup>.

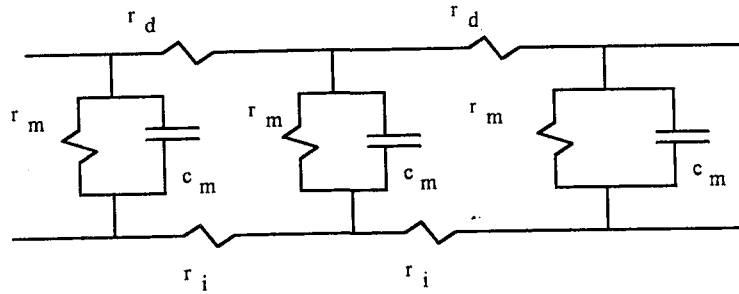




Şekil 8: Pasif zarda kapasitif etkiyi incelemek için kurulan devre modeli<sup>30</sup>.

Zardan şekil 8'deki eşdeğer devreye göre bir  $I_m$  akımı geçirildiğinde, zardaki bu akım, biri pasif kanallarda iyon geçişlerinden kaynaklanan iyonik akım ( $I_i$ ), diğeri kondansatörün dolup boşalması şeklinde kapasitif elemandan geçen kapasitif akım ( $I_c$ ) olmak üzere iki ayrı koldan ilerler ve zardan geçen bu akım nedeni ile zar potansiyelinde de değişimler olur<sup>70</sup>.

Kablo teorisine göre, akson veya dendrit gibi nöronun bir uzantısı, bir eşdeğer devre ile temsil edilebilmektedir (Şekil 9).



Şekil 9: Sinir Membranının Elektrik Eşdeğer Modeli<sup>70</sup>.

$C_m$  : Membran kapasitansı

$r_m$  : Membran direnci

$r_i$  : İç ortamın (hücre içi sıvı) direnci

$r_d$  : Dış ortamın (hücrelerarası sıvı) direnci

### 2.3.1.2. Aktif Zar İçin Elektriksel Eşdeğer Devre

Bir hücre zarının sığası iletim sırasında % 2'den daha az değişikliğe uğramaktadır ve değişmiyor kabul edilebilir. Zarın elektriksel direnci ise iletim sırasında 100 kattan fazla değişime uğrar. Bu nedenle zarın elektriksel eşdeğer devresi aktif direnç (potansiyele bağımlı olarak değeri değişen) elemanlarını içermelidir. Hücre zarının dinlenim durumuna karşılık (Şekil 10) gelen eşdeğer devrede, her iyon ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ ...), kendi denge potansiyeline (Nernst potansiyeli) eşit bir elektromotor kuvvet ( $E_{Na}$ ,  $E_K$ ,  $E_{Cl}$ ) etkisinde zardan geçişe zorlanmaktadır. Zar ise herbir iyonla karşı farklı bir direnç ( $R_{Na}$ ,  $R_K$ ,  $R_{Cl}$ ) göstermektedir. Dinlenim halinde zar kapasitöründe ( $C_m$ ) depolanmış olan yük ve zar potansiyeli ( $E_m$ ) sabittir. Dinlenim durumunda klor iyonları dengede oldukları için bu koldaki akım sıfırdır. Pasif kuvvetlerden kaynaklanan sodyum akımı ( $I_{Na}$ ), aktif pompanın zıt yönde oluşturduğu  $I^*_{Na}$  akımına eşittir ve sodyumun zardan geçişi sıfırdır. Potasyumun aktif ( $I^*_K$ ) ve pasif ( $I_K$ ) akımları da zıt yönlü ve eşittir. Pompa devrede bir akım kaynağı olarak düşünülmüştür ve diğer devre elemanlarından kaynaklanan akımlara karşı sonsuz direnç gösterdiği kabul edilebilir. Dinlenim durumunda zardaki tüm akımların cebirsel toplamları da sıfırdır<sup>28,70,102</sup>.

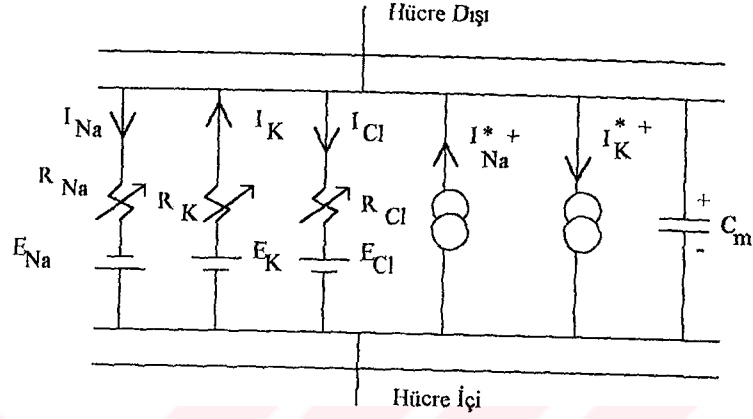
Bu devrenin herhangi bir noktası için akım;

$$\sum I=0 \text{ (I. Kirchhoff)}$$

ve her kapalı devre için potansiyel;

$$\sum E - \sum RI = 0 \text{ (II. Kirchhoff)}$$

yazılabilir.



Şekil 10: Dinlenim halindeki bir hücre zarının tümü için elektrik eşdeğer devre<sup>70</sup>.

Devrenin herhangi iki noktası arasındaki potansiyel fark ise

$$V_1 - V_2 = \sum IR - \sum E$$

Hücre zarının  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  iyonlarına geçirgenliği veya iletkenliği zar potansiyeline bağlıdır. Eşdeğer devre şemasında (Şekil 10) sodyum ve potasyum akım kollarındaki iletkenlikler, sıra ile bu bölgede o anda açık olan  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  kanallarının sayısı ile orantılıdır. Kollardaki  $E_{\text{Na}}$  ve  $E_{\text{K}}$  elektromotor kuvvetleri ise sodyum ve potasyum iyonları için Nernst denge potansiyellerine karşılıktır<sup>28,70,102</sup>.

Nernst; hücrede yalnızca bir iyonun olduğunu varsayarak, her iyonun denge potansiyelinin, o iyonun hücre içi ve hücre dışı konsantrasyonuyla orantılı olduğunu saptamıştır<sup>28,70,102</sup>.

$$E_i = V_i^{\text{iç}} - V_i^{\text{dış}} = \frac{RT}{Z_i F} \ln \frac{C_i^{\text{dış}}}{C_i^{\text{iç}}}$$

$$R = 8.3143 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$$

T= °K cinsinden sıcaklık

$$F = 96500 \text{ C mol}^{-1}$$

$Z_i$  = i iyonunun değerliği

$E_i$  = i iyonunun denge potansiyeli

$C_i^{\text{dış}}$  = i iyonunun hücre dışındaki konsantrasyonu

$C_i^{\text{iç}}$  = i iyonunun hücre içindeki konsantrasyonu

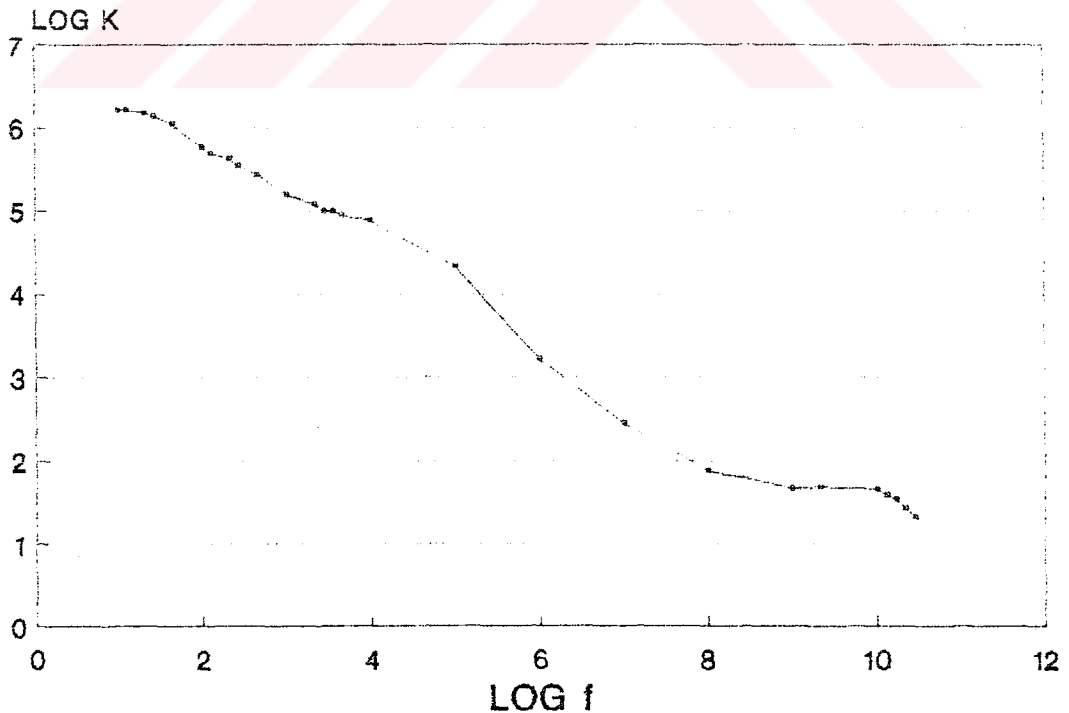
#### 2.4. DOKULARIN ELEKTRİK ÖZELLİKLERİ

Dokuların elektriksel özellikleri üzerine en aktif çalışmalar 1925-II. Dünya Savaşı arasında yapılmıştır. Maxwell ve Wagner (1913) kan, karaciğer, akciğer gibi dokuların dielektrik sabitleri ve bu değerlerin frekansla değişimini elektriksel modellemeler yardımıyla saptamışlardır. İnsanlar için yapılan ilk modelleme çalışmaları ve yüzey elektrik alanlarının hesaplanması Deno tarafından gerçekleştirilmiştir<sup>17,79,93</sup>. Hayvanlar için ise böyle bir modelleme Kaune ve Phillips tarafından yapılmıştır. Debye, "Polar Molekül" tanımını protein moleküllerine de uygulamakla elektrik özellikler üzerine yapılan çalışmalara öncülük etmiştir (1935). 1948 yılında Rajewsky ve Schwan tarafından 1 GHz için kan dokusunun dielektrik sabiti bulunmuştur. 1950-1960 yılları arasında ise veziküller, organeller ve protein ihtiva eden birçok dokunun dielektrik özellikleri saptanmıştır. Ayrıca dokuların iletkenliği ile dielektrik sabitinin frekansa bağımlı olarak

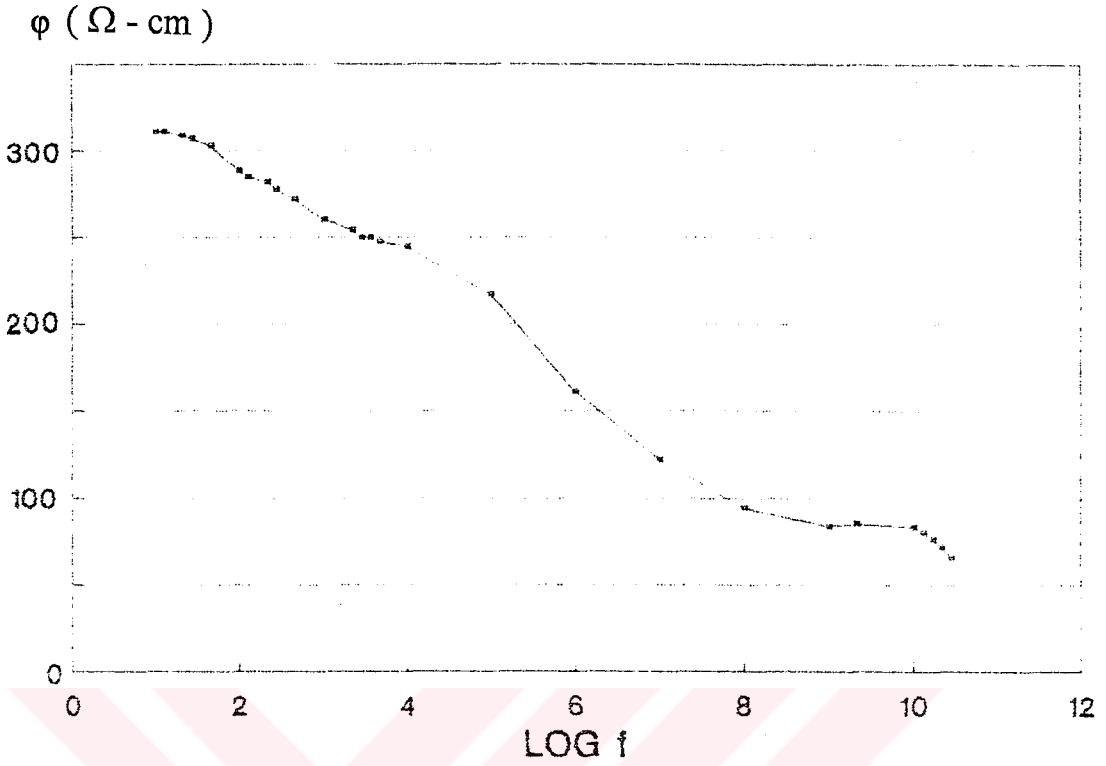
değişimleri arasında da bir ilişki kurulabilmiştir. Yumuşak dokuların iletkenlikleri frekansla artarken, dielektrikleri ise azalır<sup>79,93</sup>.

Dokuların iletkenliklerinin ve dielektrik sabitlerinin bilinmesi, dışarıdan uygulanan elektrik alan ve akımların vücut dokuları içindeki yayılımını saptamak açısından oldukça önemlidir<sup>79,80</sup>.

Dokuların dielektrik sabitinin (K) frekansla (f) değişimi sonucunda oluşan üç temel dağılım ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) Schwan tarafından saptanmıştır (Şekil 11). Ayrıca dokuların özdirençlerinin frekansla değişimi sonucunda da yine  $\alpha, \beta, \gamma$  dağılımının ortaya çıktığı gözlenmiştir (Şekil 12). Bu üç dağılımın geçiş bölgelerinin ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) hem özdirenç hem de dielektrik sabiti grafiklerinde aynı frekans aralıklarında görülmesi (Şekil 11, Şekil 12) her iki veri seti içinde aynı mekanizmaların etkili olduğu düşüncesini akla getirmiştir<sup>1,79,93</sup>.



Şekil 11: Kas dokusunun dielektrik sabitinin frekansla değişimi<sup>1</sup>.



Şekil 12: Kas dokusunun öz direncinin frekansla değişimi<sup>1</sup>.

Bu üç dağılımdan ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) sorumlu olan mekanizmayı araştırmak, biyolojik sistemlerin lineer elektrik özelliklerini anlamak için gerekli olmuştur<sup>1,3,79</sup>:

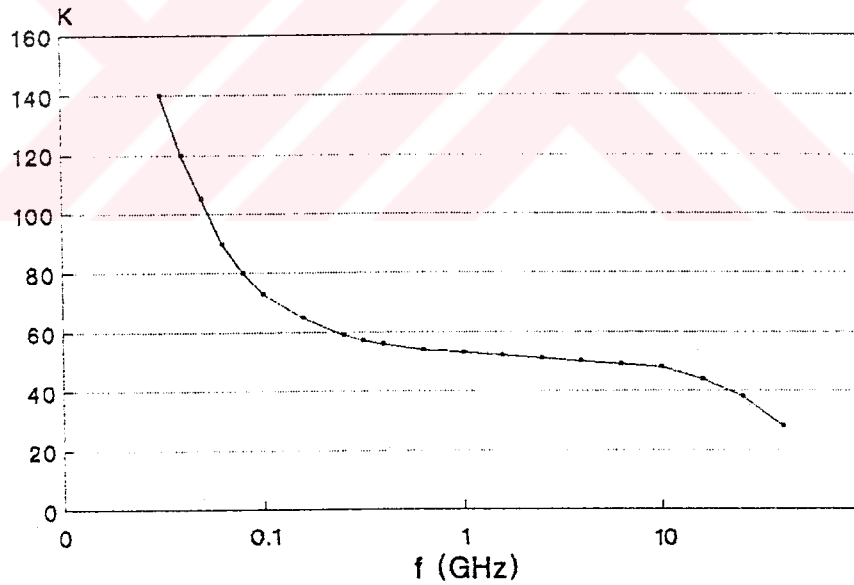
**$\alpha$  Bölgesi:** İşitme aralığındaki frekanslarda dielektrikteki çok büyük artıştan doğar. Bu frekans aralığında, mikron ebadında ya da daha büyük parçacıkların iyonik diffüzyonundan dolayı, doku büyük dielektrik değerlere sahiptir. Çoğu hücrelerde 100 Hz civarında karakteristik bir frekans bulunmuştur. Bu frekans değeri için iletkenlikteki artış ise çok az olup ihmal edilebilir seviyededir (0.005 S/m).

**$\beta$  Bölgesi:**  $\sim 10^6$  Hz civarında oluşan bu bölgenin oluşumuna doku proteinlerinin dipolar gevşemesinin az da olsa katkısı olmasına rağmen dokuların hücre membranlarının kapasitif yüklenme ve boşalması (şarj ve deşarj) beta

dağılımının esas sebebidir (Maxwell-Wagner etkisi). Bu bölgede toplam iletkenlikteki artış 0.4 S/m'dir.

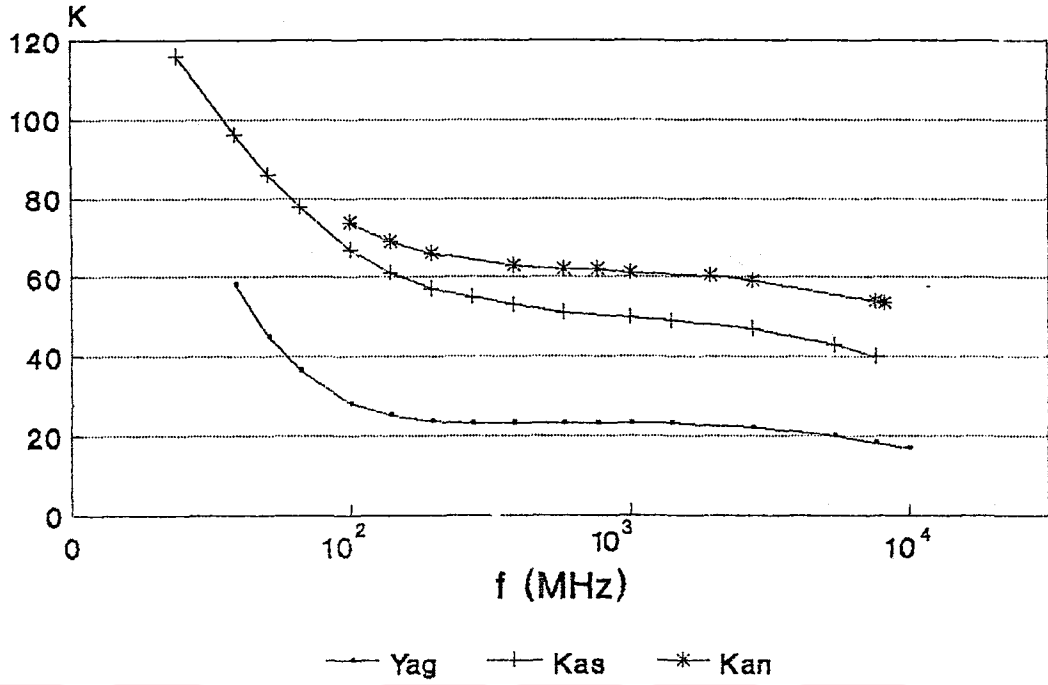
**$\gamma$  Bölgesi:** 10 GHz civarında başta su ve proteinler olmak üzere çeşitli biyolojik moleküllerin elektrik dipol momentlerinin dönmesi sonucunda oluştuğu kabul edilir (Debye etkisi). Örneğin su 20-25 GHz'de doğal bir frekansa sahiptir. 25 GHz'de iletkenlikteki toplam artış 70 S/m civarındadır.

Ağırlığının % 20-25'i protein ve % 70-80'i su olan dokuların (kas, kalp, karaciğer, akciğer gibi) dielektrik sabitinin frekansla değişimi Şekil 13'de verilmektedir. Frekans arttıkça dielektrik sabiti azalmakta, düşük frekanslarda ise artmaktadır. Ortaya çıkan bu ikinci eğim biyolojik sistemlerin su bulundurduklarını ve suyun frekansa bağlı dielektrik özelliklerini yansıtır<sup>23,80,93</sup>.



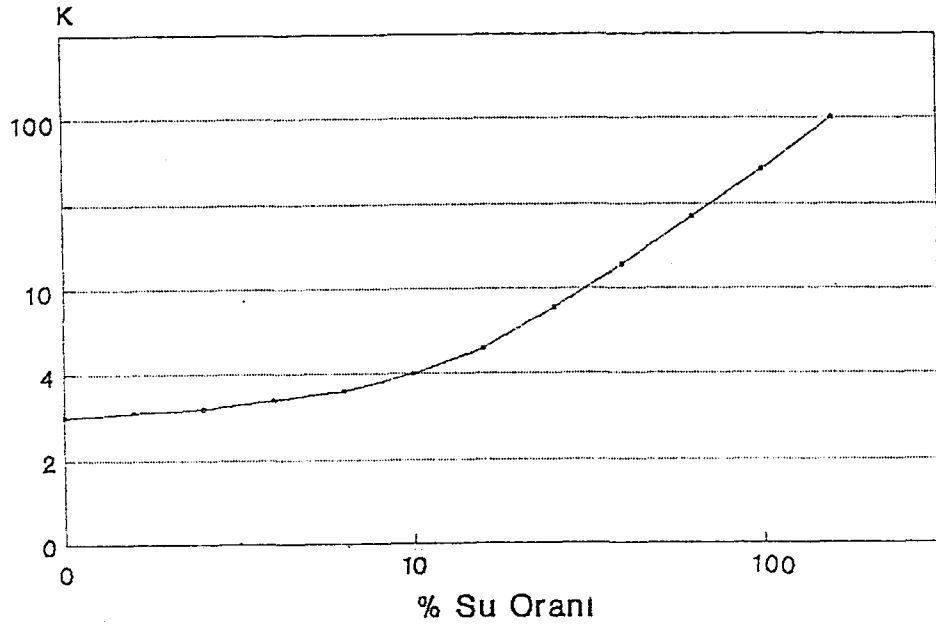
**Şekil 13: Yüksek oranda su bulunduran (kas, kalp, karaciğer, akciğer) dokuların dielektrik sabitinin (K) frekansla (f) değişimi<sup>80</sup>.**

Yüksek oranda su bulunduran dokuların öz direnci düşük frekanslarda çok az değişir. 1 GHz'i aşan frekanslarda ise çok hızlı değişim



Şekil 15: Yağ dokusunun dielektrik özelliğinin kan ve kas dokusuyla mukayesesi<sup>80</sup>.

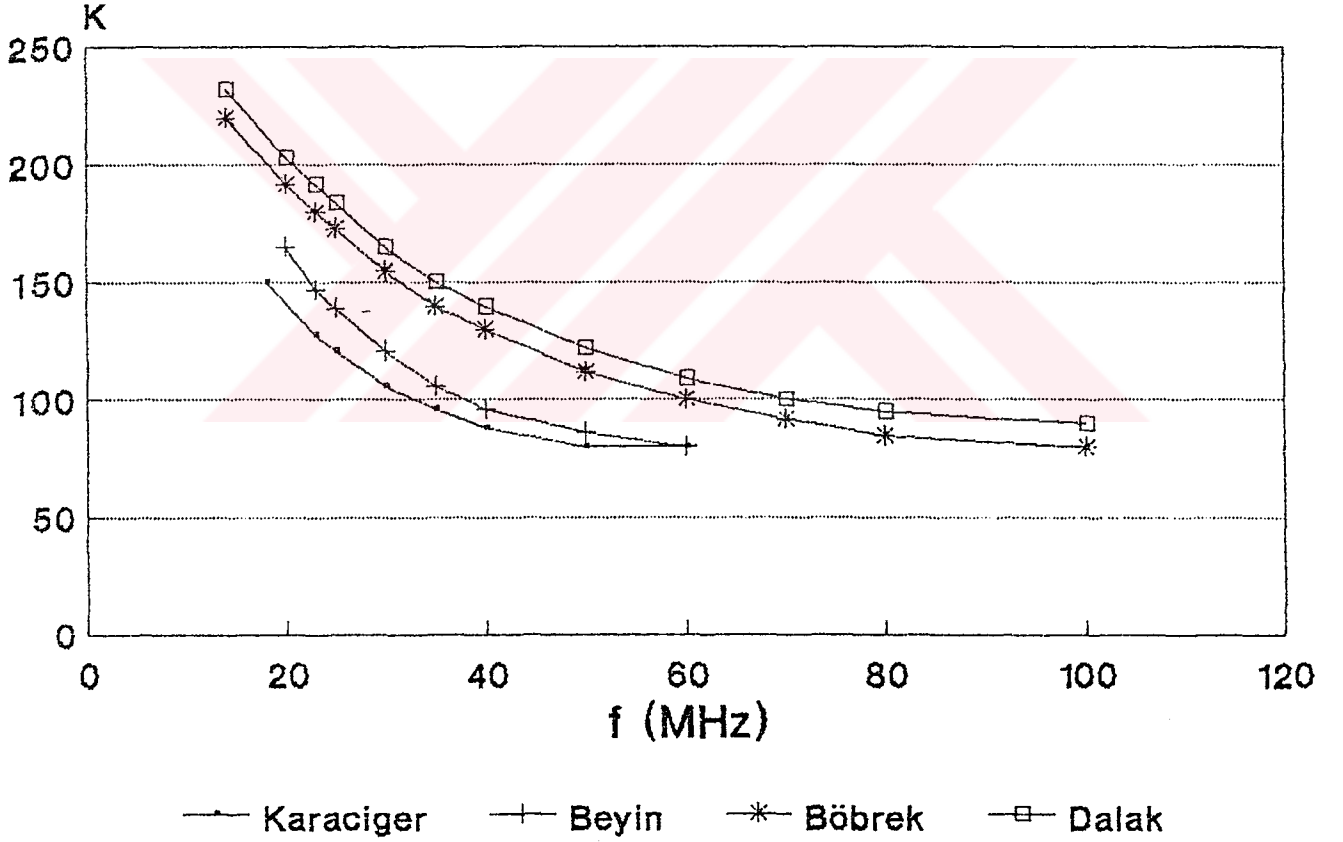
Çok az oranda su bulunduran yağ dokusunun dielektrik sabitinin su oranına bağlı olarak değişimi Şekil 16'da verilmektedir. Su yüksek, yağ ise düşük dielektriğe sahiptir.



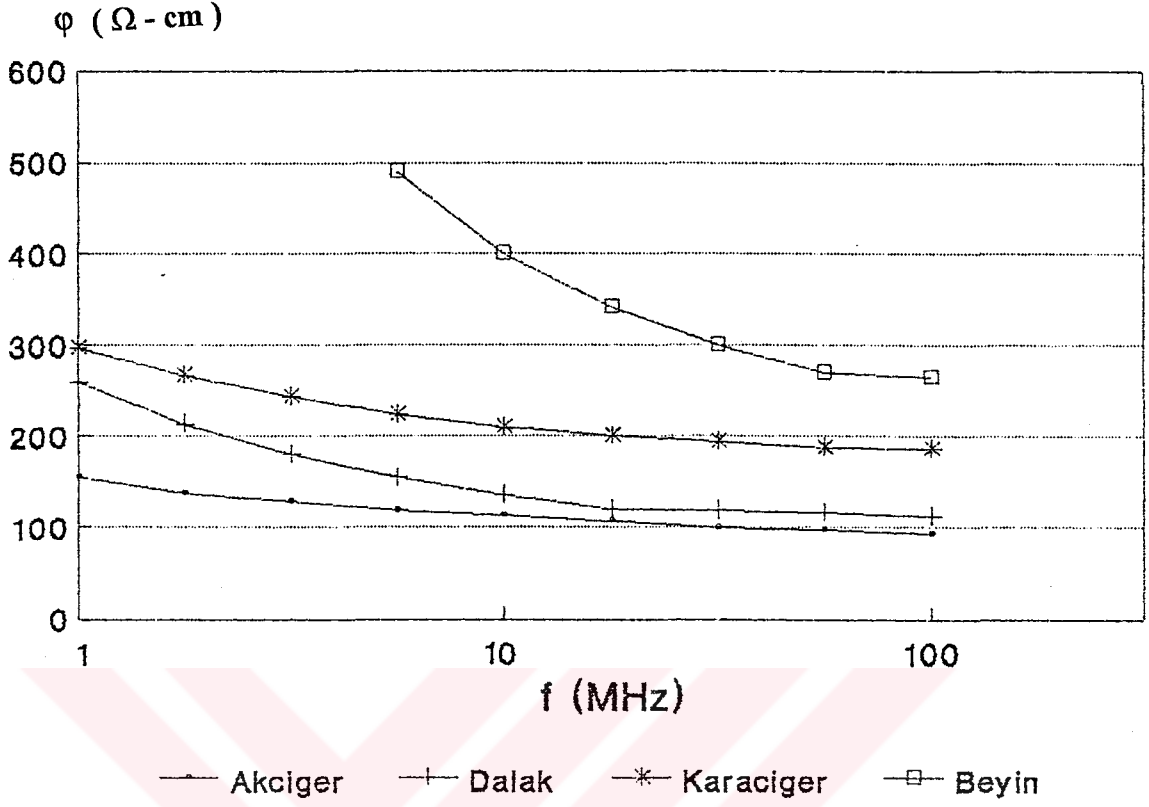
Şekil 16: Yağ dokusunun dielektrik sabitinin su oranıyla değişimi<sup>93</sup>.



Düşük frekanslarda beyin dokusunun direnci, yağ dokusununkine yakındır. Fakat frekans 1 MHz'den 10 MHz'e çıkarıldığında direnç hızla düşer. Bu frekans aralığının üzerindeki frekanslarda direncin değeri yağsız dokularinkine yakındır. Beyin dokusunun dielektrik sabiti ise bütün frekans değerleri için sulu dokularınkinin limitleri içinde kalır<sup>23,80</sup>.

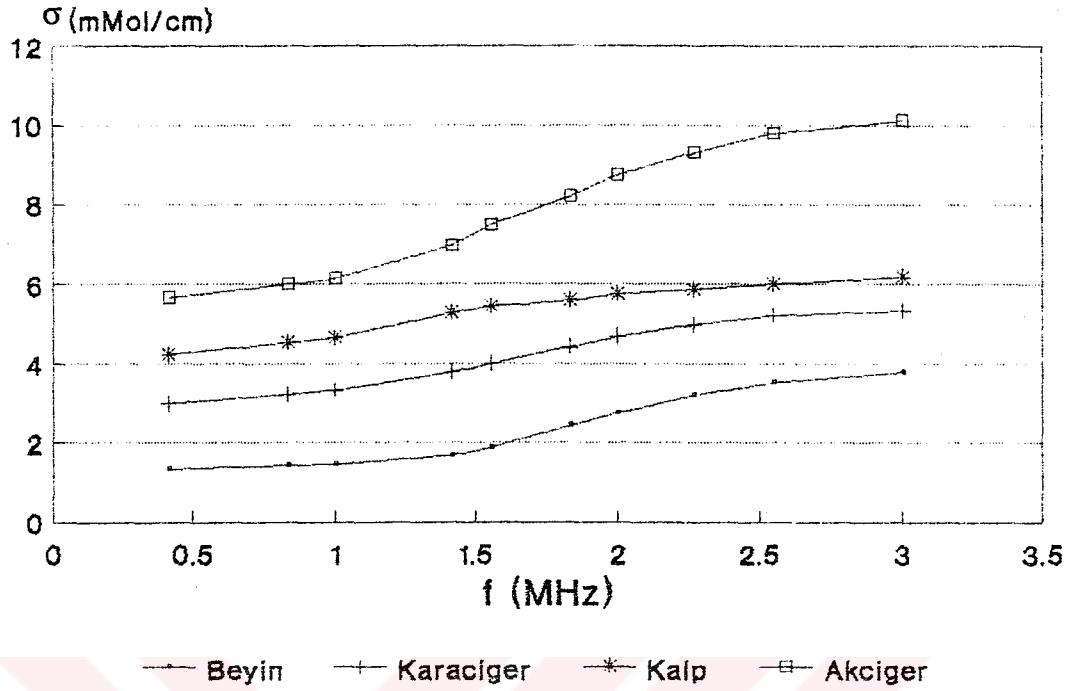


Şekil 17: 20°C'de çeşitli vücut dokularının dielektrik sabitlerinin frekansla değişimi<sup>80</sup>.



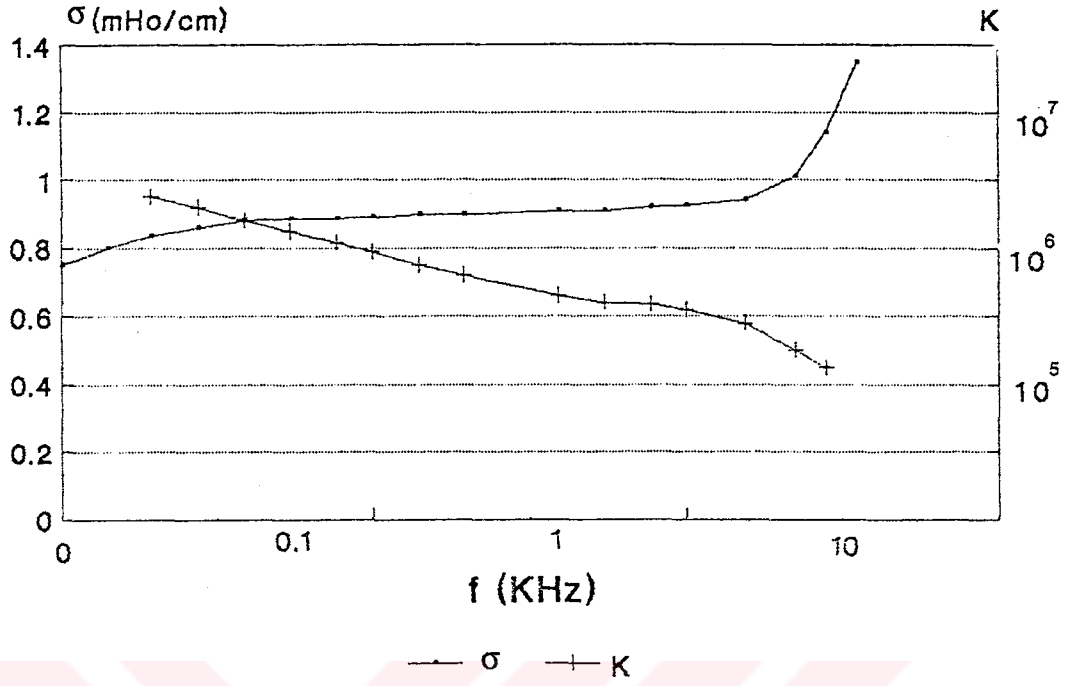
Şekil 18: 23°C'de çeşitli vücut dokularının öz dirençlerinin frekansla değişimi<sup>80</sup>.

Frekans arttıkça, hücrenin öz direnci azalır ve hücre içi akımlar artarak dokunun toplam iletkenliğinde bir artış olur. 1938'de Rajewsky, çeşitli dokuların iletkenliklerinin frekansla değişimini tabuler hale getirmiştir (Şekil 19). Stachowiak (1940), karaciğerin iletkenliğinin 17 MHz frekansta arttığını ve 30 MHz'de ise azalmaya başladığını tespit etmiştir<sup>79</sup>.



Şekil 19: Çeşitli insan dokularının iletkenliklerinin frekansla değişimi (23°C)<sup>79</sup>.

Schwan ve Kay (1956, 1957) dokuların iletkenliklerinin frekansla arttığını, dielektrik sabitlerinin ise azaldığını saptamışlardır (Şekil 20). Kanın iletkenliği, frekansla çok az bir yüzde ile değişir. Bu çeşit iletkenlik değişimi kas ve salgı bezi dokularında % 10, akciğer dokusunda % 2-3'lük bir değişim gösterir. Gözenekli kemiğin iletkenliği, kafa kemiğine göre daha fazladır. 1 GHz'in üstündeki frekanslarda dielektrik sabitinin azalması, iletkenliğin ise artması su moleküllerinin polar özelliklerine bağlanabilir. Düşük su oranına sahip olan dokuların dielektrik sabitleri ve iletkenlikleri niceliksel olarak yüksek oranda su bulunduran dokularinkine benzerdir. Fakat dielektrik sabitinin ve iletkenlik değerlerinin daha küçük olduğu görülmüştür<sup>79,93</sup>.



Şekil 20: Köpek karaciğer dokusunun dielektrik sabitinin ve iletkenliğinin frekansla değişimi<sup>79</sup>.

TABLO 4: Bazı dokuların frekansa bağlı dielektrik (K) değerleri<sup>93</sup>.  
(37-38°C)

Frekans	Karaciğer	Akciğer	Kemik	Böbrek	Kan	Yağ
10 Hz	$5 \times 10^7$	$2.5 \times 10^7$				
100 Hz	$8.5 \times 10^5$	$4.5 \times 10^5$	3800			$1.5 \times 10^5$
1 kHz	$1.3 \times 10^5$	$8.5 \times 10^4$	1000		2900	$5 \times 10^4$
10 kHz	$5.5 \times 10^4$	$2.5 \times 10^4$	640		2810	$2 \times 10^4$
100 kHz	$1.4 \times 10^4$		280	10900-12500	4000-2740	
1 MHz	1970		87	2390-2690	2040	
10 MHz	251-338		37	190-499	200	
100 MHz	65-79	35	23	56-95	67-74	4.5-7.5
1 GHz	46-55	35	8	43-46	58-67	3-7.5
3 GHz	42-53		7.5	47.5	55-56	4-7
10 GHz	34-38		8	30-37	45-52	3.5-4.0

**TABLO 5: Bazı dokuların frekansa bağlı iletkenlik ( $\sigma$ ) değerleri<sup>94</sup>.  
(37-38°C)**

Frekans	Karaciğer	Akciğer	Kemik	Böbrek	Kan	Yağ
10 Hz	0.12	0.089				
100 Hz	0.13	0.092	0.0126		0.60	
1 kHz	0.13	0.096	0.0129		0.68	0.02-0.07
10 kHz	0.15	0.11	0.0133		0.68	
100 kHz	0.15-0.16		0.0144	0.24-0.25	0.55-0.68	
1 MHz	0.27-0.30		0.0173	0.37-0.39	0.71	
10 MHz	0.42-0.47		0.0237	0.5-0.68	1.11	
100 MHz	0.6-0.72	0.53	0.0574	0.66-1.05	1.0	0.02-0.07
1 GHz	0.95-1.2	0.73	0.05	0.95-1.0	0.7-1.6	0.03-0.09
3 GHz	2.0-2.4		0.16	2.3	2.5-3.1	
10 GHz	5.8-10.0		0.5-1.7	4.5	8.3-10.5	0.3-0.4

### 2.5. MODELLEME ÇALIŞMALARI: Doku Elektrik Alanı Ve Akımların Saptanması

Biomedikal elektrot teknolojisinin ve gürültü zayıflatma tekniklerinin gelişmesi ile hayvan ve insanlar için yapılan modelleme çalışmalarında dışarıdan uygulanan elektrik alanın model içinde oluşturacağı elektrik alan ve akım değerinin hesaplanması mümkün olmuştur. Modelleme çalışmalarının bir kısmında, birbirine paralel olarak yerleştirilmiş iki düzlem plakadan oluşan kondansatör düzeneğinden elde edilen elektrik alandan yararlanılmıştır<sup>52,65</sup>.

. Barnes (1967), kullandığı silindirik ( $r=0.5$  m,  $h=1$  m) modelleme yardımıyla dışarıdan uyguladığı 10 kV/m (60 Hz)'lik elektrik alanın model içinde oluşturduğu iç elektrik alan değerinin 8 mV/m, akımın ise 200  $\mu$ A olduğunu hesaplamıştır<sup>83</sup>.

. Deno (1977), bakır folyoyla kapladığı insan maketini çeşitli parçalara ayırmak suretiyle vücudun çeşitli bölümleri için oluşan iç akım değerlerini saptamıştır. Kaune ve Forsythe (1988), benzer bir çalışmayı domuz ve sıçanlar için yaparak modelin çeşitli bölümlerindeki toplam iç akımı tespit etmişlerdir. Takuma (1990) ise aynı hesaplamaları maymun modellemeleri için yapmıştır<sup>17</sup>.

. Tobey (1981), 10 kV (60 Hz) voltaj uygulandığında kültür ortamı içinde oluşan elektrik alanın 3 mV/cm, akım yoğunluğu değerinin ise 55  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  olduğunu hesaplamıştır<sup>65</sup>.

. Lymangrover (1983), başka bir kültür ortamı üzerinde yaptığı çalışmada ise aynı voltaj değerinin (10 kV) ortamda oluşturduğu elektrik alan değerinin 17 mV/m ve akım yoğunluğu değerinin 2.3  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  olduğunu hesaplamıştır<sup>65</sup>.

. Kaune ve McCreary (1985), içini iletkenliği 0.01 S/m olan sıvıyla doldurduğu silindirik ( $r=15$  cm,  $h=15$  cm) modele 10 kV/m'lik dikey elektrik alan uygulayarak oluşan iç elektrik alanın 266  $\mu\text{V}/\text{cm}$  olduğunu tespit etmişlerdir<sup>64</sup>.

. Fitzsimmons (1986), kapasitör plakaları arasına bıraktığı kültür ortamına 10 V'luk düşük voltaj (10 Hz) uygulamak suretiyle oluşan iç elektrik alan değerinin  $10^{-2}$  mV/m olduğunu hesaplamıştır<sup>65</sup>.

Birim zamanda birim yüzeyden geçen yük miktarı (J) o noktadaki potansiyel gradyanı ile orantılıdır ve

$$J = \sigma \frac{dV}{dx} = \sigma E$$

ile ifade edilir<sup>17,64,65</sup>.

J: Akım yoğunluğu

$\sigma$ : Ortamın iletkenliği

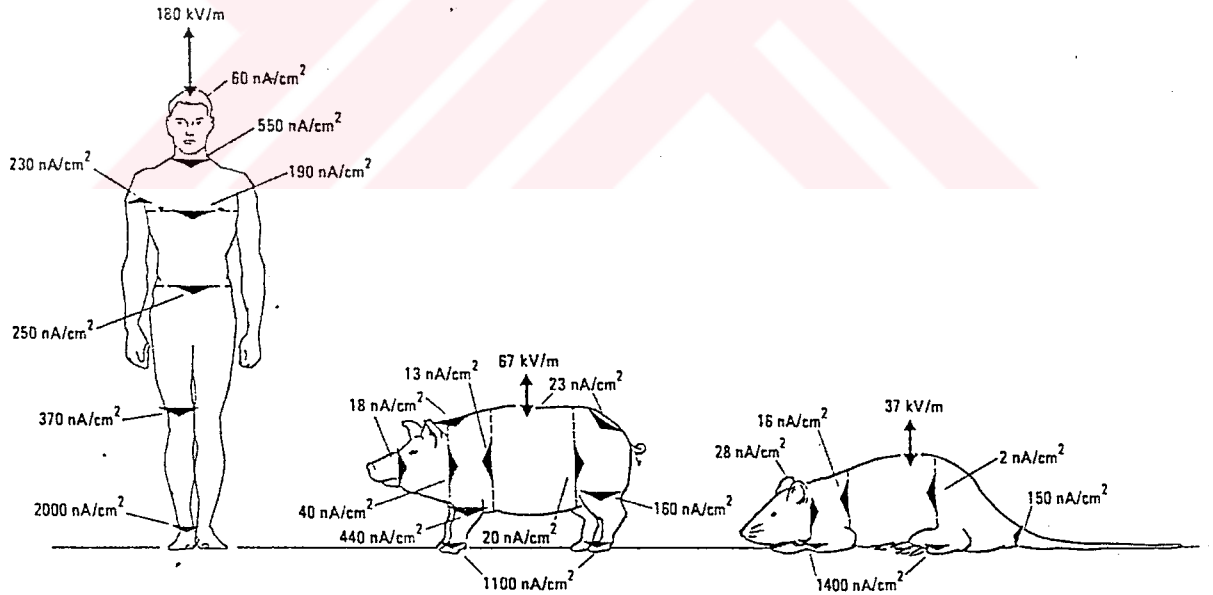
E: Dışardan uygulanan elektrik alanın ortam içinde oluşturacağı elektrik alan.

1985 yılında Kaune ve Forsythe yukarıdaki eşitlik yardımıyla 0.2 S/m'lik iletkenliğe sahip bir ortama 10 kV/m'lik dikey elektrik alan uygulamak suretiyle oluşan akım yoğunluğu değerinin 2.5 mA/m<sup>2</sup>, ortam içinde oluşan elektrik alanın ise 12.5 mV/m olduğunu hesaplamışlardır<sup>65</sup>.

Kaune, 60 Hz'de 10 kV/m'lik dikey elektrik alan uygulamak suretiyle insan, domuz ve fare modelleri için yüzey elektrik alan ve akım yoğunluğu değerlerini saptamıştır (Şekil 21). Dikey doğrultuda elektrik alana maruz kalan insan vücudu için maksimum duyarlık baş kısmında oluşur. Akım vücut içinde elektrik alana paralel olarak meydana gelir, fakat yönü bilinmemektedir. Yumurtamsı şekil ile temsil edilen insan modeli için 60 Hz'de başta 180 kV/m, domuz için vücudun üst bölgesinde 67 kV/m, fare için ise 37 kV/m'lik elektrik alan oluşmuştur. Maksimum elektrik alan ve akım yoğunluğu değerlerinin insanlarda gözlemlendiği tespit edilmiştir. Örneğin insan ayak bileği için akım yoğunluğu değeri 2000 nA/cm<sup>2</sup> ve domuz için ise 1100 nA/cm<sup>2</sup>'dir ve dolayısıyla insan ve domuz için 1.8/l'lik, insan ve fare için ise 1.4/l'lik bir oran sözkonusudur. Yüzey elektrik alan için ise bu oranlar 2.7/l (insan/domuz) ve 1.4/l (insan/fare) dır. Bu oranlardan faydalanarak daha büyük dış alanların insanda oluşturacağı indüksiyon akımları farede meydana gelen indüksiyon akımından faydalanarak bulunabilir. Ancak insan ile fare veya domuz arasındaki oranlama her zaman mukayese edilecek özellikte olmamaktadır. Oranlama farelerin farklı pozisyon almalarına göre daha da karışık bir durum alabilir. Fare ayağa kalktığında

modelin daha büyümesi nedeniyle oluşan elektrik alan büyüyecektir (Şekil 22)<sup>51,93,97</sup>.

Yapılan araştırmalar omuz ve diğer uç noktalar yoluyla giren toplam vücut akımlarının üçte birinin baştan geçtiğini göstermektedir. Vücuda gelen tüm akımlar ayak bileği yoluyla toprağa geçer. Ayak bileği kesitinin çok dar olduğu ve tüm akımın buradan geçtiği düşünülürse, ayak bileklerinin, en büyük akım yoğunluğu ve alanların olduğu bir bölge olduğu ortaya çıkar<sup>93</sup>.

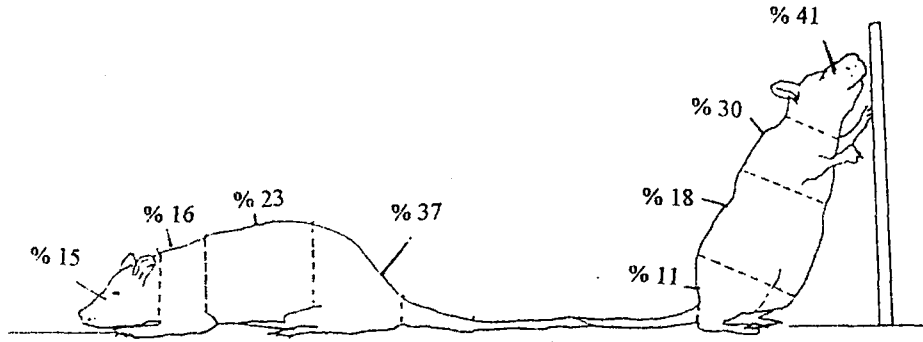


Şekil 21: Toprakla temas halinde, 60 Hz'de 10 kV/m'lik dikey elektrik alana maruz bırakılan insan, domuz ve fare modelleri için yüzeyel elektrik alanları ve vücutun belirli kesimlerinden geçen akım yoğunluğu değerleri<sup>97</sup>.



**TABLO 6: 10 kV/m'lik dikey elektrik alana maruz bırakılan insan, domuz ve fare modellemesi için bulunan akım yoğunluğu ve elektrik alan değerleri arasındaki oranlar<sup>17</sup>.**

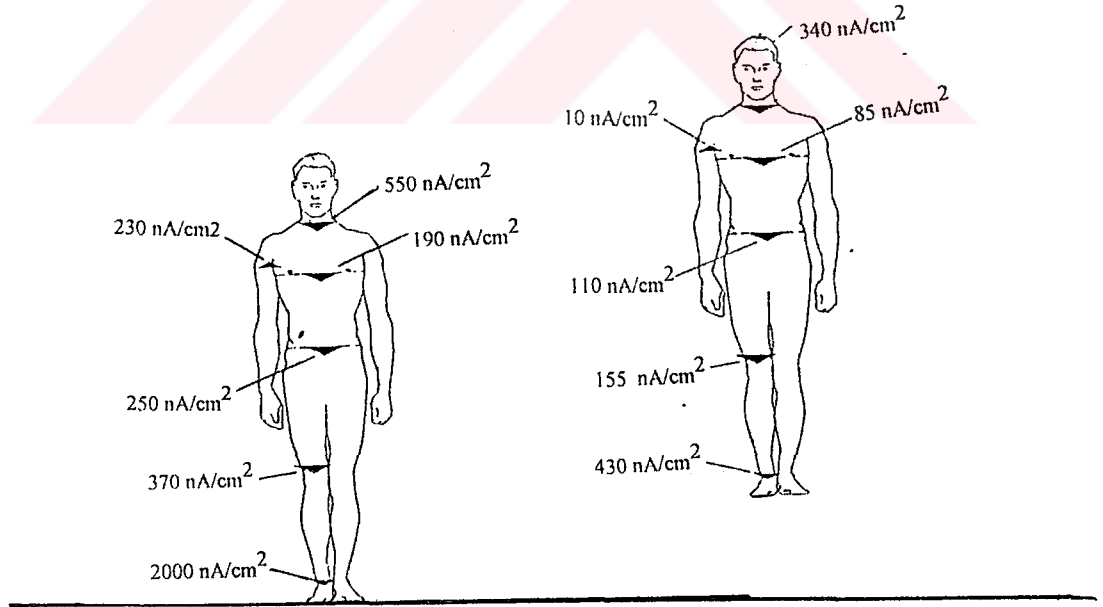
Parametre	İnsan/domuz	İnsan/fare
Yüzey elektrik alanı (kV/m)	2.7/1	4.9/1
<b>Akım Yoğunluğu (nA/cm<sup>2</sup>)</b>		
Boyun	14/1	20/1
Gövde (axial)	13/1	49/1
Gövde (toplam)	7.3/1	12/1
Ayak bileği	1.8/1	1.4/1



**Şekil 22: Toprakla temas halindeyken, 60 Hz'de 10 kV/m'lik dikey elektrik alana maruz kalan fare modeli için vücudun belirli kesitlerinden geçen kısa devre akımlarının yüzde değerleri<sup>93</sup>.**

Uygulanan elektrik alanın şiddetinin yanısıra uygulama yönüde oldukça önemlidir. Bu amaçla Kaune dikey elektrik alanda olduğu gibi insan, domuz ve fare modellerine 60 Hz'de 10 kV/m'lik yatay elektrik alan uygulayarak vücudun çeşitli bölgeleri için akım yoğunluğu değerlerini tespit etmiş ve dikey elektrik alanın yataydan daha etkili olduğunu saptamıştır. Dikey elektrik alanın etkisi ekstremitelere maksimumken, yatay elektrik alan için en büyük etki vücudun merkezinde oluşur.

İnsanlar ve hayvanlar için yukarıda verilen değerler, gözönüne alınan model toprakla temas halindeyken geçerlidir. Yere temas halindeki bir insanın akım yoğunluğu değeri, 1.23 m yukarıya kaldırıldığı zaman alacağı değerden daha büyüktür ve her iki durumun oranı 2.5/1'dir (Kaune, 1987)<sup>17</sup>.



**Şekil 23: Toprakla temas halindeki insan modeliyle, 12.8 cm yukarıda bulunan modelin akım yoğunluğu (nA/cm<sup>2</sup>) değerlerinin karşılaştırılması.**

Kişi zeminde ayakta iken kapasitans değeri yüksektir. Kişi boşlukta asılı olduğunda kapasitans azalır, çünkü kişi izole edilmiş zeminde durduğunda vücut taşıdığı fazla akımı yalıtkan üzerine akıtacaktır ve potansiyeli azalacaktır. Potansiyel (V) azaldığında kapasitans büyüyecektir. Kişi boşlukta asılı durduğunda ise V potansiyeli artacak dolayısıyla da kapasitans azalacaktır. Kapasitans aynı zamanda vücudun büyüklüğüne ve şekline de bağlıdır<sup>83</sup>.

Barnes ve arkadaşlarının 1967'de kullandıkları modelde akımın gövde ortasından eşit olarak dağıldığı düşünülmektedir. Gövde küçüldükçe akım yoğunluğu iki üç kat artacaktır<sup>11</sup>.

Örneğin 10 kV/m ve 60 Hz'lik elektrik alan içinde zeminde ayakta duran bir kişi 200  $\mu$ A'lik bir akıma maruz kalacaktır. Oluşacak akım yoğunluğu 1.6 mA/m<sup>2</sup>, iç elektriksel alan 8 mV/m ve tahmini iç direnç 5  $\Omega$ -m'dir (Şekil 23)<sup>17,83</sup>.

İkinci durumda yani boşlukta asılı olan bir insana aynı elektrik alan şiddeti (10 kV/m) uygulandığında, maruz kalacağı akım şiddeti 65  $\mu$ A, akım yoğunluğu 0.52 mA/m<sup>2</sup>, iç direnç 5  $\Omega$ -m, iç elektriksel alan ise 2.6 mV/m'dir. Yani aynı elektrik alan şiddeti uygulanmasına rağmen boşlukta asılı duran bir insanda meydana gelen akım, akım yoğunluğu ve iç elektriksel alan değerleri yerle temas halinde olan insana oranla azalacaktır (Şekil 23)<sup>17,83</sup>.

Kişi iletken ile temas halinde (telgraf bakım işinde olduğu gibi) olursa, üçüncü bir durum ortaya çıkar. Bu durumda vücuttaki toplam akım artacaktır. Örneğin 200 kV'luk iletkenle temas halindeki bir kişide toplam akım yaklaşık 3 mA'dir<sup>83</sup>.

## 2.6. KOLLAGEN'İN YAPISI VE ELEKTRİKSEL ÖZELLİKLERİ

Bağ dokuları vücudun şeklinin sağlanmasından ve devamlılığında sorumludur. Mekanik bir rol üstlenerek yapılan bu görev için bağ dokuları, hücre ve organları birbirine bağlamaya yarayan bir matrix oluştururlar ve sonuçta vücuda destek sağlarlar. Vücudun organlarını ve onların hücrelerini destekleyen kapsüller, bağ dokusundan oluşurlar<sup>20,48,92</sup>.

Bağ doku proteini yani kollagen, insan vücudunda en bol bulunan proteindir ve toplam vücut proteininin yaklaşık olarak 1/4'ünü içerir. Yumuşak dokuların yapısı ve mekanik gücü kollagenin varlığına bağlıdır. Bazı dokular diğerlerinden daha fazla kollagen içerirler: Derinin kollagen içeriği, derinin kuru ağırlığının ~% 70'ine karşılık gelirken, karaciğer söz konusu olduğunda, miktar kuru ağırlığın ~% 4'ü kadardır<sup>47</sup>.

Proteinler yapısal olarak; fibröz ve globüler proteinler olarak ikiye ayrılırlar. Aminoasit dizilişlerine göre ise proteinler primer, sekonder, tersiyer ve kuarterner yapıya sahiptirler. Proteinlerin sekonder yapılarındaki heliks şekilleri alfa-heliks, beta-pilili ve kollagen helix (üçlü helix) dir. Kollagen, fibröz ve sekonder bir yapıda olup, kollageni oluşturan aminoasitler kollagen helix dizilişi gösterirler. Kollagen proteinindeki yüksek gerilme gücü üçlü heliks yapısından kaynaklanır<sup>20,22,86,94,99,101</sup>.

Proteinler aminoasitlerin peptid bağı adı verilen kovalent bağlarla birbirlerine zincir şeklinde bağlanarak oluşturdukları polimerlerdir. Proteinlerde sadece 20 çeşit aminoaside rastlanır. Aminoasitler sahip oldukları net elektrik yükü açısından üç grupta toplanırlar: nötr, asidik ve bazik. Asidik ayrışmanın bazik

ayırışma ile dengede olduğu pH değerine aminoasitin **izoelektrik pH'sı** denir. Nötr aminoasitlerin izoelektrik pH değerleri 4.8 ile 6.3 arasında değişir. İzoelektrik noktada bir aminoasit dipol gibi davranır ve elektrikce nötr'dür. Aminoasitlerin bu özelliği Becker ve arkadaşları tarafından aminoasitlerden oluşan kollagende de gözlenmiştir<sup>22,62,86,99,101</sup>.

AMİNOASİT	İzoelektrik pH	GRUP
Prolin	6.3	NÖTR
Glisin	5.97	NÖTR
Lisin	9.74	BAZİK
Arginin	10.76	BAZİK
Aspartik Asit	2.77	ASİDİK
Glutamik Asit	3.22	ASİDİK

Becker ve arkadaşları, asitte çözünen bir kollagen çözeltisi olarak içine iki elektrot yerleştirdiler ve yaklaşık 1  $\mu$ A şiddetinde zayıf akım uyguladılar. Yaklaşık 5 dakika içerisinde katot civarında çukur tarafı katoda doğru olan konkav bir kollagen bant oluşur. Kollagenin bu özelliği kemikteki piezoelektrik yapıyı oluşturmaktadır ve bu sonuç kemik kırıklarının elektrik alanı ve akımları ile tedavisini mümkün kılmaktadır<sup>102</sup>.

Önceleri tropokollagen moleküllerinin sadece fibroblastlar, kondroblastlar ve osteoblastlar tarafından yapıldığı düşünülüyordu. Bugün ise bu maddenin başka birçok hücre türleri (Tablo 7) tarafından da sentezlendiği bilinmektedir. Tropokollagen moleküllerini oluşturacak olan maddeler granüllü endoplazma keseciklerinin dış yüzeylerinde sentezlenmeye başlarlar. Buralarda şekillendirilen polipeptid zincirinde en fazla bulunan aminoasitler glisin (% 33.5), prolin (% 12) ve hidroksiprolin (% 10) dir. Endoplazma keseciklerine giren polipeptid zincirine burada karbonhidratlar da eklenir ve üç adet polipeptid zinciri

birbiri etrafında sarmallaşarak bir **prokollagen molekülü** meydana getirirler. Eriyik halinde olan bu moleküller Golgi aygıtına transfer edilir ve burada yoğunlaştırılırlar. Daha sonra bu moleküller Golgi vezikülleri ile hücre yüzeyine taşınır ve bağ dokusunun hücre lifleri arasındaki boşluklarını dolduran temel maddeye verilir. Temel maddeye geçen prokollagen moleküllerinin boyları kısaltılır. Bu duruma gelen prokollagen moleküllerine **tropokollagen molekülleri** denir<sup>48,92</sup>.

Kollagenin yapı elemanı olan tropokollagen molekülü, birbiri etrafına sarılmış üç adet iplik şekilli molekülden meydana gelir. Bu moleküllerin kimyasal yapıları; bunları oluşturan aminoasitlerin türleri ve diziliş sıraları ile birbirlerinden farklılık göstermektedir. Bu da ayrı tiplerde kollagen maddesinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bir düzineden daha fazla kollagen tipi tanımlanmış olmasına rağmen en yaygın, en önemli ve üzerinde en çok çalışılan tipleri I, II, III, IV ve V'dir. Memelilerde en yaygın olarak görülen farklı kollagen tiplerinin başlıca özellikleri şöyledir (Tablo 7)<sup>48,62,92,99</sup>.

**TABLO 7: Farklı Kollagen Tiplerinin Başlıca Karakteristikleri**<sup>48,92</sup>.

<b>Kollagen Tipi</b>	<b>Doku Dağılımı</b>	<b>Sentezlendiği Yer</b>	<b>Fonksiyon</b>
<b>I</b>	Dermis, kemik, tendon, fasiolar, sclera, diş, ligament, organ kapsülleri, fibröz kırkardak	Fibroblast Osteoblast Odontoblast Kondroblast	Gerilemeye dayanıklı
<b>II</b>	Hyalin ve Elastik kırkardaklar	Kondroblast	Aralıklı basınçlara dayanıklı
<b>III</b>	Düz kas, kan damarı, uterus, karaciğer, dalak, böbrek, akciğer	Düz kas, fibroblast, retiküler hücreler, hepatositler	Esnek organlarda yapısal koruyucu
<b>IV</b>	Epitelial ve endotelial, bazal lamina ve bazal membranlar	Endotelial ve epitelial hücreler, kas hücreleri ve Schwann hücreleri	Destek ve filtrasyon
<b>V</b>	Plasental bazal membranlar	Yetersiz bilgi	Yetersiz bilgi

Kollagen yapımı (**kollagenez**) sırasında tropokollagen molekülleri, IV. ve V. tip kollagenlerde özel bir tertiplenme göstermeksizin iplikçi makromoleküller halinde kalırlar. I., II. ve III. tip kollagenlerde ise, tropokollagen makromolekülleri özel bir biçimde peşpeşe ve yanyana gelerek **mikroiplikcikler (mikrofibriller)** oluştururlar. Mibrofibrillere sadece kollagen yapımı sırasında rastlanır. Bu üç tip kollagende, bir miktar mikroiplikcik paralel olarak bir araya toplanıp, kalınlıkları 200-900 Å arasında olan **kollagen iplikcikleri (fibrilleri)** meydana getirirler. Elektron mikroskopunda dokularda görülen en küçük üniteler bu kollagen iplikciklerdir. I. ve III. tip kollagende, az ya da çok miktarda kollagen iplikcik biraraya toplanarak değişik kalınlıkta **kollagen iplikler** oluştururlar. II. tip kollagen ise iplikcik düzeyinde kalır<sup>48</sup>.

Kollagendeki aminoasitler oldukça düzenli sıralanırlar. Bunlar sırasıyla Glisin-Prolin-Hidroksiprolin-Glisin'dir. Hidroksiprolin ve hidroksilizin normal protein sentezinde sentezlenemezler. Prolin ve lizin sentezlenir, daha sonra hidroksilasyon olur. Prolin ve lizin; prolin hidroksilaz ve lizin hidroksilaz enzimleriyle sırasıyla hidroksiprolin ve hidroksilizine dönüştürülürler. Aminoasitlerin hidroksilasyonu demir, oksijen, askorbik asit gibi indirgeyici madde ve alfa ketoglutarat'ın mevcut olmasını gerektirir; bunlardan birinin yokluğu veya eksikliği kollagen sentezine mani olur. Örneğin askorbik asit vücutta sentezlenemez ve dışarıdan alınır. Eğer yeterince alınamazsa skorbüt hastalığı görülür, dişler dökülür çünkü kollagen sentezi bozulmuştur<sup>38,67,73,92,94,100</sup>.

$\alpha$ -Ketoglutarat ve moleküler oksijenin varlığında hidroksiprolin ve süksinat oluşur. Oksijenlerin bir tanesi hidroksiprolinle diğeri süksinatla açığa çıkar<sup>92</sup>.

Kollagen miktarı, araştırılan dokudaki hidroksiprolin değerinin belli sabitler ile çarpılması sonucu elde edilir. Böylece dokudaki kollagen miktarı, onun hidroksiprolin miktarının ölçülmesi ile saptanabilmektedir. Hidroksiprolin ölçümleri ve radyoaktif etiketli prolinin hidroksiproline dönüşmesi doku kollagen metabolizmasının anlaşılmasında standart tekniklerdir. III. ve IV. tip kollagen, I. ve II. türlerle karşılaştırıldığında daha fazla hidroksiprolin ve hidroksilizin içerirler<sup>47,92</sup>.

Kollagen yapımındaki aksaklıklar, genellikle enzim eksikliğine dayalı kalıtsal hastalıklara neden olur (Tablo 8)<sup>5,48,100</sup>.

**TABLO 8: İnsanlarda dokuların bazı kalıtsal hastalıklardaki klinik belirtileri, kalıtsallığının şekli ve biyokimyasal defektler.**

Hastalık	Klinik belirtiler	Kalıtsal durum	Biyokimyasal defektler
<b>Ehlers-Danlos I</b>	Ekimoza eğilim, önemli derecede eklem hiper-mobilitesi, genellikle pre-matürelilik söz konusu	Otozomal dominant	Bilinmiyor
<b>Ehlers-Danlos II</b>	Te benzer, fakat belirtiler orta derecededir, pre-matürelilik nadirdir.	Otozomal dominant	Bilinmiyor
<b>Ehlers-Danlos III,</b>	Önemli derecede eklem hiper-mobilitesi, deride minimal kırışıklıklar.	Otozomal dominant	Bilinmiyor
<b>*Ehlers-Danlos IV,</b>	Aortik ve intestinal rüptür, şiddetli derecede ekimoza eğilim, çok ince deri, minimal derecede eklem gevşekliği	Otozomal resesif	Tip III kollagen sentezinde eksiklik
<b>Ehlers-Danlos VII</b>	Kısa boy, konjenital çıkıklar, ince gergin deri	Otozomal resesif	Prokollagen peptidaz aktivitesinde azalma



### 3. MATERYAL VE METOT

Dikey ve yatay doğrultuda uygulanan elektrik alanın karaciğer hidroksiprolin seviyesine etkisi araştırıldı. 9 saat/gün olmak üzere 3 gün boyunca deney hayvanlarına elektrik alan uygulandı. Hidroksiprolin miktarını tespit etmek için Stegemann-Stalder'ın "Hidroksiprolin Tayin Metodu" kullanıldı<sup>91</sup>.

#### 3.1. MATERYAL

Deney hayvanı olarak ŞAP ve Hıfzıssiha Enstitüsü'nden alınan 350-400 gr ağırlığında, 4-5 aylık 60 adet erkek beyaz kobay (Guinea Pig) kullanıldı.

Araştırmada kullanılan alet ve kimyasal maddeler şunlardır:

##### ALETLER:

- . DC güç kaynağı (TETA T-994): 2 adet
- . Multimetre (APPA-98): 2 adet
- . Terazi (SHIMADZU AEG-220)
- . Su banyosu (NÜVE SB-100)
- . Etüv (NÜVE FN-400)
- . pH Metre (JENWAY 3010)
- . Spektrofotometre (MILTON ROY UV-3000)
- . Bakır levha (50 cmx14 cmx0.1 mm): 2 adet  
(50 cmx50 cmx0.1 mm): 2 adet

##### KİMYASAL MADDELER:

- . cis-4-Hydroxy-L-Proline (Sigma; H-1637)

- . Zinn (II)-chlorid-Dihydrat (Merck; 7815 932 B 120715)
- . 1-Propanol (Merck; 997 137997)
- . 2-Propanol (Merck; 995 138 K 16620795)
- . Citric Acid Monohydrate (Sigma; C-7129)
- . Chloramine-T (Sigma; S-8625)
- . Sodium Acetate Trihydrate (Sigma; S-8625)
- . p-dimethylaminobenzaldehyde (Sigma; D-2004)
- . Hydrochloric Acid (Merck; 314 036 K14732514)
- . Acetic Acid Glacial (Merck; 56 849 K11139456)
- . Sodium Hydroxide (Merck; Art. 6462 747 C647762)
- . Perchloric Acid (Merck; 519 929 C731419)
- . Diethyl Ether (0.715-720, Birpa Ltd. Şti.)

### **3.2. METOT**

Çalışma süresince; deney hayvanları uygulanan elektrik alanın doğrultusu ve şiddeti açısından dört ayrı grupta incelendi. Tüm kobaylar; eşit miktarda olmak üzere sabahları kuru yem, akşamları ise marul verilerek beslendi. Aynı tip kafeslerde bulunan kobaylara hergün sabah saat 8.00'de elektrik alan uygulanmaya başlandı, bu işleme saat 17.00'de son verildi.

#### **3.2.1. Çalışma Grupları**

Araştırma; uygulanan elektrik alan şiddeti ve doğrultusu açısından dört ayrı grupta yapıldı:

**TABLO 9: Çalışma Grupları**

<b>GRUPLAR</b>	<b>POTANSİYEL FARK (Volt)</b>	<b>E DOĞRULTUSU</b>	<b>E ŞİDDETİ (kV/m)</b>	<b>DENEK SAYISI</b>
Grup I	300	Dikey ↓	1.912	10
Grup II	300	Yatay →	0.580	10
Grup III	150	Dikey ↓	0.956	10
Grup IV	150	Yatay →	0.290	10
Kontrol	-	-	-	20

Elektrik alanın uygulanmadığı ve fakat aynı şartlarda tutulan 20 kobay ise kontrol grubunu oluşturdu.

### 3.2.2. Elektrik Alanın Oluşturulması

Elektrik alanı oluşturmak için kafeslerin üst ve alt yüzeyine yada yan yüzeylerine bakır levhalar monte edildi. Bu levhalara 300 V ve 150 V gerilim uygulanarak kafes içinde homojen elektrik alan oluşturuldu. Özel olarak dizayn edilmiş tahta kafesler (50 cmx50 cmx14 cm) üzerinde oluşturulan elektrik alan, yüksek şiddette gerilim sağlayan iki adet güç kaynağından sağlandı. Bu cihazlardan elde edilen gerilimin şiddeti deney boyunca sabit tutuldu ve sürekli olarak devrede bağlı bulunan multimetre ile kontrol edildi.

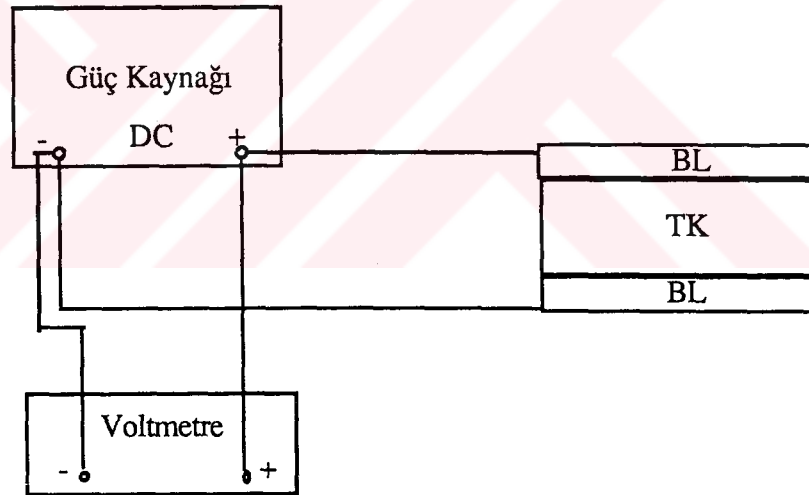
Kondansatör plakaları arasındaki uzaklık (d), plakaların boyutlarına nazaran çok küçük ise plakalar arasında düzgün elektrik alan oluşur<sup>42</sup>. Bu nedenle çalışmamızda; tahta kafeslerin yüksekliği, bakır levhaların boyutlarına kıyasla küçük seçildi.

### 3.2.2.1. Dikey Elektrik Alanın Uygulanması ve Gerilim Devresi

Dikey elektrik alan uygulamak için 50 cmx 50 cmx 0.1 mm boyutlarında bakır levhalar tahta kafesin üst ve alt yüzüne monte edildi.

Güç kaynağının; pozitif çıkışı daima üstteki bakır levhaya, negatif çıkışı ise alttaki levhaya bağlanarak devre tamamlandı. Voltmetre ile devreden geçen gerilim sürekli olarak kontrol edildi (Resim 1).

#### DEVRE MODELİ:



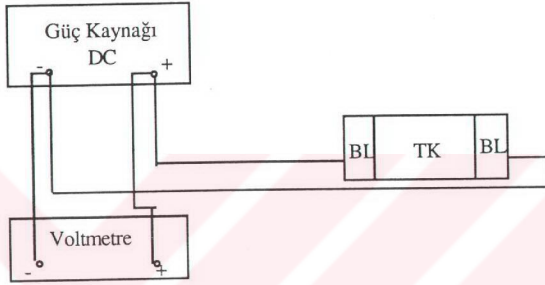
BL : Bakır levha (50 cmx50 cmx0.1 mm)

TK : Tahta kafes (50 cmx50 cmx14 cm)

### 3.2.2.2. Yatay Elektrik Alanın Uygulanması ve Gerilim Devresi

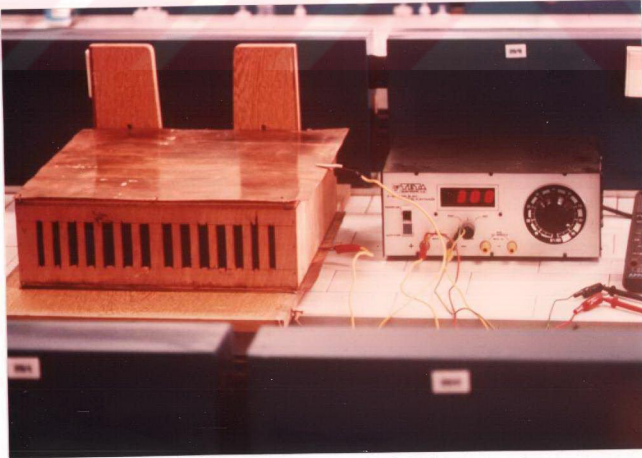
Yatay elektrik alan uygulamak amacıyla 50 cmx14 cmx0.1 mm boyutlarında bakır levhalar tahta kafesin iki yan yüzüne (sağ ve sol) monte edildi.

Güç kaynağının; pozitif çıkışı daima sağdaki levhaya, negatif çıkışı ise soldaki levhaya bağlanarak devre tamamlandı. Voltmetre ile devreden geçen gerilim sürekli olarak kontrol edildi (Resim 2).

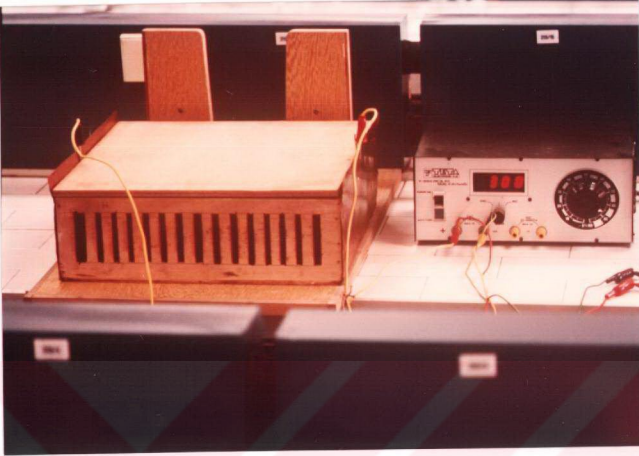


BL : Bakır levha (50 cmx14 cmx0.1 mm)

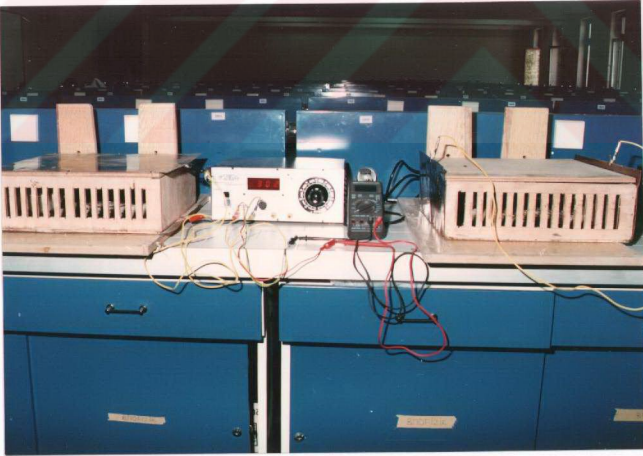
TK : Tahta kafes (50 cmx50 cmx14 cm)



RESİM 1. Dikey elektrik alan devresi



RESİM 2. Yatay elektrik alan devresi



RESİM 3. Dikey ve yatay elektrik alan devresi

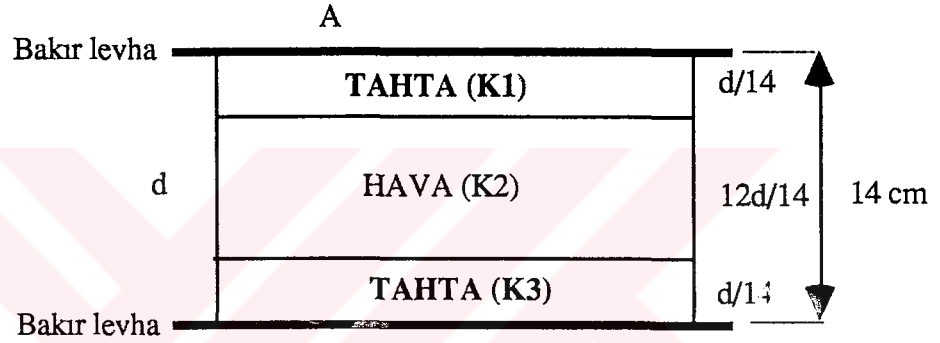


**RESİM 4. Tüm deney düzeneği ve elektrik alan uygulaması sonunda kobby karaciğerinin çıkarılışı**

### 3.2.3. Elektrik Alanın Hesaplanması

Gerek tahtanın, gerekse havanın dielektrik sabitinden (K) dolayı güç kaynağından elde edilen gerilim ve dolayısıyla elektrik alanda meydana gelen azalma şöyledir:

#### 3.2.3.1. Dikey Elektrik Alanın Hesaplanması



Şekil 24: Dikey elektrik alan oluşturmak için kullanılan tahta kafeslerin şematize gösterimi.

Bu düzenek seri bağlı üç ayrı kondansatör olarak düşünüldü.

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_1} + \frac{1}{C_2} + \frac{1}{C_3}$$

C<sub>1</sub>= Tahtanın sığası

C<sub>2</sub>= Havanın sığası

C<sub>3</sub>= Tahtanın sığası

C= Toplam (eşdeğer) sığa



$$C_1 = \frac{K_1 \epsilon_0 A}{d}, \quad C_2 = \frac{K_2 \epsilon_0 A}{12d}, \quad C_3 = \frac{K_3 \epsilon_0 A}{d} \text{ olduğundan}$$

$$C = \frac{\epsilon_0 A}{d} \cdot \left( \frac{14K_1 K_2 K_3}{K_2 K_3 + 12K_1 K_3 + K_1 K_2} \right)$$

Buradan,

$$K = \left( \frac{14K_1 K_2 K_3}{K_2 K_3 + 12K_1 K_3 + K_1 K_2} \right) \text{ bulunur ve bu ifade}$$

tahta-hava-tahta dan oluşan dielektrik sistemin toplam dielektrik sabitini vermektedir.

$K_1 \equiv 5$ ; Tahtanın dielektrik sabiti

$K_2 \equiv 1$ ; Havanın dielektrik sabiti

$K_3 \equiv 5$ ; Tahtanın dielektrik sabiti

alındığında

$$K = \frac{14 \times 5 \times 1 \times 5}{1 \times 5 + 12 \times 5 \times 5 + 5 \times 1} = 1.12 \text{ bulunur.}$$

Sistemin toplam dielektrik sabiti bulunduğuna göre uyguladığımız her iki potansiyel için elektrik alanını bulabiliriz:

Güç kaynağından elde edilen gerilim  $V_0 = 300$  Volt iken kafeslerde oluşan potansiyel ve elektrik alanı

$$V = \frac{V_0}{K} = \frac{300}{1.12} = 267.8 \text{ V,}$$

$$E = \frac{V}{d} = \frac{267.8 \text{ (V)}}{14 \times 10^{-2} \text{ (m)}} = 1912 \text{ V/m} = 1.912 \text{ kV/m olur,}$$

Gerilim  $V_0=150$  Volt iken

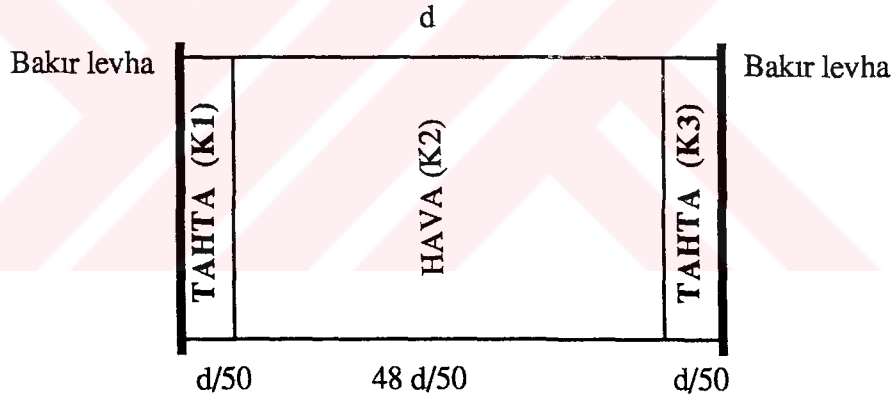
$$V = \frac{V_0}{K} = \frac{150}{1.12} = 133.9V,$$

$$E = \frac{V}{d} = \frac{133.9 (V)}{14 \times 10^{-2} (m)} = 956.4V / m = 0.956 kV / m \text{ olur,}$$

Buradan plakalara 300 Volt uyguladığımızda elektrik alan: 1.912 kV/m

150 Volt uyguladığımızda elektrik alan: 0.956 kV/m değerinde bulunmaktadır.

### 3.2.3.2. Yatay Elektrik Alanın Hesaplanması



Şekil 25: Yatay elektrik alan oluşturmak için kullanılan tahta kafesin şematize gösterimi.

Şekil 25'deki gösterimden hareketle bu sistemin sığası, dikey elektrik alanda olduğu gibi bulunabilir.

$$C_1 = \frac{K_1 \epsilon_0 A}{\frac{d}{50}}, \quad C_2 = \frac{K_2 \epsilon_0 A}{\frac{48d}{50}}, \quad C_3 = \frac{K_3 \epsilon_0 A}{\frac{d}{50}}$$

$$C = \frac{\epsilon_0 A}{d} \cdot \left( \frac{50K_1 K_2 K_3}{K_2 K_3 + 48K_1 K_3 + K_1 K_2} \right)$$

Buradan,

$$K = \frac{50K_1K_2K_3}{K_2K_3 + 48K_1K_3 + K_1K_2} \text{ bulunur.}$$

$K_1 \cong 5$ ; Tahtanın dielektrik sabiti

$K_2 \cong 1$ ; Havanın dielektrik sabiti

$K_3 \cong 5$ ; Tahtanın dielektrik sabiti

$K_1$ ,  $K_2$ , ve  $K_3$  değerlerini kullanarak

$$K = \frac{50 \times 5 \times 1 \times 5}{1 \times 5 + 48 \times 5 \times 5 + 5 \times 1} = 1.033 \text{ bulunur.}$$

Araştırmada; güç kaynağından elde edilen gerilim  $V_0=300$  Volt iken düzeneğimizdeki bakır levhalar arasında oluşan potansiyel ve elektrik alan şiddeti

$$V = \frac{V_0}{K} = \frac{300}{1.033} = 290.4 \text{ V,}$$

$$E = \frac{V}{d} = \frac{290.4}{50 \times 10^{-2}} = 580 \text{ V / m} = 0.580 \text{ kV / m}$$

Gerilim  $V_0=150$  Volt iken

$$V = \frac{V_0}{K} = \frac{150}{1.033} = 145.2 \text{ V,}$$

$$E = \frac{V}{d} = \frac{145.2}{50 \times 10^{-2}} = 290 \text{ V / m} = 0.290 \text{ kV / m}$$

Buradan plakalara 300 V uyguladığımızda elektrik alan: 0.580 kV/m

150 V uyguladığımızda elektrik alan: 0.290 kV/m

değerinde bulunmaktadır.

### **3.2.4. Karaciğer Dokusunda Hidroksiprolin Miktar Tayini**

Dikey ve yatay elektrik alana maruz kalan kobaylarla kontrollerin karaciğer dokularındaki hidroksiprolin miktarını tespit etmek için H.Stegemann-K.Stalder'in Modifiye Yöntemi kullanıldı<sup>91</sup>. Bu yöntemin temel prensibi; alınan doku örneklerinin hidrolizi sonucu ortaya çıkan hidroksiprolinin pH:8'de p-dimetilaminobenzaldehit, perklorik asit ve propan-2-ol ilavesiyle oluşturduğu rengin optik densitesinin 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçümü ve oluşturulan standart eğriden hidroksiprolin miktarının bulunmasıdır. Bu araştırmada kullanılan solüsyonlar ve hazırlanışı aşağıda verilmiştir.

#### **. Stok Solüsyon**

50 mg L-hidroksiprolin suda çözülüp, 6 M HCl çözeltisinden 1 damla damlatıldıktan sonra su ile 100 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlandı. Bu stok çözelti +4°C'de buzdolabında muhafaza edildi.

#### **. L-hidroksiprolin Standart Çözeltileri**

Standart çözeltiler kullanılacağı gün hazırlandı. Stok çözeltinin 5 ml'si ölçülü balonda 500 ml'ye tamamlandı. Bu çözeltiden 10 ml, 20 ml, 30 ml ve 40 ml alınarak ayrı ayrı 100 ml'ye tamamlandı. Böylece çözeltiler sırasıyla mililitrede 0.5 µg, 1 µg, 1.5 µg ve 2 µg L-hidroksiprolin ihtiva etmiş oldular.

#### **. Kalay-2-Klorürlü Hidroklorik Asit Çözeltisi**

Kalay-2-klorür dihidratın 7.5 gramı suda çözülerek 500 ml'ye tamamlandı ve bu çözeltiye 500 ml hidroklorik asit çözeltisi ilave edildi.

### . Tampon Çözelti (Buffer)

Sitrik Asit Monohidrat (50 gr)

Glasiyal Asetik Asit (12 ml)

Sodyum Asetat Trihidrat (120 gr)

Sodyum Hidroksit (34 gr)

Suda çözülüp 1000 ml'ye tamamlandı. Daha önceden kalibrasyon yapılmış pH metre ile pH=6 olduğu gözlemlendi. Bu çözelti +4°C'de birkaç hafta bozulmadan muhafaza edildi.

### . Kloramin-T Reaktifi

1.41 gr kloramin-T 10 ml suda çözülüp sırasıyla 10 ml propan-1-ol ve 80 ml tampon çözelti ilave edilerek hazırlandı.

### . Renk Reaktifi

10 gr p-dimetilaminobenzaldehit, % 60 oranındaki 35 ml perklorik asit çözeltisinde çözülüp, 65 ml propan-2-ol ilave edilerek hazırlandı.

#### 3.2.4.1. Dokuların Alınması ve Örnek Solüsyonların Hazırlanması

Kontrol ve elektrik alana maruz bırakılan kobaylar eterle bayıltılıp, bistüri ve penset yardımıyla açılarak karaciğer dokuları çıkarıldı. Çıkarılan doku sodyum klorür solüsyonu içine alındı. Böylelikle dokunun kan ve tüy gibi istenmeyen materyallerden temizlenmesi sağlandı. Sodyum klorür solüsyonundan çıkarılan doku bistüriyle küçük küpler halinde kesilip, vakum kapaklı pyrex

tüplerde en az 30 dakika 70°C'de ısıtıldı. Numune soğutulduktan sonra çok küçük parçalara ayrılıp, karıştırılarak homojen hale getirildi. Her bir dokudan alınan örneklerden 4'er gr tartıldı.

Deney numunesi hidroliz balonuna alınıp, üzerine 100 ±1 ml kalay-2-klorürlü hidroklorik asit çözeltisi ilave edildi. Etüvde 16 saat 105°C'de hafif hafif kaynatıldı. Sıcak hidrolizat süzgeç kağıdından 200 ml'lik işaretli ölçülü balona süzüldü. Üzerine 30 ml 6 M HCl ilave edilip, distile su ile 200 ml'ye tamamlandı. Elde edilen bu çözeltiden 25 ml alınıp pH önce 10 M NaOH çözeltisi ile, gerekiyorsa 1M NaOH çözeltisi kullanılarak 8±0.2'ye ayarlandı ve distile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

Ölçülü balondaki 250 ml'lik çözeltiden 4 ml. deney tüpüne alınıp üzerine 2 ml kloramin-T reaktifi ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.

Tüpe, 2 ml renk reaktifi ilave edilip, iyice karıştırıldıktan sonra 60°C'de su banyosunda 20 dakika bekletildi.

Tüpün üst kısmında yoğunlaşan suyun inmesi için 3 dakika musluk suyu altında soğutuldu.

#### **3.2.4.2. Spektrofotometrik Okuma ve Hidroksiprolin Miktarının Hesaplanması**

Standart solüsyonların ve doku örneklerinin optik densiteleri  $\lambda=560$  nm'de Milton Roy UV-3000 spektrofotometre ile okundu. Önce konsantrasyonunu bildiğimiz standart solüsyonların absorbans değerleri okutuldu. (Şekil 26) Standart çözeltilerdeki L-hidroksiprolin miktarları (konsantrasyon) yatay ekseninde absorbans değerleri de dikey ekseninde olmak üzere standart eğri çizildi

(Şekil 27). Daha sonra tüplerdeki örneklerin optik densiteleri okundu ve standart eğri yardımıyla her örneğin içerdiği hidroksiprolin konsantrasyonu bulundu (Şekil 28).

Standart eğriyi belirlemek için kullanılan standart solüsyonlar 1 ml'de 0.5-2 µg hidroksiprolin içerdiğinden, örneklerin içerdiği hidroksiprolin konsantrasyonunun birimi µg/ml'dir. Örnek solüsyonların hidroksiprolin miktarları; örnek solüsyonun kayıtlardaki miktarlarından bulundu (Tablo 10-Tablo 11).

$$\text{HP Miktarı (µg/doku gr)} = \frac{\text{Örnek Solüsyonun Hidroksiprolin Miktarı (µg)}}{\text{Doku (gr)}}$$

olarak hesaplandı. Her doku örneği çift çalışıldı ve örnek solüsyonların herbirinin hidroksiprolin konsantrasyonu; çift çalışılan örneklerin konsantrasyonlarının aritmetik ortalaması alınarak bulundu.

**Şekil 26: Standart solüsyonların konsantrasyon-absorbans değerleri\***

\* Standart eğri tüm çalışma boyunca günlük oluşturuldu. Şekil 26-Şekil 28, Milton-Roy UV-3000 spektrofotometre cihazında yapılan ölçümlere ait çıktılardır.





Şekil 27: Standart solüsyonlardan elde edilen standart eğri

**Şekil 28: Karaciğer dokusu örneklerinin standart eğriden elde edilen konsantrasyon-absorbans değerleri**

#### **3.2.4.3. İstatistik Değerlendirmede Kullanılan Testler**

İstatistiksel değerlendirme iki grupta yapıldı:

I. Her çalışma grubunun kendi içinde değerlendirilmesi.

II. Gruplar arası değerlendirme.

Her iki istatistiksel değerlendirme için öncelikle gruplardan en az ikisi arasında fark olup olmadığını araştırmak amacıyla VARYANS ANALİZ yöntemi kullanıldı. Gruplar arasında fark tespit edildikten sonra bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirleyebilmek için DUNCAN Test yöntemine

başvuruldu. İstatistik verilere ait bilgisayar çıktıları ekte verilmiştir (Ekler 8.2). Dikey ve yatay elektrik alana maruz kalan deneklerin kontrollere oranla karaciğer hidrokspirolin seviyelerinde meydana gelen değişimde hangi elektrik alan doğrultusunun daha etkili olduğu MANN-WHITNEY U Test yöntemi kullanılarak belirlendi.

### **I. Her çalışma grubunun kendi içinde değerlendirilmesi:**

Uygulanan her elektrik alan şiddetinin ve doğrultusunun hidrokspirolin miktarında meydana getirdiği değişimin kontrol grubuyla karşılaştırması dört grupta yapıldı.

**I a.** 300 V uygulanan dikey elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidrokspirolin miktarları karşılaştırıldı.

**I b.** 300 V uygulanan yatay elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidrokspirolin miktarları karşılaştırıldı.

**I c.** 150 V uygulanan dikey elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidrokspirolin değerleri karşılaştırıldı.

**I d.** 150 V uygulanan yatay elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidrokspirolin değerleri karşılaştırıldı.

### **II. Gruplar arası değerlendirme:**

Gruplar arası karşılaştırma, elektrik alanın gerek şiddeti gerekse doğrultusu gözönüne alınarak yapıldı.

**II a.** 300 V ve 150 V uygulanan dikey elektrik alan gruplarının karaciğer hidrokspirolin miktarları karşılaştırıldı.

**II b.** 300 V ve 150 V uygulanan yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları karşılaştırıldı.

**II c.** 300 V uygulanan dikey ve yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları karşılaştırıldı.

**II d.** 150 V uygulanan dikey ve yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları karşılaştırıldı.



**TABLO 10: 300 V ile Oluşturulan Dikey ve Yatay Elektrik Alan Gruplarıyla Kontrol Grubunun Karaciğer Hidroksiprolin Değerleri ve DUNCAN Testi İle Karşılaştırılması**

K				E <sub>D300</sub>		E <sub>Y300</sub>	
Kobay No	Hidroksi-prolin (µg/gdoku)	Kobay No	Hidroksi-prolin (µg/gdoku)	Kobay No	Hidroksi-prolin (µg/gdoku)	Kobay No	Hidroksi-prolin (µg/gdoku)
1	0.36900	11	0.19375	1	0.51725	1	0.41375
2	0.12175	12	0.63800	2	0.43000	2	0.35025
3	0.10300	13	0.25000	3	0.56800	3	0.42850
4	0.16250	14	0.10900	4	0.60200	4	0.56150
5	0.29675	15	0.20975	5	0.31475	5	0.27350
6	0.12250	16	0.39800	6	0.87200	6	0.81200
7	0.39850	17	0.23100	7	0.37600	7	0.29400
8	0.18400	18	0.16750	8	0.83300	8	0.67900
9	0.48375	19	0.41300	9	0.65100	9	0.54000
10	0.23675	20	0.14075	10	0.43575	10	0.29700
X ± Sd : 0.2615 ± 0.1450				X±Sd:0.5600±0.1856		X±Sd:0.4649±0.1802	
<b>K:</b> Kontrol Grubu <b>E<sub>D300</sub>:</b> 300 V İle Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubu <b>E<sub>Y300</sub>:</b> 300 V İle Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubu K ve E <sub>D300</sub> Grupları Arasındaki Fark <b>ÖNEMLİ</b> (p<0.01) K ve E <sub>Y300</sub> Grupları Arasındaki Fark <b>ÖNEMLİ</b> (p<0.01)							

**TABLO 11: 150 V ile Oluşturulan Dikey ve Yatay Elektrik Alan Gruplarıyla Kontrol Grubunun Karaciğer Hidroksiprolin Değerleri ve DUNCAN Testi İle Karşılaştırılması**

K				E <sub>D150</sub>		E <sub>Y150</sub>	
Kobay No	Hidroksi-prolin (µg/gdoku)	Kobay No	Hidroksi-prolin (µg/gdoku)	Kobay No	Hidroksi-prolin (µg/gdoku)	Kobay No	Hidroksi-prolin (µg/gdoku)
1	0.36900	11	0.19375	1	0.08000	1	0.10350
2	0.12175	12	0.63800	2	0.09020	2	0.12550
3	0.10300	13	0.25000	3	0.06900	3	0.09450
4	0.16250	14	0.10900	4	0.07700	4	0.12925
5	0.29675	15	0.20975	5	0.06125	5	0.12875
6	0.12250	16	0.39800	6	0.02725	6	0.07350
7	0.39850	17	0.23100	7	0.09660	7	0.14612
8	0.18400	18	0.16750	8	0.11275	8	0.18850
9	0.48375	19	0.41300	9	0.07975	9	0.10775
10	0.23675	20	0.14075	10	0.08550	10	0.09650
X ± Sd : 0.2615 ± 0.1450				X±Sd:0.0779±0.0228		X±Sd:0.1194±0.0322	
<b>K:</b> Kontrol Grubu <b>E<sub>D150</sub>:</b> 150 V İle Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubu <b>E<sub>Y150</sub>:</b> 150 V İle Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubu K ve E <sub>D150</sub> Grupları Arasındaki Fark <b>ÖNEMLİ</b> (p<0.01) K ve E <sub>Y150</sub> Grupları Arasındaki Fark <b>ÖNEMLİ</b> (p<0.05)							

**TABLO 12: 300 V ve 150 V İle Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Gruplarının Karaciğer Hidroksiprolin Değerlerinin DUNCAN Testi İle Karşılaştırılması**

<b>ED300</b>		<b>ED150</b>	
<b>Kobay No</b>	<b>Hidroksiprolin (µg/gdoku)</b>	<b>Kobay No</b>	<b>Hidroksiprolin (µg/gdoku)</b>
1	0.51725	1	0.08000
2	0.43000	2	0.09020
3	0.56800	3	0.06900
4	0.60200	4	0.07700
5	0.31475	5	0.06125
6	0.87200	6	0.02725
7	0.37600	7	0.09660
8	0.83300	8	0.11275
9	0.65100	9	0.07975
10	0.43575	10	0.08550
<b>ED300:300 V İle Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubu</b>			
<b>ED150:150 V İle Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubu</b>			
<b>p&lt;0.01 ÖNEMLİ</b>			

**TABLO 13: 300 V ve 150 V İle Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Gruplarının Karaciğer Hidroksiprolin Değerlerinin DUNCAN Testi İle Karşılaştırılması**

<b>EY300</b>		<b>EY150</b>	
<b>Kobay No</b>	<b>Hidroksiprolin (µg/gdoku)</b>	<b>Kobay No</b>	<b>Hidroksiprolin (µg/gdoku)</b>
1	0.41375	1	0.10350
2	0.35025	2	0.12550
3	0.42850	3	0.09450
4	0.56150	4	0.12925
5	0.27350	5	0.12875
6	0.81200	6	0.07350
7	0.29400	7	0.14612
8	0.67900	8	0.18850
9	0.54000	9	0.10775
10	0.29700	10	0.09650
<b>EY300:300 V İle Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubu</b>			
<b>EY150:150 V İle Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubu</b>			
<b>p&lt;0.01 ÖNEMLİ</b>			



**TABLO 14: 300 V ile Oluşturulan Dikey ve Yatay Elektrik Alan Gruplarının Karaciğer Hidroksiprolin Değerlerinin DUNCAN Testi İle Karşılaştırılması**

<b>ED300</b>		<b>EY300</b>	
<b>Kobay No</b>	<b>Hidroksiprolin (µg/gdoku)</b>	<b>Kobay No</b>	<b>Hidroksiprolin (µg/gdoku)</b>
1	0.51725	1	0.41375
2	0.43000	2	0.35025
3	0.56800	3	0.42850
4	0.60200	4	0.56150
5	0.31475	5	0.27350
6	0.87200	6	0.81200
7	0.37600	7	0.29400
8	0.83300	8	0.67900
9	0.65100	9	0.54000
10	0.43575	10	0.29700
<b>ED300:300 V İle Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubu</b>			
<b>EY300:300 V İle Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubu</b>			
<b>p&gt;0.05 ÖNEMSİZ</b>			

**TABLO 15: 150 V ile Oluşturulan Dikey ve Yatay Elektrik Alan Gruplarının Karaciğer Hidroksiprolin Değerlerinin DUNCAN Testi İle Karşılaştırılması**

<b>ED150</b>		<b>EY150</b>	
<b>Kobay No</b>	<b>Hidroksiprolin (µg/gdoku)</b>	<b>Kobay No</b>	<b>Hidroksiprolin (µg/gdoku)</b>
1	0.08000	1	0.10350
2	0.09020	2	0.12550
3	0.06900	3	0.09450
4	0.07700	4	0.12925
5	0.06125	5	0.12875
6	0.02725	6	0.07350
7	0.09660	7	0.14612
8	0.11275	8	0.18850
9	0.07975	9	0.10775
10	0.08550	10	0.09650
<b>ED150:150 V İle Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubu</b>			
<b>EY150:150 V İle Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubu</b>			
<b>p&gt;0.05 ÖNEMSİZ</b>			

**TABLO 16: 300 V ile Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubuyla Kontrol Grubu Hidroksiprolin Değerlerinin "Mann-Whitney U" Test Sonuçları**

<b>ED300</b>	p= 0.05 için <b>U<sub>H</sub>=182</b> U <sub>T</sub> =138 <b>U<sub>H</sub>&gt;U<sub>T</sub> ÖNEMLİ (p&lt;0.05)</b>
U <sub>H</sub> : Hesapla bulunan U değeri U <sub>T</sub> : Tablodan bulunan U değeri p : Yanılma olasılığı ED300 : 300 V İle Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubu	

**TABLO 17: 300 V ile Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubuyla Kontrol Grubu Hidroksiprolin Değerlerinin "Mann-Whitney U" Test Sonuçları**

<b>EY300</b>	p= 0.05 için <b>U<sub>H</sub>=168</b> U <sub>T</sub> =138 <b>U<sub>H</sub>&gt;U<sub>T</sub> ÖNEMLİ (p&lt;0.05)</b>
U <sub>H</sub> : Hesapla bulunan U değeri U <sub>T</sub> : Tablodan bulunan U değeri p : Yanılma olasılığı EY300 : 300 V İle Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubu	

**TABLO 18: 150 V ile Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubuyla Kontrol Grubunun "Mann-Whitney U" Test Sonuçları**

<b>ED150</b>	p= 0.05 için <b>U<sub>H</sub>=198</b> U <sub>T</sub> =138 <b>U<sub>H</sub>&gt;U<sub>T</sub> ÖNEMLİ (p&lt;0.05)</b>
U <sub>H</sub> : Hesapla bulunan U değeri U <sub>T</sub> : Tablodan bulunan U değeri p : Yanılma olasılığı ED150 : 150 V İle Oluşturulan Dikey Elektrik Alan Grubu	

**TABLO 19: 150 V ile Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubuyla Kontrol Grubunun "Mann-Whitney U" Test Sonuçları**

<b>EY150</b>	p= 0.05 için <b>U<sub>H</sub>=173</b> U <sub>T</sub> =138 <b>U<sub>H</sub>&gt;U<sub>T</sub> ÖNEMLİ (p&lt;0.05)</b>
U <sub>H</sub> : Hesapla bulunan U değeri U <sub>T</sub> : Tablodan bulunan U değeri p : Yanılma olasılığı EY150 : 150 V İle Oluşturulan Yatay Elektrik Alan Grubu	

Not: "Mann-Whitney U" Testine göre hesapla bulunan U değeri (U<sub>H</sub>), tablodan bulunan U değerinden (U<sub>T</sub>) büyükse gruplar arasında bulunan fark önemlidir. Gruplar birbirinden bağımsızdır.

#### 4. BULGULAR VE SONUÇLAR

Araştırmamızda, 20'si kontrol olmak üzere 60 adet kobayın elektrik alanı etkisinde karaciğer hidroksiprolin miktarları belirlendi.

Araştırma sırasında gözönüne alınan çalışma gruplarının dağılımı Tablo 9'da verilmektedir. Her çalışma grubu için saptanan karaciğer hidroksiprolin miktarları Tablo 10 ve Tablo 11'de verilmiştir. Homojen hale getirilmiş olan karaciğer dokusundan çift örnek alınarak çalışılmış ve hidroksiprolin hesaplamasında çift örneklerin ortalamasından bulunan konsantrasyon değeri kullanılmıştır.

Her çalışma grubunun kendi içinde kontrollere oranla değerlendirmesini yapabilmek için kontrol ve elektrik alana maruz kalan deneklerin karaciğer hidroksiprolin miktarları karşılaştırıldı ve aşağıdaki sonuçlar bulundu:

1. 300 V uygulanan dikey elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli ( $p<0.01$ ) bulunmuştur (Tablo 10).

2. 300 V uygulanan yatay elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli ( $p<0.01$ ) bulunmuştur (Tablo 10).

3. 150 V uygulanan dikey elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli ( $p<0.01$ ) bulunmuştur (Tablo 11).

4. 150 V uygulanan yatay elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 11).

Gruplararası değerlendirme elektrik alanın şiddeti ve doğrultusu gözönüne alınarak yapıldı. Bu amaçla aynı doğrultuda uygulanan elektrik alanların şiddetlerinin değişik olmasının etkisi ile aynı şiddetteki elektrik alanların farklı doğrultularda uygulamanın etkisi araştırıldı.

- 300 V ve 150 V uygulanan dikey elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli ( $p<0.01$ ) bulunmuştur (Tablo 12). 300 V ile oluşturulan dikey elektrik alanın hidroksiprolin seviyesini artırdığı, 150 V ile oluşturulan dikey elektrik alanın ise azaltıcı etki yaptığı Tablo 10 ve Tablo 11'deki verilerden gözlenmektedir.

- 300 V ve 150 V uygulanan yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli ( $p<0.01$ ) bulunmuştur (Tablo 13). 300 V ile oluşturulan yatay elektrik alanın hidroksiprolin seviyesini artırdığı, 150 V ile oluşturulan yatay elektrik alanın ise azaltıcı etki yaptığı Tablo 10 ve Tablo 11'deki verilerden gözlenmektedir.

- 300 V uygulanan dikey ve yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 14). 300 V uygulanarak oluşturulan gerek dikey gerekse yatay elektrik alan gruplarına ait verilerin tamamı hidroksiprolin miktarının **arttığını** göstermektedir (Tablo 10).

- 150 V uygulanan dikey ve yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda önemsiz ( $p>0.05$ )

bulunmuştur (Tablo 15). 150 V uygulanarak oluşturulan gerek dikey gerekse yatay elektrik alan gruplarına ait verilerin tamamı hidroksiprolin miktarının **azaldığını** göstermektedir (Tablo 11).

Ancak Mann-Whitney U Test yönteminde gerek 300 V gerekse 150 V gerilim uygulanarak oluşturulan dikey ve yatay elektrik alan gruplarında, gözönüne alınan kontrol grubunun ve uygulanan gerilim şiddetinin her iki elektrik alan doğrultusu içinde olmasına karşın dikey elektrik alanda hesapla bulunan U değerinin yatayda hesaplanan U değerinden büyük çıkması dikey elektrik alanın yataydan daha etkili olduğunu düşündürmektedir (Tablo 16-Tablo 19).

#### 4.1. SONUÇLAR

300 V ve 150 V uygulanarak oluşturulan dikey ve yatay elektrik alanlara maruz kalan kobayların karaciğer hidroksiprolin seviyelerinde meydana gelen değişiklikler istatistiksel testlerle değerlendirilmiş ve deney bulguları ile uyum içinde oldukları gözlenen aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. 300 V uygulanan dikey elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda **önemli** ( $p<0.01$ ) bulunmuştur.
2. 300 V uygulanan yatay elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda **önemli** ( $p<0.01$ ) bulunmuştur.
3. 150 V uygulanan dikey elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda **önemli** ( $p<0.01$ ) bulunmuştur.

4. 150 V uygulanan yatay elektrik alan grubu ile kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda **önemli** ( $p<0.05$ ) bulunmuştur.

5. 300 V ve 150 V uygulanan dikey elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda **önemli** ( $p<0.01$ ) bulunmuştur.

6. 300 V ve 150 V uygulanan yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda **önemli** ( $p<0.01$ ) bulunmuştur.

7. 300 V uygulanan dikey ve yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda **önemsiz** ( $p>0.05$ ) bulunmuştur.

8. 150 V uygulanan dikey ve yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin miktarları arasındaki fark istatistiksel anlamda **önemsiz** ( $p>0.05$ ) bulunmuştur.



## 5. TARTIŞMA

Araştırmamızda dışarıdan uygulanan elektrik alanın vücut elektrik alanı ile etkileşimi sonucu karaciğer kollagen sentezinde meydana gelen değişim incelendi. Kollagen sentezinin elektrik alanın farklı doğrultularından değişik biçimde etkileneceği düşüncesinden hareketle elektrik alanın yönü 90° değiştirildi. Kollagen sentezinde meydana gelen değişim hidroksiprolin miktar tayini ile yapıldı ve miktar tayininde Stegemann-Stalder'in yöntemi kullanıldı<sup>91</sup>.

Çalışmamızda 20'si kontrol olmak üzere 60 adet kobay; 9 saat/gün süreyle 3 gün boyunca 300 V-150 V gerilim uygulanarak oluşturulan dikey ve yatay elektrik alana maruz bırakılarak 4 ayrı grupta incelendi. Üst veya yan yüzlerine bakır plakalar monte edilen tahta kafeslerdeki kobaylar, yüksek şiddette sabit gerilim sağlayan güç kaynağı yardımıyla oluşturulan elektrik alana maruz bırakıldı. Elektrik alanın uygulandığı 3. günün sonunda gerek kontrol gerekse elektrik alana maruz kalan kobayların karaciğer hidroksiprolin miktarları saptandı.

300 V uygulanarak oluşturulan dikey elektrik alanda, kontrollere kıyasla karaciğer hidroksiprolin miktarında artış gözlemlendi ve bu fark istatistiksel anlamda önemli ( $p<0.01$ ) bulundu. Aynı gerilim şiddetinin oluşturduğu yatay elektrik alanın da hidroksiprolin miktarını artırdığı ve bu artışın istatistiksel anlamda önemli ( $p<0.01$ ) olduğu saptandı. Ancak dikey ve yatay elektrik alanların karaciğer hidroksiprolin miktarları arasında anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

150 V uygulanarak oluşturulan dikey elektrik alanın karaciğer hidroksiprolin miktarını kontrollere oranla artırdığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli ( $p<0.01$ ) olduğu tespit edildi. Buna rağmen aynı gerilimin oluşturduğu yatay elektrik alanda ise karaciğer hidroksiprolin miktarında azalma saptandı ve bu

azalış istatistiksel anlamda önemli ( $p < 0.05$ ) bulundu. Dikey ve yatay elektrik alanlara maruz kalan hayvanların hidroksprolin miktarları arasındaki farkın istatistiksel anlamda önemsiz ( $p > 0.05$ ) olduğu tespit edildi.

Ancak hem 300 V hem de 150 V için istatistiksel olarak hesaplanan değerin ( $U_H$ ) dikeyde yataydan daha büyük bulunması, dikey elektrik alanın yataydan daha etkili olduğu sonucunu vermektedir.

Hidroksiprolin kollagen dokunun tipik bir aminoasitidir ve dokulardaki kollagenin ölçülmesinde hidroksprolin miktarı bir kriter olarak kullanılır.

İlk defa Neuman ve Logan tarafından gerçekleştirilen hidroksprolin metodu farklı araştırmacılar tarafından çeşitli modifikasyonlara uğramıştır. Hidroliz safhasında araştırmacıların bir kısmı HCl, diğerleri ise  $H_2SO_4$  kullanılmışlardır. Ancak her iki kimyasal ile ayrı ayrı yapılan ölçümlerde aynı miktarda hidroksprolin elde edilmiştir. Ayrıca renk teşekkülü safhasında kullanılan su banyosunun sıcaklığında ve kullanım süresinde de modifikasyonlara rastlanmaktadır. Tüm bu değişikliklerde amaç deneyin her tekrar edilmesinde oluşan rengin aynen elde edilmesi ve buna bağlı olarak hassas sonuçların alınabilmesidir<sup>25,46,69,87-91</sup>.

Hidroksiprolin oksidasyonunda kullanılan  $H_2O_2$  miktarında da çeşitli değişiklikler yapılmıştır. Araştırmacıların çoğu hidrojen peroksidin fazlasını parçalamak için ısıtma işlemini ve süresini değiştirmişlerdir. Sadece Stegemann-Stalder ve Woessner oksidasyon işleminde Kloramin-T kullanmışlardır. Yapılan çalışmalar Kloramin-T kullanılarak gerçekleştirilen hidroksprolin miktar tayinlerinde daha hassas sonuçlar elde edildiğini göstermektedir<sup>87-91,95</sup>.

Stegemann-Stalder'in yöntemi dokulardaki hidroksiprolin miktar tayininde kullanıldığı gibi idrar ve plazma hidroksiprolin seviyesinin tayininde de hassas sonuçlar vermektedir<sup>77</sup>. Bu yöntem gıda sanayinde et ve et ürünlerindeki hidroksiprolin miktarını tespit etmekte de kullanılmaktadır<sup>5</sup>.

Diğer yöntemlere kıyasla daha hassas sonuç vermesi ve gerek standart solüsyonlarda gerekse numunelerde oluşan rengin uzun zaman değişmemesi nedeniyle, çalışmamızda Stegemann-Stalder'in yöntemini kullandık.

Doku kollagen miktarındaki değişimde yaş önemli bir faktör olarak rol oynamaktadır:

Tip I, III ve IV kollagen miktarının yaşa bağlı olarak değiştiği, tip I kollagenin fetüste (17 günlük), tip III'ün fetüs (17 günlük) ve yeni doğanlarda (6 gün), tip IV'ün ise yetişkinlerde fazla olduğu saptanmıştır. Tip I ve tip III miktarlarının yetişkinlerde azalması, tip IV'ün ise yetişkinlerde artış göstermesi araştırmacıların gözlemlediği ilgi çekici bir diğer sonuçtur<sup>76</sup>.

Benzer bir çalışmada da 1 aylık sıçanların doku kollagen miktarlarının 15 aylık sıçanlara nazaran daha fazla olduğu ayrıca 1 aylık sıçanlarda kollagen sentezinde, 15 aylık sıçanlarda ise kollagen yıkımında artış olduğu gözlenmiştir<sup>63</sup>.

Karaciğerdeki kollagen miktarındaki değişimde çeşitli hastalıklar etkili olmaktadır. İnsanlarda normal karaciğerdeki kollagen miktarı % 2 iken, alkolik siroz hastalarının karaciğer kollagen miktarı % 10'a kadar çıkabilmektedir<sup>82</sup>.

Kollagen sentezinde, bazı kimyasal maddelerin etkili olduğunun anlaşılması bu konuda yapılan çalışmaların artmasına neden olmuştur.

Sıçanlara karbontetraklorid (CCl<sub>4</sub>), dimetilnitrosamin (DMN) ve thioacetamide (TAA) uygulamak suretiyle karaciğer hidroksiprolin seviyesinde artış saptanmıştır. Metanol'ün ise hidroksiprolin miktarını azalttığı tespit edilmiştir<sup>6,55</sup>.

Etanol'ün ise karaciğer yaralanmalarında hidroksiprolin sentezini artırdığı gözlenmiştir. Bu çalışmada hidroksiprolin tayini için Diegelman'ın radyoaktif metodu kullanılmıştır<sup>54</sup>.

Kollagen sentezinde etkili olan bir diğer faktör ise askorbik asittir. Askorbik asit, hidroksiprolin oluşumundaki hidroksilasyon aşamasını hızlandıran prolin hidroksilazın aktivasyonunu artırıcı bir etkiye sahiptir. Bu madde, kollagenin yapısal bir bileşimidir. Yapılan çalışmalar askorbik asit konsantrasyonunun kollagen sentezinde etkili olduğunu ortaya koymuştur. Askorbik asit konsantrasyonu arttıkça, kollagen sentezinde arttığı saptanmıştır. Askorbik asit, tip I ve tip III prokollajendeki mRNA'ların artışına neden olur. Ayrıca fibroblast ve osteoblastların normal olarak çalışması, bağ dokusunun kollagen liflerinin ve kemik dokusunun normal olarak oluşumu için gereklidir<sup>38,67,73,94,100</sup>.

Askorbik asit eksikliğinde yapılan kollagen kusurlu ve zayıftır. Askorbik asitin eksikliğinde gözlenen en önemli etkilerden biri yaralarda meydana gelen iyileşmenin yetersizliğidir. Bu durum, hücrelerde kollagen liflerin birikiminin eksikliği ve intersellüler bağlayıcı maddelerin yetersizliğinden kaynaklanır. Sonuçta genellikle birkaç günde iyileşebilen bir yaranın iyileşmesi için aylar gerekebilir<sup>48</sup>.

Askorbik asidin yokluğu kemik büyümesini duraklatır. Büyüyen epifizlerdeki hücreler prolifer olmaya devam ederler, fakat hücrelerin arasında yeni kollagen birikimi bulunmadığından, kemikleşme eksik kalır ve kemikler büyüme noktalarından kolayca kırılabilirler.

Ayrıca C vitamini eksikliğinde, damarların çeperleri aşırı frajildir. Çünkü endotel hücreleri uygun şekilde birbirine yapışamaz ve damar çeperlerinde normal olarak bulunan kollagen fibriller yetersiz kalır.

Kobaylar da insanlar gibi C vitaminini kendi vücutlarında sentezleyemedikleri için çalışmamız boyunca tüm hayvanlara eşit miktarda yeşil sebze verildi.

Dokuların iletkenliklerinin ve dielektrik sabitlerinin bilinmesi kalpte oluşan akım ve potansiyellerin vücudun değişik bölgelerinde nasıl yayılacağı, elektromagnetik radyasyonların ve yüksek frekanslı akımların oluşturacağı diatermi etkisinin anlaşılması, hücre zarları ve stoplazma gibi hücre organellerinin yapısal olarak incelenmesi, uyarılma mekanizmasının araştırılması, protein moleküllerinin analiz edilmesi, elektromagnetik enerjinin teşhis ve tedavi amaçlı uygulanabilirliğinin artırılması, elektrik alanların oluşturabileceği muhtemel zararların incelenmesi, dışarıdan uygulanan elektrik alan ve akımların vücut dokuları içindeki dağılımının saptanması açısından önemlidir<sup>79</sup>.

Karaciğer ve akciğer gibi ağırlığının % 20-25'i protein ve % 70-80'i su olan dokular, yağlı dokulara oranla çok daha düşük direnç ve daha yüksek dielektrik sabiti gösterir. Ayrıca su yüzdesi arttıkça iletkenlik de o denli artar. Bu özellik suyun polar yapısından kaynaklanır. Uyguladığımız elektrik alanın karaciğer dokusunda etkili olmasında karaciğerin bu yapısal özelliği de etkili olmaktadır<sup>1,23,79,80,93</sup>.

Uygulanan elektrik alanın frekansı arttıkça, hücrenin özdirenci ve dielektrik sabiti azalır. Buna bağlı olarak hücre içi akımlar artarak hücrenin dolayısıyla da yapısını oluşturdukları dokuların toplam iletkenliğinde artış olur. Elektrik alanı etkisiyle membranın iletkenliğinde meydana gelen bu değişim

iyonların membrandan geçişini değiştirebilmektedir. Tüm modelleme çalışmaları elektrik alan uygulamasının dokuda iç elektrik alanı ve akımı meydana getirdiğini göstermektedir. Bunun sonucunda görülebilecek en önemli etki şüphesiz membran potansiyelinin değişimi olacaktır. Bu ise hücre transportunun etkilenmesi demektir. 2-5 mV/mm'lik elektrik alanı 6 Hz ile 16 Hz arasında, 6-40 V/m'lik elektrik alanı ise 16 Hz'de beyin dokusunda  $Ca^{++}$  salınımını artırırken, 20-60 mV/m'lik elektrik alanın kortekste  $Ca^{++}$  ve GABA (Gama Amino Bitürik Asit) salınımını artırdığı saptanmıştır<sup>1,13,23,35-37,50,79,80,93</sup>.

DC veya düşük frekanslı alanlara maruz kalma sonucunda dokuda aşağıdaki olaylar ortaya çıkar:

- Elektrik şokları
- Yük boşalması
- Doku sıcaklığı artışı
- Yanıklar

Yanıklar akım yoğunluğunun büyük olduğu bölgelerde meydana gelir. Vücut kesitinin küçük olduğu bölgelerde akım yoğunluğu en yüksek değere erişir. Ayak bileği kesitinin çok dar olduğu ve vücuda gelen tüm akımların ayak bileği yoluyla toprağa geçtiği düşünülürse, ayak bileklerinin en büyük akım yoğunluğunun olduğu bölge olduğu ortaya çıkar. Kemiklerin büyük dirence sahip olması nedeniyle, akım daha düşük dirençli arterler ve sinirlerden geçmeye çalışır. O nedenle yanma etkisi ilk defa kan damarlarında ve sinirlerde ortaya çıkar. Doku direnci sıcaklık ve akım yoğunluğunun bir fonksiyonudur. Sıcaklık arttıkça dokuların (kas, sinir, arter) direnci artar<sup>93</sup>.

Elektrik alana maruz kalan hayvan ve insanlarda gözlenen olumsuz etkiler gelecek nesillerde de benzer etkilerin ortaya çıkmasına dolayısıyla da bazı kalıtsal hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır.

60 Hz'de 65 kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan sıçanlarda ve 30kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan domuzlarda 2. nesillerdeki sakatlık oranında artış saptanmıştır. 10 kV/m-15 kV/m'lik elektrik alana maruz bırakılan farelerde ise özellikle 2. ve 3. nesillerde vücut ağırlığında azalış, ölüm oranında ise artış gözlenmiştir<sup>58,97</sup>.

Dışarıdan elektrik alanı uygulanan canlı vücut yüzeyinde ve vücut içinde oluşan farklı şiddetli elektrik alanlar, vücut içindeki akım yoğunluğu ve tüm vücut boyunca oluşan net akım açısından incelenir<sup>17</sup>.

Elektrik alanların biyolojik etkileri vücut içinde oluşan iç elektrik alan değerlerine bağlıdır. Genel olarak iç alanlar; dışarıdan uygulanan alana, uygulandığı cismin şekil ve büyüklüğüne, elektriksel özelliklere ve gelen alanın frekansına bağlıdır. Bu nedenle, aynı dış alana maruz kalan farklı cisimlerde oluşan iç alanlarda farklıdır. Vücut içinde oluşan iç elektrik alan değerlerinin saptanabilmesi için hem modelleme çalışmalarına ve hem de deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır. Modelleme çalışmaları, iç alanların; uygulanan bölgeye ve dışarıdan uygulanan alanlara nasıl bağlı olduğunu açıklayabilmektedir. Teorik çalışmalar ise elektrik alana ilişkin hayvanlarda gözlenmiş olan biyolojik etkilerin, insanlarda oluşması muhtemel etkilere uyarlanmasını sağlamaktadır. Bu yöntem elektrik alana ilişkin biyolojik etkilerle ilgili ve insanlar üzerinde denenemiyen çalışmalarda ayrı bir önem taşımaktadır. Teorik çalışmaların doğrulanması, iç alanların başka özelliklerinin anlaşılması ve teorik çalışmayla elde edilemeyen bazı verilerin elde edilebilmesi için deneysel çalışmalara da ihtiyaç duyulur. Araştırmacılar teorik



hesaplamaları ve deneysel teknikleri birarada kullanarak elektrik alanın canlı organizmalar üzerinde ne ölçüde etkili olduğuna dair çok önemli bilgiler edinmişlerdir<sup>17,51,64,93</sup>.

Hayvan ve insanlar için yapılan modelleme çalışmalarında dışarıdan uygulanan elektrik alanın model yüzeyinde ve içinde oluşturacağı elektrik alan ve akım değerlerinin hesaplanması mümkün olmuştur. 60 Hz'de 10 kV/m'lik dikey ve yatay elektrik alanın model yüzeyinde ve içinde oluşturacağı elektrik alan ve akım değerlerinin saptanması mümkün olmuştur. Tespit edilen değerler yatay elektrik alanın dikeyden daha az etkili olduğunu ortaya koymaktadır<sup>51,65,83,93,97</sup>.

Dikey elektrik alanın doku hidroksiprolin miktarındaki değişimde yataya nazaran daha etkili olduğuna dair bulgumuz, dikey elektrik alanın meydana getireceği elektrik alanı ve akımların yataydan daha etkili olduğuna dair yukardaki bulguyu desteklemektedir.

Elektrik alanın şiddetinin yanısıra uygulandığı doğrultunun da önemli olabileceği görüşü Marino ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarla da desteklenmiştir. Bu amaçla yapmış oldukları bir çalışmada 15 kV/m'lik dikey ve 10kV/m'lik yatay elektrik alana maruz bırakılan farelerde, ölüm oranındaki artışta, dikey elektrik alanın daha etkili olduğu gözlenmiştir. Bu da elektrik alan şiddeti ve doğrultusunun önemli olabileceğini düşündürmüştür. 1983'de yaptıkları bir başka çalışmada 19.7 V/m'lik dikey elektrik alana maruz bırakılan sıçanların serum protein fraksiyonlarında büyük düşüş gözlenirken, yatay elektrik alana maruz kalanlarda meydana gelen değişimler daha az olmuştur<sup>58,59</sup>.

Dikey elektrik alanın karaciğer dokusu hidroksiprolin miktarına yataydan daha etkili olduğuna dair bulgumuz Marino'nun bu iki çalışması ile de



paraleldir. Çalışmaların tamamı dikey elektrik alanın yataydan daha etkili olduğu sonucunu ortaya çıkarmaktadır.

Bir protein, net bir elektrik yükü taşıyorsa, elektrik alan içine konulduğunda hareket kazanacaktır. Protein gibi makromoleküller çok değişik şekillere sahip olduklarından, ortamda değişik sürtünme kuvvetlerine maruz kalırlar. Bu nedendir ki elektrik alanda farklı protein molekülleri farklı hızlarla yol alırlar. Protein molekülü Amino ( $\text{NH}_3^+$ ) ve karboksil ( $\text{COO}^-$ ) gruplarına sahiptir ve bu gruplar proteinin net yükünü tayin ederler. O nedenle protein molekülleri elektrik alanda yüklerin işaretine ve büyüklüğüne göre yön ve hız kazanırlar<sup>22</sup>.

Protein ortamın pH'sına bağlı olarak pozitif veya negatif yüklü olabilir veya hiç yük taşımayabilir. Ortamın pH'sı proteinin izoelektrik pH'sına eşit ise protein net bir yük taşımaz. Bu durumda protein, alan içinde hareketsizdir. Ortam pH'sı proteinin izoelektrik pH'sından düşük ise protein net bir pozitif yük taşır ve elektrik alanı yönünde hareket eder. Ortam pH'sı proteinin izoelektrik pH'sından yüksek olduğunda ise protein net bir negatif yük taşır ve elektrik alanına zıt yönde hareket eder<sup>22</sup>.

$10^3$  V/m'lik DC elektrik alan protein moleküllerini membran yüzeyi boyunca hareket ettirebilmektedir<sup>11</sup>.

Benzer olarak kollagenin elektrik alanı altında yönlendirilebilmesi mümkün olmuştur. Asitte çözünen bir kollagen çözeltisine yaklaşık 1  $\mu\text{A}$  akım uygulandığında kollagenin katoda yakın bir konkav bant oluşturduğu saptanmıştır. Bu sonuç kollagenin elektrik alanda bir katyon gibi hareket ettiğini göstermektedir. Elektrik alana maruz bırakılan fibroblast hücrelerinde kollagen biyosentezi % 100 artmıştır<sup>4,9,10,12,33,84,101</sup>.

Araştırmamızda 300 V DC uygulanarak oluşturulan elektrik alanın doku hidroksiprolin miktarını artırması yukarıdaki bulgularla açıklanabilmektedir: Fibroblast hücreleri elektrik alanı yönünde çoğalarak daha fazla kollagen sentezlemekte, dolayısıyla doku hidroksiprolin seviyesi de artmaktadır.

Bilindiği gibi, dokuya düşük gerilimli doğru akım uygulandığında katotda oksijen tüketilir, bu nedenle lokal doku oksijen basıncı azalır ve hidroksil radikalleri oluşur<sup>10,18,19</sup>. Serbest oksijen türevleri hücrede lipidler, proteinler ve DNA üzerinde toksik etkiye sahiptirler. Bu yolla hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olabilirler. Serbest radikallerin proteinleri etkileme dereceleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere duyarlılığı çok fazladır. Serbest radikaller aminoasitlerin oksidasyonu yanında, peptid bağlarının hidrolizi, disülfid bağlarının oluşumu ve çapraz bağlanmalara yol açabilirler. Bunun sonucunda, enzimler fonksiyon kaybına uğrayabilir, hücre içi ve dışı iyon dağılımı bozulur, ciddi hücre zedelenmeleri olabilir. Radikallerdeki artış malondialdehit (MDA) seviyesinde meydana gelen değişimle izlenebilmektedir<sup>98</sup>. Çalışmamıza paralel olarak yürüttüğümüz başka bir araştırmada 150 V uygulanarak oluşturulan dikey ve yatay elektrik alanına maruz bırakılan kobayların karaciğer MDA miktarında artış saptanırken, aynı hayvanların karaciğer hidroksiprolin miktarında azalış gözlenmiştir. Elektrik alanın uygulandığı bölgeye enerji transfer etmesi sonucunda organizmada mevcut olan moleküler oksijen; tek oksijen ve süperoksit olarak bilinen serbest radikal formuna dönüşebilmektedir. Sonuçta da radikallerdeki bu artış, hidroksiprolin sentezi için gerekli olan moleküler oksijen varlığının azalmasına ve hidroksiprolin sentezinde görev alan prolin hidroksilaz ve  $\alpha$ -ketoglutarat enzimlerinin fonksiyonlarının yavaşlamasına neden oluyor olabilir. Bu konudaki çalışmamız sonuçlanmış olup

yayına verilmiştir. MDA ile ilgili bu çalışmamızda da dikey elektrik alanın yataydan daha etkili olduğu bir kez daha saptanmıştır.

Dikey ve yatay elektrik alanı oluşturmak için kafeslere uygulanan gerilim şiddetlerinin (300 V-150 V) aynı olmasına karşın, kafeslerin yan yüzey boyutlarının, alt ve üst yüzeylerden farklı olması dikey elektrik alan şiddetinin artmasına dolayısıyla da dikey elektrik alanın daha etkili olmasına neden olan bir diğer etken olabilir.

Karaciğer hidroksiprolin miktarı 300 V'da artıp, 150 V'da azaldığına göre azalıştan artışa geçişteki eşik elektrik alan değeri belkide 300 V'un altındadır. 150-300 Volt arasında yapılacak daha küçük artışlı çalışmalar eğer varsa bu eşik değeri ortaya çıkarabilir.

## 6. Ö Z E T

Elektrik alanın farklı şiddet ve farklı doğrultularının karaciğer kollagen sentezine etkisi araştırıldı. Kollagen sentezi karaciğer dokusunda hidroksiprolin miktarının saptanması ile takip edildi. Doku hidroksiprolin miktarının saptanmasında Stegemann-Stalder'in yöntemi kullanıldı.

300 V ve 150 V ile oluşturulan dikey ve yatay elektrik alan 40 adet kobaya (Guinea Pig) 3 gün boyunca 9 saat/gün süreyle üzerine bakır plakalar monte edilmiş olan tahta kafeslerde uygulandı. 20 adet kobay ise elektrik alana maruz bırakılmadan ve fakat aynı şartlarda tutularak kontrol grubunu oluşturdu.

Elektrik alanın uygulandığı 3. günün sonunda kobayların karaciğerleri çıkartılarak, dokuların hidroksiprolin miktarları belirlendi.

300 V ile oluşturulan hem dikey hem de yatay elektrik alanın karaciğer hidroksiprolin miktarını kontrollere oranla istatistiksel anlamda önemli ölçüde artırdığı saptandı. 150 V ile oluşturulan dikey ve yatay elektrik alanların ise hidroksiprolin miktarında azalmaya neden olduğu ve bu azalışın da istatistiksel anlamda önemli olduğu saptandı. Her iki elektrik alan şiddeti için de dikey elektrik alanın yataydan daha etkili olduğu tespit edildi.

## 7. S U M M A R Y

This study was carried out to find out the effect of different intensities and directions of electric fields on the liver collagen synthesis, by determining the quantitative level of hydroxyproline in lever tissue using Stegemann-Stalder's method.

40 Guinea Pigs were exposed to vertical and horizontal electric fields obtained from 300 V and 150 V potential differences, 9 hours per day for 3 days in wooden cages on which copper boards were fixed. 20 Guinea Pigs were used as controls, kept in the same conditions withouth being exposed to any electric field.

After 3 days livers were taken out, and hydroxyproline levels was determined.

A statistically significant increase was found in hydroxyproline levels in both of the horizontal and vertical electric field applied groups for 300 V potential difference. Whereas a statistically significant decrease were found in both of the vertical and horizontal electric field applied groups of 150 V. It was also noticed that the vertical electric field was more effective than the horizontal.

## 8. E K L E R

### 8.1. TABLOLAR

**Tablo No:    Tablo Adı \_\_\_\_\_ :    Sayfa No:**

TABLO 1.	Bazı dielektrik malzemelerin dielektrik sabit değerleri .....	17
TABLO 2	Hücre zarlarının özellikleri .....	21
TABLO 3.	Kas dokusu ve yağ dokusunun K ve $\phi$ değerlerinin mukayesesi.....	29
TABLO 4.	Bazı dokuların frekansa bağlı dielektrik değerleri.....	34
TABLO 5.	Bazı dokuların frekansa bağlı iletkenlik değerleri.....	35
TABLO 6.	10 kV/m'lik dikey elektrik alana maruz bırakılan insan, domuz ve fare modellenmesi için bulunan akım yoğunluğu ve elektrik alan değerleri arasındaki oranlar.....	39
TABLO 7.	Farklı kollagen tiplerinin başlıca karakteristikleri.....	45
TABLO 8.	İnsanlarda dokuların bazı kalıtsal hastalıklardaki klinik belirtileri, kalıtsallığın şekli ve biyokimyasal defektler.....	47
TABLO 9.	Çalışma grupları.....	50

TABLO 10.	300 V ile oluşturulan dikey ve yatay elektrik alan gruplarıyla kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin değerleri ve DUNCAN testi ile karşılaştırılması .....	68
TABLO 11.	150 V ile oluşturulan dikey ve yatay elektrik alan gruplarıyla kontrol grubunun karaciğer hidroksiprolin değerleri ve DUNCAN testi ile karşılaştırılması.....	69
TABLO 12.	300 V ve 150 V ile oluşturulan dikey elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin değerlerinin DUNCAN testi ile karşılaştırılması.....	70
TABLO 13.	300 V ve 150 V ile oluşturulan yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin değerlerinin DUNCAN testi ile karşılaştırılması.....	71
TABLO 14.	300 V ile oluşturulan dikey ve yatay elektrik alan gruplarının karaciğer hidroksiprolin değerlerinin DUNCAN testi ile karşılaştırılması ..	72
TABLO 15.	150 V ile oluşturulan dikey ve yatay elektrik alan gruplar karaciğer hidroksiprolin değerlerinin DUNCAN testi ile karşılaştırılması.....	73
TABLO 16.	300 V ile oluşturulan dikey elektrik alan grubuyla kontrol grubu hidroksiprolin değerlerinin "Mann-Whitney U" test sonuçları.....	74
TABLO 17.	300 V ile oluşturulan yatay elektrik alan grubuyla kontrol grubu hidroksiprolin değerlerinin "Mann-Whitney U" test sonuçları.....	74

TABLO 18.	150 V ile oluşturulan dikey elektrik alan grubuyla kontrol grubunun "Mann-Whitney U" test sonuçları.....	75
TABLO 19.	150 V ile oluşturulan yatay elektrik alan grubuyla kontrol grubunun "Mann-Whitney U" test sonuçları.....	75





## 8.2. İSTATİSTİK DEĞERLENDİRMELERE AIT BİLGİSAYAR ÇIKTILARI

KARŞILAŞTIRMA İLİŞKİN LİSTE  
\*\*\*\*\*

ROW	KONT(1)	B-300(2)	Y-300(3)	B-150(4)	Y-150(5)
1	0.88300	0.51725	0.41375	0.06000	0.10350
2	0.10300	0.43575	0.23700	0.00000	0.10350
3	0.23675	0.43000	0.03000	0.00000	0.03150
4	0.33850	0.56300	0.42350	0.07700	0.12900
5	0.19075	0.30200	0.53175	0.00125	0.10175
6	0.10075	0.21175	0.07650	0.00725	0.17075
7	0.63000	0.37000	0.01000	0.13000	0.14325
8	0.25000	0.37000	0.02000	0.11275	0.13075
9	0.23700	0.53300	0.07000	0.07375	0.13075
10	0.41300	0.25100	0.51000	0.00500	0.00075
11	0.12175				
12	0.10250				
13	0.10250				
14	0.12100				
15	0.23675				
16	0.10000				
17	0.20375				
18	0.23100				
19	0.16750				
20	0.14075				

GRUPLARA GÖRE TANITICI İSTATİSTİKLER

\*\*\*\*\*

GR	G1	N	MEAN	MEDIAN	TRMEAN	STDEV	SEMEAN
02	1	20	0.2915	0.2204	0.2493	0.1450	0.0824
	2	10	0.5900	0.3423	0.5518	0.1856	0.0567
	3	10	0.4643	0.4021	0.4457	0.1802	0.0570
	4	10	0.07733	0.07987	0.07991	0.02286	0.00723
	5	10	0.1184	0.1186	0.1185	0.0322	0.0102
GR	G1	MIN	MAX	Q1	Q3		
02	1	0.1030	0.6380	0.1462	0.3907		
	2	0.3147	0.8720	0.4165	0.6365		
	3	0.2735	0.8120	0.2962	0.5909		
	4	0.02725	0.11275	0.06703	0.09180		
	5	0.0735	0.1285	0.0369	0.1335		

GRUPLADA ALIŞIN VARYANS ANALİZİ  
\*\*\*\*\*

Factor      Type Levels Values  
C1          fixed      5        1       2       3       4       5

Analysis of Variance for C1

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	4	1.78291	0.44573	24.24	0.000
Error	55	1.01931	0.01849		
Total	59	2.80222			

MEANS

C1	N	C2
1	12	0.29146
2	12	0.55998
3	10	0.46495
4	10	0.07793
5	15	0.11939

KARACIĞEPE İLİŞKİN DUNCAN TESTİ

\*\*\*\*\*

KARACIĞER(p<0.05)

\*\*\*\*\*

Error Mean Square = 0.01848

Error Degrees of Freedom = 55

No. of observations to calculate a mean = 11

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 0.1182

s<sub>e</sub> = 0.04099 at alpha = 0.050

X

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	0.2700	B	Mean	2 =	0.5600	A
Mean	2 =	0.5600	A	Mean	3 =	0.4700	A
Mean	3 =	0.4700	A	Mean	1 =	0.2700	B
Mean	4 =	0.08000	C	Mean	5 =	0.1200	BC
Mean	5 =	0.1200	C	Mean	4 =	0.08000	C

KARACIĞEPE (p<0.01)

\*\*\*\*\*

Error Mean Square = 0.01848

Error Degrees of Freedom = 55

No. of observations to calculate a mean = 11

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 0.1547

s<sub>e</sub> = 0.04099 at alpha = 0.010

X

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	0.2700	B	Mean	2 =	0.5600	A
Mean	2 =	0.5600	A	Mean	3 =	0.4700	A
Mean	3 =	0.4700	A	Mean	1 =	0.2700	B
Mean	4 =	0.08000	C	Mean	5 =	0.1200	BC
Mean	5 =	0.1200	BC	Mean	4 =	0.08000	C

### 8.3. KISALTMALAR

E : Elektrik alan

DC : Doğru akım (direct current)

I : Elektrik akım şiddeti

F : Kuvvet

q : Elektrik yükü

C : Sığa

V : Potansiyel fark

A : Kondansatör plakalarının alanı

d : kondansatör plakaları arasındaki mesafe

$\epsilon$  : Boşluğun geçirgenliği

K : Ortamın dielektrik sabiti

R : Direnç

f : Frekans

$\varphi$  : Özdirenç

$\sigma$  : İletkenlik

J : Akım yoğunluğu

HP : Hidroksiprolin

## 9. K A Y N A K L A R

1. ACKERMAN, E., ELLIS, L.B., WILLIAMS, L.E.: Biophysical Science, Second ed., Prentice-Hall Inc., New Jersey, 215-31 (1962).
2. ACKERMAN, E., ELLIS, L.B., WILLIAMS, L.E.: Biophysical Science, Second ed., Prentice-Hall Inc., New Jersey, 453-64 (1962).
3. ADEY, W.R.: Tissue Interactions with Nonionizing Electromagnetic Fields, *Physl. Res.*, 1981, **61** (2), 435-96.
4. ADEY, R.W., BAYLINK, J.D.: Embryonic Bone Matrix Formation is Increased After Exposure to a Low Amplitude Capacitively Coupled Electric Field, *Bioc. Biop. A.*, 1986, **882**, 51-6.
5. AKTAN, T.: Piyasada Yüksek Fiatla Satılan Yerli Sucukların Hidroksiprolin Tayini Yardımı ile Protein Kalite Durumlarının Tesbiti, Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi Besin Kontrolü ve Teknolojisi Kürsüsü, Ankara (1987).
6. Ala-Kokko, L.A., GUNZLER, V., et al: Hepatic Fibrosis in Rats Produced by Carbon Tetrachloride and Dimethylnitrosamine: Observation Suggesting Immunoassays of Serum for the 75 Fragment of Type IV Collagen Are a More Sensitive Index of Liver Damage Than Immunoasays for the NH<sub>2</sub>-Terminal Propeptide of Type III Procollagen, *Hepatology.*,1992, **16**, 167-72.
7. ATALAY, N., ÇELİK, S.: Doğru Akımın Üremeye Etkisi, *D.Ü.T.F.Dergisi*, 1984, **11**, 193-204.

8. BARKER, A.T., FOULDS, I.S.: Human Skin Battery Potentials and Their Possible Role in Wound Healing, *Brith.J.Derma.*, 1983, **109**, 515-22.
9. BARKER, A.T., LUNT, M.J.: The Effects of Pulsed Magnetic Fields of the Type Used in the Stimulation of Bone Fracture Healing, *Clin. Phys. Physiol. Meas.*, 1983, **4** (1), 1-27.
10. BARKER, A.T.: Some Biological Effects of Low Frequency Magnetic and Electric Fields in "Proceedings of the II International Conference on Applications of Physics to Medicine and Biology" (Bajzer, Z., Baxa, P., Franconi, C., ed.), World Scientific Publ. Company, Tokyo, 421-34, (1984).
11. BARNES, F.S.: Some Engineering Models for Interactions of Electric and Magnetic Fields With Biological Systems, *Bioelectrom.*, 1992, **Suppl. 1**, 67-85.
12. BASSETT, C.A, PAWLUK, R.J.: Effects of Electric Currents on Bone in Vivo, *Nature*, 1964, **10**, 652-54.
13. BAWIN, S.M., KACZMAREK, L.K., ADEY, W.R.: Effects of Modulated VHF Fields on the Central Nervous System, *Annals N.Y. Acad. Sci.*, 1975, **247**, 74-81.
14. BECKER, R.O., BACHMAN, C.H., FRIEDMAN, H.: The Direct Current Control System, *New York State J.Med.*, 1962, **15**, 1169-76.
15. BENEDEK, G.B.: *Physics: With Illustrative Examples From Medicine and Biology*, Vol. 3., Addison-Wesley Publishing Company, Cambridge, 32-138 (1979).
16. BLACKMAN, C.F., BENANE, S.G., et al: Effects of ELF Fields on Calcium-Ion Efflux From Brain Tissue in Vitro, *Radiat. Res.*, 1982, **92**, 510-20.

17. BRACKER, T.D.: Experimental Macroscopic Dosimetry for Extremely-Low-Frequency Electric and Magnetic Fields, *Bioelectrom.*, 1992, **Suppl. 1**, 15-26.
18. BRIGHTON, C.T., FRIEDENBERG, Z.B., et al: Treatment of Nonunion with Constant Direct Current, *Clin. Orthop.*, 1977, **124**, 106-123.
19. BRIGHTON, C.T.: The Treatment of Non-Unions with Electricity, *J.Bone Jt. Surg.*, 1981, **63**, 847-51.
20. CAROLA, R., HARLEY, J.P., NOBACK, C.R.: Human Anatomy and Physiology, Second Ed., McGraw-Hill Inc., Tokyo, 44-117 (1992).
21. COELHO, A.M., EASLEY, S.P., ROGERS, W.R.: Effects of Exposure to 30 kV/m, 60 Hz Electric Fields on the Social Behavior of Baboons, *Bioelectrom.*, 1990, **11**, 117-35.
22. ÇELEBİ, G.: Tıp ve Diş Hekimliği Öğrencileri İçin Biyofizik, Birinci Baskı, Cilt 1., Çağlayan Kitabevi, İstanbul, 29-100 (1989).
23. ÇEREZCİ, O.: Biyolojik Dokuların Elektriksel Özellikleri, B.Ü. Biyomedikal Mühendisliği Dergisi, 1989, **7**, 1-12.
24. DACHA, M., ACCORSI, A., et al: Studies on the Possible Biological Effects of 50 Hz Electric and/or Magnetic Fields: Evaluation of Some Glycolytic Enzymes, Glycolytic Flux, Energy and Oxido-Reductive Potentials in Human Erythrocytes Exposed In Vitro to Power Frequency Fields, *Bioelectrom.*, 1993, **14**, 383-91.
25. DAHL, O., PERSSON, K.: Hydroxyproline, Methodological Studies of Analysis, *Act. Chem. Sc.*, 1963, **17**, 2499-2503.

26. DEWHURST, D.J.: An Introduction to Biomedical Instrumentation, Second Edition, Pergamon Press, Oxford, 44-8 (1976).

27. EASLEY, S.P., COELHO, A.M., ROGERS, W.R.: Effects of a 30 kV/m, 60 Hz Electric Field on the Social Behavior of Baboons: A Crossover Experiment, *Bioelectrom.*, 1992, **13**, 395-400.

28. FERREIRE, H.G., MARSHALL, M.W.: The Biophysical Basis of Excitability, Cambridge University Press, Australia, 4-20 (1985).

29. FERREIRE, H.G., MARSHALL, M.W.: The Biophysical Basis of Excitability, Cambridge University Press, Australia, 70-98 (1985).

30. FERREIRE, H.G., MARSHALL, M.W.: The Biophysical Basis of Excitability, Cambridge University Press, Australia, 103-12 (1985).

31. FITZSIMMONS, R.J., FARLEY, J., et al.: Embryonic Bone Matrix Formation is Increased After Exposure to a Low-Amplitude Capacitively Coupled Electric Field In Vitro, *Bioc. Biop. A.*, 1986, **882**, 51-6.

32. FRANK, C., SCHACHAR, N., et al: Electromagnetic Stimulation of Ligament Healing in Rabbits, *Clin. Orthop.*, 1983, **175**, 263-71.

33. FUKADA, E.: Piezoelectric Properties of Organic Polymers, *Ann. N.Y.Acad. Sci.*, 1983, **405**, 7-25.

34. FULTON, J.P., COBB, S., et al: Electrical Wiring Configurations and Childhood Leukemia in Rhode Island, *Am. J. Epidem.*, 1980, **111**, 292-6.



35. GAVALAS, R.J., WALTER, D.O., et al: Effect of Low Level, Low Frequency Electric Fields on EEG and Behavior in Macaca Nemestrina, Brain Res., 1970, **18**, 491-501.
36. GAVALAS-MEDICI, R.J., BAWIN, S.M., ADEY, W.R.: Effects of Modulated Very High Frequency Fields on Specific Brain Rhythms in Cats, Brain Res., 1973, **58**, 365-84.
37. GAVALAS-MEDICI, R.J., DAY-MAGDALENO, S.R.: Extremely Low Frequency, Weak Electric Fields Affect Schedule-Controlled Behaviour of Monkeys, Nature, 1976, **261**, 256-9.
38. GUYTON, A.C.: Textbook of Medical Physiology, Eighth Ed., W.B.Saunders Company, Tokyo, 785 (1991).
39. GUYTON, A.C.: Textbook of Medical Physiology, Eighth Ed., W.B.Saunders Company, Tokyo, 2-64 (1991).
40. GÜNER, Z.: Tıp ve Biyoloji Öğrencileri İçin Fizik I-II, Beşinci Baskı, Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., İstanbul, 237 (1986).
41. HALLIDAY, D., RESNICK, R.: Physics, Second ed., Vol.2., John Wiley-Sons Inc., Tokyo, 431 (1962).
42. HALLIDAY, D., RESNICK, R.: Physics, Second ed., Vol.2., John Wiley-Sons Inc., Tokyo, 484-94 (1962).
43. HANSSON, H.: Lamellar Bodies in Purkinje Nerve Cells Experimentally Induced by Electric Field, Brain Res., 1981, **216**, 187-91.

44. HAUPT, H.A.: Electrical Stimulation of Osteogenesis, *South. Med. J.*, 1984, **77** (1), 56-64.
45. HINKLE, L., McCAIG, C.D., ROBINSON, K.R.: The Direction of Growth of Differentiating Neurones and Myoblasts from Frog Embryos in an Applied Electric Field, *J. Physiol.*, 1981, **314**, 121-135.
46. HUTTERER, F., SINGER, E.J.: A Modified Method for Hydroxyproline Determination, *Anal. Chem.*, 1960, **32** (4), 556-8.
47. IRVIN, T.: *Wound Healing Principles and Practice*, Chapman and Hall Ltd., Cambridge, 2-6 (1981).
48. JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J., KELLEY, R.O.: *Basic Histology*, Seventh ed., Prentice-Hall International Inc., Canada, 25-65 (1992).
49. JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J., KELLEY, R.O.: *Basic Histology*, Seventh ed., Prentice-Hall International Inc., Canada, 95-125 (1992).
50. KACZMAREK, L.K., ADEY, W.R.: Weak Electric Gradients Change Ionic and Transmitter Fluxes in Cortex, *Brain Res.*, 1974, **66**, 537-40.
51. KAUNE, W.T., FORSYTHE, W.: Current Densities Induced in Swine and Rat Models by Power-Frequency Electric Fields, *Bioelectrom.*, 1988, **9**, 1-24.
52. KAUNE, W.T.: Macroscopic Dosimetry of Power-Frequency Electric and Magnetic Fields, *Bioelectrom.*, 1992, **Suppl. 1**, 11-4.
53. KNORR, A., HERRMANN, T., VOIGTMANN, L.: The Hydroxyproline Content in the Lung Tissue of Young Pigs After Fractionated Irradiation With Protons or Neutrons, *Strahlenther. Onkol.*, 1991, **167**, 667-72.

54. KODA, M., MURAWAKI, Y., HIRAYAMA, C.: Free and Small Peptide-Bound [<sup>14</sup>C] Hydroxproline Synthesis In Vitro In Ethanol-Induced Hepatic Injury in the Rat Liver, *Bioch. Pharm.*, 1990, **39** (12), 2015-7.

55. KRETZSCHMAR, M., MACHNIK, G., et al: Experimental Treatment of Thioacetamide-Induced Liver Cirrhosis by Metenolone Acetate, A Morphological and Biochemical Study, *Exp. Pathol.*, 1991, **42**, 37-46.

56. KRUEGER, W.F., GIAROLA, A.J., et al: Effects of Electromagnetic Fields on Fecundity in the Chicken, *Ann. New York Acad. Sci.*, 1975, **247**, 391-400.

57. LANG, S.B.: Pyroelectric Effect in Bone and Tendon, *Nature*, 1966, **5063**, 704-5.

58. MARINO, A.A., BECKER, R.O., ULLRICH, B.: The Effect of Continuous Exposure to Low Frequency Electric Fields on Three Generations of Mice: A Pilot Study, *Experientia*, 1976, **32**, 565-6.

59. MARINO, A.A., BERGER, T.J., et al: Electric Field Effects in Selected Biological Systems, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1983, **405**, 436-44.

60. MARINO, A.A., MORRIS, D., ARNOLD, T.: Electrical Treatment of Lewis Lung Carcinoma in Mice, *J. Surg. Res.*, 1986, **41**, 198-201.

61. MARTIN, D.W.: Membranes in "Harper's Review of Biochemistry" (Martin D.W., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., ed), Lange Medical Publications, California, 415-21 (1985).

62. MARTIN, D.W.: Contractile and Structural Proteins in "Harper's Review of Biochemistry" (Martin D.W., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., ed), Lange Medical Publications, California, 458-61 (1985).

63. MAYS, P.K., McNULTY, R.J., et al: Age-Related Changes in Collagen Synthesis and Degradation in Rat Tissues, *J. Biochem.*, 1991, **276**, 307-13.
64. MILLER, D.L.: Miniature-Probe Measurements of Electric Fields and Currents Induced by a 60 Hz Magnetic Field in Rat and Human Models, *Bioelectrom.*, 1991, **12**, 157-71.
65. MISAKIAN, M., SHEPPARD, A.S, et al: Biological, Physical, and Electrical Parameters for In Vitro Studies With ELF Magnetic and Electric Fields: A Primer, *Bioelectrom.*, 1993, **Suppl. 2**, 37-67.
66. MOOS, W.S.: A Preliminary Report on the Effects of Electric Fields on Mice, *Aerospace Med.*, 1964, **35**, 374-7.
67. MYLLYLA, R., MAJAMAA, K., et al: Ascorbate is Consumed Stoichiometrically in the Uncoupled Reactions Catalyzed by Prolyl 4-Hydroxylase and Lysyl Hydroxylase, *J. Biol. Chem.*, 1984, **259**, 5403-5.
68. NESSLER, J.P., MASS, D.P.: Direct Current Electrical Stimulation of Tendon Healing in Vitro, *Clin. Orthop.*, 1987, **217**, 303-12.
69. NEUMAN, R.E., LOGAN, M.: The Determination of Hydroxproline, *J. Biol. Chem.*, 1950, **184**, 299-306.
70. PEHLIVAN, F.: *Biyofizik*, Hitit Kitabevi, Ankara, 17-45 (1989).
71. PEHLIVAN, F.: *Biyofizik*, Hitit Kitabevi, Ankara, 126-8 (1989).
72. PETERLIN, P., SEVSEK, F.: Observations of Giant Phospholipid Vesicles Deformed by Electric Field, *Acta. Pharm.*, 1993, **43**, 143-5.

73. PINNELL, S.R.: Regulation of Collagen Biosynthesis by Ascorbic Acid: A Review, *Yale J. Biol.*, 1985, **58**, 553-9.
74. PROCKOP, D.J., UNDERFRIEND, S.: A Specific Method for Analysis of Hydroxyproline in Tissues and Urine, *Analyt. Bioc.*, 1960, **1**, 228-39.
75. PURCELL, E.W. : Electricity and Magnetism, Berkeley Physics Course, Vol. 2, McGraw-Hill Book Company, Sydney, 68-89 (1979).
76. REIF,S., TERRANOVA, V.P., et al: Modulation of Extracellular Matrix Proteins in Rat Liver during Development, *Hepatology*, 1990, **12**, 519-25.
77. RODAN, G., BOURRET, L.A., NORTON,L.A.: DNA Synthesis in Cartilage Cells is Stimulated by Oscillating Electric Fields, *Science*, 1978, **199**, 690-2.
78. RODWELL, V.W.: Proteins in "Harper's Review of Biochemistry" (Martin, D.W., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., ed.), 18th ed., Lange Medical Publications, 36-9 (1981).
79. SCHWAN, H.P.: Electrical Properties of Tissue and Cell suspensions in "Advances in Biological and Medical Physics" (Lawrence, J.H., Tobias, C.A., ed.), Vol.5, Academic Press, New York, 147-209 (1957).
80. SCHWAN, H.P., PIERSOL, G.M.: The Absorbtion of Electromagnetic Energy in Body Tissues in "Biological Effects of Electromagnetic Radiation" (Osepchuk, J.M., ed.), IEEE Press, New York, 6-22 (1984).
81. SEVSEK, F., SUKHAREV, S., et al: The Shapes of Phospholipid Vesicles in Electric Field as Determined by Video Microscopy, *Studia Biophysica*, 1990, **138**, 143-6.

- 82.** SEYER, J.M. HUTCHESON, E.T., KANG, A.H.: Collagen Polymorphism in Normal and Cirrhotic Human Liver, *J. Clin. Inv.*, 1977, **59**, 241-8.
- 83.** SHEPPARD, A.R., EISENBUD, M.: Biological Effects of Electric and Magnetic Fields of Extremely Low Frequency, New York University, New York, 1-30 (1977).
- 84.** SINGH, S., KARTZ, J.L.: Scientific Basis of Electro-Stimulation, *J. Bioelectricity*, 1986, **5** (2), 285-327.
- 85.** SINGH, S., KATZ, J.L.: Electromechanical Properties of Bone, *J. Bioelectricity*, 1989, **7** (2), 219-38.
- 86.** SMITH, E.L., HILL, R.L., LEHMAN, I.R.: Principles of Biochemistry, Seventh ed., McGraw-Hill Book Company Tokyo, 23-82 (1983).
- 87.** STEGEMANN, H.: Mikrobestimmung von Hydroxyprolin Mit Chloramin-T und p-Dimethylaminobenzaldehyd, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 1958, **311**, 41-5.
- 88.** STEGEMANN, H., FUCHS, G., EGER, W.: Der Transplantierte Knochenspan und Seine Qualität Nach Partieller und Vollständiger Enteiweibung Bei Erhaltener Anorganischer Substanz, *Arch., Klin. Chir.*, 1963, **303**, 240-60.
- 89.** STEGEMANN, H., STALDER, K., BERNHARD, G.: Über die Isomerisierung von Hydroxyprolin, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 1964, **337**, 179-85.
- 90.** STEGEMANN, H., STALDER, K.: Zur Ausscheidung von Hydroxyprolin im Harn, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 1967, **348**, 242-3.

91. STEGEMANN, H., STALDER, K.: Determination of Hydroxyproline, Clin. Chim. Acta., 1967, **18**, 267-73.
92. STRYER, L.: Biochemistry, W.H. Freeman and Company, San Francisco, 185-203 (1981).
93. ŞEKER, Ş.S, ÇEREZCİ, O.: Elektromagnetik Alanların Biyolojik Etkileri Güvenlik Standartları ve Korunma Yöntemleri, Boğaziçi Üniversitesi Matbaası, İstanbul, 26-90 (1991).
94. TAKEHARA, K, GROTENDORST, G.R., et al: Ascorbate Effects on Type I Procollagen Synthesis by Human Adult Skin Fibroblasts: Different Migration Positions of Type I Procollagen Chains on SDS Polyacrylamide Gel after Incubation With Ascorbate, Collagen Rel. Res., 1986, **6**, 455-66.
95. WOESSNER, J.F.: The Determination of Hydroxyproline in Tissue and Protein Samples Containing Small Proportions of This Imino Acid, Arch. Biochem. Biophys., 1961, **93**, 240-7.
96. WOLPAW, J.R., SEEGEL, R.F., DOWMAN, R.: Chronic Exposure of Primates to 60 Hz Electric and Magnetic Fields: 1. Exposure System and Measurements of General Health and Performance, Bioelectrom., 1989, **10**, 277-88.
97. WORLD HEALTH ORGANIZATION: Environmental Health Criteria 35, Extremely Low Frequency (ELF) Fields, Printed In Finland, Geneva, 27-70 (1984).
98. YAVUZER, S.: Serbest Radikallerle Hücre Yaralanması, Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu, Kızılcahamam, 12-4 (1993).

99. YENSON, M.: İnsan Biyokimyası, 6. Baskı, Beta Basımevi, İstanbul, 343-483 (1988).
100. YENSON, M.: İnsan Biyokimyası, 6. Baskı, Beta Basımevi, İstanbul, 664-7 (1988).
101. YILDIRIM, H.: Biyofizik, Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir, 27-32 (1985).
102. YILDIRIM, H.: Biyofizik, Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir, 87-162 (1985).



## 10. Ö Z G E Ç M İ Ş

1968 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Ankara'da 1974-1985 yılları arasında sırasıyla, Kurtuluş İlk ve Ortaokulu ile Ankara Lisesi'nde tamamladım.

1986-1987 Eğitim yılında girdiğim ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü'nden Haziran-1990'da bölüm birincisi olarak mezun oldum.

1990-1991 Eğitim Yılı Güz döneminde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'nın açmış olduğu Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans sınavını kazanarak bu programa kabul edildim. 1991-1992 Eğitim yılında aynı fakültenin açtığı asistanlık sınavını kazandım. 9.11.1992 tarihinde Araştırma Görevliliği kadrosuna atandım. Halen Biyofizik Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.