

## Oldukça Düşük Frekanslı Manyetik Alan ve Mangan'ın Kemik Mineral İçeriği ve Yoğunluğu Üzerine Etkileri

Veysi Akpolat

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı-Diyarbakır

### ÖZET

Bu çalışmada günlük yaşamda maruz kalınan oldukça düşük frekanslı (ELF) manyetik alanın (MA) kemik dokusu üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda 64 adet erkek Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Rastgele sekizerli eşit gruplara bölünen sıçan'lara 45 gün süreyle uygulama yapıldı. 1. gruba 1,5 mT şiddetindeki ve 50 Hz frekanslı MA 4 saat/gün uygulandı. 2., 3. ve 4. grup sıçan'lara ise sırasıyla 3.75 mg/kg, 15 mg/kg ve 60 mg/kg mangan (Mn) ile birlikte 1. gruba verilen ile aynı düzeyde MA verildi. 5. gruba (3.75 mg/kg/gün), 6. gruba (15 mg/kg/gün) ve 7. gruba (60 mg/kg/gün) dozda Mn verildi. Sekizinci grup sıçan kafes kontrol olarak kullanıldı. Tüm grupların toplam kemik mineral içeriği (TKMİ) ve toplam kemik mineral yoğunluğu (TKMY) değerleri ölçüldü. TKMİ yönünden 8. grup ile diğer gruplar karşılaştırıldı; 3., 4. ve 7. grup ile anlamlı değişiklik olduğu saptandı ( $p<0.05$ ). Sonuçlarımız MA'nın, Mn verilen sıçan'larda KMI artışlarına katkıda bulunduğu ve TKMİ artışlarını stimüle edebildiği şeklinde yorumlanabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kemik Mineral İçeriği, Mangan, Manyetik Alan, Sıçan.

### The Effect of Extremely Low Frequency Magnetic Field and Manganese on Bone Mineral Content and Density

### SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effect of extremely low frequency magnetic field (ELF MF) on bone that exposed us in our daily life. In our study, sixty four male Wistar-Albino rats were used. The rats were exposed to ELF MF (50Hz, 1.5mT) during 4 hours/day for 45 days. The experimental rats were divided into eight groups (n=8 per group). The groups were as follows; only ELF MF was exposed to 1.group, the ELF MF was exposed to the 2., 3. and 4.groups with the doses manganese (Mn) of 3.75 mg/kg, 15mg/kg and 60mg/kg respectively, the 5., 6. and 7.groups received Mn with the doses of 3.75 mg/kg, 15mg/kg and 60mg/kg respectively and lastly the 8.group was used as a control group (cage control). Total bone mineral content (TBMC) and total bone mineral density (TBMD) of rats were determined by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). Measurements were recorded for all groups and the levels were compared with the control group. The levels of TBMC increased significantly in 3., 4. and 7. groups compare to control group ( $p<0.05$ ). However, significant differences was not found in relation to the levels of TBMD between groups. The following results could be derived for this study; i) an additive effect of EMF was observed in increasing of bone mineral content for the groups with manganese ii) EMF stimulates the increasing of TBMD iii) manganese has a positive effect on bone tissue.

**Key Words:** Bone Mineral Content, Magnetic Field, Manganese, Rat.

### GİRİŞ

İyonlaştırıcı radyasyonun zararları birçok çalışma ile belirlenmiştir, bununla birlikte

insanların yaşamları boyunca sürekli olarak maruz kaldıkları gerek doğal kaynaklı ve gerekse insan kaynaklı non-iyonizan elektro-

**Yazışma Adres:** Veysi AKPOLAT Dicle Üniv. Tıp Fak. Biyofizik A.D./Diyarbakır  
E-mail: vakpolat@dicle.edu.tr

**Geliş Tarihi :** 04.01.2008

**Yayına Kabul Tarihi :** 18.01.2008

manyetik radyasyon ile ilgili çalışmalar da gün geçtikçe artmaktadır<sup>1-4</sup>.

Günlük yaşamda kullandığımız elektrik-elektronik aletlerinden ve elektrik iletim hatlarından kaynaklanan ELF MA'a yoğun bir şekilde maruz kalınması, bu elektromanyetik dalganın meydana getirmiş olduğu olası biyolojik etkinin olup olmadığı konusu son yıllarda bilim adamlarını yoğun bir araştırmaya yöneltmiştir. Yapılan araştırmalardan iyonlaştırıcı olmayan radyasyon kaynaklarının yarattığı MA'dan, çevre ve insan sağlığı etkilenmelerinin, kaynakların yoğunluğuna ve frekanslarına bağlı olarak değişiklik gösterdiği anlaşılmıştır. Bu çalışmalar laboratuvar çalışmaları olarak ifade edilen hücresel düzeyde in vitro ve deney hayvanları düzeyinde in vivo çalışmaların yanı sıra klinik ve epidemiyolojik çalışmaları içeren çok geniş bir spektrum kapsamaktadır<sup>5-7</sup>. Biyokimyasal, biyofiziksel ve biyomekaniksel değişiklikler kemik hücrelerini etkiler. Bu nedenle kemik hücreleri çevresindeki elektromanyetik alan değişimlerine oldukça duyarlıdır<sup>8</sup>. Son zamanlarda yapılan çalışmalar elektromanyetik alan uygulamasının osteoblastları uyurabileceğini göstermiştir. Bu çalışmalarda bu etkinin iyon transport kanalları üzerinden olduğu gösterilmiştir<sup>9,10</sup>. Elektromanyetik alanın membran protein değişikliklerini elektroforetik ve elektroosmotik etkileriyle yaptığını gösteren çalışmalar vardır<sup>11</sup>. Bununla beraber elektromanyetik alan uygulamalarına hücresel yanıtın mekanizmaları hala tam olarak anlaşılamamıştır. Bazı araştırmalar elektromanyetik alan uygulamalarının osteoklastlar üzerinde yoğunlaşmıştır<sup>12-15</sup>.

Mangan (Mn) özellikle kemik matriksinin yapıtaşı olan mukopoliskarid sentezinde ve kemik dokusunda görevli birçok enzim için kofaktör olarak rol oynayan temel elementlerden biridir. Önceki çalışmalarda Mn'nin kemik yapısının gelişiminde etkili bir element olduğu belirtilmiştir<sup>16</sup>. Alınan Mn miktarı işlenmemiş hububat, yeşil yapraklı sebzeler yenmesi ve çay içilmesi gibi faktörlere bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir.



**Şekil 1.** Faraday kafesi içinde uygulama düzeneği

Çalışmamızda, ELF MA ile birlikte Mn uygulamasının sıçan'ların TKMİ ve TKMY üzerine olası herhangi bir etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

#### GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM) inden elde edilen 250-300 g. ağırlığında 64 adet erkek erişkin Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar normal pellet yem ve çeşme suyu ile beslendi.  $22\pm 3^{\circ}\text{C}$  sabit sıcaklıkta barındırıldı. Bu çalışma lokal etik komite tarafından onaylanmıştır. Dışardan gelebilecek MA etkileşimlerini engellemek için düzenek Faraday Kafesi (130 x 65 x 80) içerisine yerleştirildi, MA gruplara engelsiz ulaşsın diye çapları; 43cm x 42cm x 15cm olan flexiglas kafesler kullanıldı. Çalışmada sıçanlara uygulanan ELF MA, iç çapları 47 cm olan ve aralarında 70 cm lik bir mesafe bulunan, düşey olarak bir Faraday kafesi içine yerleştirilmiş ve sarım sayısı 125 olan bir çift Helmholtz bobininden elde edildi. Deney düzeneği; Faraday kafesi içindeki iki özdeş Helmholtz bobini olup bu bobinlere aynı miktarda (48 V, 40 amp) voltaj ve akım üreten iki özdeş A.C güç kaynağı bağlanmıştır (Şekil 1). Sıçanların MA uygulaması boyunca konuldukları flexiglas kafeslerin içindeki 15 farklı noktada manyetik alan ölçümleri dijital

teslametre (Digital Gauss / Teslameter 7030 Hall Effect Gaussmeter, F.W.BELL, SYPRUS, Orlando, Florida, USA) ile düzenli olarak yapıldı ve ölçüm sonucunda ortalama 1.5 mT olarak tespit edildi.

Sıçan'lar çalışmaya alınmadan önce alışmaları için 15 gün beslenmiştir. Daha sonra her bir grupta 8'er (n=8) sıçan olacak şekilde sıçan'lar rastgele sekiz gruba bölündü. Birinci gruba sadece 4 saat/gün ELF MA uygulandı. İkinci, üçüncü ve dördüncü gruba, sırasıyla 3.75mg/kg/gün, 15mg/kg/gün, 60mg/kg/gün Mn ve ilave olarak düşey eksende karşılıklı olarak yerleştirilmiş olan iki çift Helmholtz bobinlerine, güç kaynaklarından elde edilen alternatif akım (A.C) uygulanarak elde edilen yaklaşık olarak 1,5 mT şiddetindeki ve 50 Hz frekanslı MA 4 saat/gün uygulandı. Beşinci, altıncı ve yedinci grup sıçan'lara ise sırasıyla günde 3.75 mg/kg/gün, 15 mg/kg/gün ve 60mg/kg/gün dozunda Mn sıçan'ların içme sularına katılarak verildi. Sekizinci kafes kontrol grubundaki sıçan'lara ise herhangi bir uygulama yapılmadı.

Çalışmada kullanılan Mn ve ELF MA uygulamaları 45 gün boyunca devam etti. Sıçan'lara ait KMY ölçümleri, Dual Energy X- ray Absorbtiometry (DXA) (Hologic, Discovery QDR 4500A, WA, USA) aleti ile yapıldı. Her çekimden önce üretici firmanın çekim prosedürlerine uygun standart "small step phantom" ile alet kalibrasyonu yapıldıktan sonra, uygulama öncesi ve uygulama sonrası olmak üzere iki kez "small animal" modunda ölçüm yapıldı ve kaydedildi. DXA aletiyle; toplam kemik mineral içeriği (TKMİ) ve toplam kemik mineral yoğunluğu (TKMY) parametreleri saptanarak kaydedildi. Standardizasyonu sağlamak için analizler aynı kişi tarafından değerlendirildi.

İstatistik analizleri SPSS 13.0 paket programı (SPSS Inc., Illinois, USA) kullanılarak yapıldı. ELF MA, Mn+ELF MA, Mn ve kafes kontrol grupları kendi aralarında uygulama sonrası elde edilen TKMİ ve TKMY verileri Tek Yönlü Varyans Analizi (ANNOVA) ile

değerlendirildi. Kontrol grubunun diğer gruplar ile çoklu karşılaştırılması Dunnet Testi ile yapıldı.

## BULGULAR

Tüm gruplardan uygulama sonrası elde edilen TKMİ ve TKMY verileri, Dunnet testi ile analiz edilmiştir (Tablo 1).

Deney gruplarına ait uygulama sonrası TKMİ'lerin istatistiksel karşılaştırmaları sonrasında, Dunnet testine göre kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmada tüm deney gruplarında bir miktar olmakla birlikte özellikle bazı gruplarda (3., 4. ve 7. deney gruplarında) TKMİ'nin anlamlı bir şekilde arttığı (p<0.05) tespit edildi (Tablo 1). TKMY değerlerinin Dunnet testi ile yapılan istatistiksel analizlerinde 8.grup ile diğer gruplar karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı (p>0.05) belirlendi (Tablo 2).

**Tablo 1.** Grupların uygulama sonrası TKMİ verileri ve karşılaştırmaları

	Aritmetik ortalama	± SD	Karşılaştırma	P
1	15.958	0.811	1-8	>0.05
2	15.486	0.420	2-1 2-8	>0.05 >0.05
3	16.366	1.126	3-1 3-8	>0.05 <0.05 *
4	16.054	0.600	4-1 4-8	>0.05 <0.05 *
5	15.756	1.614	5-1 5-8	>0.05 >0.05
6	15.522	0.769	6-1 6-8	>0.05 >0.05
7	16.190	0.501	7-1 7-8	>0.05 <0.05 *
8	14.398	0.877	8-1	>0.05

\*: Dunnet testine göre anlamlı bulunanlar

**Tablo 2.** Grupların uygulama sonrası TKMY verileri

	Aritmetik ortalama	±SD
1	0.164	0.0921
2	0.204	0.00336
3	0.211	0.00722
4	0.205	0.00450
5	0.206	0.0126
6	0.195	0.00339
7	0.206	0.00343
8	0.193	0.00634

TKMY değerlerinin Dunnet testi ile yapılan istatistiksel analizlerinde 8.grup ile diğer gruplar karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı ( $p>0.05$ ) belirlendi (Tablo 2). Kontrol grubu ve diğer grupların çoklu karşılaştırması Dunnet Testi ile analiz edilmiştir (Tablo 2).

### TARTIŞMA

Yapılan birçok çalışma ELF MA'nın insan sağlığı üzerinde etkilerini bir bütünlük içinde açıklayamamıştır. Kemik oluşumunu ve büyümesini aktive ettiğini belirten, osteoklastik aktiviteyi inhibe ettiğini, kemik kırık iyileşmesine katkıda bulunduğunu, yara iyileşmesinde granülasyon ve fibröz doku oluşumunu etkileyerek sağladığını belirten çalışmaların yanında<sup>17-19</sup>, immün sistemi etkilediğini, lösemi gibi karsinogen etkiler oluşturduğunu, nörolojik rahatsızlıklar, endokrin sistem rahatsızlıkları, dejeneratif kalp hastalıkları ve kan damarlarında endotel hasarı, oluşturduğunu belirten çalışmalar yayınlanmıştır<sup>20,21</sup>. Bazı çalışmalarda ELF MA'nın hücresele düzeydeki biyolojik etkilerinin; proliferasyon ve differansiyon düzeyinde değişiklik oluşturma<sup>22,23</sup>,  $Ca^{+2}$  iyonu gibi mesenger iyon düzeyinde değişiklikler<sup>24,25</sup>, hücrenin şeklinde veya biçiminde değişiklik oluşturma şeklinde olduğu gösterilmiştir<sup>26,27</sup>. Connexin (Cx) osteoblast hücrelerinden salınan ve hücreler arasındaki bileşke noktalarında iletişimi

sağlayan protein kökenli bir bileşik olup hücreler arasındaki bu bileşke noktalarında ELF MA'nın bu hücrelerarası iletişimi Cx üzerinden düzenleyebildiğini gösteren çalışmalar vardır<sup>28,29,30</sup>.

Bu çalışmamızda ELF MA ve Mn uygulanan sıçan'lardan elde edilen DXA sonuçlarına göre; ELF MA + Mn uygulanan gruplardaki TKMI artışının 3. ve 4. gruplarda anlamlı olduğu ( $P<0.05$ ), sadece Mn verilen gruplardan 60mg/kg yani maksimum dozda Mn verilen grupta anlamlı olduğunun ( $P<0.05$ ) bulunması, yani ELF MA ile birlikte 15mg/kg ve 60mg/kg dozlarda Mn verilen gruplarda anlamlı artışların olması; ELF MA'nın Mn verilen sıçanlarda kemik mineral içeriği artışlarına katkıda bulunduğu ve ELF MA'nın TKMI'yi artırmada uyarıcı ve artırıcı etki gösterdiği şeklinde yorumlanabilir.

Bu çalışmanın sonucunda; Mn ve ELF MA uygulamalarına bağlı olarak, DXA sonuçlarına göre TKMI'de anlamlı değişiklikler olduğu izlendi. ELF MA'nın kemik mineral içeriğini artırdığı, kırık iyileşmesini uyardığı ve osteoblastik aktiviteyi artırıcı etkisinin olduğunu belirten birçok çalışmayla paralel bulgular olmasının yanında, belirli dozlarda verilen Mn'nin TKMI'yi artırıcı etkisine de katkıda bulunduğu gözlemlendi. Bu da TKMI'yi artırıcı tedavi rejimlerinde, ELF MA'nın sinerjistik etkisinden yararlanılabileceğini göstermesi açısından önemlidir.

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen veriler, Mn ve ELF MA uygulamasının sıçan'ların kemik mineral içeriğini artırdığını göstermiştir. Ancak manyetik alan ve canlı organizma etkileşimlerini hücresele düzeyde açıklayabilecek çalışmalara ihtiyaç olduğu gerçeği de unutulmamalıdır.

### KAYNAKLAR

1. Fadel MA. Growth assessment of children exposed to low frequency electromagnetic fields at the Abu Sultan area in Ismailia (Egypt). *Anthropol Anz* 2006; 64: 211-226.
2. Demsia G. Effect of 910-MHz electromagnetic field on rat bone marrow. *Sci World J* 2004; 4 Suppl

2: 48-54.

3. Rollwitz J. Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow-derived promonocytes and macrophages. *Biochim Biophys Acta* 2004;1674: 231-238.
4. Sievert U. Effects of electromagnetic fields emitted by cellular phone on auditory and vestibular labyrinth. *Laryngorhinootologie* 2007; 86: 264-270.
5. Funk RH. Effects of electromagnetic fields on cells: physiological and therapeutical approaches and molecular mechanisms of interaction. A review. *Cells Tissues Organs* 2006; 182: 59-78.
6. Lirani AP. Evidences of physical agents action on bone metabolism and their potential clinical use. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2005; 49: 891-896.
7. Seaman RL. Comments on "Evaluation of interactions of electric fields due to electrostatic discharge with human tissue". *IEEE Trans Biomed Eng* 2005; 53: 1220.
8. Binderman I, Somjen D, Shimshoni Z, et al. Stimulation of skeletal-derived cell cultures by different electric field intensities is cell-specific. *Biochim Biophys Acta* 1985; 844:273-279.
9. Laughlan KA, Steiner UE The spin correlated radical pair as a reaction intermediate. *Mol Phys* 1991; 73:241
10. Aday WR, Lawrence AF. *Nonlinear Electrodynamics in Biological Systems*. Plenum, New York 1984, 3-22
11. Giugni TD, Braslan DL, Haigler HT. Electric field induced redistribution and postfield relaxation of epidermal growth factor receptors on A 431 cells. *J Cell Biol* 1987; 104:1291-1297
12. Chang K, Chang WH, Yu YH, Shih C. Pulsed electromagnetic field stimulation of bone marrow cells derived from ovariectomized rats affects osteoclast formation and local factor production. *Bioelectromagnetics* 2004; 25: 1 3441.
13. Rubin J, McLeod KJ, Titus L, et al. Formation of osteoclast-like cells is suppressed by low frequency, low intensity electric fields. *J Orthopaed Res* 1996;14:7-15.
14. Shankar VS, Simon BJ, Bax CM, et al. Effects of electromagnetic stimulation on the functional responsiveness of isolated rat osteoclasts. *J Cell Physiol* 1998;176:53744.
15. Chang K, Chang WH, Tsai MT, Shih C. Pulsed Electromagnetic Fields Accelerate Apoptotic Rate in Osteoclasts. *Connective Tissue Research* 2006; 47: 222-228.
16. Palacios C. The Role of Nutrients in Bone Health, from A to Z. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2006; 46:621-628.
17. Ciombor DM. The role of electrical stimulation in bone repair. *Foot Ankle Clin* 2005;10: 579-593.
18. Wu H. Effect of electromagnetic fields on proliferation and differentiation of cultured mouse bone marrow mesenchymal stem cells. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*; 25, 2005; 2:185-187.
20. Icaro CA. Stimulation of osteoblast growth by an electromagnetic field in a model of bone-like construct. *Eur J Histochem* 2006; 50: 199-204.
21. Erdal N. Cytogenetic effects of extremely low frequency magnetic field on Wistar rat bone marrow. *Mutat Res* 2007; 630: 69-77.
22. Goodman R, Blank M. Insights into electromagnetic interaction mechanisms. *J Cell Physiol* 2002; 192:16-22.
23. Marmi V, Lisi A, Rieti S, et al. Low electromagnetic field (50 Hz) induces differentiation on primary human oral keratinocytes (HOK). *Bioelectromagnetics* 2004; 25: 118-126.
24. Wei M, Guizzetti M, Yost M, Costa LG. Exposure to 60-Hz magnetic fields and proliferation of human astrocytoma cells *in vitro*. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000;162 :166-176.
25. Aldinucci C, Palmi M, Sgaragli G, et al. The effect of pulsed electromagnetic fields on the physiologic behaviour of a human astrocytoma cell line. *Biochim Biophys Acta* 2000;1499: 101-108.
26. Manni V, Lissi A, Pozzi D, et al. Effects of extremely low frequency (50 Hz) magnetic field on morphological and biochemical properties of human keratinocytes. *Bioelectromagnetics* 2002;23: 298-305.
27. Pessina GP, Aldinucci C, Palmi M, et al. Pulsed electromagnetic fields affect the intracellular calcium concentrations in human astrocytoma cells. *Bioelectromagnetics* 2001;22:503-510.
28. Schiller PC, D'Ippolito G, Balkan W, Roos BA, Howard GA. Gap-junctional communication is required for the maturation process of osteoblastic cells in culture. *Bone*, 2001;28:362-369.
29. Zeng QL, Chiang H, Hu GL, et al. ELF magnetic fields induce internalization of gap junction protein connexin 43 in Chinese hamster lung cells. *Bioelectromagnetics* 2003; 24: 134-138.
30. Aaron RK, Boyan BD, Ciombor DM. Stimulation of growth factor synthesis by electric and electromagnetic fields. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 419:30-37.