

**CEP TELEFONU RADYASYONUNUN SIÇAN (*Wistar albino*) KARACİĞER
DOKUSUNDAKİ OKSİDANT/ANTIOKSİDANT DENGESİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Emine OKCU YAYKAŞLI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2006

ANKARA

Emine OKCU YAYKAŞLI tarafından hazırlanan CEP TELEFONU RADYASYONUNUN SIÇAN (*Wistar albino*) KARACİĞER DOKUSUNDAKİ OKSİDANT/ANTİOKSİDANT DENGESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Ahmet YAŞAR
Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: : Prof. Dr. Şule PEKYARDIMCI

Üye : Prof. Dr. Ahmet YAŞAR

Üye : Prof. Dr. Selma ATEŞ

Üye : Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Elif LOĞOĞLU

Tarih : 06/06/2006

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Emine OKCU YAYKAŞLI

**CEP TELEFONU RADYASYONUNUN SIÇAN (*Wistar albino*) KARACİĞER
DOKUSUNDAKİ OKSİDANT/ANTIOKSİDANT DENGESİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Emine OKCU YAYKAŞLI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Haziran 2006**

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, cep telefonu radyasyonunun sıçan karaciğer dokusundaki oksidant/antioksidant dengesi üzerine etkisi ve bu etki üzerine C vitamininin olası koruyucu rolünün belirlenmesidir. Çalışmada kırk adet dişi *Wistar albino* türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar; kontrol, cep telefonu, C vitamini, cep tel.+C vit. olmak üzere dört gruba ayrıldı ve oksidant/antioksidant değişkenler çalışıldı. Cep telefonu grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karaciğer dokusu MDA içeriğinde ve SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinde anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). C vitamini grubu ile kontrol grubu kıyaslandığında, karaciğer dokusu MDA içeriğinde ($p<0,05$) ve SOD, GSH-Px aktivitelerinde ($p<0,01$) anlamlı bir azalma bulundu. Cep tel. + C vit. grubu ile, cep tel. grubu arasında karaciğer dokusu MDA içeriğinde ve SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinde anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Cep tel. + C vit. grubu ile C vit. grubu kıyaslandığında, karaciğer dokusu MDA içeriğinde ($p<0,05$) ve SOD, GSH-Px aktivitelerinde ($p<0,01$) anlamlı bir artış bulundu.

Bilim Kodu : 201.1.020
Anahtar Kelimeler : Antioksidant, C vitamini, Cep telefonu radyasyonu, Karaciğer
Sayfa Adedi : 92
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Ahmet YAŞAR

**THE INVESTIGATION OF EFFECTS OF MOBILE PHONE RADIATION
ON OXIDANT/ANTIOXIDANT STATUS OF LIVER TISSUE FROM
RAT(*Wistar albino*)
(M.Sc. Thesis)**

Emine OKCU YAYKAŞLI

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
June 2006**

ABSTRACT

In the present study, it is aimed to evaluate possible effects of mobile phone radiation on oxidant/antioxidant status of rat liver tissue, and possible protective role of vitamin C on these effects. Forty females *Wistar albino* type rats were used in the study. The rats were divided into 4 groups randomly. There were 10 rats in each group (Control, Mobile phone, Vitamin C alone and, Mobile phone plus Vitamin C). Oxidant and antioxidant parameters were studied. When compared to control group, no significant changes were observed in the MDA levels and SOD, CAT, GSH-Px enzyme activities in the liver tissues from rats exposed to mobile phone ($p>0,05$). For the group supplied with vitamin C, MDA levels ($p<0,05$) and SOD, GSH-Px activities ($p<0,01$) were found to significant decrease relative to the control group. No significant difference was however observed in the analysis parameters of the liver tissues between the rats exposed to mobile phone radiation only and those exposed to mobile phone plus vitamin C ($p>0,05$). For the group supplied with vitamin C, MDA levels ($p<0,05$), and SOD, GSH-Px activities ($p<0,01$) were found to significant increase relative to the mobile phone plus vitamin C group.

Science Code : 201.1.020
Key Words : Antioxidant, Vitamin C, Mobile phone radiation, liver
Page Number : 92
Adviser : Prof. Dr. Ahmet YAŞAR

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren hocam ve tez danışmanın Sayın Prof. Dr. Ahmet YAŞAR'a yine kıymetli tecrübelerinden faydalandığım ve hiçbir konuda yardımını esirgemeyen, yol gösteren Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı öğretim üyesi hocam Sayın Prof. Dr. İlker DURAK'a ve tez araştırmalarımın laboratuvar deneyleri aşamasında samimi destekleri ile yardımcı olan Dr. Erdinç DEVRİM, Dr. İmge ERGÜDER ve Havva KARAOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerinden dolayı, sevgili hocalarım, Dr. Fatma ASLAN, Dr. Halit ASLAN'a ve Dr. Servet ÇETE'ye teşekkür ederim.

Emekleri ile karşılığını ödeyemeyeceğim, bana olan güven ve inançlarını sonsuz hissettiren, tüm dert ve sıkıntılarımda yanımda olan, sevgili annem Gültuna OKCU ve babam Ümit OKCU'ya, katkılardan dolayı kardeşlerim Yunus Emre OKCU ve Esen OKCU'ya, her konuda destek olan, güç veren ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili eşim Kürşat Oğuz YAYKAŞLI'ya teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL VE TEORİK BİLGİLER.....	3
2.1. Serbest Radikaller.....	3
2.1.1. Serbest oksijen radikalleri.....	3
2.1.2. Serbest radikallerin kaynakları.....	7
2.1.3. Serbest radikallerin biyokimyasal etkileri.....	9
2.1.4. Serbest radikallerin proteinlere etkileri.....	12
2.1.5. Serbest radikallerin DNA' ya etkileri.....	12
2.1.6. Serbest radikallerin biyolojik ortamlarda ölçülmesi.....	14
2.2. Antioksidant Savunma Mekanizmaları.....	14
2.2.1. Enzim yapısında olan antioksidantlar.....	16
2.2.2. Enzim yapısında olmayan antioksidantlar.....	20
2.2.3. Oksidatif stres.....	26
2.3. Cep Telefonu Çalışma Sistemi.....	27
2.3.1. Cep telefonu sistemlerinin çalışması.....	27

Sayfa

2.3.2. Sınır değerler.....	28
2.3.3. Cep telefonlarından yayılan elektromanyetik dalgaların canlılara etkileri.....	29
2.4. Karaciğer.....	30
2.4.1. Karaciğerin yapısı.....	30
2.4.2. Karaciğerin işlevleri.....	32
2.5. İstatistiksel Yöntemler.....	32
2.5.1. İstatistiksel anlamlılık denemeleri.....	32
2.5.2. Tek yönlü değişim analizi(ANOVA).....	34
2.5.3. Tukey's yöntemi.....	37
2.6. Cep Telefonu ve Oksidant/Antioksidant Denge ile İlgili Çalışmalar.....	38
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	44
3.1. Denekler.....	44
3.2. Hayvanların Hazırlanması.....	44
3.2.1. Numune çözeltilerinin hazırlanması.....	44
3.3. Materyaller.....	45
3.3.1. Cihazlar.....	45
3.3.2. Kimyasal maddeler.....	45
3.4. Deney Yöntemleri.....	46
3.4.1. Protein içeriği ölçme yöntemi(Lowry yöntemi).....	46
3.4.2. Malondialdehit(MDA) içeriği ölçme yöntemi.....	48
3.4.3. Süperoksit dismutaz(SOD) aktivitesi ölçme yöntemi.....	50
3.4.4. Katalaz(CAT) aktivitesi ölçme yöntemi.....	52

Sayfa

3.4.5. Glutatyon peroksidaz(GSH-Px) aktivitesi ölçme yöntemi.....	53
3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	56
4. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	57
4.1. Protein İçeriğini Ölçme Deneyi.....	57
4.2. Malodialdehit (MDA) İçeriğini Ölçme Deneyi.....	58
4.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçme Deneyi.....	65
4.4. Katalaz (CAT) Aktivitesi Ölçme Deneyi.....	73
4.5. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Ölçme Deneyi.....	78
5. SONUÇLAR.....	86
KAYNAKLAR.....	88
ÖZGEÇMİŞ.....	92

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Radikal olan ve olmayan oksijen türevi bileşiklere örnekler.....	4
Çizelge 2.2. Tek yönlü değişim analiz çizelgesi.....	36
Çizelge 3.1. Protein içeriği ölçme yöntemi.....	47
Çizelge 3.2. MDA içeriği ölçme yöntemi.....	49
Çizelge 3.3. SOD aktivitesi ölçme yöntemi.....	51
Çizelge 3.4. Katalaz(CAT) aktivitesi ölçme yöntemi.....	53
Çizelge 3.5. GSH-Px aktivitesi ölçme yöntemi.....	55
Çizelge 4.1. Protein içerikleri(mg/mL).....	57
Çizelge 4.2. Sıçanların karaciğer dokusunun MDA içerikleri (Ham değerler).....	58
Çizelge 4.3. Sıçanların karaciğer dokusunun atılan değerler(--) dışındaki MDA içerikleri.....	60
Çizelge 4.4. Sıçanların karaciğer dokusunun MDA içerikleri (Ort.±S.H.).....	60
Çizelge 4.5. MDA için ANOVA(F Denemesi) istatistiksel değerlendirmesi.....	61
Çizelge 4.6. MDA için Tukey's HSD denemesi istatistiksel değerlendirmesi.....	62
Çizelge 4.7. Sıçanların karaciğer dokusunun MDA içeriği değerlerinin anlamlılık durumları.....	63
Çizelge 4.8. Sıçanların karaciğer dokusunun SOD aktiviteleri (Ham değerler).....	66
Çizelge 4.9. Sıçanların karaciğer dokusunun atılan değerler(--) dışındaki SOD aktivitesi değerleri.....	68
Çizelge 4.10. Sıçanların karaciğer dokusunun SOD aktivite değerleri (Ort.±S.H.).....	68

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.11. SOD için ANOVA(F Denemesi) istatistiksel değerlendirmesi.....	69
Çizelge 4.12. SOD için Tukey's HSD denemesi istatistiksel değerlendirmesi.....	69
Çizelge 4.13. Sıçanların karaciğer dokusunun SOD aktivite değerlerinin anlamlılık durumları.....	70
Çizelge 4.14. Sıçanların karaciğer dokusunun CAT aktiviteleri (Ham değerler).....	73
Çizelge 4.15. Sıçanların karaciğer dokusunun CAT aktivite değerleri (Ort.±S.H.).....	75
Çizelge 4.16. CAT için ANOVA(F Denemesi) istatistiksel değerlendirmesi.....	75
Çizelge 4.17. CAT için Tukey's HSD denemesi istatistiksel değerlendirmesi.....	76
Çizelge 4.18. Sıçanların karaciğer dokusunun CAT aktivite değerlerinin anlamlılık durumları.....	76
Çizelge 4.19. Sıçanların karaciğer dokusunun GSH-Px aktiviteleri (Ham değerler).....	79
Çizelge 4.20. Sıçanların karaciğer dokusunun atılan değerler(--) dışındaki GSH-Px aktivitesi değerleri.....	81
Çizelge 4.21. Sıçanların karaciğer dokusunun GSH-Px aktivite değerleri (Ort.±S.H.).....	81
Çizelge 4.22. GSH-Px için ANOVA(F Denemesi) istatistiksel değerlendirmesi.....	82
Çizelge 4.23. GSH-Px için Tukey's HSD denemesi istatistiksel değerlendirmesi.....	82
Çizelge 4.24. Sıçanların karaciğer dokusunun GSH-Px aktivite değerlerinin anlamlılık durumları.....	83

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Serbest radikallerin hücresel hedefleri.....	13
Şekil 2.2. Glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz tepkimeleri.....	18
Şekil 2.3. Serbest radikal hasarına karşı enzimatik savunma sistemi.....	19
Şekil 2.4. L-askorbik asitten L-Dehidroaskorbik asit oluşumu.....	20
Şekil 2.5. E vitamini.....	21
Şekil 2.6. Glutasyon(GSH).....	22
Şekil 2.7. β -Karoten.....	23
Şekil 2.8. Koenzim Q.....	24
Şekil 2.9. Kuersetin.....	24
Şekil 2.10. Melatonin.....	25
Şekil 2.11. Ürik asit.....	26
Şekil 2.12. Karaciğerin konumu.....	31
Şekil 2.13. Verilerin dağılım aralığı.....	33
Şekil 2.14. F dağılımı.....	36
Şekil 3.1. Protein kalibrasyon grafiği.....	47
Şekil 3.2. MDA ile TBA arasındaki reaksiyon.....	48
Şekil 3.3. MDA kalibrasyon grafiği.....	50
Şekil 4.1. Grupların MDA içeriğinde şüpheli değerler.....	59
Şekil 4.2. Grupların SOD aktivitesinde şüpheli değerler.....	67
Şekil 4.3. Grupların CAT aktivitesinde şüpheli değerler.....	74
Şekil 4.4. Grupların GSH-Px aktivitesinde şüpheli değerler.....	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
Cl	Klor
°C	Celsius derece
Cu	Bakır
ρ	Yoğunluk
Fe	Demir
G	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
HOCl	Hipoklorik asit
L	Litre
RO [•]	Alkoksiradikali
LOO [•]	Peroksiradikali
LOOH	Lipit hidroperoksit
M	Molar
MA	Mol Kütlesi
mg	Miligram
mL	Mililitre
Mn	Mangan
μ L	Mikrolitre
mU	Miliünite
nm	Nanometre
Na ₂ MoO ₄	Sodyum molibdat
Na ₂ WO ₄	Sodyum tungstat
nmol	Nanomol

Simgeler**Açıklama**

NO[•]	Azot monoksit radikali
NO₂[•]	Azot dioksit radikali
O₂	Moleküler oksijen
O₂^{•-}	Süperoksit radikali
HO[•]	Hidroksi radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit
U	Ünite
v/v	Hacim/Hacim
m/m	Kütle/Kütle
Zn	Çinko

Kısaltmalar**Açıklama**

A	Absorbans
CAT	Katalaz
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
GSH	Glutatyon(İndirgenmiş)
GSSG	Glutatyon(Yükseltgenmiş)
GSH-Px	Glutatyon Peroksidaz
MDA	Malondialdehit
NBT	Nitroblue Tetrazolium
Ort.	Ortalama
Oks.	Oksitlenmiş
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
S.H.	Standart Hata
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TCA	Trikloraasetik Asit
TEP	Tetraetoksi Propan
XO	Ksantin Oksidaz

1. GİRİŞ

Elektromanyetik dalgalar, birçok doğal ve insan yapımı kaynaklar tarafından yayılmakta ve hayatımızda önemli bir rol oynamaktadır. Radyo frekans (RF) bölgesinde (3kHz-300GHz) yer alan elektromanyetik dalgalar iletişimde, radyo ve televizyon yayınlarında kullanılmaktadır. Teknolojideki gelişmelerin bir sonucu olarak elektromanyetik dalgaların kullanımı her geçen gün artmakta ve bundan dolayı günlük yaşantıda doğada bulunanın çok üstündeki seviyelerde elektromanyetik dalgalara maruz kalınmaktadır. Radyo frekansındaki elektromanyetik dalgaların foton enerjileri, atomları ve molekülleri iyonlaştıracak düzeyde değildir. Cep telefonu iletişim sistemlerinin neden oldukları ısınım, iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgesinde yer almaktadır. Ortamdaki iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik dalgaların etkisinde kalma sonucunda canlılarda iki tür etki oluşabilir. Isıl Etkiler ve Isıl Olmayan Etkiler [1].

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu oksijenli ortamda hayatın kaçınılmaz sonucudur. Sağlıklı bir organizmada reaktif oksijen türleri oluşumu ile enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant savunma sistemleri arasında bir denge vardır. Reaktif oksijen türlerinin üretiminin artması ve/veya antioksidant savunma sistemlerinin zayıflaması sebebiyle, bu dengenin bozulması sonucu “oksidatif stres” denilen durum ortaya çıkar [2].

Bir hücre herhangi bir şekilde hasara uğrarsa bunun sonucunda süperoksit üretimi artabilir. Bu nedenle antioksidant savunma mekanizmalarının desteklenmesi, ortaya çıkabilecek zararların azaltılmasına katkıda bulunabilmektedir. Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidant savunma sistemleri vardır. Serbest radikaller ile antioksidantlar arasındaki hassas denge korunamadığı takdirde hücre hasarlanmasına kadar giden birçok fizyopatolojik değişiklik ortaya çıkabilir [3,4].

Cep telefonu ısımasının sıçan karaciğer dokusundaki oksidant/antioksidant dengesi üzerine etkisi ve bu etki üzerine C vitaminin olası koruyucu rolünün belirlenmesi bu çalışmanın amacıdır. Bu çalışmada 40 adet 6 haftalık *Wistar albino* cinsi dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar rastgele dört gruba ayrıldı. Her grupta 10 hayvan olacak şekilde gruplar; kontrol grubu, cep telefonu grubu, C vitamini grubu ve cep telefonu + C vitamini grubu diye dört gruba ayrıldı. Çalışmada, hayvanların karaciğer dokularında oksidant değişkenlerden MDA içeriği, antioksidant değişkenlerden ise süperoksit dsimutaz (SOD), katalaz (CAT) ve Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri tayin edildi.

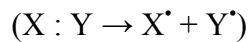
2. GENEL VE TEORİK BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller

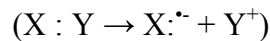
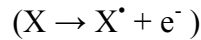
Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran atom veya moleküllerdir [5]. Bu eşleşmemiş elektrondan dolayı molekül çok kararsız haldedir. Dış orbitaldeki eşleşmemiş elektronun eşleşmesini sağlamak ve daha kararlı hale gelmesi için, diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde aktif bir yapı gösterirler [6].

Serbest radikaller 3 yolla oluşabilir [7]:

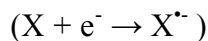
- Normal bir molekülün kovalent bağının, molekülün her bir parçasında eşleşmiş elektronlardan bir tanesi kalacak şekilde homolitik bölünmesi ile;



- Normal bir molekülden tek bir elektron kaybı ile veya bir molekülün kovalent bağındaki iki elektronun bir atomda kalacak şekilde heterolitik bölünmesi ile;



- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile;



Biyolojik ortamlarda serbest radikal oluşumunda en sık görülen yol, moleküle bir elektron eklenmesidir. Homolitik bölünme, sıklıkla yüksek sıcaklık, ultraviyole ışın veya ısıma gibi yüksek bir enerji girişine ihtiyaç duyar.

2.1.1. Serbest oksijen radikalleri

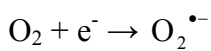
Biyolojik ortamlardaki en önemli serbest radikaller, oksijenin radikal türleridir (Reaktif oksijen türleri;ROT). Reaktif oksijen türleri sadece serbest oksijen radikallerini içermeyip, oksijen radikali oluşumunda yer alan, radikal olmayan

oksijen türlerini de içerir [5]. Radikal olan ve olmayan oksijen türevleri bileşiklerine örnekler Çizelge 2.1’de verilmiştir.

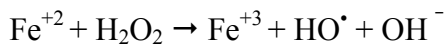
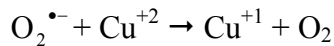
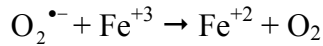
Çizelge 2.1.Radikal olan ve olmayan oksijen türevi bileşiklere örnekler

Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Hidroksi	(HO [•])	Hidrojen peroksit	(H ₂ O ₂)
Alkoksi	(RO [•])	Singlet oksijen	(O ₂ ^{↑↓}) veya (O ₂ ^{(↑)(↓)})
Azot dioksit	(NO ₂ [•])	Peroksinitrit	(ONOO ⁻)
Nitrik oksit (Azot monoksit)	(NO [•])	Lipit hidroperoksit	(LOOH)
Peroksi	(ROO [•])	Ozon	(O ₃)
Süperoksit	(O ₂ ^{•-})	Hipoklorik asit	(HOCl)

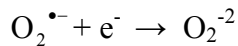
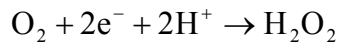
Moleküler oksijen (O₂) dış orbitallerinde iki eşleşmemiş elektron içerir. Bu elektronların spinleri paraleldir(↑)(↑). O₂’nin bundan sonraki en kararlı şekli dış yörüngesine iki elektron alması ile gerçekleşir. Bu yeni elektronların spinleri ise öncekilerin tersi yönünde olmalıdır. Böylece konfigürasyon $[(\uparrow\downarrow)(\uparrow\downarrow)]$ şeklini alır. Bu reaksiyonun tek aşamada gerçekleşmesi için O₂’nin dış yörüngesinde paralel spinli iki elektronu olan bir molekülle reaksiyona girmesi gerekir. Bu tür moleküller tabiatta nadiren bulunur. Bu nedenle O₂’nin dış yörüngesine elektronlar birer birer alınır. Bunun sonucunda süperoksit radikali (O₂^{•-}) oluşur [7].



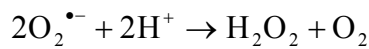
Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$): Süperoksit radikali doğada çoğunlukla indirgendir. Hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metal iyonları için indirgen olması sebebiyle önemlidir. Fe^{+3} iyonunu Fe^{+2} iyonu haline getirerek, geçiş metal iyonu aracılığıyla hidroksil radikali meydana gelmesine katkıda bulunur [8].



Hidrojen peroksit (H_2O_2): Moleküler oksijenin 2 elektron alarak indirgenmesi ile elde edilir. Süperoksit radikalinin ikinci elektronu alması ile O_2^{-2} oluşur.

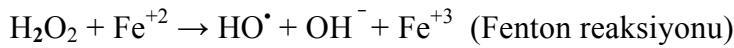
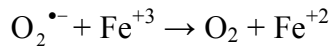
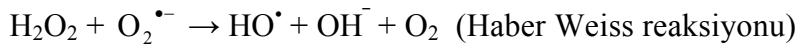


Fizyolojik pH'da O_2^{-2} nin protonlanması ile hidrojen peroksit oluşur. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksit genellikle süperoksit radikalinden oluşur. İki süperoksit molekülü, hidrojen peroksit ve oksijen molekülü oluşturmak üzere reaksiyona girer.



Bu bir dismutasyon reaksiyonudur. Çünkü serbest radikal reaktifleri, radikal olmayan ürünler oluştururken, süperoksit anyon radikallerinden biri yükseltgeyici diğeri indirgeyici rol oynamaktadır [9]. Sitokrom P-450, D-amino asit oksidaz, asetil koenzim A oksidaz ve ürik asit oksidaz enzimleri de moleküler oksijene 2 elektron taşıyarak H_2O_2 oluşumuna yol açabilirler [5]. Hidrojen peroksit molekülü bir radikal değildir, ancak 2 elektron daha alma isteğinde olan kararsız bir yapıdadır. Geçiş metalleri olan Fe^{+2} ve Cu^{+1} H_2O_2 'ye bir elektron vererek O-O bağının açılmasına, böylece de hidroksi radikali oluşturma kapasitesine sahiptir [9]. Dismutasyon reaksiyonu yavaş olarak kendiliğinden yürür veya süperoksit

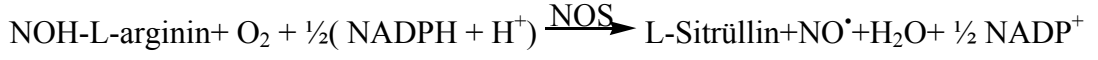
dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmamakla birlikte reaktif oksijen türleri sınıfına girer. Hidrojen peroksit, serbest radikal biyokimyasında önemli bir bileşiktir. Geçiş metal iyonlarının bulunduğu ortamda hidrojen peroksit, serbest oksijen radikallerinden en fazla hasar verici özelliğe sahip bulunan hidroksi radikalini ($HO^{\bullet}$) oluşturmak üzere parçalanabilir (Haber Weiss ve Fenton reaksiyonları). Metal katalizörler olmadığında, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit, ortamdan hemen uzaklaştırılarak zararsız hale getirilirler [10].



Hidroksi radikali ($HO^{\bullet}$): Çok kararsız, çok reaktiftir. Yarı ömrü çok kısadır (10^{-6} s). Birçok molekülle reaksiyona girer. Bu yüzden hücrede yayılır ve üretildiği bölgedeki çok dar bir alanda büyük hasara yol açar. Ayrım göstermeksizin her türlü organik molekülü oksitleyebilir [11].

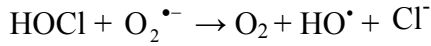
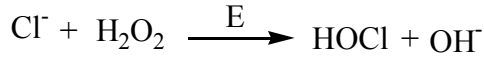
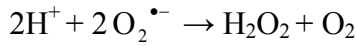
Singlet oksijen ($O_2^{\uparrow\downarrow}$) veya ($O_2^{(\uparrow)(\downarrow)}$): Moleküler oksijen tarafından emilen enerjinin elektronlarda yeniden bir düzenleme yapması sonucunda oluşur. Moleküler oksijenin, 2p son orbitallerinde aynı yönde dönen iki elektron bulunmaktadır. Bu orbitallerin herhangi birindeki elektron, bir orbitalden diğerine geçtiğinde veya farklı orbitallerde farklı yönde döndüğünde singlet oksijen oluşmaktadır [7]. Dış orbitallerdeki elektronlar antiparalel spinlidir, bu yüzden kararsız bir yapı gösterir. Lipit peroksidasyonu süresince peroksit radikalleri birbiri ile çarpışarak çok az miktarlarda singlet oksijen meydana getirebilirler, bu da daha fazla peroksit üretimine sebep olur.

$NO^{\bullet}$ (Nitrik oksit): $NO^{\bullet}$ molekülünün yarı ömrü saniyeler düzeyindedir. Argininden, nitrik oksit sentaz(NOS) enzimi tarafından sentezlenir. Sentez iki basamakta gerçekleşir [12].



$\text{NO}^\bullet$, süperoksit radikali ile birleşerek peoksinitriti ($\text{OONO}^\bullet$) oluşturur. Peroksinitrit, $\text{HO}^\bullet$ radikali vermek üzere parçalanabilir.

HOCl(Hipoklorik asit): H_2O_2 ile miyeloperoksidaz enzimi, klor iyonlarını hipoklorik aside dönüştürmektedir. Hipoklorik asit, çok reaktif olan hidroksi ($\text{HO}^\bullet$) radikalini oluşturmaktadır [7].

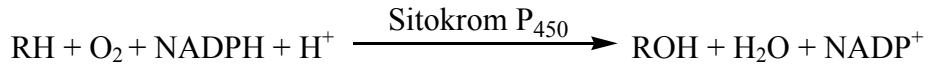
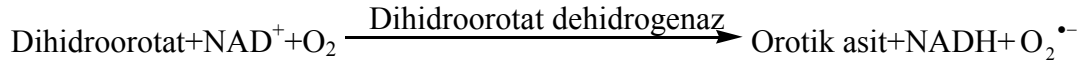
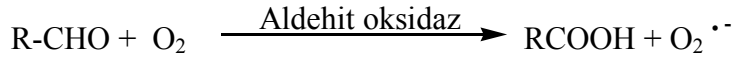
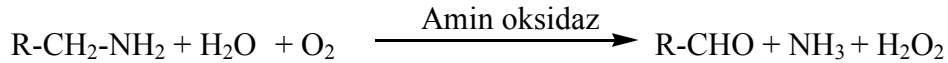
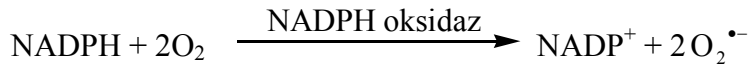
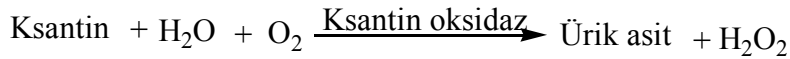
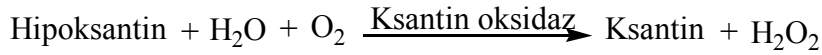


2.1.2. Serbest radikallerin kaynakları

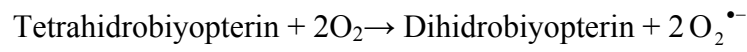
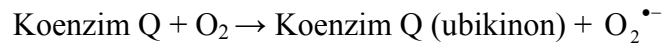
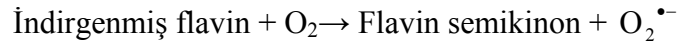
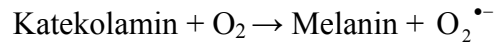
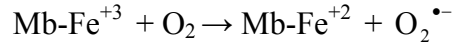
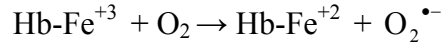
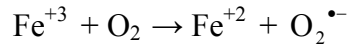
Serbest radikalleri de içeren reaktif oksijen metabolitleri, hücresel metabolizmanın normal yan ürünleri olarak aşağıda belirtildiği gibi devamlı oluşmaktadır [5]:

- Elektron taşıma zinciri: Normal koşullarda mitokondride bulunan ETZ, oksijeni suya indirger. Elektron taşıma zincirinde yer alan pek çok bileşik (NADH dehidrojenaz, Süksinat dehidrojenaz, Sitokrom oksidaz , Koenzim Q gibi) oksijen ile tepkimeye girerek $\text{O}_2^{\bullet-}$ salınımına sebep olmaktadır. Bu, tek değerli oksijen kaçağı olarak tanımlanmaktadır. Bu kaçağa sebep olan faktörler bilinmemektedir. Normal koşullarda bu kaçak hücrenin savunma sistemleri ile yok edilebilmektedir. Ancak oksidatif hasar durumunda savunma sistemleri yetersiz kalmakta ve mitokondride hasar oluşmaktadır. Bu hasar sonucu hücrenin enerji sisteminin etkilenmesi ile ATP kullanımındaki artışa ve ATP sentezindeki azalmaya bağlı olarak ATP düzeyi hızla düşmektedir [7].

- Enzimatik tepkimeler: Oksijen içeren tepkimeleri katalizleyen enzimler oksidazlar veya oksijenazlar olarak sınıflandırılmaktadır. Elektronları oksijene aktaran oksidazlar, oksijenin su veya hidrojen perokside indirgenmesini sağlamaktadır. Oksijenazlar ise, oksijenin bir substratın yapısına katılmasını gerçekleştirmektedirler. Bu gruptaki enzimlerin katalizlediği tepkimelerde serbest radikaller oluşabilmektedir. Vücutta enzimatik tepkimelerde reaktif oksijen türleri meydana gelmektedir [7]. Reaktif oksijen türlerinin enzimatik kaynakları aşağıda verilmiştir.



- Enzimatik olmayan tepkimeler : Otooksidasyon tepkimeleri sonucu enzimatik olmayan kaynaklardan reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin enzimatik olmayan kaynakları aşağıda verilmiştir.



- Dış etkenler: Çeşitli dış etkenler ile reaktif oksijen türleri oluşabilmektedir. Reaktif oksijen türlerini oluşturan dış etkenler aşağıda verilmiştir.

-Işıma

-Sağlığa Zararlı Kimyasal Maddeler(CCl_4 , kloroform, bromobenzen gibi.)

-Hava kirliliği(Azot dioksit, ozon, kükürt dioksit gibi.)

-Metaller(Ti ,Al, Pb, Ni , Hg, As gibi.)

-Antibiyotikler

-Sigara, Alkol

2.1.3. Serbest radikallerin biyokimyasal etkileri

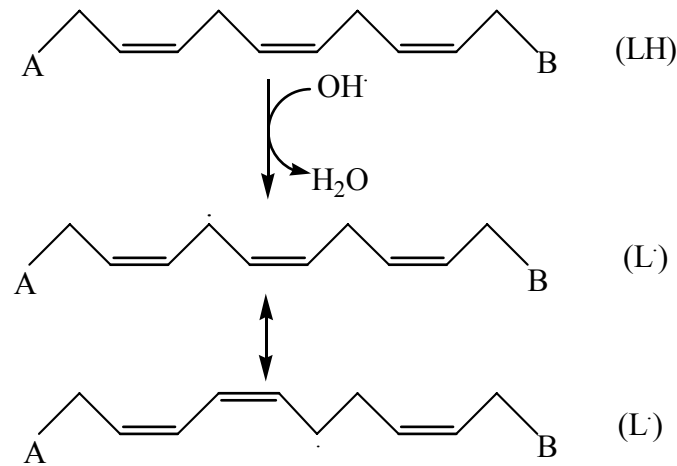
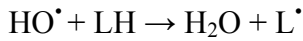
Serbest radikallerin en önemli hedefleri lipidler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Serbest radikallerin genellikle karşılaştıkları ilk yapı hücre veya zarların lipid bileşenleridir [5]. Serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonu bu mekanizmanın klasik bir örneğidir.

Lipit Peroksidasyonu

Hücre zarları çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengindir. Çoklu doymamış yağ asitleri, oksitleyici radikaller için kolay hedefler. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve zincirleme olarak kendiliğinden süren bir reaksiyondur [8].

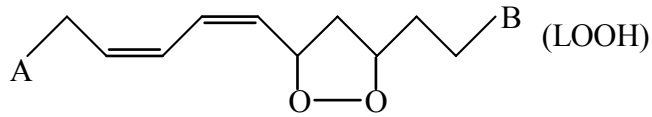
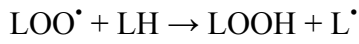
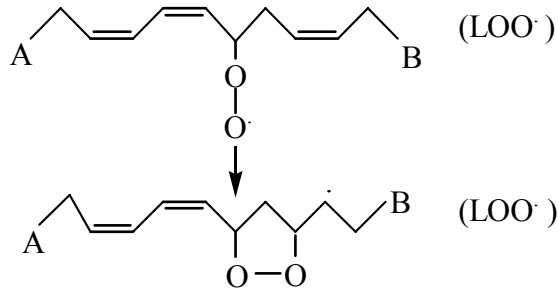
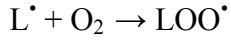
Hidrojen atomu bir radikal özelliği gösterir, çünkü bir proton ve bir elektrona sahiptir. Biyolojik bir molekülden bir hidrojen atomu ayrıldığında geride kalan molekülde eşleşmemiş bir elektron bırakır. Hidroksi radikali gibi etkili olan radikaller, bir hidrojen kopararak biyolojik molekül ile etkileşime girerler. Bu lipit peroksidasyonunu başlatan bir reaksiyondur. Bu reaksiyonlar dört basamakta oluşur [13]:

1. Başlama basamağı: $\text{HO}^\bullet$ radikali, bir yağ asidinin(LH) metilen kısmından bir hidrojen atomu(H) kopararak lipit radikali oluşturur.

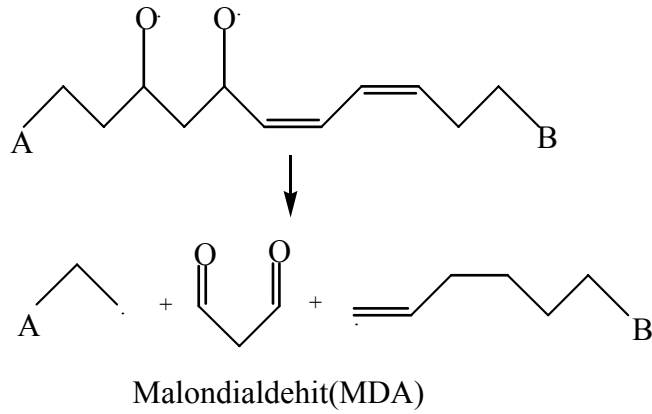


Bu reaksiyon hem zar lipitleri hem de besinlerdeki yağlar için geçerlidir.

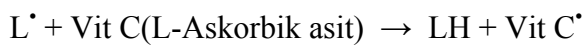
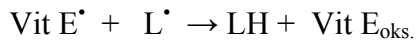
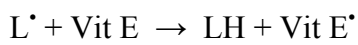
2. İlerleme basamağı: Zincir reaksiyonu, oluşan lipit radikaline O_2 ilavesi ile devam eder ve lipit peroksi radikali($\text{LOO}^\bullet$) ile lipit hidroperoksidi (LOOH) oluşur.

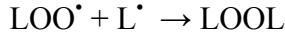
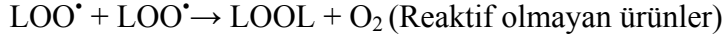
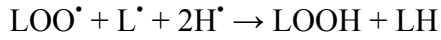


3. Yıkım basamağı: Tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipit parçalanması ile sonuçlanır. Bu oluşan ürünlerden birisi, malondialdehit (MDA)dir. Kan ve idrarda saptanabilir.



4. Sonlanma basamağı: Zincir reaksiyonu, antioksidantlar tarafından ayrıca radikallerin birbiri ile tepkime vermesiyle sonlandırılabilir.





Lipit peroksidasyonunun, zar lipit yapısındaki değişiklikler nedeni ile zar işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına sebep olduğu düşünülmektedir [13].

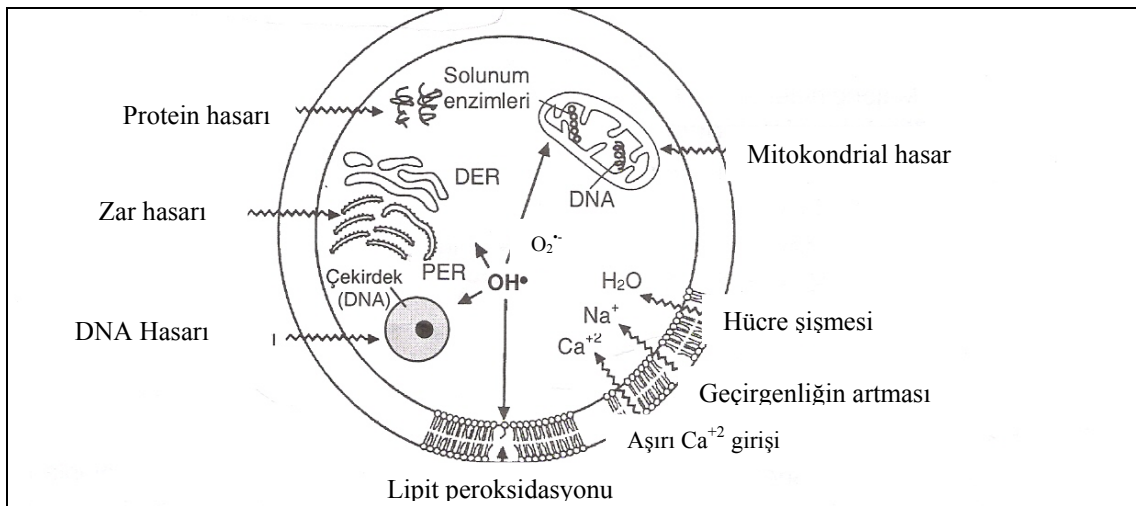
2.1.4. Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Proteinler, serbest radikallerden, çoklu doymamış yağ asitlerine göre daha az etkilenirler. Radikaller çok yoğun olmadığı takdirde proteinlere çok hasar verici değildir. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asit bileşimlerine bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren moleküllerin serbest radikallere ilgisi yüksek olduğundan, triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitler içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu amino asitlerin oksidasyonu proteinlerin parçalanmasına, çapraz bağ oluşumuna, proteinlerin proteolitik parçalanmaya yatkın hale gelmesine sebep olmaktadır [5].

2.1.5. Serbest radikallerin DNA'ya etkileri

Sağlığa zararlı oksijen metabolitlerinden doğrudan nükleik asitler de etkilenerek baz hidroksilasyonu, DNA iplikçiklerinin çapraz bağlanması veya kırılmasına yol açabilir. Bu da hücre ölümü veya mutasyonla sonuçlanır. Sitotoksiste, büyük oranda nükleik asit baz değişimlerinden ileri gelen kromozom değişikliklerine veya DNA'nın yapısındaki diğer bozukluklara bağlıdır. Hidroksi radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar [14].

Hasar, doğrudan veya dolaylı olabilir. Doğrudan hasar H_2O_2 'ten oluşan hidroksi radikalinin DNA'ya çok yakın bir yerde oluşması ve onu kırması şeklindedir. Dolaylı olarak ise hücre içi sıvıda serbest Ca^{++} 'nın çok artması proteazları aktive edebilir. Bunun sonucunda hücre iskeleti bozulur. Nükleazların aktivasyonu sonucu DNA kırılması gerçekleşir. Serbest radikaller ve özellikle malondialdehit, hücre çekirdeğinde başlıca DNA ile tepkimeye girmektedir. Nükleik asit yapısındaki baz değişimleri veya DNA zincir kopması sonucu kromozomal yapıda değişiklikler oluşturarak sitotoksitesiye sebep olmaktadır. Bu güne kadar oksidatif olarak değişmiş yaklaşık 20 tip DNA saptanmıştır. Sonuçta mutajenik ve kanserojenik etkiler gözlenmektedir [7]. Serbest radikaller hücresel yapıları etkileyerek Şekil 1.1'de verildiği gibi hücre hasarına yol açmaktadır [7].



Şekil 2.1. Serbest radikallerin hücresel hedefleri

Lipit peroksidasyonu ve kükürt içeren proteinlerin oksidasyonu sonucu zar geçirgenliğinin artması ile zar enzimlerinin aktivitesi azalmakta ve hücreye Ca^{+2} girişi artmaktadır. Hücre içi serbest Ca^{+2} artışına bağlı olarak artan fosfolipaz aktivitesi fosfolipit kaybının artmasına, zar geçirgenliğinde değişiklik ve potansiyel farkındaki azalmaya bağlı olarak sağlığa zararlı etkiye artışa, proteaz aktivasyonu ile proteolitik etkilerin artmasına, katabolik enzimlerin aktivitesinde artışa ve endonükleaz aktivitesi ile DNA yıkımlarına yol açmaktadır [7].

2.1.6. Serbest radikallerin biyolojik ortamlarda ölçülmesi

Serbest radikallerin biyolojik ortamlardaki aktivitelerini ölçmede kullanılan standart bir yöntem olmamakla birlikte, kullanılan ve kabul gören birçok yöntem vardır. Bunlar 3 grup altında toplanabilir [5]:

1. Hücre içi antioksidant düzeylerin ölçülmesi (Antioksidant enzim aktiviteleri, C ve E vitamin derişimleri),
2. Serbest radikal aktivitesinin dolaylı göstergeleri (lipit peroksidasyon ürünleri MDA, DNA oksidasyon ürünleri, protein oksidasyon ürünleri),
3. Serbest radikal aktivitesinin doğrudan belirleyicisinin ölçülmesi (elektron spin rezonans (ESR) çalışmaları).

2.2. Antioksidant Savunma Mekanizmaları

Aerobik organizmalarda reaktif oksijen türleri sürekli olarak meydana gelir. Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidant savunma sistemleri veya kısaca antioksidantlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikaller ile antioksidantlar arasındaki hassas denge korunamadığı takdirde hücre hasarlanmasına kadar giden birçok fizyopatolojik değişiklik ortaya çıkabilir [3,4].

Antioksidantların belirlenen ilk etkileri zar yapısında mevcut olan lipitlerin peroksidasyonuna karşı koruma sağlamaktır. Antioksidantlar hedef moleküllerdeki oksidatif hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bu tanımla ilgili olarak antioksidantların farklı etkileri vardır [15].

Antioksidantların başlıca etki türleri;

- Temizleyici Etki: Reaktif oksijen türlerinin enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi (Antioksidant enzimler).

- Bastırıcı Etki: Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi (Vitaminler, flavanoitler). Bu gruba giren maddeler reaktif oksijen türleri ile etkileşip onlara bir hidrojen vererek aktivite kaybetmelerine sebep olurlar.
- Zincir Kırıcı Etki: ROT'lerini ve zincir reaksiyonlarını başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp, zincir reaksiyonlarını durdurup fonksiyonlarını önleyici etki gösterirler. Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşumu reaksiyonlarının engellenmesi (Hemoglobin, mineraller).
- Onarıcı Etki: Hedef moleküllerin hasar sonrası onarımı veya ortamdan uzaklaştırılması.

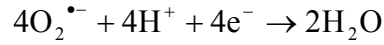
Antioksidantlar şu şekilde sınıflandırılabilir [15];

1. Yapılarına göre
 - a. Enzimler
 - b. Enzim olmayan proteinler, küçük moleküller
2. Kaynaklarına göre
 - a. Organizmaya ait olanlar[Endojen(iç kaynaklı) antioksidantlar]
 - b. Dışardan alınanlar[Ekzojen(dış kaynaklı) antioksidantlar]
3. Çözünürlüklerine göre
 - a. Suda çözünenler
 - b. Lipitlerde çözünenler
4. Yerleşimlerine göre
 - a. Hücre içinde bulunanlar
 - b. Plazma ve diğer hücreler arası sıvılarda bulunanlar

2.2.1. Enzim yapısında olan antioksidantlar

Sitokrom Oksidaz

Mitokondrilerde solunum zincirinin son basamağında yer alan ve bakır içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlar [16].



Süperoksit radikallerinin oluşumu çoğu defa enzimin kapasitesini aşar ve bu aşamada diğer enzimler de devreye girerek süperoksit radikalının zararlı etkileri engellenir.

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi, $2\text{O}_2^{\bullet-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$, reaksiyonunu katalizleyerek süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Bunun sonucunda hücre içi süperoksit radikal seviyeleri azalır.

Organizmada SOD'nin iki izoenzimi vardır. Bunlar, sitosolde bulunan dimerik yapıdaki bakır ve çinko içeren Cu, Zn-SOD ile mitokondrilerde bulunan tetramerik yapıdaki mangan içeren Mn-SOD'dir[17]. SOD'nin fizyolojik görevi hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır. Buna karşılık hücre dışı sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür [15]. SOD'nin katalizlediği reaksiyon kendiliğinden olan dismutasyona göre, fizyolojik pH'da 10.000 kat daha hızlıdır. Böylece ortamdan süperoksit radikali hızlıca uzaklaştırılır. Cu, Zn-SOD ile Mn-SOD'nin etki mekanizması aynıdır. İki enzim arasındaki temel fark, aktiviteleri üzerine pH'nin etkisidir. Her ikisi de pH 7'de aktiftir. Fakat Cu, Zn-SOD'nin

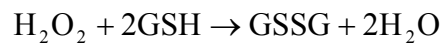
aktivitesi pH 5,5-10 aralığında değişmezken, Mn-SOD, pH 7'nin üzerine çıktığında aktivitesini kaybeder.

Katalaz (CAT)

Katalaz hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalayan, ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) reaksiyonunu katalizler[17]. Enzim peroksizomlarda bulunur. Yapısında dört tane hem grubu vardır. Bir hemoproteindir. Reaksiyon hidrojen peroksit derişimleri yükseldiğinde önemlidir [18]. Düşük derişimlerde ise peroksidazlar hidroperoksitlerin daha az reaktif olan alkollere ve suya parçalanmasını katalizler. Katalaz bir molekül hidrojen peroksidi elektron vericisi bir substrat olarak ve diğer hidrojen peroksit molekülünü ise oksidant veya elektron alıcısı olarak kullanabilmektedir. Katalaz, kanda, kemik iliğinde, böbrek ve karaciğerde bulunur. Katalaz enzimi, hidrojen peroksit ve metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki eder, lipid hidroperoksitlere etki etmez [15].

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz bir hidroperoksidazdır. Hidroperoksidazlar, substrat olarak hidrojen peroksit veya organik peroksit kullanır. Vücudu zararlı peroksitlere karşı korurlar. Peroksitlerin birikimi serbest radikallerin oluşmasına yol açar. Peroksidazlar, peroksitleri çeşitli elektron alıcıları kullanarak indirgerler. Glutasyon peroksidaz, sitosolde yerleşik bir enzimdir. Tetramer yapısındadır. Dört selenyum atomu içerir. Hidrojen peroksidin ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini sağlar [18].



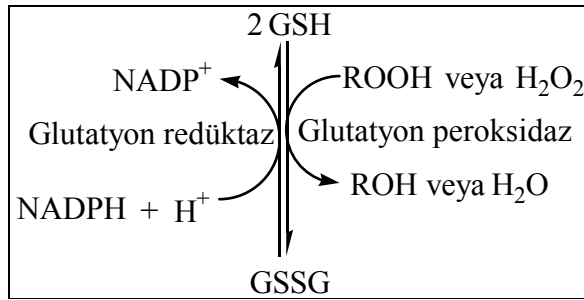
Eritrositlerde ve diğer dokularda, prostetik grup olarak selenyum içeren glutasyon peroksidaz, indirgenmiş glutasyon kullanarak hidrojen peroksit ve lipid

hidroperoksitlerinin parçalanmasını katalizler [15]. Amaç, zar lipidlerinin ve hemoglobinin peroksitler tarafından yükseltgenmesine karşı korumadır.

GSH-Px'in iki substratı vardır. Substratlarından biri olan H_2O_2 suya, diğer substratı olan organik hidroperoksit alkole indirgenirken, bu sırada koenzim olan glutatyon (GSH) ise yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutatyon (GSSG), glutatyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyona dönüşür [15].



Glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktazın tepkimeleri Şekil 1.2'de verilmiştir [7].



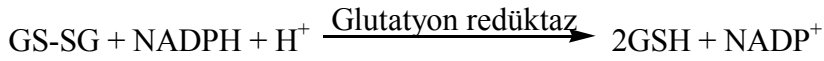
Şekil 2.2. Glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz tepkimeleri

Kullanılan koenzim NADPH, esas olarak pentoz fosfat yolundan sentezlenir. Bir diğer GSH-Px, "fosfolipit-hidroperoksit glutatyon peroksidaz" enzimidir. Bu enzim de selenyum içerir, en çok monomerik yapıdadır. Zar yapısındaki fosfolipit hidroperoksitlerini alkollere indirgeyerek özellikle E vitamininin yetersiz olduğu durumlarda peroksidasyona karşı koruma sağlar [15].

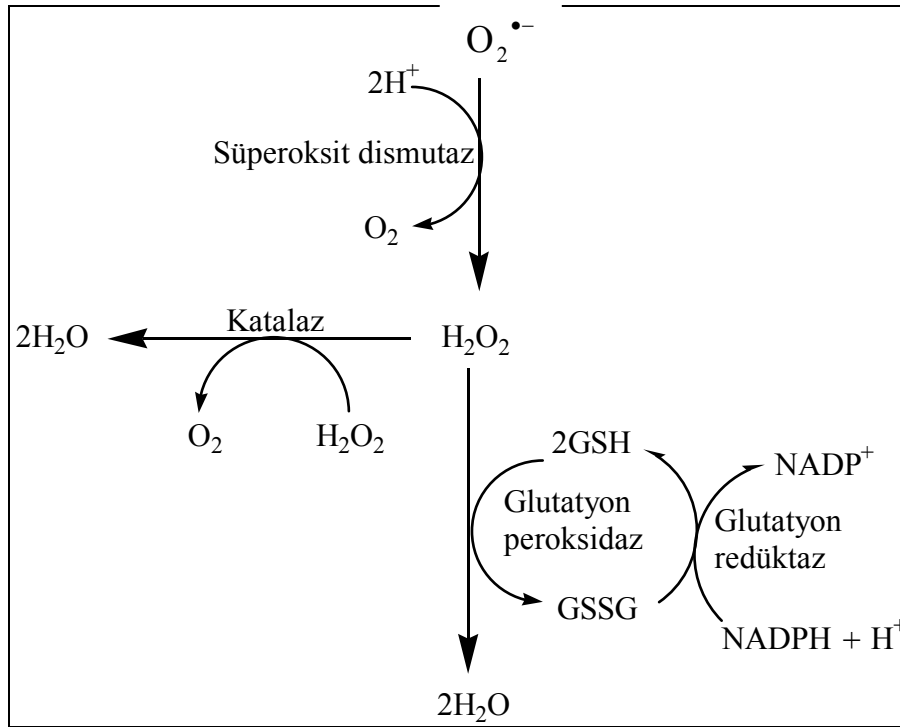


Glutasyon Redüktaz

Hidrojen peroksitin indirgenmesi sırasında GSH oksitlenir. GSH-Px'in etkisinin sürebilmesi için oksitlenmiş glutasyonun (GS-SG) yeniden indirgenmesi gerekir. Bu reaksiyon NADPH bağımlı bir flavoprotein yapısında olan GSH redüktaz tarafından katalizlenir [7].



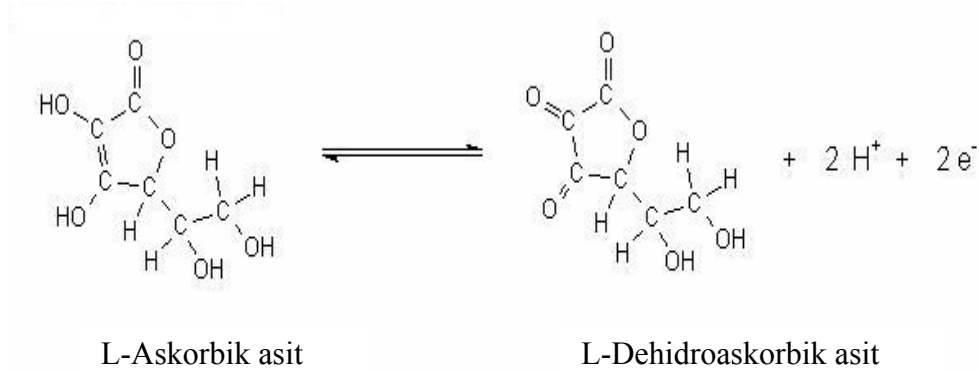
Serbest radikal hasarına karşı enzimatik savunma sistemi Şekil 1.3'te verilmiştir [18].



Şekil 2.3. Serbest radikal hasarına karşı enzimatik savunma sistemi

2.2.2. Enzim yapısında olmayan antioksidantlar

C Vitamini(Askorbik Asit)

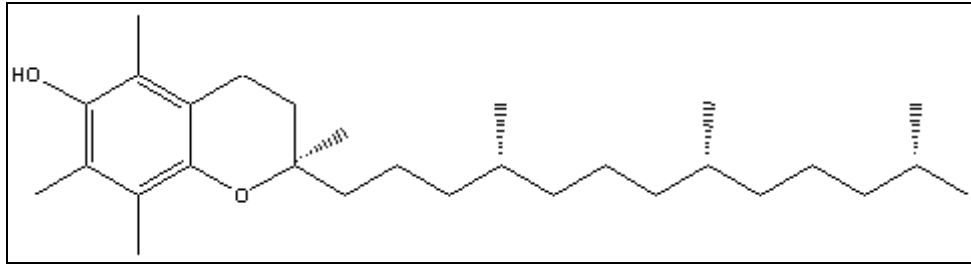


Şekil 2.4. L-askorbik asitten L-Dehidroaskorbik asit oluşumu

Askorbik asit, suda çözünen vitaminlerdendir. İnsanlarda sentez edilemediğinden dışardan besinlerle alınması gerekir. Özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve turuncgillerde bol miktarda bulunur. Isıtmaya dayanıksız, dondurulmaya dayanıklıdır. İnce bağırsaklardan kolayca emilir. Dokularda ve plazmada askorbat iyonu şeklinde bulunur. C vitamini bir ketolaktondur. Altı karbonlu C vitamini 2. ve 3. karbonlarının meydana getirdiği endiol yapısı vücutta dehidro şekline kolayca dönüşebildiği için bir indirgendir [19]. L-askorbik asitten L-Dehidroaskorbik asit oluşumu Şekil 1.4'te verilmiştir. Askorbik asidin organizma içindeki önemi, indirgeyici gücünün yüksek olmasından kaynaklanır. Hidroksilleme reaksiyonlarında indirgeyici bileşik olarak görev yapar. Kollajen sentezinde lizin ve prolin hidroksillenmesi için gereklidir. Askorbik asit, semidehidroaskorbat radikali üzerinden, dehidroaskorbik aside yükseltgenir. Dehidroaskorbat da fizyolojik şartlarda glutatyon ile etkileşir ve askorbata indirgenir [20]. Askorbik asit aynı zamanda kuvvetli bir antioksidantdır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipidleri ve zarları da oksidatif hasarlara karşı korur. E vitamininin rejenerasyonunda görev alır, tokoferoksil radikalinin, alfa-tokoferole indirgenmesini sağlar. Böylece E

vitamini ile birlikte etkin bir şekilde LDL'yi oksidasyona karşı korur [8]. Askorbik asit, Fe^{+3} 'ü, Fe^{+2} 'ye indirgeyen, süperoksit radikali dışında tek hücre içi moleküldür. Bu etkisiyle Fe^{+3} 'ü indirger. Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye uygun olan Fe^{+2} 'ye dönüştürür ve hidroksi radikalının oluşumuna sebep olur. Bu özelliği, C vitamininin prooksidant etki göstermesine sebep olmaktadır [8].

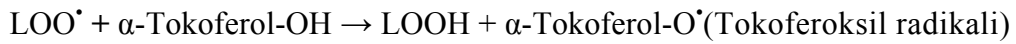
E Vitamini



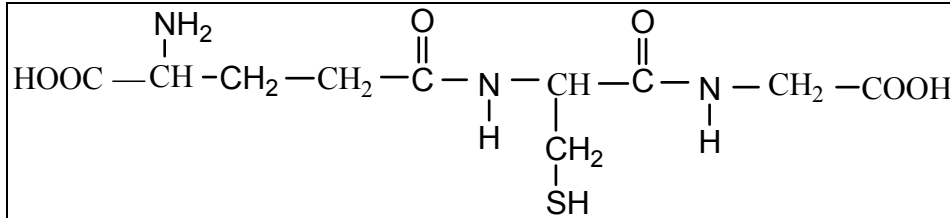
Şekil 2.5. E vitamini

E vitamini, tokoferol ve tokotrienol türevlerini kapsayan bir vitamindir. Doğal olarak, alfa, beta, gama, delta, eta ve zeta gibi çeşitli şekilleri bulunmaktadır. Bunların hepsi, izoprenoit takısı içeren bileşiklerdir. Antioksidant aktivitesi en yüksek olan tokoferol, alfa-tokoferoldür. Alfa-tokoferolün molekül yapısı Şekil 1.5'te verilmiştir. Yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka, aktif kısmını oluşturur ve molekülün antioksidant özelliği bu gruptan kaynaklanır [8]. Bitkisel yağlar ve tohumlar, E vitaminince zengindir. Besinlerle alınan E vitamini, yağda çözülmüş haldedir, yağların sindirimi sırasında emilir. Emilebilmesi için safra asidi düzeylerinin de normal sınırlarda olması gerekir. E vitamini herhangi bir taşıyıcı protein olmadan pasif difüzyonla emilir. Dokularda, mitokondri ve mikrozomlar gibi hücresel yapılarda bulunur. E vitamini dolaşımında lipoproteinlerle taşınır (şilomikronlar ve LDL). Adipoz dokuda depolanır. E vitamini, LDL oksidasyonunu engellemektedir [21]. Çok kuvvetli bir antioksidant olarak, zarlardaki fosfolipitlerin yapısındaki poli-doymamış yağ asitlerini, serbest radikallerin etkisinden koruyan ilk savunma

hattını oluşturur. E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksitlerini ve diğer radikalleri indirger, NO[•] ile de reaksiyona girebilir. Tokoferolün antioksidant etkisi, yüksek oksijen derişimlerinde fazladır. E vitamini ile GSH peroksidaz, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. GSH peroksidaz, oluşan peroksitleri ortadan kaldırırken, E vitamini peroksitlerin oluşumunu engeller. E vitamini selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. E vitamini selenyumun kaybını önleyerek veya onun aktif olmasını sağlayarak organizmanın selenyum ihtiyacını azaltır. E vitamininin, zincir reaksiyonunu kırıcı antioksidant olarak başlıca fonksiyonu, lipid peroksitlerini etkisiz hale getirerek peroksidasyon zincir reaksiyonunu sonlandırmaktır. Bu sırada oluşan tokoferoksil radikali kararlı bir moleküldür, glukuronik asitle konjuge yapıya dönüşür ve safra ile atılır [15].



Glutasyon (GSH)

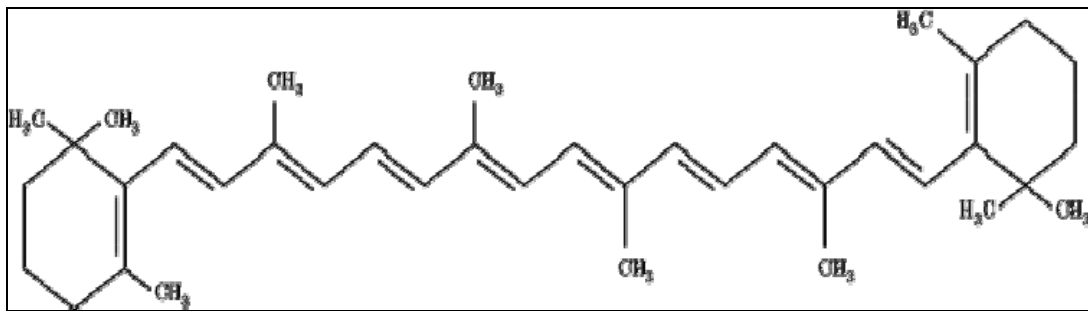


Şekil 2.6. Glutasyon(GSH)

Glutasyon başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan ve glutamat, sistein ve glisinden sentezlenebilen bir tripeptittir [11]. Glutasyonun molekül yapısı Şekil 1.6'da verilmiştir. Glutasyon antioksidant ve indirgeyici bir maddedir. Glutasyona antioksidant özelliği sisteinin tiyol grubu kazandırır. GSH peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substratıdır. Glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidant hasara karşı korur. Ayrıca, proteinlerdeki sülfhidril(-SH) gruplarını

indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. Amino asitlerin zarlardan taşınmasını sağlar. İndirgenmiş glutatyon (GSH) çeşitli reaksiyonlarla yükseltgenerek, yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) dönüşür. GSSG'nin tekrar indirgenmesi NADPH'nın kullanıldığı bir reaksiyonla olur. Bu şekilde dokularda GSH/GSSG oranı yüksek tutulur [15].

Karotenoitler ve Retinoitler



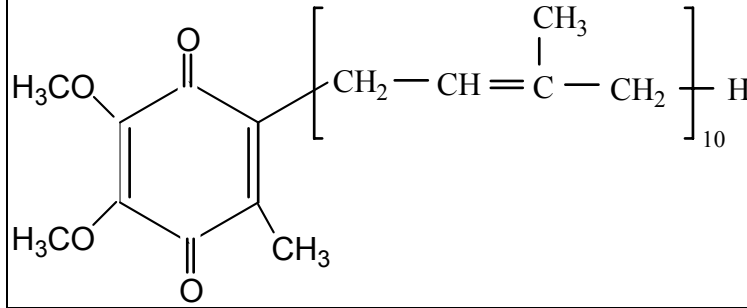
Şekil 2.7. β -Karoten

Karotenoitler çeşitli sebze ve meyvelerde bulunan bitki pigmentleridir. A vitamininin metabolik ön maddesi olan beta-karoten bu karotenoitlerden başlıcasıdır. β -Karotenin molekül yapısı Şekil 1.7'de verilmiştir. Karotenoitler, hücreyi oksidantların hasarlarına karşı üç farklı şekilde korurlar [15]:

1. Flavinler ve porfirinlerin zararlı etkilerini baskılama.
2. Singlet oksijeni baskılama.
3. Peroksil radikallerinin temizlenmesi.

Retinoitler, plazmada lipoproteinler ve retinol-bağlayıcı protein aracılığıyla taşınırlar. Beta-karoten ve likopen gibi retinoitler LDL yapısında yer alır ve LDL'yi oksidasyona karşı korurlar [15].

Übikinonlar

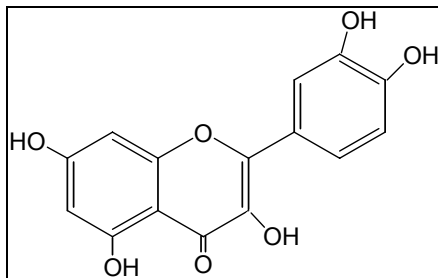


Şekil 2.8. Koenzim Q

Übikinonlar, lipidlerde çözünen ve izoprenoit takı içeren kinon türevleridir. Soya yağı, et, balık gibi besinlerde ve bazı sebzelerde bulunurlar. İndirgenmiş şekilleri olan übikinoller, übikinonlara göre antioksidant olarak daha etkilidirler. İnsanlarda bulunan temel übikinon, übikinon-10(Koenzim Q)'dur. Koenzim Q'nun molekül yapısı Şekil 1.8'de verilmiştir. Esas görevi olan solunum zincirindeki elektron taşıyıcılığının yanında, oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile etkileşerek lipid peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin hasar görmesini engeller [15].

Diğer Antioksidantlar

Flavonoitler

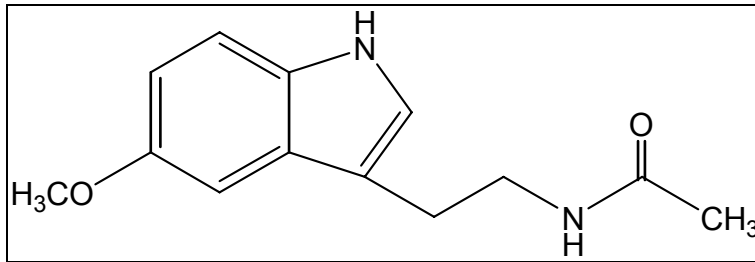


Şekil 2.9. Kuersetin

Lipitlerde çözünen antioksidantlar sınıfından olan flavonoitler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renkli pigmentleri oluşturan polifenollerdir [22]. Bir flavonoit olan olan kuersetinin yapısı Şekil 1.9'da verilmiştir. Şarap ve çay gibi bitkisel kaynaklı içeceklerde bulunurlar. Flavonoitlerin farklı yollarla lipit peroksidasyonunu engellediği belirlenmiştir [15]:

1. Peroksidasyonu başlatan radikalleri tutarlar.
2. Metal iyonlarını bağlarlar.
3. Radikal oluşturunca enzimleri inhibe ederler. Ancak bazı flavonoitlerin metal iyonlarıyla etkileşerek prooksidant etki yaptığı da saptanmıştır.

Melatonin

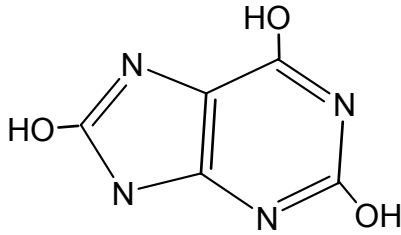


Şekil 2.10. Melatonin

En zararlı radikallerden hidroksi radikalini sonlandıran çok kuvvetli bir antioksidanttır. Melatoninin molekül yapısı Şekil 1.10'da verilmiştir. Melatonin, hidroksi radikalini, $\text{NO}^\bullet$ ve peroksinitritleri temizler [22]. Melatoninin hidroksil radikali ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüştüğü ve bu radikalin de süperoksit radikalini tutarak antioksidant aktivite gösterdiği bilinmektedir [15]. Melatoninin bir diğer önemli özelliği lipofilik olmasıdır. Böylece hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin engelini de kolayca geçer. Bu sebeple çok geniş bir dağılımında antioksidant aktivite gösterir. Melatoninin çok yüksek dozlarda ve uzun süre kullanımında bile sağlığa zararlı etkisi gözlenmemiştir. Ayrıca, bazı antioksidantlar gibi prooksidant aktivitesi de yoktur. DNA hasarının melatonin

tarafından çok etkili bir şekilde önlendiği gösterilmiştir. Yaşlanma ile birlikte melatonin biyosentezi azalır [15].

Ürik asit



Şekil 2.11. Ürik asit

Ürik asit, plazmada antioksidant etki gösteren bir moleküldür. Ürik asitin molekül yapısı Şekil 2.11’de verilmiştir. Antioksidant etkisinin çeşitli kaynakları vardır [15]:

1. Demir ve bakırı bağlayarak etkisizleştirir.
2. Hidroksil, süperoksit, singlet oksijen, peroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerini temizler. Lipit radikaller üzerine etkisi yoktur.
3. C vitamini oksidasyona karşı korur.

2.2.3. Oksidatif stres

Oksijenli ortamda yaşayan canlılar için, reaktif oksijen türlerinin oluşumu yaşamın kaçınılmaz sonucudur. Süperoksit, hidroksi ve NO[•] en çok bilinen hücrel reaktif oksijen türleridir. Serbest radikal türlerini dengelemek için bir dizi hücrel savunma mekanizmaları vardır. Bunların arasında, serbest radikal türlerini azaltan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantlar sayılır. Hücrel antioksidant savunma mekanizmaları arasında glutatyon, C ve E vitamini gibi düşük molekül kütleli moleküller ve SOD, GSH-Px, katalaz gibi enzimler sayılır. Sağlıklı bir organizmada bu reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant savunma sistemleri arasında bir denge vardır. Reaktif oksijen türlerinin üretiminin artması ve/veya antioksidant savunma sisteminin zayıflaması ile bu

dengeinin bozulması sonucunda oksidatif stres denilen durum ortaya çıkar [2]. Reaktif oksijen türlerinin hedefleri proteinler, lipidler ve DNA'dır [5]. Doğal antioksidant sistemlerin kapasitelerindeki azalma ile birlikte serbest radikallerin artması hücrelerde işlevsel bozukluklara ve hücrelölümlere yol açar. Bu sebeple antioksidant savunma mekanizmalarının desteklenmesi, ortaya çıkabilecek zararların azaltılmasına katkıda bulunacaktır. Oksidatif stres, kalp hastalığı, ateroskleroz, beyin iskemisi (inme), Parkinson, hipertansiyon, sigara içimi ile ilgili hastalıklar, AIDS, sinir hastalıkları, gastrit gibi bir çok patolojik duruma sebep olabilir [4].

2.3. Cep Telefonu Çalışma Sistemi

2.3.1. Cep telefonu sistemlerinin çalışması

Cep telefonları yan yana dursalar bile birbirleriyle doğrudan iletişim kuramazlar. Aradaki iletişim genellikle yüksek yerlere (ev çatıları, direkler, vb.) yerleştirilmiş ve adına "Baz İstasyonları" denen sistemler aracılığı ile yapılmaktadır. Baz istasyonları, hücrel haberleşme sistemlerinde merkezi istasyon olarak görev yaparlar. Baz istasyonları olmadan cep telefonları iletişim sağlayamazlar. Bir kenti ve hatta bir ülkeyi kapsayan baz istasyonları, bal peteğine benzetilebilecek birçok hücrenin merkezlerine yerleştirilmiş alıcı ve verici antenli sistemlerden oluşmaktadır. Cep telefonundan yayılan mikro dalga ışıması 400-1780 MHz frekans aralığında daha iyi çalışır.

Türkiye'de kullanılan hücrel haberleşme sistemleri GSM900 ve DCS1800'dür. GSM900'ün çalışma frekansı [Frekans, elektromanyetik dalgaların saniyede yaptığı salınım sayısı yani elektromanyetik dalgaların tekrarlama sıklığıdır ve birimi Hertz (Hz)'dir.] bandı 880-960 MHz, DCS1800'ün frekans bandı ise 1710-1880 MHz'dir [1].

Cep telefonu sistemlerinde, haberleşmenin yapılacağı alan hücre adı verilen küçük alanlara bölünmüştür. Her hücrenin merkezinde bir baz istasyonu bulunur. Cep telefonları haberleşmelerini baz istasyonu üzerinden yaparlar. Baz istasyonları

birbirine bir ağ yapısı şeklinde bağlanırlar. Herhangi bir cep telefonundan gelen çağrı isteğinin ilgili kullanıcıya ulaştırılması bu ağ yapısı tarafından gerçekleştirilir. Baz istasyonları, Hareketli Anahtarlama Merkezleriyle (MAM) ve Hareketli Anahtarlama Merkezleri birbiriyle ya kablo ya da yönlü radyolinklerle bağlıdırlar. Cep telefonları ile baz istasyonları arasındaki iletişim, elektromanyetik dalgalar yoluyla gerçekleştirilmektedir. Hücresel yapı sayesinde aynı anda daha çok kullanıcı haberleşebilir. Baz istasyonlarının sebep olduğu toplam elektromanyetik enerji sabit bir değerde değildir; kullanıcı yoğunluğuna göre değişir. Kısaca, baz istasyonu konuşmayı sabit bir kablo üzerinden ya da yönlendirilmiş elektromanyetik dalga demeti halinde (yönlü radyolinklerde) Hareketli Anahtarlama Merkezlerine ulaştırır. Konuşma oradan, “Cep telefon sistem sunucusunun” ana bilgisayarına iletilir. Bu bilgisayar, tüm cep telefonları, nerede olduklarını bildiğinden, konuşmayı alıcı cep telefonunun bulunduğu en yakın baz istasyonuna yollar. Bu şekilde alıcının cep telefonuna ulaşır. Karşılıklı konuşmalar aynı yoldan gidip gelir.

2.3.2. Sınır değerler

Özgün Soğurma Hızı, SAR (Spercific Absorption Rate), elektromanyetik enerjinin vücut dokuları tarafından soğurulma hızıdır. Birimi W/kg’dır. Bugüne kadar yapılan araştırmalar insan vücudunun bir derecelik sıcaklık artışını düzenleyemediği ve bu yüzden sorunlar çıktığını göstermektedir. İnsan vücudunda bir derecelik sıcaklık artışı için bir kilogram doku başına 4W’lık bir güç soğurulması gerekmektedir. İnsanların genel yaşam alanlarında bu değerın 50’de biri olan 0,08 W/kg SAR sınır değeri olarak kabul edilmiştir. Özgül soğurma hızı (SAR) değerlerinin belirlenmesinde, kolay ölçülebilen veya gözlemlenebilen değişkenler kullanılmaktadır. Bu değişkenler, elektrik alan şiddeti, manyetik alan şiddeti ve güç yoğunludur. Bu noktadaki elektromanyetik enerji miktarı, kaynağından olan uzaklığa, kaynağın etkin çıkış gücüne ve yayılma ortamına bağlıdır. Cep telefonlarının ve baz istasyonlarının yapımı ve kullanımı öyle olmalıdır ki, bunlardan yayılan elektromanyetik dalgalar 30 dakika süresince vücut sıcaklığını 1 °C’nin üstüne çıkarmamalıdır. Sınır değerlerinin aşılmaması, sistemi kurup işleten şirketlerce, denetimi de ilgili Devlet Kurumlarınca yapılmaktadır [1].

2.3.3. Cep telefonlarından yayılan elektromanyetik dalgaların canlılara etkileri

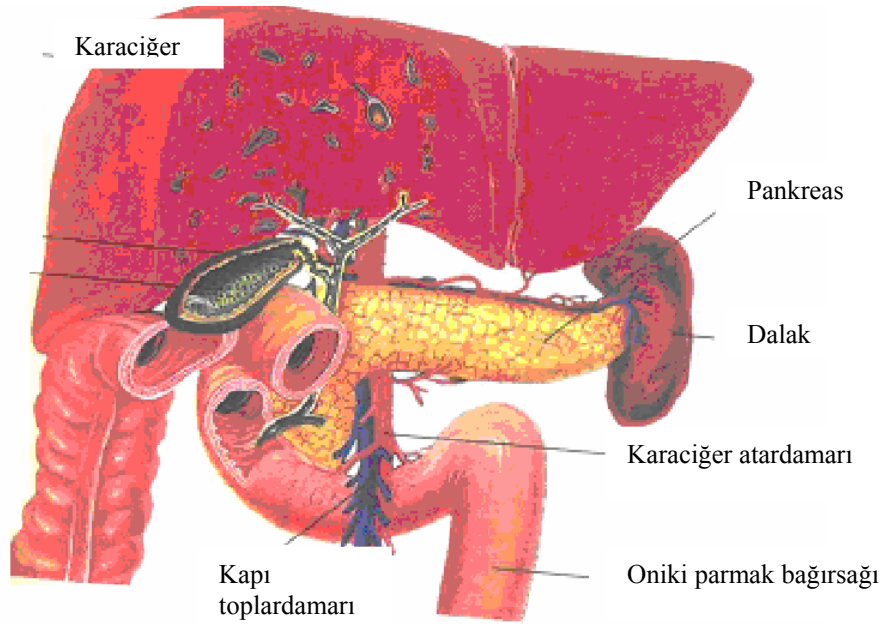
Sayıları gitgide artan cep telefonlarına, elektromanyetik dalga yayan, bir çeşit taşınabilir “radyo verici ve alıcısı” gözüyle bakılabilir. Elektromanyetik dalgalar, birçok doğal ve insan yapımı kaynaklar tarafından yayılmakta ve hayatımızda önemli bir rol oynamaktadır. Radyo frekansı (RF) bölgesinde (3kHz-300 GHz) yer alan elektromanyetik dalgalar iletişimde, radyo ve televizyon yayınlarında kullanılmaktadır. Teknolojideki gelişmelerin bir sonucu olarak da elektromanyetik dalgaların kullanımı her geçen gün artmakta ve bundan dolayı günlük yaşantıda doğada bulunanın çok üstündeki seviyelerde elektromanyetik dalgalara maruz kalınmaktadır. Radyo frekansındaki elektromanyetik dalgalarının foton enerjileri, atomları ve molekülleri iyonlaştıracak düzeyde değildir. İyonlaşma, atomlardan ve moleküllerden elektron koparılmasıdır. Enerji yüklü fotonlardan oluşan elektromanyetik dalgalar, çarptıkları cisimlerden elektron kopararak iyonlaşmalarına yol açabilirler. Işıma genel anlamda enerjinin uzayda dalgalar yada tanecikler (fotonlar) halinde yayılmasıdır. Isı, ışık ve radyo dalgaları ısıma yoluyla yayılıma örneklerdir. Elektromanyetik ışımanın göreceli olarak düşük frekanslı biçimleri olan görünen ışık, kızılötesi radyasyon ve RF dalgaları iyonlaştırıcı olmayan ışımaya örnektir. Yüksek frekanslı ve dolayısıyla yüksek enerjili olan x-ışınları ve γ -ışınları iyonlaştırıcı ışımalardır. Cep telefonu iletişim sistemlerinin sebep oldukları ışıma, iyonlaştırıcı olmayan ısıma bölgesinde yer almaktadır. Kulağımıza dayadığımız cep telefonunun yada baz istasyonundan kaynaklanan elektromanyetik alanın vücudumuzdaki dokulara çarptığında, bunların bir miktarı, elektromanyetik alanın şiddetine ve dokunun özelliklerine bağlı olarak, hücrelerdeki bazı moleküllere enerjilerini aktararak az yada çok etkilerler. Ortamdaki iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik dalgaların etkisinde kalma sonucunda canlılarda iki tür etki oluşabilir. Isıl Etkiler ve Isıl Olmayan Etkiler [1]. Örneğin hücrelerdeki bir su molekülü, elektromanyetik alanın etkisiyle bir pusula gibi, saniyede trilyonlarca kez, alan doğrultusuna yönelir. Molekül bu yönelme hareketi için gereken enerjiyi elektromanyetik alandan alır. Bu hareket enerjisi, sürtünmeyle yani molekülün yönelme işlevi sırasında, ortamın bu harekete karşı gösterdiği dirençle ısıya dönüşerek canlı dokunun sıcaklığı, az da olsa, bir miktar artar. İşte bu, cep

telefonlarının ve baz istasyonlarının yaydığı elektromanyetik dalgaların, canlıları etkileme yollarının en önemlisi olan ısı etkisidir. Isıl etkiler dışında ısı olmayan etkiler de vardır. Isıl etkiler, vücut tarafından yutulan elektromanyetik enerjinin ısıya dönüşmesi ve vücut sıcaklığını arttırması olarak tanımlanır. Bu sıcaklık artışı, ısıya kan dolaşımı ile atılarak dengelenmesine kadar sürer. Cep telefonları gibi RF(Radyo Frekans) kaynaklarının sebep olabileceği sıcaklık artışı gerçekte çok düşüktür, ve büyük olasılıkla vücudun normal mekanizmaları ile kolayca etkisizleştirilebilir. Cep telefonu ile beyinde oluşabilecek sıcaklık artışı ortalama 0,1°C dolayındadır [1]. Isıl olmayan etkilere bağlı olarak RF dalgalarının etkili olduğu iddia edilen bozukluklar ve hastalıklar arasında, beyin aktivitelerinde değişiklikler, uyku bozuklukları, dikkat bozuklukları, baş ağrıları bulunmaktadır. Ancak bu etkiler çok yüksek deneysel dozlar ve sürelerde geçerli olabilir. Yüksek enerjili iyonlaştırıcı elektromanyetik dalgalar, DNA ve genetik yapıyı kapsayan biyolojik dokuda hasara yol açabilen moleküler değişikliklere yol açabilir. Bu etkileşmenin olabilmesi için dokunun x-ışınları ve γ -ışınları gibi yüksek enerjili fotonlarla etkileşmesi gerekir.

2.4. Karaciğer

2.4.1. Karaciğerin yapısı

Karaciğer vücudun, deriden sonra en büyük, yaklaşık 2 kg kütlesinde organıdır. Karaciğerin üst yüzeyi diyaframa uyarak kubbemsi(dış bükey), alt yüzü ise, mide ve bağırsakla sağ böbreğe oturduğundan çukur yani dış bükeydir.Karaciğer dört büyük loptan meydana gelmiştir. Bunlardan sağdaki lop en büyüktür ve safra kesesini taşımaktadır. Ortadaki yarıktan karaciğeri besleyen karaciğer atardamarı ve bağırsaktan gelen kapı toplardamarı girmektedir. Yine bu yarıktan karaciğerin yaptığı safra sıvısını getiren bir kanal çıkmaktadır. Karaciğer, kan damarlarının yoğunlukta bulunduğu bir organdır. Karaciğerin konumu Şekil 1.6'da verilmiştir [23].



Şekil 2.12. Karaciğerin konumu

Karaciğer; kendisini saran zarlar, karaciğer dokusu ve safra yollarından meydana gelmiştir. Karaciğerin en dışında periton zarı bulunur. Karaciğer bu zar ile mide ile diyaframa bağlanır. Peritonun altında bağ dokudan yapılmış ikinci bir zar bulunur. Karaciğer kapsülü denilen bu zar, karaciğer içerisine perde şeklinde uzantılar göndererek onu, 1-2 mm çapında beşgen ve altıgen şeklinde küçük "lopcuklara" ayırmaktadır. Lopçuklar, karaciğerin işlevsel yapı birimleridir. Her lopçuk bir karaciğer gibi işlemektedir. Lopçuğun çevresinde karaciğer atardamarı ile karaciğer toplardamarının kolları bulunur. Hepatositler karaciğerin en temel hücreleridir. Karaciğer kütlesinin % 80'i bu hücrelerden oluşur. Çekirdek içeren bu hücreler, metabolik ve hormon salgılanması ile ilgili organeller açısından zengindir. Endoplazmik retikulum ve golgi organelleri vardır. Ayrıca bir çok metabolik işlevleri desteklemek ve enerji sağlamak için sayısız mitokondri yer almaktadır. Ayrıca lopçuklarda Kupffer hücreleri de bulunur. Bu hücreler karaciğer lopçuğuna gelen bütün yabancı maddeleri fagositoz ile sindirir [23].

2.4.2. Karaciğerin işlevleri

Karaciğerin işlevleri aşağıda verilmiştir [24]:

- 1.Safra biyosentezini yapmak ve salgılamak.
- 2.Kan şekerini düzenlemek: Kandaki fazla şeker, karaciğerde glikojen halinde depo edilir. Kanda şeker miktarı düştüğünde, glikojen glukozlara ayrıştırılarak kana glukoz verilir.
- 3.Kanın pıhtılaşmasında önemli rol oynayan fibrinojen ve trombojen proteinleri sentezlemek.
- 4.A vitamini sentezlemek: karaciğerdeki karotenaz enzimi provitamin A'yı, A vitaminine çevirmek.
- 5.A, D, K vitaminleri, demir, bakır ve protein depo etmek.
- 6.Kandaki yaşlanmış alyuvarlar, karaciğerde bulunan Kupffer hücreleri tarafından parçalamak. Bu hücreler ayrıca karaciğere kan ile gelen mikropları da temizler ve savunma sisteminde de görev yaparlar.
- 7.Zehirli maddeleri, zehirsiz hale dönüştürmek.
- 8.Aminoasit metabolizması sonucu oluşan amonyağı, üreye dönüştürmek.
- 9.Karbonhidrat ve proteinlerin yağa dönüşümünü sağlamak. Aynı zamanda lipoproteinlerin çoğu, fosfolipit ve kolesterol karaciğerde sentezlenmektedir.
10. Kanın damar içerisinde pıhtılaşmasını engelleyen heparini salgılamak.
11. Vücut sıcaklığını düzenlemek.

2.5. İstatistiksel Yöntemler

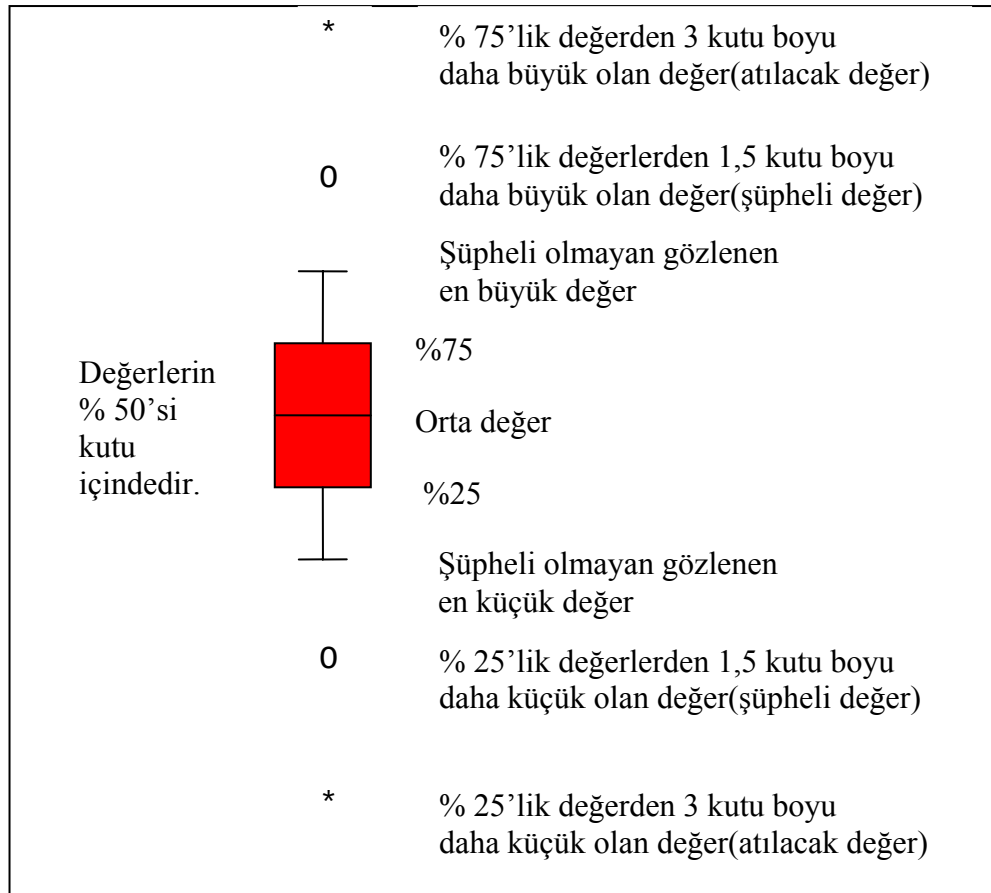
2.5.1. İstatistiksel anlamlılık denemeleri

İstatistiksel anlamlılık denemeleri elde edilen bulguların belirli anlamlılık düzeyinde(%95 ve %99) anlamlı olup olmadığını denemek için yapılmaktadır [25]. İstatistiksel anlamlılık denemeleri, değişken(ölçülerek belirtilen veriler) ve değişken olmayan(nitel veriler) denemeler şeklinde iki gruba ayrılır. Bizim çalışmamızda,

verilerimizi ölçümle elde ettiğimiz için değişken deneme koşullarını taşımalıdır. Değişken denemelerle ilgili koşullar aşağıda verilmiştir [26].

Değişken deneme koşulları;

1. Veriler nicel özellikte olmalıdır.
2. Veriler normal dağılıma uygun olmalıdır. Normal dağılım, verilerin veri takımının ortalaması etrafında simetrik dağılım gösterir. Normal dağılımın oluşturduğu çan eğrisinde aritmetik ortalama, ortanca değer ve tepe değeri eşittir [27]. Ölçülerek bulunan değerlerin normal dağılıma uyup uymadığı Şekil 1.13' de anlatıldığı gibi belirlenir [28].



Şekil 2.13. Verilerin dağılım aralığı

3. Değişimler homojen olmalıdır, yani dağılımların yaygınlıkları benzer olmalıdır.

Gruplar arası istatistiksel değerlendirmeyi yapan tek yönlü değişim analizi(ANOVA) ve Tukey's HSD denemeleri değişken denemeler kısmına girmektedir.

2.5.2. Tek yönlü değişim analizi(ANOVA)

Tek yönlü değişim analizi (ANALYSIS OF VARIANCE) üç yada daha çok grup arasında, belirli bir değişkene dayalı olarak farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla kullanılır. Fischer tarafından 1924 yılında geliştirilen bu denemeye, ANOVA denemesi veya F denemesi denmektedir. Değişim analizi Sir Ronald Aylmer Fischer tarafından bulunmuş olan bir dağılım kullanılmaktadır [29]. Temel olarak değişim analizi, gruplar arasındaki değişimi, grupların içinde bulunan bireyler arasındaki değişime oranlamaktadır. Analizin amacı, gruplar arasındaki farklılaşmanın, bireyler arasındaki farklılaşmadan büyük olup olmadığını tespit etmektir. Bu tür denemeler, bir hipotezi denemek için yapılır. Bu denemede hem H_0 hipotezi, hemde H_1 hipotezi kullanılmalıdır. H_0 hipotezi; farksızlık hipotezi olarak adlandırılır. Bir denemede öne sürülen ve asıl denenmek istenen hipotezdir. H_1 hipotezi ise alternatif hipotez olarak adlandırılır. H_0 hipotezine karşı kurulan bir hipotezdir. Önce H_0 hipotezi belirtilir. Gruplar arasında fark arandığında H_0 hipotezi olumsuz olarak belirlenir. Örneğin; iki ortalama arasında fark yoktur, iki grup arasında fark yoktur gibi. H_1 hipotezi ise H_0 hipotezine ters yönde kurulur. Örneğin; iki ortalama arasında fark vardır, iki grup arasında fark vardır gibi. Deneme sonucunda H_0 hipotezi kabul edilirse H_1 hipotezi reddedilir. H_1 kabul edilirse, H_0 hipotezi reddedilir. Deneme sonucu, hesapla bulunan değer ile çizelge değeri karşılaştırılarak belirlenir [26]. Değişim analizinde; gruplar arasındaki farkın belirli bir güven düzeyinde anlamlı veya önemli olması, gruplar arası ve grup içi değişimin büyüklüğüne bağlıdır. Kısacası gruplar arası değişim ne kadar büyük, grup içi değişim ne kadar küçük olursa gruplar arasındaki farklılık da o derecede artacaktır.

Deneme İşlemleri

♦ Her gruptaki bireylerin değerleri toplanarak her grubun $\sum X_j$ 'leri bulunur. j, grupları gösteren bir semboldür.

♦ Grup toplamı ($\sum X_j$) toplanarak $\sum X$ değerleri bulunur.

♦ Her gruptaki bireylerin değerleri kareleri alınarak toplanır. Her grubun $\sum X_j^2$ 'leri elde edilir.

♦ $\sum X_j^2$ değerleri toplanarak $\sum X^2$ değerleri bulunur.

♦ Her gruptaki birey sayıları toplanarak n bulunur.

$$n = n_1 + n_2 + n_3 + \dots$$

♦ Kareler toplamı bulunur.

$$\text{GnKT(Genel Kareler Toplamı)} = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}$$

$$\text{GAKT(Gruplar Arası Kareler Toplamı)} = \sum_{j=1}^k \left[\frac{(\sum X_j)^2}{n_j} \right] - \frac{(\sum X)^2}{n}$$

$$\text{GIKT(Grup İçi Kareler Toplamı)} = \text{GnKT} - \text{GAKT}$$

♦ Serbestlik derecesi bulunur.

$$\text{GnSD(Genel serbestlik Derecesi)} = n-1$$

$$\text{GASD(Gruplar Arası Serbestlik Derecesi)} = \text{Grup sayısı} - 1$$

$$\text{GISD(Grup İçi Serbestlik Derecesi)} = n - \text{Grup Sayısı}$$

♦ Kareler ortalaması bulunur.

$$\text{GAKO(Gruplar Arası Kareler Ortalaması)} = \frac{\text{GAKT}}{\text{GASD}}$$

$$\text{GIKO(Gruplar İçi Kareler Ortalaması)} = \frac{\text{GIKT}}{\text{GISD}}$$

♦ Hipotezler kurulur.

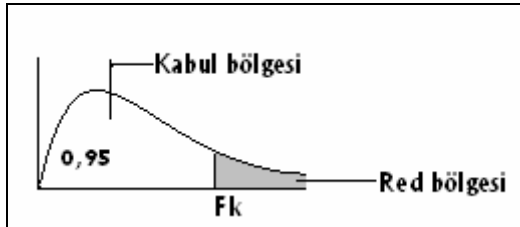
H_0 : Gruplar arasında fark yoktur.

H_1 : En az bir grup diğerlerinden farklıdır.

♦ Deneme istatistiğinin hesaplanmasına geçilir. F istatistiği kullanılır.

$$F = \frac{\text{GAKO}}{\text{GIKO}}$$

- ◆ Yanılma olasılığı olarak $\alpha = 0,05$ seçilmiştir.
- ◆ Serbestlik dereceleri bulunur. Değişim analizinde pay(GASD) için ve payda(GİSD) için iki serbestlik derecesi vardır.
- ◆ F çizelgesi kullanılır. Çizelge değeri bulunur. Serbestlik derecesine bağlı olarak F dağılımı için hazırlanmış F çizelgeleri vardır. Bu çizelgeden serbestlik dereceleri belli iken sağ tarafta kalacak alanı 0,05 olarak sağlayacak kritik değerler bulunabilir [30]. Pay ve payda için belirlenen serbestlik dereceleri çizelgede bulunur ve kesiştiği değer kritik(F_k) değeridir.
- ◆ Karşılaştırma yapılır. Hesaplanan F değeri(F_h) çizelgeden bulunan F_k değerinden büyükse H_0 hipotezi reddedilir, küçükse kabul edilir. $F_h > F_k$ $\alpha = 0,05$ anlamlılık düzeyinde H_0 hipotezi reddedilir. F yoğunluk fonksiyonunun kuyruk bölümünde kalan taralı alan değişim analizi çizelgesinde belirtilir. Bu alana p değeri adı verilir. p değerine bakarak karar vermek daha pratiktir. F dağılımı Şekil 1.4'te verilmiştir.



Şekil 2.14. F dağılımı

Değişim çözümlenmesinde kareler toplamı, serbestlik derecesi, ortalama kareler ve ortalama karelerin beklenen değerleri bir Çizelge 2.2'teki gibi gösterilebilir [25].

Çizelge 2.2. Tek yönlü değişim analiz çizelgesi

Değişim Kaynağı	Serbestlik Derecesi(SD)	Kareler Toplamı(KT)	Kareler Ortalaması(KO)	F	P
Genel(Gn)	GnSD	GnKT	----	F	P
Gruplar arası(GA)	GASD	GAKT	GAKO		
Grup içi(Gİ)	GİSD	GİKT	GİKO		

2.5.3. Tukey's yöntemi

Değişim analizinde H_0 hipotezi reddedildiğinde, başka bir deyişle gruplar farklı bulunduğunda, farklılığın hangi gruplar arasında olduğu incelenmelidir [26]. Bu amaçla geliştirilen yöntemlerden biri de Tukey's yöntemidir. Bu yöntem değişim analizinde gruplar arası farklılık bulunduğunda hangi grubun yada grupların farklı olduğunu araştırmak için kullanılır. Mümkün olan tüm ikili karşılaştırmalar için güvenlikle kullanılabilir bir yöntemdir. Tukey's yöntemine Tukey's Honestly Significant Difference yada kısaca Tukey's HSD denemesi de denir. Tukey's yönteminde, herhangi iki ortalama arasındaki farkın mutlak değerinin $(\bar{X}_i - \bar{X}_j)$, T değeri ile karşılaştırılması yapılarak, karar verilir. Ortalama farkı, T değerinden büyükse iki grup arasında farklılık olduğuna karar verilir.

Deneme işlemleri

♦ T değeri bulunur. Bu amaç için aşağıdaki bağıntı kullanılır.

$$T = Q \left(\sqrt{\frac{G\bar{I}K\bar{O}}{n}} \right)$$

Bağıntıda;

Q : Q çizelgesinden (k grup sayısı ve SD serbestlik derecesinde) bulunacak değer

G $\bar{I}$ K $\bar{O}$: Değişim analizi yapılırken hesaplanan grup içi kareler ortalaması

n : Denek sayısı

Denek sayısı eşit değilse, $n = \frac{2n_1 n_2}{n_1 + n_2}$ dönüşümü yapılır.

♦ Grup ortalamaları farkları ile T değerleri karşılaştırılarak karara varılır.

$|\bar{X}_i - \bar{X}_j| > T$ ise H_0 hipotezi reddedilir.

2.6. Cep Telefonu ve Oksidant/Antioksidant Denge ile İlgili Çalışmalar

Radyo frekans dalgaları, uygulamaları ve muhtemel sağlık etkileri açısından elektromanyetik spektrumun önemli bir parçasını oluşturmaktadırlar. Uzun vadeli elektromanyetik alanlara maruziyetin sağlık üzerine etkileriyle ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonuçsuz kalmıştır [31]. Telsiz iletişim ve özellikle cep telefonlarının radyo frekans alanlarının insan sağlığı üzerindeki etkileri çok az bilinmesine rağmen kullanımı hızla artmaktadır.

Cep telefonu radyo frekans alanlarının oksidatif hasarı ve antioksidant enzim aktivitelerini etkileyip etkilemediği sorusu biyomanyetik ve biyokimya açısından büyük önem taşımaktadır. Cep telefonu radyo frekans alanları, oksidatif hasara sebep olan, lipid peroksidasyonunu hızlandıran serbest radikalleri arttırmak ve insan kanındaki antioksidant enzim aktivitelerini değiştirmek suretiyle biyolojik sistemleri etkileyebilmektedir [31].

Serbest radikaller, yeni serbest radikaller oluşturan zincirleme reaksiyonları başlatabilen çok reaktif ve kararsız maddelerdir. Birçok normal biyokimyasal reaksiyon sonucunda oluşmakla birlikte, potansiyel olarak zararlıdır. Serbest radikallerin etkilerini önleyen çeşitli mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalar, oksidatif stres ve bu stresin sebep olduğu doku hasarını önleyen hücre içi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant savunma sistemleridir [31]. Oksidant ve antioksidantlar arasındaki denge, serbest radikal oluşumundaki artış ya da antioksidantların azalması ile bozulabilir. Oksidantlar ve antioksidantlar arasındaki dengenin bozulması oksidatif strese, yani bir dizi zararlı biyokimyasal reaksiyonlara sebep olabilir. Fosfolipitlerin çoklu doymamış yağ asit açıl zincirleri, serbest radikaller tarafından oksidatif strese duyarlıdır. Bu durum lipid peroksidasyona sebep olur. Kontrol dışı lipid peroksidasyonu, biyolojik zarları yıpratıcı zararlı bir süreçtir. Malondialdehit gibi lipid peroksidasyon ürünleri, biyolojik sistemlerdeki oksidatif stres için biyolojik gösterge olarak kullanılmaktadır. Antioksidant enzimler,

süperoksit anyonlarını uzaklaştıran SOD ile hidrojen peroksiti uzaklaştıran ve hidroksi radikallerinin birikmesini önleyen GSH-Px ve katalaz (CAT)'dan oluşur.

Moustafa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada [31], cep telefonu radyo frekans alanlarının, insan eritrositlerindeki plazma peroksidasyonu ve antioksidant enzim aktivitelerine etkilerini araştırmışlardır. Deney için, piyasadan temin edilebilen cep telefonlarının, radyo frekans alanlarına maruziyetin 12 sağlıklı gönüllü erkek üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Her gönüllüye, cep telefonunu bekleme halinde ve tuşları vücuda dönük olarak ceplerine koydurmuşlardır. Ölçülen değişkenler, malondialdehit (MDA) içeriği ve süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktiviteleridir. Elde ettikleri sonuçlar, cep telefonlarının 900 MHz'deki radyo frekans alanlarına 1,2,4 saatlik maruziyetin insan eritrositlerindeki lipid peroksidasyon ürünlerinin (MDA) plazma seviyesini anlamlı olarak arttırdığını ve SOD, GSH-Px aktivitelerini anlamlı olarak azalttığını ayrıca katalaz (CAT) aktivitesini anlamlı olarak azaltmadığını görmüşlerdir.

İlhan ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada [2], *Ginkgo biloba*'nın sıçan beynindeki cep telefonu kaynaklı oksidatif stresi önlediğini tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, cep telefonlarından yayılan elektromanyetik dalgalara maruziyetin, sıçan beynindeki oksidant ve antioksidant sistem üzerine etkilerini ve *Ginkgo biloba* bitkisinin sıçanlardaki beyin dokusu hasarı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sıçanları, kontrol grubu, *Ginkgo biloba* bitkisi verilen grup, elektromanyetik ışıma maruz kalan grup ve elektromanyetik ışıma + *Ginkgo biloba* grubu olmak üzere rastgele dört gruba ayırmışlardır. Elektromanyetik ışıma grubundaki sıçanlara, 7 gün süreyle günde bir saat 900MHz'deki elektromanyetik ışıma maruz bırakmışlardır. Elektromanyetik ışıma + *Ginkgo biloba* grubundaki sıçanlara, elektromanyetik ışıma maruz bırakmış ve *Ginkgo biloba* bitkisi vermişlerdir. Kontrol ve *Ginkgo biloba* gruplarındaki sıçanlara aynı şartları cep telefonlarını kapatarak sağlamışlardır. Sonuçta, beyin dokusundaki MDA ve nitrik oksit (NO) seviyelerinde artış, SOD ve GSH-Px aktivitelerinde azalma, ksantin oksidaz (XO) ve adenozin deaminaz (ADA) aktivitelerinde artış tespit etmişlerdir. Sıçanlarda, cep telefonlarının elektromanyetik ışımasına maruziyetin NO ve MDA

seviyelerini arttırmanın yanında XO ve ADA aktivitelerini arttırarak, SOD ve GSH-Px aktivitelerini azaltarak oksidatif strese sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ağızdan verilen, güçlü bir radikal temizleyicisi olan antioksidant Ginkgo biloba özütünün beyin dokusundaki oksidant hasarı anlamlı bir şekilde önlediğini bulmuşlardır.

Özgüner ve arkadaşları [32], cep telefonlarından yayılan 900MHz'lik elektromanyetik ışıma maruz bırakılan sıçanların böbrek kanallarında meydana gelebilecek zararı ve melatonin, kafferik asit fenil esterinin (CAPE) koruyucu etkilerinin bu zarar üzerindeki rolünü karşılaştırarak incelemişlerdir. Sıçanlara, melatonin ve CAPE'yi ışıma maruz bırakmadan 10 gün önce belirli miktarlarda vermişlerdir. Böbreklerdeki oksidatif stresin sebep olduğu bozulmanın bir göstergesi olarak idrarda N-asetil- β -glukozaminidaz (NAG) seviyesini ve böbrek dokusundaki MDA seviyesini, antioksidant sistemin durumunu belirlemek için SOD, CAT, GSH-Px enzim aktivitelerini ölçmüşlerdir. Elektromanyetik ışıma maruz bırakılan sıçanların idrarlarında NAG seviyesi ve böbrek dokularında MDA seviyesinin arttığını, melatonin ve CAPE'nin bu seviyeleri anlamlı olarak azalttığını gözlemişlerdir. Bu azalmada melatoninin daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Aynı çalışmada, elektromanyetik ışıma maruz bırakılan sıçanların, böbrek dokularında SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinin azaldığını, melatoninin bu enzimlerin aktiviteleri anlamlı olarak arttırdığını, CAPE'nin bu enzimlerin aktivitelerini arttırmadığını gözlemişlerdir. Sonuçta, melatoninin CAPE'den daha etkili olduğunu, oksidatif stresi azaltarak böbrek kanallarındaki hasarı engellediğini böylece böbrek dokusunu ışıma kaynaklı oksidatif strese karşı koruduğunu bulmuşlardır.

Salford ve arkadaşları [33], cep telefonundan yayılan mikrodalgalara maruziyetin memeli beyin sinir hücrelerinde yol açtığı hasarı incelemişlerdir. Bu çalışmada, zayıf titreşimli mikrodalgaların, kan-beyin engelinde sızıntıya sebep olmasının yanında sinir hücrelerine de zarar verip vermediğini araştırmışlardır. Sekiz sıçandan oluşan üç farklı gruba iki saat boyunca farklı şiddetlerde cep telefonu elektromanyetik alanına maruz bırakmışlardır. Elektromanyetik alana maruz kalan sıçan beyinin korteks, hipotalamus bölgelerinde kara sinirler gözlemişlerdir. Kara sinirleri oksidatif hasarın bir göstergesi olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Daşdağ ve arkadaşları [34], cep telefonlarından yayılan elektromanyetik ışımanın sıçanlardaki, lipid bileşimine, MDA derişimine, sperm sayısına, morfolojisine, testis dokularının yapısına etkilerini incelemişlerdir. 16 tane *Sprague-Dawley* cinsi sıçanı, 8'erli iki gruba ayırarak özel kafeslerde beslemişlerdir. Cep telefonunu 0,5 cm uzaklıkta kafesin altına koymuşlardır. Deney grubu sıçanlarının bulunduğu kafesin altına bir ay boyunca her gün 20 dakika çalışacak şekilde cep telefonu bırakmışlardır. Rektal sıcaklığı haftalık olarak ölçmüşlerdir. Sonuçta cep telefonu ışımasına (radyasyonuna) maruz kalan sıçanların testis dokularında işlevsel ve yapısal bozulmanın olmadığını bulmuşlardır.

Nakamura ve arkadaşları [35], hamile sıçanlarda gebelik süresince, anneden alınan gıdaları fetüse iletmek suretiyle beslenmesini temin eden plasentanın fonksiyonlarına cep telefonundan yayılan mikrodalgaların termal olmayan etkilerini incelemişlerdir. Bunu araştırmak için, 915 MHz mikrodalga yayan cep telefonunun etkisi ile sıcaklıkla birlikte mikrodalga etkisini karşılaştırmışlardır. 36 gebe sıçanı 6'şarlı gruplara ayırmışlardır. 90 dakika 915 MHz'lik yüksek yoğunlukta gelen 0,6 ve 3 mW/cm² mikrodalgaya maruz bırakmışlardır. Ardından 34, 38 ve 40°C sıcaklıktaki suya daldırmışlardır. 34 ve 38°C suya daldırılan gebe sıçanların bağışıklık işlevleri, plasental endokrinleri, plasental dolaşımları arasındaki farklılıklara bakmışlardır. 0,6 mW/cm² mikrodalgaya maruz kalan ve 38°C sıcaklıktaki suya daldırılan gebe sıçanların plasental işlevleri arasında fark gözlememişlerdir. 40°C sıcaklıktaki suya daldırılan ve 3mW/cm² mikrodalgaya maruz bırakılan gebe sıçanların plasental işlevlerinde anlamlı bir artış gözlemişlerdir. Sonuçta, 915 MHz frekansında, 0,6 mW/cm² mikrodalga yayan ve SAR değeri 0,4 W/kg olan cep telefonlarının plasental döngüde, kandaki östrojen ve progesteron hormonlarında herhangi bir etkisi olmadığını gözlemişlerdir.

Hata ve arkadaşları [36], sıçanlarda 1439 MHz'lik kısa süreli elektromanyetik alana maruziyetin melatonin sentezine etkisini incelemişlerdir. Toplam 208 erkek ve dişi sıçanlarda araştırma yapmışlardır. 12 saat aydınlık-karanlık sistemlerin kurulduğu kafeslerde tutulan sıçanların kan serumu ve beyindeki melatonin seviyesine

bakmışlardır. Bununla birlikte karanlık şartlarda seratonin seviyesini de incelemişlerdir. Elektromanyetik alana maruz kalan grup ile kontrol grubu değerleri karşılaştırıldığında melatonin ve seratonin seviyelerinde anlamlı bir fark bulamamışlardır. Sonuçta, kısa süreli 1439 MHz'lik elektromanyetik alanın sıçanlarda melatonin ve seratonin sentezini değiştirmediğini bulmuşlardır.

Öktem ve arkadaşları [37], sıçanlarda cep telefonlarında yayılan 900MHz'lik elektromanyetik ışımanın böbrekte sebep olduğu oksidatif stresi ve bununla birlikte melatoninin koruyucu etkisini incelemişlerdir. Sıçanları çalışma ve kontrol grubu olmak üzere ikiye ayırmışlardır. Çalışma grubundaki sıçanların bir kısmına 10 gün içinde günde 30 dakika 900 MHz'lik elektromanyetik ışımaya maruz bırakmışlardır. Diğer bir gruba, önce 100 µg/kg melatonin verdikten sonra elektromanyetik alana maruz bırakmışlardır. Oksidatif stresin göstergeleri olan, dokudaki MDA ve idrardaki NAG seviyelerine ve antioksidant değişimler için SOD, CAT, GSH-Px enzim aktivitelerini ölçmüşlerdir. Sonuçta, elektromanyetik ışımaya maruz kalan grubun böbrek dokusunda ki MDA seviyesi ve idrardaki NAG seviyesinin anlamlı olarak arttığını, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinin anlamlı olarak azaldığını gözlemişlerdir. Melatoninin bu etkileri tersine çevirdiğini gözlemişlerdir. Cep telefonundan yayılan 900 MHz'lik elektromanyetik ışımanın böbrek dokusundaki MDA ile idrardaki NAG seviyelerinin arttırarak ve dokudaki SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinin azaltarak oksidatif strese sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir. Melatoninin, antioksidant özelliği ile böbrek dokusundaki hasarı onarıcı etki yaptığını bulmuşlardır.

Irmak ve arkadaşları [38], tavşan beyinde ve kan serumunda 900 MHz'lik elektromanyetik ışımanın, oksidant ve antioksidant değişkenler üzerine etkisini incelemişlerdir. Deney için, tavşanları kontrol ve elektromanyetik ışımaya maruz bırakılan grup olmak üzere iki gruba ayırmışlardır. İki grupta da tavşan beyinde ve kan serumunda adenoazin deaminaz (ADA), ksantin oksidaz (XO), katalaz (CAT), miyeloperoksidaz (MPO), SOD, GSH-Px aktiviteleri yanında, MDA ve NO seviyelerini ölçmüşlerdir. Işımaya maruz kalan grubu kontrol grubuna ile karşılaştırıldığında, serum SOD aktivitesinin arttığını ve serum NO seviyesinin

azaldığını gözlemişlerdir. 8'erli gruplardaki tavşanların, beyin dokusunda ve kan serumunda SOD aktivitesi ve NO seviyesi dışında çalışılan diğer değişkenlerde anlamlı bir farklılık gözlememişlerdir. Sonuçta, 900 MHz'lik elektromanyetik ışımanın tavşan beyni üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını, serumdaki SOD aktivitesinin anlamlı olarak arttığı, NO seviyesinin anlamlı olarak azaldığını bulmuşlardır.

Özgüner ve arkadaşları [39], uzun süreli 900 MHz'lik cep telefonu ışımasına maruz kalan sıçanların böbrek dokusunda, oksidatif stres sonucu meydana gelebilecek hasarı ve alışılmışın dışında bir antioksidant madde olan kaffeik asit fenil esterinin (CAPE) koruyucu etkisinin bu zarar üzerindeki rolünü incelemişlerdir. Sıçanları, kontrol grubu, CAPE verilen grup, elektromanyetik ışımaya maruz bırakılan grup ve elektromanyetik ışıma + CAPE grubu olmak üzere rastgele dört gruba ayırmışlardır. Elektromanyetik ışıma grubundaki sıçanlara, 3 ay boyunca günde 30 dakika 900 MHz'lik elektromanyetik ışımaya maruz bırakmışlardır. Elektromanyetik ışıma + CAPE grubundaki sıçanlara, elektromanyetik ışımaya maruz bırakmış ve CAPE vermişlerdir. Kontrol ve CAPE grubundaki sıçanlara, aynı şartları elektromanyetik ışımayı keserek sağlamışlardır. Oksidatif stresin göstergesi olan, dokudaki MDA, NO ve idrardaki NAG seviyelerini ve antioksidant değişimler için SOD, CAT, GSH-Px enzim aktivitelerini ölçmüşlerdir. Sonuçta, elektromanyetik ışımaya maruz bırakılan grubun böbrek dokusundaki MDA, NO seviyeleri ve idrardaki NAG seviyelerinin anlamlı olarak arttığını, SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinin anlamlı olarak azaldığını gözlemişlerdir. Serbest radikalleri temizleyici ve antioksidant özelliği olan CAPE'nin böbrek dokusunda ışıma kaynaklı oksidatif hasarı onardığını bulmuşlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Denekler

Bu çalışmada 40 adet 6 haftalık Wistar cinsi albino dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi hayvan laboratuvarında etik kurallarına uyularak beslendiler. Çalışma başlangıcında hayvanların kütlesi 160-190 gramdı.

3.2. Hayvanların Hazırlanması

Çalışmada sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Her grupta 10 hayvan vardı. Bu gruplar; kontrol grubu, cep telefonu, C vitamini, cep telefonu + C vitamini diye adlandırıldı. Hayvanlar 4 hafta boyunca BİL-YEM Gıda Sanayi Tic.Ltd.Şti. tarafından üretilen standart pelet sıçan yemi(% 88 ham protein, % 23 ham selüloz, % 1 NaCl, % 7 ham kül, 2600 kcal/kg metabolik enerji, %1,0-2,5 Ca, % 9 P, % 0,5-1 Na, % 10 Mn, % 4 Zn, % 1,0 lizin, % 0,3 metiyonin, % 0,1 sistin, 400 IU/kg A vitamini, 300 IU/kg D₃ vitamini, 30 IU/kg E vitamini, 20 IU/kg B₁₂ vitamini, 5 IU/kg B₂ vitamini, 1 IU/kg K₃ vitamini) ile beslendiler. Kontrol grubundaki hayvanlar 4 hafta boyunca cep telefonu ışımasına maruz bırakılmadı ve bu hayvanlara C vitamini de verilmedi. Cep telefonu grubu 4 hafta boyunca, 24 saat bir adet Nokia marka 5110 Model ve bir adet Ericsson marka GH 688 Model cep telefonları sıçan kafesleri üzerinde açık bırakılarak, her gün 4-5 defa 5'er dakika çaldırılmak suretiyle, cep telefonundan uzaklıkları yaklaşık 15 cm olacak şekilde 900 MHz'lik cep telefonu ışımasına maruz bırakıldı. C vitamini grubuna 4 hafta boyunca ağız yoluyla 250 mg/kg.gün C vitamini verildi. Cep telefonu + C vitamini grubuna 4 hafta boyunca, cep telefonu grubundaki gibi 900 MHz'lik cep telefonu ışımasına maruz bırakıldı ve ağız yoluyla 250 mg/kg.gün C vitamini verildi.

3.2.1. Numune çözeltilerinin hazırlanması

Dört hafta sonunda hayvanlar eterle uyutulduktan sonra karaciğer dokuları çıkarıldı ve tartıldı. Çıkarılan dokular -20°C'de derin dondurucuda saklandılar. Derin

dondurucuda saklanan karaciğer dokuları çalışma günü serum fizyolojik (5ml serum fizyolojik / 1g doku) içinde homojenize edildiler. Doku homojenatları 4000xg 20 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra elde edilen üstteki çözeltide protein derişimleri Lowry yöntemi ile belirlendi [40]. Çözeltilerin protein derişimleri eşit olacak şekilde uygun seyreltmeler yapıldı. Bu şekilde seyreltilmiş çözeltilerde malondialdehit (MDA) içeriği, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri tayin edildi.

3.3. Materyaller

3.3.1. Cihazlar

- ◆ Heidolph marka, DIAX900 model homojenizatör
- ◆ Unicam marka, Helios-a model spektrofotometre
- ◆ Heraus marka, Labofur 200 model soğutmalı santrifüj
- ◆ Ayarlanabilir ve sabit otomatik pipetler, cam pipetler, su banyosu
- ◆ Vestel marka, Slimline model derin dondurucu (-20°C)
- ◆ Arçelik marka soğutucu (-4°C)
- ◆ Sartorius Basic marka hassas elektronik terazi (0,1mg-100mg)
- ◆ Nokia marka, 5110 model cep telefonu
- ◆ Ericsson marka, GH 688 model cep telefonu

3.3.2. Kimyasal maddeler

CuSO₄, NaCO₃, NaOH, sodyum tungstat (Na₂WO₄), sodyum molibdat (Na₂MoO₄), HCl (%37 m/m, 1,16 g/mL), trikloroasetik asit (TCA), Na₂HPO₄, KH₂PO₄, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), CuCl₂, H₂O₂ (%30 v/v), NaN₃ (%99 m/m), askorbik asit Merck firmasından, nitroblue tetrazolium (NBT, %98 m/m), tiyobarbitürik asit (TBA, %98 m/m), ksantin (%99 m/m), ksantin oksidaz (XO, 21U/mL), sığır serum albumin (BSA,%96-99 m/m), NADPH (%98 m/m), glutatyon (GSH, %98 m/m), GSH redüktaz (17U/mL) Sigma firmasından temin edilmiştir.

3.4. Deney Yöntemleri

3.4.1. Protein içeriği ölçme yöntemi (Lowry yöntemi)

Doku homojenatlarından elde edilen üsteki çözeltilerin protein derişimlerinin belirlenmesinde Lowry'nin protein ölçme yöntemi kullanıldı [40]. Bu yöntem fosfotmolibdotungstik asidin proteinlerdeki tirozin ile verdiği absorbansın, ve ayrıca Cu^{+2} -protein kompleksinin verdiği absorbansın 700 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır. Deneyde kullanılan reaktifler ve hazırlanışları aşağıdadır:

- A reaktifi: 0,5g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve 1g sodyum sitrat tartılıp 100 mL damıtık suda çözüldü.
- B reaktifi: 20 g Na_2CO_3 tartılıp 1L 0,1 M NaOH içinde çözüldü.
- C reaktifi: 50 mL B reaktifine 1 mL A reaktifi eklendi.
- D reaktifi: 10 mL Folin-Ciocalteu reaktifi alınarak 10 mL damıtık su eklendi.
- Folin-Ciocalteu Reaktifi: 100g sodyum tungstat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve 25g sodyum molibdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) tartılıp 700 mL damıtık suda çözüldü. Üzerine 50 mL %85'lik o-fosforik asit ve 100 mL derişik HCl eklendi. 10 saat süreyle hafif ateş altında geri soğutucuda kaynatıldı. 150g lityum sülfat (Li_2SO_4) ve 50 mL damıtık su eklendi. Üç damla brom damlatıldı. Oluşan karışım 15 dakika süreyle yoğunlaştırıcı olmadan (fazla bromu buharlaştırarak uzaklaştırmak için) kaynatıldı. Çözelti soğuyunca damıtık suyla hacmi 1 litreye tamamlandı. Deney, Çizelge 3.1'de belirtilen sıra izlenerek yapıldı.

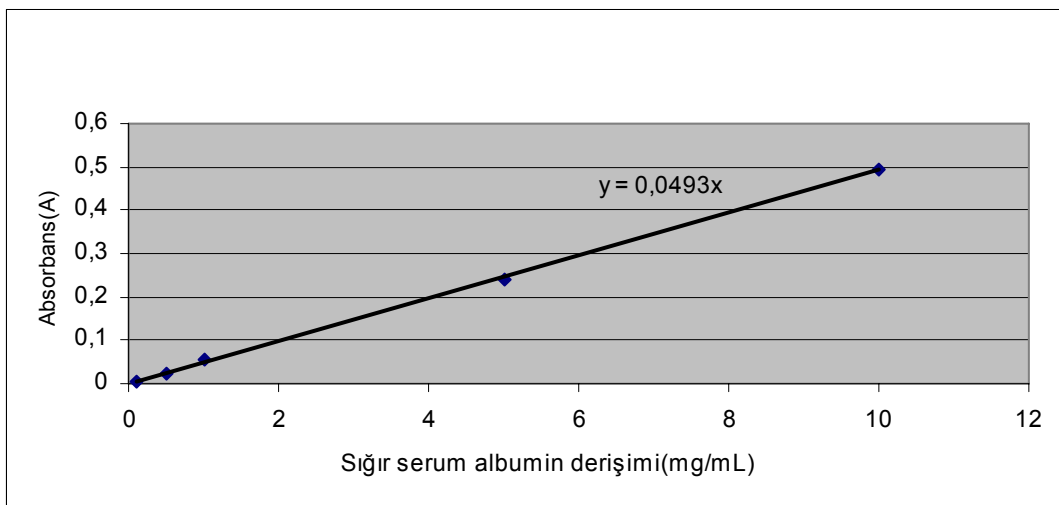
Çizelge 3.1 Protein içeriği ölçme yöntemi

	Deney	Tanık deney
Numune (Homojenat)	10 µL	--
Damıtık su	490 µL	500 µL
C Reaktifi	2,5 mL	2,5 mL
Oda sıcaklığında 10 dakika beklendi.		
D Reaktifi	250 µL	250 µL

Oda sıcaklığında 20 dakika daha bekledikten sonra 700 nm dalga boyunda deney ve tanık deney absorbansları damıtık suya karşı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Protein derişiminin hesaplanması için sığır serum albumini standardından kalibrasyon grafiğı çizildi. Bu grafik Şekil 3.1’de verildi. Grafikteki eğri eğiminin tersi alınarak protein derişimi hesaplandı. Buna göre hesaplama aşağıdaki bağıntıyla yapıldı.

$$\text{Protein derişimi (mg/mL)} = (A_D - A_{\text{TanıkD}}) \times (C_{\text{St}} / A_{\text{St}})$$

$$\text{Protein derişimi (mg/mL)} = (A_D - A_{\text{TanıkD}}) \times \text{Faktör(F)} \quad (3.1)$$



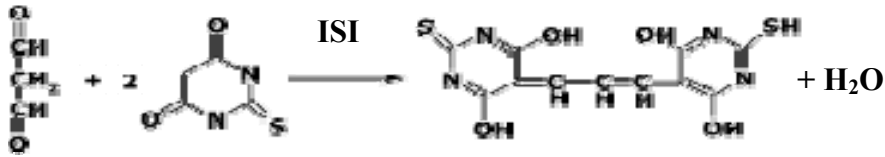
Şekil 3.1. Protein kalibrasyon grafiğı

$$\text{Derişim(mg/mL)} / \text{Absorbans(A)} = 1/0,0493 = 20$$

Bu çalışmada faktör yerine grafikteki eğimin tersi olan 20 alındı.

3.4.2. Malondialdehit (MDA) içeriği ölçme yöntemi

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. MDA içeriği ölçülmesinde MDA'nın TBA ile reaksiyona girmesi esas alınır [41]. Yöntem MDA ile tiyobarbitürik asidin (TBA) oluşturduğu pembe renkli bileşiğin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın ölçülmesine dayanır. MDA ile TBA arasındaki reaksiyon Şekil 3.2'de verildi.



Şekil 3.2. MDA ile TBA arasındaki reaksiyon

Deneyde kullanılan reaktifler ve hazırlanışları aşağıdadır:

- Fosfat tamponu (pH:6 , 100mM) hazırlamak için; 2,13 g Na₂HPO₄ , 11,56g KH₂PO₄ tartılıp damıtık suda çözülerek, hacim 1L'ye tamamlandı.
- Tiyobarbitürik asit çözeltisi (TBA, %2 m/v) hazırlamak için; 200 mg TBA tartılıp 10mL damıtık su ilave edildi ve ısıtılarak çözünmesi sağlandı.
- Trikloroasetik asit çözeltisi (TCA, %20 m/v) hazırlamak için; 100g TCA tartılıp 500mL 0,6M HCl çözeltisinde çözüldü.
- 0,6 M HCl hazırlamak için; 25 mL derişik HCl (1,16g/mL, %37) alınıp hacmi damıtık su ile 500mL'ye tamamlandı.
- Etil alkol(%95 v/v)

Deney, Çizelge 3.2'de belirtilen sıra izlenerek yapıldı.

Çizelge 3.2 MDA içeriği ölçme yöntemi

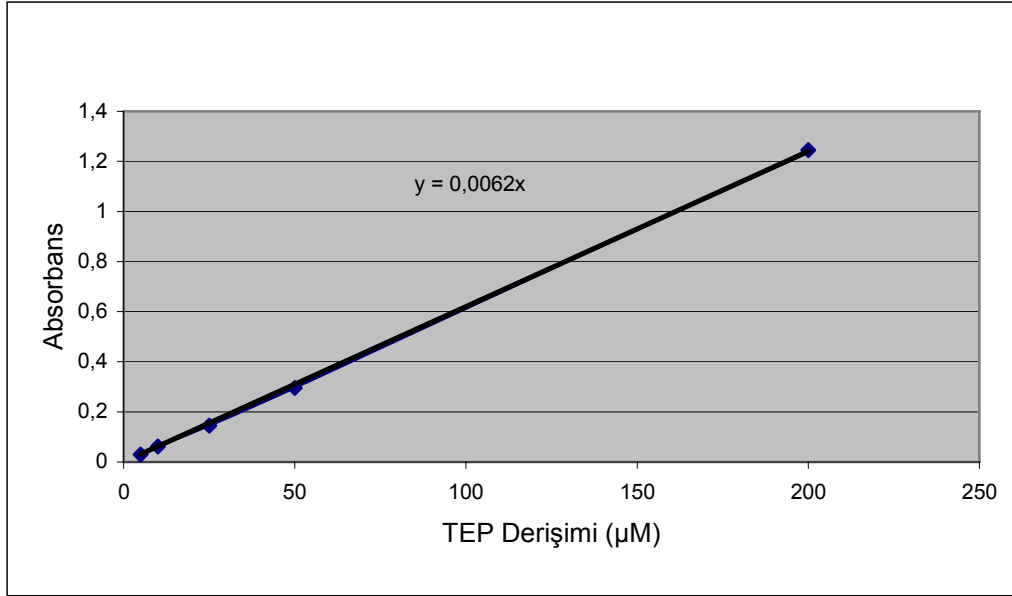
	Deney	Tanık Deney
Numune(Homojenat)	100µL	100 µL
Etil alkol	200 µL	200 µL
Fosfat tamponu	1mL	1 mL
TCA	1 mL	1 mL
TBA	1 mL	---
Deney ve tanık deney tüpleri 30 dakika su banyosunda kaynatıldı. 20 dakika süreyle 6000xg santrifüj edildi		
TBA	---	1 mL

Tanık deney tüpüne TBA çözeltisi, kaynatma ve santrifüjleme işlemi bittikten sonra, okuma işlemi yapılırken ilave edildi. Deney ve tanık deney çözeltilerinin absorbansları damıtık suya karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü. MDA içeriğinin hesaplanması için tetraetoksi propan (TEP) standartından kalibrasyon grafiği çizildi. Bu grafik Şekil 3.3’de verildi. Grafikteki eğrinin eğiminin tersi alınarak MDA içeriği hesaplandı. Buna göre hesaplama aşağıdaki bağıntı ile yapıldı.

$$C_D = A_D \times (C_{St} / A_{St})$$

$$MDA(nmol/mL) = (A_D - A_{TanıkD}) \times (C_{St} / A_{St})$$

$$MDA(nmol/mL) = (A_D - A_{TanıkD}) \times Faktör$$



Şekil 3.3. MDA kalibrasyon grafiği

Faktör yerine grafikteki eğimin tersi olan 161,3 alındı.

$$\text{MDA}(\text{nmol/mL}) = \Delta A \times 161,3$$

$$\text{MDA}(\text{nmol/mg protein}) = (\Delta A \times 161,3) / \text{Protein derişimi}(\text{mg/mL}) \quad (3.2)$$

3.4.3. Süperoksit dismutaz(SOD) aktivitesi ölçme yöntemi

Bu yöntemin temeli, ksantin/ksantin oksidaz sistemiyle oluşturulan süperoksit radikalının, süperoksit dismutaz enzim sisteminde kullanılmadığında ortamda bulunan nitroblue tetrazolium (NBT) bileşiğinin indirgenmesi esasına dayanır [42,43]. İndirgenmiş NBT menekşe renginin oluşumuna sebep olur. Ortamdaki ksantin/ksantin oksidaz sistemiyle oluşturulan süperoksit radikalının, SOD enziminin kullanılması NBT indirgenmesini azaltır; böylece indirgenmiş NBT ve beraberinde oluşan menekşe renginin de şiddeti azalır.

Enzim aktivitesi, oluşan menekşe renginin 560 nm dalga boyundaki absorbansının ölçülmesi ile belirlenir. SOD aktivitesi ölçme deneylerinde ünite, NBT reaksiyonunu %50 inhibe eden enzim aktivitesi olarak tanımlanmıştır.

Deneyde kullanılan reaktifler ve hazırlanışları aşağıdadır:

- Deney reaktifi hazırlamak için;
 - 9,1 mg ksantin tartılıp birkaç damla 1M NaOH'te çözüldü, damıtık suyla hacmi 200mL'ye tamamlandı.
 - 12,3 mg NBT tartılıp damıtık suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı..
 - 25 mg EDTA tartılıp damıtık suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.
 - 2,54 g Na₂CO₃ tartılıp damıtık suda çözülerek hacmi 60 mL'ye tamamlandı.
 - 30 mg sığır serum albumin tartılıp damıtık suda çözülerek hacmi 30 mL'ye tamamlandı.
- Ksantin oksidaz(XO) hazırlamak için; 10µL XO alınıp 1mL 3,2M (NH₄)₂SO₄ 'de çözüldü.
- CuCl₂ çözeltisi hazırlamak için; 108 mg CuCl₂ tartılıp damıtık suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Deney çözeltileri çalışılmadan önce, ölçülebilecek absorbans elde etmek üzere uygun oranda (50,100,200,300) seyreltildi. Deney, Çizelge 3.3'de belirtilen sıra takip edilerek yapıldı.

Çizelge 3.3 SOD aktivitesi ölçme yöntemi

	Tanık Deney	Deney
Deney reaktifi	2,75mL	2,75mL
Numune(homojenat)	---	100µL
Karıştırılıp oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi ve aşağıdaki şekilde deneylere devam edildi.		
CuCl ₂	100µL	100µL
Numune(homojenat)	100µL	---

Deney ve tanık deney tüpleri karıştırıldı. Deney ve tanık deney çözeltilerinin absorbansları 560 nm dalga boyunda damıtık suya karşı okundu.

SOD aktivitesi hesaplanması

Okunan absorbans değerleri aşağıdaki bağıntıda yerine konularak SOD aktivitesi hesaplandı.

$$\text{SOD aktivitesi} = ((A_{\text{TanıkD}} - A_D) / A_{\text{TanıkD}}) \times (100/50) \times (1/V_{\text{Nm}}) \times \text{Seyreltme faktörü}$$

$$\text{SOD aktivitesi} = ((A_{\text{TanıkD}} - A_D) / A_{\text{TanıkD}}) \times 2 \times (1/0,1\text{mL}) \times \text{Seyreltme faktörü}$$

$$\text{SOD aktivitesi(U/mL)} = ((A_{\text{TanıkD}} - A_D) / A_{\text{TanıkD}}) \times 20 \times \text{Seyreltme faktörü}$$

$$\text{SOD(U/mg protein)} = [((A_{\text{TanıkD}} - A_D) / A_{\text{TanıkD}}) \times 20 \times \text{SF}] / \text{Prot der. (mg/mL)} \quad (3.3)$$

3.4.4. Katalaz (CAT) aktivitesi ölçme yöntemi

Bu yöntem, 240 nm dalga boyunda hidrojen peroksidin(H_2O_2) verdiği absorbans değerinin katalaz enzimi aktivitesi sebebiyle zaman içerisinde azalma göstermesi ve bu azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanır [44]. H_2O_2 'in spektrofotometrik olarak 240nm dalga boyunda absorbansındaki düşmenin 1 dakika($\Delta A/t$ dakika) izlenmesi ile katalaz aktivitesi belirlendi. Deneyde kullanılan reaktifler ve hazırlanışları aşağıdadır:

- Fosfat tamponu(pH:7 ; 50mM) hazırlamak için; 4,2g Na_2HPO_4 ve 2,72g KH_2PO_4 tartılıp suda çözüldü ve hacmi damıtık su ile 1L'ye tamamlandı.
- H_2O_2 çözeltisi hazırlamak için; % 30 v/v'lik H_2O_2 çözeltisinden 0,2mL alınarak 100mL'lik ölçülü balona konuldu ve fosfat tamponu ile hacim 100mL'ye tamamlandı. Bu karışımın 240 nm'deki absorbansı 0,45-0,50 arasında olmalıdır.

Deney, Çizelge 3.4'de belirtilen sıra takip edilerek yapıldı.

Çizelge 3.4 Katalaz (CAT) aktivitesi ölçme yöntemi

	Deney	Tanık deney
Fosfat tamponu	--	0,01mL
H ₂ O ₂ çözeltisi	3,00mL	3,00mL
Numune(Homojenat)	0,01mL	--

Deney ve tanık deney çözeltilerinin absorbanlarındaki değişim($\Delta A/t$ dakika), damıtık suya karşı 240 nm dalga boyunda 1 dakika boyunca spektrofotometrik olarak izlenerek okundu.

Katalaz(CAT) aktivitesi hesaplanması

Bir dakika sonundaki absorban değişimleri arasındaki fark($\Delta A/t$ dakika), H₂O₂'nin molar absorpsiyon katsayısı ϵ ve 10 μ L numune alınarak yapılan deneylerde katalaz aktivitesi aşağıdaki bağıntıyla hesaplandı.

$$\text{H}_2\text{O}_2\text{'in molar absorpsiyon katsayısı}(\epsilon_{\text{H}_2\text{O}_2}) = 40,98 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$$\text{CAT akt.} = ((\Delta A_D/t \text{ dakika}) - (\Delta A_{\text{TanıkD}}/t \text{ dakika})) \times (1/\epsilon_{\text{H}_2\text{O}_2}) \times (1/\ell) \times (V_T/V_{Nm})$$

$$\text{CAT akt.} = (\Delta A/t \text{ dakika}) \times (1/0,04098 \text{ L/mmol.cm}) \times (1/1 \text{ cm}) \times (3,01 \text{ mL}/0,01 \text{ mL})$$

$$\text{CAT aktivitesi} = (\Delta A/t) \times 7345 (\mu\text{mol/mL.dakika})$$

$$\mu\text{mol/dakika} = \text{IU olduğundan;}$$

$$\text{CAT(IU/mL)} = (\Delta A/t) \times 7345$$

$$\text{CAT(IU/mg protein)} = ((\Delta A/t) \times 7345) / \text{Protein derişimi(mg/mL)} \quad (3.4)$$

3.4.5. Glutasyon peroksidaz(GSH-Px) aktivitesi ölçme yöntemi

Bu yöntem, glutasyon(GSH) ile hidrojen peroksitin(H₂O₂) glutasyon peroksidaz etkisiyle su ve yükseltgenmiş glutatyon(GSSG) dönüşümünü izleyen basamakta glutasyon redüktaz enziminin NADPH oksidasyonunu, oluşan GSSG ürün miktarına bağlı olarak gerçekleştirmesi temeline dayanır [45]. Bu reaksiyonda GSSG ürünü

oldukça NADPH yükseltgenerek NADP^+ ’ya dönüşecektir. NADPH’nin NADP^+ ’ya çevriminin spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda absorbansındaki düşmenin 1 dakika izlenmesiyle GSH-Px aktivitesi belirlendi. Deneyde kullanılan reaktifler ve hazırlanışları aşağıdadır:

- Fosfat tamponu(pH:7, 50mM fosfat tamponu, 5,6mM EDTA) hazırlamak için; 4,2g Na_2HPO_4 , 2,72g KH_2PO_4 ve 2,08g EDTA tartılıp damıtık suda çözülerek hacmi 1L’ye tamamlandı.
- GSH çözeltisi hazırlamak için; 250mg GSH tartılıp 5 mL fosfat tamponunda çözüldü.
- 7,2mM NADPH çözeltisi hazırlamak için; 30mg NADPH tartılıp 5 mL fosfat tamponunda çözüldü.
- GSH redüktaz enzim çözeltisi hazırlamak için; 10 μL GSH redüktaz alınıp 1mL 3,2M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ’ta çözüldü.
- 2mM NaN_3 çözeltisi hazırlamak için; 260mg NaN_3 tartılıp 2mL fosfat tamponunda çözüldü.
- H_2O_2 çözeltisi hazırlamak için; %30 v/v’luk H_2O_2 ’den 15 μL H_2O_2 alınarak 5mL fosfat tamponunda çözüldü.
- 3,2M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ çözeltisi hazırlamak için; 42,24mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ tartılıp damıtık suda çözülerek hacmi 100mL’ye tamamlandı. Bu çözeltiler kullanılıncaya kadar buz-su karışımında bekletildi. Deney, Çizelge 3.5’de belirtilen sıra takip edilerek yapıldı.

Çizelge 3.5 GSH-Px aktivitesi ölçme yöntemi

	Deney	Tanık deney
Fosfat tamponu	2,45mL	2,45mL
GSH	100µL	100µL
NADPH	50 µL	50 µL
GSH redüktaz	100 µL	100 µL
NaN ₃	100 µL	100 µL
Numune(Homojenat)	100 µL	100 µL
H ₂ O ₂ çözeltisi	100 µL	--

Çizelge 3.5’de belirtilen maddelerin, deneye başlamadan oda sıcaklığına gelmesi için beklendi. Spektrofotometre, 340 nm dalga boyunda fosfat tamponuyla sıfır absorbansa ayarlandı. Tanık deney çözeltileri küvete konduktan sonra küvet kapağı takılarak karıştırıldı. Küvet, cihaza yerleştirilerek 1 dakika boyunca absorbanstaki düşme değeri izlenerek okundu. Bu değer, tanık deney çözeltisi değeri olarak kaydedildi. Aynı küvete 100 µL H₂O₂ çözeltisi hemen konularak karıştırıldı ve tekrar 1 dakika boyunca absorbanstaki düşme değeri izlenerek okundu. Bu değer, deney çözeltisi değeri olarak kaydedildi. Tanık deney ve deney çözeltilerinin absorbansları arasındaki fark($\Delta A/t$ dakika) GSH-Px aktivitesi ile doğru orantılıdır.

GSH-Px aktivitesi hesaplaması

Bir dakika sonundaki absorbans değişimleri arasındaki fark($\Delta A/t$ dakika), NADPH’nin molar absorpsiyon katsayısı (ϵ) ve 100 µL numune kullanılarak yapılan deneylerde GSH-Px aktivitesi aşağıdaki bağıntıyla hesaplandı.

$$\text{NADPH'nin molar absorpsiyon katsayısı}(\epsilon_{\text{NADPH}}) = 6220 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$$\text{GSH-Px akt.}=(\Delta A_D/t \text{ dakika})-(\Delta A_{\text{TanıkD}}/t \text{ dakika})\times(1/\epsilon_{\text{NADPH}}) \times (1/\ell) \times (V_T/V_{\text{Nm}})$$

$$\text{GSH-Px aktivitesi}=(\Delta A/t \text{ dakika})\times(1/0,00622 \text{ L}/\mu\text{mol.cm})\times(1/1 \text{ cm})\times(3 \text{ mL}/0,1 \text{ ml})$$

$$\text{GSH-Px aktivitesi} = (\Delta A/t) \times 4,8(\mu\text{mol}/\text{mL.dakika}) , \mu\text{mol}/\text{dakika} = \text{IU olduğundan};$$

$$\text{GSH-Px (mIU/mL)} = (\Delta A/t) \times 4800$$

$$\text{GSH-Px (mIU/mg protein)} = ((\Delta A/t) \times 4800) / \text{Protein derişimi(mg/mL)} \quad (3.5)$$

3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler

Sonuçların istatistiksel analizleri SPSS for Windows (11.0.5;2002) paket program kullanılarak yapıldı. Sonuçlar aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (Ort. $\pm$ S.H.) olarak verildi. Gruplar arası istatistiksel değerlendirmede tek yönlü değişim analizi (ANOVA) ve post hoc Tukey's HSD denemeleri kullanıldı. $p < 0,05$ ve $p < 0,01$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Protein İçeriğini Ölçme Deneyi

Protein içeriği, Bölüm 3.4.1’de anlatıldığı gibi tayin edildi. Deney ve tanık deney çözeltilerinin absorbanları damıtık suya karşı 700 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bulunan absorbanlar, dört grubun her bir elemanı için Bölüm 3.4.1’de verilen Eş. 3.1’de yerine konularak, mg/mL cinsinden, protein içerikleri hesaplandı. Bulunan protein içerikleri Çizelge 4.1’de verildi.

Çizelge 4.1. Protein içerikleri(mg/mL)

	Gruplar			
	Kontrol	Cep tel.	C vit.	Cep tel. + C vit.
Protein içeriği (mg/mL)	28,24	25,74	24,96	26,60
	27,48	28,44	38,96	28,74
	26,32	25,30	32,02	25,48
	31,44	22,14	36,30	25,98
	28,64	22,24	37,30	24,54
	32,98	28,52	38,78	23,56
	30,34	28,68	32,84	29,20
	32,12	26,88	30,76	24,46
	32,38	23,20	29,16	31,58
	30,56	29,54	25,68	31,78

Grup elemanlarının protein içeriği değerlerinden en küçük olan değer (22,14) belirlendi. Grupların diğer elemanlarının çözeltilerinde, protein içerikleri 22,14 mg/mL olacak şekilde uygun seyreltmeler yapıldı.

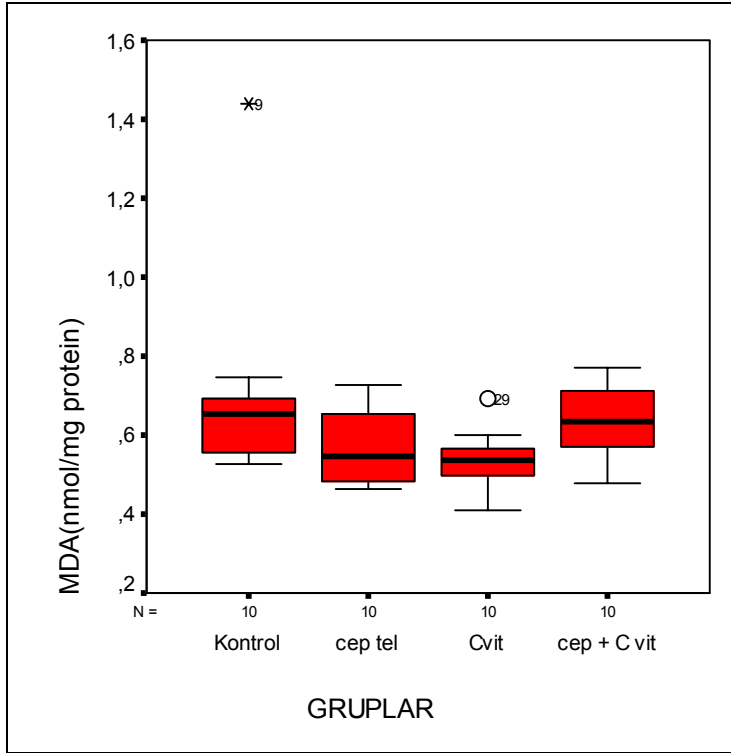
4.2. Malondialdehit (MDA) İçeriğini Ölçme Deneyi

Molondialdehit(MDA) içeriği, Bölüm 3.4.2’de anlatıldığı gibi tayin edildi. Deney ve tanık deney çözeltilerinin absorbansı damıtık suya karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bulunan absorbanslar, dört grubun her bir elemanı için Bölüm 3.4.2’de verilen Eş. 3.2’de yerine konularak, nmol/mg protein cinsinden, MDA içeriği değerleri hesaplandı. Hesaplanan ham değerler Çizelge 4.2’de verildi.

Çizelge 4.2. Sıçanların karaciğer dokusunun MDA içerikleri (Ham değerler)

Gruplar				
MDA içeriği (nmol/mg protein)	Kontrol	Cep tel.	C vit.	Cep tel.+C vit.
	0,692	0,652	0,499	0,671
	0,747	0,729	0,528	0,656
	0,692	0,539	0,466	0,586
	0,554	0,561	0,568	0,759
	0,645	0,506	0,408	0,561
	0,528	0,481	0,517	0,457
	0,648	0,463	0,568	0,710
	0,557	0,688	0,601	0,722
	1,439	0,550	0,692	0,610
	0,663	0,481	0,543	0,562

Sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun MDA içeriği ham değerleri arasında şüpheli olan değerler Bölüm 2.5.1’de anlatıldığı gibi belirlendi. Grupların MDA içeriği değerlerinde şüpheli olan değerler Şekil 4.1’de verildi.



Şekil 4.1. Grupların MDA içeriğinde şüpheli değerler

Şekil 4.1’de gösterilen * işaretli olan değer atılarak, geride kalan değerlerin normal dağılım için uygunluğuna bakıldı. MDA içeriği değerlerinin normal dağılıma uygun olmadığı bulundu. O işaretli değer atılarak normal dağılım için uygunluğa tekrar bakıldı ve normal dağılıma uygun olduğu görüldü. Atılan bu değerler dışında kalan MDA içeriği değerleri Çizelge 4.3’te verildi.

Çizelge 4.3. Sıçanların karaciğer dokusunun atılan değerler(--) dışındaki MDA içerikleri

	Gruplar			
	Kontrol	Cep tel.	C vit.	Cep tel.+C vit.
MDA içeriği (nmol/mg protein)	0,692	0,652	0,499	0,671
	0,747	0,729	0,528	0,656
	0,692	0,539	0,466	0,586
	0,554	0,561	0,568	0,759
	0,645	0,506	0,408	0,561
	0,528	0,481	0,517	0,457
	0,648	0,463	0,568	0,710
	0,557	0,688	0,601	0,722
	--	0,550	--	0,610
	0,663	0,481	0,543	0,562

Çizelge 4.3'te verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun MDA içeriği değerlerinin, gruplara göre aritmetik ortalama, standart sapma ve standart hata sonuçları Çizelge 4.4'te verildi.

Çizelge 4.4. Sıçanların karaciğer dokusunun MDA içerikleri (Ort.±S.H.)

	Gruplar	N	Aritmetik Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
MDA içeriği (nmol/mg protein)	Kontrol	9	0,636	0,074	0,025
	Cep tel.	10	0,565	0,093	0,030
	C vit.	9	0,522	0,059	0,020
	Cep tel.+C vit	10	0,630	0,091	0,029

Çizelge 4.3'te verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun MDA içeriği değerlerinin ANOVA(F denemesi) istatistiksel değerlendirilmesi Çizelge 4.5'de verildi.

Çizelge 4.5. MDA için ANOVA(F denemesi) istatistiksel değerlendirmesi

	SD	KT	KO	F _k	F _{hes.}	p
Genel(Gn)	37	0,309	--	2,92	4,17	<0,05*
Gruplar Arası (GA)	3	0,083	0,028			
Gruplar İçi (Gİ)	34	0,226	0,007			

$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu$ (Grupların hepsi eşittir.)

$H_1 : \mu_j$ Gruplardan en az biri farklıdır.

Genel serbestlik derecesi(GnSD) = 38-1=37

Gruplar arası serbestlik derecesi(GASD) = 4-1 = 3

Gruplar içi serbestlik derecesi(GİSD) = 38- 4 = 34

$GAKO = (GAKT/GASD) = 0,083/3 = 0,028$

$GİKO = (GİKT/GİSD) = 0,226/34 = 0,007$

$F_{hes.} = GAKO / GİKO = 0,028/0,007 = 4,17$

Kritik değeri bulmak için, F çizelgesinde birinci satırdan 3 ve birinci sütundan 34 rakamı yerine 30 alınarak, kesim noktasındaki değer 2,92 ($\alpha = 0,05$) olarak bulundu.

Kritik değerimiz, $F_{3,30,0,05} = 2,92$ 'dir.

$F_{hes.} = 4,17 > F_{3,30,0,05}$ olduğundan 0,05 anlamlılık düzeyinde H_0 hipotezi reddedilir.

$F_{hes.} = 4,17 ; p < 0,05^*$ olduğundan MDA içeriği, gruplar arasında önemli bir farklılık gösterir. Bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu bulmak için, Tukey's HSD denemesi uygulandı. Bulunan değerlerin Tukey's HSD denemesine göre istatistiksel değerlendirmesi Çizelge 4.6'da verildi.

Çizelge 4.6. MDA için Tukey's HSD denemesi istatistiksel değerlendirmesi

I Gruplar	J Gruplar	$ \bar{X}_I - \bar{X}_J $	T	p
Kontrol	Cep tel.	0,071	0,104	>0,05
	C vit.	0,114	0,107	<0,05*
	Cep tel.+ C vit	0,006	0,104	>0,05
Cep tel.	C vit.	0,043	0,104	>0,05
	Cep tel.+ C vit	0,065	0,102	>0,05
C vit.	Cep tel.+ C vit	0,108	0,104	<0,05*

$|\bar{X}_I - \bar{X}_J| > T$ ise H_0 hipotezi reddedilir. Kontrol grubu ile C vitamini grubu arasında, Tukey's HSD denemesi için bir örnek aşağıda verildi.

Kontrol grubu ile C vitamini grubu T değeri ;

$$T = 3,84 \left(\sqrt{\frac{0,007}{9}} \right) = 0,107$$

Q çizelgesinde 30 serbestlik derecesinde, 4 grup sayısında $Q = 3,84$ 'dür. T bağıntıdan 0,107 olarak hesaplandı. $|\bar{X}_I - \bar{X}_J| > T \rightarrow 0,114 > 0,107$ olduğu için H_0 hipotezi reddedilir. Yani $p < 0,05^*$ 'dir. Bu durum kontrol grubu ile C vitamini grubu arasındaki farkın anlamlı olduğunu göstermektedir.

Sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun MDA içeriği değerlerinin anlamlılığı için yapılan ANOVA ve Tukey's HSD istatistiksel denemeleri ile karşılaştırılması Çizelge 4.7'de verildi.

Çizelge 4.7. Sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun MDA içeriği değerlerinin anlamlılık durumları

	Anova (F Denemesi)	Tukey's Hsd Denemesi		
MDA içeriği (nmol/mg protein)	p < 0,05*	Kontrol	Cep tel.	p>0,05
			C vit.	p<0,05*
			Cep tel.+ C vit	p>0,05
		Cep tel.	C vit.	p>0,05
			Cep tel.+ C vit	p>0,05
		C vit.	Cep tel.+ C vit	p<0,05*

Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi gruplar arası değerlendirme yapan ANOVA denemesine göre MDA içeriği sonuçları anlamlıdır (p<0,05*). Bu anlamlılığı gruplar içinde ikili karşılaştırma yaparak veren Tukey's HSD denemesine göre; kontrol grubu ile cep telefonu grubu MDA içeriği sonuçları anlamlı değildir (p>0,05). Bu grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, cep telefonu grubunda (0,565 $\pm$ 0,030 nmol/mg protein), kontrol grubuna (0,636 $\pm$ 0,025nmol/mg protein) göre karaciğer dokusunun MDA içeriğinde anlamlı olmasa da bir azalma bulundu. Bu azalma, antioksidant enzimler olan SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinin artması (Bu artmalar SOD için Çizelge 4.10, CAT için Çizelge 4.15 GSH-Px için Çizelge 4.21'de görülmektedir.) ile serbest radikallerin ortamdan uzaklaştırılması sonucu lipid peroksidasyonunun azalmasından ileri gelebilir. Kuvvetli bir savunma sistemine sahip olan karaciğerin, ışıma etkisine karşı daha hızlı bir tepki göstermesi ile SOD, CAT, GSH-Px enzimlerinin aktivitelerinin artması ve böylece MDA içeriğinin azalmasını sağlamış olabilir.

Kontrol grubu ile C vitamini grubu MDA içeriği sonuçları anlamlıdır (p<0,05*). Bu grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, C vitamini grubunda (0,522 $\pm$ 0,020nmol/mg protein), kontrol grubuna (0,636 $\pm$ 0,025nmol/mg protein) göre karaciğer dokusunun MDA içeriğinde anlamlı bir azalma bulundu. C

vitamini verilen grupta MDA içeriğinin düşük bulunması, C vitamininin serbest radikalleri yok etmesinden ileri gelebilir.

C vitamini grubu ile cep tel. + C vit. grubu MDA içeriği sonuçları anlamlıdır ($p<0,05^*$). Bu grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, cep tel. + C vit. grubunda ($0,630 \pm 0,029\text{nmol/mg protein}$), C vitamini grubuna ($0,522 \pm 0,020\text{nmol/mg protein}$) göre karaciğer dokusunun MDA içeriğinin de anlamlı bir artış bulundu. Cep telefonu ışımasının kontrol grubuna göre, serbest radikallerin oluşumu üzerine anlamlı bir etkisi olmamasından ve cep tel. + C vit. grubunda bulunan MDA içeriği değerinin yaklaşık kontrol grubu ile aynı olmasından bu artış, cep telefonu ışıması sonucu C vitamininin serbest radikalleri yok edici etkisini gösterememesinden ileri gelebilir.

Bu konuda, Moustafa ve arkadaşları [31], cep telefonları radyo frekans alanlarının insan eritrositlerindeki, plazma lipit peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA seviyesinde yapmış olduğu değişimi incelediklerinde; MDA seviyesinde, cep telefonu radyo frekans alanlarına maruz kalan grupta ($2,262 \pm 0,053\text{nmol/mL}$), kontrol grubuna ($2,087 \pm 0,058\text{nmol/mL}$) göre anlamlı bir artış gözlemişlerdir. MDA seviyesindeki bu artışı, serbest radikalleri etkisiz hale getiren antioksidant mekanizmadaki bozulmaya ve eritrositlerin, akciğer hücreleri dışında, diğer tüm hücrelerden daha fazla oksijene maruz kalmalarından dolayı, oksidatif hasara karşı daha çok duyarlı olmalarına dayandırmışlardır.

İlhan ve arkadaşları [2], cep telefonlarından yayılan elektromanyetik ışımanın, sıçan beyin dokusundaki, lipit peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA seviyesinde yapmış olduğu değişimi incelediklerinde; MDA seviyesinde, cep telefonlarından yayılan elektromanyetik ışımaya maruz kalan grupta ($70,69 \pm 10,04\text{nmol/g protein}$), kontrol grubuna ($55,13 \pm 8,62\text{nmol/g protein}$) göre anlamlı bir artış gözlemişlerdir. Bu artışı, sinir sisteminin yüksek metabolizma hızından dolayı reaktif oksijen türlerine karşı hassas, antioksidant savunma mekanizmaları zayıf ve hücre yenilenmesi düşük olduğundan oksidatif olayların daha çok görülebilmesine dayandırmışlardır. Aynı çalışmada, MDA seviyesinde, elektromanyetik ışımaya

maruz kalan ve *Ginkgo biloba* özütü verilen grupta ($56,56 \pm 8,87\text{nmol/g protein}$), sadece elektro manyetik radyasyona maruz kalan grubuna ($70,69 \pm 10,04\text{nmol/g protein}$) göre anlamlı bir azalma gözlemişlerdir. Bu azalmayı, *Ginkgo biloba* bitkisi özütünün beyin dokusundaki oksidatif hasarı anlamlı bir şekilde önlemesini antioksidant özelliğine ve *Ginkgo* flavon glikositlerinin beyin-kan engelinden, kolayca geçmesine dayandırmışlardır.

Öktem ve arkadaşlarının [37], cep telefonu elektromanyetik ışımanın sıçan böbrek dokusu üzerinde oksidatif hasara sebep olduğunu gösterdikleri çalışmalarında, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA seviyesinde elektromanyetik ışımaya maruz kalan grupta ($15,43 \pm 2,89\text{nM/g doku}$), kontrol grubuna ($8,32 \pm 1,83\text{nM/g doku}$) göre anlamlı bir artış bulmuşlardır. Bu artışı, çalışılan deney şartları altında reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesine ve oksidatif stresin artmasına dayandırmışlardır. Aynı çalışmada, MDA seviyesinde elektromanyetik ışımaya maruz kalan ve melatonin verilen grupta ($10,91 \pm 1,78\text{nM/g doku}$), sadece elektromanyetik ışımaya maruz kalan grubuna ($15,43 \pm 2,89\text{nM/g doku}$) göre anlamlı bir azalma gözlemişlerdir. Bu azalmayı, melatoninin antioksidant enzimleri harekete geçirecek yönde etki ederek serbest radikalleri yok etmesine ve oksidatif doku hasarını onarmasına dayandırmışlardır.

Bulduğumuz sonuçlar, İlhan ve arkadaşlarının [2] yapmış olduğu sıçan beyin dokusunda, Moustafa ve arkadaşlarının [31] yapmış olduğu insan eritrositlerinde, Öktem ve arkadaşlarının [37] yapmış olduğu sıçan böbrek dokusunda bulunan sonuçlarla uyuşmamaktadır.

4.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesini Ölçme Deneyi

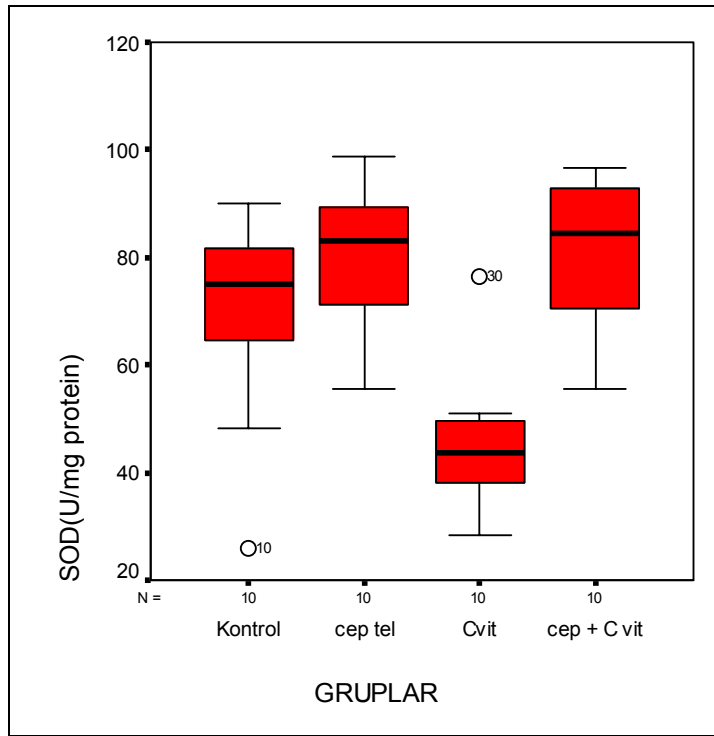
Süperoksit dismutaz(SOD) aktivitesi Bölüm 3.4.3’de anlatıldığı gibi tayin edildi. Tanık deney ve deney çözeltilerinin absorbansları 560 nm dalga boyunda damıtık suya karşı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bulunan absorbans değerleri, dört grubun her bir elemanı için Bölüm 3.4.3’de belirtilen Eş. 3.3’de yerine konularak

U/mg protein cinsinden SOD aktivite değerleri hesaplandı. Hesaplanan ham değerler izelge 4.8’de verildi.

Çizelge 4.8. Sıçanların karaciğer dokusunun SOD aktiviteleri (Ham değerler)

	Gruplar			
	Kontrol	Cep tel.	C vit.	Cep tel.+C vit.
SOD aktivitesi (U/mg protein)	48,298	61,928	46,458	72,930
	81,651	71,262	40,204	72,223
	90,008	81,549	49,776	74,001
	64,740	97,257	41,076	67,358
	64,648	55,468	28,314	70,666
	81,794	84,810	31,821	68,313
	80,491	87,577	51,024	60,492
	74,087	89,185	49,273	76,821
	76,001	98,683	38,141	70,258
	25,993	74,793	76,577	65,489

Sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun SOD aktivitesi ham değerleri arasında, şüpheli olan değerler Bölüm 2.5.1’de anlatıldığı gibi belirlendi. Grupların SOD aktivitesi değerlerinde şüpheli olan değerler şekil 4.2’de verildi.



Şekil 4.2. Grupların SOD aktivitesinde şüpheli değerler

Şekil 4.2’de gösterilen O işaretli değerler atılarak normal dağılım için uygunluğa bakıldı. Normal dağılıma uygun olduğu görüldü. Atılan bu değerler dışında kalan SOD aktivitesi değerleri Çizelge 4.9’da verildi.

Çizelge 4.9. Sıçanların karaciğer dokusunun atılan değerler(--) dışındaki SOD aktivitesi değerleri

	Gruplar			
	Kontrol	Cep tel.	C vit.	Cep tel.+C vit.
SOD aktivitesi (U/mg protein)	48,298	61,928	46,458	72,930
	81,651	71,262	40,204	72,223
	90,008	81,549	49,776	74,001
	64,740	97,257	41,076	67,358
	64,648	55,468	28,314	70,666
	81,794	84,810	31,821	68,313
	80,491	87,577	51,024	60,492
	74,087	89,185	49,273	76,821
	76,001	98,683	38,141	70,258
	--	74,793	--	65,489

Çizelge 4.9’da verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun SOD aktivitesi değerlerinin, gruplara göre aritmetik ortalama, standart sapma ve standart hata sonuçları Çizelge 4.10’de verildi.

Çizelge 4.10. Sıçanların karaciğer dokusunun SOD aktivite değerleri(Ort.±S.H.)

	Gruplar	N	Aritmetik Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
SOD aktivitesi (U/mg protein)	Kontrol	9	73,524	12,517	4,172
	Cep tel.	10	80,251	14,319	4,528
	C vit.	9	41,787	8,094	2,698
	Cep tel.+C vit	10	69,855	4,678	1,479

Çizelge 4.9’da verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun SOD aktivite değerlerinin, ANOVA(F denemesi) istatistiksel değerlendirilmesi Çizelge 4.11’de verildi.

Çizelge 4.11. SOD için ANOVA(F Denemesi) istatistiksel değerlendirmesi

	SD	KT	KO	F _k	F _{hes.}	p
Genel(Gn)	37	11760,255	--	2,92	23,558	<0,01*
Gruplar Arası (GA)	3	7940,266	2646,755			
Gruplar İçi (Gİ)	34	3819,958	112,352			

Çizelge 4.9’da verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun SOD aktivite değerlerinin, Tukey’s HSD denemesine göre istatistiksel değerlendirilmesi Çizelge 4.12’de verildi.

Çizelge 4.12. SOD için Tukey’s HSD denemesi istatistiksel değerlendirilmesi

I Gruplar	J Gruplar	$ \bar{X}_I - \bar{X}_J $	T	p
Kontrol	Cep tel.	6,727	13,224	>0,05
	C vit.	31,737	13,568	<0,01*
	Cep tel.+ C vit	3,669	13,224	>0,05
Cep tel.	C vit.	38,464	13,224	<0,01*
	Cep tel.+ C vit	10,396	12,871	>0,05
C vit.	Cep tel.+ C vit	28,068	13,224	<0,01*

Sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun SOD aktivite değerlerinin anlamlılığı için yapılan ANOVA ve Tukey’s HSD istatistiksel denemeleri ile karşılaştırılması Çizelge 4.13’te verildi.

Çizelge 4.13. Sıçanların karaciğer dokusunun SOD aktivite değerlerinin anlamlılık durumları

	Anova (F Denemesi)	Tukey's Hsd Denemesi		
SOD aktivitesi (U/mg protein)	p < 0,01*	Kontrol	Cep tel.	p > 0,05
			C vit.	p < 0,01*
			Cep tel.+ C vit	p > 0,05
		Cep tel.	C vit.	p < 0,01*
			Cep tel.+ C vit	p > 0,05
		C vit.	Cep tel.+ C vit	p < 0,01*

Çizelge 4.13'te görüldüğü gibi gruplar arası değerlendirme yapan ANOVA denemesine göre SOD aktivitesi sonuçları anlamlıdır (p<0,01*). Bu anlamlılığı gruplar içinde ikili karşılaştırma yaparak veren Tukey's HSD denemesine göre; kontrol grubu ile cep telefonu grubu SOD aktivitesi sonuçları anlamlı değildir (p>0,05). Bu grupların, aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, cep telefonu grubunda (80,251 $\pm$ 4,528U/mg protein), kontrol grubuna (73,524 $\pm$ 4,172U/mg protein) göre karaciğer dokusunun SOD aktivitesinde anlamlı olmasa da bir artış bulundu. Bu artış, cep telefonu ışıması sonucu karaciğer dokusunun, ışımaya karşı tepki olarak kontrol grubuna göre SOD enzimini daha hızlı aktif hale getirmesinden ileri gelebilir.

Kontrol grubu ile C vitamini grubu SOD aktivitesi sonuçları anlamlıdır (p<0,01*). Bu grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, C vitamini grubunda (41,787 $\pm$ 2,698U/mg protein) kontrol grubuna (73,524 $\pm$ 4,172U/mg protein) göre karaciğer dokusunun SOD aktivitesinde anlamlı bir azalma bulundu. Bu azalma, C vitamininin serbest radikalleri yok etmesinden kaynaklanabilir.

Cep tel. + C vit. grubu ile C vitamini grubu SOD aktivitesi sonuçları anlamlıdır (p<0,01*). Bu grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri

karşılaştırıldığında, cep tel.+C vit. grubunda ($69,855 \pm 1,479$ U/mg protein), C vitamini grubuna ($41,787 \pm 2,698$ U/mg protein) göre karaciğer dokusunun SOD aktivitesinde anlamlı bir artış bulundu. Bu artış, cep telefonu ışıması sonucu karaciğer dokusunda, C vitamininin antioksidant etkisini gösterememesinden ve karaciğer dokusunun ışımaya karşı tepki olarak kontrol grubuna göre SOD enzimini daha hızlı aktif hale getirmesinden ileri gelebilir.

Bu konuda, Irmak ve arkadaşların yapmış olduğu çalışmada [38], tavşanların kan serumunda cep telefonu ışımasına maruz kalan grupta ($16,23 \pm 0,98$ U/mL), kontrol grubuna ($14,74 \pm 1,69$ U/mL) göre anlamlı bir artış gözlemişlerdir. Bu artışı, SOD enziminin farklı izomerlerinin sitoplazma (Cu ,Zn-SOD, mitokondri (Mn-SOD) ve dokular arası sıvılarda (ECSOD) değişik aktivitelere sahip olmasına ve kan damarlarında bulunan ECSOD enziminin %70'inin kana geçmesi ile kanda %70 civarında aktivite göstermesi sonucu ışıma kaynaklı süperoksit radikallerinin zararlı etkisini daha rahat giderebilmesine dayandırmışlardır. Aynı çalışmada, cep telefonu ışımasının tavşan beyin dokusunda SOD enzimi aktivitesine anlamlı bir etkisi olmadığını gözlemişlerdir. Bunu, kafatasının beyni korumasına bağlamışlardır.

Moustafa ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada [31], insan eritrositlerindeki SOD aktivitesinde, cep telefonu elektromanyetik ışımasına maruz kalan grupta ($56,84 \pm 1,080$ U/mg protein), kontrol grubuna ($62,26 \pm 0,697$ U/mg protein) göre anlamlı bir azalma gözlemişlerdir. Bu azalmayı, serbest radikalleri etkisiz bırakan antioksidant enzim mekanizmasındaki bozulmaya ve eritrositlerin, akciğer dokusu dışında, diğer dokulara göre daha fazla oksijene maruz kalması sonucu oksidatif strese karşı daha duyarlı olmalarına bağlamışlardır.

Öktem ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada [37], sıçan böbreğindeki SOD aktivitesinde, cep telefonu elektromanyetik ışımasına kısa süreli maruz kalan grupta ($0,12 \pm 0,02$ U/g protein), kontrol grubuna ($0,16 \pm 0,03$ U/g protein) göre anlamlı bir azalma gözlemişlerdir. Bu azalmayı, ışıma sonucu ortamdaki savunma sisteminin inaktive olmasına, antioksidantların dokuda yeteri derecede üretilmemesi ve tüketimine dayandırmışlardır. Aynı dokuda SOD aktivitesinde, elektromanyetik

ışımaya maruz kalan ve melatonin verilen grubun ($0,15 \pm 0,04$ U/g protein), elektromanyetik ışıma maruz kalan gruba ($0,12 \pm 0,02$ U/g protein) göre anlamlı bir artış gözlemiştir. Bu durumu, melatoninin gen düzeyinde etki ederek SOD enziminin üretimini arttırmasına dayandırmışlardır.

İlhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [2], sıçan beyindeki SOD aktivitesinde, cep telefonu elektromanyetik ışımasına maruz kalan grupta ($0,38 \pm 0,05$ U/mg protein), kontrol grubuna ($0,43 \pm 0,07$ U/mg protein) göre anlamlı bir azalma gözlemiştir. Bu azalmayı, yüksek metabolizma hızına sahip sinir sisteminin antioksidant savunma mekanizmalarının zayıf olmasına ve hücre yenilenmesinin düşük olmasına dayandırmışlardır. Ayrıca aynı dokuda SOD aktivitesinde, elektromanyetik ışıma maruz kalan ve *Ginkgo biloba* verilen grubun ($0,49 \pm 0,06$ U/mg protein), elektromanyetik ışıma maruz kalan gruba ($0,38 \pm 0,05$ U/mg protein) göre anlamlı bir azalma gözlemiştir. Bu durumu, *Ginkgo biloba* bitkisinin antioksidant özelliğini, beyin dokusunda bulunan beyin-kan engelini kolayca aşmasıyla, göstermesine bağlamışlardır.

Özgüner ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada[39], sıçanların böbrek dokusundaki SOD aktivitesi, cep telefonu elektromanyetik ışımasına uzun süreli maruz kalan grupta (125 ± 22 U/g protein), kontrol grubuna (165 ± 39 U/g protein) göre anlamlı bir azalma gözlemiştir. Bu azalmayı, mitokondri zarlarında elektromanyetik ışıma etkisi ile oksijen radikalleri miktarındaki artış sonucu SOD enziminin aşırı kullanılmasına dayandırmışlardır. Aynı çalışmada, sıçanların böbrek dokusundaki SOD aktivitesi, cep telefonu elektromanyetik ışımasına uzun süreli maruz kalan ve kaffeik asit fenil ester (CAPE) verilen grupta (159 ± 29 U/g protein), elektromanyetik ışımasına uzun süreli maruz kalan grubuna (125 ± 22 U/g protein) göre anlamlı bir artma gözlemiştir. Bu artışı, CAPE'nin antioksidant özelliği ile böbrek dokusunda oluşan oksidant hasarı onarmasına dayandırmışlardır.

Bulduğumuz sonuçlar, Irmak ve arkadaşlarının [38] yaptığı çalışmayla benzerlik göstermektedir. Ancak, Moustafa ve arkadaşlarının [31] yaptığı insan eritrositlerinde, Öktem ve arkadaşlarının [37] yaptığı sıçan böbrek dokusunda, İlhan ve

arkadaşlarının [2] yaptığı sıçan beyin dokusunda, Özgüner ve arkadaşlarının [39] yaptığı sıçan böbrek dokusunda bulunan sonuçlarla uyuşmamaktadır.

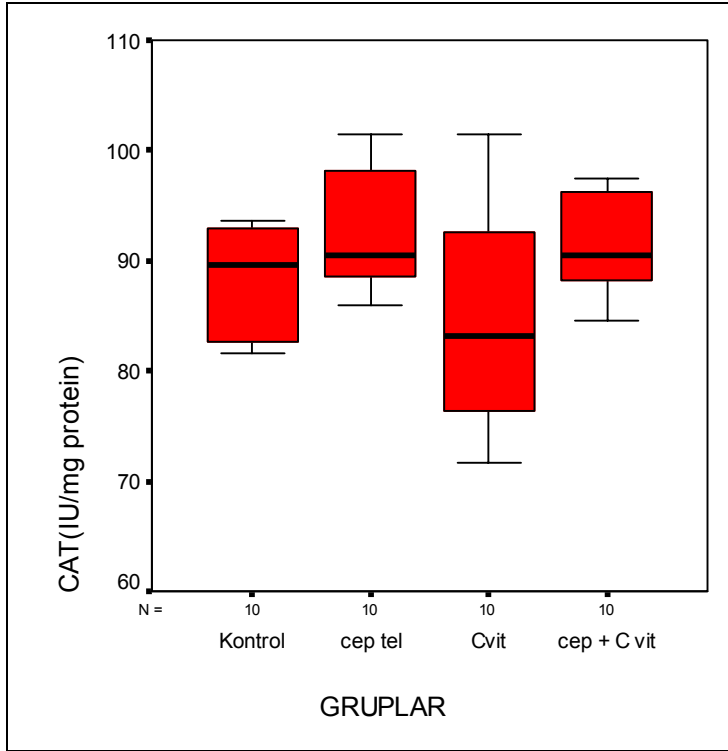
4.3. Katalaz(CAT) Aktivitesini Ölçme Deneyi

Katalaz aktivitesi Bölüm 3.4.4'te anlatıldığı gibi tayin edildi. Deney ve tanık deney çözeltilerinin absorbanlarındaki değişim, damıtık suya karşı 240 nm dalga boyunda 1 dakika boyunca ($\Delta A/\text{dakika}$) spektrofotometrik olarak izlenerek okundu. 1 dakika boyunca izlenen absorban değişimleri ve H_2O_2 'in molar absorpsiyon katsayısı Bölüm 3.4.4'te verilen Eş. 3.4'de yerine konularak, IU/mg protein cinsinden, katalaz aktivite değerleri hesaplandı. Hesaplanan ham değerler Çizelge 4.14'te verildi.

Çizelge 4.14. Sıçanların karaciğer dokusunun CAT aktiviteleri (Ham değerler)

	Gruplar			
	Kontrol	Cep tel.	C vit.	Cep tel.+C vit.
Katalaz aktivitesi (IU/mg protein)	88,607	85,962	101,501	97,534
	93,566	93,566	92,575	84,640
	90,591	98,195	71,745	96,211
	82,656	8,607	79,350	92,575
	82,325	88,938	74,721	90,921
	81,664	91,913	76,374	89,268
	82,986	86,293	86,954	89,930
	92,905	88,938	79,019	97,534
	92,905	101,501	88,276	85,631
	91,913	98,526	95,550	88,276

Sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun katalaz aktivitesi ham değerleri arasında şüpheli olan değerler Bölüm 2.5.1'de anlatıldığı gibi belirlendi. Grupların katalaz aktivitesi değerlerinde şüpheli olan değerler Şekil 4.3'de verildi.



Şekil 4.3. Grupların CAT aktivitesinde şüpheli değerler

Şekil 4.3’de görüldüğü gibi, şüpheli değer bulunmadı. Bu değerlerin normal dağılım için uygunluğa bakıldı ve normal dağılıma uygun olduğu görüldü.

Çizelge 4.14’te verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun katalaz aktivitesi değerlerinin, gruplara göre aritmetik ortalama, standart sapma ve standart hata sonuçları Çizelge 4.15’de verildi.

Çizelge 4.15. Sıçanların karaciğer dokusunun CAT aktivite değerleri (Ort.±S.H.)

	Gruplar	N	Aritmetik Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
Katalaz aktivitesi (IU/mg protein)	Kontrol	10	88,012	5,028	1,590
	Cep tel.	10	92,244	5,501	1,740
	C vit.	10	84,607	9,874	3,122
	Cep tel.+C vit	10	91,252	4,657	1,473

Çizelge 4.14'te verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun katalaz aktivite değerlerinin, ANOVA(F denemesi) istatistiksel değerlendirilmesi Çizelge 4.16'da verildi.

Çizelge 4.16. CAT için ANOVA(F Denemesi) istatistiksel değerlendirmesi

	SD	KT	KO	F _k	F _{hes.}	p
Genel(Gn)	39	1931,294	--	2,84	2,74	>0,05
Gruplar Arası (GA)	3	358,705	119,568			
Gruplar İçi (Gİ)	36	1572,588	43,683			

Çizelge 4.14'de verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun katalaz aktivite değerlerinin, Tukey's HSD denemesine göre istatistiksel değerlendirmesi Çizelge 4.17'de verildi.

Çizelge 4.17. CAT için Tukey's HSD denemesi istatistiksel değerlendirmesi

I Gruplar	J Gruplar	$ \bar{X}_I - \bar{X}_J $	T	p
Kontrol	Cep tel.	4,232	7,921	>0,05
	C vit.	3,405	7,921	>0,05
	Cep tel.+ C vit	3,240	7,921	>0,05
Cep tel.	C vit.	7,637	7,921	>0,05
	Cep tel.+ C vit	0,992	7,921	>0,05
C vit.	Cep tel.+ C vit	6,646	7,921	>0,05

Sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun katalaz aktivite değerlerinin anlamlılığı için yapılan ANOVA ve Tukey's HSD istatistiksel denemeleri ile karşılaştırılması Çizelge 4.18'de verildi.

Çizelge 4.18. Sıçanların karaciğer dokusunun CAT aktivite değerlerinin anlamlılık durumları

	Anova (F Denemesi)	Tukey's Hsd Denemesi		
Katalaz aktivitesi (IU/mg protein)	p>0,05	Kontrol	Cep tel.	p > 0,05
			C vit.	p > 0,05
			Cep tel.+ C vit	p > 0,05
		Cep tel.	C vit.	p > 0,05
			Cep tel.+ C vit	p > 0,05
		C vit.	Cep tel.+ C vit	p > 0,05

Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi gruplar arası değerlendirme yapan ANOVA(F denemesi) denemesine göre katalaz aktivitesi sonuçları anlamlı değildir (p > 0,05). Gruplar içinde ikili karşılaştırma yapan Tukey's HSD denemesine göre; kontrol grubu ile cep telefonu grubu katalaz aktivite sonuçları anlamlı değildir (p > 0,05). Bu

grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, cep telefonu grubunda ($92,244 \pm 1,740$ IU/mg protein), kontrol grubuna ($88,012 \pm 1,590$ IU/mg protein) göre karaciğer dokusunun katalaz aktivitesinde anlamlı olmasa da bir artış bulundu. Bu artış, cep telefonu ışıması sonucu karaciğer dokusunun, ışımaya karşı tepki olarak kontrol grubuna göre CAT enzimini daha hızlı aktif hale getirmesinden ileri gelebilir.

Kontrol grubu ile C vitamini grubu katalaz aktivite sonuçları anlamlı değildir ($p>0,05$). Bu grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, C vitamini grubunda ($84,607 \pm 3,122$ IU/mg protein), kontrol grubuna ($88,012 \pm 1,590$ IU/mg protein) göre karaciğer dokusunun katalaz aktivitesinde anlamlı olmasa da bir azalma bulundu. C vitamini verilen grupta katalaz aktivitesinde düşük bulunması, C vitamininin serbest radikalleri yok etmesinden kaynaklanabilir.

Cep tel. + C vit. grubu ile C vitamini grubu katalaz aktivite sonuçları anlamlı değildir ($p>0,05$). Bu grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, cep tel.+C vit. grubunda ($91,252 \pm 1,472$ IU/mg protein), C vitamini grubuna ($84,607 \pm 3,122$ IU/mg protein) göre anlamlı olmasa da bir artış bulundu. Bu artış, cep telefonu ışıması sonucu karaciğer dokusunda, C vitamininin antioksidant etkisini gösterememesinden ve karaciğer dokusunun ışımaya karşı tepki olarak kontrol grubuna göre CAT enzimini daha hızlı aktif hale getirmesinden ileri gelebilir.

Özgüner ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada [32], cep telefonu elektromanyetik ışımasının sıçan böbrek dokusunda katalaz aktivitesinde herhangi bir değişikliğe sebep olmadığını, ışımaya maruz kalan gruba melatonin ve CAPE verilmesinin katalaz aktivitesinde anlamlı bir etkisinin olmadığını gözlemişlerdir. Irmak ve arkadaşlarının [38] yapmış olduğu çalışmada bu sonucu desteklemektedir.

Moustafa ve arkadaşları [31], insan eritrositlerindeki katalaz aktivitesinde, cep telefonu elektromanyetik ışımasına maruz kalan grupta ($39,12 \pm 0,903$ U/mg protein), kontrol grubuna ($40,69 \pm 0,728$ U/mg protein) göre anlamlı olmasa da bir azalma gözlemişlerdir. Bu azalmayı, ışıma etkisi sonucu serbest radikalleri etkisiz bırakan antioksidant enzim sistemindeki bozulmaya dayandırmışlardır.

Özgüner ve arkadaşlarının yapmış olduğu [39], sıçan böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinde, uzun süreli cep telefonu elektromanyetik ışımasına maruz kalan grupta ($1,13 \pm 0,23\text{kg}^{-1}$ protein), kontrol grubuna ($1,53 \pm 0,2023\text{kg}^{-1}$ protein) göre anlamlı bir azalma gözlemişlerdir. Bu azalmayı, H_2O_2 'in artması sonucu CAT enziminin çok kullanılmasına bağlamışlardır. Aynı çalışmada, CAPE verilmesinin CAT enzimi aktivitesini arttırarak böbrek dokusundaki oksidant hasarı onardığını gözlemişlerdir.

Bulduğumuz sonuçlar, Özgüner ve arkadaşları [32], Irmak ve arkadaşlarının [38] yapmış olduğu çalışmalardaki sonuçları desteklemektedir. Bulduğumuz sonuçlara göre sıçan karaciğer dokusunda CAT enzimi aktivitesinin anlamlı değişim göstermemesi, CAT enziminin yüksek hidrojen peroksit derişimlerinde aktif olmasından [18] kaynaklanabilir.

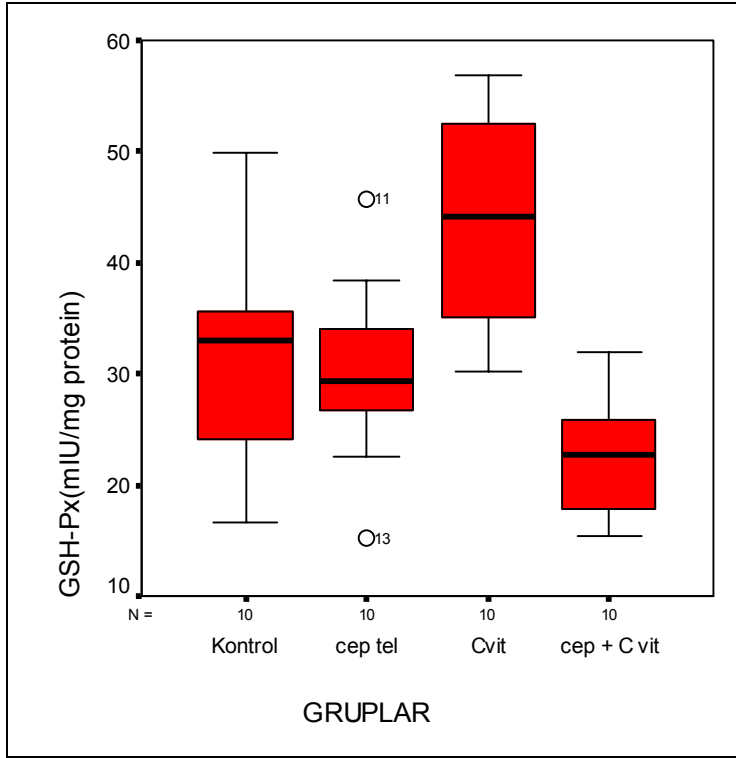
4.5. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Ölçme Deneyi

Glutatyon peroksidaz(GSH-Px) aktivitesi Bölüm 3.4.5'te anlatıldığı gibi tayin edildi. Deney ve tanık deney çözeltilerinin absorbanslarındaki değişim fosfat tamponuna karşı 340 nm dalga boyunda 1 dakika boyunca($\Delta A/\text{dakika}$) spektrofotometrik olarak izlenerek okundu. 1 dakika boyunca izlenen absorbans değişimleri ve NADPH'nın molar absorpsiyon katsayısı Bölüm 3.4.5'te verilen Eş. 3.5'de yerine konularak GSH-Px aktivitesi değerleri, mIU/mg protein, cinsinden hesaplandı. Hesaplanan ham sonuçlar Çizelge 4.19'da verildi.

Çizelge 4.19. Sıçanların karaciğer dokusunun GSH-Px aktiviteleri (Ham değerler)

	Gruplar			
	Kontrol	Cep tel.	C vit.	Cep tel.+C vit.
GSH-Px aktivitesi (mIU/mg protein)	30,645	35,122	17,778	45,745
	34,273	45,001	23,715	26,667
	37,645	46,152	15,393	25,176
	34,472	29,342	21,715	35,883
	26,694	35,179	16,043	34,038
	32,954	43,102	19,512	29,702
	37,065	41,003	18,596	30,645
	41,566	30,121	23,016	38,374
	35,583	39,060	28,870	32,547
	49,864	22,123	23,779	28,835

Sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun GSH-Px aktivitesi ham değerleri arasında şüpheli olan değerler Bölüm 2.5.1’de anlatıldığı gibi belirlendi. Grupların GSH-Px aktivitesi değerlerinde şüpheli olan değerler Şekil 4.4’de verildi.



Şekil 4.4. Grupların GSH-Px aktivitesinde şüpheli değerler

Şekil 4.4’de gösterilen O işaretli değerler atılarak normal dağılım için uygunluğa bakıldı. Normal dağılıma uygun olduğu görüldü. Atılan bu değerler dışında kalan GSH-Px aktivitesi değerleri Çizelge 4.20’de verildi.

Çizelge 4.20. Sıçanların karaciğer dokusunun atılan değerler (--) dışındaki GSH-Px aktivitesi değerleri

	Gruplar			
	Kontrol	Cep tel.	C vit.	Cep tel.+C vit.
GSH-Px aktivitesi (mIU/mg protein)	30,645	35,122	17,778	45,745
	34,273	45,001	23,715	26,667
	37,645	46,152	15,393	25,176
	34,472	29,342	21,715	35,883
	26,694	35,179	16,043	34,038
	32,954	43,102	19,512	29,702
	37,065	41,003	18,596	30,645
	41,566	30,121	23,016	38,374
	35,583	39,060	28,870	32,547
	--	22,123	23,779	28,835

Çizelge 4.19’da verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun GSH-Px aktivitesi değerlerinin, gruplara göre aritmetik ortalama, standart sapma ve standart hata sonuçları Çizelge 4.21’de verildi.

Çizelge 4.21. Sıçanların karaciğer dokusunun GSH-Px aktivite değerleri (Ort.±S.H.)

	Gruplar	N	Aritmetik Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
GSH-Px aktivitesi (mIU/mg protein)	Kontrol	9	34,544	4,269	1,423
	Cep tel.	10	36,621	7,731	2,445
	C vit.	10	20,842	4,160	1,315
	Cep tel.+C vit	10	32,761	6,105	1,931

Çizelge 4.19’da verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun GSH-Px aktivite değerlerinin, ANOVA(F denemesi) istatistiksel değerlendirilmesi Çizelge 4.22’de verildi.

Çizelge 4.22. GSH-Px için ANOVA(F Denemesi) istatistiksel değerlendirmesi

	SD	KT	KO	F _k	F _{hes.}	p
Genel(Gn)	37	2666,371	--	2,92	14,809	<0,01*
Gruplar Arası (GA)	3	1491,438	497,146			
Gruplar İçi (Gİ)	34	1174,933	33,570			

Çizelge 4.19’da verilen, sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun GSH-Px aktivite değerlerinin, Tukey’s HSD denemesine göre istatistiksel değerlendirilmesi Çizelge 4.23’de verildi.

Çizelge 4.23. GSH-Px için Tukey’s HSD denemesi istatistiksel değerlendirilmesi

I Gruplar	J Gruplar	$ \bar{X}_I - \bar{X}_J $	T	p
Kontrol	Cep tel.	2,077	7,134	>0,05
	C vit.	13,702	7,134	<0,01*
	Cep tel.+ C vit	1,783	7,134	>0,05
Cep tel.	C vit.	15,779	6,944	<0,01*
	Cep tel.+ C vit	3,860	6,944	>0,05
C vit.	Cep tel.+ C vit	11,919	6,944	<0,01*

Sıçanların grup elemanlarının karaciğer dokusunun GSH-Px aktivite değerlerinin anlamlılığı için yapılan ANOVA ve Tukey’s HSD istatistiksel denemeleri ile karşılaştırılması Çizelge 4.24’de verildi.

Çizelge 4.24. Sıçanların karaciğer dokusunun GSH-Px aktivite değerlerinin anlamlılık durumları

	Anova (F Denemesi)	Tukey Hsd Denemesi		
GSH-Px aktivitesi (mIU/mg protein)	p < 0,01*	Kontrol	Cep tel.	p > 0,05
			C vit.	p < 0,01*
			Cep tel.+ C vit	p > 0,05
		Cep tel.	C vit.	p < 0,01*
			Cep tel.+ C vit	p > 0,05
		C vit.	Cep tel.+ C vit	p < 0,01*

Çizelge 4.24’de görüldüğü gibi gruplar arası değerlendirme yapan ANOVA denemesine göre GSH-Px aktivitesi sonuçları anlamlıdır (p<0,01*). Bu anlamlılığı gruplar içinde ikili karşılaştırma yaparak veren Tukey’s HSD denemesine göre; kontrol grubu ile cep telefonu grubu GSH-Px aktivitesi sonuçları anlamlı değildir (p>0,05). Bu grupların, aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, cep telefonu grubunda ($36,621 \pm 2,445$ mIU/mg protein), kontrol grubuna ($34,544 \pm 1,423$ mIU/mg protein) göre karaciğer dokusunun GSH-Px aktivitesinde anlamlı olmasa da bir artış bulundu. Bu artış, cep telefonu ışıması sonucu karaciğer dokusunun, ışımaya karşı tepki olarak kontrol grubuna göre GSH-Px enzimini daha hızlı aktif hale getirmesinden ileri gelebilir.

Kontrol grubu ile C vitamini grubu GSH-Px aktivitesi sonuçları anlamlıdır (p<0,01*). Bu grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, C vitamini grubunda ($20,842 \pm 1,315$ mIU/mg protein) kontrol grubuna ($34,544 \pm 1,423$ mIU/mg protein) göre karaciğer dokusunun GSH-Px aktivitesinde anlamlı bir azalma bulundu. Bu azalma, C vitamininin serbest radikalleri yok etmesinden ileri gelebilir.

C vitamini grubu ile cep tel. + C vit. grubu GSH-Px aktivitesi sonuçları anlamlıdır ($p<0,01^*$). Bu grupların aritmetik ortalama $\pm$ standart hata değerleri karşılaştırıldığında, cep tel. + C vit. grubunda ($32,761 \pm 1,931$ mIU/mg protein), C vitamini grubuna ($20,842 \pm 1,315$ mIU/mg protein) göre karaciğer dokusunun GSH-Px aktivitesinde anlamlı bir artış bulundu. Bu artış, cep telefonu ışıması sonucu karaciğer dokusunda, C vitamininin antioksidant etkisini gösterememesinden ve karaciğer dokusunun ışımaya karşı tepki olarak kontrol grubuna göre GSH-Px enzimini daha hızlı aktif hale getirmesinden ileri gelebilir.

Moustafa ve arkadaşları [31], insan eritrositlerinde GSH-Px aktivitesinde, elektromanyetik ışımaya maruz bırakılan grupta ($1,698 \pm 0,0037$ U/mg protein), kontrol grubuna ($1,869 \pm 0,023$ U/mg protein) göre anlamlı bir azalma gözlemişlerdir. Bu azalmayı, eritrositlerdeki protein ve enzim yapılarının, serbest radikaller için hedef olmaları sonucu hücre işlevlerinin kaybına bağlı olarak antioksidant mekanizmadaki bozulmaya bağlamışlardır.

İlhan ve arkadaşları [2], sıçanların beyin dokusunda GSH-Px aktivitesinde, elektromanyetik ışımaya maruz bırakılan grupta ($1,46 \pm 0,10$ U/mg protein), kontrol grubuna ($1,49 \pm 0,26$ U/mg protein) göre anlamlı olmasa da bir azalma gözlemişlerdir. Bu azalmayı, sinir hücrelerinin oksidant savunma mekanizmalarının zayıf olmasına ve antioksidant enzimlerin bozulmasına bağlamışlardır.

Irmak ve arkadaşları [38], cep telefonu ışımasının tavşanların beyin dokusunda GSH-Px aktivitesinde, anlamlı bir etkisinin olmadığını gözlemişlerdir. Bunu, beyin kafatası ile çevrili olması sonucu elektromanyetik ışımanın etkisinden korumasına bağlamışlardır.

Öktem ve arkadaşları [37], sıçanların böbrek dokusundaki GSH-Px aktivitesinde, elektromanyetik ışımaya maruz bırakılan grupta ($35,45 \pm 5,02$ U/g protein), kontrol grubuna ($43,53 \pm 6,49$ U/g protein) göre anlamlı bir azalma gözlemişlerdir. Bu azalmayı, elektromanyetik ışımaya sonucu hücre içi antioksidant savunma sistemlerinin bozulmasına bağlamışlardır.

Bizim bulduğumuz sonuçlar, Moustafa ve arkadaşlarının [31], Irmak ve arkadaşlarının [38], Öktem ve arkadaşlarının [37] yaptığı çalışmalarda sonuçlarla uyuşmamaktadır.

Sıçan karaciğer dokusundaki MDA içeriği ve SOD, CAT, GSH-Px enzim aktiviteleri için bulduğumuz sonuçlar, Öktem ve arkadaşlarının [37], Özgüner ve arkadaşlarının [32], İlhan ve arkadaşlarının [2], Moustafa ve arkadaşlarının [31] yaptığı çalışmalardan farklı olduğu görülmektedir. Karaciğerin, çok fazla işlevi olan bir organ olması, savunma sistemini destekleyici özelliği diğer organlara göre daha kuvvetli olması, beyindeki sinir dokusu ve kandaki eritrositlere göre oksidatif hasara karşı koyma gücünün daha büyük olması, farklı sonuç vermesinin bir sebebi olabilir.

5. SONUÇLAR

Cep telefonlarının yaygın kullanımı ile insan sağlığı üzerine etkileri yoğun ilgi çekmektedir. Yapmış olduğumuz çalışma, cep telefonlarının yaydığı ışımanın oksidant/antioksidant dengesi üzerine etkilerini bulmaya yöneliktir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir.

1. Cep telefonlarından yayılan ışımaya maruz kalan gruptaki sıçanların karaciğer dokusunda, lipit peroksidasyonu göstergesi olan MDA(malondialdehit) içeriğinde ve enzimatik antioksidant savunma sistemi olan SOD(süperoksit dismutaz), CAT(katalaz) ve GSH-Px(glutasyon peroksidaz) aktivitelerinde, kontrol grubuna göre anlamlı bir fark gözlenmemiştir($p>0,05$). Cep telefonundan yayılan ışıma, sıçanların karaciğer dokusundaki oksidant/antioksidant denge üzerinde anlamlı bir değişime yol açmamıştır.

2. C vitamini grubundaki sıçanların karaciğer dokusunda, lipit peroksidasyonu göstergesi olan MDA(malondialdehit) içeriğinde($p<0,05^*$) ve enzimatik antioksidant savunma sistemi olan SOD(süperoksit dismutaz) ve GSH-Px(glutasyon peroksidaz) aktivitelerinde($p<0,01^*$), kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma görülmüştür. Bu durum, sıçan karaciğer dokusunda C vitamininin, antioksidant etkisinden dolayı, serbest radikalleri yok ettiğini göstermektedir.

3. Cep tel. + C vit. grubundaki sıçanların karaciğer dokusunda, lipit peroksidasyonu göstergesi olan MDA(malondialdehit) içeriğinde ve enzimatik antioksidant savunma sistemi olan SOD(süperoksit dismutaz), CAT(katalaz) ve GSH-Px(glutasyon peroksidaz) aktivitelerinde, cep tel. grubuna göre anlamlı bir fark görülmemiştir($p>0,05$).

4. Cep tel. + C vit. grubundaki sıçanların karaciğer dokusunda, lipit peroksidasyonu göstergesi olan MDA(malondialdehit) içeriğinde($p<0,05^*$) ve enzimatik antioksidant savunma sistemi olan SOD(süperoksit dismutaz) ve GSH-Px(glutasyon peroksidaz) aktivitelerinde($p<0,01^*$), C vitamini grubuna göre anlamlı

bir artış görülmüştür. Bu durum, sıçan karaciğer dokusunda cep telefonu ışıması sonucu C vitamininin antioksidant etkisini gösterememesinden ve karaciğer dokusunun ışımaya karşı tepki olarak kontrol grubuna göre SOD, GSH-Px enzimlerini daha hızlı aktif hale getirmesinden ileri gelmektedir.

KAYNAKLAR

1. Dural, G., Ruacan, Ş., “Elektromanyetik Dalgalar ve İnsan Sağlığı, Sıkça Sorulan Sorular ve Yanıtları”, **Tübitak Bilten**, Ankara, 4-21 (2001).
2. Ilhan, A., Gurel, A., Armutcu, F., Kamilsı, S., Iraz, M., Akyol, O., Ozen, S., “Gingko biloba prevents mobile phone-induced oxidative stres in rat brain”, **Clin.Chim.Acta**, 340: 153-162 (2004).
3. Durak, I., Kacmaz, M., Cimen, M.Y., Buyukkocak, U., Ozturk, H.S., “Blood Oxidant/Antioxidant Status of Atherosclerotic Patients”, **Int.J.Cardiol.**, 77: 293-297 (2001).
4. Maxwell, S.R.J., “Prospects For The Use of Antioxidants Therapies”, **Drugs**, 49(3): 345-361 (1995).
5. Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G., “Free Radicals, Antioxidant, and Nutrition”, **Nutrition**, 18: 872-879 (2002).
6. Akkuş, I., “Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri”, **Mimoza yayınları**, Konya, 723-725 (1995).
7. Sözmen, E.Y., “Yaşlanma Biyokimyası”, Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., **Palme yayıncılık**, Ankara, 665-674 (2002).
8. Combs, G.F., “The Vitamins:Fundamental Aspects in Nutrition and Health 2nd ed.”, **Academic Pres.**, New York, 190-223, 252-257 (1998).
9. McCord, J.M., “The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stres”, **Am.J.Med.**, 108: 652-659 (2000).
10. Benzie, I.F.F., “Evolution of Antioxidant Defence Mechanisms”, **Eur.J.Nutr.**, 39: 53-61 (2000).
11. Packer, L., Traber, M.G., Xin, W., “Proceeding of The International Symposium on Natural Antioxidant:Molecular Mechanisms and Health Effects”, **AOCS Press**, Illinois, 224-226, 569-574 (1996).
12. Miessler, G.L., Tarr, D.A., “İnorganik Kimya İkinci Baskıdan Çeviri”, Karacan, N., Gürkan, P., **Palme yayıncılık**, Ankara, 565-570 (2002).
13. Uysal, M., “Serbest Radikaller, Lipit Peroksitleri ve Organizmada Prooksidan-Antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar”, **Klinik Gelişim**, 11: 336-341 (1998).
14. Kökoğlu, E., “Serbest Radikal Reaksiyonlarının Kanserdeki Rolü”, **Klinik Gelişim**, 11: 358-364 (1998).

15. Yalçın, A.S., “Antioksidanlar”, *Klinik Gelişim*, 11: 342-346 (1998).
16. Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L., “Biochemistry 5th ed.”, *W.H.Freeman and Company*, New York, 503-507 (2002).
17. Bertini, I., Gray, H.B., Lippard, S.J., Valentine, J.S., “Bioinorganic Chemistry”, *University Science Books*, California, 295-310 (1994).
18. Girgin, F., “Biyolojik Yükseltgenme-İndigenme Tepkimeleri, Elektron Taşıyıcılar ve Redoks Enzimleri”, İnsan Biyokimyası, Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., *Palme yayıncılık*, Ankara, 73-78 (2002).
19. Özer, N.K., “Vitaminler ve Mineraller”, İnsan Biyokimyası, Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., *Palme yayıncılık*, Ankara, 518-519 (2002).
20. Bender, D.A., “Nutritional Biochemistry of The Vitamins”, *Combridge University Press*, Combridge, 360-376 (1992).
21. Champe, P.C., Harvey, R.A., “Lippincott’s Illustrated Reviews serisinden: Biyokimya 2.baskı”, Tokullugil, A., Dirican, M., Ulukaya, E., *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 339-340 (1997).
22. Denisov, E.T., Afanas’ev, I.B., “Oxidation and Antioxidation in Organic Chemistry and Biology”, *Taylor&Francis Group*, London, 876-877 (2005).
23. Alexander, P., Pahret, M.J., Chaves, J., Courts, G., Skolley, N., “Biology”, *Silver Burdentt Company*, Marristown NJ, 604-606 (1986).
24. Tiftik, A.M., “Klinik Biyokimya”, *Mimoza yayınları*, Konya, 133-168 (1996).
25. Ural, U., Kılıç, İ., “Bilimsel Araştırma Süreci ve SPSS ile Veri Analizi”, *Detay yayıncılık*, Ankara, 185-192 (2005).
26. Sümbüloğlu, K., Sümbüloğlu, V., “Biyoistatistik”, *Hatipoğlu yayınları*, Ankara, 44-101 (2005).
27. Ural, U., Kılıç, İ., “Bilimsel Araştırma Süreci ve SPSS ile Veri Analizi”, *Detay yayıncılık*, Ankara, 56-59 (2005).
28. İnternet: Boxplot, <http://www.stat.yale.edu/Courses/1997-98/101/boxplot.htm> (2006).
29. İnternet: Tek Faktörlü Varyans Analizi ve Bir Spss Örneği, http://www.istatistik.gen.tr/index.php?option=com_content&task=view&id=8&Itemid=2 (2006).

30. Ünver, Ö., Gamgam, H., “Uygulamalı İstatistiksel Yöntemler”, **Siyasal Kitapevi**, Ankara, 141-236 (1996).
31. Moustafa, Y.M., Moustafa, R.M., Abou-El-Ela, S.H., Ali, F.M., “Effect of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plazma lipid peoxide and antioxidase activities in human erythrocytes”, **J.Pharm.Biomed.Anal.**, 26: 605-608 (2001).
32. Ozguner, F., Oktem, F., Armagan, A., Yılmaz, R., Koyu, A., Demirel, R., Vural, H., Uz, E., “Comparative analysis of the protective effect of melatonin and caffeic acid phenethyl ester(CAPE) on mobile-induced renal impairment in rat”, **Mol.Cell.Biochem.**, 276: 31-37 (2005).
33. Salford, L.G., Brun, A.E., Eberhardt, L., Persson, R.R.B., “Nevre Cell Damage in Mammalian Brain after Exposure to Microwaves from GSM Mobile Phones”, **Environ. Health Perspect.**, 111: 881-883 (2003).
34. Dasdag, S., Akdag, M.Z., Asken, F., Yılmaz, F., Bashan, M., Dasdag, M.M., Celik, S., “Mobile Body Exposure of Rats to Microwaves Emitted From a Cell Phone Does Not Affect the Testes”, **Bioelectromagnetics**, 24: 182-188 (2003).
35. Nakamura, H., Matsuzaki, I., Hatta, K., Nobukuni, Y., Kombayashi, Y., Ogino, K., “Nonthermal effects of mobile-phone frequency microwaves on uteroplacental functions in pregnant rats”, **Reproductive Toxicology**, 17: 321-326 (2003).
36. Hata, K., Yamaguchi, H., Tsurita, G., Watanabe, S., Wake, K., Taki, M., Ueno, S., Nagawa, H., “Short Term Exposure to 1439MHz Pulsed TDMA Fields Does Not Alter Melatonin Synthesis in Rats”, **Bioelectromagnetics**, 26: 49-53 (2005).
37. Oktem, F., Ozguner, F., Mollaoglu, H., Koyu, A., Uz, E., “Oxidative Damage in the Kidney Induced by 900 MHz-Emitted Mobile Phone: Protection by Melatonin”, **Archives of Medical Research**, 36: 350-355 (2005).
38. Irmak, M.K., Fadillioglu, E., Gulec, M., Erdogan, H., Yagmurca, M., Akyol, O., “Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits”, **Cell.Biochem.Funct.**, 20: 279-283 (2002).
39. Ozguner, F., Oktem, F., Ayata, A., Koyu, Yilmaz, H.R., “A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester prevents long-term mobile phone exposure-induced renal impairment in rat”, **Molecular and Cellular Biochemistry**, 277: 73-80 (2005).
40. Lowry, O., Rosenbrough, N., Farr, L., Randall, R., “Protein measurement with folin phenol reagent”, **J.Biol.Chem.**, 193: 265-275 (1951).

41. Dahle, L., Hill, E.G., Hollman, R.T., "The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters", *Arch.Biochem.Biophys.*, 98: 253-261 (1962).
42. Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y., "A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase", *Clin.Chem.*, 34(3): 497-500 (1988).
43. Durak, I., Yurtarslani, Z., Canpolat, O., Akyol, O., "A methodological approach to superoxide dismutase(SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium(NBT) reduction", *Clin.Chim.Acta*, 214: 103-104 (1993).
44. Aebi, H., "Catalase", Methods of Enzymatic Analysis 2nd ed., *Academic Press Inc.*, New York, 673-677 (1974).
45. Paglia, D.E., Valentine, W.N., "Studies on the Quantitative and Qualitative Characterization of Erythrocyte Glutathione Peroxidase", *J.Lab.Clin.Med.*, 70: 158-169 (1967).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : OKCU YAYKAŞLI, Emine
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 01.08.1978 Malatya
Medeni hali : Evli
Telefon : 0 (312) 475 50 77
e-mail : emineyay@yahoo.com.

Eğitim Derece

Eğitim Birimi

Mezuniyet tarihi

Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü	2006
Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü	2004
Lise	Serik Lisesi	1995

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Çiçek bakımı, Radyo programcılığı