



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CEP TELEFONLARINDAN YAYINLANAN FARKLI FREKANSLI RADYO
FREKANS RADYASYONUN RATLARIN BEYİN DOKUSUNDAKİ DNA
HASARI, BAZI OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ
MEHMET EŞREF ALKIŞ

DANIŞMANI
PROF. DR. M. ZÜLKÜF AKDAĞ

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
DİYARBAKIR 2017

**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CEP TELEFONLARINDAN YAYINLANAN FARKLI FREKANSLI RADYO
FREKANS RADYASYONUN RATLARIN BEYİN DOKUSUNDAKİ DNA
HASARI, BAZI OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ
MEHMET EŞREF ALKIŞ**

**DANIŞMANI
PROF. DR. M. ZÜLKÜF AKDAĞ**

**Bu doktora tezi, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu
tarafından Tıp.16.008 nolu proje numarası ile desteklenmiştir.**

**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
DİYARBAKIR 2017**

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRLÜĞÜ

“Cep Telefonlarından Yayınlanan Farklı Frekanslı Radyo Frekans Radyasyonun Ratların Beyin Dokusundaki DNA Hasarı, Bazı Oksidan Ve Antioksidan Enzimler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” isimli Doktora Tezi 24 /03 /2017 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. M. Zülküf AKDAĞ**
Tezi Teslim Eden: **Mehmet Eşref ALKIŞ**

Jüri Üyesinin

	Ünvanı	Adı Soyadı	
Başkan:	Prof.Dr. M.Zülküf AKDAĞ (Dicle Üniv, Tıp Fakültesi Biyofizik AD.)		
Üye:	Prof.Dr. Süleyman DAŞDAĞ (İstanbul Medeniyet Üniv, Tıp Fakültesi Biyofizik AD.)		
Üye:	Prof.Dr. Cemil SERT (Harran Üniv, Tıp Fakültesi Biyofizik AD.)		
Üye:	Doç.Dr. Veysi AKPOLAT (Dicle Üniv, Tıp Fakültesi Biyofizik AD.)		
Üye:	Doç.Dr. H.Murat BİLGİN (Dicle Üniv, Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.)		

Yukarıdaki imzalar tasdik olunur.


24./03/2017
Doç. Dr. H.Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamın projelendirilmesinde, deneysel çalışmaların yapılmasında, bulguların analiz ve değerlendirilmesinde, sonuçların tartışılmasında, yorumlanmasında ve eğitimim süresince yoğun çalışmalarına rağmen benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her fırsata yardımına koşan çok değerli danışman hocam ve aynı zamanda Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı olan Prof.Dr. Mehmet Zülküf AKDAĞ'a ve eğitimim süresince bana her konuda yardımcı olan ve bilgilerini paylaşan Biyofizik Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarım Prof.Dr. Süleyman DAŞDAĞ' a, Doç.Dr. Veysi AKPOLAT' a ve Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. H.Murat BİLGİN'e çok teşekkür ederim. Emekli hocamız Prof.Dr. M.Salih ÇELİK' e ilgi ve desteğinden dolayı teşekkür ederim. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Yüzüncü Yıl Üniversitesi öğretim üyesi Doç. Dr. Abdullah YEŞİLOVA'ya teşekkür ederim. Laboratuvardaki desteklerinden ve tezimin sürdürülmesinde bana yardımcı olan Mehmet Cihan YAVAŞ'a ve DÜSAM çalışanlarına, tez çalışmam boyunca verdiği destek için abim Doç. Dr. İsmet ALKIŞ'a ve doktora dönemi boyunca beni destekleyen eşim Canan, kızım Reyna ve oğlum Ahmet'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmayı Tıp.16.008 nolu doktora proje numarası ile destekleyen Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna (DUBAP) teşekkür ederim.

Mehmet Eşref ALKIŞ

Mart 2017

İÇİNDEKİLER DİZİNİ		Sayfa
1. Ön Sayfalar		
1.1. Kapak		
1.2. İç Kapak		II
1.3. Onay Sayfası.....		III
1.4. Teşekkür Sayfası.....		IV
1.5. İçindekiler Dizini.....		V
1.6. Şekiller Dizini.....		VIII
1.7. Tablolar Dizini.....		IX
1.8. Resimler Dizini.....		XI
1.9. Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....		XII
2. Özet Sayfaları		
Özet.....		XIII
Abstract.....		XV
3. Tez Metni		
3.1. Giriş ve Amaç		1
3.2. Genel Bilgiler.....		4
3.2.1. Elektromanyetik Alan (Elektromanyetik Dalga).....		4
3.2.2. Elektromanyetik Spektrum.....		6
3.2.3. Radyasyon.....		7
3.2.3.1. İyonlaştırıcı Radyasyon.....		8
3.2.3.2. İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon.....		8
3.2.4. RF (Radyo Frekans) Alanlar.....		9
3.2.4.1. RF Alan Kaynakları.....		9
3.2.4.2. Mobil Telefon ve Baz İstasyonları.....		10
3.2.4.2.1. Mobil Telefon ve Baz İstasyonlarında Güç Kontrol Mekanizması.....		14
3.2.4.2.2. Özgül Güç Soğurma Oranı (SAR).....		16
3.2.4.3. RF Alanların Biyolojik Dokulara Etkileri.....		18
3.2.4.3.1. Elektromanyetik Dalgaların Termal (Isıl) Etkileri.....		19
3.2.4.3.2. Elektromanyetik Dalgaların Termal Olmayan Etkileri.....		21
3.2.5. DNA.....		21

3.2.5.1. DNA'nın Yapısı.....	21
3.2.5.2. DNA Hasarı ve Hasar Tipleri.....	24
3.2.5.2.1. Tek Zincir DNA Kırıklıkları	26
3.2.5.2.2. Çift Zincir DNA Kırıklıkları	27
3.2.5.2.3. DNA Baz Hasarı.....	27
3.2.5.2.3.1. Uyumsuz DNA Baz Eşleşmesi.....	28
3.2.5.2.3.2. Alkilasyon.....	28
3.2.5.2.3.3. Çerçeve Kayması Mutasyonu (Frameshift).....	29
3.2.6. Serbest Radikaller.....	29
3.2.6.1. Serbest Radikal Türleri.....	30
3.2.6.1.1. Süperoksit Radikalleri.....	30
3.2.6.1.2. Hidrojenperoksit.....	31
3.2.6.1.3. Hidroksil Radikali.....	31
3.2.6.2.4. Singlet Oksijen.....	32
3.2.6.2.5. Reaktif Nitrojen Türleri.....	32
3.2.6.2. Serbest Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları.....	33
3.2.6.2.1. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	33
3.2.6.2.1.1. Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri.....	34
3.2.6.2.1.2. Nonenzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri.....	37
3.2.7. Oksidatif Stres ve Oksidatif Stresin Hücresel Yapılar Üzerine Etkisi.	39
3.2.7.1. Oksidatif Stresin Lipid Yapıları Üzerine Etkisi.....	40
3.2.7.2. Oksidatif Stresin Protein Yapıları Üzerine Etkisi.....	42
3.2.7.3. Oksidatif Stresin DNA Üzerine Etkisi.....	42
3.3. Gereç ve Yöntem.....	45
3.3.1. Gereç.....	45
3.3.1.1. Kullanılan Maddeler.....	45
3.3.1.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler.....	45
3.3.2. Yöntem.....	46
3.3.2.1. Araştırmanın Yeri ve Zamanı.....	46
3.3.2.2. Araştırmanın Tipi.....	46
3.3.2.3. Hayvanların Gruplandırılması.....	46
3.3.2.4. Kan Örnekleri.....	48
3.3.2.5. Dokuların Alınması ve Takip İşlemleri.....	48

3.3.2.6. Laboratuvar Ölçümleri.....	49
3.3.2.6.1. Total Antioksidan Seviye Ölçümü (TAS).....	49
3.3.2.6.2. Total Oksidan Seviye Ölçümü (TOS).....	50
3.3.2.6.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSI).....	51
3.3.2.6.4. Malondialdehit Ölçümü (MDA).....	51
3.3.2.6.5. 8-Hidroksideoksiguanozin Ölçümü (8-OHdG).....	52
3.3.2.6.6. Plazma Total Nitrik Düzey (NO) Ölçümü.....	53
3.3.2.6.7. Komet Assay Analizi.....	53
3.3.2.7. Deney Dizaynı.....	57
3.3.2.8. Güç Yoğunluğu ve Elektrik Alan Ölçümü	58
3.3.2.9. Araştırma Bütçesi.....	58
3.3.2.10. İstatistiksel Değerlendirme.....	58
3.4. Bulgular.....	60
3.4.1. Güç Yoğunluğu ve Elektrik Alan Ölçüm Bulguları.....	60
3.4.2. Komet Assay Bulguları.....	60
3.4.3. TAS, TOS, OSI, MDA ve 8-OHdG Analiz Bulguları.....	63
3.4.4. Nitrik Oksit (NO) Analiz Bulguları.....	65
3.5. Tartışma.....	68
3.6. Sonuç ve Öneriler.....	78
4. Kaynaklar.....	80
5. Özgeçmiş.....	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

No	Şekil Metni	Sayfa
1	Dalga Boyu ve Frekans	5
2	Elektromanyetik Dalganın Yayılımı	5
3	Elektromanyetik Spektrum	6
4	Muhtelif Tipteki Mobil Telefon ve Baz İstasyonları	10
5	Gerçek ve Teorik Hücre Kapsama Alanı	11
6	Baz İstasyonlarının Hücresel Ağ Yapısı ve Cep Telefonu İle Etkileşimi	11
7	Mobil Telefon Nesillerinin Zamanla Gelişimi	13
8	Çeşitli Güçteki Baz İstasyonları, Petek Güçleri ve Hacimleri	13
9	GSM’ de Güç Kontrol Sistemleri	14
10	GSM’de Güç – Mesafe İlişkisi	15
11	İnsan Dokularında Emilen Radyasyon Modellenmeleri	18
12	RF Radyasyon Etkileri	18
13	Sudaki Bipolar Bağlanma ve Elektrik Alan Uygulamasıyla Doku İçerisindeki Rastgele Yönelmiş Moleküllerin Polarizasyonu	20
14	Çift Sarmal DNA’nın Yapısı	22
15	DNA’nın Kovalent Yapısı	23
16	DNA’nın Çift Sarmal Zincirinde Genetik Şifreyi Oluşturan Bazlar	23
17	DNA Hasarına Neden Olan Unsurlar, Hasar Tipleri ve Onarımı	25
18	Hücresel DNA Hasarı ve Onarımı	26
19	DNA Zedelenmesi	27
20	Çerçeve Kayması Mutasyonunda, Mutasyon Meydana Geldikten Sonra Okuma Çerçevesinde Bir Kaymanın Oluşması	29
21	Reaktif Oksijen Radikallerin Metabolizması	30
22	Oksijen Molekülü ve Singlet Oksijenin Spinleri	32
23	Reaktif Metabolitler	33
24	Antioksidanların Savunma Mekanizmaları	35
25	Oksidatif Hasara Karşı Enzim Olan Antioksidanların Savunma Mekanizması	38
26	Oksidatif Denge	41

27	Oksidatif Stresin Neden Olduğu Lipit Peroksidasyon Metabolitleri	42
28	Hidroksilin Guanin ile Reaksiyonu ve 8-OHdG ile Fapy Guanin Oluşması	44
29	Komet Analiz Yönteminin Genel Aşamaları	57
30	Deney Düzeneginin Çizimi	58
31	Tail Moment'in (Kuyruk Momenti) İstatistiksel Grafiği	62
32	Tail İntensity'nın (Kuyruk Yoğunluğu) İstatistiksel Grafiği	62
33	Grupların TOS Grafiği	66
34	Grupların TAS Grafiği	66
35	Grupların OSI Grafiği	66
36	Grupların 8-OHdG Grafiği	66
37	Grupların MDA Grafiği	66
38	Grupların NO Grafiği	66

TABLÖLAR DİZİNİ

No	Tablo Metni	Sayfa
1	Ölçülen Güç Yoğunluğu Değerleri	60
2	Ölçülen Elektrik Alan Değerleri	60
3	Sham-kontrol ve Deney Gruplarının Tail Moment ve Tail İntensity (%) İstatistiği ve Duncan Gruplama	61
4	Sham-kontrol ve Deney Gruplarının TOS, TAS, OSI, 8-OHdG, MDA İstatistiği ve Duncan Gruplama	63
5	Sham-kontrol ve Deney Gruplarının NO İstatistiği ve Duncan Gruplama	65



RESİMLER DİZİNİ

No	Resim Metni	Sayfa
1	RF Sinyal Jeneratörleri ve Deney Düzeneği	47
2	Sham- Kontrol Grubu Ratlar	47
3	900MHz, 1800MHz ve 2100MHz Uygulama Grupları	47
4	Kullanılan Anestezi Maddeleri	48
5	Anestezi Altında Ratlardan İntrakardiyak Kan Alımı	48
6	Dokular Alınır Saklanırken Yapılan İşlemler Dizgesi	49
7	DNA'ların Hasar Derecesine Göre Gruplandırılması	55
8	NARDA EMR 300 Cihazı ile Ölçüm Alınması	57
9	DNA Hasarının Floresan Mikroskoptaki Görüntüsü	62

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

mW/cm²	Milli watt/ santimetre kare	T	Tesla
mA	MiliAmper	mG	miliGauss
MA	Manyetik Alan	μT	mikroTesla
EMA	Elektromanyetik Alan	V/m	Volt/metre
EM	Elektromanyetik	M	Manyetik alan
GPx	Glutasyon Peroksidaz	A	Amper
SOD	Süperoksit Dismutaz	S	Saniye
D	Elektrik akı yoğunluğu	C	Coulomb
B	Manyetik akı yoğunluğu	RF	Radyofrekans
kg	kilogram	ILO	Dünya Çalışma Örgütü
GPRS	Genel Paket Radyo Servisi	HO₂	Perhidroksil Radikali
Hz	Hertz	H₂O₂	Hidrojen Peroksit
WHO	Dünya Sağlık Örgütü	DMSO	Dimetil Sülfoksit
TOS	Total Oksidan Seviye	dG	Deoksiguanozin
EU	Avrupa Birliği	SAR	Spesifik Enerji Soğurma Oranı
ICNIRP	Uluslararası Non-iyonizan Radyasyon Koruma Komis.	8-OHdG	8-hidroksi 2'-deoksiguanozin
RFR	Radyo Frekans Radyasyonu	RNA	Ribonükleik Asit
CAT	Katalaz	EA	Elektrik Alan
GSH	Glutasyon	RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
GR	Glutasyon Redüktaz	MHz	Mega Hertz
Grup2B	Olası Kanserojen	O₂⁻	Süperoksit radikali
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu	OSI	Oksidatif Stres Indexi
TAS	Total Antioksidan Seviye	FTT	Fosfatla Tamponlanmış Tuz
σ	Elektriksel İletkenlik Katsayısı	EDTA	Etilendiamintetra asetik asit
DNA	Deoksribonükleik asit	MDA	Malondialdehit
DSB	Çift iplik kırıkları	OH⁻	Hidroksil Radikali
EMF	Elektromanyetik Alan	TBE	Tris Borate EDTA
		SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
		Wi-Fi	Kablosuz Bağlantı Alanı
		UMTS	Evrensel Mobil İletişim Sistemi

ÖZET

Cep Telefonlarından Yayınlanan Farklı Frekanslı Radyo Frekans Radyasyonunun Ratların Beyin Dokusundaki DNA Hasarı, Bazı Oksidan Ve Antioksidan Enzimler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması (ALKIŞ M.E. Doktora Tezi, Sayfa: 110, Diyarbakır 2017)

Haberleşme teknolojisindeki gelişmeyle birlikte modern yaşamın vazgeçilmezi haline gelen mobil telefonların kullanıcı sayısı ve kullanım süreleri gün geçtikçe artmaktadır. En son 4.5G yeni nesil cep telefonlarının kesintisiz, hızlı ve kaliteli internet hizmeti sunmalarıyla günlük hayatta daha fazla radyo frekans radyasyonuna maruz kalma söz konusu olmaktadır. Mobil telefondan kaynaklanan radyasyona en çok maruz kalan dokuların başında beyin gelmektedir. Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda, radyo frekans radyasyonunun (RFR) dokularda DNA hasarına neden olabileceği iddia edilmektedir.

Bu çalışmamızın amacı cep telefonlarından yayınlanan farklı frekanslı (900MHz, 1800MHz ve 2100MHz) radyo frekans radyasyonunun ratların beyin dokusunda DNA hasarı, bazı oksidan ve antioksidan enzimler üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

Çalışmamızda 28 adet Sprague dawley erkek sıçan rastgele 4 eşit gruba (n:7) ayrıldı. Gruplar; 1.grup: sham- kontrol, 2.grup: 900MHz, 3.grup: 1800MHz ve 4.grup: 2100MHz şeklinde belirlenmiştir. Deney grubu ratlara 6 ay boyunca her gün ve günde 2 saat RF jeneratörlerinden elde edilen RF radyasyonu uygulandı. Sham-kontrol grubu ratlara ise RF uygulamasının dışında aynı deney prosedürü uygulandı. Pleksiglas kafesler içinde ortalama±standart sapma güç yoğunluğu ve elektrik alan değerleri sırasıyla; 900MHz frekansında $0.1841 \pm 0.078 \text{ mW/cm}^2$, $26.42 \pm 6 \text{ V/m}$ 1800MHz frekansında $0.2392 \pm 0.046 \text{ mW/cm}^2$, $30.04 \pm 2.88 \text{ V/m}$ ve 2100MHz frekansında $0.1160 \pm 0.046 \text{ mW/cm}^2$, $20.95 \pm 4.97 \text{ V/m}$ olarak ölçülmüştür. Çalışma sonunda ratların beyin dokusundan elde edilen kesitlere Komet assay tekniği uygulanarak deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı saptanmaya çalışıldı. Ayrıca beyin dokusu örneklerinden malondialdehit (MDA), 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS), oksidatif stress indeksi (OSİ) düzeyleri ve serum nitrik oksit (NO) seviyeleri analiz edilerek oksidatif stres, lipid peroksidasyon ve oksidatif DNA hasar durumu değerlendirildi.

Çalışmamızın biyokimyasal bulgularında, tüm deney gruplarının sham grubuna oranla TAS seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma, TOS, OSI, MDA ve 8-OHdG değerlerinde ise anlamlı artış meydana geldiği ve gruplar arasında da anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0.01$). Çalışmamızın NO değerlendirilmesinde, deney gruplarının sham-kontrol grubuyla karşılaştırılmasında üç deney grubunda da nitrik oksit seviyesinde artış gözlenmiştir. 900 MHz uygulama grubu ile sham-kontrol grubu arasındaki artış istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$), 1800 MHz ve 2100 MHz gruplarının sham-kontrol grubu arasındaki artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Komet Assay bulgularında ise, deney gruplarının sham grubuna oranla tail moment ve tail intensity değerlerinde artma meydana geldiği fakat yapılan istatistiksel analizler sonucunda gruplar arasındaki tail moment parametresindeki artışın istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$) olduğu, tail intensity parametresindeki artışın ise, sadece 2100MHz grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Uygulanan frekans artıkça analiz edilen tüm parametre değerlerinde de artış olduğu tespit edildi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular bir bütün olarak değerlendirildiğinde, cep telefonundan kaynaklanan 900, 1800 ve 2100 MHz RF radyasyon maruziyetinin rat beyin dokusunda oksidatif hasara neden olabileceği, lipid peroksidasyonun artışını indükleyebileceğini, oksidatif DNA hasarının oluşumunu artırabileceğini ve ayrıca 2100 MHz RF radyasyon uygulamasının DNA tek zincir kırıklarını oluşturabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Radyofrekans radyasyon, Komet assay, Beyin, Oksidatif stres, Oksidan-antioksidan seviye, Lipit Peroksidasyon, DNA hasarı, Nitrik oksit.

ABSTRACT

Investigation of the Effects of Different Frequency Radiofrequency Radiation Emitted from Cellular Phone on Brain Tissue DNA Damage and Some Oxidant - Antioxidant Enzymes in Rats (ALKIŞ M.E. Doctorate Dissertation, Page: 110, Diyarbakir 2017)

The number of users and usage times of mobile phones which are becoming indispensable of modern life are increasing day by day with the development of communication technology. With the latest 4.5G generation mobile phones offering uninterrupted, fast and high quality internet service, more radio frequency radiation is exposed in everyday life. The brain tissue is one of the main tissues which are exposed to radiation emitting from cell phones. Based on both in vitro and in vivo studies, it is claimed that the radio frequency radiation (RFR) may cause DNA damage in tissues.

The aim of this study is to investigate the effects of radiations at different radio frequencies (900MHz, 1800MHz and 2100MHz) on brain tissues' DNA damage, some oxidant and antioxidant enzymes.

In our study, 28 Sprague dawley male rats were randomly divided into 4 equal groups (n: 7). It is defined as; 1. group: sham-control, 2. group: 900MHz, 3. group: 1800MHz and 4. group: 2100MHz. Experimental group rats were exposed to RF radiation from RF generators each day, 2hours/day for 6 months. The sham-control group rats were subjected to the same experimental procedure except of RF application. The mean $\pm$ standard deviation power density and electric field values in plexiglass cages were measured respectively and the results were found as follows: 0.1841 ± 0.078 mW/cm², 26.42 ± 6 V/m at 900 MHz frequency; 0.2392 ± 0.046 mW/cm², 30.04 ± 2.88 V/m at 1800 MHz frequency and 0.1160 ± 0.046 mW/cm², 20.95 ± 4.97 V/m at 2100 MHz frequency. In the end of the study, we tried to determine the deoxyribonucleic acid (DNA) damage by employing the Comet assay technique to the sections obtained from the brain tissue of the rats. Additionally malondialdehyde (MDA), 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) analyses were conducted in the brain tissue samples along with oxidative stress index (OSI) levels and serum nitric oxide (NO) levels for the evaluation of oxidative stress, lipid peroxidation and oxidative DNA damage status.

With regard to the biochemical findings it was determined all groups significantly differed ($p < 0.01$) and all TAS levels decreased significantly in all

experimental groups but a significant increase was found in TOS, OSI, MDA and 8-OHdG values compared to the sham group. As regards nitric oxide (NO), when the experimental groups were compared to the sham-control group, the nitric oxide levels significantly increased in the three experimental groups. However, while the increase between the 1800 MHz, 2100 MHz groups and sham-control group were significant ($p < 0.05$), the increase between the 900 MHz and the sham-control was found insignificant ($p > 0.05$). Regarding Comet assay the experimental groups showed an increase in tail moment and tail intensity values compared to the sham group but the increase in tail moment parameter was insignificant ($p > 0.05$), while the increase in tail intensity parameter was found to be significant only in the 2100 MHz group ($p < 0.01$). It was determined that as the frequency levels increased all parameter values under investigation also increased.

In conclusion, the exposure of rats to 900, 1800 and 2100 MHz RF radiation emitting from mobile phones may cause oxidative damage, induce an increase in lipid peroxidation and increase oxidative DNA damage formation in rat brain tissues. Furthermore, 2100 MHz RF radiation may cause formation of DNA single strand breaks.

Keywords: Radio frequency radiation, Comet assay, Brain, Oxidative stress, Oxidant-antioxidant level, Lipid Peroxidation, DNA damage, Nitric oxide.

3. TEZ METNİ

3.1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hayatımızda önemli bir rol oynayan elektromanyetik dalgalar, insan yapımı ve doğal kaynaklar tarafından yayınlanmaktadır. Teknolojideki gelişmeler sonucunda özellikle elektromanyetik dalgaları kullanan kablosuz mobil cihaz kaynakları hızlı bir şekilde artmaktadır ve bu nedenle günlük hayatta doğada mevcut olanın çok daha üstündeki düzeylerde elektromanyetik dalgalara maruz kalınmaktadır.

Cep telefonu teknolojisi dünyada en hızlı büyüyen teknolojilerden biri olup, modern yaşamın popüler ve vazgeçilmezi haline gelmiştir. Teknolojinin ilerlemesiyle birlikte eski cep telefonları yerini akıllı telefonlara bırakmıştır. Akıllı telefonların en önemli özelliği ise internete erişim imkânını sağlamalarıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla internet veri hızı ve kalitesinde önemli ilerlemeler elde edilmekle birlikte Twitter, Facebook, Youtube, Google Drive, Google Play, Chrome gibi sosyal ağlar ve online servisler ile GPRS, Wi-Fi, UMTS, Bluetooth, EDGE (Enhanced Data Rates for GSM Evolution), WiMAX (Worldwide Interoperability for Microwave Access) ve en son 4.5G gibi yeni nesil mobil iletişim sistemleri de geliştirilmiştir. Bu gelişmeler ve bu gelişmelere paralel olarak haberleşme sistemlerinin ucuzlayarak yaygınlaşması sonucu insanlar evde, işyerlerinde, toplu yaşama alanlarında ve okullar gibi her yerde zamanlarının büyük bir bölümünü mobil telefonların kullanımıyla geçirmektedirler. Ayrıca yeni nesil mobil telefonlarının oyun, görüntülü video ve diğer eğlence programları desteklemesiyle yetişkinlere göre radyasyona daha duyarlı olan çocuklar ile genç kesim tarafından kullanımı artmıştır. Kullanım süresi ve kullanıcı sayıları hızla artan cep telefonlarından kaynaklanan elektromanyetik kirlilik hızlı bir şekilde artmaktadır. Bundan dolayı radyo frekans radyasyonunun muhtemel zararlı etkileri insanları endişelendiren bir sorun haline gelmiştir (1,2).

Cep telefonları iyonize olmayan elektromanyetik radyasyon formunda radyofrekans radyasyon (RFR) yayarlar. Dünya çapında mobil telefonlar 800MHz – 3500MHz frekans aralığında değişen radyofrekanslarda çalışırlar (3). Özellikle mobil frekans aralığına düşen elektromanyetik radyasyonun (EMR) biyolojik etkileri insanları endişelendiren bir konu olmaya devam etmektedir. Günlük, 200'den çok ülkede üç milyardan fazla insan elektromanyetik alanlara (EMF) bilinçli olarak maruz kalmaktadır. Cep telefonun günde bir saat kullanımı on yıl veya daha fazla süreden sonra tümör riskini

önemli derecede artırmaktadır (4). İnsanların cep telefonu maruziyeti ile ilgili şimdiki endişeleri daha çok beyin üzerine odaklanmıştır. Çünkü konuşma modundaki cep telefonu genellikle kafa ve beyne yakın kullanılmaktadır. Aynı zamanda beyin reaktif oksijen radikallerinin üretimine neden olan oksijen tüketiminin en çok olduğu organlarımızdan biri olup, yüksek miktarda lipit ve çoklu doymamış yağ asitleri içermesiyle reaktif serbest radikallere hedef haline gelmektedir (5-7). Bununla birlikte beynin enzimatik antioksidan savunma sistemi de zayıftır (8). Bu nedenle beyin reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından indüklenen EMF kaynaklı oksidatif hasara karşı son derece hassastır. Eğer ROS enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından kontrol edilmezse oksidatif hasara neden olabilir. Radyofrekans radyasyonun (RFR) etkisiyle serbest radikal konsantrasyonunda ve serbest radikallerin izlenebilirliğinde artış gözlemlenmektedir (9). Hücreler oksijenli metabolizma sırasında sürekli ROS türlerini meydana getirirler. Aynı zamanda oluşan ROS'ların zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için doğal antioksidan savunma sistemine sahiptirler. ROS üretiminde ve miktarında artış olması ve doğal antioksidan savunma sistemini etkilemesi durumunda hücrelerde oksidatif stres oluşmaktadır (10).

Son yıllarda cep telefonlarından yayılan radyofrekans radyasyonun biyolojik sistemler üzerindeki zararlı etkileri ile ilgili birçok *invivo* ve *invitro* çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalara baktığımızda radyofrekans radyasyonların oksidatif strese, lipit peroksidasyonuna, değişik kanser türlerine, DNA hasarına, beyin tümörlerine, beyinde DNA kırıklarına ve kromozomlarda anormalliklere, serbest radikallerin artışına, beyin nöronlarının ölümüne ve zamansız yaşlanma gibi bir çok değişik biyolojik etkilere neden olabileceği gösterilmiştir (11,12).

Radyo frekans radyasyonun non- termal seviyede meydana gelen etkileri halen araştırılmaktadır ve moleküler mekanizması hakkında çok az şey bilinmektedir. Öte yandan, 2011 yılında Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) RF radyasyonu insanlar için muhtemel kanserojen olarak sınıflandırmış (2B) ve bu alanı daha fazla araştırma için açmıştır (13). Cep telefonlarından yayınlanan farklı frekanslı RF radyasyonun beyin dokusu üzerine etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar hızla artmasına rağmen biyolojik sonuçları üzerinde halen bir fikir birliği sağlanamamıştır. Ayrıca cep telefonundan kaynaklanan RF radyasyonların ancak uzun süreli uygulamalarıyla sağlıklı sonuç alınabilirken, çalışmalarda genellikle kısa süreli uygulamaların yapılması ve DNA hasarı, oksidatif stres ile oksidatif stres kaynaklı hasarlar üzerindeki

etkileriyle ilgili yapılan araştırmaların tutarsız ve çelişkili olması bu araştırmayı yapmamızda etkili olmuştur.

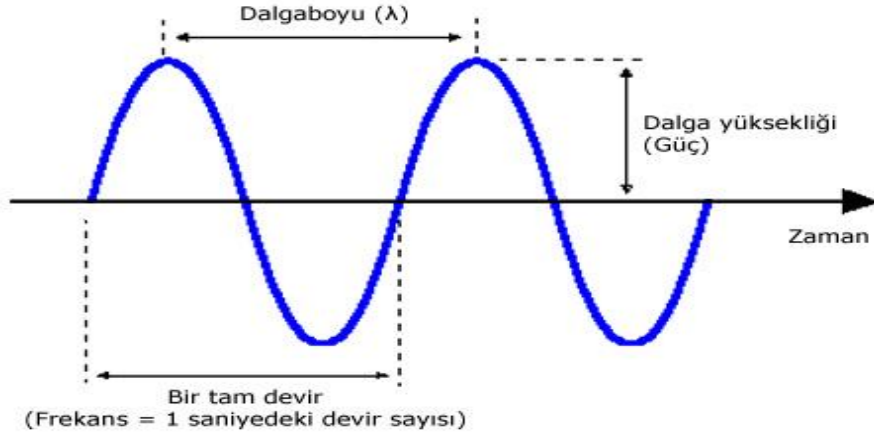
Çalışmamızda, mobil telefon şebekelerinde yoğun olarak kullanılan  farklı RF frekansına (900MHz, 1800MHz ve 2100MHz) benzer sinyal üreten jeneratörlerden yayınlanan radyo frekans radyasyon maruziyetinin rat beyin dokusunda yol açabileceği DNA hasar düzeyi komet assay tekniği uygulanarak saptanmaya çalışıldı. Ayrıca beyin dokusu örneklerinden malondialdehit (MDA), 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS), oksidatif stress indeksi (OSİ) düzeyleri ve serum nitrik oksit (NO) seviyeleri analiz edilerek, RFR'nin oksidatif stres, lipid peroksidasyon ve oksidatif DNA hasarı üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışıldı.

3.2. GENEL BİLGİLER

3.2.1. Elektromanyetik Alan (Elektromanyetik Dalga)

Elektromanyetik alan, elektrik akımıyla çalışan cihazlardan yayılan, gözle görülmeyen elektriksel ve manyetik kuvvetlerdir. Diğer bir deyişle elektrik ve manyetik alan kombinasyonu olan dalgaların meydana getirdiği alanlara EMA (elektromanyetik alan) denir (14). Manyetik alanın değişimi, bir elektrik alanı meydana getirirken, elektrik alanın değişimi de bir manyetik alanı meydana getirmektedir (15). Belirli bir yerdeki elektromanyetik enerjinin varlığını belirtmek için elektromanyetik alan kavramı kullanılır. Elektromanyetik alan elektrik yükleri tarafından meydana getirilmektedir. Birim yüke etki eden kuvvet olarak da bilinen elektrik alanlar pozitif (+) ve negatif (-) elektrik yükleri, manyetik alanlar ise hareket eden elektrik yükleri sonucunda meydana gelir. Durgun elektrik yükleri birbirine kuvvet uygulayarak çevresinde elektrik alanları oluştururlar ve Newton/Coulomb (N/C) veya Volt /metre (V/m) ile ifade edilir. Elektrik alan ile kuvvet arasında $F=q.E$ bağıntısı mevcuttur. Hareketli yükler elektrik yüklerinin çevresinde ayrıca manyetik alan oluştururlar. Manyetik alan B ile gösterilir, birimi ise T (Tesla) veya G (Gauss) olarak ifade edilir. (1 Tesla= 10^4 Gauss)

Hareketli bir yükün oluşturduğu elektrik ve manyetik alanlar sürekli birbirini etkiler ve ardışık bir şekilde tekrarlanan bu alan yaratma işlemi ortamda ilerlemeye devam eder. Sinüsoidal bir şekilde zamanla değişen manyetik ve elektrik alanların oluşturduğu düzleme dik doğrultuda belirli bir hızla yayılan enerjiye elektromanyetik dalga denir. Kozmik, gama, x, mikrodalga, morötesi, görünür bölge, kızılötesi, radyo ve iletişim sistemlerinde kullanılan dalgalar elektromanyetik dalgadır. Elektromanyetik dalgalar foton adı verilen enerji taşıyan paketler veya küçük demetler halinde taşınırlar. Sinüsoidal yayılımdaki hız, frekans ve dalga uzunluğu parametreleri fotonun yayılımını açıklamaktadır. Dalga bir saniyedeki titreşim (devir) sayısına frekans denir. Frekansın birimi Hertz (Hz)'tir. Dalga boyu ise bir titreşim sırasında dalga aldıkları mesafedir ve birimi metredir (m).



Şekil 1: Dalga boyu ve frekans

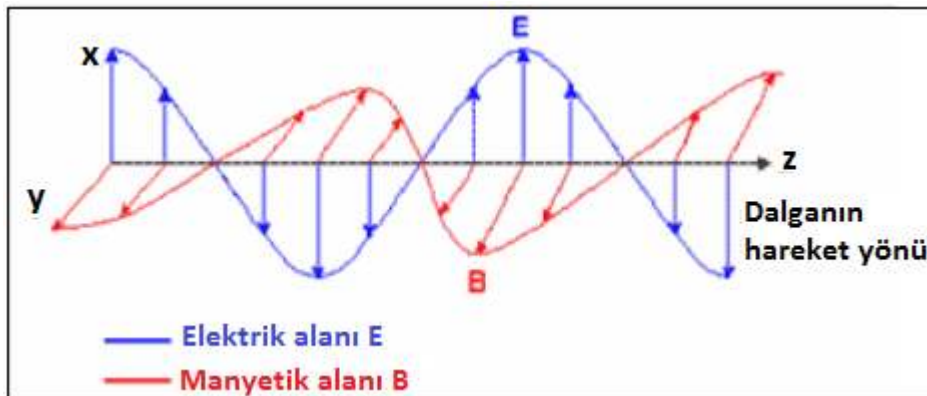
Elektromanyetik alan(EM) teorisine göre boşlukta manyetik ve elektrik alan bileşenleri birbirine dik olup, elektrik ve manyetik alanlar birbirlerine dik düzlemlerde dalga şeklinde yayılırken, bu düzlemlerin ara kesiti boyunca ışık hızı ($c = 3 \times 10^8$ m/sn) ile hareket ederler (16). Frekans dalga boyu ile ters, dalganın enerjisiyle doğru orantılıdır. Bu yüzden frekans arttıkça dalga boyu kısalır fakat alanda salınan enerji artar (Şekil 1) (17). Bu ilişkiler aşağıdaki denklemlerle ifade edilir;

$$C(\text{hız}) = \lambda \times f, \quad f = E/h \text{ veya } E = (h \times c) / \lambda$$

$c = 299792458$ m/s (vakum içindeki ışık hızı),

$h =$ Plank sabiti $6.62606896(33) \times 10^{-34}$ J·s veya $4.13566733(10) \times 10^{-15}$ eV·s [18]

$\lambda =$ dalga boyunu gösteriyor.



Şekil 2: Elektromanyetik dalganın yayılımı (19).

Ortamdaki enerjinin elektrik ve manyetik dalgalar biçiminde boşlukta iletildiğini ilk kez Maxwell tarafından denklemlerle açıklanmış ve bu denklemler Maxwell denklemleri diye adlandırılmıştır. Aynı zamanda Maxwell denklemleri elektromanyetik dalgaların varlığını ve bunların özelliklerini açıklayabilen denklemlerdir. Elektromanyetik dalgalar (EMD) şeklinde yayılan enerjiye elektromanyetik radyasyon denir (16,20). Birimi Joule veya eV" tur. Gauss, Amper ve Faraday yasalarına göre yazılabilen Maxwell denklemleri;

$$\epsilon_0 \oint E \cdot ds = q , \quad \oint B \cdot ds = 0 , \quad \oint B \cdot dl = \mu_0 \left(i + \epsilon_0 \frac{d\Phi_E}{dt} \right) , \quad \oint E \cdot dl = - \frac{d\Phi_B}{dt}$$

Şeklinde olmak üzere dört tanedir

3.2.2. Elektromanyetik Spektrum

Elektromanyetik dalgalar, frekanslarına veya enerjilerine göre küçükten büyüğe (dalga boylarına göre ise büyüktten küçüğe) doğru düzenlenmesine "Elektromanyetik spektrum (EMS)" denir. Şekil 3'teki elektromanyetik spektrum örneğinde görüldüğü gibi bölgeleri birbirinden ayıran, her radyasyonun kendi kaynağı, frekansı veya dalga boyudur. Bu gruplar içinde frekans sınırları kesin olarak belirlenmemiştir.



Şekil 3: Elektromanyetik Spektrum (Tayf) (21)

Elektromanyetik spektrumunda elektromanyetik dalgaların frekansları (veya dalga uzunlukları) baz alınarak doğru akım kaynaklarından gama ışınlarına kadar

gruplandırılarak sıralanmaktadır. Spektrumun en başında yüksek ve düşük gerilim iletim ve dağıtım hatlarında, elektrik şebekelerinde ve evdeki elektronik cihazlarda kullanılan 50Hz (Amerika’da 60 Hz) en düşük frekanslı ELF (Extremely Low Frequency) alanlar bulunur. ELF’den sonra amatör radyoculukta yaygın olarak kullanılan düşük frekans (LF) gelir. RF (radyo dalgaları) ise modülasyonlu veri iletiminde kullanılmaktadır. Radyo ve televizyon yayıncılığında, kablosuz ağlarda, cep telefonunda, amatör telsizlerde, baz istasyonlarında, radar sistemlerinde ve bazı tıbbi uygulamalarda radyo dalgaları kullanılır. Radyo dalgaları çok düşük enerji (femtoelektron volt) seviyesine sahiptir. Mikrodalgalara gelince yine cep telefonu ve baz istasyonları ile beraber, mikrodalga fırınlarda (termal ısıtmada), Wi-Fi’ de, uydu haberleşmeciliğinde ve hava tahminlerinde kullanılan doppler radar gibi radarlarda kullanılır. Görünür ve ultraviyole ışığın en önemli kaynağını güneş oluşturur. Güneşten gelen enerjinin yaklaşık % 9’nu ultraviyole radyasyonu oluşturur. X-ışınları ise daha çok tıpta radyografi olarak bilinen tanısal röntgen görüntülemeye kullanılır. Sert X-ışınlarından sonra 1900 yılında Paul Villard tarafından keşfedilen gamma ışınları geliyor. Gamma(γ) ışın fotonları çok yüksek enerjiye (milyar elektron volt civarında) sahip olup spektrumun sağ tarafında yer almaktadır. Dalgaboyu dalga frekansı ile ters orantılıdır (22), bu yüzden gamma ışınları çok kısa dalga boyuna sahiptir. Sterilizasyon için gıda ve tohum ışınlamada ve tıpta zaman zaman kanser tedavisinde kullanılır (23). Ayrıca yaygın olarak gamma ışınları nükleer tıpta PET gibi diagnostik görüntülemeye kullanılır.

3.2.3. Radyasyon

Işınım olarak da bilinen radyasyon, elektromanyetik dalgalar ya da parçacıklar şeklindeki enerji salımını veya aktarımını ifade eder. Radyasyon temel olarak “parçacık” ve “dalga” tipi radyasyon olmak üzere iki kısımda incelenebilir. Partikül radyasyonu; bir kütlesi olan ve hızlı hareket eden atom altı parçacıkların vasıtasıyla enerji taşınımıdır. Gözle görülmeyecek kadar küçük olup hızlı giden mermilere benzerler. Dalga şeklindeki ışınım ise kütlesi olmayan ancak belli bir enerjisi olan ışınım tipidir. Bu ışınım, elektrik ve manyetik enerji dalgaları gibi titreşim yaparak ilerler. Dalga tipi bütün ışınımlar saniyede 300 bin kilometre (3×10^8 m/saniye) olan ışık hızıyla yol alırlar (24,25). Cisim içine girip onu meydana getiren atomlardan veya moleküllerden elektron uzaklaştırabilme (iyonlaştırma) özelliklerine göre radyasyonlar iyonlaştırmayan ve iyonlaştıran radyasyon olmak üzere iki şekilde sınıflandırılırlar.

3.2.3.1. İyonlaştırıcı Radyasyon

Atomlardan veya moleküllerden elektron koparılmasına iyonlaşma denir. İyonize radyasyon elektromanyetik spektrumun yüksek enerji ucunda bulunan ve yüksek hızda hareket eden enerji dolu atom, iyon ve atomaltı parçacıklardan oluşur. Dalga boyu ile frekans ters orantılıdır. Yüksek frekanslarda dalga uzunluğu oldukça küçülür ve ışıyım herhangi bir maddeyle karşılaştığı anda dalga gibi davranmaktan ziyade bir enerji paketi gibi hareket eder. Bu enerji paketlerine “foton” ya da “kuantum” denir. Elektromanyetik dalgalar bu enerji yüklü fotonlardan oluşurlar ve etkileştikleri maddelerden elektron kopararak onların iyonlaşmalarına neden olabilirler. Madde ile etkileştiğinde elektrik yüklü parçacıklar veya iyonları oluşturarak iyonlaşma meydana getiren yüksek enerjili nötron, proton, alfa, beta, gamma ve X ışınları iyonize edici ışımalardır (26,27). Radyoaktif parçalanma ya da nükleer reaksiyonlar sonucunda meydana gelen alfa, beta ve gama ışınları, yüksek enerjili olan X ışınları, protonlar, nötronlar ve diğer temel parçacıklar iyonize radyasyona neden olmaktadır. İyonlaşma, radyasyonla etkileşen herhangi bir maddede meydana gelebildiği gibi canlıların vücudunda da meydana gelebilir. İyonize radyasyonların karsinojen etkilerinin olduğu bilinmektedir (28).

3.2.3.2. İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon

İyonlaştırıcı olmayan radyasyonlar: Girdiği ortamdaki atom veya moleküllerden elektron koparamayan (iyonlarına ayırtırmayan) radyasyonlara denir. Bu elektromanyetik dalgaların foton enerjileri 1 eV'den daha düşük olup enerji seviyeleri moleküllerin iyonizasyonunu indüklemek için küçük olup aynı zamanda kovalent ve iyonik bağların kırılması için de yarıdır. Çok düşük frekanslı elektrik ve manyetik alanlar, mikrodalgalar, radyo dalgaları, kızıl ötesi ışınlar ve TV dalgaları gibi dalgalar bir elektron volt (1.6×10^{-19} J enerji) enerjiden daha küçük enerjileri olduklarından dolayı iyonizan özellik göstermemektedirler (29). Mobil iletişim sistemlerinin neden olduğu RF radyasyon, iyonize olmayan radyasyon bölgesi içerisinde yer almaktadır. İyonize olmayan radyasyon, hücrelerde ve dokularda elektrik akımının indüksiyonu, kimyasal tepkimeler ve ısınma vasıtasıyla biyolojik etkilere neden olduğu bilinmektedir. İyonize olmayan radyasyona maruz kalma sonucunda biyolojik dokularda termal (ısı) etki ve non- termal etki olmak üzere iki çeşit etki gözlemlenebilir. Yüksek doz değerlerinde termal etki oluşurken, tehlike sınırları olarak

kabul edilen dozların altındaki düşük değerlerde ise kimyasal etki meydana gelmektedir. Düşük doz radyasyona uzun süreli maruz kalmak kısa süreli yüksek dozlara maruz kalmaktan daha tehlikeli olduğu bilinmektedir (30).

3.2.4. RF (Radyo Frekans) Alanlar

Radyo frekansı (RF), yayıncılık ve haberleşmede bir bilgi sinyaliyle modüle edilen taşıyıcı sinyali ifade eder ve çeşitli kaynaklara göre radyo frekans alanlarının frekansları elektromanyetik spektrumun 3 kHz ile 300 GHz aralığında değişmektedir (21,31). Aynı zamanda iletişim ve radar sinyalleri için kullanılan frekanslar da bu alanda yer alır (32). Fakat RF modüle edilip edilmemesine bakılmaksızın yüksek frekansları ifade etmek için de kullanılmaktadır. Teknolojinin ilerlemesiyle birlikte elektronik sektöründeki son gelişmeler radyo frekansı kullanan cihazlarda da artışa neden olmuştur. RF alanlar telekomünikasyon, radyo ve televizyon yayıncılığı, radar, endüstriyel işleme, tıbbi uygulamalar ve tüketici ürünlerinde geniş bir biçimde kullanılmaktadır. Elektromanyetik alanlar iletişim, yayıncılık ve radar cihazları için üretildiğinde geniş alanlar üzerinde yayılır fakat endüstriyel, tıbbi ve tüketici cihazlarında kullanıldığında ise genel olarak sadece küçük alanlar üzerinde yayılmaktadır. Elektromanyetik dalgaların yansıması, saçılması ve birden fazla kaynak tarafından eş zamanlı sık sık emisyonları “multi-path” olarak bilinen kompleks bir durum olan yayılma ve mekansal olmayan tekdüze alanlarla sonuçlanır. RF elektromanyetik alan maruziyetinin insan sağlığı üzerine olası tehlikeleri ile ilgili yapılan çalışmalar bu alanların belirlenmesi ve kontrollünün bir ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

3.2.4.1. RF Alan Kaynakları

Radyo frekans alan kaynakları, birçok doğal ve insan yapımı (yapay) kaynaklardan oluşmakta olup hayatımızda önemli bir rol oynamaktadır. Güneş, atmosferik deşarjlar (yıldırım gibi), bazı uzak yıldızlar ve uzayın derinlikleri doğal RF alan kaynaklarını oluştururlar (33). Yapay radyo frekans alan kaynakları ise insanlar tarafından üretilmiş olan kaynaklardır. Mikrodalga fırınlar, cep ve telsiz telefonlar, Wi-Fi, baz istasyonları, Radyo ve TV vericileri, uzaktan kumanda cihazları, WLAN, RFID (Radyo frekanslı kimlik belirleme), güvenlik sistemleri, tıbbi görüntüleme yöntemleri (MR, radyolojik görüntüleme, diyatermi üniteleri), sanayide kullanılan eritme fırınları ve radar uygulamaları başlıca RF alan kaynaklarıdır (21,34). Doğal olmayan Radyo

frekans kaynaklarının şiddetleri doğal çevreden kaynaklanan ışımalardan çok daha yüksek olup, teknolojiye paralel bir şekilde de bu dalgaların kullanımı zamanla hızlı bir biçimde yükselmektedir. Böylece normal günlük hayatta doğada bulunan radyasyonların çok daha fazla seviyelerinde radyasyon etkisinde kalmaya devam edilmektedir (26). Canlılar üzerindeki RF alanların etkileri; dalganın frekansına, canlının maruz kalma süresine, kaynaktan olan uzaklığa ve vücut boyutlarına, dalganın polarizasyon ve güç yoğunluğu gibi parametrelere bağlı olarak değişir. Canlının vücut boyutuyla elektrik alan vektörü paralel olursa RF emilim düzeyi maksimuma ulaşıldığını yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (33). Günümüzde en yaygın kullanıma sahip yapay radyo frekans alan kaynaklarından bir tanesi de cep telefonlarıdır.

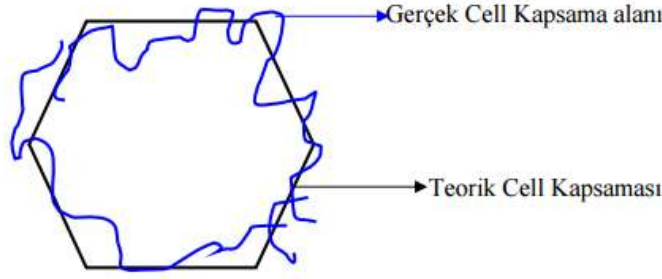
3.2.4.2. Mobil Telefon ve Baz İstasyonları



Şekil 4: Muhtelif tipteki mobil telefon ve baz istasyonları.

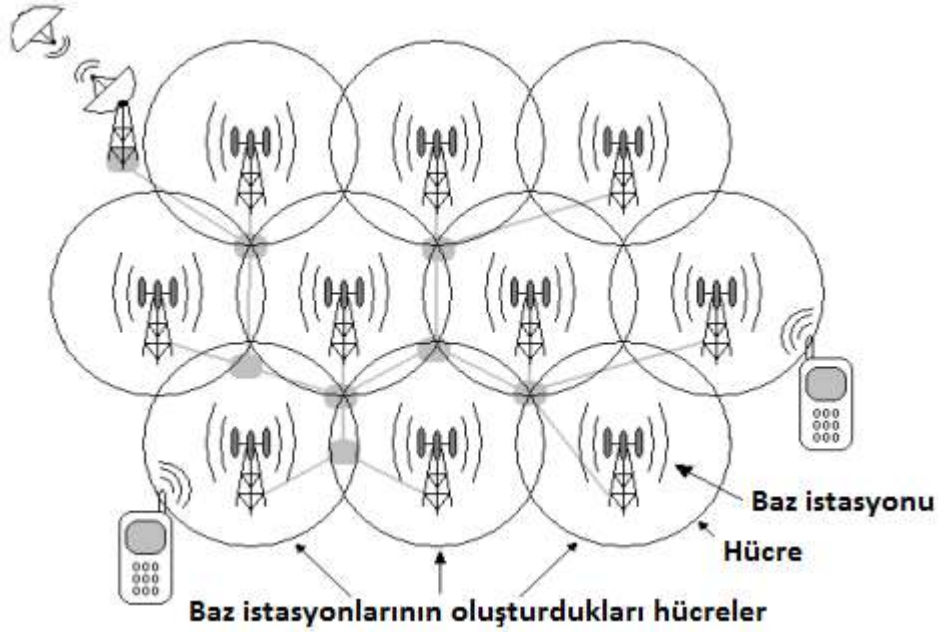
Cep telefonları taşınması kolay, insanlar arasındaki konuşma ve mesajla iletişimi sağlamakla birlikte görüntülü konuşma, canlı video, internet hizmeti, hızlı data transferi, fotoğraf çekimi ve multimedya uygulamaları gibi pek çok işlevi kullanıcısına sunabilen, radyofrekans sinyalleri alıp- gönderebilen elektronik aygıtlardır. Mobil telefonların kullandıkları elektromanyetik dalgalar spektrumun radyo dalgaları sınıfında bulunurlar. Son yıllarda teknolojik gelişmelerin günlük yaşamdaki etkilerinden biri de mobil haberleşme sistemleri oluşturmaktadır. Buna paralel olarak da baz istasyonları ve cep telefonlarından yayılan elektromanyetik kirlilik artarak geniş kitleleri etkilemektedir.

Cep telefonları birbirleriyle doğrudan iletişim kuramazlar. Aralarındaki iletişim baz istasyonları denen merkez istasyonlar vasıtasıyla yapılmaktadır. Tüm mobil şebeke kapsama alanı “hücre” denilen küçük alanlara bölünmüştür. Her bir hücrenin kendi alıcı/vericisi ve tanımlı frekansları bulunmaktadır.



Şekil 5: Gerçek ve teorik hücre kapsama alanı (35).

Kara mobil serviste bir yer istasyonu olan baz radyo istasyonu, bal peteğine benzetilen ağ şeklindeki bu hücrelerin merkezinde bulunur. Baz istasyonları, kablolar aracılığıyla veya kablo kullanılmayan elektromanyetik dalga gibi teknolojilerle birbirlerine bağlanarak bir ağ yapısını meydana getirirler (36). Cep telefonu kullanıcıları arasındaki haberleşme bu ağ yapısı tarafından gerçekleştirilir (Şekil 6) (37).



Şekil 6: Baz istasyonlarının hücresel ağ yapısı ve cep telefonu ile etkileşim (38).

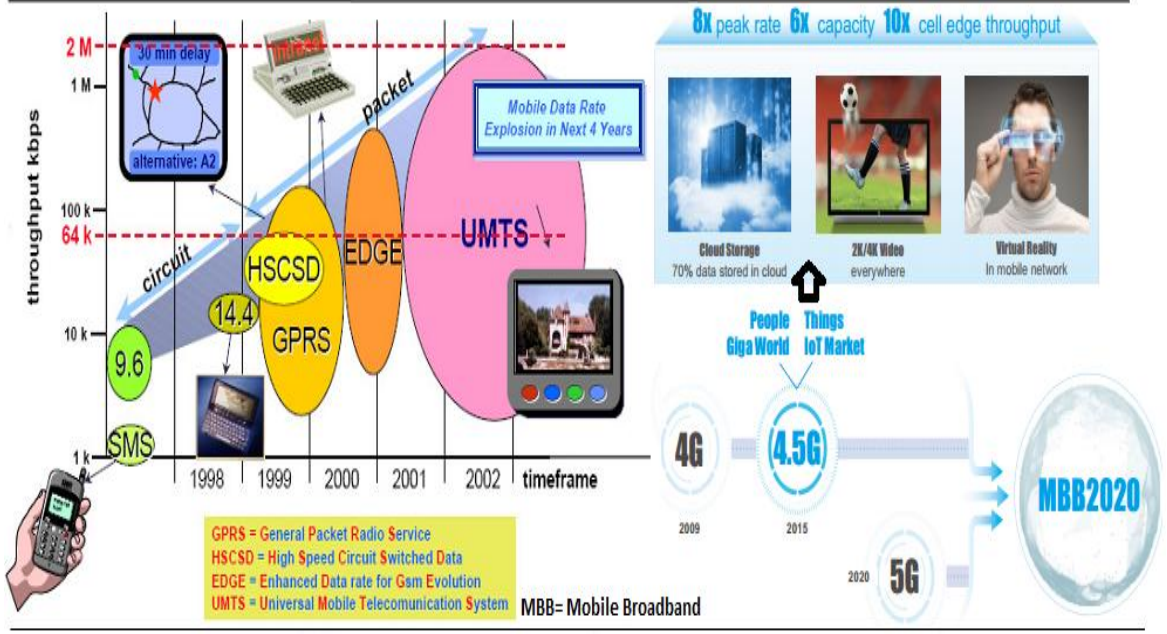
Kara mobil Baz istasyonu iletişimi, sabit bir kablo üzerinden veya yönlü radyolinkler aracılığıyla elektromanyetik dalga demetleri şeklinde mobil anahtarlama merkezlerine iletir. Haberleşme bu merkezden ‘mobil telefon sistem sunucusunun’ ana bilgisayarına ulaştırılır. Mobil telefonlar belli aralıklarla yerlerini bildirdiğinden bu ana bilgisayar, tüm cep telefonların yerlerini bilir ve alıcının cep telefonu bulunduğu en

uygun baz radyo istasyonuna haberleşmeyi yönlendirir, baz istasyonundan da alıcının telefonuna iletilir ve konuşmalar bu şekilde devam eder (39).

Başlangıçta telefonla yapılan haberleşme kablolar vasıtasıyla sağlanmışsa da engebeli coğrafi yapı, kötü hava şartları ve yerleşiminin dağınık olan yerlerde insanlar kablolu telefonun zorluluğundan ve verimsizliğinden dolayı alternatif bir sistem olarak mobil iletişim sistemi üzerinde çalışmalar yapmışlar. Yapılan çalışmalar sonucunda bir mobil iletişim sistem şekli olan GSM (Mobil iletişim için küresel sistem)'yi keşfetmişler. Sistem üzerinde ilk olarak 1982 yılında deneyler yapılmaya başlanmıştır (36). GSM, dünya genelinde ilk olarak engebeli coğrafi yapısı, kötü hava şartları ve yerleşimi dağınık olan Finlandiya'da kullanılmaya başlanmıştır.

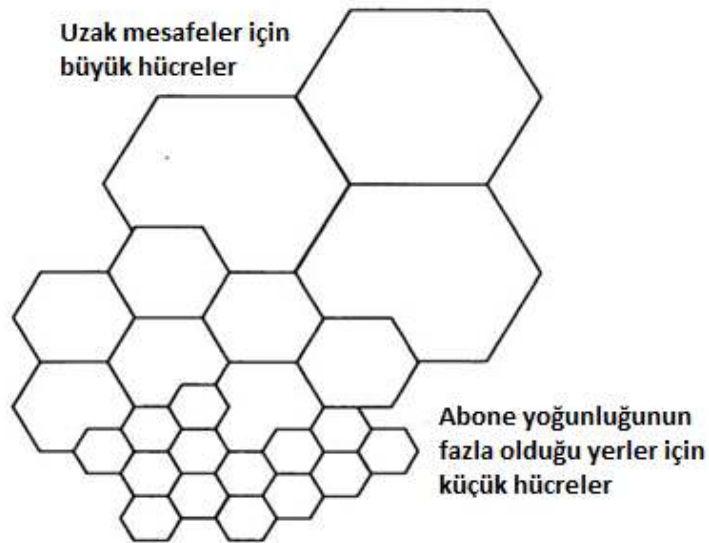
ilk cep telefonu radyo sinyalleri sürekli olan analog teknoloji sistemlerini kullanmışlar. Analog telefon aramayı gerçekleştirirken kesintisiz olarak sinyal gönderir ve alır. Fakat son yıllarda, dijital haberleşme servisleri daha çok kullanılmaktadır. GSM gibi dijital telefon sistemlerinde her aboneye tekrarlanan zaman dilimleri ayrılır ve böylece birkaç kişi aynı frekansı (aynı frekansı sekiz arama paylaşabilir) kullanabilir. GSM Sistemleri 1982'den sonra tüm dünyada yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Cep telefonları ilk olarak ortaya çıktığı zamandan bu yana kullanıcılara daha kaliteli iletişim hizmeti verebilmek için süreç içerisinde hızla farklı özellikler kazanarak gelişmiştir. Cep telefonları sistemleri içerdikleri özelliklere göre nesillerle ifade edilmektedir; Analog veri akışı kullanan birinci nesil mobil iletişim sistemleri (First Generation – 1G), Sayısal veri akışı kullanan ikinci nesil mobil iletişim sistemleri (Second Generation – 2G), 3G (Third Generation) üçüncü nesil olarak bilinen dijital sistem ile veri transfer hızı artmış ve bant genişliğinin kullanımı daha verimli hale gelmiştir. En son 2016 yılında kullanılmaya başlanılan 4.5G olarak adlandırılan dört buçuk nesil sistem ile daha yüksek mobil internet hızı, daha fazla data kapasitesi, veri transfer hızı, görüntülü konuşma ve bant genişliği gibi 3G ile çözülememiş problemlerin çözüme kavuşturulması beklenmektedir.



Sekil 7: Mobil telefon nesillerinin zamanla gelişimi (40)

Baz istasyonları ile cep telefonlarının radyasyon salınım biçimleri birbirinden farklılık göstermektedir. Mobil telefonlar bağlantıyı sağlamaya çalışırken, konuşma gerçekleştiği sürece hatta konuşma yapılmadığı durumlarda bile belirli aralıklarla şebekeye yerini bildirirken radyasyon yayar, baz istasyonlarının radyasyon yayımı ise sürekli. Baz istasyonları cep telefonu, kablosuz internet şebekeleri ve diğer kablosuz iletişim sistemleri bağlamında kullanılan radyofrekans dalgaları yayan düşük güçlü radyo antenleridir.



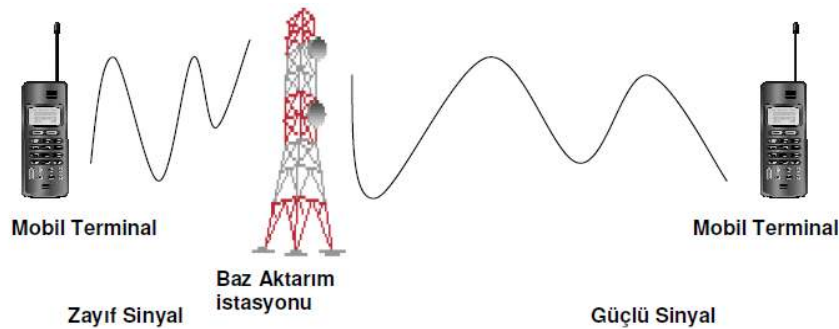
Şekil 8: Çeşitli güçteki baz istasyonları, petek güçleri ve hacimleri (41).

Düşük frekanslı uzun dalga boylu sinyaller engellerden daha az etkilenip uzak mefalere ulaşabilirler ve kapsama alanları bu yüzden oldukça geniştir. Yüksek frekanslı kısa dalga boylu sinyallerin ise kapsama alanı dardır fakat kapasiteleri fazla olup ses kalitesi daha iyidir. Bundan dolayı kırsal kesimde genellikle düşük frekanslı GSM 900 kullanılırken, nüfusun yoğun olduğu şehir merkezlerinde daha çok GSM 1800 kullanılmaktadır. GSM 1800 ile GSM 900'un kapsama alanına kaliteli hizmet sağlamak için daha çok baz istasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır (Şekil 8).

GSM 900, kullandığı frekans bandı 900 MHz ve hücre yarıçapı maksimum 35 km'dir. 1800 MHz frekans bandını kullanan DCS 1800 ise maksimum 7-8 km hücre yarıçapına sahiptir. Bunların dışında 3G (UMTS, Universal Mobile Telecommunications System) 'nin gelişimi ile birlikte 2100 MHz frekans bandı da kullanılmaya başlanmıştır. Bu sistemde tek taşıyıcı vardır, interference riski yoktur ve bütün baz istasyonlarında çalışabilmektedir.

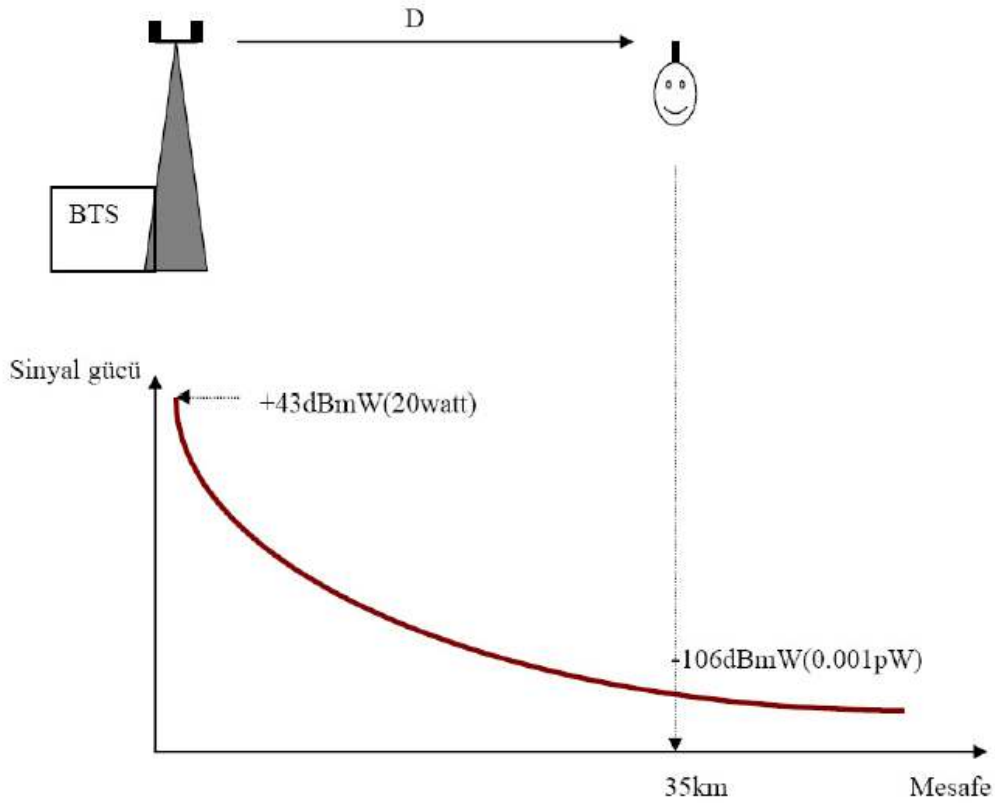
3.2.4.2.1. Mobil Telefon ve Baz İstasyonlarında Güç Kontrol Mekanizması

Mobil telefon ve baz istasyonlarından belirli bir güçte yayınlanan RF dalgaları, alana ve planlamaya bağlı değişiklik göstermekle birlikte standart düzey, baz istasyonları için 20 Watt, mobil terminali için çıkış gücü 2 Watt ve araç telefonları için ise 8 watt gücündedir (42). Mobil telefonlar baz aktarım istasyonuna olan uzaklıklarına bağlı olarak çıkış güçlerini otomatik olarak ayarlarlar. Telefon 2 watt'tan başlayarak şehir merkezlerinde sinyalin iyi olduğu yerlerde çıkış gücünü 0,025 watt'a kadar azaltabilir. İstasyonun yakınına gelindiğinde ise bu değer 0,012 watt'a kadar düşebilir (39). Baz istasyonuna en yakın telefon en düşük çıkış gücü ile çalışırken, baz istasyonundan uzaklaştıkça çıkış gücünü arttırarak çalışır (Şekil 9).



Şekil 9: GSM'de Güç Kontrol Sistemi (40)

Baz istasyonları birbirine ne kadar yakın olursa, her bir istasyona düşen iş yükü o kadar azalır ve bundan dolayı cihazların tam kapasiteyle çalışıp güçlerini yükseltmek zorunluluğu ortadan kalkar. Cep telefonu bağlantı sağlamaya çalışırken radyasyon en üst düzeye çıkar ve iletişim gerçekleşince minimum seviyeye iner. Bundan dolayı numara çevrilir çevrilmez telefon hemen kulağa götürülmemelidir. Çevre şartları ile orantılı bir şekilde zayıflayan Radyo dalgaları farklı bir etkiye maruz kalmazsa havada uzaklığın karesi ile ters orantılı olarak etkisini kaybeder (42).



Şekil 10: GSM Sisteminde Güç Mesafe İlişkisi (35)

Konuşma kalitesi telefonun sinyal düzeyine bağlı olup, alt sınırı -85 dBmW (decibel-milliwatts)'tır. Sinyal seviyesi -85 dBmW ile -105 dBmW arasında olduğunda iletişim kalitesinde bozulmalar ve paket kayıplar meydana gelir (43). Baz istasyonu ve mobil telefon sinyallerinin en düşük alışı seviyesi -106 dBmW'tır. Mobil telefon ve baz istasyonu arasındaki sinyal gücü ile mesafe ilişkisi şekil 10'da gösterilmiştir. Bu sinyal gücü seviyesinden daha düşük güçte gelen sinyaller alıcı tarafından işlenememektedir. Radyo dalgalarının ulaştığı bu minimum seviye hücrenin yaklaşık sınırları oluşturup kapsama alanını belirlemektedir. Ancak bu sınırların dışında sinyal zayıflayarak da olsa sonsuzda sıfır seviyesine yaklaşarak yayılımını

devam ettirmektedir. Zayıflayan sinyaller aynı frekansta başka bir sinyal ile karşılaşınca interference (girişim) olarak bilinen bu sinyali zayıflatıcı ya da bozucu bir etki meydana gelmektedir. Interference seviyesi haberleşme kalitesini doğrudan etkilemektedir. Hücre planlaması yapılırken coğrafi konum, sinyal güç seviyeleri ve frekans - interference etkisi gözönünde bulundurularak yapılmalıdır (42).

Güç kontrolünün yapılması cep telefonu ve baz aktarım istasyonu için bazı avantajlar sağlamaktadır. Baz istasyonu açısından bakarsak güç kontrolü ile sinyal gücü zayıflatılır böylece bazı frekansların birbirleriyle olası karışmalarının önüne geçilmiş olur bir de bu kontrol ile akü ile çalışan baz istasyonlarının daha az akım çekmesi sağlanır. Cep telefonu açısından faydası ise baz istasyonunda olduğu gibi sinyal karışmasını önlemek ve telefonun minimum batarya kullanımı sağlamasıdır.

Konuşmaya başladığımızdan itibaren mobil telefon sürekli (saniyede 2 defa) sinyal ölçümünü yaparak baz istasyonuna bildirir. Konuşma sırasında tepeden çukura inme, binaya girme, asansöre binme gibi ani değişimler meydana gelebilir bunu önlemek için filtrelemeler kullanılır. Gelen en son ses sinyalinin kayıpsız bir şekilde iletilmesi için sinyal güç ayarlaması yapılır düşük ise yükseltilir, yüksek ise düşürülür.

3.2.4.2.2. Özgül Güç Soğurma Oranı (SAR)

Mobil telefon özgül güç emilme oranı (SAR), radyo dalgalarına (özellikle cep telefonu ve baz istasyonları) maruz kalan biyolojik dokular tarafından emilen elektromanyetik enerjinin soğurulma hızıdır ve dokudaki ısı artışı ile bağlantılıdır. Başka bir deyişle SAR, radyofrekans radyasyona maruz kalan biyolojik sistemde depolanan enerji miktarının ölçüsüdür. Bir kg doku tarafından emilen elektromanyetik enerjinin watt cinsinden ifadesi olan SAR'ın birimi W/kg'dır (44).

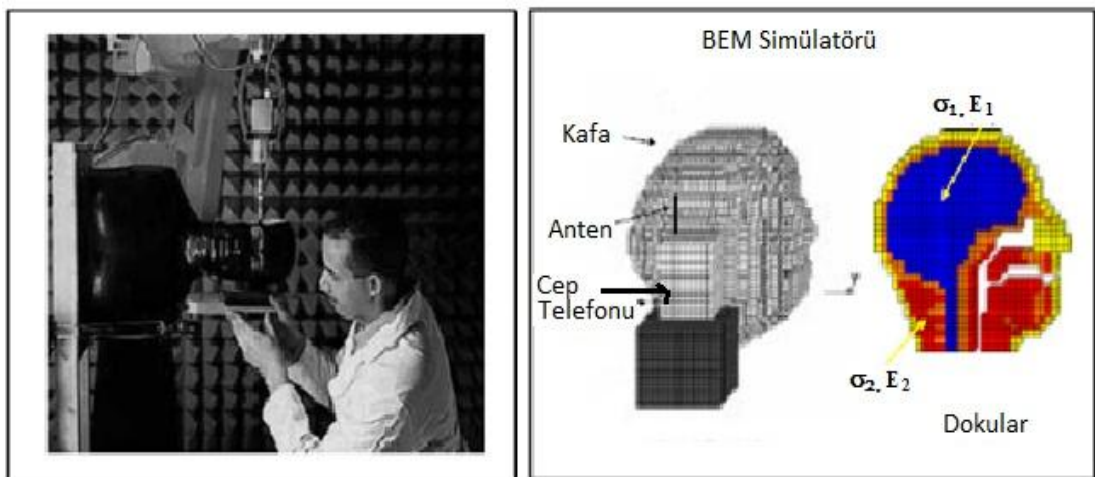
Biyolojik dokular tarafından emilen elektromanyetik radyasyon dokuda sıcaklık artışına neden olur. Radyo frekans enerjisini soğuran insan vücudunun bir kilogramının sıcaklığını 1°C arttıran RF enerji miktarı 4W olarak belirlenmiştir. Bundan dolayı standartların oluşturulmasında 4W/kg'lık SAR değeri zararlı biyolojik etki gözlenebilecek doz miktarı olarak kullanılmıştır.

Avrupa ülkelerinde genel halk için baş bölgesi SAR limit değeri maksimum 2W/kg iken bu değer Amerika'da 1,6 W/kg olarak kabul edilmektedir. Kol ve bacak bölgeleri için ise SAR üst limit değeri kg başına 4W olarak belirlenmiştir. Buna göre

dokuların soğurabileceği en fazla enerji güç miktarı 4W/kg 'dır. İşyerlerinde (mesleki) bu değerin 10 'da biri olan $0,4\text{W/kg}$, genel halk için ise 4 watt 'ın 50 'de bir değeri olan ($4\text{W}/50= 0,08\text{W}$) $0,08\text{ W/kg}$ SAR sınır değeri olarak kabul edilmiştir. Bu SAR değerleri tüm vücudun 6 dakikalık ($0,1$ saat) etkilenme süresi için verilen değerlerdir. Genel halk etkilenme sınırının mesleki etkilenme sınırından daha düşük tutulmasının nedeni çalışanların iş yerlerinde radyasyon kaynaklı ısınmalarına karşı korunmalarıdır (45).

Elektromanyetik dalgaların insan sağlığıyla ilgili etkiler konusunda birçok ülkede standartlar oluşturulmuş ve sınır değerler belirlenmiştir. Bununla birlikte uluslararası standartlar ve sınır değerler de mevcuttur (46). Değişik model, marka ve özellikli cep telefonlarının SAR değerleri aynı olmadığı gibi, yaydıkları RF radyasyonu da aynı değildir. www.sarvalues.com web adresinden değişik marka cep telefonlarının modellerini girerek SAR değerlerine ulaşılabilir (47). Radyofrekans radyasyonun 100 kHz ile 10 GHz aralığında biyolojik etkilerin tanımlanmasında genellikle SAR değeri kullanılır.

Özgül güç soğurma hızını gerçek insan maruziyetinde doğrudan ölçülmesi hemen hemen olanaksızdır. Dokunun birim kütesinin soğurduğu eşdeğer enerji miktarı deneysel olarak fantomda ölçümle veya bilgisayar modellemeleriyle hesaplanabilir. SAR sınır değerlerin hesaplanmasında manyetik alan şiddeti, elektrik alan şiddeti ve güç yoğunluğu gibi kolay gözlemlenebilen veya ölçülebilen parametreler kullanılır (48).



Şekil 11: İnsan dokularında emilen radyasyon modellenmeleri, bilgisayar yardımıyla SAR simülasyonu ve robotlar üzerinde SAR ölçümünün yapılması (49,50).

Biyolojik dokunun birim kütlesi tarafından soğrulan enerji miktarı;

$$SAR = C \cdot dT/dt, \quad SAR = \sigma E^2/\rho, \quad SAR = J^2/\sigma \rho$$

Bu formullerden hangisi uygun ise yani değışkenleri bulunabiliyorsa onunla hesaplama yapılabilir. Burada;

E: Dokuda indüklenen rms elektrik alan şiddeti (V/m)

σ : Doku iletkenliğı (S/m)

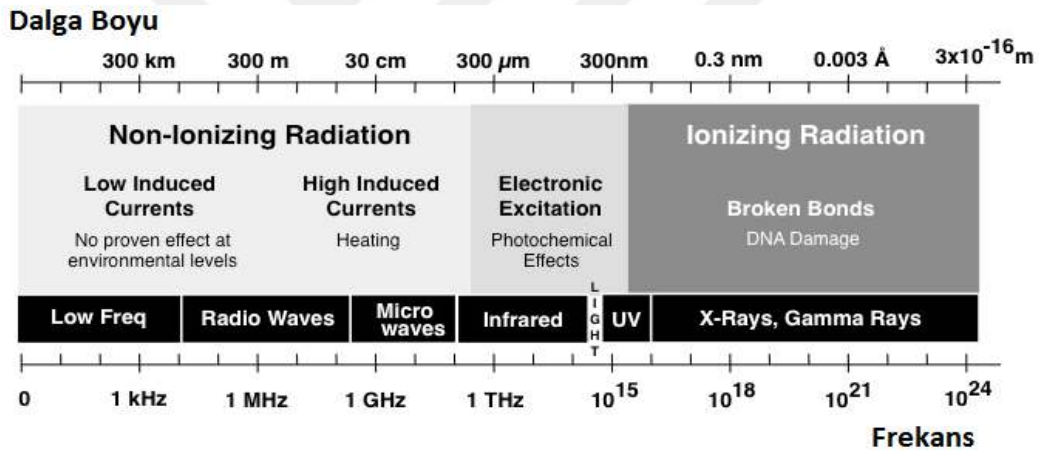
ρ : Küttele yoğunluğu (kg/m^3)

dT/dt : Vücut sıcaklığının($^{\circ}\text{C}$) zamana bağılı değışimi (saniye)

C: Doku (veya fantom malzeme) özgül ısı kapasitesi ($\text{J/kg } ^{\circ}\text{C}$)

J : Radyasyon sonucu vücutta oluşan akımın yoğunluğu (A/m^2)

3.2.4.3. RF Alanların Biyolojik Dokulara Etkileri



Şekil 12: RF radyasyonun etkileri (51)

Teknoloji alanındaki gelişmelerin bir sonucu olarak gittikçe artan RF radyasyonun insan sağlığına etkileri uzun yıllardan beri tartışılmaktadır. Yüksek frekanstaki RF enerjisinin soğrulması canlı dokularda bazı olumsuz etkilere neden olabileceğı bilinmektedir. Son dönemlerde yapılan çalışmalar, daha çok uzun süreli RFR maruziyetlerinden meydana gelebilecek sağlık problemlerini araştırma yönündedir.

RF kaynaklı elektromanyetik dalgalar birçok mekanizmayla biyolojik dokuları etkileyebilir. RF dalgalarının enerjileri, atomları veya molekülleri iyonlaştıracak seviyede değıldir. İyonlaştırmayan RF radyasyonun etkisinde kalma sonucunda

biyolojik dokuda” Termal” ve “Non Termal” olmak üzere 2 tür etki gözlenir ve bu etkilere bağlı olarak bir takım değişiklikler ortaya çıkar.

3.2.4.3.1. Elektromanyetik Dalgaların Termal (Isıl) Etkileri

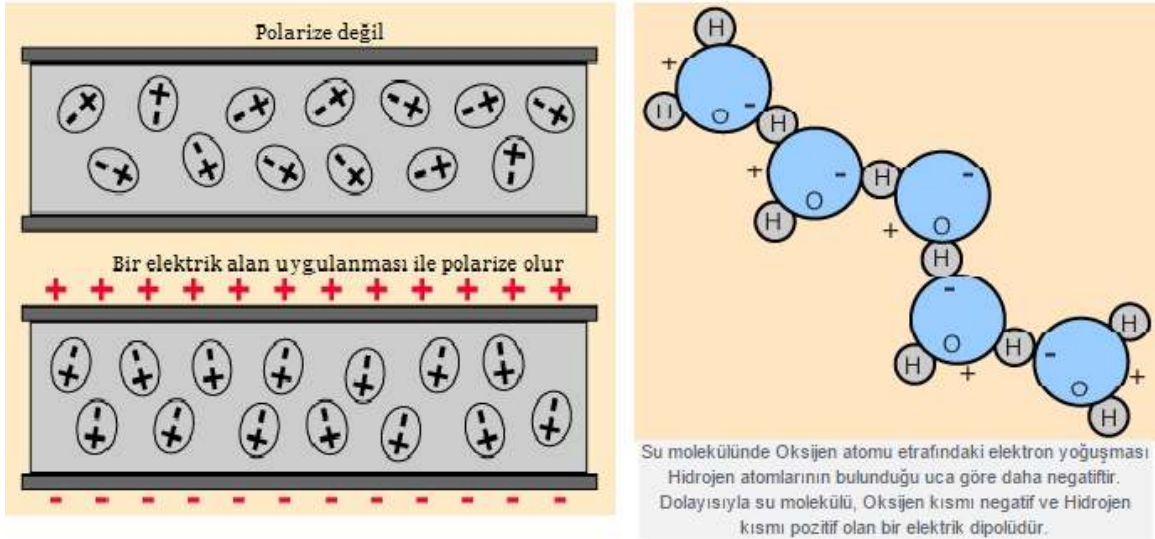
Termal (ısı) etkiler; vücut tarafından soğurulan elektromanyetik enerjinin dokuyla etkileşmesinde molekül hareketinin artması ve sürtünmelerinden dolayı dokuda oluşan ısı artışı sonucu meydana gelir. Dokularda sıcaklık artışı gelen RF dalgasının şiddetine, frekansına, geliş açısına, biyolojik dokunun su içeriğine, elektriksel iletkenliğine ve dielektrik özelliklerine göre değişir. Oluşan ısı yükselmesine bağlı olarak dokunun veya tüm vücudun sıcaklığı artar ve bir takım biyolojik etkiler ortaya çıkar. Örneğin biyokimyasal reaksiyonların oranlarında değişikliklere neden olabilir çünkü bu reaksiyonlar bir dereceye kadar sıcaklığa bağlı olması mühtemeldir.

Ayrıca bilindiği gibi doku içerisinde su molekülleri bulunur elektrik alan gibi herhangi bir dış etki olmadığı durumda bu moleküllerin dipol momentleri rastgele yönelirler. Fakat elektrik alan bu dipol momentlere uygulanması durumunda şekil 13’te görüldüğü gibi dipoller elektrik alan yönünde yönelmeye zorlanırlar. Elektrik alan tarafından dipol momentlere uygulanan tork dokuya ısı enerjisi transfer eder ve dokuda sıcaklık yükselmesine neden olur (52). Bu mekanizma en çok etkin olduğu frekans aralığı RF dalgalarının mobil haberleşme frekans aralığıdır (29). TD (Termal Doz);

$$TD = \frac{1}{60} \int R^{T(t)} dt \quad \text{Denklemlle ifade edilir.}$$

Denklemlde $T > 43^{\circ}\text{C}$ için $R = 2$, $38^{\circ}\text{C} < T < 43^{\circ}\text{C}$ aralığında ise $R=4$ ’tur.

43°C hücrelerin ölmesine veya hasarlanmasına neden olabilecek referans sıcaklık olarak belirlenmiştir. Oluşan bu sıcaklık yükselmeleri, ısı düzenleyici veya termoregulasyon sistem olarak bilinen kan dolaşım sistemiyle atılarak dengelenmesine kadar devam eder (53).



Şekil 13: Sudaki bipolar bağlanma ve elektrik alan uygulanmasıyla doku içersindeki rastgele yönelmiş moleküllerin polarizasyonu (54)

Biyolojik dokular farklı elektriksel iletkenliğe sahip olduklarından dolayı RF enerjisinin absorbe edilmesi durumunda dokularda da farklı termal etkiler gözlenebilir. Termal etkiler, RF alanının etkisinde kalan biyolojik dokunun su içeriğine ve elektriksel iletkenliği başta olmak üzere elektriksel parametrelerine bağlıdır. Dokuların dielektriksel özellikleri çocuklarda yetişkinlere göre farklı olması ve çocukların dokularının su içeriği büyüklere göre daha fazla olması nedeniyle iletkenlik de yüksek olup, radyo frekans alan maruziyetinden kaynaklanan tehlike çocuklarda yetişkinlere göre daha yüksektir (55).

Sıcaklık artışına bağlı olarak hücrelerde ölüm veya mutasyon görülebilir.

Sıcaklık artışı beyin, böbrek, göz, sinir dokusu, kas, kan ve deri gibi su içeriği fazla olan dokularda daha fazla olur. Yapılan çalışmalarda hücre, doku ya da vücut düzeyinde 1°C ya da daha fazla sıcaklık artışı olduğu durumlarda ısıl etkilerin ortaya çıktığı bildirilmiştir.

3.2.4.3.2. Elektromanyetik Dalgaların Termal Olmayan Etkileri

Vücutta tahribat meydana getirecek kadar ısı artışı yapmadan biyolojik değişikliklere neden olan non-termal etkiler, genellikle uzun süreli, düşük doz enerji seviyeli RF elektromanyetik radyasyonun soğrulması sonucu ortaya çıkarlar. Elektromanyetik alanların kimyasal etkileri termal etkilerine oranla insan sağlığı üzerinde çok daha ciddi sorunlar doğurabileceği iddia edilmektedir.

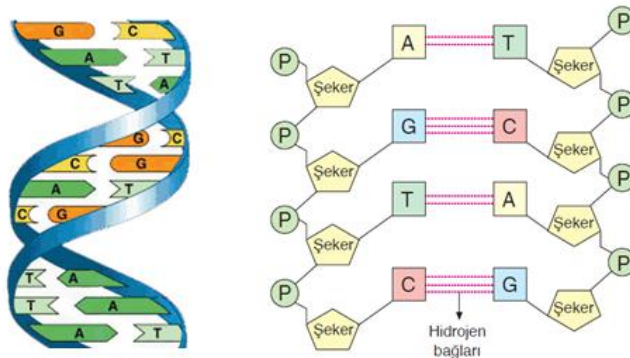
RF elektromanyetik dalgaların kimyasal etkilerine; nöronların elektrik aktivitesi ve Ca-ATPaz - Na-K-ATPaz enzim aktivitelerinde bozulma, EEG dalgalarının değişimi, alzheimer ve parkinson hastalığı, uykusuzluk, sinirlilik, sperm hücrelerinde kromozomal değişimler, enerji metabolizması, genomik yanıtlar ve kan beyin bariyerinin geçirgenliğinin değişimi örnek olarak verilebilir (53). Ayrıca non-termal radyasyon maruziyetinin en önemli etkilerinden biri de dokularda serbest radikal konsantrasyonunun artışına neden olduğudur (56). Serbest radikal konsantrasyonu ve birçok hastalık (DNA kırıklıkları, oksidatif stres vb.) arasında açık bir ilişki vardır (55).

Özellikle elektromanyetik dalgaların termal olmayan etkileri oksidatif strese ve DNA kırıklıklarına sebebiyet verebilme olasılığı açısından tartışılmaktadır. Termal olmayan etkiler RF kuantum enerjisinin büyüklüğüne, radyofrekans alanlar ile moleküler titreşimin uyarılmasına ve membran potansiyelindeki değişimlere bağlı olarak değişir (55).

3.2.5. DNA

3.2.5.1. DNA'nın Yapısı

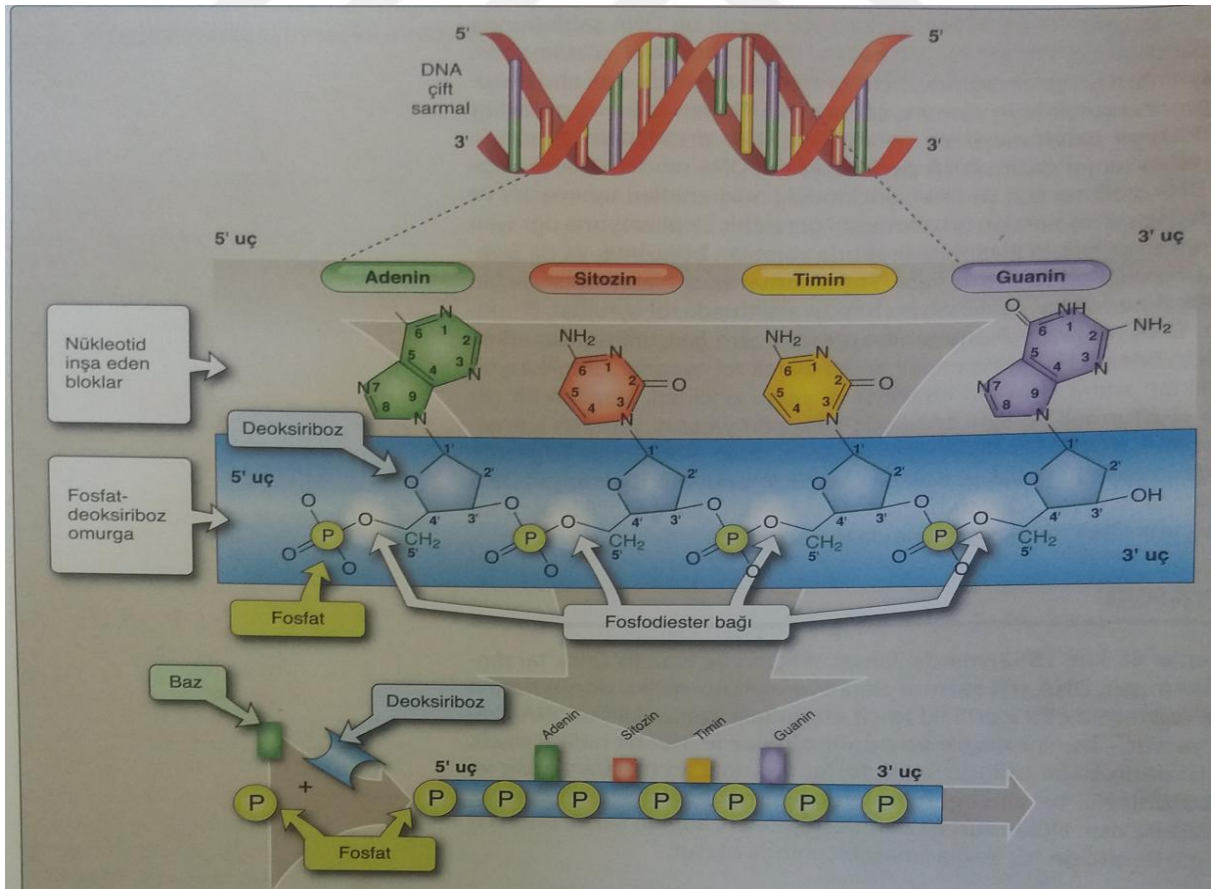
DNA (Deoksiribo Nükleik Asit), canlıların canlılık fonksiyonları ve biyolojik gelişmeleri için hücrelerde meydana gelen metabolik olayların kontrolünde rol alan, genetik bilginin saklandığı, genetik çeşitlilikten sorumlu, kalıtımı sağlayan ve aynı zamanda protein sentezinden sorumlu olan bir nükleik asit molekülüdür. İlk kez 1953 yılında Francis Crick ve James Watson tarafından DNA yapısı tanımlanmıştır. DNA'nın temel yapı elemanları; fosforik asit, deoksiriboz şekeri, iki tane pürin (adenin ve guanin) ile iki tane pirimidin (timin ve sitozin) nitrojenli baz'dır. DNA molekülünün iskeletini şekil 14' te görüldüğü gibi deoksiriboz ve fosforik asitin oluşturduğu çift sarmal heliks zinciri meydana getirirken, bu iki sarmal arasında yer alarak onları birbirine bağlayan ise pürin ve pirimidin bazlarıdır (57).



Şekil 14: Çift sarmal DNA'nın yapısı

Her bir helikal zincir kendisine bazların bağlı olduğu şeker fosfat omurgadan meydana gelir ve hidrojen bağlarıyla kendisini bütünleyici başka bir zincire bağlanır. DNA'nın şekeri deoksiriboz olup, nükleotid bazlarının eşleşmeleri ise timin (T) ile adenin (A) ve sitozin (C) ile guanin (G) şeklindedir. DNA'nın primer yapısını bu nükleotid bazlarının sıralanma şekilleri belirler. Guanin ile sitozin üç hidrojen bağı ile bağlanırken adenin ile timin iki hidrojen bağı ile bağlanır. Heliksin iç kısmının hidrofobik doğaları nedeniyle kümelenmiş bazların birbirlerini geri itmeleri, dış kısmının ise hidrofilik olması ile sarmalın iç tarafındaki baz eşleşme tipleri, çift sarmallı olan DNA'nın iç bölgesini kararlı halde olmasını sağlarlar (58).

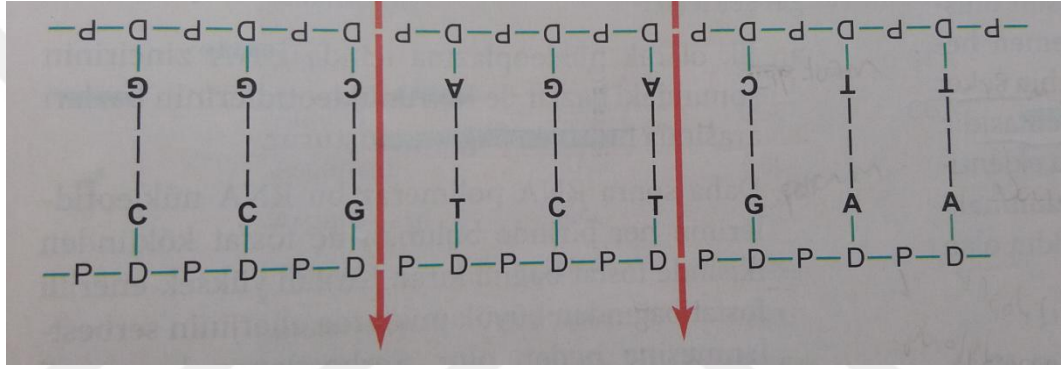
Avusturyalı biyokimyacı Edwin Chargaff, DNA yapısı ile ilgili en önemli çalışmalarından birini yapmıştır. Chargaff kurallarına göre, DNA'daki baz yapısı türden türe farklılık gösterir, fakat aynı türün değişik dokularından elde edilen DNA örneklerindeki baz yapısı aynıdır. Çevresel şartlar, beslenme, yaş gibi faktörler aynı türdeki DNA yapısında bulunan baz yapısını etkilemez. Ayrıca tür yapısından bağımsız olarak DNA'daki pirimidinlerin sayısı pürinlerin sayısına eşittir ($T=A$, $G=C$).



Şekil 15: DNA'nın kovalent yapısı (54)

DNA'nın içinde bulunduğu ortamın ısısı artırılır veya PH'sı değiştirilirse pürin ve pirimidin bazları arasındaki zayıf hidrojen bağları etkilenecek çift sarmal yapının açılmasına neden olabilir. DNA heliks yapısının zincirleri bozularak tamamen açılmasına denatürasyon denir. Bu yapının yarısının açılmasına neden olan ısıya, DNA'nın erime sıcaklığı (T_m , melting temperture) denir.

DNA zincirinin en önemli yeteneklerinden biri genetik şifre ile hücre içindeki proteinlerin oluşumunu kontrol etmesidir. Genetik şifreyi bazlar oluşturur. DNA molekülünün heliks yapısını meydana getiren iki zincir şekil 16'da görüldüğü gibi birbirinden ayrılması durumunda, her bir zincirin yanında bulunan ve birbiriyle eşleşen pürin ve pirimidin bazları açığa çıkar. Genetik şifreyi oluşturan, bu eşleşen bazlardır.



Şekil 16: DNA çift sarmal zincirinde genetik şifreyi oluşturan bazlar (57)

Ardışık üç baz bir şifre kelimesini meydana getirir. Hücrede sentezlenecek protein molekülündeki amino asitlerin diziliş düzenini şekil 16'da görüldüğü gibi AGA, CCG, GAA, TCT gibi bu ardışık üçlü bazlar kontrol ederler (57).

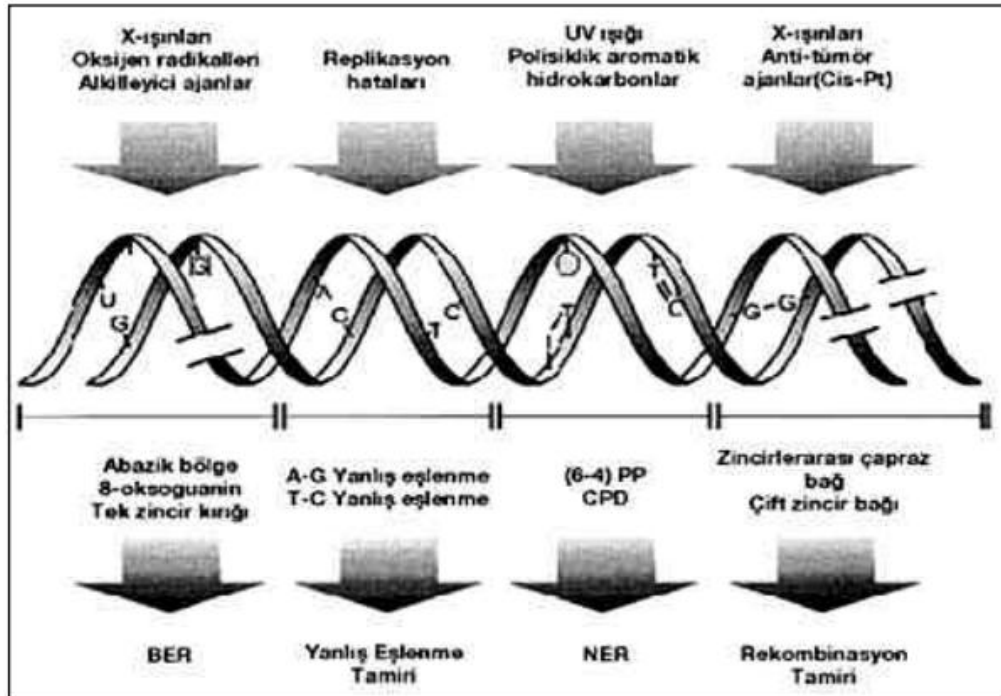
3.2.5.2. DNA Hasarı ve Hasar Tipleri

Nesilden nesile genetik bilginin sağlıklı bir şekilde aktarılabilmesi için DNA yapısının korunması son derece önemlidir. Genetik materyalin endojen veya ekzojen faktörlerin etkisiyle moleküler bütünlüğünde ortaya çıkan değişikliklerin tümü DNA hasarı olarak kabul edilmektedir (59). Eksojen kaynaklı faktörlere örnek olarak virüsler, enfeksiyon, enerjisi yüksek elektromanyetik dalgalar (X ışınları, morötesi ışık v.b.), güneşten gelen UV ışınları, sigara dumanı, iyonize radyasyon, pestisidler, mantar kaynaklı aflatoksinler, bazı kemoterapi ilaçları, solventler gibi çevresel faktörler, bazı metaller (krom, demir, civa, nikel, bakır gibi) ve fiziksel uyarıcılar sayılabilir. Endojen (hücre içi) faktörler ise DNA'nın yapısında oluşan, DNA rekombinasyonu ve

replikasyonuna benzer hücresel olaylar sırasında meydana gelen değişimlerdir. Buna oksidatif metabolizma ve DNA'nın spontan değişiklikleri örnek olarak verilebilir.

Oksidatif DNA hasarı, radyasyon ve çeşitli kimyasallar gibi ekzojen faktörler tarafından oluşturulabildiği gibi, normal oksijenli metabolizma sırasında bazı tepkime basamaklarında ortaya çıkan oksijen radikalleri tarafından endojen olarak da meydana getirilmektedir. DNA'da meydana gelebilecek bir hasar bu etkenlerden bir tanesinden kaynaklanabildiği gibi birden fazla ajanın etkisiyle de oluşabilmektedir ya da bu etkenlerden bir tanesi DNA üzerinde bir çeşit hasara yol açabildiği gibi aynı ajan farklı hasar türlerine de neden olabilmektedir. Bundan dolayı DNA hasarı ökaryotik organizmalarda farklı şekillerde meydana gelebilmektedir. Tek veya çift zincir DNA kırıkları, uyumsuz baz eşleşmeleri yada alkil gruplarının bağlanması vb. şekillerde sıralanabilmektedir (59).

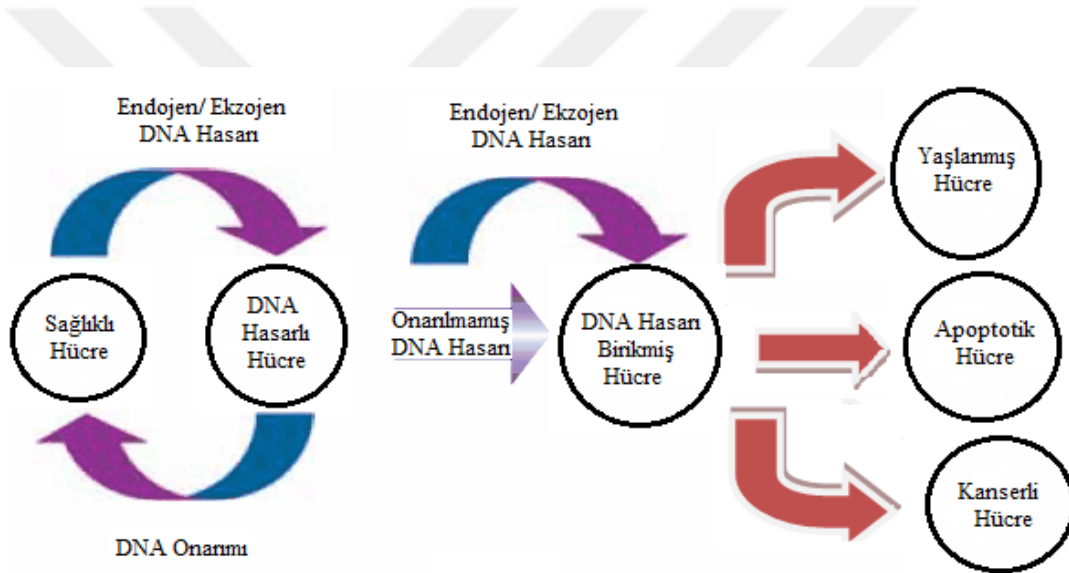
Yaşlanma, kanser, mutasyon ve hücre ölümüne yol açabilen DNA hasarı, canlının yaşamı boyunca yaygın olarak görülen olaylardır. Bütün canlılar, nesilden nesile genetik materyalin değişmeden aktarılmasını sağlamak ve hücreleri bu tür hasarlara karşı korumak için farklı DNA hasarı onarım sistemlerini geliştirmişlerdir. Düşük düzeydeki DNA hasarları DNA onarım mekanizmalarıyla verimli bir şekilde onarılırken, ağır hasarlar ise apoptotik mekanizmaları uyararak hücrelerin ölümüne neden olurlar. Orta dereceli DNA hasarları da genellikle mutasyona yol açarlar (60).



Şekil 17: DNA hasarına neden olan unsurlar, hasar tipleri ve onarım mekanizmaları (61)

Yapılan araştırmalar insanda çevresel faktörlerin etkisi ve normal metabolik faaliyetler sonucunda günde yaklaşık olarak bir milyon hücrenin zarar gördüğünü bize göstermektedir. Bu çaptaki hasarı gidermek için hücrelerde oldukça kompleks DNA onarım mekanizmaları gelişmiştir (59).

Bunların başlıcaları uyumsuzluk tamiri, baz kesme tamiri, nükleotid kesme tamiri, çift zincir DNA tamiri (homolog rekombinasyon ve non- homolog uç birleşimi) ve tek zincir kırıkları onarımı olarak sıralanabilir. DNA lezyonlarının türüne göre DNA hasarı onarım mekanizmaları arasındaki seçim yapılmaktadır (58). DNA onarım mekanizmalarında 100'den fazla gen rol oynar ve proteinlerin kodlamasında görev alan bu genlerin yapısında ortaya çıkan mutasyonlar ve diğer gen hasarları birçok genetik hastalıkla birlikte kanserin oluşmasında da rol oynayabilmektedir.



Şekil 18: Hücresel DNA hasarı ve Onarımı

İnsan hücrelerinin DNA'larında günde binlerce adet kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olabilen hasar oluşmaktadır ve bu hasarların çoğu DNA tamir mekanizmalarıyla bertaraf edilmektedir. Fakat DNA tamirindeki hatalar da genetik kararsızlığa sebep olurlar ve kanserlerin çoğunda tam olarak onarılmamış DNA hasarı rol oynamaktadır. Birçok deneysel ve epidemiyolojik veri, kanser ile genetik anormallikler arasındaki ilişkinin varlığını desteklenmektedir. Bu nedenle birçok bilim insanı bu konu hakkında araştırma yapmaktadır.

3.2.5.2.1. Tek Zincir DNA Kırıkları

Ultraviyole ve radyasyonun diğer türleri DNA kırıklıkları şeklinde DNA'ya hasar verebilir. Bu olay tek veya çift DNA zincirlerinde görülebilir. İyonize radyasyon şeker- fosfat omurgasına saldıracak radyoliz radikaller oluşturarak DNA tek zincir kırıklıklarını ortaya çıkmasına neden olur (63). Tek zincir kırıklıkları (SSB) ya doğrudan (Örneğin reaktif oksijen türleri gibi serbest radikallerin deoksiriboz saldırıları) yada dolaylı (fosfodiester omurgası enzimatik bölünme yoluyla, örneğin DNA baz eksizyon tamiri normal ara ürünü olarak) olarak ortaya çıkabilir. DNA heliksinin tek bir zincirindeki şeker-fosfat omurgasında meydana gelen kırılmalar Tek zincir DNA kırılmaları olarak bilinmektedir. Bu şekildeki hasarlar, en sık görülen DNA hasarı olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur (64). Genellikle DNA Ligaz enzimi 5' fosfat grubu ile 3' OH grubu arasındaki fosfodiester bağına oluşturarak meydana gelen bu basit kırıkları onarır.

3.2.5.2.2. Çift Zincir DNA Hasarı

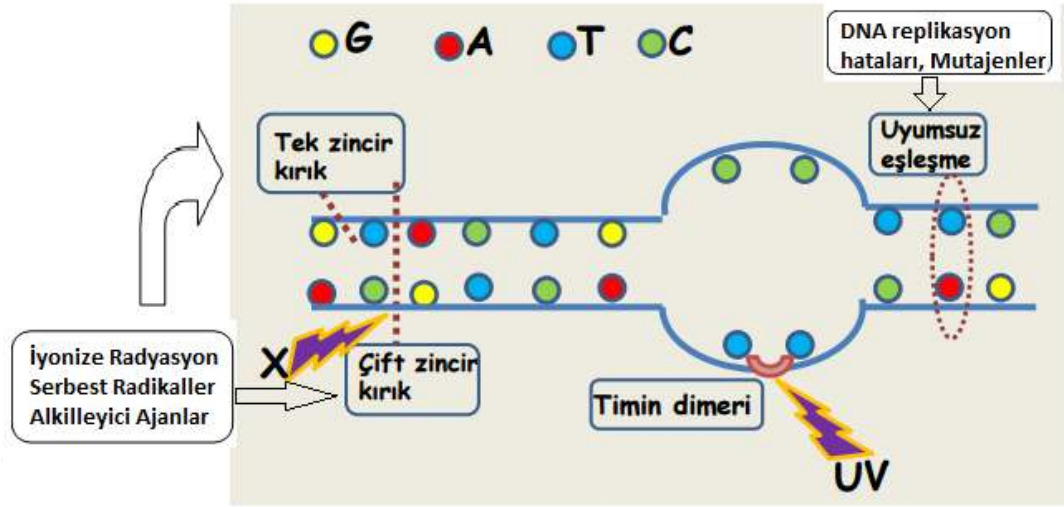
Endojen veya Ekzojen kaynaklı unsurların DNA çift iplik sarmal yapısının her iki zincirinde oluşturdukları kırılmalardır. DNA onarımı için bozulmamış kalıp bir DNA zinciri kalmayacak biçimde çift sarmalın her iki ipliğindeki fosfat omurgalarında meydana gelen eş zamanlı kırılmalar DNA hasarının en az görülen fakat potansiyel olarak en tehlikeli tipidir. Bu hasar onarılmadan bırakılması veya yanlış onarılması durumunda kromozomların hızlı bir şekilde daha küçük parçalara ayrılmasına, hücre ölümüne, yaşlanmasına ve kansere neden olabilirler. Aynı zamanda diğer hasar türlerine göre bu tip hasarların onarılmaları da daha zordur (65).

Ökaryotik organizmalarda çift zincir DNA kırıkları homolog rekombinasyon ile onarım (HR) ve homolog olmayan uç bağlama ile onarım olmak üzere iki farklı mekanizmayla tamir edilmektedir. HR ile tamir mekanizmasında kardeş kromatitler temel alınarak hasar onarılırken, homolog olmayan uç bağlama ile onarımda kırık uçlar birleştirilerek onarım yapılmaktadır (66).

3.2.5.2.3. DNA Baz Hasarı

DNA zinciri üzerinde bulunan tek bir bazda ortaya çıkan anormal değişimler DNA baz hasarı olarak bilinmektedir (67). DNA baz hasarına örnek olarak O^6 -

metilguanin, timin glikol, iyonize radyasyon ya da reaktif oksijen türleri tarafından indirgenmiş, okside olmuş veya parçalanmış bazlar verilebilir.



Şekil 19: DNA zedelenmesi (70)

3.2.5.2.3.1. Uyumsuz DNA Baz Eşleşmesi

Normal çift zincir DNA’da A ile T ve G ile C eşleşir. DNA baz çifti sarmalında replikasyon hataları ve mutajenler normal bazların hatalı eşleşmesine neden olabilirler. Bu şekilde meydana gelen DNA hasarına uyumsuz baz eşleşmesi denir. A-A, G-G, A-G, C-C, T-T, C-T, A-C ve G-T olmak üzere sekiz farklı yanlış eşleşme mümkündür. Bunun ilk üç tanesi (A-A, G-G ve A-G) pürin- pürin uyumsuz eşleşmesi; sonraki üçü (C-C, T-T ve C-T) pirimidin- pirimidin uyumsuz eşleşmesi; ve diğer kalan ikisi de (A-C ve G-T) pürin- pirimidin uyumsuz eşleşmesidir. Bu hasar genellikle DNA replikasyonu, onarımı ve rekombinasyonu gibi hücresel işlevler sırasında ortaya çıkmaktadır. Uyumsuz eşleşme tamir sistemi genlerinde ortaya çıkan anormallikler bireylerin kalıtsal nonpolipozal kolon kanserine (HPNCC) yakalanma riskini arttırdığı bilinmektedir (67). Hatalı eşleşmenin replikasyon sonrası onarımından Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon DNA tamir mekanizması sorumludur (69).

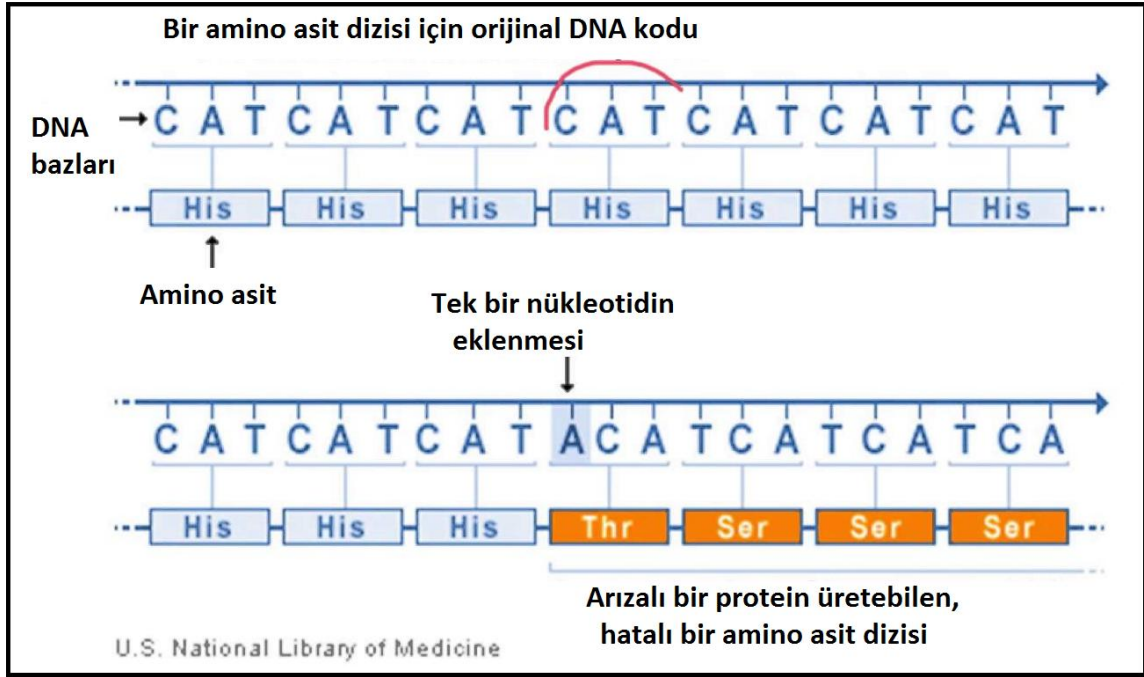
3.2.5.2.3.2. Alkilasyon

DNA bazlarına ya da omurgasına alkil gruplarının (metil veya asetil grupları) bağlanması sonucu oluşabilen hatalı baz eşleşme DNA hasarı tipidir. Örnek olarak; S-adenosil metiyonin ile DNA reaksiyona girmesi sonucunda alkilasyon meydana gelir. (67). En önemli alkilleyici ajanlar; Etilmetil sülfonat (EMS), nitrosaminler, N-metil-N-

nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) ve metilnitrosoüre gibi mutajenlerdir. Bu ajanlar, DNA bazlarını etkileyerek DNA'nın yapısında da bozulmalara neden olabilir. DNA'nın yapısında bozulma meydana gelmesi durumunda ise kesip- çıkarma veya hatalı tamir gibi düzeltme sistemleri görevi üstlenir. Fakat bu onarım sistemleri tamir yaparken de mutasyona neden olabilmektedir. Guanin ile etilmetil sülfonat reaksiyonu sonucunda O⁶-etil guanin oluşur. Ortaya çıkan O⁶-etilguanin veya metil guanin adeninin baz analogu gibi davranarak timin ile baz çifti yaparak G:C → A:T transisyonu meydana getirir. Benzer şekilde EMS timinle reaksiyonu sonucunda ise O⁶- etil timin oluşup, sitozin bazı ile eşleşerek T:A → C:G transisyonu oluşturur. Hücrelerdeki alkilasyonun DNA onarım proteini O⁶-metilguanin-DNA metil transferaz enzimidir. Görevi bitikten sonra geri dönüşsüz bir şekilde baskılanan bu enzim guanin bazındaki yanlış alkilasyonu geri çevirerek normal guanin oluşumunu sağlar.

3.2.5.2.3.3. Çerçeve Kayması Mutasyonu (Frameshift)

Protein kodlayan DNA üç baz uzunluğundaki kodlara ayrıştırıldığından baz ekleme ve çıkarma işlemi bir geni değiştirebilir ve artık mesajı doğru ayrıştırmayabilir. Bu değişikliklere Çerçeve kayması mutasyonu (frameshift) denir. Örneğin “can git gel ara” cümlesini düşünelim, ilk harfi çıkarıp tekrar aynı şekilde ayrıştırsak yeni cümlemiz “ ang itg ela ra” biçiminde anlamsız bir hale gelir. Çerçeve kaymasında benzer hatalar şekil 20 de görüldüğü gibi DNA düzeyinde ortaya çıkar ve kodonların yanlış ayrıştırmasına neden olur (70).



Şekil 20: Çerçeve kayması mutasyonunda mutasyon meydana geldikten sonra okuma çerçevesinde bir kaymanın meydana gelmesi.

3.2.6. Serbest Radikaller

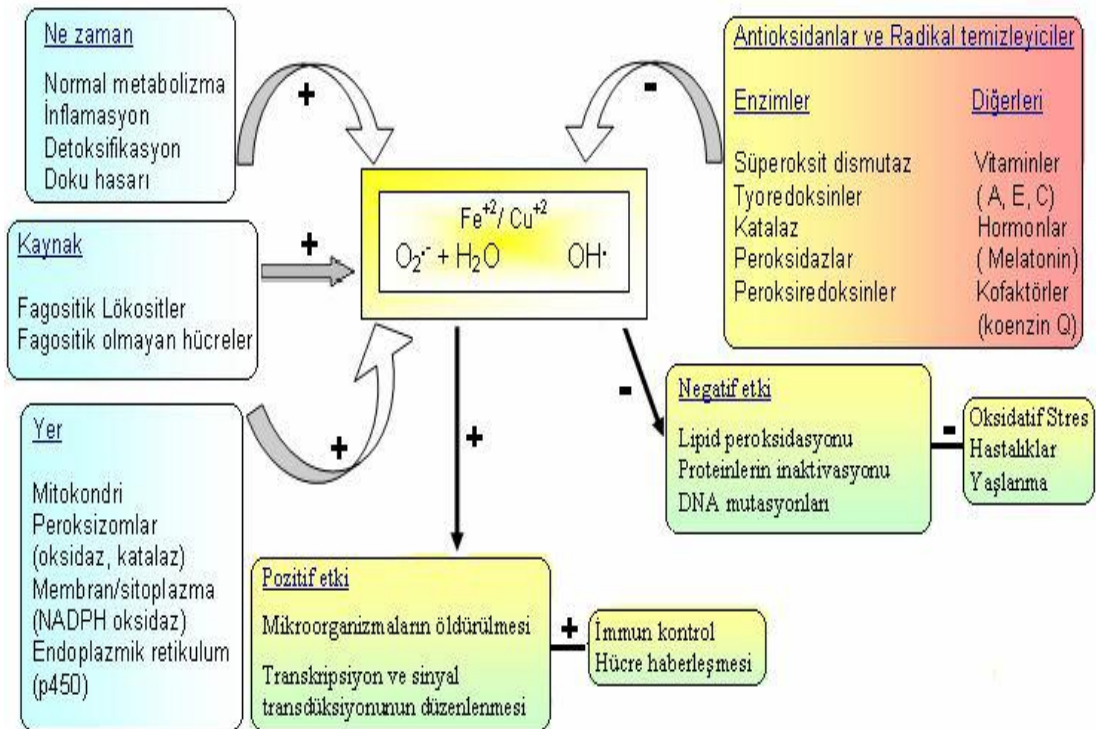
İnsan vücudundaki hemen hemen tüm elektronlar oldukça kararlı olan elektron çifti şeklinde bulunurlar. Herhangi bir reaksiyon sonucunda (oksijenli solunum gibi) atom veya moleküllerin dış orbitallerinde bu eşleşen elektron çiftinin bozulması, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron oluşması durumunda ortaya serbest radikaller çıkar. Dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunan molekül veya atomlar kararsız halde olup, eşleşmemiş elektronun eşleşmesini sağlamak ve kararlı bir yapı kazanabilmek için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerek onlardan elektron koparma eğilimindedirler. Sağ üst köşelerine yazılan nokta ile sembolize edilen serbest radikaller, negatif (-) yüklü, pozitif (+) yüklü ya da elektrikce nötr (yüksüz) olabilirler.

Bu serbest radikaller, vücutta değişik metabolik aktiviteler sırasında üretilirler. Enflamasyon, iyonize ve non-iyonize radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı (pO_2), ağır metaller, azot dioksit (NO_2^*), ozon (O_3), duygusal stres, alkol tüketimi, sigara, ilaç ve kimyasal maddeler gibi bazı uyarıcı faktörlerin etkisiyle bu üretim seviyesi yükselir.

Bu tip radikaller DNA dâhil biyomoleküllerle reaksiyona girip mutajenez, karsinojenez ve yaşlanmaya neden olur. Başka bir deyişle serbest radikallerin enerjileri yetersizdir ve bundan dolayı bir hırsız gibi kendini tatmin etmek için diğer hücrelere

saldırır ve enerjilerini kaparlar. Reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi hücre içi ve dışı sinyal taşıma, immün kontrol ve hücre haberleşmesi gibi görevleri yerine getirirken yararlı olabilir, fakat fazla miktarda üretimi veya konsantrasyonunda artış olması DNA gibi biyomolekülleri değiştirme, lipid peroksidasyon ve proteinlerin inaktivasyonu sonucunda birçok hastalığa neden olabilir. Örneğin yüksek reaktif olan hidroksil ($\text{OH}^\bullet$) radikali DNA ve diğer biyolojik moleküllere zarar verir. En reaktif radikal olan $\text{OH}^\bullet$ radikali başta olmak üzere serbest radikaller DNA da baz ve şeker değişiklikleri, zincir kırıklıkları, DNA- protein çapraz bağları gibi çok sayıda modifikasyona neden olabilir (71). Fakat bu oksidatif DNA hasarı hücresel tamir sistemi tarafından onarılabilir. ROS'un en büyük kaynağı oksijen molekülüdür. Ayrıca ROS üretiminde radyasyonun büyük katkısı olabilir ve komşu moleküllere rastgele saldıran $\text{OH}^\bullet$ radikali radyasyonla uyarılmış serbest bir radikaldır. Düşük şiddetli RF alanda serbest radikal konsantrasyonunda artış tespit edilmiştir (72). Hastalıklar ile serbest radikal konsantrasyonu arasında açık bir ilişki mevcuttur (55).

Kısa ömürlü, kararsız, düşük molekül ağırlıklı ve çok aktif molekül yapısına sahip olan serbest radikaller; oksijen merkezli serbest radikaller ve nitrojen gibi oksijen merkezli olmayan serbest radikaller olmak üzere ikiye ayrılır. Oksijenin radikal türleri biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir.

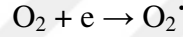


Şekil 21: Reaktif Oksijen Radikallerin Metabolizması (73)

3.2.6.1. Serbest Radikal Türleri

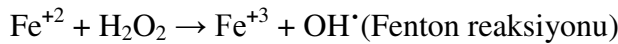
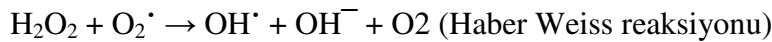
3.2.6.1.1 Süperoksit Radikalleri (O_2^-)

Hasarlandırıcı özelliği fazla olmayan fakat kararsız yapıda bir serbest radikal türevi olan süperoksit anyonu, molekül haldeki oksijenin yapısına bir elektron transfer ederek indirgenmesi sonucu oluşur. Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikali hidrojen peroksit (H_2O_2)'nin kaynağı olması, oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkileri ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir olması nedeniyle önemlidir. Ortamda demir varlığında O_2^- ve H_2O_2 radikaller reaksiyona girerek en reaktif serbest radikal türlerinden hidroksil radikalini oluşturmaktadır (74). Çok kısa bir yarı ömre sahip olan süperoksit radikalleri dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve O_2 meydana getirirler.



3.2.6.1.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

H_2O_2 , enzimatik olarak oksijenin iki elektron alarak indirgenmesiyle ya da süperoksit radikallerinin enzimatik veya enzimatik olmayan dismutasyon (hidrojen ile tepkimeye girmesi) reaksiyonları sonucunda oluşur (75). Yapısında paylaşılmamış elektron bulunmadığından serbest radikal olmayan bir oksidan özellik gösterir. Ortamda demir, bakır gibi geçiş metal iyonlarının varlığında serbest oksijen radikallerinden en fazla hasar verici özelliğe sahip hidroksil radikalinin öncülü (Haber Weiss ve Fenton reaksiyonlarında olduğu gibi) olarak davranmasından dolayı oksitleyici bir tür olarak bilinmektedir. Hidrojen peroksit'in yarı ömrü uzun olup, çok uzak mesafelere hareket edebilir.



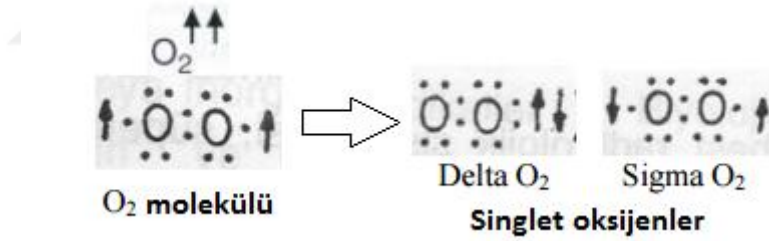
3.2.6.1.3. Hidroksil Radikalleri (OH^-)

Hidroksil radikali, en kararsız ve en reaktif oksijen radikali olup su dahil ortamda rastladığı hemen hemen her molekül ile tepkimeye girer. Yarı ömrü çok kısa (10^{-9} s) olduğundan dolayı oluştuğu bölgeden fazla uzak bölgelere diffüze olamaz. Buna rağmen çok güçlü bir oksidan olduğu için üretildiği alanda çok dar bir bölgede

büyük hasarlar meydana getirir. OH^{*} radikalleri hücrede bir dizi reaksiyona katılabilir ve DNA'nın şeker ile pürin ve pirimidin bazlarında ciddi hasarlar meydana getirerek DNA zincir kırılmalarına yol açabilirler. Küçük hasarlar hücresel koruyucu mekanizmalar tarafından onarılabılırken, çok kapsamlı hasarlar tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda da değişik mutasyonlar veya hücre ölümleri meydana gelebilir (74,76). Vücutta hidroksil radikali üretiminin en önemli kaynağı hidrojen peroksidin eksik indirgenmesi ve iyonlaştırıcı radyasyonun etkisiyle su moleküllerinin iyonlaşmasıdır.

3.2.6.1.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

Paralel spinli iki eşleşmemiş elektrona sahip moleküler oksijen (O₂), Serbest radikal tanımına göre biradikal olarak kabul edilir. Singlet oksijen şekil 21'de görüldüğü gibi biradikal oksijenin bir elektronu enerji alarak kendi spininin tersi yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesi sonucunda oluşabileceği gibi hidrojen peroksidin hipoklorit ile tepkimeye girmesi ve süperoksit anyonun dismutasyonu neticesinde de meydana gelebilir (77).



Şekil 22: Oksijen molekülü ve Singlet oksijenin spinleri

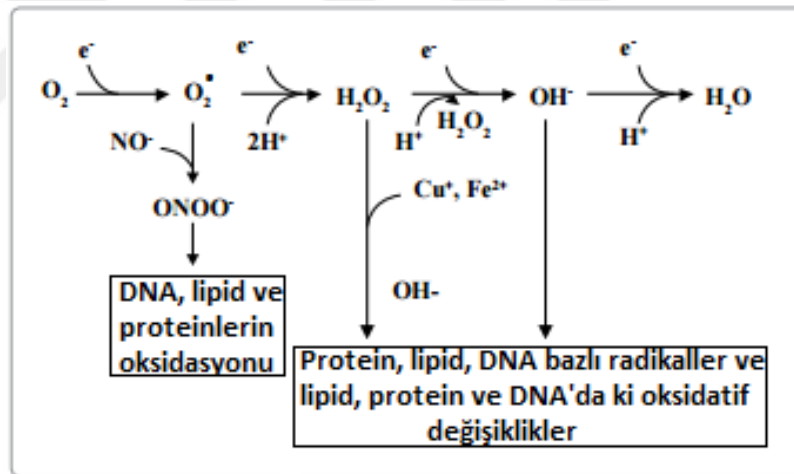
Singlet oksijenin çiftleşmemiş elektronu bulunmadığından dolayı serbest radikal değildir fakat serbest radikal reaksiyonlarını başlattığından serbest radikal sınıfına dâhil edilmiştir.

Singlet oksijen, normal oksijenden çok daha hızlı biyolojik bir molekül olup diğer moleküllerle karşılaşp etkileşmesi durumunda ya içerdiği enerjiyi onlara aktarır ya da karbon-karbon çift bağlarında olduğu gibi kovalent reaksiyonlara girer. Hücre zarındaki doymamış yağ asitleriyle direk reaksiyona girip peroksil anyonunu meydana getirir ve çok etkili bir biçimde lipid peroksitlerin oluşumuna yol açabilmektedir.

3.2.6.1.5. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO[•], NO⁺)

Canlı organizmada reaktif oksijen türlerin (ROS) yanı sıra reaktif nitrojen türleri (RNS) de oluşmaktadır. Merkezi sinir sisteminin nöronlarında aracı madde olarak işlev gören ve pekçok beyin fonksiyonun gerçekleşmesinde rol alan Nitrik oksit (NO), biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen türevlerinin en önemlisidir. Bir atom oksijen ile bir atom azotun eşleşmemiş elektron vererek birleşmesi sonucunda NO oluştuğundan radikal tanımına uymaktadır.

Hücre zarlarından kolaylıkla geçer ve yağda çözünür. NO'nun yarılanma ömrü çok kısa (3-5 sn) olup plazmada Nitrit (NO₂⁻) ve Nitrat (NO₃⁻) gibi daha stabil formlara dönüşebilmektedir. Nitrik oksit, superoksitle tepkimeye girerek çok güçlü hücrel bir reaktif radikal olan peroksinitriti (ONOO⁻) meydana getirebilir. Nitrik oksitin çok yüksek seviyelerde üretilmesi pekçok nörolojik hastalıkla birlikte karbonhidratlar, lipidler, DNA ve proteinlerde de çeşitli hasarlara neden olabilmektedir (78).



Şekil 23: Reaktif Metabolitler (79)

3.2.6.2. Serbest Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları

3.2.6.2.1. Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizmada serbest radikaller hücrelerin karbonhidrat, protein, lipid, enzim ve DNA gibi materyallerini etkileyerek zarar verebilirler. Serbest radikallerin bu potansiyel zararlı etkilerine karşı canlı organizmalar kendilerini korumak için çeşitli intrasellüler ve ekstrasellüler savunma mekanizmaları geliştirmişler. Öncelikle glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD) gibi

intrase   ler enzim savunma sistemleri mevcut radikallerle reaksiyona girip bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyerek etkisini göstermektedir. Hücre dışı savunma mekanizmaları ise ya ekstras    ler bir antioksidan olan transferinin demir ba  layarak serbest oksijen radikalinin oluşumunu önlemesi gibi serbest radikal oluşumunu önleyerek ya da oluşan serbest oksijen radikallerinin aktivasyonunu inhibe ederek etkili olmaktadır (80).

Serbest radikallerin üretimi ile onları ortadan kaldıran antioksidantlar arasında hassas bir denge mevcuttur. Bu dengenin serbest radikal tarafına kayması veya bozulması durumunda hücre hasarlanmasına kadar giden birçok fizyopatolojik değişiklik meydana gelebilir.

Antioksidanların serbest radikalleri etkisiz hale getirme mekanizmaları;

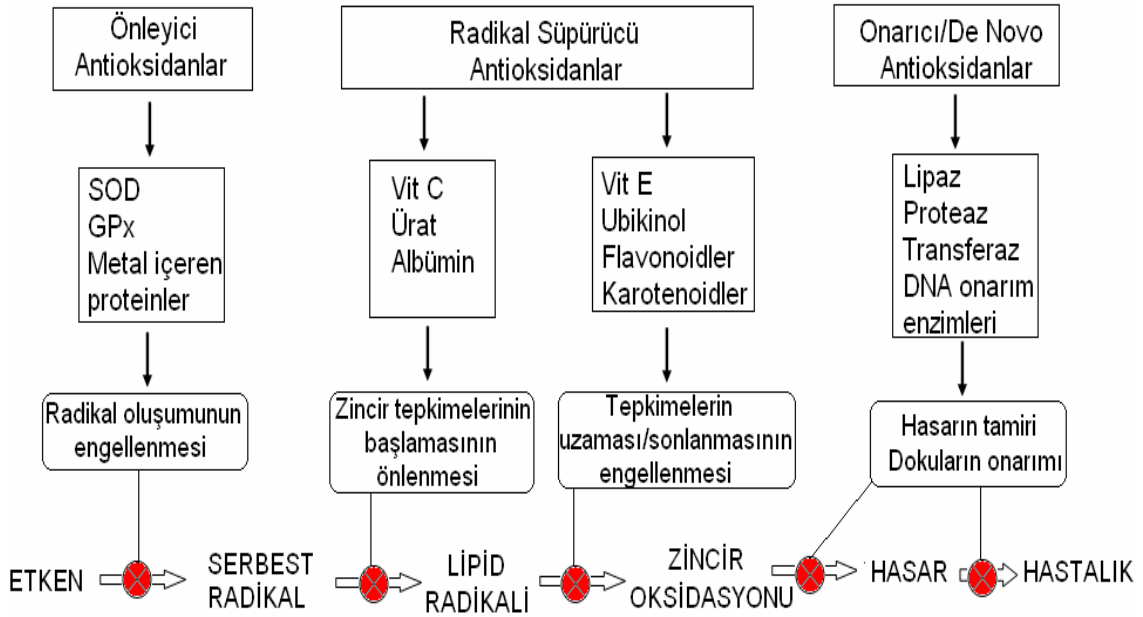
Süpürme etkisi (Scavenging): Reaktif oksijen radikallerini ya doğrudan temizler ya da enzimatik tepkimeler vasıtasıyla daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisiz hale getirir.

Söndürme etkisi (Quenching): Vitaminler ve flavanoitler gibi antioksidanların reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu baskılayarak engellemesi şeklindeki etkisidir. Bu etkiyi reaktif serbest radikallerle etkileşerek onlara bir hidrojen verip işlevlerini d    rme veya inaktif duruma getirme biçiminde gösterirler.

Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): SOD, GPx, CAT, E ve C vitamini gibi antioksidanlar serbest radikal üreten zincir reaksiyonlarını durdurup fonksiyonlarını engelleyici etkinlik gösterebilirler. Serbest radikal üretiminde rol oynayan metal iyonlarını ba  lar ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarını engellerler.

Onarma etkisi (Repair): Oksidatif olarak hasara uğramış hedef biyomolek   leri onararak etkisini göstermektedir.

Canlı hücrelerde endojen ve eksojen kaynaklı birçok antioksidan savunma sistemi mevcuttur. Endojen kaynaklı antioksidantlar, enzimatik ve enzimatik olmayanlar olmak üzere 2 grupta incelenmektedir.

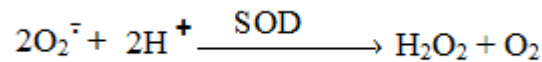


Şekil 24: Antioksidanların savunma mekanizmaları (73)

3.2.6.2.1.1. Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

A. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) hücre içi seviyesini azaltmak ve kontrol altında tutmak için moleküler oksijen (O_2) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşümünü sağlayan antioksidan bir enzimdir. Süperoksit, zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısı olduğundan SOD enziminin buradaki görevi çok önemlidir.



Bu reaksiyon sonucunda meydana gelen hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülü de sitotoksik olduğundan yine endojen olarak üretilen glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimleri aracılığıyla oksijen ve suya dönüştürülerek toksik etkisi ortadan kaldırılır (81).

Ekstrasellüler aktivitesi çok düşük olan SOD'un hücre içi oksijen kullanımı fazla olan dokularda yüksektir. SOD, lipid peroksidasyonu gibi süperoksit anyonunun hasarlarına karşı koruma sağlamakla birlikte fagosite edilmiş bakterilerin hücre içi yok edilmesinde de görev almaktadır. Ayrıca serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve

hastalıklarda (akciğer enfeksiyonları, böbrek yetmezliği, motor nöron hastalıkları vb.) koruyucu rol aldığı düşünülmektedir.

B. Katalaz (CAT)

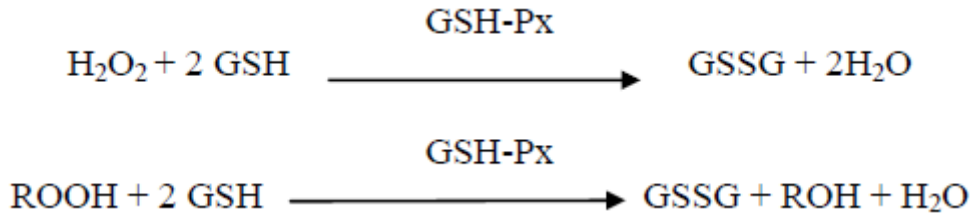
Bünyesinde dört adet hem grubu barındıran ve bir hemoprotein olan katalaz (CAT) enzimi, SOD enziminin faaliyeti sonucunda veya diğer mekanizmalarla oluşan toksik hidrojen peroksiti (H_2O_2) oksijen ve suya dönüştüren reaksiyonları katalizler (82).



Hidroksil serbest radikalının ($OH^\bullet$) oluşumunu önlemek için hidroksil radikalının öncülü olarak davranan hidrojen peroksiti (H_2O_2) ortadan kaldırılır. Katalaz enzimi, karaciğerde, kanda, böbrekte ve kemik iliğinde yüksek miktarda bulunur.

C. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px enzimi, pek çok hücrenin sitozollerinde bulunan tetramerik bir enzim olup yapısında dört selenyum (Se) atomu bulunmaktadır. Organik hidroperoksit ile hidrojen peroksitlerin indirgenme reaksiyonlarından sorumlu olan bir enzimdir.



Glutasyon peroksidaz fonksiyonundaki bir azalma, hidrojen peroksitin birikmesine ve hücrede hasar meydana gelmesine neden olur. Bu enzim lipid peroksidasyonunun başlamasını önlemekle birlikte lipid peroksidasyonu sonucunda meydana gelen lipid hidroperoksitlerin metabolizmasını da sağlar. Ayrıca Glutasyon peroksidaz enzimi, solunum patlaması sırasında diğer antioksidanlarla beraber serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelere zarar gelmesini önleyerek önemli bir işlevi yerine getirir. Eritrositlerde serbest radikallere karşı en etkili antioksidan olan glutasyon peroksidaz enzimi (GSH-Px), düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında aktive olabilmektedir.

D. Glutasyon-S-Transferaz (GST)

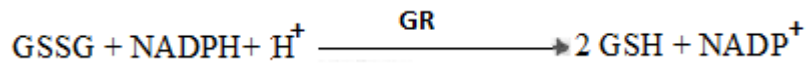
Glutation-S-Transferazlar (GST), biyotransformasyon tepkimeleriyle oluşan veya organizmaya dışarıdan gelen zararlı bileşikler, ya etkili bir nükleofil olan glutasyon ile konjuge ederler ya da glutasyon (GSH)'daki sisteinin – SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize edip bir dizi reaksiyonla daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Meydana gelen bu GSH konjugatları böylece merkaptürik asit türevlerine dönüşerek safra veya idrar yolu ile organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar.



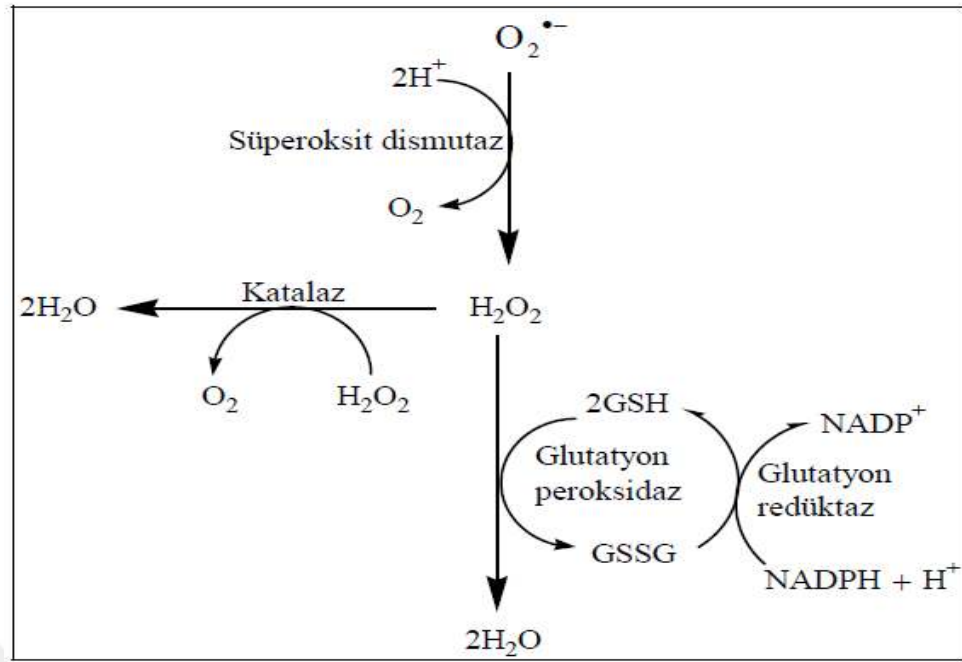
Glutation-S-Transferaz enzimi mutajen, kanserojen ve diğer zararlı kimyasalların hücre içi detoksifikasyon işleminden sorumludur. Ayrıca metabolize olmayan hematin, bilirubin, bromsülfattalein gibi pek çok pigment ile steroid hormonlar, kolik asitler, polisilik aromatik hidrokarbonlar vb. lipofilik-hidrofobik birçok bileşiği bağlayıp taşımaları ise bu enzimlerin depo ve taşımada da rol aldığını göstermektedir (83). Lipid hidroperoksitlere karşı GSH-Px aktivitesini göstererek bir antioksidan savunma sistemini meydana getirirler.

E. Glutasyon Redüktaz (GR)

NADPH bağımlı bir flavoprotein yapısında olan glutasyon (GSH) redüktaz, GSH-Px aracılığıyla hidrojen peroksitlerin indirgenme reaksiyonu sonucunda meydana gelen oksitlenmiş glutasyonu (GSSG) yine indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşüm tepkimesini katalizler.



Oksitlenmiş halde kalan glutasyon (GSSG), glutasyon peroksidaz ve birçok diğer antioksidan enzim aktivitesini olumsuz etkilemektedir.



Şekil 25: Oksidatif hasara karşı enzim olan antioksidanların savunma mekanizması (84)

F. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinde son enzim olarak görev alan bu enzim, süperoksit serbest radikallerini suya dönüştürerek detoksifiye eder.

3.2.6.2.1.2. Nonenzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

A. Vitamin C (Askorbik Asit)

Askorbik asit, antioksidan özelliklere sahip doğal olarak meydana gelen bir organik bileşiktir. Suda çok iyi çözünebilen C vitamininin bir formu olup hidroksil ve süperoksit serbest radikalleri ile tepkimeye girip onları ortadan kaldırır. Aynı zamanda indirgeyici (sitokrom- a, sitokrom- c, nitrat, oksijen vb. bileşiklerin indirgemesi) özelliği yüksek olan bir ajandır. Glikozdan elde edilen bu vitamin birçok hayvan tarafından sentezlenebilirken, insanlar ise sadece dışardan besinlerle alarak bu ihtiyacı karşılayabilirler. C vitamini depolanmaz ve özellikle narenciye, brokoli, domates, limon gibi sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunur.

Askorbat iyon normal PH değerlerinde baskın bir tür olup, hafif bir indirgeme maddesi ve bir antioksidandır. Radikal katyonu oluşturmak için bir elektron kaybı ile oksitlenir ve sonra dehidroaskorbik asit oluşturmak için ikinci bir elektron kaybı meydana gelir. Tipik olarak hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin oksidanları

ile reaksiyona girer. Serbest radikaller DNA, protein ve lipidlere etkileşim olasılığına göre moleküler düzeyde zarar verirler ve bazı durumlarda da zincir reaksiyonları başlatırlar. Askorbat elektron transferi ile bu zincir radikal reaksiyonları kesebilirler. Askorbatın oksitlenmiş formu oldukça inaktif olup hücrel hasara neden olmaz. Bununla birlikte, iyi bir elektron verici olarak, serbest metal iyonlarının varlığında aşırı askorbat yalnızca teşvik değil, aynı zamanda serbest radikal reaksiyonları başlatır. Böylece bazı durumlarda tehlikeli bir pro-oksidan olabilir (84).

B. Vitamin E (Tokoferol)

E vitamini, biyolojik membranlarda serbest radikal hasarını önleyen ve yağda çözünen bir antioksidandır. Birçok enzim aktiviteleri ve membran özellikleri üzerinde de etkisi vardır. Damar düz kas hücresi çoğalmasının düzenlenmesinde ve protein kinaz C aktivitesinde etkilidir. Antioksidan olarak vitamin E hücre zarlarını stabilize edilmesine ve oksidana çok duyarlı olan deri, göz, karaciğer, beyin, meme ve testis dokularını korumaya yardımcı olur.

E vitamini içeren kremler veya yağlar cilde tatbik edilmesinin serbest radikallere karşı hücreleri koruduğu, kaşıntıyı azalttığı ve iyileşmeye katkı sağladığına inanılmaktadır. E Vitamini LDL-kolesterolün oksidasyonunu sınırlayarak kalp hastalıklarına karşı korumaya yardımcı olur, özellikle sigara içenlerde lipoproteinlerin oksidasyonunu önlemede rol aynar ve kan trombosit yapışkanlığını azaltır (85). Antioksidan özelliğinden dolayı E vitamini katarakt ve yaşa bağlı gelişen makula dejenerasyonuna karşı korumada yardımcı olabilir. Bu vitamin için ayçiçeği, kanola, mısır, soya fasulyesi ve zeytinyağı gibi bitkisel yağlar ile fındık, ayçiçeği tohumu ve buğday tohumu iyi birer kaynaktır.

C. Vitamin A (β Karoten)

A vitaminin vücutta çeşitli işlevleri vardır. Bilinen en iyi rolü görmedir. Yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten karaciğerde A vitaminine dönüştürülür. Bir antioksidan olarak β -karoten retinolden daha etkili hareket potansiyeline sahiptir. Karotenoidlerin, serbest radikal-kaynaklı lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Ayrıca singlet oksijenin en etkili söndürücülerinden biri olan A vitaminin ön maddesi β -karoten, araşidonik asit oksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. β -karoten linoleata doğru lipoksijenaz aktivitesini azaltır.

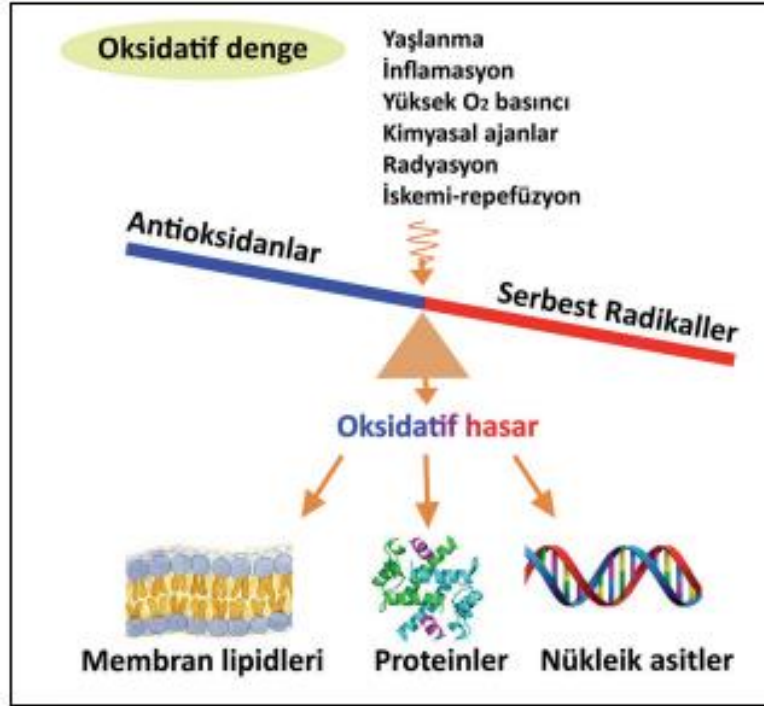
D.Melatonin (MLT)

Melatonin beyinde pineal gland tarafından salgılanan bir hormon olup, diğer hormonların düzenlenmesine yardımcı olur ve vücudun sirkadiyen ritmini korur. Karanlık üretimini uyarırken, ışık ise aktifliğini ve üretimini bastırır. Melatonin güçlü bir serbest radikal süpürücü ve dolaylı bir antioksidandır. MLT, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen, nitrik oksit ve peroksinitrit anyonu gibi çeşitli reaktif oksijen ve nitrojen radikallerini ortadan kaldırır. İn vivo koşullarda hücreyi oksidatif hasara karşı korumada aynı dozdaki melatonin vitamin C ve E den çok daha etkili olduğu bulunmuştur (86). Melatoninin lipofilik bir özellikte olduğundan bütün organellere ve hücrenin çekirdeğine ulaşabilmekle birlikte kan-beyin bariyerini de kolayca geçebilir. Bundan dolayı antioksidant aktivitesini çok geniş bir dağılımında göstermektedir.

Enzim olmayan diğer antioksidanlar: Seruloplazmin, Albümin, Ürik Asit, Bilirubin, Glutasyon (GSH), Transferrin ve Laktoferrin, Ferritin, Sistein gibi maddelerdir.

3.2.7. Oksidatif Stres ve Oksidatif Stresin Hücresel Yapılar Üzerine Etkileri

Potansiyel biyolojik hasara neden olan serbest radikallerin zararlı etkisi oksidatif stres olarak adlandırılır. Biyolojik sistemde bu durum hem ROS/ RNS 'nin aşırı üretimi veya artışı sonucunda hem de enzimatik ve non- enzimatik antioksidanların eksikliğinde ortaya çıkar. Yani serbest radikaller ile onları ortadan kaldıran ve kontrol altında tutan antioksidanların arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulmasıyla “oksidatif stres” denilen durum meydana gelir. Bu dengenin bozulması ile serbest radikallerde meydana gelen artış hücre zarlarında zedelenme, hücre içi proteinlerin fonksiyon ve yapılarında bozulma ve DNA’da hasar oluşturarak hücre zedelenmesine neden olur. Kanseri, ışınlanma hasarı, elektromanyetik alan, antimikrobiyal savunma, foto- biyolojik etkiler ve yaşlanma gibi çeşitli biyolojik olaylarda serbest radikaller önemli bir yer tutmaktadır (87).



Şekil 26: Oksidatif Denge (88)

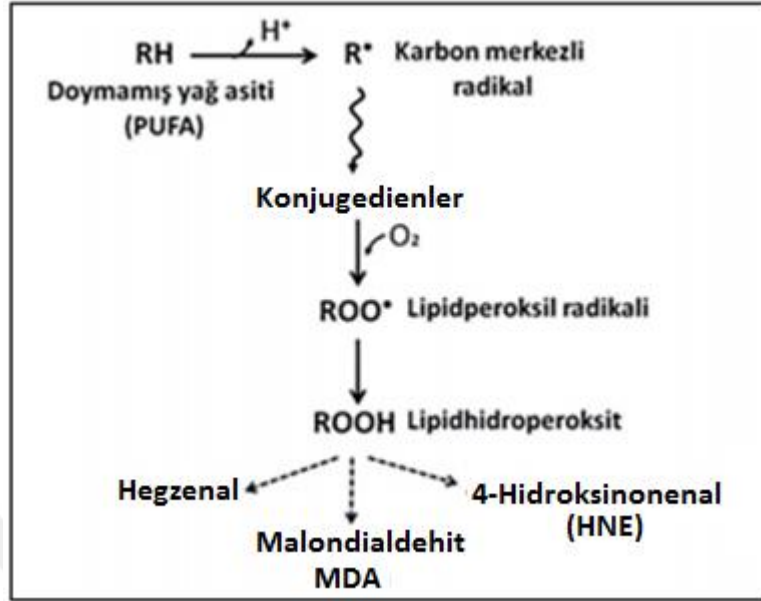
3.2.7.1. Oksidatif stresin lipid yapılar üzerine etkisi

Serbest radikaller canlıların hücre ve organel zarlarında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri ve kolesterol ile reaksiyona girip peroksidasyon ürünleri oluştururlar bu olaya lipid peroksidasyonu (LPO) denir. Hidroksil gibi serbest radikaller hücre zarlarında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerine saldırarak metilen gruptan ($-\text{CH}_2-$) bir hidrojen atomunu koparmasıyla kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu başlatır. Sadece bir elektron içeren hidrojen atomunun uzaklaşması sonucu karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir elektron kalır ($-\dot{\text{C}}\text{H}-$) ve bu yağ asidi zinciri karbon merkezli radikal ($\text{L}\cdot$) niteliği kazanır. Ortaya çıkan bu radikaller kararlı hale gelebilmek için ortamdaki O_2 molekülü ile tepkimeye girerek lipid peroksil radikalini ($\text{LOO}\cdot$) oluştururlar.

Oldukça aktif bir radikal olan lipid peroksil radikali ortamdaki yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin meydana gelmesine sebep olurken diğer taraftan da bu reaksiyon sonucu ortaya çıkan hidrojen atomunu alarak lipid hidroperoksitleri (LOOH) oluşturur.

Ortamda demir veya bakır iyonlarının varlığında lipid hidroperoksit (LOOH) lipid alkoksil radikalini ($\text{LO}\cdot$) meydana getirir. Alkoksil radikalinin oluşumuyla birlikte 4-hidroksinonenal (HNE), malondialdehit (MDA), 4-oxo-2-nonenal (ONE), 2-

hidroksialkanal gibi aldehitlerin oluşumu ile sonuçlanan zincir reaksiyonları da meydana gelir.



Şekil 27: Oksidatif stresin neden olduğu lipit peroksidasyon metabolitleri (88)

Oluşan bu zincirleme peroksidasyon reaksiyonları ya radikal yapılı iki ürünün etkileşmesiyle ($R\cdot + R\cdot \rightarrow$ radikal olmayan ürün) ya da zincir kırıcı bir antioksidan eklenmesiyle son bulur. Oksidatif hasarın belirlenmesinde genellikle HNE ve MDA kullanılmaktadır. Biyolojik zarlarda oluşan çok zararlı bir zincir reaksiyon olan lipid peroksidasyonu fosfolipid zar akışkanlığı, iyon transportu ve enzim aktivitesinde bozulma ile zar potansiyelinde azalmaya yol açarak membran yapısı ve hücre bileşenlerine geri dönüşümsüz olarak zarar verip, hücre hasarı, hücre ölümü veya birçok hastalıkla sonuçlanabilir (74, 75, 79, 88)

3.2.7.2. Oksidatif stresin protein yapılar üzerine etkisi

Lipitlere göre proteinler oksidatif stres etkisine karşı duyarlılığı daha düşüktür ve etkilenme dereceleri proteinlerin aminoasit içeriğine bağlı değişmektedir. Özellikle -SH içeren moleküller, doymamış bağlar ile tirozin, triptofan, fenil alanin, histidin, sistein ve metiyonin gibi aminoasitleri içeren proteinler oksidatif strese karşı daha hasastırlar (89). Oksidatif stres etkisiyle özellikle karbon merkezli organik radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Serbest radikallerin saldırısı sonucunda protein yapılarında oluşan aminoasit modifikasyonları, hücre iskeletini meydana getiren proteinlerde ve enzimlerde fonksiyon ve yapısal değişikliklere neden olurlar. Ayrıca

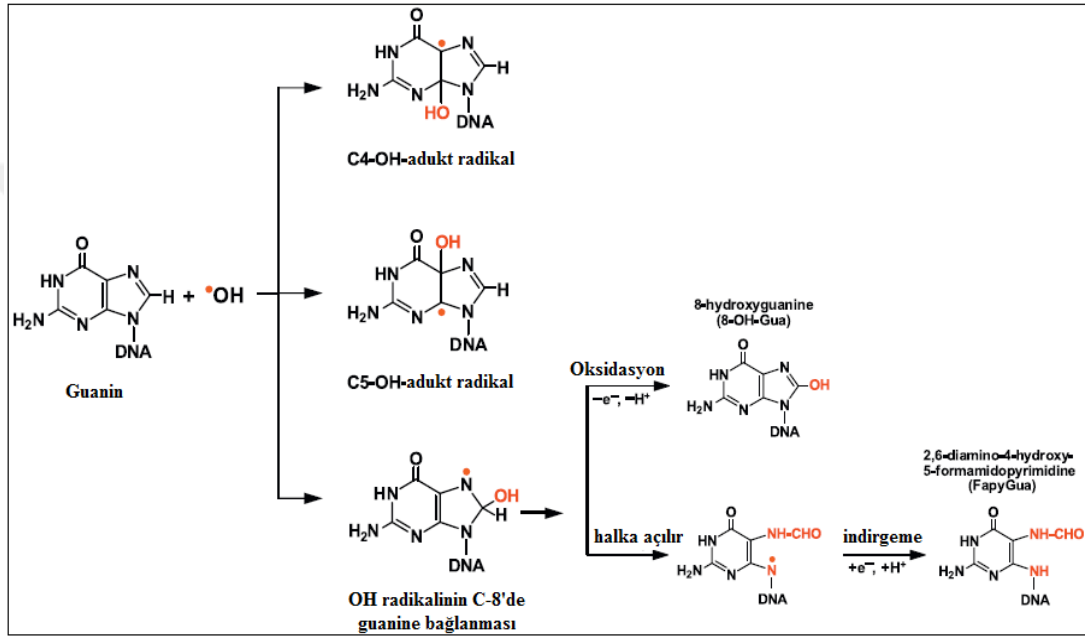
serbest radikaller zar proteinleri ile tepkimeye girerek proteinlerde çapraz bağlanma ve fragmentasyona yol açarak nörotransmitter, enzim ve reseptör proteinlerinin işlevlerini bozabilirler (88).

3.2.7.3. Oksidatif stresin DNA üzerine etkisi

Endojen ve ekzojen kaynaklar canlı organizmada değişik mekanizmalarla oksidatif DNA hasarına yol açarlar. Serbest radikaller özellikle hidroksil radikalli tek ve çift zincir DNA kırıklıkları, baz ve şeker modifikasyonları, DNA- protein çapraz bağlanmaları ve depürinasyon gibi birçok DNA hasarında rol oynadığı gösterilmiştir. Bu hasarlar da mutasyon veya hücre ölümüyle sonuçlanır. İnsan vücudunun her bir hücresinde günde yaklaşık olarak 2×10^4 DNA hasarı meydana geldiği ve bu hasarların önemli bir bölümü ROS'tan kaynaklandığı tahmin edilmektedir (90). Değişikliğe uğramış bazı DNA bazları genomun bütünlüğüne potansiyel zararlı olduğu düşünülmektedir. 8 - hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) bu baz modifikasyonlarından en çok bilinenidir. Hidroksil radikali DNA 'nın tüm bileşenleriyle etkileşime girdiği bilinmektedir ve bu etkileşim sonucunda pürin, pirimidin bazlarında ve deoksiriboz omurgasında hasar meydana gelmektedir. Oksidatif stresin neden olduğu genetik materyalin kalıcı modifikasyonu mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmanın ilk adımıdır. Ayrıca değişik kanserli dokularda serbest radikal aracılı DNA hasarı tespit edilmiştir (91).

Serbest radikaller DNA molekülündeki azotlu bazlara doğrudan etki ederek, bazlarda değişikliklerin meydana gelmesine neden olurlar. DNA'da çok sayıda negatif yüklü fosfat gruplarının bulunmasından dolayı Fe ve Cu geçiş metal iyonları DNA'ya sürekli bağlıdır ve aynı zamanda oksidatif stresin etkisiyle hücre içindeki proteinlerden serbestleşen Fe ve Cu iyonları da DNA'ya bağlanabilmektedir. Fe ve Cu metal iyonlarının DNA'nın deoksiriboz şekerlerine bağlanmaları DNA'yı hidrojen peroksitin (H_2O_2) hedefi haline getirerek Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarının gerçekleşmesi sonucunda yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikalli ($OH\bullet$) meydana gelir. Ayrıca Cu^{+2} iyonları DNA bileşenlerinden en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip ve oksidasyona eğilimli olan guanin sitozince zengin bölgelerine yüksek afinite ile bağlanırlar. Burada guaninin H_2O_2 ile tepkimeye girmesi sonucunda guaninde hasar oluşur (75, 84, 92).

Pürin ve pirimidin bazlarında çeşitli modifikasyonlar oluşturan hidroksil radikali, birçok okside ürünün oluşmasına neden olur. DNA oksidasyon ürünleri içerisinde en çok oluşan ve en mutajenik olan 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)'dir. Bu ürün hidroksil radikallerinin etkisi ile guaninin 8. pozisyonunda (C-8) hidroksillenmesi ile değişikliğe uğrayan DNA'nın oksidatif hasarı sonucu oluşur (Şekil 26). Oksidatif DNA hasarının belirlenmesinde genellikle 8-OHdG kullanılır (84, 88, 92,93).



Şekil 28: Hidroksilin guanin ile reaksiyonu ve 8-OHdG ile fapy guanin oluşması (93)

Hidroksilin bu modifikasyonu, yapısal değişimlerle birlikte DNA molekülünü meydana getiren azotlu bazların yanlış eşlenmesine ve mutasyonların görülmesine yol açar. ROS dolaylı olarak da hücre içi sıvıda serbest Ca^{+2} iyon konsantrasyonunda büyük bir artışa neden olup nükleustaki Ca bağımlı endonükleazı aktive edebilmekte ve DNA yıkımlarına yol açıp, hücre iskeletini bozabilmektedir (75,84).

3. 3. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 3. 1. GEREÇ

3. 3. 1. 1. Kullanılan Maddeler

- Ketalar ® Flakon (pfizer, 500 mg Enjektabl Flakon, Türkiye)
- Xylazınbio ® Flakon (Bioveta, 50 ml, Çek Cumhuriyeti)
- MDA ELISA kiti (Eastbiopharm, Katalog no: CK-E10376)
- 8-OHDG ELISA kiti (Eastbiopharm, Katalog no: CK-E11652)
- Total antioksidan kapasite (TAS) kiti (Rel Assay, Turkey, Katalog No: RL0017)
- Total oksidan kapasite (TOS) kiti (Rel Assay, Turkey, Katalog No: RL0024)
- Sodium chloride (Sigma)
- Potassium phosphate monobasic, KH₂PO₄ (Sigma)
- Sodium Phosphate dibasic, Na₂HPO₄; (Sigma)
- Agarose, Low melting point (Sigma)
- Ethylenediaminetetraacetic acid tetrasodium salt dehydrate (EDTA) (Sigma)
- Triton™ X-100 (Sigma)
- Agarose-1000 (Sigma)
- Sodium Hydroxide, NaOH; (Sigma)
- Trizma base (Sigma)
- Boric Acid (Sigma)
- Dimethyl Sulfoxide, DMSO; (Sigma)
- Hydrogen Peroxide (30%); (Sigma)
- Ethidium bromide (Sigma)

3. 3. 1. 2. Kullanılan Alet ve Malzemeler

- GSM sinyal Jeneratörleri (900, 1800, 2100MHz Everest Comp., Adapazarı, Türkiye)
- Steril Kırmızı Kapaklı Jelli Tüp (BD Vacutainer 7.0 ml, UK)
- Santrifüj (NF 1200 R Nüve, Türkiye)
- Analizör (Abbott Architect® c16000, USA)
- Tek Kullanımlık Steril Enjektör (Berika 5 ml)
- Distile su cihazı (Nüve Water Distiller-ND112)
- Hassas Terazi (Sartorius AZ212 Portable Digital Scale, Birleşik Krallık)

- Vorteks (BioCote Voortex Mixer SA8, bibby scientific, UK)
- Orbital karıştırıcı (Biosan, OS-20, EU)
- Steril Ameliyat Seti
- Cerrahi El Aletleri
- Güç Yoğunluğu ve Elektrik Alan Ölçer (Narda EMR 300, Germany)
- Etüv (Nüve Cooled Incubator, ES120)
- Manyetik karıştırıcı (Stuart heat stir, CB162, bibby scientific, UK)
- -80°C derin dondurucu (New Brunswick Scientific, C54285 model)
- -20°C derin dondurucu (Uğur)
- ELISA okuyucusu (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA)
- ELISA yıkayıcısı (Thermo Scientific WellWash microplate washer, 2011-08, USA)
- Pipet (1000, 500, 200,100,10 uL'lik; Gilson)
- 8'li multipipet
- Pipet uçları (1000, 200,100,10 uL'lik)

3. 3. 2. YÖNTEM

3. 3. 2. 1. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Bu araştırma Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkez'inde (DÜSAM) yürütüldü. Çalışma 1 Nisan 2016 – 1 Ekim 2016 tarihleri arasında sürdürüldü.

3. 3. 2. 2. Araştırmanın Tipi

Orijinal ve deneysel tipte olan doktora tez araştırmasıdır.

3. 3. 2. 3. Hayvanların Gruplandırılması

Ratlar üzerinde sürdürülen tüm deney protokolleri Dicle Üniversitesi, Prof.Dr. Sabahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu (DÜHADEK) tarafından belirlenen standartlara uygun olarak yapıldı. Ortalama ağırlığı 282,42±16,18 gr ve 3-4 aylık olan Sprague Dawley erkek 28 rat bir haftalık uyum sürecinin ardından rastgele 4 eşit gruba (n:7) ayrıldı. Gruplar sırasıyla;

1. Grup 6 ay sham-kontrol (n=7)
2. Grup 6 ay 900 MHz RF uygulaması, günde 2saat ve haftada 7 gün (n=7)

3. Grup 6 ay 1800MHz RF uygulaması, günde 2saat ve haftada 7 gün (n=7)
4. Grup 6 ay 2100 MHz RF uygulaması, günde 2saat ve haftada 7 gün (n=7)

Deney grubu ratlara günde 2 saat 6 ay boyunca (II.gruba:900 MHz, III. gruba: 1800 MHz, IV. gruba:2100 MHz frekanslı) RF generatörlerinden elde edilen RF radyasyonu, ışınal tarzda özel olarak dizayn edilmiş pleksiglass malzemeden yapılmış deney düzeneği kullanılarak antenler aracılığı ile uygulandı. Uygulamalar her gün aynı saat'te ve normal oda sıcaklığında yapılarak, sham-kontrol grubu ratlara RF uygulamasının dışında aynı deney prosedürü uygulandı (Resim 1-3). Hayvanlar 12 saat gündüz 12 saat gece periyotlu, 21-23 °C oda sıcaklığı ve % 45-55 nispi nem şartlarında laboratuvar ortamında tutuldu, beslenmede normal musluk suyu ve pellet yem ad libitum olarak verildi.



Resim 1: RF sinyal Jeneratörleri ve Deney Düzeneği



Resim 2: Sham- kontrol grubu ratlar



Resim 3: 900MHz, 1800MHz ve 2100MHz uygulama grupları

3.3.2.4. Kan örnekleri

Çalışmaya alınan tüm ratlar deney sonunda her bir rat için 1ml (0.1 cc ksilazin + 0.9 cc ketamin) anestezi madde enjekte edilip ratlar uyutulduktan sonra kan alımı için hayvanlar sabitleştirildi ve göğüs kafesi açılarak intrakardiyak olarak kanları 5 cc lik tek kullanımlık steril enjektörlerle alınarak steril kırmızı kapaklı jelli tüplere (BD Vacutainer 7.0 ml, UK) bırakıldı (Resim 4-5). Alınan kanlar kısa süre içerisinde (yaklaşık yarım saat) 5000 rpm santrifüj cihazı (Heraeus® Labofuge® 200 c, USA) ile 5 dakika santrifüj edildikten 10-15 dk sonra serumları alındı. Alınan serum örnekleri plastik kapaklı ependorf tüplere aktararak analiz gününe kadar -20 °C de saklandı. Saklanan serum örneklerinin NO değerlerine bakıldı.



Resim 4: Kullanılan anestezi maddeleri



Resim 5: Anestezi altında ratlardan intrakardiyak kan alımı

3.3.2.5. Dokuların Alınması ve Takip İşlemleri

Her sıçandan intrakardiyak kan alımından hemen sonra hızlı bir şekilde beyin dokusu alınmasına geçildi. Alınan beyin doku örnekleri hazırladığımız kutulara aktarılıp hemen buz içine konularak -80 °C deki soğutucuya taşındı ve analiz gününe kadar -80 °C de saklandı (Resim 6). Daha sonra beyin dokularındaki DNA hasarı Comet assay tekniği kullanılarak saptanmaya çalışıldı. Ayrıca beyin dokusunda MDA, 8OHdG, TAS, TOS ve OSİ analizleri gerçekleştirildi.



Resim 6: Dokular alınıp saklanırken yapılan işlemler dizgesi

3.3.2.6. Laboratuvar ölçümleri

3.3.2.6.1. Total antioksidan seviye (TAS) ölçümü:

Serbest radikaller ile onları ortadan kaldıran ve kontrol altında tutan antioksidanların arasındaki dengenin radyasyon, yaşlanma, kimyasal maddeler, ilaçlar ve sigara gibi nedenlerden dolayı oksidanlar lehine bozulmasıyla “oksidatif stres” denilen durum meydana gelir. Bu dengenin bozulması ile serbest radikallerde meydana gelen artış antioksidan savunma sistemini de etkileyerek çalışmalarını yavaşlatması veya pasif duruma getirmesi sonucunda hücre zarlarında zedelenme, hücre içi proteinlerin fonksiyon ve yapılarında bozulma, hücrelerin lipit, karbonhidrat, protein ve DNA’larında hasar oluşturarak hücre zedelenmesine neden olabilirler.

TAS ölçümü; Erel Ö. (94) tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan seviyesini ölçen bir metoddur.

Prensip: Fe^{2+} -o-dianisidin kompleksinin standartlaştırılmış bir çözeltisi, standartlaştırılmış hidrojen peroksit çözeltisi ile Fenton tipi reaksiyona girerek OH radikalini meydana getirir. Bu güçlü ROS renksiz o-dianisidin moleküllerini düşük pH’da sarı-kahverengi renkli dianisidil radikallerine okside eder. Dianisidil radikalleri arasında ileri oksidasyon reaksiyonları gelişmekte ve renk oluşumu artırmaktadır. Numunedeki antioksidanlar oksidasyon reaksiyonlarını ve renk oluşumunu baskılamaktadır. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç alınmaktadır. Sonuçlar mikromolar troloks Eqv./litre olarak verilir (94). Total antioksidan kapasite ölçümü, TAS kiti (Rel Assay, Turkey, Katalog No: RL0017) kullanılarak yapıldı ve değerleri plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) 660 nm dalga boylarında okundu.

1. Çalışma zamanında, daha önce -80 °C’de saklanan doku örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Standart ve örneklerden 6 µl alınarak, mikropiğa eklendi.
3. Ardından, üzerlerine 100 µl R1 reaktifi ilave edildikten sonra 660 nm’de ilk absorbans ölçümü (Thermo Scientific Multiscan FC, 2011-06,USA) yapıldı.
4. Tüm kuyucuklara 15 µl R2 reaktifi eklendi ve mikropiğak 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyonun ardından 660 nm’de ikinci absorbans ölçümü alındı.
6. Hesaplama: Sonuçlar aşağıdaki formül doğrultusunda hesaplandı.

$$TAS = (\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ örnek}) / (\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ Std2})$$

$\Delta Abs \text{ Std1}$: (standart1’in ikinci absorbansı- standart 1’n ilk absorbansı)

$\Delta Abs \text{ Std2}$: (standart 2’in ikinci absorbansı- standart 2’n ilk absorbansı)

$\Delta Abs \text{ örnek}$: (örneğin ikinci absorbansı- örneğin ilk absorbansı)

3.3.2.6.2. Total oksidan seviye ölçümü (TOS)

Plazmada bulunan oksidan moleküllerinin konsantrasyonunu ayrı ayrı ölçmek mümkündür fakat bu moleküllerin birbirlerini etkileyebilmeleri veya ortak etki gösterebilmeleriyle birlikte uzun zaman alması, pahalıya mal olması ve karmaşık teknikler gerektirmesinden dolayı oksidan molekülleri değerlendirirken tek tek ölçmek pratik olmamaktadır. Bundan dolayı genel oksidan durumu gösteren Total Oksidan Kapasitesinin (TOS) ölçümü geliştirilmiştir. Oksidatif stresin belirlenmesinde ise TOS değerinin TAS değerine bölünmesiyle bulunan bir index olan Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) yaygın olarak kullanılır. TOS, Erel Ö. (95) tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

Prensip: Numunede bulunan oksidanlar, ferröz (Fe^{2+}) iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyona oksitlerler. Reaksiyon ortamında bolca bulunan gliserol molekülleri oksidasyon reaksiyonlarını hızlandırır. Asidik ortamda ferrik iyonlar ksilenol oranj ile renkli bir kompleks meydana getirirler. Spektrofotometrik olarak ölçülen renk yoğunluğu, numunede bulunan oksidan moleküllerinin toplam miktarı ile doğru orantılıdır. Analiz hidrojen peroksitle kalibre edilir ve sonuçlar, litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri cinsinden ifade edilir ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./Litre}$).

Total oksidan kapasite ölçümü, TOS kiti (Rel Assay, Turkey, Katalog No: RL0024) kullanılarak yapıldı ve plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) 530 nm dalga boylarında okundu.

1. Çalışma zamanında, daha önce -80 °C’de saklanan doku örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Standart ve örneklerden 15 µl alınarak, mikropiğa eklendi.
3. Ardından, üzerlerine 100 µl R1 reaktifi ilave edildikten sonra 530 nm’de ilk absorbands ölçümü (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06,USA) yapıldı.
4. Tüm kuyucuklara 5 µl R2 reaktifi eklendi ve mikropiğak 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyonun ardından 530 nm’de ikinci absorbands ölçümü alındı.
6. Hesaplama: Sonuçlar aşağıdaki formül doğrultusunda hesaplandı.

$$TOS = (\Delta Abs \text{ Örnek} / \Delta Abs \text{ standart2}) \times 20 \text{ (standart 2; } 20 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L)}$$

3.3.2.6.3. Oksidatif stress indeksi (OSI) ölçümü:

TAS ve TOS değerleri belirlendikten sonra, sonuçlar aşağıdaki formül doğrultusunda hesaplandı.

$$OSI = [TOS (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}) / TAS (\mu\text{mol troloks Equiv./L}) \times 100]$$

3.3.2.6.4. Malondialdehit (MDA) Ölçümü

Bir organizmadaki oksidatif stres seviyesini ölçmek için biyolojik belirteçlerden biri de malondialdehit (MDA) 'dir. MDA, canlı hücrelerde toksik strese neden olan birçok önemli parametreden biridir. MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan büyük zincir reaksiyonların parçalanma ürünü olduğundan dokularda oksidatif stres aracılı lipit peroksidasyonunun güvenilir bir markeri olarak görev yapmaktadır. Bununla birlikte, MDA doğal olarak oluşan lipid peroksidasyonu ve prostaglandin biyosentezinin bir ürünüdür ve bir takım kanser patogenezinde rol oynar. MDA ölçümünde, ticari MDA ELİSA kiti (Eastbiopharm, Katalog no: CK-E10376) kullanıldı ve değerler ELISA yöntemi ile plak okuyucusunda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu.

Test Protokolü:

1. Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi.

2. 6 adet standart; kitin içersinden çıkan 64 nmol/ml lik stok standartın seri dilüsyonu ile elde edildi.
3. Antikor ile kaplı mikrolak kuyucuklarına hazırlanan standartlardan 50 ‘şer µl eklendi. Ardından standartların üzerlerine 50 µl Streptavidin-HRP konuldu.
4. Standartlar mikrolağa pipetlendikten sonra sırasıyla serum ve doku homojenat örnekleri, her bir kuyucuğa 40 µl olacak şekilde pipetlendi.
5. Örneklerin üzerlerine sırasıyla 10 µl mda-antibody ve 40 µl Streptavidin-HRP konuldu.
6. Mikrolağın üzeri kapatılarak 37 C° de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
7. Kit içerisinde bulunan 30X lik yıkama solusyonu hazırlandıktan sonra, ELISA plate yıkayıcıda 350 µl de 4 kez yıkandı.
8. Tüm kuyucuklara sırasıyla 50 ‘şer µl Chromogen Solution A ve Chromogen Solution B pipetlendi.
9. 10 dakika 37 C° de ışık almayacak şekilde inkübasyona bırakıldı.
10. Tüm kuyucuklara 50 µl Stop Solusyon eklendi.
11. Mikrolak 10 dakika içerisinde 450 nm absorbandsa plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu.

3.3.2.6.5. 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) Ölçümü

8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG): Oksidatif stres ve karsinogenezin kritik bir biyolojik belirteçi olup, DNA oksidasyonun en önemli ürünlerinden biridir. 8-OHdG ölçümü, ticari 8-OHdG ELİSA kiti (Eastbiopharm, Katalog no: CK- E11652) kullanılarak yapıldı ve değerleri ELISA yöntemi ile plak okuyucusunda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu.

Test Protokolü

1. Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi.
2. 6 adet standart; kitin içersinden çıkan 128 ng/ml lik stok standartın seri dilüsyonu ile elde edildi.
3. Antikor ile kaplı mikrolak kuyucuklarına hazırlanan standartlardan 50 ‘şer µl eklendi. Ardından standartların üzerlerine 50 µl Streptavidin-HRP konuldu.
4. Standartlar mikrolağa pipetlendikten sonra sırasıyla serum ve doku homojenat örnekleri, her bir kuyucuğa 40 µl olacak şekilde pipetlendi.

5. Örneklerin üzerlerine sırasıyla 10 µl 8ohdg -Antibody ve 40 µl Streptavidin-HRP konuldu.
6. Mikroplağın üzeri kapatılarak 37 C° de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
7. Kit içerisinde bulunan 30X lik yıkama solusyonu hazırlandıktan sonra, ELISA plate yıkayıcıda 350 µl de 4 kez yıkandı.
8. Tüm kuyucuklara sırasıyla 50 'ser µl Chromogen Solution A ve Chromogen Solution B pipetlendi.
9. 10 dakika 37 C° de ışık almayacak şekilde inkübasyona bırakıldı.
10. Tüm kuyucuklara 50 µl Stop Solusyon eklendi.
11. Mikroplak 10 dakika içerisinde 450 nm absorbansda plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu.

Hesaplama: Standartların absorbansı belirlenerek x ekseninde absorbans, y ekseninde konsantrasyon olacak şekilde line-line grafikler elde edilip sonuçlar nmol/ml ve ng/ml şeklinde ifade edildi.

3.3.2.6.6. Serum Total Nitrit Düzey Ölçümü

Serum total nitrit düzeyleri nitrik oksit' in bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. NO'nun doğrudan ölçümü çok zor olduğu için metabolitlerinin düzeyi kullanılmakta, miktarı hakkında bilgi edinmek amacıyla dolaylı yöntemler tercih edilmektedir. Bu çalışmada serum total nitrit düzeyi, Cortas ve Wakid yöntemine göre ölçüldü (96).

Gerekli Maddeler ve Reaktifler:

1. Çalışmaya başlamadan önce örnekler oda ısısına getirildi.
2. Kadmiyum Granülleri: Fluka firmasından alınan kadmiyum, 20-40 mg lık parçalara ayrıldı ve 0.1 mol/L H₂SO₄ içinde saklandı.
3. Glisin-NaOH Tampon Çözeltisi: Sigma'dan temin edilen glisinden 15 g.'ı deiyonize distile suda çözüldü ve pH sı 2 mol/L NaOH ile 9,7'ye ayarlandıktan sonra deiyonize-distile suyla final hacim 1 L ye tamamlandı.
4. Sülfanilamid Çözeltisi: 5 g süfanilamid 500 mL 3 mol/L sıcak H₂SO₄ içinde çözüldükten sonra soğutuldu
5. N-Naphthylethylen diamin Çözeltisi: 50 mg N-Naphthylethylen diamin 250 mL distile suda çözülür.

6. Deneyin Yapılışı: 0.5 mL serum 2 mL ZnSO₄ ve 2.5 mL 55 mmol/L NaOH eklenip, oda ısısında bekletildikten sonra 4.000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Herbir tüpe 1 mL glisin tamponu, 1 mL deproteinize örnek ve 2 mL distile su ve 2.5 g aktif kadmiyum eklendikten sonra inkübasyona bırakıldı. Daha sonra sıvı fazdan 2 mL alındı ve üzerine 0.5 mL su, 0.5 mL N-Naphthylethylen diamin çözeltisi ve 0.5 mL süfanilamid çözeltisi eklendi ve karanlıkta bekletildi. 545 nm dalga boyunda köre karşı optik absorbansları belirlendi. Sonuçlar mol/L cinsinden hesaplandı ve değerlendirildi.

3.3.2.6.7. Komet Assay Analizi (Tek Hücre Jel Elektroforez Yöntemi):

Tek hücre jel elektroforez yöntemi olarak da bilinen komet assay analiz yöntemi, tek hücre seviyesinde DNA hasarını tespit etmek için kullanılan hızlı, duyarlı ve nispeten basit bir yöntemdir. Metodun alkali versiyonu DNA'nın tek sarmal yapıda olan hasarlarını ölçmek için kullanılmaktadır (97,148). Comet assay yönteminin nötral koşullar altında kullanılması durumunda DNA çift zincir kırıkları da gözlenebilir (98,99). Çalışmamızda da alkali versiyonu kullanılmıştır. Komet parametrelerinden son yıllarda daha net sonuçlar vermesinden dolayı çok kullanılan Tail intensity (TI, komet kuyruğundaki % DNA) ve Tail moment (kuyruk momenti) değişkenleri incelendi. Kuyruk momenti (TM); Kuyruk çapı/ baş çapı veya kuyruktaki % DNA x kuyruk uzunluğu şeklinde ifade edilir.

Prensip: Hücreler ince bir agaroz jel içinde bir mikroskop lamı üzerine yerleştirilir. Tüm hücresel proteinleri uzaklaştırmak için parçalanır (lisis) ve DNA'nın alkalın koşullar altında çözülmesine izin verilir. Çözülmeden sonra, DNA elektroforeze tabii tutulur ve elektroforez sırasında kırık DNA parçaları (hasar gören DNA) oluşmuşsa hasar seviyesine göre farklı elektrik yüklerine (kırık DNA iplikçikleri negatif yüklü) ve farklı molekül ağırlıklarına sahip olacaklarından dolayı, elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk (komet) şeklinde bir görüntü meydana getirirler. DNA hasarı, kometin başından ayrılan DNA'nın miktarıyla doğru orantılıdır. Elektroforezden sonra DNA molekülleri, ethidium bromid gibi DNA spesifik boyalarla boyanıp floresan mikroskop altında incelendiğinde hasarın derecesine göre DNA'lar dairesel şekilden kuyruklu yıldıza benzer şekle kadar çeşitli derecelerde görüntüler oluştururlar (97). Bu görüntüler floresan mikroskop altında değerlendirilir.

DNA hasarı analizi için örneklerden lenfosit seperasyonu yapıldı.

Lenfosit seperasyonu:

- Cam biyokimya tüpene 1 ml histopaque konuldu. Üzerine 1 ml numune pipetlendi
- Cam tüp, 2100 rpm de 25 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj işleminden sonra tüpte oluşan bulut tabaka pipet vasıtasıyla alındı ve 1,5 ml'lik ependorfa konuldu. Tüm yüzeyi kaplayacak kadar PBS (Phosphate Buffer Saline) pipetlendi.
- Ependorf, 1600 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
- Üst kısım dökülerek dip kısımdaki lenfositler elde edildi.

Çalışmada kullanılmak üzere aşağıdaki solüsyonlar hazırlandı:

Lizis Tamponu (pH:10) : - 146,1 gr NaCl₂
- 1,2 gr Trisma Base
- 37,2 gr EDTA
- %1 Triton-X

Elektroforez Tamponu(pH:13): - 12 gr NaOH (0,3 M)
- 0,372 g EDTA (triplex) (E2) (1 mM)

Low Melting Agar: - %0,6 lık low melting agar
- PBS

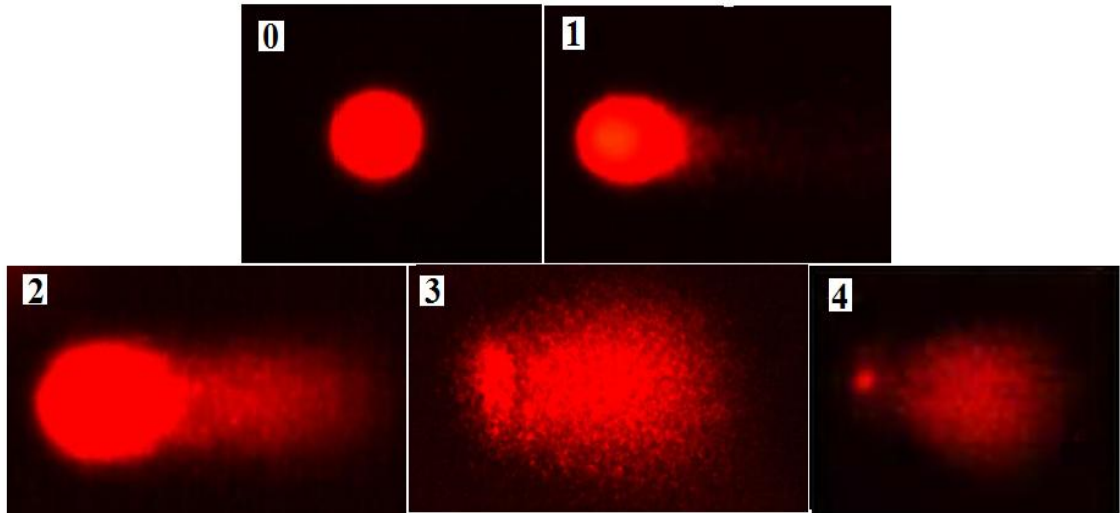
Normal Melting Agar: - %1 lik agar
- PBS

DNA Hasarı Protokolü

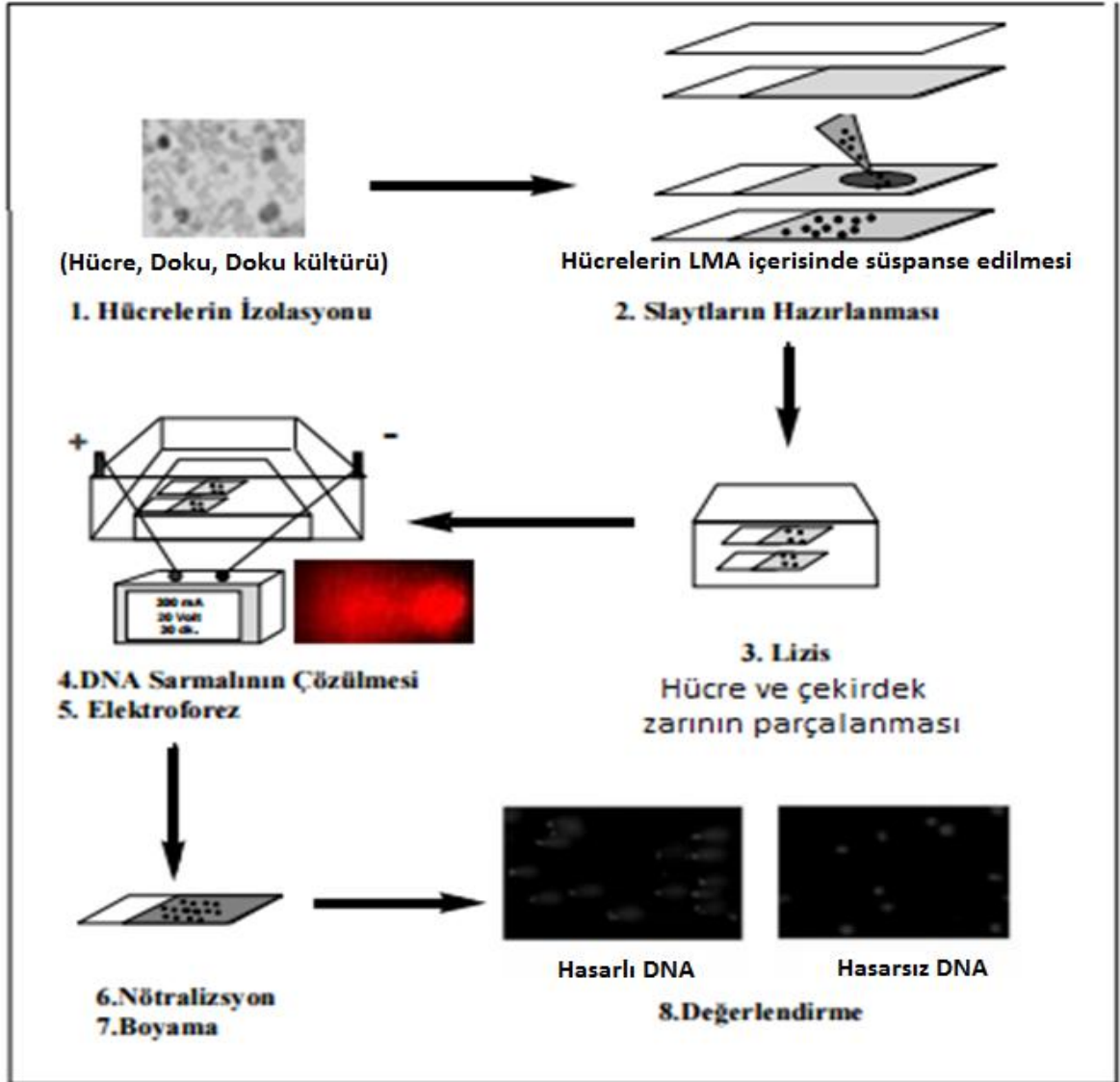
- Çalışma boyunca tüm örneklerden lenfositler elde edildi.
- Çalışmaya başlamadan önce ependorf hafifçe karıştırıcı vasıtasıyla karıştırıldı. Çalışmaya, dipteki lenfositlerden 10 µl olacak kadar dâhil edildi.
- Hazırladığımız normal melting agarın içerisine temiz ve kullanılmamış lamalar daldırılıp çıkarıldı ve kurumaya bırakıldı.

- Lamlar kuruduktan sonra, low melting agarımız ile lenfosit örneklerimizi karıştırıp (10 µl örnek+ 85 µl agar) lamların üzerine yükleyip lamel ile kapattıldı.
- Lamlar daha sonra 5 dakika +4 C°'de bekletildi.
- Lamların üzerindeki lameller yavaşça çıkarıldı. Tüm lamlar şalelerin içinde lizis tamponunda + 4 C°' de 50 dakika bekletildi.
- Lizis işlemi bittikten sonra tüm lamlar 3 defa PBS (pH: 7.4) ile yıkandı.
- Yıkadığımız lamları elektroforez tankına yerleştirip içine 1 lt hazırladığımız elektroforez tamponunu koyduk ve 40 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 40 dakikanın bitiminde 18 dakika 25 V ve 300 mA'de jeller yürütüldü.
- Elektroforez işlemi bittikten sonra lamlar 2 kez PBS ve 1 kez distile su ile yıkandı.
- Lamların üzerlerine 15' er Etidyum Bromid (2 mg/ml) ekleyip lamel ile kapatıp floresan mikroskopta (Leica DM 1000 Led, Germany) incelendi. İnceleme işlemi karanlıkta yapıldı.
- Skorlama, Comet Assay IV yazılım programı vasıtasıyla değerlendirildi.

DNA'da meydana gelen hasar durumunu saptamak için kullanılan tail intensity ve tail moment değerleri her bir örnekte 100 hücre DNA'sı incelenerek analiz edildi.



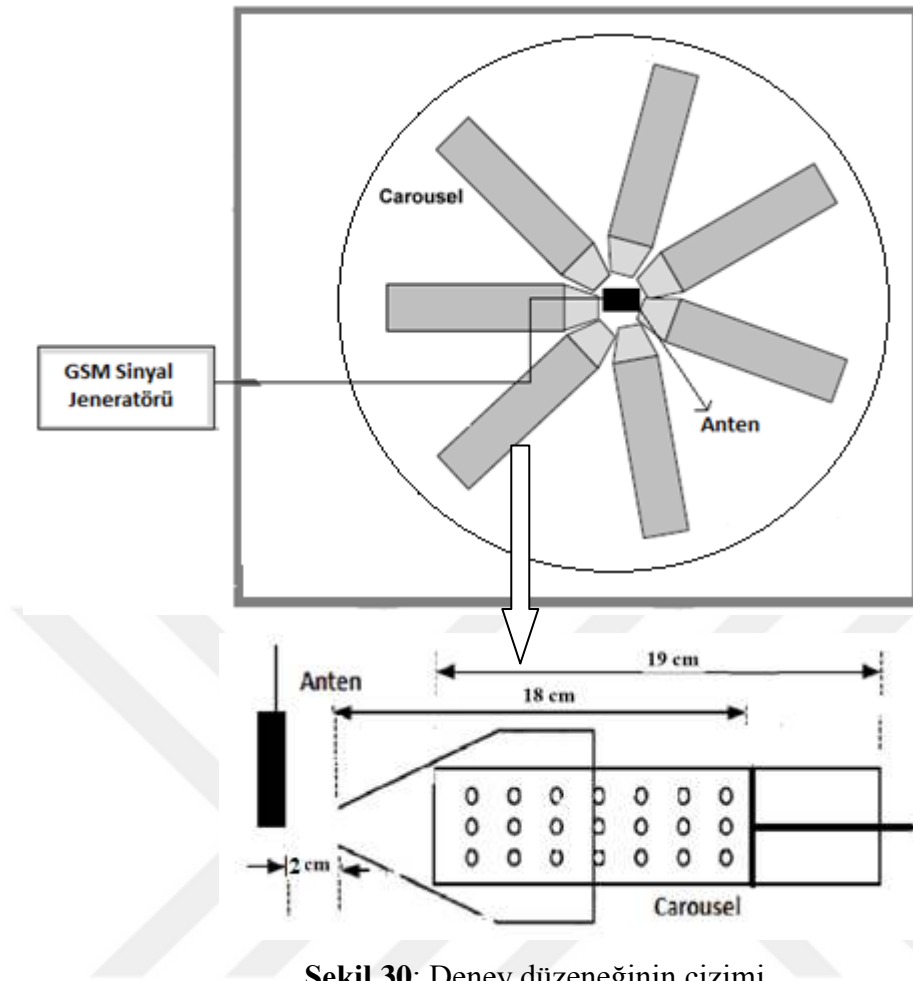
Resim 7: DNA'ların hasar derecesine göre gruplandırılması



Şekil 29: Komet Analiz Yönteminin Genel Aşamaları (101)

3.3.2.7. Deney Dizaynı

Çalışmada RF uygulaması için 900MHz, 1800MHz ve 2100MHz cep telefonlarıyla eş değer RF dalga formu yayan 3 adet sinyal jeneratörü (900, 1800 ve 2100PM10 tipi Evererest com., Adapazarı, Türkiye) kullanıldı. Jeneratörlerden yayılan güç maruziyet boyunca sabitleştirildi. RF uygulaması sırasında ratlar pleksiglas kafesler içinde sınırlandırıldı ve jeneratör açık konuma getirildi. Deney düzeneği şekil-28' de görülmektedir.



Şekil 30: Deney düzeneğinin çizimi

Deney düzeneği ışınal tarzda özel olarak dizayn edilmiş pleksiglas malzemeden yapılmıştır. İdeal maruziyet koşulları oluşturmak için jeneratör anteni pleksiglas carouselin merkezine yerleştirildi ve bu antenler aracılığı ile RF radyasyonu uygulandı.

3.3.2.8. Güç Yoğunluğu ve Elektrik Alan Ölçümü

Radyo frekans radyasyon ölçümleri EMR 300 (NARDA, Pfullingen, Almanya) ölçüm cihazı ile gerçekleştirildi. Bu cihaz çok fonksiyonlu olup güç yoğunluğu (mW/cm^2) elektrik alanı ise (V/m) olarak maksimum ile ortalama değerleri şeklinde verebilmektedir. Bu cihaz 1500 ölçümü hafızada tutabilmekle birlikte çok hasas olup 100KHz – 3 GHz arasındaki frekanslarda 0,6 – 800V/m elektrik alan ile 0,0001- 170 mW/cm^2 aralığında ölçüm yapabilmektedir. Aynı zamanda Avrupa standartlarına uygun bir alettir. Güç yoğunluğu ve elektrik alanlar ayrı ayrı ölçülerek ortalamaları ($\text{ortalama} \pm \text{SD}$) hesaplandı. Deney gruplarında bulunan her rat için ölçümler

uygulama sırasında eşit mesafede alındı. Bu ölçümler alınırken, ICNIRP'nin belirlemiş olduğu 6 dakikalık ölçüm yöntemi referans alınmıştır (Resim 8).



Resim 8: NARDA EMR 300 cihazı ile ölçüm alınması

3.3.2.9. Araştırmanın Bütçesi

Araştırma bütçesi için Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje koordinatörlüğüne proje oluşturulup başvuruldu ve destek alındı.

3.3.2.10. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırma verilerin istatistiksel analizinde SAS (Statistical Analysis System) 9.4.1 istatistiksel yazılım programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığını anlamak için Kolmogorov Smirnov Testi yapıldı ve verilerin normal dağılıma uyduğu saptandı. Gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemek için bir yönlü varyans analizi (one way ANOVA) uygulandı. Varyans analizi sonucunda, değişkenler bakımından hangi grupların birbirinden farklı olduğunu saptamak için Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama± standart sapma olarak verildi ve $p<0.05$ 'ten küçük değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.4. BULGULAR

3.4.1. Güç Yoğunluğu ve Elektrik Alan Ölçüm Bulguları

Radyo frekans radyasyon ölçümleri EMR 300 (NARDA, Pfullingen, Almanya) ölçüm cihazı ile 6 dakikalık ölçümler şeklinde alındı. Ölçüm bulgularının aritmetik ortalaması ve standart sapması (S.D.) Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: Ölçülen güç yoğunluğu değerleri

RF Frekanslar	Ortalama $\pm$ S.D. (mW/cm ²)	Min (mW/cm ²)	Max (mW/cm ²)
900MHz	0,1841 $\pm$ 0,078	0,080	0,310
1800MHz	0,2392 $\pm$ 0,046	0,183	0,292
2100MHz	0,1160 $\pm$ 0,042	0,074	0,200

Tablo 2: Ölçülen elektrik alan değerleri

RF Frekanslar	Ortalama $\pm$ S.D. (V/m)	Min (V/m)	Max (V/m)
900MHz	26,42 $\pm$ 6,00	19,65	34,49
1800MHz	30,04 $\pm$ 2,88	26,26	33,25
2100MHz	20,95 $\pm$ 4,97	16,85	31,45

3.4.2. Komet Assay Bulguları

Çalışma sonunda deney gruplarındaki ratların beyin dokusunda farklı radyo frekans radyasyonun yol açacağı DNA hasar düzeyini gösteren komet parametrelerinden tail moment ve tail intensity (%) sham-kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırılarak incelendi. Her bir numune başına 100 adet hücre sayılarak analizler yapıldı.

Gruplar tail moment ve tail intensity (%) değişkenleri bakımından karşılaştırıldı (Tablo 3). Sonuçlar, tabloda ortalama $\pm$ standart sapma (n=7) şeklinde yazılmıştır

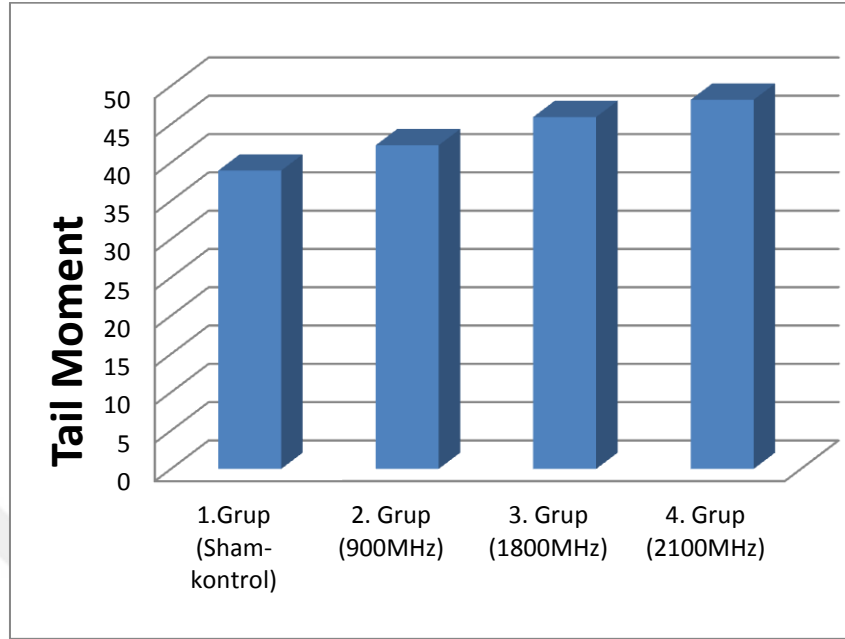
	Tail Moment (Ort±S.D) ve Duncan gruplama	Tail İntensity (%) (Ort±S.D) ve Duncan gruplama
1.Grup (Sham- kontrol)	38.949±7.606 A	22.321±2.678 B
2. Grup (900MHz)	42.255±7,606 A	24.287±3.592 B
3. Grup (1800MHz)	45.942±9.179 A	26.531±2.733 B
4. Grup (2100MHz)	48.194±10.039 A	37.553±8.583 A
P	^{ns} P = 0.2285	*P=0.0001

Tablo 3: Sham- kontrol ve deney gruplarının tail moment ve tail intensity değişkenleri bakımından karşılaştırılması ve Duncan gruplama. Her bir sütun için aynı harfli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Farklı harfli gruplar arasında anlamlı fark vardır. *Gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur (p<0.01). ^{ns}Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p>0.05). ns: önemli olmayan= non-significant

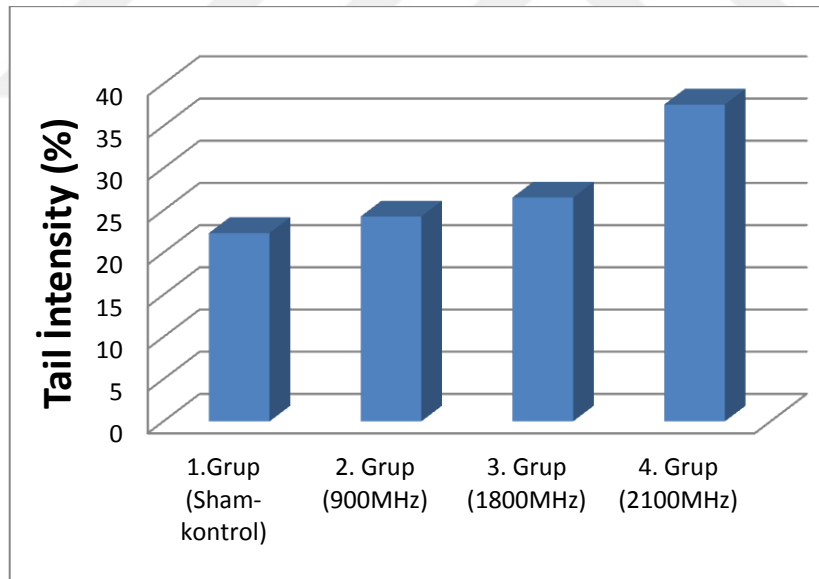
Tail intensity ve tail moment parametreleri açısından sham, 900 MHz, 1800 MHz ve 2100 MHz grupları arasında fark olup olmadığını belirlemek için tek yönlü varyans analizi uygulanmıştır. Varyans analizi sonucunda, tail moment değişkeni bakımından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05), ancak tail intensity değişkeni bakımından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.01). Hangi grupların birbirinden farklı olduğunu saptamak için ise Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Duncan testi sonucunda; Sham-kontrol, 900 MHz ile 1800 MHz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız (p>0.05), 2100 MHz grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.01).

Tablo-3'te görüldüğü gibi uygulanan radyo frekans radyasyonun (RFR) frekansı artıkça (900 MHz, 1800 MHz ve 2100 MHz) grupların tail intensity ve tail moment değerlerinin de arttığı tespit edilmiştir. 2100MHz grubunun Sham-kontrol, 900MHz ve 1800MHz gruplarına göre kuyruk oluşumunun (yoğunluğunun) önemli

derecede arttığı bulunmuş olup bu da daha yüksek frekanstaki radyasyona maruz kalmanın DNA hasarını giderek arttırabileceğini göstermektedir.



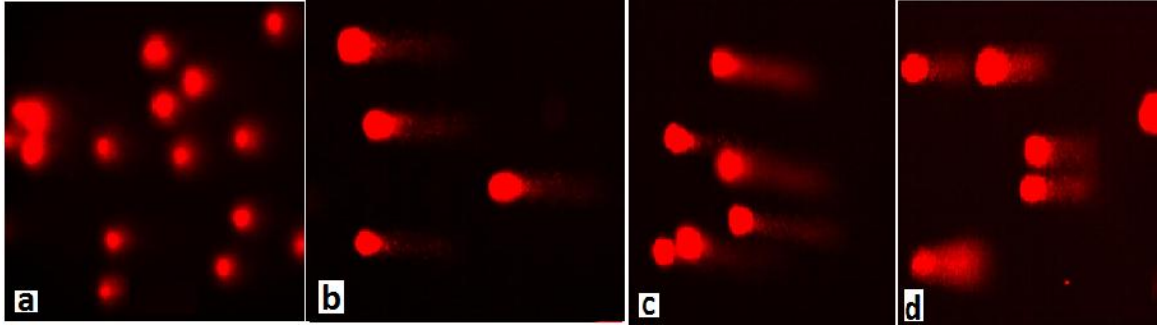
Şekil 31: Çalışma gruplarının Tail moment düzeyleri



Şekil 32: Çalışma gruplarının Tail intensity (%) düzeyleri

Ratların beyin hücrelerinde DNA hasarını tespit etmede kullandığımız komet tekniğinin sonuçları bize, 6 ay boyunca 900 MHz, 1800 MHz ve 2100 MHz RF radyasyona maruz bırakılan grupların sham-kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığında sadece 2100 MHz frekansında DNA hasarının varlığından söz

edilebilmektedir. DNA'daki tek zincir kırıklarını ifade eden komet görüntüleri resim 9' da verilmiştir.



Resim 9: Beyin DNA hasarının floresan mikroskop altındaki örnek görüntüleri;
a) sham- kontrol, b) 900MHz, c) 1800MHz, d) 2100MHz

3.4.3. TAS, TOS, OSİ, MDA ve 8-OHdG Analiz Bulguları

Ratlardan alınan beyin dokusu örnekleri PBS (Phosphate Buffer Saline, pH: 7.4) çözeltisi ile homojenize edildi. Tüm doku örneklerinde Bradford metodu ile total protein miktarı spektrofotometre ile ölçüldü. Doku homojenatlarında Malondialdehit (MDA) ve 8 Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) parametrelerinin değerleri ELISA yöntemi ile plak okuyucusunda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) ölçüldü. Ayrıca Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) ise plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) sırasıyla 660 nm ve 530 nm dalga boylarında ölçüldü. Ölçülen TAS ve TOS değerleri Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplamasında kullanıldı. İstatistiksel analizler bu sonuçlara göre değerlendirildi (Tablo 4). Sonuçlar, tabloda ortalama $\pm$ standart sapma (n=7) şeklinde verilmiştir.

	TOS ($\mu\text{mol/L}$)	TAS ($\mu\text{mol/L}$)	OSI (AU)	8-OHdG (ng/ml)	MDA (ng/ml)
1. Grup (Sham-Kontrol)	7.386 $\pm$ 0.672 C	1.418 $\pm$ 0.271 A	5.346 $\pm$ 1.014 D	23.597 $\pm$ 2.806 D	28.676 $\pm$ 3.789 D
2. Grup (900MHz)	9.090 $\pm$ 0.943 B	0.905 $\pm$ 0.083 B	10.169 $\pm$ 1.812 C	31.849 $\pm$ 4.102 C	33.625 $\pm$ 3.602 C
3. Grup (1800MHz)	11.935 $\pm$ 0.788 A	0.843 $\pm$ 0.054 B	14.247 $\pm$ 1.670 B	43.914 $\pm$ 2.356 B	39.322 $\pm$ 3.554 B
4. Grup (2100MHz)	11.583 $\pm$ 0.757 A	0.676 $\pm$ 0.116 C	17.575 $\pm$ 3.318 A	52.244 $\pm$ 5.106 A	59.374 $\pm$ 4.635 A
P	*P=0.0001	*P=0.0001	*P=0.0001	*P=0.0001	*P=0.0001

Tablo 4: Sham- kontrol ve deney gruplarının TOS, TAS, OSI, 8-OHdG ve MDA sonuçları, istatistiksel değerlendirme ve Duncan gruplama. Her bir sütun için aynı harfli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Farklı harfli gruplar arasında anlamlı fark vardır. *Gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,01$).^{ns}Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Gruplar arasında TOS değişkeni bakımından fark olup olmadığını belirlemek için bir yönlü varyans analizi uygulanmıştır. Analiz sonucunda gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Hangi grupların birbirinden farklı olduğunu saptamak için Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Duncan testi sonucunda; 3.grup ile 4. grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$), 2.grup ile diğer gruplar arasındaki fark ve 1.grup ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$).

Sham grubuna oranla tüm deney gruplarının TAS seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir ($p<0.01$). Grupların kendi aralarında karşılaştırılmasında ise 2.grup ile 3. grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$), 1.grup ile diğer gruplar arasındaki fark ve 4. grup ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$).

Uygulanan tek yönlü varyans analizi sonucunda, tüm deney gruplarının sham grubuna oranla OSI, MDA ve 8-OHdG parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı artış meydana geldiği tespit edilmiştir ($p<0.01$). Bu değişkenler bakımından hangi grupların birbirinden farklı olduğunu saptamak için ise Duncan çoklu

karşılaştırma testi uygulanmıştır. Duncan testi sonucunda; her bir grup ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$).

3.4.4. Serum Nitrik Oksit (NO) Analiz Bulguları

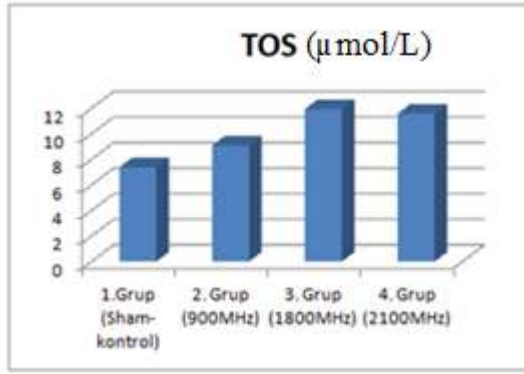
Ratlardan alınan kan serumundan NO manuel olarak çalışıldı. Değerler spektrofotometrede okunmuş ve istatistiksel analizler bu sonuçlara göre değerlendirilmiştir (Tablo: 5). Sonuçlar, tabloda ortalama $\pm$ standart sapma ($n=7$) şeklinde verilmiştir.

	Nitrik Oksit (Ort $\pm$ S.D) (mol/L)	Duncan gruplama
1.Grup (Sham- kontrol)	12.657 $\pm$ 3.932	B
2. Grup (900MHz)	14.028 $\pm$ 1.399	BA
3. Grup (1800MHz)	15.414 $\pm$ 1.345	A
4. Grup (2100MHz)	15.428 $\pm$ 2.324	A
P	*P = 0.0141	

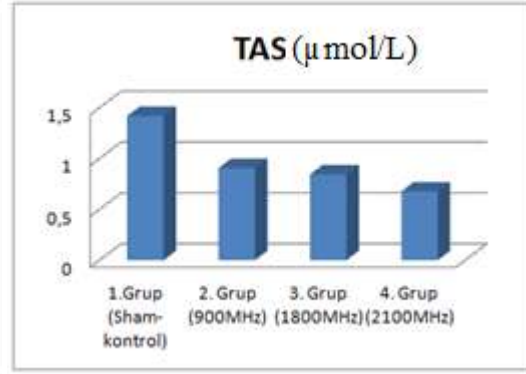
Tablo 5: Sham- kontrol ve deney gruplarının nitrik oksit (NO) değişkeni bakımından karşılaştırılması istatistiği ve Duncan gruplama. Her bir sütun için aynı harfli ya da aynı harf içeren gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Farklı harfli gruplar arasında anlamlı fark vardır. *Gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). ^{ns}Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Deney gruplarının sham-kontrol grubuyla karşılaştırılmasında üç deney grubunda da nitrik oksit seviyesinde artış gözlenmiştir. 900 MHz uygulama grubu ile sham-kontrol grubu arasındaki artış istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$), 1800 MHz ve 2100 MHz gruplarının sham-kontrol grubu arasındaki artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Deney grupları kendi aralarında karşılaştırılmasında ise aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$).

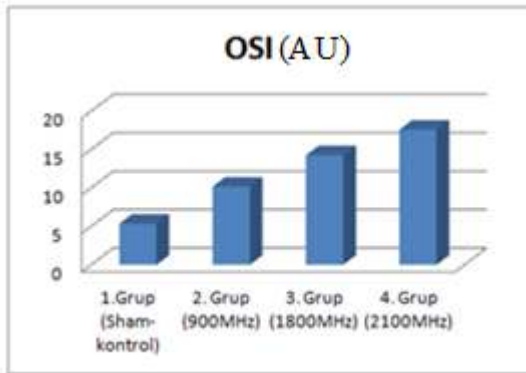
Sham-kontrol ve uygulama grupların; TOS, TAS, OSI, 8-OHdG, MDA ve NO ortalama değerlerinin grafiksel gösterimi şekil 33-38' te verilmiştir.



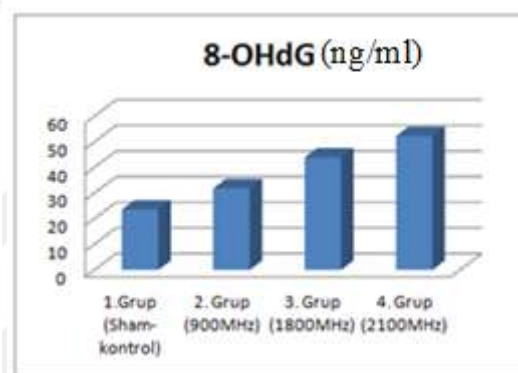
Şekil 33: Grupların TOS grafiği



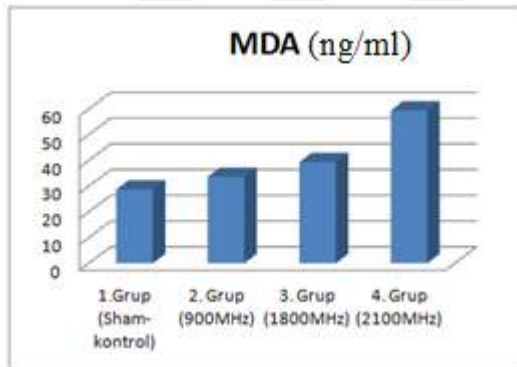
Şekil 34: Grupların TAS grafiği



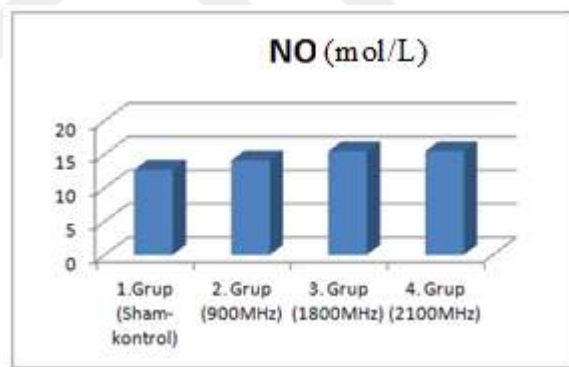
Şekil 35: Grupların OSI grafiği



Şekil 36: Grupların 8-OHdG grafiği



Şekil 37: Grupların MDA grafiği



Şekil 38: Grupların NO grafiği

Grafiklerde de görüldüğü gibi hem sham ve deney grupları arasında hem de deney gruplarının kendi aralarında beyin hücrelerinde TAS, TOS, OSI, 8-OHdG ve MDA parametreleri bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.01$). Serum NO düzeyi bakımından karşılaştırıldığında ise 1800MHz ve 2100MHz gruplarında sham- kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış gözlenmektedir ($p<0.05$). Bu sonuçlar bize farklı frekanslı RFR'ların beyin hücrelerinin biyokimyasal parametrelerini değiştirebileceğini göstermektedir.

3.5. TARTIŞMA

En etkili haberleşme cihazı olmakla modern yaşamın vazgeçilmezi haline gelen mobil telefonların kullanıcı sayısı ve kullanım süreleri gün geçtikçe artmaktadır. Ülkemizde, en son 4.5G yeni nesil cep telefonlarının kesintisiz, hızlı ve kaliteli internet hizmeti sunmalarıyla günlük hayata daha fazla radyo frekans radyasyonunun etkisinde kalma söz konusu olmaktadır. RF radyasyonuna uzun süre maruz kalınması toplumda cep telefonundan yayınlanan RF radyasyonunun kümülatif etkisinin olabileceği endişesini uyandırmaktadır (100).

Son yıllarda cep telefonlarından yayılan radyofrekans radyasyonun biyolojik sistemler üzerindeki zararlı etkileri ile ilgili birçok *invivo* ve *invitro* çalışmalar yapılmıştır. Fakat şimdiye kadar zararlı etkileri konusunda tam bir fikir birliği sağlanamamıştır. Bununla birlikte cep telefonu teknolojisinin hızlı bir şekilde ilerlemesi ve gelişmesiyle ucuzlayarak yaygınlaşması ve yetişkinlere göre radyasyona daha duyarlı olan çocuklar ile genç kesim tarafından kullanımının artmasından dolayı muhtemel zararlı etkileri insanları endişelendiren bir sorun haline gelmiştir (55). Ayrıca 2011 yılında Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC) da RF radyasyonu insanlar için muhtemel kanserojen olarak sınıflandırmış (2B) ve bu alanı daha fazla araştırma için açmıştır (13). RFR'nin insan sağlığına zararlı etkisi olup olmadığı veya ne kadar zararlı olduğu büyük bir tartışma konusu olmaya devam etmektedir. Biz de çalışmamızı mobil telefon şebekelerinde yoğun olarak kullanılan üç farklı RF frekansından (900MHz, 1800MHz ve 2100MHz) kaynaklanan radyasyonun DNA hasarı, oksidatif stres ve lipid peroksidasyon üzerine etkilerini araştırmak amacıyla gerçekleştirdik.

İnsanların non- iyonize elektromanyetik radyasyon formunda radyasyon yayan cep telefonlarıyla ilgili endişeleri daha çok beyin üzerine odaklanmıştır. Bunun nedeni ise konuşma modundaki cep telefonu genellikle kafa ve beyne yakın kullanılması, beynin oksijen tüketiminin yüksek olması, zar yüzey alanının sitoplazmik alana göre fazla olması, yüksek miktarda lipid ve çoklu doymamış yağ asitlerini içermesiyle beynin reaktif serbest radikallere hedef haline gelmesidir (102-104). Ayrıca serbest radikallere karşı beyni koruyan enzimatik antioksidan savunma sistemi de zayıftır (105). Bu nedenle beyin ROS tarafından indüklenen EMF kaynaklı oksidatif hasara karşı son derece hassastır. Eğer ROS enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından kontrol edilmezse oksidatif hasar oluşabilir. Radyofrekans radyasyonun etkisiyle serbest radikal konsantrasyonunda ve serbest radikallerin izlenebilirliğinde artış gözlenebilmektedir

(106). Hücreler oksijenli metabolizma sırasında sürekli ROS türlerini meydana getirirler. Aynı zamanda oluşan ROS'ların zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için doğal antioksidan savunma sistemine sahiptirler. ROS üretiminde ve miktarında artış olması ve doğal antioksidan savunma sistemini etkilemesi durumunda hücrelerde oksidatif stres oluşmaktadır (10).

RF radyasyon maruziyetinin çeşitli dokularda oksidatif strese yol açabileceğini yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Eşmekaya ve arkadaşları (107) 1 ay boyunca günde 20 dakika 1800 MHz frekansındaki puls modülasyonlu RF radyasyonu uyguladıkları dişi sıçanların beyin dokularında oksidan ve antioksidan seviyeleri üzerindeki etkilerini araştırdıkları bir çalışmada RF radyasyonun, sıçanların beyin dokularında lipid peroksidasyonu indükleyerek MDA ve NO düzeyini arttırdığını, GSH düzeyini ise azalttığını gözlemlemişlerdir. Güler ve arkadaşları (108,109) ise 1800 MHz RF radyasyon uygulanan bütün tavşanların karaciğer ve beyin dokularında oksidatif DNA hasarı ve lipid peroksidasyonun arttığını göstermişlerdir. Daşdağ ve arkadaşları (110) cep telefonundan yayınlanan 900 MHz RF radyasyonun uzun süreli uygulaması sıçan karaciğer dokusunda MDA ve TOS seviyelerini artırdığını rapor etmişlerdir.

Eser ve arkadaşları (111) 2 ay boyunca günde 1 saat elektromanyetik radyasyona (900MHz, 1800MHz ve 2450MHz) maruz bıraktıkları sıçanların TAS seviyesinde önemli derecede düşüş, buna karşın TOS ve OSİ seviyelerinde anlamlı bir şekilde artış olduğunu çalışmalarıyla ortaya koymuşlardır. Daşdağ ve arkadaşları (103) 900MHz RF radyasyonun uzun süreli (10 ay boyunca haftanın 7 günü ve günde 2 saat) uygulanması sıçanların beyinlerinde MDA, Protein karbonil ve beta amiloid protein düzeylerini artırdığını bildirmişlerdir. Avcı ve arkadaşları (112) 0.4W/kg SAR değerinde 1800 MHz GSM (Global system for mobile communication) sinyaline eşdeğer radyofrekans radyasyonun uygulanması ratların beyin dokusunda protein oksidasyonuna ve serumda NO düzeyinde artışa neden olduğunu rapor etmişlerdir. Sokolovic ve arkadaşları da (113) 900 MHz mobil telefon (SAR = 0.043-0.135 W / kg) maruziyetinin beyinde MDA, karbonil grupları, ksantin oksidaz (XO) aktivite düzeylerini arttırıp, CAT aktivitesini de azaltarak biyokimyasal olarak oksidatif hasara neden olduğunu bildirmişlerdir. Aydoğan ve arkadaşları (114) ise 3G (2100MHz) mobil telefonlardan yayınlanan RF radyasyonun sıçanların parotid dokularında çok sayıda histopatolojik değişikliklere neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Moustafa ve arkadaşları (115) cep telefondan kaynaklanan (900MHz) RF alan etkisinin 1, 2 ve 4 saatlik maruziyetinin

insanların plazma lipit peroksidasyon seviyelerinde artışa, buna karşın eritrositlerinde antioksidan sistem, SOD ve GSH-Px aktivitelerinde azalışa neden olduğu tespit etmişlerdir. Diğer taraftan Zmyslony ve arkadaşları (116) 930 MHz RF sürekli dalganın (5 mW / cm² ve 1.5 W / kg SAR) ROS seviyesi üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada 5 ve 15 dakika akut RFR'nin ROS üretimini değiştirmedığını göstermişlerdir. Doğan ve arkadaşları (117) ise 2100 MHz (3G) RF radyasyonun 20 günlük uygulamasının sıçan beyin dokusunda oksidatif stres açısından zararlı bir etkiye sahip görünmediğini bildirmişlerdir. Irmak ve arkadaşları (118) cep telefondan yayılan 900 MHz radyasyona 7 gün süreyle (30 dakika / gün) maruz kalan tavşanlarda artmış SOD seviyelerini tespit etmişlerdir.

Yaptığımız çalışmalar sonucunda deney gruplarının total oksidan seviye (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI) ve malondialdehit (MDA) seviyelerinin sham-kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü (p<0.01). Bunun aksine deney gruplarının beyin total antioksidan kapasite (TAS) seviyeleri sham grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi (p<0.01). Daha önce yayınlanmış literatür bulgularıyla (107,110,111,114,115) uyumlu olan bu bulgular bize RF maruziyetinin oksidan - antioksidan arasındaki dengeyi bozarak oksidatif strese neden olabileceğini ve oksidatif stresten kaynaklanan hasarı artırabileceğini göstermektedir. RF uygulamalarında frekans arttıkça 900MHz, 1800MHz ve 2100MHz gruplarda; TAS düzeyinde azalma, TOS, OSI ve MDA düzeylerinde ise bir artış meydana gelmiştir. RFR etkilerinin şiddetini belirleyen; maruz kalan dokunun veya sistemin özellikleri (iletkenliği ve dielektrik özelliği) ile RFR'nin frekansı, uygulama süresi ve gücüdür (119).

Merkezi sinir sistemi nöronlarında aracı madde olarak işlev gören ve pek çok beyin fonksiyonun gerçekleşmesinde rol alan Nitrik oksit (NO), biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen türevlerinin en önemlisidir. Nitrik oksit, süperoksitle tepkimeye girerek çok güçlü hücresel bir reaktif radikal olan peroksinitriti (ONOO⁻) meydana getirebilir. Nitrik oksidin yüksek seviyelerde üretilmesi pek çok nörolojik hastalığa neden olabilmektedir (78). Özellikle nitrik oksit düzeyinde doku hasarında artış görülür (120). Literatürde radyo frekans radyasyonun biyolojik sistemlerdeki nitrik oksit (NO) düzeyi üzerine yapılan birçok çalışma mevcuttur. Yarıktaş ve arkadaşları (121) 2 hafta boyunca (30dk/gün, 5 gün/hafta) 900 MHz elektromanyetik radyasyon uyguladıkları ratların sinus ve nazal mukozalarında NO seviyelerinde anlamlı bir artış olduğunu göstermişlerdir. İlhan ve arkadaşları (122) cep telefondan yayınlanan 900MHz RF

radasyonuna 7 gün boyunca günde 1 saat maruz bıraktıkları sıçanların beyin dokusu NO düzeylerinde anlamlı bir artış meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Özgür ve arkadaşları (123) 1800MHz (SAR; 0.38W/kg, 10 veya 20 dk/gün, 10 gün) RFR'ye maruz kalan kobay karaciğerinde malondialdehit (MDA) ve toplam nitrik oksit (NO) düzeylerinde belirgin artışlar ve süperoksit dismutaz (SOD), miyeloperoksidaz (MPO) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerinde azalmalar olduğunu bildirmişlerdir. Cep telefonuna benzer radyasyonlar oksidatif hasara neden olabildiğini ve karaciğerdeki antioksidan enzimlerin aktivitelerini değiştirdiği şeklinde açıklamalarda bulunmuşlardır. Özgüner ve arkadaşları (124) ise sıçan ratinal dokusu NO düzeylerinin uygulanan 900 MHz RF Radyasyon (30dk/gün, 2 ay) etkisinde arttığını ve uzun süre cep telefonu radyasyonuna maruz kalmanın retinal dokusunda oksidatif strese neden olabileceğini rapor etmişlerdir. Yine Özgüner ve arkadaşları (125) yaptıkları başka bir çalışmada, 3 aylık bir süre boyunca (30 dakika/gün) 900 MHz radyasyona maruz bıraktıkları sıçanların böbrek dokusu NO düzeylerinde artış olduğunu ve cep telefonu maruziyetinden sonra renal dokuda oksidatif stres kaynaklı bir bozulmanın meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Olgar ve arkadaşları (126) ise 2100 MHz RF radyasyonu 10 hafta boyunca günde 2 saat uyguladıkları sıçanların kalp dokusu nitrik oksit (NO) seviyelerinde anlamlı bir artış meydana geldiğini göstermişlerdir.

Daşdağ ve arkadaşları (127) cep telefonundan yayınlanan RF radyasyonun oksidatif hasar üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, RF uygulama, sham ve kafes kontrol olmak üzere 3 rat grubunu oluşturmuşlar. RF uygulama grubuna 10 ay boyunca haftanın 7 günü ve günde 2 saat 900MHz mikrodalga radyasyonu (0.078mW/cm^2) uygulamışlar. Aynı işlemleri sham grubuna uygulamışlar fakat jeneratörü kapalı konuma getirmişler. Kafes kontrol grubunu ise sadece çalışma sırasında bir kafeste tutmuşlar. Çalışma sonunda yaptıkları incelemede; RF uygulama ve sham gruplarının kafes kontrol grubuna göre serum nitrik oksit (NO) seviyesinde anlamlı bir artışın meydana geldiğini fakat RF uygulama grubu ile sham grubu arasındaki artışın ise anlamsız olduğunu gözlemlemişlerdir. Öte yandan, Irmak ve arkadaşları (128) cep telefondan yayılan 900 MHz radyasyona 7 gün süreyle (30 dakika / gün) maruz kalan tavşanlarda artmış SOD ve azalmış NO seviyelerini tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda deney gruplarının sham-kontrol grubuyla karşılaştırılmasında üç deney grubunda da nitrik oksit seviyesinde artış gözlenmiştir. Fakat 900MHz

uygulama grubu ile sham-kontrol grubu arasındaki artış istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$), 1800MHz ve 2100MHz gruplarının sham-kontrol grubu arasındaki artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca deney grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu gözlenmiştir ($p>0,05$). Çalışmamızın 1800 ve 2100 MHz sonuçları, RF Radyasyonun beyin dokusu üzerindeki oksidatif stres etkisini araştıran bir çok çalışmanın sonuçlarıyla (107,112,123,126) paralellik göstermektedir. 900 MHz grubundan elde edilen bulguların diğer çoğu çalışmaların bulguları ile uyuşmaması ise, farklı maruziyet parametrelerinden kaynaklanıyor olabilir. Oluşabilecek DNA hasarının hücre türüne ve deneysel kuruluma (maruz kalma süresi, RF frekansı, SAR, sürekli dalga, darbeli dalga, cep telefonu kullanıcısı olarak maruz kalma, vb.) bağlı olduğu bilinmektedir (129,130). Nitrik oksit analizinde elde ettiğimiz veriler 1800 MHz ve 2100 MHz frekanslarındaki RF radyasyon maruziyetinin sıçanlarda nitrojen serbest radikal üretimini arttırarak oksidatif hasarda rol alabileceğini göstermektedir.

Endojen ve eksojen kaynaklar canlı organizmada değişik mekanizmalarla oksidatif DNA hasarına yol açarlar. Serbest radikaller özellikle hidroksil radikalli tek ve çift zincir DNA kırıklıkları, baz ve şeker modifikasyonları, DNA- protein çapraz bağlanmaları ve depürinasyon gibi bir çok DNA hasarında rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Birçok çalışmada, mobil telefondan kaynaklanan elektromanyetik radyasyonlara maruz kalmanın kanser insidansını artırabileceğini ve beyin hücrelerinde DNA hasarını yükseltebileceğini gösterilmiştir (131-134). Bu hasarlar da onarılmadığı ya da yanlış onarıldığı durumlarda mutasyon veya hücre ölümüyle sonuçlanır. İnsan vücudunun her bir hücresinde günde yaklaşık olarak 2×10^4 DNA hasarı meydana geldiği ve bu hasarların önemli bir bölümü ROS'tan kaynaklandığı tahmin edilmektedir (89). Değişikliğe uğramış bazı DNA bazları genomun bütünlüğüne potansiyel zararlı olduğu düşünülmektedir. 8- hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) bu baz modifikasyonlarından en çok bilinenidir. Hidroksil radikali DNA 'nın tüm bileşenleriyle etkileşime girdiği bilinmektedir ve bu etkileşim sonucunda pürin, pirimidin bazlarında ve deoksiriboz omurgasında hasar meydana gelebilmektedir. Oksidatif stresin neden olduğu genetik materyalin kalıcı modifikasyonu mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmanın ilk adımıdır. Ayrıca değişik kanserli dokularda serbest radikal aracılı DNA hasarı tespit edilmiştir (90).

Serbest radikaller DNA molekülündeki azotlu bazlara doğrudan etki ederek, bazlarda değişikliklerin meydana gelmesine neden olurlar. DNA’da çok sayıda negatif yüklü fosfat gruplarının bulunmasından dolayı Fe ve Cu geçiş metal iyonları DNA’ya sürekli bağlıdırlar ve aynı zamanda oksidatif stresin etkisiyle hücre içindeki proteinlerden serbestleşen Fe ve Cu iyonları da DNA’ya bağlanabilmektedir. Fe ve Cu metal iyonlarının DNA’nın deoksiriboz şekerlerine bağlanmaları DNA’yı hidrojen peroksitin (H_2O_2) hedefi haline getirerek Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarının gerçekleşmesi sonucunda yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikalli ($OH^\bullet$) meydana gelir (135-137). Ayrıca Cu^{+2} iyonları DNA bileşenlerinden en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip ve oksidasyona eğilimli olan guanin sitozince zengin bölgelerine yüksek afinite ile bağlanırlar. Burada guaninin H_2O_2 ile tepkimeye girmesi sonucunda guaninde hasar oluşur (74, 83, 91).

Pürin ve pirimidin bazlarında çeşitli modifikasyonlar oluşturan hidroksil radikali, birçok okside ürünün oluşmasına neden olur. DNA oksidasyon ürünleri içerisinde en çok oluşan ve en mutajenik olan 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)’ dir. Bundan dolayı oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak doğrudan 8-OHdG ölçümü kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarı belirlenmesinde genellikle bu yöntem uygulanmaktadır (83, 86, 91, 92,138). Xu ve arkadaşları (139) 1800MHz (SAR; 2 W/kg) RF radyasyonuna maruz bıraktıkları kortikal nöron hücrelerinde 8-OHdG seviyesinin anlamlı derecede arttığını gözlemlemişlerdir. Güler ve arkadaşları (109) 1800MHz GSM sinyaline eşdeğer sinyal üreten jeneratörlere doğumdan önce ve doğumdan sonraki periyotlarda maruz bıraktıkları erkek ve dişi yavru tavşanların beyin dokusunda 8-OHdG düzeyinin kontrol grubuna göre önemli derecede arttığını bildirmişlerdir. Güler ve arkadaşları (140) ise 30 gün boyunca günde 1 saat 2450 MHz düşük düzeyli elektromanyetik alan uyguladıkları ratların hem beyin dokusunda hem de plazmalarında 8-OHdG seviyesinin önemli derecede arttığını rapor etmişlerdir. Burlaka ve arkadaşları (141) GSM 900MHz ($0.25\mu W/cm^2$, SAR: $3\mu W/kg$) RF radyasyonu uyguladıkları bıldırcınların embriyosunda 8-OHdG seviyesinin anlamlı derecede arttığını gözlemlemişlerdir.

Bunların aksine Khalil ve arkadaşları (142) GSM 900MHz (30dk/gün, 30 gün, SAR:1.0W/kg) mobil telefon RF radyasyon maruziyetinin sıçanların kan serumu, beyin ve dalak dokularında 8-OHdG seviyesini istatistiksel olarak önemli derecede artırmadığını bildirmişlerdir. Şahin ve arkadaşları (105) ise 2100 MHz RF radyasyonu bir grup rata 10 gün, diğer gruba ise 40 gün uygulamışlar. Maruziyet süresi sonunda bu

grupları kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırıldıklarında oksidatif DNA hasarının (8-OHdG) 10 gün maruz kalan grupta arttığını, fakat 40 gün maruz kalan grupta azaldığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamızın sonuçları bir çok literatür bulgularıyla (109,139,140,141) uyumlu olup, deney gruplarının 8-OHdG seviyelerinin sham-kontrol grubundan anlamlı derecede ($p<0.01$) yüksek olduğu görüldü. Duncan testi sonucunda; uygulama grupları arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Sham grubuyla karşılaştırıldığında bu fark küçükten büyüğe doğru 900MHz grubu, 1800MHz grubu ve 2100MHz grubu şeklinde olduğu görüldü. Bulgularımız RFR'nin ratların beyinlerinde oksidan maddeleri arttırmasıyla oksidatif DNA hasarına (8-OHdG) neden olabildiğini göstermektedir.

Literatürde radyofrekans radyasyonun beyin ve diğer dokularda DNA hasarı üzerine etkileri birçok farklı çalışmayla araştırılmıştır. Özellikle cep telefonlarının uzun süreli kullanımı çeşitli kanser türlerine neden olabileceği yapılmış olan deneysel ve epidemiyolojik araştırmalarla ortaya konulmuştur. Kesari ve arkadaşları (143) 3G (2100MHz) mobil telefondan yayılan mikrodalga radyasyonun beyinde önemli derecede DNA zincir kırıklıklarını indükleyebildiğini rapor etmişlerdir. Yao ve arkadaşları (144) 1800 MHz RF radyasyonunun insan lens epitel hücrelerinde DNA hasarına neden olup olmadığını incelemek için komet assay yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada, 1800 MHz 3W / kg ve 4W / kg değerinde RF radyasyonunun önemli ölçüde DNA hasarını indüklediğini gözlemlemişlerdir.

Deshmukh ve arkadaşları (145) 30 gün boyunca 900 (SAR : 5.953×10^{-4} W/kg), 1800 (SAR : 5.835×10^{-4} W/kg) ve 2450 (SAR: 6.672×10^{-4} W/kg) MHz olmak üzere üç farklı frekanstaki mikrodalga ışınına maruz bıraktıkları erkek Fischer sıçanlarının beyin dokusunda DNA hasarı oluşup oluşmadığını alkalın komet assay tekniği kullanılarak yaptıkları değerlendirmede, bu frekanslarda düşük SAR mikrodalga radyasyon maruziyetinin beyin dokusunda DNA zincir kopmalarına neden olduğunu rapor etmişlerdir. Belyaev ve arkadaşları (146) ise sıçan beyninin GSM mikrodalgalarına maruz kalmasının DNA kırıklıklarına, kromatin konformasyonundaki değişikliklere ve gen ekspresyonuna neden olabileceğini bildirmişlerdir. Nikolova ve arkadaşları (147) altı saatlik kısa süreli RF maruziyetinin, çift sarmal kırılmalarında geçici bir artışa neden olduğunu rapor etmişlerdir. Çam ve Seyhan (148) ise Komet assay tekniği kullanarak yaptıkları çalışmada, kısa süreli (15 ve 30 dk) konuşma modundaki cep telefondan kaynaklanan 900 MHz RFR'ye maruz kalma, kulak çevresinde bulunan kıl

kök hücrelerindeki DNA tek - zincir kırılmalarında önemli bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. 2005 yılında Diem ve arkadaşları (149) ile Paulraj ve Behari (150) komet assay tekniğini kullanarak yaptıkları çalışmalarda, kronik RF maruziyetinin sıçanların beyin hücrelerindeki DNA zincir kırılmalarında önemli artışa neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Bunların aksine, birçok çalışmada da RFR maruziyetinin önemli derecede hücresel DNA hasarını oluşturmadığı ileri sürülmüştür. Stronati ve arkadaşları (151) 1 veya 2 W/kg SAR ve 935 MHz GSM sinyaline 24 saat invitro maruz bıraktıkları insan lenfosit hücrelerinde DNA zincir kırılmalarının meydana gelmediğini göstermişlerdir. Farklı zaman periyotlarında kültürlenmiş insan lenfositleri ile yapılan bir dizi çalışmada, 900 MHz GSM (SAR; 0.2 - 10W/kg) sinyal maruziyetinden sonra kromozom sapmaları, mikronukleus veya kardeş kromatid değişimlerinin tespit edilmediği rapor edilmiştir (152-154). Vershaeve ve arkadaşları (155) ratların 0.3 ve 0.9 W / kg SAR değerindeki 900 MHz GSM sinyaline uzun süreli maruziyeti (2 saat / gün, 5 gün / hafta, 2 yıl), hücrelerindeki DNA zincir kırılma seviyelerini önemli ölçüde etkilemediğini bildirmişlerdir. Takahashi ve arkadaşları (156) ise 2.0, 0.67 ve 0 W / kg SAR değerinde 1500 MHz EMF'ye 4 hafta boyunca haftada 5 gün ve günde 90 dakika maruz bıraktıkları sıçanların beyin hücrelerinde mutajenik etki saptamamışlar.

Trosic ve arkadaşları (157) Cep telefonu frekans aralığındaki (915MHz GSM, güç yoğunluğu; 2.4 W/m², SAR; 0.6 W/kg) radyo frekans radyasyon maruziyetinin sıçanların böbrek, karaciğer ve beyin dokularında DNA hasarı oluşturup oluşturmadığını Komet assay yöntemi kullanarak incelemişler. Deney hayvanları, iki hafta boyunca günde bir saat, haftada yedi gün RFR'ye maruz bırakılmış. Komet assay parametrelerinden tail length (kuyruk uzunluğu) ve tail intensity (kuyruk yoğunluğu)'yi değerlendirmeye almışlar. Yaptıkları incelemede kontrol grubuna oranla tail length böbrek ve karaciğer homojenatlarında belirgin bir artış göstermiş fakat beyin hücrelerinde önemli bir artış göstermemiştir. Tail intensity ise incelenen dokuların hiçbirinde önemli bir farklılık göstermemiştir. Deneysel koşullar altında uygulanan 915 MHz RF radyasyonu böbrek ve karaciğer hücrelerinde DNA kopmalarına neden olabildiğini, ancak bazal hasara kıyasla hücre genomunu daha yüksek oranda etkilemediğini şeklinde yorumlamışlar. Akdağ ve arkadaşları (158) uzun süreli (12 ay) 2.4 GHz RF radyasyon uygulamasının ratların testis dokusunda anlamlı derecede DNA hasarına neden olduğunu, fakat beyin, böbrek,

karaciğer ve cilt dokusunda DNA hasarını önemli derecede indüklediğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda deney gruplarındaki sıçanların mobil iletişimde yoğun olarak kullanılan 900 MHz, 1800 MHz ve 2100 MHz GSM sinyaline benzer sinyal üreten jeneratörlerden yayınlanan radyo frekans radyasyon maruziyetinin beyin dokularında yol açabileceği DNA hasar düzeyini gösteren komet parametrelerinden tail moment (kuyruk momenti) ve tail intensity (kuyruk yoğunluğu) sham grubu ve kendi aralarında karşılaştırılarak incelendi.

Deney gruplarının sham grubuna oranla tail moment ve tail intensity değerlerinde artma meydana geldiği fakat yapılan istatistiksel analizler sonucunda tail moment parametresindeki artışın istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$) olduğu, tail intensity parametresindeki artışın ise, sadece 2100MHz grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Çalışmamızın 2100 MHz bulguları Kesari ve arkadaşlarının (143) bulgularıyla paralellik gösterirken, 900 ve 1800 MHz bulguları ise Vershaeve ve arkadaşları (155), Takahashi ve arkadaşları (156), Trosic ve arkadaşları (157) ile Akdağ ve arkadaşlarının (158) çalışmalarının bulgularıyla paralellik göstermektedir.

DNA migrasyonu için bir parametre olarak kuyruk momenti kavramı (kuyruk uzunluğu x kuyruk yoğunluğu) Olive ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (159). Bununla birlikte, kuyruk momentinin en uygun şekilde nasıl hesaplanacağı araştırmacılar arasında halen bir fikir birliği sağlanamamıştır. Bazı ajanlar uzun, ince kuyruklara neden olurken bazıları kısa, kalın kuyruklara neden olur (160). Bir çok çalışmada kuyruk yoğunluğunun (kuyruktaki %DNA) daha net ve doğru sonuç verdiğini ve özellikle alkali komet analizi için tercih edilmesi gerektiği bildirilmiştir (161-164).

Tail moment istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da deney gruplarına uygulanan radyo frekans radyasyonunun (RFR) frekansı artıkça grupların tail moment ortalama değerlerinin (Sham:38.949; 900MHz:42.225; 1800MHz:45.942; 2100MHz :48.194) de arttığı gözlenmiştir. Aynı durum kuyruk yoğunluğunda da görülmüştür (Sham:22.321; 900MHz:24.287; 1800MHz:26.531; 2100MHz: 37.553). 2100MHz grubunun Sham-kontrol, 900MHz ve 1800MHz gruplarına göre kuyruk oluşumunun (yoğunluğunun) önemli derecede arttığı bulunmuş olup bu da daha yüksek

frekanstaki radyasyona maruz kalmanın DNA hasarını giderek arttırılabileceğini göstermektedir.

RF radyasyonu ve DNA hasarına ilişkin şimdiye kadar elde edilen raporlar tartışmalı olup, RF radyasyonuna bağılı oluşan DNA zincir kırılmalarının kesin mekanizması halen bilinmemektedir. Bununla birlikte DNA sarmalındaki bozulmalar, DNA onarımının bozulmasından veya DNA-DNA ve DNA-protein çapraz bağlarından ve / veya DNA adüktü oluşumundan kaynaklanan hasar nedeniyle oluşabilir. Ayrıca RF radyasyonu, beyin hücrelerinde DNA zincir kırılmalarına neden olabilecek serbest radikallerin oluşumunu indükleyebilir (134, 145, 165).

Komet assay sonuçlarımız 2100 MHz RF radyasyon uygulamasının daha zararlı olabildiğı ve rat beyin dokusunda DNA tek zincir kırıklıklarını indükleyerek DNA hasarını arttırılabileceğini göstermektedir.

3.6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, mobil telefon şebekelerinde yoğun olarak kullanılan üç farklı RF frekansına (900MHz, 1800MHz ve 2100MHz) benzer sinyal üreten jeneratörlerden yayınlanan radyo frekans radyasyon maruziyetinin rat beyin dokusunda yol açabileceği DNA hasar düzeyi komet assay tekniği uygulanarak saptanmaya çalışıldı. Ayrıca beyin dokusu örneklerinden malondialdehit (MDA), 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stress indeksi (OSİ) düzeyleri ve serum nitrik oksit (NO) seviyesi analiz edilerek, RFR'nin oksidatif stres, lipid peroksidasyon ve oksidatif DNA hasarı üzerindeki etkileri araştırıldı. Elde ettiğimiz bulgulara göre;

1. Çalışmamızın sonucunda deney gruplarının TOS, OSI, MDA ve 8-OHdG seviyelerinin sham-kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0.01$). Bunun aksine deney gruplarının beyin TAS seviyeleri sham-kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi ($p<0.01$). Bu bulgular bize RF maruziyetinin beyin dokusunda oksidan - antioksidan arasındaki dengeyi bozarak oksidatif strese, lipid peroksidasyonuna ve oksidatif DNA hasarına neden olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda uygulama frekansının artmasıyla birlikte oksidatif hasar derecesi de artmıştır.
2. Çalışmamızın NO değerlendirilmesinde, deney gruplarının sham-kontrol grubuyla karşılaştırılmasında üç deney grubunda da nitrik oksit seviyesinde artış gözlenmiştir. 900MHz uygulama grubu ile sham-kontrol grubu arasındaki artış istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$), 1800MHz ve 2100MHz gruplarının sham-kontrol grubu arasındaki artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ayrıca deney grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu gözlenmiştir ($p>0.05$). Nitrik oksit analizinde elde ettiğimiz veriler, 1800 MHz ve 2100 MHz frekanslarındaki RF radyasyon maruziyetinin sıçanlarda nitrojen serbest radikal üretimini arttırarak oksidatif hasarda rol alabileceğini göstermektedir.
3. Komet Assay değerlendirmesinde; Tail moment değişkeni bakımından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Tail intensity değişkeni bakımından ise gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Sham-kontrol, 900MHz ile 1800MHz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$), 2100MHz grubu ile diğer gruplar arasındaki fark

istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Bu da daha yüksek frekanstaki radyasyona maruz kalmanın DNA hasarını giderek arttırabileceğini göstermektedir.

4. Genel değerlendirme;

Çalışmamızın biyokimyasal analiz sonuçlarına göre; RF uygulama gruplarında kontrol grubuna göre beyin dokusunda oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve oksidatif DNA hasarında artma görülmektedir. Frekansın yükselmesiyle birlikte oksidatif hasar oluşumunda da yükselme tespit edilmiştir. Yani 900 MHz, 1800MHz ve 2100MHz RFR'lerin üçü de beyinde oksidatif hasara neden olabilmektedir fakat en yüksek hasar 2100MHz'de meydana geldiği görülmektedir. Bunun nedeni ise frekansın artmasıyla birlikte sinyal şiddetinin artması olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızın Komet assay sonuçlarında; RF radyasyonun rat beyinlerinde DNA hasarına yol açabileceği görülmektedir. Fakat sadece 2100MHz grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu da daha çok yüksek frekanslardaki RFR'lerin beyin dokusunu negatif etkileyebileceği ve hasarların gelişimine neden olabileceğini düşündürmektedir.

Özellikle son yıllarda mobil telefon teknolojinin getirdiği yenilikler ile cep telefonların kullanıcı sayısı ve kullanım süreleri gitikçe artmaktadır. Özellikle 4.5G yeni nesil cep telefonu teknolojisinin kesintisiz, hızlı ve kaliteli internet hizmeti sunmasıyla günlük hayata daha fazla bu cihazlar kullanıldığı görülmektedir. Böylece gün geçtikçe daha fazla RFR'ye maruz kalınmaktadır.

Her ne kadar mobil telefonlardan kaynaklanan RFR'nin ciddi problemlere neden olduğu kanıtlanmamış olsa da sağlıklı bir toplum için; yetişkinlere göre radyasyona daha duyarlı olan çocuklara telefon kullandırmamak, uzun süreli telefon görüşmelerinden kaçınmak, arama yapıldığında bağlantı gerçekleştikten sonra telefonu kulağıma götürmek, cep telefonun uzun süreli kullanımı gerektiğinde hands-free veya kulaklık ile kullanmak gibi tedbirlerin alınması önem taşımaktadır.

Çalışmamızın genel sonuçları cep telefondan kaynaklanan farklı frekanslı radyofrekans radyasyonun ratların beyin dokusunda oksidan ve antioksidan düzeylerini değiştirdiğini, oksidatif strese, lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına yol açtığını göstermektedir. Çalışmamız birçok yeni çalışma ile uyumludur. Sonuç olarak çalışmamız "RF radyasyonu biyolojik dokularda hasara neden olur" yönündeki hipotezi desteklemektedir. Fakat daha kesin sonuçlara ulaşmak için ayrıntılı

ve moleküler düzeydeki uzun süreli araştırmalara gereksinim duyulmaktadır. Çalışmamızın bu konuda yapılan araştırmalara katkı sunabileceğini düşünmekteyiz.



4. KAYNAKLAR

1. Hardell L. and Carlberg M., Mobile Phones, Cordless Phones and the Risk for Brain Tumours, *Int J Oncol* 35: 5-17, 2009.
2. Hardell L., Carlberg M. and Hansson Mild K., Pooled Analysis of Two Case-control Studies on the Use of Cellular and Cordless Telephones and the Risk of Benign Brain Tumours Diagnosed During 1997-2003, *Int J Oncol* 28: 509-518, 2006.
3. Aydoğan F., Aydın E., Koca G., et al., The effects of 2100-MHz Radiofrequency Radiation on Nasal Mucosa and Mucociliary Clearance in Rats, *International Forum of Allergy & Rhinology*, Vol. 0, No. 0, April 2015.
4. Kesari K.K., Kumar S., Behari J., 900-MHz Microwave Radiation Promotes Oxidation in Rat Brain, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 30(4): 219–234, 2011
5. Avcı B., Akar A., Bilgici B., Tuncel ÖK., Oxidative stress induced by 1.8 GHz radio frequency electromagnetic radiation and effects of garlic extract in rats. *Int J Radiat Biol* 88(11):799–805,2012.
6. Daşdağ S., Akdag MZ., Kizil G., Kizil M, et al., Effect of 900 MHz radio frequency radiation on beta amyloid protein, protein carbonyl, and malondialdehyde in the brain, *Electromagn Biol Med* 31(1):67–74,2012.
7. Nazıroğlu M., Gumral N., 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* 85(8):680–689, 2009.
8. Şahin D., Özgür E., Güler G., Tomruk A., et al., The 2100 MHz radiofrequency radiation of a 3G-mobile phone and the DNA oxidative damage in brain, *J. Chem. Neuroanat*,1378 No. of Pages 5, 2016
9. Ongel K., Gumral N., Ozguner F. The Potential Effects of Electromagnetic Field: A Review, *Cell Membranes And Free Radical Research*,Volume 1 – Number 3-1, 85-89, 2009
10. Curtin JF., Donovan M. and Cotter TG., Regulation And Measurement Of Oxidative Stress İn Apoptosis, *Journal of Immunological Methods*, 265, 49-72,2002.
11. Daşdağ S., Akdağ M.Z., Aksen F., et al., Does 900 MHz GSM Mobile Phone Exposure Affect Rat Brain? *Electromagn Biol Med*, 23: 201-14,2004.

- 12.** Bioinitiative Report, Section 6; Henry Lai., PhD, Radiofrequency Radiation (RFR) and DNA Damage. BioInitiative Working Group USA, Santa Barbara, CA, pp. 1–14, www.bioinitiative.org, 2012.
- 13.** IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Non-ionizing Radiation, Part II: Radiofrequency Electromagnetic Fields, Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2011
- 14.** Verschaeve L., Maes A., Genetic, Cacinogenic and Teratogenetic Effects of Radio Frequency Fields, *Mutation Research*, 410:141- 65, 1998.
- 15.** Serway R., Fen ve Mühendislik İçin Fizik, c. 2, Ankara, Palme Yayıncılık s. 955-966, 1996.
- 16.** Giancoli DC., Elements of Physics, New Jersey, Prentice Hall Inc, 1985
- 17.** Kalkan H., Aslantürk A., Elektromanyetik Spektrum- The Elektromanyetic Spectrum, NASA <http://science.hq.nasa.gov/kids/imagers/ems/index.html>’den çeviri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gözlem Evi http://gozlemevi.omu.edu.tr/depo/elektromanyetik_spektrum.pdf, (2012).
- 18.** Mohr Peter J., Taylor Barry N., Newell David B., CODATA Recommended Values of the Fundamental Physical Constants, *Rev. Mod. Phys.*, 80 (2): 633–730, 2006.
- 19.** www.escience.anu.edu.au (Erişim tarihi:27.09.2016)
- 20.** Keller F.J., Gettys W.E., Skove M.J., Physics, New York, McGraw-Hill Inc, 1995.
- 21.** Gürler H.Ş., Elektromanyetik Radyasyonun (2.45GHz) Rat Beyninde Oluşturduğu Oksidatif Hasar ve Sarımsağın Koruyucu Etkisi, Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun, 2012.
- 22.** Mehta A., Introduction to the Electromagnetic Spectrum and Spectroscopy, Pharmaxchange info., Retrieved, 11-08, 2011
- 23.** Uses of Electromagnetic Waves, gcse-revision, physics, waves, uses-electromagnetic-waves, Revision World.
- 24.** <http://www.taek.gov.tr> (Erişim tarihi 9 Haziran 2016)
- 25.** NATO Handbook On The Medical Aspects Of NBC Defensive Operations AMedP -6 (B) Part I Nuclear, February 1996.
- 26.** Tübitak–Bilten, Elektromanyetik Dalgalar ve İnsan Sağlığı Sıkça Sorulan Sorular ve Yanıtları, Tübitak, 1–21, 2001.
- 27.** Gül E., İyonize Radyasyon ve Güçlü Manyetik Alan Etkisi Altında Bırakılan Rat Kemik İliği Stem Hücrelerinde Mikroçekirdek Sıklığı, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas, 2005.

- 28.** Definition of Radio Frequency, Merriam-Webster. Encyclopædia Britannica. n.d. Retrieved 6, August 2015.
- 29.** Challis L.J., Mechanism for Interaction between RF Fields and Biological Tissue, Bioelectromagnetics Supplement, 7: 98-106, 2005.
- 30.** Özen S., Mikrodalga Frekanslı EM Radyasyona Maruz Kalan Biyolojik Dokularda Oluşan Isıl Etkinin Teorik ve Deneysel İncelenmesi, Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, 2003.
- 31.** Wilson J., Hawkes JFB., Optoelectronics, Cambridge, Prentice Hall, 1989.
- 32.** Limits of Human Exposure to Radiofrequency Electromagnetic Fields in the Frequency Range from 3 kHz to 300 GHz, Canada Safety Code 6, page 62
- 33.** Matthes R., Non-Ionizing Radiation, Austria, ICNIRP-1/96, 1996.
- 34.** Firengiz A., Kavas A., Cep Telefonlarından Yayınlanan Elektromagnetik Radyasyon Ölçümleri ve Maruz Kalma Standartlarının Değerlendirilmesi. İletişim Teknolojileri Ulusal Sempozyumu, ITUSEM, pp-65-70, Adana, 17-19 Kasım 2005.
- 35.** Can E., Mobil Cihazların Çalışma Sistemleri ve Çevre Üzerindeki Etkileri, Tez, Gazi Üniversitesi Fizik Eğitimi ABD, Ankara, 2006.
- 36.** Atakan Y., Cep Telefonlarından Yayılan Elektromanyetik Dalgalar Vücudumuzu Nasıl Etkiliyor, Bilim ve Teknik, 58-61, 2010
- 37.** Dünya Sağlık Örgütü (WHO-World Health Organization) web sitesi 2008 Available from: URL: www.who.int/peh-emf
- 38.** Uslu Yuvacı H., Dişi Ratlarda Non İyonize Radyasyonun Over Dokusundaki Apoptozis Üzerine Etkisi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2009.
- 39.** Tekinağaç Y., Cep Telefonları Tarafından Oluşturulan Elektromanyetik Alanın Kobay EKG'si Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, 2006.
- 40.** Cevizli E., GSM İletişiminde RF Radyasyon Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Gebze Üniversitesi, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze, 2009.
- 41.** Doğan H., Cep Telefonlarının Faydaları ile Zararları, KTMMOB, Elektrik Mühendisleri Odası Semineri, Ankara, 23 Kasım 2001.
- 42.** Bayrakçı E., Uydu ve Hücreli Mobil Haberleşme Sistemleri, s. 3-11, 185-191, Birsan Yayınevi, İstanbul, 2002.
- 43.** Atasoy K., GSM Sistemi ve Sağlık, Ankara, 2006

- 44.** Lai H., Neurological Effects of Radiofrequency Electromagnetic Radiation. Paper Presented to the Workshop on Possible Biological and Health Effects of RF Electromagnetic Fields, Project Team: Mobil Phone and Health, Symposium, , University of Vienna, Austria October 25–28, 1998
- 45.** Şeker S., Çerezci O., Radyasyon Kuşatması, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul, 2000.
- 46.** Özgüner F., Mollaoğlu H., Manyetik Alanın Organizma Üzerindeki Biyolojik Etkileri. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg., 13(1): 38-41,2006.
- 47.** <http://sarvalues.com> (Erişim tarihi: 14 Temmuz 2016)
- 48.** Tübitak-Biltem, Elektromanyetik Dalgalar ve İnsan Sağlığı Sıkça Sorulan Sorular ve Yanıtları, s.15-16, 2001.
- 49.** Akleman F., Sevgi L., FDTD Analysis of Human Head – Mobile Phone Interaction in Terms of Specific Absorption Rate (SAR) Calculations and Antenna Design", Proc. of IEEE-APS, Conference on Antennas & Propagation for Wireless Comm., pp.85–88, Waltham, MA, USA, 1998.
- 50.** Paker S., Sevgi L., "FDTD Evaluation of the SAR Distribution in a Human Head near a Mobile Cellular Phone", ELEKTRİK, Turkish J. of Electronics and Comm. V.6 No.1, pp. 227–243, 1998
- 51.** <http://copradar.com/preview/chapt8/ch8d1.html> (Erişim tarihi: 20.07.2016)
- 52.** Eşmekaya MA., RadyoFrekans Radyasyonun Tiroid Bezi Fonksiyonlarına Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2009.
- 53.** Aslan A., Elektromanyetik Alanın Kırık İyileşmesine Etkisi Ratlarda Deneysel Çalışma, Tıpta Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta, 2008.
- 54.** <http://www.kuark.org/2012/11/elektrik-dipolu-ve-su-molekulu/> (Erişim tarihi: 23. 07. 2016)
- 55.** Challis, L. J., Mechanism for Interaction between RF Fields and Biological Tissue, Bioelectromagnetics Supplement; 7: 98-106, 2005.
- 56.** Woodward J. R., Timmel C. R., McLaughlan K. A., et al., Radio frequency Magnetic Field Effects on Electron-Hole Recombination. Physical Review Letters; 87: 077602 1–4, 2001.

- 57.** Hall J. E., Guyton and Hall Textbook of medical Physiology, 12th ed, published by arrangement with Elsevier Limited, Turkish edition, Ankara, Turkey, 2013.
- 58.** Chandar Nalini and Viselli Susan, Cell and Molecular Biology, PhD, çeviri: Betül Yanık, Nobel tıp kitabevleri Ltd.Şti., Turkey, 2012.
- 59.** Sertkaya S., Prostat Kanseri Hücre Modelinde Çift Zincir DNA Hasarına Karşı Gelişen Cevap ve Buna Bağlı Apoptotik Uyarıda HN1'in Etkilerinin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 2015.
- 60.** Dinçer Y., Kankaya S., DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay, Derleme, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2009.
- 61.** Müftüoğlu M., DNA Tamiri ve Erken Yaşlanma Sendromları, Turk J. Biochem, 28 (1); 20-4, 2003.
- 62.** Shrivastav M., DE Haro L.P., and Nickoloff J.A., Regulation of DNA Double-Strand Break Repair Pathway Choice, Cell Res., Jan; 18(1):134-47, 2008.
- 63.** Thompson L.H., Recognition, Signaling, and Repair of DNA Double-Strand Breaks Produced by Ionizing Radiation in Mammalian Cells: The Molecular Choreography, Mutat Res., 751: 158–246, 2012.
- 64.** Demple B., Global Adjustment of Microbial Physiology during Free Radical Stress. Adv Microb Physiol 46: 319–341, 2002.
- 65.** Jackson SP., Bartek J., The DNA-Damage Response in Human Biology and Disease, Nature, 461(7267):1071-8, Oct 22 2009.
- 66.** Agarwal S., Tafel A.A., Kanaar R., DNA Double-Strand Break Repair and Chromosome Translocations. DNA Repair Amst, 5, 1075– 1081, 2006.
- 67.** Butuner B.D., Kantarcı G., Mutasyon, DNA Hasarı, Onarım Mekanizmaları ve Kansere İlişkisi, Ankara Ecz. Fak. Derg. J. Fac. Pharm, Ankara 35 (2) 149 - 170, 2006.
- 68.** Web, <http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2016/03/Aziz-Sancar-Bilimsel-Katkıları-Şevket-Ruacan.Pdf>
- 69.** Zhang Y., Rohde L.H., Wu H., Involvement of Nucleotide Excision and Mismatch Repair Mechanisms Current Genomics, Vol. 10, No. 4, 2009.
- 70.** Web, http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/mutations_03 (Erişim tarihi: 06.11.2016)

- 71.** Daşdağ S., Akdağ M.Z., “The link between radiofrequencies emitted from wireless technologies and oxidative stres”, J.Chem.Neuroanat, Departmen of Biophysics, Medical School of Dicle University, Diyarbakır, Turkey, 2015.
- 72.** Woodward J. R., Timmel C. R., McLaughlan, K. A., Hore, P. J., Radio Frequency Magnetic Field Effects on Electron-Hole Recombination. Physical Review Letters; 87: 077602 1–4,2001.
- 73.** Temel H.E., Demanslı Hastalarda Asetilkolinesteraz Aktivitesi ve Oksidatif Stresin Asetilkolinesteraz Enzim İnhibitörleri ile Değişimi, Doktora Tezi, Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2008.
- 74.** Çelik M., Protein Enerji Malnütrisyonlu Çocuklarda DNA Hasarı ile Total Oksidan ve Antioksidan Kapasitelerin Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı, Şanlıurfa, 2011.
- 75.** Solduk L., Akut Ağrı Yönetiminin Lenfosit DNA Hasarı ve Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Etkisinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Şanlıurfa, 2013.
- 76.** Horwood E. Epe B. DNA and Free Radicals. Chichester, 41-65, 1993.
- 77.** Aruoma OI, Halliwell B. DNA and Free Radicals: Techniques Mechanisms and Applications. OICA International, 3-26,1998.
- 78.** Brune B., Messmer UK., Sandau K., The Role of Nitric Oxide in Cell Injury. Toxicology Lett., 82-83: 233-7,1995.
- 79.** Qasim M., An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System, Medical & Dental College, Karachi, Pakistan, Vol. 1, No. 413,2012.
- 80.** Web. <http://www.antioksidan.info/antioksidanvitaminler/serbest-radikale-karsi-savunma> (Erişim tarihi: 17.08.2016)
- 81.** Gutteridge JMC., Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. J. Clin Chem., 42(6):18-19,1995.
- 82.** Halliwell B. Oxygen is Poisonous: The Nature and Medical Importance of Oxygen Radicals. J. Med Lab Sci., 41(3):157-62,1984.
- 83.** Çelik H., Malarya Hastalarında Oksidatif Strese ve Mononükleer Lenfosit DNA Hasarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 2005.

- 84.** Yaykaşı E.O., Cep Telefonu Radyasyonun Sıçan Karaciğer Dokusundaki Oksidant/Antioksidant Dengesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara,2006.
- 85.** Web, <http://www.vitamins-supplements.org/vitamin-E.php> (Erişim tarihi: 20.08.2016)
- 86.** Tan DX., Reiter RJ., Manchester LCD-x., et al., Chemical and Physical Properties and Potential Mechanisms: Melatonin as a Broad Spectrum Antioxidant and Free Radical Scavenger, Current Topics in Medicinal Chemistry, Volume 2, Number 2, pp. 181-197(17), 1 February 2002.
- 87.** Çenesiz M., Atakişi O., Akar A., et al., Kobaylarda 900 ve 1800 MHz Elektromanyetik Alan Uygulanmasının EKG, Nitrik Oksit, Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidan Kapasite, Total Protein, Albumin ve Globulin Düzeyleri Üzerine Etkileri, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fak. Derg., 17 (3): 357-362, 2011.
- 88.** Özcan O., Erdal H., Çakırca G., et al., Oksidatif Stres ve Hücre içi Lipit, Protein ve DNA Yapıları Üzerine Etkileri, Journal of Clinical and Experimental Investigations, 6 (3): 331-336, 2015.
- 89.** <http://www.oksante.com.tr/oksantest.pdf> (Erişim tarihi: 27.08.2016)
- 90.** Young J., Biomarkers of oxidative stress in schizophrenic and control subjects, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 76:73–85, 2007.
- 91.** Valko M., Rhodes CJ., Moncol J., et al., Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-induced Cancer, Chemico-Biological Interactions 160:1–40, 2006.
- 92.** Atmaca E., Aksoy A., Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi, YYU Veteriner Fakültesi Dergisi, 20 (2), 79 – 83, 2009.
- 93.** Dizdaroglu M., Oxidatively induced DNA Damage: Mechanisms, Repair and Disease. Cancer Lett., 327, 26–47, 2012.
- 94.** Erel O., A Novel Automated Method to Measure Total Antioxidant Response Against Potent Free Radical Reactions, Clinical Biochemistry, 37: 112-119, 2004.
- 95.** Erel O., A New Automated Colorimetric Method For Measuring Total Oxidant Status, Clinical Biochemistry, 38:1103–1111, 2005.
- 96.** Cortas NK, Wakid NW: Determination of İnorganic Nitrate in Serum and Urine by a Kinetic Cadmium-reduction Method. Clin Chem, 36(8): 1440-43, 1990.

- 97.** Singh NP., McCoy MT., Tice RR., Schneider EL., A Simple Technique for Quantization of Low Levels of DNA Damage in Individual Cells. *Experimental Cell Research* 175:184 – 191,1988.
- 98.** Mari'n-Huachaca N., Delince'e H., Mancini-Filho J., Villavicencio A.L.C.H., Use of the DNA Comet Assay to Detect Beef Meat Treated by Ionizing Radiation, *Meat Sci.*, 71, 446–450, 2005.
- 99.** Erel Y., Yazici N.,Özvatan S., et al., Detection of Irradiated Quail Meat by Using DNA Comet Assay and Evaluation of Comets by Image Analysis, *Radiation Physics and Chemistry* 78: 776–781, 2009.
- 100.** Person T., Tornevik Ch., Larsson L. E., Loven J., Output Power Distributions of Terminals in 3G Mobile Communication Network, *Bioelectromagnetics*, 33, s: 320-325, 2012.
- 101.** Fidan A.F., DNA Hasar Tespitinde Tek Hücre Jel Elektroföresi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*; 8(1):57-64, 2004.
- 102.** Avcı B., Akar A., Bilgici B., Tuncel ÖK., Oxidative Stress Induced by 1.8 GHz Radio Frequency Electromagnetic Radiation and Effects of Garlic Extract in Rats. *Int J Radiat Biol* 88(11):799–805, 2012.
- 103.** Daşdağ S., Akdag MZ., Kizil G., Kizil M, et al., Effect of 900 MHz Radio Frequency Radiation on Beta Amyloid Protein, Protein Carbonyl, and Malondialdehyde in the Brain, *Electromagn Biol Med* 31(1):67–74,2012.
- 104.** Nazıroğlu M., Gumral N., 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* 85(8):680–689, 2009.
- 105.** Şahin D., Özgür E., Güler G., Tomruk A., et al., The 2100 MHz Radiofrequency Radiation of a 3G-mobile Phone and the DNA Oxidative Damage in Brain, *J. Chem. Neuroanat*,1378 No. of Pages 5, 2016.
- 106.** Ongel K., Gumral N., Ozguner F. The Potential Effects of Electromagnetic Field: A Review, *Cell Membranes And Free Radical Research*, Volume 1 – Number 3-1, 85-89, 2009.
- 107.** Eşmekaya M.A., Sırav B., Özer Ç., Seyhan N.,Radyofrekans Radyasyonun Sıçanların Beyin Dokusundaki Oksidan ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi, *Gazi Med J*, 22: 100, 2011.

- 108.** Güler G., Tomruk A., Özgür E., et al., The Effect of Radiofrequency Radiation on DNA and Lipid Damage in Female and Male Infant Rabbits, *International Journal of Radiation Biology*, 88(4): 367–373, 2012.
- 109.** Güler G., Özgür E., Keleş H., et al., The Neurodegenerative Changes and Apoptosis Induced by Intrauterine and Extrauterine Exposure of Radiofrequency Radiation, *J. Chem. Neuroanat.*, CHENEU-1345; No. of Pages 6, 2015.
- 110.** Daşdağ, S., Bilgin, H.M., Akdağ, M.Z., et al., 2008. Effect of Long Term Mobile Phone Exposure On Oxidative Antioxidative Processes and Nitric Oxide in Rats, *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 22.2008.4
- 111.** Eser O., Songur A., Aktaş C., The Effect of Electromagnetic Radiation on the Rat Brain: An Experimental Study, *Turkish Neurosurgery*, Vol: 23, No: 6, 707-715, 2013.
- 112.** Avcı B., Akar A., Bilgici B., Tuncel O.K., Oxidative Stress Induced by 1.8 GHz Radio Frequency Electromagnetic Radiation and Effects of Garlic Extract in Rats. *Int. J. Radiat. Biol.* 88, 799–805, 2012.
- 113.** Sokolovic D., Djindjic B., Nikolic J., et al., Melatonin Reduces Oxidative Stress Induced by Chronic Exposure of Microwave Radiation from Mobile Phones in Rat Brain. *J. Radiat. Res.* 49, 579–586, 2008.
- 114.** Aydoğan F., Unlu İ., Aydın E., et al., The Effect of 2100 MHz Radiofrequency Radiation of a 3G Mobile Phone on the Parotid Gland of Rats , *American Journal of Otolaryngology*, October 2014.
- 115.** Moustafa YM., Moustafa RM., Belacy A., et al., Effects of Acute Exposure to the Radiofrequency Fields of Cellular Phones on Plasma Lipid Peroxide and Antioxidase Activities in Human Erythrocytes. *J Pharm Biomed Anal*, 26: 605-8, 2001.
- 116.** Zmyslony M., Politanski P., Rajkowska E., et al., Acute Exposure to 930 MHz CW Electromagnetic Radiation in Vitro Affects Reactive Oxygen Species Level in Rat Lymphocytes Treated by Iron Ions. *Bioelectromagnetics*, 25, 324–328, 2004.
- 117.** Dogan M., Turtay M.G., Oguzturk H., et al., Effects of Electromagnetic Radiation Produced by 3G Mobile Phones on Rat Brains: Magnetic Resonance Spectroscopy, Biochemical, and Histopathological Evaluation. *Hum. Exp. Toxicol.* 31, 557–564, 2012.
- 118.** Irmak M.K., Fadilloğlu E., Gulec M., et al., Effects of Electromagnetic Radiation from a Cellular Telephone on the Oxidant and Antioxidant Levels in Rabbits, *Cell Biochemistry and Function*, 20, 279-283, 2002.

- 119.** Mora R., Crippa B., Mora F., Dellepiane M., A Study of the Effects of Cellular Telephone Microwave Radiation on the Auditory System in Healthy Men, *Ear Nose Throat J.*, 85:162-163, 2006.
- 120.** Kato H, Liu Y, Kogure K, Kato K. Induction of 27-kDa heat shock protein following cerebral ischemia in rat model of ischemic tolerance. *Brain Res.*, 634: 235-44, 1994.
- 121.** Yarıktas M, Doner F, Ozguner F, Gokalp O, Dogru H, Delibas N. Nitricoxide Level in the Nasal and Sinus Mucosa after Exposure to Electromagnetic Field. *Otolaryngol Head Neck Surg.*, 132: 713-6, 2005.
- 122.** Ilhan A., Gurel A., Armutcu F., et al., Ginkgo Biloba Prevents Mobile Phone-Induced Oxidative Stress in Rat Brain, *Clin Chim Acta.*, 340(1-2): 153-162, 2004.
- 123.** Özgür E., Guler G., Seyhan, N., Mobile Phone Radiation-induced Free Radical Damage in the Liver is Inhibited by the Antioxidants N-acetyl Cysteine and Epigallocatechin-gallate. *Int. J. Radiat. Biol.*, 86, 935–945, 2010.
- 124.** Özgüner F., Bardak Y., Çömlekci S., Protective Effects of Melatonin and Caffeic Acid Phenethyl Ester Against Retinal Oxidative Stress in Long-term Use of Mobile Phone, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 282: 83–88, 2006.
- 125.** Özgüner F., Altınbaş A., Ozaydin M., et al., Mobile Phone-induced Myocardial Oxidative Stress: Protection by a Novel Antioxidant Agent Caffeic Acid Phenethyl Ester, 21 (7-8), 223-230, 2005.
- 126.** Olgar Y., Hıdisoğlu E., Cenk M., et al., 2.1 GHz Electromagnetic Field Does Not Change Contractility and Intracellular Ca^{2+} Transients but Decreases β -adrenergic Responsiveness through Nitric Oxide Signaling in Rat Ventricular Myocytes, *International Journal of Radiation Biology*, 2015; Early Online: 1–7, 2015.
- 127.** Daşdağ S., H.M. Bilgin H.M., Akdağ M.Z., et al., Effect of Long Term Mobile Phone Exposure On Oxidative Antioxidative Processes and Nitric Oxide in Rats, *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 22/2008/4
- 128.** Irmak M.K., Fadıllıoğlu E., Gulec M., et al., Effects of Electromagnetic Radiation from a Cellular Telephone on the Oxidant and Antioxidant Levels in Rabbits, *Cell Biochemistry and Function*, 20, 279-283, 2002.
- 129.** Desai N.R., Kesari K.K., Agarwal A., Pathophysiology of Cell Phone Radiation: Oxidative Stress and Carcinogenesis with Focus on Male Reproductive System, *Reprod. Biol. Endocrinol*; 7, 114, 2009.

- 130.** Vijayalaxmi., Prihoda T.J., Genetic Damage in Human Cells Exposed to Non-ionizing Radiofrequency Fields: A meta-analysis of the data from 88 publications (1990–2011), *Mutation Research* 749: 1– 16, 2012.
- 131.** Kesari KK., Siddiqui MH., Ramovatar M., et al., Cell phone Radiation Exposure on Brain and Associated Biological Systems. *Indian J Exp Biol.*, 51: 187–200, March 2013.
- 132.** Paulraj R., Behari J., Single Strand DNA Breaks in Rat Brain Cells Exposed to Microwave Radiation. *Mutat Res.*, 596: 76–80, 2006.
- 133.** Sarkar S., Ali S., Behari J., Effect of Low Power Microwaves on the Mouse Genome: a Direct DNA Analysis. *Mutat Res.*, 320: 141–147, 1994.
- 134.** Lai H., Singh N.P., Single- and Double-Strand DNA Breaks in Rat Brain Cells after Acute Exposure to Radiofrequency Electromagnetic Radiation. *Int J Radiat Biol.*, 69: 513– 521, 1996.
- 135.** Lai H., Singh N.P., Magnetic-field-induced DNA Strand Breaks in Brain Cells of the Rat. *Environ. Health Perspect.* 112, 687–694, 2004.
- 136.** Phillips J.L., Singh N.P., Lai H., Electromagnetic Fields and DNA Damage. *Pathophysiology* 16, 79–88, 2009.
- 137.** Oral B., Guney M., Ozguner F., et al., Endometrial Apoptosis Induced by a 900-MHz Mobile Phone: Preventive Effects of Vitamins E and C. *Adv. Ther.* 23, 957–973, 2006.
- 138.** Helbock HJ., Beckman KB., Ames BN., 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-Hydroxyguanine as Biomarkers of Oxidative DNA Damage, *Methods Enzymol*, 300, 156-66, 1999.
- 139.** Xu S., Zhou Z., Zhang L., et al., Exposure to 1800 MHz Radiofrequency Radiation Induces Oxidative Damage to Mitochondrial DNA in Primary Cultured Neurons, *Brain Research*, 189-196, 2010.
- 140.** Gürler H.Ş., Bilgici B., Akar A., et al., Increased DNA Oxidation (8-OHdG) and Protein Oxidation (AOPP) by Low Level Electromagnetic Field (2.45 GHz) in Rat Brain and Protective Effect of Garlic, *International Journal of Radiation Biology*, 90(10): 892–896, October 2014.
- 141.** Burlaka A., Tsybulin O., Sidorik E., et al., Overproduction of Free Radical Species in Embryonal Cells Exposed to Low Intensity Radiofrequency Radiation. *Exp. Oncol.*, 35:219–225, 2013.

- 142.** Khalil A.M., Gagaa M.H., Alshamali A.M., 8-Oxo-7, 8- Dihydro-2'-Deoxyguanosine as a Biomarker of DNA Damage by Mobile Phone Radiation, *Hum. Exp. Toxicol.*, 31:734–740, 2012.
- 143.** Kesari K.K., Meena R., Nirala J., et al., Effect of 3G Cell Phone Exposure with Computer Controlled 2-D Stepper Motor on Non-thermal Activation of the hsp27/p38MAPK Stress Pathway in Rat Brain. *Cell Biochem. Biophys.* 68, 347–358, 2014.
- 144.** Yao K., Wu W., Wang K., et al., Electromagnetic Noise Inhibits Radiofrequency Radiation-induced DNA Damage and Reactive Oxygen Species Increase in Human Lens Epithelial Cells, *Mol. Vis.* 14, 964–969, 2008.
- 145.** Deshmuck P.S., Megha K., Banerjee B.D., et al., Detection of Low Level Microwave Radiation Induced Deoxyribonucleic Acid Damage Vis-a-vis Genotoxicity in Brain of Fischer Rats, *Toxicology International* Jan-Apr 2013 / Vol-20 / Issue-1
- 146.** Belyaev I., Koch CB., Terenius O., et al., Persson BR: Exposure of Rat Brain to 915 MHz GSM Microwaves Induces Changes in Gene Expression but Not Double Stranded DNA Breaks or Effects on Chromatin Conformation. *Bioelectromagnetics* 27: 295–306, 2006.
- 147.** Nikolova T., Czyz J., Rolletschek A., Blyszczuk P., et al., Electromagnetic Fields Affect Transcript Levels of Apoptosis-related Genes in Embryonic Stem Cell-Derived Neural Progenitor Cells, *FASEB J.* 19, 1686–1688, 2005.
- 148.** Çam S.T., Seyhan N., Single-strand DNA Breaks in Human Hair Root Cells Exposed to Mobile Phone Radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 88, 420–424, 2012.
- 149.** Dieme E., Schwarz C., Aldkofer F., et al., Non-thermal DNA Breakage by Mobile-Phone Radiation (1800 MHz) in Human Fibroblasts and in Transformed GFSH-R17 Rat Granulosa Cells in Vitro, *Mutat Res.*, 6;583(2):178-83, 2005.
- 150.** Paulraj R., Behari J., Single Strand DNA Breaks in Rat Brain Cells Exposed to Microwave Radiation. *Mutat Res.*, 596(1-2):76-80, 11 Apr 2006.
- 151.** Stronati L., Testa A., Moquet J., et al., 935 MHz Cellular Phone Radiation: An in Vitro Study of Genotoxicity in Human Lymphocytes. *International Journal of Radiation Biology* 82.339 – 346, 2006.
- 152.** Scarfi MR., Freseigna AM., Villani P., et al., Exposure to Radiofrequency Radiation (900 MHz, GSM signal) Does not Affect Micronucleus Frequency and Cell

Proliferation in Human Peripheral Blood Lymphocytes: An interlaboratory study. *Radiation Research* 165:655 – 663, 2006.

153. Zeni O., Chiavoni A.S., Sannino A., Antolini A., Forigo D., Bersani F., Scarfi MR., Lack of Genotoxic Effects (micronucleus induction) in Human Lymphocytes Exposed in Vitro to 900 MHz Electromagnetic Fields. *Radiation Research* 160:152 – 158, 2003.

154. Zeni O., Romano M., Perrotta A., et al., Evaluation of Genotoxic Effects in Human Peripheral Blood Leukocytes Following an Acute in Vitro Exposure to 900 MHz Radiofrequency Fields. *Bioelectromagnetics* 26: 258– 265, 2005.

155. Verschaeve L., Heikkinen P., Verheyen G., et al., Investigation of Co-genotoxic Effects of Radiofrequency Electromagnetic Fields In Vivo. *Radiat. Res.* 165, 598-607, 2006.

156. Takahashi S., Inaguma S., Cho Y-M., et al., Lack of Mutation Induction with Exposure to 1.5 GHz Electromagnetic Near Fields Used for Cellular Phones in Brains of Big Blue Mice. *Cancer Res* 62: 1956-1960, 2002.

157. Trosic I., Pavicic I., Milkovic-Kraus S., et al., Effect of Electromagnetic Radiofrequency Radiation on the Rats' Brain, Liver and Kidney Cells Measured by Comet Assay Coll. *Antropol*, 35: 4: 1259–1264, 2011.

158. Akdağ M.Z., Daşdağ S., Cantürk F., et al., Does Prolonged Radiofrequency Radiation Emitted from Wi-Fi Devices Induce DNA Damage in Various Tissues of Rats?, *Journal of Chemical Neuroanatomy* 75:116–122, 2016.

159. Olive P.L., Banath J.P., Durand R.E., *Radiat. Res.* 122: 86, 1990.

160. Rojas E., Lopez M.C., Valverde M., Single Cell Gel Electrophoresis Assay: Methodology and Applications, Review, *Journal of Chromatography B*, 722: 225–254, 1999.

161. Kumaravel T.S., Vilhar B., Stephen P., et al., Comet Assay Measurements: a Perspective, *Cell Biol Toxicol.*, 25:53–64, 2009.

162. Kolarevic S., Kolarevic M.K., Kostic J., et al., Assessment of the Genotoxic Potential along the Danube River by Application of the Comet Assay on Haemocytes of Freshwater Mussels, *j.scitotenv.*, 06.061, 2015.

163. Kennedy E.K., McNamee J.P., Lalonde L.P., et al., Acellular Comet Assay: a Tool for Assessing Variables Influencing the Alkaline Comet Assay, *Radiation Protection Dosimetry*, Vol.148, No.2,pp.155-161, 2012.

- 164.** Burlinson B., Tice RR., Speit G., Agurell E., Brendler-Schwaab SY., Collins AR., et al., In vivo Comet Assay Workgroup, Part of the Fourth International Workgroup on Genotoxicity Testing: results of the in vivo Comet Assay Workgroup. *Mutat Res.*, 627,31–5, 2007.
- 165.** Paulraj R, Behari J. Radio Frequency Radiation Effects on Protein Kinase C Activity in Rats' Brain. *Mutat Res.*, 545:127-30, 2007.



5. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Muş'ta doğdum. İlkokulu Muş Karakale beldesinde ve lise eğitimimi de Muş lisesinde tamamladım. 2000-2005 yılları arasında Gaziantep Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği bölümünde okudum. Yüksek lisansımı 2010-2012 yılları arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında tamamladım. 2013 yılında Doktora öğrenimime Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında başladım ve doktora eğitimim devam etmektedir. 2007-2011 yılları arasında Vangölü Edaş Muş İl Müdürlüğünde Elektrik arıza bakım onarım koordinatör mühendisi olarak çalıştım. 2011 yılında Muş Alparslan Üniversitesinde öğretim görevlisi olarak işe başladım ve halen burada görevime devam etmekteyim. Evli 3 çocuk babasıyım.

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
PROF. DR. SABAHATTİN PAYZIN SAĞLIK BİLİMLERİ
ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURULU
(DÜHADEK)



ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	KARAR NO	ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ
17.02.2016	7	Prof. Dr. Mehmet Zülküf AKDAĞ

KARAR

“Cep telefonlarından yayımlanan farklı frekanslı Radyofrekans Radyasyonunun ratların Beyin Dokusundaki DNA Hasarı, Bazı Oksidan ve Antioksidan Enzimler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” konulu ve 2016/10 protokol numaralı araştırma projesi Etik Kurulumuzca görüşülmüş olup araştırmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet ONAY
Fen Fak. Biyoloji AD
(BAŞKAN V.)

Yrd. Doç. Dr. Salih KAYA
Veteriner Fak. Fizyoloji AD (Raportör)

Doç. Dr. Abdurrahman ABAKAY
Tıp Fak. Göğüs Hast. AD
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Tahir BAYRIL
Veteriner Fak. Zootekni AD
(ÜYE)

Ferhat DEMİR
Veteriner Hekim
(ÜYE)

Doç. Dr. Savaş KAYA
Tıp Fak. İmmünoloji AD
(ÜYE)

Doç. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN
Veteriner Fak. Hist. ve Embr. AD
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. M Hüseyin ALKAN
Eczacılık Fak. Biyokimya AD
(ÜYE)

CEP TELEFONLARINDAN YAYINLANAN FARKLI FREKANSLI RADYO FREKANS RADYASYONUN RATLARIN BEYİN DOKUSUNDAKİ DNA HASARI, BAZI OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

% 12	% 6	% 4	% 7
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul Medeniyet Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 4
2	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 1
3	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
4	Submitted to Yeditepe University Öğrenci Ödevi	<% 1
5	www.scribd.com İnternet Kaynağı	<% 1
6	www.tard.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	medicaljournal.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	ziraatdergi.harran.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1