



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**SIÇANLARDA 50 Hz FREKANSLI MANYETİK ALAN MARUZİYETİNİN
İMMÜN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

HİLAL ÖZTÜRK

**DANIŞMAN
PROF. DR. ALEV MELTEM ERCAN**

**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
BİYOFİZİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

İTHAF

Doktora öğrenimim boyunca maddi manevi desteklerini benden esirgememiş olan, yürüdüğüm bu yolda beni yüreklendiren ve her koşulda yanımda olan babam Osman ÖZTÜRK ve annem Hatice ÖZTÜRK başta olmak üzere ailem ve arkadaşlarıma yapmış olduğum araştırmanın sonucunda büyük emekle ortaya çıkan bu tezi ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda ilgi ve yardımlarını eksik etmeyen danışmanım Prof. Dr. Alev Meltem ERCAN'a, laboratuvar çalışmalarında büyük bir özveriyle destek veren ve her zaman yanımda olan Doç. Dr. Devrim SARIBAL'a, teknik desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Üy. Yusuf Metin GELMEZ ve Dr. Öğr. Üy. Kıymet Aslı KİREÇTEPE-AYDIN 'a teşekkür ederim. Çalışmamda laboratuvar imkanlarından faydalandığım İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü İmmünoloji Anabilim Dalı'na ve İstanbul Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma Merkezi'ne teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2018-32703

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Elektromanyetik Alan	3
2.1.1. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri.....	6
2.1.2. ELF-Manyetik Alanların Biyolojik Etkileri.....	8
2.2. İmmün Sistem	15
2.2.1. Doğal İmmünite	16
2.2.2. Edinsel İmmünite	16
2.2.3. İmmün Sistem Dokuları	17
2.2.3.1. Merkezi Lenfoid Organlar.....	17
2.2.3.2. Periferik Lenfoid Organlar	18
2.2.4. İmmün Sistem Hücreleri	19
2.2.4.1. Lenfositler	20
2.2.4.2. T Lenfositler.....	20
2.2.4.3. B Lenfositler	23
2.2.4.4. Doğal Öldürücü Hücreler (NK)	23
2.2.5. İmmün Sistem ve ELF-EMA Etki Mekanizması.....	24
2.2.6. Sitokinler.....	27
2.2.6.1. IL-4 (İnterlökin-4).....	29
2.2.6.2. IL-17 (İnterlökin-17).....	30

2.2.6.3. IFN- γ (İnterferon-gamma)	31
2.2.7. Doğal İmmün Sitokinlere ELF-EMA'ın Etkileri	33
2.2.7.1. İn vitro	33
2.2.7.2. İn vivo	35
2.2.8. Edinsel İmmün Sitokinlere ELF-EMA'ın Etkileri	35
2.2.8.1. İn vitro	35
2.2.8.2. İn vivo	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Deney Hayvanları	37
3.2. Merritt Bobin Sistemi ve Hayvanlara Manyetik Alan Uygulanması	38
3.3. Hayvanların Sakrifikasyonu	40
3.4. Tam Kan Sayımı	41
3.5. Akış sitometri	42
3.5.1. Kan örneklerinin hazırlanması	42
3.5.2. Dalak örneklerinin hazırlanması	43
3.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	44
3.6.1. RNA izolasyonu	44
3.6.2. cDNA Sentezi	45
3.6.3. PCR Protokolü	45
3.6.3.1. Referans Genin Belirlenmesi	46
3.6.3.2. Primer ve Probların Dizayını	47
3.6.3.3. Örneklerin Belirlenmesi	47
3.6.4. qRT-PCR Analizinin Yapılması	47
3.7. Enzim Bağlı İmmün Sorbent Analizi (ELISA)	48
3.7.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması	48
3.7.2. Plazma Örneklerinin Sitokin Analizleri	48
3.7.3. Dalak Örneklerinin Hazırlanması	49
3.7.4. Dalak Örneklerinin Sitokin Analizleri	49
3.8. İstatistiksel Analiz	50
4. BULGULAR	51
4.1. Biyokimyasal Parametreler	51
4.2. Akış Sitometri Analizi	53
4.3. Plazma Örneklerinde Sitokin Analizi	55

4.4. Dalak Örneklerinde Sitokin Analizi.....	57
TARTIŞMA.....	59
KAYNAKLAR.....	63
ETİK KURUL KARARI.....	95
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	96
ÖZGEÇMİŞ.....	97



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Elektromanyetik alan oluşturan bazı yapay/doğal kaynaklar ve frekans aralıkları	5
Tablo 2-2: İmmün sistem hücreleri	19
Tablo 3-1: Kan sayım parametreleri	41
Tablo 3-2: cDNA sentezi aşamasında tek bir örnek için kullanılan miktarlar	45
Tablo 3-3: cDNA sentez protokolü	45
Tablo 3-4: Hedef genler için dizayn edilen primerler	47
Tablo 3-5: PCR protokolü	47
Tablo 4-1: Gruplar arası tam kan sayımı ortalama±standart sapma değerleri	51
Tablo 4-2: Sıçanlar için cinsiyete bağlı beyaz kan hücre, lenfosit, monosit, granülosit referans aralığı (He ve ark., 2017) ve deneysel sonuçlar	52
Tablo 4-3: Kan ve dalak dokularında gruplar arası Th, Tc, NK ve B lenfositlerin ortalama±standart sapma yüzde değerleri	53
Tablo 4-4: Plazma ve dalak dokusunda sitokin miktarlarının ortalama±standart sapma değerleri (ng/L)	56

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Elektromanyetik dalga	3
Şekil 2-2: Elektromanyetik spektrum	4
Şekil 2-3: T hücre farklılaşması ve etkin sitokinler	28
Şekil 3-1: Deney gruplarının oluşturulması	37
Şekil 3-2: Manyetik alan grubu	38
Şekil 3-3: Manyetik alan uygulanmayan grup	38
Şekil 3-4: Merritt bobin sistemi şematik gösterimi	39
Şekil 3-5: Merritt bobin sistemi	40
Şekil 3-6: FACS Aria akış sitometrisi (BD Bioscience) cihazı	42
Şekil 3-7: Akış sitometri cihazı şematik gösterimi	43
Şekil 3-8: Durdurma solüsyonu eklenmeye başlanmış ELİSA plağı	48
Şekil 3-9: Dalak dokularını homojenize etmek için kullanılan homojenizatör	49
Şekil 3-10: Platelerin yıkama işlemi ve absorbans okuma işlemi yapılan cihazlar	50
Şekil 4-1: A) ELF-EMA'ların toplam BKH üzerine etkisi, (B) lenfositler, granülositler ve monosit sayısı üzerindeki etkileri, (C) erkek ve dişi gruplar kendi içinde (D) Dişi grup BKH alt grupları üzerindeki etkilerinin bar grafiği (*p<0.05)	52
Şekil 4-2: A) Manyetik alan ve kontrol grupları arasında lenfosit alt gruplarının akış sitometri analizleri, B) Manyetik alan uygulanan erkek ve dişi sıçanların Th, Tc, NK ve B hücre seviyeleri (*p<0.05) C) Yan dağılım (SSC) ve ileri saçılım (FSC) nokta çizim analizlerine dayalı lenfositlerin tanımlanması ve manyetik alana maruz kalan erkek ve dişi yavruların CD4 ⁺ , CD8 ⁺ ve CD45RA için temsili nokta çizim analizleri (*p<0.05)	54
Şekil 4-3: Dalakta lenfosit alt kümelerinin akış sitometri analiz sayımları. A) Manyetik alan maruziyetinin gruplar arasındaki, B-C) Manyetik alan maruziyetinin dişi sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla CD4 ⁺ , CD8 ⁺ , NK ve B hücre sayıları üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi (*p<0.05)	55
Şekil 4-4: IL-4, IL-17A ve IFN-γ sitokinlerinin konsantrasyona göre absorbans eğrileri	56

Şekil 4-5: Manyetik alan uygulamasının plazma örneklerinde sitokin konsantrasyonlarına etkisi	57
Şekil 4-6: Dalak dokusunda gruplar arası sitokin analiz sonuçları	57
Şekil 4-7: Dalak dokusunda cinsiyete bağlı sitokin analiz sonuçları	58



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AD	: Alzheimer Hastalığı
ALS	: Amyotrofik Lateral Skleroz
AML	: Akut Miyeloid Lösemi
APC	: Antijen Sunucu Hücre
BCR	: B Hücre Reseptörü
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CD	: Farklılaşma Antijeni
CR	: Kompleman Reseptör
dk	: Dakika
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EA	: Elektrik Alan
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EEG	: Elektroensefalografi
ELF	: Çok Çok Düşük Frekanslar
EMA	: Elektromanyetik Alan
ERK	: Ekstrasellüler Sinyal Düzenleyici Kinaz
FOS	: Florür Kaynaklı Oksidatif Stres
FoxP3	: Forkhead Box P3
HaCaT	: İnsan Keratinosit Hücre
HD	: Huntington Hastalığı
hPBMC	: İnsan Periferik Kan Mononükleer Hücre
HSP	: Isı Şok Protein
IARC	: Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı
ICNIRP	: Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Koruma Komisyonu
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
ITAM	: İmmün Reseptör Tirozin Bazlı Aktivasyon Motifler
iNOS	: İndüklenmiş Nitrik Oksit Sentaz
KLL	: Kronik Lizitik Lösemi
MA	: Manyetik Alan

MALT	: Mukoza ile İlişkili Lenfoid Doku
MAPK	: Mitojenle Aktifleştirilmiş Protein Kinaz
MCP	: Monosit Kemotaktik Protein
MHC	: Majör Doku Uygunluk Kompleksi
MIP	: Makrofaj İnflamatuvar Protein
MS	: Multiple Sklerozis
MSC	: Stresle Aktive Edilmiş Kinazlar
MSK	: Stresle Aktive Edilen Kinaz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
mT	: MiliTesla
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Hidrojen
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz
NF-κB	: Nükleer Faktör kappa B
NK	: Naturel Killer (Doğal Öldürücü)
NO	: Nitrik Oksit
PAF	: Trombosit Aktive Edici Faktör
PALS	: Periarteriyel Lenfatik Kılıf
PD	: Parkinson Hastalığı
PKMh	: Periferik Kan Mononükleer Hücre
PMA	: Phorbol myristate asetat
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SDF	: Stromal Hücrelerden Türetilmiş Faktör
SR	: Serbest Radikal
STAT	: Sinyal Transdüseri ve Transkripsiyon Faktörü
T-bet	: T Box Expressed in T Cells
T_c	: T Sitotoksik
TCR	: T Hücre Reseptörü
TGF	: Tümör Büyüme Faktörü
T_h	: T Helper
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
Treg	: Regülatör T Hücre
VLF	: Çok Düşük-Orta Seviye Frekans

ÖZET

Öztürk, H. (2022). Sıçanlarda 50 Hz Frekanslı Manyetik Alan Maruziyetinin İmmün Sistem Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyofizik ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Gebelik döneminde annenin elektromanyetik alanlara aşırı maruz kalması, bebekler için zararlı kabul edilmektedir ve maruziyetin sonuçları nörolojik ve immün hastalıklar gibi sağlık sorunlarıyla ilişkilendirilmektedir. Bu çalışmada, anne karnı ve emzirme döneminde aşırı düşük frekanslı elektromanyetik alanlara (ELF-EMA) maruz kalan yavru sıçanların beyaz kan hücrelerinin (BKH), lenfosit alt popülasyonlarının ($CD4^+$ T hücreler, $CD8^+$ T hücreler, Doğal öldürücü hücreler (NK) ve B hücreler) gelişimi üzerindeki olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Gebe sıçanlar, Merritt bobin sistemi kullanılarak gebeliğin 0. gününden ve doğum sonrası emzirmenin 21. gününe kadar yavrularıyla birlikte 24 sa/gün süreyle ELF-EMA'a (50 Hz, 0,5 mT) maruz bırakılmışlardır. Sonuçlarımız, ELF-EMA maruziyetine bağlı olarak gruplar arasında toplam BKH, lenfosit gibi kan bileşenlerinde önemli değişimler olduğunu göstermektedir. Ayrıca maruz kalan erkek ve dişi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. ELF-EMA'a maruz kalan dişi grupta Th hücreleri önemli ölçüde artmıştır. Bununla birlikte, EMA'lara maruz kalma, plazma ve dalak dokusunda IL-17A ve IFN- γ konsantrasyon miktarını arttırmış, IL-4 konsantrasyonu ise istatistiksel olarak değiştirmemiştir. IL-4 gen ekspresyonu değişmezken, IL-17A gen ekspresyonu artmış ve sitokin miktar analizlerini desteklemiştir.

Sonuç olarak, doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde ELF-EMA maruziyeti ile, genç dişi sıçanların dalak ve kanında tetiklenen inflamasyonun $CD4^+$ hücre proliferasyonu ile ilişki olduğunu bulduk. Bu sonuçlar, ELF-EMA'ın genç dişi sıçanlarda normal duruma kıyasla Th lenfosit aktivasyonunu artırdığını göstermektedir. Dişi sıçanların, immünolojik olarak ELF-EMA'a erkek sıçanlardan daha duyarlı olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: ELF-EMA, lenfosit, yardımcı T hücre, inflamasyon, IL-17A.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2018-32703.

ABSTRACT

Ozturk, H. (2022). Determination of the Effects of 50 Hz Frequency Magnetic Field Exposure on the Immune System in Rats. İstanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Department of Biophysics. Doktora Tezi. İstanbul.

Maternal exposure to the excessive electromagnetic fields are considered harmful to the infants and associated with several health problems in life such as neurological or immune diseases. In this present study we aimed to investigate the potential effects of extremely low-frequency electromagnetic field (ELF-EMF) exposure during the gestational and lactational period on the development of white blood cells (WBC), lymphocyte subpopulations ($CD4^+$ T cells, $CD8^+$ T cells, Natural Killer (NK) cells, and B cells) and production of T cell related cytokines, in the offspring of rats. Dams received ELF-EMF (50 Hz, 0.5 mT) exposures for 24 h/day from gestational day 0 through lactational day 21 by using a Merritt Coil System. Our results show that there are significant changes in blood components such as total WBC, lymphocyte in particular depending on the ELF-EMF exposure. Parameters of lymphocyte subpopulation showed no changes related to ELF-EMF exposure, whereas there was a significant change difference between the exposed male and female groups. $CD4^+$ cells increased significantly in the ELF-EMF exposed female group. However, exposures EMFs increased the levels of IL-17A and IFN- γ that pro-inflammatory cytokines on plasma and spleen. The mean level of IL-4 was not changed in the experimental groups. The expression of IL-4 gene did not change but the expression of IL-17A gene was also upregulated, supporting cytokine quantification analyses.

In conclusion, ELF-EMF exposure in the prenatal and postnatal period, resulting in $CD4^+$ cell proliferation and inflammation in the spleen and blood of young female rats. These results indicate that ELF-EMA increased Th lymphocyte activation in young female rats compared to the normal state. We think that female rats are immunologically more sensitive to ELF-EMA than male rats.

KeyWords: ELF-EMF; lymphocyte; T helper cells; inflammation; IL-17A.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. TDK-2018-32703.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Elektromanyetik dalga spektrumunda çok geniş bir alan kapsayan iyonlaştırıcı olmayan Elektromanyetik Alanların (EMA) günlük hayatta kullanımının artması nedeniyle sağlık üzerine etkileri merak edilen ve araştırılan konular arasında yer almaktadır. Elektrik kabloları, yüksek gerilim hatları ve elektrikli ev aletlerinden kaynaklanan, günlük hayatta maruz kaldığımız manyetik alan 50 Hz titreşimlidir ve bu alanlar ELF-MA (Extremely Low Frequency Magnetic Field- Çok Çok Düşük Frekanslı Manyetik Alanlar, $f < 300$ Hz) olarak adlandırılırlar. ELF-MA'ların biyolojik doku, organ, hücre, hücre membranı ve enzimler üzerine etkilerinin olduğuna dair pek çok bulgu vardır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) ve Dünya Sağlık Örgütü, ELF-MA'ların insanlar için olası kanserojen sınıf 2B olduğunu duyurmuşlardır. Ayrıca Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komitesi (ICNIRP) ve Uluslararası Radyasyondan Korunma Derneği (IRPA) 50 Hz frekanstaki manyetik alana mesleki maruziyet değeri üst limitini 0,5 mT olarak kabul etmiştir. Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı da kılavuz olarak üst limiti 0,5 mT değerini kullanmaktadır.

Memelilerde bağışıklık sisteminin gelişimi, fetal dönemde başlayan ve yaşam boyu devam eden aktif bir süreçtir. Embriyonik gelişim sürecinde anne ve fetus arasındaki sağlıklı iletişim, bebeğin sağlıklı gelişiminin sağlanması kadar sağlıklı bir popülasyonun oluşmasındaki ilk adımlardan biridir. Ancak yenidoğanlarda adaptif immün sistem tam olarak mevcut değildir, uterusu antijenik uyarının olmaması nedeniyle immünolojik deneyim sınırlı ve immünolojik hafıza zayıftır. Bu nedenle, bağışıklık sistemi doğumu takip eden kısa bir dönemde gelişmemiş ve deneyimsiz olarak kabul edilebilir. Sonuç olarak yenidoğanlar enfeksiyonlara ve ilgili koşullara daha duyarlıdır. Bağışıklık hücreleri, mikroorganizmalar veya kanser hücreleri gibi tüm iç stres faktörlerinin yanı sıra EMA'lar dahil olmak üzere dış stres faktörlerine de yanıt verme eğilimindedirler. Epidemiyolojik kanıtlar, ELF-EMA'a maruz kalmanın canlı organizmayı etkileyebileceğini düşündürmektedir. Çalışmalardan bazıları, ELF-EMA'a maruz kalma ile biyokimyasal ve biyofiziksel süreçlerin değişerek hücre davranışında farklılaşmaya yol açabileceğini ifade etmektedirler. Ancak, ELF-EMA'lar ile sağlık durumu hakkında hiçbir bağlantı olmadığını savunan çalışmalar da mevcuttur.

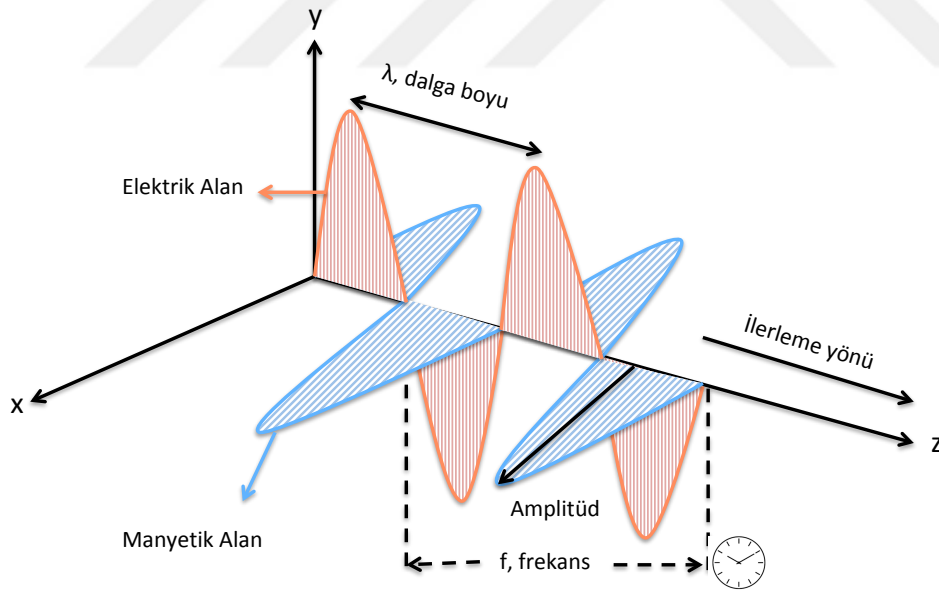
ELF-EMA'nın biyolojik etkileri konusunda fikir birliği olmaması göz önüne alındığında, bu çalışma ile doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde ELF-EMA maruziyetinin yenidoğan bağışıklık fonksiyonlarında meydana gelebilecek olası değişiklikleri değerlendirmeyi amaçladık. Bu amaçla, anne karnında ve doğduktan sonra emzirme döneminde 50 Hz 0,5 mT ELF-EMA'a maruz kalan yavru sıçanlarda beyaz kan hücre sayımı, lenfosit ve alt popölasyonları, bu hücrelerden salgılanan bazı sitokinler (IL-4, IL-17A ve IFN- γ) üzerindeki etkileri araştırdık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektromanyetik Alan

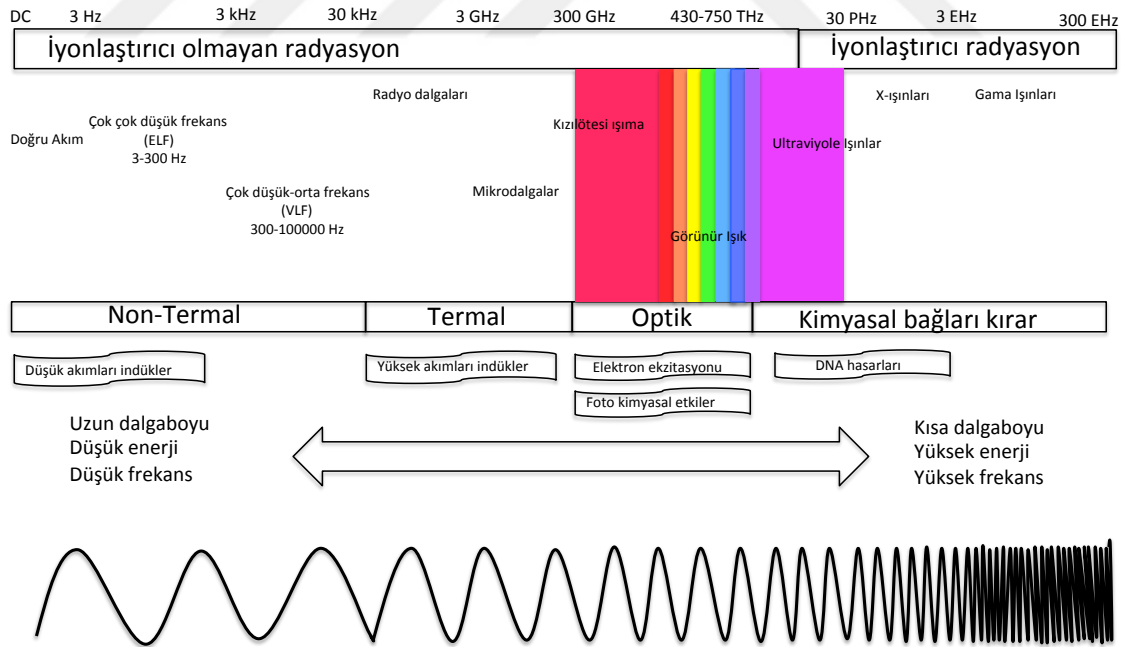
Uzayın herhangi bir noktasında durgun yada hareketli bir elektrik yükünün varlığı elektrik alan oluşması için yeterlidir. Ancak manyetik alanın oluşabilmesi bu elektrik yükünün hareketli olmasıyla sağlanabilir. Birbirine dik elektrik ve manyetik alan bileşeni bulunan dalgalara elektromanyetik dalgalar denilmektedir (Şekil 2-1). Elektrik ve manyetik alan bileşenleri dalganın yayılma doğrultusuna diktir. Böyle dalgalar enine dalga olarak tanımlanırlar. Boşlukta “c” ışık hızı ile hareket ederler ve uzaklığın karesiyle ters orantılı olacak şekilde çevreye enerji aktarırlar. Elektromanyetik dalgaların yayılmaları için madde ortamına ihtiyaç yoktur. Düşük frekanslı elektromanyetik dalgalar “Elektromanyetik Alanlar”, yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalar ise “Elektromanyetik Radyasyon” olarak isimlendirilmektedir.



Şekil 2-1: Elektromanyetik dalga.

Elektromanyetik dalgalar, dalga boyları ve frekanslarına göre karakterize edilir ve sınıflandırılırlar. Elektromanyetik dalga spektrumu kilometrelerce dalga boylarından femto mertebesindeki dalga boylarını kapsamaktadır. Elektromanyetik dalgaların enerjilerine göre sınıflandırılmasında, bu dalgaların madde ile etkileşim mekanizmaları

temel alınmaktadır. Madde ile etkileşimlerine göre elektromanyetik dalgalar iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik dalgalar olarak ikiye ayrılır. Yüksek frekansa ve düşük dalga boyuna sahip olan iyonlaştırıcı elektromanyetik dalgalar (elektromanyetik radyasyon), maddeden elektron koparabilme yeteneğine sahip, yüksek enerjili dalgalardır. Bu dalga spektrumunda ultraviyole ışınların c bandı, x-ışınları ve gama ışınları yer almaktadır. Düşük frekansa ve yüksek dalga boyuna sahip olan iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik dalgalar (elektromanyetik alanlar, <10 eV), maddeden elektron koparamazlar ancak mesafe, güç ve maruz kalma süresi gibi faktörlere bağlı olarak maddede elektrik akımı indüklenmesi, kimyasal reaksiyon değişimleri ve termal etkilere yol açabilirler (Güler ve ark 2010; Türkkan A. 2009). Ultraviyole ışınların a ve b bantları, kızılötesi (infrared) ışınlar, mikrodalgalar ve radyo dalgaları iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik dalgalar sınıfına girmektedirler. Elektromanyetik dalgaların sınıflandırılmasında belirlenmiş kesin frekans sınırları bulunmamaktadır. Çok çok düşük frekanslı (Extremely Low Frequency-ELF <300 Hz) elektromanyetik dalgalarla başlayan spektrum yüksek frekanslı gama ışınları (300 EHz) ile sonlanmaktadır (Şekil 2-2) (Prato ve ark 1995; Wolf ve ark 2005).



Şekil 2-2: Elektromanyetik spektrum.

Elektromanyetik alanlar EMA kısaltması ile gösterilmektedir. Kişilerin EMA ile teması elektrik enerjisi kullanımı ve elektrikle çalışan cihazların etrafında bulunmaları

ile gerçekleşmektedir (WHO, 2007). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) toplum sağlığı (farkındalığı) için EMA kaynaklarını şu şekilde sıralamıştır (Tablo 2-1);

- Radar, navigatör ve benzeri yön bulucu aletler
- Güvenlik sistemleri
- Elektrikle çalışan trenler ve raylar
- Yüksek gerilim hatları ve ana dağıtım kabloları
- TV ve radyo yayınları
- Mobil telefon baz istasyonları

Tablo 2-1: Elektromanyetik alan oluşturan bazı yapay/doğal kaynaklar ve frekans aralıkları

Seviye	Frekans Aralığı	EMA Kaynağı
Statik	0 Hz	▪ Dünyanın DC manyetik alanı ▪ Mıknatıslar
Çok çok düşük frekans (ELF)	0-300 Hz	▪ Dünyanın AC manyetik alanı ▪ Yüksek gerilim hatları ▪ Elektrikli ev aletleri ▪ Elektrikli trenler ▪ Isıtma cihazları
Çok düşük-Orta seviye frekans (VLF)	300 Hz-100 kHz	▪ Tv ekranı ▪ Metal dedektörü ▪ Kart okuyucular ▪ Isıtma cihazları
Radyo frekans	100 kHz-300 GHz	▪ Baz istasyonları ▪ Radyo ▪ Tv ▪ Wifi ▪ Kişisel mobil cihazlar ▪ Mikrodalga fırın ▪ Radar ▪ MRG (Manyetik rezonans görüntüleme)

Elektromanyetik alanlara maruziyet günlük hayatta karşılaşılmaması çok doğal bir durumdur. Gelişen teknoloji ve sanayileşmeyle beraber birçok evde, iş yerinde ve topluma açık alanlarda doğal elektromanyetik alan kaynaklarının yanısıra elektrikle çalışan cihazlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durum EMA'lara maruziyeti artırmakta ve canlı yapının bu alanlardan etkilenme olasılığını yükseltmektedir. Kullanım alanları ve karşılaşma sıklığı konusunda en yüksek maruziyet oranını ELF

alanlar oluşturmaktadır. Bu alanların frekans aralığı 0-300 Hz (bazı kaynaklarda 3-300 Hz) olarak belirtilmektedir. Ülkemizde ve tüm Avrupa’da şehir şebekesinde kullanılan elektrik akımının frekansı 50 Hz’dir. Elektromanyetik alanların frekansı kendini oluşturan akımın frekansındadır ve bu nedenle kullandığımız ev aletlerinden ve enerji dağıtım şebekelerinden (yüksek gerilim hatları, baz istasyonları vb) 50 Hz frekansta elektromanyetik alanlar yayılmaktadır.

2.1.1. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri

İyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik dalgalar sınıfına giren elektromanyetik alanlar, spektrumun çok geniş bir frekans bandını kapsamaktadır. 10 eV’tan daha düşük enerjiye sahip olan bu dalgaların büyük bir kısmı etkileştikleri maddenin ısınmasını sağlarlar. Maddede meydana getirdikleri bu etkiye termal etki denilmektedir. Spektrumda ultraviyole ışıklardan (a ve b bandı) 100 kHz’lik radyo dalgalarına kadar olan ışın bölgesi termal etki göstermektedir (Şekil 2-2). Termal etkiyle oluşan ısı artışı, canlı yapıda termoregülatör merkezi ve biyokimyasal reaksiyonları etkilemektedir. Oluşan ısı artışı, ısıнын kan dolaşımı ile düzenlenmesine kadar sürmektedir. 100 kHz’den daha düşük frekanstaki elektromanyetik alanların maddelerde ısı oluşturmadağı bilinmekte ve bu frekanslardaki elektromanyetik alanların maddeler üzerindeki etkilerine termal olmayan etkiler denilmektedir. EMA’lara maruziyet sonucunda canlılarda termal veya termal olmayan etkiler oluşabilir (Pak, 2001). Bunun yanısıra radyo dalgaları ve mikrodalgaların canlı-cansız madde üzerinde iyon hareketleri üzerinden indüktif akımlara yol açabildikleri bilinmektedir. Elektromanyetik alanların biyolojik etki mekanizmaları farklı frekanslara göre değişmektedir.

EMA’a maruz kalmanın çeşitli invitro etkilerini tanımlayan çalışmalarda, birkaç aday mekanizma önerilmiş olmasına rağmen, zayıf ELF-EMA ile hücreler arasında temel bir etkileşim mekanizması bulunmamaktadır (IARC, 2002; Davanipour ve ark., 2007; Draper ve ark., 2005; Gottwald ve ark., 2007). Önerilen bu mekanizmalar arasından ilki, EMA maruziyeti ile artan hücre içi Ca^{+2} seviyesidir (Walleczek, 1992). İkinci olarak ise, EMA maruziyetinin reaktif oksijen türlerinin (ayrıca diğer serbest radikallerin, SR) oluşumuna ve uzun süreli hayatta kalmasına sebep olduğu ileri sürülmektedir (Mannerling ve ark., 2010).

EMA'ların biyolojik dokuda organlar, hücreler, hücre membranı ve enzimler üzerine etkilerinin olduğuna dair pek çok bulgu vardır (WHO, 2007). Bu etkileri araştırmak ve belirlemek için, hücre kültür çalışmaları, hayvan deneyleri ve matematiksel modellemeler kullanılmaktadır. Maruz kalınan EMA'ların biyolojik etkileri tam olarak açıklanamasa da son yıllarda yapılan çalışmalarda biyolojik etkilerinin biyofiziksel ve biyokimyasal mekanizmalarını açıklamak yönünde oldukça önemli ilerlemeler olmuştur. Farklı yöntemlerle yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen verilere dayanarak elektromanyetik alanların; sinir sistemi, bağışıklık sistemi, dolaşım sistemi, endokrin sistem ve üreme sistemi üzerinde etkili olabileceğini ifade etmek mümkündür.

EMA'lara uzun süreli maruziyetin sinir sistemini olumsuz yönde etkilediği, radikal oluşumu ile DNA kırıklarına neden olduğu ve beyin fonksiyonlarında hasara yol açtığı, Alzheimer hastalığının görülme sıklığında artışa neden olduğu, Amyotrofik Lateral Skleroza (ALS) neden olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Ayrıca vücut ağrısı, uykusuzluk, yorgunluk ve depresyon sorunlarının ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (Sobel ve ark, 1995; Macca ve ark, 2002; Lai ve Singh, 2004; WHO, 2007). Dolaşım sistemi ile ilgili yapılan bazı araştırmalarda EMA maruziyetinin akut kalp krizleriyle ilişkili olabileceği, kan basıncında ve nabız sayısında değişiklik, ektopik atım ve geri dönüşümlü aritmi, baş dönmesi ve ayrıca bulantı, metalik tat gibi sorunlara yol açabileceği rapor edilmiştir (Franco ve ark, 2008; Kheifets ve ark., 2008). Üreme sistemi ve EMA arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar ise, EMA'ların kadın üreme sistemini etkilediğini, düşük riskini artırdığını ve doğumsal anomalilere yol açtığını savunmaktadır (Frank ve Slesin, 1998; Li ve ark., 2002; Nordström ve ark., 1983; Windham ve Osorio 2004). Artan kanıtlarla beraber 2002 yılında EMA'lar DSÖ tarafından 2B (olası) Kanserojenler grubunda sınıflandırılmaktadır (WHO, 2008). EMA'lar ve kanser arasındaki ilişkinin bağışıklık sisteminin baskılanması ile ortaya çıktığını öne süren çalışmaların yanısıra doğrudan DNA'ya etki ettiğini iddia eden çalışmalar da mevcuttur (Vaizoğlu, 2001).

EMA'lara maruz kalmanın canlı doku üzerindeki zararlı etkisi öncelikle alanın sıklığına (dalga boyu), yoğunluğuna ve maruz kalma süresine bağlıdır. Diğer önemli risk faktörleri maruz kalan organizmanın fonksiyonel durumu ve duyarlılığıdır.

Işınlanmış biyolojik dokunun vaskülarizasyonu ve radyasyon kaynağından uzaklığı da dikkate alınmalıdır.

2.1.2. ELF-Manyetik Alanların Biyolojik Etkileri

ELF-EMA'lar 0-300 Hz frekans aralığına sahip dalgalar olarak tanımlanır ve biyomoleküler sistemlerle etkileşime girmek için çok zayıf foton enerjisine sahip iyonize olmayan bir elektromanyetik dalgayı temsil ederler. Çevredeki ELF-EMA genellikle elektrik güç iletimi tarafından 50-60 Hz'de alternatif akım olarak üretilir. ELF-EMA'nın biyolojik etkisinde manyetik alan, elektrik alandan daha tehlikelidir. Çünkü manyetik alanlar vücutta bir elektrik akımı indüklerken, elektrik alanlar bunu yapamazlar (ICNIRP, 2001). Düşük frekanslı elektrik alana (EA) yada manyetik alana (MA) maruz kalmak genellikle vücutta çok düşük bir enerji emilimine neden olur. Bununla birlikte, ELF-MA'nın çeşitli hücresel fonksiyonları etkileyerek biyolojik sorunlara neden olduğu iyi bilinmektedir. Ko-indükleyici olarak işlev gören ELF-MA, zayıf mutajenik sinyali güçlendirebilir. ELF-MA'lara uzun süreli maruz kalma, güç hatları ve elektrikli cihazlardan üretilen 50-60 Hz frekansların insan sağlığı üzerindeki olası olumsuz etkileri konusundaki endişeleri artırmaktadır. Bu tür olası biyolojik etkilerin eşiklerini belirlemek için yeterli tutarlı bilimsel kanıt olmadığı için, bu alanlara kronik maruziyetin uzun vadeli etkileri, Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu (ICNIRP) kılavuzu kapsamı dışında bırakılmıştır. ELF-MA'nın insan veya hayvan biyolojik fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkileri üzerinde fikir birliğine varılamamıştır.

ELF-MA'larla ilgili yapılan çalışmalarda;

- DNA zincir kırılmalarına sebep olduğu,
- Kanseri oluşumunu tetiklediği,
- Sinir sistemini etkilediği,
- Endokrin sistemi etkilediği,
- Üreme sistemini etkilediği,
- Oküler etkilere sebep olduğu,

- Hematolojik etkilerin olduğu,
- Embriyolarda anormal gelişimleri tetiklediği,
- Bağışıklık sistemini etkilediği düşünülmektedir (Şeker ve Çerezci, 1997).

Epidemiyolojik çalışmalarda ELF-MA'a maruziyet ile çeşitli sağlık sorunları arasındaki potansiyel ilişkiler araştırılmıştır. Konuyla alakalı birçok çalışmaya rağmen DNA bağlarını kırmak ve 100 mikrottesla veya daha yüksek akut maruziyetler dışında kanserojen bir süreci tetiklemek için yeterli enerjiye sahip olmadıkları için ELF-MA'lar tarafından üretilen olumsuz sağlık etkileri konusunda fikir birliğine varılamamıştır (Poole ve Ozonoff, 1996; ICNIRP 2001; Kheifets ve ark., 2005). Bu nedenle, mevcut hipotez aşırı düşük frekanslı manyetik alanın bir karsinojenik faktör olarak davrandığıdır (Gurney ve Wijngaarden, 1999; Feychting ve ark., 2005).

EMA'larla yapılan çalışmaların önemli bir kısmını kanser çalışmaları oluşturmaktadır. Kanser çalışmaları iki temel alan üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunlar; çocukluk çağı kanserleri ve mesleki-meskeni maruziyet çalışmalarıdır. En sık görülen çocukluk çağı (<15 yaş) malignitesi lösemidir. ELF-MA'lar ile çocukluk çağı lösemisi arasındaki ilişki ilk kez 1979 yılında Wertheimer ve Leeper tarafından bildirilmiştir (Wertheimer ve Leeper, 1979). Yakın bir zamanda ELF-MA'lara maruz kalma ile çocukluk çağı lösemi riski arasındaki olası ilişki üzerine farklı epidemiyolojik çalışmalar eklenmiş ve risk durumu değerlendirilmiştir (Schüz ve Ahlbom, 2008; Greenland ve Kheifets, 2009; Heifets ve ark., 2010). Bu çalışmaların sonucunda, çocukluk çağı lösemi riskinin ortalama 0,3-0,4 mT'yı aşan 24 saat maruziyet seviyelerinde tutarlı bir ilişki sergilediği, ancak gözlemsel çalışmalarda nedensel bir yorumlamanın zor olduğu sonucuna varılmıştır. ELF-MA maruziyetinin biyolojik etkilerini ele almak ve potansiyel sağlık etkilerinin altında yatan mekanizmaları belirlemek için yapılan hayvan ve hücre kültür çalışmaları, bu epidemiyolojik gözlemlerin tutarlı bir deneysel açıklamasını sağlayamamıştır (SCENIHR, 2015; IARC, 2002; Schmiedel ve Blettner, 2010). Hayvan çalışmaları neredeyse çocukluk çağı lösemi riskini desteklememektedir (Otake ve ark., 2002). Bununla birlikte, Fam ve Mikhal'in çalışması çok güçlü düşük frekanslı elektromanyetik alana kronik olarak maruz kalan farelerde lenfoma insidansının anlamlı şekilde arttığını göstermiştir (Fam ve Mikhal, 1966). Çocuklarda bu bulgular erişkin lösemi araştırmalarını teşvik etmiştir. Ancak tutarlı sonuçlar elde edilememiştir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı

(IARC) ve DSÖ, ELF-MA'nın lösemi üzerindeki etkisinin kanıtlarını yetersiz bulmuşlardır (IARC, 2002; WHO, 2007). 2008 yılında yayınlanan mesleki epidemiyolojik çalışmalarda erişkin lösemi üzerine bir meta-analizde, mesleki ELF-MA maruziyeti ile lösemi, özellikle AML ve kronik lizfitik lösemi (KLL) arasında pozitif bir ilişki gözlemlenmiştir (Kheifets ve ark., 2008). Buna ek olarak, bir vaka kontrol çalışmasında güç hatlarına yakın yaşayan veya tahmini manyetik alanların arttığı bir alanda yaşayan kişiler için lösemi mortalitesinde artış olduğu bildirilmiştir (Marcilio ve ark., 2011). Aksini söyleyen çalışmalara rastlamak da mümkündür (Hill, 1988; Morgan ve ark., 2000). Ayrıca birçok epidemiyolojik çalışma, çocukluk çağı kanserinin ebeveynlerin manyetik/elektromanyetik alana mesleki maruziyeti ile ilişkisini incelemiş olsa da (Savitz ve ark., 1988; Floderus ve ark., 1993), bu tür ilişkilerin mekanizması açıklığa kavuşmamıştır. Çalışmalardan elde edilen sonuçlardaki tutarsızlıkların olası nedenlerinin ise, maruziyetin yanlış sınıflandırılması, seçim yanlılığı gibi metodolojik konularla ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Epidemiyolojik çalışmalara göre, ELF-MA'a mesleki maruziyet ile erkekler ve kadınlar arasında meme kanseri gelişimi, lösemi ve beyin kanseri arasında bir bağlantı olduğunu gösteren bazı kanıtlar vardır (Demers ve ark., 1991; Havas, 2000; Lai, 2014; Tynes ve ark., 1992). Mesleki maruziyetle ilgili çalışmalar arasında, ELF-MA'nın meme kanseri mortalitesi için kadınların risk altında olduğu tespit edilmiştir (Koeman ve ark., 2014). Daha sonra, DSÖ ve 2000-2009 yılları arasında yayınlanan vaka kontrol çalışmalarının yakın zamanda yapılmış bir meta-analizi, ELF-MA'nın kadınlar arasında meme kanseri insidansı üzerinde bir etkisinin olmadığı sonucuna varmıştır (Chen ve ark., 2013; WHO, 2007). Ayrıca mesken veya mesleki maruziyet üzerine yapılan çalışmalar ve meme kanseri üzerinde yapılan alt analizlerde de bir etki bulunmamıştır. IARC ve DSÖ, ELF-MA'nın beyin kanseri üzerindeki etkisine dair kanıtların yetersiz olduğu sonucuna varmışlardır (IARC, 2002; WHO, 2007). Beyin kanseri çalışmalarında ilk pozitif raporlardan biri Lin ve ark. tarafından yayınlanmış, elektrik işlerinde çalışma ile artmış beyin kanseri riski arasındaki ilişkileri bildirmişlerdir (Lin ve ark., 1985). Beyin kanseri üzerine yapılmış bir meta-analizde, mesleki ELF-MA maruziyetinin beyin kanseri riski üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmuştur (Kheifets ve ark., 2008). Bununla birlikte, beyin kanseri ve ELF-MA maruziyeti üzerine yapılan çalışma sonuçları tutarsızdır. Bazı çalışmalar küçük bir etki bildirirken (Baris ve ark., 1996; Floderus ve ark., 1999; Hakansson ve ark., 2002), bazılarında ise hiçbir etkisi

olmadığı ifade edilmiştir (Johansen ve ark., 2007; Cocco ve ark., 1998; Karipidis ve ark., 2007). Ayrıca ELF-MA maruziyeti ile beyin kanseri ilişkisini inceleyen bir endüstriyel kohort çalışması (Sorahan, 2012) ve ELF-MA'ya çevresel maruziyet üzerine popülasyon temelli vaka kontrol çalışması (Marcilio ve ark., 2011) yapılmış, her iki çalışmada da etki bulunamamıştır. ELF-MA'lar, IARC tarafından “insanlar için olası kanserojen” olarak sınıflandırılmıştır. Yeni analizlerin eklenmesiyle, ELF-MA ve kanser arasındaki ilişki hakkında kesin görüş bildirilemese de, bu ilişki hala kabul edilmektedir (SCENIHR, 2015). ELF'nin diğer kaynaklardan (örn; endojen radikaller) bu tür hasarı arttırabileceği veya sinyal iletimindeki epigenetik müdahalenin kanser oluşumunu arttırabileceği teorileşmiştir. Kanserler genellikle DNA dizisinin mutasyonu, kromatin yapısının ve gen ifadesinin değişmesi dahil olmak üzere, genom yapı/fonksiyon değişiminin bir sonucu olarak ortaya çıkar. ELF-MA'ların DNA'ya zarar veren ajanlarla etkileşime girebileceğine ve ko-genotoksik olabileceğine dair bazı kanıtlar vardır (Vijayalaxmi ve Obe, 2005; Bergqvist ve ark., 2003; EHC, 2007; Udrou ve ark., 2010; Markkanen, 2009).

HücreSEL DNA hasarı onarımı, insan sağlığı ile ilgili hücre kaderi belirlemede önemli bir rol oynar. ELF-MA maruziyeti ile ilgili en önemli kaygılardan biri, insan popülasyonundaki genetik hasardır (Vijayalaxmi ve Prihoda, 2009). Hücre, hayvan ve insanların ELF-MA'a maruz kalmasının neden olduğu genetik hasarları gösteren çok sayıda kanıt bulunmaktadır (Dominici ve ark., 2011; Havas, 2017; Tofani ve ark., 1995; Verschaeve ve ark., 2016; Vijayalaxmi ve Prihoda, 2009; Zhang ve ark., 2017). Bazı raporlar, ELF-MA'a mesleki maruziyet sınırından daha yüksek düzeylerde maruz kalmanın genotoksisite üretebileceğini göstermiştir (IARC, 2002). Dominici ve arkadaşları tarafından yapılan ELF-MA'a mesleki maruziyet çalışmasında genotoksik hasar olduğu bildirilmiştir (Dominici ve ark., 2011). Yüksek voltaj teknisyenleri ile yapılan bir çalışmada, işçilerde DNA hasarı rapor edilmiştir (Zendehdel ve ark., 2017). Aynı çalışma grubuyla yapılan bir diğer çalışmada EMA'nın çalışan sağlıklı erkeklerin kan kimyasını (glikoz, sodyum, klorür ve fosfor konsantrasyonu gibi) değiştirdiği gösterilmiştir (Touitou ve ark., 2012). 2019 yılında enerji santralleri endüstrisinde çalışanlar arasında ELF-MA'nın sürekli olmayan düşük yoğunluğa maruz kalmasının DNA hasarına neden olduğunu bildiren güncel çalışmalar da bulunmaktadır (Zendehdel ve ark., 2019). Ayrıca ELF-MA'nın neden olduğu DNA iplik kopmaları hakkındaki 29 çalışmanın %50'sinin DNA hasarlarını doğruladığı bildirilmiştir (Ruiz-Gomez ve

Martinez-Morillo, 2009). Statik manyetik alan varlığında ELF'ye maruz kalmanın kromozomal anormalliklere neden olduğunu bildiren çalışmalar vardır (Tofani ve ark., 1995). Başka bir çalışmada ise, CBA farelerinin beyin hücrelerinde DNA parçalanması rapor edilmiştir (Svedenstal ve ark., 1999). 14 günlük manyetik alan maruziyetinin DNA hasarı yapma potansiyeline sahip olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Havas, 2017). Bununla birlikte, genel olarak, ELF-MA'nın DNA'ya doğrudan zarar vermek için hücrelere yeterli miktarda enerji aktaramadıkları kabul edilmektedir. Ancak, diğer çevresel kirlilik faktörleriyle birlikte ELF-MA maruziyetinin DNA hasarları oluşturabileceği düşünülmektedir (Moretti ve ark., 2005).

Elektrik stimülasyonu ile çalışan sinir sisteminin, manyetik alan ve indüklediği elektrik akımlarının etkilerine karşı savunmasız olduğu kabul edilir (WHO, 2008). Çok çok düşük frekanslı manyetik alanlar, fizyolojik elektrik akımları ve periferik sinir dokusunu uyarabilenlerden daha küçük akımlara neden olsa da; kanıtlar merkezi sinir sistemindeki (MSS) fonksiyonel elektrik aktivitesini modüle edebileceğini göstermektedir (WHO, 2008; Saunders ve Jefferys, 2007). Sinir sisteminin ELF-MA maruziyetine yanıt açısından daha hassas sistemlerden biri olduğu varsayılmaktadır (Saunders ve Jefferys, 2007; Kavet ve ark., 2001). Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar, ELF-MA maruziyeti ile beyin tümörleri (Kheifets ve ark., 1999), nörodejenaratif hastalıklar (Vergara ve ark., 2013) ve diğer nörolojik bozukluklar (Li ve ark., 2002; Schreier ve ark., 2006) gibi sinir sistemi bozukluğu riski arasında olası bir bağlantı olduğunu göstermişlerdir. Laboratuvar incelemeleriyle ilgili olarak, in vivo çalışmalar ELF-MA'ların beyindeki davranış, bilişsel işlevler ve nörotransmitter sistemleri üzerindeki etkilerine odaklanmıştır (Trzeciak ve ark., 1993; Lai ve ark., 2016; Madjid Ansari ve ark., 2016; Jadidi ve ark., 2007). Nörofizyolojik çalışmalar düşük yoğunluklu ELF-MA maruziyetini takiben beyin elektriksel aktivitesinde ölçülebilir değişiklikler bildirmişlerdir. Bu çalışmalar, ELF-MA'nın motor kontrolü, duyuşsal algı, bilişsel aktiviteler, uyku ve ruh hali gibi nöronal fonksiyonları etkileyebileceklerini öne sürmektedir (Cook ve ark., 2002; Cook ve ark., 2006). ELF-MA'ların insan ağrı algısı üzerindeki etkileri için yapılan çalışmalarda ELF-MA'a maruziyet sonrası ağrı duyarlılığında (hiperaljezi) önemli bir artış bulunmuştur (Papi ve ark., 1995; Ghione ve ark., 2004). ELF-MA maruziyetinin epigenetik hücre programlaması üzerindeki olası etkisiyle tutarlı olarak, ELF-MA'nın nöral farklılaşmayı değiştirebildiği bildirilmiştir (Ma ve ark., 2014; Cheng ve ark., 2015; Ma ve ark., 2016; Jung ve ark., 2014). Statik

MA ve ELF-MA'nın elektroensefalografi (EEG) güç spektrumu üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar, EEG aktivitesinin arttığını gözlemlemiştir. Ayrıca, diğer benzer çalışmaların çoğu, alfa, teta ve beta bandı aktivitelerinde bir artış olduğunu, delta bant aktivitesini ise frontal derivasyonlarda azalttığını bulmuşlardır (Heusser ve ark., 1997; Marino ve ark., 1996; Lyskov ve ark., 1993; Ghione ve ark., 2005). İn vitro çalışmalar, ELF-MA'ların, maruz kalan hücrelerin membran proteinlerinin fonksiyonunda ve dağılımında değişiklikler yaparak, nöronal aktiviteyi etkilediğini göstermiştir (Chiabrera ve ark., 2000). Hipokampal glutamaterjik sinapslarda, ELF-MA'nın nöronlarda cAMP artışına sebep olduğu ve buna bağlı sinaptik yarıktaki glutamat konsantrasyonunun aracılık ettiği uyarılmış potansiyellerin arttığı gösterilmiştir (Wieraszko ve ark., 2005). ELF-MA'ların biyolojik etkileriyle ilgili artan sayıda çalışmaya rağmen, bu maruziyeğin beyin fonksiyonları üzerindeki etkisi anlaşılamamıştır. Laboratuvar çalışmalarında elde edilen sonuçlar büyük ölçüde tutarsız ve tartışmalıdır (Di Lazzaro ve ark., 2013). Veriler, ELF-MA maruziyeti ile sinir sistemi hastalıkları arasındaki ilişkiyi netleştirememiştir. Bu durumun, çeşitli araştırma modelleri, maruziyet koşulları ve farklı gruplar tarafından kabul edilen deney protokollerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bireysel farklılıkların, bir deneğin ELF-MA'ya yanıtını belirlemede önemli bir rol oynayabileceği varsayılmaktadır (Di Lazzaro ve ark., 2013).

Nörodejenerasyon terimi, nöron ölümüne kadar ilerleyen nöronal fonksiyon kaybı ve yapı kaybını gösterir. Parkinson hastalığı (PD), Alzheimer hastalığı (AD), Huntington hastalığı (HD) ve ALS gibi birçok dejeneratif hastalık nörodejenaratif süreçlerden kaynaklanır ve bunların çoğu katlanmış proteinlerin agregasyonu nedeniyle patolojiler olarak sınıflandırılırlar. Birçok çalışma, ELF-MA'lara mesleki maruziyet ile AD başlangıcı arasında potansiyel bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (Garcia ve ark., 2008; Röösli, 2008), ancak biyolojik bağları bilinmemektedir. Otozomal dominant bir hastalık olan HD'de mutasyona uğramış gen, etki ettiği mekanizmalar tam olarak anlaşılmasa da nöronal disfonksiyon ve dejenerasyona yol açar. EMA maruziyeti ve HD patogenezi arasındaki potansiyel korelasyon epidemiyolojik kanıtlarla sürdürülmezken, ELF-MA maruziyetinin nöroprotektif etkisinin ve davranıştaki iyileşmenin artmış nörotrofik faktör düzeylerinden ve azalmış oksidatif strese kaynaklanabileceğine dair kanıtlar vardır (D'Angelo ve ark., 2015). Yapılan araştırmalar, ALS ve mesleki EMF maruziyeti arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (Davanipour ve ark., 1997; Savitz ve ark., 1998). Bazı çalışmalar ise, zayıf manyetik alanların epileptiform

aktiviteyi arttırdığını bulmuşlardır (Fuller ve ark., 1995; Dobson ve ark., 2000). EMA'nin nörodejenaratif hastalıklar üzerindeki etkilerinin araştırılması çok iyi olmamakla birlikte, aslında bu bağlantıyı destekleyen deneysel bulgular, uygulanan alan frekansı ve araştırılan hastalık nedeniyle hala tartışmalıdır (Consales ve ark., 2012).

Manyetik alanların üreme üzerindeki potansiyel etkileri hakkında artan endişe nedeniyle, birçok çalışma düşük manyetik alanların etkilerini anlamaya yöneliktir. Manyetik alan etkisinin erkeklerde semen kalitesini düşürdüğünü gösteren çalışmalar mevcuttur (Irgens ve ark., 1999). Rodentler üzerinde yapılan bazı deneylerde manyetik alan maruziyetinin fetal malformasyonlara (Tribukait ve ark., 1986; Chiang ve ark., 1995), minör iskelet malformasyonlarına (Huuskonen ve ark., 1993; Mevissen ve ark., 1994) ve artan plesantal resorpsiyonlara (Froelen ve ark., 1993; Juutilainen ve ark., 1997) yol açtığı gösterilmiştir. Erkek farelerin 50 Hz frekanslı manyetik alana maruz kalmasından sonra uzamış spermatidlerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma rapor edilmiştir (De vita ve ark., 1995). Sıçanlarla yapılan başka bir çalışmada, manyetik alanlara doğum öncesi maruziyetin testis ağırlığında bir artışa neden olduğu belirtilmiştir (Ossenkopp ve ark., 1972). Hamsterlarda yapılan bir araştırmada ise 50 Hz frekanslı manyetik alanlara 56 gün boyunca maruziyetin, testiküler hücre sayısında belirgin bir artışa neden olduğu bildirilmiştir (Niehaus ve ark., 1997). Dişi sıçanlar çiftleşmeden 90 gün önce 50 Hz frekanslı manyetik alana maruz kaldıktan sonra doğurganlık, implantasyon sayısı ve canlı fetüs sayısında belirgin düşüşler gözlenmiştir (Al-Akhras ve ark., 2001). Ancak 90 gün boyunca 50 Hz frekanslı manyetik alana maruz bırakılan erkek farelerin üreme sisteminde olumsuz bir etki görülmemiştir (Elbetieha ve ark., 2002). Hayvan çalışmaları düşük enerjili manyetik alanlara maruz kalmanın üreme üzerindeki etkilerini belirlemeye çalışsa da, bulguların oldukça çelişkili olduğu açıktır. Çünkü hiçbir zararlı üreme etkisi olmadığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Wiley ve ark., 1992; Kowalczyk ve ark., 1994; Ryan ve ark., 1999). Bu tutarsızlıkların tür farklılıklarına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, bazı araştırmacılar bu durumun biyolojik sistemlerde, aynı alternatif alan şiddeti için indüklenen akımların canlı boyutuna bağlı olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir (Deno ve Carpenter, 1994).

Tanı ve terapide farklı MA ve EMA'lar, kolay ve invaziv olmayan yöntem sağladıkları için tıpta etkin bir şekilde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır

(Markov, 2007; Consales ve ark., 2012). Düşük frekans ve yoğunluk aralığında darbeli EMA'lar, kanda oksijenlenmeyi arttırmakta, dolaşım ve hücre metabolizmasını iyileştirmektedir. Fibromiyaljinin karakterize olduğu kronik ağrı ve yorgunluğu azaltmaktadır (Sutbeyaz ve ark., 2009). Dirençli depresyon (Martiny ve ark., 2010), ve mutiple skleroz (MS) semptomlarını azaltabileceği düşünülmektedir (Lappin ve ark., 2003). EMA'lar doku rejenerasyonunu ve onarımını uyarmak için bazı patolojik durumların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bertolino ve ark., 2006). Ortopedi alanındaki tedavi uygulamaları, darbeli EMA'nın hasarlı hücrelerde normal potansiyellerin yeniden kurulmasını hızlandırdığına (Fiorani ve ark., 1997), osteoblastların çoğalmasını ve farklılaşmasını teşvik ettiğine (Wei ve ark., 2008) ve iyileşme sürecinin osteojenik fazını geliştirdiğine (Cane ve ark., 1993) dair kanıtlardan yararlanmaktadır. Jinekolojik kaynaklı pelvik ağrılarının, etkilenen alana manyetik indüksiyon cihazı uygulanmasıyla uzun süreli rahatlaması sağlanmıştır (Jorgensen ve ark., 1994). EMA'lar hücre sağkalımını arttırmakta ve iskemik hasarı azaltmaktadır (Grant ve ark., 1994).

MA'lar için hedef organ yada mekanizmanın tanımlanmaması, sağlık etkileri hakkında deneysel çalışmalar için zorluk oluşturmaktadır (Tokalov ve Gutzeit, 2004). Bu tür çalışmalarda tekrarlanabilir deney seti eksikliği vardır, bu da manyetik alan maruziyeti ve sağlık etkileri arasında nedensel bir ilişki kurulmasını zorlaştırır (Crompton ve Collins, 2004). Günümüze kadar yapılan çalışmalar, ELF-MA'lar tarafından indüklenen biyolojik yanıtı açıklayabilen bir biyofiziksel mekanizma oluşturamamıştır.

2.2. İmmün Sistem

İmmünite; hastalıklara, yabancı ve zararlı olan maddelere karşı organizmanın gösterdiği direnç olarak tanımlanır. Bu direnci göstererek patojenlere karşı savunma sağlayan organ, doku, hücre ve moleküllerin tamamı immün sistem, bu sistemin karşılaştığı yabancı maddelere karşı oluşturduğu reaksiyon immün yanıt olarak adlandırılmaktadır. İmmün yanıtı başlatan maddeler immünojen (antijen)'lerdir. Bütün immünojenlerin antikör olduğu ifade edilir, ancak bunun aksi her zaman geçerli olmayabilir. Hastalıklara yol açan mikroorganizmaların çoğu antijen yapıdadır. İmmün

sistem hücreleri, kan, lenf ve dokular arasında dolaşabilme ve gerekli yerlere yerleşebilme yeteneğine sahiptir. İmmün yanıt nerede başlamış olursa olsun, dolaşımla beraber diğer bölgelere ulaşmaktadır.

İmmün sistemin savunma mekanizması, patojenlere karşı ilk koruma engelini oluşturan doğal immünite ve işleme sonradan katılan, yavaş fakat patojenlere karşı daha özgül ve etkin savunma sağlayan edinsel immüniteden meydana gelmektedir.

2.2.1. Doğal İmmünite

Doğal immünite, bir antijenle ilk karşılaşmayla görevi başlayan koruyucu mekanizmalardan oluşur ve edinilmiş immünitenin oluşmasına katkı sağlar. Filogenetik olarak edinsel immüniteye göre daha yaşlıdır. Doğal immünite mekanizmaları patojenlerde bulunan ortak yapıları tanıyarak savunma geliştirir.

Doğal immün yanıtta görev alan, patojenleri karşılayarak içeri girişlerini engelleyen ilk yapı epitel ve epitelde bulunan hücrelerdir. Epiteli geçmeyi başaran patojenler dolaşıma girdiklerinde özelleşmiş lenfositler olan fagositler ve doğal öldürücü hücreler (Naturel Killer-NK) ayrıca kompleman sistemin bazı proteinleri tarafından saldırıya uğrarlar. Doğal immün yanıt hızlıdır, özgül değildir ve hafızası yoktur.

2.2.2. Edinsel İmmünite

Doğal immün yanıtın bir enfeksiyonu kontrol etmek için yetersiz kaldığı durumda etkinleşen ve antijene özgü immün yanıtın sorumlu olan edinsel immünite, lenfositler ve onların antikör gibi ürünlerinden oluşur. Ayrıca doğal immün sistemin hücrelerini ve moleküllerini kullanırlar.

Edinsel immün yanıtın oluşması, canlıya yabancı olan antijenin tanınması ve ilgili lenfositlerin çoğalıp efektör hücelere dönüşmesi ile başlar. Aktive olmuş hücrelerin antijeni ortadan kaldırması ise efektör fazı oluşturur. İmmün yanıt, yabancı antijenin ortadan kaldırılmasıyla azalır ve burda görev yapan hücrelerin çoğu apoptoza uğrar. Kalan hücreler ise bellek hücresi adı verilen ve aynı antijenle karşılaşılması

durumunda daha etkin ve hızlı yanıt oluşturmaya sağlayan hücreleri meydana getirir (Peter ve ark., 2000; Kuby, 1997; Punt ve Singer, 1997).

Antijen sunucu hücre (Antigen Presenting Cell-APC)'ler tarafından aktive edilen T ve B hücreleri, edinsel immün sistemin baş elemanlarıdır. T hücreleri, hücre aracılı immün yanıtta sorumlu iken; B hücreleri, humoral immün yanıtta sorumludur. T ve B hücreleri patojenlerin spesifik bağlanma yüzeyleri ile etkileşerek onları öldürebilir veya direkt/indirekt yolla bu patojenlerin fagositozunu uyarabilir (Warrington ve ark., 2011).

2.2.3. İmmün Sistem Dokuları

İmmün sistemde görev alan hücrelerin gelişimleri, T ve B lenfositlerin olgunlaştığı ve antijene yanıt verebilecek hale geldiği merkezi (primer) lenfoid organlar ile patojenlere karşı kazanılmış immün yanıtın başladığı periferik (sekonder) lenfoid organlarda gerçekleşir.

2.2.3.1. Merkezi Lenfoid Organlar

Merkezi lenfoid organlar, kemik iliği ve timustur.

Kemik iliği, uzun düz kemiklerin içindeki boşluklarda (sternum, kalça kemiği gibi) bulunan süngerimsi dokudur. Retiküler lifler ve hücrelerden meydana gelir. Kırmızı ve sarı olmak üzere iki tip kemik iliği vardır. Her iki kemik iliği de kan damarları bulundurur. Ancak sarı kemik iliğinde bulunan yağ hücresi sayısı kırmızı kemik iliğinde bulunandan fazladır. Doğumda tüm kemik iliği kırmızıdır. Yaşlandıkça daha fazla kemik iliği sarı kemik iliğine dönüşür. Kemik iliği, her tür hücreyi üretebilen bir fabrikadır. Bu fabrikanın işleyişi pluripotent kök hücrelerin çalışmasına bağlıdır.

Timus, boynun alt tarafında, göğüs boşluğunda mediastinum superius'un ön kısmına yerleşmiş primer lenfoid organdır. Yaşla birlikte timus boyutu değişiklik gösterir. Özellikle puberte sonrası boyutu küçülür. Bezin parankiması azalır ve yerini yağ dokusuna bırakır (Colvin, 2004; Murthy ve Devi, 2012; Kılıç ve Aydoğdu, 2004). Timus, kemik iliğinde üretilip gelen lenfositleri T lenfositine dönüştürerek hücresel immüniteyi sağlar. Lenfopoezi kontrol ederek dolaşımdaki hücreleri antijen uyarısına

karşı yeterli hale getirir. Yeni doğanda lenfoid organların gelişimi için gereklidir (Ulusoy ve ark., 2014). Otoimmün hastalıklarda timus yapısı bozulur (Colvin, 2004; Moore ve Dalley, 2007; Kılıç ve Aydoğdu, 2004).

2.2.3.2. Periferik Lenfoid Organlar

Periferik lenfoid organlar; lenf nodülleri, dalak, tonsiller ve diğer mukoza ilişkili lenfoid dokulardır.

Lenf nodülleri, lenf damarları ile dolaşım ağına bağlı, 1-25 mm boyutlarında kapsüllü, grimsi pembe renkte fasulye şeklinde yapılardır. Lenf nodülleri, kalın lif demetlerinden bir iskelet ve bunların arasındaki ince retiküler ağdan oluşur (Barrett ve ark., 2011; Swartz, 2001). Sayıları 500-1000 arasında değişir. Lenf nodülleri vücudun tüm bölgelerine dağılırlar ve boyun, koltuk altı, kasık, mesenterium ve büyük damarların etrafında kümeler oluştururlar (Gövsa Gökmen, 2003; Clement ve Luciani, 2004; Buerke ve ark., 2010). Lenf nodülleri içerdikleri lenfosit ve makrofajları lenf sıvısına ve venöz dolaşıma sevk ederek antikor oluşumunda rol alırlar. Böylelikle lenf nodülleri partikülleri tutan ve içinde fagosite edip süzen özel bir filtre görevi görür. Yani lenf sıvısı, lenf nodüllerinde temizlenir ve yabancı maddelerden, hastalık etkenlerinden arındırılır.

Dalak, diyaframın altında intraperitoneal olarak yerleşen vücudumuzun en büyük lenfoid organıdır. Önde mide, pankreas, aşağıda flexura coli sinistra, iç yanda sol böbrek ile sınırlanır (Ruacan, 1996; Steiniger ve ark., 1997). Dalak dokusunda koyu kısımlar kırmızı pulpa, açık renkli kısımlar ise beyaz pulpa olarak isimlendirilmiştir. İçinde hasarlı eritrositlerin bulunduğu venöz sinüzoidler kırmızı pulpayı oluşturmaktadır. Beyaz pulpa ise, arteria centralis çevresinde yer alan lenfoid dokudur. Arteriyolün çevresinde T lenfositler kümelenmiştir. Ayrıca beyaz pulpa içinde B lenfositlerin oluşturduğu foliküller bulunur. Beyaz pulpanın ara kısımlarında antijen sunucu hücreler ve fagositik makrofajlar vardır. Dalak lenfatikleri periarteriel lenfatik dokudan başlar ve kapsülün altında bir ağ oluşturarak hilustan çıkıp ilgili lenf nodlarına açılır (Ruacan, 1996; Steiniger ve ark., 1997). Organizmanın immün savunmasına katılan dalak, embriyonal dönemde eritrosit üretirken, erken çocukluk döneminde immün sistemin yapısında ve işlevinde önemli görevlere sahiptir. Kan hücreleri ve

trombositler dalakta yıkıma uğrarlar. Kandan yabancı maddeleri temizler ve kanı filtre eder. Kan hücrelerinin depolandığı organdır (Ruacan, 1996).

Tonsil, mukoza altındaki lenfoid dokuların mukozayı iterek oluşturduğu makroskopik olarak görülebilen yapıdır. Tonsiller genelde nazofarenks ve orofarenks bölgelerinde yer alırlar. Farenksin üst bölümünde Waldeyerin lenfatik halkası denilen lenfoid savunma halkası bulunur. Bu tonsiller halka, tamamlanmamış sirküler bir lenfoid doku bandından ibarettir (Gövsä Gökmen, 2003; Rovenska ve Rovenskı, 2011).

2.2.4. İmmün Sistem Hücreleri

İmmün sistemin tüm hücreleri kemik iliğinde pluripotent hemotopoetik kök hücreden gelişir. Pluripotent hemotopoetik kök hücreden özelleşmiş iki farklı öncül hücre oluşur, bunlar myeloid progenitör hücre ve lenfoid progenitör hücrelerdir. Myeloid progenitör hücreden eritrosit, trombosit, granülosit, monosit ve mast hücreleri gelişirken; lenfoid progenitör hücreden lenfositler gelişir. (Tablo 2.2)

Tablo 2-2: İmmün sistem hücreleri

Hematopoetik Kök Hücre			
Myeloid Progenitör Hücre		Lenfoid Progenitör Hücre	
Eritrosit		Lenfosit	T lenfosit
Trombosit			
Granülosit	Eozinofil		
	Bazofil		
	Nötrofil		
Monosit/Makrofajlar	Alveolar makrofajlar (Akciğer)		B lenfosit
	Kupffer hücresi (Karaciğer)		
	Mikroglial hücreler (MSS)		
	Osteoklast (Kemik)		
	Langerhans hücreler (Epidermis)		
Mast hücresi			

2.2.4.1. Lenfositler

Morfolojik olarak tüm lenfositler birbirine benzerlik gösterir ve ayırtedilmesi ancak immünohistokimyasal boyama yöntemleriyle yada yüzeylerinde bulunan glikoprotein yapıdaki farklılaşma antijenleri ile mümkündür (Bloom ve Fawcett, 1994; Hein, 2000). İnaktif olan lenfositler organellerden fakirlerdir. Lenfositler küçük Golgi kompleksine, bir sentriyole, bir-iki mitokondriye, endoplazmik retikuluma, çok sayıda bağımsız ribozom ve polizoma sahiptir. Spesifik granülleri içermezler, az miktarda azurofil granüllere sahiptirler (Bloom ve Fawcett, 1994; Gartner ve Hiatt, 1997). Hücre yüzeyinde bulunan farklılaşma antijenleri (Cluster of Differentiation-CD) kullanılarak lenfositleri 3 temel alt grupta incelemek mümkündür (Dalva ve Beksaç, 1999; Chaplin, 2010). Bunlar; T lenfositler, B lenfositler ve NK hücrelerdir.

2.2.4.2. T Lenfositler

Kemik iliğindeki hematopoetik kök hücreler, yetişkinlerde kan hücrelerinin gelişim yeridir (Lai ve Kondo, 2008). Ancak memelilerde kemik iliğinde pre-T lenfositler olarak farklılaşan hücreler dolaşım yoluyla timusun korteksine giderler (Bloom ve Fawcett, 1994; Gartner ve Hiatt, 1997; Sağlam ve ark., 2001). Timusa gelen bu hücrelerin olgunlaşması timusun korteksinde başlar, olgunlaşıp çoğalırlar (Anderson ve Jenkinson, 2001; Arda ve ark., 1994; Bergman ve ark., 1996; Petrie, 2002). T lenfositlerin gelişimi timusun mikro çevresi tarafından desteklenir. Mikro çevreyi ise stromal hücreler, timik epitelyal hücreler, mezenkimal hücreler, endotelyal hücreler, dendritik ve makrofaj gibi hemapoetik hücreler oluşturur. T hücrelerin gelişiminde mezenkimal hücrelerin önemli rolü bulunmaktadır (Müller ve ark., 2008). Timusa giren öncül hücreler olgunlaşma aşamasında bazı spesifik yüzey molekülleri kazanarak antijenik uyarımlara yanıt verme yeteneği edinirler. T lenfositler kendinden olan ve olmayan antijenik molekülleri tanırlar. Kendine ait moleküllere (MHC molekülleri) karşı reaksiyon gösteren T hücreleri negatif seleksiyona uğrar ve ölür. MHC molekülleri ile bağlanmış kendinden olmayan protein yapıdaki antijenleri tanıma yeteneğine sahip (pozitif seleksiyon) T lenfositler ise medulladan kan dolaşımına gönderilir (Arda ve ark., 1994; Bloom ve Fawcett, 1994; Diker, 1998; Petrie, 2002). Dalak, lenf nodülleri, Peyer plakları, tonsiller ve periferik lenfoid organ olan mukoza ile ilişkili lenfoid

dokularda (MALT) kendilerine ait bölgelere yerleşirler (Bianchi ve ark., 1992; Blaschke ve ark., 1995; Gartner ve Hiatt, 1997). Dalakta beyaz pulpanın arterleri saran bölgelerine (periarteriyel lenfatik kılıf: PALS) yerleşirler. Lenf nodüllerinde korteksin medullaya bakan yarısına (parakortikal bölge) ve interfoliküler bölgelere yerleşirler. Peyer plaklarında ise interfoliküler alanlara ve korona bölgesine yerleşirler (Hein, 2000; Landsverk ve ark., 1991; Onori ve ark., 2001; Roccabianca ve ark., 2000).

T lenfosit yüzey moleküllerini, T hücre reseptörü (TCR), yüzey farklılaşma antijenleri (CD), eritrosit reseptörü (ER), immünoglobulin reseptörü (FcR), kompleman reseptörü (CR), histamin reseptörleri, alfa fetoprotein reseptörleri, majör doku uygunluk kompleksi (MHC) antijenleri ve mitojen reseptörleri olarak sınıflandırmak mümkündür. T lenfositler CD yüzey moleküllerine göre farklı alt tiplere ayrılırlar. Yüzeylerinde $CD4^+$ (8^-) molekülünü taşıyan T lenfositler Yardımcı T hücreler; $CD8^+$ (4^-) molekülünü taşıyan T lenfositler Sitotoksik T hücreler olarak isimlendirilirler. Bu şekilde fonksiyonel olarak da birbirlerinden ayrılan özellikler kazanırlar.

Yardımcı T hücreler; yüzeylerinde bulunan $CD3^+$ ve $CD4^+$ molekülleri taşırlar ve MHC-II molekülü taşıyan hücrelerle TCR'ler aracılığıyla bağlantı kurarlar (Moore ve ark., 1992; Wilson ve ark., 1996). Kurulan bağlantı sonucunda farklılaşmaya uğrarlar, çeşitli gen düzenlemelerine bağlı olarak sitokin sentezlerler (Diker, 1998; Suciufoca ve ark., 1985). Yardımcı T hücrelerin (T helper-Th) salgıladığı sitokinler; IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNF- β , TGF- β , IFN- γ 'dır. Th'ler, salgıladıkları sitokinle ve bu sitokinlerin fonksiyonlarına göre iki alt tipe (Th1 ve Th2) ayrılmaktadır (Mosmann ve Coffman, 1989). Doğal immün yanıt olarak üretilen sitokinler, naif T hücrelerinin efektör T hücrelerine farklılaşmasını etkiler. IFN- γ , IL-12 ve IL-2 sitokinleri naif T hücrelerinin Th1 hücrelere farklılaşmasını sağlar. Th1 hücreler, IFN- γ , IL-2 ve TNF (tümör nekrozis faktör) üretirler. Bu sitokinler de makrofaj aktivasyonu, fagositoz ve bakteriyel öldürme fonksiyonlarına etki ederek hücre içi patojenlerin temizlenmesini sağlar. Naif T hücreleri, ortamda IL-4 varlığında, Th2 hücrelere farklılaşırlar. Th2 hücreler, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 salgırlar (Chitnis, 2007). Bu sitokinlerden IL-4 ve IL-13, IgE antikor üretimini uyarırlar; IL-5, eozinofilleri aktive ederek parazitlerin öldürülmesini sağlar. Th1 hücreler, gecikmiş tip hipersensitivite sağlar. Th2 hücreler ise antikor yanıtı düzenler. Her hücre grubu üretilen sitokinlerle birbirlerini kontrol altında tutarlar. Bu iki hücre grubu arasındaki dengenin bozulması

bazı patolojik süreçlerin gelişmesine yol açar. Moleküler düzeyde Th1 hücrelerin farklılaşmasında “T box expressed in T cells” (T-bet) transkripsiyon faktörü; Th2 hücreler için “c-Maf” veya “GATA-3” transkripsiyon faktörleri gereklidir. Bu gruplandırmanın yanısıra IL-17 üreten ve fonksiyonel olarak Th1 ve Th2 hücrelere benzemeyen üçüncü bir Th hücre keşfedilmiştir. İlk olarak farelerde tanımlanan ve Th17 hücreler olarak isimlendirilen bu hücreler, Th1 ve Th2 hücreler tarafından tam olarak kontrol altına alınamayan patojenlerin yok edilmesini sağlarlar. Th17’ler doku inflamasyonunun temel tetikleyicileridir. Tümör büyüme faktörü- β (TGF- β) ve IL-6, naif T hücrelerinin Th17 hücrelere farklılaşmasını sağlar. Bu hücrelerin farklılaşmasında ROR γ T ve ROR α transkripsiyon faktörleri gereklidir. Th17 hücrelerin spesifik yüzey belirteçleri yoktur. Th17 hücreler ise IL-17A, IL-17F, IL-21 ve IL-22 üretirler (Yang ve ark., 2014).

Sitotoksik T hücreler, yüzeylerinde CD3⁺ ve CD8⁺ molekülleri taşırlar ve MHC-I molekülü taşıyan hücrelerle TCR’ler yardımıyla bağlantı kurarlar. Organizmaya giren yabancı hücreleri, organizmada şekillenen tümör hücrelerini, virüsle enfekte hücreleri ve organizmaya ait bazı hücreleri öldürme yeteneğine sahip saldırı hücresidir (Arda ve ark.,1994; Diker, 1998). İntrasellüler öldürme yeteneğine sahip değildir, bu nedenle ekstrasellüler bir mekanizma ile yabancı hücreleri öldürürler (Stites ve Terr, 1991). Sitotoksik T hücreler yabancı hücrelerle bağlantı kurduktan sonra perforin olarak isimlendirilen maddeler sentezlerler. Perforin, hedef hücrelerin membranında nokta şeklinde geniş yuvarlak boşluklar oluşturur ve içinde bulunduğu granülden bu boşluğu kullanarak serin esteraz, kondrotin sülfat A, protein toksinleri gibi maddeler geçirerek hücrede DNA hasarı oluşturur. Hücre membranında oluşan delikler osmotik bariyeri bozar, iyon değişimini olumsuz yönde etkilerler. Bu şekilde kısa sürede hedef hücre şişer ve erir (Arda ve ark., 1994; Stites ve Terr, 1991).

Regülatör T hücreleri (Treg), organizmanın kendisine karşı reaksiyon oluşturmaması için kontrol mekanizmaları geliştirerek görev yaparlar. Periferik kanda yardımcı T hücrelerinin %5-10’u IL-2R (CD25⁺) zinciri taşımaktadır ve bunlar Treg hücre olarak isimlendirilmektedir. Bu hücreler self antijenlere karşı toleransın devamlılığını sağlamaktadırlar. Farelerde ve insanlarda yapılan çalışmalar sonucu, Treg hücrelerin Th ve B lenfositleri baskıladığı tespit edilmiştir. TGF- β ’a maruz kalan naif T hücreleri FoxP3 (forkhead box P3) eksprese etmekte ve Treg hücrelerinin

indüksiyonunu sağlamaktadır. IL-6 ise TGF- β aracılı FoxP3⁺ Treg hücre indüksiyonunu inhibe etmektedir (Sakaguchi, 2006).

2.2.4.3. B Lenfositler

B lenfositler, lenfoid progenitör kök hücrelerden kemik iliğinde oluşur ve gelişimleri antijenik bir uyarı olmadan kemik iliğinde başlar. İmmatür B lenfositleri burada yüzey IgM molekülünü kazanarak, olgun B hücreleri olarak kana geçerler. Dolaşımda lenfoid organlara göç edip, kendilerine özel bölgelere yerleşirler. Periferik kandaki lökositlerin %20-30'unu oluştururlar. Antikor üretebilen tek lenfosit grubudur. B hücreleri yüzeylerinde her antijene spesifik olan B hücre reseptörü (BCR) taşır (Dalva ve Beksaç, 1999). BCR'ler, immün reseptör tirozin bazlı aktivasyon motifler (ITAM) aracılığıyla sinyal iletimini gerçekleştirirler. CD19, CD20, CD45, CD38, CD81 (TAPA-1), CD21 (CR2) ve Leu 13, BCR sinyalini arttıran hücre içi regülatör moleküllerdir. CD22, CD72, CD5, SHP-1 ve Fc γ RIIb ise BCR aktivasyonunu inhibe ederler. Yüzeylerinde hormonlar, mitojenler ve sitokinler için reseptörler bulunur. Ayrıca MHC I ve MHC II moleküllerini de sunarlar.

2.2.4.4. Doğal Öldürücü Hücreler (NK)

Doğal immün sistemde yanıt oluşturan önemli bir hücre grubudur. NK hücreleri, periferik kandaki lenfoid hücrelerin %10-15'ini oluştururlar. Kemik iliği kökenli, lenfosit morfolojisinde fakat daha büyük ve granüllü yapıda hücrelerdir. Granüllerde bulunan perforin ve granzim ile hedef hücreleri öldürürler. Antijen spesifik reseptörleri yoktur. CD16, CD56 ve CD57 yüzey moleküllerini taşırlar (Chaplin, 2010; Yokoyama, 1993). Yüzey molekülleri ile hedeflerini belirleyip, yok ederler. Ayrıca antikor kaplanmış hücreleri de öldürme özelliği vardır. Adezyon ve fagositoz özelliklerinin olmaması ile makrofajlardan ayrılırlar. Makrofajlar tarafından IL-12 aracılığıyla uyarılırlar. Uyarılan NK hücreler de, salgıladıkları sitokinlerle makrofajları uyarırlar. Böylece daha güçlü immün yanıtın oluşmasını sağlarlar (Ciccone ve ark., 1992; Warren ve Smyth, 1999).

2.2.5. İmmün Sistem ve ELF-EMA Etki Mekanizması

İmmün sistem, vücudu korumak için birlikte çalışan hücre, doku ve organ ağından oluşur. İmmün sistem hücreleri, bakteri, hücre içi parazitler ve virüsler dahil olmak üzere enfeksiyon faktörlerine ve iç stres faktörlere karşı duyarlıdır. Beslenme, toksinler, alkol, yabancı cisimler ve ayrıca EMA maruziyeti dahil enfeksiyon dışı faktörlere (dış stres faktörlerine) çok hassas ve etkili bir şekilde yanıt verir (Rosado ve ark., 2018). ELF-EMA'nın tüm canlı sistemler üzerindeki etkileri, vücudun yüklü parçacıklarının etkileşiminden kaynaklanır. Harici elektrik alanların yokluğunda bile kimyasal reaksiyonlar vücutta elektrik akımları oluşturur (D'Angelo ve ark., 2015). ELF-EMA mekanizması, hücreye özgü membran reseptörlerinin sayısı ve dispersiyonu ile ilişkili olabilir. İndüklenen alan yoğunluğu, reseptör bağlanmasını taklit ederek enzimatik aktiviteleri etkileyebilir (Simko, 2004; Simko ve Mattson, 2004). Hücre dışı bilgileri plazma zarından hücrenin çekirdeğine iletmenin ilk adımı nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen (NADH) oksidazdır. Fare makrofajlarıyla yapılan bir çalışmada, 50 Hz frekanslı 1mT akı yoğunluğundaki ELF-EMA'nın NADH oksidaz yolunu süper oksit anyon radikalleri üretmek için uyardığını, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz yolunu etkilemediğini göstermiştir (Rollwitz ve ark., 2004). Reseptörlere iletilen sinyal, hücre içi proteinlerin (örn; transkripsiyonel düzenleyici faktörler ve enzim düzenleyicileri) ve sitosol iyonik bileşiğin (örn; hücre içi kalsiyumdaki değişiklikler) fosforilasyonunu değiştirebilir (Shi ve ark., 2003; Simko, 2004, Zhou ve ark., 2002). İyon kanalları, fosfatlar, kinazlar ve hücre iskeleti bileşenlerinin aktiviteleri kalsiyum tarafından düzenlenir (Lewis ve ark., 2016; Pall, 2014, Wei ve ark., 2015). ELF-EMA'nın kalsiyum kanal proteinleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Pesce ve ark., 2013). Hücre içi kalsiyumun ve hücre dışı kalsiyumun hücre kanalları tarafından mobilize edilmesi, ELF-EMA'nın lenfositlerle etkileşmesinde anahtar rol oynar (Conti ve ark., 1985). ELF-EMA'nın hücre membranı üzerindeki rapor edilen anti-inflamatuvar etkisi, plazma hücrelerinde hücre içi kalsiyum seviyelerinin restorasyonunu yansıtır (Selvam ve ark., 2007). Kalsiyum aynı zamanda SR'lerin ve sitokinlerin üretilmesini de tetikleyebilir (Starkov ve ark., 2004). Sitokinler inflamatuvar süreçte ara maddeler iken, SR'ler mitokondriyal metabolizma ve fagositozda ara ürünlerdir (Simko ve Mattson, 2004). SR'ler, nükleik asit, DNA ve protein gibi moleküllerin biyolojik özelliklerini etkiler (Tanzadehpanah ve ark., 2016,

2017). SR'lerden biri olan reaktif oksijen türleri (ROS), antioksidan/proksidan dengesini etkiler ve antioksidan kapasitesinin azalmasına sebep olur. Serotonin/melatonin döngüsünü değiştirerek, melatonin baskısını tetiklerler (Doğan ve ark., 2017). Bazı çalışmalar ELF-EMA'ya maruziyet sonrası melatonin supresyonunu bildirmişlerdir (Maes ve ark., 2017; Seifpanahi-Shabani ve ark., 2016). ELF-EMA'nın melatonin üzerindeki koruyucu etkileri araştırılmıştır (Doğan ve ark., 2017). Bunların yanı sıra, ROS üretiminin, beslenme, susuzluk, üşüme, tuzluluk, metal toksisitesi ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon gibi stres faktörlerinden güçlü bir şekilde etkilendiği bildirilmiştir (Sun ve ark., 2018). Kalsiyum uyarımıyla tetiklenen NO üretimi zincir reaksiyonu, ROS sayısında artış başlatır. Bir makrofaj hücre hattının (RAW 264.7) 60 Hz. frekanslı 0.8 mT yoğunluğunda ELF-EMA'a maruz bırakılması, NO'in ve bazı proinflamatuvar sitokin (TNF- α , IL-1 β ve IL-6) üretiminin artmasını sağlamıştır (Kim ve ark., 2017). Isı şok proteini 70 (HSP70), hipermetropik stres, oksidatif stres, enfeksiyon, ağır metaller, UV ışınlanması ve EMF maruziyeti gibi çeşitli stres kaynakları tarafından indüklenebilir (Lee ve ark., 2005). Frahm ve ark., fare kemik iliği kaynaklı makrofajların ELF-EMA'ya (50 Hz., 1mT) maruziyetinin ROS, HSP70 ve HSP110 seviyelerinin artmasına neden olduğunu göstermişlerdir (Frahm ve ark., 2006-2010). ELF-EMA maruziyeti sonrası, NO ve ROS'un HSPlerin sentezlenmesi için hücreleri uyardığı düşünülmektedir. Ayrıca, hücreyi iç ve dış stres faktörlerinden korumak için stres proteini konsantrasyonu artar (Frahm ve ark., 2010; Kim ve Yenari, 2017). Birçok çalışma, ROS salınımı ve sitokin üretimini, bağışıklık sistemi hücrelerinde yaygın hücre aktivasyon belirteçleri olarak göstermiştir. Bir çalışmada, ROS'un IL-1 β sinyal iletim yolunun aktivasyonunda yer aldığını vurgulanmıştır (Li ve Engelhardt, 2006).

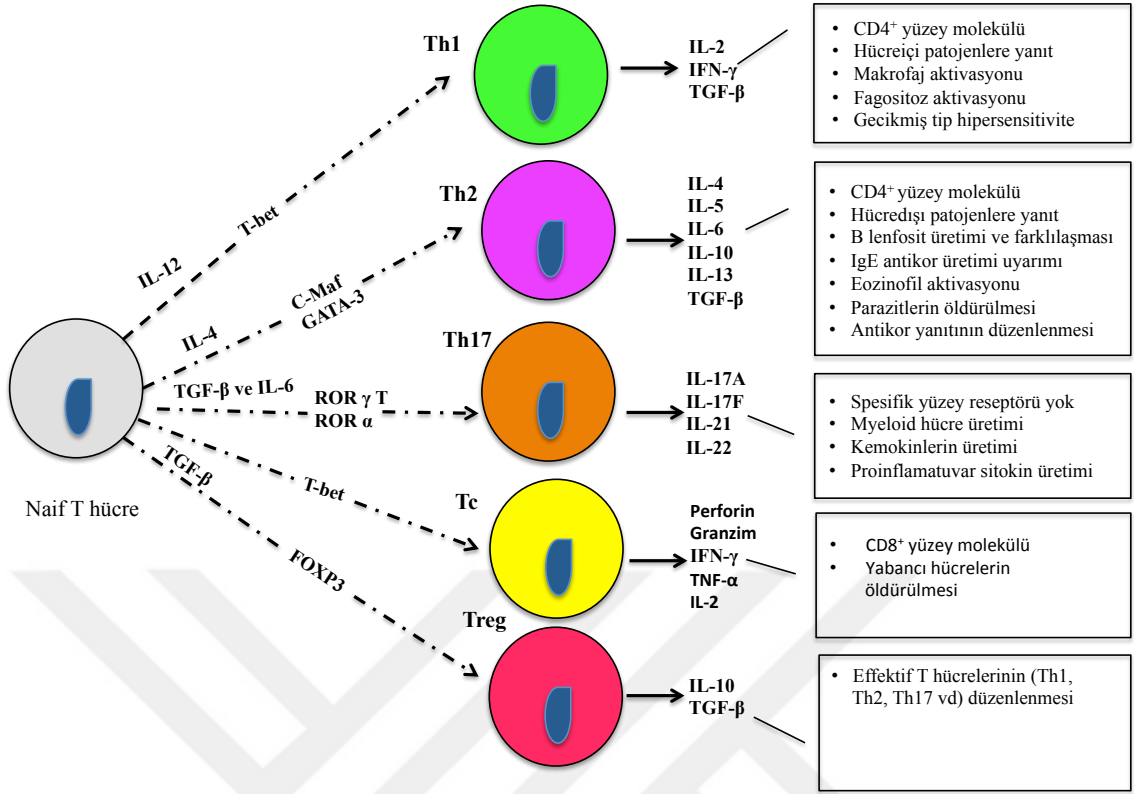
ROS, mitojenle aktifleştirilen protein kinaz (MAPK) sinyalleme kaskadlarını aktive eder (Singh ve Aballay, 2006). MAPK'lar bağışıklık hücrelerinin fizyolojik uyarıları ve EMF maruziyeti gibi çeşitli çevresel streslere tepki mekanizmalarını içerir (Al-Jobori ve Al-Waiely, 2017). MAPK'lar, bağışıklıkta önemli rolleri olan aşağı-akım (stream) kinazları aktive edebilir. P38a, TNF üretimini destekleyen MAPK ile aktive edilen protein kinaz 2'yi aktive eder. Bunun aksine, 38a veya ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK) 1 ve ERK2 tarafından, mitojen ve stresle aktive edilen kinazların (MSK) aktivasyonu anti inflamatuvar sitokinler IL-10 ve IL-1 reseptör antagonistinin (IL-1RA) artan transkripsiyonu ile sonuçlanır (Arthur ve Ley, 2013).

Araştırmacılar, insan göbek kordunu kanından türetilmiş monositlerde ELF-EMA maruziyetinin MAPK14'ün yukarı regülasyonunu sağladığını göstermişlerdir (Lupke ve ark., 2006). Ek olarak, MAPK3'in ekspresyonları, ELF-EMA maruziyetinden 10-90 dk sonra artmıştır. MAPK'ların kısa süreli ifadesi, MAPK'ların bağışıklık tepkisi sırasında daha sonra transkripsiyonda değişikliklere yol açabileceğini düşündürmektedir (Wu ve ark., 2000). Ayrıca MAPK'lar bağışıklık tepkileri ve HSP'lerin aktivasyonunda rol oynamıştır (Singh ve Aballay, 2006). ROS, transkripsiyon faktörü florür kaynaklı oksidatif stresin (FOS) ekspresyonunu tetikleyebilir (Freitas-Rodriguez ve ark., 2017; Kim ve Yenari, 2017). Yapılan bir çalışmada, ELF-EMA'nın (50 Hz., 1mT) insan monositleri üzerindeki etkisinin, FOS, IL2RA ve melatonin gen ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Sitokin üretiminin MAPK kaskadı yoluyla ROS salınımı ve FOS ekspresyonunu tetiklediğini öne sürmüşlerdir (Lupke ve ark., 2006). Ayrıca, FOS'un uyarılması, makrofajlarda proinflamatuvar sitokin reseptörleri IL-15RA ve IL-2RA'nın (Lupke ve ark., 2006) ve antiinflamatuvar sitokin reseptörü IL-10RA ekspresyonunu artırır (Frahm ve ark., 2006). ELF-EMA'nın monosit ve makrofajların aktivasyonu, IL-1, ROS üretimi ve fagositik aktivitedeki etkisini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Rollwitz ve ark., 2004). Bu sonuçlar strese yanıtın inflamatuvar süreç, hücre çoğalması, hücre büyümesi, gen ekspresyonu, apoptoz ve metabolizma gibi hücresel süreçlerin düzenlenmesi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Madkan ve ark., 2009). Gen ekspresyon süreci, sinyal iletimi, metabolizma ve bağışıklık tepkisinde yer alan birçok genin değişimini gösterir. ELF-EMA'nın genotoksik etki için hücrelere yeterli enerji aktaramamasına rağmen (Cho ve ark., 2014), bazı çalışmalar ELF-EMA'nın DNA yapısını dolaylı olarak etkileyebildiğini varsaymıştır (Erdal ve ark., 2007; Yoon ve ark., 2014). Blank ve Goodman, ELF-EMA'nın DNA'daki elektronları hareket ettirme yeteneği, genotoksisiteye veya DNA zincir kopmasına neden olduğunu ifade etmişlerdir (Blank ve Goodman, 2008). ELF-EMA'nın DNA'yı uyarma ve protein ekspresyonunu indüklemeye potansiyeli olduğunu gösteren çalışmalar vardır (Ciombor ve ark., 2002; Frahm ve ark., 2010).

2.2.6. Sitokinler

İmmün ve inflamatuvar reaksiyonların mediyatörleri olarak fonksiyon gösteren sitokinler, makrofajlar ile Th lenfositleri gibi pek çok farklı hücre tarafından üretilen polipeptid yapıda proteinlerdir (Şekil 2-3). Sitokinler immün sistem hücreleri arasında iletişim sağlayan temel araçlardır. Doğal ve edinsel bağışıklığın aktivasyon ve efektör fazında üretilerek bağışıklığın ve inflamatuvar yanıtların oluşmasını, düzenlenmesini sağlayan (Bilgehan, 1999; Vilcek, 2003) 100'ü aşkın sitokin tanımlanmıştır (Bolaman ve ark., 1993; Elgert, 1996; Abbas ve ark., 1997; Vilcek, 2003).

Uyarılmış hücreler tarafından salgılanan sitokinler, birbirlerinin üretimini ve salgılanmasını arttırabilir yada azaltabilirler. Ayrıca aynı sitokin farklı hücreler tarafından üretilir. Sitokinlerin sentezlenmesi, salınması kendini sınırlayan kısa süreli bir olaydır. Çünkü sitokinlerin yarı ömürleri oldukça kısadır. Öncül moleküller olarak depolanmazlar, sentezlenmeleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Hedef hücrelerdeki reseptörlere bağlanarak etki gösterirler. Sitokin reseptörleri, transmembran proteinleridir. Hücre dışı kısım sitokini bağlarken hücre içi kısım sinyal iletimini sağlar (Bolaman ve ark., 1993; Oppenheim ve Ruscetti, 2001; Elgert, 1996; Sharon, 1998; Abbas ve ark., 1997). Sitokinler birbirlerinin fonksiyonunu etkileyebilirler. Bir sitokin bir diğerinin agonisti yada antagonisti olabilir, sinerjik etki gösterebilirler. Bir tür sitokin farklı hücre türlerine etki edebilir (pleiotropi); yani birden fazla etkisi olabilir (Oppenheim ve Ruscetti, 2001; Elgert, 1996; Sharon, 1998; Erken, 1998; Abbas ve ark., 1997). Sitokinler etkilerini normalde lokal olarak göstermelerine rağmen; kendini salgılayan hücreyi, çevredeki hücreleri ve/veya uzaktaki hücreleri etkileyebilir (Bilgehan, 1999; Bolaman ve ark., 1993; Abbas ve ark., 1997; Elgert, 1996).



Şekil 2-3: T hücre farklılaşması ve etkin sitokinler.

Doğal bağışıklıkta, tüm hücreler belirli doğuştan gelen inflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF- α) üretebilir. Bu hücreler genellikle adaptif yanıtları destekler ve T lenfositlerin farklılaşması ve aktivasyonu için kritik sitokinler üretir (Lin ve Karin, 2007). Edinsel bağışıklığa esas olarak T lenfositleri ve bir antijene karşı farklı sitokinlerin salgılanması aracılık eder. Timusta T hücrelerinin gelişmesinden sonra, bu hücreler dalak ve lenf düğümlerine göç eder. Sentez edildikleri hücrelere göre sitokinleri sınıflandırmak mümkündür. Th1 hücreleri, hücre içi bakteri ve tümörlere yanıt veren bağışıklık efektörleridir. IFN- γ ve IL-12, Th1 hücrelerin üretimini tetiklerken; IL-10 ve IL-4, Th1 hücrelerin üretimini baskılar. Bu hücreler IFN- γ , TNF- α ve IL-2 sitokinlerini üretir. Th2 hücreleri, hücre dışı parazitlere yanıt olarak bağışıklık efektörleridir. Bu hücreler alerjik inflamasyon ve otoimmün inflamasyon ile bağlantılıdır. Th2 hücreleri, IL-4, IL-5 ve IL-13 sitokinlerini üretirler. Th hücrelerinin bir alt kümesi olan Th17 hücreler, otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarda önemli rol oynar. IL-17A, IL-17F, IL-21 ve IL-22 sitokinlerini üretir. Th17 farklılaşması IL-6 tarafından indüklenir. IFN- γ ve IL-4, Th17 farklılaşmasını baskılar (Yang ve ark., 2014). Regülatör T hücreleri (Treg), bağışıklık sistemini modüle eder. Treg hücreler,

IL-10 ve TGF- β salarlar (Palomares ve ark., 2014). IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler proinflatuvar iken; IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi sitokinler antiinflatuvar sitokinler olarak sınıflandırılabilir. Fonksiyonlarına göre ise; hematopoezi uyaranlar (IL-3, IL-7, IL-9, IL-11), doğal bağışıklıkta görevli olanlar (TNF, IL-1, IL-6, Tip 1 interferonlar), bağışıklık aracılı inflamasyonu düzenleyenler (IL-5, IL-10, IL-12, IFN- γ) ve lenfosit aktivasyonu, proliferasyonu, farklılaşmasını düzenleyenler (IL-2, IL-4, TGF- β) olarak sınıflandırılabilir (Mahaki ve ark., 2019).

2.2.6.1. IL-4 (İnterlökin-4)

IL-4, bağışıklık sisteminin düzenlenmesine katkıda bulunan bir sitokindir (Paul, 1991; Nelms ve ark., 1999). IL-4, lenfositler için bir büyüme ve hayatta kalma faktörüdür (Vitetta ve ark., 1985; Zubiaga ve ark., 1992; Illera ve ark., 1993). Bir B hücresi farklılaşması ve uyarıcı faktör (Vitetta ve ark., 1985) olarak keşfedilmiş olsa da, T hücre farklılaşmasını düzenlemedeki rolü bağışıklık tepkisi sırasında kritiktir (Seder ve ark., 1992; Mosmann ve Coffman, 1989). Antijen tehdidiyle birlikte T hücreleri Th1 ve Th2 hücrelerine farklılaşır (Mosmann ve Coffman, 1989). Bu sürece bağlı olan mekanizmalar sitokinlerle ilişkilidir. IL-4, Th1 hücre farklılaşmasını inhibe ederken, Th2 hücre farklılaşmasını teşvik ederek önemli bir rol oynar (Seder ve ark., 1992). Ayrıca lenfoid hücreleri apoptozdan koruyabilir (Zubiaga ve ark., 1992; Illera ve ark., 1993). IL-4'ün etkileri sadece lenfoid hücrelerle sınırlı değildir. Miyeloid, mast, dentritik, endotel, kas, nöronal hücreler dahil olmak üzere çok hücreli hematopoetik ve hematopoetik olmayan hücre tiplerinde proliferasyon, farklılaşma ve apoptozu düzenleyebilir (Zamorano ve ark., 1996; Yanagida ve ark., 1995; Lutz ve ark., 2002). IL-4'ün pleiotropik etkileri, bu sitokinin normal bir bağışıklık sırasında oynadığı önemli rolü ortaya koymaktadır. IL-4'ün anormal düzenlemesi de bağışıklık sistemi hastalıklarını etkileyebilir. IL-4 aracılı Th2 hücre farklılaşması, parazit tabanlı enfeksiyonlara karşı bağışıklık tepkileri arasında önemli bir basamaktır (Finkelman ve ark., 1997). IL-4 reseptörü ve STAT6 (Sinyal Transdüseri ve Transkripsiyon Aktivatörü 6) içermeyen farelerde parazit enfeksiyonlarının ciddiyeti gösterilmiştir (Urban ve ark., 1998). Öte yandan, IL-4 sinyalizasyon mekanizmaları alerjik (Kay, 2001) ve otoimmün hastalıkların (Feldmann ve ark., 1996) gelişimine katılabilir. Hayvan modellerinde

alerjik astımın Th2 hücrelerine ve Th2 sitokinlerinden özellikle IL-4 ve IL-13 üretimine bağlı bir hastalık olduğu gösterilmiştir (Grunewald ve ark., 1998; Corry ve ark., 1996; Tomkinson ve ark., 2001). Alerjik hastalıkların aksine, otoimmün hastalıkların Th1 ve monositik sitokinlere bağlı olduğuna inanılmaktadır (Feldmann ve ark., 1996). Bu nedenle, IL-4, otoimmün hastalıklarda, romatoid artrit ve diyabetin murin modellerinde koruyucu etkisini kanıtladığı gibi bir antiinflamatuvar sitokin olarak işlev görebilir (Woods ve ark., 2001; Morita ve ark., 2001; Finnegan ve ark., 2002). Alerjik hastalıkların tedavisi için bir hedef olarak kabul edilen IL-4, otoimmün hastalıkların tedavisi için potansiyel bir araç olarak düşünülmektedir. IL-4'ün kanserdeki etkisi ise daha karmaşıktır. Deneysel glioblastom tümörlerin tedavisinde etkili olmasına rağmen (Benedetti ve ark., 2000) bazı çalışmalarda tümör ilerlemesinin devam edebildiği de bilinmektedir (Terabe ve ark., 2000). IL-4 sinyal mekanizmalarının muhtemelen anti-apoptotik fonksiyonları ile anti-tümör terapisine direnci arttırabileceği ifade edilmektedir (Vitetta ve ark., 1985; Zubiaga ve ark., 1992; Illera ve ark., 1993; Terabe ve ark., 2000).

2.2.6.2. IL-17 (İnterlökin-17)

IL-17, 1993 yılında geni bir sıçan-fare T hücresi hibridomundan izole edilen bir sitokindir. HVS13 Herpes virüs geni ile yüksek derecede homoloji gösterdiği için, sitotoksik T lenfosit ilişkili CTLA-8 olarak isimlendirilen bir protein ailesinin bir alt tipi olduğu düşünülmüştür (Rouvier ve ark., 1993). 1995 yılında yeni bir sitokin olarak tanımlanmış ve IL-17 olarak adlandırılmıştır. IL-17 ailesi, sitokinlerin en son tarif edilen alt sınıfıdır (Aggarwal ve Gurney, 2002). IL-17'nin 6 aile ligandı (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25), IL-17F) ve 5 reseptörü (IL-17RA, IL-17RB/IL-25R, IL-17RC, IL-17RD/SEF ve IL-17RE) bilinmektedir (Gaffen, 2009). Başlangıçta IL-17'nin sadece T hücreleri tarafından üretildiği (Fossiez ve ark., 1996) düşünülürken, şimdi makrofajlar, dentritik hücreler (DC), NK hücreler, NK T hücreleri, lenfoid doku indükleyicisi ve $\gamma\delta$ -T hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından salgılandığı bilinmektedir (Korn ve ark., 2009). IL-17 üreten $CD4^+$ T hücrelerinin, klasik Th1 ve Th2 hücrelerinden farklı bir popülasyon olarak kabulü önemli bir gelişmedir (Park ve ark., 2005; Harrington ve ark., 2005; Steinman, 2007). Th17 hücreleri, IL-1, IL-6 ve

TGF- β kombinasyonlarına maruz kaldığında farklılaşmaktadır. Th17 soyunun indüksiyonu için kritik olmamakla birlikte IL-23, Th17 hücrelerinin stabilizasyonu ve çoğalması için in vivo olarak gereklidir (Korn ve ark., 2009; Stockinger ve Veldhoen, 2007).

Tüm IL-17 ailesi üyeleri arasında IL-17A ve IL-17F'in biyolojik fonksiyonu ve düzenlenmesi en çok çalışılan ve anlaşılan konular olmuştur. Bu iki sitokini kodlayan genlerin, fare ve insanda aynı kromozom üzerinde birbirine yakın olduğu bilinmektedir (Wang ve ark., 2012). İşlevsel olarak hem IL-17A hemde IL-17F proinflamatuvar yanıtlara aracılık etmekte ve inflamasyon türüne bağlı olarak bazı farklılıklar göstermektedirler (Ishigame ve ark., 2009; Yang ve ark., 2008). IL-17 ve diğer Th17 sitokinleri, çeşitli otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların patogeneziyle bağlantılıdır. Kendiliğinden reaktif T hücrelerinin baskılanması ve Treg dengesinin bozulmasıyla, otoimmün hastalık başlama riski artmaktadır. Aşırı miktarda Th17 hücresi eşliğinde yüksek miktarda IL-17 üretimi otoimmün hastalıklara yol açabilmektedir. Biriken kanıtlar otoimmün hastalıklarda Th17 hücreleri önemli bir rol oynadığını göstermektedir. IL-17 ise özellikle, hücre dışı bakteri, mantar ve mikroplara karşı konak savunması için gereklidir (O'Quinn ve ark., 2008). IL-17 reseptörü her yerde eksprese edilir ve bu nedenle çoğu hücre, potansiyel olarak bu sitokine cevap verebilir (Yao ve ark., 1997). IL-17 sadece hücre dışı patojenlere karşı koruyucu bağışıklık için değil, aynı zamanda hücre içi patojenlerin klirensi için de önemli bir sitokindir (Huang ve ark., 2004; Ye ve ark., 2001). IL-17B, IL-17C ve IL-17D'nin proinflamatuvar sitokinlerin üretimini indüklediği gösterilmiştir fakat biyolojik fonksiyonları büyük ölçüde bilinmemektedir (Yamaguchi ve ark., 2007; Wu ve ark., 2007; Li ve ark., 2000; Starnes ve ark., 2002). Farklı gruplar tarafından yapılmış çalışmalarda, mukozal bağışıklık ve otoimmün yanıtlarda IL-17C'nin işlevi vurgulanmıştır (Ramirez-Carrozzi ve ark., 2011; Song ve ark., 2011; Chang ve ark., 2011).

2.2.6.3. IFN- γ (İnterferon-gamma)

İnterferon ailesi başlangıçta viral replikasyona müdahale eden ajanlar olarak keşfedilmiştir (Isaacs ve Lindermann, 1957). Tanımlandıkları ilk dönemde kendilerini salgılayan hücre tipine göre sınıflandırılırken, güncel sınıflandırılması reseptör

spesifitesi ve sekans homolojisine göredir. Bu bağlamda Tip I ve Tip II IFN'lar olarak iki gruba ayrılmaktadırlar. Tip I IFN'lar, tümü yapısal olarak ilişkili olan ve ortak bir heterodimerik reseptöre (IFN-AR) bağlanan çoklu IFN- α alt tiplerinden, IFN- β , IFN- ω ve IFN- τ 'dan oluşmaktadır. Tip I IFN'lar hemen hemen tüm hücre tipleri tarafından salgılansa da, hematopoetik hücreler IFN- α ve IFN- ω 'nın ana üreticileri iken, fibroblastlar IFN- β 'nın önemli bir hücrel kaynakıdır (Bach ve ark., 1997). IFN- β ayrıca uygun uyaranlar altında makrofajlar tarafından üretilmektedir. Viral enfeksiyonların, IFN- α ve IFN- β ekspresyonu için klasik uyaran olduğu bilinmektedir (Bach ve ark., 1997; Jonasch ve Haluska, 2001). IFN- τ salgılanması sadece ruminantlarda bildirilmiştir (Bazer ve ark., 1997).

IFN- γ , tip II IFN'dur. Yapısal olarak tip I IFN'larla ilgisi yoktur, farklı bir reseptöre bağlanmakta ve ayrı bir kromozom lokusu tarafından kodlanmaktadır. Başlangıçta sadece CD4⁺ Th1 lenfositleri, CD8⁺ sitotoksik lenfositleri ve NK hücrelerinin IFN- γ ürettiğine inanılmaktaydı (Bach ve ark., 1997; Young, 1996). Bununla birlikte, B hücreleri, NK T hücreleri ve APC'ler gibi diğer hücrelerin IFN- γ salgıladığını gösteren kanıtlar vardır (Carnaud ve ark., 1999; Frucht ve ark., 2001; Gessani ve Belardelli, 1998; Yoshimoto ve ark., 1998; Flaishon ve ark., 2000; Harris ve ark., 2000). Lokal olarak hareket eden profesyonel APC'ler tarafından IFN- γ üretiminin, hücrenin kendi kendine aktivasyonu ve yakındaki hücrelerin aktivasyonu için önemli olabileceği düşünülmektedir (Frucht ve ark., 2001; Gessani ve Belardelli, 1998). NK hücreleri ve muhtemelen profesyonel APC'ler tarafından IFN- γ salgılanmasının enfeksiyona karşı erken konakçı savunasında önemli olması muhtemeldir fakat T lenfositleri adaptif immün yanıtta ana IFN- γ kaynağı haline gelmektedir (Frucht ve ark., 2001; Sen, 2001).

IFN- γ üretimi, en başta IL-12 ve IL-18 olmak üzere APC'ler tarafından salgılanan sitokinler aracılığı ile kontrol edilmektedir. Bu sitokinler, doğuştan gelen bağışıklık yanıtında enfeksiyonu IFN- γ üretimi ile ilişkilendirmek için bir köprü işlevi görmektedir (Golab ve ark., 2000; Munder ve ark., 2001; Munder ve ark., 1998; Fukao ve ark., 2000; Otani ve ark., 1999; Akira, 2000; Dinarello, 1999). Birçok patojenin makrofajları tanınması, IL-12 ve kemokinlerin (örn; makrofaj-inflamatuvar protein-1 α (MIP-1 α)) salgılanmasına sebep olmaktadır (Salazar-Mather ve ark., 2000). Bu kemokinler NK hücrelerini inflamasyon bölgesine çekmekte ve IL-12 bu hücrelerde

IFN- γ sentezini desteklemektedir (Salazar-Mather ve ark., 2000; Pien ve ark., 2000). Makrofajlarda, NK ve T hücrelerinde, IL-12 ve IL-18 stimülasyonunun kombinasyonu IFN- γ üretimini daha da artırır (Munder ve ark., 1998; Akira, 2000; Dinarello, 1999; Schindler ve ark., 2001; Fukao ve ark., 2001). IFN- γ 'nın negatif düzenleyicileri arasında IL-4, IL-10, dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β) ve glukokortikoidler bulunmaktadır (Sen, 2001; Fukao ve ark., 2000; Schindler ve ark., 2001).

2.2.7. Doğal İmmün Sitokinlere ELF-EMA'nın Etkileri

2.2.7.1. İn vitro

Yapılan bazı çalışmalar, 30 dk boyunca (20-5000 Hz, 5 μ T) farklı frekanslardaki ELF-EMA maruziyetinin insan periferik kan mononükleer hücrelerinde (hPBMC) üretilen IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8 ve IL-10 düzeylerinde herhangi bir farka neden olmadığını göstermişlerdir. Böylece ELF-EMA'nın doğuştan gelen immün yanıtı etkilemediği sonucuna varmışlardır (de Kleijn ve ark., 2011). IL-10 genellikle makrofajlar ve Th2 hücreleri tarafından salgılır. Doğal ve edinsel bağışıklığı düzenleyen aktif dentritik hücrelerin ve makrofajların bir inhibitörüdür (Kim ve ark., 2017; Frahm ve ark., 2006). ELF-EMA'nın (2, 20, 100 ve 500 μ T) hPBMC'lerinde NK hücrelerin sitotoksik aktivitesini ve TNF- α ve IL-10 sitokin üretimini değiştirmediğini bildiren çalışmalar vardır (Ikeda ve ark., 2003). Morandi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, ELF-EMA'nın (60 Hz., 0,3 mT) murin tiyoglikolat ile ekstre edilen peritonel eksüda hücreleri üzerindeki etkisi, 24 ve 48 saatlik maruziyetten sonra IL-1 ve IL-6 üretimini etkilememiştir (Morandi ve ark., 1994). Bunun aksine in vitro yapılan farklı bir çalışmada ELF-EMA'nın (1, 3, 10, 30 mT) hPBMC'lerde TNF- α seviyesini düşürdüğü gösterilmiş, IL-1 β salgınlamında artış ve IL-6 ve IL-10 üretiminde değişiklik olmadığı rapor edilmiştir (Jonai ve ark., 1997).

Vücudun patojenlere karşı ilk savunmalarından biri antijen sunan hücreler olarak makrofajlar ve monositlerdir. Makrofajlar ve monositler, lenfositlerden spesifik bir yanıt başlatabilir (Locati ve ark., 2013). ELF-EMA'nın (60 Hz., 0,8 mT) fare makrofaj hücre hattında (RAW 264.7) 20 saatlik maruziyet sonrası IL-1 β , IL-6 ve TNF- α 'nın NO ve proinflamatuvar sitokin üretimlerinin/ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir. Bunun yanı sıra ELF-EMA maruziyeti aktif T hücrelerin nükleer faktörünün aktivasyonunu ve

kalsiyum akışını arttırabilmiştir. ELF-EMA'nın makrofaj aktivasyonunu arttırarak inflamatuvar yanıtı arttırdığı bildirilmiştir. Başka bir çalışma, ELF-EMA'nın (50 Hz., 1mT) fare makrofajlarına 24 saatlik maruziyetinden sonra IL-1 β üretiminde artış olduğunu göstermiş, yüksek fagositik aktivite, genotoksik kapasite ve SR salımına yol açtığını bildirmiştir (Frahm ve ark., 2006). 3 gün boyunca 1mT ELF-EMA maruziyetinin (4saat/gün), kemik iliğinden ekstrakte edilmiş mazenkimal kök hücrelerin (MSC) hematopoetik büyüme faktörleri IL-17'nin mRNA ekspresyonu, IL-11, lösemi inhibitör faktörü, trombopoietin, makrofaj koloni uyarıcı faktör ve kök hücre faktörü artarken; TNF- α , IFN- γ , stromal hücrelerden türetilmiş faktör 1 (SDF-1) ve IL-6 değişmemiştir. Maruz kalan grupta S fazındaki hücrelerin oranı, DNA sentezi, hücre canlılığı ve göçü artmıştır (Fan ve ark., 2015). Reale ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, insan monositinde mRNA ve monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) seviyeleri ELF-EMA (50 Hz., 1 mT) tarafından etkilenmiştir. ELF-EMA'nın MCP-1'i yukarı regüle, iNOS'u aşağı regüle edebildiği sonucuna varılmıştır (Reale ve ark., 2006). Keratinositler, bağışıklık sistemini regüle eder ve çevresel hasara karşı (patojenik mantarlar, virüsler, bakteriler, su kaybı, radyasyon ve ısı) bir engel oluşturur. Bir patojen epidermisin üst katmanlarına saldırırsa, keratinositler lökositleri patojen istilasına davet eden kemokinler ve proinflamatuvar araçlar üreterek etki gösterir. Keratinositlerin farklılaşması ve çoğalması, yara iyileşmesinde kritik bir süreçtir. Vianale ve ark. ELF-EMA'nın (50 Hz., 1 mT, 72 saat) insan keratinosit hücre hattında (HaCaT) ekspresyonu azaltabildiğini ve IL-8 kemokin ile MIP-1 α salgılanmasını, normal T hücre aktivasyonunun ve salgılanmasının düzenlenmesini sağladığını buldular (Vianale ve ark., 2008). Proinflamatuvar kemokin üretimindeki azalma ve ELF-EMA ile insan keratinosit hücresi büyümesindeki artış, yara iyileşmesinde terapötik yaklaşımı temsil edebilir. Bu nedenle, yara iyileşme süreci başlangıçta proinflamatuvar aşama ve daha sonra antiinflamatuvar aşama ile ilişkilidir (Costin ve ark., 2012). ELF-EMA'ya (50 Hz., 1mT) maruz kalan HaCaT hücrelerinde IL-1 β , TNF- α , IL-18 ve IL-18BP'nin ekspresyon ve üretim seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (Patruno ve ark., 2018). IL-18 çoğunlukla makrofajlar tarafından üretilir. IL-18, T lenfositleri yoluyla IFN- γ salınımını tetikler. Bu nedenle, hücre aracılı bağışıklığı indükleyen bir makromoleküldür.

Elektromanyetik alanlarla ilgili farklı çalışmalar arasındaki çelişki, çalışma yöntemlerindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Bu bağlamda, elektromanyetik alan

etkilerinin araştırılan hedef, zaman, uyaran, tür ve alan özelliklerine (frekans, yoğunluk, maruz kalma süresi, dalga şekline) bağlı olduğu bildirilmiştir (Guerriero ve Ricevuti, 2016).

2.2.7.2. İn vivo

ELF-EMA maruziyetinin (5-32000 Hz, 0,1 nT-32 mT) santral çalışanlarında nükleer kappa faktör B (NF-kB), TNF- α , IL-6 ve IL-1 β plazma seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2017). Başka bir çalışma, ELF-EMA'ların (100 μ T), dalak kültürlerinde ve sıçanların kanında fitohemaglutinin (PHA) ile aktifleştirilmiş IL-6 seviyesini arttırdığını, serumdaki üretimi değiştirmedeğini bildirmiştir. Serumdaki IL-12 seviyesi azalırken, dalak ve kan kültürlerinde PHA ile uyarılan IL-12 düzeyleri değişmemiştir (Mahaki ve ark., 2019). IL-12 genellikle dentritik ve makrofaj hücreleri tarafından üretilmektedir. Hücre içi patojenlere erken doğuştan gelen bağışıklık tepkileri ile birincil aracı olarak görev yapmaktadırlar (Salehi ve ark., 2013).

2.2.8. Edinsel İmmün Sitokinlere ELF-EMA'nın Etkileri

2.2.8.1. İn vitro

Lou ve arkadaşları ELF-EMA'nın (50 Hz.) gen ekspresyonunu üzerindeki etkilerini belirlemek için farelerin dalak lenfositleri üzerinde çalışmışlardır. Bu in vitro çalışmada, 250, 500 ve 1000 μ T yoğunluktaki ELF-EMA maruziyetinin phorbol myristate asetat (PMA) ve iyonomin tarafından uyarılan gen ekspresyonunu etkilemediği gösterilmiştir (Luo ve ark., 2016). ELF-EMA'nın 2, 20, 100 ve 500 μ T yoğunlukta 6 saatlik maruziyeti sonrası hPBMC'lerde IFN- γ ve IL-2'nin sitokin üretimini değiştirmedeği rapor edilmiştir (Ikeda ve ark., 2003). 1, 3, 10 ve 30 mT yoğunluklardaki ELF-EMA maruziyetinin hPBMC'lerde IFN- γ üretimini azalttığı fakat IL-2 üretiminde herhangi bir değişiklik göstermediği belirtilmiştir (Jonai ve ark., 1997). Farklı bir in vitro çalışmada ise, ELF-EMA'nın (0,3 mT) CD4⁺ T hücrelerinde IFN- γ ve IL-2 ekspresyonu ve hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. ROR- γ t, IL-

IL-17A ve IL-17F ekspresyonu ve IL-17A üretiminin arttığı bildirilmiştir. ELF-EMA'nın IL-17 hücre üretiminin artmasına yol açtığını düşünülmektedir (Lee ve ark., 2016).

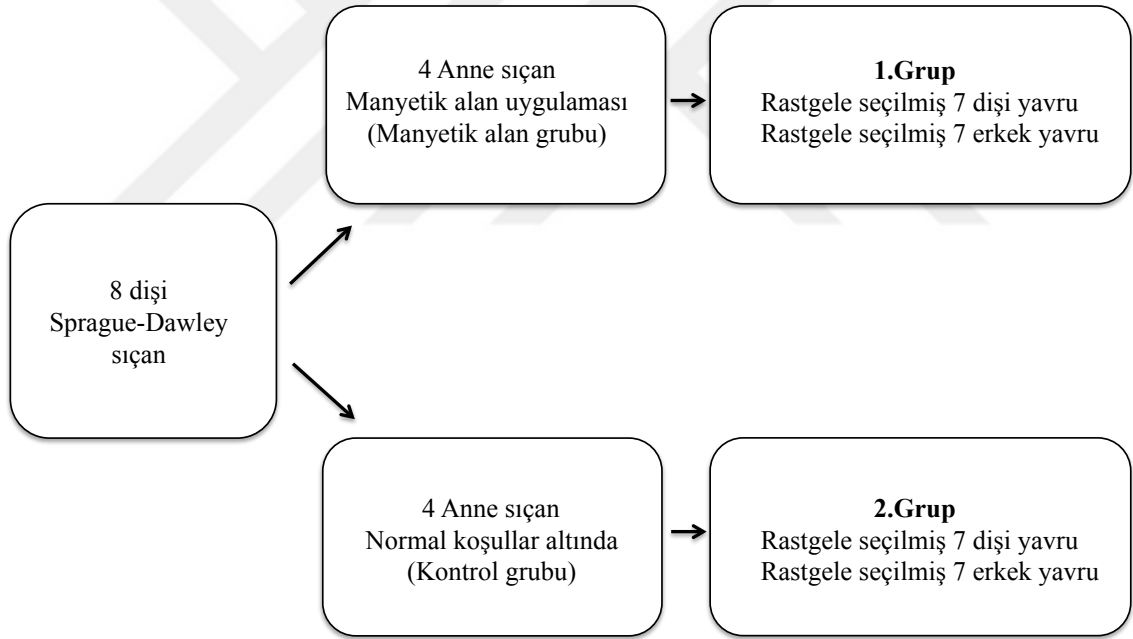
2.2.8.2. İn vivo

ELF-EMA'nın edinsel bağışıklık sitokinleri üzerindeki etkilerini incelemek için, koyunlar 27 ay boyunca 60 Hz. frekanslı 1,09 ve 3,5 μ T yoğunluktaki ELF-EMA'ya maruz bırakılmıştır. Lipopolisakkarit veya PHA ile stimüle edilen lökositlerde IL-1 ve IL-2 üretimi üzerinde maruziyet sonrası hiçbir fark gözlenmemiştir (Hefeneider ve ark., 2001). ELF-EMA'nın Th1/Th2 hücre dengesini değiştirmedeği ileri sürülmektedir (Salehi ve ark., 2013). Yapılan bir diğer in vivo çalışmada ELF-EMA maruziyetinin erkek farelerin dalak ve timus ağırlıklarında, T ve B lenfosit proliferasyonunda, NK hücre aktivitesinde bir azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca plazma ve karaciğerde IL-4 ve IFN- γ seviyelerinin de azaldığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada, LSPC'lerin, dalak ve timus ağırlıklarında ve NK hücre aktivitesinde bir artışa, plazma ve karaciğerde IL-4 ve IFN- γ salınımına neden olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, LSPC'lerin ELF-EMA kaynaklı bağışıklık hasarını ve düzenlenmiş bağışıklık aktivitesini önleyebileceği öne sürülmüştür (Zhang ve ark., 2016). İşçilerle yapılan bir çalışmada, 50 Hz. frekanslı ELF-EMA'ya maruziyet sonrası serum ve PMBC'lerde IFN- γ azalmasına neden olurken, IL-4 seviyesinde bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (Boscolo ve ark., 2001). Di ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, ELF-EMA maruziyetinin erkek PBMC'sinden salınan kan NK lenfositlerinde ve IFN- γ seviyesinde bir azalma gösterilmiştir (Di ve ark., 1995). Aynı araştırmacılar tarafından ileri bir tarihte yapılan benzer çalışmada erkeklerin bağışıklık parametrelerinin normal olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kadınlarda, PBMC'den salınan IFN- γ seviyesi ve kan sitotoksik aktivitesi/NK lenfositleri azalmış olarak bildirilmiştir (Di Giampaolo ve ark., 2006). 1-100 μ T yoğunlukta ELF-EMA'nın uyarılmamış IL-17 ve TGF- β serum seviyelerini ve dalakta Foxp3 ekspresyonunu azaltabildiği ortaya çıkarılmıştır. Buna karşın, 500-2000 μ T yoğunluktaki ELF-EMA'nın gen ekspresyonunu ve sitokin üretimini etkilemediği bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre düşük yoğunluktaki ELF-EMA'nın Th17 ve Treg hücrelerinin işlevini baskılayabileceği sonucuna varılmıştır (Mahdavinejad ve ark., 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmanın deneysel aşaması, BezmiAlem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, BezmiAlem Vakıf Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'nun 2018/261 sayılı ve 30.10.2018 tarihli onayı ile gerçekleştirilmiştir. Araştırmamızda, BezmiAlem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde üretilen 8 adet Sprague-Dawley sıçan rastgele seçilip, aynı şekilde rastgele seçilen 4 erkek Sprague-Dawley sıçanla her erkek sıçana karşılık 2 dişi sıçan düşecek şekilde ayrı kafeslere yerleştirilerek çiftleştirildi. Gebe sıçanlar vajinal plak oluşumu ile tespit edildikten sonra rastgele iki gruba ayrıldı (Şekil 3-1).

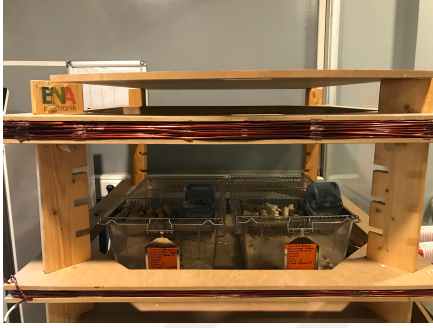


Şekil 3-1: Deney gruplarının oluşturulması.

1.Grup: Hamile sıçan gebelik süresince ve doğum sonrası yavrular ile beraber 50 Hz frekanslı 0,5 mT şiddetindeki manyetik alana maruz bırakıldı. Yavru sıçanlar anne karnında 21 gün ve doğum sonrası 21 gün olmak üzere toplam 42 gün manyetik alana maruz kaldı. Dişi ve erkek sıçanlardan oluşan toplam 14 yavru sıçan manyetik alan grubunu oluşturmuştur.

2.Grup: Hamile sıçan gebelik süresince ve doğum sonrası yavrular ile beraber normal şartlar altında tutuldu. Herhangi bir manyetik alan maruziyetine bırakılmadı. Dişi ve erkek sıçanlardan oluşan toplam 14 yavru sıçan kontrol grubunu oluşturmuştur.

Her iki grubu oluşturan deney hayvanlarının deney süresince su ve yeme ulaşimleri serbest bırakıldı (ad libitum). Hayvanlar deney boyunca laboratuvarında 22°C sıcaklıkta 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda tutuldu. Çalışmamızda anne karnında ve doğum sonrası dönemde 50 Hz frekanslı 0,5 mT şiddetinde manyetik alana maruz kalmış ve tamamen normal koşullar altında yetişmiş yavru sıçanlar kullanılmış, anne sıçanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.



Şekil 3-2: Manyetik alan grubu.

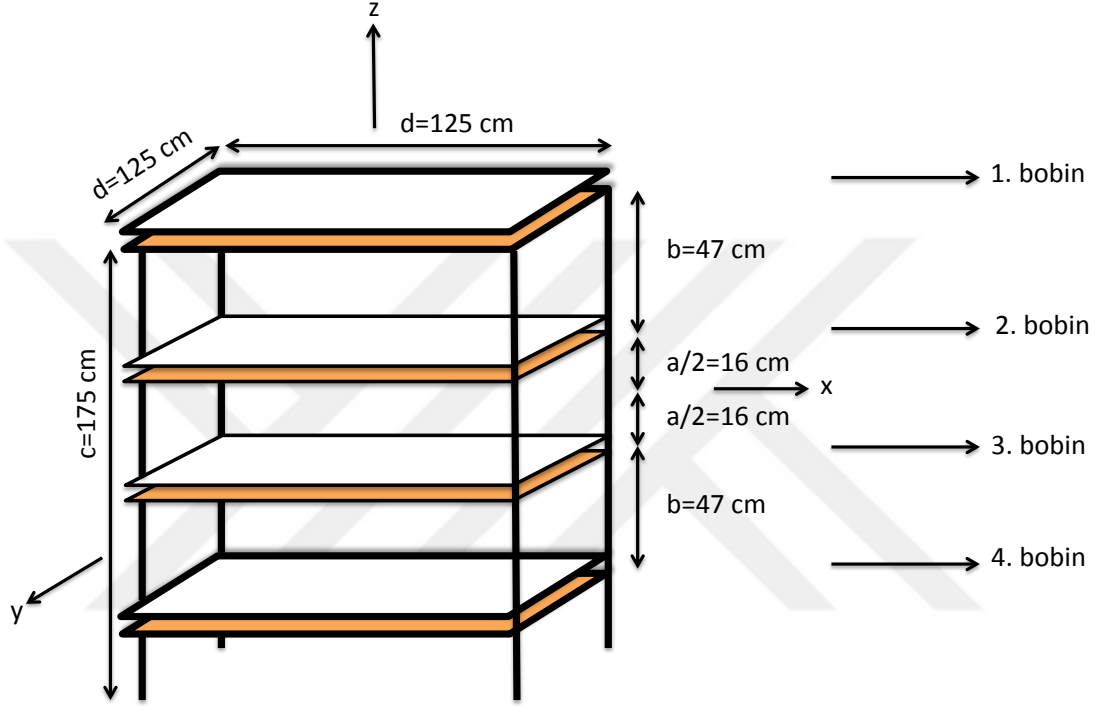


Şekil 3-3: Manyetik alan uygulanmayan grup.

3.2. Merritt Bobin Sistemi ve Hayvanlara Manyetik Alan Uygulanması

Merritt bobin sistemi, 3 veya 4 kare bobinden oluşan büyük hacimli uniform manyetik alan üretmek için kullanılan bir manyetik alan kaynağıdır (Merritt ve ark., 1983). Merritt bobin sistemi, Helmholtz bobin sistemine kıyasla büyük miktarda

uniform manyetik alan üretebilir (Magdaleno-Adame ve ark., 2010; Kirschvink 1992; Nishimura ve ark., 2011). Yapılan bu çalışmada 50 Hz frekanslı 0,5 mT şiddetindeki manyetik alan Merritt bobin sistemi kullanılarak elde edilmiştir. Sistem 4 kare bobin içermektedir, iç bobinler 11 sarım dış bobinler ise 26 sarıma sahiptir. Şekil 3.4'te Merritt bobin sisteminin şematik gösterimi bulunmaktadır.



Şekil 3-4: Merritt bobin sistemi şematik gösterimi.

Yukarıdaki değerler Merritt bobinde manyetik akı yoğunluğunu veren formülde yerlerine konduğunda, B için;

$$B = \frac{1,795 \cdot 10^{-6} N \cdot I}{d} \quad (3-1)$$

$$B = \frac{1,795 \cdot 10^{-6} \cdot 26 \cdot I}{1,25} \quad (3-2)$$

$$B = 3,7336 \cdot 10^{-4} \cdot I \text{ (mT)} \quad (3-3)$$

olarak bulunmuştur. Bu teorik değer laboratuvarında yapılan manyetik akı ölçümleri ile doğrulanmıştır. Varyaktan (50 Hz) sabit akım uygulanarak (13,392 Amper) ölçülen manyetik akı yoğunluğu yaklaşık 0,5 mT olarak Narda EHD-50D elektrik-manyetik

alan probu ile 6 dk'lık ortalamalar alınarak takip edilmiştir. Kafeslerin konulacağı bölgeler için farklı noktalarda MA ölçümleri yapılmış ve sonucun yaklaşık olarak 0,5 mT seviyesinde olduğu gözlemlenmiştir. Laboratuvar arka plan radyasyonu 0,03-0,04 mT olarak ölçülmüştür. Ortam sıcaklığı deneylerin birçok aşamasında ölçülüp, sistem içinde ve yakınında sadece $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ 'lik değişimlerin olduğu tespit edilmiştir.

Manyetik alana maruz bırakılacak olan deney grubu, pleksiglas kafesler içinde Merritt bobin sistemine yerleştirilmiş. Yavru sıçanlar prenatal dönem (21 gün) ve neonatal dönem (21 gün) boyunca günde 24 saat 50 Hz frekanslı 0,5 mT şiddetinde manyetik alana maruz bırakılmıştır. Şekil 3.5'te çalışmada kullanılan deney düzeneği gösterilmektedir.



Şekil 3-5: Merritt bobin sistemi.

3.3. Hayvanların Sakrifikasyonu

Deneysel aşamanın sonundan (yavru sıçanların doğumundan 21 gün sonra), deneklere 10 mg/kg Ksilazin HCl ve 50 mg/kg Ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Deneklerin parmak kıstırma yanıtları kontrol edilerek, uyumuş olan

sıçanların göğüs bölgesi tıraş edildi. İşaret parmağı ile kalp atımları kontrol edilen deneklerin torakslarının sol tarafından 25 nolu iğne ile dik bir şekilde girilerek sıçanların tüm vücut kanları (10-15 ml) alındı. Alınan kan örnekleri EDTA'lı tüplere aktarıldı. Bu örneklerin bir kısmı kan sayımı için bir kısmı da akış (flow) sitometri analizleri için soğuk zincir altında muhafazaya alındı. Sakrifiye edilmiş hayvanların dalak dokuları alındı ve fizyolojik suyla yıkandıktan sonra akış sitometri analizleri için işlemlere başlandı.

3.4. Tam Kan Sayımı

Antikoagulanlı tüplere alınan kan örneklerinde tam kan sayımı otomatik kan sayım cihazı (Rayto RT- 7600) kullanılarak saptandı. Toplam kandan yapılan ölçümler Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3-1: Kan sayım parametreleri

Parametre	Kısaltma	Birim (SI)
Beyaz Kan Hücre Sayımı (White Blood Cell Count)	WBC	hücre $10^9/L$
Eritrosit Sayımı (Red Blood Cell Count)	RBC	hücre $10^{12}/L$
Trombosit Sayımı (Platelet Count)	PLT	hücre $10^9/L$
Hemoglobin	HGB	g/L
Hematokrit	HCT	% (0.00)
Ortalama Eritrosit Hacmi (Mean Corpuscular Volume)	MCV	femtolitre (fL)
Ortalama Eritrosit Hemoglobini	MCH	pikogram (pg)/RBC
Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu	MCHC	% (0.00)
Eritrosit Dağılım Genişliği (Red Cell Distribution Width)	RDW	% CV
Ortalama Trombosit Hacmi (Mean Platelet Volume)	MPV	femtolitre (fL)
Nötrofil oranı ve mutlak değeri	NE (%) - NE (#)	% - hücre $10^9/L$
Monosit oranı ve mutlak değeri	Mo (%) - Mo (#)	% - hücre $10^9/L$
Lenfosit oranı ve mutlak değeri	Ly (%) - Ly (#)	% - hücre $10^9/L$
Bazofil oranı ve mutlak değeri	BA (%) - BA (#)	% - hücre $10^9/L$
Eozinofil oranı ve mutlak değeri	EO (%) - EO (#)	% - hücre $10^9/L$
Retikulosit oranı ve mutlak değeri	RET (%) - RET #	% - hücre $10^9/L$
İmmatür Retikulosit Fraksiyonu	IRF	

Çalışmamızda hematolojik olarak beyaz kan hücreleri ve alt tipleri olan lenfosit, monosit ve granülosit parametreleri kullanıldı.

3.5. Akış sitometri

3.5.1. Kan örneklerinin hazırlanması

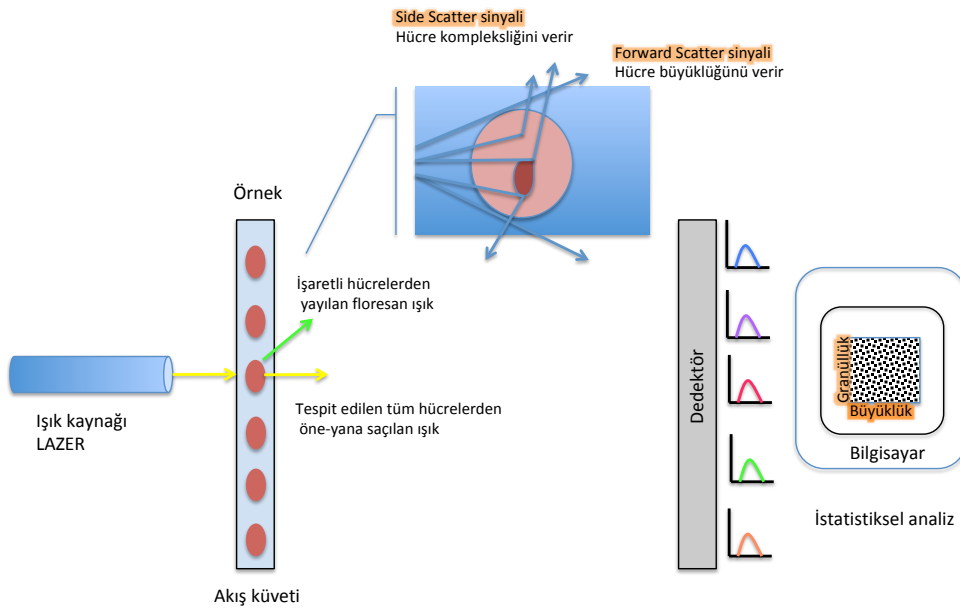
Periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) “gradyan yöntemi” kullanılarak izole edildi. EDTA’lı tüplere alınan sıçan kanları, aynı hacimde fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi (PBS, phosphatebufferedsaline) ile dilüe edildi. Oluşturulan karışıma, 1/3 oranında Ficoll (Lympho-paque) eklendi. Tüpler, 2100 rpm’de 20 dk santrifüj edildi. Elde edilen hücre gradyanında serumun hemen altında kalan mononükleer hücre tabakası toplanıp üzerine aynı hacimde PBS eklenerek 1800 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Ardından hücre pelletinin üzerinde kalan supernatant uzaklaştırıldı. Aynı yıkama işlemi iki kez tekrar edildi. Hücre pelleti 1 ml fetal sıgır serumu (FBS, fetalbovine serum) içerisinde çözülerek hücreler tripan mavisi ile (canlılık için) sayıldı. Farklı PKMH alt tipleri için hücreler 200 µl PBS ile karıştırılarak üzerlerine floresan işaretli monoklonal antikorlar eklendi. Oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 20 dk boyunca inkübe edildi. CD4-APC/Cy7, CD8a-PerCP, CD45RA-PE antikorları kullanılarak yardımcı T hücreler, sitotoksik T hücreler, B hücreler ve NK (naturel killer) hücrelerin genel hücre dağılımları belirlendi. Floresan işaretli monoklonal antikor miktarları, firmaların kataloglarında önerildiği şekilde uygulanmıştır. Örnekler, paraformaldehit ihtiva eden okuma tampon içerisinde FACS Aria akış sitometri (BD Bioscience) cihazı ile okundu (Şekil 3-6).



Şekil 3-6: FACS Aria akış sitometrisi (BD Bioscience) cihazı.

3.5.2. Dalak örneklerinin hazırlanması

Deneklerden çıkarılan dalak dokularının her biri ayrı ayrı soğuk PBS tampon içerisinde disekte edildi. Homojenizasyon sonucu oluşan süspansiyonlar 50 ml'lik falcon tüp üzerine yerleştirilmiş 70 µm gözenek çapına sahip hücre eleğinden (cell strainer) geçirildi. Falcon tüp içerisine alınmış hücre ve PBS karışımına Ficoll (Lympho-paque) eklendi. Tüpler, 2100 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Elde edilen hücre gradyanında serumun hemen altında kalan mononükleer hücre tabakası toplanıp üzerine aynı hacimde PBS eklenerek 1800 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Ardından hücre pelletinin üzerinde kalan supernatant uzaklaştırıldı. Aynı yıkama işlemi iki kez tekrar edildi. Hücre pelleti 1 ml FBS içerisinde çözülerek hücreler tripan mavisini ile (canlılık için) sayıldı. Farklı PKMH alt tipleri için hücreler 200 µl PBS ile karıştırılarak üzerlerine floresan işaretli monoklonal antikorlar eklendi. Oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 20 dk boyunca inkübe edildi. CD4-APC/Cy7, CD8a-PerCP, CD45RA-PE antikorları kullanılarak yardımcı T hücreler, sitotoksik T hücreler, B hücreler ve NK (naturel killer) hücrelerin genel hücre dağılımları belirlendi. Floresan işaretli monoklonal antikor miktarları, firmaların kataloglarında önerildiği şekilde uygulanmıştır. Örnekler, paraformaldehit ihtiva eden okuma tampon içerisinde FACS Aria akış sitometrisi (BD Bioscience) cihazı ile okundu (Şekil 3-7).



Şekil 3-7: Akış sitometri cihazı şematik gösterimi.

3.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

3.6.1. RNA izolasyonu

Kan ve dalak dokuları gruplara ayrılarak her izolasyon günü için bir grup çalışılacak şekilde -80°C derin dondurucudan çıkarılarak çözündürüldü. RNA izolasyonları için ticari kit (Hybrid-R™ RNA izolasyon kiti) kullanıldı. Örneklerin RNA izolasyonları kit protokülüne göre yapıldı. Kit prokol basamakları aşağıda sıralandığı gibidir:

- Hücre pelleti üzerine 1 ml RiboEx eklendi ve hemen vortekslenerek oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi.
- Mikrosantrifüj tüpleri 4°C’de 12000g’de 10 dk santrifüj edildi.
- Süpernatant etiketli tüplere transfer edildi.
- Üzerine 200 µl kloroform eklendi ve 15 sn çalkalanıp, oda sıcaklığında 2 dk bekletildi.
- Mikrosantrifüj tüpleri 4°C’de 12000g’de 15 dk santrifüj edildi ve sulu faz yeni bir tüpe alındı.
- Örneğin üzerine örnek hacmi miktarınca RBI tampon eklendi ve santrifüj edilmeden karıştırıldı.
- Bu karışımdan 700 µl alınıp süzgeçli tüplere koyuldu ve oda sıcaklığında 30 sn 10000g’de santrifüj edildi. Aynı işlem kalan karışım süzgeçli tüplere koyulup tekrarlandı. Süzgeçten geçen sıvı atıldı.
- Süzgeçli tüplere 500 µl SWI tampon eklendi ve oda sıcaklığında 30 sn 10000g’de santrifüj edildi. Süzgeçten geçen sıvı atıldı.
- Süzgeçli tüplere 500 µl RNW tamponu eklendi ve oda sıcaklığında 30 sn santrifüj edildi. Süzgeçten geçen sıvı atıldı.
- Kalan yıkama tamponunu çıkarmak için oda sıcaklığında 1 dk 10000g’de tekrar santrifüj edildi.
- Süzgeç temiz bir ependorf tüpe alınarak 75 µl nuclease-free water eklendi ve 1 dk bekletildi.
- Son olarak oda sıcaklığında 1 dk 10000g’de santrifüj edildi ve ependorf tüpte kana sıvı kullanılmak üzere -80°C derin dondurucuya kaldırıldı.

İzolasyon tamamlanınca elde edilen RNA miktarları nano-drop (mikro hacim spektrofotometre) cihazında konsantrasyon ve saflık ölçümü yapılarak tekrar -80°C derin dondurucuya kaldırıldı.

3.6.2. cDNA Sentezi

Ekstrakte edilen RNA örneklerinden cDNA (komplementer DNA) sentezi High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems) kullanılarak yapıldı. Tek örnek için Tablo 3.2’de verilen miktarlar kullanılarak cDNA sentezi “BIO-RAD T100 Thermal Cycler” cihazında Tablo 3.3’te verilen protokole göre yapıldı.

Tablo 3-2: cDNA sentezi aşamasında tek bir örnek için kullanılan miktarlar

Kullanılan Malzemeler	Miktar
10X RT Buffer	2.0 µl
25X dNTP mix (100mM)	0.8 µl
10X RT Random Primers	2.0 µl
MultiScribe Reverse Transcriptase	1.0 µl
Nuclease Free H ₂ O	14.2 µl
RNA örneği	10 µl
Toplam hacim	20 µl

Tablo 3-3: cDNA sentez protokolü

Ayarlar	Basamak 1	Basamak 2	Basamak 3	Basamak 4
Sıcaklık	25°C	37°C	85°C	4°C
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk	∞

Elde edilen cDNA’lar -20°C derin dondurucuda saklanmıştır.

3.6.3. PCR Protokolü

Sentezlenen cDNA’lar ile PCR işlemi gerçekleştirilmeden önce aşağıdaki adımlar gerçekleştirilmiştir.

- Uygun referans genin belirlenmesi

- Hedef genler için primer ve probaların dizaynı
- Örnekler için cDNA konsantrasyonlarının eşitlenmesi ve örnek havuzu yapılıp yapılamayacağının belirlenmesi.

3.6.3.1. Referans Genin Belirlenmesi

Referans gen, bir organizmanın tüm dokularında temel hücresel işlevlerin yerine getirilebilmesi için sağlıklı hücresel koşullarda sürekli ve belirli düzeylerde ifade olan özel genlerdir ve bunlara *housekeeping* genler adı verilir. İyi bir housekeeping genin organizmanın çoğu hücresinde nispeten yakın ekspresyon seviyeleri göstermesi beklenir. Dokuya spesifik genlerden ayrılan en önemli özelliği budur. Dokuya spesifik genler aktif olduğu dokulara özgünlük kazandırıp, buralarda yoğun şekilde ifade olurken, housekeeping genler ise doku tipi, gelişim evresi, hücre döngüsü durumu ya da herhangi bir dış sinyalden bağımsız olarak normal koşullar altında bir organizmanın tüm hücrelerinde ekspresyona tabii tutulmak zorundadır. Ancak housekeeping genlerinin ekspresyon seviyeleri her dokuda eşit olmayıp, dalgalanma gösterebilirler. Housekeeping genlerin dokuya spesifik genlerden ayrı oluşunun sebeplerinden biri de promotör bölgelerindeki farklılıklardır. Bu farklılıklar bu genlerin hızlı ve kolay şekilde ifade olmasına yardımcı olur. Bu genlerin, özel bir genomik yapı ve evrimsel devamlılık gösterdikleri, kısa intron ve ekzon bölgelerine sahip oldukları, SINE ve LINE'larca zenginleşmiş gen çevresi içerdikleri, düşük korunumlu promotör bölgesi, basit UTR bölgeleri ve histonlara karşı daha az ilgi gösterdikleri bilinmektedir. Housekeeping genler hücrelerde DNA sentezi, protein sentezi, enerji metabolizması, hücresel yapılanma, haberleşme gibi hayatsal olayların doğru işleyişinde direkt olarak rol alırlar. Bu genlerin çalışılan doku ve hücrelerde ekspresyon seviyelerinin genelde biliniyor oluşu; onların referans gen olarak kullanılmasına ve asıl tespit edilmek istenilen genin ekspresyon düzeylerinin yorumlanmasına olanak sağlamaktadır. Bu çalışmada housekeeping gen olarak GAPDH geni kullanılmıştır. Glikolizde görev yapan ve glukozun parçalanıp hücresel enerjinin üretilmesine yardımcı olan bir enzimi kodlar. Bu enzim Gliseraldehit 3-fosfat dehidrojeraz olarak adlandırılır. GAPDH geni; 12. kromozomun p kolunda bulunur ve 10 ekzon içerir. Enerji üretimi açısından hücrelerde bulunmak zorundadır ve ekspresyon seviyeleri enerji ihtiyacı yüksek olan dokularda artış göstermektedir.

3.6.3.2. Primer ve Probların Dizaynı

İşlem basamaklarından ikinci olan primer dizaynı Tablo 3.4’te verilmiştir. Sybr Green yöntemi kullanılmıştır.

Tablo 3-4: Hedef genler için dizayn edilen primerler

Gen Adı	Forward Primer	Reverse Primer
IFN-gamma	TGTCATCGAATCGCACCTGA	ATCTGTGGGTTGTTACCTCG
IL-4	GTACCGGGAACGGTATCCAC	TGGTGTTCCTTGTTGCCGTA
IL-17A	CTTCACCCTGGACTCTGAGC	CCTCAGCGTTGACACAGC

3.6.3.3. Örneklerin Belirlenmesi

Son işlem basamağı olan üretilen cDNA konsantrasyonları değerlendirilerek örnek havuzunun oluşturulmasına gerek duyulmaksızın qRT-PCR işlemine başlandı. Değişik cDNA konsantrasyonlarına sahip cDNA örnekleri, uygun miktarda distile su eklenerek eşit konsantrasyona getirildi.

3.6.4. qRT-PCR Analizinin Yapılması

20 µl lik PCR reaksiyonu için mix. Tablo 3.5’e uygun olarak hazırlanmıştır.

Tablo 3-5: PCR protokolü

Bileşen	Miktar
2x Master Mix	10 µl
Forward Primer	0,6 µl
Reverse Primer	0,6 µl
cDNA	5 µl
Su	3,08 µl
Toplam Hacim	20 µl

96 kuyulu Lightcycler 480 plate kullanılmıştır, Her kuyuya 15µl mix

yüklendikten sonra, 5µl cDNA ilave edilmiştir. Buharlaşarak ortaya çıkan kayıpları önlemek için üzeri Lightcyler 480 Sealin Foil ile kapatılmıştır. Deneylerde, referans ve hedefler için yüklemeler aynı plate ve farklı kuyulara yapılmıştır.

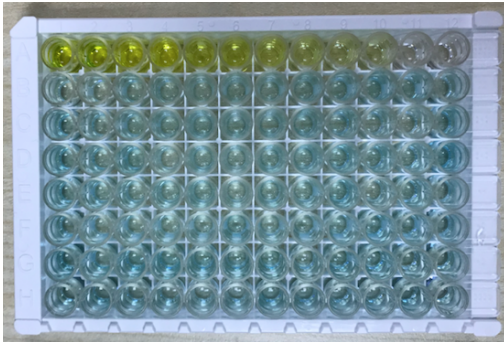
3.7. Enzim Bağlı İmmün Sorbent Analizi (ELISA)

3.7.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması

Hayvanlardan alınan kan örnekleri 4000 rpm’de 8-10 dk santrifüj edilerek kanın hücresel elementleri ve plazması ayrıldı. Plazmalar alınarak çalışma gününe kadar -20°C derin dondurucuda bekletildi.

3.7.2. Plazma Örneklerinin Sitokin Analizleri

Plazma örneklerinin IL-4, IL-17A ve IFN-γ sitokin miktar analizleri ticari ELİSA kitleri (Bioassay Technology Laboratory, China) kullanılarak, kit protokolüne uygun olarak yapıldı. Öncelikle tüm reaktifler oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. Platelerin standart kuyularına 50 µl standart solüsyon eklendi. Diğer kuyulara ise 40 µl örnek eklendi ve üzerine 10 µl antikor eklendi. Streptavidin-HRP çalışma çözeltisi tüm kuyulara 50 µl olarak koyuldu (blank hariç). Plate’in üzeri kapatıldıktan sonra 37°C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından kuyular 5 defa µl hacminde yıkama tamponu ile yıkandı. Kuyu başına 50 µl hacminde substrat çözeltileri (Substrat A ve B) eklenip, 37°C’de karanlıkta 10 dk inkübasyona bırakıldı. Son olarak her kuyuya 50 µl stop çözeltisi eklendi (Şekil 3-8) ve 450 nm dalga boyunda plate reader ile absorbans ve konsantrasyon değerleri okundu. Her örnek duplike çalışılmıştır.



Şekil 3-8: Durdurma solüsyonu eklenmeye başlanmış ELİSA plağı.

3.7.3. Dalak Örneklerinin Hazırlanması

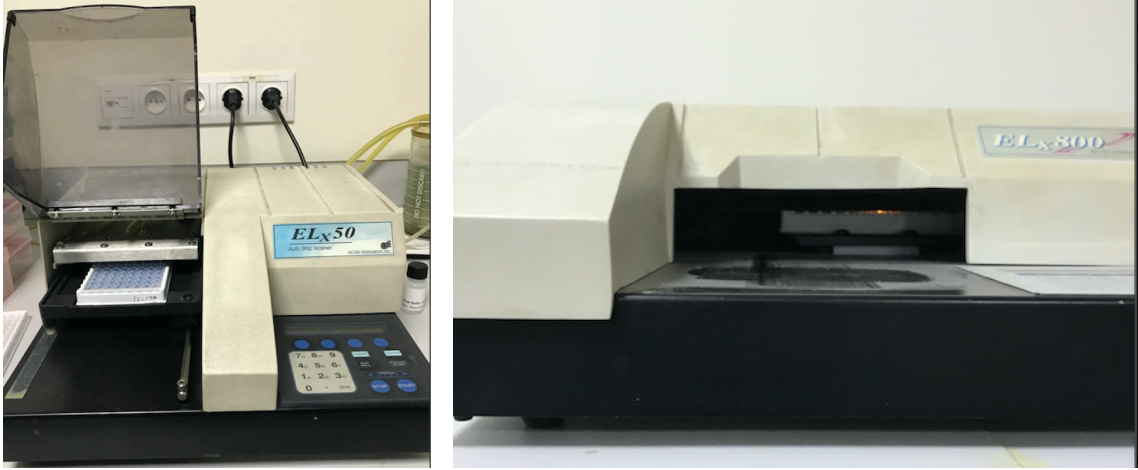
Her bir örnek kademeli olarak çözüldükten sonra PBS ile yıkandı ve homojenizasyon için tartıldı. Bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Dokular 7,4 pH değerindeki lizis tamponu içerisinde homojenizatör yardımıyla parçalandı (Doku ağırlığı (g): Lizis tamponu (mL) hacim=1:9) (Şekil 3-9). Elde edilen homojenatlar 50.000 rpm hızında 15 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alındı.



Şekil 3-9: Dalak dokularını homojenize etmek için kullanılan homojenizatör.

3.7.4. Dalak Örneklerinin Sitokin Analizleri

Dalak örneklerinin IL-4, IL-17A ve IFN- γ sitokin miktar analizleri ticari ELİSA kitleri (Bioassay Technology Laboratory, China) kullanılarak, kit protokolüne uygun olarak yapıldı. Öncelikle tüm reaktifler oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. Platerin standart kuyularına 50 μ l standart solüsyon eklendi. Diğer kuyulara ise 40 μ l örnek eklendi ve üzerine 10 μ l antikor eklendi. Streptavidin-HRP çalışma çözeltisi tüm kuyulara 50 μ l olarak koyuldu (blank hariç). Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından kuyular 5 defa μ l hacminde wash tampon ile yıkandı. Kuyu başına 50 μ l hacminde substrat çözeltileri (Substrat A ve B) eklenip, 37°C'de karanlıkta 10 dk inkübasyona bırakıldı. Son olarak her kuyuya 50 μ l stop çözeltisi eklendi ve 450 nm dalga boyunda plate reader ile absorbans ve konsantrasyon değerleri okundu (Şekil 3-10). Her örnek duplike çalışılmıştır.



Şekil 3-10: Platelerin yıkama işlemi ve absorbans okuma işlemi yapılan cihazlar.

3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde non-parametrik T test, Mann Whitney U testleri (Graphpad prism) kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Prenatal ve postnatal dönemde 50 Hz frekanslı 0,5 mT manyetik alana maruz kalan sıçanlar, sakrifiye edildikten sonra kan ve dalak dokuları üzerinde çalışılmıştır. Kan ve dalak dokularındaki $CD4^+$, $CD8^+$, B ve NK hücrelerinin sayısı belirlendi. Ayrıca IL-4, IL-17A ve IFN- γ sitokinlerinin mRNA ifadesi düzeyi ve miktarları tayin edildi. Çalışmada elde edilen laboratuvar, akış sitometri, kantitatif PCR analiz ve sitokin miktar analiz (ELİSA) sonuçları başlıklar altında paylaşılmıştır. 14 kontrol grubu, 14 manyetik alan maruziyet grubu olmak üzere 28 sıçan yavrusu kullanılmıştır. Her grupta 7 dişi, 7 erkek yavru sıçan vardır.

4.1. Biyokimyasal Parametreler

Yavru sıçanlardan alınan kan örneklerinin tam kan sayımı ortalama $\pm$ standart sapma değerleri Tablo 4.1 ve Tablo 4.2 'de verilmiştir.

Tablo 4-1: Gruplar arası tam kan sayımı ortalama $\pm$ standart sapma değerleri

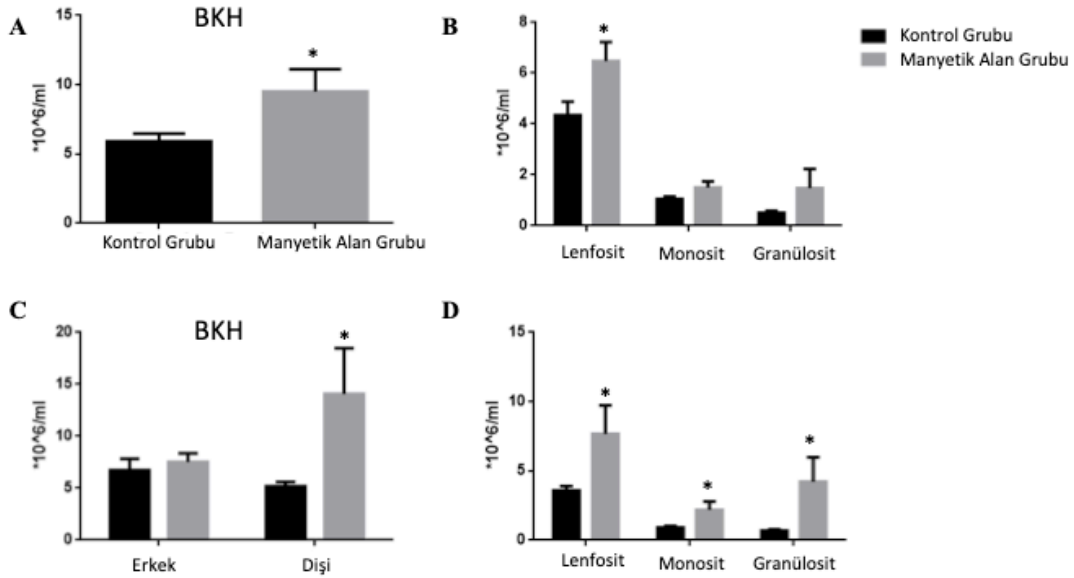
Parametre	Kontrol Grubu		Deney Grubu	
	Ortalama	$\pm$ SS	Ortalama	$\pm$ SS
HGB (g/dL)	12,54	1,31	11,8	1,14
MCHC (g/dL)	33,6	0,79	32,16	1,06
MCH (pg)	18,29	0,74	17,1	0,57
MCV (fL)	54,42	1,42	53,19	1,27
RDW%	25,33	1,07	26,28	1,01
HCT%	37,41	4,15	36,65	2,92
RBC* 10^{12} /L	6,88	0,83	6,89	0,59
PLT* 10^3 /uL	451,42	97,92	500,78	126,74

ELF-EMA maruziyetinin kan hücresi sayım parametreleri üzerindeki etkisi analiz edildi. Sonuçlar, ELF-EMA maruziyetinin, doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde MA'a maruz kalan Sprague Dawley sıçanlarında, kontrol grubuna göre BKH ve lenfosit sayılarında yükselmeye neden olduğunu gösterdi ($p<0,005$) (Şekil 4-1A, 4-1B). ELF-EMA maruziyetleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında granülosit ve monosit sayılarında önemli bir değişiklik oluşturmadi (Şekil 4-1B). Analiz sonuçlarının

ortalama±standart sapma değerleri Tablo 4.2’de verilmiş olup, bar grafikleri Şekil 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4-2: Sıçanlar için cinsiyete bağlı beyaz kan hücre, lenfosit, monosit, granülosit referans aralığı (He ve ark., 2017) ve deneysel sonuçlar

Parametre	Cinsiyet	Referans Aralığı (*10 ⁹ /L)	Deneysel Sonuçlar (*10 ⁹ /L)	
			Kontrol Grubu (ort±ss)	Deney Grubu (ort±ss)
Beyaz Kan Hücresi	Erkek	3,00-9,22	6,73±2,71	7,54±2,16
	Dişi	2,58-7,34	5,19±1,09	14,08±7,63
Lenfosit	Erkek	2,45-7,66	5,23±2,54	5,96±1,87
	Dişi	2,09-6,39	3,58±0,88	7,66±3,57
Monosit	Erkek	0,17-0,76	1,20±0,42	1,20±0,38
	Dişi	0,08-0,43	0,92±1,41	2,2±1,03
Granülosit	Erkek	0,31-1,66	0,30±0,20	0,31±0,20
	Dişi	0,22-1,14	0,69±0,27	4,22±3,05



Şekil 4-1: A) ELF-EMA’ların toplam BKH üzerine etkisi, (B) lenfositler, granülositler ve monosit sayısı üzerindeki etkileri, (C) erkek ve dişi gruplar kendi içinde (D) Dişi grup BKH alt grupları üzerindeki etkilerinin bar grafiği (*p<0.05).

Benzer şekilde, dişi kontrol grubu (DK) ve dişi manyetik alan grubu (D-MA) sıçanlar arasında beyaz kan hücre sayısında önemli bir artış vardı ($p<0.05$) (Şekil 4-1C). Ancak erkek kontrol grubu (EK) ve erkek manyetik alan grubu (E-MA) arasında istatistiksel olarak fark yoktu (Şekil 4-1C). Kontrol grubunda bulunan dişi ve erkek sıçanların beyaz kan hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, manyetik

alan gruplarındaki cinsiyet eşdeğeriyle karşılaştırmada sadece dişi grup istatistiksel olarak anlamlı sonuç vermiştir.

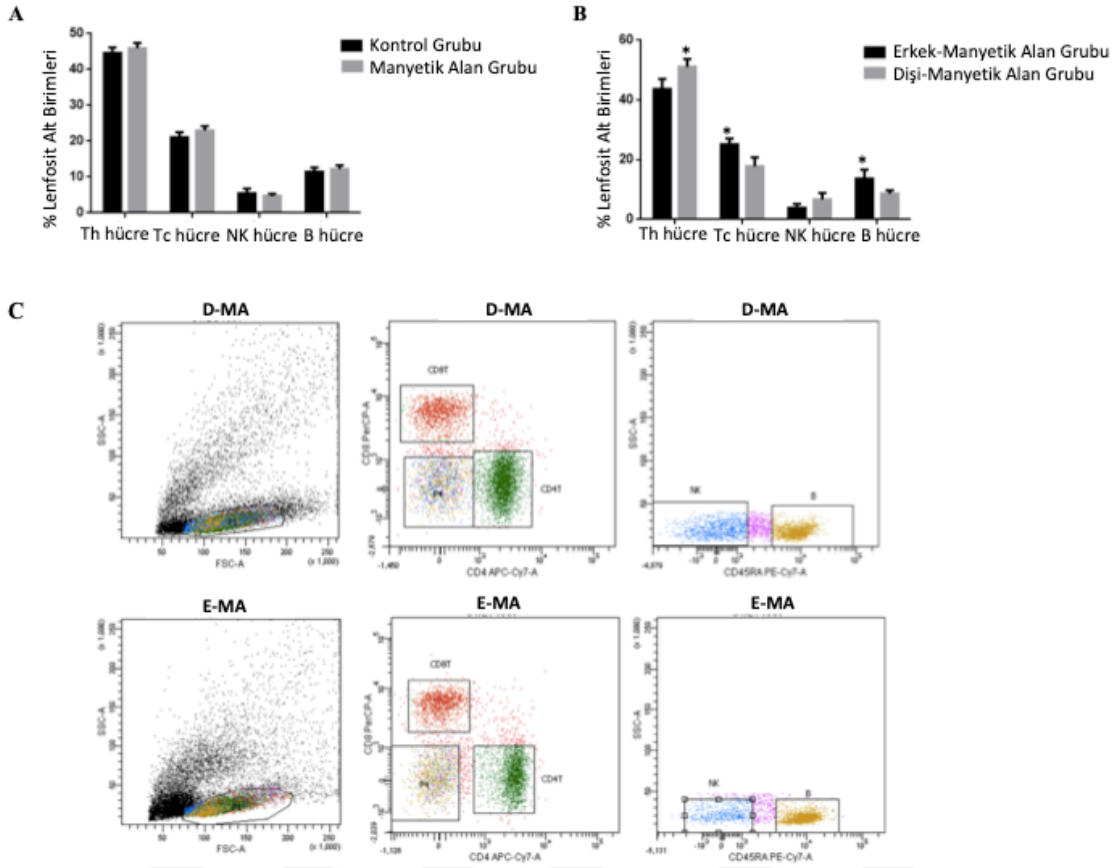
4.2. Akış Sitometri Analizi

Deney gruplarından alınan kan ve dalak örneklerinde Th (CD4⁺), Tc (CD8⁺), NK ve B hücrelerin lenfosit yüzde değerleri Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4-3: Kan ve dalak dokularında gruplar arası Th, Tc, NK ve B lenfositlerin ortalama±standart sapma yüzde değerleri

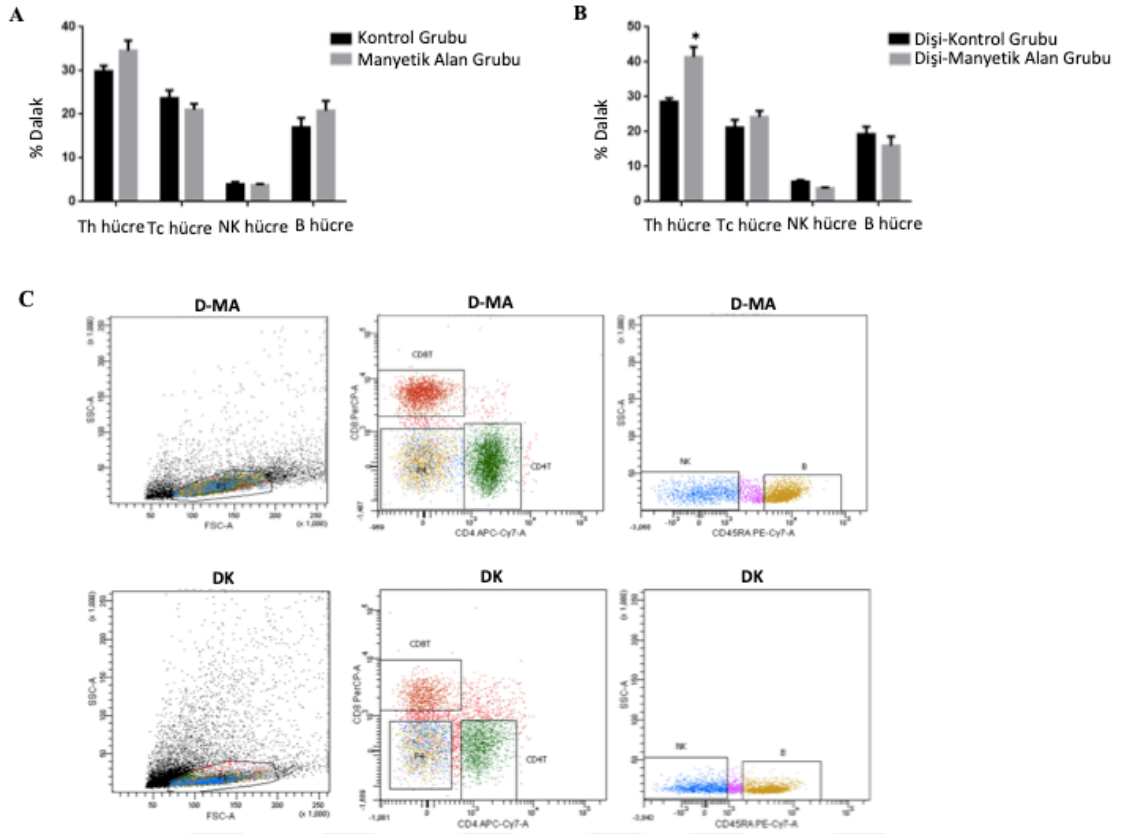
Doku	Lenfositler	Kontrol Grubu		Deney Grubu	
		Ortalama	±SS	Ortalama	±SS
Kan	Th %	44,58	5,79	45,91	4,68
	Tc %	21,06	5,41	22,92	4,13
	NK %	5,46	4,92	4,68	2,07
	B %	11,43	4,48	12,19	3,47
Dalak	Th %	29,92	4,69	34,58	7,39
	Tc %	23,64	7,16	21,03	4,29
	NK %	3,95	2,11	3,76	1,04
	B %	17,01	8,18	20,8	7,09

Elektromanyetik alan uygulaması kanda lenfosit alt birimleri olan Th, Tc, NK ve B hücre sayılarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Cinsiyetler arası yapılan analizlerde ise kontrol grupları arasında anlamlı fark yokken, manyetik alan uygulanmış dişi sıçanlarda erkeklere kıyasla Th hücre sayısında anlamlı artış gözlenmiştir. Tc ve B hücre sayılarında ise anlamlı derecede azalma meydana gelmiştir. Şekil 4.2’de kan lenfosit alt gruplarına ait değişimler bar grafiği olarak gösterilmiştir.



Şekil 4-2: A) Manyetik alan ve kontrol grupları arasında lenfosit alt gruplarının akış sitometri analizleri, B) Manyetik alan uygulanan erkek ve dişi sıçanların Th, Tc, NK ve B hücre seviyeleri C) Yan dağılım (SSC) ve ileri saçılım (FSC) nokta çizim analizlerine dayalı lenfositlerin tanımlanması ve manyetik alana maruz kalan erkek ve dişi yavruların CD4⁺, CD8⁺ ve CD45RA için temsili nokta çizim analizleri (*p<0.05).

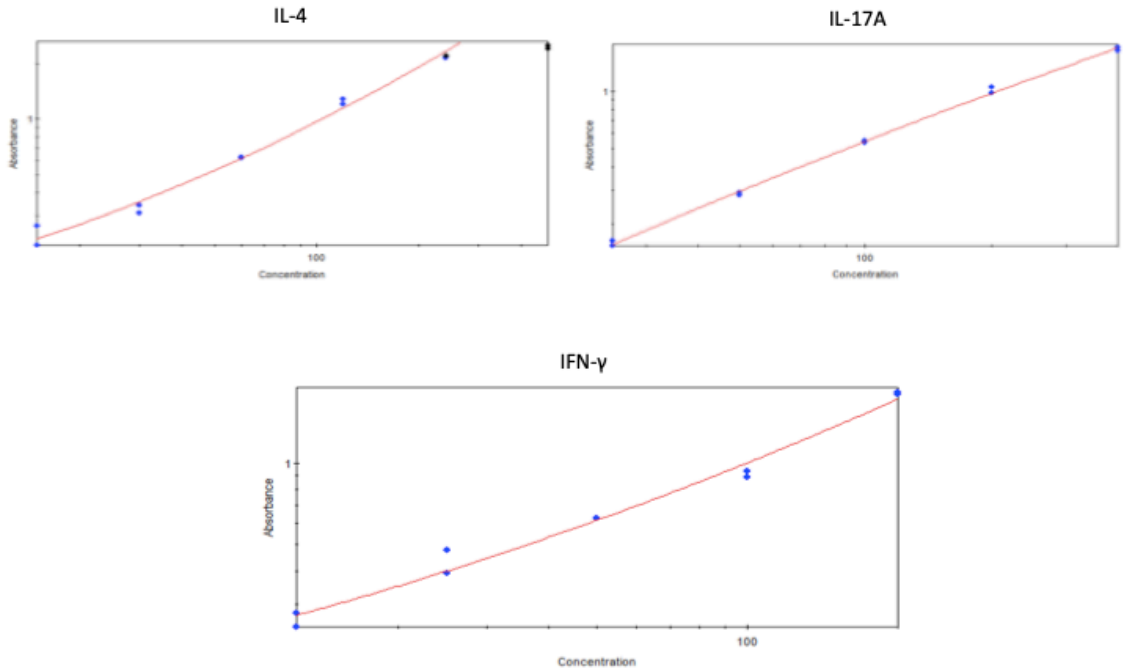
Dalak örneklerinde ise gruplar arası değerlendirmede elde edilen Th, Tc, NK ve B hücre sayılarında anlamlı fark gözlenmezken, dişi sıçanların kontrol dişi gruplarına göre kıyaslanmasında Th hücrelerde anlamlı derecede artış bulunmuştur (Şekil 4-3).



Şekil 4-3: Dalakta lenfosit alt kümelerinin akış sitometri analiz sayımları. A) Manyetik alan maruziyetinin gruplar arasındaki, B-C) Manyetik alan maruziyetinin dişi sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla CD4⁺, CD8⁺, NK ve B hücre sayıları üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi (*p<0.05).

4.3. Plazma Örneklerinde Sitokin Analizi

T hücreleri, NK ve B hücreleri tarafından salgılanan sitokin miktar analizleri için yapılan ELİSA testlerinin IL-4, IL-17A ve IFN- γ için standart grafikleri Şekil 4.4'te verilmiştir.



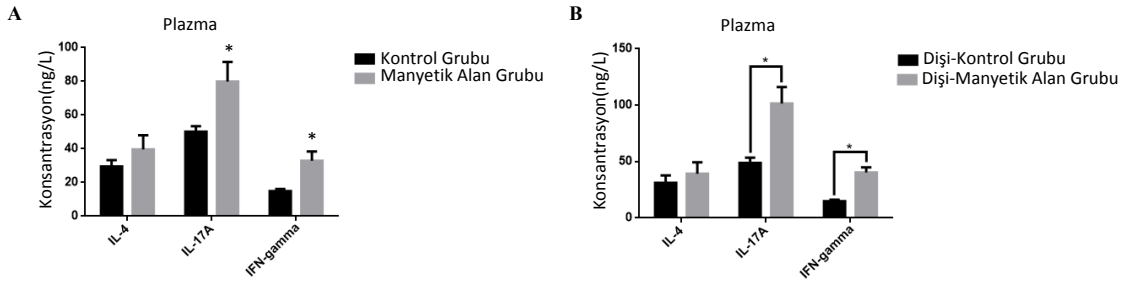
Şekil 4-4: IL-4, IL-17A ve IFN- γ sitokinlerinin konstrasyona göre absorbans eğrileri.

Sonuçlar, MA uygulamasının plazma örneklerinde IL-17A ve IFN- γ seviyelerini anlamlı derecede artırdığını göstermiştir. Sitokin analizlerinden elde edilen verilerin dokulara göre ve gruplar arası ortalama değerleri Tablo 4.4’de verilmiştir.

Tablo 4-4: Plazma ve dalak dokusunda sitokin miktarlarının ortalama $\pm$ standart sapma değerleri (ng/L)

Doku	Sitokinler	Kontrol Grubu (ng/L)		Deney Grubu (ng/L)	
		Ortalama	$\pm$ SS	Ortalama	$\pm$ SS
Plazma	IL-4	29,5	12,66	39,67	27,77
	IL-17A	50,22	8,96	79,91	34,81
	IFN- γ	14,98	2,44	32,87	13,62
Dalak	IL-4	42,64	8,67	42,04	7,96
	IL-17A	40,01	11,88	60,18	13,44
	IFN- γ	27,34	5,82	36,34	8,43

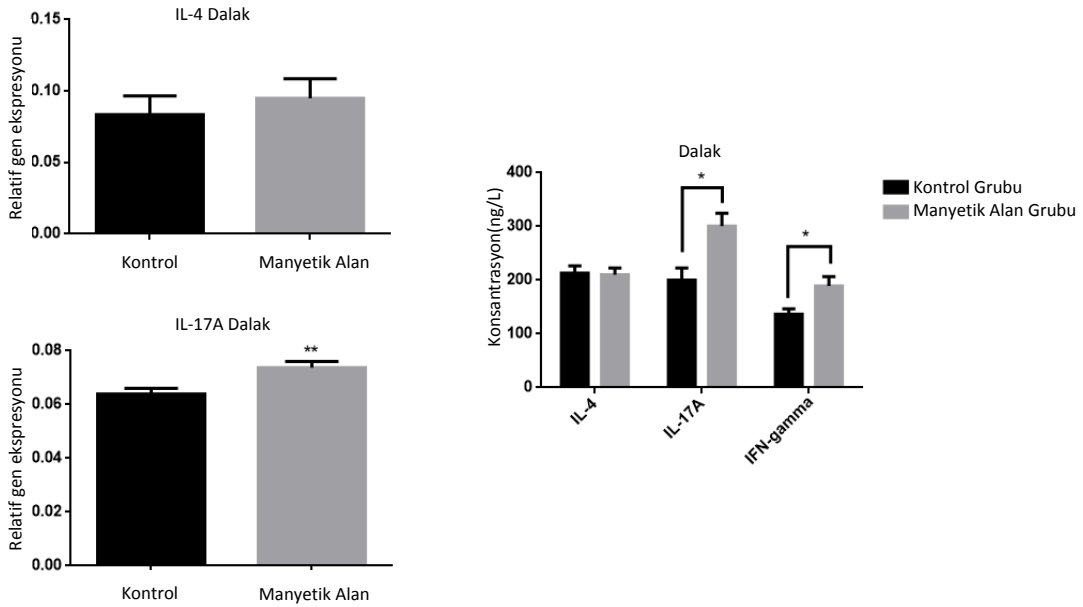
Aynı sitokinler cinsiyete bağlı analizlerde erkek sıçanlarda değişmezken, dişi sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı değişmiştir. Şekil 4.5’te plazmada gruplar arası ve cinsiyete bağlı sitokin analiz grafikleri gösterilmiştir.



Şekil 4-5: Manyetik alan uygulamasının plazma örneklerinde sitokin konsantrasyonlarına etkisi.

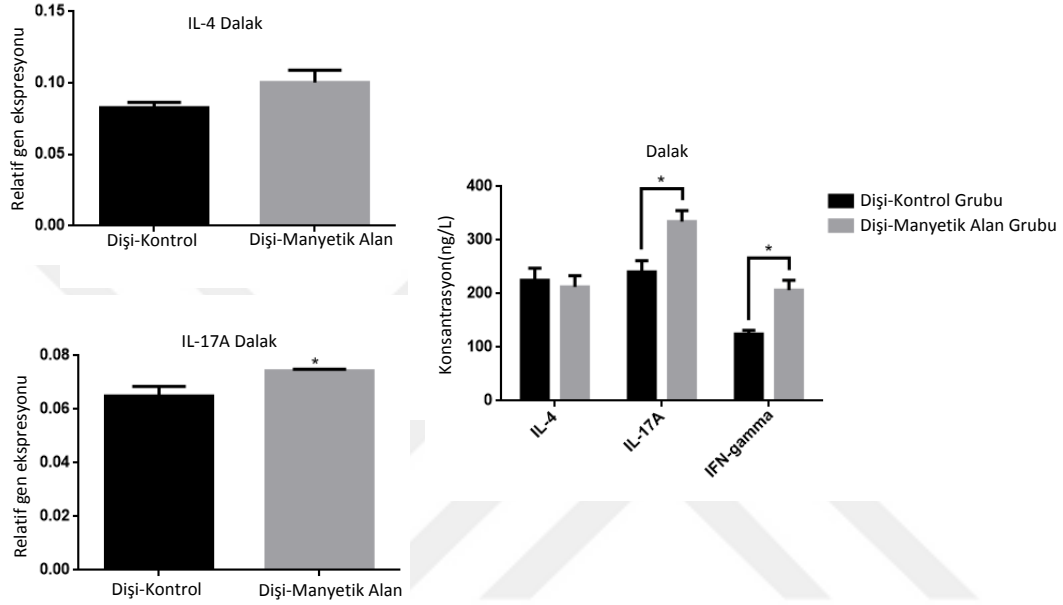
4.4. Dalak Örneklerinde Sitokin Analizi

Dalak dokusunda IL-4, IL-17A ve IFN- γ sitokin tespiti için yapılan PCR ve ELİSA test sonuçları, manyetik alan uygulamasının IL-4 miktarını değiştirmediğini göstermiştir. PCR testi sonucunda IL-17A ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı bulunmuştur. ELİSA testleri ise IL-4 konsantrasyon miktarının değişmediğini doğrulamış, IL-17A ve IFN- γ konsantrasyonlarının anlamlı derecede arttığını göstermiştir (Şekil 4-6).



Şekil 4-6: Dalak dokusunda gruplar arası sitokin analiz sonuçları.

Son olarak dalak dokusundan elde edilen veriler cinsiyete bağılı analiz için değerlendirildi. Manyetik alan uygulamasının dişi sıçanlarda IL-17A ve IFN- γ konsantrasyon miktarlarını anlamlı derecede arttırdığı, IL-4 konsantrasyonunu ise değiştirmediğı bulundu (şekil 4-7).



şekil 4-7: Dalak dokusunda cinsiyete bağılı sitokin analiz sonuçları.

TARTIŞMA

Yapılan bu çalışma, sürekli ELF-EMA (24 sa/gün, 50 Hz, 0,5 mT) maruziyetinin Sprague-Dawley sıçanları üzerinde önemli bir immünolojik etkisi olduğunu göstermiştir. Çalışmada ELF-EMA'a maruz kalma süreleri doğum öncesi ve doğum sonrası emzirme dönemini içeren yavru sıçanlar kullanılmıştır. Diğer ELF-immün sistem çalışmalarından, yavruların tamamen olgunlaşmamış bir bağışıklık sistemine sahip olmasıyla farklılık göstermektedir. Bu çalışmada üç ana bulgu elde edilmiştir. İlk olarak, ELF-EMA'a maruz kalan sıçanların hematolojik analizinde hem BKH hem de lenfosit seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur. İkincisi, lenfosit alt birimleri olan Th, Tc, NK ve B hücre popülasyonlarında önemli bir değişiklik olmamasına rağmen, Th (Th₁, Th₂, Th₁₇) hücreler tarafından salgılanan ana sitokinlerin (IL-4, IL-17A ve IFN- γ) konsantrasyonlarında önemli değişiklikler bulunmuştur. Ayrıca cinsiyete bağlı analizler, ELF-EMA'ın dişi sıçanlarda hem Th hücrelerini hem de aynı sitokinleri (IL-17A ve IFN- γ) istatistiksel olarak arttırdığını göstermiştir. Üçüncüsü, dişi sıçanların immünolojik olarak ELF-EMA'a erkek sıçanlardan daha duyarlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuçlar, ELF-EMA'ın genç dişi sıçanlarda normal duruma kıyasla Th lenfosit aktivasyonunu artırdığını göstermektedir.

ELF-EMA'ların üreme sistemleri ve fetal gelişim üzerindeki etkilerini inceleyen epidemiyolojik ve hayvan model çalışmaları bulunmaktadır (Khaki ve ark., 2008; Khaki ve ark., 2006; Hajhosseini ve ark., 2013). Embriyogenez sırasında oluşum aşamasındaki dokular, organlar ve sistemler dış toksik stresörlere karşı yüksek hassasiyet gösterirler. Bu duyarlılığa bağlı olarak bir ömür boyu sürebilecek çeşitli hastalıkların temeli bu dönemde ortaya çıkabilir. ELF-EMA'a prenatal dönemde maruziyetin yumurtalık folikülleri üzerinde olumsuz etkilerinin olması dişilerde fetal büyümenin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, MA maruziyetinin büyüme hormonlarını azalttığı ve BKH'lerini önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur (Ren ve ark, 2019; Khaki ve ark., 2016).

Çevresel radyasyon sadece embriyonik gelişimi değil, aynı zamanda immün sistemi de etkileyebilir. Yapılan çalışmalar EMA'ların sağlık üzerindeki etkilerinin ve etkileme şeklinin nasıl olduğu konusunda henüz yeterli bir açıklamaya varamamışlardır.

Bazı çalışmalarda uzun süreli EMA maruziyetinin immün sistemin baskılanmasını, immün hücrelerin aktivasyonunu ve uyarılara yanıtı etkileyebileceği, bazı çalışmalarda ise etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Çalışmamızın amacı, immünolojik gelişimin tam olarak tamamlanmadığı bir dönem olan anne karnı ve doğum sonrası emzirme döneminde yavru sıçanların kan ve dalak doku örneklerinde bazı immünolojik parametrelerin EMA maruziyetine bağlı olarak ne yönde etkilendiğini belirlemektir. Bu nedenle çalışmamızda 50 Hz frekanslı 0,5 mT uniform manyetik alan üreten Merritt bobin sistemi kullanılmış, erkek ve dişi popülasyondan oluşan yavru sıçanların BKH sayısı, lenfosit sayısı, lenfosit alt parametreleri (Th, Tc, B, NK) ve T hücreleri tarafından salgılanan bazı sitokinlerin (IL-4, IFN- γ , IL-17A) miktar analizleri yapılmıştır. Elde edilen veriler gruplar arasında istatistiksel olarak analiz edildiği gibi cinsiyete bağlı karşılaştırılmalarla da değerlendirilmiştir. Çalışmamızın diğer EMA çalışmalarından önemli farkı seçilen deney grubunun EMA'lara maruz bırakıldığı dönemin anne karnında başlaması ve emzirme dönemi sonlanıncaya kadar sürekli olarak devam etmesidir. Ayrıca çalışmamızda uygulanan 50 Hz frekanslı EMA'lar günlük hayatta en sık maruz kaldığımız alanlardır.

BKH'lerinin en önemli rolü, enfeksiyon ve inflamasyona karşı gerekli korumayı sağlamaktır. Periferik kanda bu hücrelerin alt gruplarındaki artış, vücutta akut enfeksiyon veya doku hasarı gibi inflamatuvar durumların açık bir göstergesidir (Babio ve ark., 2013). Dolayısıyla, çalışmamızdaki BKH sayılarındaki artış, ELF-EMA'nın yavrularda inflamasyona neden olduğunun bir göstergesidir. Toplam kandaki BKH ve lenfosit sayısı manyetik alan uygulanmış grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir. Ancak monosit ve granülosit sayılarında önemli bir fark olmaması, BKH sayısındaki artışın lenfosit sayısındaki artışla ilişkili olduğunu göstermektedir. Cinsiyete bağlı analizlerde ise, erkek kontrol ve manyetik alan grubu arasında gözlemlenen bir artış olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak, manyetik alana maruz bırakılmış dişi grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış gözlemlenmiştir.

ELF-EMA maruziyetine yanıt olarak bağışıklık sisteminin in vivo olarak değerlendirilmesi için, çalışmamızda T lenfositlerin alt popülasyonları (Th hücreleri ve Tc hücrelerini), NK ve B lenfositler akış sitometri yöntemiyle kantitatif olarak analiz edilmiştir. 50 Hz EMA maruziyetinin, sıçanlarda lenfositlerde artışa neden olduğu

bulunmuştur. Erkek ve dişi kontrol grupları arasında lenfosit sayısı açısından anlamlı bir fark bulunmazken, cinsiyete bağlı olarak manyetik alan grupları karşılaştırıldığında dişilerin ELF-EMA'a erkeklere göre daha duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır. Dişi sıçanlar henüz olgunlaşmamış oldukları için hormonal koşulların sonuçlara herhangi bir etkisi olmadığı düşünülmektedir. Bu durum, Th hücre sayısında cinsiyete göre kontrol grupları arasında fark olmamasına rağmen, manyetik alan grupları arasındaki anlamlı farkı açıklayabilir. Hem prenatal hemde postnatal dönemde EMA'a maruz kalma, dişilerde lenfosit, monosit ve granülosit sayısında önemli bir artışa neden olurken, erkek sıçanlarda önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Öte yandan, EMA'daki Th ve B hücre seviyeleri, dişilerde erkeklere göre sırasıyla %17 ve %57 daha fazla, Tc hücre seviyesi ise %41 daha azdır. Bulgularımıza benzer şekilde, cinsiyete bağlı analizin dişi sıçanların erkek sıçanlara göre daha fazla etkilendiği bildirilmiştir (Ren ve ark., 2019).

Wyszkowska ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, 24 saat boyunca 7 mT ELF-EMA uygulanmış sıçanlarda BKH, lenfosit ve diğer bazı hematolojik parametrelerde anlamı derecede artış bulunmuştur (Wyszkowska ve ark., 2018). Bununla birlikte, 3 ay boyunca günde 20 saat birkaç μ T ELF-EMA'ın sıçanların hematogramlarını etkilememiş olduğu görülmüştür (Lai ve ark., 2016). İnsan çalışmalarında ise ELF-EMA maruziyeti ortalama BKH, lenfosit yüzdesi ve bazı sitokin seviyelerinde artışa neden olmuştur (Hosseinabadi ve ark., 2019). Çalışmamızda, ELF-EMA'ın neden olduğu inflamasyona karşı yanıtın, ELF-EMA'a maruz kalan yavruların dalak ve plazmalarında IL-17A ve IFN- γ sitokin seviyelerindeki artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Son çalışmalar, Th17 hücreleri tarafından üretilen IL-17A'nın savunma bağışıklık tepkisine katkıda bulunduğunu göstermektedir. IL-17A reseptörleri, makrofajlar ve nötrofiller gibi doğuştan gelen immün hücreleri arasında yaygın olarak eksprese edilmektedir. Ayrıca IL-17A, ürettiği proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler aracılığıyla nötrofil ve makrofajları, ELF-EMA'nın neden olduğu inflamasyon alanına çekerek immün düzenleyici işlevini öncelikle gerçekleştirmektedir. Çünkü IL-17A'nın inflamatuvar etkileri, indüklenabilir NOS aktivasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Önemli olarak, IL-17A, yerel mikro çevre bağlamında IFN- γ dahil olmak üzere diğer proinflamatuvar sitokinler ile sinerjik veya ek olarak hareket etmektedir (Cosmi ve ark., 2014; Jin ve Dong, 2013; Trebak ve Kinet, 2019). Bu nedenle, IL-17A miktar artışı yavruların hem dalak hem de plazmasında IFN- γ konsantrasyonundaki artışı tetiklemiş olabilir. Bunların yanısıra, 50 Hz 0,5 mT MA'nın diğer çalışmalarda (Salehi ve ark.,

2013) olduğu gibi neonatal IL-4 sitokin konsantrasyonlarında önemli bir değişikliğe neden olmadığı bulunmuştur. Ancak IFN- γ ve IL-17A konsantrasyonunda gözlemlenen herhangi bir değişiklik, ELF-EMA'nın Th₁ ve Th₁₇ hücre seviyelerini de değiştireceği anlamına gelmemektedir. Th hücre grupları arasındaki denge, antijenlere karşı aktivasyon sırasında bağışıklık sistemi fonksiyonunun düzenlenmesinde kritik bir rol oynarken, bunların aksine, fonksiyonlarındaki ve sitokin üretimindeki dengesizlik, inflamatuvar ve otoimmün hastalıklara neden olmaktadır.

ELF-EMA'ların ROS kimyasına ve hücre zarından kalsiyum transportuna etki ettiği ortaya konmuştur (Walleczek, 1992; Karabakhtsian ve ark. 1994, Kim ve ark. 2017; Eveson ve ark., 2000; Mattsson ve Simko', 2014; Tang ve ark., 2016). Örneğin, Doyon ve Johansson tarafından yapılan bir çalışmada, EMA'nın hücre içi kalsinörin aktivitesi üzerinde inhibitör bir etki ve ROS üretimi üzerinde uyarıcı bir etki gösterebildiği, bu şekilde immünsupresyonu tetiklediği ve enfeksiyonlara karşı zayıflamış bağışıklık tepkisi gösterdiği gösterilmiştir (Doyon ve Johansson, 2017). Bu nedenle bu çalışmada araştırılan sitokin düzeylerindeki değişikliklerle ilgili akla gelen en olası mekanizma, ELF-EMA'nın inflamasyona bağlı Ca²⁺ sinyalleşmesi üzerindeki etkisidir. Bu mekanizma aynı zamanda lenfosit popülasyonundaki artışı ve bunun sonucunda artan BKH sayımını da açıklamaktadır.

Sonuç olarak, tanımlanan ELF-EMA maruziyet koşulları altında (50 Hz, 0,5 mT), BKH, lenfosit ve IL-17A ve IFN- γ proinflamatuvar sitokinlerin üretimi genç sıçanlarda artmış, ancak IL-4 antiinflamatuvar sitokin konsantrasyonu değişmemiştir. Ayrıca, ELF-EMA'ların, IL-17A'nın ekspresyonunu yukarı doğru düzenlediği bulunmuştur. Bu sonuçlara ek olarak, manyetik alan grubu ile kontrol grubu arasında Th, Tc, NK ve B hücrelerinin proliferasyonu değişmezken, dişi manyetik alan grubu ile dişi kontrol grubu arasında yapılan karşılaştırmada Th hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur. Bu nedenle, genç dişi sıçanların erkek sıçanlara göre immünolojik olarak ELF-EMA'a daha duyarlı olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abbas, A.K., Lichtman, A.K., Rober, J.S. (Eds). (1997). *Cytokines. Cellular And Molecular Immunology*. 3 Ed. Philedelphia: WB Sounders Company, s: 249–278.
- Aggarwal, S., Gurney, A.L. (2002). IL-17: a prototype member of an emerging family. *Journal of Leukocyte Biology*, **71**: 1–8.
- Akira, S. (2000). The role of IL-18 in innate immunity. *Current Opinion in Immunology*, **12**: 59–63.
- Al-Jobori, K.M., Al-Waiely, M.M. (2017). Expression pattern of wheat mitogen-activated protein kinase (MAPK1 and MAPK4) genes under salinity stress. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*, **5**: 1184–1195.
- Al-Akhras, M.A., Elbetieha, A., Hasan, M.K., Al-Omari, I., Darmani, H., Albiss, B. (2001). Effects of low-frequency magnetic field on fertility of adult male and female rats. *Bioelectromagnetics*, **22**: 340-344.
- Anderson, G., Jenkinson, E.J. (2001). Lymphostromal interaction in thymic development and function. *Nature Reviews Immunology*, **1**: 31-40.
- Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M., Diker, K.S. (1994). *Immunoloji*. 1 baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s: 119-150.
- Arthur, J.S.C., Ley, S.C. (2013). Mitogen-activated protein kinases in innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, **13**: 679–692.
- Babio, N., Ibarrola-Jurado, N., Bullo, M., Martinez-Gonzalez, M.A., Warnberg, J., Salaverria, I., Ortega-Calvo, M., Estruch, R., Serra-Majem, L., Covas, M.I., Sorli, J.V., Salas-salvado, J. (2013). White blood cell counts as risk markers of developing metabolic syndrome and its components in the predimed study. *PLoS ONE*, **8**(3): e58354.
- Bach, E.A., Aguet, M., Schreiber, R.D. (1997). The IFN gamma receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annual Review of Immunology*, **15**: 563–591.
- Baris, D., Armstrong, B.G., Deadman, J., Theriault, G. (1996). A mortality study of electrical utility workers in Québec. *Occupational and Environmental Medicine*, **53**:25–31.
- Barrett, K.E., Barman, S.M., Boitano, S., Brooks, H.L. (2011). *Ganong'un tıbbi fizyolojisi*. Gökbil H. (Çeviri Editörü). 23üncü Baskı, İstanbul: Nobel Tıp

Kitabevleri, s: 550.

- Bazer, F.W., Spencer, T.E., Ott, T.L. (1997). Interferon tau: a novel pregnancy recognition signal. *American Journal of Reproductive Immunology*, **37**: 412–420.
- Benedetti, S., Pirola, B., Pollo, B., Magrassi, L., Bruzzone, M.G., Rigamonti, D., Galli, R., Selleri, S., Di Meco, F., De Fraja, C., Vescovi, A., Cattaneo, E., Finocchiaro, G. (2000). Gene therapy of experimental brain tumors using neural progenitor cells. *Nature Medicine*, **6**: 447-450.
- Bergman, R.A., Afifi, A.K., Heidger, P.D. (1996). *Histology*. Saunders text and reviews series. Philadelphia, s: 150-151.
- Bergqvist, U., Brix, J., de Gruijl, F., de Seze, R., Hietanen, M., Jeffereys, J.G.R., Lagroye, I., Lotz, G.W., Owen, R.D., Repacholi, M.H., Saunders, R., Tenforde, T.S., Verschaeve, L., Veyret, B. (2003). Review of experimental investigations of EMF biological effects (0-100 kHz)—ICNIRP Standing committee II. In: Matthes, R., McKinley, A., Bernhardt, J., Vecchia, P., Veyret, B. (eds) Exposure to static and low frequency electromagnetic fields, biological effects and health consequences. ICNIRP13/2003, ISBN 3-934994-03-2.
- Bertolino, G., de Freitas Braga, A., de Oliveira Lima do Couto, K., de Brito Junior, L.C., de Araujo, J.E. (2006). Macroscopic and histological effects of magnetic field exposition in the process of tissue reparation in Wistar rats. *Archives of Dermatological Research*, **298**(3):121-126.
- Bianchi, A.T.J., Zwart, R.J., Jeurissen, S.H.M., Moonen-Leusen, H.W.M. (1992). Development of the B and T cell compartments in porcine lymphoid organs from birth to adult life: an immunohistological approach. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **33**: 201-221.
- Bilgehan H. (1999). *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi*. İzmir. Barış Yayınları, s: 81–92.
- Blank, M., Goodman, R. (2008). A mechanism for stimulation of biosynthesis by electromagnetic fields: Charge transfer in DNA and base pair separation. *Journal of Cellular Physiology*, **214**: 20–26.
- Blaschke, V., Micheel, B., Pabst, R., Westermann, J. (1995). Lymphocyte traffic through lymph nodes and Peyer's patches of the rat: B and T cell specific migration patterns within the tissue, and their dependence on splenic tissue. *Cell*

Tissue Research, **282**: 377-386.

- Bloom, W., Fawcett, D.W. (1994). *A textbook of histology*. 12 th ed., Chapman and Hall, Newyork-London, s.: 124-144.
- Bolaman, Z., Müftüoğlu, E., Bilgiç, O., Ertan, S. (1993). *İmmünoloji*. Müftüoğlu E. Ed., İzmir, Saray Medikal Yayıncılık; 1993 s:77–100.
- Boscolo, P., Bergamaschi, A., Di Sciascio, M. B., Benvenuti, F., Reale, M., Stefano, F.D., Conti, P., Gioacchino, M.D. (2001). Effects of low frequency electromagnetic fields on expression of lymphocyte subsets and production of cytokines of men and women employed in a museum. *Science of The Total Environment*, **270**: 13–20.
- Buerke, B., Puesken, M., Müter, S., Weckesser, M., Gerss, J., Heindel, W., Wessling, J. (2010). Measurement accuracy and reproducibility of semiautomated metric and volumetric lymph node analysis in MDCT. *AJR American Journal of Roentgenology*, **195**(4): 979-85.
- Canè, V., Botti P., Soana S. (1993). Pulsed magnetic fields improve osteoblast activity during the repair of an experimental osseous defect. *Journal of Orthopaedic Research*, **11**(5): 664-670.
- Carnaud, C., Lee, D., Donnars, O., Park, S. H., Beavis, A., Koezuka, Y., Bendelac, A. (1999). Cutting edge: cross-talk between cells of the innate immune system: NKT cells rapidly activate NK cells. *The Journal of Immunology*, **163**: 4647–4650.
- Chang, S.H., Reynolds, J.M., Pappu, B.P., Chen, G., Martinez, G.J., Dong, C. (2011). Interleukin-17C promotes Th17 cell responses and autoimmune disease via interleukin-17 receptor E. *Immunity*, **35**: 611–621.
- Chaplin, D.D. (2010). Overview of the Immune Response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **125**: 3-23.
- Chen, Q., Lang, I., Wu, W., Xu, G., Zhang, X., Li, T., Huang, H. (2013). A meta-analysis on the relationship between exposure to ELF-EMFs and the risk of female breast cancer. *PLoS ONE*. **8**(7):e69272.
- Cheng Y., Dai, Y., Zhu, X., Xu, H., Cai, P., Xia, R., Mao, L., Zhao, B-Q., Fan, W. (2015). Extremely low-frequency electromagnetic fields enhance the proliferation and differentiation of neural progenitor cells cultured from ischemic brains. *Neuroreport*, **26**: 896–902.

- Chiabrera, A., Bianco, B., Moggia, E., Kaufman J.J. (2000). Zeeman-Stark modeling of the RF EMF interaction with ligand binding. *Bioelectromagnetics*, **21**(4): 312-324.
- Chiang, H., Wu, R.Y., Shao, B.J., Fu, Y.D., Yao, G.D., Lu, D.J. (1995). Pulsed magnetic field from video display terminals enhances teratogenic effects of cytosine arabinoside in mice. *Bioelectromagnetics*, **16**:70-74.
- Chitnis, T. (2007). The role of CD4 T cells in the pathogenesis of multiple sclerosis. *International review of neurobiology*, **79**: 43-72.
- Cho, S., Lee, Y., Lee, S., Choi, Y.J., Chung, H.W. (2014). Enhanced cytotoxic and genotoxic effects of gadolinium following ELF-EMF irradiation in human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, **37**: 440–447.
- Ciccone, E., Moretta, A., Moretta, L. (1992). Specific Functions Of Human NK Cells. *Immunology Letters*, **31**(2): 99-103.
- Ciombor, D.M., Lester, G., Aaron, R.K., Neame, P., Caterson, B. (2002). Low frequency EMF regulates chondrocyte differentiation and expression of matrix proteins. *Journal of Orthopaedic Research*, **20**: 40–50.
- Clement, O., Luciani, A. (2004). Imaging the lymphatic system: possibilities and clinical applications. *European Radiology*, **14**(8): 1498-507.
- Cocco, P., Dosemeci, M., Heineman, E.F. (1998). Occupational risk factors for cancer of the central nervous system: a case control study on death certificates from 24 US states. *American Journal of Industrial Medicine*, **33**:247-255.
- Colvin, R.B. (2004). Emphatically Lymphatic. *Journal of the American Society of Nephrology*, **15**(3): 827-9.
- Consales C., Merla C., Marino C., Benassi B. (2012). Electromagnetic fields, oxidative stress and neurodegeneration. *International Journal of Cell Biolpgy*, **2012**: 1-16.
- Conti, P., Gigante, G., Cifone, M., Alesse, E., Fieschi, C., Angeletti, P.U. (1985). Effect of electromagnetic fields on two calcium dependent biological systems. *Journal of Bioelectricity*, **4** :227–236.
- Cook, C.M., Thomas, A.W., Prato, F.S. (2002). Human electrophysiological and cognitive effects of exposure to ELF magnetic and ELF modulated RF and microwave fields: a review of recent studies. *Bioelectromagnetics*, **23**(2): 144-157.

- Cook, C.M., Saucier, D.M., Thomas, A.W., Prato, F.S. (2006). Exposure to ELF magnetic and ELF-modulated radiofrequency fields: the time course of physiological and cognitive effects observed in recent studies (2001–2005). *Bioelectromagnetics*, **27**(8): 613-627.
- Corry, D.B., Folkesson, H.G., Warnock, M.L., Erle, D., Matthay, M.A., Wiener-Kronish, J.P., Locksley, R.M. (1996). Interleukin-4, but not interleukin 5 or eosinophils, is required in a murine model of acute airway hyperreactivity. *Journal of Experimental Medicine*, **183**: 109-117.
- Cosmi, L., Maggi, L., Santarlasci, V., Liotta, F., Annunziato, F. (2014). T helper cells plasticity in inflammation. *Cytometry Part A*, **85A**: 36-42.
- Costin, G.E., Birlea, A.S., Norris, A.D. (2012). Trends in wound repair: Cellular and molecular basis of regenerative therapy using electromagnetic fields. *Current Molecular Medicine*, **12**: 14–26.
- Crumpton, M.J., Collins, A.R. (2004). Are environmental electromagnetic elds genotoxic? *DNA Repair*, **3**(10): 1385–7.
- Dalva, K., Beksaç, M. (1999). Mononüklear Hücrelerin Maturasyonu. Ustaçelebi Ş.(Ed) *Temel Ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara : Güneş Kitabevi, s: 153-159.
- D'Angelo, C., Costantini, E., Kamal, M., Reale, M. (2015). Experimental model for ELF-EMF exposure: Concern for human health. *Saudi Journal of Biology Sciences*, **22**: 75–84.
- Davanipour, Z., Sobel E., Bowman J.D., Qian Z., Will A.D. (1997). Amyotrophic lateral sclerosis and occupational exposure to electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics*, **18**: 28-35.
- Davanipour, Z., Tseng, C.C., Lee, P.J., Sobel, E. (2007). A case-control study of occupational magnetic field exposure and Alzheimer's disease: results from the California Alzheimer's disease diagnosis and treatment centers. *BMC Neurology*, **7**:13.
- De Kleijn, S., Bouwens, M., Verburg-van Kemenade, B. L., Cuppen, J.J.M., Ferwerda, G., Hermans, P.W.M. (2011). Extremely low frequency electromagnetic field exposure does not modulate toll-like receptor signaling in human peripheral blood mononuclear cells. *Cytokine*, **54**: 43–50.

- Demers, P.A., Thomas, D.B., Rosenblatt, K.A. (1991). Occupational exposure to electromagnetic fields and breast cancer in men. *American Journal of Epidemiology* **134**(4): 340–347.
- Deno, D.W., Carpenter, D.O. (1994). Sources and characteristics of electric and magnetic fields in the environment. In: Carpenter DO, Ayrapetyan S, editors. Biological effects of electric and magnetic fields. San Diego New York; AcademicPress., s: 3-51.
- De Vita, R., Cavailo, L., Raganella, P., Eleuteri, M.G., Grollino, M.G., Calugi, A. (1995). Effects of 50 Hz magnetic fields on mouse spermatogenesis monitored by flow cytometric analysis. *Bioelectromagnetics*, **16**: 330-334
- Di Giampaolo, L., Di donato, A., Antonucci, A., Paiardini, G., Travaglini, P., Spagnoli, G., Magrini, A., Reale, M., Dadorante, V., Iannaccone, U., Di Sciascio, M.B., Di Gioacchino, M., Boscolo, P., (2006). Follow up study on the immune response to low frequency electromagnetic fields in men and women working in a museum. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, **19**: 37–42.
- Diker, K.S. (1998). *İmmunoloji*. 1. Baskı. Medisan Yayınevi, Ankara, s: 22-59.
- Di Lazzaro, V., Capone, F., Apollonio, F., Borea, P.A., Cadossi, R., Fassina, L., Grassi, C., Liberti, M., Paffi, A., Parazzini, M., Varani, K., Ravazzani, P. (2013). A consensus panel review of central nervous system effects of exposure to low-intensity extremely low-frequency magnetic fields. *Brain Stimulation* **6**(4): 469-476.
- Dinarello, C.A. (1999). IL-18: a TH1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **103**: 11–24
- Dobson J., St Pierre T., Wieser, H.G., Fuller M. (2000). Changes in paroxysmal brainwave patterns of epileptics by weak-field magnetic stimulation. *Bioelectromagnetics*, **21**(2): 94-99.
- Doğan, M.S., Yavaş, M. C., Günay, A., Yavuz, İ., Deveci, E., Akkuş, Z., Tanık, A., Akdağ, M.Z. (2017). The protective effect of melatonin and ganoderma lucidum against the negative effects of extremely low frequency electric and magnetic fields on pulp structure in rat teeth. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, **31**: 979–988.

- Dominici, L., Villarini, M., Fatigoni, C. (2011). Genotoxic hazard evaluation in welders occupationally exposed to extremely low-frequency magnetic fields (ELF-MF). *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **215**(1): 68–75.
- Doyon, P.R., Johansson, O. (2017). Electromagnetic fields may act via calcineurin inhibition to suppress immunity, thereby increasing risk for opportunistic infection: conceivable mechanisms of action. *Medical Hypotheses*, **106**: 71-87.
- Draper, G., Vincent, T., Kroll, M.E., Swanson, J. (2005). Childhood cancer in relation to distance from high voltage power lines in England and Wales: a case-control study. *BMJ*, **330**(7503):1290.
- EHC. (2007). Environmental health criteria 238: extremely low frequency fields. World Health Organization, Geneva. ISBN 978-92-4-157238-5.
- Elbetieha, A., Al-Akhras, M., Darmani, H. (2002). Long term exposure of male and female mice to 50 Hz Magnetic field: effects on fertility. *Bioelectromagnetics*, **23**: 168-172.
- Elgert, K.D.A. (1996). *Immunology: Understanding the Immune System*. New York: Wiley Liss, A John Wiley & Sons Inc Publishing Company, s: 199–217.
- Erdal, N., Gürgül, S., Celik, A. (2007). Cytogenetic effects of extremely low frequency magnetic field on Wistar rat bone marrow. *Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **630**: 69–77.
- Erken E. (1998). Sitokinler. *Aktüel Tıp Dergisi*, **3**: 98–109.
- Eveson, R.W., Timmel, C.R., Brocklehurst, B., Hore, P.J., McLauchlan, K.A. (2000). The effects of weak magnetic fields on radical recombination reactions in micelles. *International Journal of Radiation Biology*, **76**: 1509–1522.
- Fam, W.Z., Mikhal, E.I. (1966). Lymphoma induced in mice chronically exposed to very strong low-frequency electromagnetic field. *Cancer Letters*, **105**: 257–69.
- Fan, W., Qian, F., Ma, Q., Zhang, P., Chen, T., Chen, C., Zhang, Y., Deng, P., Zhou, Z., Yu, Z. (2015). 50 Hz electromagnetic field exposure promotes proliferation and cytokine production of bone marrow mesenchymal stem cells. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, **8**: 7394–7404
- Feldmann, M., Brennan, F.M., Maini, R.N. (1996). Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annual Review of Immunology*, **14**: 397-440.
- Feychting, M., Ahlbom, A., Kheifets, L. (2005). EMF and Health. *Annual Review and Public Health*, **26**: 165-89.

- Finkelman, F.D., Shea-Donohue, T., Goldhill, J., Sullivan, C.A., Morris, S.C., Madden, K.B., Gause, W.C., Urban Jr, J.F. (1997). Cytokine regulation of host defense against parasitic intestinal nematodes. *Annual Review of Immunology*, **15**: 505-533.
- Finnegan, A., Grusby, M.J., Kaplan, C.D., O'Neill, S.K., Eibel, H., Koreny, T., Czipri, M., Mikecz, K., Zhang, J. (2002). IL-4 and IL-12 Regulate Proteoglycan-Induced Arthritis Through Stat-Dependent Mechanisms. *The Journal of Immunology*, **169**: 3345- 3352.
- Fiorani, M., Biagiarelli B., Vetrano F., Guidi G., Dachà M., Stocchi V. (1997). In vitro effects of 50 Hz magnetic fields on oxidatively damaged rabbit red blood cells. *Bioelectromagnetics*, **18**(2): 125-131.
- Flaishon, L., HersHKoviz, R., Lantner, F., Lider, O., Alon, R., Levo, Y., Flavell, R. A., Shachar, I. (2000). Autocrine secretion of interferon gamma negatively regulates homing of immature B cells. *Journal of Experimental Medicine*, **192**: 1381–1388.
- Floderus, B., Persson, T., Stenlund, C., Wennberg, A., Öst, Å., Knave, B. (1993) Occupational exposure to electromagnetic fields in relation to leukemia and brain tumors: a case-control study in Sweden. *Cancer Causes and Control* **4**: 465–476.
- Floderus, B., Stenlund, C., Persson, T. (1999). Occupational magnetic field exposure and site-specific cancer incidence: a Swedish cohort study. *Cancer Causes and Control*, **10**: 323-32.
- Fossiez, F., Djossou, O., Chomarat, P., Flores-Romo, L., Ait-Yahia, S., Maat, C., (1996). T Cell Interleukin-17 Induces Stromal Cells to Produce Proinflammatory and Hematopoietic Cytokines. *Journal of Experimental Medicine*, **183**(6): 2593-603.
- Frahm, J., Lantow, M., Lupke, M., Weiss, D.G., Simko, M. (2006). Alteration in cellular functions in mouse macrophages after exposure to 50 Hz magnetic fields. *Journal of Cellular Biochemistry*, **99**: 168–177.
- Frahm, J., Mattsson, M-O., Simkó, M. (2010). Exposure to ELF magnetic fields modulate redox related protein expression in mouse macrophages. *Toxicology Letters*, **192**: 330–336.

- Frank, A.L., Slesin, N. (1998). Nonionising Radiation. Eds: Maxcy K.F., Rosenau M.J., Last J.M., Wallace, R.B. In: *Maxcy rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine*. 14th edition. Connecticut. Appleton and Lange, p:526-535.
- Franco, G., Perduri, R., Murolo, A. (2008). Health effects of occupational exposure to static magnetic fields used in magnetic resonance imaging: a review. *La Medicina del Lavoro*, **99**:16-28.
- Freitas-Rodríguez, S., Folgueras, A.R., López-Otín, C. (2017). The Role of Matrix Metalloproteinases in Aging: Tissue Remodeling and Beyond. *Biochimica et Biophysica Acta: Molecular Cell Research*, **1864**: 2015-2025.
- FroÈlen, H., Svedenstal, B.M., Paulsson, L.E. (1993). Effects of magnetic fields on the Developing mouse embryo. *Bioelectromagnetics*, **14**:197-204.
- Frucht, D.M., Fukao, T., Bogdan, C., Schindler, H., O'Shea, J.J., Koyasu, S. (2001). IFN-gamma production by antigen-presenting cells: mechanisms emerge. *Trends in Immunology*, **22**: 556–560.
- Fukao, T., Matsuda, S., Koyasu, S. (2000). Synergistic effects of IL-4 and IL-18 on IL-12-dependent IFN-gamma production by dendritic cells. *Journal of Immunology*, **164**: 64–71.
- Fuller, M., Dobson J., Wieser, H.G., Moser S. (1995). On the sensitivity of the human brain to magnetic fields: evocation of epileptiform activity. *Brain Research Bulletin*, **36**(2): 155-159.
- Gaffen, S.L. (2009). Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nature Reviews Immunology*, **9**(8): 556–567.
- Garcia, A.M., Sisternas, A., Hoyos, S.P. (2008). Occupational exposure to extremely low-frequency electric and magnetic fields and Alzheimer disease: a meta-analysis. *International Journal of Epidemiology*, **37**(2): 329-40.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.P. (1997). *Color Textbook of histology*. W.B. Saunders co. Philadelphia, s: 196-249.
- Gessani, S., Belardelli, F. (1998). IFN-gamma expression in macrophages and its possible biological significance. *Cytokine Growth Factor Reviews*, **9**: 117–123.
- Ghione, S., Del Seppia, C., Mezzasalma, L., Emdin, M., Luschi, P. (2004). Human head exposure to a 37 Hz electromagnetic field: effects on blood pressure, somatosensory perception, and related parameters. *Bioelectromagnetics*, **25**(3): 167-175.

- Ghione, S., Del Seppia, C., Mezzasalma, L., Bonfiglio, L. (2005). Effects of 50 Hz electromagnetic fields on electroencephalographic alpha activity, dental pain threshold and cardiovascular parameters in humans. *Neuroscience Letters*, **382**(1–2): 112–117.
- Golab, J., Zagozdzon, Stoklosa, T., Kaminski, R., Kozar, K., Jakobisiak, M. (2000). Direct stimulation of macrophages by IL-12 and IL-18—a bridge too far? *Immunology Letters*, **72**: 153–157.
- Gottwald, E., Sontag, W., Lahni, B., Weibezahn, K.F. (2007). Expression of HSP72 after ELF-EMF exposure in three cell lines. *Bioelectromagnetics*, **28**(7):509–518.
- Gövsä Gökmen, F. (2003). *Sistematik anatomi*. İzmir: İzmir Güven Kitabevi, s: 373–402.
- Grant, G., Cadossi, R., Steinberg, G. (1994). Protection against focal cerebral ischemia following exposure to a pulsed electromagnetic field. *Bioelectromagnetics*, **15**(3): 205–216.
- Greenland, S., Kheifets, L. (2009). Designs and analyses for exploring the relationship of magnetic fields to childhood leukaemia: a pilot project for the Danish National Birth Cohort. *Scandinavian Journal of Public Health*, **37**: 83–92.
- Grunewald, S.M., Werthmann, A., Schnarr, B., Klein, C.E., Brocker, E.B., Mohrs, M., Brombacher, F., Sebald, W., Duschi, A. (1998). An antagonistic IL-4 mutant prevent type I allergy in the mouse: inhibition of the IL-4-13 receptor system completely abrogates humoral immune response to allergen and development of allergic symptoms in vivo. *The Journal of Immunology*, **160**: 4004–4009.
- Gurney, J.G., van Wijngaarden, E. (1999). Extremely low frequency electromagnetic fields (EMF) and brain cancer in adults and children: Review and comment. *Neuro Oncology*, **1**(3): 212–20.
- Guerriero, F., Ricevuti, G. (2016). Extremely low frequency electromagnetic fields stimulation modulates autoimmunity and immune responses: A possible immuno-modulatory therapeutic effect in neurodegenerative diseases. *Neural Regeneration Research*, **11**: 1888–1895.
- Güler, İ., Çetin, T., Özdemir, A.R., Uçar, N. (2010). Türkiye Elektromanyetik Alan Maruziyet Raporu. *Bilgi Teknolojileri ve Gelişim Kurumu*.

- Hajhosseini, L., Khaki, A., Merat, E., Ainehchi, N. (2013). Effect of rosmarinic acid on sertoli cells apoptosis and serum antioxidant levels in rats after exposure to electromagnetic fields. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*, **10**: 477-480.
- Hakansson, N., Floderus, B., Gustavsson, P., Johansen, C., Olsen, J.H. (2002). Cancer incidence and magnetic field exposure in industries using resistance welding in Sweden. *Occupational and Environmental Medicine*, **59**(7):481-6.
- Harrington, LE., Hatton, RD., Mangan, PR., Turner, H., Murphy, TL., Murphy, KM., Weaver, C.T. (2005). Interleukin 17-Producing CD4(+) Effector T Cells Develop Via A Lineage Distinct From The T Helper Type 1 and 2 Lineages. *Nature Immunology*, **6**(11): 1123-1132.
- Harris, D.P., Haynes, L., Sayles, P.C., Duso, D.K., Eaton, S.M., Lepak, N.M., Johnson, L.L., Swain, S.L., Lund, F.E. (2000). Reciprocal regulation of polarized cytokine production by effector B and T cells. *Nature Immunology*, **1**: 475–482.
- Havas, M. (2000). Biological effects of non-ionizing electromagnetic energy: a critical review of the reports by the US National Research Council and the US National Institute of Environmental Health Sciences as they relate to the broad realm of EMF bioeffects. *Environmental Reviews* **8**(3): 173–253.
- Havas, M. (2017). When theory and observation collide: Can non-ionizing radiation cause cancer? *Environmental Pollution*, **221**: 501–505.
- He, Q., Su, G., Liu, K., Zhang, F., Jiang, Y., Gao, J., Liu, L., Jiang, Z., Jin, M., Xie, H. (2017). Sex-specific reference intervals of hematologic and biochemical analytes in Sprague-Dawley rats using the nonparametric rank percentile method. *PLOS ONE*, **12**(12): e0189837.
- Hefeneider, S.H., McCoy, S.L., Hausman, F.A., Christensen, H.L., Takahashi, D., Perrin, N., Bracken, T.D., Shin, K.Y., Hall, A.S. (2001). Long-term effects of 60-Hz electric vs. magnetic fields on IL-1 and IL-2 activity in sheep. *Bioelectromagnetics*, **22**: 170–177.
- Hein, R. (2000). Organization of mucosal lymphoid tissue. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **1**: 1-14.
- Heifets, L., Ahlbom, A., Crespi, C.M., et al. (2010). Pooled analysis of recent studies on magnetic fields and childhood leukaemia. *British Journal of Cancer*, **103**: 1128–35.

- Heusser, K., Telschaft, D., Thoss, F. (1997). Influence of an alternating 3 Hz magnetic field with an induction of 0.1 millitesla on chosen parameters of the human occipital EEG. *Neuroscience Letters*, **239**(2–3): 57-60.
- Hill, D.G. (1988). A longitudinal study of a cohort with past exposure to radar: the MIT Radiation Laboratory follow-up study. Ann Arbor: University of Michigan Dissertation Service.
- Hosseinabadi, M.B., Khanjani, N., Mirzaii, M., Norouzi, P., Atashi, A. (2019). DNA damage from long-term occupational exposure to extremely low frequency electromagnetic fields among power plant workers. *Mutation Research- Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **846**: 403079.
- Huang, W., Na, L., Fidel, P., Schwarzenberger, P. (2004). Requirement of interleukin-17A for systemic anti-Candida albicans host defense in mice. *The Journal of Infectious Diseases*, **190**: 624–31.
- Huuskonen, H., Juutilainen, J., Komulainen, H. (1993). Effects of low frequency magnetic fields on fetal development in rats. *Bioelectromagnetics*, **14**:205-213.
- IARC. (2002). *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Non-ionizing radiation, Part 1:static and extremely low-frequency (ELF) electric and magnetic fields. Lyon; International Agency for Research on Cancer.
- ICNIRP - International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. (2001). Standing Committee on Epidemiology: Ahlbom A, Cardis E, Green A, Linet M, Savitz D, Swerdlow A. Review of the Epidemiology Literature on EMF and Health. *Environmental Health Perspectives*, **109**(S): 911-33.
- Ikeda, K., Shinmura, Y., Mizoe, H., Yoshizawa, H., Yoshida, A., Kanao, S., Sumitani, H., Hasebe, S., Motomura, T., Yamakawa, T., Mizuno, F., Otaka, Y., Hirose, H. (2003). No effects of extremely low frequency magnetic fields found on cytotoxic activities and cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Bioelectromagnetics*, **24**: 21–31.
- Illera, V.A., Perandones, C.E., Stunz, L.L., Mower, D.A., Ashman, R.F. (1993). Apoptosis in splenic B lymphocytes. Regulation by protein kinase C and IL-4. *The Journal of Immunology*, **151**: 2965-2973.
- Irgens, A., Kruger, K., Ulstein, M. (1999). The effect of male occupational exposure in infertile couples in Norway. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, **41** (12): 1116-1120.

- Isaacs, A., Lindermann, J. (1957). Virus interference. I. The interferon. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences*, **147**: 258–267.
- Ishigame, H., Kakuta, S., Nagai, T., Kadoki, M., Nambu, A., Komiyama, Y., Fujikado, N., Tanahashi, Y., Akitsu, A., Kotaki, H. (2009). Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucoepithelial bacterial infection and allergic responses. *Immunity*, **30**: 108–119.
- Jadidi, M., Firoozabadi, S.M., Rashidy-Pour, A., Sajadi, A.A., Sadeghi, H., Taherian, A.A. (2007). Acute exposure to a 50 Hz magnetic field impairs consolidation of spatial memory in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, **88**: 387–92.
- Jin, W. and Dong, C. (2013). Il-17 cytokines in immunity and inflammation. *Emerging Microbes and Infections*, **2**: e60.
- Johansen, C., Raaschou Nielsen, O., Olsen, J.H., Schüz, J. (2007). Risk for leukaemia and brain and breast cancer among Danish utility workers: a second follow-up. *Occupational and Environmental Medicine*, **64**(11):782-4.
- Jonai, H., Villanueva, M., Yasuda, A. (1997). Cytokine profile of human peripheral blood mononuclear cells exposed to 50 Hz EMF. *Occupational Health and Industrial Medicine*, **36**: 359–368.
- Jonasch, E., Haluska, F.G. (2001). Interferon in oncological practice: review of interferon biology, clinical applications, and toxicities. *The Oncologist*, **6**: 34–55.
- Jorgensen, W.A., Frome, B.M., Wallach, C. (1994). Electrochemical therapy of pelvic pain: effects of pulsed electromagnetic fields (PEMF) on tissue trauma. *The European Journal of Surgery Supplement*, **574**: 83-86.
- Jung, I.-S., Kim, H.-J., Noh, R., Kim, S.-C., Kim, C.-W. (2014). Effects of extremely low frequency magnetic fields on NGF induced neuronal differentiation of PC12 cells. *Bioelectromagnetics*, **35**: 459–469.
- Juutilainen, J., Huuskonen, H., Komulainen, H. (1997). Increased resorptions in CBA mice exposed to low-frequency magnetic fields: an attempt to replicate earlier observations. *Bioelectromagnetics*, **18**:410-417.
- Karabakhtsian, R., Broude, N., Shalts, N., Kochlatyi, S., Goodman, R., Henderson, A.S. (1994). Calcium is necessary in the cell response to EM fields. *FEES Letters*, **349**:1-6.

- Karipidis, K.K., Benke, G., Sim, M.R., Yost, M., Giles, G. (2007). Occupational exposure to low frequency magnetic fields and the risk of low grade and high grade glioma. *Cancer Causes and Control*, **18**:305–313.
- Kavet, R., Stuchly, M.A., Bailey, W.H., Bracken, T.D. (2001). Evaluation of biological effects, dosimetric models, and exposure assessment related to ELF electric- and magnetic-field guidelines. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, **16**: 1118-1138.
- Kay, A.B. (2001). Allergy and allergic diseases. *The New England Journal of Medicine*, **344**: 30- 37.
- Khaki, A.A., Khaki, A., Ahmadi, S.S. (2016). The effect of non-ionizing electromagnetic field with a frequency of 50 Hz in rat ovary: a transmission electron microscopy study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, **14**(2): 125-132.
- Khaki, A.A., Tubbs, R.S., Shoja, M.M., Rad, J.S., Khaki, A., Farahani, R.M., et al. (2006). The effects of an electromagnetic field on the boundary tissue of the seminiferous tubules of the rat: a light and transmission electron microscope study. *Folia Morphol (Warsz)*, **65**: 188-194.
- Khaki, A.A., Zarrintan, S., Khaki, A., Zahedi, A. (2008). The effects of electromagnetic field on the microstructure of seminal vesicles in rat: a light and transmission electron microscope study. *Pakistan Journal of Biological Science*, **11**: 692-701.
- Kheifets, L.I., Greenberg, R.S., Neutra, R.R., Hester, G.L., Poole, C.L., Rall, D.P., et al. (2001). Electric and Magnetic Fields and Cancer: Case Study. *American Journal of Epidemiology*, **154**(S12): 50-9.
- Kheifets, L., Gilbert, E.S., Sussman, S.S., Guenel, P., Sahl, J.D., Savitz, D.A., Theriault, G. (1999). Comparative analyses of the studies of magnetic fields and cancer in electric utility workers: study from France, Canada and the United States. *Occupational and Environmental Medicine* **56**:567-574.
- Kheifets, L., Monroe, J., Vergara, X., Mezei, G., Afifi, A.A. (2008). Occupational electromagnetic fields and leukemia and brain cancer: an update to two meta-analyses. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, **50**:677–688.
- Kheifets, L., Sahl, J.D., Shimkhada, R., Repacholi, M.H. (2005). Developing Policy in the Face of Scientific Uncertainty: Interpreting 0.3 μ T or 0.4 μ T cut points from EMF Epidemiologic Studies. *Risk Analysis*, **25**(4): 927-35.

- Kılıç, S., Aydoğdu, H. (2004). Di George Sendromu. *Güncel Pediatri*, **6**(2): 98-100.
- Kim, J., Yenari, M. (2017). Heat Shock Proteins and the Stress Response. In book: *Primer on Cerebrovascular Diseases - 2 edition*, Elsevier Inc.
- Kim, S.J., Jang, Y.W., Hyung, K.E., Lee, D.K., Hyun, K.H., Jeong, S.H., Min, K.H., Kang, W., Jeong, J.H., Park, S-Y., Hwang, K.W. (2017). Extremely low-frequency electromagnetic field exposure enhances inflammatory response and inhibits effect of antioxidant in RAW 264.7 cells. *Bioelectromagnetics*, **38**: 374–385.
- Kirschvink, J.L. (1992). Uniform magnetic fields and double wrapped coil systems: Improved Techniques for the design of bioelectromagnetic experiments, *Bioelectromagnetics*, **13**: 401- 411.
- Koeman, T., A van den Brandt, P., Slottje, P., Schouten, L.J., Goldbohm, R.A., Kromhout, H., Vermeulen, R. (2014). Occupational extremely low frequency magnetic field exposure and selected cancer outcomes in a prospective Dutch cohort. *Cancer Causes and Control*, **25**(2):203-14.
- Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., Kuchroo, V.K. (2009). IL-17 and Th17 cells. *Annual Review of Immunology*, **27**:485–517.
- Kowalczyk, C.I., Robbins, L., Thomas, J.M., Butlnd, B.K., Saunders, R.D. (1994). Effects of prenatal exposure to 50 Hz magnetic fields on development in mice I. Implantation rate and fetal development. *Bioelectromagnetics*, **15**: 349-361.
- Kuby, H. (1997). Overview of the immune system and organs of the immune system. In *Immunology 3rd Ed. W.H. Freeman and Company*, USA, s: 1-83.
- Lai, A.Y., Kondo, M. (2008). T and B lymphocyte differentiation from hematopoietic stem cell. *Seminars in Immunology*, **20**: 207–21.
- Lai, H. (2014). Extremely-Low Frequency EMF Free Radical Studies. Available at: <http://www.bioinitiative.org/research-summaries/> (accessed March 2022).
- Lai, H., Singh, N.P. (2004). Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat, *Environmental Health Perspective*, **112**: 687-694.
- Lai, J., Zhang, Y., Liu, X., Zhang, J., Ruan, G., Chaugai, S., Chen, C., Wang, D.W. (2016). Effects of extremely low frequency electromagnetic fields (100μT) on behaviors in rats. *Neurotoxicology*, **52**: 104–13.
- Landsverk, T., Halleraker, M., Aleksandersen, M., McClure, S., Hein, W., Nicander, L. (1991). The intestinal habitat for organized lymphoid tissue in ruminants;

- comparative aspects of structure, function and development. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **28**: 1-16.
- Lappin, M.S., Lawrie F.W., Richards T.L., Kramer E.D. (2003). Effects of a pulsed electromagnetic therapy on multiple sclerosis fatigue and quality of life: a double-blind, placebo controlled trial. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, **9**(4): 38-48.
- Lee, J.S., Lee, J.J., Seo, J.S. (2005). HSP70 deficiency results in activation of c-jun N-terminal kinase, extracellular signal-regulated kinase, and caspase-3 in hyperosmolarity-induced apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, **280**: 6634–6641.
- Lee, Y.J., Hyung, K.E., Yoo, J.S., Jang, Y.W., Kim, S.J., Lee, D.I., Lee, S.J., Park, S-Y., Jeong, J.H., Hwang, K.W. (2016). Effects of exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields on the differentiation of Th17 T cells and regulatory T cells. *General Physiology and Biophysics*, **35**: 487–495.
- Lewis, R.C., Hauser, R., Maynard, A.D., et al. (2016). Exposure to power-frequency magnetic fields and the risk of infertility and adverse pregnancy outcomes: Update on the human evidence and recommendations for future study designs. *Journal of Toxicology and Environmental Health, B*, **19**: 29–45.
- Li, D.K., Odouli, R., Wi, S., Janevic, T., Golditch, I., Bracken, T. D., Senior, R., Rankin, R., Iriye, R. (2002). A Population-Based Prospective Cohort Study of Personal Exposure to Magnetic Fields during Pregnancy and the Risk of Miscarriage. *Epidemiology*, **13**(1): 9-20.
- Li, H., Chen, J., Huang, A., Stinson, J., Heldens, S., Foster, J., Dowd, P., Gurney, A.L., Wood, W.I. (2000). Cloning and characterization of IL-17B and IL-17C, two new members of the IL-17 cytokine family. *Proceedings of National Academy of Sciences*, **97**: 773– 778.
- Li, Q., Engelhardt, J. F. (2006). Interleukin-1 β induction of NF κ B is partially regulated by H₂O₂-mediated activation of NF κ B-inducing kinase. *Journal of Biological Chemistry*, **281**: 1495–1505.
- Lin, R.S., Dischinger, P.C., Conde, J., Farrell, K.P. (1985). Occupational exposure to electromagnetic fields and the occurrence of brain tumors: an analysis of possible associations. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, **27**:413-19.

- Lin, W.W., Karin, M. (2007). A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation and cancer. *Journal of Clinical Investigation*, **117**: 1175–1183.
- Locati, M., Mantovani, A., Sica, A. (2013). Macrophage activation and polarization as an adaptive component of innate immunity. *Advances in Immunology*, **120**: 163–184.
- Luo, X., Jia, S., Li, R., Gao, P., Zhang, Y. (2016). Occupational exposure to 50 Hz magnetic fields does not alter responses of inflammatory genes and activation of splenic lymphocytes in mice. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, **29**: 277–291.
- Lupke, M., Frahm, J., Lantow, M., Maercker, C., Remondini, D., Bersani, F., Simko, M. (2006). Gene expression analysis of ELF-MF exposed human monocytes indicating the involvement of the alternative activation pathway. *Biochimica Biophysica Acta: Molecular Cell Research*, **1763**: 402–412.
- Lutz, M.B., Schnare, M., Menges, M., Rossner, S., Rollinghoff, M., Schuler G, Gessner, A. (2002). Differential functions of IL-4 receptor types I and II for dendritic cell maturation and IL-12 production and their dependency on GM-CSF. *The Journal of Immunology*, **169**: 3574-3580.
- Lyskov, E.B., Juutilainen J., Jousmaki V., Partanen J., Medvedev S., Hanninen O. (1993). Effects of 45-Hz magnetic fields on the functional state of the human brain. *Bioelectromagnetics*, **14**(2): 87-95.
- Ma, Q., Chen, C., Deng, P., Zhu, G., Lin, M., Zhang, L., Xu, S., He, M., Lu, Y., Duan, W., et al. (2016). Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields Promote *In Vitro* Neuronal Differentiation and Neurite Outgrowth of Embryonic Neural Stem Cells via Up-Regulating TRPC1. *PLoS One*, **11**: e0150923.
- Ma, Q., Deng, P., Zhu, G., Liu, C., Zhang, L., Zhou, Z., Luo, X., Li, M., Zhong, M., Yu, Z., Chen, c., Zhang, Y. (2014). Extremely low-frequency electromagnetic fields affect transcript levels of neuronal differentiation-related genes in embryonic neural stem cells. *PLoS One*, **9**(3): e90041–e90041.
- Maccà, I., Scapellato, M.L., Perini, M., Virgili, A., Saia, B., Bartolucci, G.B. (2002). Occupational exposure to electromagnetic fields in physiotherapy departments. *Giornale Italiano di Medicina Lavoro ed Ergonomi*, **24**: 444-446.
- Madjid Ansari, A., Farzampour, S., Sadr, A., Shekarchi, B., Majidzadeh, K. (2016). Effects of short term and long term extremely low frequency magnetic field on

- depressive disorder in mice: involvement of nitricoxide path-way. *Life Sci*, **146**:52–7.
- Madkan, A., Blank, M., Elson, E., Chou, K-C., Geddis, M.S., Goodman, R. (2009). Steps to the clinic with ELF EMF. *Natural Science*, **1**: 157–165.
- Maes, A., Anthonissen, R., Verschaeve, L. (2017). On the alleged association between extremely low frequency magnetic fields exposures and an increased risk of Alzheimer's disease. *Studies*, **1**: 151–154.
- Magdaleno-Adame, S., Olivares-Galvan, JC., Campero-Littlewood, E., Escarela-Perez, R. (2010). Coil Systems to Generate Uniform Magnetic Field Volumes. *COMSOL Conference Boston*.
- Mahaki, H., Tanzadehpanah, H., Jabarivasal, N., Sardanian, K., zamani, A. (2019). A riview on extremely low frequency electromagnetic field (ELF-EMF) on cytokines of innate and adaptive immunity. *Electromagnetic Biology and Medicine*, **38**(1): 84-95.
- Mahdavinejad, L., Alahgholi-Hajibehzad, M., Eftekharian, M.M., Zaerieghane, Z., Salehi, I., Hajilooi, M., Mahaki, H., Zamani, A. (2018). Extremely low frequency electromagnetic fields decrease serum levels of interleukin-17, transforming growth factor- β and downregulate Foxp3 expression in the spleen. *Journal of Interferon Cytokine Research*, **38**: 457–462.
- Mannerling, A.C., Simko, M., Mild, K.H., Mattsson, M.O. (2010). Effects of 50-Hz magnetic field exposure on superoxide radical anion formation and HSP70 induction in human K562 cells. *Radiation and Environmental Biophysics*, **49**(4): 731–741.
- Marcilio, I., Gouveia, N., Filho, M.L.P., Kheifets, L. (2011). Adult mortality from leukemia, brain cancer, amyotrophic lateral sclerosis and magnetic fields from power lines: a case-control study in Brazil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. **14**(4):580-8.
- Marino, A.A., Bell, G.B., Chesson, A. (1996). Low-level EMFs are transduced like other stimuli. *Journal of Neurological Science*, **144**(1–2): 99-106.
- Markkanen, A. (2009). Effects of electromagnetic fields on cellular responses to agents causing oxidative stress and DNA damage. Kuopio University Publications C. Natural and Environmental Sciences vol 253, 59 p. ISBN 978-951-27-1191-8.

- Markov, M.S. (2007). Expanding use of pulsed electromagnetic field therapies. *Electromagnetic Biology and Medicine*, **26**(3): 257-274.
- Martiny, K., Lunde M., Bech P. (2010). Transcranial low voltage pulsed electromagnetic fields in patients with treatment-resistant depression. *Biological Psychiatry*, **68**(2): 163-169.
- Mattsson, M.O., Simko', M. (2014). Grouping of experimental conditions as an approach to evaluate effects of extremely low-frequency magnetic fields on oxidative response in in vitro studies. *Frontiers in Public Health*, **2**: 1–11.
- Merrit, R., Purcell, C., Stroink, G. (1983). Uniform magnetic field produced by three, four, and five square coils. *Review of Scientific Instruments*, **54**: 879–882.
- Mevissen, M., Buntrnkotter, S., Loscher, W. (1994). Effects of static and time-varying 50 Hz) magnetic fields on reproduction and fetal development in rats. *Teratology*, **50**:229-237.
- Moore, K.L., Dalley, A.F. (2007). *Kliniğe yönelik anatomi*. 4üncü Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, s: 870-1.
- Moore, P.F., Rossitto, V.P., Danilenko, M.D., Wielenga, JJ., Raff, F.R., Severns, E. (1992). Monoclonal antibodies specific for canine CD4 and CD8 define functional T lymphocyte subsets and high-density expression of canina neutrophils. *Tissue Antigens*, **40**: 75-85.
- Moretti, M., Villarini, M., Simonucci, S., Fatigoni, C., Scassellati-Sforzolini, G., Monarca, S., Pasquini, R., Angelucci, M., Strappini, M. (2005). Effects of co-exposure to extremely low frequency (ELF) magnetic fields and benzene or benzene metabolites determined in vitro by the alkaline comet assay. *Toxicology Letters*, **157**(2): 119–128.
- Morandi, M.A., Del Rio, J.A., Caren, R.P., Caren, L.D. (1994). Effects of short term exposure to 60 Hz electromagnetic fields on interleukin 1 and interleukin 6 production by peritoneal exudate cells. *Life Science*, **54**: 731–738.
- Morgan, R.W., Kelsh, M.A., Zhao, K., Exuzides, K.A., Heringer, S., Negrete, W. (2000). Radiofrequency exposure and mortality from cancer of the brain and lymphatic/hematopoietic systems. *Epidemiology*, **11**: 118-127.
- Morita, Y., Yang, J., Gupta, R., Shimizu, K., Shelden, E.D., Endres, J., Mule, J.J., McDonagh, K.T., Fox, D.A. (2001). Dendritic cells genetically engineered to

- express IL-4 inhibit murine collagen-induced arthritis. *Journal of Clinical Investigation*, **107**: 1275-1284.
- Mosmann, T.R., Coffman, R.L. (1989). Th1 and Th2 cells: Different pattern of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annual Review of Immunology*, **7**: 145-173.
- Munder, M., Mallo, M., Eichmann, K., Modolell, M. (1998). Murine macrophages secrete interferon gamma upon combined stimulation with interleukin (IL)-12 and IL-18: a novel pathway of autocrine macrophage activation. *Journal of Experimental Medicine* **187**: 2103–2108.
- Munder, M., Mallo, M., Eichmann, K., Modolell, M. (2001). Direct stimulation of macrophages by IL-12 and IL-18 —a bridge built on solid ground. *Immunology Letters*, **75**: 159–160.
- Murthy, K., Devi, V.S. (2012). Morphological features of human thymus glands from fetal to old age. *International Journal of Biological and Medical Research*, **3**(2): 1502-5.
- Müller, S.M., Stolt, C.C., Terszowski, G., Blum, C., Amagai, T., Kessaris, N., Iannarelli, P., Richardson, W.D., Wegner, M., Rodewald, H.R. (2008). Neural crest origin of perivascular mesenchyme in the adult thymus. *Journal of Immunology*, **180**: 5344–5351.
- Nelms, K., Keegan, A.D., Zamorano, J., Ryan, J.J., Paul, W.E. (1999). The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions. *Annual Review of Immunology*, **17**: 701-738.
- Niehaus, M., BruÈggemeyer, H., Behre, H.M., Lerchl, A. (1997). Growth retardation, testicular stimulation, and increased melatonin synthesis by weak magnetic fields (50 Hz) in Diungarian hamsters, *Phodopus sungorus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **234**: 707-711.
- Nishiruma, I., Oshima, A., Shibuya, K., Negishi, T. (2011) Lack of teratological effects in rats exposed to 20 or 60 kHz magnetic fields. *Birth Defects Research*, **92**: 469-477.
- Nordström, S., Birke, E., Gustavsson, L. (1983). Reproductive hazards among workers at high voltage substations. *Bioelectromagnetics*, **4**: 91-101.
- Onori, P., Franchitto, A., Sferra, R., Vetusch, A., Gaudio, E. (2001). Peyer's patches epithelium in the rat: A morphological, immunohistochemistry, and

- morphometrical study. *Digestive Diseases and Sciences*, **46**: 1095-1104.
- O'Quinn, D., Palmer, M., Lee, Y., Weaver, C. (2008). Emergence of the Th17 pathway and its role in host defense. *Advances in Immunology*, **99**: 115–63.
- Oppenheim, J.J., Ruscetti, F.W. (2001). *Cytokines*. In; Parslaw TG, Stites OP, Terr AI, Imoden JB (eds). *Lange Medical Immunology*. 10nd Ed. New York: Lange Medical books/Mc Graw Hill, s: 148-167.
- Ossenkopp, K.P., Koltek, W.T., Persinger, M.A. (1972). Prenatal exposure to an extremely low frequency-low intensity rotating magnetic field and increases in thyroid and testicular weight in rats. *Developmental Psychobiology*, **59**(3): 275-285.
- Otaka, Y., Chida, T., Yamagishi, Y., et al. (2002). Carcinogenicity test in B6C3F1 mice after parental and prenatal exposure to 50 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, **23**: 206–13.
- Otani, T., Nakamura, S., Toki, M., Motoda, R., Kurimoto, M., Orita, K. (1999). Identification of IFN-gamma-producing cells in IL-12/IL-18- treated mice. *Cellular Immunology*, **198**: 111–119.
- Pak, N.K. (2001). Elektromanyetik dalgalar ve insan sağlığı sıkça sorulan sorular ve yanıtları. *Tübitak Bilten*.
- Pall, M.L. (2014). Electromagnetic field activation of voltage-gated calcium channels: Role in therapeutic effects. *Electromagnetic Biology and Medicine*, **33**: 251.
- Palomares, O., Martin-Fontecha, M., Lauener, R., Traidl-Hoffmann, C., Cavkaytar, O., Akdis, M., Akdis, C.A. (2014). Regulatory T cells and immune regulation of allergic diseases: Roles of IL-10 and TGF- β . *Genes and Immunity*, **15**: 511-20.
- Papi, F., Ghione, S., Rosa, C., Del Seppia, C., Luschi, P. (1995). Exposure to oscillating magnetic fields influences sensitivity to electrical stimuli. II. Experiments on humans. *Bioelectromagnetics*, **16**(5): 295-300.
- Park, H., Li, Z., Yang, X.O., Chang, S.H., Nurieva, R. (2005). A Distinct Lineage Of CD4 T Cells Regulates Tissue Inflammation By Producing Interleukin 17. *Nature Immunology*, **6**: 1133-41.
- Patruno, A., Ferrone, A., Costantini, E., Franceschelli, S., Pesce, M., Speranza, L., Amerio, P., D'Angelo, C., Felaco, M., Grilli, A., Reale, M. (2018). Extremely

- low-frequency electromagnetic fields accelerates wound healing modulating MMP-9 and inflammatory cytokines. *Cell Proliferation*, **51**: e12432.
- Paul, W.E. (1991). Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood*, **77**: 1859-1870.
- Pesce, M., Patruno, A., Speranza, L., Reale, M. (2013). Extremely low frequency electromagnetic field and wound healing: Implication of cytokines as biological mediators. *European Cytokine Network*, **24** :1–10.
- Peter, J., Delves, D., Ivan, M. (2000). The immune system. *The New England Journal of Medicine*, **343**: 37-49.
- Petrie, H.T. (2002) Role of thymic organ structure and stromal composition in steady-state postnatal T-cell production. *Immunology Reviews*, **189**: 8-20.
- Pien, G.C., Satoskar, A.R., Takeda, K., Akira, S., Biron, C.A. (2000). Cutting edge: selective IL-18 requirements for induction of compartmental IFN-gamma responses during viral infection. *Journal of Immunology*, **165**: 4787– 4791.
- Poole, C., Ozonoff, D. (1996). Magnetic fields and childhood cancers. *IEEE Engineering in Medicine and Biology*, **15**(4): 41-49.
- Prato, F.S., Carson, J.J., Ossenkopp, K.P., Kavaliers, M. (1995). Possible mechanisms by which extremely low frequency magnetic fields affect opioid function. *The Journal of Federation of American Societies for Experimental Biology*, **9**(9):807-814.
- Punt, J.A., Singer, A. (1997). T cell development. In: Rich RR, Fleisher TA, Schwartz BD, Shearer WT, Strober W (eds). *Clinical Immunology Principles and Practice* 1nd Ed. St Louis, Mosby, s: 157-176.
- Ramirez-Carrozzi, V., Sambandam, A., Luis, E., Lin, E., Jeet, S., Lesch, J., Hacjney, J., Kim, J., Zhou, M., Lai, J., Modrusan, Z., Sai, T., Lee, W., Xu, M., Caplazi, P., Diehl, L., de Voss, J., Balazs, M., Gonzales Jr, L., Singh, H., Ouyang, W., Pappu, R. (2011). IL-17C regulates the innate immune function of epithelial cells in an autocrine manner. *Nature Immunology*, **12**: 1159– 1166.
- Reale, M., De Lutiis, M. A., Patruno, A., Speranza, L., Felaco, M., Grilli, A., Macri, M.A., Comani, S., Conti, P., Luzio, S.D. (2006). Modulation of MCP-1 and iNOS by 50-Hz sinusoidal electromagnetic field. *Nitric Oxide*, **15**: 50–57.

- Ren, Y., Chen, J., Miao, M., Li, D., Liang, H., Wang, Z., Yang, F., Sun, X., Yuan, W. (2019). Prenatal exposure to extremely low frequency magnetic field and its impact on fetal growth. *Environmental Health*, **18**: 6.
- Roccabianca, P., Woo, J.C., Moore, P.F. (2000). Characterization of the diffuse mucosal associated lymphoid tissue of feline small intestine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **75**: 27-42.
- Rollwitz, J., Lupke, M., Simkó, M. (2004). Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow-derived promonocytes and macrophages. *Biochimica Et Biophysica Acta: General Subjects*, **1674**: 231–238.
- Rosado, M.M., Simkó, M., Mattsson, M-O., Pioli, C. (2018). Immune-modulating perspectives for low frequency electromagnetic fields in innate immunity. *Frontiers in Public Health*, **6**:85.
- Rouvier, E., Luciani, M.F., Matte'I, M.G., Denizot, F., Golstein, P. (1993). CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU- rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *Journal of Immunology*, **150**(12): 5445–5456.
- Rovenska, E., Rovenski, J. (2011). Lymphatic vessels: structure and function. *The Israel Medicine Association Journal*, **13**(12): 762-8.
- Röösli, M. (2008). Radiofrequency electromagnetic field exposure and non-specific symptoms of ill health: a systematic review. *Environmental Research*, **107**(2): 277-87.
- Ruacan, Ş. (1996). *Lenf nodülleri ve dalak hastalıkları*. In: Temel iç hastalıkları. İlçin G, Ünal S, Biberoglu K, Akalin S, Süleymanlar G (Editörler). İstanbul, s: 1336-41.
- Ruiz-Gómez, M.J., Martínez-Morillo, M. (2009). Electromagnetic fields and the induction of DNA strand breaks. *Electromagnetic Biology and Medicine*, **28**(2): 201–214.
- Ryan, B.M., Symanski, R.R., Pomerans, L.E., Johnson, T.R., Gauger, J.R., McCormick, D.L. (1999). Multigeneration reproduction toxicity assessment of 60 Hz magnetic field using a continuous breeding protocol in rats. *Teratology*, **56**: 159-162.
- Sağlam , M., Aştı, RN., Özer, A. (2001). *Genel Histoloji*. Yorum Basın Yayın Sanayi

- Ltd., Ankara. s: 212-216.
- Sakaguchi, S. (2006). Regulatory T cells. *Seminars in immunopathology*, **28**: 1-2.
- Salazar-Mather, T.P., Hamilton, T.A., Biron, C.A. (2000). A chemokine- to-cytokine- to-chemokine cascade critical in antiviral defense. *The Journal of Clinical Investigation*, **105**: 985–993.
- Salehi, I., Sani, K. G., Zamani, A. (2013). Exposure of rats to extremely low-frequency electromagnetic fields (ELF-EMF) alters cytokines production. *Electromagnetic Biology and Medicine*, **32**: 1–8.
- Saunders, R.D., Jefferys, J.G. (2007). Neurobiological basis for ELF guidelines. *Health Physics*, **92**(6): 596-603.
- Savitz D.A., Checkoway H., Loomis, D.P. (1998). Magnetic field exposure and neurodegenerative disease mortality among electric utility workers. *Epidemiology*, **9**: 398-404.
- Savitz, D.A., Wachtel, H., Barnes, F.A., John, E.M., Tvrđik, J.G. (1988). Case-Control Study of Childhood Cancer and Exposure to 60 Hz Magnetic Fields. *American Journal of Epidemiology*, **128**(1): 21-38.
- SCENIHR—Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (2015). Potential health effects of exposure to electromagnetic fields (EMF).
- Schindler, H., Lutz, M.B., Rollinghoff, M., Bogdan, C. (2001). The production of IFN- γ by IL-12/IL-18-activated macrophages requires STAT4 signaling and is inhibited by IL-4. *Journal of Immunology*, **166**: 3075–3082.
- Schmiedel, S., Blettner, M. (2010). The association between extremely low-frequency electromagnetic fields and childhood leukaemia in epidemiology: enough is enough? *British Journal of Cancer*, **103**:931–932.
- Schreier, N., Huss, A., Rösli, M. (2006). The prevalence of symptoms attributed to electromagnetic field exposure: a cross-sectional representative survey in Switzerland. *Sozial und Präventivmedizin/Social and Preventive Medicine*, **51**: 202-209.
- Schüz, J., Ahlbom, A. (2008). Exposure to electromagnetic fields and the risk of childhood leukaemia: a review. *Radiation Protection Dosimetry*, **132**: 202e211.
- Seder, R.A., Paul, W.E., Davis, M.M., De St Groth, B.F. (1992). The presence of interleukin-4 during in vitro priming determines the lymphokine- producing

- potential of CD4⁺ T cells from T cell receptor transgenic mice. *Journal of Experimental Medicine*, **179**: 1091-1098.
- Seifpanahi-Shabani, H., Abbasi, M., Salehi, I., Yousefpour, Z., Zamani, A.R. (2016). Long-term exposure to extremely low frequency electromagnetic field and melatonin production by blood cells. *International Journal of Occupational and Environmental Medicine*, **7**: 193–807.
- Selvam, R., Ganesan, K., Raju, K. N., Gangadharan, A.C., Manohar, B.M., Puvanakrishnan, R. (2007). Low frequency and low intensity pulsed electromagnetic field exerts its antiinflammatory effect through restoration of plasma membrane calcium ATPase activity. *Life Sciences*, **80**: 2403–2410.
- Sen, G.C. (2001). Viruses and interferons. *Annual Review of Microbiology*, **55**: 255–281.
- Sharon, J. (1998). *Basic Immunology*. Baltimore: Williams & Wilkins A Waverly Company, s: 107–123.
- Shi, B., Farboud, B., Nuccitelli, R., Isseroff, R.R. (2003). Power-line frequency electromagnetic fields do not induce changes in phosphorylation, localization, or expression of the 27 kilodalton heat shock protein in human keratinocytes. *Environmental Health Perspective*, **111**: 281.
- Simkó, M. (2004). Induction of cell activation processes by low frequency electromagnetic fields. *The Scientific World Journal*, **4**: 4–22.
- Simkó, M., Mattssonwalleczek, M.O. (2004). Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro: Possible immune cell activation. *Journal of Cellular Biochemistry*, **93**: 83–92.
- Singh, V., Aballay, A. (2006). Heat-shock transcription factor (HSF)-1 pathway required for *Caenorhabditis elegans* immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**: 13092–13097.
- Sobel, E., Davanipour, Z., Sulkava, R., Erkinjuntti, T., Wikstrom, J., Henderson, V.W., Buckwalter, G., Bowman, J.D., Lee, P.J. (1995). Occupations with exposure to electromagnetic fields: a possible risk factor for Alzheimer's disease. *American Journal of Epidemiology*, **142**: 515-524.
- Song, X., Zhu, S., Shi, P., Liu, Y., Shi, Y., Levin, S.D., Qian, Y. (2011). IL-17RE is the functional receptor for IL-17C and mediates mucosal immunity to infection with intestinal pathogens. *Nature Immunology*, **12**: 1151–1158.

- Sorahan, T. (2012). Cancer incidence in UK electricity generation and transmission workers, 1973-2008. *Occupational Medicine*, **62**(7):496-505.
- Starkov, A.A., Chinopoulos, C., Fiskum, G. (2004). Mitochondrial calcium and oxidative stress as mediators of ischemic brain injury. *Cell Calcium*, **36**: 257–264.
- Starnes, T., Broxmeyer, H.E., Robertson, M.J., Hromas, R. (2002). Cutting edge: IL-17D, a novel member of the IL-17 family, stimulates cytokine production and inhibits hemopoiesis. *The Journal of Immunology*, **169**: 642–646.
- Steiniger, B., Barth, P., Herbst, B., Hartnell, A., Crocker, P.R. (1997). The species-specific structure of microanatomical compartments in the human spleen: strongly sialoadhesin-positive macrophages occur in the perifollicular zone, but not in the marginal zone. *Immunology*, **92**(2): 307-16.
- Steinman, L. (2007). A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nature Medicine*, **13**: 139-145.
- Stites, D.P., Terr, A.I. (1991). *Basic and Clinical Immunology*. 7th Ed., Appleton&Lange, Connecticut, s: 16-77.
- Stockinger, B., Veldhoen, M. (2007). Differentiation and Function of Th17 T Cells. *Current Opinion in Immunology*, **19**: 281-286.
- Suciu-foca, N., Reed, E., Rubinstein, P., Mackenzie, W., King, D.W. (1985). A late differentiation antigen associated with the helper inducer functions of human T cell. *Nature*, **318**: 465-467.
- Sun, L., Chen, L., Bai, L., Xia, Y., Yang, X., Jiang, W., Sun, W. (2018). Reactive oxygen species mediates 50-Hz magnetic field-induced EGF receptor clustering via acid sphingomyelinase activation. *International Journal of Radiation Biology*, **94**: 678–684.
- Sutbeyaz, S.T., Sezer N., Koseoglu F., Kibar S. (2009). Low-frequency pulsed electromagnetic field therapy in fibromyalgia: a randomized, double-blind, sham-controlled clinical study. *The Clinical Journal of Pain*, **25**(8): 722-728.
- Svedenstal, B.M., Johanson, K.J. and Mild, K.H. (1999). DNA damage induced in brain cells of CBA mice exposed to magnetic fields. *In Vivo*, **13**(6): 551–552.
- Swartz, M.A. (2001). The physiology of the lymphatic system. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **50**(1-2): 3-20.

- Şeker, S., Çerezci, O. (1997). Çevremizdeki Radyasyon ve Korunma Yöntemleri, Boğaziçi Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- Tang, R., Xu, Y., Ma, F., Ren, J., Shen, S., Du, Y., Hou, Y., Wang, T. (2016). Extremely low frequency magnetic fields regulate differentiation of regulatory T cells: potential role for ROS-mediated inhibition on AKT. *Bioelectromagnetics* **37**: 89–98.
- Tanzadehpanah, H., Asoodeh, A., Mahaki, H., Mostajabodave, Z., Chamani, J., Mojallal-Tabatabaei, Z., Emtenani, S., Moradi, M-Z. (2016). Bioactive and ACE binding properties of three synthetic peptides assessed by various spectroscopy techniques. *Process Biochemistry*, **51**: 2067–2075.
- Tanzadehpanah, H., Asoodeh, A., Saidijam, M., Chamani, J., Mahaki, H. (2017). Improving efficiency of an angiotensin converting enzyme inhibitory peptide as multifunctional peptides. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **36**(14): 3803-3818.
- Terabe, M., Matsui, S., Noben-Trauth, N., Chen, H., Watson, C., Donaldson, D.D., Carbone, D.P., Paul, W.E., Berzofsky, J.A. (2000). NKT cell-mediated repression of tumor immunosurveillance by IL-13 and the IL-4R-STAT6 pathway. *Nature Immunology*, **1**: 515-520.
- Tofani, S., Ferrara, A., Anglesio, L. (1995). Evidence for genotoxic effects of resonant ELF magnetic fields. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, **36**(1): 9–13.
- Tokalov, S.V., Gutzeit, H.O. (2004). Weak electromagnetic fields (50 Hz) elicit a stress response in human cells. *Environmental Research*, **94**(2): 145-51.
- Tomkinson, A., Duez, C., Cieslewicz, G., Pratt, J.C., Joetham, A., Shanafelt, M.C., Gundel, r., Gelfand, E.W. (2001). A murine receptor antagonist that inhibis IL-4- and IL- 13-induced responses prevents antigen-induced airway eosinophilia and airway hyperresponsiveness. *The Journal of Immunology*, **166**: 5792-5800.
- Touitou, Y., Djeridane, Y., Lambrozo, J. (2012). Long-term (up to 20 years) effects of 50-Hz magnetic field exposure on blood chemistry parameters in healthy men. *Clinical Biochemistry*, **45**(6): 425–428.
- Trebak, M., Kinet, J.P. (2019). Calcium signaling in T cells. *Nature Reviews Immunology*, **19**(3): 154-169.
- Tribukait, B., Cekan, E., Paulsson, L.E. (1986). Effects of pulsed magnetic fields on embryonic development in mice. In: Proceedings of the International Scientific

- Conference: Work with display units, Stockholm, 12-15 May., 1986. Stockholm: *Swedish National Board of Occupational Safety and Health*, 68-70.
- Trzeciak, H.I., Grzesik, J., Bortel, M., Kuska, R., Duda, D., Michnik, J., Malecki, A. (1993). Behavioral effects of long-term exposure to magnetic fields in rats. *Bioelectromagnetics*, **14**:287-97.
- Türkkan, A. (2009). Çocukluk Çağı Lösemileri ve Elektromanyetik Alan. *Güncel Pediatri*, **7**(3):137-141.
- Tynes, T., Andersen, A., Langmark, F. (1992). Incidence of cancer in Norwegian workers potentially exposed to electromagnetic fields. *American Journal of Epidemiology*, **136**(1): 81-88.
- Udroiu, I., Giuliani, L., Icradi, L.A. (2010). Genotoxic properties of extremely low frequency electromagnetic fields. *European Journal of Oncology*, **5**:123-134.
- Ulusoy, M., Acar, M., Zararsız, İ. (2014) Lenfatik sistem ve Klinik Önemi. *Kocatepe Tıp Dergisi*, **15**(3): 365-70.
- Urban, J.F.Jr, Noben-Trauth, N., Donaldson, D.D., Madden, K.B., Morris, S.C., Collins, M., Finkelman, F.D. (1998). IL-13, IL-4Ralpha, and Stat6 are required for the expulsion of the gastrointestinal nematode parasite *Nippostrongylus brasiliensis*. *Immunity*, **8**: 255-264.
- Vaizoğlu, S.A. (2001), Yüksek gerilim hatlarına ve diğer faktörlere bağlı düşük frekanslı elektromanyetik kirlilik durumunun ve bazı sağlık etkilerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Vergara, X., Kheifets, L., Greenland, S., Oksuzyan, S., Cho, Y-S., Mezei, G. (2013). Occupational exposure to extremely low-frequency magnetic fields and neurodegenerative disease: a meta-analysis. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, **55**(2): 135-46.
- Verschaeve, L., Wambacq, S., Anthonissen, R. (2016). Co-exposure of ELF-magnetic fields and chemical mutagens: an investigation of genotoxicity with the SOS-based VITOTOX test in *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **795**: 31-35.
- Vianale, G., Reale, M., Amerio, P., Stefanachi, M., Luzio, S.D., Muraro, R. (2008). Extremely low frequency electromagnetic field enhances human

- keratinocyte cell growth and decreases proinflammatory chemokine production. *British Journal of Dermatology*, **158**: 1189–1196.
- Vijayalaxmi, Obe, G. (2005). Controversial cytogenetic observations in mammalian somatic cells exposed to extremely low frequency electromagnetic radiation: a review and future research recommendations. *Bioelectromagnetics* **26**:412–430.
- Vijayalaxmi, Prihoda, T.J. (2009). Genetic damage in mammalian somatic cells exposed to extremely low frequency electromagnetic fields: a meta-analysis of data from 87 publications (1990–2007). *International Journal of Radiation Biology*, **85**(3): 196–213.
- Vilcek, J. (2003). *The cytokines: an overview*. The cytokines handbook. In: Thomson AW, Lotze MT (Eds). 4 nd Ed. Elsevier Science Ltd. s: 3–19.
- Vitetta, E.S., Ohara, J., Myers, C., Layton, J., Krammer, P.H., Paul, W.E. (1985). Serological, biochemical, and functional identity of B-cell stimulatory factor-1 and B cell differentiation factor for IgG1. *Journal of Experimental Medicine*, **162**: 1726-1731.
- Walleczek, J. (1992). Electromagnetic field effects on cells of the immune system: the role of calcium signaling. *The Journal of Federation of American Societes for Experimental Biology*, **6**(13): 3177–3185.
- Wang, X., Zhang, Y., Yang, X.O., Nurieva, R.I., Chang, S.H., Ojeda, S.S., Kang, H.S., Schluns, K.S., Gui, J., Jetten, A.M., Dong, C. (2012). Transcription of Il17 and Il17f is controlled by conserved noncoding sequence 2. *Immunity*, **36**: 23–31.
- Warren, H.S., Smyth, MJ. (1999). NK Cells and Apoptosis. *Immunology and Cell Biology*, **77**(1): 64-75.
- Warrington, R., Watson, W., Kim, H.L., Antonetti, F. (2011). An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, **7**: S1.
- Wei, J., Sun, J., Xu, H., et al. (2015). Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on intracellular calcium transients in cardiomyocytes. *Electromagnetic Biology and Medicine*, **34**: 77–84.
- Wei, Y., Xiaolin, H., Tao, S. (2008). Effects of extremely low-frequency-pulsed electromagnetic field on different-derived osteoblast-like cells. *Electromagnetic Biology and Medicine*, **27**(3): 298-311.

- Wertheimer, N., Leeper, E. (1979). Electrical wiring configurations and childhood cancer. *American Journal of Epidemiology*, **109**: 273–84.
- WHO - World Health Organization. (2007). *Extremely Low Frequency Fields. Environmental Health Criteria 238*. 2007.
- WHO. (2008). Extremely Low Frequency Fields, Environmental Health Criteria No:238, WHO, Geneva, Switzerland.
- Wieraszko, A., Armani, J., Maqsood, N., Raja, H., Philip, S. (2005). Modification of the synaptic glutamate turnover in the hippocampal tissue exposed to low-frequency, pulsed magnetic fields. *Brain Research*, **1052**(2): 232-235.
- Wiley, M.J., Corey, P., Kavet, R., Charry, J., Harvey, S., Agnew, D., Walsh, M. (1992). The effects of continuous exposure to 20 KHz sawtooth magnetic fields on the litters of CD-1 mice. *Teratology*, **46**: 391-398.
- Wilson, R.A., Zolnai, A., Rudas, P., Frenyo, L.V. (1996). T cell subsets in blood and lymphoid tissues obtain from fetal calves, maturing calves, and adult bovine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **53**: 49-60.
- Windham, G.C., Osorio, A.M. (2004). Female Reproductive Toxicology, Current Occupational and Environmental Medicine 3rd ed., J. LaDou Ed., Lange Medical Books/McGraw-Hill, USA, s: 397-413.
- Wolf, F.I., Torsello, A., Tedesco, B., Fasanella, S., Boninsegna, A., D'Ascenzo, M., Grassi, C., Azzena, G.B., Cittadini, A. (2005). 50 Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: possible involvement of a redox mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1743**(1-2):120-129.
- Woods, J.M., Katschke, K.J., Volin, M.V., Ruth, J.H., Woodruff, D.C., Amin, M.A., Connors, M.A., Kurata, H., Aria, K., Haines, G.K., Kumar, P., Koch, A.E. (2001). IL-4 adenoviral gene therapy reduces inflammation, proinflammatory cytokines, vascularization, and bony destruction in rat adjuvant-induced arthritis. *The Journal of Immunology*, **166**: 1214- 1222.
- Wu, D.C., Ye, W., Che, X.M., Yang, G.Y. (2000). Activation of mitogen-activated protein kinases after permanent cerebral artery occlusion in mouse brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, **20**: 1320–1330.
- Wu, Q., Martin, R.J., Rino, J.G., Breed, R., Torres, R.M., Chu, H.W. (2007). IL-23-dependent IL-17 production is essential in neutrophil recruitment and activity in

- mouse lung defense against respiratory *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Microbes and Infection*, **9**: 78–86.
- Wyszkowska, J., Jedrzejewski, T., Piotrowski, J., Wojciechowska, A., Stankiewicz, M., Kozak, W. (2018). Evaluation of the influence of in vivo exposure to extremely low-frequency magnetic fields on plasma levels of pro-inflammatory cytokines in rats. *International Journal of Radiation Biology*, **94**(10): 909-917.
- Yamaguchi, Y., Fujio, K., Shoda, H., Okamoto, A., Tsuno, N.H., Takahashi, K., Yamamoto, K. (2007). IL-17B and IL-17C are associated with TNF- α production and contribute to the exacerbation of inflammatory arthritis. *The Journal of Immunology*, **179**: 7128–7136.
- Yanagida, M., Fukamachi, H., Ohgami, K., Kuwaki, T., Ishii, H., Uzumaki, H., Amano, K., Tokiwa, T., Mitsui, H., Saito, H., Ikura, Y., Ishizaka, Nakahata, T. (1995). Effects of T-helper 2-type cytokines, interleukin-3 (IL-3), IL-4, IL-5, and IL-6 on the survival of cultured human mast cells. *Blood*, **86**: 3705-3714.
- Yang, J., Sundrud, M.S., Skepner, J., Yamagata, T. (2014). Targeting Th17 cells in autoimmune diseases. *Trends in Pharmacology Science*, **35**: 493–500.
- Yang, X.O., Chang, S.H., Park, H., Nurieva, R., Shah, B., Acero, L., Wang, Y-H., Schluns, K.S., Broaddus, R.R., Zhu, Z., Dong, C. (2008). Regulation of inflammatory responses by IL-17F. *Journal of Experimental Medicine*, **205**: 1063–1075.
- Yao, Z., Spriggs, M., Derry, J., Strockbine, L., Park, L.S., VandenBos, T., Zappone, J., Painter, S.L., Armitage, R.J. (1997). Molecular characterization of the human interleukin (IL)-17 receptor. *Cytokine*, **9**: 794–800.
- Ye, P., Rodriguez, F.H., Kanaly, S., Stocking, K.L., Schurr, J., Schwarzenberger, P., Oliver, P., Huang, W., Zhang, P., Zhang, J., Shellito, J.E., Bagby, G.J., Nelson, S., Charrier, K., Peschon, J.J., Kolls, J.K. (2001). Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *Journal of Experimental Medicine*, **194**: 519–27.
- Yokoyama, W.M. (1993). Recognition Structures on Natural Killer Cells. *Current Opinion in Immunology*, **5**(1): 67-73.
- Yoon, H.E., Lee, J.S., Myung, S.H., Lee, Y.S. (2014). Increased γ -H2AX by exposure to a 60-Hz magnetic fields combined with ionizing radiation, but not hydrogen

- peroxide, in non-tumorigenic human cell lines. *International Journal of Radiation Biology*, **90**: 291–298.
- Yoshimoto, T., Takeda, K., Tanaka, T., Ohkusu, K., Kashiwamura, S., Okamura, H., Akira, S., Nakanishi, K. (1998). IL-12 up-regulates IL-18 receptor expression on T cells, Th1 cells, and B cells: synergism with IL-18 for IFN-gamma production. *The Journal of Immunology*, **161**: 3400–3407.
- Young, H.A. (1996). Regulation of interferon-gamma gene expression. *Journal of Interferon Cytokine Research*, **16**: 563–568.
- Zamorano, J., Wang, H.Y., Wang, L.M., Pierce, J.H., Keegan, A.D. (1996). IL-4 protects cells from apoptosis via the insulin receptor substrate pathway and a second independent signaling pathway. *The Journal of Immunology*, **157**: 4926–4934.
- Zendehdel, R., Jouni, F.J., Hajipour, B. (2017). DNA damage in workers exposed to formaldehyde at concentrations below occupational exposure limits. *Toxicological & Environmental Chemistry* **99**(9–10): 1–16.
- Zendehdel, R., Yu, I.J., Hajipour-Verdom, H., Panjali, Z. (2019). DNA effects of low level occupational exposure to extremely low frequency electromagnetic fields (50/60 Hz). *Toxicology and Industrial Health*, **35**(6):424–430.
- Zhang, D., Zhang, Y., Zhu, B., Zhang, H., Sun, Y., Sun, C. (2017). Resveratrol may reverse the effects of long-term occupational exposure to electromagnetic fields on workers of a power plant. *Oncotarget*, **8**: 47497–47506
- Zhang, H.H., Cheng, Y.X., Luo, X.P., He, Y.Q., Li, C.Z., Qu, W.J., Duan, Y.Q. (2016). Preventive effects of lotus seed pod procyanidins on extremely low frequency electromagnetic exposure-induced immune function injury. *Modern Food Science and Technology*, **32**: 1–5.
- Zhou, J., Yao, G., Zhang, J., Chang, Z. (2002). CREB DNA binding activation by a 50-Hz magnetic field in HL60 cells is dependent on extra-and intracellular Ca²⁺ but not PKA, PKC, ERK, or p38 MAPK. *Biochemical and Biophysics Research Communications*, **296**: 1013–1018.
- Zubiaga, A.M., Muñoz, E., Huber, B.T. (1992). IL-4 and IL-2 selectively rescue Th cell subsets from glucocorticoid-induced apoptosis. *The Journal of Immunology*, **149**: 107–112.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

SIÇANLARDA 50 Hz FREKANSLI MANYETİK ALAN MARUZİYETİNİN İMMÜN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 16	% 14	% 4	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 3
2	www.slideshare.net İnternet Kaynağı	% 1
3	ichastaliklariromatoloji.medicine.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
5	discovery.researcher.life İnternet Kaynağı	% 1
6	kocatepetipdergisi.aku.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
7	polen.itu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
8	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1