

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KABLOSUZ AĞLARIN (Wİ-Fİ) LENFOSİT DNA'SI
ÜZERİNE ETKİSİ VE C VİTAMİNİNİN ROLÜ**

**Oğuzhan KAVRIK
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Mustafa SAYGIN**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Kordinasyon
Birimi tarafından ÖYP05707-YL-13 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No: 134

2015-ISPARTA

KABUL ve ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26.10.2015

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Mustafa SAYGIN
Süleyman Demirel Üniversitesi
Fizyoloji Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL
Süleyman Demirel Üniversitesi
Fizyoloji Anabilim Dalı



Üye : Yrd. Doç. Dr. Halil Aşçı
Süleyman Demirel Üniversitesi
Farmakoloji Anabilim Dalı



ONAY: Bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Mustafa KAYAN

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

BEYAN

“Kablosuz Ağların (Wi-Fi) Lenfosit DNA’sı Üzerine Etkisi ve C Vitamininin Rolü” adlı yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesine uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Oğuzhan KAVRIK

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Mustafa SAYGIN

ÖNSÖZ

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda 2013-2015 yılları arasında asistanlık eğitimim süresince bana her konuda desteğini esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa SAYGIN'a, her türlü konuda yardımlarını esirgemeyen, yanında çalışmaktan mutluluk duyduğum, desteklerini hissettiğim, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, yetişmemde büyük emekleri olan değerli hocalarım Anabilim Dalı başkanımız Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL, Anabilim Dalı öğretim üyelerimiz Prof. Dr. Halis KÖYLÜ, Prof. Dr. Mehmet Fehmi ÖZGÜNER ve Prof. Dr. Ahmet KOYU'ya

Eğitimim süresince birlikte çalıştığım, dostluklarından onur duyduğum, uyum içinde çalıştığım, bilgi ve becerileriyle eğitimimiz süresince katkıları olan Doç. Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ, Yrd. Doç. Dr. Halil AŞÇI, Arş. Gör. Sümeyra KAYAN, Öğr. Gör. Rahime ASLANKOÇ, Uzman Dr. Cennet AK, Arş. Gör. Nihan CANKARA'ya,

Eğitim sürecinde her türlü desteği sağlayan SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü Çalışanları'na,

Ayrıca bu zor süreçte her zaman en büyük destek ve moral kaynağım büyük fedakârlıklarla beni yetiştirip bu günlere getiren maddi, manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme

Saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum...

Arş. Gör. Oğuzhan KAVRIK

Isparta, 2015.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Manyetik Alan	4
2.1.1. Özgül Soğurma Oranı (SAR).....	8
2.1.2. Wlan, Kablosuz Yerel Alan Ağları (Wireless Local Area Networks).....	8
2.1.3. Kablosuz Yerel Alan Ağları (WLAN).....	9
2.1.4. Elektromanyetik Radyasyon-Doku Etkileşmesi	11
2.1.5. Kan Dokusu ve Kan Hücreleri.....	12
2.1.6. Eritrositler	13
2.1.7. Lökositler	14
2.1.8. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	15
2.1.9. Elektromanyetik Alanın DNA Üzerine Etkisi	17
2.1.10. C Vitaminin Antioksidan Etkisi ve Koruyuculuk Rolü	18
2.1.11. C Vitamini Kullanım Formu.....	19
3. MATERYAL ve METOT.....	22
3.1.1. Çalışma Kapsamı.....	22
3.1.3. Comet Analizi	26
3.1.4. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	26
3.1.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
3.1.6. Comet Analizi ve Oksidan Enzim Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler	28
3.1.7. Lamların Hazırlanması	30
3.2.1. Comet Analiz Basamakları ve Değerlendirme	31
Comet Analiz Basamakları	31

Değerlendirme	32
3.3.1. Oksidan Enzim Yöntemi	33
MDA Düzeyinin Saptanması	33
Dokuda Protein Tayini.....	34
İstatistiksel Analiz	34
4. BULGULAR	35
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	50
ÖZET.....	51
SUMMARY	52
KAYNAKLAR	53
BEYAN.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	63

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİ

AC	: Alternatif akım (Altarnate Current)
ADA	: Adenozin deaminaz
AEHB	: Amerikan Endüstri Hijyeni Birliği
ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin amino transferaz
AM	: Genlik modülasyonu (Amplitude modulation)
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATB	: Ana etkilerin devamlı olarak soruşturulması
B	: Manyetik indüksiyon (Weber/metre ²)
BE	: Bilgisayar ekranları
C	: Işık hızı (3x10 ⁸ m/s)
C-Bandı	: 3,5 GHz yayın frekansı
COMAR	: İnsan ve Radyasyon Komitesi
CAT	: Katalaz
COO-	: Karboksil
CRT	: Katot ışınları tüpü (Catot Ray Tube)
ÇDF	: Çok düşük alçak frekans
D	: Deplasman (Coloumb/metre ²)
DC	: Doğru akım (Direct current)
DF	: Düşük frekans
E	: Elektrik alan (Volt/metre)
E	: Elektron yükü
EEG	: Elektroansefalogram
EIH	: Enerji iletim hattı
ELF	: Extremely low frequency
EMA	: Elektromanyetik alan
EMF	: Electromagnetic field
EMR	: Elektromanyetik radyasyon (Electromagnetik radiation)
EPRI	: Amerikan Elektrik Araştırma Enstitüsü
FM	: Frekans modülasyonu (Frequency modulation)

G	: Gauss (Manyetik alan ölçü birimi)
GSH	: Glutasyon
H	: Manyetik alan (amper/metre)
h	: Planck sabiti (6.6×10^{-34} Js)
HF	: High frequency
HP	: Hidroksiprolin
Hz	: Bir saniyedeki salınım sayısı (Hertz)
I veya i	: Akım (amper)
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü
IEEE	: Uluslararası Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Organizasyonu (International Electrical and Electronic Engineering Organization)
INTELSAT	: Haberleşme uydusu
IR	: İyonlaştırıcı radyasyon (Ionization Radiation)
JV	: Hacimsel akım yoğunluğu (Amper/metre ²)
LDH	: Laktat dehidrogenaz
Mya da m	: Kütle (g ya da kg)
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme (Magnetic Resonance Imaging)
MS	: Multiple sclerrosis (Bir çeşit nörolojik hastalık)
NH₃	: + Amino grup kökü
NIOSH	: Non İyonize Işınları Sağlık Araştırma Organizasyonu
NIR	: İyonlaştırıcı olmayan radyasyon (Non-ionization radiation)
NRC /NIEHS	: Non-iyonize Radyasyon Komitesi Çevre Bilimleri Enstitüsü
NRC/NAC	: Ulusal Araştırma Konseyi/Ulusal Bilimler Akademisi
p53	: Bir gen tipi
PM	: Faz modülasyonu (Phase modulation)
Q veya q	: Yük miktarı
Q-Bandı	: 10.95 – 11,7 GHz yayın frekansı
RAPİD – EMA	: EMA araştırmaları yapan program.
RF	: Radyo frekans (Radio frequency)
SAR	: Özgül soğurma katsayısı (Specific absorption rate)

SOD	: Süperoksit dismutaz
T	: Tesla (Weber/metre ²) (Manyetik indüksiyon ölçü birimi)
TAS	: Total antioksidan seviyesi
TE Modu	: Transfer elektrik modu
TEAŞ	: Türkiye Elektrik Anonim Şirketi
TEM Modu	: Transfer Elektrik Manyetik Modu
TL Workstation	: Elektrik iletim kaynaklarının yaydığı EMA'yı tespit eden yazılım programı.
TM	: Trafo merkezi
TM Modu	: Transfer manyetik modu
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
TSENV50166	: Manyetik alan standartizasyon birimi
TZT	: Yineleyen zorlayıcı travmalar
UHF	: Çok yüksek frekans (Ultra high frequency)
USEPA	: ABD Çevre Koruma Örgütü
UV	: Ultraviyole ışınları
V	: Volt (Gerilim Birimi)
VHF	: Yüksek frekans (Very high frequency)
VK	: Kesme gerilimi
VLF	: Very low frequency
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
X	: X ışınları
XO	: Ksantin oksidaz
X-Bandı	: 3 GHz altında askeri yayın frekansı
YF	: Yüksek frekans (HF ile aynı)

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Türkiye’de kontrolsüz etkilenme için sınır değerler	6
Tablo 3. Mesleki maruziyette izin verilen ICNIRP limitleri.....	7
Tablo 4. Oksidatif stres parametresi MDA’nın ortalama ve std sapma değerleri	35
Tablo 5. Gruplara göre MDA değerinin ortalamaları ve p değerleri	35
Tablo 6. Kan parametrelerinin ortalama ve std sapma değerleri	36
Tablo 7. Gruplara göre kan parametrelerinin ortalama ve standart sapma değerleri..	38
Tablo 8. Comet analiz verileri.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Elektromanyetik dalga spektrumu.	5
Şekil 2. ISM bant planı	11
Şekil 3. 2.45 GHz elektromanyetik alana maruz kalma deney düzeneği.....	25
Şekil 4. Görsel skorlama tekniği (AU) ile hücrelerin sınıflandırılması (0: Hasarsız DNA Görüntüsü, 1-4: Hasarlı DNA'ları hasarın derecesine göre puanlanması).....	32

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Comet 0 + Lenfosit Hücresi	40
Resim 2. Comet 1 + lenfosit hücresi	40
Resim 3. Comet 2+ lenfosit hücresi	41
Resim 4. Comet 3 + lenfosit hücresi	41
Resim 5. Comet 4 + lenfosit hücresi	42

1. GİRİŞ

Günümüzde elektromanyetik alan (EMA) yaşamımızın artık vazgeçilmez bir parçası haline gelmiştir. EMA'dan kaynaklarından yayılan radyofrekans dalgaları giderek artan ölçüde geniş kitleleri etkilemektedir. Bu dalgaların insan sağlığı üzerine zararlı etkilerinin ortaya çıkaran çalışmalar giderek artmaktadır. Elektromanyetik dalgalar, birçok doğal ve insan yapımı kaynaklar tarafından yayılmakta ve hayatımızda birçok etkiler oluşturmaktadır. Hiperfrekans ya da mikrodalgalara kronik maruziyet insanda baş ağrısı, yorgunluk, uyku, hafıza bozukluğu, konsantrasyon kaybı, kulak çevresinde sıcaklık hissi gibi çeşitli patolojik etkilere yol açmaktadır. Araştırmacılara göre; baş ağrısı, yorgunluk ve yoğunlaşma zorluğunun yüksek Radyo Frekanslı (RF) radyasyona maruz kalan insanlarda ortak bir şikâyet olduğu belirtilmektedir. Bu patolojik etkiler, literatürde 'non-spesifik' veya 'genel' semptomlar olarak yerini bulmuştur (1).

Cihazların yaydığı elektromanyetik radyasyon nedeniyle en fazla etkilenen risk grupları içine hamileler ve gelişim çağındaki çocukların girdiği bilinen bir gerçektir. Kablosuz ağların insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri giderek kabul görmektedir ve yapılan çalışmalarla bu kanı desteklenmektedir. Özellikle santral sinir sistemi üzerinde baş ağrısı, uyku bozuklukları, nöronal hasarlar, kan beyin bariyeri permeabilitesinde artış, beyinde ısı artışı, nörotransmitter salınımında bozulmalar ve bu etkilere bağlı olarak kognitif ve davranışsal değişikliklere neden olmaktadır (2).

Bilim insanları EMA'lara maruziyet neticesinde biyolojik sistemlerde meydana gelen etkiler ve bu etkilerin ortaya çıkmasını sağlayan eşik değerleri üzerine uzun yıllardır çalışmalarını yapmaktadırlar (3). Günümüze kadar yapılan çalışmalardan elde edilen veriler doğrultusunda EMA maruziyetinin; hücrenin hayati işlevleri olan membran fonksiyonlarında, hücresel iletimlerde ve metabolizmada önemli değişikliklere neden olduğu tespit edilmiştir (3-5). Ayrıca, DNA kırıkları ve kromozomlarda görülen anormalliklere, beyin nöronlarının ölümünü de kapsayan çeşitli hücre ölümlerine, serbest radikal oluşumunda artışa, hücresel strese, zamansız yaşlanmaya, hafıza kaybı, öğrenme güçlüğü gibi beyin fonksiyonlarında değişikliğe

ve özellikle çocukların aktivitelerinde değişikliklere, kadınlarda üreme sağlığı bozukluklarına, halsizlik ve baş ağrısına, uyku bozukluklarına, nörolojik dejenerasyonlara, melatonin salgılanmasında azalmaya ve kansere neden olduğu saptanmıştır (2, 6).

Bilimsel literatür mikrodalga frekanslarda özellikle mikrodalga fırınlarında kullanılan 2.45 GHz veya 2450 MHz'de meydana gelen hasar mekanizmasının ısıl etkilerden oluştuğunu göstermektedir. Isıl etkiler su molekülünün bağlarının titreşmesi ile ortaya çıkmaktadır ve bu frekans en verimli ısıtma frekansı olarak bilinmektedir (7, 8) Bu yüzden mikrodalga fırınlar su molekülünü titreştirerek bu frekanstaki pişirme/ısıtma işini gerçekleştirmektedir. Bu yüzden araştırmacıların bu frekansta bekledikleri temel etken ısı artışıdır. Tüm bu etkilerin yanı sıra EMR maruziyeti oksidatif stresi de indüklemektedir. Pek çok nörodejeneratif hastalığın temelinde bulunan oksidatif hasar, öğrenme-bellek işlevleri üzerinde de olumsuz etkiler oluşturabilmektedir (8, 9).

Günlük hayatta sürekli kullandığımız ve etkisine 7/24 maruz kaldığımız, kablosuz ağlar (Wi-Fi sistemleri), mikrodalga fırınlar, saç kurutma makinaları gibi cihazlar her insanın yanında taşıdığı ve hayatının birçok yönden kolaylık sağlayan, özellikle telekomünikasyon alanındaki dünyanın farklı noktalarındaki insanların birbirleriyle haberleşebilmelerine olanak sağlayan vazgeçilmez cihazlardır (10). Bu cihazların günlük yaşantımıza girmesiyle birlikte yaydıkları elektromanyetik alanın insan sağlığı üzerine etkileri toplumda ve bilim dünyasında ilgi konusu olmuştur. Dolayısıyla 2450 MHz frekansının etkilerinin araştırılması ve bu etkilerin en aza indirilmesi konusunda tavsiyeler verecek olan bu çalışmanın, konu hakkındaki tartışmalara bilimsel yeni bir boyut katacağı düşünülmektedir. Bilimsel veriler ışığında, elektromanyetik alanın oksidatif stres üzerinden bazı lipid yapılarını etkilediğı ve DNA hasarına yol açtığı belirlenmiştir (11, 12). Ayrıca genetik hastalıklara temel oluşturabileceğı veya bu hastalıkları tetikleyebileceğı, artırabileceğı düşüncesi mevcuttur. Bu nedenle, çalışmamızın EMR etkisinin dokusal ve moleküler düzeyde göstermesi açısından bilimsel literatüre önemli bir katkı sağlayabilir. 2450 MHz kablosuz alan ağı temel alınarak yapılmış çalışmalarda organ ve doku fizyolojisine etkileri tespit edilmiştir. Çalışmamızın amacı, tüm dünyada

giderek yaygınlaşan ve kullanımı hızla artan kablosuz ağların, kan dokusunda bulunan lenfosit hücrelerindeki DNA'ya ve kan hücreleri üzerindeki etkilerini araştırmaktır (12-14).

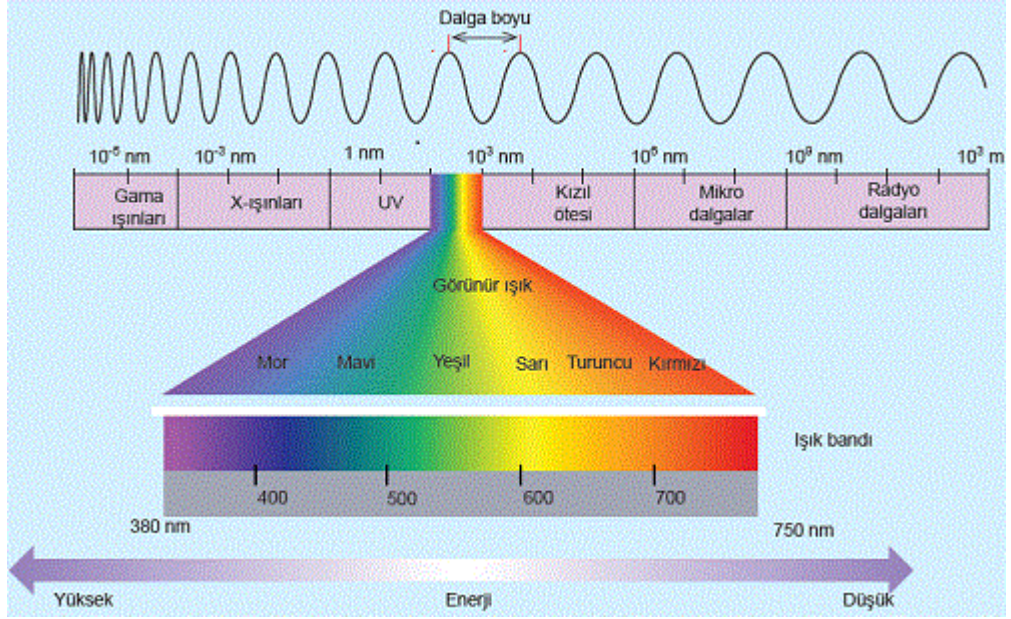
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Manyetik Alan

21 yüzyılda hızla gelişen teknoloji hayatımızın her alanına girmiştir. Bunun sonucunda ise, hayatımızı daha kolaylaştırmış ve hızlandırmıştır. Fakat teknolojinin bu kadar hızlı gelişmesi bazı olumsuzlukları da beraberinde getirmiştir. Elektrik (kuvvetli akım) ve elektronik (zayıf akım) teknolojilerinin kullanılmasıyla birlikte elektromanyetik alan (EMA) olarak adlandırılan bir kavram ortaya çıkmıştır. EMA üzerine yapılan çalışmalar günden güne artmaktadır (15, 16). Bunun sebebi ise, EMA'nın hızla bir şekilde hayatımızın her yerine ulaşması ve ortaya şimdilerde bilim adamlarının çokça konuştuğu bir kavram olan elektromanyetik kirlilik ifadesi ortaya çıkmıştır. Aslında elektromanyetik yöntemlerin başta tıp alanında olmak üzere birçok alanda insanlığa ne kadar faydalı olduğunu tartışmaya gerek yoktur. Ancak asıl soru şu ki elektromanyetik alanlar canlı organizmalara nasıl etki etmektedir? Faydalı mıdır? Zararlı mıdır? İşte bilim adamları bu soruya son 30 yıldır cevap aramaktadırlar (17, 18). Bir çok elektrik santrali, yüksek gerilim hatları, baz ve diğer link istasyonları ile bu endüstrinin kullanıldığı fabrika, ev, çalışma yerleşimleri, mutfak v.s. gibi yerlerde kullanılan elektrik aletlerin, iletişim ve haberleşme araçlarının oluşturduğu EMA'nın etkilerinin değerlendirilmesine çalışılmaktadır.

Hayatımızda bu kadar yer eden EMA nedir? Elektromanyetik dalga bir radyo frekans (RF) kaynağından üretilen ve boşlukta yayılan bir dalgadır. Günlük yaşantımızda ne kadar sık ve uzun süreli kullandığımızın farkına bile varmadığımız elektronik cihazlar elektromanyetik alan (EMA) yaymaktadır. Ne zaman bir elektrik alanından elektrik akımı geçse bir manyetik alan oluşur bu iki alan birlikte EMA'yı meydana getirirler. EMA sadece bize yardımcı değildir. Çünkü dünyanın manyetik alanı pusulanın iğnesini kuzey istikametine döndürmekte ve birçok kuş ve balık türünün yolunu bulmalarına yardımcı olmaktadır. EMA terimi; mikrodalgalar dahil olmak üzere 0 Hz ile 300 GHz arasında frekansa sahip statik alanları, dalga boyu çok uzun çok düşük frekans alanlar ve radyo frekansı (RF) alanlarını ifade eder (19, 20). Elektromanyetik dalgalar (EMD) dalga boylarına, frekanslarına ve enerjilerine bağlı olarak; radyo dalgaları, mikrodalgalar, infrared ışınları, görünür ışık, ultraviyole

ışınları, x ışınları, gama-ışınları ve kozmik ışınlar gibi türlerini kapsamaktadır (21, 22). Tüm bu elektromanyetik dalgalar ‘Şekil 1’ de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. Elektromanyetik dalga spektrumu (23).

EMD boşlukta yayılma özelliğine sahiptir. Bu tür dalgalar dalga boyları ve frekansları ile belirlenir. Tüm EMD, boşlukta aynı hızla yayılır. Bu hız ışık hızına eşit olup saniyede 300.000 km'dir.

Başlıca radyasyon türleri; iyonlaştırıcı radyasyon ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olmak üzere ikiye ayrılır. İyonlaştırıcı radyasyon; madde içerisinde geçerken enerjisini ortama aktarmak suretiyle, ortamdaki atomları doğrudan veya dolaylı yollarla iyonlaştıran radyasyon türüdür. Örneğin; x ve gama-ışınları ile nötron parçacıklarının yayılması gibi (24). Yeteri kadar enerjiye sahip olmadıkları için radyo dalgaları, mikrodalgalar, kızıl ötesi ışık, morötesi ışık (ultraviyole) ve görünür ışık iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak adlandırılırlar. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon nükleer radyasyon değildir. İyonlaştırıcı özelliğe sahip olmayan; sabit telekomünikasyon cihazları olan baz istasyonları, radyo ve televizyon vericileri ile elektrik iletim hatları, trafo merkezleri ve elektrikli ev aletlerinden (mikrodalga fırınlar, traş makinesi, saç kurutma makinesi v.b.) kaynaklanan radyasyon ise, iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak ifade edilen elektromanyetik radyasyon içerisinde yer alır (25-27). Dünyada insan vücudu ve iyonlaştırıcı olmayan

radasyon, elektromanyetik kirlilik arasındaki ilişkiler ve etkilenmelerle ilgili günümüze kadar birçok çalışma yapılmıştır.

Elektromanyetik alanların insan sağlığına etkileri konusunda dünyanın birçok ülkesinde oluşturulan standart ve sınır değerlerin yanı sıra uluslararası standartlar ve sınır değerler de mevcuttur. Uluslararası alanda Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komitesi (ICNIRP; International Commission on Non Ionizing Radiation Protection) tarafından belirlenen sınır değerler, Avrupanın birçok ülkesinde ve dünyanın farklı ülkelerinde en çok kabul gören değerler arasındadır (28). Aşağıda ‘Tablo 1, Tablo 2’ de Türkiye’de kontrollü ve kontrolsüz etkilenme ile ilgili sınır değerler verilmiştir. Ayrıca mesleki maruziyet için de ‘Tablo 3’ de sınır değerler verilmiştir.

Tablo 1. Türkiye’de kontrolsüz etkilenme için sınır değerler

Frekans	900 mHz		1800 mHz	
	Tek bir cihaz için sınır değer	Ortamin toplam sınır değeri	Tek bir cihaz için sınır değer	Ortamin toplam sınır değeri
Elektrik Alan Şiddeti	10,23 V/m	41,25 V/m	14,47 V/m	58,34 V/m
Manyetik Alan Şiddeti	0,027 A/m	0,111 A/m	0,038 A/m	0,157 A/m
Güç Yoğunluğu	0.28 W/m ²	4,5 W/m ²	0.56 W/m ²	9,0 W/m ²

Tablo 2. Kontrollü etkilenme için sınır değerler

900 MHz için sınır değerler	ICNIRP	IEEE/FCC
Elektrik Alan Şiddeti	90,0 V/m	-
Manyetik Alan Şiddeti	0,24 A/m	-
Güç Yoğunluğu	22,5 W/m ²	30,0 W/m ²

1800 MHz için sınır değerler	ICNIRP	IEEE/FCC
Elektrik Alan Şiddeti	27,28 V/m	-
Manyetik Alan Şiddeti	0,34 A/m	-
Güç Yoğunluğu	45,0 W/m ²	50,0 W/m ²

Tablo 3. Mesleki maruziyette izin verilen ICNIRP limitleri (27).

Frekans (f)	Elektrik Alan (E) (V/m)	Manyetik Alan (H) (A/m)	Güç Yoğunluğu (S) (mW/cm ²)
<1 Hz	—	163 x 10 ³	—
1 - 8 Hz	20	163 x 10 ³ /f ²	—
8 - 25 Hz	20	2.0 x 10 ⁴ /f	—
0.025 - 0.82 kHz	500/f	20/f	—
0.82 - 65 kHz	610	24.Nis	100; 22,445
0.065 - 1 MHz	610	1.6/f	100; 100/f ²
1-10 MHz	610/f	1.6/f	100/f ²
10 - 400 MHz	61	0.16	1.0
400 - 2,000 MHz	3f ^{1/2}	0.008f ^{1/2}	f/400
2 - 300 GHz	137	0.36	5.0

2.1.1. Özgül Soğurma Oranı (SAR)

Özgül soğurma hızı (SAR; Specific Absorption Rate) EM enerjinin vücut dokuları tarafından soğurulma hızıdır ve birimi W/kg'dır. Günümüze dek yapılan çalışmalar insan vücudunun bir derecelik sıcaklık artışını düzenleyemediğini ve sorunlar oluşturduğunu göstermektedir. İnsan vücudunda bir derece sıcaklık artışı için bir kilogram doku başına 4W güç soğurulması gerekmektedir (28).

İnsanların genel yaşam alanlarında bu değer 50'de biri olan 0,08 W/kg SAR sınır değeri olarak kabul edilmiştir. SAR doğrudan ölçülebilmesi imkânsızdır. Dolayısıyla sınır değerlerin belirlenmesinde kolay ölçülebilen ve/veya gözlemlenebilen parametreler kullanılmaktadır. Bu parametreler, elektrik alan şiddeti, manyetik alan şiddeti ve güç yoğunluğudur. SAR formülü aşağıdaki gibidir (29).

SAR = elektriksel iletkenlik*(elektrik alan * elektrik alan)/dokunun yoğunluğu)

2.1.2. Wlan, Kablosuz Yerel Alan Ağları (Wireless Local Area Networks)

Kablosuz iletişim ağları iki veya daha fazla bilgisayarın birbirleriyle kablosuz veri iletişimi sağlamalarıyla oluşan yapıdır. Bu ağlar; özel amaçlı, eğitim amaçlı olarak oluşturulabilirler. Kablosuz iletişim ağlarını hizmet yapısı, çalışma prensipleri, büyüklük veya mimarisine (topoloji) göre olmak üzere farklı kategorize etmek mümkündür. Ağların büyüklüklerine göre sınıflandırılması WLAN sistemlerinin daha iyi araştırılmasına olanak sağlamaktadır (30).

Büyüklüklerine Göre Kablosuz Ağlar

Kablosuz iletişim ağları hizmet verdikleri fiziksel alanlara göre gruplandırılır. Çeşitli kaynakların bu gruplandırmayı farklı şekilde yaptıkları bilinmektedir. Genel yaklaşıma göre kablosuz iletişim ağları, 4 sınıfta incelenir (30).

Bunlar;

1. Kablosuz Geniş Alan Ağları

2. Kablosuz Metropol Alan Ağları (WWAN; Wireless Wide Area Networks)
3. Kablosuz Şehir Alan Ağları (WMAN; Wireless Metropolitan Area Networks)
4. Kablosuz Yerel Alan Ağları (WLAN; Wireless Local Area Networks)
5. Kablosuz Kişisel Alan Ağları (WPAN; Wireless Personal Area Networks) olarak sıralanabilir.

2.1.3. Kablosuz Yerel Alan Ağları (WLAN)

Yerel alan ağları (LAN; Local Area Networks) bir bina, okul, hastane vb. sınırlı bir alanda kurulan ve çok sayıda bilgisayarı barındıran ağlardır. LAN'lar, kamu kurum ve kuruluşlarında, şirketlerde, üniversitelerde ve benzeri pek çok yerde kullanılmaktadır. WLAN'larda bilgisayarlar ve ağ içerisindeki diğer cihazlar arasında iletişimi sağlamak üzere kablo yerine RF veya kızılötesi teknoloji kullanılmaktadır (31). En kısa tanımıyla WLAN sistemi bir kablosuz LAN'dır. Bu nedenle kablolu LAN'ların tüm özelliklerine sahiptir.

WLAN sistemleri; kullanıcılarına kablosuz geniş bant internet erişimi, sunucu üzerindeki uygulamalara (programlara) ulaşım ve aynı ağa bağlı kullanıcılar arasında elektronik posta hizmeti ve dosya paylaşımı gibi çeşitli imkânlar sağlamaktadır. Ayrıca kablosuz bir sistem olması nedeniyle cadde, sokak, park, bahçe vb. alanlarda WLAN sistemleri başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak yerel (lokal) kullanım amacıyla geliştirilmiş olduklarından WLAN sistemlerinin mesafesi 25-100 metre kapsama alanındadır (32).

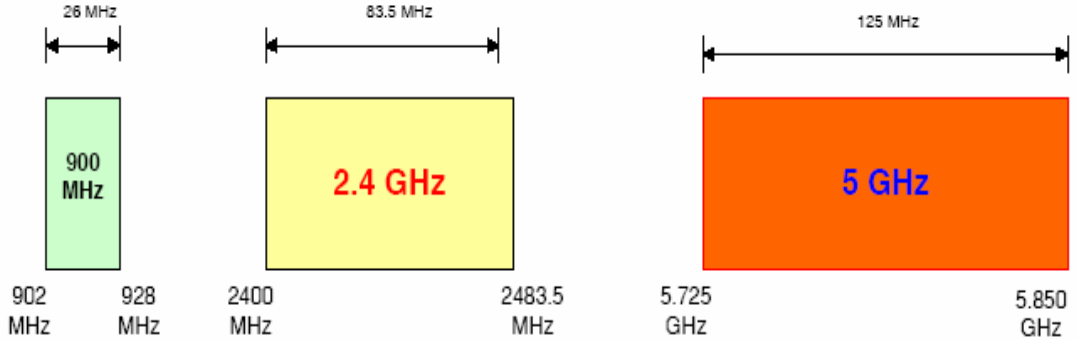
WLAN sistemleri standartlaşma ile birlikte yaygınlaşmıştır. 2 türlü WLAN teknolojisi mevcuttur. Bunlardan birisi Amerika tabanlı IEEE 802.11x ve diğeri ise Avrupa tabanlı HiperLAN sistemleridir. Temel olarak WLAN sistemi iki ana yapıdan oluşmaktadır. Birincisi Access point (AP), ikincisi ise kablosuz cihazlardır. Ancak cihazdan-cihaza (peer to peer) çalışma modelinde AP'ye ihtiyaç duyulmaz. Bu durumda kablosuz ağ kartına sahip bilgisayarlar kendi aralarında ilave bir cihaz veya kabloya ihtiyaç olmadan bir ağ oluşturabilirler. Kablosuz cihazlar genellikle bir

dizüstü bilgisayar, kişisel bilgisayar, cep bilgisayarı veya kablosuz ağ ünitesi ile donatılmış benzeri bir cihaz olabilir (33).

RF veya kızılötesi kullanarak takılı bulunduğu cihaz ile AP arasındaki bağlantıyı sağlar. Kablosuz cihazlarda bulunan NIC'ler otomatik frekans tarama özelliğine sahip olduklarından kendilerine ulaşan WLAN sinyalinin algılayabilirler. NIC tarafından doğru frekans kanalı bulunduğundan sonra AP ile kablosuz cihazlar arasında bağlantı kurulumu başlatılır. WLAN sistemlerinin çalışma prensipleri WLAN sistemleri havada yayılan EMD bir noktadan başka bir noktaya fiziksel bağlantı olmaksızın bilgi iletişimini sağlar. Tipik bir kablosuz yerel ağ konfigürasyonunda, AP olarak isimlendirilen hem alıcı hem verici konumundaki cihaz kablolu ağa bağlanır ve kablolu ağ omurgası ile kablosuz cihazlar arasında veri alışverişi işlemini gerçekleştirir. Bir AP kullanılan ortama bağlı olarak dâhili uygulamalarda 25-100 metre, harici kullanımda ise 200 metreye kadar yarıçaplı bir alanı kapsayabilir. WLAN sistemlerinde kullanılan yüksek frekanslı RF sinyali (2.4 GHz ve 5 GHz) temel özelliği nedeniyle katı cisimlere nüfuz edebilir ve geçebilir (33- 34).

Bu özellik görüş hattının sağlanmadığı bina içi kullanımlarda büyük bir avantaj yaratır. Ancak katı cisimler kullanılan maddeye (tahta, çelik, beton gibi) bağlı olarak sinyal zayıflamasına neden olurlar. Bu da sonuçta erişim mesafesini kısaltır. WLAN Sistemlerinde kullanılan frekanslar WLAN sistemlerinde genellikle ISM bandı kullanılmaktadır. ISM bantları aşağıda 'şekil 2' de gösterilmiştir. Uluslararası Telekomünikasyon Birliği (ITU) tarafından 13560 kHz, 27120 kHz, 40,6 MHz, 915 MHz, 2450 MHz, 5800 MHz ve 24.125 GHz merkez frekanslarında dünya genelinde tahsis edilmiştir (35).

ISM Frekans Bantları



Şekil 2. ISM bant planı

2.1.4. Elektromanyetik Radyasyon-Doku Etkileşmesi

İnsan vücudu % 65 oksijen, % 18 karbon, % 10 hidrojen, % 3 azot, % 2 kalsiyum, % 1,1 fosfor, % 0,35 potasyum, % 0,25 kükürt, % 0,15 sodyum, % 0,15 klor, % 0,05 magnezyum elementlerinden meydana gelmiştir. Bunların dışında eser halde bazı elementler de bulunmaktadır. Bunlar; demir, iyot, kobalt, bakır, mangan, silisyum, çinko, alüminyum, arsenik, krom, altın, nikel, titan vb. elementleridir. Hatta kurşun, civa ve selenyum gibi canlılar için zehir özelliği taşıyan elementlerin belirli doku ve organlara depo edildikleri saptanmıştır (35). Bütün bu elementler genellikle çok değişik bileşikler halinde bulunmaktadır. İnsan vücudu çok karmaşık bir yapıya sahiptir. Canlıyı oluşturan elementler, bileşikler ve biyomoleküller hücre içinde veya vücut içerisinde homojen dağılıma sahip değildir.

Canlıların homojen ve izotropik yapıya sahip olmamaları elektromanyetik radyasyonun vücut içindeki etkilerinin incelenmesini zorlaştırmaktadır. Biyolojik etkiler, vücut içinde oluşan iç alanlara bağlı olduğundan dozimetri, yani radyasyona maruz kalan bir cisimde oluşan iç elektrik alanlarının ölçülmesi ve hesaplanması esas teşkil eder. Dozimetri teorik ve deneysel olarak araştırılmaktadır. Teorik metotlar, Maxwell denklemlerinin gelen, yansıyan ve geçen (yutulan) dalgayı dikkate alarak, farklı yollarla çözümünden ibarettir. Bu metotlarda kullanılan matematik modeller gelen ve yutulan alanları temsil etmekte hayli sınırlı kalıp, yapılan hesaplamalar

gerçek fiziksel değerlere bir yakınsama olur. Maxwell denklemleri, gelen dalganın dalga boyu cismin boyutları yanında çok büyükse devre teorisi yaklaşımıyla, çok küçük ise optik teorisi yaklaşımıyla, aynı mertebede ise mikrodalga teorisi tekniklerinden faydalanarak çözümler (36, 37). Radyofrekans bölgesindeki dalgaların boyu 100 km ile 1 mm arasında değişmektedir.

Dolayısıyla, bu bölgedeki en yüksek frekanslı dalgaların boyları bile biyomoleküllerin ve hücrelerin boyutlarına kıyasla çok büyüktür. Ancak, 100 MHz'in üzerindeki frekanslar insanın boyutlarıyla aynı mertebede ve daha küçük dalga boylarına sahiptirler. Dozimetrizde deneysel metotlar ise iç elektrik alanını ölçülmesi veya vücut içinde çeşitli noktalarda sıcaklık artışının ölçülmesinden meydana gelir (38, 39). EMR'nin insan sağlığı üzerinde etkilerini incelerken insan vücudunun genel yapısı ve işlevleri hakkında bilgi sahibi olmak gerekir. Ancak bu bilgiler ışığında EMR'nin insan vücudu içindeki davranışı ve neden olduğu olumsuz etkiler araştırılabilir (40, 41).

2.1.5. Kan Dokusu ve Kan Hücreleri

Plazma veya serum adı verilen sıvı içerisinde, süspansiyon halinde hücresel elemanlar içeren dokuya kan dokusu denir. Vücut ağırlığımızın % 8 kadarnı oluşturur. Kan dokusunun görevi;

- Beslenme
- Boşaltım
- Vücut ısısının dengede kalması
- Tuz ve su dengesinin korunması
- Asit ve baz dengesi
- Pıhtılaşma olayı ile hemorajinin engellenmesi
- Hücresel ve humoral bağışıklık
- Hormanların taşınması

gibi görevlerin yapılmasından sorumludur. Kanın rengi kırmızıdır ve bu kırmızılık eritrositler içerisinde bulunan hemoglobin molekülü yapısında yer alan Fe molekülünden kaynaklanır (42).

Kan dokusu plazma kısmı

- Su
- Organik maddeler
- İnorganik maddelerden oluşur.

Plazmada, proteinler, lipid, karbohidrat vb. maddeler bulunur. Ayrıca plazmada çözülmüş olarak iyonlar (elektrolitler), sodyum (Na), potasyum (K), kalsiyum (Ca^{+2}), klor (Cl), magnezyum (Mg), bikarbonat ve fosfattır. Normalde 100 ml kanın % 44-46'sını hücresel elemanlar, % 54-56 ise plazma oluşturur. Hücresel elemanların plazmaya olan yüzdesi hematokrit değeri olarak adlandırılır. Hematokrit değerine birinci dereceden etki eden eritrosit sayısı (alyuvarlar; kırmızı kan hücreleri)'dir (43, 44).

Kan dokusunun hücresel kısmı;

- Eritrositler
- Lökositler
- Trombositlerden oluşur.

2.1.6. Eritrositler

Kanda en fazla sayıda bulunan şekilli elemandır. Eritrositlerin içerisinde nukleus, mitokondri ve ribozom yoktur ve ortası çökmüş disk şeklindeki hücrelerdir. 1 mm³ kanda yaklaşık 5 milyon kadardır. Erkeklerde, kadınlara göre daha fazla sayıda bulunur. Kan dolaşımında kolayca şekil değiştirebilme özelliğine sahiptir. Eritrositlerin ve kan damarlarının iç yüzeyini döşeyen endotel hücrelerinin zarlarının her ikisi negatif yük taşıdıklarından dolayı kan içinde damar duvarına sürtünmeden dolaşabilir. En dar kılcal damar içinden kolaylıkla geçebilirler. Dolaşımdaki ömürleri 120 gün kadardır. Böbreklerden salgılanan eritropoetin hormonunun etkisi altında

kemik iliğinde üretilirler. Hipoksi (dokularda oksijen azalması), böbreklerden eritropoetin salgılanmasına neden olur. Eritrositlerde “hemoglobin” adı verilen ve bileşiminde demir (Fe) bulunan protein bulunur.

Eritrositler akciğerlerden hücrelere oksijeni, hücrelerden akciğerlere karbondioksiti taşıma görevini yerine getirirler ve bu oksijen molekülünü taşıma görevini hemoglobin molekülü üstlenir. Hemoglobin yapısında; Fe atomu bulunduran hem yapısı ve protein kısmını oluşturan 4 polipeptid zincirinden oluşur. Eritrositlerde oksijen demir atomuna bağlanarak taşınır. Hemoglobini oluşturan polipeptid zincirlerindeki amino asitlerin sayı ve dizilişlerindeki farklılıklar, farklı hemoglobin tiplerinin oluşmasını sağlar (45).

2.1.7. Lökositler

Kanın çekirdekli kan hücreleridir. Ayrıca akyuvar olarak da adlandırılırlar. Lökositler beşe ayrılırlar. Bir mm³ kanda ortalama olarak 7000 adet lökosit bulunur. Sayıları dört binin altına düştüğünde "lökopeni", onbinin üzerinde olduğunda "lökositoz" adı verilir. Bu toplam lökosit sayısını oluşturan beş lökosit tipinin yüzde oranı "lökosit formülü" adını alıp birçok hastalığın belirlenmesinde etkilidir. Lökositler nükleuslarının parçalı veya tek parça oluşuna ve sitoplazmalarında özel granüllerin (spesifik granüller) bulunup bulunmamasına göre beş tipe ayrılmıştır (46). Granül içerenlerin nükleusları parçalı olanlarına "polimorfonükleer granülositler" denir. Spesifik granüllerin boyanma özelliğine göre üç tip granülosit vardır. Sitoplazmalarında spesifik granülleri bulunmayan lökositlerin nükleusları ise tek parçalı olup "mononükleer agranülositler" adı verilir.

A) GRANÜLOSİTLER

- a) Nötrofiller
- b) Eozinofiller
- c) Bazofiller

B) AGRANÜLOSİTLER

- a) Lenfositler

b) Monositler olmak üzere beş tip lökosit bulunur.

Lenfositler

Toplam lökositlerin % 20-40 kadarını oluştururlar ve ancak altı yaşına kadarki çocuklarda bu oran % 65'e kadar çıkmaktadır. Çapları da eşit olmayıp 6-16 mikron arasında değişir. Çapı 6-8 mikron olanlara "küçük lenfositler", 9-16 mikron arasında olanlara ise "büyük veya orta çapta lenfositler" denilmektedir. Gerçek büyük lenfositler normal koşullarda periferik kanda bulunmazlar, lenfoblast olarak lenfosit yapım merkezlerinde bulunur. Kana hastalık durumunda geçerler. Kanda görülen büyük lenfositler aslında orta çaplı lenfositlerdir, fakat oranları en çok % 8 olabilir. Küçük, orta, büyük lenfositler normalde morfolojik olarak aynı tip hücrenin değişik gelişim devrelerine karşılıktırlar. Kanda en çok bulunanı küçük lenfositlerdir. Bu sınıflamanın dışında fonksiyonel olarak lenfositler B lenfositleri (B-hücreleri), T-lenfositleri (T-hücreleri) ve Null hücreleri olarak da üç gruba ayrılmaktadırlar.

B-lenfositler yüzeylerinde immunglobulin molekülleri (reseptörler) taşırlar ve bu nedenle yüzeyleri pürüklüdür. Antijen uyarısıyla plazmositlere dönüşerek immunglobulin salgırlar ve hafıza B hücrelerini oluştururlar. Dolayısıyla humoral immuniteden sorumlu hücrelerdir. T-lenfositlerinin yüzeyinde ise immunglobulin molekülleri vardır ve bu nedenle düzgün yüzeylidirler (46). Yardımcı T-lenfosit (TH), baskılayıcı T-Lenfosit (TS), sitotoksit T-lenfosit (TC) gibi alt tipleri bulunmaktadır. Doğal öldürücü hücre (NK) ve öldürücü hücre (TK) hücreleri de büyük lenfositlere dahildir ve sitoplazmalarında bol azurofilik granül bulunur, antikorlara bağlı olmaksızın yabancı hücreleri öldürmeleriyle ayrılırlar. Null hücrelerinin ise farklılaşmamış rezerve lenfositler olduğu düşünülmektedir. Yüzeylerinde immunglobulin molekülleri bulunmamaktadır (47, 48).

2.1.8. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüşümü sırasında oluşan reaktif moleküllerdir. Oksijen molekülleri canlılık için vazgeçilmezdir ve metabolizma sırasında serbest radikal kaynağı olarak bilinen ve

son derece reaktif olan ara ürünler oluşur. Reaktif oksijen metabolitleri olarak bilinen bu moleküller lipit, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerine zarar verir.

Oksijen kullanılan organizmalarda serbest radikal oluşumunu kontrol altında tutmak ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olmak üzere hücre içerisinde antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Ancak bazı durumlarda antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin etkisini tamamen önleyemez dolayısıyla oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkar (49).

UV ışınları, ilaçlar, yağ oksidasyonu, immunolojik reaksiyonlar, radyasyon, stres, sigara, alkol ve biyokimyasal redoks reaksiyonları gibi birçok yolla serbest radikal oluşabilir. Oluşan serbest radikaller ateroskleroz, kalp hastalıkları, kanser hastalıkları gibi yaşlanmaya bağlı dejeneratif bozuklukların da yer aldığı patolojik durumların oluşumuna katkıda bulunurlar (50). Dolayısıyla serbest radikal oluşumunun ve antioksidan kapasitenin belirlenmesi, hastalıklara yakalanma riskini azaltmaktadır.

Serbest Radikal Kaynakları; aşırı alkol tüketimi, sigara kullanımı, elektromanyetik radyasyon, güneş ışınları, kronik inflamasyonlar, aşırı demir yüklemesi, aşırı fiziksel egzersiz, yaşlanma, doğum kontrol hapları.

Antioksidan Moleküller; enzimler, proteinler, selenyum, askorbik asit (C vitamini), tokoferoller (E vitamini), karotenoidler, flavonoidler, glutatyon ve tiyoller koenzim Q, ubikinon ve türevleri.

Oksidatif stres sonucu oluşan ve reaktif oksijen metabolitleri olarak bilinen moleküller özellikle lipit, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerine hasarlandırır. Yağ asitlerinin oksidasyonu reaktif bir radikal tarafından yağ asitlerinin metilen gruplarından bir hidrojen atomunun koparılması ile başlar. Karbon merkezli radikal oluşması ve daha sonra moleküler oksijenin bağlanması ile lipit hidroperoksitleri oluşur. Lipit hidroperoksitleri, lipit peroksidasyonunun erken aşamasını oluşturur (50).

Lipit hidroperoksitlerinin yıkımı ile aldehitler oluşur. Başlıcaları malondialdehit (MDA) ve hidroksialkenaller (örn. 4-OH-nonenal)'dir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilir, ya da diffüze olarak diğer hücrelerde hasarlandırılır. Aerobik bir ortamda gerek metabolizma reaksiyonları sırasında, gerekse dış etkenlere bağlı olarak oluşan oksijen kaynaklı radikaller, lipoproteinlerde

ve hücre zarında bulunan lipitlerde (çoklu doymamış yağ asitleri, PUFA) oksidasyona neden olur. Lipit hidroperoksitleri ile nihai yıkım ürünü olan düşük molekül ağırlıklı MDA lipit peroksidasyonunun indeksi olarak kabul edilir.

Oksidatif stresin proteinlerde oluşturduğu oksidasyon sonrası peroksitler ve protein karbonilleri meydana gelir. Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme dereceleri amino asit içerikleri bağlantılıdır. Doymamış bağlar ve –SH içeren moleküller ile triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenir. İmmüoglobulinler gibi fazla disülfid bağı bulunduran proteinlerde, oksidasyon sonucu kükürt merkezli radikaller oluşur ve proteinin üç boyutlu yapısı bozularak normal fonksiyonunu yerine getiremez. Polipeptit yapısında yer alan bazı amino asitlerin karbon atomlarından, reaktif oksijen molekülleri, özellikle de hidroksil radikali etkisiyle hidrojen atomunun koparılması sonucu karbon merkezli radikaller oluşur.

Serbest oksijen radikalleri, kanser oluşumunda bir aracı görevi görürler ve mutajenez, karsinogenez ve hücre ölümüne yol açan DNA zincir kırılmalarından sorumludurlar. Sitotoksisite, nükleik asit baz modifikasyonundan doğan kromozom değişikliklerine ve DNA bozukluklarına bağlıdır. DNA, reaktif oksijen molekülleri tarafından oksidatif hasara uğratıldığı zaman, hasar ürünü olarak modifiye nükleotidler (örn. 8-OH-dG) oluşu. Bu ürünler hücrelerden ve dokulardan elde edilen DNA materyallerinde, serumda ve idrarda ölçülebilen oksidatif stres belirteçidir. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla reaksiyona girerek DNA yapısında değişikliklere yol açar. Aktif nötrofillerde oluşan hidrojen peroksit (H₂O₂), zarlardan geçip çekirdeğe ulaşır ve DNA hasarına, hatta ölüme yol açar (51).

2.1.9. Elektromanyetik Alanın DNA Üzerine Etkisi

Çalışmaların çoğu mikrodalganın sağlam kromozomları, hücre fonksiyonları ve mutasyon ya da doku bozukluğu tamiri yapan hücreleri etkilediğini belirlemiştir. **Heller ve Terxeina** tarafından yapılan çalışmalar 4 düşük güçlü mikrodalga ışınımının memeli hücrelerinde ve böceklerde mutasyon ürettiğini göstermiştir. 1960 ve 1970'lerde araştırmacılar protein, RNA ve DNA'nın 65-75GHz ışınım absorbe

ettiğini göstermiştir (2,11). Ve mikrodalgalar mekanik onarımlar veya bakterilerdeki gen mutasyonlarıyla karşı karşıya kalmıştır.

2000-2004 döneminde refleks araştırmalarının iki laboratuarda ortaya koyduğu şaşırtıcı sonuç, birçok hücre sisteminin DNA ipliklerinde, en düşük elektromanyetik frekanslarda ya da RF de dahi kopmalar oluştuğuydu. Üstelik bu 'genotoksik' olaylar mevcut güvenlik sınırlarının altındaki frekanslarda dahi ortaya çıkmaktaydı.

Sonuçların bazı yönleri üzerinde daha ileri araştırmalara gereksinim vardır: Özellikle, 'genotoksik' etkilerin, çok düşük frekanslı EMF'ye kesintili maruz kalma durumlarında, süreklilik durumundan daha güçlü ortaya çıkması olgusu araştırılmalıdır. Ayrıca Dr. Adlkofer'e göre, Refleks'in invitro araştırma sonuçlarının kesinleşmesi için hayvanlar ve insanlar üzerinde tekrarlanması gerekir (18).

2.1.10. C Vitaminin Antioksidan Etkisi ve Koruyuculuk Rolü

C vitamini askorbik asit olarak bilinir ve suda çözünür. Birçok hayvan ve bitki kendi C vitaminini yapabilirken, insanlar dışarıdan almak zorundadır. Askorbik asit üzerinde ilk bilimsel araştırmalar 1907'de Holst ve Frolich tarafından yapılan deneylerle başlar. Araştırmalarını sürdüren Holst ve Frolich birçok besin maddesinin ve bu arada özellikle yeşil sebze ve meyvelerin skorbüt hastalığını önleyici etkileri olduğunu bulmuşlardır.

Vitamin C organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Hücrede 16 tirozinden epinefrin sentezinin dopamin β -hidroksilaz basamağında görev alır. Tirozin yıkılımlında p-hidroksi fenil pirüvatın homogentizata oksidasyonunda rol alır. Safra asitlerinin sentezindeki 7- α -hidroksilaz başlangıç basamağında rol alır.

Lizinden karnitin sentezinde rol alır. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici olarak rol oynar, midede ferri demiri ferro demire indirger. İmmünite ve yara iyileşmesinde etkilidir. Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ve hidroksil radikali ile reaksiyona girerek onları ortamdan temizler. Askorbik asit

antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali oluşturmaya uygun ferro demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir. Vitamin C'nin fagositoz için de önemli olduğu gösterilmiştir (52).

Biyokimyasal bakış açısı ile bakıldığında C vitamininin birçok immün mekanizmada görev aldığını gösteren önemli veriler vardır. Enfeksiyon hızlıca lökositlerdeki yüksek C vitamini düzeyini azaltır ve göreceli C vitamini eksikliği meydana gelir.

C vitamini lökosit fonksiyonlarını kuvvetlendirerek interferon seviyesi ve aktivitesini artırır, antikor sayısı ve cevabı artar, timus hormonlarının üretimini arttırarak immün sistemi etkiler . C vitamini ayrıca interferona benzer birçok etkiye sahiptir.

Kimyasal, duygusal, psikolojik, fizyolojik stres durumlarında üriner sistemden C vitamini atılması artar . Dolayısıyla böyle durumlarda vücudun C vitamini ihtiyacı artar . Kimyasal stres yapan ajanlara örnek olarak sigara , hava kirliliği ve allerjenler sayılabilir . Böyle durumlarda immün sistemin uygun çalışabilmesi için C vitamininden zengin besinlerin alınması önerilir . Kanser hastaları gibi bazı sağlık sorunları olanların daha fazla C vitamini almaları gerekmektedir (53).

2.1.11. C Vitamini Kullanım Formu

C vitaminini kristal , toz, kapsül, tablet gibi çeşitli formlarda bulabiliriz . Bunlardaki C vitamini miktarı değişkendir. Askorbik asit en yaygın kullanılan ve en ucuz olan formdur . Tamponlanmış C vitamin sodyum , magnezyum, kalsiyum ve potasyum-askorbatla oluşturulur . Tamponlanmış C vitamini temel olarak tamponlanmamış askorbik asidin asit içeriğinin bazı insanlarda yaptığı midede rahatsızlık hissi durumlarında kullanılır. Tamponlanmış C vitamini bileşikleri için tek ciddi sorun sodyuma duyarlı kişilerde sodyum -askorbat alınmasında görülmektedir .

Aynı şey mısır içermeyen C vitamini için de geçerlidir . Birçok ticari C vitamini formunda mısır bulunmaktadır . Mısıra duyarlı kişilerde sagu cevizinden yapılmış C vitamini bileşikleri tavsiye edilmektedir (54).

Yakın zamanda, 'Ester C' ismi verilen C vitamininin yeni bir formu satışa çıkmıştır. Bu form, C vitamininin esterlerinden oluşmaktadır . Bu form vücut tarafından emilebilir ve kullanılabilir . Bu ester form diğerinden daha pahalıdır. C vitaminini bioflavonoidlerle birlikte almak emilimini artırır . Bioflavonoid miktarı C vitaminine eşit ya da fazla olmalıdır ki, C vitamini emilimini arttırabilsin. Genelde C vitaminin en ekonomik ve etkili formu askorbik asitidir. İnsanın ne kadar C vitaminine gereksinimi olduğu hala tartışmalıdır . İki Nobel sahibi Linus Pauling sağlıklı kişilere günde 2-9 g C vitamini gerektiğini, stres veya hastalık durumunda dozun arttırılması gerektiğini söylemektedir (55). Son zamanlarda ise ishale yol açmamak şartıyla mümkün olan en yüksek dozun alınması gerektiğini söylüyorlar . Bunun aksine olarak, erişkinlerde 60 mg C vitamininin yeterli olduğunu söyleyenler de vardır.

Genel kanaat ise sağlıklı kişilere ve gebelere 500 mg/gün C vitamini verilmesiyle, yeterli antioksidan koruma ve sağlığa yararlı etki elde edilebilir . Ancak yüksek doz C vitamininin gerek tiği diyabet, katarakt, glokom, enfeksiyonlar, kanser, parkinson gibi durumlar mevcuttur . Böyle durumlarda , C vitamini en az 1g/gün dozunda verilir. Yalnızca C vitamini desteği yapılmasına güvenilmemelidir . Çünkü C vitamininden zengin yiyecekler aynı zamanda flavonoid ve karotenden zengindir. Bunlar da C vitamininin etkisini arttırırlar (55).

C vitamini oldukça güvenilirdir. En önemli yan etkileri diyare , distansiyon ve gaz şikayetidir . Yüksek doz C vitaminine bağlı en önemli yan etki böbrekte kalsiyum-okzalat taşlarının oluşmasıdır . Ancak yapılan çeşitli çalışmalarda , yüksek doz C vitamininin böbrek taşına yol açtığı gösterilmemiştir . Günlük 10 g'dan fazla C vitaminin üriner oksalat seviyesini etkilemediği gösterilmiştir (55, 56).

Başlı araştırmacılar yüksek doz C vitamininin aniden kesilmesinin veya gebelerde doğumdan sonra rebound skorbüte yol açtığını söylemişlerdir . Ancak başka bir çalışmada , aniden kesilince veya gebelik sonrası rebound skorbüt gelişimi saptanmamıştır. Rebound skorbüt gelişimi tartışmalı olduğundan , tedbirli olmakta

fayda vardır . Bu yüzden günde 500 mg'dan fazla C vitamini alınıyorsa , dozu yavaş yavaş azaltmak önerilir. Gebeler için 500 mg/gün güvenilir doz olmaktadır (56).

C vitamini en çok E vitamini , selenyum ve beta -karotenle etkileşir . Antioksidanları birlikte vermek, tek başına vermeye göre ek faydalar sağlar . Mesela, bir çalışmada hamsterlerde ağız kanserini önlemede , beta-karoten, E vitamini, glutatyon, C vitamini karışımını vermek , bunların herhangi birisini tek başına vermeye göre daha etkili bulun muştur. Antikanser etkileri aditif değil sinerjik olarak artıyor. C vitamini demir emilimini artırır, bakır emilimini azaltır. Kanda B 12 vitamini sonucunu etkiler, ilaçlarla etkileşmez (56).

3. MATERYAL ve METOT

3.1.1. Çalışma Kapsamı

Bu çalışma; Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı Laboratuvarı ve Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan 21.05.2015/09 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır. Çalışmamızda Süleyman Demirel Üniversitesi Deneyle Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilen, 6-8 aylık, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 18 adet dişi Sprague Dawley sıçan kullanıldı.

Aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip dişi sıçanlar, vücut ağırlıkları birbirine yakın olanlar aynı grupta olacak şekilde; biri kontrol 2'si deneyle grubu olmak üzere toplam 3 grup oluşturuldu. Tüm denekler, deneyle süresi boyunca optimum laboratuvar koşulları (22±1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve % 21 ham protein içeren pelet yemlerle (Korkuteli Yem, Antalya) beslendi.

Deneyle süresi 30 gün olarak planlandı. 30 günlük süre sonunda, deneyle hayvanları Ketamin (80-90 mg/kg)/Xylazine (8-9 mg/kg) ile anestezi edildikten sonra vena cava inferiordan kan örnekleri alındı. Bu örneklerde comet assay yöntemi ile DNA hasarı ve tam kan parametreleri (RBC, PCV, Hb, vb.), oksidatif stres parametresi MDA incelendi. Gruplar;

1. Grup: Kontrol grubu (n= 6):

Bu grup sıçanlar standart diyet (pellet yem) ile 30 gün süresince beslendi. Diyet kısıtlaması yapılmadı. İçme suyu olarak, 30 gün süresince musluk suyu verildi. Diğer gruptaki sıçanların manyetik alana maruz bırakılması sırasında dar kafesin içine sokulmalarından dolayı stres yaşayacakları düşünülerek, kontrol grubundaki sıçanların da aynı stresi yaşamaları amacıyla, bu gruptaki sıçanlar içine ancak bir sıçanın sığabileceği büyüklükteki pleksiglas kafesin içerisine sokularak, aynı saat ve aynı süreyle kafesin içinde manyetik alandan uzak bir ortamda bekletildi.

2. Grup: 2.45 GHz'e maruz bırakılan grup (n= 7):

Standart sıçan pellet yem ile 30 gün süresince beslenmişlerdir. İçme suyu olarak, 30 gün süresince musluk suyu verildi. Manyetik alan maruziyetini sağlamak için şeması gösterilmiş olan (Şekil 3) monopol anten ve içine ancak bir sıçanın sığabileceği büyüklükteki pleksiglas kafes kullanıldı. Bu grup sıçanlar, pleksiglas kafes içerisinde 2,24 mW/kg gücündeki 2.45 GHz frekanslı EMR'ye eşit uzaklıkta günde 60 dakika, olmak üzere 30 gün boyunca maruz bırakıldı. Her bir sıçanın her gün aynı saatte manyetik alana maruz bırakılması sağlandı.

3. Grup: 2.45 GHz'e maruz bırakılan grup (n= 6):

Standart sıçan pellet yem ile 30 gün süresince beslenmişlerdir. İçme suyu olarak, 30 gün süresince musluk suyu verildi. Manyetik alan verilmeden 1 saat önce C vitamini gavaj ile verildi. Manyetik alan maruziyetini sağlamak şeması gösterilmiş olan (Şekil 3) monopol anten ve içine ancak bir sıçanın sığabileceği büyüklükteki pleksiglas kafes kullanıldı. Bu grup sıçanlar, pleksiglas kafes içerisinde 2,24 mW/kg gücündeki 2.45 GHz frekanslı EMR'ye eşit uzaklıkta günde 60 dakika olmak üzere 30 gün boyunca maruz bırakıldı. 30. günün sonunda ratlar, 1 günlük bir dinlenme sürecinden sonra dekapite edildi. Her bir ratın her gün aynı saatte manyetik alana maruz bırakılması sağlandı. 30. günün sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan örnekleri alındı.

3.1.2. Deney Düzenegi ve Maruziyet Tasarımı

DeneySEL 2450 MHz maruziyeti için, 217 Hz darbeleri ve ayarlı çıkış verebilen (CW=Continues Wave) RF kaynağı ve bu cihaza ait monopol anten kullanılmıştır (SET ELECO, Set Elektronik, İstanbul). Çalışmada kullanılan maruziyet düzenegi literatürde "Ferris Wheel" ya da "Carousel setup" olarak isimlendirilen ve kabul görmüş bir düzenektir. Deney başlangıcında RF enerjinin kontrol edilmesi ve gözlenmesi amacıyla bazı teknik cihazlar kullanılmıştır. Bu cihazlar SDÜ Mühendislik Fakültesi Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bölüm Laboratuvarları'ndan temin edilmiştir. Teknik ve mühendislik desteği de bu bilim dalının öğretim üyelerinden alınmıştır. Darbe tekrarlama zamanı ve frekansın ölçülmesi için spektrum analizör (Promax, MC-877C, Barcelona, Spain) kullanılmış,

ortamda istenmeyen elektromanyetik alanların gözlenmesi için RF Portable Survey System (Holaday, HI-4417, Minnesota, USA) cihazı kullanılmıştır. Kontrol ve maruziyet guruplarının dış elektromanyetik kaynaklardan etkilenmemesi için tüm deneysel çalışmalar SDÜ HADYEK merkezindeki temiz odada gerçekleştirilmiştir. Bu odanın elektromanyetik yalıtımı 80 dB dir. Deneyin fiziksel ve boyutlandırılması ve fiziksel durum aşağıdaki ölçeksiz çizimde verilmektedir.

Düzlemsel bir EM dalganın c boşlukta dalga (ışık) hızı, ω açısal hız, ϵ_r ortamın bağıl dielektrik sabiti ve μ_r ortamın bağıl permeabilitesi (=1) dir. Boşluk için $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7}$ ve $\epsilon_0 = 8.85 \times 10^{-12}$. Bu düzlemsel dalga ideal koşullarda biyolojik ortama dik biçimde çarparsa ve 2450 MHz te rat dokuları için ϵ_r , iletkenlik; σ , özgül ağırlık; ρ değerleri bilimsel literatürde verilen tablolardan bulunabilir. Buna göre ratlar için dokuların ortalama elektriksel özellikleri ve boyutlar aşağıda verilmektedir:

1. ortam havadır, yani dalga havadan gelip rat ların önce burunlarına çarpmaktadır. Antenden çarpma noktasına kadar mesafe 90 mm dir. Çarpma noktasında ölçülen ortalama elektrik alan değeri 1,6 V/m olacak şekilde test vericisinin gücü ayarlanmış ve sabitlenmiştir. Ev ve ofislerde kullanılan ticari modemler (internet access point) oda içersinde yaklaşık bu değerlerde alan oluşturmaktadırlar. Bilindiği gibi yakın-uzak alan sınırı $\lambda/2\pi$ olacağından, bu sınır 1,9 cm kadardır. Uzak alanda yayılım düzlemsel dalga olmaktadır (57).

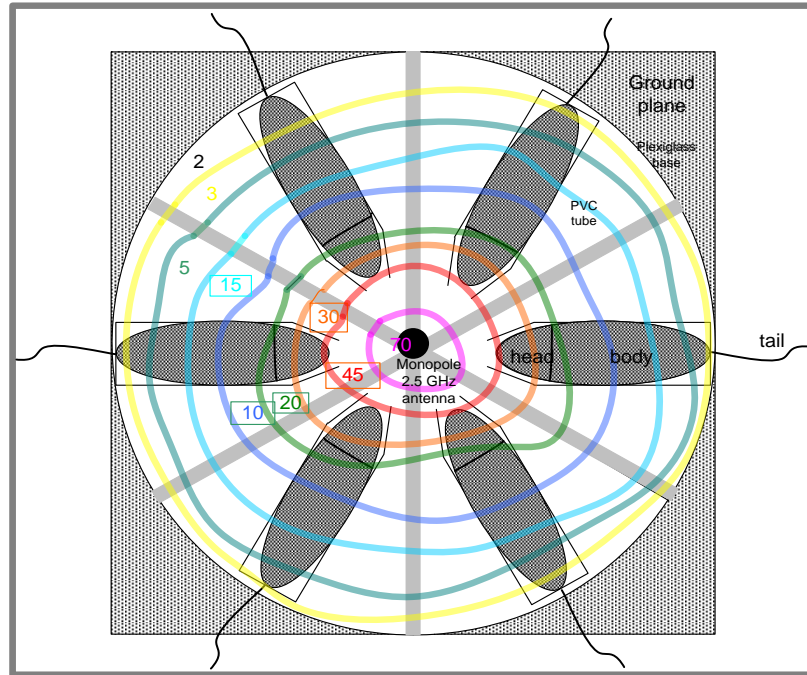
RF enerji havadan dokuya gelmekte ve rat için tüm vücut ortalama iletkenliği literatür bu frekans için 1.6 S/m, dielektrik sabitini (permitivite) 48 olarak vermektedir (58-60).

Biyolojik dokular gibi kayıplı ortamlarda RF bandında EM dalga zayıflayarak aşağıdaki yayılma denklemi ile ilerler;

$$\gamma = j \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_r \mu_r} \sqrt{1 - j \frac{\sigma}{\omega \epsilon_0 \epsilon_r}}$$

Burada ω dalganın açısal frekansı, c ışık hızı, ϵ_r ortamın bağıl dielektrik sabiti, μ_r ortamın bağıl manyetik permeabilitesi, σ ortamın iletkenliğidir. $\gamma = \alpha + j\beta$ olarak da yazılabilir. Burada α ortamın zayıflama, β ise faz katsayısı olarak elde edilir. Bir boşluk ortamında $|E_0|$ genliği ile ilerlerken, başka bir ortama

ideal koşullarla giren dalga yeni ortamda $|E|$ genliğine sahip olacaktır. $|E| = |E_0| \times e^{-\gamma_n d}$ olarak bulunur. $|E_n|$, n inci ortamdaki elektrik alanın hesaplanacak değeridir. γ_n , n inci ortamda yayılma değişmezi ve d_n , n inci ortam kalınlığıdır. Dokuların elektriksel özellikleri ve yayılım formülünün kullanılması ile katmanlı modelimizde; ilk doku-hava sınırında Elektrik Alan=1.6 V/m ölçüldüğüne göre nümerik elektromanyetik metodları kullanarak tüm vücut SAR değeri $SAR = (E^2 \sigma) / \rho$ W/kg formülünde fiziksel parametreleri kullanarak 2.24 mW/kg olarak hesaplanmaktadır. Sıçanlar için 2450 MHz elektromanyetik alan deney düzeneği 'Şekil 3' de gösterilmiştir.



Şekil 3. 2.45 GHz elektromanyetik alana maruz kalma deney düzeneği (61).

3.1.3. Comet Analizi

Sıçanların sakrifikasyonu sonunda alınan kan numuneleri oksidatif strese bağlı DNA kırıklarının tespitinde kullanılacak olan comet analizi için 500 µl heparinize kan + 100 µl dimethyl sulphoxide (DMSO) + 400 µl Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 Medium olarak cryo tüpler içinde hazırlandı ve çalışılncaya kadar – 80 °C’de aklandı.

Jelli biyokimya tüpüne aktarılan kanların fibrini ayrılması için 15 dakika (dk) bekletildi. Daha sonra 5000 rpm’de 10 dk santifüj edilerek serum kısmı ayrıldı. Sonrasında elde edilen serumla oksidan ve antioksidan enzimler çalışılmak üzere porsiyonlanıp eppendorf tüplerinde –80 °C’de saklandı. Comet analizi yapmak için uygun koşullarda cryo tüplerde bekletilen numunelerin ilk olarak hücreler 37 °C’de su banyosunda çözünmeleri sağlandı. Daha sonra % 0,5’lik düşük erime noktalı agaroz (LMA) ile süspanse edilip daha önceden üzeri % 0,5’lik normal erime noktasına sahip agaroz (NMA) ile kaplanmış lam üzerine aktarıldı. Katılaştıktan sonra 3. tabaka olarak üzerine yine % 0,5’lik LMA ilave edildi. Bu üç tabakalı jel hazırlandıktan sonra hücreler deterjanlı solüsyon içerisinde (lisis tamponu 20 µg/ml of proteinase) 2 saat parçalanması beklendi.

Lam alkali ya da nötral bir tampon içeren (4 °C’de 20 dk) elektroforez tankına yerleştirilip, DNA’nın açılması için bir süre beklendikten sonra elektroforez gerçekleştirildi (25 V’da 20 dk). Elektroforez sonrasında lam nötralizasyon tamponu ya da fosfat tamponu (PBS) ile yıkanıp kurutuldu ve florokrom (50 µl of 8 µl/m ethidium bromide) bir boya ile boyandı. Etidyum bromidle boyanan preparatlar Olympus marka florasan mikroskop altında 400X objektifte incelendi. Sonuçlar kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti cinsinden değerlendirildi. Bahsedilen tüm işlemler, çevre kaynaklı DNA hasarını önlemek amacıyla karanlık ortamda yapıldı.

3.1.4. Kullanılan Malzemeler ve Aletler

- 1- Fleurosan mikroskop: Olympus BM50 fleurosan mikroskop (Japan)
- 2- Benmari: Nüve TGR667 (Türkiye)
- 3- Soğutmalı mikro santrifüj: Nüve MR5415 (Türkiye)

- 4- Hassas terazi: Shimadzu SPB 33 (Japan)
- 5- Vorteks: Iso Lab NM 100 (Almanya)
- 6- pH metre: Iso Lab NY78 (Almanya),
- 7- Otomatik pipetler: Brand (Almanya), Iso Lab (Almanya),
- 8- Manyetik karıştırıcı: Iso Lab ngg660 (Almanya)
- 9- Elektroforez güç kaynağı: Cleaver scientific Omnipac mid Cs300V (İngiltere)
- 10- Elektroforez cihazı yatay: Cleaver scientific CSL-COM40 (İngiltere)
- 11- Spektrofotometre: Shimadzu U5800 (Japan)
- 12- Kristal spektro küveti: Iso Lab (Almanya)
- 13- Mikrodalga Fırın: Beko GFG778 (Türkiye)
- 14- Soğutmalı santrifüj: Hettich numarası MR5415 (Almanya)

3.1.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Yaptığımız çalışmada kullandığımız maddeler analitik saflıktadır. Kullanılan kimyasal maddelerden aşağıda belirtilenler; Sigma ve Merck firmalarından elde edilmiştir.

- 1- Sodium chloride
- 2- Trichloroacetic acid
- 3- 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (TEP)
- 4- Bovine serum albumin
- 5- Commassia brillant blue G-250 reaktifi
- 6- Thiobarbituric acid
- 7- Titriplex® III (ethylenedinitrilotetraacetic acid disodium salt dihydrate)
- 8- Agarose
- 9- Triton X-100

- 10- Trizma base
- 11- Tris hydrochloride
- 12- Dimethyl sulphoxide (DMSO)
- 13- Histopaque®
- 14- Sodium hydroxide
- 15- Formaldehyde solution
- 16- Slicotungstic acid hydrate
- 17- Ammonium nitrate
- 18- Sodium carbonate-anhydrous
- 19- Hidroklorik asit (HCL)
- 20- Çinko sülfat
- 21- Trikloro asetik asit
- 22- Asetik Asit % 1'lik
- 23- Nitrik asit %50'lik
- 24- Etidyum bromür

3.1.6. Comet Analizi ve Oksidan Enzim Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler

Lizis Solüsyonu (500 ml stok solüsyon)

2,5 M NaCl

100 mM EDTA

10 mM Trizma base

Tartılıp distile su ile 500 ml'ye tamamlandı.

100 ml çalışma solüsyonu:

%1 Triton X-100 1ml

%10 DMSO 10 ml

Balon jøjeye alındı. Üzeri stok solüsyon ile 100 ml'ye tamamlandı. +4 derecede soğutuldu. Bahsedilen solüsyon her çalışmadan önce taze olarak hazırlandı.

Alkali Elektroforez Tamponu (300 mM NaOH/1mM EDTA)

500 ml elektroforez tamponu:

300 mM NaOH

1 mM Na₂ EDTA karıştırıldı. Distile su ile hacim 500 ml'ye tamamlandı. pH > 13 olmasına dikkat edildi ve soğuk kullanıldı.

Nötralizasyon Tamponu

100 ml Nötralizasyon tamponu:

400 mM Tris HCL'in distile su ile hacmi 100 ml'ye tamamlandı. pH HCl ile 7,4'e ayarlandı.

Boyama solüsyonu

Stok etidyum bromür; 10 mg etidyum bromür 50 ml distile suda eritildi. Seyreltik etidyum bromür; stok boyama solüsyonundan 100 µl alınarak distile su ile 10 ml'ye tamamlandı. Ependorflara porsiyonlanıp, çalışma esnasında preperatlara uygulanarak fleuorosan mikroskopta değerlendirildi.

STOK PBS (1 litre):

Na₂HPO₄

KCl

KH₂PO₄

NaCl

Tris HCl

Stok PBS için uygun oranlarda karıştırılıp hacmi distile su ile 1 litreye tamamlandı. 10 kat dilüe edilerek kullanılmıştır.

3.1.7. Lamların Hazırlanması

Lamlar hot platede ısıtıldı ve sıcak kalması sağlandı.

- 50 mg (0,05 gr) NMA + 5 ml 1/10 dilüe edilmiş PBS de eritilir. Kabarcık kalmayıncaya kadar kaynatıldı ve 60 °C suda bekletildi.
- NMA'dan her bir lama 100 µl dökülerek lama froti şeklinde yayıldı ve donması için soğuk yüzeyde bekletildi.

NMA

% 1,5 NMA (75 mg NMA, 5 ml 10X PBS içinde)

LMA

% 0,75 LMA (37,5 mg LMA, 5ml 10X PBS içinde)

- 1- Kat: % 1,5 NMA
 - 2- Kat: 75 µl hücre + LMA karışımı
 - 3- Kat: 75 µl LMA
- PBS pH 7,5 olmalı
 - Hücreler mutlaka 1X PBS ile yıkanmalı, aksi taktirde hücrelerde kalan protein ve serum agarozun düşmesine neden olur.
 - LMA ve hücre oranı ayarlandı ve 15 µl hücre, 100 µl LMA ile karıştırıldı.
 - LMA'nın donduğundan emin olundu.
 - Hazırlık aşamasında nemli kutular kullanıldı.
 - Lizis solüsyonu mutlaka buz soğukluğundaydı. Lizis için yaklaşık 1 saat +4 °C'de bekletildi.
 - Elektroforez solüsyonu mutlaka < 20 °C, buz soğukluğundaydı.

3.2.1. Comet Analiz Basamakları ve Değerlendirme

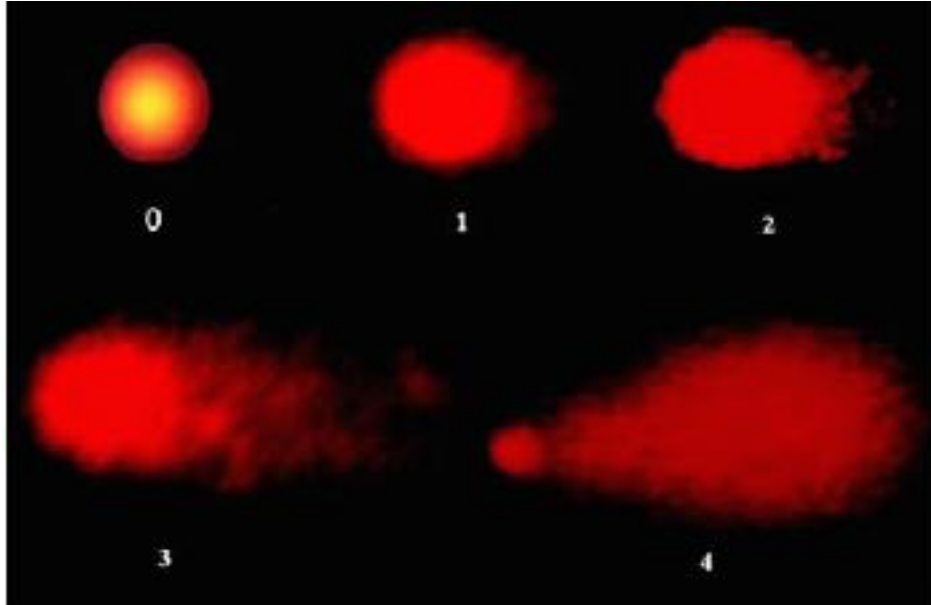
Comet Analiz Basamakları

- 0,5 ml histopaque 1077 + 0,5 ml tam kan ilave edildi (kan ilavesi sızdırma şeklinde yapıldı)
- 2100 rpm'de 30 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi.
- Tüpte oluşan iki tabaka arasındaki bulanık kısımdan 500 µl çekildi.
- Çekilen hücre kısmı 500 µl 1/10 dilüe PBS ilave edilerek 1 kez yıkandı (1600 rpm 10 dk)
- Süpernatant atılır, kalan pelette hücreler vardır, hücreler çok yoğunsa 1/10 PBS ile sulandırıldı.
- 40 mg (0,04 gr) LMA + 4 ml 1/10 dilüe PBS de eritildi, kaynatıldı, 37 °C su içine alındı.
- Hücreler 80 µl LMA ile karıştırıldı.
- Karışımdan 80 µl çekilir ve NMA olan lamlara dökülerek üzeri lamelle kapatıldı, 5 dakika +4 °C de bekletildikten sonra lamel çıkarıldı.
- Lamlar bir kutu içine alındı. Üzerine lisiz solüsyonu dökülerek 50 dk lizis için beklendi.
- 50 dk sonra lisiz solüsyonundan çıkarıldı ve distile su ile yavaşça yıkandı.
- Lamlar soğuk elektroforez tamponu olan tanka alındı. 30 dk adaptasyon için tankta bekletildi.
- Daha sonra 300 mA-25 V da 25 dk elektroforez tankında yürütüldü.
- Elektroforezden sonra lamlar çıkarıldı, kağıt havlu üzerine alındı ve nötralizasyon tamponundan her lama 5'er ml dökülerek nötralizasyon için beklendi. Üzeri kapatılır ve bu nemli bir şekilde 2 gün bekleyebilir. Hemen çalışılacaksa 70 µl boya solüsyonu lamlara dökülerek boyanması sağlanır.
- Uygulama çift olarak uygulandı.
- Lamel kapatılarak fleurosan mikroskopta okundu.
- Okuma 3 saat içinde yapıldı.

Değerlendirme

- Numune başına 100 adet hücre değerlendirildi (her slaytta 50 hücre). 400X’de skorlama yapıldı. (Etidyum bromür için fleurosan mikroskop, 488 nm dalga boyunda)
- Değerlendirilen her slayt kodlandı.
- DNA kırıkları 5 kategoride değerlendirildi:

0=Hasarlanmamış hücreler, 1= En az hasarlanmış hücre, 2= Orta hasarlanmış hücre, 3= Maksimumda az hasarlanmış hücre, 4= Maksimum kuyruk uzunluğuna sahip olan hücreler ve maksimum hasara uğramış hücreler. Bunun için her numunede hücre sayımı yapılırken (toplam 100 hücre sayıldı) hasarlanma derecesine göre hücreler 0-4 arası skorlandırılıp, numunedeki her bir skora ait hücre sayısı kaydedildi. Aşağıda ‘Şekil 4’ de hasarlı hücrelerin lamdaki görüntüleri gösterilmiştir (62).



Şekil 4. Görsel skorlama tekniği (AU) ile hücrelerin sınıflandırılması (0: Hasarsız DNA Görüntüsü, 1-4: Hasarlı DNA'ları hasarın derecesine göre puanlanması)

1. Hasarlanmış hücrelerin frekansı hasarlanmamış (sınıf 0) ve 1, 2, 3 ve 4'üncü sınıflara ait hasarlanmış hücrelerin toplam sayısının, her uygulamada sayılan hücrelerin toplam sayısına bölünerek bulundu. 100 nukleoid için toplam skor, her sınıftaki hasarlanmış hücre sayısını sınıf numarası ile çarparak bulundu.

$$\text{Total skor} = (0 \times n_0) + (1 \times n_1) + (2 \times n_2) + (3 \times n_3) + (4 \times n_4)$$

n: her grubta analiz edilen hücre sayısı

2. Total skor, 0'dan (hiç hasar görülmeyen 100 hücre) 400'e kadar (tüm hücreler hasarlanmış, grub 4) değer alabilir.
3. Ekstrakla muamelenin gösterdiği antijenotoksisitenin indirgeme yüzdesi bu formüle göre hesaplanır.

$$\text{indirgeme yüzdesi} = \frac{A' \text{ nin ortalama değeri} - B' \text{ nin ortalama değeri}}{A' \text{ nin ortalama değeri} - C' \text{ nin ortalama değeri}} \times 100$$

A: Genotoksik madde uygulanan gruptaki hücre sayısı (pozitif kontrol)

B: Genotoksik madde ve ekstrakt uygulanan gruptaki hücre sayısı

C: Negatif kontrol

3.3.1. Oksidan Enzim Yöntemi

MDA Düzeyinin Saptanması

MDA, lipid peroksidasyonunun önemli bir belirleyicisidir. Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan malondialdehid (MDA) ölçümü için Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi kullanılmıştır. Metodun prensibi TCA ile çöktürme işleminden sonra MDA-TBA kompleksinin 532 nm'de (Shimadzu UV-1601, Almanya) verdiği absorbanın ölçülmesi esasına dayanır. Sonuçlar, MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinsiyon katsayısından ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) yararlanılarak nanomol/gr protein olarak hesaplandı (63).

Dokuda Protein Tayini

Homojenize edilen örneklerin süpernatanlarında mikroprotein düzeyleri Bredford yöntemi ile manuel spektrofotometre ile ölçülmüştür. Standartların absorban değerleri ile oluşturulan optik dansite-konsantrasyon grafiği çizildi ve tüm numuneler bu standart grafiğe göre hesaplandı. Sonuçlar mikroprotein düzeyine bölünerek dokuda enzim aktivitesi olarak verildi (64).

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme bilgisayar ortamında SPSS For Windows 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin homojen dağılıp dağılmadıkları Shapiro-Wilk ve Kruskal Wallis testi ile kontrol edildi. Homojen dağılan veriler için parametrik testler, homojen dağılmayan veriler için ise nonparametrik testler kullanıldı. Nonparametrik verileri için Kruskal Wallis, Mann Whitney-U testleri kullanıldı. Parametrik veriler için ise one-way ANOVA ve post-hoc Bonferroni testi kullanıldı ve $p < 0,05$ 'ten küçük değerleri İstatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

EMR ve EMR + C vit. ve kontrol gruplarının comet assay, tam kan değerleri, MDA sonuçları gruplar arasında İstatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Oksidatif stres parametresi MDA ve kan lenfosit hücrelerinde yapılan comet analizi skorlarının ortalama ve standart sapma değerleri verilmektedir (Tablo 4).

Tablo 4. Oksidatif stres parametresi MDA'nın ortalama ve std sapma değerleri

	N	Ortalama	Std. Sapma
MDA	19	0,054	0,007
Comet	19	130,08	65,79

4.1.1. MDA parametresi

Kontrol grubuna göre EMR grubunda ve EMR grubuna göre EMR + C vit grubunda İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 5).

Tablo 5. Gruplara göre MDA değerinin ortalamaları ve p değerleri

	MDA (ortalama±std. sapma)	p
Kontrol	0,054±0,007	
EMR	0,055±0,009	$p>0.05$
EMR+ C vit.	0,055±0,0004	$p>0.05$

4.1.2. Tam Kan Ölçüm Sonuçları

Tam kan tahlilinde, kan hücrelerinin tümü, hemoglobin, hematokrit değerleri gruplar arasında İstatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 6). Yapılan değerlendirmede, EMR grubunda P-LCR değeri kontrol grubuna göre İstatistiksel anlamlı olarak arttığı bulundu ($p=0.022$). EMR grubuna göre EMR + C vit. grubunda P-LCR değeri İstatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Diğer tam kan parametreleri değerleri gruplar arasında İstatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p > 0.05$) (Tablo 7).

Tablo 6. Kan parametrelerinin ortalama ve std sapma değerleri

	N	Anlam	Std. Sapma
WBC	19	4,6153	2,11482
Neu	19	,9124	,77188
Lym	19	3,1900	1,21805
Mon	19	,3412	,34387
Eos	19	,0518	,04187
Bas	19	,1141	,18938
RBC	19	18,8688	8,09709
HGb	19	54,9765	24,81649
Neu. yuzde	19	6,2647	4,06124
Lym. yuzde	19	20,3412	35,79520
Mon. yuzde	19	,4647	,30607
Eos. yuzde	19	5,9206	2,87515
Bas. yuzde	19	13,9176	4,37625
Hct	19	40,5118	3,45902
MCV	19	55,8176	1,24611
MCH	19	18,6118	,46888
MCHC	19	33,3529	,58215

RDW-CV	19	12,7176	,65882
RDW-SD	19	27,1118	1,30809
Plt	19	870,5294	311,02213
MPV	19	5,4588	,39853
PDW	19	14,9588	,90902
PCT	19	,4732	,16738
P-LCC	19	33,8462	20,16121
P-LCR	19	4,5692	2,27060
Neu/lym	19	,2646	,17816
Plt/lym	19	293,5255	167,60050
Mpv/ plt	19	,9558	3,40935

WBC: Lökosit sayısı; **Neu:** Nötrofil sayısı; **Lym:** Lenfosit sayısı; **Mon:** Monosit sayısı; **Eos:** Eoznofil sayısı; **Bas:** Bazofil sayısı; **RBC:** Eritrosit sayısı; **HGb:** Toplam hemoglobin miktarı; **% Neu:** Yüzde lenfosit oranı; **% Lym:** Yüzde lenfosit oranı; **% Mon:** Yüzde monosit oranı; **% Eos:** Yüzde eoznofil oranı; **% Bas:** Yüzde bazofil oranı; **Hct:** Hematokrit; **MCV:** Ortalama erirosit hacmi; **MCH:** Ortalama hemoglobin miktarı; **MCHC:** Ortalama alyuvar hemoglobin derişimi; **RDW-CV:** Erirositlerin dağılım genişliği; **RDW-SD:** Eritrositlerin dağılım genişliğinin standart sapması; **Plt:** Trombosit miktarı; **MPV:** Ortalama trombosit miktarı; **PDW:** Trombosit dağılım aralığı; **PCT:** Yüzde trombosit oranı; **P-LCC:** Ortalama trombosit sayısı; **P-LCR:** Büyük trombosit hücre oranı.

Tablo 7. Gruplara göre kan parametrelerinin ortalama ve standart sapma değerleri

Kan parametreleri	Kontrol Ortalama±std. sapma	EMR Ortalama±std. sapma	EMR+C Vit Ortalama±std. sapma
WBC	4,83±0,98	4,53±2,87	4,43±2,35
neu	0,98±0,30	0,98±1,06	0,67±0,80
lym	3,40±0,63	3,01±1,53	3,17±1,54
mon	0,37±0,18	0,37±0,47	0,23±0,30
eos	0,04±0,02	0,06±0,04	0,05±0,06
bas	0,02±0,01	0,10±0,18	0,27±0,27
RBC	20,1±3,70	20,6±10,1	13,8±8,64
HGb	70,9±5,98	49,2±25,1	41,0±33,3
% neu	7,46±3,25	6,37±4,80	4,27±3,99
% lym	0,90±0,54	25,8±42,1	39,8±44,1
% mon	0,50±0,21	0,48±0,39	0,37±0,29
% eos	7,36±0,34	5,86±3,01	3,84±3,97
% bas	13,7±0,54	12,4±5,93	16,8±3,75
hct	41,3±1,73	40,8±4,89	38,6±2,20
MCV	56,1±1,57	55,8±0,97	55,4±1,35
MCH	18,6±0,47	18,5±0,50	18,7±0,52
MCHC	33,2±0,41	33,2±0,64	33,7±0,60
RDW-CV	12,6±0,72	12,9±0,77	12,5±0,28
RDW-SD	26,8±1,19	27,4±1,67	26,8±0,77
Plt	859±226	780±420	1045±128
MPV	5,38±0,20	5,62±0,55	5,27±0,18
PDW	14,4±0,13	15,2±1,08	15,1±1,07
PCT	0,46±0,12	0,43±0,23	0,55±0,07
P-LCC	30,0±10,0	38,2±32,00 ^a	34,5±9,19
P-LCR	3,45±0,90	6,44±2,70	3,25±0,21
Neu/lym	0,28±0,07	0,30±0,22	0,15±0,18
Plt/lym	256±80,4	258±176	410±229
Mpv/plt	0,00±0,00	2,31±5,22	0,00±0,00

WBC: Lökosit sayısı; **Neu:** Nötrofil sayısı; **Lym:** Lenfosit sayısı; **Mon:** Monosit sayısı; **Eos:** Eoznofil sayısı; **Bas:** Bazofil sayısı; **RBC:** Eritrosit sayısı; **HGb:** Toplam hemoglobin miktarı; **% Neu:** Yüzde lenfosit oranı; **% Lym:** Yüzde lenfosit oranı; **% Mon:** Yüzde monosit oranı; **% Eos:** Yüzde eoznofil oranı; **% Bas:** Yüzde bazofil oranı; **Hct:** Hematokrit; **MCV:** Ortalama erirosit hacmi; **MCH:** Ortalama hemoglobin miktarı; **MCHC:** Ortalama alyuvar hemoglobin derişimi; **RDW-CV:** Erirositlerin dağılım genişliği; **RDW-SD:** Eritrositlerin dağılım genişliğinin standart sapması; **Plt:** Trombosit miktarı; **MPV:** Ortalama trombosit miktarı; **PDW:** Trombosit dağılım aralığı; **PCT:** Yüzde trombosit oranı; **P-LCC:** Ortalama trombosit sayısı; **P-LCR:** Büyük trombosit hücre oranı; **a:**Kontrol grubuna göre anlamlı.

4.1.3. Comet Analizi Sonuçları

Comet analizi her bir numune için hazırlanıp materyal metotta anlatılan yönteme göre 0-4 arası hücreler skorlanıp, toplam 100 adet hücre her bir numune için skorlandı. Daha sonra comet skorları wilcoxon signed ranks test ile değerlendirildi. Çalışma gruplarından alınan kan örneklerinde yapılan comet assay sonucu mikroskop da görüntülenen hasarlı hücreler gösterilmiştir. Resim 1’de comet skoru “0” olan, Resim 2’de comet skoru “1” olan, ‘Resim 3’de comet skoru “2” olan, Resim 4’te comet skoru “3” olan ve Resim 5’te ise comet skoru “4” olarak skorlanmış hücreler görülmektedir.

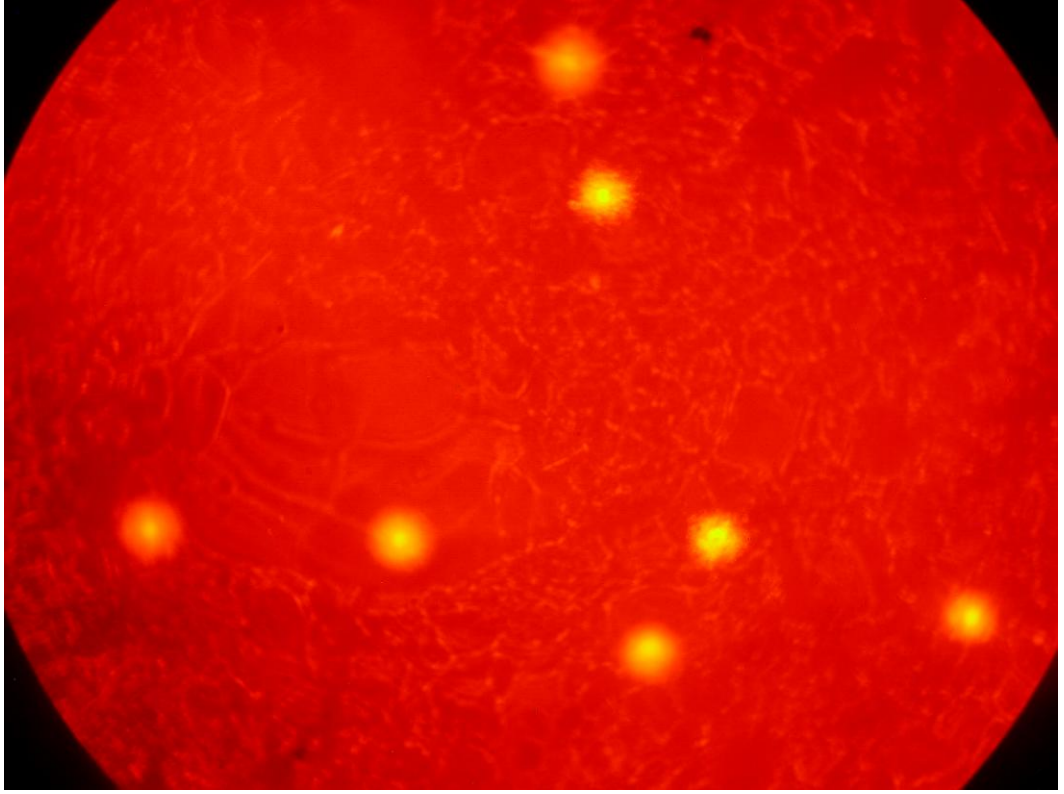
Tablo 8. Comet analiz verileri

	Comet (Arbitrary Unit, Ortalama±std. sapma)	p değeri
Kontrol	62,16±12,01	
EMR	206,08±41,44 ^a	p<0.001
EMR+C vit.	122±17,63 ^b	p<0.001

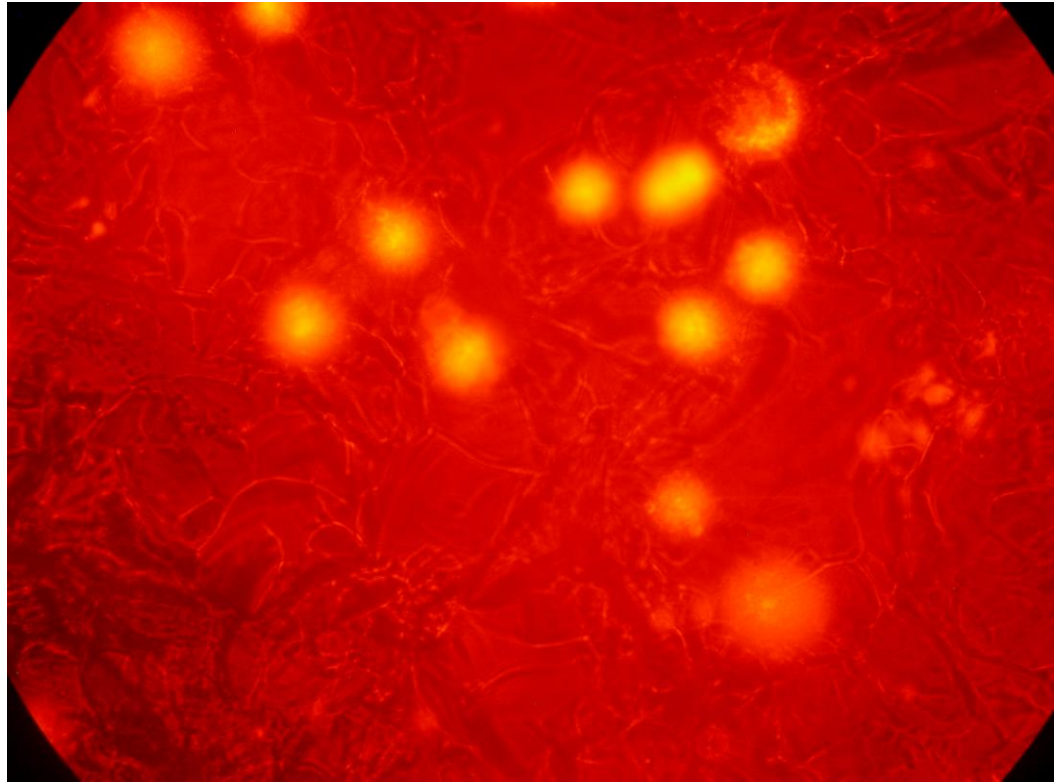
EMR: elektromanyetik radyasyon; a: kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; b: EMR grubu ile karşılaştırıldığında.

EMR grubu comet skoru kontrol grubu skoru ile karşılaştırıldığında İstatistiksel anlamlı olarak artmıştır (p < 0.001) (Tablo 7).

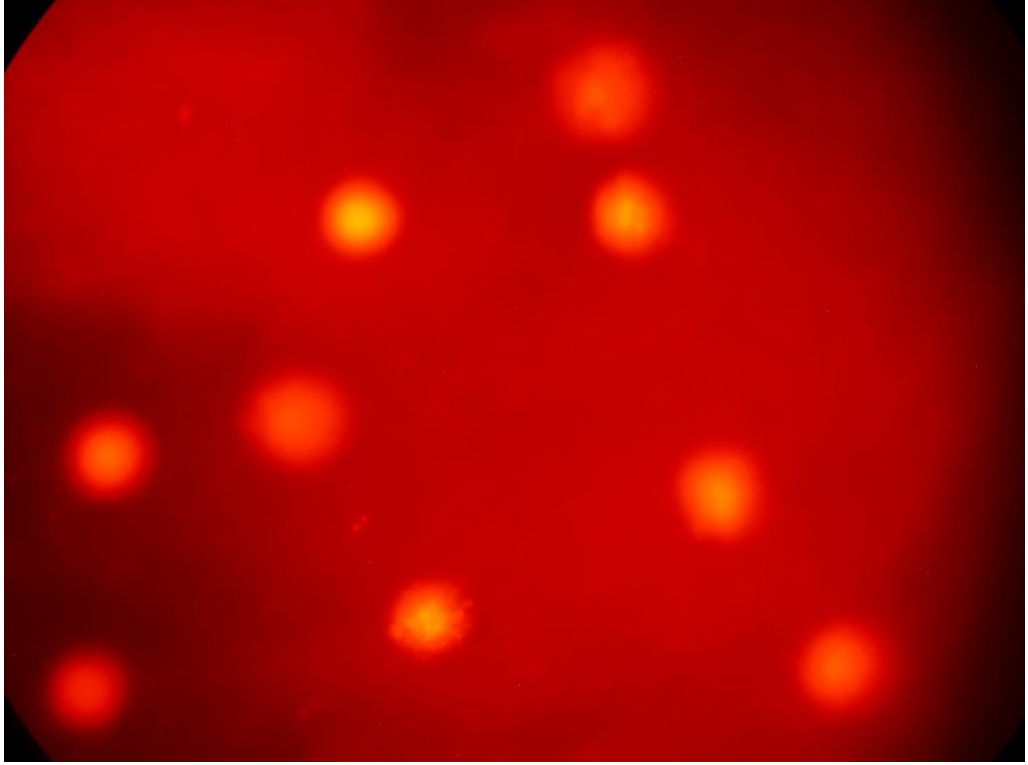
EMR+ C vitamini grubu comet skoru EMR grubu skoru ile karşılaştırıldığında İstatistiksel anlamlı olarak artmıştır (p < 0.001).



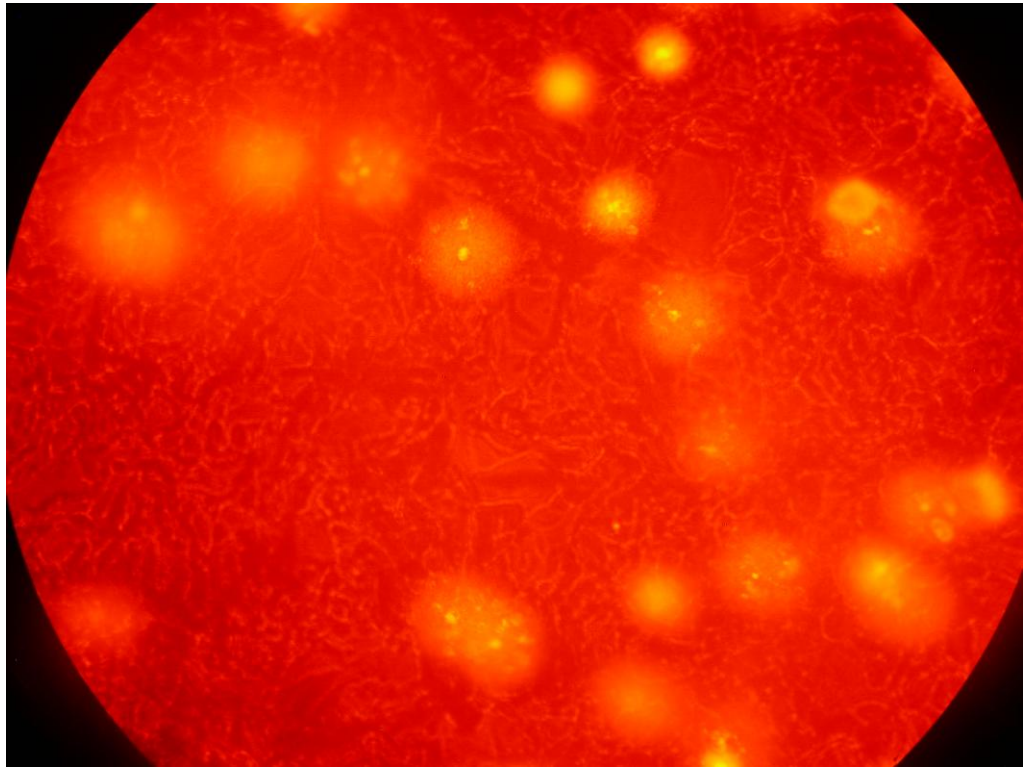
Resim 1. Comet 0 + Lenfosit Hücresi



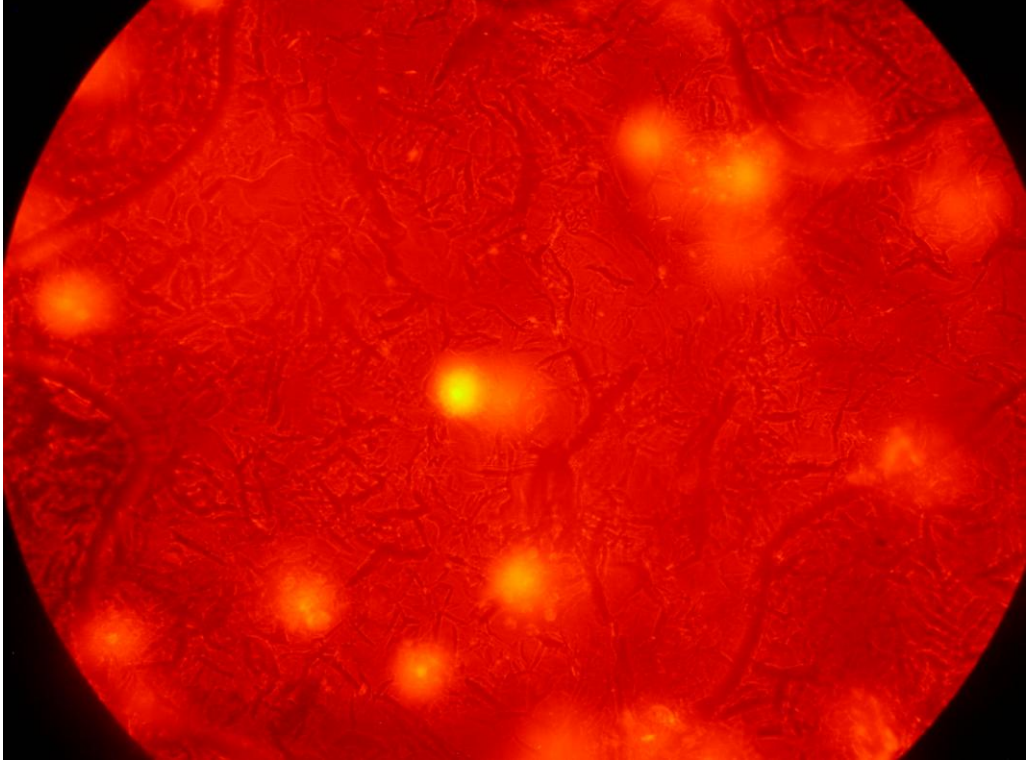
Resim 2. Comet 1 + lenfosit hücresi



Resim 3. Comet 2+ lenfosit hücresi



Resim 4. Comet 3 + lenfosit hücresi



Resim 5. Comet 4 + lenfosit hücresi

5. TARTIŞMA

EMR canlı üzerinde, hüresel ve moleküler düzeyde hasarlar oluşturmaktadır. Bu hasarlar başlıca mitokondri, membranlar, antioksidan sistemlerdir. Moleküler düzeyde ise DNA, enzimler, mitokonriyal DNA vb. yapılar üzerinde farklı oranlarda hasar oluşturdıkları belirlenmiştir. EMR dokular üzerinde ROS miktarını artırarak doku içerisinde oksidatif stresi arttırdığı bilinen bir gerçektir. Artan oksidatif stres, doku içerisinde lipit peroksidasyonuna sebebiyet verir. Aynı zamanda oluşan oksidatif stres, DNA üzerinde kırıklar ve mutasyonlar oluşmasına neden olur. Çalışmamızın ana bulgusu comet skorunun EMR uygulanan çalışma grubunda artmasıdır. Bu da EMR'nin neden olduğu oksidatif stres aracılı DNA hasarını bize göstermektedir.

Yasser ve ark. (2001) yaptıkları çalışmalarında, 800-900 MHz EMR'nin kan dokusu üzerinde lipit peroksidasyonunu artırdığı, antioksidan enzimlerinin miktarını azalttığı ve oksidatif stresi indüklediğini göstermişlerdir. Araştırma için yaşları 20-25 arasında olan 12 erkek gönüllüye ceplerinde cep telefonu 1 saat, 2 saat, 4 saat bekletilmesi istenmiştir. Süre sonunda gönüllülerden kan örnekleri alınmıştır ve bu örneklerde MDA, SOD, GSH-Px incelenmiştir. Deney sonucunda, 1 saat, 2 saat, 4 saat grupların her birinin plazmasında MDA düzeyinin önemli derecede arttığı gözlemlenmiştir. SOD aktivitesinin; 1 saat ve 2 saat süreyle maruz kalan gruplarda önemli derecede azaldığı, fakat 4 saat grupta önemli derecede azalmadığı belirlenmiştir. GSH-Px ise; 1 saat ve 2 saat süreyle maruz kalan gruplarda önemli derecede azalmış, 4 saat grupta ise önemli derecede azalmadığı bulunmuştur. Sonuç olarak, cep telefonlarından yayılan EMR'nin biyolojik sistemlerle etkileşimde olduğunu gösterilmiş ve EMR'nin hücre içinde oksidatif hasardan koruyucu enzimlerin aktivitelerini azalttığı ortaya konulmuştur (65). Oksidatif hasar ve bu hasarı engellemeye yönelik yapılan 2450 MHz EMR ile yapılan diğer bir çalışmada ise 30 erkek sıçan 5 gruba ayrılmıştır. Kontrol, sham-kontrol, EMR, EMR + sodyum selenit, EMR + L-karnitin gruplar olarak belirlenmiştir. Her bir sıçan için SAR değeri 0.1 W/kg olarak belirlenmiştir. Kontrol ve sham-kontrol grubu hariç diğer gruplara günde 1 saat 30 gün boyunca EMR uygulanmıştır. Deney sonucunda sıçanlardan kan örnekleri alınmış ve MDA, GSH, GSH-Px ölçülmüştür. Yapılan

ölçümler sonucunda, plazmada lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı gösterilmiştir. Ayrıca GSH ve GPx değerlerinin önemli derecede azaldığı belirlenmiştir. Buna ek olarak L-karnitin, antioksidan enzim inhibisyonuna neden olan molekülleri inaktive ettiği ve GSH ve GSH-Px enzimlerinin miktarını arttırdığı bulunmuştur. Sonuç olarak L-karnitin ve Selenyumun EMR'nin oluşturduğu oksidatif stresi azalttığı tespit edilmiştir (66). 900 MHz ile başka bir çalışmada ise, 24 tane (2 haftalık, genç), 24 tane (10 haftalık, yetişkin) sıçanlar kendi içlerinde üç gruba ayrılmıştır. Her yetişkin ve genç gruplardan bir tanesi kontrol grubudur. Bir ikili grup ise EMR grubudur. Kalan ikili gruba EMR grubu gibi EMR uygulanır fakat 30 günlük uygulama sonunda 15 gün dinlendirilir. EMR grubuna ise günde 2 saat 45 gün boyunca EMR uygulanmıştır. Deney sonucunda, sıçanlardan kan örnekleri alınmıştır. Her bir yetişkin ve genç sıçan için SAR değeri sırasıyla 0,28-0,48W/kg, 0,38-0,78 W/kg olarak belirlenmiştir. Kan örneklerinde TAS, MDA, MPO, GSH, Nitrik oksit (NO), CAT, SOD aktiviteleri ölçülmüştür. Sonuç olarak lenfoid organlarda antioksidan enzim aktivitesi, GSH seviyesi ve plazma antioksidan kapasitesi düşmüştür. Fakat lipid peroksidasyonu, NO seviyesi ve MPO aktivitesi artmıştır. Ayrıca oksidatif zarar dokuya özgüdür ve genç sıçanlarda iyileşme periyodu sınırlanmıştır. Buna ek olarak lenfoid organlarda geri dönüşümlü oksidatif hasar seviyesi yetişkin sıçanlarda, olgun olmayan sıçanlara göre yüksek bulunmuştur (67). Bizim çalışmamızda yukarıdaki çalışmaların tersine kan dokusunda oksidatif stres artışı anlamlı olarak bulunmamıştır. Literatürle uyumlu olmayan bu sonuç kan dokusunun hemodinamiğinin sürekli ve değişken olması ile açıklanabilir. Ayrıca süre ve doz ilişkili oksidatif hasar ve bunun yanında denek gruplarındaki hayvan sayısı da bu durumu etkileyen faktörlerden biri olabilir.

Liu ve ark. (2013) çalışmalarında fare spermatozoidlerinden türetilmiş olan GC-2 hücre kültürü üzerine 1.8 MHz GSM (küresel mobil iletişim sistemi) RF-EMR (radyo frekansın elektromanyetik radyasyonu)'yi 5 dakika açık 10 dakika kapalı modda 24 saat süresince uygulamışlardır. SAR değeri 4 W/kg olarak hesaplanmıştır. Uygulama sonucunda örnekler alkali comet assay yöntemi ile tek zincir DNA kırıkları incelenmiştir. Sonuç olarak bulgularda tek zincir DNA kırıklarına tespit edilmemiştir. DNA kırığı oluşmamasının sebebini ise RF-EMR'nin DNA da kırık oluşturabilecek kadar yeterli düzeyde enerjiye sahip olmadığı söylenmiştir (68).

Chemeris ve ark. (2003) çalışmalarında kurbağa eritrosit hücrelerinde DNA kırıkları ve genotoksititeyi araştırmışlardır. Kurbağadan alınan kan örneği üzerine 8.8 GHz HPPP-EMR (yüksek darbeli elektromanyetik radyasyon) 40 dakika uygulanmıştır. SAR değeri 1.6 W/kg olarak hesaplanmıştır. Uygulama sonucunda kan örneklerinde comet assay yöntem ile tek zincir DNA kırıkları incelenmiştir. Sonuç olarak, HPPP-EMR'nin kurbağa eritrosit hücrelerinde termal genotoksititeye sebep olmadığını gözlemlemişlerdir (69). Ivancsits ve ark. (2002) çalışmalarında ELF-EMR (aşırı düşük frekanslı elektromanyetik radyasyon)'nin insan diploid fibroblast hücre kültürü üzerine etkisini araştırmışlardır. İnsan diploid fibroblast hücre kültürü üzerine 50 Hz sinüzoidal 20-1000 μ T ELF-EMR 1 saat ve 24 saat (5 dakika açık, 10 dakika kapalı mod) süresince uygulamışlardır. Uygulama sonunda alkalın comet assay yöntemi ile tek zincir ve çift zincir DNA kırıkları incelenmiştir. **Elde edilen bulgularda ELF-EMR'nin doz ve zamana bağlı olarak tek ve çift DNA kırığı oluşturduğu belirlenmiştir. ELF-EMR'si için çevresel ve mesleki maruziyet sınır değerlerinin belirlenmesi gerektiğini savunmuşlardır (70).** Petra ve ark. (2013) çalışmalarını birbirinden bağımsız 6 farklı merkezde 20 tane gönüllü üzerinde yapmışlardır. 20 tane gönüllünün 10 tanesi (16-20) yaş arasında diğer 10 gönüllü ise (50-65) yaş arasındadır. Bu gönüllülere 1800 MHz RF-EMR 28 saat uygulanmıştır. Çalışmada SAR değerleri 0.2, 2 ve 10 W/kg olarak hesaplanmıştır. Uygulama sonucunda alkalın comet assay yöntemi ile tek zincir DNA kırıkları incelenmiştir. Sonuç olarak RF-EMR'nin genotoksik etki oluşturmadığını ortaya koymuşlardır (71). EMR oksidatif hasarın yanında DNA'ya da hasar verir. 2450 MHz ve 16,5 GHz ile yapılan bir çalışmada 12 wistar erkek sıçan iki gruba ayrılmıştır. Her bir sıçan için SAR değeri 2.01 W/kg olarak belirlenmiştir. Erkek sıçanlara günde 2 saat 35 gün süresince EMR uygulanmıştır. Süre sonunda sıçanlara diseksiyon ile beyin dokuları çıkarılmıştır. Elde edilen beyin dokuları üzerinde comet assay ile DNA hasarı incelenmiştir. 2450 MHz ve 16,5 GHz hayvan grubunda ikisinde de DNA migrasyonu gözlemlenmiştir. Fakat kontrol grubunda herhangi bir migrasyon gözlemlenmemiştir. Herhangi bir hücre ölümüne uygulama sırasında rastlanmamıştır. Sonuç olarak, 2450 MHz ve 16,5 GHz EMR beyin hücrelerinde DNA da tek zincir kırığı oluşturduğu belirlenmiştir (72). Franzelitte ve ark. (2009) çalışmalarında insan trofoblast hücrelerinden HTR-8/SVneo hücrelerine 1.8 GHz sürekli dalga ve farklı

sinyal boyutunda GSM sinyali 4, 16 ve 24 saat süreyle uygulamışlardır. Uygulama sürecinde 5 dakika açık 10 dakika kapalı mod kullanılmıştır. Deney sonucunda alkali comet assay ile tek zincir DNA kırıklarını incelemişlerdir. Sonuç olarak 1.8 GHz 16 ve 24 saat uygulamalarında DNA yapısının bütünlüğünün bozulduğunu ortaya koymuşlardır (73). Cho ve ark., (2014) çalışmalarında izole insan lenfositleri üzerine gadoliniumun (Gd) ve ELF-EMR aracılı sitotoksitite ve genotoksititeyi araştırmışlardır. Lenfosit hücre kültürünün bir kısmına sadece 0.2-1.2 Mm Gd verilmiştir, diğer hücre kültürüne 0.2-1.2 Mm Gd ve 0.8 mT ELF-EMR uygulanmıştır. Uygulama sonucunda izole insan lenfosit hücre kültürlerinde mikro nukleus test, comet assay, apoptosis analizi yapılmıştır. Yapılan deneyler sonucu elde edilen bulgularda her iki grupta da hücre kültüründe mikro nucleus frekansı, tek zincir DNA kırığı, apoptik hücre ölümü, ROS üretiminin arttığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, izole insan lenfosit hücrelerinde Gd ve ELF-EMR'nin birlikte verilmesinin genotoksitite ve sitotoksititeyi arttırdığını gözlemlemişlerdir (74). Yokuş ve ark. (2009) çalışmalarında 48 dişi sıçan 4 gruba ayrılmıştır. Control, sham, EMR-1 ve EMR-2 dir. Uygulamada EMR-1 grubuna günde 3 saat 50 gün, EMR grubuna günde 3 saat 100 gün boyunca 50 Hz 0.97 mT ELF-EMR uygulanmıştır. Uygulama sonunda kan örnekleri alınmış ve comet assay ile tek zincir DNA kırıkları ve TBARS (tiobarbitürik asit reaktif metabolitleri) analizi yapılmıştır. Elde edilen bulgularda, EMR-1 ve EMR-2 gruplarında yüksek miktarda DNA hasarı belirlenmiştir. Ayrıca TBARS seviyeleri her iki grupta yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, uzun süreli ELF-EMR maruziyetinin oksidatif stress aracılı DNA hasarına sebep olduğu bulunmuştur (75). Xu ve ark., (2013) çalışmalarında RF-EMR'nin farklı hücre tiplerinde farklı miktarda DNA hasarı oluşturabileceğini araştırmışlardır. 6 farklı hücre kültürüne 1800 MHz RF-EMR 1 saat ve 24 saat süresince uygulamışlardır. SAR değeri 3 W/kg olarak hesaplanmıştır. Uygulama sonunda farklı hücre örneklerine foci yöntemi (potansiyel onkogen belirleme) onkogen analizi, immünohistokimya, comet assay DNA kırıkları, tunnel assay ile DNA fragmentasyonu incelenmiştir. Elde edilen bulgularda, çin hamster akciğer hücreleri ve insan deri fibroblastlarında yüksek miktarda foci formasyonu belirlenmiştir. Fakat diğer hücre tiplerinde foci formasyonu belirlenmemiştir. Ayrıca, bu iki hücre tipinde DNA fragmentasyonu, DNA kırığı, hücre proliferasyonu gözlemlenmemiştir.

Sonuç olarak, RF-EMR'nin hücre tipine bağlı DNA hasarını indüklediği fakat yükselen foci formasyonun hücresel disfonksiyona sebep olmadığı ortaya koyulmuştur (76).

C vitaminin 900 MHz ile yapılan bir çalışmada, 40 tane wistar albino dişi sıçan 4 gruba ayrılmıştır. Gruplar EMR, EMR + C vitamin, kontrol, C vitamini olarak rastgele ayrılmıştır. Her bir sıçana uygulanan SAR değeri 1.2 W/kg olarak ayarlanmıştır. Dişi sıçanlara günde 40 dakika 4 hafta EMR uygulanmıştır. Ardından sıçanlar sakrifiye edilmiş ve kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örneklerinde, MDA, SOD, ADA, CAT, GSH-Px, XO incelenmiştir. Kanda EMR grubunda MDA, XO, GSH-Px değerleri önemli derecede yüksek çıkmıştır. C grubunda MDA değeri önemli derecede düşük çıkmıştır fakat EMR grubu ile arasında İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Fakat kalp dokusunda EMR grubunun MDA ve XO aktivitesi düşük bulunmuştur. Eritrositlerde EMR'nin XO da aktivite artışına bu da oksidatif stres ve peroksidasyona öncülük ettiği düşünülmektedir. Ayrıca bu artış ROS'un aşırı üretilmesine sebep olmaktadır. Diğer bir taraftan GSH-Px de ki artış ise artan oksidatif stresin azalmasına yönelik olduğu düşünülmektedir. C vitamini grubunda MDA da İstatistiksel olarak anlamlı bir düşüş bulunamamıştır. C vitaminin hücreyi reaktif oksijen radikallerinde direkt koruduğu ve peroksidasyonu engellediği düşünülmektedir. Ayrıca vitamin C'nin GSH-Px hariç antioksidan enzim aktivitesini artırmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, EMR'nin eritrositlerde oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir (77). Literatürde 2450 MHz EMR kaynaklı kandaki DNA hasarını gösteren in vivo bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ışığında EMR'nin kandaki lenfositlerde DNA hasarına yol açtığı ve C vitamininin bu DNA hasarına karşı koruyucu rol oynadığını ortaya koymaktadır. Literatürde de farklı frekanslarda benzer bulgular ortaya konmuştur. Ancak 2450 MHz EMR'nin kullanım alanı ve oranını düşündüğümüzde çok geniş bir kitleyi etkilediği ortadadır. Bunun yanında da çok çeşitli sebze ve meyvelerden kolaylıkla elde edebileceğimiz C vitamininin bu etkiye karşı koruyucu rolü çalışmanın en önemli çıktısını oluşturmaktadır. C vitamini hem DNA'nın oksidatif stres aracılı hasarı ve hem de DNA hasarında oluşabilecek antioksidan enzimlerin genlerinde ki bozulmalardan dolayı oluşacak oksidatif stres yükünü karşılamaktadır. C vitaminin oksidatif hasar ve DNA hasarındaki hayati rolü, bu hücrelerin hala görevlerini

sürdüremeleriyle alakalıdır. Çünkü hücrede oksidatif hasar hücrenin zar yapısının bozulmasına ve bu hasar da hücreyi apoptotik sürece doğru yönlendirir. Diğer taraftan hücrede oluşan DNA hasarı hücrenin önemli genlerinde oluşmuşsa hücre fonksiyonlarını sürdüremeyeceğinden yine apoptozise yönelecektir. Bu şartlarda C vitamininin de bu süreçte DNA yapısını koruyucu etkisinin, hücrenin fizyolojik fonksiyonlarının devamında önemli bir etkiye sahip olacağını düşünebiliriz.

900 MHz ile yapılan bir çalışmada, 24 Wistar albino erkek sıçan eşit olarak 4 gruba bölünmüştür. Kontrol, EMR, EMR + Vitamin C, EMR + Vitamin E. Her bir sıçan için SAR değeri 1.2 W/kg olarak belirlenmiştir. Sıçanlara günde 8 saat iki hafta boyunca EMR uygulanmıştır. Deney sonunda sıçanların ağırlıkları ölçülmüş ve dekapite edilmiştir. Ardından kan örnekleri alınmıştır. Örneklerde kan parametreleri ve biyokimyasal parametreler incelenmiştir. EMR grubunda lökosit sayısı ve yüzde lenfosit oranı artışı gözlemlenmiştir. Ancak C grubunda total lökosit sayısı ve total lenfosit yüzdesinin arttığı belirlenmiştir. Diğer bir taraftan, E grubunda RBC sayısı azalmış fakat C grubunda artmıştır. Genel olarak E grubunda hemoglobin ve hemotokrit değeri önemli derecede düşmüştür. E grubunda MCV ve MHC EMF ye tepki olarak düşmüştür. Ancak genel olarak MCHC artmıştır. E gruplarında platlet sayısı önemli derecede düşmüştür fakat C ve E grubunda artmıştır. AST, ALT, ALP enzimlerinin aktiviteleri E grubunda önemli derecede artışı gözlemlenmiştir. Fakat tam tersine E ve C gruplarında azaldığı belirlenmiştir. Sonuç olarak sıçanların kiloları arasında İstatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır. EMF'nin hemopoetik sistemi stimüle ederek, kan dokusunda ki hücrelerin artışına neden olduğu düşünülmektedir. Sonuçlara göre EMF'nin sıçanların kilosunu, kan parametrelerini, serum aktivitelerini etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca C ve E vitamininin bu etkileri düzelttiği gösterilmiştir (78). Çalışmamızı literatürle karşılaştırdığımızda bu frekansa ait veriye rastlanılmamıştır. Bizim bulgularımızda PLCR oranı EMR grubunda anlamlı olarak artmıştır. Bu da bize EMR'ye kronik olarak maruziyetin kandaki hemostaz üzerine dengeyi bozucu bir etki gösterdiği söylenebilir. Bu da kronik EMR maruziyetinde önemli bir noktadır ve daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Hayvan sayısının ve EMR maruziyetinin süresinin az olması çalışmamızın kısıtlılıklarındandır. Ayrıca çalışmamızda direk eritrositlerden oksidan ve antioksidan enzim tayinlerinin yapılamaması ve bunun yanında kanda sadece MDA bakılmış olması çalışmamızın kısıtlılıklarındandır. Kan dokusunda serum ve plazmadan diğer oksidan ve anti-oksidan enzim tayinleri yapılamaması da bir diğer kısıtlılıktır. Ayrıca çalışmada dişi sıçan kullanımı ile olası hormonal etkilerin süreçteki yeri değerlendirilememiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sonucunda EMR'nin lenfosit DNA'sı üzerinde hasar oluşturduğu ve C vitamininin hasara karşı koruyucu etkisi belirlenmiştir. EMR'nin kan parametrelerini etkilediği yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda kan parametrelerinden büyük trombosit hücre oranı EMR grubunda artmıştır ve diğer kan parametrelerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur.

Çalışmamızda EMR'nin kan parametrelerini etkilediği ve lenfositlerde DNA hasarı oluşturduğu ortaya konulmuştur. Bunun yanısıra günlük olarak besinlerle sık aldığımız C vitamininin EMR aracılı hasarda kan dokusunda koruyuculuk rolü ortaya konulmuştur. Çalışmadan elde ettiğimiz bulgular literatürde yapılan çalışmaların bulguları ile örtüşmektedir. DNA hasarının nerede ve nasıl oluştuğu ve hangi gen yapılarını kapsadığı bizim için hala bir merak konusudur..

İleride yapılacak çalışmalar için, oksidatif DNA hasarı ve EMR'nin direk olarak oluşturduğu DNA hasarı ayrı ayrı incelenebilir. Buna ek olarak, DNA hasarını oluşturduğu genler ve antioksidan enzimlerin genleri spesifik olarak incelenebilir. C vitamini DNA'yı hasardan ne ölçüde koruduğu daha net belirlenebilir. Bu sayede C vitamininin antioksidan kapasitesi ve DNA'yı EMR'den koruma gücü ortaya konulabilecektir. C vitamininin DNA hasarı üzerinde engelleyici etkisinin etki mekanizması ve gücü kullanımının yaygınlaştırılması ve efektif dozlarının ortaya konulması için ileri çalışmaların yapılması önem arz etmektedir

ÖZET

KABLOSUZ AĞLARIN (Wİ-Fİ) LENFOSİT DNA'SI ÜZERİNE ETKİSİ VE C VİTAMİNİNİN ROLÜ

Elektromanyetik radyasyon (EMR) dokularda oksidatif stres ve ısı artışı ile DNA hasarına neden olmaktadır. Elektromanyetik radyasyona en çok maruz kalan dokuların başında kan dokusu gelmektedir. EMR kan dokusunda hücrelerin ve bazı moleküllerin sayısını azaltır ve kan dokusunda lenfosit hücrelerinin DNA molekülünde hasar oluşturur. Bu çalışmada antioksidan özelliği ile C vitaminin DNA hasarı ve bu mekanizmadaki rolü araştırılmıştır.

Çalışmamızda, sprague dawley dişi sıçanlar (n=18) eşit olarak 3 gruba ayrıldı. Gruplar; kontrol, EMR, EMR + C vitamini olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu hariç diğer iki gruba günde 1 saat/30 gün boyunca EMR uygulanmıştır. Kontrol ve EMR grubuna uygulama öncesi 0,1 ml serum fizyolojik 1defa/30 gün gavajla verildi. C vitamini grubuna uygulama öncesi günde 250 mg/kg C vitamini 1defa/30 gün gavajla verildi. Bu uygulama sonunda sıçanlardan kan örnekleri alındı ve comet assay yöntemi ile DNA hasarı, malonil dialdehit (MDA) ve tam kan sayımı incelendi. Sonuç olarak, MDA İstatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). EMR grubunun comet skoru kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak arttı. Diğer taraftan EMR+ C vitamini grubunda comet skoru EMR grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak azaldı. ($p < 0.05$). Büyük hücreli trombosit oranı (P-LCR) kontrol grubuna kıyasla EMR grubunda İstatistiksel olarak arttı ($p < 0.05$).

Comet skorlarının EMR grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunması literatürde yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. EMR+C vitamini grubunda comet skorunun istatistiksel olarak azalması, C vitaminin oksidatif strese bağlı DNA hasarında koruyucu rolü olabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: EMR, Comet analizi, DNA hasarı, C vitamini, Oksidatif stres

SUMMARY

EFFECT OF WIRELESS NETWORKS (WI-FI) ON THE LYMPHOCYTE DNA AND ROLE OF VITAMIN C

Electromagnetic radiation (EMR) exposure forms oxidative stress and increasing temperature in tissues which cause the damage in DNA. Blood tissues are one of the most affected tissue in EMR exposure that reduces the number of cells and molecules in blood cell. It creates damage in DNA of lymphoid cell tissue in the blood. DNA damage and protection mechanism was studied with vitamin C through employing its antioxidant characteristic.

In our study, (n=18) female Sprague Dawley rats were divided into 3 groups as control group, EMR, EMR + C vitamin. Rats in EMR and EMR+C vitamin groups were exposed to EMR for 1 hour per day for a month. 0.1 ml serum were given with gavage method to the rats in control and EMR group before experiment. 250 mg/kg vitamin was given to the vitamin C group's rats before experiment. After this period, DNA damage, malonil dialdehit (MDA) and blood count parameters in blood samples of the rats were analysed with comet assay methods. MDA results statistically was not significant ($p > 0.05$). Comet score statistically was higher in EMR group compared to EMR + vitamin C and control group. On the other hand comet score in EMR + C vitamin was higher than control group ($p < 0.05$). Platelet large cell ratio (P-LCR) statistically was higher in EMR group compared to control group. ($p < 0.05$).

Comet score is statistically significant which is relevant with literature. The low value of comet score found in EMR+C vitamin group indicates that, vitamin C can prevent DNA damage caused by oxidative stress.

Keywords: EMR, Comet assay, DNA damage, Vitamin C, Oxidative stress

KAYNAKLAR

1. Ahlbom A, Cardis E, Green A, Linet M, Savitz D, Swerdlow A. Review of the epidemiological literature on EMF and health. *Environ Health Perspect* 2001; 109(6): 911-933.
2. Green HLM, Lowe EJ, Waugh WPA, Aldridge EK, Cole J, Arlett FJ. Effect of diet and vitamin C on DNA strand breakage in freshly-isolated human white blood cells. *Mutation Research* 1994; 316(2): 91-102.
3. Santini R. Les téléphones cellulaires et leurs stations relais: risques pour la santé? *La Presse Médicale* 1999; 28(34): 1884-1886.
4. Bielski J. Bioelectrical brain activity in workers exposed to electromagnetic fields. *Ann NY Acad Science* 1994; 724(1): 369-373.
5. Hocking B. Preliminary report: symptoms associated with mobile phone use. *Occupational Medical* 1998; 48(6): 357-360.
6. Chia S, H Chia, J Tan. Prevalence of headache among handheld cellular telephone users in Singapore: a community study. *Environ Health Perspect* 2000; 108(11): 1059-1062.
7. Özgüner F, Mollaoğlu H. Manyetik alanın organizma üzerindeki biyolojik etkileri. *SDÜ Tıp Fak. Derg.* 2006; 13(1): 38-41.
8. Liakouris AJ. Radiofrequency (RF) sickness in the Lilienfeld study: An effect of modulated microwaves? *Arch Environm Health* 1998; 53(3): 236-238.
9. Repacholi MH. Health risks from the use of mobile phones. *Toxicology letters* 2001; 120(1): 323-331.
10. Javed H, Khan MM, Ahmad A, Vaibhav K, Ahmad ME, Khan A, Ashafaq M, Islam F, Siddiqui MS, Safhi MM, Islam F. Rutin prevents cognitive impairments

by ameliorating oxidative stress and neuroinflammation in rat model of sporadic dementia of Alzheimer type. *Neuroscience* 2012; 210: 340-352.

11. Phillips JL, Singh NP, Lai H. Electromagnetic fields and DNA damage. *Pathophysiology* 2009; 16(2): 79-88.
12. Carroll RC, Zukin RS. NMDA-receptor trafficking and targetting: Implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends in Neuroscience* 2002; 25(11): 571-577.
13. Wittenberg GM, Tsien JZ. An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends in Neurosciences* 2002; 25(11): 571-577.
14. Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Progress in Neurobiology* 1987; 54: 581-618.
15. Lau CG, Zukin RS. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nature Reviews Neuroscience* 2007; 8(6): 413-426.
16. Goebel DJ, Poosch MS. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. *Molecular Brain Research* 1999; 69(2): 164-170.
17. Saygin M, Caliskan S, Karahan N, Koyu A, Gumral N, Uguz AC. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicology and industrial health* 2011; 27(5): 455-463.
18. Tomruk A, Guler G, Dincel AS. The influence of 1800 MHz GSM-like signals on hepatic oxidative DNA and lipid damage in nonpregnant, pregnant, and newly born rabbits. *Cell biochemistry and biophysics* 2010; 56(1): 39-47.
19. Shipton OA, Paulsen O. GluN2A and GluN2B subunit-containing NMDA receptors in hippocampal plasticity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2013; 369(1633): 20130163.
20. Özorak A, Nazıroğlu M, Çelik O, Yüksel M, Özçelik D, Özkaya OM, Çetin H, Kahya CM, Kose AS. Wi-Fi (2.45 GHz)-and mobile phone (900 and 1800 MHz)-induced risks on oxidative stress and elements in kidney and testis of rats

- during pregnancy and the development of offspring. *Biological trace element research* 2013; 156(1-3): 221-229.
21. Esfahani M Sedehi, Radmehr B, Kohbodi A. Detection of probable effects of microwave exposure of blood parameters of RBC, PCV and Hb in rat. *Pakistan journal of biological sciences* 2007; 10(24): 4567-4569.
 22. Çetin M, Devrim E, Serin Kilicoglu, Ergüder S, Namuslu IB, M, Çetin R, Durak I. Ionic high-osmolar contrast medium causes oxidant stress in kidney tissue: partial protective role of ascorbic acid. *Renal failure* 2008; 30(5): 567-572.
 23. <http://haberustam.com>, Erişim tarihi: 21 Ekim 2015.
 24. Poullietier GF, Haro E, Hurtier A, Taxile M, Athane A, Ait-Aissa S, Lagroye I. Effect of In Utero Wi-Fi Exposure on the Pre-and Postnatal Development of Rats. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology* 2012; 95(2): 130-136.
 25. Hook GJ, Zhang P, Lagroye I, Li L, Higashikubo R, Moros EG, Roti Roti JL. Measurement of DNA damage and apoptosis in Molt-4 cells after in vitro exposure to radiofrequency radiation. *Radiation Research* 2004; 161(2): 193-200.
 26. Lai Henry, Narendra PS. Melatonin and a spin-trap compound block radiofrequency electromagnetic radiation-induced DNA strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 1997; 18(6): 446-454.
 27. Oksay T, Naziroğlu M, Doğan S, Guzel A, Gumral N, Koşar PA. Protective effects of melatonin against oxidative injury in rat testis induced by wireless (2.45 GHz) devices. *Andrologia* 2014; 46(1): 65-72.
 28. Öztürk E. WLAN kablosuz yerel alan ağı (wireless local area networks) teknolojisinin incelenmesi, mevcut düzenlemelerin değerlendirilmesi ve ülkemize yönelik düzenleme önerisi, Telekomünikasyon Kurumu, Uzmanlık Tezi. Ankara: 2004, s.135-139.
 29. Wlana Org, Education, What is a Wireless LAN? <http://www.wlana.org/learn/educate>, Erişim tarihi: 10 Ekim 2015.

30. Intel, IEEE 802.11b High Rate Wireless Local Area Networks, Wireless Technology Today, What is Wireless Networking? Erişim tarihi: 10 Eylül 2015.
31. Holma H, Toskala A. HSDPA/HSUPA for UMTS: high speed radio access for mobile communications, USA, John Wiley & Sons, 2007, s.352-355.
32. Kainz W, Christ A, Kellom T, Seidman S, Nikoloski N, Beard B, Kuster N. Dosimetric comparison of the specific anthropomorphic mannequin (SAM) to 14 anatomical head models using a novel definition for the mobile phone positioning. *Physics in medicine and biology* 2005; 50(14): 3423.
33. Şeker S, Çerezci O. Elektromagnetik Alanların Biyolojik Etkileri Güvenlik Standartları ve Korunma Yöntemleri, İstanbul, Boğaziçi Üniversitesi, 1991. s. 6, 43-44, 104-106, 124.
34. Beard BB. Comparisons of computed mobile phone induced SAR in the SAM phantom to that in anatomically correct models of the human head. *Electromagnetic Compatibility, IEEE Transactions on* 2006; 48(2): 397-407.
35. Andreas C. The dependence of electromagnetic far-field absorption on body tissue composition in the frequency range from 300 MHz to 6 GHz. *Microwave Theory and Techniques, IEEE Transactions on* 2006; 54(5): 2188-2195.
36. Ahlbom A, Bergqvist U, Bernhard JH, Cesarini JP, Grandolfo M, Hietanen M, Matthes R. Guidelines for Limiting Exposure to Time-Varying Electric, Magnetic, and Electromagnetic Fields (up to 300 GHz). *Healthy Physics Society* 1998; 74(4): 494-522.
37. Islam MT, Faruque MRI, Misran N. Design analysis of ferrite sheet attachment for SAR reduction in human head. *Progress In Electromagnetics Research* 2009; 98: 191-205.
38. Panduro MA, Brizuela CA, Balderas LI, Acosta DA. Comparison of genetic algorithms, particle swarm optimization and the differential evolution method for the design of scannable circular antenna arrays. *Progress In Electromagnetics Research B* 2009; 13: 171-186.
39. Keshvari J, Keshvari R, Lang S. The effect of increase in dielectric values on specific absorption rate (SAR) in eye and head tissues following 900, 1800 and

- 2450 MHz radio frequency (RF) exposure. *Physics in Medicine and Biology* 2006; 51(6): 1463.
40. Chauloux A, Colombel F, Himdi M, Lasserre JL, Pouliguen P. Low-Return-Loss Printed log-Periodic Dipole Antenna. *IEEE Antennas and Wireless Propagation Letters* 2014;13: 503-506.
 41. Vaupel P, Kallinowski F, Okunieff P. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review. *Cancer research* 1989; 49(23): 6449-6465.
 42. Key NS, Slungaard A, Dandele L, Nelson SC, Moertel C, Styles LA, Bach RR. Whole blood tissue factor procoagulant activity is elevated in patients with sickle cell disease. *Blood* 1998; 91(11): 4216-4223.
 43. Dixon JS, Gosling JA. Gosling. Histology and fine structure of the muscularis mucosae of the human urinary bladder. *Journal of anatomy* 1983; 136(2): 265.
 44. Lemperle G, Morhenn V, Charrier U. Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic plastic surgery* 2003; 27(5): 354-366.
 45. Di Fiore, Mariano SH. Atlas of Human Histology. *The American Journal of the Medical Sciences* 1967; 254(6): 915.
 46. Schroeder S, Kuettner A, Leitritz M, Janzen J, Kopp AF, Herdeg C, Claussen CD. Reliability of differentiating human coronary plaque morphology using contrast-enhanced multislice spiral computed tomography: a comparison with histology. *Journal of computer assisted tomography* 2004; 28(4): 449-454.
 47. Van Krieken JHJM, Velde TJ. Normal histology of the human spleen. *The American journal of surgical pathology* 1988; 12(10): 777-785.
 48. L'heureux N, Pâquet S, Labbé R, Germain L, Auger FA. A completely biological tissue-engineered human blood vessel. *The FASEB Journal* 1998; 12(1): 47-56.

49. Shino K, Inoue M, Horibe S, Nakata K, Maeda A, Ono K. Surface blood flow and histology of human anterior cruciate ligament allografts. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery* 1991; 7(2): 171-176.
50. Monsen ER. Dietary reference intakes for the antioxidant nutrients: vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. *Journal of the American Dietetic Association* 2000; 100(6): 637-640.
51. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* 2002; 18(10): 872-879.
52. Meister A, Anderson ME. *Annual Review of Biochemistry* 1983; 52(1): 711-760.
53. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The lancet* 1994; 344(8924): 721-724.
54. Yeh CC, Hou MF, Tsai SM, Lin SK, Hsiao JK, Huang JC, Tsai LY. Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer. *Clinica Chimica Acta* 2005; 361(1): 104-111.
55. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic MM, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions* 2006; 160(1): 1-40.
56. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition reviews* 2012; 70(5): 257-265.
57. Peyman A, Rezazadeh AA, Gabriel C. Changes in the dielectric properties of rat tissue as a function of age at microwave frequencies. *Phys Med Biol.* 2001; 46(6): 1617-1629.
58. Camelia G, Gabriel S, Corthout E. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey. *Physics in medicine and biology* 1996; 41(11): 2231.
59. Wu T, Hadjem A, Wong MF, Gati A, Picon O, Wiart J. Whole-body newborn and young rats' exposure assessment in a reverberating chamber operating at 2.4 GHz. *Phys Med Biol.* 2010; 55(6): 1619-1630.

60. Hininger I, Chollat-Namy A, Sauvaigo S, Osman M, Faure H, Cadet J, Favier A, Roussel AM. Assessment of DNA damage by comet assay on frozen total blood: method and evaluation in smokers and non-smokers. *Mutat Res.* 2004; 558(1): 75-80.
61. Saygın M, Çalışkan S, Gümral N, Soydan M, Vural H. 2450 MHz elektromanyetik radyasyonun sıçanların FSH, LH ve Total Testosteron seviyelerinde meydana getirdiği değişiklikler. *SDÜ. Tıp Fak. Derg.* 2009; 16(4): 10-14.
62. Chen CY, Wang YF, Huang WR, Huang YT. Nickel induces oxidative stress and genotoxicity in human lymphocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2003; 189(3): 153-159.
63. Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-431.
64. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein dye binding. *Anal biochem.* 1976; 72: 248-254.
65. Moustafa YM. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidase activities in human erythrocytes. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 2001; 26(4): 605-608.
66. Gumral N, Naziroglu M, Koyu A, Ongel K, Celik O, Saygin M, Flores-Arce MF. Effects of selenium and L-carnitine on oxidative stress in blood of rat induced by 2.45-GHz radiation from wireless devices. *Biological trace element research* 2009; 132(1-3): 153-163.
67. Birsen A, Akar A. Effects of a 900-MHz electromagnetic field on oxidative stress parameters in rat lymphoid organs, polymorphonuclear leukocytes and plasma. *Archives of medical research* 2011; 42(4): 261-267.
68. Liu C, Duan W, Xu S, Chen C, He M, Zhang L, Zhou Z. Exposure to 1800MHz radiofrequency electromagnetic radiation induces oxidative DNA base damage in a mouse spermatocyte-derived cell line. *Toxicology letters* 2013; 218(1): 2-9.

69. Chemeris NK, Gapeyev AB, Sirota NP, Gudkova OY, Kornienko NV, Tankanag AV, Logunov VA. DNA damage in frog erythrocytes after in vitro exposure to a high peak-power pulsed electromagnetic field. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2004; 558(1): 27-34.
70. Ivancsits S, Diem E, Jahn O, Rüdiger HW. Intermittent extremely low frequency electromagnetic fields cause DNA damage in a dose-dependent way. *International archives of occupational and environmental health* 2003; 76(6): 431-436.
71. Waldmann P, Bohnenberger S, Greinert R, Hermann-Then B, Heselich A, Klug SJ, Blettner M. Influence of GSM signals on human peripheral lymphocytes: study of genotoxicity. *Radiation research* 2013; 179(2): 243-253.
72. Halazonetis TD, Gorgoulis VG, Bartek J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science* 2008; 319(5868): 1352-1355.
73. Franzellitti S, Valbonesi P, Ciancaglini N, Biondi C, Contin A, Bersani F, Fabbri E. Transient DNA damage induced by high-frequency electromagnetic fields (GSM 1.8 GHz) in the human trophoblast HTR-8/SVneo cell line evaluated with the alkaline comet assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 2010; 683(1): 35-42.
74. Cho S, Lee Y, Lee S, Choi YJ, Chung HW. Enhanced cytotoxic and genotoxic effects of gadolinium following ELF-EMF irradiation in human lymphocytes. *Drug and chemical toxicology* 2014; 37(4): 440-447.
75. Yokus B, Cakir DU, Akdag MZ, Sert C, Mete N. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electro magnetic fields. *Free Radical Research* 2005; 39(3): 317-323.
76. Xu S, Chen G, Chen C, Sun C, Zhang D, Murbach M, Xu Z. Cell type-dependent induction of DNA damage by 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields does not result in significant cellular dysfunctions. *PLoS One* 2013; 8(1): 54906.
77. Devrim E, Ergüder IB, Kılıçoğlu B, Yaykaşlı E, Çetin R, Durak I. Effects of electromagnetic radiation use on oxidant/antioxidant status and DNA turn-over

enzyme activities in erythrocytes and heart, kidney, liver, and ovary tissues from rats: possible protective role of vitamin C. *Toxicology mechanisms and methods* 2008; 18(9): 679-683.

78. Aziz IA, El-Khozondar HJ, Shabat M, Elwasife M, Mohamed-Osman A. Effect of electromagnetic field on body weight and blood indices in albino rats and the therapeutic action of vitamin C or E. *Romanian Journal of Biophysics* 2010; 20(3): 235-244.

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Çalışmamız esnasında kullanılan malzemeleri sağlayan ve/veya üreten herhangi bir firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Tezi Hazırlayan

Oğuzhan KAVRIK

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Mustafa SAYGIN

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı:	Oğuzhan	Soyadı:	KAVRIK
Doğum yeri:	Kahramanmaraş	Doğum tarihi:	01.01.1986
Uyruğu:	T.C	Cep Tel:	542 620 52 32
E-mail:	okavrik@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Old. Kurum	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	S.D.Ü Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D	2015
Lisans	Erciyes Üni. Fen Fak. Biyoloji Bölümü	2011
Lise	Pakize Narin Lisesi	2003

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl)
Araştırma Görevlisi	S.D.Ü Tıp Fak. Fizyoloji	3 Yıl

Bildiği Yabancı Diller

Yabancı Dilleri	KPDS
İngilizce	82,5