

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**WIRELESS CİHAZLARINDAN YAYILAN 2.45 GHz
ELEKTROMANYETİK ALANIN RAT KUTANÖZ İMMÜN
SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Oya Oylum KAZANOĞLU

**UZMANLIK TEZİ
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Ali Murat CEYHAN**

**“Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyonu Birimi “3665-TU2-13” Proje no’su ile Desteklenmiştir”**

ISPARTA-2014

ÖNSÖZ

Asistanlığım boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşan ve tezimin hazırlanmasına katkıda bulunan değerli danışman hocam Doç. Dr. Ali Murat CEYHAN'a eğitimimin her aşamasında katkıları olan, bilgi ve tecrübelerini bizlerden esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mehmet YILDIRIM ve hocalarım Prof. Dr. Vahide BAYSAL AKKAYA ve Doç. Dr. İjlal ERTURAN'a,

Asistanlık süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz değerli çalışanlarına,

Tezimi hazırlama sürecinde büyük yardımlarını gördüğüm Biyokimya ABD'dan Yrd. Doç. Dr. Betül Mermi CEYHAN'a, Elektronik ve Haberleşme Mühendisliğinden Doç. Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ'ye, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim ABD'dan Doç. Dr. Hikmet ORHAN'a, SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına,

Hayatımın her anında desteğini eksik etmeyen eşim Ahmet KAZANOĞLU'na ve tez aşamasının başından sonuna hep yanımda olan kızım Damla'ya sonsuz teşekkürler.

Dr. Oya Oylum KAZANOĞLU
Isparta, 2014

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Radyasyon	2
2.2. Tanımlar	2
2.2.1. Frekans	2
2.2.2. Dalga Boyu	2
2.2.3. SAR (Specific Absorption Rate), Özgül Soğurma Hızı	2
2.3. Radyasyonun Sınıflandırılması ve Elektromanyetik Yelpaze.....	2
2.3.1. Non- İyonize Radyasyon (Elektromanyetik Radyasyon).....	3
2.3.2. İyonize Radyasyon.....	3
2.4. Elektromanyetik Radyasyonun Canlılar Üzerindeki Etkileri.....	3
2.5. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri.....	4
2.6. Kablosuz Yerel Alan Ağları (Wireless Local Area Networks (WLAN)	5
2.7. Bağışıklık Sistemi	6
2.7.1. Doğal Bağışıklık (Doğal İmmün Sistem).....	6
2.7.2. Kazanılmış Bağışıklık (Edinsel Bağışıklık).....	7
2.8. Patern Tanıyıcı Reseptör (PRR) ve Patojen İlişkili Moleküler Patern (PAMP)	7
2.9. Patojenlere Maruz Kaldıktan Sonra Bağışıklık Sistemi İndüksiyonu.....	8
2.10. Toll-Like Reseptörler (TLR).....	8
2.10.1. TLR'nin Sinyalizasyonu	10
2.10.2. TLR ve Ligandları.....	11
2.10.3. Deride TLR Ekspresyonu.....	13
2.10.3.1. Toll-Like Reseptör 2 (TLR2)	15
2.10.3.2. Toll-Like Reseptör 3 (TLR3)	15

2.10.3.3. Toll-Like Reseptör 4 (TLR4).....	16
2.10.3.4. Toll-Like Reseptör 7-8 (TLR7-8).....	16
2.10.3.5. Toll-Like Reseptör 9 (TLR9).....	16
2.10.4. TLR Tetiklemesiyle Oluşan Sitokinlerin Görevleri.....	17
2.11. Sitokinler.....	17
2.11.1. İnterlökin-1alfa (IL-1 α).....	20
2.11.2. İnterlökin -2 (IL-2).....	21
2.11.3. İnterlökin -4 (IL-4).....	21
2.11.4. İnterlökin-6 (IL-6).....	21
2.11.5. İnterlökin-8 (IL-8).....	22
2.11.6. İnterlökin-10 (IL-10).....	22
2.11.7. İnterlökin-12 (IL-12).....	22
2.11.8. Tümör Nekrozis Faktör -Alfa (TNF- α).....	23
2.11.9. İnterferon-gamma (IFN- γ).....	23
3. MATERYAL ve METOD	25
3.1. Deney Düzenegi.....	25
3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması.....	26
3.3. Anestezi ve Gerekli Materyallerin Eldesi	27
3.4. Numunelerin Hazırlanması ve Homojenizasyonda Yapılan İşlemler.....	28
3.5. Dokularda Biyokimyasal Analizler.....	29
3.6. İstatistiksel Analiz.....	29
4. BULGULAR	30
4.1. Gruplarda Sitokin ve TLR Düzeyleri.....	30
4.1.1. IL-2.....	32
4.1.2. IL-10.....	32
4.1.3. TNF- α	33
4.1.4. IFN- γ	34
4.1.5. TLR7	34
4.1.6. TLR8	35
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	36
ÖZET.....	44
KAYNAKLAR	47

KISALTMALAR DİZİNİ

BCC	: Bazal hücreli kanser
BCDF	: B Hücre Diferansiyasyon Faktörü
BCGF	: B Hücre Büyüme Faktörü
BCR	: B Hücre Reseptörü
CAT	: Katalaz
COX-2	: Siklooksijenaz-2
CTLL-2	: IL-2 Bağımlı Sitolitik T Lenfosit
DC	: Dendritik Hücre
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ds DNA	: Çift Sarmal DNA
ELF-EMF	: Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alan
EM	: Elektromanyetik
EMA	: Elektromanyetik Alan
EMR	: Elektromanyetik Radyasyon
Hz	: Hertz
ICAM-1	: İnterselüler Adezyon Molekülü
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
IL-1Ra	: İnterlökin-1 Reseptör Antagonisti
IRF3	: İnterferon Regulator Faktör 3
IRAK4	: IL-1R İlişkili Kinaz4
GHz	: Gigahertz
G-CSF	: Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktör
GM-CSF	: Granülosit-Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
KC	: Keratinosit
KHF	: Killer Yardımcı Faktör
kHz	: Kilohertz
LAK	: Lenfokinle Aktive Killer

LAM	: Lipoarabinomannan
LP	: Lipoprotein
LPS	: Lipopolisakkarit
LRR	: Lösinden Zengin Tekrar
LT	: Lenfotoksin
LTA	: Lipoteik asit
MAPK	: Mitojenle İlişkili Protein Kinaz
M-CSF	: Monosit-Makrofaj Stimule Edici Faktör
MDA	: Malondialdehid
mDH	: Myeloid Dendritik Hücre
MHC	: Major Histokompatibilite Kompleks
MHz	: Megahertz
MIF	: Migrasyon İnhibe Edici Faktör
MIP	: Makrofaj İnflamatuar Protein
MW	: Mikrodalga Radyasyon
MyD88	: Myeloid Differansiyasyon Faktör 88
NF-κB	: Nükleer Faktör-kappa beta
NLR	: Nod-like Reseptör
NK	: Doğal Öldürücü Hücre
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit sentetaz
PAMP	: Patojen İlişkili Moleküler Patern
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pDH	: Plazmasitoid Dendritik Hücre
PGN	: Peptidoglikan
PMNL	: Polimorf Nüveli Lökosit
PRR	: Patern Tanıyıcı Reseptör
RF	: Radyofrekans
RF/MW	: Radyofrekans/Mikrodalga Radyasyon
RLR	: Retinoik Asit indüklenebilir gene-like reseptörler
RNA	: Ribonükleik asit
SAR	: Özgül Soğurma Hızı

SCC	: Skuamoz Hücreli Karsinom
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TCR	: T Hücre Reseptörü
TCGF	: T Hücre Büyüme Faktörü
Tc	: Sitotoksik T hücre
Th	: Yardımcı T hücre
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta
TIR	: Toll/İnterlökin-1 reseptör
TIRAP	: TIR İlişkili Protein
TLR	: Toll-like reseptör
TMF	: Timosit Mitojenik Faktör
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
TRAF6	: Tümör Nekroz Faktör Reseptör İlişkili Faktör 6
TRAM	: TRIF İle İlişkili Adaptör Molekül
TRIF	: TIR Bölgesi IFN-Beta İndükleyen Adaptör Protein
Wi-Fi	: Kablosuz bağlılık
WLAN, Wireless	: Kablosuz Yerel Alan Ağları
WMAN	: Kablosuz Metropol Ağları
WPAN	: Kablosuz Kişisel Alan Ağları
WWAN	: Kablosuz Geniş Alan Ağları
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gamma

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Bağışıklık sisteminin bileşenleri	7
Tablo 2. TLR ligandları ve lokalizasyonları.....	11
Tablo 3. Deride TLR ekspresyonları	14
Tablo 4. TLR ve dermatolojik hastalıklar	14
Tablo 5. TLR ilişkili deri hastalıklarında kullanılan tedavi edici ajanlar.....	15
Tablo 6. TLR ve karakteristikleri	20
Tablo 7. Gruplara göre sitokin tanımlayıcı istatistiksel parametreler	30
Tablo 8. Gruplara göre TLR tanımlayıcı istatistiksel parametreler.....	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. TLR sinyalizasyonu	11
Şekil 2. TLR ailesinin ligandları ve hücresel lokalizasyonları	12
Şekil 3. Th1/Th2 dengesi ve Treg hücreleri.....	18
Şekil 4. Th1/Th17 ve Treg hücreleri.....	19

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. EMA jeneratörü.....	25
Resim 2. 2.45 GHz EMA deney düzeneği.....	26
Resim 3. Sırt derisi traşlanmış rat.....	28
Resim 4. Deri örneklerinin alınması.....	28

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Gruplara göre ortalama IL-2 düzeyleri ve standart sapmaları.....	32
Grafik 2. Gruplara göre ortalama IL-10 düzeyleri ve standart sapmaları.....	33
Grafik 3. Gruplara göre ortalama TNF- α düzeyleri ve standart sapmaları.....	33
Grafik 4. Gruplara göre ortalama IFN- γ düzeyleri ve standart sapmaları	34
Grafik 5. Gruplara göre ortalama TLR7 düzeyleri ve standart sapmaları	35
Grafik 6. Gruplara göre ortalama TLR8 düzeyleri ve standart sapmaları	35

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kablosuz Yerel Alan Ağ (Wireless Local Area Networks, WLAN) kullanımının popülerliği kolay kurulum, gezginlik gibi avantajlar nedeniyle giderek artmaktadır. WLAN, gelişen teknoloji, artan aktarım hızları nedeniyle her geçen gün daha fazla uygulama alanı bulmakta ve kullanıcı sayısı hızla çoğalmaktadır (1). Kurumsal ve kişisel kullanımın dışında restoranlar, otobüs terminalleri, oteller, büyük alışveriş merkezleri, tren istasyonları, havaalanları, cadde ve sokaklar gibi kamuya açık alanlarda erişim alanları vasıtasıyla verilen kablosuz internet hizmetinin de hızla artmakta olduğu görülmektedir. Bu artışa paralel olarak her geçen gün elektromanyetik alana (EMA) maruziyet ve bu maruziyetin insan sağlığı üzerine potansiyel tehlikesine olan ilgi de artmaktadır (2).

Vücuda giren yabancı antijenleri tanıyarak bunlara yanıt oluşturan immün hücreler üzerinde bulunan ve patojeni tanıyan toll-like reseptörlerin (TLR) kutanöz ekspresyonu diğer sistemlerden farklı olarak özel bir öneme sahiptir çünkü deri; geniş yüzey alanı ile bakteri, virüs ve mantar gibi zararlı çevresel tehditlere karşı ilk savunma hattını oluşturur. Ayrıca bir çok enfeksiyöz, inflamatuvar ve neoplastik deri hastalığında farklı TLR alt tiplerinin patogeneze önemli ölçüde rol oynadığı gösterilmiştir (3). TLR uyarısı ile tetiklenen çeşitli sitokinler bu reseptörlerin işlevlerine aracılık eder ve doğal bağışıklığın güçlenmesine katkıda bulunur.

EMA'ya akut veya kronik maruziyetin insan vücudu ve sistemler üzerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. EMA ile ilgili çalışmalar daha çok santral sinir sistemi (SSS) üzerine yoğunlaşmaktadır. Günümüze dek EMA'nın görme, üreme, işitme, kalp, böbrek gibi çeşitli sistemler üzerine etkilerine yönelik çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir.

Deri, vücudumuzun EMA'ya en fazla maruz kalan en geniş yüzey alanına sahip organı olmasına rağmen EMA ve deri ile ilgili araştırmalar oldukça kısıtlıdır. EMA'nın kutanöz immünolojik parametreler ve özellikle savunma sistemi üzerine etkisi ise bilinmemektedir. Bu çalışmada 2.45 GHz EMA'ya farklı sürelerde maruziyetin çeşitli kutanöz sitokin ve TLR düzeylerine olası etkisini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Radyasyon

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

2.2. Tanımlar

2.2.1. Frekans

Elektromanyetik (EM) dalgaların saniyede yaptığı salınım sayısına yani kendilerini tekrarlama sıklığına frekans denir. Frekansın birimi Hertz (Hz)'dir. 1 Hz saniyede bir salınım; 1 kHz (kilohertz) saniyede 1000 Hz; 1 MHz (megahertz) saniyede bir milyon Hz; 1GHz ise saniyede bir milyar Hz'dir (4).

2.2.2. Dalga Boyu

EM dalgaların bir salınımda aldıkları yola dalga boyu denir. Dalga boyunun birimi mesafe birimleridir (4). Frekansla ters orantılı olarak değişir.

2.2.3. SAR (Specific Absorption Rate), Özgül Soğurma Hızı

EM enerjinin vücut dokuları tarafından soğurulma hızıdır. Birimi W/kg (Watt/kilogram)'dır. İnsan vücudunda bir derece sıcaklık artışı için kilogram doku başına 4W güç soğurulması gerekmektedir. İnsanların genel yaşam alanlarında bu değerın 50'de biri olan 0,08 W/kg SAR sınır değeri olarak kabul edilmiştir (4).

2.3. Radyasyonun Sınıflandırılması ve Elektromanyetik Yelpaze

Radyasyonlar madde içine nüfuz edip cismi oluşturan atomları iyonlaştırıp iyonlaştıramamasına göre iki grupta incelenirler:

- a. Non-iyonize radyasyon
- b. İyonize radyasyon (nötron, proton, alfa, beta tanecikleri, x ve gamma ışınları) (5).

2.3.1. Non- İyonize Radyasyon (Elektromanyetik Radyasyon)

Daha düşük frekanslı yani daha düşük enerjili EM dalgalar iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak adlandırılır. Bu grup içinde başlıca radyo dalgaları, ısı, ışık, kızıl ve mor ötesi ışınlar yer almaktadır. WLAN' nın neden olduğu ışınım da iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgesi içinde yer almaktadır (5).

2.3.2. İyonize Radyasyon

Madde içerisinden geçerken enerjisini ortama aktarmak suretiyle ortamdaki atomları doğrudan veya dolaylı yollarla iyonlaştıran radyasyon türüdür (6). Yüksek frekanslı dolayısıyla yüksek enerjili olan X ışınları ve gamma ışınları iyonlaştırıcı radyasyonlardır. İyonlaştırıcı radyasyon ortamdaki atom ve moleküllerle rastgele çarpışır ve böylece kimyasal bağları kırıp, moleküler değişiklikler oluşturarak hücre ve hücrenin etrafındaki dokuya zarar veren iyonların ve serbest radikallerin açığa çıkmasına neden olur. İyonlaştırıcı radyasyona maruz kalan her molekül bundan etkilenebilir. Özellikle hücre siklusunun hızlı olduğu dokular radyasyon hasarının en erken görüldüğü dokulardır (7).

2.4. Elektromanyetik Radyasyonun Canlılar Üzerindeki Etkileri

EM dalgaların dokular üzerinde iki temel etkisi bulunmaktadır. Bunlardan ilki termal, ikincisi de kimyasal (termal olmayan) etkidir. Yüksek frekanslı EM dalgalar ısıya bağlı zarar verirken, düşük frekanslı EM dalgaların uzun süre alınmasıyla dokularda kimyasal değişikliklere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (8).

Uluslararası Elektrik Elektronik Mühendisleri Enstitüsünün (IEEE) standartlarına göre ısı etkileri 1 MHz üzerindeki frekanslarda oluşur. Cismin EM dalga ile etkileşmesi, artan moleküler hareket ve sürtünmeden dolayı sistemde ısı artışı ile termal etkileri meydana getirir. Uygun şartlarda (iletkenlik, dielektrik sabiti, frekans, alan şiddeti) organizmanın özelliklerine bağlı olarak; termal olmayan etkiler, termal etkilerden daha aktif olabilir (9).

EM dalga vücut yüzeyine çarptığında bu dalganın bir kısmı yansır bir kısmı ise vücut içine girerek soğurulur. EM dalganın hızı dokudan geçtikçe ortamın elektriksel özelliklerine bağlı olarak değişir. EMA dokular üzerinde yüzey başına

watt birimiyle ifade edilen güç yoğunluğunun canlı vücudunda soğurulmasına ve doku ısınması yoluyla hasar oluşmasına neden olur. Soğurulan bu güç (özgül soğurulma oranı) gelen dalganın frekansına, geliş açısına, canlı dokunun su muhtevasına ve biyolojik dokunun elektriksel özelliklerine (iletkenlik, dielektrik sabitleri) bağlıdır (5). EM dalgaların dokuda oluşturabileceği zarar, onun enerjisine, doku ile yaptığı etkileşmenin türüne, dokuda absorbe edilen enerji miktarına ve maruz kalma süresine bağlıdır. Bu şekilde dokunun birim kütlesinde soğurulan enerji “doz” olarak tanımlanır.

EMA’ya maruz kalma limitleri, mesleki maruz kalma ve bireysel maruz kalma olarak iki bölümde incelenir. Çevresel kaynaklarda çalışan işçiler ve radyofrekans (RF) enerji kullanan cihaz operatörleri mesleki maruz kalmaya örnek olarak verilebilir. Çevresel kaynakların etkili olduğu bölgelerde, halkın rasgele bulunması nedeni ile ortaya çıkan risk, genel halk maruz kalması olarak tanımlanır. Özellikle verici kuleleri, cep telefonu baz istasyonları, okullar, alışveriş merkezleri ve evlerde kullanılan kablosuz ağlar bu sınıfa giren kaynaklardır (10) .

2.5. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri

EMA, vücuttaki dokulara ısıtarak veya kimyasal değişimlere yol açarak zarar verir (11). Isı etkisi resmen kabul edilen dozlarda veya daha yüksek değerlerde meydana gelirken, kimyasal etki tehlike sınırlarının altındaki düşük dozlarda meydana gelmektedir. Uzun süreli düşük doza maruz kalmak kısa süreli yüksek dozdan daha riskli kabul edilmektedir (10). Isıl etkiler, vücut tarafından absorbe edilen EM enerjinin ısıya dönüşmesi ve vücut sıcaklığını arttırması olarak tanımlanır. Bu sıcaklık artışı, ısının kan dolaşımı ile atılarak dengelenmesine kadar sürer. Cep telefonları gibi RF kaynaklarının sebep olabileceği sıcaklık artışı gerçekte çok düşüktür ve büyük olasılıkla vücudun normal mekanizmaları ile kolayca etkisizleştirilebilir. Isıl olmayan etkilere bağlı RF dalgalarının etkili olduğu iddia edilen bozukluk ve hastalıklar arasında beyin aktivitelerinde değişiklikler, uyku bozuklukları, dikkat bozuklukları, baş ağrıları bulunmaktadır. Ancak bu riskler çok yüksek deneysel dozlar ve sürelerde geçerli olabilir. Yüksek enerjili iyonlaştırıcı EM dalgalar, DNA ve genetik malzemeyi kapsayan biyolojik dokuda hasara yol açabilen moleküler değişikliklere neden olabilirler. Bu etkinin olabilmesi için dokunun X

veya γ ışını gibi yüksek enerjili fotonlarla etkileşmesi gerekir (4). EM dalgalarının bilinen potansiyel biyolojik etkileri şu başlıklar altında toplanabilir (12).

- a) Tek bir hücre veya hücre sistemlerine etkiler
 - Moleküler etkiler
 - Hücre içi sistemler üzerine etkiler
 - Tek bir hücreye etkiler
- b) Genetik düzen ve gelişme üzerine etkiler
 - Genetik ve mutajenik etkiler
 - Teratojenik etkiler
 - Büyüme ve gelişme etkileri
- c) Gelişmiş organ, doku veya hücre sistemleri üzerine etkiler
 - Testisler üzerine etkiler
 - Kardiyak fonksiyona etkiler
 - Sinir sistemi ve davranış tepkileri üzerine etkiler
 - Hematolojik etkiler
 - İmmünolojik etkiler
- d) Metabolizma ve düzenleme sistemleri üzerine etkiler
 - Klinik biyokimya ve metabolizma üzerine etkiler
 - Nöroendokrinolojik tepkiler

2.6. Kablosuz Yerel Alan Ağları (Wireless Local Area Networks (WLAN))

WLAN daha fazla bilgisayar veya cihazın birbirleriyle kablosuz veri iletişimi sağlamalarıyla oluşan yapıdır (1). WLAN sistemlerinde kullanılan ISM (Industrial Scientific Medical band) bantları Uluslararası Telekomünikasyon Birliği (ITU) tarafından 13560 kHz, 27120 kHz, 40.6 MHz, 915 MHz, 2450 MHz, 5800 MHz ve 24.125 GHz merkez frekanslarında dünya genelinde tahsis edilmiştir (1).

2.7. Bağışıklık Sistemi

Bağışıklık sistemi; vücuda çeşitli yollardan girmiş olan yabancı antijenleri tanıyarak bunlara yanıt oluşturan doku, hücre ve moleküllerden oluşur. Canlının bu sistemi kullanarak kendisine yabancı olan antijen ve patojenleri tanınması ve bunlara karşı reaksiyon oluşturmaya "bağışık yanıt" denir. "Bağışıklık" ise patojenlere karşı gösterilen direnci ifade eder (13-15).

Bakteri, virüs gibi antijenler ayrıca protein veya polisakkarit gibi makromoleküller yabancı maddelere tepki oluşturan bağışıklık sistemini uyarır ve fizyolojik cevap başlar. Bu cevap doğal ve kazanılmış bağışıklık olarak iki alt kategoriye ayrılır (16).

2.7.1. Doğal Bağışıklık (Doğal İmmün Sistem)

Patojenlere karşı spesifik bellek oluşmaksızın fonksiyon gören doğal immün sistem, mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattını oluşturur (13, 14). Doğal bağışıklık sistemini oluşturan başlıca komponentler; epitelyal bariyerler, nötrofiller, monosit/makrofajlar, doğal öldürücü hücreler (NK), kompleman sistemi, doğal bağışıklık sitokinleri, doğal bağışıklığın diğer plazma proteinleri (akut faz proteinleri)'dir. Ayrıca normal mikroflora, dokuların biyokimyasal özellikleri (mide ve idrar pH'sı) gibi mekanizmalar da bunlar arasında sayılabilir (13-15).

Geçmişte doğal bağışıklığın, yabancı madde ve mikroorganizmaların makrofaj ve lenfosit gibi fagositik hücreler tarafından sindirimi ile karakterize non spesifik immün cevap olduğu düşünölmüştür. Ancak mikrobiyal patojenlere karşı konak savunmasına yönelik yeni çalışmalar göstermiştir ki; efektör cevabın tipi doğal bağışıklığın gücüne dayanmaktadır (17).

Doğal bağışıklık kazanılmış bağışıklığın şekillenmesine yardımcı olur bu nedenle birlikte hareket ederler. Doğal bağışıklığın önemi patern tanıyıcı reseptörler (PRR) tarafından tanınan patojen ilişkili moleküler paternlerin (PAMP) keşfi ile daha da artmıştır (18).

2.7.2. Kazanılmış Bağışıklık (Edinsel Bağışıklık)

Kazanılmış immüitenin en önemli karakteristiği belirli bir antijene veya moleküle karşı oluşan spesifik yanıt ve hafızada saklanabilir olmasıdır. Kazanılmış immüitede en önemli rolü lenfositler ve bu hücelere ait mediyatörler oluşturur (19). Hüresel ve humoral olmak üzere iki tip kazanılmış bağışıklık vardır. Bu bağışıklık yabancı antijenin tanınması, buna yanıt oluşturabilecek lenfositlerin çoğalması ve efektör hücelere dönüşmesi ile başlar. Tanınan antijenin aktive olmuş hücelere tarafından ortadan kaldırılması ise efektör fazı oluşturur. Yabancı antijen ortadan kalktıkça bağışık yanıt azalır, sonunda aktive hücelerin çoğu apoptozis ile ölür ve fagositik hücelere tarafından ortadan kaldırılır. Kalan hücelere ise bellek hücelerini meydana getirir. Lenfositlerin antijenlerle tekrar karşılaştıklarında hatırlamalarını sağlayan özgünlük ve bellek yetenekleri kazanılmış hüresel bağışık yanıtın temelidir. Antikorlar, kazanılmış bağışıklığın bir bölümü olan humoral bağışıklığın elemanlarıdır. Antijenik uyarı sonucu B lenfositlerin farklılaşmasıyla oluşan plazma hücelereince üretilirler (20).

Tablo 1. Bağışıklık sisteminin bileşenleri (21).

Doğal bağışıklık	Kazanılmış bağışıklık
Non-spesifik cevap	Patojen ve antijen spesifik cevap
Maruz kalma hemen maksimum cevaba yol açar	Maruz kalma ve maksimum cevap arasında gecikme zamanı
Hücre-aracılı ve humoral bileşenler	Hücre-aracılı ve humoral bileşenler
İmmünolojik bellek yok	Maruz kalma immünolojik belleğe yol açar

2.8. Patern Tanıyıcı Reseptör (PRR) ve Patojen İlişkili Moleküler Patern (PAMP)

Doğal bağışıklık sistemi gram pozitif (+) ve negatif (-) bakteriler, DNA ve RNA virüsleri, mantar, protozoa gibi patojen mikroorganizmaları PAMP aracılığıyla ayırt eder ve hedef özgüllüğü gösterir (22, 23). Memelilerde PAMP'ların tanınmasından sorumlu olan reseptörlere PRR denir. Doğal bağışıklık sisteminin önemli PRR'leri; Toll-like reseptörler (TLRs), Nod-like reseptörler (NLRs) ve Retinoic asid-inducible gene 1-like reseptörler (RLRs)'dir. PRR'ler hem immün hem de immün olmayan hücelerece eksprese edilirler (24).

PRR'ler konakta bulunmayan kendinden olmayan özel patojen ilişkili molekülleri tanırlar (17). PRR'ler hücre yüzeyinde, intraselüler kompartmanlarda (örneğin endozomal organeller veya ER) eksprese edilebilirler ya da opsoninler gibi kan ve doku sıvılarına salgılanabilirler (25). PRR fonksiyonları; opsonizasyon, proinflatuar sinyal yollarının aktivasyonu, apoptoz indüksiyonu ve fagositozu içerir. Bazı PRR alt tipleri sitoplazmada bulunur ve hücre içi patojenleri saptayarak replikasyonlarını bloke eder (26).

2.9. Patojenlere Maruz Kaldıktan Sonra Bağışıklık Sistemi İndüksiyonu

Doğal ve kazanılmış immün sistem hücrelerinin savunması PAMP'ların PRR'ye bağlanmasıyla ya da deri ve mukozal epitelyum gibi enfeksiyon bölgelerinde bulunan PRR eksprese eden ve antimikrobiyal kimyasallar üreten antijen sunan hücrelerin, (makrofaj, doğal öldürücü hücre (NK), dendritik hücre (DC) gibi) patojenleri ayırt etmesi ile başlar. DC'ler farklı deri ve mukozal yüzeylerde patojenle karşılaşır. Major Histokompatibilite Kompleks 1 (MHC 1) veya Major Histokompatibilite Kompleks 2 (MHC 2) kompleks antijenik epitoplara fagositozdan sonra işleyip T ve B lenfositlere sunar. Ayrıca aktive DC'ler diğer immün hücrelerin enfeksiyon bölgesine gelmesini sağlayan ve patojen üzerine etki gösteren sitokin ve kemokinler üretir (18). Kemokin ve sitokin üretimi üzerine T hücresi reseptörü (TCR) ve B hücresi reseptörü (BCR) eksprese eden aktive T ve B hücreleri, enfekte bölgeye hareket ederler (27). Bu hücreler hızlı bir şekilde ana işlevi devam eden enfeksiyonları kontrol etmek olan efektör hücrelere differansiye olur. Bu nedenle doğal bağışıklık sistemi patojenin doğası ve lokalizasyonu hakkında kazanılmış bağışıklığa yol gösterir, köprü görevi üstlenir ve immünolojik cevabın oluşmasında anahtar rol oynar.

2.10. Toll-Like Reseptörler (TLR)

Doğal immünite, patojenlerin algılanması ve yok edilmesinde rol oynamasının yanısıra, adaptif immünitenin de ortaya çıkmasına katkıda bulunur. Bu fonksiyonlarını ağırlıklı olarak patern tanıyıcı reseptörlere (PRR) bağlı olarak gerçekleştirir. PRR'lerden transmembran protein grubu olan TLR bu görevi potent immünoadjuvan yetenekleri ve antijen sunan hücreleri aktive etmeleri ile

gerçekleştirirler (28). İlk kez 1991 yılında immün hücreler üzerinde bulunan ve patojeni tanıyan reseptörler “*Drosophila melanogaster*” türü sinekte bulunarak “Toll” adı verilmiştir (29). İnsanlarda interlökin-1 reseptör –I’in homoloğu olan bu moleküllere “Toll-benzeri reseptörler” (Toll-like receptor=TLR) denilmektedir. İnsan Toll’u ekstraselüler ve intraselüler özellikleriyle sinek Toll’unun homoloğudur (30). TLR, sitoplazmik ve ekstrasellüler bölgeden oluşan bir transmembran proteindir. Sitoplazmik bölgesi, IL-1 reseptörü ile yüksek derecede benzerlik gösterir ve bu nedenle Toll/IL-1 reseptör (TIR) bölgesi olarak adlandırılır. Reseptörlerin ekstrasellüler bölgesinde her biri 24-29 amino asit içeren, lösinden zengin tekrar (LRR) motifleri bulunur. Bu LRR bölgelerinin farklı patojenlerin tanınmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir (31).

TLR mikrobiyal bir komponent ile aktive olur ve intraselüler kısmı aracılığıyla nükleer faktör-kappa beta (NF- κ β) veya mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAP kinaz) ailelerini uyarır (32). NF- κ β , TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi sitokin ve proinflamatuvar ürünlerin genlerini aktive eder. Bu süreç konağın doğal immün yanıtıdır (33). PRR’ler ile patojendeki PAMP’ları tanıyan dendritik hücreler mature olurlar, periferden lenf nodlarına taşınarak T hücrelerine antijen sunarlar, T ve B hücrelerin aktivasyon sürecinde rol alırlar. TLR, dendritik hücrelerin T hücrelerini daha etkin bir şekilde uyarmasını sağlayan ko-stimulan molekülerin seviyelerini de artırır, sitokinlerin üretimini ve salınmasını düzenler. Bu olaylar sırasında T hücrelerinin hangi tip yanıt oluşturacağını belirleyen dominant sitokin profili, mikrobiyal enfeksiyonların temizlenmesinde kritik rol üstlenmektedir (34).

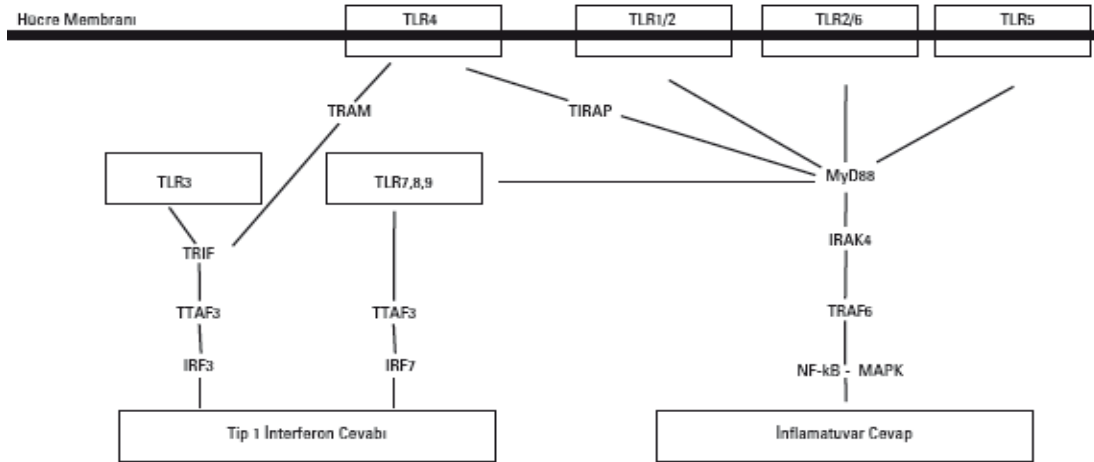
TLR aktivasyonu, patojenlerin konak hücreleri tarafından fagositozu için gereklidir. TLR patojenlerin fagositozunu uyarır, fagozom içeriğine karşı gelişen inflamatuvar yanıtı güçlendirir ve fagozomun maturasyonuna yardımcı olur (32). TLR aktivasyonu çeşitli antibakteriyel moleküllerin salınmasını da uyarır. TLR, farede reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin üretimine ve salgılanmasına neden olur (35). İnsan keratinositleri *S.aureus* ile uyarıldığında TLR2 tarafından NF- κ β aracılığıyla nitrik oksit sentetaz (NOS), siklooksijenaz-2 (COX-2) ve IL-8 gen aktivasyonları sağlanabilmektedir (36).

TLR aktivasyonu apoptoza da neden olabilir. Lipopolisakkaritlerin (LPS) ya da lipoproteinlerin (LP) TLR4 ve TLR2/6 üzerinden apoptoza uyarabildikleri gösterilmiştir. TLR pozitif enfekte hücrelerin apoptoza uğraması, konağın enfeksiyonu ortadan kaldırmasına yardımcı olabilir (32).

2.10.1. TLR'nin Sinyalizasyonu

TLR sinyalizasyonunda, myeloid differensiyasyon faktör 88'e (MyD88) bağımlı ve bağımsız sinyal yolu olmak üzere 2 yol tanımlanmıştır. Bu sinyal yollarında başlıca dört adaptör molekül rol oynar: MyD88, TIR bölgesi IFN-beta indükleyen adaptör proteini (TRIF), TRIF ile ilişkili adaptör molekül (TRAM) ve TIR ilişkili protein (TIRAP). MyD88, TLR3 dışındaki tüm TLR tiplerinde, TLR aracılığı ile oluşan doğal immün yanıtın aktivasyonu için gerekli başlıca elemandır. Ligandın bağlanması ile uyarılan TLR'nin TIR bölgesi MyD88 ile birleşir. Bu birleşmeyle uyarılan IL-1R ilişkili kinaz 4 (IRAK 4) ve tümör nekrozis faktör reseptör ilişkili faktör 6 (TRAF 6) aracılığıyla NF-kB, mitojenle ilişkili protein kinazı (MAPK) aktive eder ve inflamatuvar cevaba neden olur (37). Bu yolağın sonunda TNF, IL-1, IL-6 ve IL-12 gibi sitokinler IL-8 ve MIP2 gibi kemokinler CD 40, CD 80, CD 86 gibi kostimulatör moleküller ve ICAM 1 gibi adezyon molekülleri üretilir (37, 38).

MyD88 bağımsız sinyal yolu ise başlıca TLR3 ve TLR4 tarafından kullanılmaktadır. Bu sinyal yolunda TLR3, TRIF üzerinden TRAF ve IRF3'ü uyarak tip 1 interferon cevabına neden olur iken, TLR4 TRAM üzerinden TRIF'ı uyarak bu cevaba neden olur (39). Ayrıca TLR7, TLR8 ve TLR9'un TRAF3 ve IRF7 üzerinden tip 1 interferon cevabı geliştirdiği gösterilmiştir. MyD88 ve TIRAP proinflamatuvar sitokinlerin (TNF-alfa, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10) TRIF ve TRAM ise interferonların yapımından sorumludur (40, 41).



Şekil 1. TLR sinyalizasyonu (38, 42).

2.10.2. TLR ve Ligandları

İnsanlarda 13 tane TLR tanımlanmış olup TLR10, TLR12 ve TLR13'ün ligandları bilinmemektedir (30). TLR2 ve TLR4'ün ise çok sayıda ligandı tanımlanmıştır (43). TLR11'in ise insanlarda fonksiyonel olduğu gösterilememiştir (44).

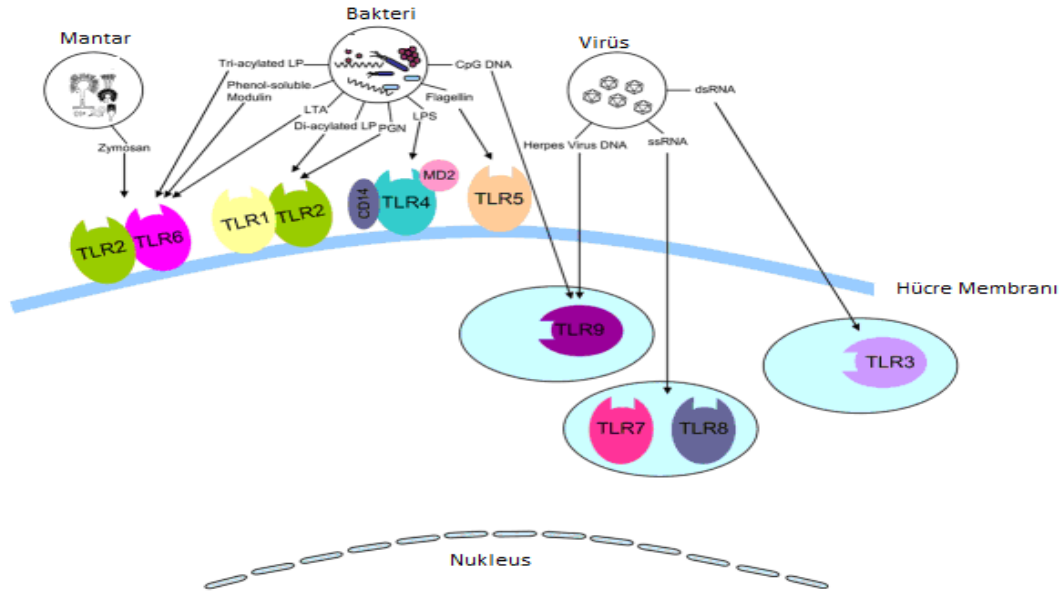
Tablo 2. TLR ligandları ve lokalizasyonları

TLR	Klasik ligandlar	Dağılım ve hücre lokalizasyonu
TLR1	Mikobakteri:Tri-açılpeptidler	İnsan ve farelerde sık yüzey ekspresyonu TLR2 ile heterodimerizasyon
TLR2	Gram (+) bakteri peptidoglikan, lipoprotein, ısı şok proteinleri	İnsan ve farelerde sık yüzey ekspresyonu TLR1 ve TLR6 ile heterodimerizasyon
TLR3	Virüsler:Çift sarmal DNA (dsDNA) Sentetik:polinosik polisitilik asid	İnsan myeloid dendritik hücrelerde (mDH) ve fare monosit ve mezengial hücrelerde hücre içi ekspresyon
TLR4	Gram (-) bakteri: Lipopolisakkarit (LPS) (koreseptör CD14, LBP, MD-2)	Yaygın yüzey ekspresyonu Sindirim sistemi epitelinde intraselüler ekspresyon
TLR5	Bakteri:Flagellin	Sindirim sistemi epiteli dahil insan ve farede yaygın yüzey ekspresyonu
TLR6	Mikoplazma:Diaçil lipoproteinler	Öncelikle insan ve farede mDH, mast hücre ve B hücre yüzeyinde ekspresyon TLR2 ile heterodimerizasyon
TLR7	Virüsler:Tek sarmal RNA Sentetik:İmidazoquinolinler	İnsanlarda plazmasitoid dendritik hücreler (pDH) ve B hücrelerde endozomal ekspresyon
TLR8	Virüsler:Tek sarmal DNA Sentetik:İmidazoquinolinler	İnsanlarda pDH ,B hücreleri ve NK hücrelerinde endozomal ekspresyon Farelerde fonksiyonel değil
TLR9	Virüsler ve bakteri:Çift sarmal DNA Sentetik:CpG olidodeksinükleotidler	İnsanlarda pDH, B hücrelerinde endozomal ekspresyon Farelerde daha yaygın olarak doku ekspresyonu

Tablo 2. TLR ligandları ve lokalizasyonları (DEVAMI)

TLR10	Bilinmiyor	İnsan pDH ve B hücre yüzeyinde ekspresyon Farelerde bulunmaz
TLR11	Toxoplasma gondii:Profilin Üropatojen bakteri	Fare üroepitel yüzeyinde eksprese edilir İnsanlarda fonksiyonel değil
TLR12	Bilinmiyor	Bilinmiyor
TLR13	Bilinmiyor	Bilinmiyor

TLR'ler amino asit sıralarında benzerlikler ve intrasellüler sinyallerine göre TLR2 ailesi (TLR1, TLR2, TLR6) ile TLR3, TLR4, TLR5 ve TLR9 (TLR7, TLR8, TLR9) aileleri olarak gruplandırılırlar (35). TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10 hücre yüzeyinde TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 sitoplazmada özellikle endozomlarda bulunur (45).

**Şekil 2.** TLR ailesinin ligandları ve hüresel lokalizasyonları (3).

(TLR: Toll-like reseptör, ssRNA: tek sarmal RNA, dsRNA: çift sarmal RNA, PGN:Peptidoglikan, LP:Lipoprotein, LPS:Lipopolisakkarit, CpG DNA:sitozin-guanin DNA)

İnsan keratinositlerinde eksprese edilen TLR 'ler içinde, TLR2 ve TLR4'ün aynı bir yeri vardır. TLR4 gram (-) bakterilerdeki LPS'lerin sinyal reseptörüdür ve aynı zamanda gram (+) bakterilerin lipoteik asitlerini de bağlayabilir (46). TLR2, hücre yapılarındaki LP, lipopeptid, peptidoglikan (PGN), lipoteikoik asit (LTA), lipoarabinomannan (LAM), glikoinositolfosfolipid, glikolipid ve zimosan gibi farklı molekülleri tanır (44). Dendritik hücrelerin mikrobiyal ürünler ile aktive edilerek maturasyonunun sağlanmasında ana aracı rolü TLR2'nin oynadığı gösterilmiştir (47).

2.10.3. Deride TLR Ekspresyonu

TLR'lerin kutanöz ekspresyonu diğer sistemlerden farklı olarak özel bir öneme sahiptir çünkü deri bakteri, virüs ve mantar gibi zararlı çevresel tehditlere karşı ilk savunma hattıdır. Bir çok enfeksiyöz, inflamatuvar ve neoplastik deri hastalığında farklı TLR alt tiplerinin patogeneizde önemli ölçüde rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca TLR ekspresyon inhibisyonu sağlayan birçok ilaç da çeşitli dermatolojik hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Deri, PAMP'ları tanıma ve tepki olarak proinflamatuvar durumu uyarma kapasitesinde olmalıdır. İmmün sistemin bu santral rolü TLR tarafından gerçekleştirilir (3). TLR'ler epidermiste keratinositler ve langerhans hücreleri, dermiste makrofajlar, dendritik hücreler, T ve B hücreleri, mast hücreleri gibi immün sistem hücreleri, deri mikrovaskülarizasyonundaki endotel hücreler, fibroblastlar ve adipositler gibi stromal hücreleri içeren pek çok hücre tipince eksprese edilirler (48). İn vitro ve in vivo koşullarda normal insan keratinositlerinin TLR2 ve TLR4 eksprese ettikleri saptanmıştır (43, 44, 49-51). Kültüre primer insan keratinositlerinde TLR1, TLR2, TLR3, TLR5, TLR6 ve TLR10 eksprese edildiği; TLR7 ve TLR8'in ise eksprese edilmediği gösterilmiştir (52).

Primer keratinositler (KC) ile HaCaT hücreleri arasında TLR ekspresyonları yönünden farklılıklar vardır. TLR1 sadece primer keratinositlerde, TLR4 ise sadece HaCaT hücrelerinde bulunur. TLR2, TLR3 ve TLR5 her iki hücre grubunda da bulunmaktadır (35). Langerhans hücreleri TLR2-4, TLR8, TLR10 ve daha az olarak da TLR1, TLR5-7 ve TLR9 eksprese ederler (53). Melanositler ise TLR4 eksprese eder (3).

Yapılan çalışmalarda epiderminin farklı tabakalarındaki keratinositlerde, farklı TLR'lerin ekspresyonları saptanmıştır (32). Baker ve ark.'ları sağlıklı meme derisinden alınan biyopsilerin antikör boyamasında bazal tabaka keratinositlerinde TLR2 ve TLR5, epiderminin diğer tabakalarında değişik oranda TLR1 ve TLR2 ekspresyonunu göstermişlerdir (49). Her bir TLR'nin ligandı da farklıdır. Bu nedenle TLR'lerin dağılımındaki bu değişikliklerin anlamı ve önemi araştırılmaktadır. Keratinositler bazal tabakadan yukarı doğru çıktıkça matüre olurlar; TLR ekspresyonlarındaki farklılıkların bu matürasyon süreciyle ilişkili olduğu iddia

edilmektedir (32). Keratinosit TLR'leri kutanöz immünolojide NF-kB aktivasyonu ile etkili olur (54). NF-kB translokasyonu IL-8, COX-2 ve indüklenebilir NOS gibi proinflatuar genlerin transkripsiyonu, keratinositlerin dendritik hücre maturasyonu ve antijen sunumunu artıran kemokinlerin salınımı ile sonuçlanır (55, 56). TLR, keratinositlere etkileriyle adaptif immün cevabı da belirleyebilir. Bir çalışmada TLR süpernatantları ile uyarılan keratinositler, immatür dendritik hücrelerin matür dendritik hücrelere dönüşmesini sağlamıştır (57). İnflatuar deri hastalıklarında TLR'lerin bu etkisi önemli olabilir, çünkü dendritik hücrelerin T hücrelerini Th1 yönünde matürasyon için uyardığı bilinmektedir (54).

Tablo 3. Deride TLR ekspresyonları (22, 32, 58-60).

	TLR1	TLR2	TLR3	TLR4	TLR5	TLR6	TLR7	TLR8	TLR9	TLR10	TLR11
KC	+	+	+	*	+	+	-	-	-	+	NK
LC	+/-	+	+	+	+/-		+/-	+	+/-	+	NK
MC	NK	NK	NK	+	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK
DC	+	+	-	+	+	+	-	+	+	NK	NK
Fb	NK	+	+	+	+	NK	-	-	-	NK	NK

DC:dendritik hücre; Fb: fibroblast; KC: keratinosit; LC: langerhans hücresi; MC: melanosit; NK: bilinmiyor; +: normal ekspresyon; -: ekspresyon yok; +/- : düşük ekspresyon
*: TLR 4 sadece HaCaT hücrelerinde bulunur.

TLR'ler bazı dermatolojik hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilmiştir (Tablo 4) ve dermatolojide kullanılan bazı ilaçlar etkilerini TLR sinyal yolu ile göstermektedir (61). (Tablo 5)

Tablo 4. TLR ve dermatolojik hastalıklar

Deri Hastalığı	İlişkili TLR	Referans
Akne vulgaris	TLR2, 4	(19, 22, 49, 60, 62)
Psoriasis	TLR1- 4, 5, 9	(19, 38, 60)
Bazal hücreli karsinom (BCC)	TLR7, 8, 9	(63, 64)
Squamos hücreli karsinom (SCC)	TLR7, 8	(65, 66)
Melanom	TLR4, 7, 9	(20, 67)
S.aureus	TLR2, 6	(38, 42)
C.albicans	TLR2, 4	(19, 58)
Herpes simplex/Varicella zoster	TLR2, 3, 9	(59, 68)
Verruka/Molloskum contagiosum	TLR3, 7, 9	(60)
Lyme hastalığı	TLR1 /2(heterodimer) 4, 6	(60)
Lepra	TLR1, 2	(69, 70)
Sifiliz	TLR2, 4 / 5 (heterodimer)	(19, 60)
Liken planus	TLR9	(60)
Sarkoidoz	TLR2, 4	(24)
Behçet hastalığı	TLR4, 6	(60)
SLE	TLR2, 7, 9	(71, 72)
Skleroderma	TLR4	(60)
Atopik dermatit	TLR2, 9	(38, 73)

Tablo 5. TLR ilişkili deri hastalıklarında kullanılan tedavi edici ajanlar

Tedavi ajanı	İlişkili TLR	Hastalık	Referans
İmidazokinolinaminler			
İmikimod	TLR7	Genital siğil, yüzeysel bazal hücreli karsinoma, aktinik keratoz	(60)
Resikimod	TLR7	Genital siğil, yüzeysel bazal hücreli karsinoma, aktinik keratoz	(60)
İmmünmodulatorler			
Loxoribin	TLR7	Deri kanseri	(60)
Broprimin	TLR7	Deri kanseri	(60)
Kalsinörin inhibitörleri			
Pimekrolimus	TLR2 / 6	Atopik dermatit	(74)
Takrolimus	TLR1, 2	Atopik dermatit	(75)
Nikotinamid	TLR2	Akne vulgaris, büllöz pemfigoid, nekrobiyozis lipoidika, dermatitis herpetiformis	(76)
All trans retinoik asit	TLR2, 4	Akne vulgaris	(77)
Adapalene	TLR2	Akne vulgaris	(19)
Çinko tuzları	TLR2	Akne vulgaris	(19)
Sodyumtosilkloramid	TLR4	Bakteriyel deri enfeksiyonları	(78)
CpG-ODN	TLR9	Melanom	(79, 80)

2.10.3.1. Toll-Like Reseptör 2 (TLR2)

TLR2 kompleksleri çoğunlukla bakterilerdeki PAMP' ların geniş bir aralığını tanır. Bunlar LAM, LPS, LTA, PGN ve diğer glikolipidler, glikoproteinler ve lipoproteinlerdir. TLR2'nin ligandları tanınması ve sinyal iletimi oluşturabilmesi için diğer TLR'ler ile dimerize olması gerekmektedir. TLR4 gibi TLR2 komplekslerinin PAMP'ları tanınması ve/veya sinyal iletmesi için CD14 gerekir (81). TLR2'nin akne vulgaris, psoriasis, stafilokok, kandida ve herpes enfeksiyonları, Lyme hastalığı, lepra, sifiliz, sarkoidoz, SLE ve atopik dermatit patogenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (19, 38, 59, 60).

2.10.3.2. Toll-Like Reseptör 3 (TLR3)

Virüslerin hayat siklusları boyunca ürettikleri çift iplikli RNA (ds RNA) TLR3 tarafından tanınmaktadır. TLR3, 23 adet lüsinden zengin alana sahiptir. TLR3 sinyalleri NF-kB aktivasyonuna yol açarak tip I IFN'ların sentezini sağlar. Plasmositoid dentritik hücreler ds RNA'ya cevapta spesifik olarak TLR3 kullanarak IFN üretimini sağlamaktadırlar (82) TLR3, herpes, varicella, verruka ve molloskum gibi viral enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir (19, 59, 60, 68).

2.10.3.3. Toll-Like Reseptör 4 (TLR4)

TLR4 insanda ilk tanımlanan Drosophila toll-like reseptörüdür. LPS, gram (-) bakteri hücre duvarının major bileşenidir. TLR4, LPS'in tanınmasından sorumludur. Bu tanınmayı bir glikoprotein olan CD14 ile beraber gerçekleştirmektedir. Bu reseptörler aktive olduğu zaman IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler salgılanmaktadır. TLR4 geni eksik farelerde LPS'ye cevabın azalmış olduğu tespit edilmiştir. TLR4 mutasyonlu farelerde ise *S. typhimurium* ve *N. meningitidis* gibi gram (-) bakteri infeksiyonlarının oldukça sık olduğu tespit edilmiştir (83). Akne vulgaris, psoriasis, melanom, Lyme hastalığı, sifiliz, sarkoidoz, Behçet hastalığı, skleroderma ile ilişkili TLR'dir (19, 38, 58, 60).

2.10.3.4. Toll-Like Reseptör 7-8 (TLR7-8)

TLR7 ve TLR8'in ligandları benzerdir. Her ikisi de viral tek zincir RNA'yı tanır ve endojen RNA taşıyan otoantijenlerin tanınmasında rol oynar (45). TLR7 ve TLR8'in ligandları benzer olsa da uyarılmaları sonucu farklı sinyal yolları aktive olur. TLR7 plazmasitoid dendritik hücrelerde IFN yapımını uyarırken TLR8 miyeloid dendritik hücreler ve monositlerden proinflamatuvar sitokinlerin salgınımına neden olur (84). TLR7'nin sentetik bileşikler de tanınması enfeksiyon, kanser ve alerji gibi birçok alanda yeni tedavi hedefi olmasına yol açmıştır(85). TLR7 ve TLR8 BCC, SCC, melanom ve SLE ile ilişkilendirilmiştir (63-65). İmmüno mod TLR7 inhibisyonu üzerinden etki ederek BCC ve SCC tedavisinde kullanılmaktadır (60).

2.10.3.5. Toll-Like Reseptör 9 (TLR9)

TLR9 bakteriyel, viral DNA ve anmetile CpG dinükleotidlerini (CpG-DNA) içeren sentetik oligodeoksinükleotidlerin tanınması için gereklidir (45). TLR9 hem doğal hem de kazanılmış immünitinin önemli bir parçasıdır. Kazanılmış immün yanıtta sinyaller DC tarafından düzenlenir. DC maturasyonu LPS, CpG DNA, PGN, lipoprotein ve hücre duvarı iskeleti gibi birçok bileşen tarafından tetiklenir. Bu durum TLR tarafından düzenlenir. Knockout farelerle yapılan çalışmalarda TLR9'un DC maturasyonundan ve anmetile CpG'den zengin bakteri DNA'sı ile karşılaşılması sonucunda TNF, IL-6, IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinlerin makrofajlar tarafından

üretiminden sorumlu olduğu gösterilmiştir (86). TLR9'un psöriazis, SLE, BCC, melanom, atopik dermatit, liken planus ve herpes, verruka, molluskum enfeksiyonları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (19, 60, 64, 71).

2.10.4. TLR Tetiklemesiyle Oluşan Sitokinlerin Görevleri

2.11. Sitokinler

Sitokinler, inflamatuvar ajanların aktivasyonu sonucu üretilen küçük, hormon benzeri sinyal peptidlerdir. Önceleri hücrenin orijini vurgulamak için lenfokin veya monokin olarak adlandırılan sitokinlerin farklı fonksiyonlar gösteren tanımlanmış yüzden fazla çeşidi bulunmaktadır. Deride; keratinositler, langerhans hücreleri, melanositler, mast hücreleri, makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller ve lenfositler tarafından üretilir. Sitokinler depolanmayıp hücre aktivasyonu sonrası de novo sentezlenir. Sitokinler; lenfokin, monokin, interlökin (IL), interferon, büyüme faktörleri ve kemokinleri içerir. Otokrin ve parakrin etkilerinin yanında endokrin yol ile uzak hücreleri de etkileyebilirler. Sitokinler hücrelerde bulunan membran reseptörleri yoluyla hareket eder. Bu reseptörlerin yapıları benzerdir ve bu yüzden birçok sitokin çok yönlü pleiotropik etkiye sahiptir. Bazı sitokinler hücreler üzerinde sinerjistik etki gösterirken bazıları antagonist olabilirler. Aynı sitokin farklı hücrelerde farklı özellikler de gösterebilir (87, 88). Sitokinler bağışıklık sisteminin tüm aşamalarını kontrol eder: başlatma, efektör faz, sonlandırma. Hem doğal hem de hücrel ve humoral immün cevapları düzenlerler

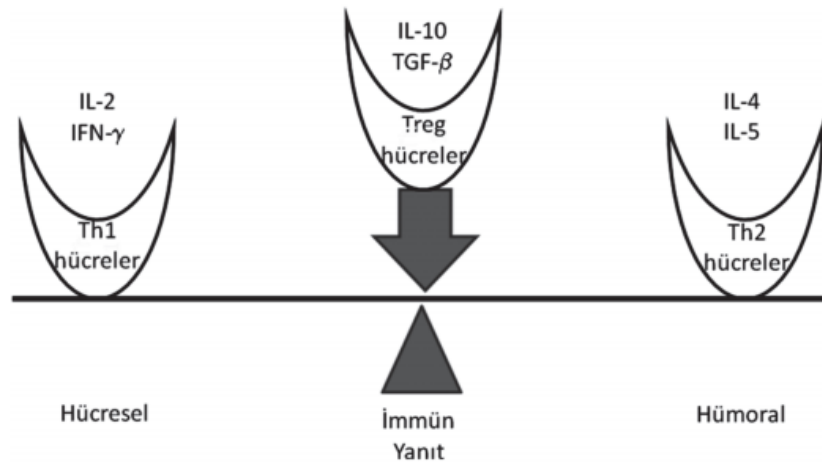
Sitokinler fonksiyonlarına göre ise dört gruba ayrılır: (87, 89).

1. Mononükleer fagositler tarafından salınıp bağışıklıkta etkili olanlar; tip 1 interferon, TNF, IL-1, IL-6 ve IL-8.
2. Lenfosit aktivasyonu, gelişimi ve farklılaşmasında etkili olanlar; IL-2, IL-4, transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β).
3. İnflamatuvar hücreleri aktive edenler; IFN- γ , lenfotoksin (LT), IL-5, migrasyon inhibe edici faktör (MIF).

4. Hematopoezi uyaranlar; IL-3, IL-7, granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), monosit-makrofaj stimüle edici faktör (M-CSF), granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF).

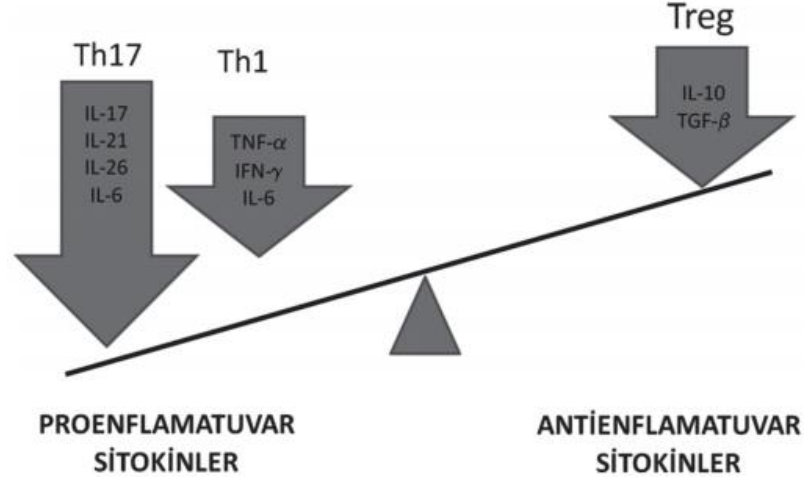
Edinsel immünitede fonksiyon gösteren sitokinler özellikle lenfositlerin antijeni tanımlarından sonra gelişen farklılaşma ve çoğalma süreçlerinde etki göstermektedir. Bu sitokinler T lenfositler tarafından salgılanmakta olup salgı profillerine göre adı geçen hücrelerin belli gruplar oluşturmasına neden olmaktadır. Patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı immün sistemde CD4+ yardımcı T hücreler (Th) önemli rol oynar. CD4+ T hücreler antijen sunan hücreler tarafından kendilerine sunulan mikrobiyal antijenle karşılaşınca aktive olmakta ve fonksiyonel olarak farklı iki gruba ayrılmaktadır. Th1 hücreler IL-2, IFN- γ ve TNF- α sekrete ederek makrofaj aktivasyonu yolu ile Leishmania gibi hücre içi patojenlerin eliminasyonunda etkin bir rol oynamaktadır. Th2 hücreler ise IL-4, IL-5, IL-13 sekrete etmekte ve humoral immünitede etki göstermektedir. Th2 hücreler aynı zamanda alerjenlere karşı verilen immün yanıtta da sorumludur. Th1 sitokinlerinin fazla üretimi gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonları ve otoimmün hastalıkların belirteçidir. Th2 sitokin disregulasyonu ise alerjik reaksiyonlara neden olur (90).

Düzenleyici T hücreleri olarak isimlendirilen ve bu iki farklı sitokin profili arasında dengeyi sağlayan ayrı bir T hücre grubunun bulunduğu saptanmıştır. Bu düzenleyici T hücre (Treg) grubunun TGF- β , IL-10 sekrete ettikleri düşünülmektedir. Bu iki sitokin de immün sistem üzerinde baskılayıcı etki göstermektedir (90).



Şekil 3. Th1/Th2 dengesi ve Treg hücreleri (90).

Son yıllarda saptanmış olan diğer yardımcı T hücre grubu ise Th17 hücre alt grubudur. Th17 hücreleri IL-6, IL-15, IL-17, IL-22, IL-23, salgılayarak enflamasyon ve otoimmünitede önemli rol oynamaktadır (90).



Şekil 4. Th1/Th17 ve Treg hücreleri (90).

Son olarak sınıflandırılmış yeni bir hücre grubu Th22 hücreleridir. Aktive T hücrelerinde ve NK hücrelerinde eksprese edilen IL-22 yapısal olarak IL-10 ile benzemektedir ve özellikle keratinositlerde eksprese edilmektedir. IL-22'nin bakteriyel enfeksiyon, psöriazis ve atopik dermatitte yüksek olduğu saptanmıştır (90).

IL, ilk kez lökositler tarafından salındığı fark edilen bir grup sitokin ailesidir. İsimlendirmelerinin aksine lökositler dışında makrofaj, endotel ve epitel hücreleri gibi birçok farklı hücre tarafından da üretilirler (87).

Tablo 6. TLR ve karakteristikleri (52).

Toll-like reseptör	İndüklediği sitokin ve efektör molekül	Fonksiyon
TLR1	TNF- α IL-12	Mikobakteri enfeksiyonlarına karşı savunma
TLR2	TNF- α IL1- β IL-6 IL-8 IL-10 IL-12 NO IL-4, IL-5 IL-6, IL-13	Mikobakteri, gr(+) bakteri, mikoplazma, protozoa, mantar enfeksiyonlarına karşı savunma, Oksidatif stres ve hücre nekrozunu fark etme, Apoptoz indüksiyonu, Mast hücre aktivasyonu ve degranulasyonu
TLR3	IFN- β	Antiviral savunma
TLR4	TNF- α IFN- β IL-1 IL-6 IL-10 IL-13 NO Lökotrienler Prostanoidler	Gr(-) bakteri, mantar ve virus enfeksiyonlarına karşı savunma, Apoptoz indüksiyonu
TLR5	TNF- α IL1- β IL-6 IL-10 IFN- γ NO	Kamçılı bakterilere karşı savunma, Denditik hücre maturasyonu
TLR6	TNF- α	Bakteri, mantar, mikoplazma ve protozoa enfeksiyonlarına karşı savunma
TLR7	TNF- α IFN- γ IFN- β IL-1 IL-6 IL-8 IL-12 GM-CSF Superoksitler	Antitümör, antiviral savunma, DC maturasyonu, Langerhans hücrelerinin deriden drenajın olduğu lenf noduna göçü, Th1 gelişimi, NK aktivasyonu, B hücre proliferasyonu, Eozinofil aktivasyonu
TLR8	TLR7'ye benzer	TLR7'ye benzer
TLR9	IFN- α IFN- γ IFN- β IL-6 IL-12	Antibakteriyeli antiviral savunma, Th1 gelişimi, B hücre proliferasyonu, DC maturasyonu
TLR10	Bilinmiyor	Bilinmiyor

2.11.1. İnterlökin-1alfa (IL-1 α)

IL-1, doğal immünyetede konak inflamatuvar cevabında mediatör olarak görev alır. IL-1'in ana hücre sel kaynağı aktive olmuş mononükleer fagositlerdir ve üç ana alt

tipi vardır. Bunlar; IL-1 alfa (IL-1 α), IL-1 beta (IL-1 β) ve IL-1 reseptör antagonistidir (IL-1Ra). IL-1 α ve IL-1 β agonist aktiviteye sahiptir. IL-1Ra ise, diğer iki IL-1 molekülüyle fizyolojik olarak antagonist etki gösterir (91). Epitel hücreleri, polimorf nüveli lökositler (PMNL), monosit ve lenfositler için kemotaktiktir. IL-1 neredeyse tüm hücre tiplerini etkileyen bir proinflamatuvar sitokindir. Prekürsör olan proIL-1 α , hücreler öldüğünde salınır ve hücrel proteazlar tarafından bölünebilir. Sağlıklı insan derisi ve epitelyal hücrelerde fazla miktarlarda proIL-1 α üretilir (92). IL-1 α epidermal keratinositler tarafından da salgılanır. IL-1 α B hücre aktive edici faktör olarak da bilinir. TNF- α ile benzer biyolojik etkilere sahiptir, bir çok inflamatuvar ve immünolojik hastalıkta üretimi artmıştır (93).

2.11.2. İnterlökin -2 (IL-2)

Önceleri T Cell Growth Factor (TCGF), Thymocyte Mitogenic Factor (TMF), Killer Helper Factor (KHF) gibi adlarla anılan maddelerin, kromatojenik incelemeler sonucunda aynı madde oldukları anlaşılacak şekilde IL-2 olarak adlandırılmıştır. Aktive olmuş T lenfositlerinde IL-2'nin etkisiyle çeşitli hücre fonksiyonları ortaya çıkar:

- Lenfositler çok sayıda lenfokin salgı; İnterferonlar, CSF, IL-3, LT, IL-4 (BCGF) ve IL-6 (BCDF) bunlardandır.

-IL-2 ayrıca NK hücrelerini de aktive ederek çoğalmalarına yol açar. Ayrıca B lenfosit geliştirici faktör gibi de etkili olur (87).

2.11.3. İnterlökin -4 (IL-4)

BCGF-1 olarak adlandırılan IL-4, Th lenfositlerince oluşturulur.Th'ye bağımlı antijen ile aktive olmuş B lenfositler üzerinde mitojenik aktivitesi vardır. IL-4, IL-2 ile sinerjik etki gösterir. Aktive olmamış B lenfositlerinin yüzeyinde MHC-2 (HLA-DR) moleküllerinin ve IgE'ye karşı algaçların çoğalmasına yol açar. Mast hücrelerinin çoğalmasını etkiler, Tc hücrelerinin aktivasyonunu artırır (87).

2.11.4. İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6 T ve B lenfositler, monosit, epitelyal hücreler ve fibroblastlardan salınan; hücrel ve humoral immünite üzerinde etkileri olan proinflamatuvar bir sitokindir. İnflamatuvar ve immün yanıtlarda, özellikle akut faz cevabında rol oynayan

çok fonksiyonlu bir sitokindir (94). B lenfositler üzerinde etkili olarak, onların plazma hücrelerine dönüşmesini sağlar (87). Poliklonal antikor oluşumu, B hücre aktivasyonu, hipergamaglobulinemi ve T hücre aktivasyonu ile otoantikor oluşumuna neden olur. IL-6 endotel hücre üretimini aktive ederek IL-8 ve monosit kemoatraktan protein salınımına, adezyon molekülleri ekspresyonuna ve inflamasyon alanına nötrofillerin çekilmesine yol açar (94).

2.11.5. İnterlökin-8 (IL-8)

IL-8 monositler, nötrofiller ve NK hücreleri tarafından üretilmekte olup nötrofiller, bazofiller ve T hücreleri için kemoatraktandır. Ayrıca IL-8, nötrofilleri degranüle olmaları için aktive eder. IL-1 β , TNF- α ve IL-8 birlikte sinerjistik etkiyle yeni PMNL'leri dokuya yollar (95, 96).

2.11.6. İnterlökin-10 (IL-10)

IL-10, insan immün yanıtında bulunan en önemli anti-inflamatuar sitokindir. Primer olarak T lenfositler, monositler, makrofajlar, B lenfositler ve nötrofiller tarafından sentezlenen supresif bir sitokindir. IL-10; IL-1beta, TNF- α , IL-8, IFN- γ , IL-6 ve prostaglandin metabolitleri gibi enflamasyon mediatörlerini inhibe eder (97, 98). Th1 hücrelerinden IL-2 ve IFN-gamma yapımını, antijen spesifik T hücre aktivasyonunu bloke eder (99).

2.11.7. İnterlökin-12 (IL-12)

IL-12, başlıca monositlerde, makrofajlarda, B lenfositler ve dendritik hücrelerde üretilmektedir. IL-12'nin salınımı bakteriler, bakteri ürünleri, hücre içi parazitlerince uyarılırken, GM-CSF ve IFN- γ ile artmakta, IL-10 ile ise azalmaktadır. IL-12 öncelikli olarak yardımcı T lenfositlerin (Th) farklılaşmasını düzenler (100). IL-12'nin IFN- γ üretimini artırması dolaylı olarak antijen sunan hücrelerin enfeksiyöz ajanları yok etme fonksiyonlarını güçlendirmektedir (101). IL-12'nin T ve NK hücrelerinin çoğalma yeteneklerini ve sitotoksik etkinliklerini artırdığı gösterilmiştir (102).

2.11.8. Tümör Nekrozis Faktör -Alfa (TNF- α)

İki çeşit TNF vardır. Bunlar genelde aktif makrofajlardan salınan TNF-alfa (TNF- α , kaşektin) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF-beta'dır (TNF- β , lenfotoksin) (103, 104). TNF- α , TNF- β ile uyarılmış makrofajlar tarafından sentezlenen 157 aminoasitli bir polipeptittir (104). Birçok inflamatuvar ve otoimmün hastalığın patogeneziyle ilişkili olduğu düşünülen immün düzenleyici yanıtları da içeren çok sayıda biyolojik etkisi olan pleotropik bir sitokindir. TNF- α 'nın inflamasyon ve immünolojik reaksiyonlarda zamanlama, hedef hücre ve inflamatuvar reaksiyonun şiddetine bağlı olarak koruyucu veya patolojik rol oynadığına inanılmaktadır (105). Karaciğer, kas, barsak, akciğer ve deriyi içeren birçok dokuda TNF- α için yüksek affiniteli membran reseptörleri bulunmaktadır. Derideki reseptörlerin, epidermal ve endotelial hücrelerde ve dermal fibroblastlarda bulunduğu saptanmıştır (105). Deride TNF- α 'nın kaynakları keratinositler ve langerhans hücreleridir (106).

2.11.9. İnterferon-gamma (IFN- γ)

İmmünomodülatör, antiproliferatif etkileri yanında interferonların hedef hücrede metabolik aktivite ve spesifik gen ekspresyonunu düzenleme özelliği de vardır (107). Moleküler ve biyolojik yapıları birbirinden farklı olan interferon tipleri tanımlanmıştır. Tip I'de IFN- α , β ve ω yer alır. Tip II'de ise antiviral etkisinin yanı sıra, immünregülatuar etkileri daha fazla olan ve reseptörlerinin hemen tamamı farklı olan IFN- γ yer alır ve immün interferon olarak da isimlendirilir (108, 109). IFN- γ nadiren Th ve NK hücrelerce sekrete edilse de tamamına yakını CD8+ T hücrelerce sekrete edilir (99). Hemen hemen tüm hücre tipleri IFN- γ reseptörlerini eksprese ederler. Makrofajların IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi sitokinlerle NO sentez etmesini indükleyerek mikrobisidal aktivitelerini artıran potent bir aktivatördür (110).

Nötrofiller, NK hücreleri ve damar endotelial hücrelerini aktive eder (99). Th1 hücrelerinin aktivitesini hızlandıran IFN- γ , hücre aracılı immüniteyi arttırdığından IFN- γ üretimi Th1 immün cevapta birincil belirteç olarak kabul edilmektedir (99, 111). Humoral aktiviteyi baskılamayı Th2 hücrelerinin gelişimini inhibe ederek sağlar. IFN- γ 'nın immünolojik olarak aktif olan B hücrelerinin ve

CD8+ T hücrelerinin farklılaşmasını hızlandırma etkisi vardır. Sinerjistik olarak TNF- α 'nın sitotoksik etkisini artırır. IFN- γ üretimi IL-2 ve IL-12 etkisinde artarken, IL-4 ve IL-10 etkisi ile inhibe olur (99).

3. MATERYAL ve METOD

Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 3665-TU2-13 proje numarası ile desteklenen çalışmamızın, laboratuvar süreci Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür. Çalışmamız, deney hayvanlarının bilimsel amaçla kullanılabilmesi için SDÜ Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulundan onay alınarak etik kurul kurallarına uygun bir şekilde yapılmıştır.

3.1. Deney Düzenegi

EMA kaynağı olarak 2.45 GHz'de çalışabilen ve 0-2 watt çıkış verebilen, kablosuz iletişim cihazlarının yaydığı sinyaller benzeri sinyal üretebilen EMA jeneratörü kullanılmıştır.



Resim 1. EMA jeneratörü

2.45 GHz'te çalışan monopul anten ile ratlara EMA uygulanmıştır. RF jeneratör 2 watt güçte çalıştırılarak monopul antene yakın alandaki güç yoğunluğunun değişimi Süleyman Demirel Üniversitesi Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Elektromanyetik Laboratuvarından temin edilen cihazlarla hassas bir şekilde ölçülmüştür.

Ratlar ortalama 64 mW/kg Özgül Soğurma Oranı (SAR) değerinde radyasyona maruz bırakılacak şekilde standart ayarlamalar yapılmıştır. Deney düzeneginde ratlar 5 cm çapındaki pet tüplere konmuştur. Pet tüpün uzunluğu 20 cm

antene eşit uzaklıkta olması deney düzeneğinde sağlanmış ve ratların hergün aynı saatte EMA'ya maruz bırakılmasına özen gösterilmiştir.

2. grup: 2.45 GHz'e 3 saat /gün maruz bırakılan grup (n:8) (D3)

Bu grupta yer alan ratlar EMA'ya maruziyet sonrası kutanöz immün sistemde ortaya çıkabilecek değişikliklerin süre ile olan ilişkisini değerlendirebilmek amacı ile 4 hafta süresince (haftada 5 gün) günde 3 saat olmak üzere pet tüpler içerisinde 2.45 GHz frekanslı 64 Mw/kg SAR değerli EMA'ya maruz bırakılmıştır.

3. Grup: Kontrol grubu (n:8) (K)

EMA'ya maruziyet sırasında ratların dar bir tüpün içine sokulmalarından dolayı stres yaşayabilecekleri ve bunun da TLR ve sitokin değerlerini etkileyebileceği öngörüsü nedeniyle sham kontrol gruplarıyla sağlıklı kıyaslama yapılabilmesi için kontrol grubu, 4 hafta süresince (haftada 5 gün) tüp dışında EMA'ya maruz kalmaksızın tutuldu.

4. Grup: Sham Kontrol grubu 1 (n:8) (S1)

Dar tüp içinde kalmanın ortaya çıkarabileceği stres faktörünün süreye bağımlı olma ihtimalini ekarte etmek amacıyla sham kontrol I grubu 4 hafta süre (haftada 5 gün) ile günde 1 saat olmak üzere EMA maruziyeti olmaksızın pet tüplere konuldu.

5. Grup: Sham Kontrol grubu 3 (n:8) (S3)

Dar tüp içinde kalmanın ortaya çıkarabileceği stres faktörünün süreye bağımlı olma ihtimalini ekarte etmek amacıyla sham kontrol I I I grubu 4 hafta süre (haftada 5 gün) ile günde 3 saat olmak üzere EMA maruziyeti olmaksızın pet tüplere konuldu.

3.3. Anestezi ve Gerekli Materyallerin Eldesi

Ratlara deney sonunda Xylazine HCl 10 mg/kg + Ketamin HCl 90 mg/kg i.p. uygulamayla anestezi verildi. Sırt bölgesi traşlanıp tüyleri temizlendikten sonra deri örnekleri alındı. Doku örnekleri soğuk zincire uygun biçimde taşınarak -80 C'de alüminyum folyo içinde muhafaza edildi.



Resim 3. Sırt derisi traşlanmış rat



Resim 4. Deri örneklerinin alınması

3.4. Numunelerin Hazırlanması ve Homojenizasyonda Yapılan İşlemler

Yaş ağırlıkları 1 gr olarak tartılan dokular soğukluğu muhafaza edilerek cam tüpe aktarıldı. Doku üzerine 9 ml Working solüsyonu (50 mmol.lık pH:7.40 Fosfat Tamponu) eklendi. Buz doldurulmuş plastik kap içerisine yerleştirilen cam tüpteki doku 13.500 devir/dakika hızda homojenize edildi. Daha sonra buz üzerinde sonikatör ile 30 saniye süreyle sonike edildi. Homojenatlar, 3500 devir/dakika hızında 15 dakika süreyle +4 °C soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Süpernatantlar endorf tüplerine aktarıldı ve tüplerin üzeri numaralandı.

3.5. Dokularda Biyokimyasal Analizler

Dokularda TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9 ve IL-8 parametreleri Mybiosource marka (U.S.A) kit ile; IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-1 α , TNF- α ve IFN- γ parametreleri eBioscience marka (Austria) kit ile; IL-12+p40 Invitrogen (U.S.A.) marka kit ile ELISA yöntemiyle kit prosedürlerine uygun olarak çalışılmıştır.

3.6. İstatistiksel Analiz

İncelenen özelliklere ait sonuç veriler Kolmogorov Smirnov testi ile test edilmiş ve verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. İncelenen özelliklerin gruplara göre farklılıklarının incelenmesinde tek faktörlü varyans analizi kullanılmıştır. Varyans analiz sonucunda istatistiksel olarak önemli bulunan özelliklerin ikili grup karşılaştırmaları LSD çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır. Araştırılan özellikler arasında doğrusal ilişkinin önemliliği ve yönü Pearson korelasyon katsayısı ile incelenmiştir. Anlamlılık düzeyi < 0.05 olarak kabul edilmiştir. Analizler SPSS 15.0 kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Gruplarda Sitokin ve TLR Düzeyleri

İstatistiksel olarak tek yönlü varyans analizine göre çalışmamızda değerlendirilen parametrelerden ortalama IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- γ , TLR7 ve TLR8 düzeyleri grupların en az birinde diğerlerinden farklı bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer incelenen parametrelerde ise (IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, TLR2, TLR3, TLR4, TLR9) gruplara göre istatistiksel fark bulunmamıştır. Gruplara göre incelenen sitokin ve TLR'lerin tanımlayıcı istatistiksel parametreleri (ortalama, standart sapma, minimum, maximum değer ve p değeri) Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7. Gruplara göre sitokin tanımlayıcı istatistiksel parametreler (ortalama, standart sapma, minimum maximum değer ve p değeri)

Özellikler	Grup	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maximum	P
IL-2_pg/ml	D1	195.78 ^a	10.67	182.50	208.70	0.046
	D3	184.21 ^b	11.01	174.00	206.30	
	K	190.35 ^{ab}	7.34	183.50	206.30	
	S1	196.35 ^a	8.80	184.50	208.70	
	S3	185.94 ^{ab}	9.36	172.80	203.00	
IL-4_pg/ml	D1	12.48	2.30	8.40	15.70	0.722
	D3	11.71	2.82	8.10	15.40	
	K	12.16	1.96	8.70	14.80	
	S1	11.80	2.14	8.50	14.60	
	S3	13.71	5.36	8.70	23.40	
IL-6_pg/ml	D1	337.16	121.15	164.80	481.60	0.496
	D3	288.90	111.75	98.70	485.90	
	K	258.83	107.06	107.60	383.00	
	S1	321.20	57.20	246.60	438.60	
	S3	267.75	104.41	156.10	477.30	
IL-8_pg/ml	D1	72.75	19.12	56.30	108.20	0.167
	D3	81.99	21.71	52.20	119.60	
	K	86.95	13.74	72.50	109.40	
	S1	75.45	9.36	60.90	89.80	
	S3	93.99	24.62	62.80	135.70	
IL-10_pg/ml	D1	254.50 ^b	22.05	225.80	282.20	0.000
	D3	217.23 ^{ab}	23.52	189.90	245.30	
	K	198.65 ^{ab}	20.08	175.30	228.80	
	S1	231.43 ^{ab}	19.95	208.40	261.80	
	S3	217.36 ^a	21.15	187.00	241.40	
IL-1 alfa_pg/ml	D1	1146.91 ^a	179.97	859.80	1380.40	0.296
	D3	1091.26 ^{bc}	165.36	931.10	1432.80	
	K	1030.76	108.36	841.00	1191.30	
	S1	948.46 ^b	388.60	561.60	1560.60	
	S3	1167.03 ^{bc}	161.88	963.10	1455.10	

Tablo 7. Gruplara göre sitokin tanımlayıcı istatistiksel parametreler (DEVAMI)

IL-12+p40_pg/ml	D1	120.75	20.10	92.90	159.00	0.596
	D3	123.73	25.38	87.50	166.70	
	K	123.20	31.35	85.50	188.60	
	S1	105.45	24.53	77.50	154.40	
	S3	122.06	27.03	78.10	162.10	
TNF-alfa_pg/ml	D1	374.14 ^a	35.34	316.80	415.40	0.003
	D3	327.64 ^a	49.86	271.40	410.70	
	K	262.30 ^b	57.77	168.60	329.60	
	S1	328.81 ^a	55.04	249.80	392.10	
	S3	328.45 ^a	54.50	261.50	427.30	
IFN-gamma_pg/ml	D1	666.15 ^a	63.90	579.10	762.70	0.026
	D3	593.85 ^b	57.18	506.30	687.50	
	K	572.20 ^b	70.63	482.50	708.00	
	S1	620.20 ^{ab}	47.98	558.00	689.20	
	S3	584.71 ^b	54.42	515.30	678.90	

P: Varyans analizi önem düzeyi

a,b,c: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur (P>0.05)

Tablo 8. Gruplara göre TLR tanımlayıcı istatistiksel parametreler (ortalama, standart sapma, minimum, maximum değer ve p değeri)

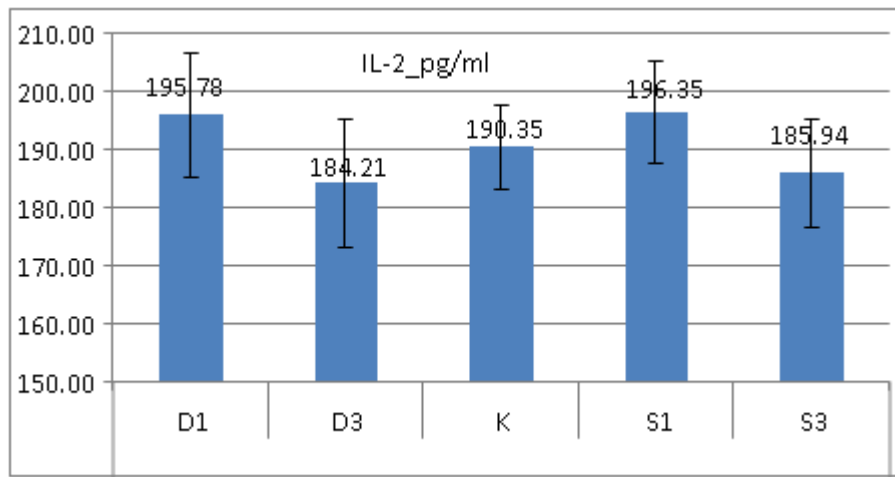
Özellikler	Grup	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maximum	P
TLR-2_ng/ml	D1	0.90	0.31	0.51	1.40	0.730
	D3	1.05	0.37	0.47	1.55	
	K	1.03	0.34	0.41	1.53	
	S1	0.91	0.33	0.51	1.40	
	S3	1.12	0.48	0.53	1.87	
TLR-3_ng/ml	D1	0.20	0.02	0.18	0.23	0.132
	D3	0.22	0.04	0.16	0.27	
	K	0.19	0.08	0.02	0.28	
	S1	0.19	0.02	0.17	0.23	
	S3	0.24	0.04	0.18	0.31	
TLR-4_ng/ml	D1	0.22	0.03	0.17	0.27	0.210
	D3	0.26	0.04	0.19	0.33	
	K	0.26	0.04	0.21	0.33	
	S1	0.23	0.03	0.20	0.31	
	S3	0.26	0.06	0.20	0.38	
TLR-7_ng/ml	D1	0.49 ^a	0.15	0.30	0.70	0.000
	D3	0.24 ^b	0.04	0.20	0.32	
	K	0.18 ^b	0.05	0.13	0.30	
	S1	0.50 ^a	0.16	0.29	0.71	
	S3	0.25 ^b	0.09	0.16	0.41	
TLR-8_ng/ml	D1	0.32 ^b	0.09	0.18	0.45	0.023
	D3	0.37 ^{ab}	0.08	0.28	0.50	
	K	0.41 ^a	0.07	0.33	0.52	
	S1	0.31 ^b	0.04	0.25	0.35	
	S3	0.42 ^a	0.09	0.31	0.57	
TLR-9_ng/ml	D1	0.54	0.31	0.18	1.10	0.542
	D3	0.62	0.21	0.18	0.83	
	K	0.72	0.37	0.03	1.26	
	S1	0.64	0.12	0.46	0.83	
	S3	0.75	0.20	0.47	1.00	

P: Varyans analizi önem düzeyi

a,b: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur (P>0.05)

4.1.1. IL-2

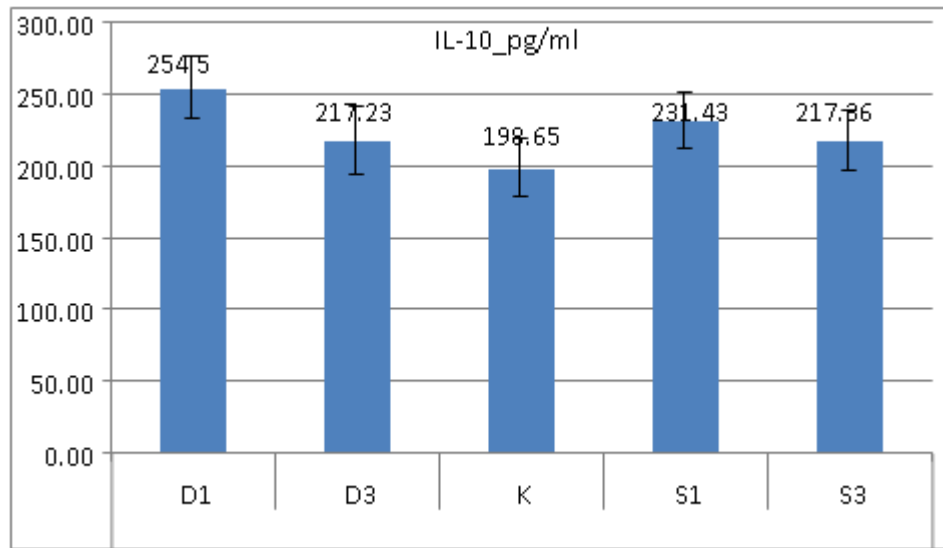
Gruplar arası ortalama IL-2 düzeyleri karşılaştırıldığında D1 grubunda ortalama IL-2 düzeyi K grubuna göre yüksek saptanmıştır; fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,263$). D1 grubu ile S1 grubu arasında ortalama IL-2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,905$). Fakat D1 ve D3 grupları ortalama IL-2 düzeyi açısından karşılaştırıldığında D3 grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir ($p=0,021$). Benzer şekilde S1 ve S3 grupları ortalama IL-2 düzeyleri açısından karşılaştırıldığında S3 grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır ($p=0,036$). Üç saat EMA'ya maruz kalan D3 grubu K grubu ve S3 grubu ile kıyaslandığında ise ortalama IL-2 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,206$; $p=0,719$).



Grafik 1. Gruplara göre ortalama IL-2 düzeyleri ve standart sapmaları

4.1.2. IL-10

Ortalama IL-10 düzeyi açısından D1 grubu sırasıyla K grubu ve S1 grubu ile kıyaslandığında ortalama IL-10 düzeyleri D1 grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (sırasıyla $p=0,000$; $p=0,038$). D1 ve D3 gruplarının ortalama IL-10 düzeyleri karşılaştırıldığında D3 grubunda ortalama IL-10 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır ($p=0,001$). Üç saat EMA'ya maruz kalan D3 grubu K grubu ve S3 grubu ile kıyaslandığında ise ortalama IL-10 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,091$; $p=0,990$).

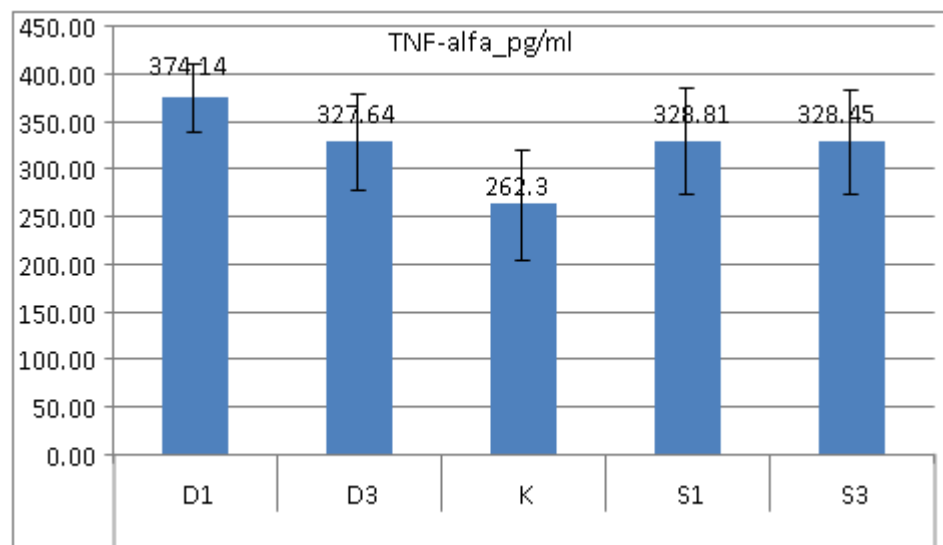


Grafik 2. Gruplara göre ortalama IL-10 düzeyleri ve standart sapmaları

4.1.3. TNF- α

Ortalama TNF- α düzeyleri açısından D1 grubundaki TNF- α düzeyleri K grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek saptanırken S1 grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık tespit edilmemiştir (sırasıyla $p=0,000$; $p=0,085$). Benzer şekilde D3 grubunda ortalama TNF- α düzeyleri K grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek saptanırken S3 grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,015$; $p=0,975$).

Ortalama TNF- α düzeylerinde D3 grubunda D1 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma saptanmıştır ($p=0,077$).

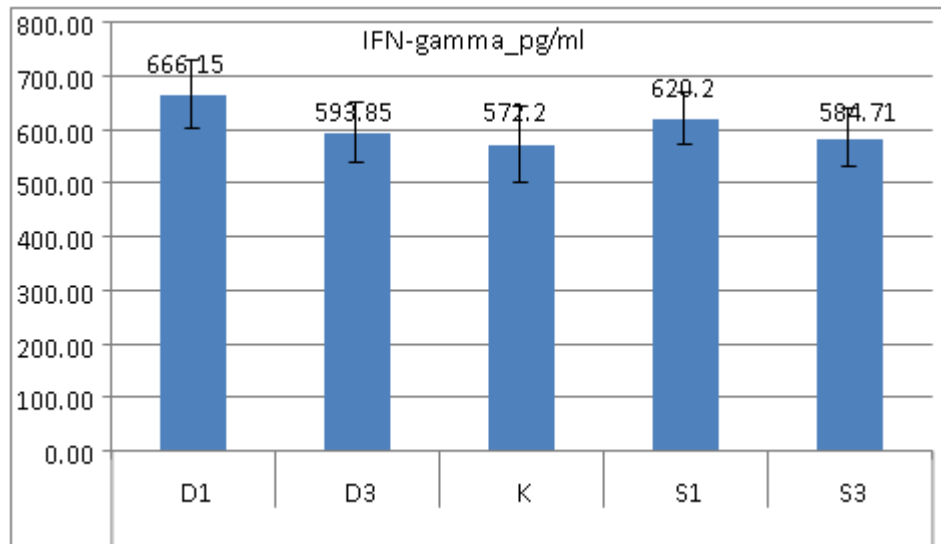


Grafik 3. Gruplara göre ortalama TNF- α düzeyleri ve standart sapmaları

4.1.4. IFN- γ

D1 grubu ortalama IFN- γ düzeyi K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0,003$). S1 grubuna kıyasla D1 grubunda ortalama IFN- γ düzeyleri yüksek tespit edilmiştir fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,130$). D1 grubu ile D3 grubu kıyaslandığında D3 grubu ortalama IFN- γ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir ($p=0,020$).

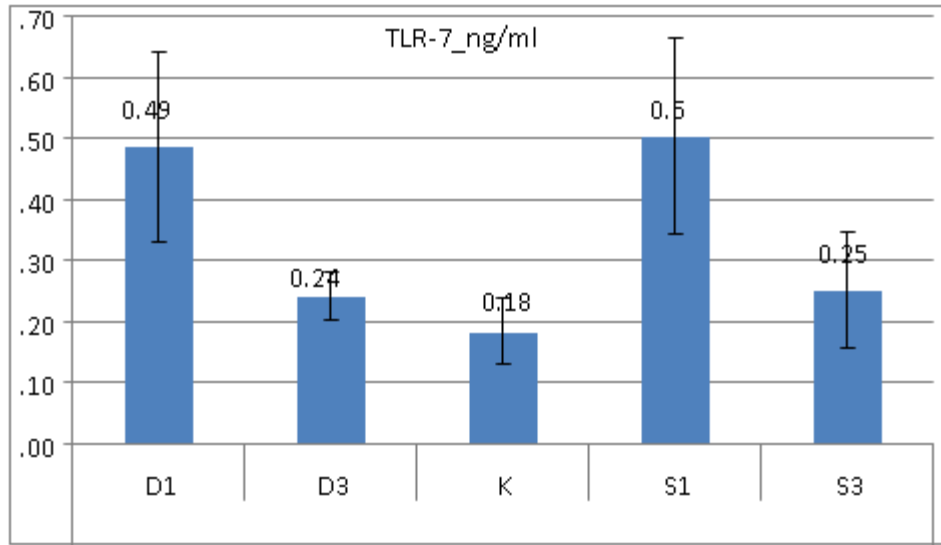
Üç saat EMA'ya maruz kalan D3 grubunda ortalama IFN- γ düzeylerinde K ve S3 gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,470$; $p=0,760$).



Grafik 4. Gruplara göre ortalama IFN- γ düzeyleri ve standart sapmaları

4.1.5. TLR7

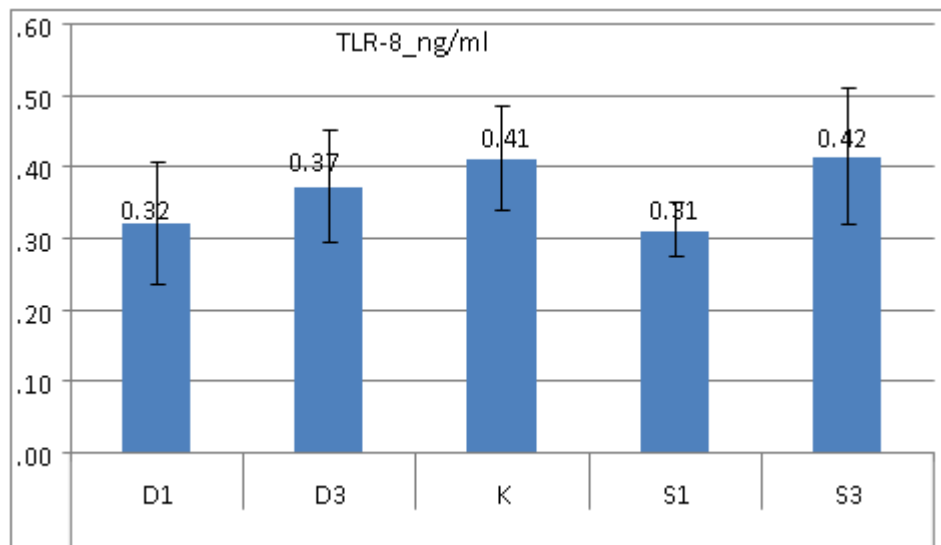
Ortalama TLR7 düzeyleri D1 grubunda K grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanırken S1 grubu ile kıyaslandığında ise herhangi bir fark gözlenmemiştir (sırasıyla $p=0,000$; $p=0,756$). D1 ve D3 grupları karşılaştırıldığında D3 grubu ortalama TLR7 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır ($p=0,000$). Üç saat EMA'ya maruz kalan D3 grubunda ortalama TLR7 düzeyleri K grubu ve S3 grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,310$; $p=0,884$).



Grafik 5. Gruplara göre ortalama TLR7 düzeyleri ve standart sapmaları

4.1.6. TLR8

Ortalama TLR8 düzeylerinde D1 grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüklük saptanırken S1 grubu ile kıyaslandığında herhangi bir fark tespit edilmemiştir (sırasıyla $p=0,023$; $p=0,810$). D1 ve D3 grupları ortalama TLR8 düzeyleri karşılaştırıldığında D3 grubu ortalama TLR8 düzeyinde artış saptanmış olup bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,175$). Üç saat EMA'ya maruz kalan D3 grubunda ortalama TLR8 düzeyleri K grubu ve S3 grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,328$; $p=0,291$).



Grafik 6. Gruplara göre ortalama TLR8 düzeyleri ve standart sapmaları

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Modern toplumla birlikte wireless cihazlarının yaygın kullanımı, mobil telekomünikasyon ve enerji nakil hatları gibi sebepler nedeniyle her geçen gün EMA'ya maruziyet de artmaktadır.

Buna paralel olarak EMA'ya maruziyetin neden olabileceği sağlık sorunlarına olan ilgi de artmıştır. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar enerji nakil hatlarına yakın mesafede yaşama ile çocukluk çağı lösemi ve beyin tümörleri arasında ilişki olabileceğini iddia etmektedir (112). Uluslararası uzmanlardan oluşan IARC (International Agency for Research on Cancer in Lyon) isimli grup 2011 yılında 0.1-300.000 MHz frekansındaki radyofrekans ve mikrodalga radyasyonunu (RF/MW) insanlar için şüpheli karsinogen grubuna (Grup 2b) dahil etmiştir (113).

Günümüze kadar yapılan çalışmaların pek çoğunda farklı frekanslarda EMA'nın santral sinir sistemi (SSS), üreme, işitme, görme, kardiyak ve renal sistemler üzerine etkileri oksidatif stres, apoptozis, protoonkogenler, ısı şok proteinleri gibi parametreler açısından değerlendirilmiş ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.

Yaptığımız literatür incelemelerinde EMA maruziyetinin deri üzerine etkilerini araştıran oldukça az sayıda çalışmaya rastladık.

Ceyhan ve ark. 4 hafta boyunca hergün 60 dakika süreyle 2.45 GHz EMA'ya maruz kalan ratların derisinde oksidan ve antioksidan parametrelerdeki değişiklikleri ve β -glukanın koruyucu etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar bu çalışmada 2.45 GHz EMA'nın superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerinde düşüşe, katalaz (CAT) aktivite ve malondialdehid (MDA) seviyelerinde ise önemli ölçüde artışa yol açtığını göstermişlerdir. Sistemik β -glukan uygulamasının MDA artışı ve SOD azalışını önemli ölçüde geriye döndürdüğü bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca CAT aktivitesi ve GSH-Px düzeylerine β -glukanın istatistiksel olarak anlamlı şekilde etki etmediğini göstermişlerdir. Bu çalışma ile EMA maruziyetinin yol açtığı deri hasarında oksidatif mekanizmanın olası rolü ve β -glukanın antioksidan özelliği ile oksidatif deri hasarını düzeltebileceği gösterilmiştir (114).

Ayata ve ark. cep telefonlarından yayılan 900 MHz radyasyonun deri MDA, hidrokspirolin, antioksidan enzimler üzerine etkilerini incelemişler, melatoninin bu etkiler üzerine muhtemel koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar on gün süreyle günde 30 dakika 900 MHz 2 W'lık radyasyon uygulanan ratların deri örneklerinde lipid peroksidasyonu ve fibrozisde artma saptamışlar ve melatoninin bu etkileri azalttığını göstermişlerdir (115).

Paulraj ve ark. düşük seviyeli RF ve MW üzerine etkilerini incelemeyi hedefledikleri çalışmada ratların derilerine karsinojen etkisi olduğu bilinen topikal tek doz 7,12-dimetilbenzantracenin (DMBA) uygulanmışlar ve sonrasında ratları farklı frekanslarda EMA'ya (112 MHz amplitüdü 16 Hz ve 2.45 GHz) maruz bırakmışlardır. Yazarlar topikal DMBA uygulaması sonrası RF ve MW maruziyetinin rat derilerinde tümör gelişimini indüklediğine dair herhangi bir bulguya rastlamamışlardır (116).

Biz de bilgilerimize göre yaptığımız literatür taramasında 2.45 GHz EMA maruziyetinin deri karsinogenezisini indüklediğine dair kesin verilere rastlamadık.

Çeşitli çevresel stimuluslara cevap veren immün sistem de radyasyonun ana hedefleri arasında yer almaktadır. EMA'nın immün sistem üzerine etkisi ile ilgili yapılmış çalışmalar oldukça sınırlı olup bu çalışmalarda EMA'nın genellikle fagositoz, lenfosit proliferasyonu, sitokin düzeyleri ve antikor üretimi ile ilişkisi araştırılmıştır (117, 118). Ancak ortaya çelişkili sonuçlar çıkmıştır

Bağışıklık sistemi çok yönlü bir sistemdir bu yüzden araştırmaların da multiparametrik olması gerekmektedir. Biz de çalışmamızda farklı maruziyet sürelerinde EMA'nın rat kutanöz immün sistem üzerindeki olası etkilerini çok yönlü değerlendirebilmek amacıyla doğal ve adaptif immünite arasında anahtar rol oynayan TLR ve sitokin düzeylerini inceledik. Çalışmamızın yapıldığı tarihe kadar 2.45 GHz EMA'nın kutanöz TLR ve sitokin düzeyleri üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Genel olarak EMA ve immün sistem ile ilgili çalışmalar değerlendirildiğinde immünolojik parametrelerin hem pozitif hem de negatif yönde değiştiğini ortaya koyan çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. İmmünolojik parametrelerdeki bu

değişikliklerin kısa vadede önemli sağlık sorunlarına neden olmadığı rapor edilmiştir.

MW radyasyonuna maruz kalan işçilerde yapılan epidemiyolojik çalışmalar immün sistemde ölçülebilir bir değişiklik olmadığını gösterse de bazı araştırmalarda kan lenfosit sayısında değişiklik, serum immünglobulinlerinde ve mitojenlere lenfosit cevabında azalma gibi bazı immün parametrelerde anormallikler saptanmıştır (113).

Moszczyński ve ark. MW radyasyona mesleki maruziyetin immünglobulin ve T lenfosit subtiplerinde değişikliğe neden olduğunu göstermişlerdir. Televizyon iletişim ve uydu iletişim işçilerinde IgG ve IgA konsantrasyonunun arttığı, lenfosit sayısı ve T8 hücrelerinin azaldığı saptanmıştır. Oysa radar operatörlerinde IgM konsantrasyonunda artış ve total T8 hücre sayısında ise azalma gözlenmiştir. (119). Araştırılan immünolojik parametrelerdeki farklılıklar, MW radyasyonun immün sistemdeki etkisinin maruziyetin karakterine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Literatürde EMA'nın immün sistem üzerinde yaptığı değişikliklere yönelik kabul görmüş kompleks bir görüş yoktur. Çalışmalar immün sistemin seçilmiş bazı reaksiyonlarını ve hücre tiplerini değerlendirmiştir. Sonuçlardaki çeşitlilik ve kontrol grubu ile kıyaslamadaki zorluklar nedeniyle EMA'nın immün sistem üzerindeki etkisi için birleştirici tek bir hipotezde bulunmak oldukça güçtür.

Cleary ve ark. in vitro 2-27 saat 2.45 GHz RF radyasyona maruz bırakılan periferik kan örneğinden ayrıştırılarak kültüre edilen lenfositlerin morfoloji ve yaşayabilirliğinde anlamlı bir değişiklik olmadığını göstermişlerdir (120).

Czerska ve ark. insan lenfositlerinde spontan lenfoblastoid transformasyon üzerine devamlı (CW) ve aralıklı (PW) 2.45 GHz radyasyonun etkisini in vitro olarak araştırmışlardır. Sağlıklı donörlerden alınan periferik kandan elde edilen periferik kan mononükleer hücreler 5 gün farklı ısılarda devamlı ve aralıklı olarak 2.45 GHz radyasyona maruz bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası lenfomatoid transformasyon analiz edilmiştir. Vücut ısısında (37 °C) aralıklı 2.45 GHz EMA maruziyetinin transformasyonu arttırdığı sürekli maruziyetin ise etkilemediği rapor edilmiştir (121).

Cleary ve ark. RF radyasyonun IL-2 bağımlı sitolitik T lenfosit (CTL-2) proliferasyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar 25 W/kg'dan fazla

SAR değerinde 2.45 GHz RF maruziyetinin CTLL-2 proliferasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Daha düşük SAR değerlerinde ise 2.45 GHz RF maruziyetinden hemen sonra CTLL-2 proliferasyonunda artış, maruziyet sonrası 24. saatte CTLL-2 proliferasyonunda azalma gözlemlenmiştir. Araştırmacılar RF'nin etkisinin maruziyet anındaki hücrenin mitotik durumuna bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir (122). Biz çalışmamızda 1 saat 2.45 GHz EMA'ya maruz kalan grupta ortalama IL-2 düzeylerini kontrol grubuna göre yüksek olarak tespit ettik, fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,263$). Benzer şekilde kontrol grubuna kıyasla 1 saat tüpte bekleyen grupta da ortalama IL-2 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı ifade etmeyen şekilde yüksek saptandı ($p=0,216$). Çalışmamızda erken dönemde 2.45 GHz EMA'nın IL-2 düzeylerine etkisi net olarak gösterilememiştir. IL-2 düzeylerindeki artış 1 saat tüpte bekleyen grupta da benzer şekilde olduğundan bu etki ratların tüp içerisinde 1 saat boyunca bekletilmesi sonucunda ortaya çıkabilecek stres faktöründen kaynaklanmış olabilir. IL-2 düzeyindeki bu yükseklik EMA ya da diğer stresör faktörlere yanıt olarak T lenfosit aktivasyonunu veya NK üzerinden B hücre aktivasyonunu sağlamak üzere reaktif olmuş olabilir. IL-2, Th1 hücre yanıtının en önemli sitokinidir dolayısıyla IL-2 düzeyinde 1 saat EMA grubundaki kısmi artış Th1-Th2 yanıtını Th1 yönünde değiştirmiş olabilir. Üç saat 2.45 GHz EMA'ya maruz kalan grupta ortalama IL-2 düzeyi, 1 saat 2.45 GHz EMA'ya maruz kalan gruba kıyasla anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p=0,021$). Bu değişiklik EMA'nın IL-2 düzeylerine olan etkisinin doz veya süre bağımlı olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde 3 saat süre ile tüpte bekletilen gruptaki ratlarda, 1 saat süre ile tüpte bekletilen ratlara kıyasla ortalama IL-2 düzeyleri anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p=0,036$). Bu sonuçlar süre ve doz ile ilişkili olarak immün sistemin diğer stresör faktörler varlığında EMA'ya adapte olmasına bağlı olarak gelişmiş olabilir.

Minami ve ark. yaptıkları çalışmada immobilizasyonun 30. dakikasında strese bağlı olarak rat hipokampusünde IL-1 β mRNA'sında artış tespit etmişler, bu artışın 60. dakikada maksimum seviyeye ulaştığını ve 120. dakikada azalmakla beraber hala devam ettiğini, 240. dakikada ise immobilizasyon devam etmesine rağmen rat hipokampusünde IL-1 β seviyesinin güçlükle tespit edildiğini saptamışlar

(123). Bu sonuçlar stresör faktörlerin rat hipokampusünde başlangıçta IL-1 β mRNA artışına neden olduğunu, zamanla bu artışın azalma eğilimine girdiğini göstermektedir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- γ ve TLR7 düzeyleri immobilizasyon süresi arttıkça azalma göstermiştir.

Tuschl ve ark. tarafından yapılan çalışmada insan kanı kullanılarak bağışıklık hücreleri 1950 MHz GSM Basic, 1 mW/g SAR ve aralıklı modda (5 dk sinyal açık, 10 dk kapalı) ve maksimum 0,06 °C ısı değişimi olan ortamda 8 saat süresince ışınlanmıştır. Lenfositlerde IL-2 ve IFN- γ , monositlerde IL-1 ve TNF- α intraselüler üretimi monoklonal antikorlar kullanılarak değerlendirilmiştir. Işınlamanın bu parametreler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi gösterilememiş ve mobil telefonlardan kaynaklanan emisyonların insan bağışıklık sistemine yan etkileri ile ilgili bir belirti bulunamamıştır (124). Bizim çalışmamızda ise ortalama TNF- α düzeyi hem 1 saat hem de 3 saat 2.45 GHz EMA'ya maruz kalan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı artmış bulundu (sırasıyla p=0,000, p=0,015). Bu artış radyasyon maruziyeti sonrasında artmış Th1 yanıtı ile ilişkili olabilir ya da radyasyon maruziyeti doz ve süre bağımlı olarak inflamatuvar süreci TNF- α üzerinden arttırmış olabilir. Ancak 1 ve 3 saat tüpte bekletilen gruplarda da TNF- α düzeyi de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptanması (sırasıyla p=0,014; p=0,014) ve 1 saat EMA grubu ile 1 saat tüpte bekletilen grup arasında ortalama TNF- α düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın gözlenmemesinden (p=0,085) dolayı TNF- α düzeyindeki yüksekliğin direkt ve sadece EMA'nın etkisi ile olmayabileceği, tüpte kalmanın yarattığı emosyonel stresin de bu yüksekliğe katkısının olabileceğini düşündürmektedir.

Gatta ve ark. günlük 900 MHz EMA maruziyetinin dalak lenfositleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada ratları 1, 2 ve 4 hafta süreyle günde 2 saat, 1 veya 2 W/kg SAR değerinde 900 MHz EMA'ya maruz bırakmışlardır. Çalışma sonucunda dalak hücrelerinde T ve B hücre dağılımları ve T hücre subtiplerinde (CD4 ve CD8) değişiklik saptanmamıştır. Bir hafta süre 1 veya 2 W/kg SAR 'a maruz kalan grupta IFN- γ düzeyinde artış tespit edilmiştir fakat bu artış uzayan maruziyet sürelerinde (2. ve 4. hafta) ortaya çıkmamıştır (125). Biz de çalışmamızda ortalama IFN- γ düzeyini 1 saat 2.45 GHz EMA'ya maruz kalan grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek tespit ettik (p=0,003). Üç saat 2.45 GHz EMA'ya maruz kalan grupta ise ortalama

IFN- γ düzeyini 1 saat maruz kalan gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşük saptadık. Biz de Gatta ve ark. gibi artan kümülatif doz ve sürenin IFN- γ düzeyinde azalmaya yol açtığını tespit ettik.

Ikeda ve ark. sağlıklı gönüllü erkeklerden elde edilen insan periferik kan mononükleer hücrelerini aşırı düşük frekanslı manyetik alana (ELF-MF) maruz bırakmışlardır. Periferik kan mononükleer hücrelerinin immünolojik fonksiyonlarını NK ve Lenfokinle Aktive Killer (LAK) aktiviteleri ve IFN- γ , TNF- α , IL-2 ve IL-10 düzeyleri ile değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar insan periferik mononükleer hücrelerinin sitokin salınımı ve sitotoksik aktiviteleri üzerine ELF-MF'nin etkisinin bulunmadığını tespit etmişlerdir (126). Biz çalışmamızda 1 saat 2.45 GHz EMA'ya maruz kalan grupta, kontrol grubuna ve 1 saat tüpte kalan gruba kıyasla ortalama IL-10 düzeyini istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit ettik (sırasıyla $p=0,000$; $p=0,038$). Bir saat EMA'ya maruz kalan grupta ortalama IL-10 düzeyinin 1 saat tüpte kalan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunması IL-10 düzeyindeki bu değişikliğin emosyonel stresten ziyade EMA'nın etkisinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Üç saat süre ile EMA'ya maruz kalan grupta da kontrol grubuna göre ortalama IL-10 düzeyinde istatistiksel olarak anlam ifade etmeyen bir yükseklik saptandı ($p=0,091$). EMA'ya maruz kalan gruplardaki ortalama IL-10 düzeyindeki yükseklik radyasyon maruziyetine reaktif olarak antienflamatuar yanıtı artırmak amacıyla regülatuar T hücrelerinden artmış IL-10 salınımı ile ilişkili olabilir. Ayrıca IL-2 düzeylerindeki kısmi artış da IL-10 düzeylerinin artışının bir nedeni olabilir. Kontrol grubu ile 3 saat EMA 'ya maruz kalan gruptaki ortalama IL-10 düzeyleri arasında anlamlı bir farkın saptanmaması EMA'nın IL-10 düzeyine etkisinin erken dönemde daha belirgin olduğunu göstermektedir. EMA'ya maruz kalan grupta ortalama IL-10 düzeyinin 3. saatte azalması immün sistemin EMA'ya bu süre içinde adaptasyonu ile ilişkilendirilebilir.

Cep telefonlarından yayılan 900 MHz EMA'nın rat immün sistemi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada ratlar sırasıyla 5 gün veya 4 hafta (haftada 5 gün) hergün 30 dakika 900 MHz RF manyetik alana maruz bırakılmıştır. Kısa ve uzun süreli RF maruziyetinin toplam lökosit sayısında, CD3, CD4, CD8, CD45RA ve CD25 lenfosit yüzdeleri ve IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde değişikliğe yol açmadığı gözlenmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar cep telefonundan yayılan

EMA'ya kısa ve uzun dönem maruziyetin ratların bağışıklık sistem fonksiyonlarını değiştirmedini saptamışlardır (127).

Stan ve ark. ELF-EMF'in insan doğal inflamatuvar sinyalleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Sağlıklı gönüllülerden alınan kandan insan periferik kan mononükleer hücreler izole edilerek spesifik TLR2, TLR4 ligandları ve çeşitli mikroorganizmalar ile uyarılmıştır. Hücreler standart ELF-EMF sinyaline (20-5000 Hz) maruz bırakılmış ve stimulasyondan sonra farklı zamanlarda sitokin üretimi ölçülmüştür. Isıyla inaktive edilmiş mikroorganizma paneli, TLR2 ve TLR4 ligandı stimulasyonu sonrası immün cevabı yansıtan IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8 ve IL-10 üretiminde anlamlı bir fark bulunamamıştır. İnvitro olarak ELF-EMF 'nin, TLR stimulasyonu sonrası insan hücrelerinin doğal immün cevabı üzerinde düzenleyici etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır (112). Antiviral savunmada önemli rol oynayan TLR7, Th1 hücre yanıtının önemli stimulatörüdür. Biz çalışmamızda 1 saat EMA'ya maruz kalan grupta kontrol grubuna kıyasla ortalama TLR7 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı artış saptadık (p=0,000). TLR7 düzeyindeki bu değişiklik Th1 yanıtını tetikleyerek TNF- α ve IFN- γ artışına neden olmuş olabilir. Bizim çalışmamızda EMA maruziyetinin kutanöz TLR7 ekspresyonunda artışa neden olduğu saptanmıştır. Ancak bu artışın benzer şekilde kontrol grubuna kıyasla 1 saat tüpte kalan grupta da gözlenmesi (p=0,000) ve 1 saat EMA'ya maruz kalan grup ile 1 saat tüpte bekletilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olmaması (p=0,756) nedeniyle TLR7 ekspresyonundaki artışın sadece ve tek başına EMA maruziyeti ile ilişkili olmayabileceğini de düşündürmektedir. Ortalama TLR7 ekspresyonları açısından 1 ve 3 saat EMA'ya maruz kalan gruplardaki farklılık (p=0,000) TLR7 ekspresyonunun doz ve süre ile ters orantılı olduğunu göstermektedir. TLR7 ekspresyonundaki artışın aksine TLR8 ekspresyonunda 1 saat EMA'ya maruz kalan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüklük gözlendi (p=0,023). Üç saat EMA'ya maruz kalan grup ise TLR8 ekspresyonu açısından kontrol ve 3 saat tüpte kalan grupla kıyaslandığında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (sırasıyla p=0,328; p=0,291). TLR7 ve TLR8 benzer etki gösteren TLR'dir. Bir saatte TLR8 ekspresyonunda azalma yine 1 saatte artmış TLR7 ekspresyonuna reaktif olarak veya immünadaptif mekanizmalarla ortaya çıkmış olabilir. Bir saat tüpte kalan ve 1 saat

EMA'ya maruz kalan gruplar arasında TLR8 ekspresyonunun farklı olmaması bu etkinin EMA maruziyeti ve/veya çevresel stresör faktörlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Salehi ve ark. yaptığı çalışmada ELF-EMF' nin Th1/Th2/Th17 dengesini sağlayan IFN- γ , IL-4, IL-6 ve IL-12 gibi sitokinlerin düzeyleri üzerine etkisi araştırılmıştır. ELF-EMF maruziyetinin Th1/Th2/Th17 dengesini Th1' de azalma Th17'de artışa neden olarak değiştirdiği sonucuna varılmıştır (128). Biz de çalışmamızda daha önceki çalışmalara paralel olarak EMA'nın kutanöz immün sistem üzerine etkileri açısından farklı sonuçlar elde ettik. EMA maruziyetinin bir kısım sitokin (IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-8, IL-12) ve TLR (TLR2, TLR3, TLR4, TLR9) ekspresyonu üzerinde değişikliğe yol açmadığını; bazı sitokin düzeylerinde (IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- γ) ve TLR (TLR7, TLR8) ekspresyonlarında ise artış veya azalışa neden olduğunu gözlemledik. Çalışmamız genel olarak değerlendirildiğinde 2.45 GHz EMA'nın 1 saatte artmış Th1 yanıtını kısmen indüklediği 3 saatte ise Th1 hücre yanıtı ile ilişkili immünmediatörlerin olası immünoadaptif mekanizmalarla normal düzeylere indiği sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamızda kısa süreli EMA maruziyetinin genel olarak bazı sitokin ve immünmediatörlerin salınımını artırdığı; uzun süreli maruziyetin de bazı sitokin ve immünmediatörleri negatif yönde etkilediğini gözlemledik. Sonuç olarak EMA maruziyetinin en yoğun olduğu vücudun en geniş yüzey alanına sahip olan derinin immünolojik mediatörleri üzerine EMA'nın uzun dönem etkilerinin gösterilebilmesi için daha uzun süreli maruziyetin sağlandığı hücresel moleküler düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Wireless Cihazlarından Yayılan 2.45 GHz Elektromanyetik Alanın Rat Kutanöz İmmün Sistem Üzerine Etkisi

Kablosuz yerel alan ağları kişisel kullanım yanı sıra alışveriş merkezleri, cadde, sokak gibi kamuya açık alanlarda kolay iletişim sağlaması açısından sıkça tercih edilmektedir. Teknolojik iletişim araçlarının artan kullanımı nedeniyle elektromanyetik alan (EMA) maruziyetinin biyolojik sistemler üzerine etkisine olan ilgi de artmaktadır.

Deri, vücudumuzun en geniş yüzey alanına sahip ve en fazla EMA'ya maruz kalan organıdır. Bu çalışmada wireless cihazlarından yayılan 2.45 GHz EMA maruziyetinin rat kutanöz immün sistem üzerine etkilerini incelemek için deri örneklerinde çeşitli sitokin (IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α , IFN- γ) düzeylerini ve toll-like reseptör (TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9) ekspresyonlarını incelemeyi amaçladık.

Çalışmada 40 adet Wistar albino rat kullanıldı. Ratlar her grupta 8 rat olacak şekilde 5 gruba ayrıldı; kontrol grubu (K), 1 saat/gün EMA'ya maruz kalan grup (D1), 3 saat/gün EMA'ya maruz kalan grup (D3), EMA uygulanmaksızın deney düzeneğinde pet tüpte 1 saat/gün bekletilen sham kontrol grubu (S1), EMA uygulanmaksızın deney düzeneğinde pet tüpte 3 saat/gün bekletilen sham kontrol grubu (S3). Deney grupları pet tüpler içerisinde dört hafta süresince (haftada 5 gün) 2.45 GHz frekanslı 64 Mw/kg SAR değerli EMA'ya maruz bırakıldı. Kontrol grubu ise EMA'ya maruz kalmadan kafeste tutuldu. Son EMA maruziyetinden 24 saat sonra ratlar sakrifiye edildi. Deri örneklerinde sitokin düzeyleri ve TLR ekspresyonları ELISA yöntemiyle kit prosedürlerine uygun olarak çalışıldı.

Tüm gruplar arasında IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- γ , TLR7 ve TLR8 düzeylerinde istatistiksel anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0,05$). D1 grubunda IL-10, TNF- α , IFN- γ , TLR7 düzeyleri K grubuna kıyasla anlamlı yüksekti (sırasıyla $p=0,000$; $p=0,000$; $p=0,003$; $p=0,000$). Aksine TLR8 düzeyleri D1 grubunda K grubuna göre anlamlı düşüktü ($p=0,023$). D1 grubunda IL-10 düzeyleri S1 grubuyla kıyaslandığında anlamlı yüksekti ($p=0,038$). D3 grubu K grubu ile kıyaslandığında TNF- α düzeyi artmış saptandı ($p=0,015$). IL-2, IL-10, IFN- γ ve TLR7 düzeyleri 3 saat EMA maruziyeti sonrası 1 saat maruziyet grubuyla kıyaslandığında anlamlı düşüktü (sırasıyla $p=0,021$; $p=0,000$; $p=0,020$; $p=0,000$).

Rat derisine 1 saat EMA maruziyetinin Th1 yanıtını kısmen indüklediği fakat bu cevabın olası immünadaptif mekanizmalarla 3 saat EMA maruziyeti sonrası normale döndüğü sonucuna ulaşıldı. Her ne kadar EMA'ya maruz kalan grupları K grubuna göre kıyasladığımızda çok yönlü değişiklikler gözlemlensek de stres

faktörlerini de göz önünde bulundurduğumuzda sadece IL-10 düzeyini 1 saat EMA'ya maruz kalan grupta istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit ettik ($p=0,038$).

Sonuç olarak 2.45 GHz EMA maruziyeti bir kısım sitokin ve TLR düzeylerinde herhangi bir değişikliğe neden olmazken bazı sitokin ve TLR düzeylerinde pozitif ya da negatif yönde etki göstermiştir. Bu çalışmaya göre 2.45 GHz EMA maruziyeti immünmediatörler üzerinde süre bağımlı olarak çok yönlü etki göstermiştir.

Bu konunun aydınlatılması için daha büyük çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Deri, Elektromanyetik alan, Sitokin, TLR

SUMMARY

The effects of 2.45 GHz electromagnetic field emitted from wireless devices on rat cutaneous immune system

Wireless local area networks are often preferred since it provides easy communication in shopping malls, streets and public places as well as personal use. Because of the growing use of technological communication tools, the interest in the effect of exposure of electromagnetic field (EMF) on biological systems is also increasing. The skin has the largest surface area of the body and it is the most exposed organ to EMF.

In this study, we aimed to investigate various cytokine (IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α , IFN- γ) levels and toll-like receptor (TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9) expressions in the skin samples to establish the effects of EMF exposure from wireless devices emitting 2.45 GHz on rat cutaneous immune system.

Forty Wistar albino rats were used in this study. Rats were divided into 5 experimental groups and each group had 8 rats as follow; control group (C), 1 hour / day EMF exposed group, 3 hours / day EMF exposed group, the sham control group (S1) which includes holding in the pet tube for 1 hour /day in the experimental setup and the sham control group (S3) which holding in the pet tube for 3 hours/ day in the experimental setup without EMF exposure. Experimental groups were exposed to 2.45 GHz 64 Mw / kg SAR in pet tubes for four weeks (5 days per week). The control group was kept free from exposure to EMF in the cage. The rats were sacrificed after 24 hours from last exposure. In the skin samples TLR expressions and cytokine levels were investigated by ELISA method in accordance with the procedure kits. Statistical significant differences were detected on the levels of IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- γ , TLR7 and TLR8 among the all groups ($p < 0,05$). The levels of IL-10, TNF- α , IFN- γ , TLR7 were significantly higher in D1 group as compared with C group (respectively $p = 0,000$; $p = 0,000$; $p = 0,003$; $p = 0,000$). On the contrary TLR8 levels were significantly lower in D1 group than C group ($p = 0,023$). Levels of IL-10 was significantly higher in group D1 as compared to S1 group ($p = 0,038$). Increased levels of TNF- α were detected in D3 group as compared with group C ($p = 0,015$). The levels of IL-2, IL-10, IFN- γ and TLR7 were significantly lower after 3 hours EMF exposure as compared with 1 hour exposed group (respectively $p = 0,021$; $p = 0,000$; $p = 0,020$; $p = 0,000$).

It was concluded that 1 hour EMF exposure to rat skin partially induce Th1 response but this response return the normal after 3 hours EMF exposure possibly due to immunoadaptive mechanisms. Even though observing ambidextrous variation in EMF exposure groups to K group only IL-10 level was significantly higher in D1 group if we take into consideration to stessor factors ($p = 0,038$).

As a result, 2.45 GHz EMF exposure has no effect on some cytokine and TLR level on the other hand it has positive or negative effect on some cytokine and TLR levels. According to this study 2.45 GHz EMF exposure led many diverse effects on immunmediators depending on exposure time.

Larger studies as needed to clarify this issue.

Key Words: Skin, Electromagnetic field, Cytokine, TLR

KAYNAKLAR

1. Yılmaz H. Kablosuz Yerel Alan Ağlarından Kaynaklanan Elektromanyetik Alanın, İşitme Üzerine Etkilerinin Araştırılması. İstanbul Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniği 2007.
2. Öztürk E. WLAN kablosuz yerel alan ağları (wireless local area networks) teknolojisinin incelenmesi mevcut düzenlemelerin değerlendirilmesi ve ülkemize yönelik düzenleme önerisi. Uzmanlık Tezi, 2004.
3. Mempel M, Kalali BN, Ollert M, Ring J. Toll-like receptors in dermatology. *Dermatologic clinics*. 2007 Oct;25(4):531-40, PubMed PMID: 17903612. Epub 2007/10/02.eng.
4. Elektromanyetik dalgalar ve insan sağlığı sıkça sorulan sorular ve yanıtları. Tubitak bilten. 2001;www.biltek.tubitak.gov.tr/sandik/gsm.pdf.
5. Şeker S, Çerezci O. Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri Güvenlik Standartları ve Korunma Yöntemleri. İstanbul:Boğaziçi Üniversitesi Yayınları, 1991.
6. Atasü T, Öçer F. Gebelikte Fetusa ve Yenidoğana Zararlı Etkenler. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000;502.
7. Goldmann L, Auisello DA, Arend W, Armitage JO. Radiation Injury. *Cecil Medicine 23th ed*, Philadelphia: WB Saunders Company. 2007;90(6).
8. Koyu A, Gökalp O, Özgüner F, Cesur G, Mollaoğlu H, Özer M, et al. Subkronik 1800 MHz elektromanyetik alan uygulamasının TSH, T3, T4, kortizol ve testosteron hormon düzeylerine etkileri. *Genel Tıp Derg*. 2005;15(3):101-5.
9. Özen Ş. Mikrodalga frekanslı EM radyasyona maruz kalan biyolojik dokularda oluşan ısıl etkinin teorik ve deneysel incelenmesi. Doktora Tezi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektronik ve Haberleşme Y Müh. 2003.
10. Saygın M. 2450 MHz dalga frekanslı elektromanyetik alanın sıçanların testislerinde oluşturduğu fizyopatolojik ve yapısal değişikliklerin araştırılması Yüksek Lisans Tezi. 2009.
11. Yağmur F, Bozbıyık A, Hancı H. Elektromanyetik dalgaların insan biyokimyası üzerine etkileri. *Sted* 2003;12:296-97.
12. Yüksöksöylemez M. Radyofrekanslı elektromanyetik alanların insan dokularına etkileri üzerine bir inceleme. Yüksek Lisans Tezi. 2005.
13. Male D, Champion B, Cooke A. The Immune System. In *Advanced Immunology*. 1991;2:1-15.
14. Male D, Roitt I. Adaptive and Innate Immunity In *Immunology*. Brostoff 1989;2:1-10.
15. Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:197-216.

16. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 2004;823.
17. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997 Jul 24;388(6640):394-7. PubMed PMID: 9237759. Epub 1997/07/24. eng.
18. Lee HK, Iwasaki A. Innate control of adaptive immunity: Dendritic cells and beyond. *Seminars in immunology*. 2007 Feb;19(1):48-55. PubMed PMID: 17276695. Epub 2007/02/06. eng.
19. Valins W, Amini S, Berman B. The Expression of Toll-like Receptors in Dermatological Diseases and the Therapeutic Effect of Current and Newer Topical Toll-like Receptor Modulators. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*. 2010 Sep;3(9):20-9. PubMed PMID: 20877521. Pubmed Central PMCID: PMC2945844. Epub 2010/09/30. eng.
20. Fang L, Lonsdorf AS, Hwang ST. Immunotherapy for advanced melanoma. *The Journal of investigative dermatology*. 2008 Nov;128(11):2596-605. PubMed PMID: 18927541. Epub 2008/10/18. eng.
21. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walters P. *Molecular Biology of the Cell*. 2002;Fourth Edition.
22. Chen K, Huang J, Gong W, Iribarren P, Dunlop NM, Wang JM. Toll-like receptors in inflammation, infection and cancer. *International immunopharmacology*. 2007 Oct;7(10):1271-85. PubMed PMID: 17673142. Epub 2007/08/04. eng.
23. Liew FY, Xu D, Brint EK, O'Neill LA. Negative regulation of toll-like receptor-mediated immune responses. *Nature reviews Immunology*. 2005 Jun;5(6):446-58. PubMed PMID: 15928677. Epub 2005/06/02. eng.
24. Ishii K, Akira S, Fleisher T, Shearer W. *Clinical Immunology Principles and Practice*. 2008;3 rd edn.
25. Fraser IP, Koziel H, Ezekowitz RA. The serum mannose-binding protein and the macrophage mannose receptor are pattern recognition molecules that link innate and adaptive immunity. *Seminars in immunology*. 1998 Oct;10(5):363-72. PubMed PMID: 9799711. Epub 1998/11/04. eng.
26. Clemens MJ, Elia A. The double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR: structure and function. *Journal of interferon & cytokine research : The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 1997 Sep;17(9):503-24. PubMed PMID: 9335428. Epub 1997/10/23. eng.
27. Luster AD. The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity. *Current opinion in immunology*. 2002 Feb;14(1):129-35. PubMed PMID: 11790543. Epub 2002/01/16. eng.
28. Kaisho T, Akira S. Toll-like receptor function and signaling. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2006 May;117(5):979-87; quiz 88. PubMed PMID: 16675322. Epub 2006/05/06. eng.

29. Gay NJ, Keith FJ. *Drosophila* Toll and IL-1 receptor. *Nature*. 1991 May 30;351(6325):355-6. PubMed PMID: 1851964. Epub 1991/05/30. eng.
30. Kawai T, Akira S. Signaling to NF-kappaB by Toll-like receptors. *Trends in molecular medicine*. 2007 Nov;13(11):460-9. PubMed PMID: 18029230. Epub 2007/11/22. eng.
31. Akira S. Toll-like receptor signaling. *The Journal of biological chemistry*. 2003 Oct 3;278(40):38105-8. PubMed PMID: 12893815. Epub 2003/08/02. eng.
32. McInturff JE, Modlin RL, Kim J. The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *The Journal of investigative dermatology*. 2005 Jul;125(1):1-8. PubMed PMID: 15982296. Epub 2005/06/29. eng.
33. Mukhopadhyay S, Herre J, Brown GD, Gordon S. The potential for Toll-like receptors to collaborate with other innate immune receptors. *Immunology*. 2004 Aug;112(4):521-30. PubMed PMID: 15270722. Pubmed Central PMCID: PMC1782521. Epub 2004/07/24. eng.
34. Tosi MF. Innate immune responses to infection. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2005 Aug;116(2):241-9; quiz 50. PubMed PMID: 16083775. Epub 2005/08/09. eng.
35. Thoma-Uszynski S, Kiertscher SM, Ochoa MT, Bouis DA, Norgard MV, Miyake K, et al. Activation of toll-like receptor 2 on human dendritic cells triggers induction of IL-12, but not IL-10. *Journal of immunology*. 2000 Oct 1;165(7):3804-10. PubMed PMID: 11034386. Epub 2000/10/18. eng.
36. Kollisch G, Kalali BN, Voelcker V, Wallich R, Behrendt H, Ring J, et al. Various members of the Toll-like receptor family contribute to the innate immune response of human epidermal keratinocytes. *Immunology*. 2005 Apr;114(4):531-41. PubMed PMID: 15804290. Pubmed Central PMCID: PMC1782101. Epub 2005/04/05. eng.
37. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nature reviews Immunology*. 2004 Jul;4(7):499-511. PubMed PMID: 15229469. Epub 2004/07/02. eng.
38. Miller LS. Toll-like receptors in skin. *Advances in dermatology*. 2008;24:71-87. PubMed PMID: 19256306. Pubmed Central PMCID: PMC2633625. Epub 2008/01/01. eng.
39. O'Neill LA, Bowie AG. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nature reviews Immunology*. 2007 May;7(5):353-64. PubMed PMID: 17457343. Epub 2007/04/26. eng.
40. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Hoshino K, Kaisho T, Sanjo H, et al. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science (New York, NY)*. 2003 Aug 1;301(5633):640-3. PubMed PMID: 12855817. Epub 2003/07/12. eng.
41. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Uematsu S, Hoshino K, Kaisho T, et al. TRAM is specifically involved in the Toll-like receptor 4-mediated MyD88-independent signaling pathway. *Nature immunology*. 2003 Nov;4(11):1144-50. PubMed PMID: 14556004. Epub 2003/10/14. eng.

42. Miller LS, Modlin RL. Toll-like receptors in the skin. *Seminars in immunopathology*. 2007 Apr;29(1):15-26. PubMed PMID: 17621951. Epub 2007/07/12. eng.
43. Andreakos E, Foxwell B, Feldmann M. Is targeting Toll-like receptors and their signaling pathway a useful therapeutic approach to modulating cytokine-driven inflammation? *Immunological reviews*. 2004 Dec;202:250-65. PubMed PMID: 15546398. Epub 2004/11/18. eng.
44. Kawai K, Shimura H, Minagawa M, Ito A, Tomiyama K, Ito M. Expression of functional Toll-like receptor 2 on human epidermal keratinocytes. *Journal of dermatological science*. 2002 Dec;30(3):185-94. PubMed PMID: 12443841. Epub 2002/11/22. eng.
45. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annual review of immunology*. 2003;21:335-76. PubMed PMID: 12524386. Epub 2003/01/14. eng.
46. Jugeau S, Tenaud I, Knol AC, Jarrousse V, Quereux G, Khammari A, et al. Induction of toll-like receptors by Propionibacterium acnes. *The British journal of dermatology*. 2005 Dec;153(6):1105-13. PubMed PMID: 16307644. Epub 2005/11/26. eng.
47. Zhang D, Zhang G, Hayden MS, Greenblatt MB, Bussey C, Flavell RA, et al. A toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria. *Science (New York, NY)*. 2004 Mar 5;303(5663):1522-6. PubMed PMID: 15001781. Epub 2004/03/06. eng.
48. Karaca N, Öztürk G. Dermatolojide Toll-Benzeri Reseptörler. *Türkiye Klinikleri J Dermatol*. 2012;22(1):8-18.
49. McInturff JE, Kim J. The role of toll-like receptors in the pathophysiology of acne. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*. 2005 Jun;24(2):73-8. PubMed PMID: 16092794. Epub 2005/08/12. eng.
50. Baker BS, Ovigne JM, Powles AV, Corcoran S, Fry L. Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *The British journal of dermatology*. 2003 Apr;148(4):670-9. PubMed PMID: 12752123. Epub 2003/05/20. eng.
51. Pivarcsi A, Bodai L, Rethi B, Kenderessy-Szabo A, Koreck A, Szell M, et al. Expression and function of Toll-like receptors 2 and 4 in human keratinocytes. *International immunology*. 2003 Jun;15(6):721-30. PubMed PMID: 12750356. Epub 2003/05/17. eng.
52. Petry V, Gaspari AA. Toll-like receptors and dermatology. *International journal of dermatology*. 2009 Jun;48(6):558-70. PubMed PMID: 19538362. Epub 2009/06/23. eng.
53. Renn CN, Sanchez DJ, Ochoa MT, Legaspi AJ, Oh CK, Liu PT, et al. TLR activation of Langerhans cell-like dendritic cells triggers an antiviral immune response. *Journal of immunology*. 2006 Jul 1;177(1):298-305. PubMed PMID: 16785525. Epub 2006/06/21. eng.

54. Ahmad-Nejad P, Mrabet-Dahbi S, Breuer K, Klotz M, Werfel T, Herz U, et al. The toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopic dermatitis having severe phenotype. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2004 Mar;113(3):565-7. PubMed PMID: 15007364. Epub 2004/03/10. eng.
55. Mempel M, Voelcker V, Kollisch G, Plank C, Rad R, Gerhard M, et al. Toll-like receptor expression in human keratinocytes: nuclear factor kappaB controlled gene activation by *Staphylococcus aureus* is toll-like receptor 2 but not toll-like receptor 4 or platelet activating factor receptor dependent. *The Journal of investigative dermatology*. 2003 Dec;121(6):1389-96. PubMed PMID: 14675188. Epub 2003/12/17. eng.
56. Lebre MC, Antons JC, Kalinski P, Schuitemaker JH, van Capel TM, Kapsenberg ML, et al. Double-stranded RNA-exposed human keratinocytes promote Th1 responses by inducing a Type-1 polarized phenotype in dendritic cells: role of keratinocyte-derived tumor necrosis factor alpha, type I interferons, and interleukin-18. *The Journal of investigative dermatology*. 2003 Jun;120(6):990-7. PubMed PMID: 12787126. Epub 2003/06/06. eng.
57. Miller LS, Sorensen OE, Liu PT, Jalian HR, Eshtiaghpour D, Behmanesh BE, et al. TGF-alpha regulates TLR expression and function on epidermal keratinocytes. *Journal of immunology*. 2005 May 15;174(10):6137-43. PubMed PMID: 15879109. Epub 2005/05/10. eng.
58. Jouault T, Ibata-Ombetta S, Takeuchi O, Trinel PA, Sacchetti P, Lefebvre P, et al. *Candida albicans* phospholipomannan is sensed through toll-like receptors. *The Journal of infectious diseases*. 2003 Jul 1;188(1):165-72. PubMed PMID: 12825186. Epub 2003/06/26. eng.
59. Sato A, Linehan MM, Iwasaki A. Dual recognition of herpes simplex viruses by TLR2 and TLR9 in dendritic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006 Nov 14;103(46):17343-8. PubMed PMID: 17085599. Pubmed Central PMCID: PMC1859932. Epub 2006/11/07. eng.
60. Hari A, Flach TL, Shi Y, Mydlarski PR. Toll-like receptors: role in dermatological disease. *Mediators of inflammation*. 2010;2010:437246. PubMed PMID: 20847936. Pubmed Central PMCID: PMC2933899. Epub 2010/09/18. eng.
61. Kang SS, Kauls LS, Gaspari AA. Toll-like receptors: applications to dermatologic disease. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2006 Jun;54(6):951-83; quiz 83-6. PubMed PMID: 16713451. Epub 2006/05/23. eng.
62. Kim J, Ochoa MT, Krutzik SR, Takeuchi O, Uematsu S, Legaspi AJ, et al. Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. *Journal of immunology*. 2002 Aug 1;169(3):1535-41. PubMed PMID: 12133981. Epub 2002/07/23. eng.

63. Ruiz-Villaverde R, Sanchez-Cano D, Burkhardt-Perez P. Superficial basal cell carcinoma treated with imiquimod 5% topical cream for a 4-week period: a case series. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2009 Jul;23(7):828-31. PubMed PMID: 19646136. Epub 2009/08/04. eng.
64. Kocabas E, Ermertcan AT, Bilac C, Bilac DB, Temiz P. Nonsyndromic multiple basal cell carcinomas successfully treated with imiquimod 5% cream. *Cutaneous and ocular toxicology*. 2010 Dec;29(4):300-2. PubMed PMID: 20684662. Epub 2010/08/06. eng.
65. Weinberg AS, Ogle CA, Shim EK. Metastatic cutaneous squamous cell carcinoma: an update. *Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al]*. 2007 Aug;33(8):885-99. PubMed PMID: 17661931. Epub 2007/07/31. eng.
66. Micali G, Lacarrubba F, Dinotta F, Massimino D, Nasca MR. Treating skin cancer with topical cream. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2010 Jun;11(9):1515-27. PubMed PMID: 20408746. Epub 2010/04/23. eng.
67. Yu N, Zhang S, Zuo F, Kang K, Guan M, Xiang L. Cultured human melanocytes express functional toll-like receptors 2-4, 7 and 9. *Journal of dermatological science*. 2009 Nov;56(2):113-20. PubMed PMID: 19740627. Epub 2009/09/11. eng.
68. Wang JP, Kurt-Jones EA, Shin OS, Manchak MD, Levin MJ, Finberg RW. Varicella-zoster virus activates inflammatory cytokines in human monocytes and macrophages via Toll-like receptor 2. *Journal of virology*. 2005 Oct;79(20):12658-66. PubMed PMID: 16188968. Pubmed Central PMCID: PMC1235827. Epub 2005/09/29. eng.
69. Kang TJ, Lee SB, Chae GT. A polymorphism in the toll-like receptor 2 is associated with IL-12 production from monocyte in lepromatous leprosy. *Cytokine*. 2002 Oct 21;20(2):56-62. PubMed PMID: 12445799. Epub 2002/11/26. eng.
70. Krutzik SR, Ochoa MT, Sieling PA, Uematsu S, Ng YW, Legaspi A, et al. Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy. *Nature medicine*. 2003 May;9(5):525-32. PubMed PMID: 12692544. Epub 2003/04/15. eng.
71. Drexler SK, Foxwell BM. The role of toll-like receptors in chronic inflammation. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2010 Apr;42(4):506-18. PubMed PMID: 19837184. Epub 2009/10/20. eng.
72. Ospelt C, Gay S. TLRs and chronic inflammation. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2010 Apr;42(4):495-505. PubMed PMID: 19840864. Epub 2009/10/21. eng.
73. Lai Y, Gallo RL. Toll-like receptors in skin infections and inflammatory diseases. *Infectious disorders drug targets*. 2008 Sep;8(3):144-55. PubMed PMID: 18782031. Pubmed Central PMCID: PMC2744356. Epub 2008/09/11. eng.

74. Buchau AS, Schaubert J, Hultsch T, Stuetz A, Gallo RL. Pimecrolimus enhances TLR2/6-induced expression of antimicrobial peptides in keratinocytes. *The Journal of investigative dermatology*. 2008 Nov;128(11):2646-54. PubMed PMID: 18496569. Pubmed Central PMCID: PMC2639780. Epub 2008/05/23. eng.
75. Antiga E, Volpi W, Torchia D, Fabbri P, Caproni M. Effects of tacrolimus ointment on Toll-like receptors in atopic dermatitis. *Clinical and experimental dermatology*. 2011 Apr;36(3):235-41. PubMed PMID: 21070333. Epub 2010/11/13. eng.
76. Grange PA, Raingeaud J, Calvez V, Dupin N. Nicotinamide inhibits *Propionibacterium acnes*-induced IL-8 production in keratinocytes through the NF-kappaB and MAPK pathways. *Journal of dermatological science*. 2009 Nov;56(2):106-12. PubMed PMID: 19726162. Epub 2009/09/04. eng.
77. Liu PT, Krutzik SR, Kim J, Modlin RL. Cutting edge: all-trans retinoic acid down-regulates TLR2 expression and function. *Journal of immunology*. 2005 Mar 1;174(5):2467-70. PubMed PMID: 15728448. Epub 2005/02/25. eng.
78. Ofodile ON. Disifin (sodium tosylchloramide) and Toll-like receptors (TLRs): evolving importance in health and diseases. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 2007 Dec;34(12):751-62. PubMed PMID: 17876621. Epub 2007/09/19. eng.
79. Najjar HM, Dutz JP. Topical CpG enhances the response of murine malignant melanoma to dacarbazine. *The Journal of investigative dermatology*. 2008 Sep;128(9):2204-10. PubMed PMID: 18368132. Epub 2008/03/28. eng.
80. Krieg AM. Development of TLR9 agonists for cancer therapy. *The Journal of clinical investigation*. 2007 May;117(5):1184-94. PubMed PMID: 17476348. Pubmed Central PMCID: PMC1857270. Epub 2007/05/04. eng.
81. Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD, Hajjar AM, Smith KD, Wilson CB, et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000 Dec 5;97(25):13766-71. PubMed PMID: 11095740. Pubmed Central PMCID: PMC17650. Epub 2000/11/30. eng.
82. Ito T, Amakawa R, Fukuhara S. Roles of toll-like receptors in natural interferon-producing cells as sensors in immune surveillance. *Human immunology*. 2002 Dec;63(12):1120-5. PubMed PMID: 12480255. Epub 2002/12/14. eng.
83. Karaköse MZ. Ailesel akdeniz ateşi hastalarında Toll like reseptör 2 ve 4 ekspresyon düzeyinin akut atakla ilişkisinin incelenmesi. *Ege Üniveristesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı*,2011.
84. Gorden KB, Gorski KS, Gibson SJ, Kedl RM, Kieper WC, Qiu X, et al. Synthetic TLR agonists reveal functional differences between human TLR7 and TLR8. *Journal of immunology*. 2005 Feb 1;174(3):1259-68. PubMed PMID: 15661881. Epub 2005/01/22. eng.

85. Goodman MG. A new approach to vaccine adjuvants. Immunopotential by intracellular T-helper-like signals transmitted by loxoribine. *Pharmaceutical biotechnology*. 1995;6:581-609. PubMed PMID: 7551237. Epub 1995/01/01. eng.
86. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000 Dec 7;408(6813):740-5. PubMed PMID: 11130078. Epub 2000/12/29. eng.
87. Hakkı B. *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi*. Barış Yayınları, 1999;81-92.
88. Gołąb J, Jakóbisiak M, Lasek W. *Immunology*. PWN Warsaw 2002.
89. Gülmezoglu E, Ergüven S. *İmmünoloji*. Hacettepe Taş Kitapçılık. 1994;143-50.
90. Badur S. Doğal İmmun Yanıt:Sistemin Harekete Geçmesi ve Humoral Elementleri. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri*. 2013;(80):17-24.
91. Dinarello CA. Interleukin-1. *Cytokine & growth factor reviews*. 1997 Dec;8(4):253-65. PubMed PMID: 9620641. Epub 1998/06/10. eng.
92. Nowinski D, Hoijer P, Engstrand T, Rubin K, Gerdin B, Ivarsson M. Keratinocytes inhibit expression of connective tissue growth factor in fibroblasts in vitro by an interleukin-1alpha-dependent mechanism. *The Journal of investigative dermatology*. 2002 Aug;119(2):449-55. PubMed PMID: 12190869. Epub 2002/08/23. eng.
93. Birol A, Kisa U, Kurtipek GS, Kara F, Kocak M, Erkek E, et al. Increased tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) and interleukin 1 alpha (IL1-alpha) levels in the lesional skin of patients with nonsegmental vitiligo. *International journal of dermatology*. 2006 Aug;45(8):992-3. PubMed PMID: 16911396. Epub 2006/08/17. eng.
94. Cronstein BN. Interleukin-6--a key mediator of systemic and local symptoms in rheumatoid arthritis. *Bulletin of the NYU hospital for joint diseases*. 2007;65 Suppl 1:S11-5. PubMed PMID: 17708739. Epub 2007/10/10. eng.
95. King MW. The medical biochemistry page.<http://web.indstate.edu/thcme/mwking/home.html>. 2004.
96. Hesse CC, Andersson B, Wold AE. Gram-positive and Gram-negative bacteria elicit different patterns of pro-inflammatory cytokines in human monocytes. *Cytokine*. 2005 Jun 21;30(6):311-8. PubMed PMID: 15935951. Epub 2005/06/07. eng.
97. Weiss JM, Sundar SK, Becker KJ, Cierpial MA. Behavioral and neural influences on cellular immune responses: effects of stress and interleukin-1. *The Journal of clinical psychiatry*. 1989 May;50 Suppl:43-53; discussion 4-5. PubMed PMID: 2654130. Epub 1989/05/01. eng.
98. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000 Apr;117(4):1162-72. PubMed PMID: 10767254. Epub 2000/04/18. eng.

99. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. Basic and Clinical Immunology 1994;Eight Edition:105-23.
100. Chung F. Anti-inflammatory cytokines in asthma and allergy: interleukin-10, interleukin-12, interferon-gamma. Mediators of inflammation. 2001 Apr;10(2):51-9. PubMed PMID: 11405550. Pubmed Central PMCID: PMC1781697. Epub 2001/06/19. eng.
101. Trinchieri G, Gerosa F. Immunoregulation by interleukin-12. Journal of leukocyte biology. 1996 Apr;59(4):505-11. PubMed PMID: 8613697. Epub 1996/04/01. eng.
102. Stein RC, Dalgleish AG. Immunomodulatory agents: the cytokines. European journal of cancer. 1994;30A(3):400-4. PubMed PMID: 8204368. Epub 1994/01/01. eng.
103. Güner İ, Bayındır O, Özmen D. Sitokinler. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri. 1997;17:65-74.
104. Mooney DP, O'Reilly M, Gamelli RL. Tumor necrosis factor and wound healing. Annals of surgery. 1990 Feb;211(2):124-9. PubMed PMID: 2301991. Pubmed Central PMCID: PMC1357954. Epub 1990/02/01. eng.
105. Erdem MT, Gulec AI, Kiziltunc A, Yildirim A, Atasoy M. Increased serum levels of tumor necrosis factor alpha in lichen planus. Dermatology (Basel, Switzerland). 2003;207(4):367-70. PubMed PMID: 14657628. Epub 2003/12/06. eng.
106. Jacob CO. Tumor necrosis factor alpha in autoimmunity: pretty girl or old witch? Immunology today. 1992 Apr;13(4):122-5. PubMed PMID: 1580993. Epub 1992/04/01. eng.
107. Bolaman Z, Müftüoğlu E, Bilgiç O, Ertan S. Immünoloji. Saray Medikal Yayıncılık. 1993; 79-100.
108. Sharon J. Basic Immunology. Baltimore: Williams & Wilkins. A Waverly Company. 1998:107-23.
109. Tizard I. Immunology: An Introduction. Saunders College Publishing. 1995;155-68.
110. Sharon J. Basic Immunology. Baltimore: Williams & Wilkins. A Waverly Company. 1998:107-24.
111. Daniel PS, Abba IT, Tristram GP. Basic & Clinical Immunology. Lange Medical Books McGraw Hill. 1994;8th Ed:105-23.
112. de Kleijn S, et al. Extremely low frequency electromagnetic field exposure does not modulate toll-like receptor signaling in human peripheral blood mononuclear cells. Cytokine. 2011 Apr;54(1):43-50. PubMed PMID: 21239179. Epub 2011/01/18. eng.
113. Szmigielski S. Reaction of the immune system to low-level RF/MW exposures. The Science of the total environment. 2013 Jun 1;454-455:393-400. PubMed PMID: 23562692. Epub 2013/04/09. eng.

114. Ceyhan AM, Akkaya VB, Gulecol SC, Ceyhan BM, Ozguner F, Chen W. Protective effects of beta-glucan against oxidative injury induced by 2.45-GHz electromagnetic radiation in the skin tissue of rats. *Archives of dermatological research*. 2012 Sep;304(7):521-7. PubMed PMID: 22237725. Epub 2012/01/13. eng.
115. Ayata A, Mollaoglu H, Yilmaz HR, Akturk O, Ozguner F, Altuntas I. Oxidative stress-mediated skin damage in an experimental mobile phone model can be prevented by melatonin. *The Journal of dermatology*. 2004 Nov;31(11):878-83. PubMed PMID: 15729859. Epub 2005/02/26. eng.
116. Paulraj R, Behari J. Effects of low level microwave radiation on carcinogenesis in Swiss Albino mice. *Molecular and cellular biochemistry*. 2011 Feb;348(1-2):191-7. PubMed PMID: 21086023. Epub 2010/11/19. eng.
117. Black DR, Heynick LN. Radiofrequency (RF) effects on blood cells, cardiac, endocrine, and immunological functions. *Bioelectromagnetics*. 2003;Suppl 6:S187-95. PubMed PMID: 14628314. Epub 2003/11/25. eng.
118. Jauchem JR. Effects of low-level radio-frequency (3kHz to 300GHz) energy on human cardiovascular, reproductive, immune, and other systems: a review of the recent literature. *International journal of hygiene and environmental health*. 2008 Mar;211(1-2):1-29. PubMed PMID: 17692567. Epub 2007/08/19. eng.
119. Moszczynski P, Lisiewicz J, Dmoch A, Zabinski Z, Bergier L, Rucinska M, et al. [The effect of various occupational exposures to microwave radiation on the concentrations of immunoglobulins and T lymphocyte subsets]. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*. 1999;52(1-2):30-4. PubMed PMID: 10335122. Epub 1999/05/21. Wplyw promieniowania mikrofalowego na stezenie immunoglobulin i subpopulacje limfocytow T w roznych ekspozycjach zawodowych. pol.
120. Cleary SF, Liu LM, Merchant RE. In vitro lymphocyte proliferation induced by radio-frequency electromagnetic radiation under isothermal conditions. *Bioelectromagnetics*. 1990;11(1):47-56. PubMed PMID: 2346507. Epub 1990/01/01. eng.
121. Czerska EM, Elson EC, Davis CC, Swicord ML, Czerski P. Effects of continuous and pulsed 2450-MHz radiation on spontaneous lymphoblastoid transformation of human lymphocytes in vitro. *Bioelectromagnetics*. 1992;13(4):247-59. PubMed PMID: 1510735. Epub 1992/01/01. eng.
122. Cleary SF, Du Z, Cao G, Liu LM, McCrady C. Effect of isothermal radiofrequency radiation on cytolytic T lymphocytes. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1996 Jun;10(8):913-9. PubMed PMID: 8666169. Epub 1996/06/01. eng.
123. Minami M, Kuraishi Y, Yamaguchi T, Nakai S, Hirai Y, Satoh M. Immobilization stress induces interleukin-1 beta mRNA in the rat hypothalamus. *Neuroscience letters*. 1991 Feb 25;123(2):254-6. PubMed PMID: 2027540. Epub 1991/02/25. eng.

124. Tuschl H, Novak W, Molla-Djafari H. In vitro effects of GSM modulated radiofrequency fields on human immune cells. *Bioelectromagnetics*. 2006 Apr;27(3):188-96. PubMed PMID: 16342197. Epub 2005/12/13. eng.
125. Gatta L, Pinto R, Ubaldi V, Pace L, Galloni P, Lovisolo GA, et al. Effects of in vivo exposure to GSM-modulated 900 MHz radiation on mouse peripheral lymphocytes. *Radiation research*. 2003 Nov;160(5):600-5. PubMed PMID: 14565821. Epub 2003/10/21. eng.
126. Ikeda K, Shinmura Y, Mizoe H, Yoshizawa H, Yoshida A, Kanao S, et al. No effects of extremely low frequency magnetic fields found on cytotoxic activities and cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Bioelectromagnetics*. 2003 Jan;24(1):21-31. PubMed PMID: 12483662. Epub 2002/12/17. eng.
127. Pakbaş İ. Cep telefonlarından yayılan 900 MHz elektromanyetik alanın rat immün sistemi üzerine etkilerinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. 2008.
128. Salehi I, Sani KG, Zamani A. Exposure of rats to extremely low-frequency electromagnetic fields (ELF-EMF) alters cytokines production. *Electromagnetic biology and medicine*. 2013 Mar;32(1):1-8. PubMed PMID: 23046051. Epub 2012/10/11. eng.