

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Biyofizik Anabilim Dalı**

**3G CEP TELEFONLARINDAN YAYILAN
ELEKTROMANYETİK RADYASYONUN GÖRSEL
UYARILMA POTANSİYELLERİNE ETKİLERİ**

Enis HİDİŞOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2015

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Biyofizik Anabilim Dalı

**3G CEP TELEFONLARINDAN YAYILAN
ELEKTROMANYETİK RADYASYONUN GÖRSEL
UYARILMA POTANSİYELLERİNE ETKİLERİ**

Enis HİDİŞOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Piraye YARGIÇOĞLU

Bu Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
Tarafından Desteklenmiştir (Proje No: 2014.02.0122.001)

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

Antalya, 2015

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma, jürimiz tarafından Biyofizik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Piraye YARGIÇOĞLU**
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı



Üye : **Prof. Dr. Narin DERİN**
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı



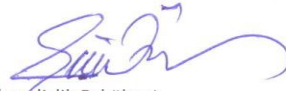
Üye : **Doç. Dr. Semir ÖZDEMİR**
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı



Üye : **Doç. Dr. Nazmi YARAŞ**
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı



Üye : **Doç. Dr. Şükrü ÖZEN**
Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Elektrik-Elektronik Bölümü



Onay:

Bu tez, Enstitü Yönetimi Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetimi Kurulu'nun/...../2015 tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Son on yılda gelişen teknoloji ve haberleşme gereksiniminden dolayı meydana gelen cep telefonu kullanımındaki artış, bu telefonların yaymış oldukları elektromanyetik radyasyon (EMR)'un insan sağlığı ve özellikle de başa yakın kullanıldıklarından dolayı beyin üzerine olumsuz etkilerinin olabileceği kaygısını gündeme getirmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalarda birçok doku ve plazmada, uygulanan süre ve şiddete bağlı olarak lipid peroksidasyonun ve antioksidan enzim aktivitelerinin arttığı, azaldığı veya değişmediği gibi çelişkili sonuçların olduğu dikkati çekmektedir. Bunların yanı sıra EMR'nin beyin üzerindeki etkilerini elektrofizyolojik olarak inceleyen pek az yayın bulunmaktadır. Ayrıca, 2100 MHz EMR'nin sıçanlardan elde edilen görsel uyarlama potansiyel (VEP)'leri üzerine de ne gibi etkileri olduğunu araştıran herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Bu bilgilerin ışığı altında, hazırlanan projemizde EMR'nin sıçanlardan kaydedilecek VEP'leri nasıl etkilediğini araştırmanın yanı sıra, ortaya çıkan değişikliklerin oksidan hasar ile ilişkisi ve bunda nitrik oksit (NO)'in rolünün olup olmadığının aydınlatılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 80 adet 2 aylık erkek Wistar albino sıçan kullanılarak, 1 haftalık sham grubu (S1), 1 haftalık EMR grubu (E1), 10 haftalık sham grubu (S10) ve 10 haftalık EMR grubu (E10) olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. EMR grupları belirtilen süreler boyunca pleksiglas tüpler içerisinde günde 2 saat 2100 MHz radyasyona maruz bırakılmışken, sham grupları aynı ortam koşullarında pleksiglas tüpler içerisinde radyasyon verilmeden bekletilmişlerdir. Deney süresinin sonunda sıçanların VEP'leri ketamin/ksilazin (Ket. 50 mg/kg, Xyl. 10 mg/kg) anestezisi altında iğne elektrotları ile kaydedilmiştir. Kayıtların ardından, biyokimyasal ve histolojik analizler için beyin dokuları çıkarılmıştır.

S1 grubu ile karşılaştırıldığında E1 grubunda tiyobarbitürik asit reaktif türleri (TBARS) ve 4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE) değerlerinin azaldığı, ancak protein karbonil (PC) değerlerinin arttığı gözlenmiştir. Öte yandan TBARS, 4-HNE ve PC değerlerinin E10 grubunda S10'a göre arttığı ancak sadece TBARS ve 4-HNE değerlerindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir. Kontrolleri ile karşılaştırıldıklarında E1 grubunda SOD aktivitesinin azaldığı izlenirken, CAT, GSH-Px, GSH ve NO seviyelerinin arttığı, E10 grubunda ise SOD aktivitesinin arttığı, CAT, GSH-Px, GSH ve NO düzeylerinin azaldığı gözlenmiştir.

E1 ve E10 grupları kontrolleri ile karşılaştırıldığında, E1 grubunda tüm VEP bileşenlerinin latenslerinin kısaldığı, E10 grubunda ise P1 bileşeni hariç diğer tüm bileşenlerin latenslerinin uzadığı gözlenmiştir. Yapılan bağıntı analizleri sonucunda, VEP latensleri ile beyin TBARS ve 4-HNE seviyeleri arasında yüksek derecede pozitif bir korelasyonun olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda, EMR'nin süreye bağlı olarak farklı etkiler gösterebileceğini ve kısa süreli uygulanması durumunda lipid peroksidasyonu azalttığı ve VEP bileşenlerinin latenslerini kısalttığı, uzun süreli uygulanmasında ise tam tersi bir etki oluşturarak lipid peroksidasyonu arttırdığı ve VEP bileşenlerinin latenslerini uzattığı tespit edilmiştir. Öte yandan, bulgularımız EMR'nin kısa süreli maruziyette VEP'ler üzerinde olumlu etkilerinin, uzun süreli maruziyette ise olumsuz etkilere sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: 2100-MHz Elektromanyetik Radyasyon, Antioksidan, Nitrik Oksit, Lipid Peroksidasyon, Görsel Uyarılma Potansiyelleri

ABSTRACT

Over the past decade, the increase of mobile phone use due to the developing technology and requirement of communication has raised concern about the biological and health-related effects of electromagnetic fields (EMF) emitted by mobile phones, particularly on the brain tissue. Depending on the exposure duration and strength of EMF, contradictory results such as increased, decreased and unchanged lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in various tissue types have been reported in the literature. In addition, there are a limited number of studies about the effects of EMFs on the brain. Furthermore, no such study regarding the effects of 2100MHz EMF on the rat visual evoked potentials (VEP) has been encountered. Therefore, the purpose of our study was to investigate the effect of 2100-MHz EMFs on VEPs and to examine the relationship between lipid peroxidation and changes of these potentials as well as to elucidate the role of nitric oxide (NO) on oxidative stress.

In our study, 80 male Wistar albino rats, 2 months old, were randomly divided into four groups as 1 week of Sham exposure (S1), 1 week of EMF exposure (E1), 10 weeks of Sham exposure (S10) and 10 weeks of EMF exposure. E1 and E10 groups were exposed to 2100-MHz EMFs (2 h/day x 7 days/ week) while S1 and S10 were kept under the same experimental conditions without being exposed to EMF for 1 and 10 weeks, respectively. At the end of experimental period, rats were anesthetized with ketamine/xylazine (50 mg/kg: 10 mg/kg) and VEPs were recorded with stainless steel subdermal electrodes. Afterwards, brain tissues were collected for further biochemical and histological analysis.

Compared to S1 group, brain TBARS and 4-HNE levels were significantly decreased and, protein carbonyl (PC) levels were increased in E1 group. On the other hand, TBARS, 4-HNE and PC levels in E10 group were increased when compared with S10 group, however, only the increase of TBARS and 4-HNE levels were found to be statistically significant. Brain CAT, GSH-Px, NO and GSH levels were significantly higher whereas SOD activity was significantly lower in the E1 group compared with S1 group. Nevertheless, higher SOD enzyme activity and lower CAT, GSH-Px, NO and GSH levels were observed in the E10 group compared with S10 group.

Latencies of all VEP components were shortened in the E1 group compared with the S1 group, whereas latencies of all VEP components, except P1 component, were prolonged in the E10 group compared with the S10 group. As a result of the statistical analysis there was a positive correlation between all VEP latencies and brain TBARS and 4-HNE values. Therefore, from our study, it could be concluded that effects of EMFs on VEPs are exposure duration dependent. Additionally, our results indicated that while short-term EMFs exposure could provide beneficial effects, long-term EMFs exposure had an adverse effects on VEPs.

Key Words: 2100-MHz Electromagnetic Radiation, Antioxidant, Nitric Oxide, Lipid Peroxidation, Visual Evoked Potentials

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın gerçekleşmesinde yol gösteren ve her aşamasında destek olan hocam Prof. Dr. Piraye YARGIÇOĞLU'na, sunmuş olduğu laboratuvar imkânları ve desteklerinden dolayı hocam Prof. Dr. Mutay ASLAN'a, bana her aşamada yardımcı olan Dr. Deniz AKPINAR, Uzm. Hakan ER, Araş. Gör. Deniz KANTAR GÖK ve Araş. Gör. Alev Duygu ACUN'a, Deney Hayvanları Ünitesi çalışanları Şğ. Tkn. Erol NİZAMOĞLU, Şğ. Tkn. İbrahim ÇALIŞKAN, Vet. Hek. Doğa BESNE ve Vet. Şğ. Tkn. Ferhat AKKUŞ'a, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL hocam ve personellerine, hayatım boyunca hep yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan, her türlü maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen başta annem ve babam olmak üzere tüm aileme sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	6
2.1. Elektromanyetik Radyasyonlar ve Cep Telefonları	6
2.2. Görsel Sistem	11
2.2.1. Retina	12
2.2.2. Fotoreseptörlerin Yapısı: Koni ve Rodlar.	12
2.2.3. Fotoreseptör Mekanizması ve Fotoduyarlı Bileşikler	13
2.2.4. Nöral Yollar	14
2.2.5. Sıçan Görme Sistemi	17
2.3. Görsel Uyarılma Potansiyelleri	17
2.3.1. Görsel Uyarılma Potansiyellerinin Kaydı	18
2.3.2. Görsel Uyarılma Potansiyellerini Etkileyen Faktörler	19
2.4. Nitrik Oksit	20
2.4.1. Nitrik Oksit Sentezi	20
2.4.2. Nitrik Oksit Sentaz	21
2.4.3. Nitrik Oksidin Fonksiyonları	22
2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları	25
2.5.1. Serbest Radikal Oluşumu	26
2.5.2. Oksijen ve Oksijen Radikalleri	27
2.5.3. Serbest Oksijen Radikalleri	27
2.5.4. Serbest Radikallerin Etkileri	30
2.5.5. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri	31
2.5.6. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	31
2.5.7. Serbest Radikallerin Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri	31
2.5.8. Serbest Radikal Olarak Nitrik Oksit	32
2.5.9. Antioksidan Savunma Mekanizmaları	33
GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. Gruplandırma	36
3.2. Deney Protokolü	36

3.3.	Görsel Uyarılma Potansiyellerinin Kaydedilmesi	38
3.4.	Biyokimyasal Yöntemler	39
3.4.1.	Doku Tiobarbitürik Asit Reaktif Ürünlerinin Ölçümleri	39
3.4.2.	Protein Tayini	40
3.4.3.	4-Hidroksi 2- Nonenal Seviyesinin Tayini	40
3.4.4.	Protein Karbonil Ölçümü	41
3.4.5.	Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivite Tayini	42
3.4.6.	Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Tayini	43
3.4.7.	Glutasyon Tayini	44
3.4.8.	Katalaz Enzim Aktivite Tayini	45
3.4.9.	Nitrit/Nitrat Tayini	47
3.5.	Histolojik Analizler	47
3.5.1.	Hemotoksilen-Eozin Boyama	47
3.5.2.	İmmünohistokimyasal Protokol	48
3.6.	Sonuçların Değerlendirilmesi	49
BULGULAR		50
4.1.	Genel Görünüm	50
4.2.	Ağırlık Değişimi	50
4.3.	Doku Tiobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri Sonuçları	51
4.4.	4-Hidroksi 2- Nonenal Aktivitesi Sonuçları	51
4.5.	Protein Karbonil Sonuçları	52
4.6.	Süperoksit Dismutaz Enzim Aktiviteleri Sonuçları	52
4.7.	Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Sonuçları	54
4.8.	Glutasyon Sonuçları	54
4.9.	Katalaz Enzim Aktivitesi Sonuçları	55
4.10.	Toplam Nitrat + Nitrit Sonuçları	55
4.11.	iNOS ve nNOS İmmünohistokimyasal Ekspresyonu	57
4.12.	VEP Sonuçları	61
4.13.	VEP Latensleri ile Biyokimyasal Parametreler Arasındaki Bağlılıklar	61
4.14.	Biyokimyasal Parametreler Arasındaki Bağlılıkların Analizi Sonuçları	63
TARTIŞMA		71
SONUÇLAR		79
KAYNAKLAR		80
ÖZGEÇMİŞ		93

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

EMR	:	Elektromanyetik radyasyon
EMF	:	Electromagnetic field
2G	:	2.nesil
3G	:	3.nesil
IMTS	:	Geliştirilmiş mobil telefon sistemi
ITU	:	Uluslararası Telokomünikasyon Birliği
SAR	:	Özgöl Soğrulma Hızı
EEG	:	Elektroensefalogram
EP	:	Uyarılmış Potansiyel
VEP	:	Görsel Uyarılma Potansiyelleri
ABR	:	İşitsel Beyin Sapı Cevabı
PR-VEP	:	Patern Değişmeli Görsel Uyarılma Potansiyelleri
Hz	:	Hertz
PKC	:	Protein kinaz C
PKG	:	Protein kinaz G
LGN	:	Lateral genikülat nükleus
dLGN	:	Dorsal lateral genikülat nükleus
cGMP	:	Siklik guanilat monofosfat
GC	:	Guanilat siklaz
sGC	:	Çözünebilir guanilat siklaz
pGC	:	Partiküler guanilat siklaz
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
MDA	:	Malondialdehit
TBA	:	Tiyobarbitürik asit
TBARS	:	Tiyobarbitürik asit reaktif türleri
PC	:	Protein karbonil
4-HNE	:	4-hidroksi-2-nonenal
Ca²⁺	:	Kalsiyum
O₂	:	Moleküler oksijen
CO	:	Karbon monoksit
K⁺	:	Potasyum
Fe⁺³	:	Ferrik demir
Cu⁺²	:	Bakır
Cu/Zn-SOD	:	Bakır-çinko süperoksit dismutaz
Fe-SOD	:	Demir süperoksit dismutaz
Mn-SOD	:	Mangan süperoksit dismutaz
O₂^{•-}	:	Süperoksit anyonu
OH[•]	:	Hidroksil radikali
R[•]	:	Organik radikaller
ROO[•]	:	Peroksit radikali
RO[•]	:	Alkoksit radikalleri
RS[•]	:	Tiyil radikalleri

RSO[•]	:	Sülfenil radikalleri
RSO₂[•]	:	Tiyil peroksit radikalleri
ONOO[•]	:	Peroksinitrit
L[•]	:	Yağ asidi radikali
LOO[•]	:	Peroksil radikali
LOOH	:	Lipid hidroperoksitler
H₂O₂	:	Hidrojen peroksit
Fe⁺²	:	Ferröz demir
CAT	:	Katalaz
GSH-Px	:	Glutasyon peroksidaz
GSNO	:	S-nitrosoglutasyon
SOD	:	Süperoksit dismutaz
GST	:	Glutasyon S-transferaz
GSSG	:	Okside glutasyon
GSSG-R	:	Glutasyon redüktaz
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat-oksidad
FAD	:	Flavin adenin dinükleotid
FMN	:	Flavin mononükleotid
GSH	:	Redükte glutasyon
¹O₂	:	Tekil oksijen
XO	:	Ksantin oksidad
GABA	:	Gamma amino butirik asit
NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Nitrik oksit sentaz
iNOS	:	indüklenebilir nitrik oksit sentaz
cNOS	:	Yapısal nitrik oksit sentaz
nNOS	:	Nöronal nitrik oksit sentaz
eNOS	:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
PUFA	:	Doymamış yağ asidi
CaBP	:	Kalsiyum bağlayıcı protein

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Hekzagonal hücre merkezinde bulunan baz istasyonu ağı	7
2.2. Elektromanyetik dalga; elektrik ve manyetik alan bileşenleri (E: Elektrik alan, B: Manyetik)	7
2.3. Elektromanyetik dalga spektrumu	8
2.4. Gözün yapısı	12
2.5. Retinanın nöral yapıtaşları	12
2.6. Rod ve konilerin yapısı	13
2.7. Işık uyarısı ile başlatılan fotoreseptör reaksiyonu	15
2.8. Magnosellüler ve Parvosellüler yolaklar.	16
2.9. Görsel uyarılma potansiyelleri ve bileşenleri	18
2.10. (a) Bipolar bağlantı şekli. (b) Monopolar bağlantı şekli	19
2.11. Nitrik oksit sentezi	21
2.12. Nitrik oksidin biyolojik reaksiyonları	22
2.13. Retinada ON-yolaklar: Rod ve koniler, rod bipolar veya koni bipolar hücreler ile sinaps yaparlar. ON koni bipolarlar doğrudan gangliyon hücreleri (ON GC) ile sinaps yaparken rod bipolarlar sadece All amakrin hücreleri ile sinaps yaparlar.	23
2.14. Nitrik oksit'in etki mekanizması	24
2.15. NO'nun fotoreseptördeki etki mekanizması	25
2.16. Moleküler oksijenin indirgenmesi	28
3.1. Cep telefonları için tipik modülasyon sinyali	37
3.2. Elektromanyetik radyasyon maruziyeti için kullanılan sistem	38
4.1. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin TBARS değerleri (n=8, Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. **: $p < 0.01$)	50
4.2. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin 4-HNE değerleri (n=10, Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$)	52
4.3. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin PC değerleri (n=6, Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. **: $p < 0.01$)	53
4.4. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin SOD aktiviteleri (n=14, Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$)	52

4.5.	Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin GSH-Px aktiviteleri (n=8, Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$)	53
4.6.	Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin GSH aktiviteleri (n=10, Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$)	55
4.7.	Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin CAT aktiviteleri (n=10, Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$)	56
4.8.	Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin toplam Nitrat+Nitrit sonuçları (n=8, Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$, * : $p < 0.05$)	56
4.9.	Sham ve deney grubu hayvanlarının iNOS ve nNOS immünohistokimyasal ekspresyonları (n=6, Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.)	57
4.10.	Sham ve deney grubu hayvanlarının LGN'de iNOS immünohistokimyasal ekspresyonları, A ve B fotoğrafları stereo mikroskopta (Zeiss Stemi SV 11) 1.6'lık büyütme ile çekilmiştir. (C: S1, D: S10, E: E1 ve F: E10, Ölçek çubuğu; 20 μ m)	59
4.11.	Sham ve deney grubu hayvanlarının LGN'de nNOS immünohistokimyasal ekspresyonları, A ve B fotoğrafları stereo mikroskopta (Zeiss Stemi SV 11) 1.6'lık büyütme ile çekilmiştir. (C: S1, D: S10, E: E1 ve F: E10, Ölçek çubuğu; 20 μ m)	60
4.12.	Sham ve deney grubu hayvanlarından kaydedilen VEP'ler ve bileşenleri	63
4.13.	Beyin TBARS miktarı ile P1 latensinin regresyon grafiği	66
4.14.	Beyin TBARS miktarı ile N1 latensinin regresyon grafiği	66
4.15.	Beyin TBARS miktarı ile P2 latensinin regresyon grafiği	67
4.16.	Beyin TBARS miktarı ile P2 latensinin regresyon grafiği	67
4.17.	Beyin TBARS miktarı ile P3 latensinin regresyon grafiği	68
4.18.	Beyin 4-HNE miktarı ile P1 latensinin regresyon grafiği	68
4.19.	Beyin 4-HNE miktarı ile N1 latensinin regresyon grafiği	69
4.20.	Beyin 4-HNE miktarı ile P2 latensinin regresyon grafiği	69
4.21.	Beyin 4-HNE miktarı ile N2 latensinin regresyon grafiği	70
4.22.	Beyin 4-HNE miktarı ile P3 latensinin regresyon grafiği	70

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa
3.1.	2100 MHz Pulse MOD 3G Işıma Ölçümü	37
4.1.	Sham ve deney grubu hayvanlarının ağırlık değişimleri.	50
4.2.	Sham ve deney grubu hayvanlarının biyokimyasal ve immünohistokimyasal sonuçları	58
4.3.	Sham ve deney grubu hayvanlarının VEP latensleri (n=14, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.)	58
4.4.	Sham ve deney grubu hayvanlarından kaydedilen VEP genlikleri (n=14, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.)	62
4.5.	VEP latensleri ile beyin TBARS ve 4-HNE değerleri arasındaki regresyon denklemleri	64
4.6.	Biyokimyasal parametreler arasındaki regresyon denklemleri	65

GİRİŞ

Gelişen teknolojiye bağlı olarak hızlı haberleşme talebinin artması ve modern hayatın vazgeçilmez bir unsuru olan cep telefonlarının kullanımının oldukça yaygınlaşması nedeniyle, cep telefonlarının etkileri üzerine birçok araştırma yapılmıştır [1-3]. Cep telefonlarının kandaki toksik maddelerin beyine girmesini engelleyen kan beyin bariyeri geçirgenliğini artırması yanında, baş dönmesi, baş ağrısı, yorgunluk ve dikkat dağınıklığı gibi etkilere neden olduğuna dair bulgular elde edilmiştir [4-8]. Ayrıca cep telefonlarının, Alzheimer, Parkinson ve Multiple skleroz gibi nörodejeneratif hastalıkların patogenezisinde rol aldığı öne sürülmekle birlikte, bu hastalıklardaki etkisine dair çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bir takım yayınlarda zararlı etkileri gösterilmekle birlikte, tedavi edici rolünün olduğunu ileri süren araştırmalar da söz konusudur[9-11].

Elektromanyetik radyasyon (EMR)'un en önemli etkilerinden biri de, serbest radikallerin düzeyini ve ortamdan temizlenme sürelerini artırarak oksidan strese neden olmasıdır [12]. Bilindiği gibi organizmada serbest radikal oluşum hızı ile bunların intrasellüler ve ekstrasellüler ortamdan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak tanımlanır. Oksidatif denge sağlandığı sürece serbest radikaller organizmada herhangi bir toksik etkiye yol açmamaktadır. Ancak serbest radikal üretiminin antioksidan savunma sisteminin kapasitesini aştığı durumlarda bu denge bozulur ve artan serbest radikaller lipidler başta olmak üzere DNA, protein ve karbonhidratlar ile reaksiyona girerler ve hücrenin hem yapısal hem de fonksiyonel bütünlüğünü bozarak hasar oluşmasına neden olurlar. Özellikle beyinde poliansatüre yağ asitlerinin bol miktarda bulunması, bu dokuları serbest radikallere karşı daha duyarlı hale getirir [13-15]. Böylece, membran lipidlerinin oksidasyonu direkt yapısal değişikliklere ya da indirekt olarak reaktif lipid peroksit ürünleri aracılığı ile membran fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olurlar. Ayrıca serbest radikallerin hedefleri içerisinde yer alan proteinler de oksidanlara maruz kaldıklarında birçok kovalent değişikliklere uğrarlar. Proteinlerin oksidasyonu sonucu pek çok enzimin aktivitesi değişmekte, bu da hücre fonksiyonlarında önemli etkilere yol açmaktadır [16].

Cep telefonlarından yayılan EMR, kullanılan telefonun frekansına bağlı olarak değişmektedir ve ülkemizde GSM-900, GSM-1800 ve IMT-2000 gibi frekans aralıkları kullanılmaktadır. Bu frekanslarda EMR yayan cep telefonları ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Cep telefonlarının etkileri üzerine yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunu lipid peroksidasyonu ile ilgili olan çalışmalar oluşturmaktadır. Cep telefonlarının serbest radikal düzeyini artırdığı ve antioksidan enzim kapasitesini düşürdüğü yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [17-21]. Bu çalışmalarda cep

telefonlarından yayılan 900-1800 megahertz (MHz) EMR'nin, katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerini azaltarak, ksantin oksidaz (XO) aktivitesini ise artırarak oksidan hasara neden olduğu bulunmuştur [21]. Ayrıca 900 MHz radyasyonun beyin dokusunda amiloid beta, protein karbonil, lipid peroksidasyon göstergesi olan malondialdehit (MDA) seviyelerini ve apoptozisi arttırdığı saptanmıştır [18]. Yapılan diğer bir çalışmada ise lokal SAR değeri 2 W/kg olan 900 MHz radyasyona 28 gün, günde bir saat süreyle maruz bırakılan dişi sıçanların serebellum purkinje hücre sayısının azaldığı izlenmiştir [20]. Kan beyin bariyeri geçirgenliği üzerine yapılan çalışmalarda ise günde 1 saat 900 MHz radyasyona 7 gün boyunca maruz bırakılan sıçanlarda, albumin ekstrasvayonunun arttığı ve kan beyin bariyerinin bütünlüğünün bozulduğu gösterilmiştir [4].

Cep telefonlarından yayılan radyasyonun, beyin elektriksel aktivitesinde de değişikliklere neden olduğunu gösteren yayınlar bulunmaktadır [8, 22-24]. Bunlardan birinde 895 MHz frekanslı EMR'nin EEG alfa dalga gücünde azalmaya neden olduğu [22], diğer bir elektrofizyolojik çalışmada cep telefonlarının olaya ilişkin potansiyellerin bileşenlerini etkilediği ve P300 dalgası genliğinde azalmaya neden olduğu [8], bir başka yayında ise kısa süreli EMR (900 MHz, SAR değeri 1W/kg) maruziyetinin görsel uyarılma potansiyel (VEP)'leri ve P300 kognitif potansiyelini etkilemediği bildirilmiştir [23]. Diğer yandan, daha önceki bir araştırmada 2G cep telefonlarından yayılan radyasyonların EEG 'de anlamlı etkiler oluştururken, 3G cep telefonlarının hiçbir etkiye sahip olmadığı [24], diğer bir çalışmada ise hem 2G hem de 3G radyasyonun EEG'de benzer etkilere sahip olduğu belirtilmiştir [25]. Bu bilgiler ışığında EMR'ye neden olan cep telefonlarının kullanımının arttığı günümüzde insan sağlığının olumsuz yönde etkilenebileceği beklenen bir sonuçtur. Dolayısıyla, literatürde 2100 MHz frekanslı EMR'nin VEP'ler üzerindeki etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmadığı dikkate alınarak planlanan projemizde, görsel sistem değişikliklerini araştırmak için duyarlı ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilen [26-28] VEP'ler kaydedilmiştir. Bu potansiyeller, görme keskinliği ve nöroanatomi değerlendirme yanında, makular dejenerasyon, renk körlüğü, retrobulber nörit gibi oftalmolojik hastalıkların ve optiknörit, iskemik optik nöropati, demiyelinize hastalıkların araştırılmasında kullanılmaktadır [29, 30]. Ayrıca, sıçanlardan kaydedilen bu potansiyellerin insan görsel sisteminin incelenmesi yönünden iyi bir model olduğu da vurgulanmaktadır [31].

Çalışmamızda 2100 MHz frekanslı EMR'nin serbest radikalleri artırdığı dikkate alınarak, VEP'lerde oluşturacağı değişiklikler ile oksidan hasar arasındaki ilişkinin ortaya konması hedeflenmiştir. Bunun için de çalışmamızda lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktif türleri (TBARS) ve 4-hidroksi 2-nonenal (4-HNE) seviyeleri ölçülmüştür. Bilindiği gibi yarı ömürlerinin kısa, konsantrasyonlarının düşük ve reaktif olmaları serbest radikallerin in vivo şartlarda ölçülmesini zorlaştırmaktadır. Bu yüzden, oksidan stresin oluşturduğu ikincil ürünlerin ölçülmesine dayanan dolaylı yöntemler geliştirilmiştir. Birçok araştırmada lipid peroksidasyon indeksi olarak kabul edilen malondialdehit (MDA)'i

ölçmeye dayalı yöntemde tiyobarbitürik asit (TBA)'in lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA dışında diğer bileşiklerle de (aminoasitler, karbonhidratlar, lipid oksidasyon ürünleri) etkileşime girmesi nedeniyle çok sayıda araştırmacı tarafından TBARS adı tercih edilmektedir. Bu yöntem, ölçülen ürünlerin çoğunluğunu MDA teşkil etmesi, çok basit ve hızlı olması nedeniyle halen kullanılmakla birlikte, son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda TBARS seviyelerinin diğer duyarlı deneyler ile doğrulanması tavsiye edilmektedir [32, 33]. Bu nedenle çalışmamızda bir başka lipid peroksidasyon göstergesi olan 4-HNE tayini yapılmıştır. Lipid hidroperoksitlerin ayrılma reaksiyonları ile bozulmaları, alkanlar, 2-alkenler, 2,4-alkadrenaller ve 4-hidroksi alkenler gibi aldehitlerin oluşmasına yol açar. Omega 6 yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan hekzanal ve 4-hidroksinonenal en başta gelen aldehitlerdir. Aldehitler, özellikle de 4-HNE, sitotoksik, hepatotoksik, mutajenik ve genotoksik özellikler içerdiğinden dolayı oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonun ikincil toksik mesajcıları gibi davranır. Bu bileşiklerin ölçümü, hem lipid peroksidasyonun genişliğinin indeksini hem de belirli patojenik durumlara sebebiyet veren ajan olarak rollerini belirlemede destek olması nedeniyle yüksek bir kabul görmektedir [34].

Serbest radikallerin hedefleri içerisinde peptid ve protein makromoleküllerinin yapı taşları olan aminoasitler de yer almaktadır. Aminoasitlerin oksidasyonu proteinlerde de fiziksel değişikliklere neden olmaktadır [35]. Aynı zamanda, 4-HNE de oksidasyona katılarak protein fonksiyonlarını inhibe etmektedir [36]. Karbonhidratların ve membran lipidlerinin reaktif oksijen türleri (ROS) aracılı oksidasyonunu takiben oluşan karboniller, genellikle yapısal proteinlere bağlanıp CO-proteinler (karbonil grubu taşıyan proteinler)'i oluşturarak proteinlerin biyolojik aktivitelerini değiştirir [37]. Proteinlerdeki reaktif karbonil grupları protein yan zincirlerinin direkt oksidasyonu ile de oluşabilir [38]. Reaktif oksijen türleri aminoasit rezidü yan zincirlerini keton ya da aldehit türevlerine okside edebilir. Histidin, arjinin ve lizin ROS aracılı protein karbonil oluşumuna en hassas aminoasitlerdir [39]. Dolayısıyla, karbonil grupların ölçümünün oksidatif stresin proteinler üzerinde meydana getirdiği hasarın belirlenmesi için iyi bir yöntem olduğu düşünüldüğünden [40], çalışmamızda EMR'nin proteinler üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla protein karbonil (PC) içeriği ölçülmüştür. Ayrıca, daha önceki çalışmalarda antioksidan savunma sisteminin de etkilendiği belirtildiğinden antioksidan enzim aktiviteleri de tayin edilerek EMR'nin oksidan hasar ile olası ilişkisinin bu yönden de aydınlatılması hedeflenmiştir. Serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldıran çeşitli savunma mekanizmaları olmakla birlikte, bunların en önemlileri olarak kabul edilen süperoksit dismutaz (SOD), GSH-Px ve CAT enzimleri ve glutatyon(GSH) ölçülerek antioksidan kapasite değerlendirilmiştir.

Nitrik oksit (NO), endotelial hücrelerde, glialarda ve bazı nöronlarda nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-arginin amino asitinden sentezlenen suda eriyebilen bir gazdır. Nitrik oksit sentezinde görevli enzim olan NOS'un endotelial NOS (eNOS), nöronal NOS (nNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS) olmak üzere üç formu bulunmaktadır. Görsel sistem de dâhil olmak üzere hemen tüm sistemde önemli rolü olduğu belirtilen NO'nun, santral sinir sisteminde nörotransmitter olarak görev

yaptığı da bilinmektedir. Bu konu ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda, NO'nun oksijen varlığında nitrit (NO₂⁻) ve nitrat (NO₃⁻) gibi çeşitli nitrojen türleri (RNOS) oluşturduğu, dolayısıyla bir radikal gibi davrandığı vurgulanmıştır. NO/O₂ reaksiyonundan oluşan ara bileşiklerin DNA ve enzimlerin oksidasyonuna ve hatta zincir kırılmalarına neden olduğu bulunmuştur [41, 42]. Otoksidasyondan oluşan bu reaktif türlere ek olarak NO'nun oksijen radikalleri ve süperoksitle reaksiyona girip, peroksinitrit (ONOO⁻)'i oluşturduğu da saptanmış olup ONOO⁻ 'in birçok biyolojik molekülü tahrip edebilen ve metal katalizinden bağımsız olarak hidroksil radikallerine ayrışabilen, güçlü bir oksidan olduğu ifade edilmiştir [43-45]). Zararlı etkilerine karşın, NO'nun antioksidan özellikler gösterdiği de yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir [42, 46-48]. NO'nun, hemoproteinlerin hidrojen peroksit (H₂O₂) tarafından tahribini engellediği ve fenton tipi oksidasyon reaksiyonlarını ortadan kaldırdığı belirtilmiştir [49]. Ayrıca NO'nun tiol radikalleri ile etkileşimi sonucunda, glutatyon (GSH)'dan 100 kere daha kuvvetli bir antioksidan olan S-nitrosoglutatyon (GSNO)'u oluşturduğu da bulunmuştur. GSNO'nun peroksinitriti detoksifiye ederek ve fenton tipi reaksiyonları baskılayarak lipid peroksidasyonu engellediği gösterilmiştir [46, 47]. Dolayısıyla daha önceki araştırmalarda NO'nun farklı etkilerinin NOS'un izoformlarından kaynaklandığı veya oksidatif strese antioksidan sistemin yetersiz kalması durumunda ortaya çıktığı ileri sürülerek NOS'un üç tip izoformundan özellikle iNOS aracılığıyla oluşan NO'nun zararlı etkileri olduğu ifade edilmiştir [50, 51].

Literatürde EMR'nin NO'yu artırdığını veya etkilemediğini gösteren çelişkili çalışmalar söz konusudur [52-56]. Avcı ve arkadaşları [52], 1800 MHz radyasyonun beyin dokusunda protein oksidasyonu ve serumda nitrik oksit seviyesini artırdığı üzerine sonuçlar elde etmişken, Çenesiz ve ark. [53] yapmış olduğu çalışmada 900 MHz radyasyonun serum NO seviyesinde anlamlı bir farklılık yarattığını ancak 1800 MHz radyasyonun herhangi bir etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Bu çalışmalara ek olarak Daşdağ ve ark. [54] ise EMR'nin serumda NO seviyesini artırdığını ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını söylemektedirler. Bütün bu çalışmalar göz önüne alındığında projemiz NO'nun EMR etkisiyle artıp artmadığını ortaya koyarak bu çelişkili sonuçların aydınlatılmasına katkı sağlamıştır. Diğer yandan görsel sistemde bol miktarda bulunan NO'nun EMR etkisiyle olası artışının retina fonksiyonlarını ve VEP'leri etkilemesi en doğal beklentidir. Dolayısıyla, çalışmamız EMR'nin görsel sistemde oluşturacağı değişiklikler ile NO düzeyi arasında bir ilişkinin olup olmadığını açıklığa kavuşturmuştur. Ayrıca, bazı yayınlarda NO'nun, EMR'nin indüklediği lipid peroksidasyonunda önemli bir rolünün olabileceği ileri sürülmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda EMR'nin indüklediği lipid peroksidasyonunda NO'nun rolünün olup olmadığını araştırmak amacıyla çalışmamızda nNOS, iNOS, nitrat ve nitrit düzeyleri belirlenmiştir. Böylece projemizde EMR etkisiyle indüklenen NO'nun görsel sistemde oluşturduğu değişikliklerdeki rolü ve oksidatif stres ile olan ilişkisi aydınlatılmıştır.

Sonuç olarak, çalışmamız EMR'nin sıçanlardan kaydedilecek VEP'leri nasıl etkilediğini araştırmanın yanı sıra, ortaya çıkan değişikliklerin oksidan hasar ile ilişkisi ve bunda NO'nun rolünün olup olmadığını göstererek literatüre yeni ve kapsamlı

bilgiler katmıştır. Ayrıca, son yıllarda cep telefonlarının oluşturduğu elektromanyetik radyasyonun etkilerinin ortaya konması önemli bir konu olup, planladığımız projemiz hedeflenen amaçlar çerçevesinde ayrıntılı ve kapsamlı bilgiler sağlayacak ilk çalışma niteliğiyle yeni ufuklar açacaktır.

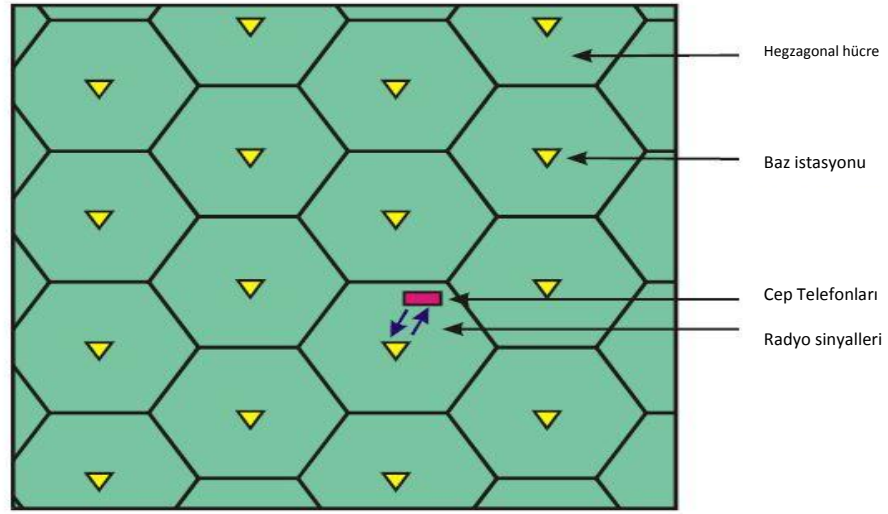
GENEL BİLGİLER

2.1. Elektromanyetik Radyasyonlar ve Cep Telefonları

Gelişen teknolojiye bağlı olarak kablosuz ev telefonları, kablosuz internet ve cep telefonu kullanımı tüm dünyada hızla artmaktadır. Ayrıca, bunlara ek olarak endüstriyel ve tıbbi tanı için kullanılan cihazların da elektromanyetik radyasyon oluşturmaları, çevre ve insan sağlığının olumsuz yönde etkilenebileceğini düşündürdüğünden bu konuda bir çok araştırma yapılmaktadır.

Cep telefonlarının tarihçesine bakıldığı zaman ilk radyo telefon servisinin 1940'lı yılların sonunda Amerika Birleşik Devletleri'nde piyasaya sürüldüğü görülmektedir. 1960'lı yıllarda Bell Systems tarafından geliştirilmiş yeni bir sistem olan "Improved Mobile Telephone System" (IMTS), doğrudan çağrı ve daha yüksek bant genişliği gibi birçok gelişmeyi meydana getirmiştir. İlk analog hücreli sistemler IMTS'ye dayandırılmış ve 1960'lı yılların sonlarında geliştirilmiştir. Bu sistemler, kapsama alanları hücrelere veya küçük alanlara bölünmüş olup ve her bir hücre de küçük bir güç alıcısı ve vericisi olarak işlev gördüğünden dolayı hücreli sistemler olarak adlandırılmışlardır. Bu sistem içerisinde bulunan bir cep telefonundan çıkan radyo frekansı sinyalleri telefona en yakın baz istasyonuna gönderilir ve yine iletişim için gerekli bilgi en yakın baz istasyonundan telefona iletilir (Şekil 2.1). Mobil iletişim için geliştirilen birinci nesil analog sistem, 1970'li yıllarda iki önemli gelişmeye tanık olmuştur. Bunlar mikro işlemcilerin icadı ve mobil telefon ile hücre alanı arasındaki bağlantının dijitalleştirilmesidir. 1980'li yılların sonlarına gelindiği zaman ise sadece mobil telefon ile hücre alanı arasındaki bağlantı linkini değil aynı zamanda ses sinyallerini de dijitalleştirebilen yeni bir sistem olan ikinci nesil (2G) dijital hücreli sistemler geliştirilmiştir. Bu yeni sistemler tüketiciye daha düşük maliyette fakat daha hızlı ve daha yüksek kapasitede iletişim imkânı sunmuşlardır. Günümüzde, haberleşme cihazlarının çok yaygın olarak kullanılması, daha hızlı veri aktarma talebi ve çoklu ortam uygulamalarına olan eğilim sonucunda mobil iletişim sektöründe istenilen talepleri karşılamak üzere yeni gelişmeler meydana gelmiş ve üçüncü nesil cep telefonlarının temelleri atılmıştır.

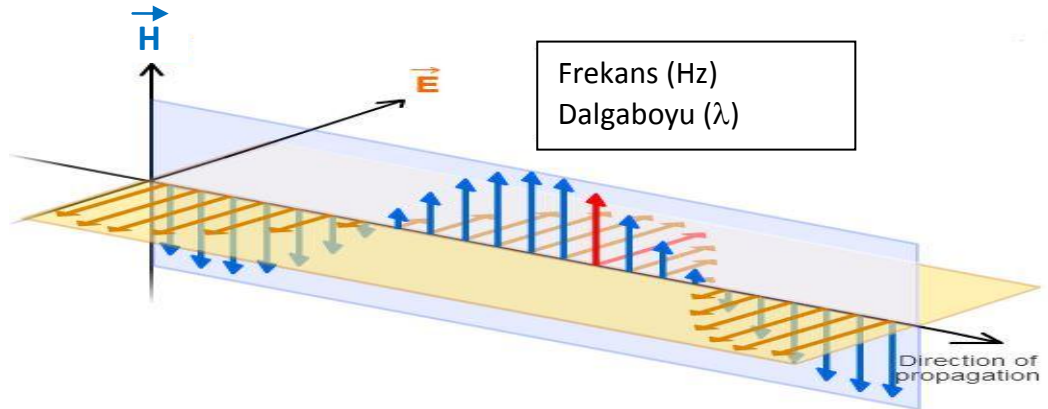
Uluslararası Telekomünikasyon Birliği (International Telecommunication Union - ITU) tarafından geliştirilmekte olan Üçüncü nesil (3G) mobil iletişim teknolojilerine yönelik standartlar topluca IMT-2000 olarak adlandırılmaktadır. Bu kısaltmada IMT, Uluslararası mobil iletişimi, "2000" ise hem bu alanda geliştirilmiş ilk deneme sistemleri için belirlenmiş tarihi, hem de bu standartlardaki sistemlerin çalışacağı öngörülen 2000 MHz civarındaki frekans bölgesini temsil etmektedir.



Şekil 2.1. Hekzagonal hücre merkezinde bulunan baz istasyonu ağı

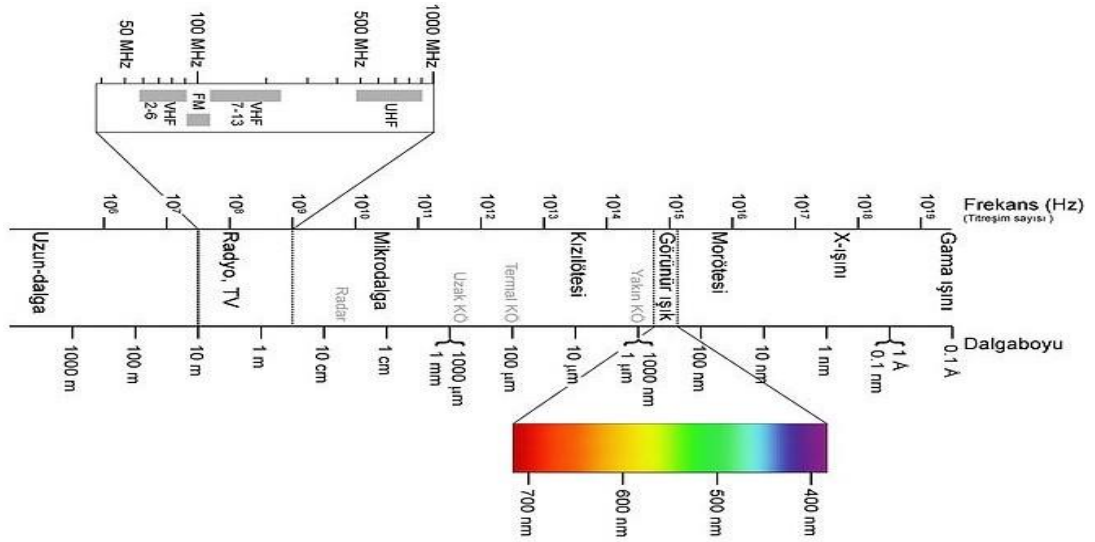
Bu teknoloji kullanıcıya hareket halindeyken sesin yanı sıra veri, resim, grafik ve benzeri bilgileri 2 Mbit/s hızına varan yüksek hızlarda, başka bir deyişle "geniş bantta" iletirken, günümüzde hala kullanılmakta olan GSM standartlarındaki sistemler ise, ancak 9,6 ile 384 kBit/s arasındaki hızlarda bilgi aktarımına izin vermektedir.

Elektromanyetik radyasyonlar, yüklü bir parçacığın ivmeli hareketi sonucunda oluşan ve birbirlerine dik elektrik ve manyetik alan bileşenleri ihtiva eden enine dalgalar (Şekil 2.2). Elektromanyetik radyasyonların yayılabilmesi için herhangi bir maddesel ortama ihtiyaçları yoktur. Bu tür radyasyonlar, dalga boyları ve frekansları ile tanımlanır. Tüm elektromanyetik radyasyonlar boşlukta ışık hızına (3×10^8 m/s) eşit bir hızla yayılırlar [57].



Şekil 2.2. Elektromanyetik dalga; elektrik ve manyetik alan bileşenleri (E: Elektrik alan, H: Manyetik alan)

Elektromanyetik dalgalar frekans ve taşıdıkları enerjilere göre bir tayf oluşturmaktadır. Bu tayf elektromanyetik dalga spektrumu olarak bilinmektedir (Şekil 2.3). Genel itibari ile elektromanyetik spektrum göz önüne alındığında, bu spektrumda iyonlaştıran ve iyonlaştırmayan radyasyon bölgeleri göze çarpmaktadır. İyonlaştıran radyasyon; madde içerisinde geçerken enerjisini ortama aktarmak suretiyle, ortamdaki atomları doğrudan veya dolaylı yollarla iyonlaştırarak DNA ve genetik malzemeyi kapsayan biyolojik dokuda hasara yol açabilirler. Ayrıca, dokunun x-ışınları ve gama ışınları gibi yüksek enerjili fotonlarla etkileşimi atom bağlarını kopararak ve molekülleri parçalayarak zararlı etkilere neden olurlar. İyonlaştırmayan EMR (DC - 300 GHz arası) kapsamına ise radyo dalgaları, mikrodalgalar, kızıl ötesi ışık, mor ötesi ışık (ultraviyole) ve görünür ışık, gibi daha düşük enerjili dalgalar girerler. Bu tip radyasyonlara maruz kalma sonucunda canlılarda ısı ve ısı olmayan etkiler olmak üzere iki tür etki oluşabilir [57].



Şekil 2.3. Elektromanyetik dalga spektrumu

Isıl etkiler; biyolojik doku tarafından soğurulan EMR enerjisinin hücre içerisinde ısıya dönüşmesi ve dokunun ısısının artması sonucu biyolojik dokuda meydana gelen değişim olarak ifade edilmektedir. EMR'nin elektrik ve manyetik alan vektörleri, biyolojik doku içerisindeki yüklü olan moleküllere bir kuvvet uygulayarak bu moleküllerin hareket etmesine neden olmaktadır. Belirli bir frekansta bu kuvvetlerin sürekli yön değiştirmesi ile moleküllerin doku içinde sürtünme ve diğer moleküllerle etkileşimi sonucu ısı enerjisi açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan ısı, çeşitli yollarla uzaklaştırılmakta ve bu işlem sıcaklık dengesi gerçekleşinceye kadar sürmektedir. Dokuda veya insan vücudunda bu sıcaklık artışını ölçecek herhangi bir yöntem henüz tespit edilememiştir [58, 59]

Isıl olmayan etkiler daha çok dalganın enerjisi sonucu meydana getirdiği etkilere aittir. Mobil telefonlardan yayılan iyonlaştırıcı olmayan EMR'lerin DNA, insan duyu sistemi, sinir sistemi, beyin tümörleri, enzim aktivitesi ve protein sentezine

etkileri deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar ile belirlenmeye çalışılmaktadır [60-63].

Elektromanyetik radyasyonların bahsedilen özelliklerinden dolayı cep telefonlarının radyofrekans dalga enerjisi bir vücut yüzeyine çarptığında enerjisinin bir kısmı yansır ve bir kısmı ise vücut içine girerek absorbe olur. Soğurulan enerji, güç yoğunluğuna bağlı olarak canlı vücudunda doku ısınması yoluyla hasar oluşmasına neden olabilmektedir [64]. Sözü edilen güç yoğunluğu dokular üzerinde birim alan başına watt (W/m^2) birimiyle ifade edilmektedir [64]. EMR'lerin biyolojik dokular üzerindeki etkisini anlamak için, radyasyona maruz kalan dokunun her bir bölgesindeki alan büyüklüklerinin belirlenmesine ihtiyaç vardır. Bunu yapabilmek için kullanılan dokunun hangi tip elektriksel özelliklere sahip olduğunun bilinmesi gerekir. Bu bilgiler sağlandıktan sonra, cep telefonu gibi bir radyasyon kaynağından yayılan EMR'ye maruz kalmış bir dokunun her bir noktasındaki elektrik ve manyetik alan bileşenlerini belirlemek mümkündür. Doku tarafından soğurulan enerji hızı, $m\sigma E^2/\rho$ ifadesi ile hesaplanır. Burada m dokunun kütlesini, σ ve ρ sırasıyla dokunun iletkenlik ve yoğunluğunu, E ise elektrik alanının doku içerisindeki büyüklüğünü göstermektedir. Kilogram başına watt birimi (Watt/Kg) ile verilen $\sigma E^2/\rho$ ifadesi ise spesifik soğurulma hızını (specific absorption rate, SAR) vermektedir. Dolayısıyla, soğurulan elektromanyetik enerjinin vücut dokuları tarafından soğurulma hızı, gelen dalganın frekansına, geliş açısına, canlı dokunun su içeriğine ve biyolojik malzemenin elektriksel özelliklerine (iletkenlik ve dielektrik sabitleri) bağlıdır. Söz konusu etkileşme canlı vücudunda EMR'nin indüklediği iç alanların doku malzemeleri içinde çeşitli şekillerde enerji transferinden kaynaklanmaktadır [64].

Cep telefonlarının çalışması için gerekli olan GSM teknolojisinde mikrodalgalar kullanılmaktadır [65]. Mikrodalgalar , iyonize edici olmayan yani maddelerin kimyasal yapısını bozacak kadar enerjiye sahip olmayan EMR'lerdir. Başta haberleşme olmak üzere, tıp, endüstri, ve sanayi gibi bir çok alanda yaygın olarak kullanılan mikrodalgaların frekansı 300 MHz ile 300 GHz , dalga boyları da 1mm ile 1m arasında değişmektedir.

Mikrodalgaların üretilmesi ve yükseltilmesi için özel amaçlara göre düzenlenmiş değişik cihazlara gereksinim vardır. Elektromanyetik spektrumun diğer üyelerinde de olduğu gibi bu radyasyonların oluşması için değişen bir elektrik akımına ihtiyaç duyulmaktadır. Buradaki değişimin frekansı istenen radyasyonun frekansı ile aynıdır. Mikrodalgalar yüksek frekanslı radyasyonlar olduğu için organizmadan bir ağrı veya rahatsızlık hissi oluşturmadan geçerler fakat mikrodalgalarla yeterli bir süre ve şiddette karşılaşan organizma ısınır. Dolayısıyla mikrodalgaların çok iyi bilinen ısı etkileri ortaya çıkar. Bu özelliklerinden dolayı mikrodalgalar tıpta bazı romatizmal ve infeksiyöz hastalıkların tedavisinde, cerrahide dokuları kesmek veya koterize etmekte ve kanser tedavisinde radyo terapi ile birlikte hipertermi (ısı yükselmesi) yaratmak amacıyla kullanılmaktadır. Isıl etkilerin ortaya çıkması için 10 mW/cm^2 yoğunluğunda bir radyasyon

gerekmektedir. Ancak hücresel ve biyokimyasal seviyelerdeki değişikliklerin oluşması için çok daha az miktarlarda, 1 mW/ cm²'lik veya daha az dozlar yeterli olabilmektedir [66].

Globalleşme sürecinin bir parçası olarak ülkemizde mobil iletişim cihazları; özellikle cep telefonları kullanımı yaygınlaşmış olup, Mobil İletişim Küresel Sistemi (Global System for Mobile Communications-GSM) operatörlerinin kapsama alanlarını genişletmeleri ve abone sayısının artmasına bağlı olarak servis sundukları baz istasyonları sayısı ve yaygınlığı artmıştır. GSM-900, GSM-1800 ve IMT-2000 gibi frekans aralıklarında sıklıkla kullanılan cep telefonlarının sağlamış olduğu bir çok avantajın yanı sıra, kullanmış olduğu frekans aralığından dolayı insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin olabileceği tartışılmakta ve bu konu hakkında bir çok çalışma yapılmaktadır. Cep telefonlarından yayılan 900-1800 MHz EMR'nin, CAT ve GSH-Px aktivitelerini azaltarak, XO aktivitesini ise artırarak oksidan hasara neden olduğu bulunmuştur [21]. Diğer çalışmalarda da PC ve amiloid beta seviyelerinin değiştiği, çeşitli antioksidanların aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Beyin hücrelerinde zararlı etkileri saptanan cep telefonlarının kan beyin bariyerine etkisi araştırılmış olup 900 ve 1800 MHz EMR maruziyetinin erkek sıçanlarda kan beyin bariyeri geçirgenliğini arttırdığı gösterilmiştir [67]. Yapılan bir başka çalışmada ise farklı gün ve sürelerde SAR değerleri 1,5 ve 6 W/kg olan 900 MHz radyasyona kronik olarak maruz bırakılmış sıçanlarda beyinde potansiyel bir gliosis işareti olan kalıcı astroglia aktivasyonunun indüklendiği gözlenmiştir [68]. Yine aynı grubun başka bir çalışmasında yüksek dozda radyasyonun, nöronal aktivitenin metabolik bir göstergesi olan serebral sitokrom c oksidaz aktivitesini etkileyerek sıçanlarda beyin aktivitesini değiştirdiği gözlenmiştir [69]. Bunun yanı sıra, 900 MHz EMR'ye uzun süreli (28 gün boyunca günde 1 saat ve sıçan kafasında lokal ortalama SAR değeri 2W/kg) maruziyetin dışı sıçan serebellumunda purkinje hücre sayısında azalmaya sebep olabileceği belirtilmiştir [20]. Ayrıca diğer bir çalışmada, sıçan astrositleri ve C6 gliyoma hücrelerinin 48 saat süreyle 1950-MHz frekansındaki radyasyona maruziyeti, sıçanda glial tümör oluşumunu geliştirmede fakat sıçan astrosit hücrelerinin mitokondrilerine zarar verdiği ve astrositlerde kaspaz-3 (apoptotik protein) yolağı üzerinden apoptotik genler olan bax ve bcl-2'nin katılımıyla apoptozisi indüklediği gösterilmiştir [70].

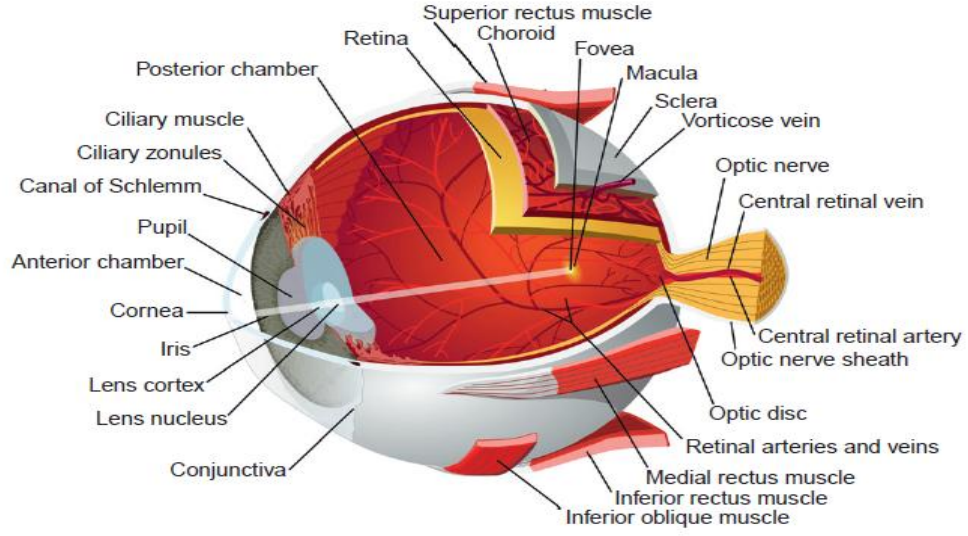
Beynin hem spontan hem de uyarılma ile meydana gelen elektriksel aktivitelerini inceleyen elektrofizyoloji çalışmalarına bakıldığında zaman cep telefonlarından yayılan EMR'nin önemli bir etkiye sahip olduğu gözlenmektedir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada timpanometri ve işitsel beyin sapı cevabı (ABR) çalışılarak uzun dönemli (1 yıldan fazla süredir cep telefonu kullanan) ve yoğun (günde 60 dakikadan fazla) GSM ve CDMA (code division multiple access) taşınabilir telefon kullanımının işitsel kortekste ve kohleada hasara sebep olabileceği belirtilmiştir [71]. Diğer bir elektrofizyolojik çalışmada ise insanlar 900 MHz GSM benzeri (SAR değeri 1W/kg) elektromanyetik alana kısa süreli maruz bırakılmış ve bu insanlarda EEG (elektroensefalogram), VEP ve ABR kayıtları alınmıştır. Bu çalışmanın bulguları, kısa süreli EMR'ye maruziyetinin elektrofizyolojik parametreleri

etkilemediği gösterilmiştir [72]. Bir başka yayında ise kısa süreli EMR (900 MHz, SAR değeri 1W/kg) maruziyetinin VEP'leri ve P300 kognitif potansiyelini etkilemediği bildirilmiştir [23]. Fakat literatürdeki çalışmalara bakıldığında özellikle çocuklarda kompleks bilişsel fonksiyonlarda daha fazla araştırmalar yapılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bunların yanı sıra, EMR'nin canlı organizmalar ile nasıl etkileştiğini anlamamıza yardımcı olacak önemli bir nokta ise, hem farklı frekans hem de modülasyon (iletişimde bilginin uzak noktalara taşınabilmesi için bilgi sinyali ile bir taşıyıcı sinyali birleştirme işlemi) yöntemine bağlı olarak EMR'lerin canlı organizmalar üzerinde farklı etkilerinin olduğunu gösteren bir çok çalışmanın bulunmasıdır. Croft ve arkadaşları, yapmış olduğu çalışmada 2G cep telefonu radyasyonlarının dinlenim alfa aktivitesini artırdığını ancak, 3G radyasyonlarının alfa aktivitesi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını göstermişlerdir. 2G cep telefonlarının kullanmış olduğu frekans değerinin 3G'ye göre küçük olmasından dolayı, 2G radyasyonunun beyinde daha yüksek penetrasyona neden olabileceğini ve farklı pals modülasyonlarını gerekçe göstererek bu farklılığı açıklamaya çalışmışlardır [24]. Farklı pals modülasyonlarına sahip (2,8 ve 217 Hz) EMR'lerin etkilerini araştıran bir başka çalışmada ise her bir modülasyon değerinde uyku durumunun farklı etkilendiği ortaya konmuştur [73]. Özellikle 8 ve/veya 217 Hz EMR'lerin, beyin hücrelerinin elektriksel özelliklerini değiştirdiğini ve bu hücrelerin daha kolay uyarılabilir hale geldiklerini speküle etmektedirler [73]. Diğer yandan başka bir çalışmada modülasyonuna bağlı olarak EMR'nin beyinde gen ekspresyonunu farklı bir şekilde etkilediği [74], diğer bir çalışmada ise farklı frekans değerlerinde ki EMR'lerin (900 ve 1800 MHz) protein ekspresyonunda değişik etkilere sahip olduğu ortaya konmuştur [75].

2.2. Görsel Sistem

Göz, görme olayının gerçekleşmesinde ışığı toplama, odaklama ve görsel yolun ilk nöral sinyalini kodlamadan sorumlu primer duyu organıdır. Dıştan içe doğru sklera, koroid ve retina olmak üzere üç tabakadan meydana gelir. Göze gelen ışık retinaya ulaşmak için kornea, anterior boşluk, göz merceği ve posterior boşluk gibi alanlardan oluşan oküler ortamdan geçmek zorundadır. Bu alanların her biri ışığı toplama ve odaklama gibi fonksiyonlarda önemli rol oynamaktadır (Şekil 2.4).

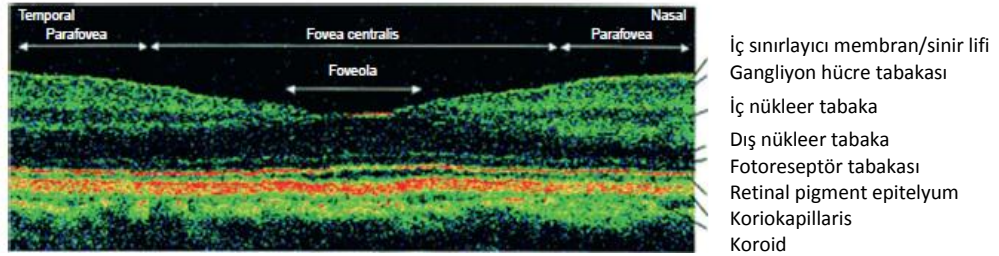
Gözyaşı-hava ara yüzü ve kornea, gelen ışığı kırarak retinanın üzerine düşmesini sağlarlar. Siliyer kaslar farklı mesafelerden gelen ışık ışınlarını retina üzerinde odaklayabilmek için göz merceğinin şeklini değiştirir. Yakın cisimlerde kaslar kasılır ve merceğin küreselliği artar. Retinaya ulaşan ışığın total miktarı ise pupil açıklığının ayarlanması ile kontrol edilir. Bu işlev ise pigmentli bir kas olan iris tarafından gerçekleştirilmektedir. Göze fazla ışık geldiği zaman pupil daralarak fazla ışığın girmesi önlenirken, loş ışıklı ortamlarda ise yeterli ışığı toplayabilmek için pupil açıklığı genişler [76].



Şekil 2.4. Gözün yapısı [76].

2.2.1. Retina

Retina, göz küresi boşluğuna bakan iç kısımda nörosensöriyel tabaka ve dış doğru kısımda pigmentli tabakadan oluşan ışığa ve renge duyarlı hücrelerin bulunduğu, üzerine düşen ışığı elektrokimyasal sinyallere dönüştüren on katmanlı bir yapıdır (Şekil 2.5). Görme reseptörleri olan koni ve rodlarla birlikte dört tip nöron içerir. Bu nöronlar bipolar hücreler, gangliyon hücreleri, horizontal hücreler ve amakrin hücreleridir.



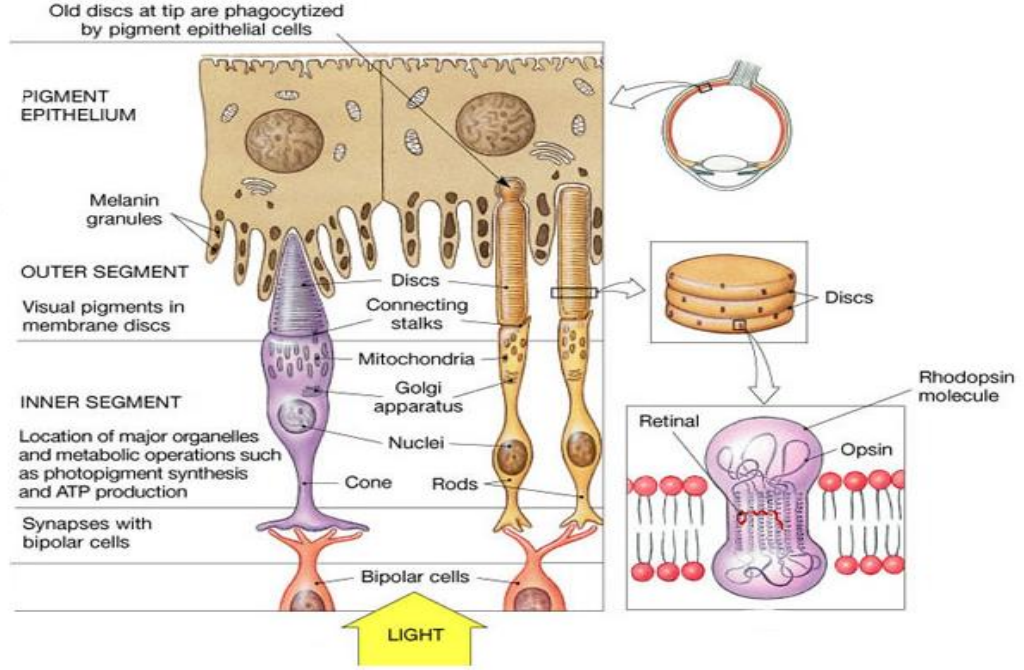
Şekil 2.5. Retinanın nöral yapıtaşları [76].

2.2.2. Fotoreseptörlerin Yapısı: Koni ve Rodlar.

İnsan retinası iki tip fotoreseptöre sahiptir; rodlar ve koniler. Koniler gündüz görüşünden sorumlu iken, rodlar gece görüşünden sorumludurlar. Rodlar, ışığa aşırı duyarlı olduklarından loş ışık koşullarında fonksiyonlarını daha iyi yerine getirirler. Konilerin fonksiyonlarını yerine getirememesi kişilerde renk körlüğü oluştururken, bu durumun rodlarda meydana gelmesi kişilerde gece körlüğüne neden olur.

Her rod ve koni bir dış segment ile bir nükleer bölge ve bir bağlantı alanı içeren iç segmentten oluşur. Dış segmentler değişime uğramış silialar olup düzenli yassı kese grupları veya zardan yapılmış disklerden oluşmuştur (Şekil 2.6). Bu kese

ve diskler ışıqla tepkimeye girerek görme yollarında aksiyon potansiyellerini başlatan ışıqla duyarlı bileşikler içerirler. İç segmentler ise mitokondriden zengindir.



Şekil 2.6. Rod ve konilerin yapısı [77].

Rodlar, konilerden daha fazla sayıda ışıqla duyarlı görsel pigment içerir ve böylece daha fazla ışıqlı absorbe edebilir. Tek bir foton rodta fark edilebilir elektriksel bir tepki yaratabilirken, benzer bir tepkinin konilerde oluşması için yüzlerce ışıqlı ışınının soğrulması gerekir. Pek çok rodun, bipolar hücre olarak bilinen aynı hedef internöronla sinapsı vardır. Bu nedenle, roddan gelen sinyaller bipolar hücrede toplanır, birbirini tetikleyerek her bir bağımsız reseptördeki ışıqlı yarattığı sinyalleri güçlendirilir ve böylece beynin loş ışıqlı algılamasını kolaylaştırır. Bunun aksine foveoladaki konilerin çapları küçük olmasına ve birbirlerine yakın olarak yerleşmelerine rağmen her bir bipolar hücre tek bir koniden girdi alır [77].

Her biri ışıqlı tayfının farklı bir bölgesine duyarlı üç tip koni vardır. Beyin bu üç tür koninin tepkilerini karşılaştırarak renkle ilgili bilgi edinir. Aksine rodlar sadece tek tip pigment bulundurur ve bu nedenle farklı dalga boylarına aynı şekilde yanıt verir.

2.2.3. Fotoreseptör Mekanizması ve Fotoduyarlı Bileşikler

Retinada aksiyon potansiyellerini başlatan potansiyel değişiklikleri ışıqlı rod ve konilerdeki ışıqla duyarlı bileşiklere etkisi ile oluşturulur. Işıqlı bu maddeler tarafından soğrulduğunda, yapıları değişir ve bu değişiklik nöral etkinliği başlatan bir dizi olayı tetikler [78].

Koni reseptör potansiyeli keskin bir başlama ve bitişe sahipken, rod reseptör potansiyeli keskin başlama ve yavaş bir sonlanma gösterir. Reseptör potansiyellerinin genliği ile uyarı şiddeti arasındaki ilişkiyi gösteren eğriler koni ve rodlarda birbirine benzese de rodların duyarlılığı çok daha fazladır. Bu nedenle koniler için eşik altı düzeyde olan aydınlatmada rod yanıtları uyarı şiddeti ile orantılıdır. Öte yandan rod yanıtlarının maksimum olup artık değiştirilmediği aşırı aydınlatma düzeylerinde koni yanıtları uyarı şiddeti ile orantılıdır. Bu durum konilerin neden ışık şiddetinin zemin değeri üzerindeki değişikliklere yanıt verip mutlak aydınlatmayı yansıtmazken, rodların neden mutlak aydınlatmayı fark ettiğini açıklar.

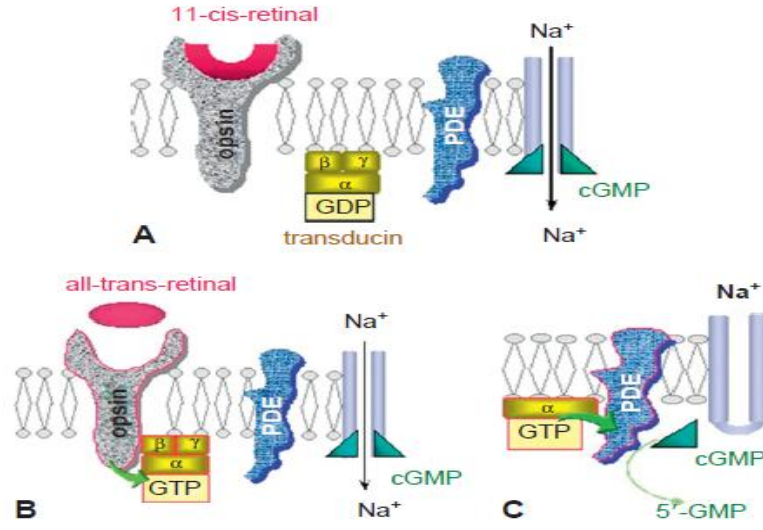
Işık ve Rodopsin Etkileşimi: Fotoreseptörler ışığı absorbe eden fotopigment içerirler. Rodlardaki fotopigment rhodopsindir. Rhodopsinin protein kısmı opsin ve ışığa duyarlı kısmı ise retinaldir. Konilerde ise rhodopsine çok benzeyen fotopigmentin protein kısmı opsin ve ışığa duyarlı kısmı 11-*sis* retinaldir. Rodlarda tek tip, konilerde ise üç tip opsin vardır. Bu nedenle kırmızı ışığa duyarlı (L tipi), yeşil ışığa duyarlı (M tipi) ve mavi ışığa duyarlı (S tipi) olmak üzere üç tip koni söz konusudur. Opsin, kromofor molekülünü saran integral proteindir. Kromofor, ışığa duyarlı olan asıl bölgedir ve vitamin A'nın bir türevi olan retinal proteindir. Fotoreseptörlerdeki fotopigmentler, retinaya paralel olan ve disk denilen zarlarda bulunurlar. Bir fotoreseptörde, her bir diskde milyonlarca fotopigment vardır [78].

Işığın tek etkisi 11-*sis* retinali, hep-trans izomerine dönüştürerek şeklini değiştirmektir. Bu daha sonra opsinin konfigürasyonunu değiştirir ve opsindeki değişiklik, transdusin veya G_α olarak adlandırılan yanındaki heterotrimerik G proteinini etkinleştirir. Aktif G proteini, cGMP'yi 5'-GMP'ye dönüştüren cGMP fosfodiesteraz enziminin aktivasyonunu sağlar. cGMP normalde Na^+ kanallarına doğrudan etki ederek bunları açık konumda tutar, böylece hücre içi cGMP derişimindeki azalma bazı Na^+ kanallarının kapanmasına yol açar (Şekil 2.7) ve fotoreseptör hiperpolarize olur. Hiperpolarizasyon fotoreseptörün ucuna pasif olarak iletilir ve koniden nörotransmitter salınımı azalır [78].

Işık, fotoreseptördeki Na^+ derişimi kadar Ca^{2+} derişimini de düşürür. Ca^{2+} derişimindeki bu düşüş, daha çok cGMP üreten guanilat siklazı (GC) aktive eder. Ayrıca ışıkla aktive olan fosfodiesterazı da inhibe eder. Bu da Na^+ ve Ca^{2+} kanallarının açılmasını ve hücrelerin tekrar dinlenim durumuna dönmesini sağlar [76].

2.2.4. Nöral Yollar

Fotoreseptörler ve gangliyon hücreleri arasında üç sınıf internöron vardır: bipolar, horizontal ve amakrin hücreleri. Gangliyon hücre aksonları bir araya gelerek gözü optik sinir olarak terk eder. Horizontal hücreler, reseptör hücreleri dış pleksiform tabakadaki diğer reseptör hücrelere bağlarken, amakrin hücreleri ise iç



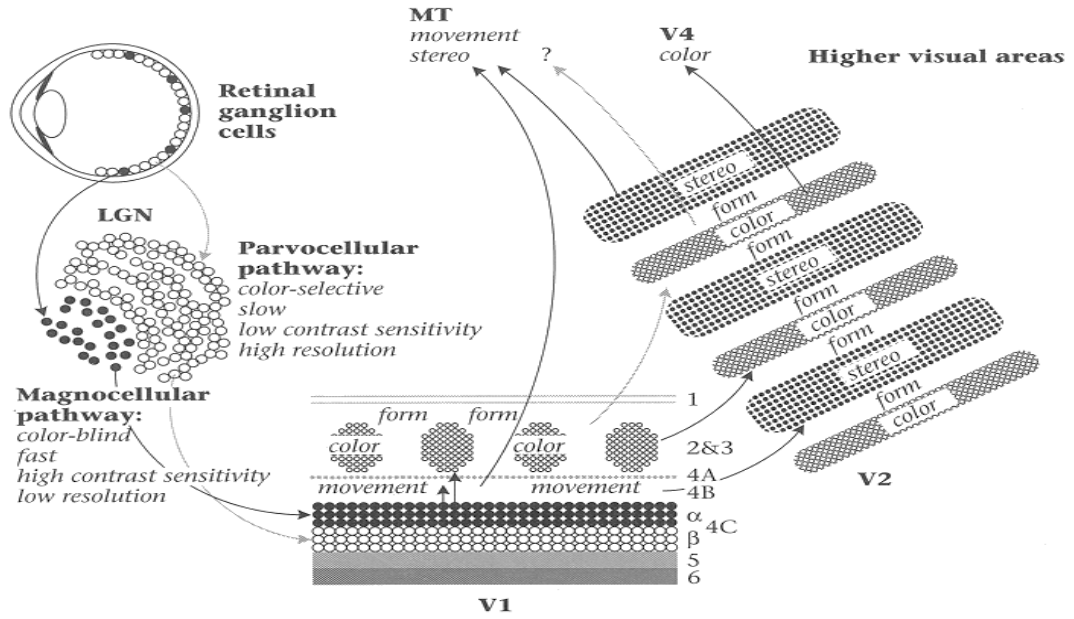
Şekil 2.7. Işık uyarısı ile başlatılan fotoreseptör reaksiyonu [76].

pleksiform tabakadaki gangliyon hücrelerini birbirine bağlarlar. Bu hücrelerin aksonları yoktur ve çıkıntıları komşu nöral elemanlarla hem pre- hem de postsinaptik bağlantılar yaparlar. Bipolar hücreler üzerinde reseptörler, gangliyon hücreleri üzerinde bipolar hücreler önemli düzeyde sinaps yaparlar. Sonuç olarak rodlar ve koniler sinyalleri dış pleksiform tabakaya iletirken bipolar hücreler ve horizontal hücreler ile sinaps yaparlar. Gangliyon hücreleri ise çıkış sinyallerini retinadan optik sinir aracılığı ile beyine iletirler [76].

Gangliyon hücrelerinin aksonları daha önceden de bahsedildiği gibi optik siniri (kranial sinir II) oluştururlar. İki optik sinirin buluştuğu yere optik kiazma denir. Retinanın nazal yarımından gelen lifler optik kiazmada çaprazlaşarak, temporal yarımından gelenler ise çaprazlaşmadan dorsal lateral genikülat nükleus (dLGN)'a girerler ve sinaps yaparlar. Her genikülat cisim iyi tanımlanmış altı tabaka içerir. 3 ve 6. tabakalar küçük hücreli olup parvosellüler olarak adlandırılırken 1 ve 2 büyük hücrelidir ve magnosellüler adını almıştır (Şekil 2.8). Her iki tarafta, tabaka 1,4 ve 6 karşı taraftaki gözden girdi alırken tabaka 2,3 ve 5 aynı taraftaki gözden girdi alır.

Retinada iki çeşit gangliyon hücresi ayırt edilebilir; farklı türde konilerden gelen yanıtları toplayan, hareket ve üç boyutlu görme ile ilişkili olan büyük gangliyon hücreleri (Magno veya M hücreleri) ve bir tip koniden gelen girdiyi diğerinden çıkaran ve renk, yapı ve şekille ilgili olan küçük gangliyon hücreleri (Parvo veya P hücreleri)'dir. M hücreleri lateral genikülatın magnosellüler kısmına yansırken, P gangliyon hücreleri parvosellüler kısma yansır [79, 80].

Parvosellüler ve magnosellüler tabakada bulunan nöronlar görsel korteksin farklı tabakalarına parvosellüler ve magnosellüler sistem olarak adlandırılan ayrı kortikal yollarla ulaşırlar [77]. Magnosellüler sistem, tabaka 1 ve 2'den hareket,



Şekil 2.8. Magnosellüler ve Parvosellüler yollar [76].

derinlik ve titreminin saptanmasına ait sinyalleri taşıırken parvosellüler sistem, tabaka 3-6'dan renk görme, yapı, şekil ve ince ayrıntı sinyallerini taşır. Diğer yandan hem parvosellüler hem de magnosellüler yoldan primer görme korteksine giriş yapan üçüncü bir sistem de bulunmuştur. Diğer iki yoldan tamamen farklı olan bu sistem renkli görmeden sorumlu olup, mitokondriyal bir enzim olan sitokrom oksidazı bol miktarda içeren ve renk damlaları (blob) adı verilen bölgelerde sonlanır. [81]. Sonuç olarak parvo ve mangosellüler yolların anatomik olarak ayrı, ancak işlevsel olarak birbirini tamamlayan üst üste iki sistem gibi organize oldukları söylenebilir. Kortekse kadar birbirileriyle bağlantısı olmadığı ileri sürülen iki sistem yüksek kortikal düzeylerde kısmen bağlantılı hale gelmektedir [78, 82].

Gangliyon hücre aksonlarının dLGN'ye retinanın ayrıntılı bir uzaysal görünümünü yansıtmaları gibi, genikülat nükleustan çıkan görsel bilgi sinyalleri optik radyasyon yolu ile oksipital lobun kalkarın bölgesindeki primer görme korteksine (Brodmann'ın 17.alanı) tıpa tıpa yansıtılır. Primer görme korteksi altı tabakadan oluşmuştur. Lateral genikülat nükleustan gelen magnosellüler yolu oluşturan aksonlar ve parvosellüler yolu oluşturan aksonların pek çoğu da tabaka 4C'de sonlanır. İnterlaminar bölgeden gelen aksonlar ise tabaka 2 ve 3'te sonlanır [82].

Lateral genikülat nükleusa ek olarak, görme lifleri çeşitli fonksiyonların yerine getirilebilmesi için beyin farklı bölgelerine görsel bilgiyi taşır. Bunlara örnek olarak;

- Sirkadiyen ritmin kontrolünü sağlamak üzere hipotalamusun supra kiazmatik nükleusuna
- Gözün odaklanmasını ve göz bebeğinin ışık refleksini sağlamak için pretektal çekirdeklere

- İki gözün hızlı doğrusal hareketlerini kontrol etmek için süperior kollikusa
- Vücudun bazı davranışsal işlevlerini kontrole yardım etmek için talamusun ventral lateral genikülat nükleusuna gittiği gösterilmiştir.

2.2.5. Sıçan Görme Sistemi

Sıçanlarda, dLGN, parvosellüler ve magnosellüler diye ayrılmamıştır ve ayrı görsel alt sistemler tanımlanmamıştır. Sıçanlar, insanlara göre, retinada, dLGN’de ve görme korteksinde çok az özelleşme gösterirler. Sıçanlar renkli görmeden [83] ve tahminen blob sistemine karşılık gelen bir sistemden yoksundurlar. Sıçanların frekansları ayırt etme yetenekleri vardır. Magno sisteme karşılık gelen bir sistem varken, parvo sisteme karşılık bir sistemlerinin olduğu şüphelidir. Çünkü uzaysal (spasyal) rezolüsyonları insanlarınkinden daha düşüktür [81].

Türler arası topografik özelleşme ve algı yeteneklerindeki farklılıklara rağmen, iki tür arasında nitelik olarak parvosellüler ve magnosellüler sistemlerinde benzerlik bulunmaktadır. Primatlara benzer olmakla birlikte, sıçanların görsel yolları fonksiyonel ve yapısal olarak aşağıda listelenen faktörlere göre bazı farklılıklar gösterirler.

- retinal ganglion hücrelerinin morfolojisi
- optik traktustaki sinir liflerinin hızı
- retinal ganglion hücrelerinin dLGN tabakalarındaki dağılımı
- talamokortikal projeksiyonların kortikal dağılımı ve ileti hızları
- dLGN’deki nöronların reseptif alan özellikleri
- görsel korteks

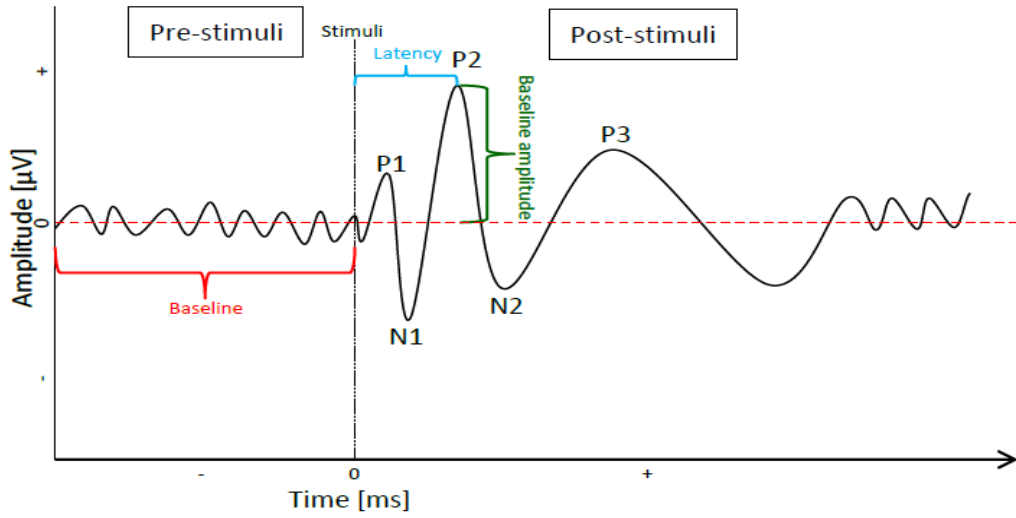
Bu nedenlerden dolayı, sıçanların görsel alt sistemleri açık değildir. Primer görme korteksinden girdi alan ekstrasitriyal görsel bölgeler diğer memelilerde olduğu gibi sıçanlarda da şekilli görmeyi sağlar [81].

2.3. Görsel Uyarılma Potansiyelleri

Görsel uyarılma potansiyelleri, görsel bir uyarana yanıt olarak optik yolak ve korteksin oksipital bölgesinde oluşan elektriksel potansiyeller olarak tanımlanmaktadır [84]. İlk kez 1934 yılında Adrian ve Matthews tarafından ortaya konan VEP’leri gelişen bilgisayar teknolojilerine paralel olarak görsel sistem fizyolojisinin anlaşılması ve değerlendirilmesi için sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. VEP’in avantajlarından biri görme ile ilgili farklı yönlerin tek bir hayvanda ardışık olarak test edilebilmesidir. Özellikle post-retinal fonksiyon, VEP ile objektif olarak

değerlendirilebilmekte ve santral görsel yolak fonksiyonunu değiştiren herhangi bir görsel yolak hasarı VEP cevaplarını etkileyebilmektedir [31, 85-89].

Görsel sistemin elektrofizyolojik bir ölçümü olan VEP'lerde ortaya çıkan dalga formları, polarite ve ortaya çıkış zamanlarına göre adlandırılmaktadır. Görsel bir uyarıyı takiben ortaya çıkan dalgalar polaritelerine göre, negatif (N) ve pozitif (P) olarak gösterilmektedir. Ortaya çıkış zamanlarına göre ise üç gruba ayrılarak incelenmiştir [85]. Görsel uyarıyı takiben ilk 10 ms'lik zaman içinde oluşan dalgalara kısa latensli (erken) VEP'ler, görsel uyarıdan 10-50 ms sonra ortaya çıkan dalgalara orta latensli ve 50 ile 300 ms'lik süre içinde oluşanlara ise uzun latensli VEP'ler denir (Şekil 2.9.)[85].



Şekil 2.9. Görsel uyarılma potansiyelleri ve bileşenleri

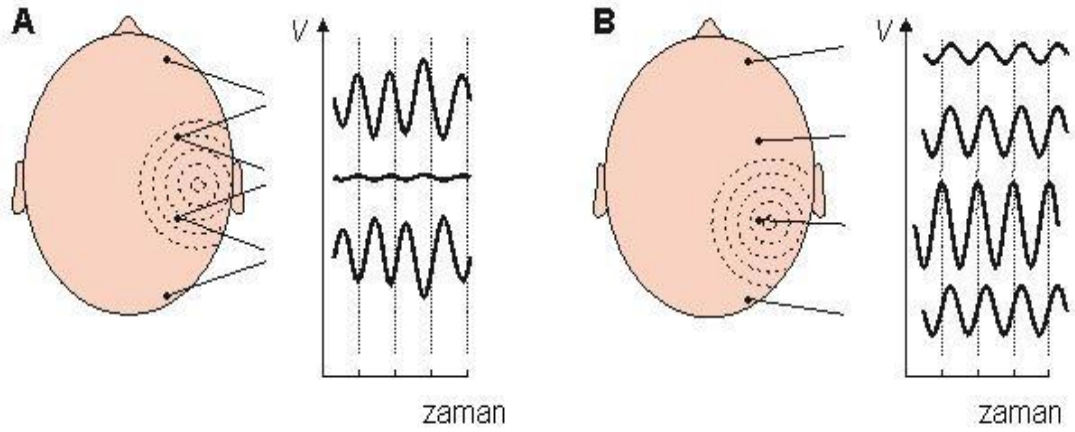
VEP'ler değerlendirilirken en önemli parametreler olarak tepeden tepeye genlik değerleri ve bir uyarı verildikten sonra oluşan dalga formunun, maksimum genliğe ulaştığı süre olan latens değerleri göz önünde bulundurulmaktadır. VEP kayıtlarında, ilk ortaya çıkan dalga formunun pozitif olması nedeniyle ilk bileşen P_1 olarak, diğerleri ise ortaya çıkış sürelerine göre N_1 , P_2 , N_2 , P_3 , N_3 olarak isimlendirilir.

2.3.1. Görsel Uyarılma Potansiyellerinin Kaydı

Normal bir VEP dalgaformu elde etmek için retinadan primer görme korteksine kadar uzanan görsel yolağın hasar görmemiş olması gerekmektedir. Ayrıca sağlıklı bir kayıt alabilmek için dikkat edilmesi gereken hususlardan biri de elektrot seçimi ve kullanımıdır. Genellikle gümüş klorür ($Ag-AgCl$) EEG disk veya iğne elektrotları VEP kayıtları için kullanılan elektrotlardır [84].

VEP kaydında aktif ve referans elektrotlar arasındaki potansiyelin cebirsel farkı tayin edilmektedir. Aktif elektrot, nöral ve diğer sinyalleri içeren potansiyelleri (kas,

artefakt, interferans) toplarken, inaktif (referans) elektrot bulunduğu konum itibari ile nöral sinyaller dışındaki tüm potansiyelleri almaktadır. Bunun sonucunda yalnızca oksipital korteksin nöral aktivitesi yansıtılmaktadır. VEP kayıtlarında kullanılan iki tip elektrot düzeneği vardır. Bunlara referansın konumuna bağlı olarak monopolar veya bipolar kayıt denir. Monopolar kayıta, elektrotlardan biri kortikal bölgeye, referans ise kulak veya mastoid gibi kortikal olmayan bir bölgeye yerleştirilirken, bipolar kayıt biçiminde elektrotların her ikisi de kortikal bölgeye yerleştirilmektedir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. (a) Bipolar bağlantı şekli. (b) Monopolar bağlantı şekli

2.3.2. Görsel Uyarılma Potansiyellerini Etkileyen Faktörler

VEP'leri etkileyen en önemli faktörler arasında kullanılan uyarı tipleri yer almaktadır. VEP'lerde görsel uyarı olarak kısa süreli ve değişik şiddetlerde ışık (flaş) veya şekilli uyarı kullanılır.

Flaş VEP incelemesinde ani lüminesans değişiklikleri yaratan ışık uyarıları kullanılır. Flaş VEP'te denekten deneye hatta aynı denekte değişik zamanlarda yapılan testlerde belirgin değişiklikler mevcuttur. Şekilli uyarılarda ise duyarlılık daha yüksektir ve yarım alan uyarılar kiazmal ve retrokiazmal lezyonların ayırımında yardımcı olur. Flaş VEP'ler ile elde edilen bilgiler kantitatiften çok kalitatif önem taşır [84, 89].

Şekilli uyarı incelemesinde ise genellikle TV ekranında oluşturulan siyah beyaz karelerden meydana gelen dama tahtası biçiminde uyarılar kullanılır. Bu şekillerin dönüşümlü olarak yer değiştirmesi ile kaydedilen potansiyellere Patern Değişmeli Görsel Uyarılma Potansiyelleri (PR-VEP) denir.

Flaş VEP, PR-VEP uyarıya fokus yapmayan bebek ve çocuklarda, demanslı yaşlılarda, komadaki hastalarda, cerrahi operasyon sırasında ve görme keskinliği bozuk olan kişilerde görme yolları hakkında bilgi verir. Bütün bu durumların dışında

ise klinikte en çok şekil değişmeli uyaran kullanılır. Çünkü bu potansiyeller daha önceden de bahsedildiği gibi görsel yol lezyonlarını göstermede daha duyarlı olup, denekler arasında çok fazla değişkenlik göstermezler. Ayrıca, insanın görme fonksiyonlarından biri şekilleri ve kenarlarını analiz etmek olduğundan, şekil değişmeli VEP'lerin bazı özellikleri değiştirilerek bunlar hakkında daha fazla bilgi elde edilebilmektedir [84].

Flaş uyarılma potansiyelleri insanlarda nadir olarak kullanılmasına karşın, kolloborasyon gerektirmedikinden hayvan çalışmalarında tercih edilen bir yöntemdir. Özellikle sıçanların görsel sisteminin, insanlarınkine benzemesi nedeniyle, sıçanlardan kaydedilen VEP'lerin insan sağlığı üzerine toksik etkisi olan ajanların ve bir takım hastalıkların olumsuz etkilerini yansıtmada iyi bir model olduğu saptanmıştır. [90]. Bunun yanında, VEP'in bazı hastalıklarla ve yaşlanmayla birlikte görsel sistemde oluşan değişiklikleri de yansıttığı bildirilmiştir. Yaşlanmayla birlikte VEP latenslerinin uzadığı ve görsel bilginin iletiminin yavaşladığı gözlenmiştir [87, 91].

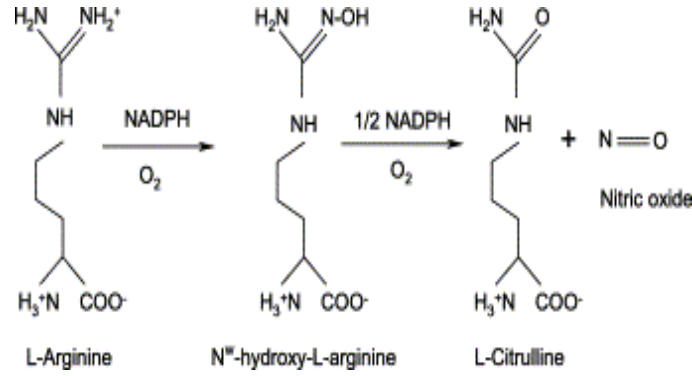
2.4. Nitrik Oksit

Nitrik oksit, biyoaktif metabolitlerin en küçüklerinden biridir. Yarı ömrü birkaç saniye (3-30 saniye) olduğu için sadece lokal olarak etkindir [92]. Düşük molekül ağırlığı ve hidrofobik yapısı nedeni ile kolay ve hızlı bir şekilde hücre membranından geçebilmektedir. NO fizyolojik ve inflamatuvar süreçte birçok önemli göreve sahiptir, bu görevlerin başlıca olanları şu şekilde sıralanabilir:

- Solunum, gastrointestinal, genitoüriner sistemlerde vazodilatasyon (kan damarlarının gevşemesi) için NO-bağımlı mekanizmalarda kullanılır.
- Merkezi sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak hafızanın oluşumunda rol oynamaktadır.
- Trombositlerin yapışarak birikmesini engeller.
- Kalp kasılmalarında düzenleyicidir ve iyon kanallarının açılıp kapanmasına katkıda bulunur.
- Nonspesifik immünitede de rolü vardır. Sitotoksik özelliğe sahip olduğundan, vücut savunması ve immünolojik reaksiyonlar sırasında aktive olmuş makrofajlar tarafından çok miktarda üretilir [93, 94].

2.4.1. Nitrik Oksit Sentezi

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile L-arjinin'in oksidatif deaminasyonu sonucu oluşan ve sayısız biyolojik sürece dâhil olan gaz tabiatında küçük molekül ağırlıklı, radikal bir moleküldür [95]. NO yapımı, sitrulin yapımına paralel olarak arjinin'in guanidino grubunun terminal nitrojen atomunu kaybetmesi ile gerçekleşir. Arjininden NO yapımı beş elektronun oksidasyonunu gerektiren iki basamaklı bir işlemdir (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Nitrik oksit sentezi

NOS katalizasyonu için moleküler oksijen ve kofaktör olarak da yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfata (NADPH) ihtiyaç duyulmaktadır. Sonuçta NO ve sitrulin oluşur. Arjinin'in, guanidin grubundaki nitrojen atomunun yerini alan analogları NOS'u inhibe ederler. Nitrik oksitin etkilerinin çoğuna aracılık eden klasik yolak, çözünebilir guanilat siklaz (sGC) aktivasyonu ve guanozin trifosfat (GTP)'in, ikincil haberci molekül olan siklik guanozin monofosfatlara (cGMP) dönüşümüdür [94].

2.4.2. Nitrik Oksit Sentaz

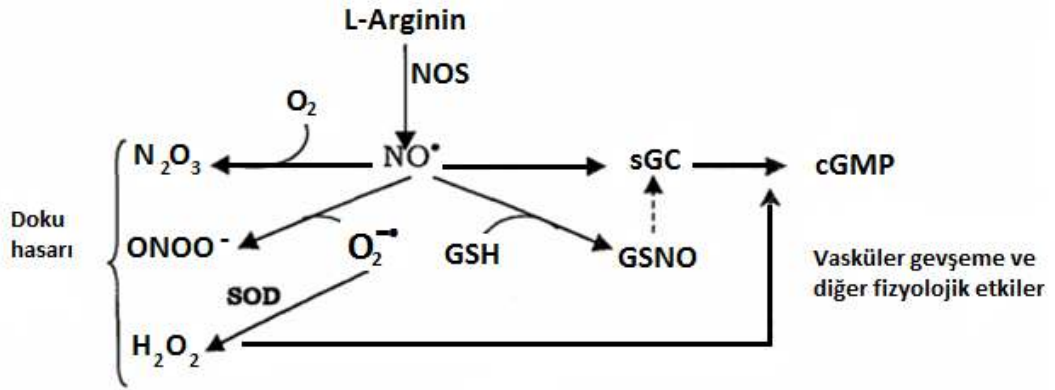
Nitrik oksit sentaz enzimi, flavin mono nükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), tetrahidrobiopiterin (BH₄), "heme" kompleksi ve "non heme" demir içeren karmaşık bir enzimdir. Kalmodulin bağlanma noktası taşır. NOS'un iki ana formu vardır. Bunlar yapısal (constitutional) NOS (cNOS) ve indüklenebilir NOS' dur (iNOS). cNOS'un, vasküler endotelial (eNOS) ve nöronal (nNOS) olmak üzere iki alt tipi vardır. Bunların hücre içi aktiviteleri kalsiyum bağımlıdır ve kalmodulin varlığında sitoplazmik iyonize kalsiyum (Ca²⁺) artışına paralel olarak ekspresyonları artar. Ca²⁺'un hücre içine akışı, NO'nun hızla üretilmesine neden olur. Ayrıca, düşük düzeylerde ve sabit miktarlarda NO, vasküler tonusun ayarlanması ve sinyal iletiminde önemli rol almaktadır [94].

Bütün bunlara karşın iNOS, çeşitli sitokinler ve diğer uyarılar tarafından makrofajların ve diğer bazı hücre gruplarının aktive edilmesiyle indüklenerek NO sentezine katılır ve bunun için de Ca²⁺ artışına ihtiyaç duymaz [94]. İnflamatuar ve patolojik durumlarda rol alır [96, 97]. İnflamatuar ajanların ve sitokinlerin varlığında iNOS'un ekspresyonu artarak NO miktarı yüksek düzeylere çıkar [93]. NOS'un tüm izoformları deride bulunur [97]. Keratinositler, Langerhans hücreleri, dermal fibroblastlar, melanositler ve melanoma hücreleri de değişik uyarılarla iNOS oluşturabilirler. Deride ayrıca terde bulunan nitritlerin nonenzimatik indirgenmesi ile de NO oluşur. Bu derinin bariyer fonksiyonuna katkıda bulunur [98].

2.4.3. Nitrik Oksidin Fonksiyonları

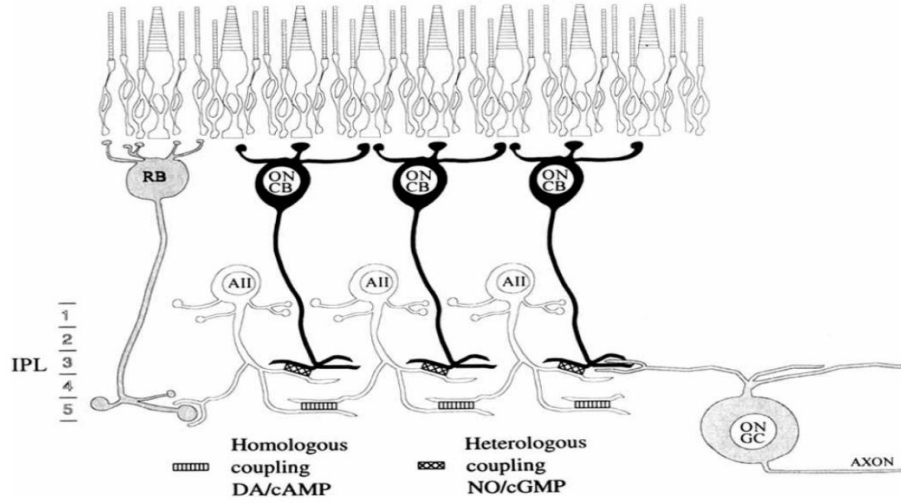
Suda eriyebilen bir gaz olan ve hücre membranından kolaylıkla geçen NO, lipid membranlarda birikir ve birçok otooksidasyon burada meydana gelir [99].

Çözünebilir guanilat siklaz ve cGMP nitrik oksidin en iyi bilinen hedefleri arasında olmasına rağmen, G proteinleri, çeşitli enzimler, transkripsiyon faktörleri, taşıyıcılar ve iyon kanallarında hedefleri arasında yer almaktadır (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Nitrik oksidin biyolojik reaksiyonları

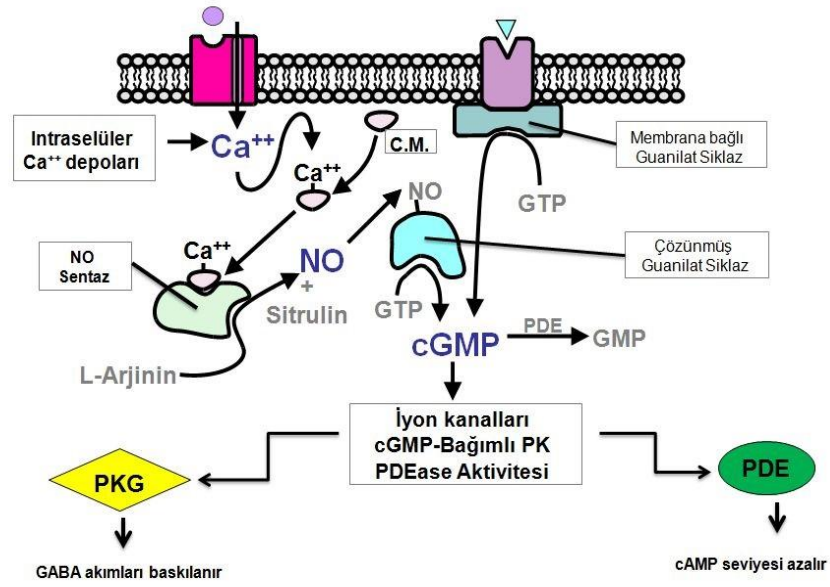
Nitrik oksit, birçok farklı tipte retina hücresinde bulunmaktadır. Bu hücreler arasında pigment epitelyum, fotoreseptörler, müller hücreleri, horizontal, bipolar, amakrin ve gangliyon hücreleri yer almaktadır [100-103] ve ayrıca insan retinal dokularında cNOS (nNOS ve eNOS) ve iNOS'un mRNA'larının sentezlendiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [50]. İmmünohistokimya çalışmaları sonucunda nNOS ekspresyonunun, iç nükleer tabaka ve gangliyon hücre tabakası arasında yani iç retinada gerçekleştiği ve amakrin ve bipolar hücrelerde çok fazla olduğu bulunmuştur [103-105]. Yapılan diğer çalışmalarda, memelilerde amakrin hücrelerinin NO'nun major bir kaynağı olduğu ve nNOS'un üç tip amakrin hücresinde (AI, AII ve AIII) bulunduğu immünoboyama yöntemi ile ortaya konmuştur [106-109]. Diğer yandan ise sGC'in AII ve glisinerjik hücrelerde bulunmadığı gösterilmiştir [109]. Nitrik oksit görsel sistem dahil, insan fizyolojisinin hemen her sisteminde rol oynamaktadır. Mills ve Massey, amakrin hücrelerinde artmış cGMP seviyelerinin ve NO salınımının ışık adaptasyonu ile ilişkili rod ve koni yolları arasında ki kapılama işlemini kontrol ettiğini önermektedirler (Şekil 2.13) [110].



Şekil 2.13. Retinada ON-yolaklar: Rod ve koniler, rod bipolar veya koni bipolar hücreler ile sinaps yaparlar. ON koni bipolarlar doğrudan gangliyon hücreleri (ON GC) ile sinaps yaparken rod bipolarlar sadece AII amakrin hücreleri ile sinaps yaparlar [76].

Bazı amakrin hücrelerinde GABA reseptörleri ve NOS birlikte bulunur ve GABA_A ve GABA_B reseptörleri, NOS aktivasyonunun regülasyonunda bir dizi etkileşimde bulunurlar [111]. Bu kapsamda NO, etki mekanizması ile GABA_A reseptör fonksiyonlarını baskılar (Şekil 2.14) [112]. Fotoreseptörlerde NOS aktivitesine bakıldığı zaman ise çelişkili bulguların mevcut olduğu görülmektedir. Yapılan bazı immünohistokimyasal çalışmaların bulgularına göre fotoreseptörlerde nNOS immünoaktivitesinin olmadığından bahsedilirken [113, 114], diğer araştırmacılar bazı canlılarda fotoreseptörlerin iç ve/veya dış segmentlerinde nNOS immünoaktivitesinin bulunduğunu rapor etmektedirler [105, 107, 115].

Nitrik oksit retinanın her katmanında önemli rollere sahip olduğu gibi horizontal hücrelerde de aynı etkiyi gözlemlemek mümkündür. Horizontal hücreler ile ilgili olarak, cGMP analoglarının, L-Arjinin ve NO donörlerinin bu hücreler arasındaki elektriksel aktiviteyi düşürdüğü görülmektedir [116, 117]. L-Arjinin verilen H1 tipi horizontal hücrelerde ışığa yanıtın azaldığı ve giriş dirençlerinin arttığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [117, 118]. Yine başka bir çalışmada ise NO'nun horizontal hücrelerden GABA salınımı üzerine pozitif bir etkisinin olduğu ve retinada ise glisin salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir [111, 119]. NO donörleri, glutamat reseptör aktivasyonunu indükleyen cGMP seviyelerinde bir artışa neden olur. Baldrige ve arkadaşları, bir NO donörü olan S-nitroso N-acetyl penicillamine (SNAP)'i akvaryum balıklarına uygulayarak, horizontal, bipolar, amakrin ve gangliyon hücrelerinde cGMP seviyelerinde bir artışın meydana geldiğini ve bununda hücrel aktivite artışı ile sonuçlanacağını göstermişlerdir [120].



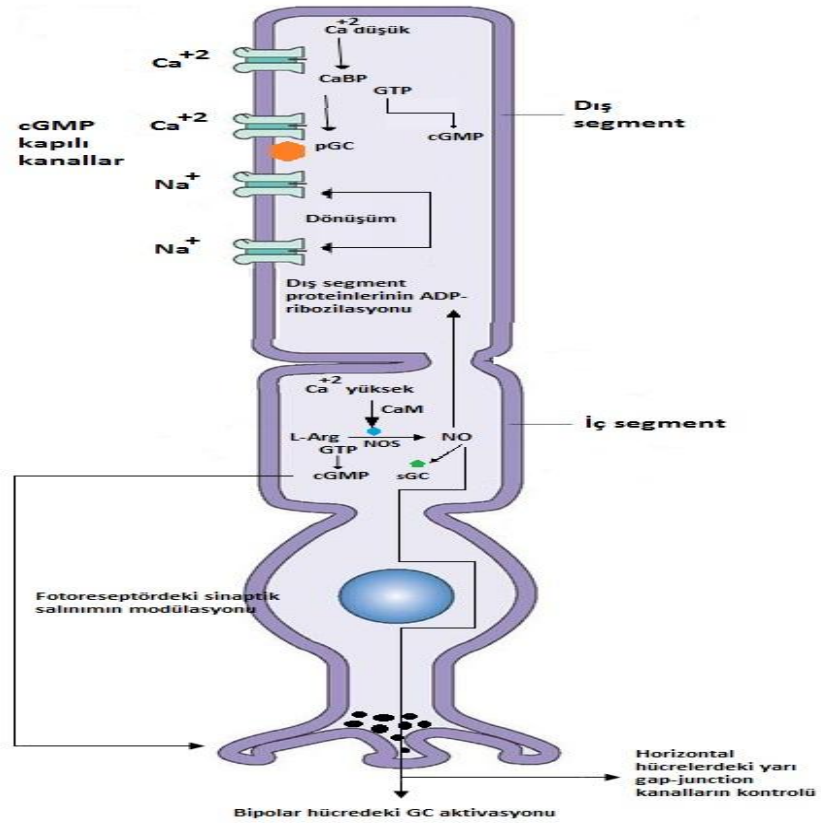
Şekil 2.14. Nitrik oksit'in etki mekanizması

Beyin ve retina dahil merkezi sinir sisteminin bir çok farklı bölgesinde NO üretilmektedir [121]. Oluşan NO hücrelere difüze ederek üç şekilde etki gösterebilir: 1) NO, ekzositoz kontrolünden sorumlu SNARE kompleksi proteinleri dahil bir çok farklı proteini nitrolize edebilir, 2) intrasellüler cGMP konsantrasyonunda bir artışa neden olarak sGC aktivasyonunu sağlayabilir, 3) NMDA gibi spesifik reseptörlerin redox-sensitif alanlarına bağlanarak bu tip reseptörlerin geçirgenlik durumunu değiştirebilir [106, 122, 123]. Diğer yandan, NO'nun fotoreseptörlerde, ışık cevaplarının modifikasyonu ve fotoreseptörlerden bipolar ve horizontal hücrelere sinaptik iletimin modülasyonu gibi fonksiyonlarının olduğu da ileri sürülmektedir [50]. Dış segmentlerde, ışık uyarısı sonucu oluşan kalsiyum konsantrasyonundaki düşüş, partiküler guanilat siklaz (pGC)'ın aktivasyonu, kalsiyum bağlayıcı protein (CaBP) tarafından düzenlenir. GTP'den cGMP oluşması ışığa bağlı cevabın yenilenmesini sağlar. İç segmentlerde, kalsiyum konsantrasyonundaki artış ve kalmodülinin etkisiyle NOS aktif hale gelir[82].

Lateral genikülat nükleus, retinal inputların görsel kortekse iletilmesine aracılık eden talamik bir bölgedir ve görsel kortekse giden bilgilerin modülasyonunu sağlayan çok sayıda beyin terminalleri içerir. LGN'de kolinerjik, GABAerjik, histaminerjik, serotoninerjik ve glutamaterjik sinapsların yanı sıra nNOS eksprese eden fiber ve internöron (ara nöron)'ların bulunduğu gösterilmiştir [124-126]. NO, görsel kortekse bilginin iletilmesinde temel bir role sahip olan LGN'de meydana gelen fizyolojik ve patolojik süreçlerde de yer almaktadır. Özellikle, NO'nun retinadan görsel kortekse kadar olan yolda görsel iletimi kolaylaştırdığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [50, 127]. Bunun yanı sıra birçok çalışmada NO'nun görsel aktiviteyi modüle edebileceği de gösterilmiştir. Sonuç olarak oluşan NO'nun intrasellüler cGMP konsantrasyonunu artırarak, sGC aktivasyonu ve

fotoreseptördeki sinaptik iletimin modülasyonu gibi birçok etkisi vardır (Şekil 2.15). Başka bir çalışmada da NO'nun retinadan primer görme korteksine taşınan sinyallerin amplifikasyonunda yer aldığı gösterilmiştir [121].

NO'nun komşu hücrelere difüzyonu bipolar hücreleri etkileyebilir (GC aktivasyonu) veya horizontal hücredeki yarı-gap-junction kanallarını kontrol edebilir. Bunun yanında, dış segmentlere difüze olup dış segment proteinlerinin ADP-ribozilasyonunu uyarabilir [128].



Şekil 2.15. NO'nun fotoreseptördeki etki mekanizması

Yapılan bazı çalışmalarda, NO'nun retinada NMDA-kaynaklı akımları düşürdüğü ve nöroprotektif bir etki gösterdiği bildirilmiştir [128]. Öte yandan, başka bir grup araştırmacı eNOS'un retinadaki eksitotoksistide herhangi bir etkisinin olmadığını buna karşın nNOS'un önemli bir rol oynadığını ortaya koymuşlardır [129].

2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Aerobik canlılar yaşamları için mutlaka moleküler oksijene gereksinim duyarken, anaerobik canlılar oksijene bağımlı değildirler. Oksijen hem anaerobik türlerde hem de yaşamları için mutlaka moleküler oksijene bağımlı olan canlılarda

toksik etkilere sahiptir. Oksijenin canlılardaki toksik etkisinin “oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı bilinmektedir.

2.5.1. Serbest Radikal Oluşumu

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Hücrel koşullarda da ciddi bir miktar ve çeşitlilikte radikal üretilmektedir. Hem endojen hem de ekzojen materyaller tarafından üretilen serbest radikallerin potansiyel endojen kaynakları arasında mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve iltihaplı hücreler yer almaktadır. Süperoksit radikallerinin çoğunlukla mitokondriyal veya mikrozomal elektron transferi sırasında ortaya çıktığı belirtilmektedir. Serbest radikaller ayrıca fagositoz, araziidonik asit metabolizması, kadınlarda ovulasyon ve üreme sırasında da ortaya çıkmaktadır [130].

Bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron içeren molekül veya molekül grupları serbest radikal olarak adlandırılmaktadır [131, 132]. Çiftlenmemiş elektron içeren serbest radikaller stabil olmayıp son derece reaktif kimyasal türlerdir.

Nerede ve nasıl üretildiklerine bakılmaksızın radikaller başlıca üç temel mekanizma ile oluşurlar;

1. **Kovalent bağların homolitik kırılması ile.** Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık (500-600 °C), kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir ve her iki atom üzerinde de paylaşılmamış elektron kalır.
2. **Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile.** Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller gibi hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.
3. **Normal bir moleküle elektron transferi ile.** Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidin oluşumuna neden olur. Süperoksit radikalının yapımındaki artış da, oksijenin diğer radikal türlerinin ve diğer atom merkezli radikallerin oluşumu için tetik fonksiyonu görür.

2.5.2. Oksijen ve Oksijen Radikalleri

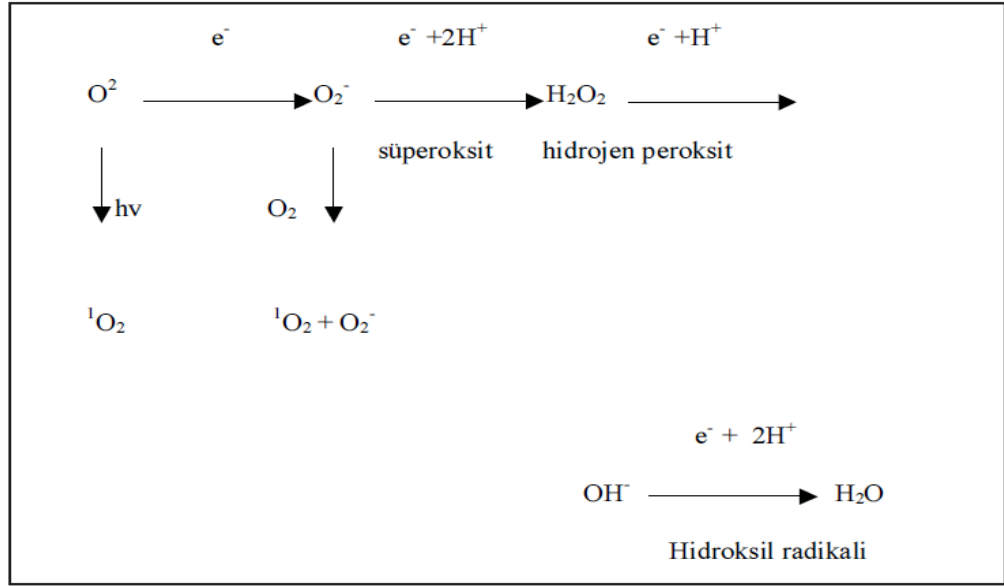
Moleküler oksijen (O_2), paralel spin durumlu iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Bu elektronlar, spinleri aynı yönde ve farklı orbitallerde iken minimum enerji seviyesindedirler. Radikal tanımına göre oksijen “biradikal” yapıya sahip bir moleküldür. Oysa oksijenin reaktivitesi beklenenin aksine çok düşüktür. Biradikal yapıya sahip olan oksijenin herhangi bir molekülle tepkimeye girebilmesi için, tepkimeye gireceği molekülün de benzer yapıya (farklı orbitallerde spinleri aynı yönde elektron içermesi) sahip olması gerekir. Oysa başta organik moleküller olmak üzere, atom ve moleküller orbitallerinde elektronları antiparalel ve eşleşmiş olarak içerirler veya paylaşılmamış elektronlar kovalent bağlara katılmışlardır. Bunun sonucu oksijenin diğer moleküllere olan reaktivitesi son derece kısıtlanmıştır. Bu kısıtlama “spin kısıtlaması” (spin restriction) olarak adlandırılır. Canlıların oksijeni kullanabilmesi için, oksijene elektron transferi yaparak spin kısıtlamasını aşmaları gerekir. Bu işlem için canlılar geçiş elementleri sınıfından bazı metal iyonlarından yararlanırlar. Geçiş elementlerinden Fe, Cu, Mn, Zn, Co ve Mo vücudun gereksinim duyduğu başlıca eser elementler olup, bu elementler dış orbitallerinde bir veya daha fazla sayıda paylaşılmamış elektron içerirler. Canlılarda oksijeni kullanan enzimler ya da oksijenle etkileşime giren proteinler, bu elementlerden en az bir tanesini içermek zorundadırlar [130, 133, 134].

2.5.3. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri (ROS) oksijenli solunum metabolizması esnasında oluşur. Bu oluşan radikallerin yarılanma süreleri birkaç milisaniye ile dakikalar hatta saatler arasında değişmektedir [135].

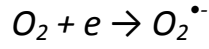
Serbest oksijen radikalleri biyokimyasında anahtar rol oynayan maddeler oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit (H_2O_2), geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalidir ($OH^\cdot$). Oksijen molekülü bir elektron indirgendiğinde süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), iki elektron indirgendiğinde H_2O_2 , üç elektron indirgendiğinde ise $OH^\cdot$ oluşmaktadır. $O_2^{\cdot-}$ EMR'ye maruz kaldığında O_2 ile birleşip singlet oksijeni (1O_2) oluşturmaktadır. O_2 'in indirgenme mekanizması Şekil 2.16'da verilmiştir [136].

ROS'lar çeşitli serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilir ve hücrede karbon merkezli organik radikaller ($R^\cdot$), peroksit radikali ($ROO^\cdot$), alkoksi radikalleri ($RO^\cdot$), tiyil radikalleri ($RS^\cdot$), sülfenil radikalleri ($RSO^\cdot$) ve tiyil peroksit radikalleri ($RSO_2^\cdot$) gibi çeşitli radikallerin oluşumuna neden olurlar.



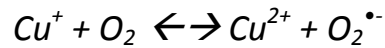
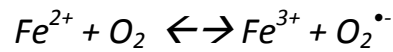
Şekil 2.16. Moleküler oksijenin indirgenmesi

Süperoksit Radikali: Tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron olarak indirgenmesi sonucu $O_2^{\bullet-}$ meydana gelmektedir [137].



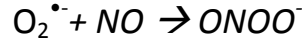
Diğer radikallere oranla reaktivitesi çok azdır. Oluşumuna neden olduğu radikallerle birlikte organizmada genel bir oksitleyici gibi davranmaktadır. Süperoksit bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla bir zarar vermez. H_2O_2 'in kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması bakımından önemlidir [138].

İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu $O_2^{\bullet-}$ meydana getirebilir.



Geçiş metalleri iyonlarının oksijenle reaksiyonları geri dönüşümlü reaksiyonlardır. Pek çok enzimin katalitik etkisi sırasında $O_2^{\bullet-}$ bir ürün olarak da oluşabilir.

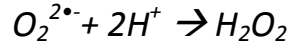
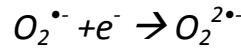
Süper oksitin, fizyolojik bir serbest radikal olan NO ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir.



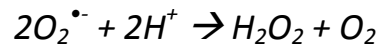
Böylece NO'nun normal etkisi inhibe edilir. Ayrıca, peroksinitritlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO₂), OH⁻ ve nitronyum iyonu gibi daha başka toksik ürünlere dönüşürler.

Süper oksit, düşük pH değerlerinde daha reaktif olup oksidan perhidroksil radikali (HO₂[•]) oluşturmak üzere protonlanır. Fizyolojik pH'daki protonlanmış formu % 1 den azdır. O₂^{•-} anyonu hem oksitleyici hem de redükleyici özelliğe sahiptir. Redükten olarak görev yaptığında, örneğin ferrisitokrom c'nin ya da nitroblue tetrazolium'un redüksiyonunda bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Sitokrom c'yi indirgemesi SOD tarafından inhibe edilir. Bundan faydalanılarak SOD aktivitesi ve fagositler tarafından üretilen O₂^{•-} tayini yapılır [139].

Süper oksit, yapısına bir e⁻ katılmasıyla peroksil anyonu (O₂²⁻) oluşturabilir ve bu da ortamdan iki H⁺ alarak H₂O₂ oluşumuna neden olabilir [140].



Hidrojen Peroksit: H₂O₂ 'nin üretimi O₂^{•-} 'in dismutasyonu ile olmaktadır. İki O₂^{•-} molekülü iki proton alarak H₂O₂ ve O₂ oluşturmaktadır. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler olduğundan bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinmektedir.



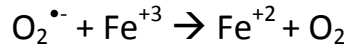
Hidrojen peroksit düşük elektriksel yükü ve non-iyonize özelliklerinden dolayı hücre membranlarından hızlı bir şekilde geçer. Geçiş grubu metal iyonlarının varlığında yüksek derecede reaktif serbest radikaller oluşur.

Hidroksil Radikali: OH[•], ilk olarak 1934 yılında Haber ve Weiss adlı araştırmacıların gösterdikleri, kendi adları ile anılan reaksiyon ile ortaya konmuştur. En kısa yarı ömre (1x10⁻⁹s) sahip olan OH[•], biyolojik sistemlerde rastlanan en etkili oksijen radikalidir ve makro moleküller ile kolaylıkla reaksiyona girer.

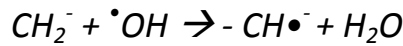
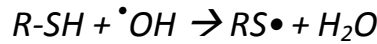
Hidrojen peroksit, $O_2^{\bullet-}$ ile reaksiyona girerek $\bullet OH$ oluşturur. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilmektedir.



Haber-Weiss reaksiyonu genellikle fizyolojik durumlarda yavaştır. Fakat geçiş metalleri, metal şelatörler veya hemoproteinlerin varlığında bu reaksiyon hızlı oluşur. Bu durum Fenton reaksiyonu olarak tanımlanır. Biyolojik sistemlerde demir benzeri geçiş metalleri, demir içeren maddeler (transferrin, laktoferrin, hemoglobin, adenozin, 5'-difosfat ferrin iyon) mevcuttur. $O_2^{\bullet-}$ ferrik demiri (Fe^{+3}), ferröz demire (Fe^{+2}) indirger. Bu sırada H_2O_2 , OH^- 'ne dönüşür.



Hidroksil radikali tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri ($RS^\bullet$), karbon merkezli organik radikaller ($R^\bullet$), organik peroksitler ($RCOO^\bullet$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur.



2.5.4. Serbest Radikallerin Etkileri

Toksik etkileri olan serbest radikaller, hücresel makro moleküllerden lipidler başta olmak üzere DNA, protein ve karbonhidratlarla reaksiyona girerler. Bu reaksiyon sonucunda serbest radikaller protein modifikasyonu, lipid peroksidasyonu ve DNA parçalanmalarına bağlı olarak hücre ölümlerine neden olmaktadır [141].

Normal koşullar altında üretilen ROS'ların %1 kadarı antioksidan savunma sisteminden kaçarak peroksidatif hasarlara dolayısıyla bazı hastalıklara ve yaşlanmaya yol açmaktadır [142]. Serbest radikallerin savunma mekanizmasının kapasitesini aşacak oranlarda oluşması durumunda oksidan stresin neden olduğu etkiler hücreyi apoptoz veya nekroz ile ölüme götürür [143].

2.5.5. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Hücrel makro moleküllerin çoğu serbest radikallerden etkilenir ancak lipidler serbest radikallere karşı en hassas olanlardır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Poliansature yağ asitleri (PUFA)'nın oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu şeklinde devam eder ve oldukça zararlıdır. Bu reaksiyon serbest radikallerin PUFA'nın yan zincirlerindeki metillenmiş karbonlardan hidrojen atomları koparmasıyla başlar. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle de son bulur. Bu ürünlerden başlıcaları 4-HNE ve MDA'dır. Bunlar peroksidasyonun ikincil ürünleridir. 4-HNE, proteinlere konjuge olmak için sistein, lizin ve histidin rezidüleri ile etkileşir ve aminoasit modifikasyonlarına neden olur. MDA ise, membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olmakta, membranın bazı özelliklerini değiştirmektedir. Dolayısıyla MDA hücre ve dokulardaki oksidatif hasarın bir göstergesidir. MDA'nın TBA ile reaksiyonu sonucunda TBARS meydana gelmektedir. Bu testin pratik olması ve ürünlerinin çoğunun MDA olması nedeniyle lipid peroksidasyonunun tespit edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Lipid peroksitlerinin hücre yaşamı için en önemli etkileri, membran yapısında ve hücre bölünmesinde meydana getirdikleri membran akışkanlığının azalması, membran potansiyelinin düşmesi, H^+ ve diğer iyonların geçirgenliğinin artması gibi meydana getirdiği değişimlerdir [144-147].

2.5.6. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Serbest radikallerin üretimine neden olan tüm reaksiyonlar ve ajanlar protein oksidasyonuna yol açabilmektedir. Serbest radikallerin proteinler üzerindeki hasarı, iyonize radyasyon, metal iyon-katalizli reaksiyonlar, fotokimyasal prosesler ve enzim katalizli redoks reaksiyonları ile başlatılabilmektedir. Oluşacak bu hasarın derecesi ise proteinin yapısında bulundurduğu aminoasit bileşenleri ile yakından ilişkilidir. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Glutatyon redüktaz ve gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz gibi reaktiviteleri için bu aminoasitlere bağımlı olan enzimler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenecek şekilde inhibe edilirler. Aminoasitlerin oksidasyonu proteinlerde fragmentasyon, agregasyon ve proteolitik yıkıma duyarlılık gibi fiziksel değişikliklere neden olmaktadır [148].

2.5.7. Serbest Radikallerin Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri

DNA yapısında oksidatif hasara sebep olan pek çok faktör vardır. İyonize radyasyon, artmış oksijen konsantrasyonu, XO ve çeşitli kimyasallar aşırı radikal oluşumuna neden olurlar. Dış yörüngelerinde bulunan eşleşmemiş elektronlardan dolayı son derece reaktif olan serbest radikaller DNA ile kolayca etkileşerek,

oksidatif baz modifikasyonu ve DNA zincir kırılmalarına yol açarlar. DNA yapısındaki pürin ve pirimidin bazlarında parçalanma sonucu DNA'nın denatürasyonu şekillenir. Yine hücre içinden ve dışından kaynaklanan H₂O₂ membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açmaktadırlar. Bir diğer radikal hasarı ise tek ve çift sarmal DNA zincir kırılmalarıdır. En reaktif serbest oksijen radikali olan OH[•]'nin DNA ile etkileşmesi sonucunda meydana gelir [149-152].

2.5.8. Serbest Radikal Olarak Nitrik Oksit

Bir serbest radikal olarak NO[•] hücre içi redoks ortamını değiştirebilme yeteneğindedir. Düşük miktardaki NO[•] hücre içi ROS'ları azaltırken, NO[•]'nin kontrolsüz üretimi, proteinlerin nitrolizasyonu, DNA kırılmaları ve diğer moleküler etkileşimler ile beyin dokusunda hasar oluşmasına neden olabilir [153].

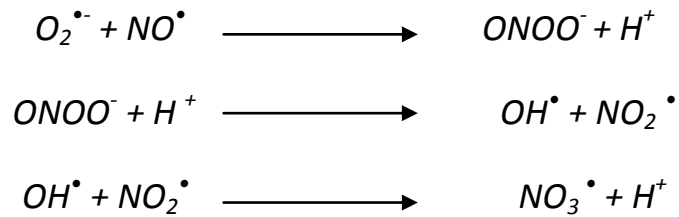
Bazı durumlarda NO[•], bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Özellikle lipid radikallerle tepkimeye girmesi NO[•]'ya antioksidan bir etki kazandırır.

Bu etkisini;

- Ekstrasellüler SOD,
- Heme-oksjenaz (bilirubin yapımını katalize ederek O₂^{-•} 'i azaltır),
- Ferritin (ferrik demir iyonlarını bağlayarak O₂^{-•} oluşumunu azaltır)

yapımını artırarak gösterir [154].

Bununla birlikte O₂^{-•} düzeylerinin arttığı durumlarda O₂^{-•}'le reaksiyona girer ve bir prooksidan olan ONOO⁻'i oluşturur [155]. Bu güçlü bir oksidandır ve oksidatif strese katkıda bulunur. Normal koşullarda ONOO⁻ oluşumu sınırlıdır, çünkü SOD, O₂^{-•} ile etkileşimde NO ile yarışır. Ancak iNOS etkisiyle hücre içi NO[•] düzeyi yükseldiğinde ONOO⁻ oluşumu baskın hale gelir. ONOO⁻ ve onun serbest radikal ürünleri, serbest tiyol gruplarını oksitleyerek, lipid peroksidasyonu ve protein hasarını artırır [154]. Tiyol gruplarının oksidasyonu yoluyla direkt sitotoksik etki gösteren ONOO⁻, çeşitli nitrojen oksit radikallerini ve OH[•] oluşturarak dekompoze olabilir [156].



2.5.9. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması vardır. Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinir [142]. Hem hücre içinde hem de hücre dışında oluşan radikallerin zararlı etkileri antioksidan savunma sistemi elemanlarının ortaklaşa çalışmaları sonucu ortadan kaldırılır [157].

Antioksidanların fonksiyonelliği temel olarak aşağıdaki durumlarla açıklanabilir:

- **Onarım etkisine sahip antioksidanlar;** etkilerini serbest radikallerin oluşturdukları hasarı onararak gösterirler.
- **Zincir kırıcı antioksidanlar;** etkilerini serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyerek yaparlar.
- **Baskılayıcı antioksidanlar;** etkilerini serbest oksijen radikalleri ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya aktif olmayan şekle dönüşme şeklinde gösterirler.
- **Yok edici antioksidanlar;** etkilerini serbest radikalleri etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirme yoluyla yaparlar.

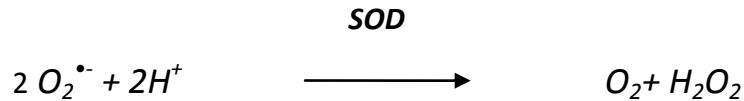
Genel olarak antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olabilirler.

Endojen antioksidanlar:

Endojen antioksidanlar ise kendi içerisinde enzim ve enzim olmayanlar olarak iki sınıfa ayrılırlar.

Enzimatik antioksidanlar:

Süperoksit Dismutaz: SOD $O_2^{\bullet-}$ 'in, H_2O_2 ve O_2 dönüşümünü katalizleyen antioksidan bir enzimdir.



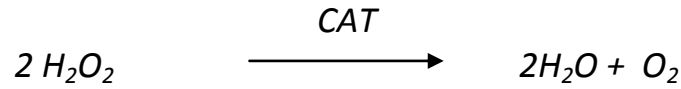
Bu reaksiyon spontan olarak da meydana gelebilir ancak SOD enzimi ile katalizlendiğinde reaksiyon hızı 10^4 kat daha artar. Ökaryotlarda bu enzimin üç adet izoenzimi vardır. Bunlar taşıdıkları metaller ve lokalizasyonlarına göre; Cu/Zn- SOD ve Mn-SOD şeklinde gruplara ayrılırlar. Kofaktörleri bakır ve çinko olan Cu/Zn-SOD intraselüler olarak sitoplazma, çekirdek ve lizozomlarda ekstraselüler olarak ise plazma membranlarında ve hücre dışı sıvıda tespit edilmiştir. Bu enzimin aktivitesinden Cu, stabilizesinden ise Zn sorumludur.

Mn-SOD mitokondrial bir izoenzimdir ve indüklenebilir yapıdadır. Yani $O_2^{\bullet-}$ yapımının artması ile bu enziminde transkripsiyonu, dolayısıyla üretimi artmaktadır.

Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer Cu/Zn-SOD' dur. Bu SOD izomerlerinin katalizlediği reaksiyonlar aynıdır. Bunların dışında kofaktörleri demir ve nikel olan SOD (Fe-SOD ve Ni-SOD) enzimleri de saptanmıştır.

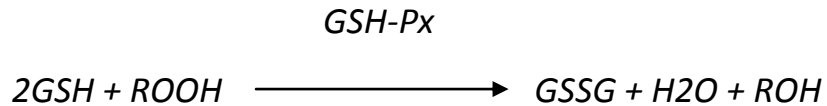
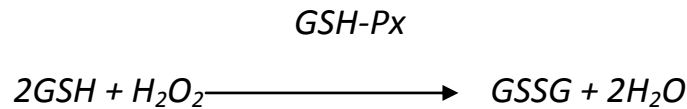
SOD' un fizyolojik fonksiyonu hücreleri, $O_2^{\bullet-}$ 'nin lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin hücre içi öldürülmesinde de rol oynamaktadır. SOD aktivitesi, oksijen tüketiminin fazla olduğu dokularda fazladır ve doku parsiyel oksijen basıncının artmasıyla artmaktadır. Bunun yanı sıra hücre dışı aktivitesi ise çok düşüktür [134, 158].

Katalaz: Yapısında dört tane hem grubu içerdiğinden hemoprotein olarak kabul edilen CAT, hemen hemen oksijen kullanan bütün canlı organizmalarda bulunan bir enzimdir. Esas olarak peroksizom ve mitokondrilerde lokalizedir. Katalazın fonksiyonu, H_2O_2 'i su ve O_2 'ye parçalamaktır. En yüksek turnover sayısına sahip enzimlerden biri olan CAT, saniyede 40 milyon H_2O_2 molekülünü daha az reaktif olan O_2 ve suya dönüştürebilmektedir [158].



H_2O_2 seviyesinin düşük olduğu durumlarda, organik peroksitler tercihen peroksidazlar tarafından metabolize edilirken, H_2O_2 konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda CAT tarafından metabolize edilirler [159].

Glutatyon Peroksidaz: GSH-Px (EC 1.11.1.9 ve EC 1.11.1.12) H_2O_2 veya organik hidroperoksitlerin su veya alkollere indirgenmesini sağlayan reaksiyonları katalizleyen bir enzim ailesinin genel adıdır. Elektron donoru olarak indirgenmiş GSH'yı kullanır.



Memelilerde dört tane majör selenyum bağımlı GSH-Px izozimi bulunmaktadır. Bunlar; a) eritrosit, karaciğer, akciğer ve böbreklerde bulunan klasik GSH-Px (GPx1), b) gastrointestinal GSH-Px (GPx2), c) böbrek, akciğer, epididimis, plasenta, kalp ve kas gibi farklı organlarda bulunan plazma GSH-Px (GPx3), d) farklı dokularda geniş

bir şekilde dağılmış olan fosfolipid GSH-Px (GPx4 veya PHGPx4)' tir. GPx1,2 ve 3 bir homotetramer olarak davranırken, GPx4 bir monomer olarak fonksiyon görür. GSH-Px enzimleri ayrıca sitoplazma, nükleus ve mitokondri gibi farklı hücre içi lokalizasyonlara da sahiptir [160, 161].

Eritrositlerde GSH-Px oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Vücudun tüm doku ve hücrelerinde bulunmakla birlikte beyindeki aktivitesi diğer bazı dokulara göre daha azdır. Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz adı verilen enzim ise membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger. Membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar[157, 158].

Enzim olmayan endojen antioksidanlar:

Enzim olmayan endojen antioksidanlar melatonin, seruloplazmin, transferrin, haptoglobulin, ferritin, bilirubin, GSH, sistein, metiyonin, ürik asit, albumin, laktoferrin, eritrosit ve glikoz olarak sayılabilir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik, Histoloji ve Embriyoloji ve Deney Hayvanları Ünitesinde gerçekleştirilen çalışmamızda 80 adet 2 aylık erkek Wistar sıçan kullanılmıştır.

3.1. Gruplandırma

Her grupta 20 hayvan olacak şekilde 4 grup oluşturulmuştur. Gruplar ise kendi içerisinde kısa (akut) ve uzun (kronik) süreli elektromanyetik radyasyon (EMR)'a maruz bırakılan sıçanlar ve onların kontrol grubu olmak üzere ikiye ayrılmıştır.

Grup 1: 1 haftalık Kontrol grubu (S1)

Grup 2: 1 haftalık EMR grubu (E1)

Grup 3: 10 haftalık Kontrol grubu (S10)

Grup 4: 10 haftalık EMR grubu (E10)

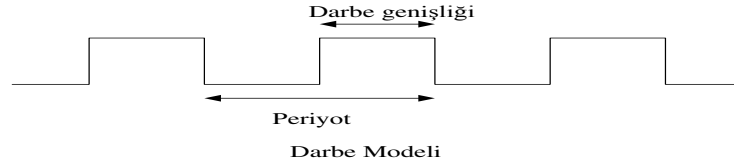
3.2. Deney Protokolü

100 günlük deney süresi boyunca, hayvanlar her kafeste 4 sıçan olacak şekilde, 12 saatlik aydınlık/karanlık siklusunda tutulmuşlardır. Bu süre içinde hayvanlar, ticari sıçan yemi ve musluk suyu ile doyana kadar beslenmiştir.

Elektromanyetik radyasyon sistemi:

Araştırmada kullanılmış olan radyo frekans (RF), 1800-2200 MHz frekans bölgesinde yoğunlaşmış olan üçüncü nesil (3G) cep telefonu haberleşmesinde kullanılan 2100 MHz frekans değeridir. Hayvan deneylerinde kullanılmak üzere söz konusu frekans için cep telefonu benzetimi sağlayacak simülatör cihaz 217 Hz darbeler üretecek (Şekil 3.1) ve çıkış gücü 0-2 W aralığında ayarlanabilir olacak şekilde tasarlanmıştır.

Radyo frekans EMR maruziyeti için alan seviyelerinin ölçümünde Akdeniz Üniversitesi, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü, Mikrodalga Laboratuar alt yapısında mevcut olan EMR ölçüm cihazları kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Cep telefonları için tipik modülasyon sinyali

Kullanılan frekans için kaynak çıkış gücü cep telefonlarının yaydığı güç değerleri dikkate alınarak seçilmiş olup 1.5 W değerindedir. Seçilen güç değerinde antenden yayılan elektrik alan şiddetlerinin zamana bağlı değişimi ve bu elektrik alan şiddetlerinin, sıçanların vücutlarında indükledikleri SAR değerleri hesaplanmıştır (Tablo 3.1).

$$SAR = \sigma |E|^2 / \rho$$

Burada SAR, birim dokuda depolanan güç (W/kg), E (V/m) dokuda indüklenen elektrik alan şiddetinin etkin değeri (rms), σ (S/m) dokunun iletkenliği ve ρ (kg/m³) ise doku yoğunluğudur. Dokuların ilgili frekanslardaki elektriksel parametreleri literatürde mevcuttur.

Deney hayvanlarının vücutlarına indüklenen SAR değerleri, maruz bırakılan kaynak güçleri için sıçan modelinde tüm vücut ve lokal vücut kısımları için hesaplanacaktır. Hesaplamalarda analitik ve nümerik teknikler kullanılacaktır. Deneyde kullanılan düzenek, birden fazla sıçan sığabilecek şekilde oluşturulmuş ve Şekil 3.2. de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. 2100 MHz Pulse MOD 3G Işıma Ölçümü (Sıçan başının antene olan uzaklığına göre hesaplanmıştır)

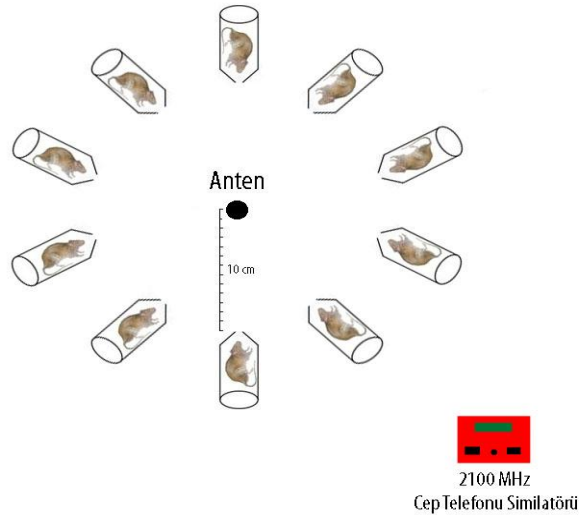
Mesafe (cm)	Elektrik alan şiddeti (V/m)
10	35,20
11	30,90
12	27,15
13	24,60
14	22,70
15	21,10
16	19,46
17	18,20
18	16,90
19	15,30
20	13,90
21	12,70
22	11,20
23	11,00
24	10,80
25	10,09

Elektromanyetik radyasyon (EMR) uygulanması:

Hayvanlar tek bir sıçanın sığabileceği pleksiglas tüplere konulup, EMR üreten anten etrafına eşit mesafelerde (10 cm) radyal şekilde yerleştirilmiştir.

Deney süresince;

- S1 grubu; 1 hafta boyunca özel yapılmış olan pleksiglas tüpler içerisinde günde 2 saat bekletilmişlerdir.
- E1 grubu; 1 hafta boyunca özel yapılmış olan pleksiglas tüpler içerisinde günde 2 saat, 2100 MHz frekansında elektromanyetik radyasyon yayan anten etrafında 10 cm mesafede bekletilmişlerdir.
- S10 grubu; 10 hafta boyunca özel yapılmış olan pleksiglas tüpler içerisinde günde 2 saat bekletilmişlerdir.
- E10 grubu; 10 hafta boyunca özel yapılmış olan pleksiglas tüpler içerisinde günde 2 saat, 2100 MHz frekansında elektromanyetik radyasyon yayan anten etrafında 10 cm mesafede bekletilmişlerdir.



Şekil 3.2. Elektromanyetik radyasyon maruziyeti için kullanılan sistem

3.3. Görsel Uyarılma Potansiyellerinin Kaydedilmesi

Görsel uyarılma potansiyelleri ketamin/ksilazin anestezisi altında hayvanların kafalarına yerleştirilen iğne elektrotları (NE-223S, 5 mm Nihon Kohden) ile Biopac MP100 Data Acquisition cihazında kaydedilmiştir. Aktif ve referans elektrotlar bregmanın 0,5 cm arkasına ve önüne toprak elektrodu ise hayvanların kuyruklarının üzerine konulmuştur. Flaş uyarısı Nova-Strobe AB stroboskobu ile hayvanların pupillalarının tümü aydınlatılacak şekilde 15 cm mesafeden uygulanmış ve flaş

uyarısı saniyede bir kere ve en düşük şiddette (0,1 Joule) olacak şekilde ayarlanmıştır.

Flaşla oluşturulan görsel uyarılma potansiyelleri (FVEP) sağ ve sol göz olmak üzere monooküler uyarılarla kaydedilmiştir. Deney süresince flaş verilmeyen diğer göz bir pamuk ve karbon kâğıdı yardımıyla kapatılmıştır. Bu esnada hayvanların vücut sıcaklıkları ısıtıcı yardımı ile 37 ile 38,5 °C arasında sabit tutulmuştur. Çalışmada kullanılan cihazın amplifikatörünün frekans limitleri, 1 Hz- 3 kHz, kazancı 10000x, analiz zamanı 300ms olarak ayarlanmış olup, FVEP'ler 100 kez ortalama alınarak kayıtlanmıştır.

VEP'lerin tekrarlanabilirliğini sağlamak amacıyla her kayıt en az iki kez alınmıştır. İzoelektrik çizginin üzerindeki potansiyel tepeler negatif (N), altındaki çukurlar pozitif (P) olarak kabul edilmiştir. Tepe latensleri stimulus artifaktından itibaren milisaniye (ms) birimiyle, birbirini izleyen ters polaritedeki dalgaların genlikleri tepeden-tepeye mikrovolt (μ V) birimiyle hesaplanmıştır.

3.4. Biyokimyasal Yöntemler

VEP kayıtlarının alınmasının ertesi günü ürethan anestezisi (i.p. %20'lik, 5ml/kg) altında kardiyak kanül yerleştirilmiştir. Kanül aracılığıyla verilen heparinli izotonik ile beyin dokuları perfüze edilerek kandan arındırılmıştır. Beyin dokuları sıvı nitrojen içerisinde dondurulmuş ve ardından 1 mM EDTA içeren 50 mM soğuk K_2HPO_4 (pH = 7) tamponunda, buz üzerinde homojenize edilerek (PRO 200 Homogenizater, PRO Scientific Inc., Connecticut, USA), biyokimyasal parametrelerin ölçümleri için -80 °C' de saklanmıştır

3.4.1. Doku Tiobarbütirik Asit Reaktif Ürünlerinin Ölçümleri

Beyin dokularında TBARS ölçümleri, Wasowicz ve arkadaşlarının yöntemine göre yapılmıştır [162]. Bu metodun temel prensibi, lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA'nın, TBA ile reaksiyona girmesi ve oluşan bileşiğin bütanol fazına ekstrakte edilerek 525 nm eksitasyon ve 547 nm emisyon dalga boyunda spektrofotometrik olarak okunması esasına dayanır.

Kullanılan Malzemeler:

1. 29 mM TBA (TBA, Sigma-T5500): 0.418 g, 50 ml distile su ve 50 ml glacial asetik asit(Acetic acid glacial extra pure, Merck-56) içinde çözülmüştür.
2. 5 M Hydrochloric acid (HCl , Merck-314)
3. n-bütanol (n-Bütanol, Merck-329)
4. Standart solüsyonu: Tetraetoksipropan (1,1,3,3-tetraethoxy-propane, Sigma-T9889) stok solüsyonundan distile su ile sulandırılarak hazırlanmıştır.

Perfüze edilerek çıkarılan ve -80 °C' de saklanan beyin dokularının bir hemisferi randomize olarak TBARS ölçümleri için ayrılmış ve ayrılan beyin dokuları 1 mM EDTA içeren 50 mM soğuk K_2HPO_4 (pH= 7) tamponunda buz üzerinde (Biofuge15R, Heroeus, Germany) homojenize edilmiştir. Süpernatantlar

homojenatların 4 °C'de, 10000 x g'de, 15 dakika, santrifüj edilmesiyle elde edilmiştir.

Bir ml distile su içeren tüpe 50 ml doku süpernatantı konulduktan sonra, 1 ml TBA (29 mmol/L) eklenmiştir. Tüp iyice karıştırıldıktan sonra, 1 saat süreyle 95- 100 derece arasında kaynatılmıştır. Numuneler soğutulduktan sonra 25 ml HCl (5 mol/L) ve 3.5 ml n-bütanol eklenerek vortekslenmiş ve bu işlemi takiben 3000xg'de 10 dakika santrifüj edilerek, bütanol fazı ayrılmıştır. Bütanol ekstraktının floresansı, eksitasyon dalga boyu 525 nm, emisyon dalga boyu 547 nm olarak spektrofotometrede okunmuştur.

TBARS miktarının hesaplanması: 1,1,3,3,-tetra-etoksi-propan standardı numune gibi çalışılarak standart grafiği oluşturulmuştur. Dokuların TBARS miktarı bu grafik yardımıyla hesaplandıktan sonra µmol/g protein olarak saptanmıştır.

3.4.2. Protein Tayini

Beyin dokularında protein tayini modifiye Bradford yöntemine dayanan bir kit ile yapılmıştır [163].

Reaktifler:

1. Standart solüsyon: 2µg/µl bovin serum albümin (Albümin Bovine, Sigma, A- 8022)
2. Coomassie Plus Protein Assay Reagent (CPPA, Pierce-1856210) Reaktifi

İşlemler: 1µl doku süpernatantı 999µl distile su ile sulandırıldıktan (1:1000) sonra üzerine 1 ml CPPA reaktifi eklenerek absorbans 595 nm'de spektrofotometrik olarak okunmuştur. Standart çalışması ise numune yerine artan konsantrasyonlarda 1:1000 sulandırmaya sahip BSA kullanılarak yapılmıştır.

Protein Miktarının Hesaplanması: Dokulardaki protein miktarları standart grafiği kullanılarak hesaplanmıştır.

3.4.3. 4-Hidroksi 2- Nonenal Seviyesinin Tayini

Beyin dokularında 4-HNE eklentilerinin tayini dokuya uyumlu ticari bir kit (Cat. #STA-338. OxiSelect™ HNE Adduct ELISA Kit) kullanılarak yapılmıştır.

Prensip: Protein örneklerindeki 4-HNE eklentilerinin miktarı kit yardımıyla ölçülen absorbans değerlerinin bilinen 4-HNE-BSA standart eğrisi ile karşılaştırılması prensibine dayanarak belirlenmiştir. Bu amaçla BSA standart ya da protein örnekleri (10 µg/mL) kuyucuklara uygulanarak 2 saat süreyle 37 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra 4-HNE protein eklentilerinin tespiti için kuyucuklar sırasıyla anti-HNE antikoru ve HRP konjuge sekonder antikoru ile muamele edilmiştir. EIA kiti ile yapılan ölçüm sonrasında örneklerdeki 4-HNE miktarı standart eğri kullanılarak µg/ml doku olarak hesaplanmıştır.

Reaktifler:

1. 96 kuyucuklu protein bağlayıcı plate
2. Anti-HNE antikor (1000x)
3. Sekonder Antikor, HRP konjuge (1000x)
4. Assay diluent
5. 10x yıkama tamponu
6. Substrat solüsyonu
7. Stop solüsyonu
8. Redükte BSA solüsyonu

Reaktiflerin hazırlanması:

- **1X yıkama tamponu:** 10X konsantre yıkama tamponu, 1X deionize su ile dilüe edilerek hazırlanmıştır.
- **Anti-HNE ve Sekonder antikor:** Kullanmadan hemen önce assay dilüent kullanılarak antikorlar 1:1000 oranında dilüe edilmiştir.

İşlemler: Öncelikle bilinmeyen protein örnekleri 10 µg/mL olacak şekilde 1X PBS' de dilüe edilip ardından 10 µg/mL protein örnekleri ve HNE-BSA standartlarından 100 µl kuyucuklara eklenip gece boyunca +4 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Her bir kuyucuk 250 µl 1 X PBS ile iki kez yıkanmıştır. Son yıkamanın ardından kuyucuklar boşaltılıp, fazla kalan yıkama solüsyonu mikrowell strip yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Her bir kuyucuğa 200 µl Assay dilüent eklenip oda sıcaklığında orbital karıştırıcı üzerinde 1-2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kuyucuklar 250 µl 1X yıkama tamponu ile üç kez yıkanmıştır. Son yıkamanın ardından kuyucuklar boşaltılıp fazla kalan yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır. Plate üzerinde kullanılmış olan bütün kuyucuklara 100 µl dilüe anti-HNE antikoru eklenip oda sıcaklığında orbital karıştırıcı üzerinde inkübasyona bırakılmıştır. Bir önceki yıkama işlemine göre tekrar üç defa yıkanmıştır. Kullanılan tüm kuyucuklara dilüe sekonder antikordan (HRP-konjuge) 100 µl eklenip, orbital karıştırıcı üzerinde oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kuyucuklar 250 µl 1X yıkama tamponu ile beş kez yıkanmıştır. Substrat solüsyonu oda sıcaklığına gelinceye kadar ısıtılıp boş kuyucuklar dâhil her bir kuyucuğa bu solüsyondan 100 µl eklenip oda sıcaklığında orbital karıştırıcı üzerinde 2 ile 30 dakika arasında inkübe edilmiştir. Son olarak enzim reaksiyonunu durdurmak için her bir kuyucuğa stop solüsyonundan 100 µl eklenerek, her bir kuyucuğun 450 nm'deki absorbansı zaman kaybı olmadan okunmuştur (Zamanla renk solması olacağından işlemin çok hızlı bir şekilde yapılması gerekmektedir).

3.4.4. Protein Karbonil Ölçümü

PC ölçümleri ticari bir kit (Cat. #10005020. Cayman Chemical Ann Arbor, MI) ile yapılmıştır [164].

Prensip: PC'ler dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile reaksiyona girerek shiff bazı oluştururlar ve son ürün olarak gösterilen protein hidrazon bileşikleri meydana gelir. 360-385 nm'de absorbans veren bu bileşikler aracılığı ile PC'ler spektrofotometrik olarak tayin edilir.

Reaktifler:

1. Hidroklorik Asit
2. DNPH
3. TCA Solüsyon
4. Guanidin Hidroklorit
5. Etanol
6. Etil Asetat

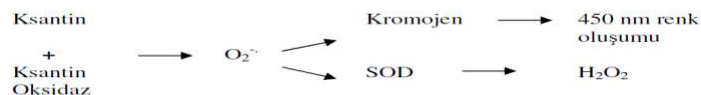
İşlemler: Dondurulmuş halde bulunan beyin dokuları 1 mM EDTA içeren 50 mM soğuk K_2HPO_4 (pH= 7) tamponunda, buz üzerinde homojenize edilip (PRO 200 Homogenizater, PRO Scientific Inc.,Connecticut, USA) 4 °C'de 10,000 g'de 15 dk santrifüj edilerek süpernatantı atılmıştır. Numuneden 400 µl alınarak, 200 µl bir tüpe (numune tüpü), kalan 200 µl ise diğer tüpe (kontrol tüpü) aktarılmıştır. Numune tüpüne 800 µl DNPH, kontrol tüpüne 800 µl HCl ilave edilerek 1 saat inkübe edilmistir. Daha sonra bütün tüpler sırası ile %20 ve %10 TCA eklenerek 5 dakika inkübe edilmiş ve her basamağın ardından 4 °C'de 10,000 g'de 10 dk santrifüj edilmistir. Pelet (1:1) etanol/etil asetat karışımı içerisinde resüspanse edilerek 4 °C'de 10,000 g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Bu basamak iki kere daha tekrarlanıp son yıkamadan sonra protein peletleri 500 µl guanidin hidroklorit içerisinde vortekslenerek resüspanse edilmiş ve 4 °C'de 10,000 g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Absorbanslar, plate reader'da 360-385 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Protein Karbonil miktarının hesaplanması: Kontrol örneklerinin ortalama absorbansı, numune örneklerinin ortalama absorbansından çıkartılarak elde edilen absorbans değerleri dilüsyon faktörü ile çarpılıp DNPH için 370 nm'de molar absorblama katsayısı ve (mg/ml) protein miktarına bölünerek hesaplanan PC miktarı µmol/mg olarak ifade edilmiştir.

3.4.5. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivite Tayini

Beyin dokularında SOD enzim aktivite tayini, ticari bir kit (Superoxide Dismutase Enzyme Assay Kit, Cayman-706002) ile yapılmıştır [165].

Prensip: Tayin kompetatif inhibisyon yöntemine dayanmaktadır. Bu yöntemde reaksiyon ortamında sürekli olarak $O_2^{\cdot-}$ oluşturan XO-hipoksantin sistemi mevcuttur. Bu sistemin açığa çıkardığı $O_2^{\cdot-}$ reaksiyon ortamına ilave edilen kromojeni indirger ve 450nm'de ölçülebilen renk oluşumuna neden olur. Dokularda ne kadar SOD enzimi varsa, renk oluşumu o kadar az olacaktır.



Reaktifler:

1. 10X Ölçüm Tampon
2. 10X Örnek Tamponu
3. Radikal Dedektör
4. SOD Standardı
5. Ksantin Oksidaz

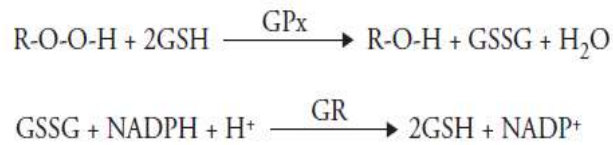
İşlemler: 3 ml ölçüm tamponu 27 ml distile su ile sulandırılarak 1X ölçüm tamponu, 2 ml örnek tamponu ise 18 ml distile su ile sulandırılarak 1X örnek tamponu hazırlanmıştır. Folyo kağıdı ile kaplanmış bir tüp içerisinde 50µl radikal detektör, 19,95 ml dilüe ölçüm tamponu ile sulandırılmıştır. Stok solüsyonu için 1,98 ml örnek tamponuna 20 µl SOD standardı eklenmiş ve yedi adet temiz tüp A'dan G' ye işaretlenerek farklı konsantrasyonlarda SOD standardı oluşturulmuştur. 50 µl ksantin oksidaz solüsyonu, 1,95 ml dilüe örnek tamponu ile sulandırılmıştır. Her standart ve her numune çift çalışılmıştır. 96'lı plate kuyucuklarına öncelikle 200 µl dilüe radikal detektör konulduktan sonra her bir standart için SOD standartlarından 10 µl , her bir örnek için ise 10 µl süpernatant ilave edilmiştir. Hazırlanmış olan dilüe ksantin oksidaz solüsyonundan her bir kuyucuğa 20'ser µl eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Plate birkaç saniye yavaşça çalkalandıktan sonra kapağı kapatılarak bir karıştırıcı üzerinde oda ısısında 20 dakikalık inkübasyona bırakılmıştır. Absorbanslar 450 nm'de bir plate okuyucu ile okunmuştur.

SOD enzim aktivitesinin hesaplanması: Dokulardaki SOD enzim aktivitesi oluşturulan SOD standart eğrisiyle hesaplanmıştır. Maksimum renk oluşumunu %50 inhibe eden SOD miktarı bir ünite SOD aktivitesi olarak kabul edilmiştir.

3.4.6. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Tayini

Beyin dokularında GSH-Px enzim aktivite tayini, ticari bir kit (Glutathione Peroxidase Assay Kit, Cayman-703102) ile yapılmıştır.

Prensip: GSH-Px, hidrojen peroksit veya organik hidroperoksitlerin suya veya alkolere indirgenmesini sağlayan reaksiyonları katalizleyen bir enzim ailesinin genel adıdır. Elektron donorü olarak indirgenmiş glutasyonu kullanır.



NADPH'in NADP⁺ 'ye oksidasyonu, 340 nm dalga boyunda meydana gelen absorbansda azalma ile sonuçlanır. GSH-Px aktivitesinin sınırlı olduğu koşullarda, 340 nm dalga boyundaki absorbansda meydana gelen azalma örnekteki GSH-Px aktivitesi ile doğru orantılıdır. Bu nedenle NADP⁺'nin enzim aktivitesiyle ortamdan uzaklaştırılması sonucu 340 nm'de absorbansın azalması ölçülmüştür.

Reaktifler:

1. GSH-Px Ölçüm Tamponu (10x)
2. GSH-Px Örnek Tamponu (10x)
3. GSH-Px (Kontrol)
4. GSH-Px Co-Substrat Karışımı
5. GSH-Px Kümen Hidroperoksit

İşlemler: 3 ml ölçüm tamponu 27 ml distile su ile sulandırılarak 1X ölçüm tamponu, 2 ml örnek tamponu ise 18 ml distile su ile sulandırılarak 1X örnek tamponu hazırlanmıştır. 10 µl enzim, 490 µl dilüe örnek tamponu ile sulandırılarak buz üstünde tutulmuştur (dilüe enzim buz üzerinde 4 saat stabil kalabilir). Reaktifler hazırlandıktan sonra arka plan veya non-enzimatik aktiviteyi ölçmek için plate üzerinde üç kuyucuğa 120 µl ölçüm tamponu, 50 µl co-substrat karışım, pozitif kontrol için ise üç kuyucuğa 100 µl ölçüm tamponu, 50 µl co-substrat karışımı ve 20 µl dilüe GSH-Px eklenmiştir. Örnek kuyucuklarına ise total miktar aynı olmak üzere 100 µl ölçüm tamponu, 50 µl co-substrat karışımı ve 20 µl örnek eklenmiştir. Tekrarlanabilir sonuçlar alabilmek için kuyucuklara eklenen GSH-Px miktarı, dakikadaki absorbans azalması 0,02 ve 0,135 arasında olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra kuyucukların tamamına Kümen Hidroperoksit hızlı bir şekilde eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Her bir dakikada 340 nm'deki absorbanslar plate reader yardımıyla okunmuştur.

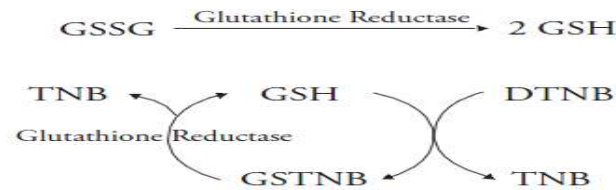
GSH-Px enzim aktivitesinin hesaplanması: GSH-Px enzim aktivitesi aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$GSH-Px \text{ aktivitesi} = \left(\frac{\frac{\Delta A_{340}}{dk}}{0,00373 \mu M^{-1}} \right) \times \left(\frac{0,19 ml}{0,02 ml} \right) \times \text{örnek dilüsyonu} = nmol/dk/ml$$

3.4.7. Glutatyon Tayini

GSH ölçümleri ticari bir kit (Cat. #703002. Cayman Chemical Ann Arbor, MI) ile yapılmıştır [164].

Prensip: GSH'nın sülfidril grubu, 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile reaksiyona girer ve ürün olarak sarı renkli 5-thio-2-nitrobenzoik asit (TNB) meydana çıkar. Oluşan TNB miktarı GSH oluşum miktarı ile orantılıdır. Bu nedenle 405 nm'de TNB miktarını tayin etmek GSH miktarının tam olarak ölçülmesini sağlar.



Reaktifler:

1. Metafosforik asit tamponu (MES, 2X)
2. GSSG standardı
3. Kofaktör karışımı
4. Enzim karışımı
5. DTNB
6. Trietanolamin reaktifi (TEAM, 4 M)
7. 2-Vinil-pridin (1 M)

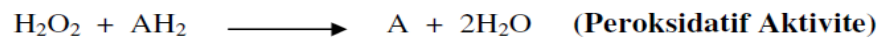
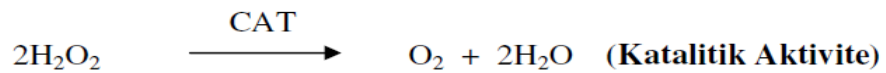
İşlemler: 150 µl doku süpernatantı içerisine 150 µl metafosforik asit (MPA) reaktifi ilave edilerek oda ısısında 5 dakika inkübe edilmiştir. Bu işlemi takiben 5000g'de 5 dakika santrifüj yapılarak her bir dokudan elde edilen süpernatantlar GSH ölçümleri için iki ayrı ependorf tüpe 100 er µl olacak şekilde aktarılmıştır. GSH ölçümü için 100 µl süpernatant üzerine 5 µl trietanolamine (TEAM) reaktifi ilave edilerek karıştırılmıştır. Karışımdan alınan 50 µl numune üzerine, MES (2-N-morfolin etansülfonik asit), kofaktör karışımı (NADP ve glukoz-6-fosfatın liyofilize formunu içerir), enzim karışımı (glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz içerir), DTNB (5,5'-ditiobis-2- nitrobenzoik asit) ve distile su içeren 150 µl ölçüm kokteyli ilave edilerek karanlıkta inkübe edilmiştir. 25 dakikalık inkübasyonu takiben 405 nm'de absorbans değerleri okunmuştur.

GSH Miktarlarının Hesaplanması: GSSG standardı aynen numune gibi çalışılarak standart grafiği oluşturulmuştur. Dokulardaki GSH bu grafik yardımıyla hesaplandıktan sonra µmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

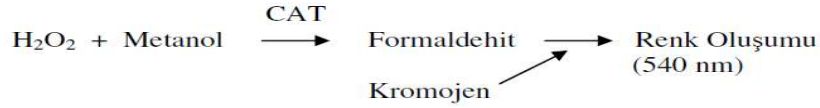
3.4.8. Katalaz Enzim Aktivite Tayini

Beyin dokularında CAT enzim aktivite tayini, ticari bir kit (Catalase Enzyme Assay Kit, Cayman-707002) ile yapılmıştır [166].

Prensip: Katalaz enziminin hem katalitik hem de peroksidatif aktivitesi mevcuttur. Katalitik aktivite H_2O_2 'yi O_2 'e ve suya çevirir. Peroksidatif aktivite ise düşük moleküler ağırlıklı alkollerini okside ederek suyu oluşturur.



H_2O_2 'yi parçalayan enzim yalnızca CAT değildir, ancak alifatik alkollerini substrat olarak kullanan tek enzim CAT'tır. Bu sebeple CAT enzim aktivite düzeyleri tayin edilirken enzimin peroksidatif aktivitesine bakılmıştır. Ortama alkol olarak metanol konulmuş ve oluşan formaldehit purpald denilen bir kromojen ile reaksiyona sokularak renk oluşumu tayin edilmiştir.



Reaktifler:

1. 10X Ölçüm Tampon
2. 10X Örnek Tamponu
3. Formaldehit Standardı
4. Kontrol CAT
5. KOH
6. Metanol
7. H_2O_2
8. Purpald (kromojen)
9. Potasyum Periyodat

İşlemler: 2 ml ölçüm tamponu 18 ml distile su ile sulandırılarak 1X ölçüm tamponu, 5 ml örnek tamponu ise 45 ml distile su ile sulandırılarak 1X örnek tamponu hazırlanmıştır. Liyofilize kontrol CAT, 2 ml örnek tamponunda çözülmüş ve vortekslenmiştir. Bu stok enzim solüsyonundan 100 µl alınarak 1,9 ml dilüe örnek tamponu ile sulandırılmıştır. Potasyum hidroksit (KOH) içerisine 4 ml soğuk distile su eklenerek vortekslenmiştir. 40 µl H_2O_2 , 9.96 ml distile su ile sulandırılmıştır. Formaldehit standartlarını hazırlamak için 10 µl formaldehit standart solüsyonu 9,99 ml örnek tamponu ile sulandırılmıştır. Hazırlanan CAT stok solüsyonundan örnek tamponu ile değişen konsantrasyonlarda 1'den 7'ye CAT standartları hazırlanmış, her standart ve her numune çift çalışılmıştır. 96 kuyucuklu plate kuyucuklarına öncelikle 100 µl dilüe ölçüm tamponu ve 30 µl metanol koyulmuştur. Daha sonra standart kuyucuklarına 20'şer µl hazırlanan standartlardan, pozitif kontrol kuyucuklarına 20'şer µl dilüe kontrol katalazdan ve numune kuyucuklarına da 20'şer µl süpernatantlardan eklenmiştir. Tüm kuyucuklara 20 µl dilüe H_2O_2 eklenmiş ve böylece reaksiyon başlatılmıştır. Plate birkaç saniye yavaşça sallandıktan sonra kapağı kapatılarak bir karıştırıcı üzerinde, oda ısısında, 20 dakikalık inkübasyona bırakılmış, Daha sonra reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 30 µl KOH eklenmiştir. Sonra her kuyucuğa 30 µl purpald eklenmiş ve plate kapağı kapatılarak oda ısısında, 10 dakikalık inkübasyona bırakılmıştır. Her kuyucuğa 10 µl potasyum periyodat eklendikten sonra plate kapağı kapatılarak oda ısısında, 5 dakikalık inkübasyona bırakılmıştır. Absorbanslar 540 nm'de bir plate okuyucu ile okunmuştur.

CAT Enzim Aktivitesinin Hesaplanması: Dokulardaki CAT enzim aktivitesi oluşturulan standart eğri ile hesaplanmıştır. Bir ünite CAT aktivitesi, 1 dakikada oluşan µmol formaldehit olarak kabul edilmiştir.

3.4.9. Nitrit/Nitrat Tayini

Toplam nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) miktarı Griess metodunu esas alan ticari kolorimetrik kit (Cayman 780001) aracılığı ile ölçülmüştür [167].

Prensip: Dokuda bulunan total NO miktarı, *in vivo* son ürünleri NO_2^- ve NO_3^- miktarının toplamı olarak ifade edilmektedir. NO_2^- ve NO_3^- oranları değişkendir ve mutlak ölçümleri mümkün değildir. Bu nedenle total NO üretimi NO_2^- ve NO_3^- miktarlarının toplamı olarak ifade edilmektedir. NO ölçümü için kullanılan kit iki aşamalı bir yöntemle total nitrit/nitrat konsantrasyonunu ölçmektedir. İlk basamakta nitrat redüktaz enzimi ile NO_3^- , NO_2^- 'e dönüştürülür. İkinci basamakta ise ortama eklenen Griess reaktifleri NO_2^- 'i koyu mor renkli bir azo bileşenine çevirir. Renkli bileşenin 540 nm'de ölçülen absorpsansı total NO_2^- miktarını vermektedir.

Reaktifler ve kimyasallar:

1. Homojenizasyon tamponu: 10 mM phosphate buffer saline (PBS, invitrogen- 00-3002) pH:7,4

Yöntem: 1g doku/10 mL olacak şekilde fosfat tamponu içine konulan beyin dokusu buz içinde homojenize edilmistir (Pro 200, Pro Scientific Inc.Oxford CT, USA.). Homojenizatlar 10.000 g'de 20 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlar 30 kDa'luk, ultrasantrifüj için uygun filtreler kullanılarak 100.000 g'de 1 saat daha santrifüj edilmistir. NO_3^- nin bilinen konsantrasyonlarının 540 nm'deki absorpsans değerleri kullanılarak nitrit standart grafiği elde edilmistir. Filtre edilen örnekler ile dilüsyon çalışması yapılarak, numunelerin standartlara ait konsantrasyon-absorpsans grafiğinin sınırları içinde olduğu doğrulandıktan sonra plate'e alınarak nitrat redüktaz enzimiyle oda ısısında 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. 3 saat sonunda plate'e Griess reaktifleri eklenmiş ve 10 dk oda ısısında bekletildikten sonra 540 nm'de spektrofotometrik olarak okunmuştur. Numunelerin NO_2^- içeriği standart grafiğine göre hesaplanmıştır. Sonuçlar protein değerleri ile normalize edilerek NOx miktarı $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein olarak ifade edilmistir.

3.5. Histolojik Analizler

İmmünohistokimya için ayrılan beyinlerden buz üzerinde izole edilen sıçan beyin dokuları derhal % 10'luk formaline (Formalin, ADR-Advanced Diagnostic Research 12010742500) alındı ve formalin içinde bir gece fikse edilmiştir. Daha sonra akan suda 3 saat boyunca yıkandı ve %70, %80, %90 ve %100'lük artan alkol serilerinden geçirerek dehidratasyon sağlanmıştır. Ksilol (Xylol, Merck-K33776585 441) ile şeffaflaştırma işlemi uygulandıktan sonra dokular parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan kesit aleti (Leica RM2125RT) ile alınan 5 mikron kalınlığında kesitler Poly-L-Lizin kaplı lamlara (Polysine; Menzel GmbH&Co KG, Brounschweig, Germany) alındıktan sonra, hematoksilin-eozin ve immünohistokimyasal boyama teknikleri uygulanmıştır.

3.5.1. Hematoksilin-Eozin Boyama

Hematoksilin-eozin boyama için ayrılan kesitler öncelikle 60°C'lik etüvde 20 dakika bekletildi. Daha sonra kesitler sırasıyla onar dakika ksillolde, beser dakika

azalan alkol serilerinde, son olarak da iki dakika çeşme suyunda bekletilmiştir. Bu yıkama işlemini takiben kesitler önce hematoksilene (Hematoxylin, Bio Optica-06002L), sonra çeşme suyundan geçirilerek eozine daldırılmıştır. Eozinden çıkarılan kesitler hızlıca artan alkol serilerinden geçirilmiştir, 15'er dakika ksilollerde bekletilmiştir. Son olarak kesitlerin üzeri kapama solüsyonu (Kausser's Glyseringelatine, Merck- KGaA) ile kapatılmıştır.

3.5.2. İmmünohistokimyasal Protokol

İn vivo deneyler için doku bloklarından alınan 5µm kalınlığındaki kesitler superfrost (manyetik olarak statik) lamalar üzerine alınarak 1 gece boyunca 37°C'lik etüvde bekletilmişlerdir. Deparafinizasyon için iki kere 10'ar dakika ksilollerden geçirilmiş ve her birinde 5 dakika olmak kaydıyla azalan (%100, %90, %80, %70'lik) alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilmiştir. Kesitler distile suda çalkalanmış ve fosfat tamponlu tuz çözeltisinde (PBS; pH: 7.2-7.4) üç kez 5 dakika yıkanmıştır. Antijenik maskelenmenin giderilmesi amacıyla, kesitler 200ml sitrat tamponuna (pH:6.0) konularak mikrodalga fırında 6 dakika 750W'ta kaynatılmış ve daha sonra mikrodalga fırını dışına alınan kesitler 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakılmışlardır.

Hidrofobik kalemle etrafı çizilen kesitler, distile sudan ve ardından PBS'ten 5'er dakika sürelerle geçirilmiş ve endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için metanolla hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 20 dk inkübe edilmişlerdir. İnkübasyonun ardından kesitler, PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkandıktan sonra spesifik olmayan immunoglobulin (Ig) bağlanmalarını önlemek amacıyla blokama solusyonu ile 5 dakika muamele edilmiştir. Blokama solüsyonu uzaklaştırılarak kesitler nNOS ve iNOS primer antikorumla + 4°C'de gece boyu inkübe edilmiştir. Kontrol kesitlerine ise primer antikor yerine izotip kontroller uygulanmıştır. Kesitler inkübasyon sonunda PBS ile üç defa beşer dakika yıkanmıştır.

Daha sonra sırasıyla, 30 dakika biyotinlenmiş anti- tavşan/ anti keçi sekonder antikoru ile inkübe edilerek 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkamanın ardından 20 dakika streptavidin peroksidaz kompleksi ile oda ısısında inkübe edilmiştir. Daha sonra 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkanan kesitler DAB ile 2-5 dk inkübe edilmiştir. Bütün bu işlemleri takiben kesitler distile suya alınıp, ardından Mayer hematoksilene ile 10 sn zıt boyama uygulanmış ve akar musluk suyunda yıkanmıştır. . LGN alanları krezil violet boyanması ile her bir denek için aynı aralıkta olduğu tespit edildikten sonra alınan seri kesitler gliserol jelatini ile kapatma solüsyonu kullanılarak kapatılmıştır. Ardından, Axioplan ışık mikroskopunda (Zeiss, Almanya) farklı gruplara ait beyin kesitlerindeki nNOS ve iNOS proteinlerinin dağılımları ve immünoreaktiviteleri tespit edilip incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

3.6. Sonuçların Değerlendirilmesi

İstatistiksel değerlendirme SPSS paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Her değişken için normallik testi uygulanmıştır. Normal dağılıma uyan veriler için parametrik olan Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve onu takiben Tukey Post Hoc Testi, uymayanlarda ise nonparametrik olan Kruskal Wallis Analizi ve onu takiben Mann-Whitney U Testi kullanılmıştır. $P<0,05$ 'i sağlayan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

4.1. Genel Görünüm

Deney süresince hayvanların genel görünüm ve davranışlarında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.

4.2. Ağırlık Değişimi

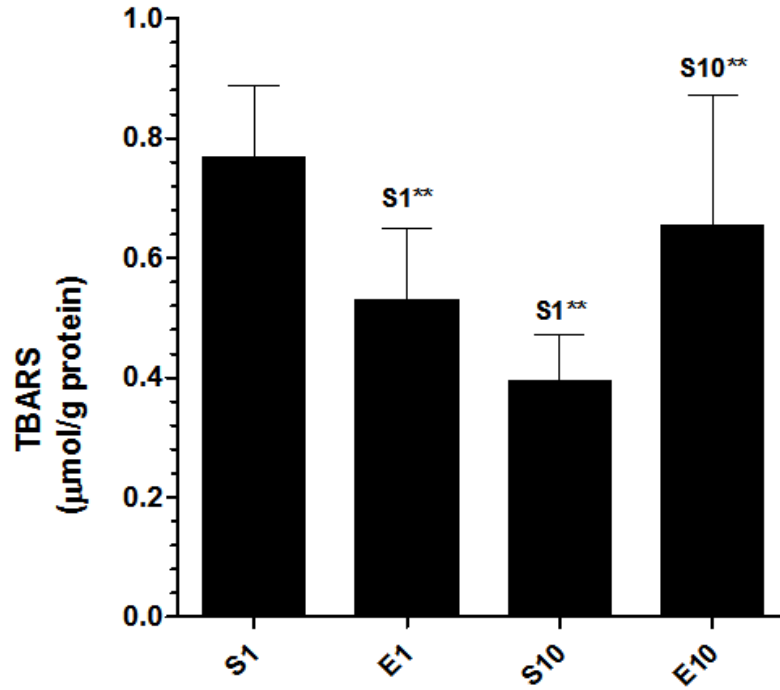
Deney süresi boyunca S10 ve E10 grubu hayvanlarının ağırlık takipleri haftalık olarak, S1 ve E1 grubu hayvanlarının ise ağırlık takipleri günlük olarak yapılmıştır. Tüm deney gruplarında ağırlık artışları gözlenmiştir, ancak ağırlık değişimlerinin gruplar arasında anlamlı bir fark göstermediği saptanmıştır.

Tablo 4.1. Sham ve deney grubu hayvanlarının ağırlık değişimleri.

Gruplar Süre	S1	E1	S10	E10
1.Hafta Vücut Ağırlığı (g)	180,54 ± 17,54	191,95 ± 3 6,31	139,90 ± 26,77	140,85 ± 27,94
2.Hafta Vücut Ağırlığı (g)			159,60 ± 27,98	163,40 ± 25,76
3.Hafta Vücut Ağırlığı (g)			166,35 ± 25,80	180,45 ± 24,99
4.Hafta Vücut Ağırlığı (g)			178,45 ± 26,46	198,40 ± 25,29
5.Hafta Vücut Ağırlığı (g)			185,20 ± 26,45	213,30 ± 30,41
6.Hafta Vücut Ağırlığı (g)			201,40 ± 23,88	230,70 ± 34,53
7.Hafta Vücut Ağırlığı (g)			208,30 ± 22,94	230,60 ± 36,86
8.Hafta Vücut Ağırlığı (g)			217,45 ± 25,57	234,95 ± 37,85
9.Hafta Vücut Ağırlığı (g)			217,50 ± 24,13	240,35 ± 39,09
10.Hafta Vücut Ağırlığı (g)			220,55 ± 22,79	244,45 ± 38,56

4.3. Doku Tiobarbitürük Asit Reaktif Ürünleri Sonuçları

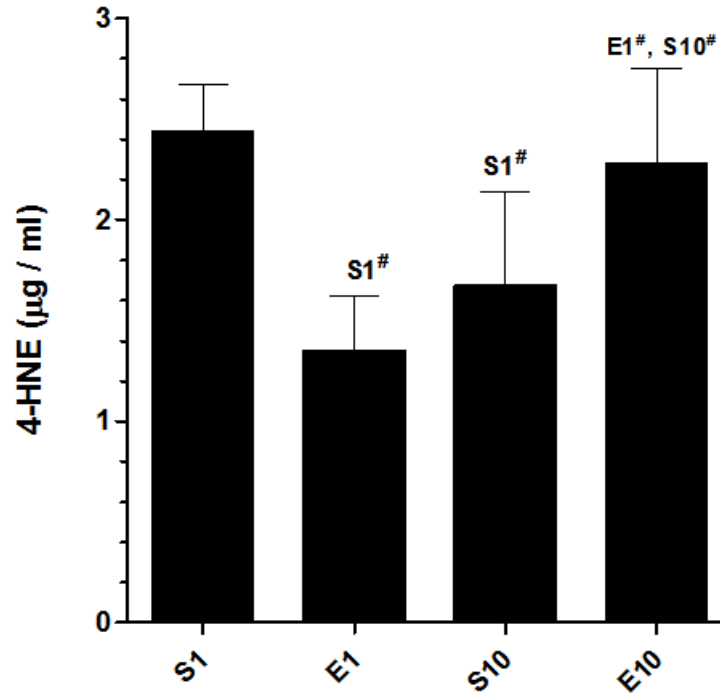
Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin TBARS sonuçları Şekil 4.1 ve Tablo 4.6' da verilmiştir. S1 grubu ile karşılaştırıldığında beyin TBARS değerlerinin E1 grubunda istatistiksel yönden anlamlı bir şekilde azaldığı göze çarpmıştır. S10 ile E10 grubu karşılaştırıldığında ise beyin TBARS sonuçlarının E10 grubunda fark edilir düzeyde arttığı tespit edilmiştir. S1, S10 ve E1, E10 gruplarının TBARS sonuçları kendi içlerinde karşılaştırıldığında S10 grubunda S1'e göre önemli bir azalış söz konusuyken, E10 ve E1 grupları arasında istatistiksel olarak bir farkın olmadığı görülmüştür.



Şekil 4.1. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin TBARS değerleri (n=8, sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. **: p < 0.01)

4.4. 4-Hidroksi 2- Nonenal Aktivitesi Sonuçları

Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin 4-HNE sonuçları Şekil 4.2 ve Tablo 4.6'da verilmiştir. S1 grubu ile karşılaştırıldığında beyin 4-HNE değerlerinin E1 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı dikkati çekmiştir. S10 grubu ile E10 grubu karşılaştırıldığında ise beyin 4-HNE sonuçlarının E10 grubunda fark edilir düzeyde arttığı saptanmıştır. S1 ile S10 ve E1 ile E10 gruplarının 4-HNE sonuçları kendi içlerinde karşılaştırıldığında S10 grubunda S1'e göre istatistiksel olarak önemli bir azalış söz konusuyken, E10 grubunda E1'e göre anlamlı bir artış bulunmuştur.



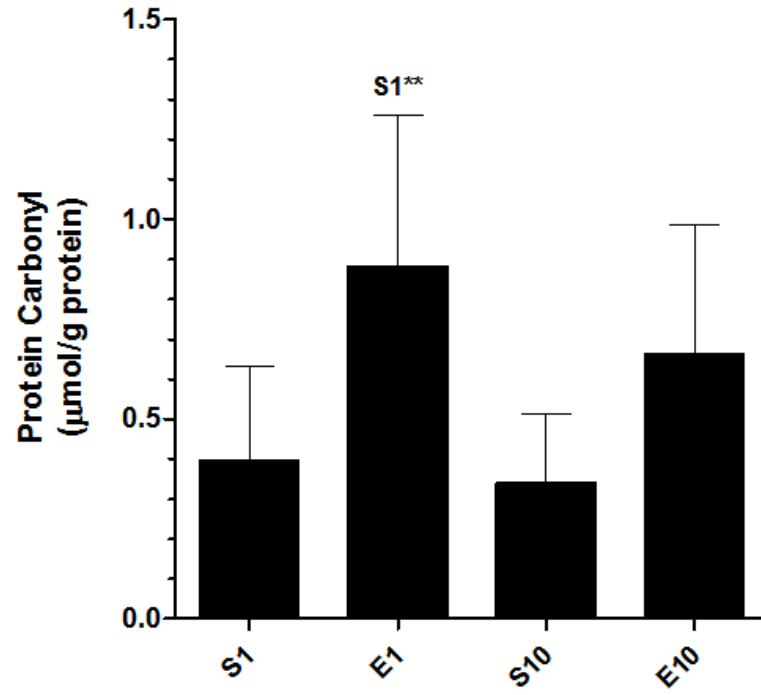
Şekil 4.2. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin 4-HNE değerleri (n=10, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$)

4.5. Protein Karbonil Sonuçları

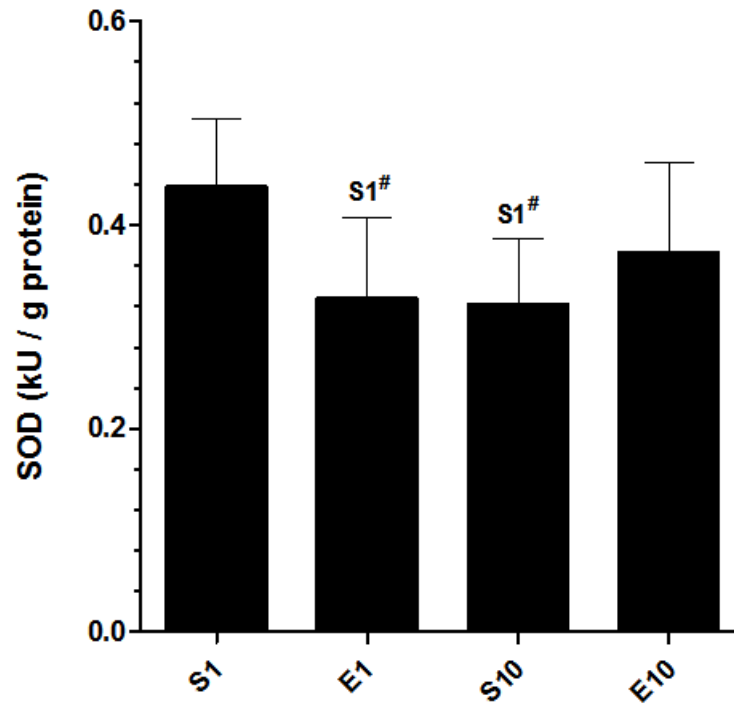
Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin protein karbonil değerleri Şekil 4.3 ve Tablo 4.6' da verilmiştir. S1 grubu ile karşılaştırıldığında beyin PC değerlerinin E1 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. S10 ile E10 grupları karşılaştırıldığında ise, E10 grubunda PC değerleri arasında istatistiksel olarak bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Yine gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde ise S1 ile S10 ve E1 ile E10 arasında da istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı saptanmıştır.

4.6. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktiviteleri Sonuçları

Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin SOD aktiviteleri Şekil 4.4 ve Tablo 4.6' da verilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda beyin SOD aktivitelerinin, E1 grubunda S1 grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı izlenirken, E10 ve S10 gruplarının SOD aktivitesinin istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık göstermediği saptanmıştır. S1 ile S10 ve E1 ile E10 gruplarının SOD aktiviteleri değerlendirildiğinde ise S10 grubunda S1'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ancak, E10 ve E1 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



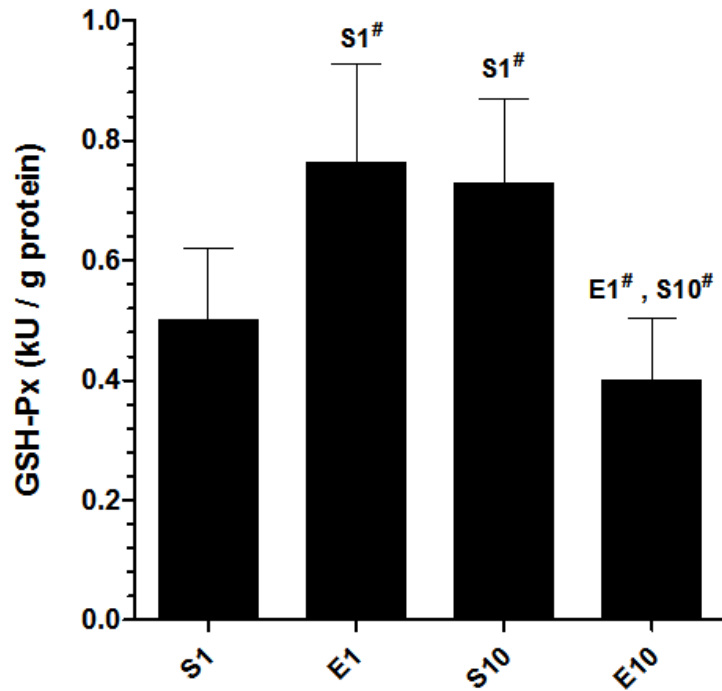
Şekil 4.3. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin PC değerleri (n=6, sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. **: p < 0.01)



Şekil 4.4. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin SOD aktiviteleri (n=14, sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. #: p < 0.001)

4.7. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Sonuçları

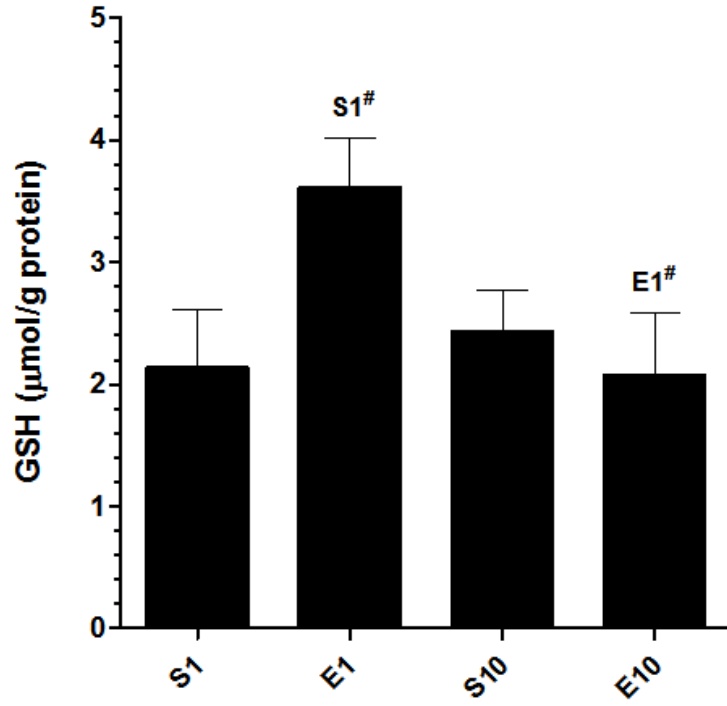
Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin GSH-Px aktiviteleri Şekil 4.5 ve Tablo 4.6’da verilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda beyin GSH-Px aktivitelerinin E1 grubunda S1 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı izlenmiştir. 10 haftalık sham ve deney grubu hayvanlarının GSH-Px aktiviteleri karşılaştırıldığında ise E10 GSH-Px aktivitelerinin E10 grubunda fark edilir düzeyde azaldığı görülmüştür. S1 ile S10 ve E1 ile E10 gruplarının GSH-Px aktiviteleri değerlendirildiğinde ise S10 grubunda S1’e göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış, E10 grubunda ise E1’e göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur.



Şekil 4.5. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin GSH-Px aktiviteleri (n=8, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$)

4.8. Glutasyon Sonuçları

Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin GSH değerleri Şekil 4.6 ve Tablo 4.6’da verilmiştir. 1 haftalık sham ve deney gurupları arasında yapılan değerlendirme sonucunda E1 grubunun GSH değerlerinin S1 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı saptanmıştır. 10 haftalık guruplar (S10 ve E10) arasında yapılan karşılaştırmada ise gurupların GSH değerleri arasında herhangi bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Deney gurupları ve sham gurupları kendi içlerinde değerlendirildiğinde ise E10 grubu değerlerinin E1 grubu değerlerine göre azaldığı izlenirken S10 ve S1 gurupları arasında herhangi bir fark bulunmamıştır.



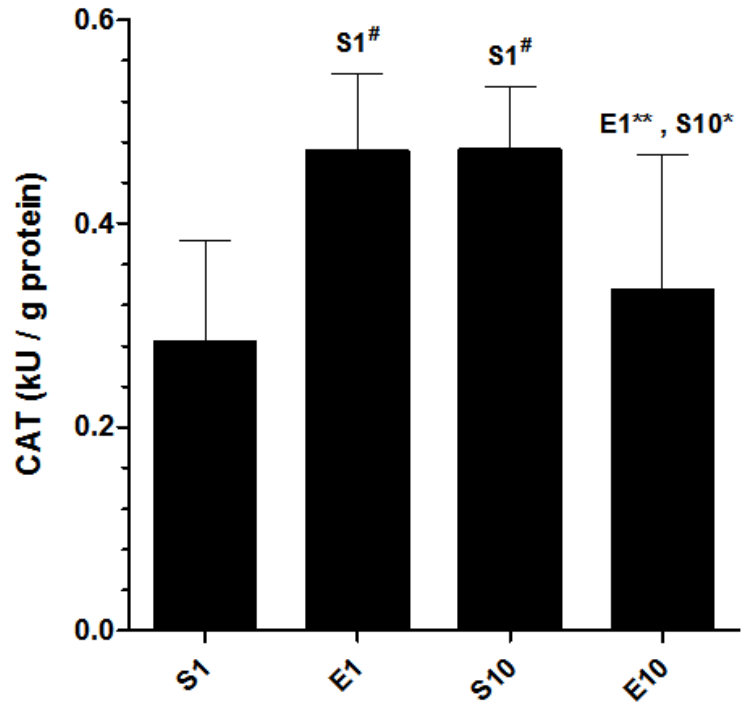
Şekil 4.6. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin GSH aktiviteleri (n=10, sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. #: p < 0.001)

4.9. Katalaz Enzim Aktivitesi Sonuçları

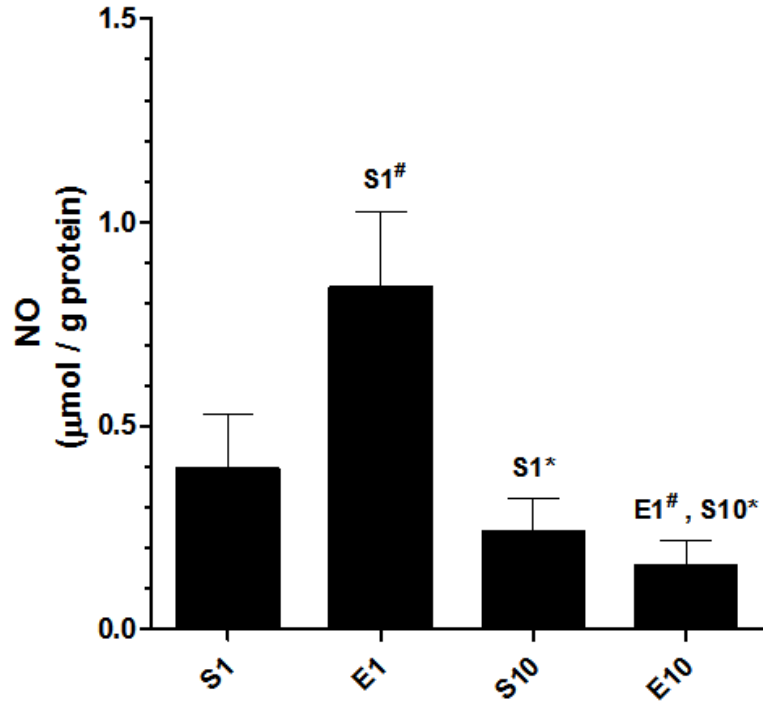
Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin CAT aktiviteleri Şekil 4.7 ve Tablo 4.6'da verilmiştir. Beyin CAT aktivitelerinin E1 ve S10 gruplarında, S1 grubuna göre istatistiksel yönden önemli bir artış izlenmiştir. Diğer yandan E10 grubunun CAT aktivite değerlerinin S10 ve E1 grubu aktivite değerlerine göre fark edilir bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir.

4.10. Toplam Nitrat + Nitrit Sonuçları

Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin Nitrat +Nitrit sonuçları Şekil 4.8 ve Tablo 4.6'da verilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz ile toplam Nitrat + Nitrit sonuçlarının E1 ve S10 gruplarında, S1 grubuna göre arttığı gözlenirken, E10 grubunda ise E1 ve S10 gruplarına göre azaldığı bulunmuştur.



Şekil 4.7. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin CAT aktiviteleri (n=10, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$)

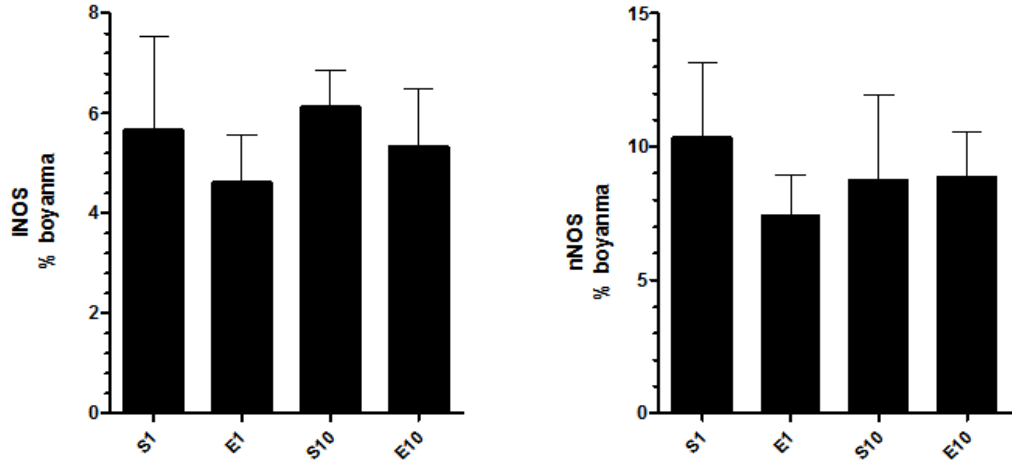


Şekil 4.8. Sham ve deney grubu hayvanlarının beyin toplam Nitrat+ Nitrit sonuçları (n=8, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. #: $p < 0.001$, *: $p < 0.05$)

4.11. iNOS ve nNOS İmmünohistokimyasal Ekspresyonu

Sham ve deney grubu hayvanlarının LGN iNOS ve nNOS immünohistokimyasal ekspresyonları Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de sonuçları ise Şekil 4.9 ve Tablo 4.6'da verilmiştir. Genel olarak LGN'de iNOS ve nNOS immünoreaktivitesi değerlendirildiğinde, iNOS'un tüm gruplarda nöron gövdeleri ve nükleuslarda, nNOS'un ise nöron gövdesi, nükleus ve filamentöz alanlarda immünopozitiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. İmmünohistokimyasal değerlendirme LGN'de toplam alanda yüzde boyanma olarak ifade edilmiştir.

Bu değerlendirmeye göre S1 ile karşılaştırıldığında E1 grubunda, iNOS ve nNOS ekspresyonlarını gösteren immünoreaktivitenin azaldığı, ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Öte yandan uzun süreli EMR grupları karşılaştırıldığında da iNOS ve nNOS ekspresyonları arasında anlamlı bir farkın bulunmadığı tespit edilmiştir.

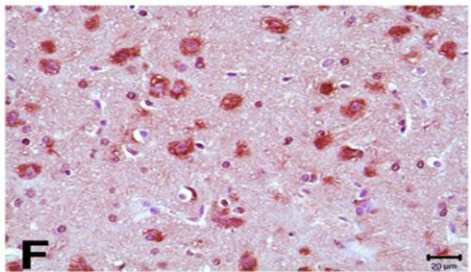
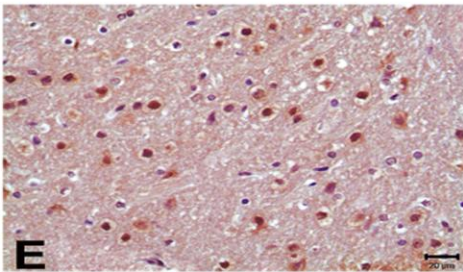
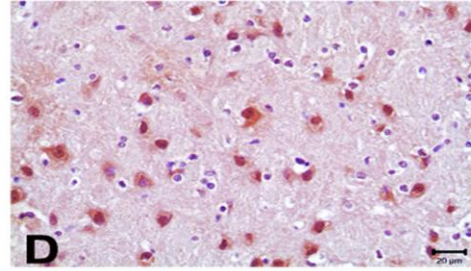
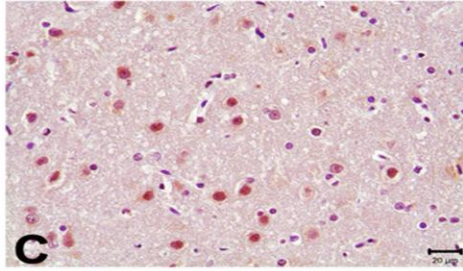
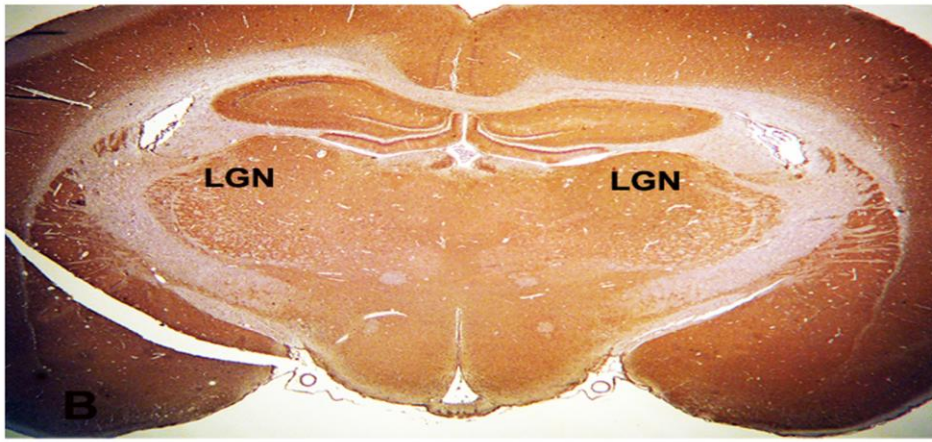
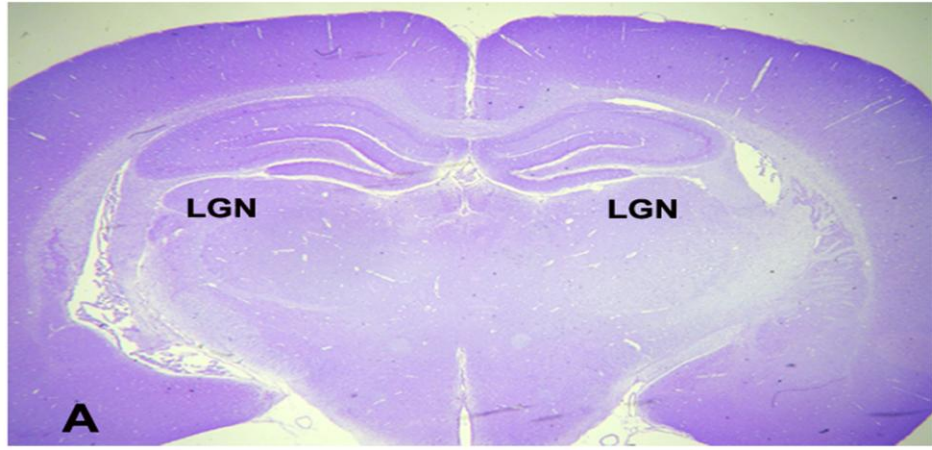


Şekil 4.9. Sham ve deney grubu hayvanlarının iNOS ve nNOS immünohistokimyasal ekspresyonları (n=6, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.)

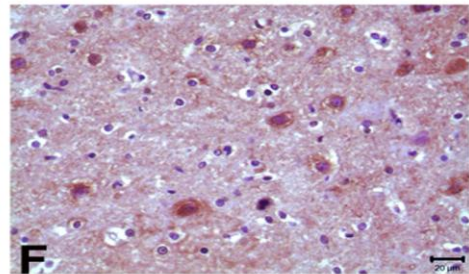
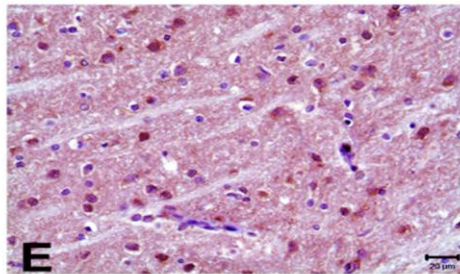
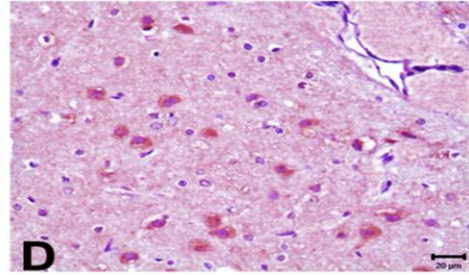
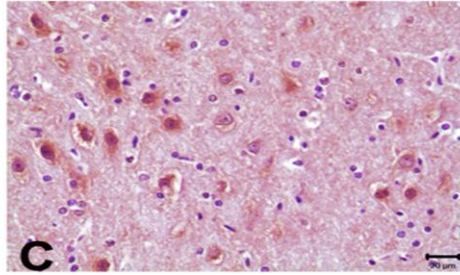
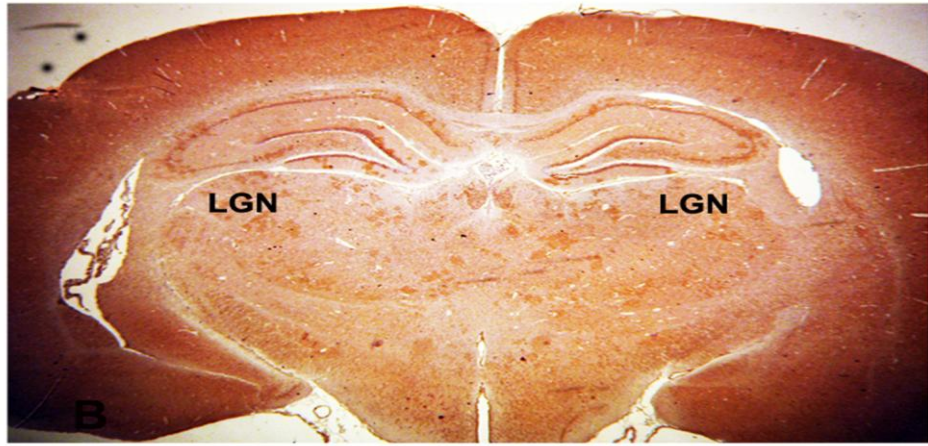
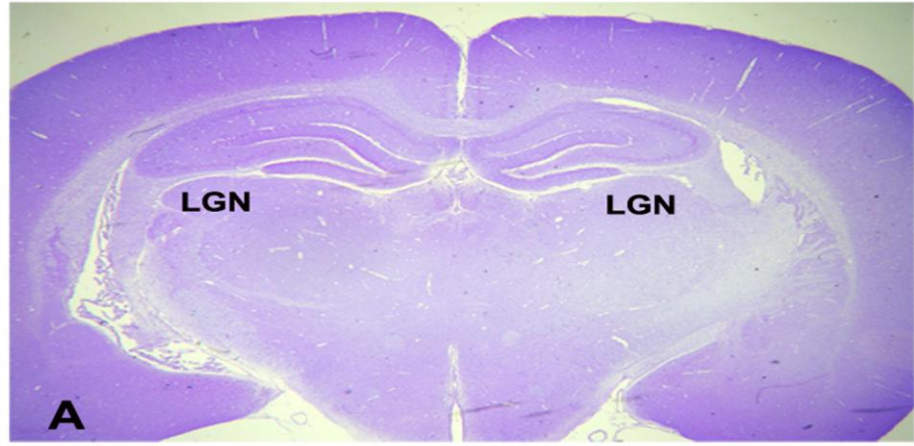
Tablo 4. 3. Sham ve deney grubu hayvanlarının biyokimyasal ve immünohistokimyasal sonuçları

Groups	TBARS (n=8) μmol/g protein	4-HNE (n=10) μg/ml	PC (n=6) μmol/g protein	SOD (n=14) kU/g protein	GSH-Px (n=8) kU/g protein	CAT (n=10) kU/g protein	GSH (n=10) μmol/g protein	NO (n=8) μmol/g protein	iNOS (n=6) % staining	nNOS (n=6) % staining
S1	0,77 ± 0,12	2,43 ± 0,24	0,39 ± 0,24	0,44 ± 0,07	0,50 ± 0,12	0,28 ± 0,10	2,14 ± 0,47	0,40 ± 0,13	5,66 ± 1,88	10,33 ± 2,79
E1	0,53 ± 0,12 S1**	1,35 ± 0,27 S1*	0,88 ± 0,38 S1**	0,33 ± 0,08 S1**	0,76 ± 0,17 S1*	0,47 ± 0,07 S1*	3,61 ± 0,40 S1*	0,84 ± 0,18 S1*	4,61 ± 0,96	7,41 ± 1,51
S10	0,39 ± 0,08	1,67 ± 0,46	0,34 ± 0,17	0,32 ± 0,06	0,73 ± 0,14	0,46 ± 0,04	2,44 ± 0,33	0,24 ± 0,08	6,12 ± 0,73	8,78 ± 3,16
E10	0,65 ± 0,22 S10**	2,28 ± 0,47 E1*, S10*	0,66 ± 0,32	0,37 ± 0,09	0,40 ± 0,10 E1*, S10*	0,32 ± 0,14 E1*, S10*	2,07 ± 0,52 E1*	0,15 ± 0,06 S10*	5,32 ± 1,81	8,86 ± 1,71

(#: p < 0,0001 **: p < 0,01 *: p < 0,05)



Şekli 4.10. Sham ve deney grubu hayvanlarının LGN’de iNOS immünohistokimyasal ekspresyonları, A ve B fotoğrafları stereo mikroskopta (Zeiss Stemi SV 11) 1.6’lık büyütme ile çekilmiştir. (C: S1, D: S10, E: E1 ve F: E10, Ölçek çubuğu; 20µm)



Şekli 4.11. Sham ve deney grubu hayvanlarının LGN’de nNOS immünohistokimyasal ekspresyonları, A ve B fotoğrafları stereo mikroskopta (Zeiss Stemi SV 11) 1.6'lık büyütme ile çekilmiştir. (C: S1, D: S10, E: E1 ve F: E10, Ölçek çubuğu; 20μm)

4.12. VEP Sonuçları

VEP'ler sağ ve sol göz flaş uyaran ile ayrı ayrı uyarılarak monooküler olarak kaydedilmiştir. Dört grup için elde edilen VEP'lere birer örnek Şekil 4.3'de verilmiştir. VEP parametrelerinin sağ-sol ve grup farklılıkları varyans analizi (one-way ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda VEP'lerin latens ve genlikleri karşılaştırıldığında aynı grup için sağ ve sol gözlerin VEP'leri arasında herhangi bir fark gözlenmemiş, ancak gruplar arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak, daha sonraki istatistiksel analizler sağ ve sol gözden kaydedilen VEP parametrelerinin ortalaması alınarak yapılmış ve değerlendirilmiştir.

VEP'lerin latens ve genliklerinin ortalama değerleri, standart sapmaları ve Tukey testi sonuçları Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'de verilmiştir. Tepeden tepeye genlik değerleri incelendiğinde S1 ve E1 gruplarının genlikleri arasında herhangi bir farklılığın olmadığı izlenirken, S1 grubu ile karşılaştırıldığında VEP'lerin tüm bileşenlerinin latenslerinin E1 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır.

S10 ve E10 gruplarının latens değerleri karşılaştırıldığında, E10 grubunun P1 latensi hariç tüm bileşenlerinin latens değerlerinin S10 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde uzadığı gözlenmiştir. Bu grupların tepeden tepeye genlik değerleri karşılaştırıldığında ise genlikler arasında herhangi bir farkın olmadığı görülmüştür.

Latens ve genlik değerleri S1-S10 ve E1-E10 grupları arasında değerlendirildiğinde ise S10 grubunda VEP'lerin tüm bileşenlerinin latenslerinin S1 grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı gözlenirken, E10 grubunun tüm latens değerlerinin E1 grubu latens değerlerine göre fark edilir bir şekilde arttığı, ancak bu artışlardan yalnızca N1 ve P2 latens değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. S1-S10 ve E1-E10 gruplarının tepeden tepeye genlik değerleri arasında bir fark gözlenmemiştir.

4.13. VEP Latensleri ile Biyokimyasal Parametreler Arasındaki Bağlılıklar

VEP latensleri ile beyin TBARS ve 4-HNE seviyeleri arasındaki bağlantılar Tablo 4.5'de gösterilmiştir. TBARS ve 4-HNE değerleri ile VEP bileşenlerinin latenslerine ilişkin regresyon grafikleri Şekil 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19, 4.20, 4.21 ve 4.22'de verilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda VEP bileşenlerinin latensleri ile beyin TBARS ve 4-HNE değerleri arasında pozitif bir bağlantının olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.3. Sham ve deney grubu hayvanlarından kaydedilen VEP latensleri (n=14, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.)

GRUPLAR	P ₁ (ms)	N ₁ (ms)	P ₂ (ms)	N ₂ (ms)	P ₃ (ms)
S1	21,22 $\pm$ 2,11	33,92 $\pm$ 3,73	56,84 $\pm$ 5,31	81,98 $\pm$ 4,64	103,20 $\pm$ 6,13
E1	18,74 $\pm$ 2,00 S1**	29,51 $\pm$ 2,55 S1*	48,68 $\pm$ 5,00 S1[#]	70,42 $\pm$ 5,28 S1[#]	92,73 $\pm$ 5,39 S1[#]
S10	18,09 $\pm$ 1,91 S1[#]	29,43 $\pm$ 4,59 S1*	40,04 $\pm$ 5,31 S1[#]	66,71 $\pm$ 4,48 S1[#]	89,23 $\pm$ 5,48 S1[#]
E10	19,27 $\pm$ 1,21	34,51 $\pm$ 4,96 E1**, S10[#]	55,10 $\pm$ 6,05 E1*, S10[#]	74,75 $\pm$ 6,08 S10[#]	98,16 $\pm$ 6,20 S10[#]

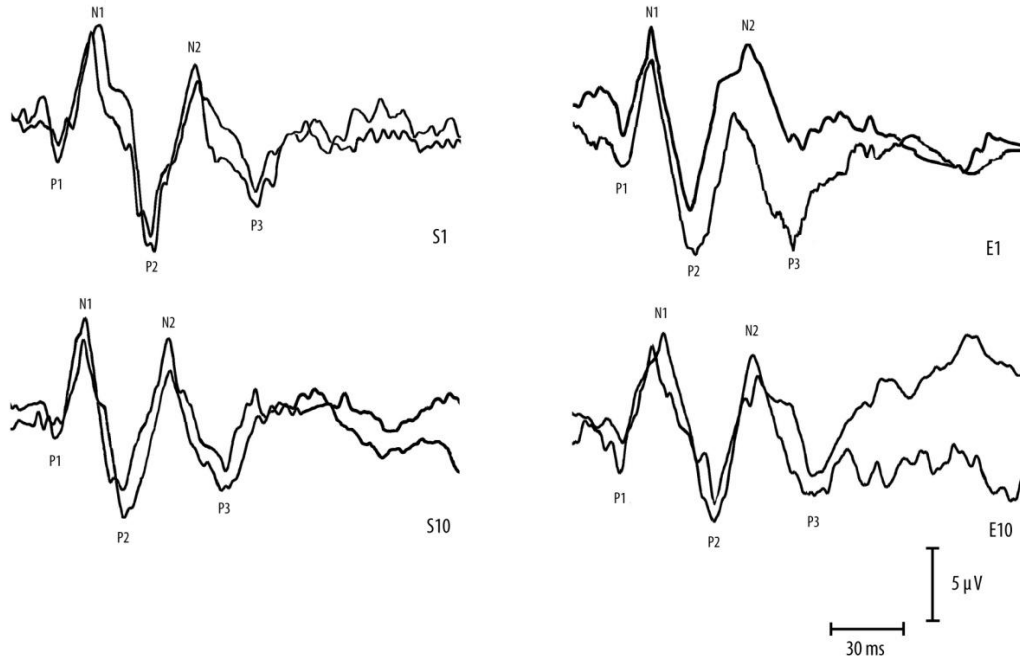
(#: p < 0,001

**: p < 0,01

*: p < 0,05)

Tablo 4.4. Sham ve deney grubu hayvanlarından kaydedilen VEP genlikleri (n=14, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.)

GRUPLAR	P ₁ N ₁ (μ V)	N ₁ P ₂ (μ V)	P ₂ N ₂ (μ V)	N ₂ P ₃ (μ V)
S1	9,22 $\pm$ 3,90	15,16 $\pm$ 5,43	12,96 $\pm$ 4,63	7,34 $\pm$ 2,92
E1	7,83 $\pm$ 2,20	15,70 $\pm$ 3,97	12,68 $\pm$ 2,79	10,29 $\pm$ 1,68
S10	8,03 $\pm$ 2,44	15,38 $\pm$ 3,66	12,33 $\pm$ 3,02	8,04 $\pm$ 2,94
E10	9,62 $\pm$ 4,38	14,79 $\pm$ 4,41	9,83 $\pm$ 5,28	9,77 $\pm$ 5,68



Şekli 4.12. Sham ve deney grubu hayvanlarından kaydedilen VEP'ler ve bileşenleri

4.14. Biyokimyasal Parametreler Arasındaki Bağlantı Analizi Sonuçları

Biyokimyasal parametreler arasındaki bağlantı analizi sonuçları Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, lipid peroksidasyonunun göstergeleri olan beyin TBARS ve 4-HNE değerleri arasında yüksek derecede pozitif bir ilişkinin olduğu gözlenmiştir. Öte yandan, 4-HNE ile protein oksidasyonunun bir göstergesi olan protein karbonil (PC) değerleri arasında orta dereceli negatif bir ilişki varken, TBARS ve PC arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir. Beyin TBARS ve 4-HNE değerlerinin antioksidanlarla olan ilişkisi incelendiğinde ise TBARS ve 4-HNE değerleri ile SOD aktivitesi arasında pozitif bir ilişki gözlenirken, CAT, GPx ve GSH arasında negatif bir ilişkinin olduğu saptanmıştır.

Diğer yandan, antioksidanların kendi içlerinde yapılan bağlantı analizi sonuçlarına göre ise CAT, GPx ve GSH arasında pozitif bir ilişki olduğu gözlenirken bu üç antioksidan ile SOD aktivitesi arasında negatif bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir.

NO ile diğer biyokimyasal parametreler arasında yapılan bağlantı analizi sonuçlarında ise NO ile TBARS arasında herhangi bir ilişki bulunmazken NO ile 4-HNE değerleri arasında orta dereceli negatif bir ilişki saptanmıştır. Öte yandan, NO ile SOD arasında düşük düzeyde negatif bir ilişki bulunurken, CAT, GSH-Px ve GSH arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur.

Tablo 4.5. VEP latensleri ile beyin TBARS ve 4-HNE değerleri arasındaki regresyon denklemleri

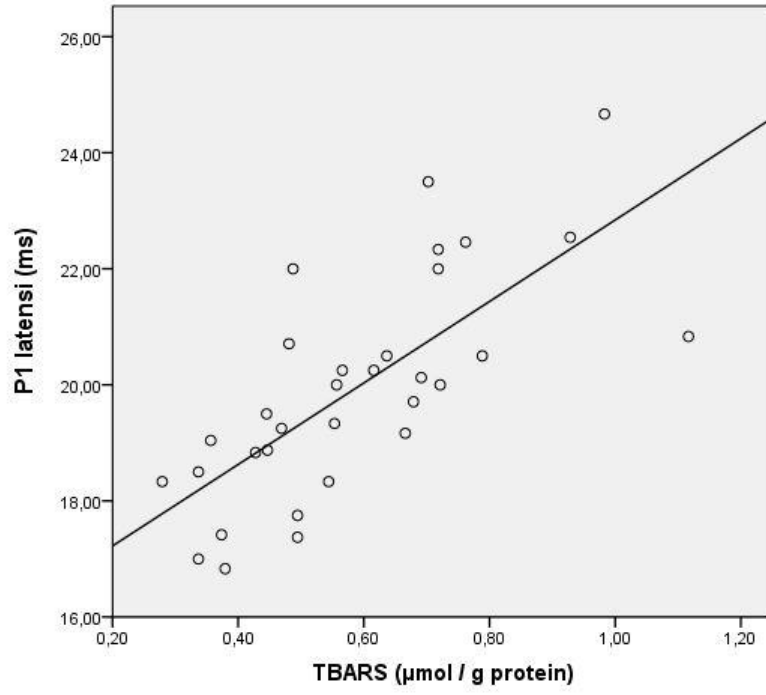
(x,y) eksenı	Korelasyon katsayısı	Reg. Denklemi
Beyin TBARS, P1 Latensi	0,725 [#]	$y = 15,82 + 7,021x$
Beyin TBARS, N1 Latensi	0,680 [#]	$y = 26,50 + 10,393x$
Beyin TBARS, P2 Latensi	0,868 [#]	$y = 37,15 + 26,00x$
Beyin TBARS, N2 Latensi	0,842 [#]	$y = 56,74 + 28,34x$
Beyin TBARS, P3 Latensi	0,855 [#]	$y = 81,23 + 25,37x$
Beyin 4-HNE, P1 Latensi	0,710 [#]	$y = 14,92 + 2,46x$
Beyin 4-HNE, N1 Latensi	0,622 [#]	$Y = 23,93 + 4,31x$
Beyin 4-HNE, P2 Latensi	0,655 [#]	$y = 37,99 + 7,42x$
Beyin 4-HNE, N2 Latensi	0,678 [#]	$y = 57,11 + 8,14x$
Beyin 4-HNE, P3 Latensi	0,744 [#]	$y = 79,69 + 7,98x$

(#: $p < 0,001$)

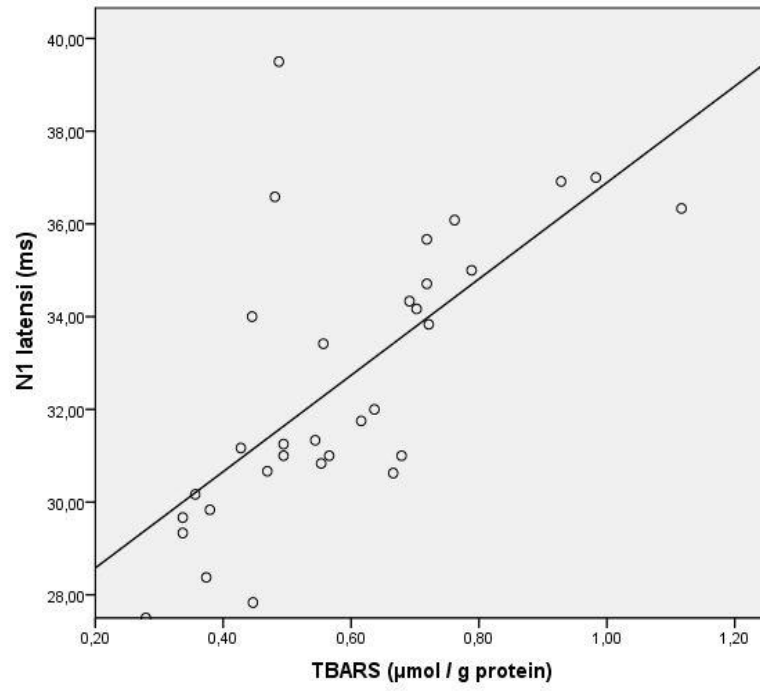
Tablo 4.6.Biyokimyasal parametreler arasındaki regresyon denklemleri

(x,y) eksen	Bağıntı katsayısı	Reg. Denklemi
Beyin TBARS, Beyin 4-HNE	0,731 [#]	$y = 0,831 + 2,06x$
Beyin TBARS, SOD	0,908 [#]	$y = 0,23 + 0,30x$
Beyin TBARS, CAT	-0,906 [#]	$y = 0,68 - 0,537x$
Beyin TBARS, GPx	-0,716 [#]	$y = 0,96 - 0,74x$
Beyin TBARS, GSH	-0,565 [#]	$y = 3,68 + 2,10x$
Beyin 4-HNE, NO	-0,629 [#]	$y = 1,08 - 0,33x$
Beyin 4-HNE, PC	-0,53 [#]	$y = 1,22 + 0,34x$
Beyin 4-HNE, SOD	0,884 [#]	$y = 0,19 + 0,10x$
Beyin 4-HNE, CAT	-0,893 [#]	$y = 0,77 - 0,20x$
Beyin 4-HNE, GPx	-0,847 [#]	$y = 1,15 - 0,30x$
Beyin 4-HNE, GSH	-0,834 [#]	$y = 4,68 - 1,09x$
NO, SOD	-0,372 [*]	$y = 0,44 - 0,08x$
NO, CAT	0,440 [*]	$y = 0,29 + 0,18x$
NO, GPx	0,611 ^{**}	$y = 0,40 + 0,36x$
NO, GSH	0,825 [#]	$y = 1,60 + 2,07x$

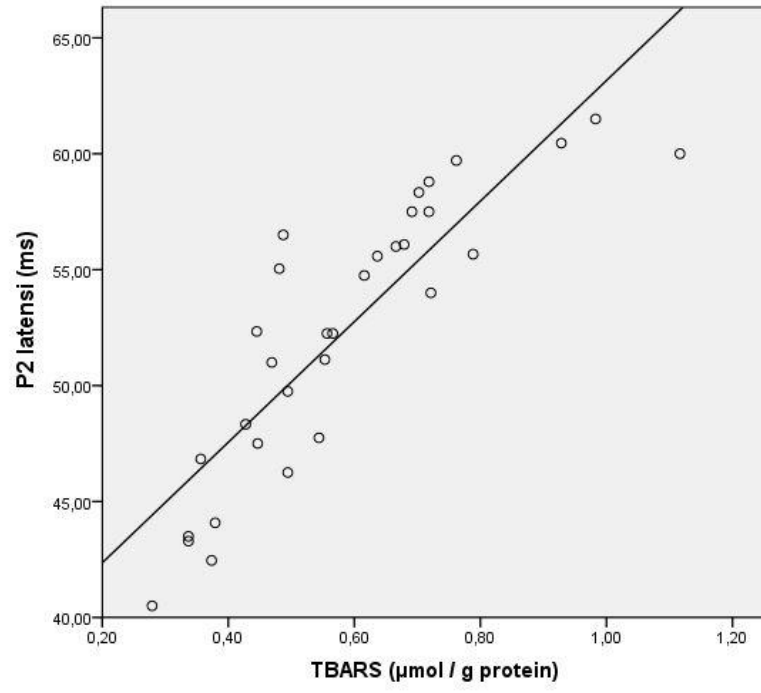
(#: $p < 0,001$ **: $p < 0,01$ *: $p < 0,05$)



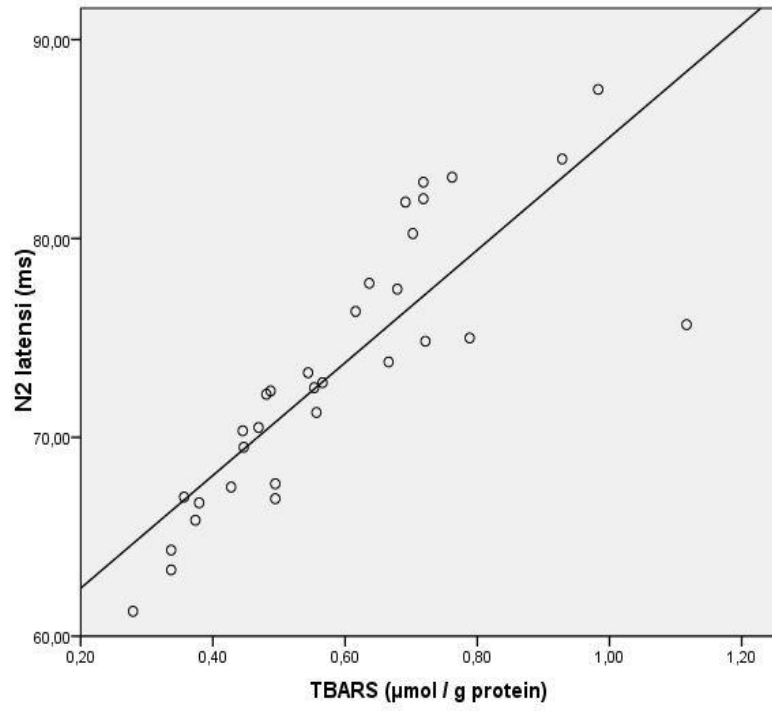
Şekil 4.13. Beyin TBARS miktarı ile P1 latensinin regresyon grafiği



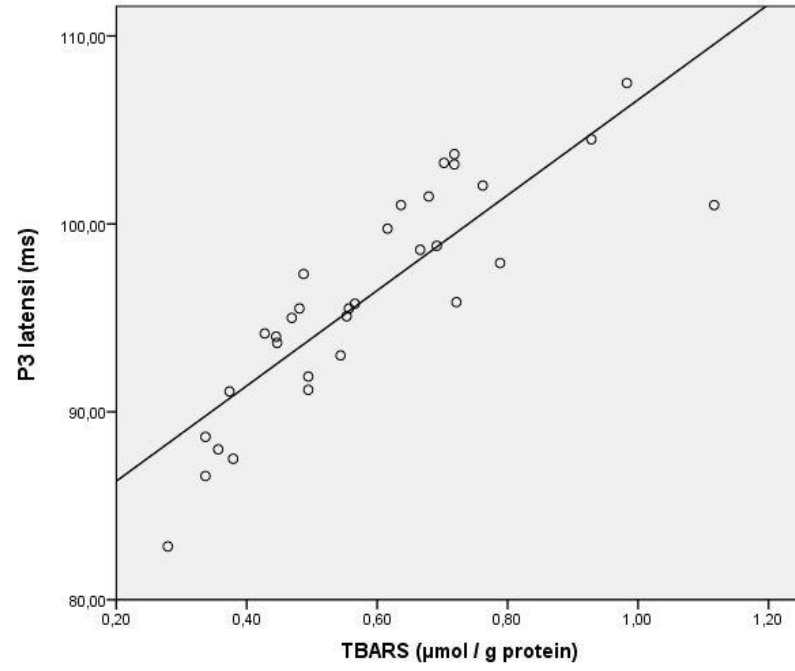
.Şekil 4.14. Beyin TBARS miktarı ile N1 latensinin regresyon grafiği



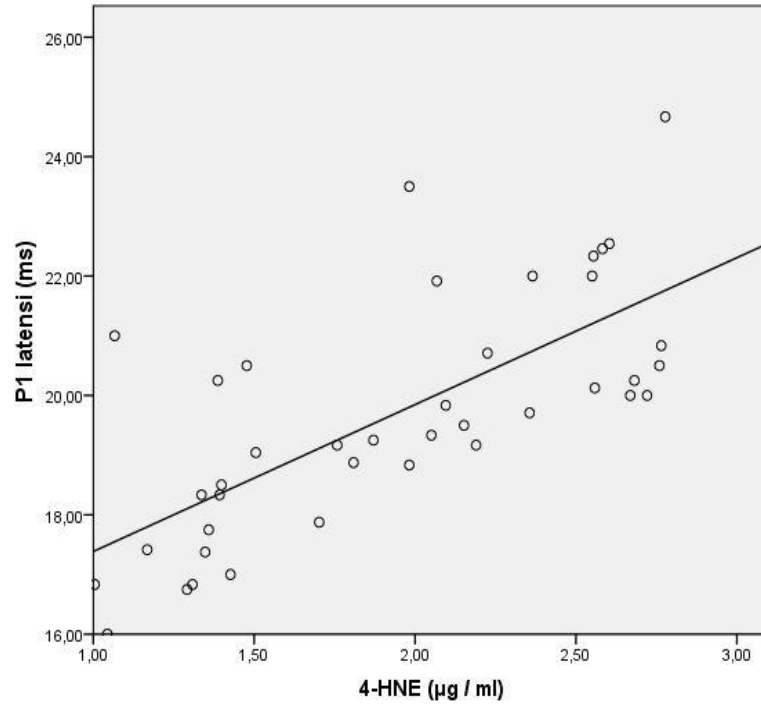
Şekil 4.15. Beyin TBARS miktarı ile P2 latensinin regresyon grafiği



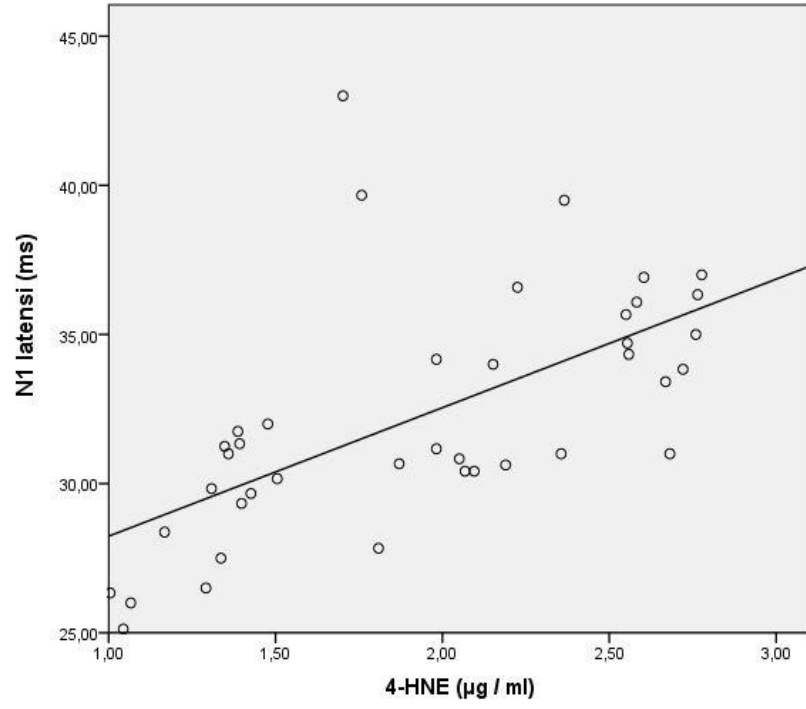
Şekil 4.16. Beyin TBARS miktarı ile P2 latensinin regresyon grafiği



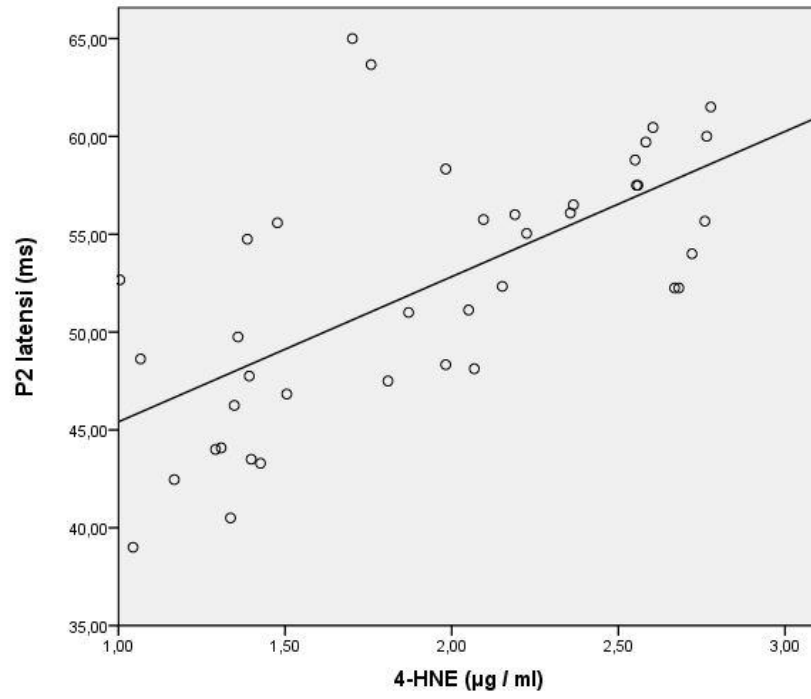
Şekil 4.17. Beyin TBARS miktarı ile P3 latensinin regresyon grafiği



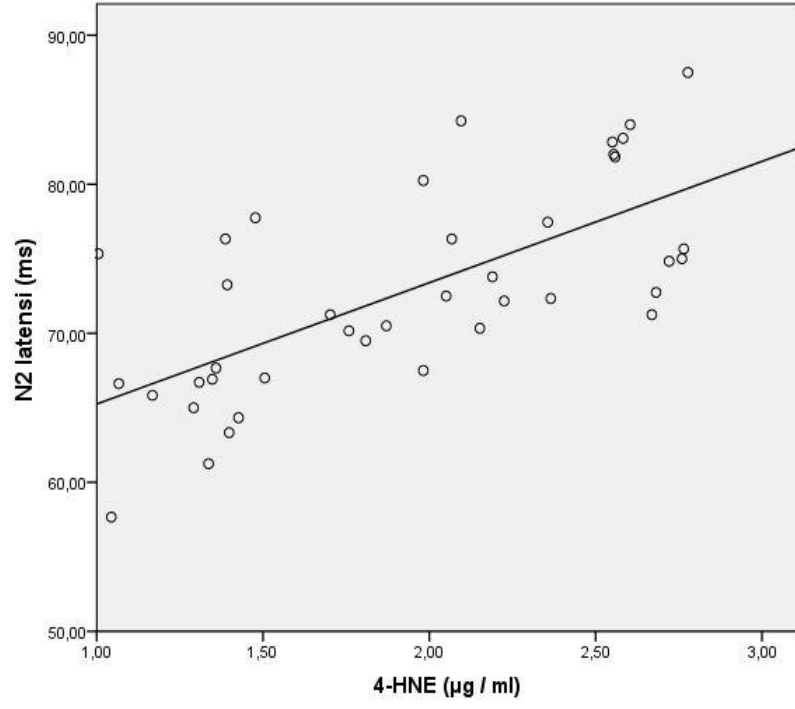
Şekil 4.18. Beyin 4-HNE miktarı ile P1 latensinin regresyon grafiği



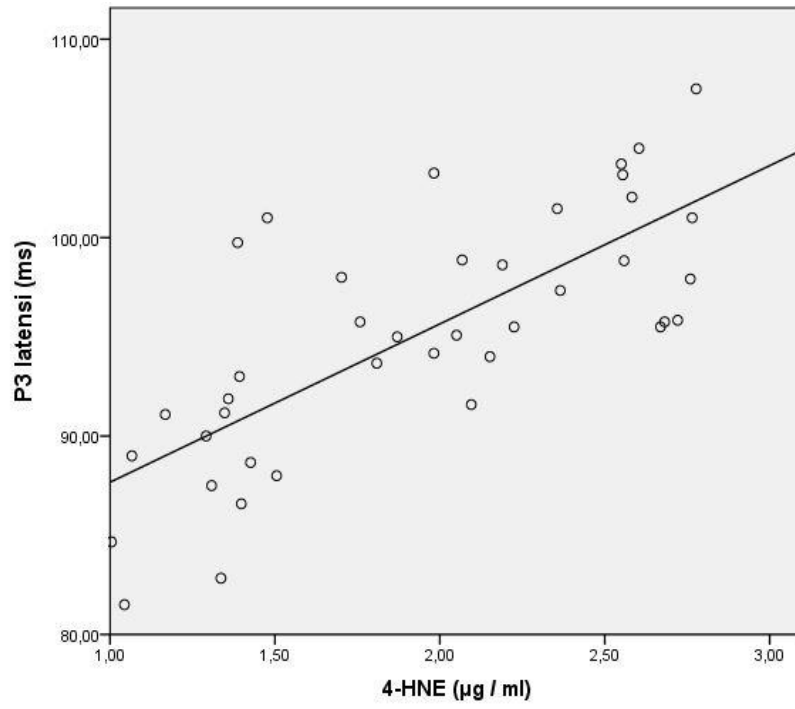
Şekil 4.19. Beyin 4-HNE miktarı ile N1 latensinin regresyon grafiği



Şekil 4.20. Beyin 4-HNE miktarı ile P2 latensinin regresyon grafiği



Şekil 4.21. Beyin 4-HNE miktarı ile N2 latensinin regresyon grafiği



Şekil 4.22. Beyin 4-HNE miktarı ile P3 latensinin regresyon grafiği

TARTIŞMA

Gelişen teknoloji ve haberleşme gereksiniminden dolayı cep telefonu gibi iletişim cihazlarına ilgi giderek artmaktadır. Baz istasyonları ve cep telefonları iletişim ve haberleşme konusunda birçok kolaylık sağlamasına rağmen, oluşturduğu EMR'nin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir [4-8, 12, 18, 21]. EMR'nin beyin üzerinde oluşturduğu fonksiyonel değişikliklerin mekanizması tam bilinmemekle birlikte, bugüne kadar yapılan çalışmalar birçok hastalığın mekanizmasında olduğu gibi [14, 133, 168], EMR'nin oluşturduğu değişikliklerde de serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonunun sorumlu olabileceğini işaret etmiştir. Lipid peroksidasyonun arttığını gösteren daha önceki çalışmalarla aynı paralellikte olan bu projemizde uzun süreli EMR uygulanan sıçanların beyin TBARS ve 4-HNE düzeylerinde görülen istatistiksel artış, bu görüşü destekler niteliktedir.

Serbest radikaller, hücrenin yapı taşları olan lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlere zarar verip fonksiyonlarını bozmaktadır [169]. Özellikle beyinde doymamış yağ asitlerinin bol miktarda bulunması, bu dokuyu serbest radikallere karşı daha duyarlı hale getirmektedir. Böylece, membran lipidlerinin oksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksidasyon ürünleri membran fonksiyonlarında önemli değişikliklere yol açmaktadır [14, 15, 170]. Bilindiği gibi, serbest radikallerin yarı ömürlerinin kısa, konsantrasyonlarının düşük ve reaktif olmaları *in vivo* şartlarda ölçülmesini zorlaştırmaktadır. Bu yüzden oksidan stresin oluşturduğu ikincil ürünlerin ölçülmesine dayanan dolaylı yöntemler geliştirilmiş olup yaygın olarak kullanılanlardan biri de TBARS yöntemidir. Ancak daha önceki bazı araştırmalarda, TBA'nın MDA dışında diğer bileşiklerle de (aminoasitler, şekerler, lipid oksidasyon ürünleri) etkileşime girmesi nedeniyle TBARS yönteminin yeteri kadar duyarlı olmadığı ileri sürülmektedir. Bu nedenden dolayı TBARS yönteminin yanı sıra çalışmamızda lipid peroksidasyonu değerlendirmek için 4-HNE yöntemi de kullanılmıştır. Oksidan stres sonucu, lipid hidroperoksitlerin ayrılma reaksiyonları ile bozulmaları, alkanlar, 2-alkenler, 2,4-alkadrenaller ve 4-hidroksi alkenler gibi aldehitlerin oluşmasına yol açar. Aldehitler özellikle de 4-HNE sitotoksik, hepatotoksik, mutajenik ve genotoksik özellikler içerir. Bu bileşiklerin ölçümü, hem lipid peroksidasyonun genişliğinin indeksini hem de belirli patojenik durumlara sebebiyet veren ajan olarak rollerini belirlemede destek olması nedeniyle yüksek kabul görmektedir [34]. Bu bilgilerin ışığında, oksidan stresin oluşturduğu ikincil ürünlerin ölçülmesine dayanan ve lipid peroksidasyon göstergeleri olan TBARS ve 4-HNE düzeyleri belirlenmiştir. Çalışmamızda S10 grubu ile karşılaştırıldığında E10 grubunda TBARS ve 4-HNE miktarlarının anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir. EMR'nin beyin ve diğer dokulardaki lipid peroksidatif etkilerini ortaya koymak için,

farklı şiddet, frekans, modülasyon ve sürelerde radyasyona maruz kalan insanlarda ve deney hayvanlarında bir çok çalışma yapılmıştır [171-182]. Bu çalışmalardan birinde sıçanların 40 ve 60 gün boyunca günde 4 saat cep telefonuna (bütün vücut ortalama özgül soğurulma (SAR) değeri 0.043–0.135 W/kg) maruz bırakılması sonucu beyin dokusunda XO aktivitesi ve lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA seviyelerinin arttığı saptanmıştır [177]. Dolayısıyla uzun süreli EMR uygulanan sıçanlarda lipid peroksidasyon göstergeleri olan TBARS ve 4-HNE'nin artma eğilimi göstermesi en doğal beklentidir. Bütün bu çalışmalarda EMR' nin oluşturduğu zararlı değişikliklerde peroksidatif etkisinin tetikleyici rolünün olması ve öneminin vurgulanması antioksidanların faydalı olabileceği görüşünü gündeme getirmiştir. Nitekim, 900 MHz ve 2450 MHz EMR' nin yer aldığı çalışmalarda [171, 177, 183-186] kullanılan bazı vitaminlerin EMR'nin oluşturduğu oksidasyonu ve apoptosisi önlemesi bu tip radyasyonun zararlı etkileri için antioksidanların koruyucu olarak kullanılabileceğini teyit etmiştir. Ancak uzun süreli EMR uygulanan gruba göre E1 grubunda beyin TBARS ve 4-HNE miktarlarının anlamlı düzeyde azaldığı dikkati çekmiştir. Literatürde kısa süreli EMR'nin lipid peroksidasyon göstergeleri olan TBARS ve 4-HNE düzeylerini azaltma etkisinin olduğunu gösteren pek fazla yayın olmamasına rağmen, bu bulgularımızla uyuşan yayınlar da bulunmaktadır. Örneğin; Imge ve ark. (2010), yapmış oldukları çalışmada 900 MHz frekanslı EMR'nin (SAR=0,95 W/kg) sıçanlara 4 hafta uygulanması sonucunda beyin MDA düzeylerinin azalma eğiliminde olduğunu göstermişlerdir [19]. Ayrıca, 20 gün boyunca günde 40 dakika uygulanan 3G radyasyonun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise, manyetik rezonans spektroskopisi ile kolin, kreatinin, N-asetilaspartat, CAT, GSH-Px enzim aktiviteleri ve apoptozis değerlendirilmiş ve kısa süreli EMR'nin sıçan beyinde zararlı bir etki oluşturmadığı saptanmıştır [187]. Sonuç olarak, literatürdeki EMR ile ilgili çalışmalar göz önüne alındığında genellikle kısa süreli ve düşük SAR değerlerinin peroksidatif etkisinin az veya hiç olmadığı, ancak uzun süreli ve yüksek SAR değerlerinin oksidan stres yanında diğer değişiklikleri de oluşturduğu ileri sürülmüştür.

Serbest radikallerin hedefleri içerisinde peptid ve protein makromoleküllerinin yapı taşları olan aminoasitler de yer almaktadır. Aminoasitlerin oksidasyonu proteinlerde de fiziksel değişikliklere neden olmaktadır [188]. Aynı zamanda, 4-HNE'de protein oksidasyonuna katılarak proteinlerdeki sistin, lizin ve histidin yan zincirleriyle etkileşime girip protein fonksiyonlarını inhibe etmektedir [36]. Şekerlerin ve membran lipidlerinin ROS aracılı oksidasyonunu takiben oluşan karboniller; biyolojik aktivitelerinin değişmesine neden olan ve genellikle yapısal proteinler ile CO-proteinler olarak bilinen bileşikler oluşturabilir [37]. Proteinlerdeki reaktif karbonil grupları protein yan zincirlerinin direk oksidasyonu ile de oluşabilir [38]. ROS'lar amino asit rezidü yan zincirlerini keton ya da aldehit türevlerine okside edebilir. Histidin, arjinin ve lizin ROS-aracılı PC oluşumuna en hassas aminoasitlerdir [39]. Dolayısıyla, karbonil grupların ölçümünün oksidatif stresin proteinler üzerinde meydana getirdiği hasarın belirlenmesi için iyi bir yöntem olduğu düşünüldüğünden [40], çalışmamızda EMR'nin proteinler üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla PC içeriği ölçülmüştür. PC değerlerinin her iki deney grubunda da kontrollerine göre arttığı tespit edilmiştir. Ancak veriler incelendiğinde PC içeriği ile TBARS ve 4-HNE

düzeyleri arasında E10 grubu için pozitif bir ilişki izlenirken, E1 grubu için negatif bir ilişki saptanmıştır. Literatürde EMR'nin PC değerleri üzerine etkisi ile ilgili pek fazla yayın olmamasına rağmen, 10 haftalık deney gurubumuzun sonuçları ile uyuşan çalışmalar bulunmaktadır. Daha önceki 900 MHz ile ilgili çalışmalara göz atıldığında, oksidatif stresin ilk göstergesinin proteinlerin modifikasyonu sonucu artan PC değerlerinin olduğu öne sürülmüştür [18, 177, 189]. Nitekim Daşdağ ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada [18] 10 ay boyunca günde iki saat uygulanan 900 MHz radyasyonun PC değerlerini beyin dokusunda arttırdığı gösterilmiştir. Yine diğer çalışmalarda da 900 MHz radyasyona 3 hafta boyunca maruz bırakılan sıçanların beyin PC [189] ve 1 ay boyunca maruz bırakılan sıçanların kan PC [55] değerlerinin önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir. Bu çalışmalar göz önüne alındığında araştırmamızda EMR'ye uzun süreli maruz kalmanın, beyinde PC değerlerini istatistiksel olmasa da artırdığı tespit edilmiştir. Ancak kısa süreli EMR'ye maruz kalan sıçanlarda beyin PC değerlerinin artışı ile TBARS ve 4HNE değerlerinin azalması çelişmekte olup, literatürde herhangi bir bilgiye rastlanılmaması nedeniyle bu bulgumuzun açıklanabilmesi için daha detaylı çalışmaların yapılması görüşüne ulaşılmıştır.

Beyin vücutta oksijen tüketiminin en fazla olduğu aerobik bir organdır. Dolayısıyla beyin tükettiği oksijenin çoğu CO₂ ve suya dönüşmekle birlikte normal koşullarda oksijenin bir kısmı O₂[·], H₂O₂ ve OH[·] gibi serbest radikaller oluşturmaktadır. Ayrıca beyinde serbest radikallerin içerisinde yer alan poliansature yağ asitlerinin bol miktarda bulunması, bu dokuyu oksidatif hasara daha duyarlı hale getirmektedir [190, 191]. Bu nedenle de, serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldıracak çeşitli antioksidan mekanizmalar söz konusudur. Bunların en önemlileri SOD, GSH-Px ve CAT enzimleridir [192]. Bu projemizde EMR'nin antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkisini ortaya koyabilmek için SOD, GSH-Px ve CAT gibi antioksidan enzim aktiviteleri değerlendirilmiştir. Çalışmamızın bulgularına göre, GSH-Px ve CAT aktivitelerinin E1 grubunda arttığı, E10 grubunda azaldığı izlenirken, SOD aktivitesinin E1 grubunda azaldığı, E10 grubunda ise arttığı gözlenmiştir. Literatürde antioksidan enzim aktiviteleri ile ilişkili EMR çalışmalarına bakıldığında çelişkili sonuçların olduğu görülmektedir [12, 17, 172, 193]. Antioksidanlar tek tek değerlendirildiğinde uzun süreli EMR'ye maruz kalma sonucunda GSH-Px aktivitesinin sadece azaldığını [12], ancak CAT enzim aktivitesinin ise hem azaldığını [193] hem de arttığını gösteren yayınlar [12, 17] bulunmaktadır. E10 grubunda GSH-Px ve CAT aktivitelerinde gözlenen azalma bu antioksidanların azaldığını bildiren yayınlarla uygunluk içerisinde. Diğer yandan, literatürde 1 haftalık EMR'nin beyin GSH-Px ve CAT aktiviteleri üzerine etkisini inceleyen herhangi bir araştırma bulunmadığından kısa süreli EMR'nin bu enzim aktivitelerini artırmasının nedeni daha önceki bilgilerin ışığında açıklanmaya çalışılmıştır. Bilindiği gibi ortamda serbest radikallerin düşük konsantrasyonlarda bulunması antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını artırarak antioksidan savunma sistemini güçlendirirken, yüksek konsantrasyonlarda bulunması antioksidan enzim sistemini inhibe ederek antioksidan savunma sistemini zayıflatır. Dolayısıyla kısa süreli EMR uygulanan grupta lipid peroksidasyonunun azalmasına bağlı olarak GSH-Px ve CAT

enzim aktivitelerinin artışı beklenen bir sonuç olup daha önce yapılan çalışmalarda bu tespit ile paralellik göstermektedir.

Öte yandan 1 ve 10 hafta boyunca EMR uygulanan grupların beyin GSH seviyeleri değerlendirildiğinde, 1 haftalık grupta kontrolüne göre GSH seviyelerinde anlamlı bir artışın olduğu gözlenirken, 10 haftalık grupların GSH seviyelerinin kontrolüne göre azalma eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir. Literatürdeki çalışmalar göz önüne alındığında uzun süreli EMR uygulanan grubumuzda meydana gelen GSH seviyesindeki azalmayı destekleyen çalışmaların mevcut olduğu görülmektedir [193, 194]. Yapılan bir çalışmada 30 gün boyunca 900 MHz (SAR=0.95 W/kg) radyasyona maruz bırakılan kobayların beyin ve kan GSH seviyelerinde kontrollerine göre önemli derecede bir azalmanın meydana geldiği tespit edilmiştir [193]. Bir başka çalışmada ise 900 MHz (SAR=1.2 W/kg) radyasyona 3 hafta boyunca maruz bırakılan sıçanların kalp, karaciğer, akciğer ve testis dokularında GSH seviyesinin azaldığı saptanmıştır [194]. Projemizde uzun süreli EMR uygulanan gruplarda lipid peroksidasyonu ve GSH seviyeleri arasında saptanan negatif ilişki bu çalışmalarla uyum içersindedir. Ancak literatürde kısa süreli uygulanan EMR'nin beyin GSH seviyesi üzerindeki artırıcı etkisini karşılaştırabileceğimiz herhangi bir yayın bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamız kendi içerisinde değerlendirildiğinde E1 ve E10 grupları arasında tek farklılığın süre olduğu göze çarpmaktadır ve dolayısıyla EMR'nin etkileri tartışılırken şiddetin yanı sıra uygulama süresinin de önemli bir faktör olduğu dikkate alınmalıdır.

SOD enzimi değerlendirildiğinde ise bu enzim aktivitesinin E1 grubunda azalması İlhan ve ark [171], 10 haftalık gruptaki artış ise Irmak ve arkadaşlarının [172] yaptıkları çalışma ile uyum içinde bulunmuştur. E10 grubunda $O_2^{\cdot-}$ artışı ile birlikte SOD aktivitesinin artması, artan lipid peroksidasyona karşı önemli bir adaptif cevaptır. Bilindiği gibi $O_2^{\cdot-}$ radikalinin SOD ile dismutasyonu sonucu güçlü bir oksidan olan H_2O_2 oluşur. H_2O_2 'nin detoksifikasyonu ise CAT ve GSH-Px enzimleri ile sağlanır. Dolayısıyla SOD aktivitesine bağlı olarak artan H_2O_2 konsantrasyonu ve bu oksidantı temizleyecek antioksidan enzimlerin aktivitelerinin düşük olması E10 grubunda gözlenen lipid peroksidasyonundaki artışın nedeni olabilir. Ayrıca, GSH-Px enziminin lipid peroksitlere karşı da koruma sağladığı göz önüne alındığında, prekürsörü olan GSH seviyelerindeki azalma lipid peroksidasyonun artmasına sebep olan diğer bir etkidir. Öte yandan $O_2^{\cdot-}$ anyonunun, lipid peroksil radikalleri ile etkileşime girerek radikal zincir reaksiyonu kırıcı etkiye sahip olabileceğini ileri süren yayınlar dikkate alındığında [195], $O_2^{\cdot-}$ radikalinin, artan SOD aktivitesine bağlı olarak azalmasının, lipid peroksidasyonu artıran bir diğer faktör olabileceği düşünülmektedir. Enzim aktiviteleri değerlendirildiğine, CAT ve GSH-Px enzimlerinin sadece H_2O_2 'yi ortamdan temizlemekle kalmayıp bunun yanı sıra bu ürünün oluşumuna neden olan SOD enzim aktivitesinin azalması da önemli bir rolünün olabileceği öne sürülebilir. Diğer yandan, 1 haftalık grubun bulguları ele alındığında lipid peroksidasyonunun kontrolüne göre azaldığı gözlenmektedir. Dolayısıyla E1 grubunda kısa süreli EMR uygulanması, CAT ve GSH-Px gibi enzimlerin aktivitelerinin yanı sıra GSH ve NO seviyelerinde gözlenen artışla birlikte, SOD aktivitesine paralel

olarak H_2O_2 'nin azalması, antioksidan savunma sisteminin güçlenmesine katkıda bulunarak lipid peroksidasyonun azalmasını sağlamış olabilir.

EMR'nin şiddet ve süre bağımlı etkileri göz önüne alınarak yapılan çalışmalara bakıldığında Ammari ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmanın bulguları dikkati çekmektedir. Bu çalışmada araştırmacılar, 1.5 W/kg ve 6 W/kg SAR değerlerinde 900 MHz EMR'ye maruz kalan sıçanlarda, düşük SAR değerlerinin GFAP ekspresyonunda herhangi bir artışa neden olmadığını, fakat yüksek SAR değerlerinin GFAP'ı arttırdığını göstermişlerdir. Ancak bu çalışmada yüksek SAR değerlerindeki astroglia aktivasyonunun kalıcı olabilmesi için ise en az 10 günlük bir maruziyetin olması gerektiği sonucuna varılmıştır [68]. Diğer taraftan Ferreira ve arkadaşlarının yapmış oldukları daha önceki bir çalışmada [196], kısa süreli EMR'ye maruz kalan sıçanların lipid ve protein oksidasyonunda herhangi bir değişikliğin olmadığı, ancak sıçanların en az 30 gün veya daha fazla sürede radyasyona maruz kalması durumunda serbest radikal artışının olabileceği ileri sürülmüştür. Sonuç olarak, çalışmamız EMR'nin oluşturduğu değişiklikler için uygulama süresinin son derece önemli olduğunu ifade eden daha önceki çalışmalarla uygunluk içerisinde.

EMR'nin etkilerinin şiddet ve uygulanan sürenin yanı sıra çalışılan doku tipine de bağlı olabileceği düşünülmektedir. Literatürde bu konu ile ilgili yapılan araştırmalar incelendiğinde antioksidan enzim aktivite değişimlerinin farklı doku tipleri için farklı oldukları görülmektedir. Balcı ve arkadaşları 900 MHz radyasyonun kornea dokusunda SOD ve CAT aktivitelerini artırırken, GSH-Px aktivitesini azalttığını [197], Özgüner ve arkadaşları ise 900 MHz radyasyonun kalp dokusunda SOD ve GSH-Px aktivitelerini azaltırken, CAT aktivitesini artırdığını saptamışlardır [176]. Öte yandan Demirel ve arkadaşları, yapmış oldukları çalışmada 3 hafta boyunca uygulanan 3G radyasyonun göz dokusunda CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerini değiştirmediklerini göstermişlerdir [198]. Yine başka bir çalışmada Öktem ve arkadaşları, Özgüner ve arkadaşlarının modeline benzer süre ve şiddetlerde EMR uyguladıkları sıçanların böbrek dokularında SOD, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinin azaldığını tespit etmişlerdir [175]. Dolayısıyla deney modellerinde uygulanan süre ve şiddetlerin benzer olmasına rağmen ortaya çıkan farklılıkların nedeninin, çalışılan dokunun elektriksel iletkenliği ve doku kütle yoğunluğu gibi dokudan dokuya değişen parametrelerle ilişkili olabileceği kanaatine varılmıştır.

Görsel sistemde bol miktarda bulunan ve önemli rolünün olduğu vurgulanan [199] NO'nun, EMR'nin indüklediği lipid peroksidasyonda etkisinin olup olmadığı henüz yeterince aydınlatılmamıştır. Dolayısıyla EMR'nin görsel sistemle olan ilişkisini ortaya koyabilmek amacıyla LGN' de NO üretimine aracılık eden iNOS ve nNOS enzimlerinin immünohistokimyasal olarak ekspresyonları değerlendirilmiştir. Yapılan bu değerlendirme sonucunda EMR'nin LGN'de iNOS ve nNOS ekspresyonları üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca daha önceki çalışmalarda NO'nun, oksijen varlığında NO_2^- ve NO_3^- gibi çeşitli nitrojen türlerini oluşturduğu tespit edildiğinden NOS enzimlerinin ekspresyonlarına ek olarak çalışmamızda tüm beyinde NO'nun bir göstergesi olan toplam NO_2^- ve NO_3^- değerleri ölçülmüştür. Çalışmamızın bulgularına göre, 1 haftalık EMR grubunun beyin dokularında nitrit ve

nitrat değerlerinin kontrole göre arttığı gözlenirken, 10 haftalık EMR grubunda ise bu değerlerin kontrolüne göre azaldığı saptanmıştır. Bu bulgular ile LGN’de immünohistokimyasal metot ile elde edilen iNOS ve nNOS ekspresyonları değerlendirildiğinde, EMR’nin kısa süreli uygulanması durumunda NO ekspresyonunun indüklendiği ancak bu etkinin LGN ile ilişkisinin olmadığı sonucuna varabiliriz. Öte yandan, literatürde çalışmamızın bulgularını destekleyen yayınlar olduğu gibi [171, 176, 194] bu sonuçlar ile aynı paralellikte olmayan araştırmalar da [55, 200] mevcuttur. NO düzeylerinin, 900 MHz radyasyona 1 hafta boyunca günde bir saat maruz bırakılan sıçanların beyin dokusu [171] yanında kalp ve plazma dokularında da arttığı gözlenmiştir [176, 194]. Bazı araştırmacılar EMR’nin vazodilastasyonu indükleyebileceğini ve dolayısıyla da NO üretimini artıracadığını söylerken [201, 202], diğerleri EMR uygulamasından sonra artan NO düzeylerinin beyin, kalp ve renal dokularda oksidatif stresin artması nedeniyle olabileceğini iddia etmektedirler [171, 176]. Daha nceki çalışmaların çoğunluğunda NO ile lipid peroksidasyonu arasında pozitif bir ilişki bulunurken her iki deneysel grubumuzda da beklenenin aksine NO seviyesi ile TBARS ve 4-HNE değerleri arasında negatif bir ilişki gözlenmiştir. Kısa süreli EMR uygulanan deney grubumuzda gözlenen lipid peroksidasyon azalışından güçlü bir antioksidan olan S-nitrosoglutatyon (GSNO) oluşumunun sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Bilindiği gibi GSH ve NO’nun ortamda eř zamanlı olarak bulunması oksidatif stresi engelleyen GSNO’nun oluşmasını sağlamaktadır. Daha nceki çalışmalarda GSNO’nun, peroksinitrit (ONOO⁻)’i detoksifiye ederek nitrate dönüştürdüğü gibi, demir bileşiklerinin indüklediği Fenton reaksiyonlarını baskılayarak lipid peroksidasyonu engellediği gösterilmiştir [203, 204]. Dolayısıyla projemizde, kısa süreli EMR uygulanan grupta NO’nun lipid peroksidasyonu artırıcı bir etkisinin olmadığı, bunun tam aksine GSH ile birleşerek güçlü bir antioksidan olan GSNO yanında, CAT ve GSH-Px gibi antioksidanların da aktivitelerini artırarak lipid peroksidasyonu baskılayıcı bir rolünün olabileceği görüşüne varılmıştır. şüphesiz böyle bir yorumun geçerli olup olmadığını ortaya koyabilmek için GSNO antioksidanının miktarı ve aktivitesini belirleyecek daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır.

Öte yandan çalışmamızda uzun süreli EMR’ye maruz kalan sıçanların NO seviyelerinin kontrollerine göre azalma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. Uzun süreli uygulanan EMR modelimize paralel düzende tasarlanan diğer çalışmalara baktığımızda ise beyin dokusunda lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeylerinin artmasına rağmen NO seviyelerinin değişmediği veya artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir [55, 200]. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında ise EMR’nin çeşitli doku tiplerinde llen NO seviyesi üzerine etkisinin spelasyona açık bir konu olduğu gözlenmekte olup, bu konunun açıklığa kavuşturulması için farklı deney modelleri ile araştırmalar yapılması gerekmektedir.

Cep telefonları başa yakın kullanıldıklarından dolayı yapılan çalışmalar genellikle EMR’nin beyin üzerindeki etkilerini ortaya çıkarma hedefli olmuştur. Bu doğrultuda EMR’nin beyin üzerindeki etkisiyle ilgili yapılan araştırmaların hemen hemen tümünde biyokimyasal parametreler değerlendirilmiştir. Literatürde bu değişiklikleri elektrofizyoloji çalışmaları ile ortaya koyan çok az yayın bulunmaktadır.

Bu nedenle elektromanyetik radyasyonun görsel sistemde oluşturduğu değişikliklerde lipid peroksidasyonun rolü ve mekanizmasına ışık tutmak amacıyla planlanan bu çalışmamızda, elektrofizyolojik parametrelerden biri olan görsel uyarılma potansiyelleri tercih edilmiştir. VEP'ler görsel sistemin fonksiyonel araştırmasında ve optik yol patolojilerinin değerlendirilmesinde kullanılan duyarlı ve güvenilir bir yöntemdir. Özellikle VEP latenslerinin optik yol patolojisine paralel olarak uzadığı ve bu nedenle VEP'lerin klinik amaçla kullanılabileceği birçok çalışmada vurgulanmıştır [89, 205-207].

Çalışmamızın bulguları değerlendirildiğinde 1 haftalık sham grubu latens değerlerinin literatürde ki kontrol hayvanlarında bulunan VEP latenslerinden daha uzun olduğu göze çarpmaktadır. Bu durumun nedeninin ise pleksiglasların içinde hareketsiz bir şekilde kalan hayvanlar üzerinde oluşturulmuş hareketsizlik stresinin olabileceği düşünülmektedir. Zira hareketsizlik stresinin kısa süreli uygulanmasının lipid peroksidasyon değerlerini artırdığı Torres ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada gösterilmiştir [208].

Projemizde kontrol ve deney grubu hayvanlarından kaydedilen VEP latensleri değerlendirildiğinde, 1 haftalık EMR uygulanan grubun tüm VEP bileşenlerinin latenslerinin kontrolüne göre önemli derecede kısaldığı gözlenirken, 10 haftalık EMR uygulanan grubun P1 bileşeni hariç diğer tüm bileşenlerinin latenslerinin ise kontrolüne göre uzadığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan projemizde ölçülen parametreler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde bağıntı analizi sonuçlarına göre VEP latensleri ile beyin TBARS ve 4-HNE değerleri arasında pozitif bir korelasyonun olduğu saptanmıştır. VEP bileşenlerinin latenslerinin 1 haftalık EMR uygulanan grupta önemli derecede kısılması, 10 haftalık grupta ise uzaması VEP değişikliklerinin lipid peroksidasyonu ile ilişkili olabileceğini vurgulamaktadır. 10 haftalık EMR grubunda P1 hariç diğer tüm bileşenlerin uzaması, genikülkortikal afferent girişlerin, lamina IV'teki stellate hücrelerinin ve üst (upper) laminadaki piramidal hücrelerin etkilendiğini göstermektedir [209]. Bu da uzun süreli EMR maruziyeti etkisinin yaygın olduğunu ve görsel sistemin hemen hemen tümüyle etkilendiğini ima etmektedir. Diğer yandan, 1 haftalık EMR grubunda, tüm beyinde gözlenen lipid peroksidasyonun azalması ve VEP bileşenlerindeki düzelme, kısa süreli EMR uygulanmasının görsel sistem dahil tüm beyin üzerinde olumlu etkisinin olduğunu ortaya koymuştur.

Özetle çalışmamızda; EMR'nin kısa ve uzun süreli uygulanması sonucunda lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, antioksidan savunma sistemi ve VEP bileşenlerinin latensleri üzerinde farklı etkilerinin olduğu saptanmıştır. Uzun süreli EMR maruziyetinin literatürle uyumlu olarak beyin dokusunda lipid peroksidasyonunu artırabileceğini, protein oksidasyonuna neden olabileceğini ve dolayısıyla görsel sistemin fonksiyonel araştırmasında ve optik yol patolojilerini değerlendirmede kullanılan VEP bileşenlerini uzatabileceğini göstermektedir. Diğer yandan kısa süreli EMR uygulanan deney grubunda beyin TBARS ve 4-HNE düzeylerinin istatistiksel olarak azalmasının yanı sıra antioksidan enzim aktivitesinde

gözlenen artış EMR'nin ileriki çalışmalarda oksidatif hasar bağlı hastalıkların ilerlemesini yavaşlatma veya tedavi amaçlı kullanılabileceğini işaret etmektedir.

SONUÇLAR

Çalışmamızın sonuçları şöylece özetlenebilir:

1. Kısa süreli EMR uygulanması lipid peroksidasyonu azaltırken, uzun süreli EMR uygulanması lipid peroksidasyonu artırmaktadır.
2. Kısa süreli EMR'nin beyin dokusunda protein oksidasyonunu artırdığı tespit edilmiştir.
3. Kısa süreli EMR uygulanması VEP bileşenleri latenslerini azaltırken, uzun süreli EMR uygulanması VEP bileşenleri latenslerinin uzamasına neden olmuştur.
4. EMR uygulanması ile meydana gelen VEP bileşenlerdeki değişimlerin, serbest radikal artışı ve dolayısıyla lipid peroksidasyonu ile ilişkili olabileceği bağıntı analizi ile saptanmıştır.
5. Kısa süreli deney grubunda gözlenen lipid peroksidasyonu azalması ve antioksidan enzim aktivitesindeki artış, EMR'nin tedavi amaçlı kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Brillaud, E., A. Piotrowski, and R. de Seze, *Effect of an acute 900 MHz GSM exposure on glia in the rat brain: A time-dependent study*. Toxicology, 2007. **238**(1): p. 23-33.
2. Xu, S., et al., *Chronic exposure to GSM 1800-MHz microwaves reduces excitatory synaptic activity in cultured hippocampal neurons*. Neurosci Lett, 2006. **398**(3): p. 253-7.
3. Mausset-Bonnefont, A.L., et al., *Acute exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields induces glial reactivity and biochemical modifications in the rat brain*. Neurobiol Dis, 2004. **17**(3): p. 445-54.
4. Nittby, H., et al., *Increased blood-brain barrier permeability in mammalian brain 7 days after exposure to the radiation from a GSM-900 mobile phone*. Pathophysiology, 2009. **16**(2-3): p. 103-12.
5. Schreier, N., A. Huss, and M. Roosli, *The prevalence of symptoms attributed to electromagnetic field exposure: a cross-sectional representative survey in Switzerland*. Soz Präventivmed, 2006. **51**(4): p. 202-9.
6. Leeka Kheifets, M.R., Rick Saunders and Emilie van Deventer, *The sensitivity of Children to Electromagnetic Fields*. Pediatrics, 2005. **116**: p. 303-313.
7. Abdel-Rassoul, G., et al., *Neurobehavioral effects among inhabitants around mobile phone base stations*. Neurotoxicology, 2007. **28**(2): p. 434-440.
8. Huber, R., et al., *Electromagnetic fields, such as those from mobile phones, alter regional cerebral blood flow and sleep and waking EEG*. Journal of Sleep Research, 2002. **11**(4): p. 289-295.
9. Arendash, G.W., et al., *Electromagnetic Treatment to Old Alzheimer's Mice Reverses beta-Amyloid Deposition, Modifies Cerebral Blood Flow, and Provides Selected Cognitive Benefit*. PLoS One, 2012. **7**(4).
10. Arendash, G.W., et al., *Electromagnetic Field Treatment Protects Against and Reverses Cognitive Impairment in Alzheimer's Disease Mice*. Journal of Alzheimers Disease, 2010. **19**(1): p. 191-210.
11. Dragicevic, N., Bradshaw, P.C., Mamcarz, M., Lin, X., Wang, L., Cao, C. and Arendash, G.W., *Long-term electromagnetic field treatment enhances brain mitochondrial function of both Alzheimer's transgenic mice and normal mice: a mechanism for electromagnetic field-induced cognitive benefit?* . Neuroscience, 2011. **185**: p. 135-149.
12. Kesari, K.K., S. Kumar, and J. Behari, *900-MHz microwave radiation promotes oxidation in rat brain*. Electromagn Biol Med, 2011. **30**(4): p. 219-34.
13. Lee, B.C., et al., *Effects of extremely low frequency magnetic field on the antioxidant defense system in mouse brain: a chemiluminescence study*. J Photochem Photobiol B, 2004. **73**(1-2): p. 43-8.

14. Fukui, K., et al., *Impairment of learning and memory in rats caused by oxidative stress and aging, and changes in antioxidative defense systems*. Ann N Y Acad Sci, 2001. **928**: p. 168-75.
15. Fukui, K., et al., *Cognitive impairment of rats caused by oxidative stress and aging, and its prevention by vitamin E*. Ann N Y Acad Sci, 2002. **959**: p. 275-84.
16. Maskey, D., et al., *Effect of 835 MHz radiofrequency radiation exposure on calcium binding proteins in the hippocampus of the mouse brain*. Brain Res, 2010. **1313**: p. 232-41.
17. Dasdag, S., et al., *Effect of Mobile Phone Exposure on Apoptotic Glial Cells and Status of Oxidative Stress in Rat Brain*. Electromagnetic biology and medicine, 2009. **28**(4): p. 342-354.
18. Dasdag, S., et al., *Effect of 900 MHz radio frequency radiation on beta amyloid protein, protein carbonyl, and malondialdehyde in the brain*. Electromagn Biol Med, 2012. **31**(1): p. 67-74.
19. Imge, E.B., et al., *Effects of mobile phone use on brain tissue from the rat and a possible protective role of vitamin C - a preliminary study*. International journal of radiation biology, 2010. **86**(12): p. 1044-1049.
20. Sonmez, O.F., et al., *Purkinje cell number decreases in the adult female rat cerebellum following exposure to 900 MHz electromagnetic field*. Brain research, 2010. **1356**: p. 95-101.
21. Sokolovic, D., et al., *Melatonin Reduces Oxidative Stress Induced by Chronic Exposure of Microwave Radiation from Mobile Phones in Rat Brain*. Journal of Radiation Research, 2008. **49**(6): p. 579-586.
22. Croft, R.J., et al., *The effect of mobile phone electromagnetic fields on the alpha rhythm of human electroencephalogram*. Bioelectromagnetics, 2008. **29**(1): p. 1-10.
23. Bak, M., et al., *Effects of GSM signals during exposure to event related potentials (ERPs)*. Int J Occup Med Environ Health, 2010. **23**(2): p. 191-9.
24. Croft, R.J., et al., *Effects of 2G and 3G Mobile Phones on Human Alpha Rhythms: Resting EEG in Adolescents, Young Adults, and the Elderly*. Bioelectromagnetics, 2010. **31**(6): p. 434-444.
25. Leung, S., et al., *Effects of 2G and 3G mobile phones on performance and electrophysiology in adolescents, young adults and older adults*. Clinical Neurophysiology, 2011. **122**(11): p. 2203-2216.
26. Chiappa, K.H. and A.H. Ropper, *Evoked-Potentials in Clinical Medicine .1*. New England Journal of Medicine, 1982. **306**(19): p. 1140-1150.
27. Otto, D.A., Hudnell, H.K., *The use of visual and chemosensory evoked potentials in environmental and occupational health*. Environ. Res., 1993. **62**: p. 159-171.
28. Otto, D., et al., *Electrophysiological Measures of Visual and Auditory Function as Indexes of Neurotoxicity*. Toxicology, 1988. **49**(2-3): p. 205-218.
29. Celesia, G.G., *Evoked Potential Techniques in the Evaluation of Visual Function*. Journal of Clinical Neurophysiology, 1984. **1**(1).

30. Gutierrez-Diaz, E., et al., *Evaluation of the visual function in obstructive sleep apnea syndrome patients and normal-tension glaucoma by means of the multifocal visual evoked potentials*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2012. **250**(11): p. 1681-8.
31. Jörg, J.a.H.H., *Evozierte potentiale (VEP,SEP,AEP) in klinik und praxis*. . Springer-Verlag, 1984: p. 1-69.
32. Esterbauer, H. and K.H. Cheeseman, *Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal*. Methods Enzymol, 1990. **186**: p. 407-21.
33. Holley, A.E. and K.H. Cheeseman, *Measuring free radical reactions in vivo*. Br Med Bull, 1993. **49**(3): p. 494-505.
34. Esterbauer, H., *Estimation of peroxidative damage. A critical review*. Pathol Biol (Paris), 1996. **44**(1): p. 25-8.
35. Ferrari, R., et al., *Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfused myocardium*. Am J Clin Nutr, 1991. **53**(1 Suppl): p. 215S-222S.
36. Castegna, A., et al., *Modulation of phospholipid asymmetry in synaptosomal membranes by the lipid peroxidation products, 4-hydroxynonenal and acrolein: implications for Alzheimer's disease*. Brain Res, 2004. **1004**(1-2): p. 193-7.
37. Shacter, E., *Protein oxidative damage*. Methods Enzymol, 2000. **319**: p. 428-36.
38. Reznick, A.Z. and L. Packer, *Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay*. Methods Enzymol, 1994. **233**: p. 357-63.
39. Stadtman, E.R. and B.S. Berlett, *Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease*. Chem Res Toxicol, 1997. **10**(5): p. 485-94.
40. Stadtman, E.R. and C.N. Oliver, *Metal-catalyzed oxidation of proteins. Physiological consequences*. J Biol Chem, 1991. **266**(4): p. 2005-8.
41. Costa, E., Tagliamonte, N., Brunello, N., Cheney, D. L., *Effects of stress on the metabolism of acetylcholine in the cholinergic pathways of extrapyramidal and limbic systems*. Elsevier, 1980: p. 59-67.
42. Green, I.C. and P.E. Chabrier, *Nitric oxide: from basic research to clinical applications*. Drug Discov Today, 1999. **4**(2): p. 47-49.
43. Wink, D.A., et al., *The effect of various nitric oxide-donor agents on hydrogen peroxide-mediated toxicity: A direct correlation between nitric oxide formation and protection*. Arch Biochem Biophys, 1996. **331**(2): p. 241-248.
44. J.M.C., G., *Biological origin of free radicals, and mechanism of antioxidant protection*. Chemico-Biol. Interact, 1994. **91**: p. 133-140.
45. O'Donnell, V.B., et al., *Nitric oxide inhibition of lipid peroxidation: kinetics of reaction with lipid peroxyl radicals and comparison with alpha-tocopherol*. Biochemistry, 1997. **36**(49): p. 15216-23.
46. Rubbo, H., et al., *Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives*. J Biol Chem, 1994. **269**(42): p. 26066-75.

47. Chiueh, C.C. and P. Rauhala, *The redox pathway of S-nitrosoglutathione, glutathione and nitric oxide in cell to neuron communications*. Free Radic Res, 1999. **31**(6): p. 641-50.
48. Chiueh, C.C., *Neuroprotective properties of nitric oxide*. Ann N Y Acad Sci, 1999. **890**: p. 301-11.
49. Kashii, S., et al., *Dual actions of nitric oxide in N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotoxicity in cultured retinal neurons*. Brain Res, 1996. **711**(1-2): p. 93-101.
50. Cudeiro, J. and C. Rivadulla, *Sight and insight - on the physiological role of nitric oxide in the visual system*. Trends in Neurosciences, 1999. **22**(3): p. 109-116.
51. McCann, S.M., Licinio, J., Wong, M.L., Yu, W.H., Karanth, S., Rettorri, V., *The nitric oxide synthesis of aging*. Exp Gerontol 1998. **33**: p. 7-8.
52. Avci, B., et al., *Oxidative stress induced by 1.8 GHz radio frequency electromagnetic radiation and effects of garlic extract in rats*. Int J Radiat Biol, 2012. **88**(11): p. 799-805.
53. Cenesiz, M., et al., *Effects of 900 and 1800 MHz Electromagnetic Field Application on Electrocardiogram, Nitric Oxide, Total Antioxidant Capacity, Total Oxidant Capacity, Total Protein, Albumin and Globulin Levels in Guinea Pigs*. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 2011. **17**(3): p. 357-362.
54. Dasdag, S., et al., *Effect of Long Term Mobile Phone Exposure on Oxidative-Antioxidative Processes and Nitric Oxide in Rats*. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2008. **22**(4): p. 992-997.
55. Bilgici, B., et al., *Effect of 900 MHz radiofrequency radiation on oxidative stress in rat brain and serum*. Electromagnetic biology and medicine, 2013. **32**(1): p. 20-29.
56. Green, L.C., et al., *Analysis of Nitrate, Nitrite, and [N-15]-Labeled Nitrate in Biological-Fluids*. Anal Biochem, 1982. **126**(1): p. 131-138.
57. Ansiklopedi, V.Ö. *Elektromanyetik Radyasyon*. Available from: http://tr.wikipedia.org/wiki/Elektromanyetik_radyasyon.
58. Seker, S.a.C., O., *Çevremizdeki Radyasyon ve Korunma Yöntemleri*1997: Boğaziçi Üniversitesi.
59. Akbal, A., *Elektromanyetik Dalgaların Mitotik Kromozomlar, Bakteri Gelişimi, Enzim Aktivitesi Ve DNA Üzerine Etkileri*, in *Fen Bilimleri Enstitüsü*2007, Fırat Üniversitesi.
60. Svetlana M. Rogacheva, P.E.K., Ulia A. Malinina, Era B. Popyhova, Svetlana A. Denisova and Alexander U. Somov, *Combined effect of electromagnetic radiation of extremely high frequencies and chemical compounds on biological objects*. Toxicology Letters, 2006. **164**: p. 123.
61. Kesari, K.K., S. Kumar, and J. Behari, *Effects of radiofrequency electromagnetic wave exposure from cellular phones on the reproductive pattern in male Wistar rats*. Appl Biochem Biotechnol, 2011. **164**(4): p. 546-59.

62. David, P., Adams, D., Dawe, S., Brette S., Jhon W., *Non- Thermal Biological Effect of Microwave Fields on Caenorhabdits Elegans*. Nature, 2005. **405**: p. 417-418.
63. Hansson, B., B. Thors, and C. Tornevik, *Analysis of the effect of mobile phone base station antenna loading on localized SAR and its consequences for measurements*. Bioelectromagnetics, 2011. **32**(8): p. 664-72.
64. IRPA, *Interim Guidelines on Limits of Exposure to Radiofrequency Electromagnetic Fields in the Frequency Range from 100kHz to 300 GHz*, 1988. p. 115-123.
65. Appleton, B. and G.C. McCrossan, *Microwave lens effects in humans*. Arch Ophthalmol, 1972. **88**(3): p. 259-62.
66. YAYINLARI, G. NASIL ÇALIŞIR (BİLİM,TEKNOLOJİ VE İCATLAR ANSİKLOPEDİSİ) 1980; Available from: <http://www.nuveforum.net/1104-genel-araclar/62806-mikrodalga-elektromagnetik-isinin/>.
67. Sirav, B. and N. Seyhan, *Blood-brain barrier disruption by continuous-wave radio frequency radiation*. Electromagn Biol Med, 2009. **28**(2): p. 215-22.
68. Ammari, M., et al., *Effect of a chronic GSM 900 MHz exposure on glia in the rat brain*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2008. **62**(4): p. 273-81.
69. Ammari, M., et al., *Exposure to GSM 900 MHz electromagnetic fields affects cerebral cytochrome c oxidase activity*. Toxicology, 2008. **250**(1): p. 70-4.
70. Liu, Y.X., et al., *Exposure to 1950-MHz TD-SCDMA electromagnetic fields affects the apoptosis of astrocytes via caspase-3-dependent pathway*. PLoS One, 2012. **7**(8): p. e42332.
71. Naresh K. Panda, R.M., Sanjay Munjal and Ramandeep S. Virk, *Auditory Changes in Mobile Users: Is Evidence Forthcoming?* Otolaryngology -- Head and Neck Surgery, 2011. **144**: p. 581-585.
72. Kleinlogel, H., et al., *Effects of weak mobile phone - electromagnetic fields (GSM, UMTS) on well-being and resting EEG*. Bioelectromagnetics, 2008. **29**(6): p. 479-87.
73. Hung, C.S., et al., *Mobile phone 'talk-mode' signal delays EEG-determined sleep onset*. Neurosci Lett, 2007. **421**(1): p. 82-86.
74. Lopez-Martin, E., et al., *The Action of Pulse-Modulated GSM Radiation Increases Regional Changes in Brain Activity and c-Fos Expression in Cortical and Subcortical Areas in a Rat Model of Picrotoxin-Induced Seizure Proneness*. Journal of neuroscience research, 2009. **87**(6): p. 1484-1499.
75. Nylund, R., N. Kuster, and D. Leszczynski, *Analysis of proteome response to the mobile phone radiation in two types of human primary endothelial cells*. Proteome Science, 2010. **8**.
76. Prasad, S. and S.L. Galetta, *Anatomy and physiology of the afferent visual system*. Handb Clin Neurol, 2011. **102**: p. 3-19.
77. Kandel, E.R., Schwartz, J.H. and Jessel, T.M, *Principle of neural science*, in *Principle of neural science*, E.R. Kandel, Editor 2000: 2000. p. 507-522.
78. Guyton, A., *Tıbbi fizyoloji* 2001. 566-602.
79. Ganong, W.F., *Vision*, W.F. Ganong, Editor 1996. p. 287-354.

80. Livingstone, M.a.H., D., *Segregation of form, color, movement and depth: Anatomy, physiology and perception*. Science, 1981. **240**: p. 740-749.
81. Taylor, W.R. and D.I. Vaney, *New directions in retinal research*. Trends in Neurosciences, 2003. **26**(7): p. 379-385.
82. Monica Gomes Lima , C.M., Karen Renata Matos Oliveira , Alódia Brasil ,, E.d.J.O.B. Maria Elena Crespo-Lopez , Fernando Allan de Farias Rocha ,, and A.M.H. Domingos Luiz Wanderley Picanço-Diniz *Nitric oxide as a regulatory molecule in the processing of the visual stimulus*. Elsevier, 2014(36): p. 44-50.
83. Neitz, J. and G.H. Jacobs, *Individual-Differences in Photopigments*. Journal of the Optical Society of America a-Optics Image Science and Vision, 1986. **3**(13): p. P27-P27.
84. Sokol, S., *Visually evoked potentials: theory, techniques and clinical applications*. Surv Ophthalmol, 1976. **21**(1): p. 18-44.
85. Halliday, A.M., W.I. McDonald, and J. Mushin, *Delayed visual evoked response in optic neuritis*. Lancet, 1972. **1**(7758): p. 982-5.
86. Herr, D.W., et al., *Alterations in flash evoked potentials (FEPs) in rats produced by 3, 3'-iminodipropionitrile (IDPN)*. Neurotoxicology and teratology, 1995. **17**(6): p. 645-656.
87. Diaz, F. and E. Amenedo, *Ageing effects on flash visual evoked potentials (FVEP) recorded from parietal and occipital electrodes*. Neurophysiol Clin, 1998. **28**(5): p. 399-412.
88. Yargıçoğlu, P., et al., *The effect of vitamin E on stress-induced changes in visual evoked potentials (VEPs) in rats exposed to different experimental stress models*. Acta Ophthalmologica Scandinavica, 2003. **81**(2): p. 181-187.
89. Wright, C.E., G.F. Harding, and A. Orwin, *The flash and pattern VEP as a diagnostic indicator of dementia*. Doc Ophthalmol, 1986. **62**(1): p. 89-96.
90. Herr, D.W., W.K. Boyes, and R.S. Dyer, *Rat flash-evoked potential peak N160 amplitude: modulation by relative flash intensity*. Physiol Behav, 1991. **49**(2): p. 355-65.
91. Brin, M.F., et al., *Electrophysiologic features of abetalipoproteinemia: functional consequences of vitamin E deficiency*. Neurology, 1986. **36**(5): p. 669-73.
92. Schroeder, R.A. and P.C. Kuo, *Nitric oxide: physiology and pharmacology*. Anesth Analg, 1995. **81**(5): p. 1052-9.
93. Nussler, A.K. and T.R. Billiar, *Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase*. J Leukoc Biol, 1993. **54**(2): p. 171-8.
94. Alderton, W.K., C.E. Cooper, and R.G. Knowles, *Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition*. Biochem J, 2001. **357**(Pt 3): p. 593-615.
95. Aktan, F., *iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation*. Life Sci, 2004. **75**(6): p. 639-53.
96. Wallis, J.P., *Nitric oxide and blood: a review*. Transfus Med, 2005. **15**(1): p. 1-11.
97. Weller, R., *Nitric oxide donors and the skin: useful therapeutic agents?* Clin Sci (Lond), 2003. **105**(5): p. 533-5.

98. Virag, L., et al., *Nitric oxide-peroxynitrite-poly(ADP-ribose) polymerase pathway in the skin*. Exp Dermatol, 2002. **11**(3): p. 189-202.
99. Murphy, M.P., *Nitric oxide and cell death*. Biochim Biophys Acta, 1999. **1411**(2-3): p. 401-14.
100. Bredt, D.S., P.M. Hwang, and S.H. Snyder, *Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide*. Nature, 1990. **347**(6295): p. 768-70.
101. Goureau, O., et al., *Differential regulation of inducible nitric oxide synthase by fibroblast growth factors and transforming growth factor beta in bovine retinal pigmented epithelial cells: inverse correlation with cellular proliferation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. **90**(9): p. 4276-80.
102. Yamamoto, R., et al., *The localization of nitric oxide synthase in the rat eye and related cranial ganglia*. Neuroscience, 1993. **54**(1): p. 189-200.
103. Dawson, T.M., et al., *Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. **88**(17): p. 7797-801.
104. Cheon, E.W., et al., *Nitric oxide synthase expression in the transient ischemic rat retina: neuroprotection of betaxolol*. Neurosci Lett, 2002. **330**(3): p. 265-9.
105. Neufeld, A.H., S. Shareef, and J. Pena, *Cellular localization of neuronal nitric oxide synthase (NOS-1) in the human and rat retina*. J Comp Neurol, 2000. **416**(2): p. 269-75.
106. Eldred, W.D. and T.A. Blute, *Imaging of nitric oxide in the retina*. Vision Res, 2005. **45**(28): p. 3469-86.
107. Kim, I.B., et al., *Immunocytochemical localization of nitric oxide synthase in the mammalian retina*. Neurosci Lett, 1999. **267**(3): p. 193-196.
108. Haverkamp, S. and W.D. Eldred, *Localization of nNOS in photoreceptor, bipolar and horizontal cells in turtle and rat retinas*. Neuroreport, 1998. **9**(10): p. 2231-2235.
109. Ding, J.D. and R.J. Weinberg, *Distribution of soluble guanylyl cyclase in rat retina. (vol 500, pg 734, 2007)*. Journal of Comparative Neurology, 2007. **502**(1): p. 171-+.
110. Mills, S.L. and S.C. Massey, *Differential Properties of 2 Gap Junctional Pathways Made by Aii Amacrine Cells*. Nature, 1995. **377**(6551): p. 734-737.
111. Yu, D. and W.D. Eldred, *GABA(A) and GABA(C) receptor antagonists increase retinal cyclic GMP levels through nitric oxide synthase*. Vis Neurosci, 2003. **20**(6): p. 627-637.
112. Wexler, E.M., P.K. Stanton, and S. Nawy, *Nitric oxide depresses GABA(A) receptor function via coactivation of cGMP-dependent kinase and phosphodiesterase*. Journal of Neuroscience, 1998. **18**(7): p. 2342-2349.
113. Giove, T.J., M.M. Deshpande, and W.D. Eldred, *Identification of Alternate Transcripts of Neuronal Nitric Oxide Synthase in the Mouse Retina*. Journal of neuroscience research, 2009. **87**(14): p. 3134-3142.

114. Chun, M.H., et al., *Light and electron microscopical analysis of nitric oxide synthase-like immunoreactive neurons in the rat retina*. Vis Neurosci, 1999. **16**(2): p. 379-389.
115. Blute, T.A., B. Mayer, and W.D. Eldred, *Immunocytochemical and histochemical localization of nitric oxide synthase in the turtle retina*. Vis Neurosci, 1997. **14**(4): p. 717-29.
116. DeVries, S.H. and E.A. Schwartz, *Modulation of an electrical synapse between solitary pairs of catfish horizontal cells by dopamine and second messengers*. J Physiol, 1989. **414**: p. 351-75.
117. Xin, D. and S.A. Bloomfield, *Effects of nitric oxide on horizontal cells in the rabbit retina*. Vis Neurosci, 2000. **17**(5): p. 799-811.
118. McMahon, D.G. and L.V. Ponomareva, *Nitric oxide and cGMP modulate retinal glutamate receptors*. J Neurophysiol, 1996. **76**(4): p. 2307-15.
119. Yu, D. and W.D. Eldred, *Nitric oxide stimulates gamma-aminobutyric acid release and inhibits glycine release in retina*. J Comp Neurol, 2005. **483**(3): p. 278-91.
120. Baldrige, W.H. and A.J. Fischer, *Nitric oxide donor stimulated increase of cyclic GMP in the goldfish retina*. Vis Neurosci, 2001. **18**(6): p. 849-56.
121. Kara, P. and M.J. Friedlander, *Arginine analogs modify signal detection by neurons in the visual cortex*. J Neurosci, 1999. **19**(13): p. 5528-48.
122. Contestabile, A., *Roles of NMDA receptor activity and nitric oxide production in brain development*. Brain Res Rev, 2000. **32**(2-3): p. 476-509.
123. Wang, G.Y., L.C. Liets, and L.M. Chalupa, *Nitric oxide differentially modulates ON and OFF responses of retinal ganglion cells*. J Neurophysiol, 2003. **90**(2): p. 1304-13.
124. Cudeiro, J., et al., *Further observations on the role of nitric oxide in the feline lateral geniculate nucleus*. European Journal of Neuroscience, 1996. **8**(1): p. 144-152.
125. Cudeiro, J., et al., *Modulatory Influence of Putative Inhibitors of Nitric-Oxide Synthesis on Visual Processing in the Cat Lateral Geniculate-Nucleus*. J Neurophysiol, 1994. **71**(1): p. 146-149.
126. McCauley, A.K., S.T. Frank, and D.W. Godwin, *Brainstem nitrergic innervation of the mouse visual thalamus*. Brain research, 2009. **1278**: p. 34-49.
127. Cramer, K.S., C.A. Leamey, and M. Sur, *Nitric oxide as a signaling molecule in visual system development*. Nitric Oxide in Brain Development, Plasticity and Disease, 1998. **118**: p. 101-114.
128. Goldstein, I.M., P. Ostwald, and S. Roth, *Nitric oxide: a review of its role in retinal function and disease*. Vision Res, 1996. **36**(18): p. 2979-94.
129. Vorwerk, C.K., et al., *The role of neuronal and endothelial nitric oxide synthase in retinal excitotoxicity*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1997. **38**(10): p. 2038-44.
130. Valko, M., et al., *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. Int J Biochem Cell Biol, 2007. **39**(1): p. 44-84.

131. Toyokuni, S. and J.L. Sagripanti, *Induction of Oxidative Single-Strand and Double-Strand Breaks in DNA by Ferric Citrate*. Free Radical Biology and Medicine, 1993. **15**(2): p. 117-123.
132. Cheeseman, K.H., *Mechanisms and Effects of Lipid-Peroxidation*. Molecular Aspects of Medicine, 1993. **14**(3): p. 191-197.
133. Yu, B.P., *Cellular defenses against damage from reactive oxygen species*. Physiol Rev, 1994. **74**(1): p. 139-62.
134. Yeh, C.C., et al., *Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer*. Clinica Chimica Acta, 2005. **361**(1-2): p. 104-111.
135. Stahl, W., N. Ale-Agha, and M.C. Polidori, *Non-antioxidant properties of carotenoids*. Biological Chemistry, 2002. **383**(3-4): p. 553-558.
136. Buechter, D.D., *Free-Radicals and Oxygen-Toxicity*. Pharm Res, 1988. **5**(5): p. 253-260.
137. Akkus, İ., *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkiler*. 1995: p. 85-91.
138. McCord, J.M., *Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance*. Clin Biochem, 1993. **26**(5): p. 351-7.
139. Weiss, S.J., *Oxygen, ischemia and inflammation*. Acta Physiol Scand Suppl, 1986. **548**: p. 9-37.
140. Hartz, J.W. and H.F. Deutsch, *Subunit structure of human superoxide dismutase*. J Biol Chem, 1972. **247**(21): p. 7043-50.
141. Bakonyi, T. and Z. Radak, *High altitude and free radicals*. Journal of Sports Science and Medicine, 2004. **3**(2): p. 64-69.
142. Berger, M.M., *Antioxidant supplements - The evidence for value in critical care*. Clinica Chimica Acta, 2005. **355**: p. S45-S45.
143. Kannan, K., et al., *Evidence for the induction of apoptosis by endosulfan in a human T-cell leukemic line*. Molecular and Cellular Biochemistry, 2000. **205**(1-2): p. 53-66.
144. Koster, J.F., P. Biemond, and H. Stam, *Lipid-Peroxidation and Myocardial Ischemic Damage - Cause or Consequence*. Basic Research in Cardiology, 1987. **82**: p. 253-260.
145. Clemens, M.R. and Z. Bursazanetti, *Lipid Abnormalities and Peroxidation of Erythrocytes in Nephrotic Syndrome*. Nephron, 1989. **53**(4): p. 325-329.
146. Clemens, M.R. and H.D. Waller, *Lipid-Peroxidation in Erythrocytes*. Chemistry and Physics of Lipids, 1987. **45**(2-4): p. 251-268.
147. Clemens, M.R. and H. Remmer, *Volatile Hydrocarbons - Index of Lipid-Peroxidation in Erythrocytes*. Blut, 1982. **45**(3): p. 192-192.
148. Ferrari, R., et al., *Oxygen free radicals and myocardial damage: protective role of thiol-containing agents*. Am J Med, 1991. **91**(3C): p. 95S-105S.
149. Valko, M., et al., *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*. Chem Biol Interact, 2006. **160**(1): p. 1-40.
150. Yamauchi, H., et al., *Involvement of p53 in 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine-induced trophoblastic cell apoptosis and impaired proliferation in rat placenta*. Biol Reprod, 2004. **70**(6): p. 1762-7.

151. Cadet, J., T. Douki, and J.L. Ravanat, *Oxidatively generated damage to the guanine moiety of DNA: mechanistic aspects and formation in cells*. Acc Chem Res, 2008. **41**(8): p. 1075-83.
152. Dizdaroglu, M., G. Kirkali, and P. Jaruga, *Formamidopyrimidines in DNA: mechanisms of formation, repair, and biological effects*. Free Radic Biol Med, 2008. **45**(12): p. 1610-21.
153. Calabrese, V., T.E. Bates, and A.M. Stella, *NO synthase and NO-dependent signal pathways in brain aging and neurodegenerative disorders: the role of oxidant/antioxidant balance*. Neurochem Res, 2000. **25**(9-10): p. 1315-41.
154. Walford, G. and J. Loscalzo, *Nitric oxide in vascular biology*. J Thromb Haemost, 2003. **1**(10): p. 2112-8.
155. Vincent, A.M., et al., *Uncoupling proteins prevent glucose-induced neuronal oxidative stress and programmed cell death*. Diabetes, 2004. **53**(3): p. 726-34.
156. Beckman, J.S., et al., *Apparent Hydroxyl Radical Production by Peroxynitrite - Implications for Endothelial Injury from Nitric-Oxide and Superoxide*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. **87**(4): p. 1620-1624.
157. Lawrence, R.A. and R.F. Burk, *Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity*. J Nutr, 1978. **108**(2): p. 211-5.
158. Yun-Zhong Fang, S.Y., and Guoyao Wu, PhD, *Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition*. Elseiver, 2002(18): p. 872-879.
159. Thomas, C.E. and S.D. Aust, *Rat liver microsomal NADPH-dependent release of iron from ferritin and lipid peroxidation*. J Free Radic Biol Med, 1985. **1**(4): p. 293-300.
160. Brown, K.M., et al., *Effects of organic and inorganic selenium supplementation on selenoenzyme activity in blood lymphocytes, granulocytes, platelets and erythrocytes*. Clin Sci (Lond), 2000. **98**(5): p. 593-9.
161. Herbette, S., P. Roeckel-Drevet, and J.R. Drevet, *Seleno-independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers*. FEBS J, 2007. **274**(9): p. 2163-80.
162. Wasowicz, W., J. Neve, and A. Peretz, *Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage*. Clin Chem, 1993. **39**(12): p. 2522-6.
163. Bradford, M.M., *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*. Anal Biochem, 1976. **72**: p. 248-54.
164. Tietze, F., *Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues*. Anal Biochem, 1969. **27**(3): p. 502-22.
165. Malstrom, B.A., L. and Reinhammer B., *The enzymes* 1975: New York.

166. Johansson, L.H. and L.A. Borg, *A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples*. Anal Biochem, 1988. **174**(1): p. 331-6.
167. Konturek, S.J., et al., *Helicobacter pylori infection delays healing of ischaemia-reperfusion induced gastric ulcerations: new animal model for studying pathogenesis and therapy of H. pylori infection*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2000. **12**(12): p. 1299-313.
168. Kennet, B.B., Ames, N.B., *The free radical theory of aging matures*. Physiol. Rev., 1998. **78**(2): p. 547-581.
169. Mates, J.M. and F. Sanchez-Jimenez, *Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes*. Front Biosci, 1999. **4**: p. D339-45.
170. Matsumoto, K., et al., *Psychological stress-induced enhancement of brain lipid peroxidation via nitric oxide systems and its modulation by anxiolytic and anxiogenic drugs in mice*. Brain Res, 1999. **839**(1): p. 74-84.
171. Ilhan, A., et al., *Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain*. Clin Chim Acta, 2004. **340**(1-2): p. 153-62.
172. Irmak, M.K., et al., *Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits*. Cell Biochem Funct, 2002. **20**(4): p. 279-83.
173. Koylu, H., et al., *Melatonin modulates 900 Mhz microwave-induced lipid peroxidation changes in rat brain*. Toxicol Ind Health, 2006. **22**(5): p. 211-6.
174. Moustafa, Y.M., et al., *Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidant activities in human erythrocytes*. J Pharm Biomed Anal, 2001. **26**(4): p. 605-8.
175. Oktem, F., et al., *Oxidative damage in the kidney induced by 900-MHz-emitted mobile phone: protection by melatonin*. Arch Med Res, 2005. **36**(4): p. 350-5.
176. Ozguner, F., et al., *Mobile phone-induced myocardial oxidative stress: protection by a novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester*. Toxicol Ind Health, 2005. **21**(9): p. 223-30.
177. Sokolovic, D., et al., *Melatonin reduces oxidative stress induced by chronic exposure of microwave radiation from mobile phones in rat brain*. J Radiat Res, 2008. **49**(6): p. 579-86.
178. Yurekli, A.I., et al., *GSM base station electromagnetic radiation and oxidative stress in rats*. Electromagn Biol Med, 2006. **25**(3): p. 177-88.
179. Aboul Ezz, H.S., et al., *The effect of pulsed electromagnetic radiation from mobile phone on the levels of monoamine neurotransmitters in four different areas of rat brain*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2013. **17**(13): p. 1782-8.
180. Berndtson, A.K., S.E. Vincent, and J.E. Fortune, *Effects of gonadotrophin concentration on hormone production by theca interna and granulosa cells from bovine preovulatory follicles*. J Reprod Fertil Suppl, 1995. **49**: p. 527-31.
181. Xu, S., et al., *Exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation induces oxidative damage to mitochondrial DNA in primary cultured neurons*. Brain Res, 2010. **1311**: p. 189-96.

182. Eser, O., et al., *The effect of electromagnetic radiation on the rat brain: an experimental study*. Turk Neurosurg, 2013. **23**(6): p. 707-15.
183. Naziroglu, M. and N. Gumral, *Modulator effects of L-carnitine and selenium on wireless devices (2.45 GHz)-induced oxidative stress and electroencephalography records in brain of rat*. Int J Radiat Biol, 2009. **85**(8): p. 680-9.
184. Naziroglu, M., et al., *2.45-Gz wireless devices induce oxidative stress and proliferation through cytosolic Ca(2+)(+) influx in human leukemia cancer cells*. Int J Radiat Biol, 2012. **88**(6): p. 449-56.
185. Naziroglu, M., et al., *Melatonin modulates wireless (2.45 GHz)-induced oxidative injury through TRPM2 and voltage gated Ca(2+) channels in brain and dorsal root ganglion in rat*. Physiol Behav, 2012. **105**(3): p. 683-92.
186. Imge, E.B., et al., *Effects of mobile phone use on brain tissue from the rat and a possible protective role of vitamin C - a preliminary study*. Int J Radiat Biol, 2010. **86**(12): p. 1044-9.
187. Dogan, M., et al., *Effects of electromagnetic radiation produced by 3G mobile phones on rat brains: magnetic resonance spectroscopy, biochemical, and histopathological evaluation*. Hum Exp Toxicol, 2012. **31**(6): p. 557-64.
188. Ferrari, R., et al., *Role of Oxygen Free-Radicals in Ischemic and Reperfused Myocardium*. American Journal of Clinical Nutrition, 1991. **53**(1): p. S215-S222.
189. Deshmukh, P.S., et al., *Effect of low level microwave radiation exposure on cognitive function and oxidative stress in rats*. Indian J Biochem Biophys, 2013. **50**(2): p. 114-9.
190. McEwen, B.S., *The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance*. Brain Res, 2000. **886**(1-2): p. 172-189.
191. Olivenza, R., et al., *Chronic stress induces the expression of inducible nitric oxide synthase in rat brain cortex*. J Neurochem, 2000. **74**(2): p. 785-91.
192. Gonenc, S., et al., *Effects of footshock stress on superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzyme activities and thiobarbituric acid reactive substances levels in the rat prefrontal cortex and striatum*. Neurosci Lett, 2000. **289**(2): p. 107-10.
193. Meral, I., et al., *Effects of 900-MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stress and some vitamin levels of guinea pigs*. Brain Res, 2007. **1169**: p. 120-4.
194. Esmekaya, M.A., C. Ozer, and N. Seyhan, *900 MHz pulse-modulated radiofrequency radiation induces oxidative stress on heart, lung, testis and liver tissues*. Gen Physiol Biophys, 2011. **30**(1): p. 84-9.
195. Kowald, A., H. Lehrach, and E. Klipp, *Alternative pathways as mechanism for the negative effects associated with overexpression of superoxide dismutase*. Journal of Theoretical Biology, 2005. **238**: p. 828-840.
196. Ferreira, A.R., et al., *Oxidative stress effects on the central nervous system of rats after acute exposure to ultra high frequency electromagnetic fields*. Bioelectromagnetics, 2006. **27**(6): p. 487-93.

197. Balci, M., E. Devrim, and I. Durak, *Effects of mobile phones on oxidant/antioxidant balance in cornea and lens of rats*. Curr Eye Res, 2007. **32**(1): p. 21-5.
198. Demirel, S., et al., *Effects of third generation mobile phone-emitted electromagnetic radiation on oxidative stress parameters in eye tissue and blood of rats*. Cutan Ocul Toxicol, 2012. **31**(2): p. 89-94.
199. Graham, C., et al., *Dose response study of human exposure to 60 Hz electric and magnetic fields*. Bioelectromagnetics, 1994. **15**(5): p. 447-63.
200. Dasdag, S., Bilgin, H.M., Akdag, M.Z., Celik, H., Aksen, F., *Effect of long term mobile phone exposure on oxidative-antioxidative processes and nitric oxide in rats*. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 2014. **22-4**(992-997).
201. Paredi, P., et al., *Local vasodilator response to mobile phones*. Laryngoscope, 2001. **111**(1): p. 159-62.
202. Yariktas, M., et al., *Nitric oxide level in the nasal and sinus mucosa after exposure to electromagnetic field*. Otolaryngol Head Neck Surg, 2005. **132**(5): p. 713-6.
203. Kagedal, B., M. Kallberg, and B. Sorbo, *A possible involvement of glutathione in the detoxication of sulfite*. Biochem Biophys Res Commun, 1986. **136**(3): p. 1036-41.
204. Atkinson, D.A., T.C. Sim, and J.A. Grant, *Sodium metabisulfite and SO₂ release: an under-recognized hazard among shrimp fishermen*. Ann Allergy, 1993. **71**(6): p. 563-6.
205. Chiappa, K.H., *Evoked potentials in clinical medicine*. 1983, New York: Raven Press.
206. Lovati, M.R., et al., *Effects of sub-chronic exposure to SO₂ on lipid and carbohydrate metabolism in rats*. Arch Toxicol, 1996. **70**(3-4): p. 164-73.
207. Ohta, T., Y. Arai, and S. Takitani, *Fluorometric determination of nitrite with 4-hydroxycoumarin*. Anal Chem, 1986. **58**(14): p. 3132-5.
208. Torres, R.L., et al., *Lipid peroxidation and total radical-trapping potential of the lungs of rats submitted to chronic and sub-chronic stress*. Braz J Med Biol Res, 2004. **37**(2): p. 185-92.
209. Herr, D.W., et al., *Alterations in Flash Evoked-Potentials (Feps) in Rats Produced by 3,3'-Iminodipropionitrile (Idpn)*. Neurotoxicology and teratology, 1995. **17**(6): p. 645-656.

ÖZGEÇMİŞ

Enis HİDİŞOĞLU, 1990 yılında Erzurum Merkez’de doğdu, ilk ve orta öğrenimini Erzurum’da lise öğrenimini ise Antalya’da tamamladı. 2007 Yılında Selçuk Üniversitesi Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi Fizik Öğretmenliği bölümünde üniversite eğitime başladı. Lisans diplomasını 2012 yılında aldı ve aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başladı. Şubat 2013 tarihinde Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı’na ÖYP Araştırma Görevlisi olarak atandı. Halen Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı’nda 2547 Sayılı Kanunun 35.maddesi kapsamında ÖYP Araştırma Görevlisi olarak görevine devam etmektedir. Yabancı dili İngilizcedir.