

THE EFFECT OF LOW FREQUENCY ELECTREOMAGNETIC FIELDS ON CHICKEN EMBRYO CELLS

SUMMARY

The modern environment exposes humans to 50-60 Hz electromagnetic fields of significant strengths. Embryo cells are particularly sensitive to such as fields. A large amount of research has been done on the effect of 50-100 Hz fields on the embryos of fish, chicken, star fish, mice, flies and certain other animals. In this study 97 fertile hen eggs were placed in an incubator ($37.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$) and $82 \pm 3\%$ rel. humidity) immediately after being laid. The test group (n=62) 1 were subjected to 5 mT , 50 Hz magnetic fields for 3 days. The control group (n=35) were unexposed. All eggs were rotated 4 times daily to prevent adhesion of the embryo to the egg shell. At the end of the period the eggs were cracked and the embryos extracted. Imprint preparations were made and stained. Cell counts in 1000's were performed of cells undergoing the prophase, metaphase, anaphase, telophase of mitosis. In some of the test preparations symplastic cells, a factor for tumor development, were present.

As a result; the symplex cells groups have been observed in that frequency that is the criterion of the improving of the tumor.

Key Words: Electreomagnetic fields, chicken embryo cells, mitosis.

DÜŞÜK FREKANSLI ELEKTROMANYETİK ALANIN TAVUK EMBRİYO HÜCRELERİNE ETKİSİ

Piştiriciler Rabia ^{*}, Körpınar M. Ali ^{**}, Toprak Necati ^{***}, Kalkan M. Tunaya ^{**}

ÖZET

50 – 60 Hz frekanslı manyetik alan yoğunluğu günlük hayatta insanların evlerde ve iş yerlerinde maruz kaldığı bir seviyedir. Hassas bir yapıya sahip olan embriyo hücreleri manyetik alandan daha fazla etkilenebilmektedir. Araştırmacılar tarafından 50 – 100 Hz’de çeşitli hayvanların (balık, tavuk, sinek, deniz yıldızı, fare) embriyoları üzerinde birçok çalışma yapılmıştır.

Biz de 50 Hz frekanslı manyetik alanın tavuk embriyosu üzerine etkisini sitolojik olarak inceleyerek hücresel seviyedeki değişiklikleri araştırmayı amaçladık. 3 günlük tavuk embriolarından yaptığımız imprint preparatlarda 1000 hücre saydık. Kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak profaz, metafaz, anafaz ve telofaz safhaları ile mitoz bölünmeleri değerlendirdik. Bazı preparatlarda, tümör oluşum kriterlerinden olan simplazik hücre gruplarına da rastladık.

Daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi, hayvanlardaki bu değişimlerin insan embriyoları ile bir paralellik gösterebileceği düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Elektromanyetik alan, tavuk embriyo hücreleri, mitoz.

GİRİŞ

Son yıllarda elektrikli ev aletlerinin kullanımı gittikçe artmaktadır. Bu aletlerden kaynaklanan elektromanyetik alanlar çevresindeki canlıları da etkilemektedir. Bu etki şiddeti kaynaktan uzaklaştıkça azalmaktadır. Yüksek gerilim hatlarında ve sıklıkla kullanılan bazı araçlardan yayılan elektrik alanlar ve manyetik akı yoğunlukları Tablo 1’de gösterilmiştir (1).

| Kaynak | Manyetik akı Yoğunluğu mT($\times 10^{-4}$) | Elektrik alan şiddeti (V/m) |
|--------------------------------|---|-----------------------------|
| Yüksek gerilim hatlarının altı | 10 – 200 | 800 – 3000 |
| Elektrikli battaniye | 75 – 100 | 100 – 2500 |
| Elektrikli traş makinesi | 1000 – 10000 | 100 – 400 |
| Tost makinesi | 70 – 200 | 100 – 400 |
| Şehir içi elektrik hatları | 2 – 12 | 50 – 100 |
| Oturma odasının ortası | 0.5 – 8 | 2 – 9 |
| Ev giriş kapısı | 0.10 – 4.7 | Belirtilmemiş |

Tablo 1: Günlük hayatta karşılaştığımız elektrik alan ve manyetik akı yoğunlukları.

Elektriğin iletimi ve kullanımı sırasında ortaya çıkan elektromanyetik alanların biyolojik etkilerinin araştırma sonuçları ilginçtir (2). 50 – 100 Hz frekanslı manyetik alanların balık, sinek, tavuk, deniz yıldızı ve fare gibi hayvanlarda embriyonal aşamada değişikliklere yol açtığı saptanmıştır (3).

Biz bu çalışmada tavuk yumurtaları kullanarak elektromanyetik alanın tavuk embriyosu üzerine etkisini hücresel düzeyde inceledik.

GEREÇ VE YÖNTEM

Embriyo oluşumu için DAYM 42280 kuluçka makinesi kullandık. 9 adet seri bağlı, 560 sarımlı, demir çekirdekli bobin kullanarak manyetik alan oluşturduk. Bobinleri kuluçka makinesinin üzerine dikey olarak yerleştirdik. Makine içerisindeki manyetik alan şiddetini Leybold Heraous 53050 model Hall Effect Teslametre ile ölçtük. Ortam ısısı 37.5 ± 0.2 °C ve nem miktarı $\% 82 \pm 3$ olarak düzenledik. Yumurtaları etlik tavuk elde edilen bir çiftlikten aldık. 20 kontrol ve 20 deney olmak üzere 6 kez tekrarladığımız deneyde 240 yumurta kullandık. Yumurtaları zaman kaybetmeden kuluçka makinesine getirdik. Kontrol grubunu, deney grubu ile aynı

* M.Ü. DİŞ HEKİMLİĞİ FAK. HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ BD.

** İ.Ü. CERRAHPAŞA TIP FAK. BİYOFİZİK A.B.D.

*** İ.Ü. CERRAHPAŞA TIP FAK. HALK SAĞLIĞI A.B.D.

şartlarda hazırlanmış diğerk bir makinede takip ettik ve onlara manyetik alan uygulamadık. Yumurtaları geniş olan kısımlarından arkalı önlü + ve – olarak işaretledik. Embriyonun kabuğa yapışmasını önlemek için belli aralıklarla günde en az 4 kez çevirdik. Deney ve kontrol grubu yumurtalarını 3 gün sonunda hemen takibe aldık. Yumurta kabuklarını + işaretli yerden 3 cm çizerek kırdık. Embriyoları vitellus maddesinden temizlemek için serum fizyolojik ile çalkaladık. Embriyoları bir penset ile alarak temiz bir lam üzerine hafifçe bastırarak (imprint) yaydık ve havada kurutup, boyadık.(4).Bu preparatları May – Grünwald Giemza (Schnel Färbung seti) boyası ile boyadık. Mikroskopta 400 büyütme ile özellikle hücrelerin homojen ve iyi yayılmış bölgelerinde 1000 hücre saydık. Sayılan hücreler arasında mitoz aşamasındaki profaz, metafaz, anafaz ve telofaz hücrelerini tek tek kaydettik.

Bazı yumurtalarda embriyo oluşmadığını tespit ettik. Bazı yumurtalarda teşekkül eden embriyoları lam üzerine alamadık, bazılarını da kalın yayıldığından dolayı iyi boyayamadık. Sonuçta 62 adet normal deney yumurtası ve 35 adet kontrol yumurtasından elde edilen toplam 97 adet embriyoda sayım yaptık.

Sayım sonuçlarını Student's t – testi ile istatistikî olarak değerlendirdik. (NCSS istatistikî paket programını kullandık.)

BULGULAR

Kontrol grubu ve 50 Hz manyetik alan uygulanan deney grubu yumurtalarından alınan embriyonal hücrelerde mitozun tüm profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evrelerini immersiyon×100 büyütme ile saydık. Mikroskop alanlarında, kontrol grubu preparatlarındaki hücrelerde mitoz safhasının aynı veya birbirine yakın fazlarını (Resim 1), 3 günlük deney grubu preparatlarında ise sıkça mitozun bütün fazlarını gözlemledik (Resim 2).

Resim 1: Kontrol grubuna ait preparat. P; Profaz, A;Anafaz, T; Telofaz (×1000).

Deney grubu preparatlarda mitoz fazındaki hücrelerin kontrol grubuna oranla daha fazla olduğunu tespit ettik. Bunlardan başka deney grubunda yer yer simplazik hücre gruplarına da rastladık (Resim 3). Kontrol ve deney grubuna ait hücre ve mitoz fazındaki hücrelerin sayımını aşağıdaki şekilde karşılaştırdık (Tablo 2) :

| Hücre Fazı | Kontrol Grubu (n=35) | Deney Grubu (n=62) |
|-----------------|----------------------|---------------------|
| Monositer hücre | 943.27 ± 26.19 | 913.45 ±42.34 (***) |
| Profaz | 7.65 ± 4.11 | 15.34 ±6.19 (***) |
| Metafaz | 8.25 ± 4.24 | 16.28 ±5.37 (***) |
| Anafaz | 4.47 ± 3.59 | 9.55 ±5.36 (***) |
| Telofaz | 3.46 ± 1.95 | 7.16 ±4.35 (***) |
| MİTOZ | 26.85± 9.31 | 47.67 ±12.58 (***) |

Tablo 2: Kontrol grubu ile 3 gün manyetik alanda kalan tavuk embriyolarının hücre ve mitoz aşamasındaki sayılarının istatistiki karşılaştırılması (ort±std sapma; (***) p<0.001).

Resim 2: Deney grubuna ait preparat.
Mitozun 4 evresi birarada görülmektedir.
P; Profaz, M; Metafaz, A;Anafaz, T; Telofaz (×1000).

Resim 3: Deney grubuna ait preparatta simplazik hücre grubu ($\times 1000$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Elektromanyetik alanın tavuk embriyosu üzerine etkisi ilk kez Delgado ve ark.(2) tarafından incelenmiş ve manyetik etkilere karşı embriyoların hassasiyeti belirtilmiştir. Daha sonra 4 ayrı ülkede tavuk embriyoları üzerine yapılan çeşitli çalışmalar Horozevi projesi olarak adlandırılmıştır. Bu çalışmalarda düşük şiddette manyetik alan etkisi altında kalan yumurtalarda 48 saatte $37.6 - 38^{\circ}\text{C}$ 'de fertilité anomalileri tespit etmişlerdir (5,6,7,8). Buna karşılık Veicsteins ve ark.(9) manyetik alan etkisinde gelişen tavuk emriyosunu ve tavuk gelişimini 90 gün süreyle izledikleri çalışmalarda vücut ağırlığında, merkezi sinir sisteminin morfolojik özelliklerinde, kalp ve karaciğerde kontrol grubuna göre bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir.

Biz bu çalışmamızda 3 günlük deney grubunda tavuk embriyo hücrelerinde kontrol grubuna göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir mitoz artışı saptadık. Bunun yanında deney grubunda aynı alanda 4 ayrı mitoz fazını birlikte tespit ettik. Bunu manyetik alanın embriyo oluşumunu hızlandırdığı ve hücre bölünmesini arttırdığı şeklinde açıklayabiliriz. Ayrıca kontrol grubunda olmayan, buna karşılık deney grubu preparatlarında seyrek de olsa tümör için karakteristik simplazik hücre grupları, gelişmede bazı anomalilerin ortaya çıkabileceğini çağrıştırmaktadır (4,10).

Bu sonuçlara göre 50 Hz frekanslı elektrik akımının tavuk yumurtalarının embriyolojik döneminde mitotik farklılıklar meydana getirdiğini söyleyebiliriz. Ancak bu etkinin hücrenin hangi mekanizmalarından kaynaklandığı henüz kesin belli değildir.

LITERATÜR

1. Atay Z., Topalidis T. 1992: Cytodiagnostik der Serösen Höhlen Atlas und Lehrbuch. Wolfgang Pabst Verlag, Herausgeber; A&T Hannover, p:18 – 19, 100 – 101.
2. Cameron I.W., Hardman W.E., Winters W.D., Zimmerman S., Zimmerman A.M. 1993: Enviromental Magnetic Fields: Influences on Early Embryogenesis. *J. Cell. Biochem.* 51; 417 – 425.
3. Delgado JMR., Leal J., Monteagudo JL., Gracia MG. 1982: Embryological changes induced by weak extremely low frequency electromagnetic field. *J. Anat.* 134: 533 – 551.
4. Juutilainen JP., Laara E., Saali K. 1987: Relationship between field strength and abnormal development in chick emryos exposed to 50 Hz magnetic field. *Int. J. Radiat. Biol.* 52: 787 – 793.
5. Leal J., Trillo MA., Ubeda A., Abraria V., Shamsaifar K., Chacon L. 1986: Magnetic environment and embryonic development: A role for the earth's field. *IRCS Med. Sci.* 14: 1145 – 1146.
6. Martin AH. 1992: Development of chicken embryos following exposure to 60 Hz magnetic fields with differing wave forms. *Bioelectromagnetics* 13: 223 – 230.
7. Pool R, 1990: Is there an EMF – cancer connection? *Science* 49: 1096 – 1098, 1378 – 1380, 50: 23 – 25.
8. Trillo MA., Ubeda A., Chacon L., Leal J. 1986: Effectivity of a pulsed magnetic field on chick embriyo population: Importance of the commencement time of exposure. BRAGS, Sixth Annual Meeting. Utrecht: the Netherlands.
9. Ubeda A., Leal J., Trillo MA., Jimenez MA., Delgado JMR. 1983: Pulse shape of magnetic fields influences chick embryogenesis. *J. Anat.* 137: 513 – 536.
10. Veicsteins A., Belleri M., Cinquetti A., Parolini S., Barbato G., Molinari T. 1996: Development of chicken embryos exposed to an intermittent horizontal sinusoidal 50 Hz magnetic field. *Bioelectromagnetics*, 17: 411 – 24.