



1800 MHZ MANYETİK ALANIN SIÇANLARDA KOLON MİKROFLORASI VE
PATOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ İLE KOLONDAKİ BAZI GEN MUTASYONLARININ
BELİRLENMESİ

Ezgi ECE

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Nisan-2016

1800 MHZ MANYETİK ALANIN SIÇANLARDA KOLON MİKROFLORASI VE
PATOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ İLE KOLONDAKİ BAZI GEN MUTASYONLARININ
BELİRLENMESİ

Ezgi ECE

DUMLUPINAR ÜNİVERSİTESİ

Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca

Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU

Ortak Danışman: Yrd. Doç. Dr. Saadet ÇELİKÖZLÜ

Nisan - 2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

Ezgi ECE' nin YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı 1800 MHz Manyetik Alanın Sıçanlarda Kolon Mikroflorası ve Patolojisi Üzerine Etkileri ile Kolondaki Bazı Gen Mutasyonlarının Belirlenmesi başlıklı bu çalışma, jürimizce Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek Kabul edilmiştir.

22/04/2016

Üye : Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU

Üye : Doç. Dr. M. Kasım ÇAYCI

Üye : Doç. Dr. Cem TOKATLI

Üye : Yrd. Doç. Dr. Saadet ÇELİKÖZLÜ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Esengül KÖSE

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... gün vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan GÖÇMEZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tezin hazırlanmasında Akademik kurallara riayet ettiğimizi, özgün bir çalışma olduğunu ve yapılan tez çalışmasının bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olduğunu, çalışma kapsamında teze ait olmayan veriler için kaynak gösterildiğini ve kaynaklar dizininde belirtildiğini, Yüksek Öğretim Kurulu tarafından kullanılmak üzere önerilen ve Dumlupınar Üniversitesi tarafından kullanılan İntihal Programı ile tarandığını ve benzerlik oranının % 11 çıktığını beyan ederiz. Aykırı bir durum ortaya çıktığı takdirde tüm hukuki sonuçlara razı olduğumuzu taahhüt ederiz.

Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU
Danışman Adı Soyadı
İmzası

Ezgi ECE
Öğrenci Adı Soyadı
İmza

**1800 MHZ MANYETİK ALANIN SIÇANLARDA KOLON MİKROFLORASI VE
PATOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ İLE KOLONDAKİ BAZI GEN
MUTASYONLARININ BELİRLENMESİ**

Ezgi ECE

Biyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2016

Danışman: Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU

Ortak Danışman: Yrd. Doç. Dr. Saadet ÇELİKÖZLÜ

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, 1800 MHz manyetik alanın sıçanlarda kolonda *Bacteroides* ve *Fusobacterium* miktarları ve kolon patolojisi üzerine etkileri ile kolondaki KRAS ve p53 gen mutasyonlarının belirlenmesidir.

Çalışmada kontrol, sham, elektromanyetik alan (EMA) uygulanan grup olmak üzere üç grup hazırlandı. 1800 MHz RF (radyofrekans) radyasyonu oluşturmak için bir elektromanyetik enerji jeneratörü kullanıldı. EMA grubundaki sıçanlar 12 hafta boyunca günde 45 dk (7 gün/hafta) elektromanyetik alana maruz kaldılar.

Kontrol ve sham grupları arasında histopatolojik olarak fark gözlenmedi. EMA grubunda mukoza epitelinde aşınma ve yer yer dökülmeler gözlemlendi. Bez yapısı bozulmuştu ve mukozada ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi. EMA grubunda kollagen miktarında artış olduğu ve fibrozis olayının geliştiği ve goblet hücre sayısı istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$).

Fusobacterium miktarındaki artış, EMA grubunda kontrollere göre önemli derecede yüksek bulundu. *Bacteroides* miktarı açısından ise gruplar arasında farklılık tespit edilmedi.

Kolon dokusunda KRAS ve Tp53 mutasyon analizinde tüm örneklerin yabancıl tip olduğu bulundu. EMA uygulanan grup ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

Sonuç olarak, 1800 MHz EMA uygulaması kolonda histopatolojik olarak hasara sebep olmuştur. Ayrıca *Fusobacterium* miktarında da artış gözlenmiştir.

Bu tez Dumlupınar Üniversitesi 2014-81 numaralı Bilimsel Araştırmalar Projesi (BAP) ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: 1800 MHz, Elektromanyetik Alan, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, Kolon, KRAS, Sıçan, Tp53.

**EFFECTS OF 1800 MHZ MAGNETIC FIELD ON COLON MICROFLORA
AND PATHOLOGY IN RATS AND DETERMINATION OF CERTAIN GENE
MUTATION IN COLON**

Ezgi ECE

Department of Biology, M.S.Thesis, 2016

Thesis Supervisor: Prof. Hayri DAYIOĞLU

Thesis Co-Supervisor: Asst. Prof. Saadet ÇELİKÖZLÜ

SUMMARY

The aim of this study was to determine effects of 1800 MHz magnetic field on the amount of colonic *Bacteroides* and *Fusobacterium* and colon histopathology in rats and the determination of kirsten rat sarcoma (KRAS) and p53 gene mutations in colon.

Three groups were prepared in this study as control, sham and electromagnetic field (EMF) applied group. 1800 MHz RF (radiofrequency) radiation is produced by using an electromagnetic energy generator. The EMF group rats were exposed to electromagnetic field for 12 weeks as 45 minutes per day.

No any difference was observed histopathologically between control and sham groups. Mucus epithelial erosions and partial losses were observed in EMF group. The corrupted gland structure, the mucosal edema and the inflammatory cell infiltration were observed. The amount of collagen was increased and fibrosis detected in EMF group. Goblet cell number decreased statistically significant when compared to control and sham groups ($P<0.05$).

The amount of *Fusobacterium* increased significantly in EMF group compared to controls. The difference was not detected between groups in the amount of *Bacteroides*. All the samples analysed for KRAS and Tp53 mutations in the colon tissue were found to be wild type. No significant difference was observed between the control group and the EMF applied group.

The results indicated that, for 12 weeks 45 min/day exposure to 1800 MHz EMF caused histopatological damage in rat colon. Also, the amount of *Fusobacterium* is increased. Whereas EMF exposure did not caused to KRAS and p53 mutations in colon tissue. This thesis is supported by No.2014-81 Scientific Research Project (BAP) of Dumlupınar University.

Keywords: 1800 MHz, Electromagnetic Field, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, Colon, KRAS, Rat, Tp53.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarında bana her türlü imkanı sağlayan, çalışmalarımın yürütülmesi ve sonuçlandırılması sürecinde ilgi ve yardımını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU' na ve Ortak Danışman Hocam Yrd. Doç. Dr. Saadet ÇELİKÖZLÜ' ye minnet ve şükranlarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında benden bilgi birikimini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Cengiz ÖZZAİM, Doç. Dr. Kasım ÇAYCI, Yrd. Doç. Dr. Sibel KÖKTÜRK ve Öğr. Gör. Sinan DARCAN' a teşekkürleri borç bilirim.

Tez çalışmamda elektromanyetik alan ölçümleri sırasında yardımcı olan Doç. Dr. Abdurrahman ÜNSAL ve Arş. Gör. Ahmet KABUL' e teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olup destekleri ve dostluklarıyla kendimi iyi hissetmemi sağlayan Uzm. Biyokimyager Zeynep BAYAT' a ve Uzm. Biyolog Halit ÇELİKÖZLÜ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

DPÜ Biyoloji bölümü öğretim üyesi Arş. Gör. Dr. Ayhan YILMAZ' a ve Biyoloji bölümü yüksek lisans öğrencileri Hülya KÖKDAŞGİL, Sinem Deniz AKÇA, Emre KUNDAKÇI' ya teşekkür ederim. DEHYUAM Veteriner Sağlık Teknisyenleri Didem OCAK ve Arif SOYLU' ya manevi destekleri için teşekkür ederim.

Çalışmalarına verdikleri desteklerden dolayı Dumlupınar Üniversitesi İleri Teknolojiler Merkezi (DPÜ-İLTEM) müdürlüğüne ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

Dumlupınar Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi (BAP) birimine maddi desteğinden dolayı teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, hiçbir fedakârlıktan kaçınmayarak benim günlere gelmemi sağlayan, her zaman yanımda olan annem, babam ve ablam Özge ECE' ye sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
SUMMARY	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Önceki Çalışmalar.....	2
1.1.1. Elektromanyetik alan ile ilgili önceki çalışmalar	2
1.1.2. <i>Fusobacterium</i> ile ilgili önceki çalışmalar	7
1.1.3. <i>Bacteroides</i> ile ilgili önceki çalışmalar	7
1.1.4. KRAS ile ilgili önceki çalışmalar.....	8
1.1.5. Tp53 ile ilgili önceki çalışmalar.....	8
2. GENEL BİLGİLER	10
2.1. Radyasyon.....	10
2.1.1. İyonlaştırmayan radyasyon.....	10
2.1.2. İyonlaştırıcı radyasyon (300 GHz üstü nükleer radyasyon)	12
2.1.3. Manyetik alan	13
2.1.4. Manyetik alan kaynakları	13
2.1.5. Elektromanyetik alan limitleri.....	14
2.1.6. Elektromanyetik alanın insan sağlığına etkisi	14
2.1.6.1. Manyetik alanın akut etkileri.....	14
2.1.6.2. Manyetik alanın kronik etkileri	15
2.1.6.3. Kanser oluşumuna etkisi.....	16
2.1.7. Cep telefonları ve sağlık üzerine etkileri.....	17
2.1.7.1. RF'ın doğrudan etkileri	18
2.1.7.2. Dolaylı sağlık etkileri	18
2.1.8. Kablosuz internet.....	18
2.2. Kanser	19
2.2.1. Kansere sebep olan etmenler (karsinojenler)	20
2.2.2. Kolon kanseri	21

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
2.2.2.1. Kanser epidemiyolojisi.....	21
2.2.2.2. Kanser etiyojisi.....	22
2.2.2.3. Kolon kanseri gelişimine sebep olan genetik değişiklikler	22
2.3. Deneilerde Kullanılan Yöntemin Temeli Nedir?	25
2.3.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	25
2.3.2. PCR'ın uygulama alanları	26
2.4. Kolon Mikroflorası	27
2.4.1. Dışkı florası	28
2.4.2. Kolon kanseri ve barsak florası.....	28
2.4.2.1. <i>Fusobacterium</i>	29
2.4.2.2. <i>Bacteroides</i>	30
3. MATERYAL VE METOT	32
3.1. Materyal	32
3.1.1. Hayvan materyali	32
3.1.2. Denemede kullanılan araç ve gereçler.....	32
3.1.2.1. Kafesler.....	32
3.1.2.2. Kullanılan sarf ve kimyasal malzemeler.....	32
3.1.2.3. Kullanılan cihaz ve aletler	33
3.1.2.4. Real time PCR analizinde kullanılan kimyasal maddeler.....	33
3.2. Metot	34
3.2.1. Deney grupları.....	34
3.2.2. Manyetik alan uygulama metodu	34
3.2.3. Organların çıkarılması ve laboratuvar çalışmaları	37
3.2.4. Dışkıdan DNA izolasyonu.....	37
3.2.5. Kolon mikroflorasında Real-Time PCR analizi ile <i>Fusobacterium</i> tespiti	37
3.2.6. Kolon mikroflorasında <i>Bacteroides</i> tespiti.....	38
3.2.7. Kolon dokusundan DNA izolasyonu.....	39
3.2.8. Kolon dokusunda KRAS mutasyon analizi.....	39
3.2.9. Kolon dokusunda Tp53 mutasyon analizi	40
3.2.10. Kolon dokusundan histolojik preparat hazırlanması	41
3.2.10.1. Masson trikrom boyaması	42
3.2.11. Işık mikroskobu ile kolon dokusu analizleri	42
3.2.12. Goblet hücre sayımı.....	43

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2.13. İstatistiksel analiz	43
4. SONUÇLAR	44
4.1. SNP Analizi Sonuçları	44
4.1.1. KRAS sonuçları.....	44
4.1.2. Tp53 sonuçları.....	45
4.2. Bakteri Tespit Sonuçları.....	49
4.2.1. <i>Fusobacterium</i> sonuçları	49
4.2.2. <i>Bacteroides</i> sonuçları	53
4.3. Işık Mikroskobu ile Kolon Dokusu Analizleri.....	56
4.4. Histopatolojik Sonuçlar.....	56
5. TARTIŞMA	61
5.1. Moleküler Sonuçların İncelenmesi	61
5.1.1. KRAS SNP analizi sonuçları tartışması	61
5.1.2. Tp53 SNP analizi sonuçları tartışması	62
5.2. Mikrobiyolojik Sonuçların İncelenmesi.....	62
5.2.1. <i>Bacteroides</i> sonuçları tartışması.....	63
5.2.2. <i>Fusobacterium</i> sonuçları tartışması.....	64
5.3. Histopatolojik Sonuçların Tartışması.....	64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR DİZİNİ	67

EKLER

Ek 1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Başvurusu Onayı

ÖZGEÇMİŞ

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Elektromanyetik spektrumun bileşenleri ve onlarla ilişkilendirilen dalga boyları.....	11
2.2. PCR’da denatürasyon, hibridizasyon ve uzama aşamaları.....	27
3.1. RF jeneratörünün fotoğrafı.....	35
3.2. RF jeneratörüne bağlı bir dipol anten.....	36
3.3. 1800 MHz elektromanyetik alan uygulanırken düzeneğin içine yerleştirilmiş sıçanlar.	36
3.4. Manyetik alan uygulama düzeneği.....	36
3.5. Görüntü J analiz programında renk dekonvolüsyonu ile Masson boyaması 2 renge bölündü. (a) Orjinal masson trikrom boyama. (b) Anilin mavisi ile kollajen boyanması, (c) Biebrich scarlet ile kırmızı sitoplazma boyanması.	43
4.1. KRAS mutasyonu erime eğrisi (Tm) analiz sonuçları.	44
4.2. KRAS mutasyonu erime eğrisi (Tm) sonuçları.....	45
4.3. Tp53 mutasyonu erime eğrisi (Tm) sonuçları.	46
4.4. Tp53 mutasyonu erime eğrisi (Tm) analiz sonuçları.	47
4.5. Tp53 mutasyonu Abs Quant/2nd Derivative Max cp değerleri.	48
4.6. Tp53 mutasyonu Abs Quant/2nd Derivative Max amplifikasyon eğrisi.....	49
4.7. <i>Fusobacterium</i> Abs Quant/2nd Derivative Max cp değerleri.	50
4.8. <i>Fusobacterium</i> cp değerleri ortalaması grafiği.	51
4.9. <i>Fusobacterium</i> konsantrasyon değerleri ortalaması grafiği.	51
4.10. <i>Fusobacterium</i> Abs Quant/2nd Derivative Max amplifikasyon eğrisi.	52
4.11. <i>Fusobacterium</i> Abs Quant/2nd Derivative Max amplifikasyon eğrisi.	52
4.12. <i>Fusobacterium</i> standartları Abs Quant/2nd Derivative Max cp değerleri.	53
4.13. <i>Fusobacterium</i> için standart grafiği.	53
4.14. <i>Bacteroides</i> Abs Quant/2nd Derivative Max cp değerleri.	54
4.15. <i>Bacteroides</i> erime eğrisi analizi.	56
4.16. Sırasıyla düşük büyütmede kontrol (a), sham (b) ve manyetik alan (c) gruplarına ait barsak kesitleri görülmektedir. Epitel ve lamina propriayı içeren mukoza tabakası (M), submukoza tabakası (SM) ve muskularis mukoza tabakasına (K) ait kas kesitleri görülmektedir. Lümen (L), masson trikrom boyaması, bar 50 µm.	57
4.17. Sırasıyla yüksek büyütmede kontrol (a), sham (b) ve manyetik alan (c) gruplarına ait barsak kesitleri görülmektedir. Asteriksler, goblet hücrelerini; ok başları barsak yüzey epitelini ve oklar bezler arasında yer alan lamina propriaya ait bağ dokusunu göstermektedir. Masson trikrom boyaması, bar 20 µm.	58

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.18. Görüntü J analiz programında masson trikrom boyanmış kolon kesitlerine renk dekonvolüsyon işlemi uygulandı. Gruplar arasındaki kollajen boyanması şiddeti, anilin mavisi görüntülerde istatistiksel olarak değerlendirildi.	59
4.19. Kontrol, sham ve manyetik alan gruplarında goblet hücre sayısını gösteren tablo.....	60



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. İyonlaştırıcı radyasyon ve etkileri.....	12
2.2. Kalın barsak mikroflorasında bulunan başlıca organizma cins veya türleri.	28
3.1. Kullanılan sarf ve kimyasal malzemeler.	32
3.2. Kullanılan cihaz ve aletler.....	33
3.3. <i>Fusobacterium</i> tespiti için RT-qPCR çalışma protokolü.	38
3.4. <i>Bacteroides</i> tespiti için RT-qPCR çalışma protokolü.	39
3.5. KRAS mutasyonunun tespiti için RT-qPCR çalışma protokolü.	40
3.6. Tp53 mutasyonunun tespiti için RT-qPCR protokolü.....	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
µL	Mikrolitre
A	Adenin
C	Sitozin
CFU/g	Gram başına koloni oluşturma birimi
cm	Santimetre
dk	Dakika
ds	Çift sarmal
erg/g	erg/gram
F	İleri DNA (5'→3')
g	Gram
G	Guanin
GHz	Gigahertz
Hz	Hertz
kDa	Kilodalton
km	Kilometre
MHz	Megahertz
ml	Mililitre
mT	Militesla
°C	Santigrat derece
R	Geri DNA (3'→5')
rad	Emilen radyasyon doz birimi
Sv	Sievert
T	Timin
W/kg	Vatt/kilogram
α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
λ	Lamda

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ACS	Amerikan Kanser Derneği
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
Bax	Bcl-2 ile ilişkili X protein
Bcl-2	B-hücre lenfoması 2
BRAF	B-Raf Proto-onkojeni, Serin/treonin Kinaz
CGS	Santimetre, Gram, Saniye
DLS	Dinamik Işık Yansıtma
DNA	Deoksiribonükleik Asit
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EKG	Elektrokardiyografi
ELF	Oldukça Düşük Frekans
EMA	Elektromanyetik Alan
FAP	Aileden Gelen Adenomatöz Polipozis
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GDP	Guanozindifosfat
GSM	Cepten İletişim İçin Geliştirilmiş Küresel Sistem
GTP	Guanozintrifosfat
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları
ICNIRP	Uluslararası İyonize Edici Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu
KRAS	Kirsten Sıçan Sarkoma Viral Onkojen Protein Homologu
LH	Luteinizan Hormon
MSI	Mikrosatellit Kararsızlığı
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RF	Radyofrekans, Haberleşme Frekansı
RNA	Ribonükleik Asit
SAR	Özgül Emilim Oranı
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi
T3	Triiodotironin
T4	Tiroksin
TSH	Tiroid Uyarıcı Hormon
UV	Morötesi

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**Kısaltmalar****Açıklama**

UV-Vis

Morötesi ve Görünür Işık Emilim Spektroskopisi

WHO

Dünya Sağlık Örgütü



1. GİRİŞ

Günümüzde kullanılan akıllı cep telefonları 1800 MHz RF (radyofrekans) dalgaları yayarlar. RF dalgalarının, insan vücudunda oluşturduğu zararlı etkiler birçok yayında ve çalışmada ortaya konmuştur. Cep telefonlarının etkilerinin bilimsel çalışmaların gündemi olması ve kamuoyunun konuya ilişkin ilgisinin artarak devam etmesi dikkat çekicidir (Ermol C., 2008).

Mobil iletişim cihazlarının toplumda bu kadar yaygınlaşması aynı zamanda yeni teknolojik gelişmelerin de bu sektör tarafından sonuna kadar kullanılmasını beraberinde getirmiştir. 1990'lı yıllarda GSM operatörleri sadece 900 megahertz (MHz) RF dalgaları ile yayın yapmakta iken yıllar içinde bu sektörden beklentilerin artması ile 1800 MHz RF dalgaları ön planda kullanılmaya başlanmıştır (Taşpınar, 2008).

Endüstrileşme ve teknolojinin gelişimine bağlı olarak elektromanyetik alanların etkisi altında kalınmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar elektromanyetik alanlara maruz kalma süresinin artması ile kanser riskinin yükselmesi arasında ilişki görülmüştür (Repacholi, 2012).

Kolorektal kanserler ile ilgili yapılan çalışmalarda, kolonda özellikle *Bacteroides* ve *Fusobacterium* cinsi bakterilerin artışı kolorektal kanserlerin belirteci olarak kullanılmıştır (Wang, vd., 2012; McCoy, vd., 2013). Ayrıca kanser vakalarının büyük kısmında bir proto-onkogen olan K-RAS geninin (Benedix, vd., 2012), ve bir tümör supresor olan p-53 geninin (Lopez, vd., 2012) mutasyona uğradığı görülmektedir.

Çalışmamızda, 90 gün (45 dk/gün) uygulanan 1800 MHz RF dalgasının sıçanlarda "kolon mikroflorasındaki bakterileri araştırmayı telefonlarından yayılan 1800 MHz frekansındaki elektromanyetik alanının sıçan kolon mikroflorasındaki *Bacteroides* ve *Fusobacterium* cinslerinin bakteri düzeylerinin değişim oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Kolon dokusunda K-RAS, Tp53 mutasyonlarının olup olmadığı da tespit edilmiştir.

1800 MHz frekanslı elektromanyetik alana maruz bırakılan sıçanlarda kolon mikroflorası, gen mutasyonları ve kolon histopatolojisi, kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Gen mutasyonu analizi Real Time PCR yöntemi ile yapılmıştır.

Literatüre bakıldığında, elektromanyetik alanların sıçanlarda kolon dokularına ve kolon mikroflorası, histopatolojisi üzerine ne gibi bir etki yaptığına dair bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma bulgularının elektromanyetik alan ile kolon doku hasarı ilişkisine ışık tutacağı düşünülmektedir.

1.1. Önceki Çalışmalar

1.1.1. Elektromanyetik alan ile ilgili önceki çalışmalar

Aydoğan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 2100 MHz radyofrekans radyasyonunun parotis bezi üzerine etkileri araştırılmıştır. Sıçanlara haftanın 5 günü, günlük 6 saat elektromanyetik alan uygulaması yapılmıştır. İki grup 10 gün (kontrol ve deney), iki grup da 40 gün (kontrol ve deney) RF radyasyonuna maruz bırakılmış ve ardından parotis bezi çıkarılmıştır. Parotis bezlerinin histopatolojik incelemesi sonucunda manyetik alan uygulanan gruplarda kontrole göre asinar epitel hücrelerinde hücrelerarası boşlukta, duktal sistemde, vasküler sistemde, nükleusta, sitoplazma miktarında ve hücre büyüklüklerinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p=0.036$). Bu histopatolojik değişimlerin 40 saat manyetik alan uygulanan grupta daha belirgin olduğu tespit edilmiştir (Aydoğan vd., 2015).

Hardell ve Carlberg'in 18-80 yaşları arasında yaklaşık 5000 birey üzerinde yaptığı çalışmada, cep telefonu kullanımının beyinde glioma gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Cep telefonu kullananlarda beyinde glioma riskinin atmış olduğu görülmüştür. Ayrıca her 100 saatlik kullanım artışına bağlı olarak glioma görülme oranı da istatistiksel olarak artmıştır. Gliomanın en fazla görüldüğü bölge temporal lob olmuştur. Diğer bir bulgu ise, ilk telefon kullanma yaşı 20'nin altında olanlarda diğerlerine göre glioma görülme oranının daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Hardell ve Carlsberg, 2015).

Koca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, cep telefonundan kaynaklanan elektromanyetik dalgaların mesane dokusu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Deney prosedürü şu şekilde düzenlenmiştir: 1. Grup (n:7): 20 gün, günde 8 saat manyetik alan uygulaması yapılmış ve hemen mesaneleri çıkarılmıştır. 2. Grup (n:7): 20 gün, günde 8 saat manyetik alan uygulaması yapılmış ve 20 gün bekletildikten sonra mesaneleri çıkarılmıştır. 3. grup (n:7): Kontrol grubu. Deney sonunda sıçanların mesaneleri çıkarılmış ve histolojik inceleme yapılmıştır. İnceleme sonunda ürotelyumlar düzgün morfoloji gösterirken 1. ve 2. grupların mesanelerinde, lamina propriya ve kas tabakasında inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmüştür. 2. gruptaki infiltrasyonun 1. gruba göre daha az olduğu gözlenmiştir (Koca vd., 2014).

Hekmat ve arkadaşlarının çalışmasında 940 MHz radyofrekans radyasyonunun dana timüs DNA'sı üzerine etkileri incelenmiştir. 45 dk elektromanyetik alan uygulamasından 2 saat sonra dana timüs DNA'sı alınmış ve spektroskopik incelemeler yapılmıştır. UV-Vis (ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi) ve sirkular dikroizm spektroskopisi deneylerine göre manyetik alan uygulanmış DNA'nın diğerlerine göre daha fazla floresan emilimi yaptığı

görülmüştür. Bu da DNA yapısında uzama olduğunun bir işareti olarak kabul edilmiştir. Ayrıca DLS (dynamic light scattering) ve zeta potential deneyleri de DNA boyutunda artış olduğunu göstermiştir. DNA'da geri dönüşümsüz yapısal değişimler tespit edilmiştir (Hekmat vd., 2013).

Şekeroğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yüksek frekanstaki 1800 MHz elektromanyetik alanın, olgunlaşmamış (immature) ve ergin (mature) sıçanlarda, kemik iliği hücrelerine, 45 gün ve sonraki 15 gün iyileşme periyodunda, sitogenotoksik ve genotoksik etkisi incelenmiştir. Günde 2 saat 45 gün süre boyunca 1800 MHz elektromanyetik alan uygulanmıştır. Olgunlaşmamış sıçanlarda sitogenotoksik hasar olmuştur ve iyileşme (recovery) periyodunda bu hasar düzelmemiştir. Sitogenotoksik hasar olgunlaşmamış sıçanlarda ergin sıçanlara göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekeroğlu vd., 2012).

Yapılan bir çalışmada cep telefonları tarafından iletilen düşük yoğunluklu elektromanyetik dalgaların sıçanların testislerinde histopatolojik veya yapısal değişikliklere neden olup olmadığı araştırılmıştır. 3 ay sonra, testis ağırlıkları, seminifer tübül çapları ve sıçanların tüm testislerindeki spermatogenik hücre koşulları değerlendirilmiştir. Her testisin yarısı elektron mikroskobu altında incelenmiştir. Testis ağırlıkları, seminifer tübül çapları, histopatolojik değerlendirmeler, elektromanyetik alana maruz kalan grup ve deney grubu arasında istatistiksel fark gözlenmemiştir ($p<0,05$). Elektron mikroskobu analizi sonucunda, membrana propria kalınlığı ve kolajen lif içeriği artırılmış, kılcal damarların deney grubunda yayıldığı anlaşılmıştır. Sertoli hücreleri sitoplazmasında vakuolizasyon, büyük lipid damlaları varlığı tespit edilmiştir (Çelik vd., 2012).

Nisbet ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada erkek sıçanların tüm vücuduna uygulanan elektromanyetik alanın olası yan etkileri araştırılmıştır. Wistar albino cinsi erkek sıçanlar 900 MHz ve 1800 MHz manyetik alana günde iki saat süresince 90 gün maruz bırakılmıştır. Ortalama plazma total testesteron seviyesi iki çalışma grubu arasında benzerlik göstermiştir. 1800 MHz grubunda epididimal sperm molilite yüzdesi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Morfolojik olarak normal sperm oranları daha yüksek, sperm kuyruk anormalliği ve yüzde anormalliği 900 MHz elektromanyetik alan uygulanan grupta daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). 1800 MHz elektromanyetik alan uygulanan grupta histopatolojik parametreler anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Elektromanyetik alan testesteron seviyesinde artışa neden olmuştur. 900 ve 1800 MHz elektromanyetik alanın büyüyen erkek sıçanlarda, erken ergenlik sebebi olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir (Nisbet vd., 2012).

Yapılan çalışmada deneysel olarak beyin hücre kültürü modelinde RF radyasyonun genotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Farelerin beyin hücre kültürleri 10,715 GHz ve özgül

soğrulma oranı (SAR) 0,725W/kg sinyale 3 gün boyunca 6 saat maruz bırakılmışlardır. Mikronukleus oranı 11 kat artmıştır. STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3) ekspresyonu 7 kat azaldığı bulunmuştur ($P<0.05$). Cep telefonundan yayılan RF radyasyonu ile DNA hasarları olduğu ve beyin hücrelerinde gen ekspresyonunun değişebildiği sonucuna varılmıştır (Karaca vd., 2012).

Yapılan başka bir çalışmada, cep telefonu kullanımının parotis bezi üzerindeki fonksiyonel ve volumetrik etkileri incelenmiştir. 142 birey üzerinde yapılan araştırmada, yoğun olarak cep telefonu kullananlarda, tükürük salgı oranının kan akış hızının ve parotis bezi hacminin arttığı tespit edilmiştir (Bhargava vd., 2012).

Yapılan bir çalışmada, 2,45 GHz (gigahertz) elektromanyetik alanın insan glia hücrelerindeki gen ekspresyonunu etkileyip etkilemediği araştırılmıştır. Hücreler üzerine 1W/kg, 5W/kg ve 10 W/kg SAR değerinde 2,45 GHz RF dalgaları uygulanmış ve gen ekspresyonun 1, 4 ve 24. saatlerinde DNA mikroarray deneyi ile inceleme yapılmıştır. Mikrodizi analizinde 23 gen noktası belirlenmiştir. Bunlardan 22 tanesi reverse transcription PCR ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak, bu deney koşulları altında RF dalgalarının glia hücrelerindeki gen ekspresyonunu etkilediğine dair bir bulguya rastlanmamıştır (Sakurai vd., 2011).

Yapılan bir çalışmada 30 erkek albino sıçan kullanılmıştır. Wireless cihazından yayılan 2.45-GHz RF radyasyonun uygulandığı deney grubunda, manyetik alan uygulama süresi 60dk/gün olarak 28 gün belirlenmiştir. Sonuçta 2.45 GHz elektro manyetik radyasyonun sıçanların kalbinde oksidatif strese neden olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Türker vd., 2011).

Yapılan bir çalışmada ise son derece düşük frekanslı manyetik alana mesleki olarak maruz kalan kaynakçılarının genotoksik tehlikesi değerlendirilmiştir. Elektrik ark kaynağı aşırı düşük frekanslı manyetik alana maruz kalmada önemlidir. Bir grup kaynakçı ile yapılan çalışmada sitogenetik belirteç olan mikronukleus ve kardeş kromatid değişimi frekansları karşılaştırılarak incelenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında mikronukleus frekansı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda genotoksik deneyler ve düşük frekanslı manyetik alan maruziyeti arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Dominici vd., 2011).

Yapılan bir çalışmada cep telefonunun yaydığı elektromanyetik dalgaların bakteri gelişimine etkisi incelenmiştir. Deney kapsamında *E. coli* bakteri hücreleri kullanılmıştır. *E. coli* hücre örneklerinin optik yoğunluğu ölçülmüştür. Sonuç olarak elektromanyetik dalgalar *E. coli*

gelişimini etkilemiştir. Kontrol grubunda çoğalma fazla iken, deney grubu *E. coli* hücrelerinde çoğalma az bulunmuştur. Deney grubu bakterilerinin erken ölme dönemine ulaştığı tespit edilmiştir (Akbal ve Balık, 2011).

Güler ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tavşanlara 7 gün boyunca 15 dk/gün GSM benzeri 1800 MHz RF radyasyonu uygulanmıştır. Gebe ve gebe olmayan tavşanların ve yenidoğanların beyin dokusunda oksidatif DNA hasarı ve lipid peroksidasyon düzeyleri araştırılmıştır. Malondialdehit ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, seviyeleri analiz edilmiştir. Gebe olmayan ve gebe olan elektromanyetik alana maruz kalan hayvanların malondialdehit ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin düzeyleri kontrol grubundakilere göre artmıştır (p <0.001). Yenidoğanların değerlerinde fark gözlenmemiştir (p > 0.05) (Güler vd., 2010).

Karadede ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, tavşanlarda bazı hormonal ve biyokimyasal parametreler üzerine cep telefonu frekansı 900 MHz RF radyasyon etkisi araştırılmıştır. 14 erkek, yetişkin, Yeni Zelanda albino tavşanlar, deney ve kontrol olmak üzere iki gruba ayrılmıştır (n = 7). Deney grubu için, tavşan 90 gün boyunca 900 MHz frekanslı RF radyasyona (haftada 7 gün) günde 2 saat maruz bırakılmıştır. Elektromanyetik alan uygulamasından önce, elektromanyetik alan uygulamasının birinci ve üçüncü ayında önce; glikoz, kreatinin, sodyum, klor, potasyum, kalsiyum, fosfor, total protein, albümin, globülin ve magnezyum düzeyleri ve T3, T4, TSH, LH, FSH, testesteron, östrojen, prolaktin, kortizol, ACTH ve büyüme hormonu düzeyleri belirlenmiştir. Elektromanyetik alan uygulamasından önce deney ve kontrol grupları arasında ne hormonal ne de biyokimyasal parametrelerde anlamlı fark bulunmamıştır (p > 0.05). Elektromanyetik alan uygulamasının ilk ayında; T4, testesteron, estradiol, kortizol ve ACTH düzeyleri artmış ama bu parametrelerin artışı anlamlı bulunmamıştır (p > 0.05). Elektromanyetik alan uygulamasının üçüncü ayından sonra, T4, kortizol ve ACTH düzeylerinde artış gözlenmiş olup sadece ACTH düzeylerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Karadede vd., 2009).

Khurana ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, cep telefonunu 10 yıl ve daha fazla süre kullanma ile beyinde tümör gelişimi arasında bir bağlantı olabileceği düşünülmüştür ve yeterli epidemiyolojik kanıt olduğu sonucuna varılmıştır (Khurana vd., 2009).

Daşdağ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 31 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar 10 ay boyunca günde 2 saat 900 MHz radyofrekans radyasyona tabi tutulmuşlardır. Kontrol grubuna elektromanyetik alan uygulaması yapılmamıştır. 10 ay sonunda sıçanlar sakrifiye edilip testisleri alınmıştır. Deney sonucunda kontrol grubuna göre elektromanyetik alan uygulaması yapılan grupta testislerdeki apoptozis istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p > 0.05). Bu

çalışmanın sonuçları 10 aylık bir süre içinde 900 MHz RF radyasyondan 2 saat / gün (7 gün / hafta) etkisinde kalma sonucu, testislerdeki aktif (bölünmüş) kaspaz-3 düzeyleri tipik bir apoptoza sebep olmadığını göstermiştir (Daşdağ vd., 2008).

Uluslararası işbirliği ile vaka kontrol çalışması, Lahkola ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Çalışma sonuçlarında, mobil telefon kullanımı ve menenjiom riski arasında bir ilişki tespit edilmemiştir (Lahkola vd., 2008).

Odacı ve arkadaşlarının embriyonik gelişim sırasında nöral kök hücrelerin oluşumu ve farklılaşmasının üzerine elektromanyetik alanların etkilerini araştırmak için yaptıkları çalışmada, 4 haftalık sıçanlar günde 60 dakika 900 MHz elektromanyetik alan altında bırakılmışlardır. Sonuçlar, doğum öncesi elektromanyetik alana maruz kalan sıçanların hipokampus dentate gyrus granül hücrelerin sayısında bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir ($P<0.01$) (Odacı vd., 2008).

Yapılan bir çalışmada, 1439 MHz elektromanyetik alanın sıçan beyinde kan-beyin bariyeri fonksiyonuna ve serebral mikro dolaşımına etkisi incelenmiştir. Sıçanların kafatasına kraniyal pencere açılmıştır. Dört hafta boyunca 2.4 W/kg (60 dk/ gün, 5 gün/ hafta) ortalama SAR uygulanmıştır. Çalışma sonucunda ise elektromanyetik alan maruziyetinin serebral mikro sikülasyon üzerinde etkisi olmadığı gösterilmiştir ($p<0.05$) (Masuda vd., 2007).

Oral ve arkadaşları yaptığı çalışmada, 900 MHz elektromanyetik alan uygulaması yapılan sıçanlarda çalışmışlardır. E ve C vitaminlerinin, endometrial bozukluğa ve apoptoz oluşumuna karşı endometrial doku üzerindeki etkisi incelenmiştir. Reaktif oksijen türlerinin üretimini destekleyen oksidatif stresi incelenmişlerdir. Sıçanlarda E ve C vitaminlerinin iyileştirme etkisinin mümkün olduğunu tespit etmişlerdir. Malondialdehit (lipid peroksidasyonunu) oksidatif stres kaynaklı endometriyal bozulmada bir belirteç olarak kullanılmıştır; Bcl-2, Bax, kaspaz-3 ve kaspaz-8 immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Endometriyum dokusunda malondialdehit düzeylerinde artış gözlenmiştir. Sonuç olarak, cep telefonundan yayılan 900 MHz elektromanyetik alana maruz kalındığında E vitamini endometrial apoptoz ve oksidatif stres durumunda tedavi edici olduğu bulunmuştur. C vitamini ise endometrial apoptoz ve oksidatif stresi azalttığı bulunmuştur (Oral vd., 2006).

Salford ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, GSM uygulaması ile korteks, hipokampus ve basal gangliada önemli nöronal hasarlar tespit edilmiştir. Çalışmada SAR ile anormal nöron miktarı arasında da önemli bir ilişkinin olduğu saptanmıştır (Salford vd., 2003).

1.1.2. *Fusobacterium* ile ilgili önceki çalışmalar

Tahara ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kolon kanserli dokularda *Fusobacterium* miktarı ile kolon kanserinde görülen diğer bazı moleküler özellikler (BRAF, KRAS, p53, CHD7, CHD8 mutasyonları) arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışma sonucuna göre, kanserli dokularda *Fusobacterium* miktarında anlamlı derecede artış ve p53 dışındaki gen mutasyonları görülmüştür. Buna bağlı olarak kanserli dokularda *Fusobacterium* miktarındaki artışın patojenik bir rolünün olduğu belirtilmiştir (Tahara vd., 2014).

Kostic ve arkadaşları, kolorektal kanser ile kolonik mukozada bulunan *Fusobacterium*'un ilişkili olduğu rapor etmişlerdir (Kostic vd., 2012). Yine diğer bir çalışmada da, *Fusobacterium nucleatum* enfeksiyonunun, insan kolorektal karsinomunda yaygın olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın q-PCR sonuçlarına göre tümörlü dokularda kontrole göre *Fusobacterium* miktarında anlamlı derecede artış olduğu gözlenmiştir. Buna görelenf nodu metastazı ile *Fusobacterium* miktarındaki artış arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (Castellarin vd., 2012). Yapılan başka bir çalışmada *Fusobacterium*'un kolorektal adenomas ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (McCoy vd., 2013).

Başka bir çalışmada, *Fusobacterium*'un dışkı mikrobiyotasındaki artışının kolorektal kanserli hastalarda, kolorektal kanserin ön tanısında belirteç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. *Fusobacterium* cinsi bakteriler kolorektal kanserli hastalarda önemli derecede zengin bulunmuştur (p=0.001) (Wu vd., 2013).

1.1.3. *Bacteroides* ile ilgili önceki çalışmalar

Gastrointestinal hastalıklardan kronik inflamasyonda, *Bacteroides fragilis*'in önemli artışı ve kolorektal kanser için risk faktörü içermektedir. Goodwin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *Bacteroides fragilis*'in kolon tümorigenezisini indüklediğini göstermişlerdir (Goodwin vd., 2011).

Yapılan bir çalışmada otistik çocukların dışkı örnekleri ile kontrol grubu karşılaştırılmış olup otistik çocuklarda *Bacteroides vulgatus* ve *Desulfovibrio* türleri daha yaygın görülmüştür (Finegold vd., 2010).

Kolon kanserli hastalarda dışkı florasında *Bacteroides* artışının, kolon kanserinde artan riski temsil ettiği bulunmuştur. Kolon florasındaki bakterilerden *Bacteroides*, *Bifidobacterium* ve *Fusobacterium* daha baskın *Lactobacillus*, *Enterococci* ve *Enterobacteria* daha az baskın gözlenmiştir (Vargo vd., 1980). *Bacteroides* ve *Clostridium* cinslerinin, hayvanlarda kolonik tümörlerin büyüme insidansını arttırdığı bulunmuştur, diğer yandan *Lactobacillus* ve

Bifidobacteria cinslerinin tümörigeneziste koruyucu etkisi olduğu gözlenmiştir (Ojetti vd., 2009).

1.1.4. KRAS ile ilgili önceki çalışmalar

Macedo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kolorektal karsinoma hastalarında KRAS insersiyon verileri sunulmuş olup olgu tartışılmıştır. Pyrosekanslama ve Sanger sekanslama yöntemi parafinli dokularda, KRAS ve BRAF mutasyonlarını tespit etmek için kullanılmıştır. Çalışma sonucunda kolorektal karsinoma hastalarında kodon 12 ve 13'te GGT insersiyonu tespit edilmiştir (Macedo vd., 2014).

Neoplastik intestinal polipleri olan hastalarda ve sağlıklı kişilerde single nucleotide polymorphisms (SNPs) mutasyonu görülme oranı incelenmiştir. K-RAS, hMLH1 ve hMSH2 SNP analizi yapmışlardır. Sonuçta neoplastik intestinal polipler ile kolorektal kanser arasında, patogenezinde rol oynayan mekanizmalar açısından ilişki olabileceği söylenmiştir (Yan vd., 2014).

Kolorektal adenokarsinomlarda KRAS onkogeninde kodon 12 ve 13 mutasyonları yaygındır. Tsiatis ve arkadaşları, KRAS kodon 12/13 mutasyonlarında erime eğrisi analizi yapmışlardır. 180 tümör örneğinden %62.2 oranında KRAS mutant pozitif, %37.8 oranında negatiftir. Melting curve analizinde %10 şüpheli sonuç çıkması normaldir. 4 kişide yabancı tip kodon 12/13 mutasyonu şüpheli olarak gözlenmiştir (Tsiatis vd., 2010).

1.1.5. Tp53 ile ilgili önceki çalışmalar

Azoksimetan ile oluşturulan kolorektal kanserde domates tozunun etkileri araştırılmıştır. Kolorektal dokularda siklooksijenaz-2 (cox-2), bax, bcl-2, kaspaz-3, kaspaz-9, p53 protein ekspresyon düzeyleri Western blotlama tekniği ile belirlenmiştir. Kolorektal dokulardaki DNA hasarı agaroz DNA jel elektroforezi ile tespit edilmiştir. Domates tozu uygulaması ile kaspaz-3 ve bcl-2 ekspresyon düzeyleri artış göstermiştir, kaspaz-9 ve p53 ekspresyon düzeyleri ise azalış göstermiştir (p<0.05). Sonuçlar, diyetle alınan domates tozunun Wistar ratlarda kolorektal kanser oluşum oranını azalttığını göstermiştir (Aslan, 2011).

Bazı Tp53 polimorfizmleri artmış kanser riskiyle ilişkilidir. Tp53'ün yaygın bir polimorfizmi, kodon 72'de gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmada gastrointestinal sistem kanserlerinde insan papilloma virüsünün farklı tipleri ile Tp53 kodon 72 polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında kodon 72 genotipi açısından istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir (p<0.01). Çalışmanın sonuçlarına göre Tp53 kodon 72 polimorfizminin gastrointestinal sistem kanserlerine yatkınlık oluşturabileceğini, ayrıca insan

papilloma virüsünün gastrointestinal sistem kanser patogenezinde bir rol oynayabileceğini fakat Tp53polimorfizminin herhangi bir insan papilloma virüs tipi ile ilişkisi olmadığını tespit etmişlerdir (Erol, 2007).



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Radyasyon

Radyasyon, cinsleri ve kaynakları farklı olan ve madde içine nüfuz edebilen ışınlardır. Çeşitli radyasyon türlerinin madde içine nüfuz edebilme özellikleri farklıdır. Radyasyonlar madde içine nüfuz edip atomları iyonlaştırabilmesi veya iyonlaştıramaması özelliklerine göre iki sınıfta incelenirler:

- İyonlaştırmayan Radyasyon
- İyonlaştırıcı Radyasyon [nötron, proton, α , β tanecikleri, x ve γ ışınları] (Taşpınar, 2008).

2.1.1. İyonlaştırmayan radyasyon

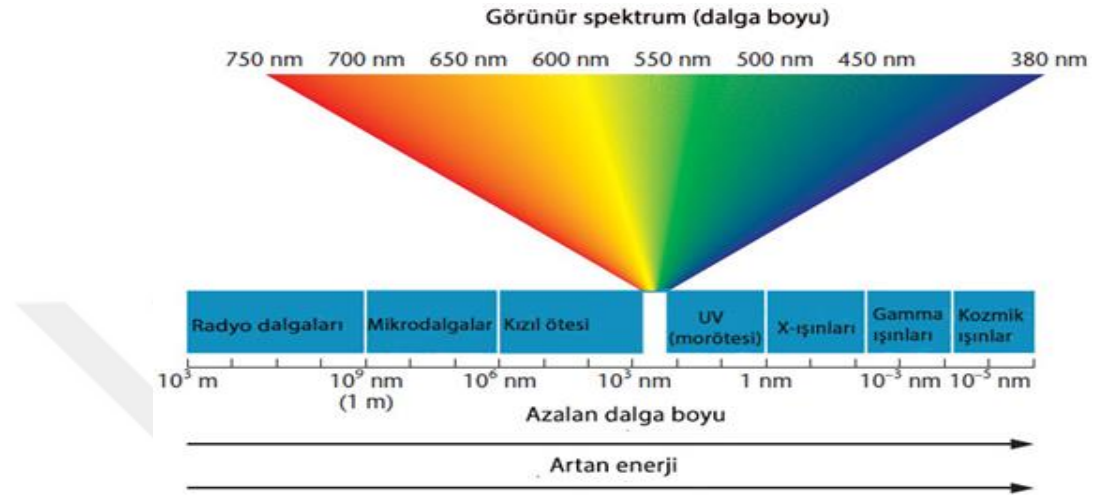
İyonlaştırmayan radyasyon enerjinin boşlukta elektrik ve manyetik alanlar biçiminde yayılması olarak tanımlanmaktadır. Bu grup içinde başlıca dalgalar olarak radyo dalgaları, ışık, ısı, kızıl ve mor ötesi ışınlar sayılabilir. Fizik bilimi elektromanyetik ışınların karmaşık ve değişken özelliklerini tanımlamak için elektromanyetik radyasyon dalga ve tanecik özellikleri şeklinde iki görüş ortaya koymuştur (Taşpınar, 2008).

Elektromanyetik radyasyon, boşlukta dalgalar biçiminde yayılır. Bilinen pek çok dalgalı yayılım için (ses dalgalarının hava, su ya da vücut dokuları içindeki yayılımları) mutlak bir ortama gerek vardır. Oysa elektromanyetik dalgalar, boşlukta da yayılabilme özelliğine sahiptirler ve bir ortama gereksinim duymazlar. Her çeşit dalganın kendisini tanımlayan bir dalga boyu ve frekansı vardır. Sinüs ritmi şeklindeki dalga konvoyunda birbirini izleyen iki tepe noktası arasındaki uzaklık, dalga boyu olarak tanımlanır ve Yunanca uzunluk sözcüğünün ilk harfi olan lamda (λ) ile gösterilir. Bir noktadan belli bir sürede geçen dalga sayısı ise frekansı gösterir. Hız ile frekans arasındaki ilişki; “Hız = Frekans x Dalga Boyu” formülü ile ifade edilir. Tüm EM dalgalar boşlukta yayılma hızı aynıdır. Yayılma hızı, ışık hızına eşittir ve saniyede 300000 km’dir. Tüm elektromanyetik radyasyon tiplerinde hız aynı olduğundan bu ışınların frekansları dalga boyları ile ters orantılıdır (Taşpınar, 2008).

Elektromanyetik ışınların dalgalar biçimindeki yayılımları pek çok fiziksel olayları açıklasa da, bu dalgaların özelliklerinin tümünü ortaya koymakta yetersiz kalmıştır. Bu nedenle tanecik özelliği üzerinde de durmak gereklidir (Taşpınar, 2008).

Kısa dalga boylu elektromanyetik dalgalar madde ile karşılaştıklarında, partikülmüş gibi tepki gösterirler. Gerçekte bu dalgalar enerji demetleridir ve foton adını alırlar. Fotonlar ışık hızı

ile hareket eder. Her bir fotonun taşıdığı enerji radyasyonun frekansına bağlıdır. Elektromanyetik spektrumu oluşturan tüm radyasyonlar (x ve γ ışınları hariç) iyonlaştırmayan radyasyon türüne girer (Şekil2.1) (Taşpınar, 2008).



Şekil 2.1: Elektromanyetik spektrumun bileşenleri ve onlarla ilişkilendirilen dalga boyları (Klug vd., 2012).

X ışını hücreye girince, radyasyonun karşılaştığı moleküllerin atomlarından elektron atılır. Kararlı moleküller, atomlar serbest radikallere ve reaktif iyonlara dönüştürülür. Bu iyonlar çeşitli kimyasal reaksiyonların başlamasına sebep olabilir. Genetik materyal etkilenir, pürin ve pirimidinleri değiştirerek nokta mutasyonları oluşturur. Kromozomların bütünlüğünü bozar. İyonize radyasyon, fosfodiester bağlarını kırar. İyonize radyasyon delesyonlar, translokasyonlar, ve kromozomal parçalanma (fragmentation) gibi kromozomal bozukluklar (abersasyonlar) oluşturur (Klug vd., 2012).

Mikrodalgalar, radyo dalgaları, mor ötesi ışık, kızıl ötesi ışık ve görünür ışık **iyonlaştırıcı olmayan radyasyon** (DC - 300 GHz arası iyonlaştırmayan elektromanyetik radyasyon) olarak isimlendirilir. İyonlaştırıcı olmayan radyasyonla, nükleer radyasyon aynı değildir. Bu alanlar; statik (0 Hz), çok düşük frekans (ELF-EMF, 0-300 Hz), yüksek frekans (HF-EMF, 300Hz-300GHz) alanları olmak üzere üç grupta incelenebilir (Yılmaz H., 2007).

İyonlaştırıcı özelliği olmayan radyasyon grubunda yer alanlar; baz istasyonları, elektrik iletim hatları, radyo ve televizyon vericileri, trafo merkezleri ve elektrikli ev aletlerinden kaynaklanan radyasyondur. Canlılarda iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik dalgaların maruziyeti ile ısı ve ısı olmayan etkiler oluşabilir (Güler vd., 2010).

Isıl etki, vücut sıcaklığını arttırması ile gerçekleşir ve vücudun soğurduğu elektromanyetik enerji ısıya dönüşmüş olur. Isı etkisi; yerel, kısmi veya tüm vücudun ısı etkisine maruz kalmasından kaynaklanır. Isı etkisi biyolojik sistemlerdeki emilim veya RF enerji depolanması yolu ile olmaktadır. Bu elektromanyetik alandan kaynaklanan vücuttaki emilim ise vücudun elektriksel geçirgenliğine, elektriksel iletkenliğine ve kütle özelliklerine bağlıdır (Güler vd., 2010).

Isıl olmayan etki; beyin aktivitelerinde değişiklikler, uyku bozuklukları, dikkat bozuklukları, baş ağrıları gibi olumsuz etkilerin gözlenmesine sebep olabilir (Çeliközlü, 2010).

2.1.2. İyonlaştırıcı radyasyon (300 GHz üstü nükleer radyasyon)

Radyasyon tipleri arasında dokuya nüfuz etme yeteneği en fazla olan radyasyon kaynakları X ışınları, gama ışınları ve nötronlardır. Alfa ve beta partiküllerinin nüfuz etme yeteneği çok azdır. Ancak dokunun içine doğrudan verildiklerinde etkili olan partiküllerdir. Bu da radyoizotopların organizmaya inhalasyon veya enjeksiyon yoluyla verilmesi sonucu gerçekleşir. Radyasyonun enerji birimi Rad'dır. Bir Rad (Radiation absorbed dose) bir maddede 1 gram dokunun absorbe ettiği enerjidir. Bir Rad 100 erg/g'dır (Taşpınar, 2008).

700 Rad dozu % 100 ölüme sebep olmaktadır. Mutasyon yapan radyasyon dozu ise 5-150 Rad arasında kabul edilmektedir (Çizelge 2.1) (Taşpınar, 2008).

Çizelge 2.1. İyonlaştırıcı radyasyon ve etkileri (Taşpınar, 2008).

İyonlaştırıcı Radyasyon Dozu	Radyasyon Etkileri
0 ile 125 Rad arası	Semptomlar çok azdır.
500 Rad	%50 oranında ölüme sebep olur.
700 Rad ve daha fazlası	%100 ölüme sebep olur.

İyonlaştırıcı radyasyon, yolu üzerindeki atom ve moleküllerle rasgele çarpışır. Böylece kimyasal bağları kırıp, diğer moleküler değişiklikler oluşturarak neticede kendisini absorbe eden hücre ve hücrenin etrafındaki dokuya zarar veren iyonları ve serbest radikalleri oluşturur. İyonlaştırıcı radyasyonun yoluna çıkan her molekül etkilenir ancak DNA molekülü genetik içeriğinin sınırlı olması dolayısıyla en kritik hedeftir. Bölünmekte olan sıradan bir hücreyi öldürmek için yeterli olan radyasyon dozu (2Sv= 2 Sievert) DNA içeriğinde yüzlerce lezyon oluşturur. Bu tür lezyonların çoğu tamir edilebilir düzeydedir. Ancak yoğun iyonlaştırıcı radyasyon (proton veya α -taneciği) tarafından oluşturulan hasar, daha zayıf iyonlaştırıcı

radyasyona (x-ışınları veya γ -ışınları) göre daha az onarılabılır olarak tespit edilmiştir (Taşpınar, 2008).

2.1.3. Manyetik alan

Bir elektrik akımına paralel hareket eden yük, kendi hızına dik bir kuvvetin etkisinde kalır. Bu durum, akım geçen bir telin çevresinde oluşan manyetik alanın, hareketli bir yüke nasıl bir kuvvet etki ettiğini bularak açıklanabilir. CGS birim sisteminde, kuvveti din, uzunluğu cm olarak aldığımızda manyetik alanın birimi gauss olarak elde edilir. Yeryüzüne yakın yerlerdeki manyetik alan şiddeti, 0,5 gauss mertebesindedir (Purcell, 1994).

Elektromanyetik alan, elektrik alanla manyetik alanın bir araya gelmesi ile ortaya çıkar. Burada, elektrik ve manyetik dalga ışık hızında birlikte yer değiştirirler. Elektromanyetik alanın belirgin özellikleri frekans ve dalga uzunluğudur. “Frekans”, dalganın bir saniyedeki titreşim (salınım) sayısıdır. Frekans hertz (Hz) ile ölçülür. Dalga uzunluğu ise bir titreşim sırasında dalganın katettiği mesafedir. Frekans yükseldikçe dalga uzunluğu kısalmır. Böylece alanda yayılan enerji yükselir (www.emo.org.tr).

2.1.4. Manyetik alan kaynakları

Manyetik alan kaynakları doğal elektromanyetik ortam ve yapay elektromanyetik olmak üzere ikiye ayrılır. Yapay elektromanyetik alan insan yapımı cihazlardan kaynaklanmaktadır. (Güler vd., 2010).

Yapay elektromanyetik kaynakları teknolojinin gelişmesiyle, üretilmesi ve kullanımının artması sonucu günlük hayata hızla nüfuz etmektedir. Bu gelişme, kullanıcılar arasında sağlık endişelerini beraberinde getirmektedir. Mesleki olarak zorunlu kullanımı hariç genelde çok düşük seviyede olan bu alanları oluşturan cihazların yaydığı elektromanyetik alanın insana etki derecesi kullanıcının konumundan kaynağa olan mesafeye bağlıdır (Güler vd., 2010).

Çok düşük frekans alanın esas kaynağı enerji iletim hatlarıdır. Şimdiye kadar kimyasal bağlara zarar vermeyen şiddette düşük frekanslı manyetik alan, zararsız olarak görülmüştür. Fakat son yıllarda yapılan araştırmalar bir veya iki gün (24 ya da 48 saat) düşük frekanslı (60 Hz) manyetik alanın etkisine bırakılan sıçanların DNA yapıları incelenmiştir. DNA’da kırılmalar ve olağandışı yüksek sayıda ölü hücreler saptanmıştır. Manyetik alana maruz kalma süresi arttığında, DNA hasarında artış görülmüştür (Blank ve Goodman, 1997, 2001).

Günlük hayatta kullandığımız aletler elektromanyetik dalgalar yaymaktadır. Bunlara, elektrik güç iletim hattı, elektrik güç dağıtım hattı, klima, mikser, saat, elektrikli battaniye, tıraş

makinesi, floresan lamba, saç kurutma makinesi, mikrodalga fırın, hesap makinesini, floresan ışığı, lazer yazıcıyı, fotokopi makinesini, bilgisayar ekranını örnek olarak verebiliriz.

Elektromanyetik alan kaynaklarına, cep telefonu, telsiz telefon, endüstriyel ekipmanlar, radyo frekans dalgaları, medikal sistemler, lokal radyo iletişim sistemleri, mikrodalga fırın, radar, telsiz ve bilgisayar terminalini örnek verebiliriz.

2.1.5. Elektromanyetik alan limitleri

Elektromanyetik alanların insan sağlığına etkileri konusunda uluslararası standartlar ve sınır değerler birçok ülkede belirlenmiştir. Uluslararası alanda ICNIRP (International Commission on Non- Ionizing Radiation Protection: Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komitesi) nin belirlediği sınır değerler Avrupa ülkelerinin çoğunda ve diğer ülkelerde kabul edilmektedir (Çeliközlü, 2010).

4W/kg sınır değeri kabul edilerek, vücut sıcaklığını 1°C artıran elektromanyetik enerji emilimi zararlıdır. Halk için 50 kat güvenlik (koruma) payı esas alınarak halka açık yerler için minimum limit olarak 0,08 W/kg SAR değeri belirlenmiştir (Güler vd., 2010).

2.1.6. Elektromanyetik alanın insan sağlığına etkisi

2.1.6.1. Manyetik alanın akut etkileri

Cep telefonu tarafından kullanılan frekanslar, deri ve diğer yüzeysel dokular tarafından çoğu enerji absorblanır, beyin ya da diğer organlarda meydana gelen sıcaklık artışı göz ardı edilebilir. Bir dizi çalışmada radyofrekans alanın elektriksel aktivite, bilişsel fonksiyon, uyku, kalp hızı ve kan basıncının üzerine etkileri incelenmiştir. Bugüne kadar, araştırma doku ısınmasına sebep olanların altındaki seviyelerde olan radyofrekans alanına maruz kalmak olumsuz sağlık etkisi üzerine tutarlı bir kanıt değildir. Ayrıca araştırmalarda kendi kendine bildirilen semptomlar ve elektromanyetik aşırı duyarlılık arasındaki ilişkiye destek sağlamak mümkün olmamıştır.

2-3 T veya daha yüksek değerde manyetik alanları, baş dönmesi ve mide bulantısı gibi geçici hisler uyandırabilir. Bunlar olumsuz sağlık etkileri değildir, ama rahatsız edici olabilir ve sistemin normal işleyişini bozabilir. 8 T kadar alanlara maruz kalmanın olumsuz etkilerinde ise, el-göz koordinasyonu ve görsel kontrastta küçük değişiklikler ile ilgili sınırlı bilgiler hariç, hiçbir kanıt yoktur (www.icnirp.org).

Kısa sürede etkilere, stres, görüş alanının daralması, kulak bölgesinde ısınma, kalp pilinin bozulma riski, yorgunluk hissi, konsantrasyon bozulması, kulak çınlaması, baş ağrıları, işitmede geçici aksaklıklar, sersemleme örnek verilebilir (www.emo.org.tr).

Elektromanyetik alanın kalp atımına etkisi (Roggeveen, 2014) ve dikkat üzerine etkisi (Edelstyn ve Oldershaw, 2002) ile ilgili araştırmalar yapılmıştır.

2.1.6.2. Manyetik alanın kronik etkileri

Epidemiyoloji çalışmalar radyofrekans radyasyona maruz kalmanın uzun vadeli etkilerinin incelenmesi beyin tümörleri ve cep telefonu kullanımı arasındaki ilişkiyi aramıştır. Ancak cep telefonları 1990'ların başına kadar yaygın olarak kullanılmış değildir. Şu anda epidemiyolojik çalışmalar sadece kısa süreler içinde belirgin hale gelen kanserleri değerlendirmektedir çünkü etkileşimler yıllar sonra saptanabilir. Ancak, hayvan çalışmalarında sonuçlar, uzun süreli radyofrekans radyasyona maruz kalmanın sonucu artmış kanser riski olduğunu göstermemiştir. Birkaç büyük çok uluslu epidemiyolojik çalışma tamamlanmamış veya erişkinlerde sağlık hedefleriyle bir dizi inceleyen vaka-kontrol çalışmaları ve ileriye dönük cohort çalışmalar dahil, çalışmalar devam etmektedir (www.who.int).

Uzun süreli manyetik alana maruz kalma sonucunda hücre iyon dengesinin bozulur, sinir sisteminin etkilenir, beyinin elektriksel işareti değişir, uykusuzluk, baş ağrısı, baş dönmesi olabilir. Uzun süreli manyetik alana maruz kalma, baş ağrısına, hafıza kaybına, sinir sistemi bozukluğuna, karmaşık rüyaların görülmesine, dolaşım sistemi bozukluklarına, bağışıklık sisteminin zayıflamasına, genetik yapının bozulmasına, beyin hücrelerinde ölüme, beyin tümörüne, beyaz kan hücresi (lenfoma) kanserine, kan beyin bariyerinin zedelenmesine, kalp rahatsızlığına, hafıza zayıflamasına, kalıcı işitme bozukluğuna, embriyo gelişiminin zarar görmesine, düşük riskinin artmasına, kan hücrelerinin bozulmasına sebep olabilir. Uzun süreli manyetik alana maruz kalmanın göze, üreme organlarına da kötü etkileri vardır (Çeliközlü, 2010).

Yapılan bir çalışmada 11-15 yaşlarındaki çocuklarda cep telefonu kullanımının baş ağrısı, migren cilt kaşıntıları için önemli ölçüde artış gösterdiği bulunmuştur (Chiu vd., 2014).

Manyetik alanın bazı biyokimyasal ve hematolojik değerler üzerine etkisi vardır. Dişi ve erkek üreme sistemleri manyetik alana maruz kaldığında üreme sistemini nasıl etkilediğini araştırmak için yapılmış çalışmalar vardır. Deneysel hayvan çalışmalarında ise mikrodalgaların intrauterin dönemde teratojenik etkiler oluşturduğuna dair farklı görüşler bulunmaktadır. Manyetik alanın endokrin sistem üzerine etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda çok

düşük frekanslı ve çok yüksek frekanslı manyetik alanların etkileri arasında önemli farklar tespit edilmiştir. Aynı zamanda manyetik alanın kan-beyin bariyerine, DNA üzerine, alzheimer hastalığının oluşumuna, mutasyon oluşumuna, insülin salınımına etkisi bulunmaktadır (Budak vd., 2009; Türkan ve Pala, 2009; Hekmat vd., 2013; Bahaodini vd., 2015).

2.1.6.3. Kanser oluşumuna etkisi

Kanserler ile manyetik alan arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar mevcuttur.

Lyon, Fransa, Mayıs 31, 2011 raporunda WHO/ Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) cep telefonundan yayılan elektromanyetik alanın, insanlarda muhtemel kanserojen etkilerinin artan risklerini; glioma, malignant tipte beyin kanseri olarak sınıflandırmıştır (www.iarc.fr).

WHO'nun konuyla ilgili yaklaşımını açmakta da yarar var. Özellikle kanserojen maddelerle ilgili çalışmaları WHO dört grupta toplamaktadır; (1) kanserojen, (2) olası (*possible*) kanserojen, (3) muhtemel (*probable*) kanserojen, (4) henüz sınıflandırılmayanlar. Yüksek gerilim hatlarıyla ilgili uzun süreli, geniş katımlı ve güvenilir çalışmalar/araştırmalar gerçekleştiği için WHO eldeki araştırma verilerine dayanıp çok düşük frekanslı manyetik alanları artık "olası" kanserojen sınıfında göstermektedir (Çeliközlü, 2010).

Federal İletişim Komisyonu kablosuz telefon kullanımının kanser, baş ağrısı, baş dönmesi ve hafıza kaybı dâhil olmak üzere diğer sağlık sorunlarına yol açtığını kanıtlamak için hiçbir bilimsel kanıt olmadığı sonucuna varmıştır (www.cancer.gov).

Amerikan Kanser Derneği (ACS), cep telefonu kullanımının IARC sınıflandırmasına göre kanser riski ile ilişkili olabileceği anlamına geliyor, ama kanıtın nedensel olarak kabul edilebilecek kadar güçlü olmadığı ve daha fazla araştırılması gerektiğini belirtiyor (www.cancer.gov).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) a göre son zamanlarda yapılan çalışmalarda, radyofrekans radyasyon ve insanlarda kanser çalışmalarından gelen sınırlı kanıtlardan "muhtemelen insanlar için kanserojen" olarak tespit edilmiştir. Kemirgenler üzerinde ise zayıf kanıtlar tespit edilmiş ve bunlar genotoksisite çalışmaları, bağışıklık sistemi fonksiyonu üzerindeki etkileri, gen ve protein ifadesi, hücre sinyali, oksidatif stres ve apoptoz, kan-beyin bariyeri üzerine radyofrekans enerjisi olası etkileri çalışmaları ile tespit edilmiştir (www.cancer.gov).

2.1.7. Cep telefonları ve sağlık üzerine etkileri

Vücutumuzdaki fonksiyonların hepsi 1-250 mikrovolt gerilimli elektrik uyarılarıyla gerçekleşir. Elektromanyetik alanların dışarıdan bu hassas sisteme tesir etmesi doğal dengeyi bozabilir (Şeker ve Çerezci, 2000).

Çok düşük frekanslı alanların muhtemel zararları:

- a) Hücrelerarası aktiviteyi etkiler,
- b) Hormonları etkiler,
- c) Vücudun koruma sistemini etkiler,
- d) Embriyoda anormal gelişmeler görülebilir,

şeklindedir (Şeker ve Çerezci, 2000).

Cep telefonları baz istasyonuna yakın iken az, uzak iken fazla güç sarf ederler. Dolayısıyla uzak iken fazla güç çektiğinden daha fazla EMA oluştururlar. Telefon kapalı konumda iken cep telefonunun canlıya herhangi bir etkisi olmaz. Maksimum güçte çalışan telefon, bekleme konumunda çalışan telefona göre daha yüksek EMA oluşturduğunda daha zararlı etkiye sebebiyet verir (Güler vd., 2010).

Başka bir çalışmada, etkisi 900 MHz olan cep telefonundan yayılan elektromanyetik alan kullanılmıştır. 16 sağlıklı gönüllü genç (10 erkek, 6 kadın), yaş ortalaması $21\pm 2,3$ yaş ve ağırlıkları 67 ± 13 kg olan kişiler ile çalışma yapılmıştır. Elektromanyetik alanın kalp hızı değişkenliği üzerine etkisi incelenmiştir. Deney sonucunda değerlerde artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Sonuçta yüksek düzey elektromanyetik alanın kardiyak sistem davranış karmaşıklığını anlamlı derecede değiştirdiği sonucuna varılmıştır (Yılmaz ve Yıldız, 2010).

Cep telefonunun olumsuz etkileri üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Kandaki zararlı proteinlerin ve toksinlerin beyne girmesini engelleyen savunma mekanizmasını devre dışı bırakmaya etkisi incelenmiştir. Bunun yanı sıra yorgunluk, baş ağrısı, deride yanma hissi ortaya çıkarma, yüksek tansiyon oluşması, baş ağrıları, baş dönmesi ve dikkatin dağılmasına sebep olduğu incelenmiştir (Bold vd., 2003).

Tiroid hormon düzeyinde çok küçük bir değişiklik beyin fonksiyonlarını değiştirmek için yeterlidir. Yapılan çalışmada cep telefonu kullanımı ile TSH hormon arasındaki ilişki incelenmiş ve elektromanyetik alana maruz kalan kişilerde TSH hormon düzeyinde değişiklikler olduğu tespit edilmiştir (Mortazavi vd., 2009).

Başka bir görüşe göre ise, cep telefonu kullanımının beyin kanseri ve diğer kanserler için risk oluşturmadığı yapılan çalışmada belirtilmiştir (Benson vd., 2013).

2.1.7.1. RF'ın doğrudan etkileri

Cep telefonunu yoğun kullanan kişilerde bazı rahatsızlıklar ortaya çıkar. Bunlar baş ağrısına, yorgunluğa, kulak üzerinde ve arkasında yanma hissine, bulanık görmeye, işitme kaybına ve vertigo olabilir. Göz lensi ısıya duyarlıdır ve radyofrekans radyasyon katarakt yoğunluğunu artırıcı potansiyel etkiye sahiptir (Çeliközlü, 2010). Aynı zamanda epidemiyolojik araştırmalarda kanser ve RF enerji ilişkisi incelenmiştir.

2.1.7.2. Dolaylı sağlık etkileri

Elektromanyetik alan insanlarda dikkat dağınıklığı oluşturabilir. Kişilerde kalp pili, deri altına yerleştirilmiş defibrilatör, işitme cihazları elektromanyetik alandan olumsuz etkilenebilir. Yoğun bakım ünitelerindeki sistemleri etkileyerek dolaylı zararlara neden olabilir. Psikolojik olarak ise stres, sinirlilik, uyku bozukluğu radyofrekans radyasyon etkisi ile ortaya çıkabilir. Bunun yanı sıra aradığına ulaşamayan kişilerde stres, kaygı vb. psikolojik etkiler ortaya çıkabilir (Çeliközlü, 2010).

2.1.8. Kablosuz internet

Teknolojinin hızla geliştiği günümüzde, evlerde ve iş yerlerinde internet ve kablosuz ağ kullanımı artış göstermektedir. Akıllı cihazların ve taşınabilir bilgisayarların kullanımının artması, kablosuz erişim noktaları çok sayıda kişi tarafından kullanılmaktadır. Kablosuz iletişimde kullanılan cihazlar RF kaynağıdır. Kablosuz internet sağlayıcı modemler bilgi iletimi ve alımını 2.4 GHz frekans ile yapmaktadırlar (Yılmaz, 2007).

Beyin hücreleri sıcaklığında artış, eritrosit sayısında azalma, taşikardi, EKG 'de değişimler, serum tiroksin düzeyinde azalma, fetüs ağırlığında azalma, doğum sonrası ölüm oranında artış, adrenal bez ağırlığında artış, ürik asit seviyesinde artış, serum glikoz düzeyinde artış, metabolik hız azalması ve P53 geninde hasar görülmesi olayları 2.4 GHz frekansı ile yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Çeliközlü, 2010).

Yapılmış bazı çalışmalarda, kablosuz internet frekansı altında kalmanın öğrenme ve hafızayı etkilediği tespit edilmiştir. Beyinde DNA kırıklarına neden olduğu saptanmıştır. Kablosuz internet mikrodalga frekans aralığında yer almaktadır. Davranışsal, bilişsel fonksiyonlarda, beyin dalgalarında, kalsiyum iyon dengesinde, kan beyin bariyeri geçirgenliğinde değişim olduğu kablosuz internet frekansı altında kalmanın sonucu olarak

gösterilmiştir (Çeliközlü, 2010). Kablosuz internet erkeklerde üreme sistemini olumsuz etkilemektedir. Kablosuz internet kullanım süresinin uzunluğuna bağlı olarak erkeklerde sperm hareketliliği azalmaktadır (Yıldırım vd., 2015).

2.2. Kanser

Kanser hücreleri vücudun kontrol mekanizmalarına normal cevabı vermezler. Bunlar aşırı ölçüde bölünerek, diğer dokuları istila ederler. Eğer bu durum gözden kaçırılırsa, organizma ölür (Reece vd., 2011).

Kanser hücrelerinde hücre döngüsünün regülasyonunu etkileyen genetik kusurlar vardır. Tüm kanser hücrelerindeki temel sapmalardan birisi, hücre çoğalması üzerindeki kontrolün kaybıdır. Kanserli hücrelerde birçok gen mutasyona uğrar veya yanlış ifade edilir. Kanserli hücreler kontrol edilemeyen hücre çoğalmasına yol açarlar (Klug vd., 2012).

Kültürde üreyen hücreleri inceleyen araştırmacılar, kanser hücrelerinin hücre döngüsünü düzenleyen normal sinyallere cevap vermediklerini bulmuşlardır. Kültürde üretilen kanser hücreleri yoğunluğa bağlı inhibisyon göstermezler. Diğer bir deyişle, bu hücreler, büyüme faktörleri tükendiğinde bölünmeyi durdurmazlar. Bu davranışı açıklayan en mantıklı hipotez, kanser hücrelerinin büyümek ve bölünmek için kültür ortamında büyüme faktörlerinin bulunmasına gereksinim duymadıklarıdır. Bunlar ya gerekli büyüme faktörünü kendileri yapmakta ya da büyüme faktörünün sinyalini hücre döngüsü kontrol sistemine taşıyan haberleşme yolunda (veya hücre döngüsü kontrol sisteminde) bir anormallik taşımaktadır (Reece vd., 2011).

Normal hücrelerle kanser hücreleri arasında hücre döngüsündeki düzensizlikleri yansıtan başka farklılıklar da vardır ve kanser hücreleri normal kontrol noktalarında değil, gelişigüzel noktalarda bölünmeyi durdururlar. Kültürü yapılan kanser hücreleri sürekli olarak besin maddeleriyle desteklendikleri sürece, sonsuz sayıda bölünebilirler; bu hücrelerin “ölümsüz” olduğu söylenir. Buna ait en çarpıcı örneklerden birisi, 1951 yılından beri kültürde üretilmekte olan hücre hattıdır. Bu hattaki hücreler HeLa hücreleri olarak adlandırılır, çünkü bunların başlangıç kaynağı Henrietta Lack adlı bir kadından alınan tümördür. Buna karşılık kültürde üretilen normal memeli hücrelerinin hemen hemen tümü bölünmeyi durdurup, yaşlanıp ölmeden önce sadece 20-50 kez bölünürler (Reece vd., 2011).

Kanser hücrelerinin bu anormal davranışı, vücut içinde felakete neden olur. Bu sorun herhangi bir dokudaki tek bir hücrenin transformasyona uğramasıyla başlar. Transformasyon süreci, normal bir hücreyi kanser hücresine dönüştürür. Vücudun bağışıklık sistemi transforme

olmuş bir hücreyi istilacı olarak tanır ve normalde onu ortadan kaldırır. Bununla birlikte eğer bu hücre yok edilmekten kurtulursa, bir tümör oluşturmak üzere çoğalabilir. Herhangi bir doku içindeki anormal hücre kütesine tümör adı verilir. Anormal hücreler başlangıç noktalarında kalırsa bu kütleyle iyi-huyulu (benign) tümör denir. Buna karşılık kötü huyulu (malignant) tümör bir ya da birkaç organın işlevlerini bozacak şekilde istilacı olabilir. Kötühuyulu tümörü olan bir kimsenin kanser olduğu söylenir (Reece vd., 2011).

Kötü huyulu tümör hücreleri aşırı derecede üremelerinin yanı sıra, birçok bakımdan anormaldirler. Bunlar alışılmadık sayılarda kromozom taşırlar. Metabolizmaları bozulmuş olup, her türlü yıkıcı faaliyet içindedirler. Hücre yüzeylerindeki anormal değişikliklerden ötürü, komşu hücrelerle ve hücre-dışı matriksle bağlantılarını kaybederler. Dolayısıyla, yakındaki dokulara yayılırlar. Kanser hücreleri başlangıç tümöründen ayrılarak, dolaşım sistemindeki kan damarları ve lenf kanalları içine girerek, vücudun diğer kısımlarını istila eder ve oralarda çoğalarak, tümörler oluştururlar. Kanser hücrelerinin başlangıç bölgesinden uzaktaki yerlere yayılması metastaz olarak adlandırılır (Reece vd., 2011).

2.2.1. Kansere sebep olan etmenler (karsinojenler)

Çevremizdeki doğal ya da yapay pek çok kanserojen bulunmaktadır. Bunlar kimyasalları, radyasyonu, bazı virüsleri ve kronik enfeksiyonları kapsamaktadır. Belki de çevremizdeki en önemli kanserojen sigara dumanıdır. Epidemiyologlar, insanlarda kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %30'unun sigara kullanmayla ilişkili olduğunu tahmin etmektedirler. Sigara dumanı, ras gibi proto-onkogenlerde ve *p53* gibi tümör baskılayıcı genlerde mutasyona neden olan pek çok kanserojenik kimyasal içermektedir (Klug vd., 2012).

Çevresel etmenler insanlarda çeşitli kanserlere neden olmaktadır. DNA hasarlarını oluşturan ultraviyole ve X ışınları gibi doğal radyasyon, doğal besin maddeleri ve dış çevre, çevresel olarak mutasyonlara neden olan etkenlerin başında gelirler ve oluşturdukları mutasyonlarla kansere yol açarlar. DNA hasarına neden olan herhangi bir madde ya da olay kanserojenik bir potansiyele sahiptir. Tamir edilmemiş ya da hatalı tamir edilmiş DNA'daki mutasyonlar, eğer proto-onkogenler ya da tümör baskılayıcı genlerde bulunuyorsa hücre döngüsünün düzeninin bozulmasına ya da hücreler arası temasın üzerindeki kontrolün kaybedilmesine ve de bu zincirleme olaylar sonunda hücrelerin istilasına neden olmaktadır. Normal metabolizmanın meydana getirdiği oksidatif son ürünler, DNA, protein ve lipitlere zarar verebilirler. İnsan vücudunun her gün serbest oksijen radikallerinin faaliyetlerine bağlı olarak meydana gelen 10.000 DNA hasarıyla karşı karşıya olduğu tahmin edilmektedir. DNA tamir

enzimleri bu hasarın büyük kısmıyla başarıyla başa çıkmaktadır. Fakat bazı DNA hasarları kalıcı mutasyonlara neden olur (Klug vd., 2012).

Beslenme genellikle kanser gelişimi ile ilişkilendirilir. Kırmızı et ve hayvansal yağ içerikli besinlerin tüketimi kolon, prostat veya meme kanseri gibi bazı kanserlerle ilişkilidir. Bu maddelerin nasıl kansere neden olduğunu gösteren mekanizmalarla ilgili bilgiler net değildir. Fakat hormonlar yoluyla hücre döngüsünün teşvik edilebileceği ya da pişirme esnasında kanserojenik maddelerin oluşabileceği ve de bu yolla karsinogenezis'in oluşacağı düşünülmektedir. Alkol ise karaciğerde yangıya ve karaciğer hasarına neden olabilmektedir (Klug vd., 2012)

Ultraviyole (UV) ışınları ve iyonize radyasyon (X ışınları ve gama ışınları gibi) DNA hasarını uyarır. Güneş ışığındaki UV' nin neden olduğu DNA hasarı deri kanserinin nedeni olarak kabul edilmektedir. Hiroşima ve Nagazaki'ye atılan atom bombalarının patlaması sonucu açığa çıkan nötron ve gama radyasyonuna maruz kalan popülasyonlarla yapılan çalışmalar, iyonize radyasyonun karsinojenik olduğunu açıkça göstermiştir. Önemli olan diğer bir çevresel bileşen de radon gazıdır. Radon gazı, Amerika Birleşik Devletleri popülasyonunda iyonize radyasyona maruz kalanların %50'sinden fazlasından sorumludur. Bazı popülasyonlarda akciğer kanserine de yol açmaktadır (Klug vd., 2012).

2.2.2. Kolon kanseri

2.2.2.1. Kanser epidemiyolojisi

Kolon kanseri insidans ve mortalitesi dünya çapında değişiklikler gösterir (Eddy, 1990). Dünya çapında her yıl yaklaşık bir milyon kolon kanseri tanısı konulur ve 500.000 hasta kolon kanseri nedeniyle kaybedilmektedir (Winawer ve Sherlock, 2007). Kuzey Amerika, Avustralya, Kuzey ve Batı Avrupa'da yüksek insidansla görülür. Asya ve Afrika'da düşük oranlar vardır (Parkin vd., 1999). Bu coğrafi farklılık diyet, çevresel maruziyet ve genetik yatkınlığa bağlı gibi düşünülmektedir (Ashktorab vd., 2009).

Kolon kanseri için ileri yaşta olma durumu risk faktörüdür. 40 yaşın altında kolon kanseri nadir görülürken, 40-50 yaştan sonra insidans artmaya başlamaktadır (Eddy, 1990). Kolon kanseri vakalarının % 90'ı 50 yaş üzerinde iken; 80 yaş üzerinde bu oran erkekler için % 10'a, bayanlar için % 15'e kadar yükselmektedir. Kolon kanserinin yaşam boyu görülme sıklığı % 2,4-5 civarındadır. Bazı risk faktörleri bu oranı yükselmektedir (Edwards vd., 2010).

2.2.2.2. Kanserin etiyojisi

Kolon kanseri gelişiminde rol oynayan risk faktörlerinin bazıları aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Itzkowitz ve Rochester, 2006; Stewart ve Wild, 2014; www.cancer.gov).

1. Yaş: 50 yaş ve üstü
2. Diyet: yağdan zengin, posadan fakir beslenme, sigara ve alkol tüketimi, fiziksel aktivite azlığı
3. Kişisel öykü: Kolorektal adenom
4. Aile öyküsü: Polipozis sendromları ve kolon kanserli birinci dereceden akrabalar
5. İnflamatuvar barsak hastalıkları: Ülseratif kolit ve crohn hastalığı

2.2.2.3. Kolon kanseri gelişimine sebep olan genetik değişiklikler

Kolon kanseri gelişimine sebep olan genetik değişiklikler üç grupta incelenebilir (Dobrucalı, 2003).

a) Tümör supresör genlerin değişimi

Tümör supresör genler ancak her iki allel gende mutasyon veya kayıp olduğunda aktivitelerini kaybetmekte ve hücrenin programlanmış ölümü (apoptoz) engellenmektedir.

p53 geni mutasyonu: p53 kromozom 17'de bulunur ve 53 kDa'luk bir proteini kodlar. p53 proteini çeşitli genlerin ifade düzeylerini kontrol eden bir transkripsiyon faktörüdür. Hücre döngüsünün normal biçimde seyri p53 tarafından sağlanır. Eğer hücrede normal olmayan bir durum söz konusu ise hücre döngüsü p53 tarafından duraksatılır. p53'ün önemli görevlerinden biri de hücrede stresle apoptozisi tetiklemesidir. Normal gelişme sırasında gerçekleşen apoptoziste görev almayan p53 tümör baskılayıcı geni çeşitli kanserlerde mutasyona uğramaktadır. Tüm kanserlerin yaklaşık %50'sinde p53 mutasyonu görülür (Yıldırım vd., 2007).

Tümör baskılayıcı gen p53, DNA hasarı ve onkogenik transformasyon sonucu aktive olur. Strese girmeyen, hasara uğramamış hücrelerde p53 konsantrasyonu belirlenemeyecek kadar azdır ve sitoplazmada tutularak çekirdeğe girişi önlenir (Yıldırım vd., 2007).

Protein ürünü 53.000 dalton moleküler ağırlığa sahip olması nedeniyle p53 geni olarak isimlendirilen bu gene, çoğunlukla, 'genomun koruyucu meleği' denir. Hücre DNA'sına verilen bir hasar, p53 geninin ifadesine yol açan bir sinyal olarak iş görür. Bu gerçekleştiğinde, p53

proteini, p21 adı verilen geni harekete geçirir; bu genin ürünü, siklin-bağımlı kinazlara bağlanmak suretiyle hücre döngüsünü duraksatır ve böylece hücrenin DNA'yı tamir etmesi için zaman sağlar. P53 proteini de, DNA tamirinde doğrudan görev alan genleri devreye sokabilir. DNA hasarı tamir edilemeyecek kadar olduğu zaman p53, 'intihar' genlerini harekete geçirir; bu genlerin protein ürünleri, apoptosis ile hücre ölümüne neden olur. Böylece, p53, hücrenin DNA hasarına uygun olarak gelişen mutasyonları aktarmasını önler. Eğer mutasyonlar birikirse ve hücre birçok bölünme boyunca yaşamını sürdürürse-genellikle, eğer p53 tümör- baskılayıcı gen kusurlu ise ya da kaybedilmiş olduğunda görüldüğü gibi- kanser meydana gelebilir (Reece vd., 2011; Klug vd., 2012).

p53 geni kanser araştırmalarında incelenmiştir. İnsan kanserlerinde p53 mutasyonları yaygındır. p53 mutasyonlarının spektrumu kanserin moleküler patogenezi ve etiyolojisi hakkında ipuçları sağlamaktadır (Karaman, 2003).

P53 geninin inaktivasyonu kolon kanserinin nisbeten geç dönemlerinde ortaya çıkan önemli bir basamaktır. Kolon kanserinde kromozom 17p nin delesyona uğrayan kısmı p53 geni içeren kısımdır. Sıklıkla p53 geninin bir alleli delesyona uğramışken diğer allelde nokta mutasyonu bulunmaktadır. Kolon kanserinde uzak metastaz varlığı ile 17. ve 18. kromozomlardaki (17p ve 18q) allelik kayıp ve delesyonlar arasında anlamlı bir birliktelik olduğu görülmüştür. p53 geninin bulunduğu kromozom 17p nin delesyonuna kolorektal kanserlerin %75 inde rastlandığı halde adenom varlığında oldukça nadir olarak görülür (Dobrucalı, 2003).

İnsanlarda en sık görülen deri, akciğer, mide, kolon, meme, mesane, baş-boyun, özefagus gibi kanserlerde p53 geni mutasyonlarının görülme olasılığı % 30-70 arasında değişmektedir (Koşar, 2008).

b) Protoonkogenlerin aktivasyonu

Protoonkogenler hücrede uyarı iletiminde ve hücre büyümesinin kontrolünde rol oynayan genlerdir. Bu genlerin uygunsuz aktivasyonları hücre yüzeyinden nukleusa gelecek mesajların anormal iletimine, anormal hücre proliferasyonuna ve sonuçta tümör oluşumuna yol açar. İnsanda hücre içi uyarı iletimini düzenleyen bir nükleotidi (guanin) bağlayan proteini kodlayan 3 ras geni mevcuttur (K-ras, N-ras ve H-ras) (Klug vd., 2012).

Ras gen ailesi, hücre büyümesini ve bölünmesini düzenleyen sinyal iletim moleküllerini kodlar. Ras proteinleri normalde, dış büyüme faktörlerine yanıt olarak hücrenin bölünmesini uyaran sinyallerin hücre zarından çekirdeğe geçmesini sağlamaktadır. Ras proteinleri ya

GDP'ye ya da GTP'ye bağlanarak, inaktif (kapalı) ya da aktif (açık) durum arasında döngüsel bir yapı oluştururlar (Klug vd., 2012).

Bir hücre bir büyüme faktörü ile (Platelet kökenli büyüme faktörü ya da epidermal büyüme faktörü gibi) karşılaştığında, hücre zarında bulunan büyüme faktörü reseptörleri büyüme faktörüne bağlanır ve büyüme faktörü reseptörünün sitoplazmaya bakan kısmı otofosforilasyona uğrar. Bu durum nükleotit değişim faktörleri olarak bilinen proteinlerin plazma zarına yerleşmesine yol açar. Nükleotit değişim faktörleri Ras'ın GDP'yi bırakıp salmasına ve GTP'ye ise bağlanmasına neden olur. Böylece Ras'ın aktive olması gerçekleşir (Klug vd., 2012; www.drahmetdobrucali.com).

Ras'ın GTP-bağlı aktif formu, sitoplazmadaki bir dizi proteinlerin fosforilasyonu için gerekli sinyali gönderir. Sinyal gönderimiyle gerçekleşen protein fosforilasyonunun son noktası, hücreyi durağanlıktan hücre döngüsüne taşıyan genlerin ifadesini uyararak çekirdek transkripsiyon faktörlerinin aktif hale getirilmesidir. Ras sinyallerini çekirdeğe bir kez gönderdiğinde, GTP, GDP'ye hidroliz olur ve inaktif forma geçer. Proto-onkogen ras'ı onkogene dönüştüren mutasyonlar GTP'nin GDP'ye hidrolizini engeller ve böylece Ras proteinini sürekli "açık" konumda tutarak hücreyi sürekli bölünmeye teşvik ederler. Normal ve kanser hücrelerindeki Ras proteinlerinin aminoasit sekanslarının karşılaştırılması, onkogenik ras proteinlerinin hem 12. hem de 61. pozisyonlarda tek aminoasit değişimleri içerdiğini göstermektedir (Klug vd., 2012; www.drahmetdobrucali.com).

K-ras geni 12.kromozomda lokalize olmuştur. Kolon kanserlerinin yaklaşık %65 inde bir ras geninde (genellikle K-ras) nokta mutasyonu saptanmaktadır. Ras mutasyonlarının çoğu adenom gelişiminin orta dönemlerinde oluşmaktadır. Ras geni mutasyonu kolon karsinomları ve 1cm den büyük adenomlarının yaklaşık yarısından fazlasında görülürken 1 cm den küçük adenomların ancak %10 nunda ras geni mutasyonuna rastlanmaktadır. Ras protoonkogeninin tek başına aktivasyonu karsinom oluşumu için yeterli görünmemekle birlikte küçük adenomun büyük adenoma dönüşümü sürecinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Dobrucalı, 2003; Uçar, 2013).

c) DNA onarım genlerindeki değişiklikler

İnsan genomunda 23 çift kromozom bulunur ve yaklaşık 100.000 gende 3 milyar kadar nükleotit vardır. Kromozomlardaki nükleotid şifresi (dizilimi) hücre bölünmesi sırasında kopyalanma ve yeniden eşleşme ile oluşan yeni hücrelere aktarılır. Her 10 milyar nükleotid çiftinin kopyalanması sırasında bir hata oluşması normal olarak kabul edilebilir bir mutasyon

oranıdır. Daha fazla miktarlardaki kopyalanma hatalarının düzeltilmesini sağlayan onarım genleri mevcuttur. Genomik kararsızlık mutasyona uğramış bir hücrenin kanser hücresine dönüşümünü kolaylaştırır ve kolon kanserinde rol oynayan önemli bir mekanizmadır (Dobrucalı, 2003).

2.3. Deneylerde Kullanılan Yöntemin Temeli Nedir?

2.3.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonunda spesifik bir DNA parçası kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanır. PCR in vitro yöntemdir. 1985’li yıllarda araştırmacılar tarafından geliştirilmesinin ardından moleküler biyolojik araştırmalarda ve birçok hastalığın moleküler düzeyde tanısı için klinik tıpta hızla kullanılmaya başlanmıştır (Temizkan ve Arda, 2004).

Bir DNA dizisinin büyük miktarlarda hazırlanması için kullanılan PCR metodu, DNA’nın çoğaltılması işlemidir. Bununla birlikte, kaynak DNA sınırlı miktarda ya da saf değilse, PCR metodu çalışma daha hızlı ve daha seçici olacaktır. PCR, herhangi bir DNA parçasının hücreyi kullanmadan kısa bir sürede çoğaltılabildiği bir tekniktir. DNA özel bir DNA polimerazın, nükleotidlerin ve DNA sentezinde primer olarak kullanılan sentetik tek zincirli kısa DNA parçalarının bulunduğu bir PCR tüpü içerisinde inkübe edilir (Reece vd., 2011).

PCR ile istenilen genlerin ya da DNA dizilerinin jenerasyonlara bağlı replikasyonu, hızlı bir şekilde gerçekleştirilir. Aynen doğal hücre bölünmesinde olduğu gibi, PCR replikasyon sürecini taklit eder ve yaklaşık 30 jenerasyon sonra seçilmiş bir DNA dizisinin aşağı yukarı milyar katını kopyalar (Temizkan ve Arda, 2004).

PCR ürünlerinin analizi ile genellikle üç çeşit bilgi edinilebilir:

1. Hedef DNA dizisinin varlığının ve taşıdığı varyasyonun belirlenmesi
2. Başlangıç materyali olarak kullanılan DNA ya da RNA’nın kabaca ya da kesin miktarının belirlenmesi için çoğaltılmış PCR ürününün miktarının ölçülmesi

3. Dizi analizi

PCR’da üç adım vardır.

a) Denatürasyon (Denaturation) :Çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. Çift zincirli DNA’nın 92-95°C’de ısıtılması onu tek zincirli hale getirerek denatüre eder (genellikle yaklaşık 1 dakika süreyle).

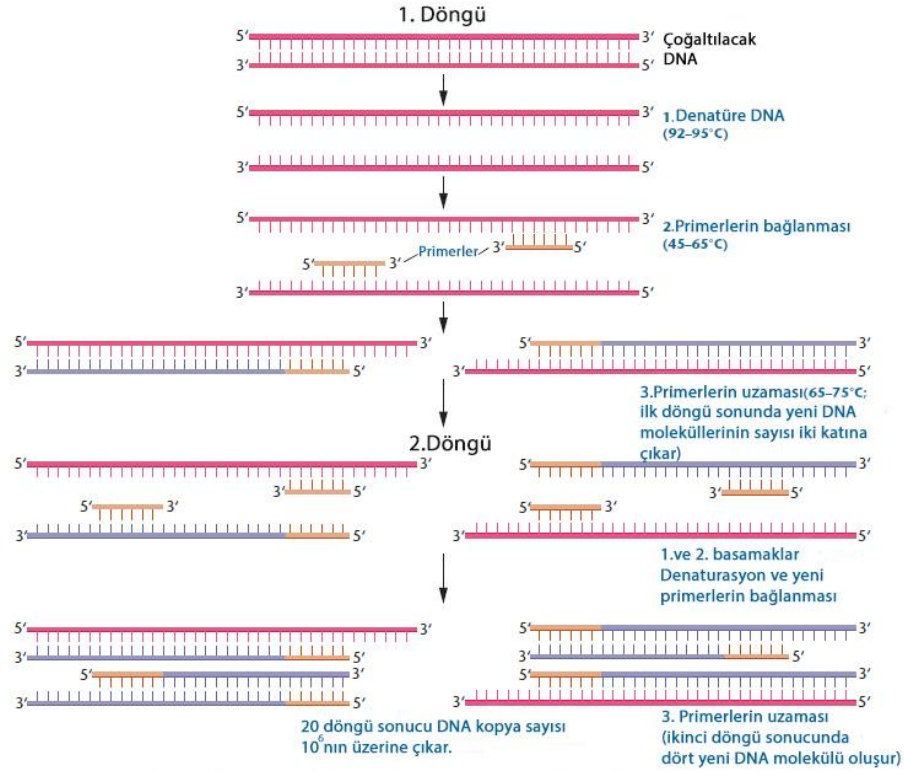
b) Hibridizasyon (Hybridization/Annealing) :Sıcaklık 45°C ila 65°C arasında bir değere düşürülür. Birleşme (annealing) sıcaklığında primerler tek zincirli DNA molekülüne bağlanır. Primerler yapay oligonükleotitlerdir (15-30 nükleotit uzunluğunda) ve çoğaltılacak hedef DNA'nın uçlarındaki dizilere eşleniktir (komplementer). Primerler, kalıp DNA'nın sentezi için başlangıç noktası olarak görev yaparlar.

c) Uzama (Extension) :DNA polimerazın ısıya dayanıklı formu (Taq polimeraz) reaksiyon karışımına ilave edilir. DNA sentezi 65°C ila 75°C arasındaki sıcaklıklarda gerçekleşir. Taq polimeraz, nükleotitleri 5' den 3' ne doğru ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar ve hedef DNA'nın çift zincirli kopyasını yapar (Klug vd., 2012).

2.3.2. PCR'in uygulama alanları

PCR ile DNA klonlaması moleküler biyoloji ve genetikte en çok kullanılan tekniklerden birisidir. PCR yöntemi ile gen haritalaması çalışmalarında genetik belirteç (marker) olarak kullanılan ardışık tekrarlanan DNA dizi varyasyonları ve restriksiyon enzimi tanıma dizisi değişiklikleri kolayca saptanabilir. Gene-özümlü primerler, genomik DNA'daki mutasyonların taranması ve buna bağlı olarak da mutasyonun doğasının kolaylıkla saptanmasını sağlar. Primerler, aralarında tek bir nükleotit farkı olan hedef dizileri birbirinden ayıracak şekilde düzenlenebilir. Bu şekilde, genetik testler için allele özgü problemlerin oluşturulmasına olanak sağlanmaktadır. Rastgele primerler (random primers) DNA'yı ayırma yapmadan çoğaltır ve özellikle bilinen bir bölgeye komşu olan karakterize edilmemiş bir DNA bölgesini araştırmak için uygundur. PCR, belirli balina türlerine ait ürünlerin dünya çapında satılması yasağını uygulamak için ve saf kan köpeklerin soyağacı geçmişleri ile ilgili tartışmaları çözmek için de kullanılmaktadır (Klug vd., 2012).

PCR'da çoğaltılacak DNA denatüre edilir ve tek zincirli hale getirilir; her bir zincir daha sonra küçük tamamlayıcı primerler ile birleşir. Tek zincirli DNA'yı kalıp olarak kullanan DNA polimeraz enzimi, primerin 3' ucundan itibaren nükleotitleri ilave ederek primeri uzatır. Sonuçta primerin içinde bulunduğu yeni sentezlenmiş çift zincirli DNA molekülü oluşur. Tekrarlanan döngüler sonucu orijinal DNA dizisi milyon kattan daha fazla çoğalmış olur (Şekil 2.2) (Klug vd., 2012).



Şekil 2.2. PCR'da denatürasyon, hibridizasyon ve uzama aşamaları (Klug vd., 2012).

2.4. Kolon Mikroflorası

Sağlıklı bir erişkinin kalın barsak mikroflorasında 190 dan fazla cinse ait yaklaşık 300-400 farklı tür bulunmaktadır. Ancak bu mikrofloranın önemli bir kısmı kültür ortamında üretilmemektedir. Esas florayı (yaklaşık %98'i) 10^{10} - 10^{11} /gram düzeylerinde zorunlu anaeroblar; *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium* ve *Peptostreptococcus* cinsleri oluşturmaktadır. Enterik bakteriler, *Streptococcus* ve *Lactobacillus* türleri gibi fakültatif anaeroblar ise total canlı bakteri sayısının %0.1 i ile alt (subdominant) florayı (satellit flora) oluştururlar. Patojen olan *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *Pneumococcus* gibi bakteriler ve *Cryptococcus neoformans* gibi mantarlar normalde insan florasında bulunmazlar. Potansiyel patojen olan *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium difficile* gibi organizmalar ise, flora antibiyotik gibi nedenlerle değişmediği sürece çok az sayıda bulunurlar (Turan ve Özütemiz, 2005).

2.4.1. Dışkı florası

Kolon florası ile karşılaştırıldığında dışkı florası kantitatif değişiklikler gösterir. Distal kolon mikroflorasının kalitatif göstergesidir. Ancak intestinal florayı, özellikle de ince barsak florasından farklıdır (Çizelge 2.2), (Turan ve Özütemiz, 2005).

Çizelge 2.2. Kalın barsak mikroflorasında bulunan başlıca organizma cins veya türleri (Turan ve Özütemiz, 2005).

Cins/tür	Log ₁₀ CFU/g	Gram Reaksiyonu - Morfolojisi
<i>Bacteroides spp.</i> <i>vulgatus</i> <i>thetaiotaomicron</i> <i>ovatus</i>	10 ¹⁰⁻¹¹	Anaerobik gram-negatif basil
<i>Eubacterium spp.</i> <i>contortum</i> <i>cylindroides</i> <i>lentum</i>	10 ¹⁰⁻¹¹	Anaerobik gram-pozitif basil
<i>Bifidobacterium spp.</i>	10 ¹⁰	Anaerobik gram-pozitif basil
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁹	Anaerobik gram-pozitif basil
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	10 ¹⁰	Gram-pozitif kok
<i>Ruminococcus spp.</i>	10 ¹⁰	Gram-pozitif kok
<i>Clostridium spp.</i> <i>bifermentas</i> <i>perfringes</i> <i>ramosum</i>	10 ⁷⁻¹⁰	Spor oluşturan gram-pozitif basil
<i>Enterococcus</i>	10 ⁸	Gram-pozitif kok
<i>Enterobacteriaceae</i>	10 ⁸	Fakültatif gram-negatif basil

2.4.2. Kolon kanseri ve barsak florası

Kolon kanserinin moleküler genetik mekanizmaları iyi bilinmektedir. Bunun dışında diyetinde sporadik kolon kanseri gelişiminde rolü olduğu tespit edilmiştir. Yüksek miktarda diyetel yağ ve kırmızı et tüketimi artmış riskle ilişkili bulunmuşken, sebze, meyve, balık ve kalsiyum tüketimi ise azalmış riskle ilişkilidir (Rafter ve Glinghammar, 1998; Bingham, 1999).

Diyetin karsinojenik süreç üzerindeki etkisi kalın barsak mikroflorasının metabolik aktivitesindeki ve kompozisyonundaki değişiklikler aracılığıyla olabilmektedir. İntestinal bakteriler karsinojen, kokarsinojen ve prokanserojenler üreterek kolon kanseri başlangıcında rol alabilirler. Diyetinde çok fazla yağ ve et tüketen sağlıklı kişilerde, genotoksik maddeler olarak bilinen N-nitroso bileşiklerinin dışkı ile atılımı ve insan dışkı suyunun genotoksik potansiyeli artar (Rieger vd., 1999; Hughes vd., 2001).

Bir diğerkarsinojen grup olan heterosiklik aromatik aminlerde özellikle etler pişirildiğinde oluşur. Bazı intestinal mikroorganizmalar, bu heterosiklik aminlerin yapmış olduğu DNA hasarını arttırırken, bir kısmı da bu bileşikleri alabilir ve detoksifiye edebilirler (Wollowski vd., 2001).

Bazı hayvan çalışmalarında, *Bacteroides* ve *Clostridium* cinslerinin kolon tümörlerinin insidansını ve büyüme hızlarını arttırdığı, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi bazı cinslerin ise tümör oluşumunu önlediği gösterilmiştir (Pool-Zobel vd., 1996; Horie vd., 1999).

Kolon kanseri riski yüksek popülasyonlarda yapılan bir intestinal flora çalışmasında, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides stercoris*, *Bifidobacterium longum* ve *Bifidobacterium angulatum* yüksek kolon kanseri riski ile ilişkili bulunmuş, ayrıca total *Bifidobacterium* konsantrasyonu da artmış riskle ilişkili olarak saptanmıştır (Moore ve Moore, 1995). Bu sonuç, bazı ticari şirketlerce öne sürülen, *Bifidobacterium* kültürlerinin alınmasının kolon kanserine karşı koruyucu olabileceği görüşüne aykırıdır. *Lactobacillus*, *Lactobacillus acidiphilus* ve *Eubacterium aerofaciens* türleri ise azalmış riskle ilişkilidir. Bu sonuçlara göre, kolon mikroflorası kolon kanser riskinin modüle edilmesinde temel çevresel faktörlerden biri olarak gözükmektedir.

2.4.2.1. Fusobacterium

Bacteroidaceae familyası içinde bulunan bir cinstir. Sporsuz, gram negatif, genellikle hareketsiz bazen de peritrih kirpikleri ile hareketli, anaerop basillerdir. *Fusobacterium* cinsi içinde en sık rastlanılan *Fusobacterium nucleatum*'dur. 3-10µm boyunda düz veya hafif bükük, uçları yuvarlak, büyükçe ortası şişkin ve uçları sivrilerek iç görünümü veren basillerdir. Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz, anaerop, adi besiyerlerinde üreyemeyen, serum, glikoz ve askorbik asit ilave edilmiş besiyerlerinde üreyebilir. *Fusobacterium* türleri genellikle fırsatçı patojenler olarak tanımlanırken insan normal florasında bulunan türleri de vardır. Bu türler *F.gonidiaformans*, *F.naviforma*, *F.sulci*, *F.peridonticum*, *F.necroform* ve *F.ulcerans* dır (www.mikrobiyoloji.org).

Fusobacterium un dışkı mikrobiyotasındaki artışı kolorektal kanserli hastalarda, muhtemelen kolorektal kanserin ön tanısında markır olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir. *Fusobacteria* filumunun ana bileşeni *Fusobacteriaceae*, kolorektal kanserli hastalarda önemli derecede zengin bulunmuştur (p=0.001) (Wu vd., 2013).

2.4.2.2. Bacteroides

Bacteroidaceae familyası içinde kötü kokulu enfeksiyonlar yapan sporsuz, gram negatif, peritrih kirpikleri ile hareketli basillerdir. Ağız, üst solunum yolları, genital organ mukozası ve bağırsak normal florasında bulunabilen bu bakteriler direnci kırılan kişilerde tek başlarına veya diğer aerop ve fakültatif anaerop bakterilerle birlikte doku haraplı abse, gangren ve sepsis gibi enfeksiyonlara neden olabilirler. Zorunlu anaeropturlar, bu bakteriler lesitinaz ve lipaz oluşturmazlar (Cengiz, 2004; www.mikrobiyoloji.org).

Bacteroides cinsi içinde en sık rastlanılan *Bacteroides fragilis* türüdür. Ağız ve kalın bağırsak normal mikroflorasında bulunur (Guarner ve Malagelada, 2003). 2-8 µm boyunda düz veya hafif bükük, uçları yuvarlak, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, gram negatif, anaerop, adi besiyerlerinde üreyemeyen, serumlu ve kanlı besiyerlerinde bile güçlkle üreyen gün ışığı, kuruluk ve antiseptikler karşısında çabuk ölen bakterilerdir(www.mikrobiyoloji.org).

Besiyerlerinde beklerken kolonileri kendi kendine eriyip parçalandığından bu bakterilere *fragil* adı verilmiştir. *B.fragilis*'e benzer karakterleri ve özellikle safraya olan dirençleri nedeniyle bu grup altında *B.distasonis*, *B.caccae*, *B.merdae*, *B.vulgatus*, *B.tetaitotaomicron* türleri bulunur. *B. fragilis* grubu dışında *B.splanchnicus*, *B.frosystus*, *B.peptinophilus* ve *B.salivosus* türleri bulunur (www.mikrobiyoloji.org).

Geçmiş 40 yılda yapılan araştırmalar ve klinik çalışmalar göstermiştir ki; *Bacteroides fragilis* temel simbiyotik olmakla birlikte sistemik, abdominal hastalıklarda ve kronik kolon hastalıklarında bazı durumlarda kapasitesi artar (Sears, 2012).

Gastrointestinal hastalıklardan kronik inflamasyonda, *Bacteroides fragilis* in önemli artışı ve kolorektal kanser için risk faktörü içermektedir. Goodwin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *Bacteroides fragilis* in kolon tümorigenezisini indüklediğini göstermişlerdir (Goodwin vd., 2011).

Yapılan bir çalışmada otistik çocukların dışkı örnekleri ile kontrol grubu karşılaştırılmış olup otistik çocuklarda *Bacteroides vulgatus* ve *Desulfovibrio* türleri daha yaygın görülmüştür (Finegold vd., 2010).

Kolon kanserli hastalarda dışkı florasında *Bacteroides* artışı, kolon kanserinde artan riski temsil etmektedir. *Bacteroides*, *Bifidobacterium* ve *Fusobacterium* daha baskın *Lactobacillus*, *Enterococci* ve *Enterobacteria* daha az baskın gözlenmektedir (Vargo vd., 1980). Dahası, *Bacteroides* ve *Clostridium* cinsi hayvanlarda kolonik tümörlerin büyüme insidansını

arttırırken, diğer yandan *Lactobacillus* ve *Bifidobacteria* cinsi tümörigeneziste koruyucudur (Ojetti vd., 2009).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali

Deneylerde yetişkin (350-400 g) Sprague-Dawley cinsi 27 adet erkek sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanı çalışmaları Dumlupınar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin (DPÜ HADYEK 11.02.2015 tarih ve 2015.02.04 karar no) alındıktan sonra, Deney Hayvanları Yetiştirme Araştırma ve Uygulama Merkezi laboratuvarında yürütülmüştür. Sıçanlar standart koşullarda (iyi havalandırılmış odalar, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık periyodu), standart sanayi pelet yemleri ve çeşme suyu ile ad-libidum olarak beslenmiştir. Deney hayvanlarının düzenli olarak iki günde bir canlı ağırlık ölçümü yapılmıştır.

3.1.2. Denemede kullanılan araç ve gereçler

3.1.2.1. Kafesler

Kafesler ve suluk polietilen malzemedendir. Altlık malzemesi olarak tozsuz talaş kullanılmıştır.

3.1.2.2. Kullanılan sarf ve kimyasal malzemeler

Çizelge 3.1. Kullanılan sarf ve kimyasal malzemeler.

Sarf ve Kimyasal Malzemeler	Markası
PCR tüpü 0,2 ml	
Eppendorf Tüpü 2 ml	Marienfeld
Pipet ucu 0,5-10 µL,10-100 µL,100-1000µL	VWR Collection
Formaldehit	Baker
Dietileter	Fisher
Peptonlu Su	Merck
Hematoksilen	Baker
Eozin	Merck
Ksilen	Baker
Boncuk parafin	
Entellan	Merck
Cerrahi ve anatomik numuneler için kap	LpItaliana
Lam ve Lamel	SailingBoat
Doku Takip Kasedi	Marienfeld
Mikrotom Bıçağı	Patolab
Penset Sivri Uçlu ve Küt Uçlu	Fentex
Diseksiyon Makası	
Bisturi Ucu ve Sapı	Tks-Web
MassonTrikróm Boyama Seti	
EO.ME Blue Agar W/Lactose ve Sucrose	Biolife

3.1.2.3. Kullanılan cihaz ve aletler

Çizelge 3.2. Kullanılan cihaz ve aletler.

Kullanılan Cihaz	Markası
1800 MHz GSM Simülatör Sistemi	
EMR 300	Narda
Ultra Saf Su Cihazı	Millipore
Soğutmalı Santrifüj	Sigma
Soğutmalı Homojenizatör	Analytik Jena
RT-PCR Cihazı	Lightcycler 480-roche
Nanodrop	Maestrogen
Derin Dondurucu(-80°C)	Esco
Buzdolabı	Beko
Vorteks	Biosan Combi Spin-Fvl-2400N
Manyetik Alan Ölçüm Cihazı	Narda
Elektronik Hayvan Tartım Terazisi	Kern
Işık Mikroskobu	Nikon
Pastör Fırını	FN-400, Nuve
Mikrotom	Finesse E, Thermo Shandon Ltd.
Kuru Isı Bloğu	Stuart
Biyogüvenlik Kabini	Class II
Otoklav	Nüve
Hassas Terazi	Ohaus
Otomatik Pipet	GilsonPipetman, DiscoveryComfort
Benmari	Memmert
Etüv	Nüve

3.1.2.4. Real time PCR analizinde kullanılan kimyasal maddeler

Real Time PCR analizlerinde LightCycler 480 cihazına uygun Roche marka High Pure PCR Template Preparation Kiti (Version 20) kullanılarak dışkıdan ve dokudan template DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Roche marka LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe (Version 15) kiti kullanılarak Tp53 ve KRAS primerleri çalışılmıştır.

TIB MOLBIOL marka TP53 Exon 1 (noncoding) (rs numarası:8151917) ve KRAS (rs numarası:198298778) primerleri kullanılmıştır.

RatTP53 SP [C]:5'-TAGCgACTXIACAgTTAgCgggTA- - PH

RatTP53-R: 5'-CgggCCCggATgCCAg

RatTP53-F: 5'-gCTAAAgTTCTgAAgCTCCAg

RatKRAS SP [G]: 5'-TTAAAATAXITCAgTgTCCCAgAgCT- -PH

Rat KRAS-R: 5'-gTgCTCTTAACCACTgAgCCA

RatKRAS-F: 5'-gCCTgCTgTgAAAgCCA

Bacteroides ve *Fusobacterium* tespitinde ise, Roche marka LightCycler 480 SYBR Green I Master (Version 12) kiti kullanılarak *Bacteroides* ve *Fusobacterium* primerleri ile çalışılmıştır.

PZR BioTech *Bacteroides* primerleri kullanılmıştır.

Bacteroides P R: 5'-CGG TGA TTG GTC ACT GAC A-3'

Bacteroides P F: 5'-GAA AGC ATT AAG TAT TCC ACC TG-3'

IDT marka *Fusobacterium* primerleri kullanılmıştır.

Fusobacterium P R: 5'-GGC ATT CCT ACA AAT ATC TAC GAA-3'

Fusobacterium P F: 5'-GGA TTT ATT GGG CGT AAA GC-3'

3.2. Metot

3.2.1. Deney grupları

Elektromanyetik alan grubu (n=15): Bu gruptaki sıçanlar 90 gün süre ile günde 45 dakika 1800 MHz elektromanyetik alana maruz bırakılmıştır.

Sham grubu (n=6): Bu gruptaki sıçanlar elektromanyetik alana maruz bırakılmaksızın deney grubundaki gibi 3 ay süre ile 45 dk elektromanyetik alan düzeneğinde bekletilmişlerdir.

Kontrol grubu (n=6): Bu gruptaki sıçanlar elektromanyetik alan uygulama esnasında ayrı odada tutulmuştur.

3.2.2. Manyetik alan uygulama metodu

1800 MHz RF radyasyonu oluşturmak için bir elektromanyetik enerji jeneratörü kullanılmıştır. Bu kaynak 1750-1850 MHz bant genişlikli, darbeleri 217 Hz dijital modülasyonlu ve 0-10W ayarlı çıkış güçlüdür (Şekil 3.1) (1800 MHz GSM Simülatör Sistemi, Set Telekomünikasyon, Adapazarı, TÜRKİYE).

Elektromanyetik alan düzeneği herhangi başka bir cihazdan etkilenmeyecek şekilde Deney Hayvanları Yetiştirme, Araştırma ve Uygulama Merkezi'ndeki boş bir test odasına kurulmuştur (Karaca vd., 2012). Uygulama sırasında deney grubundaki hayvanlar bu odaya taşınmıştır. Bu şekilde diğer hayvanların elektromanyetik alandan etkilenmeleri de önlenmiştir.

Elektromanyetik alan uygulamasına başlamadan önce sıçanlar bir hafta süre ile deney düzeneğine alıştırmışlardır. Böylelikle deneyler esnasında strese girmeleri önlenmiştir.

Deney başlangıcında düzenek etrafındaki elektromanyetik alan pulse 4 W olarak ayarlanmış, 1800 MHz bandında ölçülmüş ve 10 e/V olarak belirlenmiştir. EMR Narda ile ölçümler deney esnasında da tekrarlanmıştır ve aynı sayısal sonuçlar elde edilmiştir. Deney düzeneğinin güç düzeyleri toplumsal amaçlarla kullanılan dijital cep telefonlarının gösterdiği etkiye benzer değerde tutulmuştur.

Elektromanyetik alan uygulama esnasında sıçanların her biri düzeneğin içindeki ayrı bölmelere yerleştirilmişlerdir. Tüm vücudun manyetik alandan etkilenebilmesi için sıçanların bulunduğu düzeneğe RF jeneratörüne bağlı bir dipol anten bağlanmıştır (Şekil 3.2). Sıçanların düzeneğin içindeyken strese girmelerini önlemek için düzeneğin içindeki havalandırmanın iyi olması gerekmektedir. Bu amaçla düzeneğin bölmelerine delikler açılarak içerisinin havalanması sağlanmıştır (Şekil 3.3). Deney grubundaki sıçanlar 12 hafta boyunca günde 45 dk (7 gün/hafta) elektromanyetik alana maruz kalmışlardır. Sham grubundaki sıçanlar ise aynı süre boyunca düzeneğe yerleştirilmişler fakat elektromanyetik alana maruz bırakılmamışlardır ve jeneratör kapalı konumda tutulmuştur. Sıçanlar 12 hafta sonunda kurban edilmişlerdir. Düzenekteki güç yoğunluğu EMR 300 (NARDA, Pfullingen, Germany) ile ölçülmüştür (Adıgüzel vd., 2008).



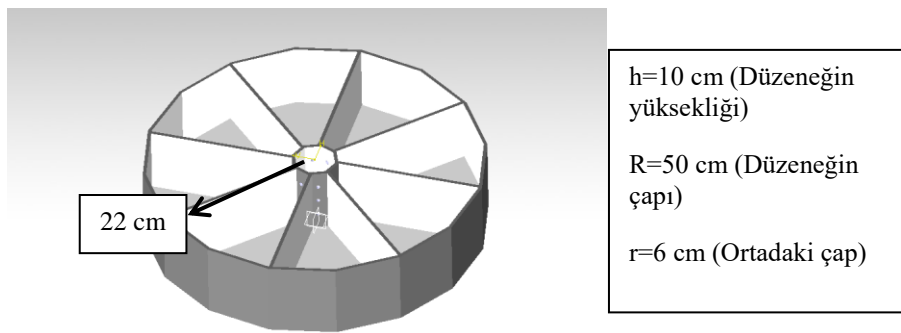
Şekil 3.1. RF jeneratörünün fotoğrafı.



Şekil 3.2. RF jeneratörüne bağlı bir dipol anten.



Şekil 3.3. 1800 MHz elektromanyetik alan uygulanırken düzeneğin içine yerleştirilmiş sıçanlar.



Şekil 3.4. Manyetik alan uygulama düzeneği.

3.2.3. Organların çıkarılması ve laboratuvar çalışmaları

Uygulama sonunda sıçanlar eter ile bayıldıktan sonra servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edilmişlerdir. Sıçanlardan kolon mikroflorasındaki bakterilerin tespiti için dışkı örnekleri alınmıştır. Dışkı örnekleri steril kaplarda peptonlu su ile muhafaza edilmiştir. Sıçanların kolon dokusu 5 eşit parçaya bölünüp 3 parça formaldehit solüsyonuna konulmuştur, 2 parçası kolon dokusundan DNA izolasyonu için -80 °C’de saklanmıştır.

3.2.4. Dışkıdan DNA izolasyonu

Kolonun içinden çıkan dışkı peptonlu su (ISO 6579 –Merck) içerisine konularak bakteri zenginleştirme işlemi yapılmıştır. Bakteri ekimi için EO.ME Blue Agar W/Lactose ve Sucrose (Biolife) hazırlanarak 121°C’de 15 dakika otoklavlanmıştır. Hazırlanan besiyeri steril petri kaplarına dökülerek peptonlu su içerisindeki dışkı numunesinden eküvyon yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekilen bakteriler 96 saat 37°C’de inkübe edilmiştir (Toprak vd., 2006).

Besiyerinde çoğalan bakterilerden High Pure PCR Template Preparation Kiti ile (Versiyon 20, Roche) prosedürlere uygun olarak bakteri DNA’ları izole edilmiştir. Elde edilen dışkı DNA’sının miktarı doublestrand (ds) DNA olarak nanodrop spektrofotometre ile ölçülmüştür. İzole edilen DNA’lar kullanılmaya kadar -20°C’de saklanmıştır.

3.2.5. Kolon mikroflorasında Real-Time PCR analizi ile *Fusobacterium* tespiti

Dışkıda bakteri tespiti için, dışkı DNA’sı real-time quantitative PCR (RT-qPCR) ile analiz edilmiştir. Quantitative PCR, Roche marka SYBR Green I PCR Master Versiyon 12 (katalog no:04 707 516 001) kullanılarak prosedürlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için aşağıda dizilimi verilmiş olan özel üretim primerler kullanılmıştır. Elde edilen veriler LightCycler 480 Instrument Software Version 1.5.1 kullanılarak analiz edilmiştir.

***Fusobacterium* Primeri (Forward):** 5'- GGA TTT ATT GGG CGT AAA GC -3' (IDT-Integrated DNA Technologies, ref.no. 68875457) (Wu N., vd., 2013).

***Fusobacterium* Primeri (Reverse):** 5'- GGC ATT CCT ACA AAT ATC TAC GAA -3' IDT-Integrated DNA Technologies, ref.no. 68875458) (Wu N., vd., 2013).

PCR mix hacmi 7,5 µL olacak şekilde, PCR-grade su 1,5 µL, Primer F (10 x conc.) 0,5 µL, Primer R (10 x conc.) 0,5 µL, Master mix 5 µL hazırlanmıştır. 2,5 DNA template eklenmiş olup toplam hacim 10 µL olmuştur.

Çizelge 3.3. *Fusobacterium* tespiti için RT-qPCR çalışma protokolü.

Program	Döngü		Analiz Modu	
Pre-Incubation	1		None	
Amplification	45		Quantification	
Melting Curve	1		Melting Curves	
Cooling	1		None	
Target (°C)	AcquisitionMod	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)
Pre-Incubation				
95	None	00:05:00	4.4	-
Amplification				
95	None	00:00:10	4.4	-
60	None	00:00:05	2.2	-
72	Single	00:00:05	4.4	-
Melting Curve				
95	None	00:00:05	4.4	-
65	None	00:01:00	2.2	-
97	Continuous	-	-	5
Cooling				
40	None	00:00:10	1.5	-

3.2.6. Kolon mikroflorasında *Bacteroides* tespiti

Dışkıda bakteri tespiti için, dışkı DNA'sı real-time quantitative PCR (RT-qPCR) ile analiz edilmiştir. Quantitative PCR, Roche marka SYBR Green I PCR Master Versiyon 12 (katalog no:04 707 516 001) kullanılarak prosedürlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için aşağıda dizilimi verilmiş olan özel üretim primerler kullanılmıştır. Elde edilen veriler LightCycler 480 Instrument Software Version 1.5.1 kullanılarak analiz edilmiştir.

***Bacteroides* Primeri (Forward):** 5'- GAA AGC ATT AAG TAT TCC ACC TG -3' (PZR BioTech)

***Bacteroides* Primeri (Reverse):** 5'- CGG TGA TTG GTC ACT GAC A -3' 3' (PZR BioTech) (Balamurugan, vd., 2008).

PCR mix hacmi 7 µL olacak şekilde, PCR-grade su 1 µL, Primer F (10 x conc.) 0,5 µL, Primer R (10 x conc.) 0,5 µL, Master mix 5 µL hazırlanmıştır. 3 µL DNA template eklenmiş olup toplam hacim 10 µL olmuştur.

Çizelge 3.4. *Bacteroides* tespiti için RT-qPCR çalışma protokolü.

Program	Döngü		Analiz Modu	
Pre-Incubation	1		None	
Amplification	45		Quantification	
Melting Curve	1		Melting Curves	
Cooling	1		None	
Target (°C)	Acquisition Mod	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)
Pre-Incubation				
95	None	00:05:00	4.4	-
Amplification				
95	None	00:00:10	4.4	-
58	None	00:00:05	2.2	-
72	Single	00:00:05	4.4	-
MeltingCurve				
95	None	00:00:05	4.4	-
65	None	00:01:00	2.2	-
97	Continuous	-	-	5
Cooling				
40	None	00:00:10	1.5	-

3.2.7. Kolon dokusundan DNA izolasyonu

DNA izolasyonu öncesinde kolon dokuları homojenizatör ile homojenize edilmiştir. Homojenize edilen kolon dokusundan, High Pure PCR Template Preparation Kit (Versiyon 20,Roche) kullanılarak DNA izole edilmiştir. Elde edilen DNA konsantrasyonları nanodrop spektrofotometresi ile tespit edildikten sonra -80°C’de saklanmıştır.

3.2.8. Kolon dokusunda KRAS mutasyon analizi

Kolon dokusunda KRAS mutasyonunun (Intron 4, rs 198298778) tespiti için, kolon DNA’sı real-time quantitative PCR (RT-qPCR) ile analiz edilmiştir. Quantitative PCR, Roche marka LightCyclerFastStart DNA Master HybProbe Versiyon 15 (katolog no:03 003 248 001) kullanılarak prosedürlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için aşağıda dizilimi verilmiş olan özel üretim primerler kullanılmıştır. Elde edilen veriler LightCycler 480 Instrument Software Version 1.5.1 kullanılarak analiz edilmiştir.

Rat KRAS SP [G]: 5'-TTAAAATAXITCAgTgTCCCAgAgCT- -PH

Rat KRAS-R: 5'-gTgCTCTTAACCACTgAgCCA

Rat KRAS-F: 5'-gCCTgCTgTgAAAgCCA

PCR mix hacmi 18 µL olacak şekilde, PCR-grade su 11,9 µL, MgCl₂ 1,6 µL, Primer F (10 x conc.) 1 µL, Primer R (10 x conc.) 1 µL, HyProbe Probe mix (10 x con.) 0,5 µL hazırlanmıştır. 2 µL DNA template eklenmiş olup toplam hacim 20 µL olmuştur.

Çizelge 3.5. KRAS mutasyonunun tespiti için RT-qPCR çalışma protokolü.

Analiz Modu	Cycles	Segment	Target Tempaure	Hold time	Acquisition Mode
PreIncubation					
None	1		95 °C	10 dk	None
Amplification					
Quantification	45	Denaturation	95 °C	10 s	None
		Annealing	57 °C	15 s	Single
		Extension	72 °C	10 s	None
Melting Curve					
Melting Curves	1	Denaturation	95 °C	30 s	None
		Annealing	40 °C	2 dk	None
		Extension	85 °C		Continuous
Cooling					
None	1		40 °C	30 s	None

3.2.9. Kolon dokusunda Tp53 mutasyon analizi

Kolon dokusunda Tp53 mutasyonunun (Exon 1 non coding, rs 8151917) tespiti için, kolon DNA'sı real-time quantitative PCR (RT-qPCR) ile analiz edilmiştir. Quantitative PCR, Roche marka Light Cycler Fast Start DNA Master HybProbe Versiyon 15 (katolog no:03 003 248 001) kullanılarak prosedürlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için aşağıda dizilimi verilmiş olan özel üretim primerler kullanılmıştır. Elde edilen veriler LightCycler 480 Instrument Software Version 1.5.1 kullanılarak analiz edilmiştir.

RatTP53 SP [C]:5'-TAGCgACTXIACAgTTAgCgggTA- - PH

RatTP53-R: 5'-CgggCCCggATgCCA

RatTP53-F: 5'-gCTAAAgTTCTgAAgCTCCA

PCR mix hacmi 18 µL olacak şekilde, PCR-grade su 11,9 µL, MgCl₂ 1,6 µL, Primer F (10 x conc.) 1 µL, Primer R (10 x conc.) 1 µL, HyProbe Probe mix (10 x con.) 0,5 µL hazırlanmıştır. 2µL DNA template eklenmiş olup toplam hacim 20 µL olmuştur.

Çizelge 3.6. Tp53 mutasyonunun tespiti için RT-qPCR protokolü.

Analiz Modu	Cycles	Segment	Target Tempaure	Hold time	Acquisition Mode
PreIncubation					
None	1		95 °C	10 dk	None
Amplification					
Quantification	45	Denaturation	95 °C	10 s	None
		Annealing	58 °C	15 s	Single
		Extension	72 °C	10 s	None
MeltingCurve					
MeltingCurves	1	Denaturation	95 °C	30 s	None
		Annealing	40 °C	2 dk	None
		Extension	85 °C		Continuous
Cooling					
None	1		40 °C	30 s	None

3.2.10. Kolon dokusundan histolojik preparat hazırlanması

Histopatolojik inceleme için % 4 paraformaldehit solüsyonu ile fikse edilen dokular rutin parafin takibinden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Parafin bloklardan mikrotomda 5-10 µm kalınlığında kesitler alındı. Dokulara hücre ve bağ doku hasarı, hücre infiltrasyonu ve lezyon histopatolojik incelemesi ile hücre sayımı için Masson trikrom boyaması uygulandı. Boyamalar mikroskopta incelenerek fotoğraflandı ve görüntü analiz programıyla analiz edildi (Kokturk, vd, 2013a; Kokturk, vd., 2013b; Hirano, vd., 2014).

Hayvanların dokuları çıkartıldıktan sonra % 4 paraformaldehit solüsyonunda tespit edildi. Dokular daha sonra artan etanol serisinden geçirilerek suyu alınıp, ksilende seffaflandırılıp, parafinde sertleştirildikten sonra parafin kalıplara döküldü.

Aşağıda belirtilen rutin ışık mikroskopi takip yöntemi kullanılarak parafin bloklar elde edildi;

1. Fikse edilmiş dokular akan musluk suyunda 4-5 saat yıkandı,
2. Oda sıcaklığında % 70, % 80, % 95, % 100 alkolde 45 dakika,
3. Oda sıcaklığında iki kez % 100 alkolde 60 dakika,

4. Oda sıcaklığında iki kez toluolde 15 dakika,
5. Etüvde yaklaşık olarak 40-45 °C de sıvı parafinde 60 dakika,
6. Etüvde yaklaşık olarak 56-60 °C de iki kez katı parafinde 60 dakika, bekletildikten sonra döküm kalıplarında parafin bloklar elde edildi.

3.2.10.1. Masson trikrom boyaması

Reaktifler

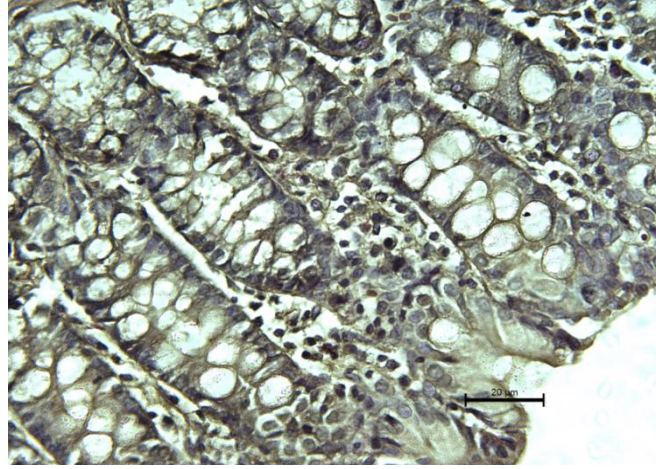
1. Weighert demir hematoksilen çözeltisi
2. Biebrich Scarlet-asit fuksin çözeltisi
3. Fosfomolibdik-fosfotungstik asit çözeltisi
4. Anilin mavisi çözeltisi
5. Asetik asit çözeltisi

Parafin doku kalıplarından, 5 µm kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Kesitler 24 saat 45 °C'de etüvde bekletildi. Kesitler ksilende bekletilerek parafini giderildikten sonra azalan ethanol serisi ve saf sudan geçirildi ve boyamaya alındı.

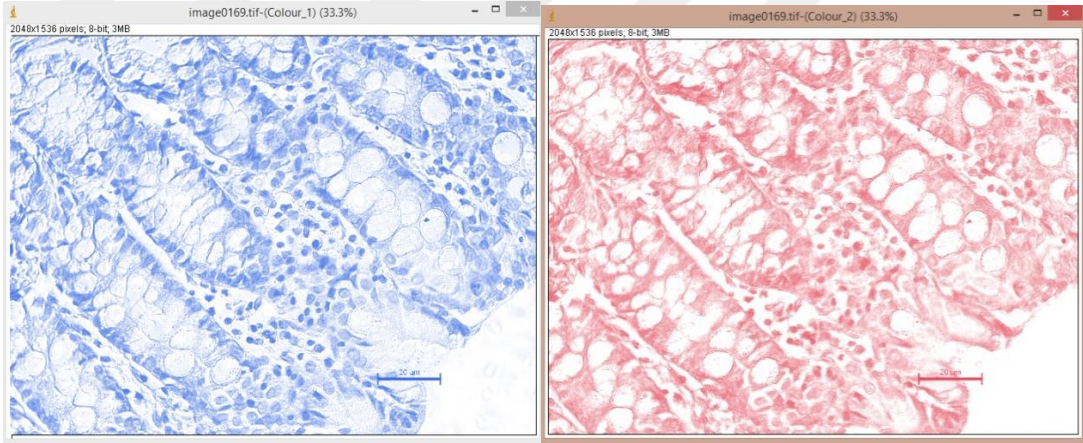
1. Weighert demir hematoksilen çözeltisinde 10 dakika tutuldu.
2. Akan musluk suyunda 10 dakika yıkandı.
3. Distile suda yıkandı.
4. Biebrich Scarlet-asit fuksin çözeltisinde 15 dakika boyandı.
5. Distile suda yıkandı.
6. Fosfomolibdik-fosfotungstik asit çözeltisinde 15 dakika tutuldu.
7. Kesitler dogrudan anilin mavisi çözeltisine alınıp 5 dakika boyandı.
8. Distile suda yıkandı.
9. Asetik asit çözeltisinde 1 dakika tutuldu ve distile suda yıkandı.
10. % 95 etil alkol ve % 100 etil alkolden hızla geçirilip ksilene alındı ve lamelle kapatıldı (Topdag, vd., 2014).

3.2.11. Işık mikroskobu ile kolon dokusu analizleri

Boyanan kesitler kapatma ortamıyla kapatılarak Leica DMI2500 mikroskobuyla fotoğraflandırıldı ve kaydedildi. Görüntü J analiz programında 8-bit'lik Masson trikrom boyanmış kolon kesitlerine renk dekonvolüsyon işlemi uygulandı (Şekil 3.6). Her grupta yer alan hayvanlardan x40 büyütmede elde edilen 3 ayrı görüntüyerenk dekonvolüsyon işlemi uygulandı (Lesack ve Naugler, 2012; Hirano, vd, 2014; Varghese, vd., 2014). Renk dekonvolüsyon işlemi sonrasında elde edilen algoritmalar istatistiksel olarak değerlendirildi.



(a)



(b)

(c)

Şekil 3.5. Görüntü J analiz programında renk dekonvolüsyonu ile Masson boyaması 2 renge bölündü. (a) Orjinal masson trikrom boyama. (b) Anilin mavisi ile kollajen boyanması, (c) Biebrich scarlet ile kırmızı sitoplazma boyanması.

3.2.12. Goblet hücre sayımı

Her gruptaki hayvanlarda (n=6) mukozadan x40 büyütmede 60 μm 'lik rastgele seçilen 3 alanda yer alan Goblet hücre sayısı saptandı (Kokturk vd., 2013b).

3.2.13. İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirme için SPSS programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post-hoc TUKEY testi kullanıldı. Histopatolojik sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi ($P < 0.05$).

4. SONUÇLAR

4.1. SNP Analizi Sonuçları

4.1.1. KRAS sonuçları

KRAS yabanıl (wild) tip 52,7 °C, [T→A] 56,1 °C, heterozigot 52,7 °C-56,1 °C de gözlenmektedir. Sonuçlarda tüm örneklerin yabanıl tip olduğu bulunmuştur (Şekil 4.1, 4.2).

Tm Calling for kras (Tm Calling)

Settings

Channel	465-510	Color Compensation	Off
Program	melting curve		
Show Shoulders	False	Chemistry	HybProbe
		Max Peaks	2
Subset Name	kras		

Results

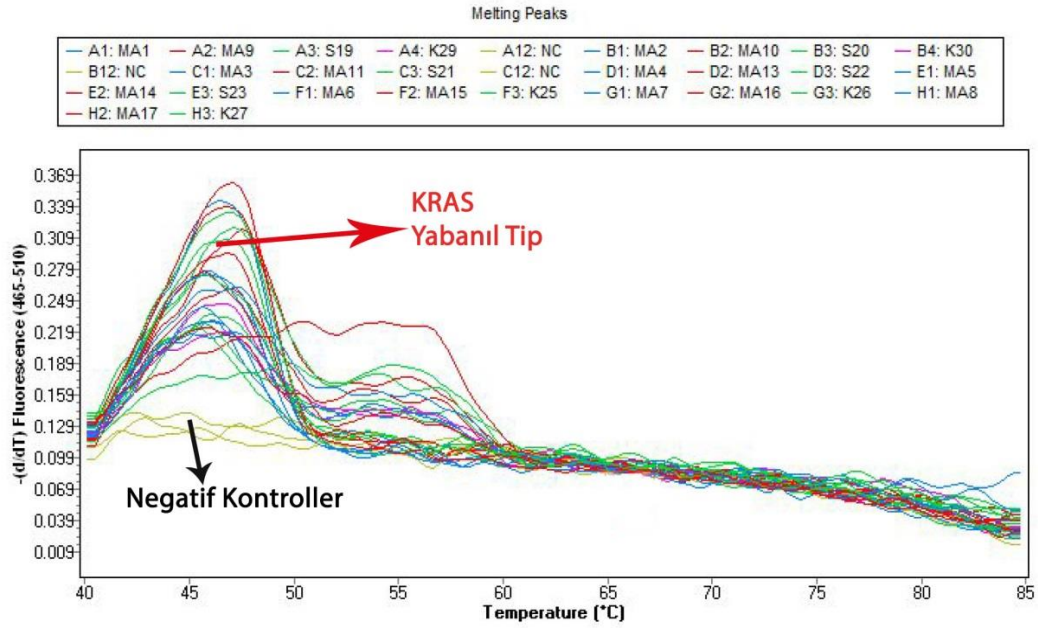
Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2				Status
			Tm	Area	Width	Height	Tm	Area	Width	Height	
<input checked="" type="checkbox"/>	A1	MA1	45.95	1.51	8.63	0.17					*
<input checked="" type="checkbox"/>	A2	MA9	45.71	1.73	10.73	0.16					*
<input checked="" type="checkbox"/>	A3	S19	46.76	2.04	15.87	0.13					*
<input checked="" type="checkbox"/>	A4	K29	45.87	1.80	15.56	0.12					*
<input checked="" type="checkbox"/>	A12	NC	43.04	1.03	16.89	0.06					*
<input checked="" type="checkbox"/>	B1	MA2	46.20	2.13	15.99	0.13					*
<input checked="" type="checkbox"/>	B2	MA10	47.01	2.36	15.76	0.15					*
<input checked="" type="checkbox"/>	B3	S20	45.14	1.66	14.85	0.11					*
<input checked="" type="checkbox"/>	B4	K30	46.76	2.22	15.86	0.14					*
<input checked="" type="checkbox"/>	B12	NC	45.14	1.23	17.12	0.07					*
<input checked="" type="checkbox"/>	C1	MA3	45.87	1.33	9.85	0.14					*
<input checked="" type="checkbox"/>	C2	MA11	47.41	2.77	14.76	0.19					*
<input checked="" type="checkbox"/>	C3	S21	46.76	2.64	14.38	0.18					*

Şekil 4.1. KRAS mutasyonu erime eğrisi (Tm) analiz sonuçları.

Results

Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2				Status
			Tm	Area	Width	Height	Tm	Area	Width	Height	
<input checked="" type="checkbox"/>	C12	NC	46.76	0.91	16.98	0.05					*
<input checked="" type="checkbox"/>	D1	MA4	45.71	1.64	8.85	0.19					*
<input checked="" type="checkbox"/>	D2	MA13	46.76	1.94	8.08	0.24					*
<input checked="" type="checkbox"/>	D3	S22	51.63	2.35	17.90	0.13					*
<input checked="" type="checkbox"/>	E1	MA5	45.95	2.11	15.94	0.13					*
<input checked="" type="checkbox"/>	E2	MA14	50.17	3.17	17.80	0.18					*
<input checked="" type="checkbox"/>	E3	S23	45.55	1.85	11.44	0.16					*
<input checked="" type="checkbox"/>	F1	MA6	45.79	1.54	13.21	0.12					*
<input checked="" type="checkbox"/>	F2	MA15	46.76	1.80	9.61	0.19					*
<input checked="" type="checkbox"/>	F3	K25	46.76	1.59	7.22	0.22					*
<input checked="" type="checkbox"/>	G1	MA7	46.76	1.83	7.04	0.26					*
<input checked="" type="checkbox"/>	G2	MA16	46.76	1.98	7.30	0.27					*
<input checked="" type="checkbox"/>	G3	K26	45.79	1.95	15.83	0.12					*
<input checked="" type="checkbox"/>	H1	MA8	46.76	2.30	15.03	0.15					*
<input checked="" type="checkbox"/>	H2	MA17	45.95	2.07	15.71	0.13					*
<input checked="" type="checkbox"/>	H3	K27	46.76	1.87	8.00	0.23					*

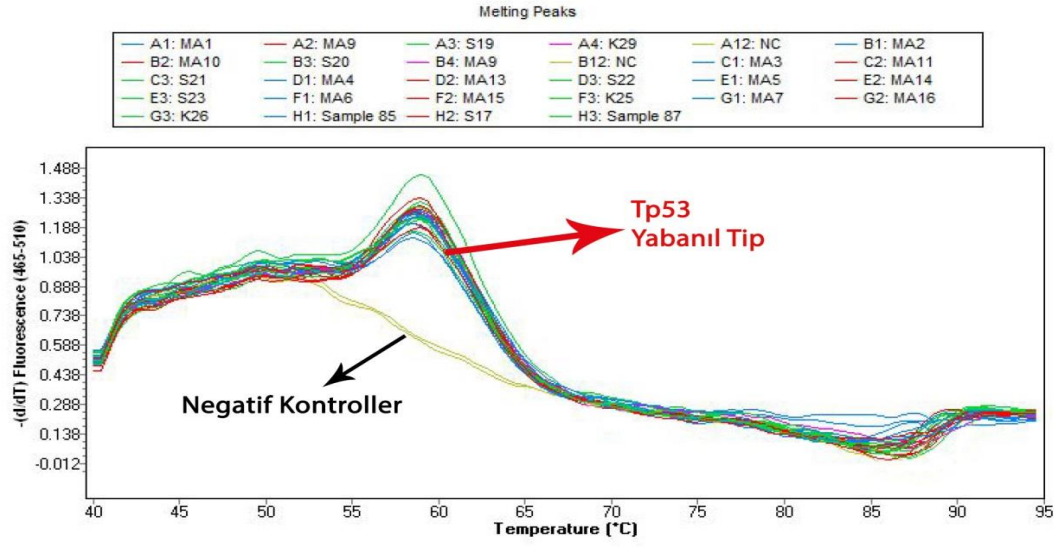
Şekil 4.1. KRAS mutasyonu erime eğrisi (Tm) analiz sonuçları (devamı).



Şekil 4.2. KRAS mutasyonu erime eğrisi (Tm) sonuçları.

4.1.2. Tp53 sonuçları

Tp53 yabancı tip 56,6 °C, [G→C] 57,6 °C, heterozigot 56,6 °C-57,6 °C de gözlenmektedir. Sonuçlarda tüm örneklerin yabancı tip olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3, 4.4, 4.5, 4.6).



Şekil 4.3. Tp53 mutasyonu erime eğrisi (Tm) sonuçları.

Settings

Channel	465-510	Color Compensation	Off
Program	melting curve		
Show Shoulders	False	Chemistry	HybProbe
		Max Peaks	2
Subset Name	p53		

Results

Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2				Status
			Tm	Area	Width	Height	Tm	Area	Width	Height	
<input checked="" type="checkbox"/>	A1	MA1	59.01	13.42	14.65	0.92					*
<input checked="" type="checkbox"/>	A2	MA9	58.75	14.10	15.50	0.91					*
<input checked="" type="checkbox"/>	A3	S19	58.66	14.31	15.37	0.93					*
<input checked="" type="checkbox"/>	A4	K29	58.75	14.37	14.43	1.00					*
<input checked="" type="checkbox"/>	A12	NC									
<input checked="" type="checkbox"/>	B1	MA2	58.57	14.67	16.48	0.89					*
<input checked="" type="checkbox"/>	B2	MA10	58.66	14.04	14.91	0.94					*
<input checked="" type="checkbox"/>	B3	S20	58.75	14.19	15.87	0.89					*
<input checked="" type="checkbox"/>	B4	MA9	58.75	14.02	14.76	0.95					*
<input checked="" type="checkbox"/>	B12	NC									
<input checked="" type="checkbox"/>	C1	MA3	58.57	14.25	16.46	0.87					*
<input checked="" type="checkbox"/>	C2	MA11	58.84	13.40	14.06	0.95					*
<input checked="" type="checkbox"/>	C3	S21	59.01	14.59	13.66	1.07					*
<input checked="" type="checkbox"/>	D1	MA4	58.66	14.09	15.06	0.94					*
<input checked="" type="checkbox"/>	D2	MA13	58.92	13.48	14.04	0.96					*
<input checked="" type="checkbox"/>	D3	S22	58.92	13.48	13.68	0.99					*
<input checked="" type="checkbox"/>	E1	MA5	58.66	14.31	15.12	0.95					*
<input checked="" type="checkbox"/>	E2	MA14	58.66	14.55	14.52	1.00					*
<input checked="" type="checkbox"/>	E3	S23	58.75	15.22	16.04	0.95					*
<input checked="" type="checkbox"/>	F1	MA6	58.31	15.59	16.58	0.94					*
<input checked="" type="checkbox"/>	F2	MA15	58.84	14.82	15.10	0.98					*
<input checked="" type="checkbox"/>	F3	K25	58.40	14.46	15.31	0.94					*
<input checked="" type="checkbox"/>	G1	MA7	58.75	13.93	14.46	0.96					*
<input checked="" type="checkbox"/>	G2	MA16	58.84	14.24	14.43	0.99					*
<input checked="" type="checkbox"/>	G3	K26	58.75	14.53	15.54	0.93					*
<input checked="" type="checkbox"/>	H1	Sample 85	59.01	12.93	14.35	0.90					*
<input checked="" type="checkbox"/>	H2	S17	58.84	14.50	16.01	0.91					*
<input checked="" type="checkbox"/>	H3	Sample 87	58.84	14.16	14.44	0.98					*

Şekil 4.4. Tp53 mutasyonu erime eğrisi (Tm) analiz sonuçları.

Abs Quant/2nd Derivative Max for p53 (Abs Quant/2nd Derivative Max)**Settings**

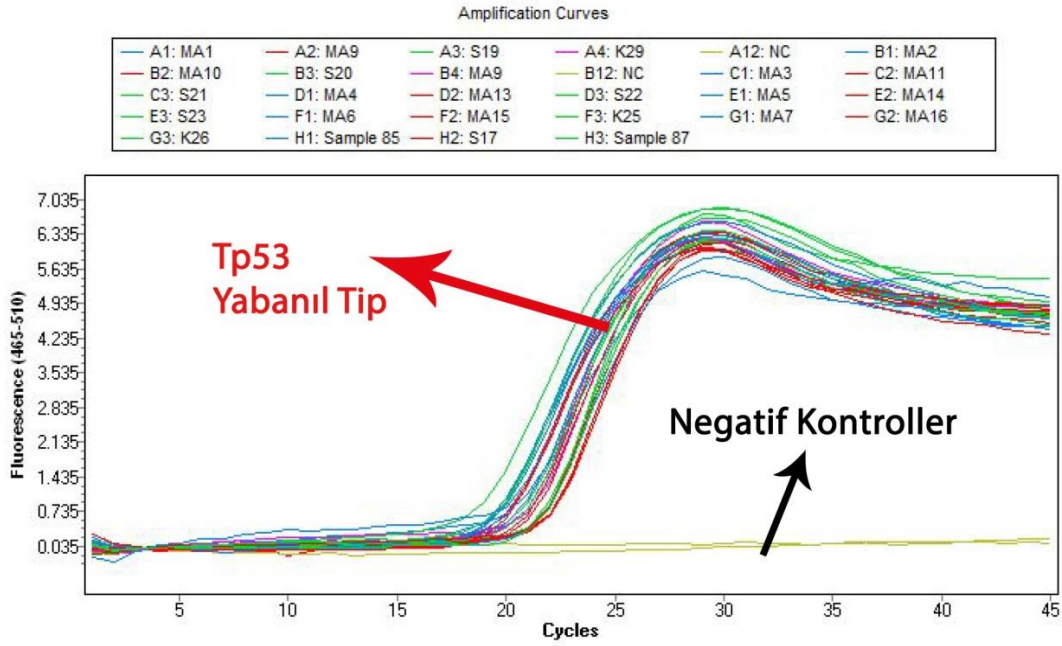
Channel	465-510
Color Compensation	Off
Program	amplification
Mode	High Confidence

Subset Name	p53
-------------	-----

Results

Inc	Pos	Name	Type	CP	Concentration	Standard	Status
<input checked="" type="checkbox"/>	A1	MA1	Unknown	20.09			
<input checked="" type="checkbox"/>	A2	MA9	Unknown	19.53			
<input checked="" type="checkbox"/>	A3	S19	Unknown	20.10			
<input checked="" type="checkbox"/>	A4	K29	Unknown	20.71			
<input checked="" type="checkbox"/>	A12	NC	Negative Control				
<input checked="" type="checkbox"/>	B1	MA2	Unknown	19.20			
<input checked="" type="checkbox"/>	B2	MA10	Unknown	20.58			
<input checked="" type="checkbox"/>	B3	S20	Unknown	18.63			
<input checked="" type="checkbox"/>	B4	MA9	Unknown	20.34			
<input checked="" type="checkbox"/>	B12	NC	Negative Control				
<input checked="" type="checkbox"/>	C1	MA3	Unknown	18.95			
<input checked="" type="checkbox"/>	C2	MA11	Unknown	21.45			
<input checked="" type="checkbox"/>	C3	S21	Unknown	21.18			
<input checked="" type="checkbox"/>	D1	MA4	Unknown	20.04			
<input checked="" type="checkbox"/>	D2	MA13	Unknown	21.54			
<input checked="" type="checkbox"/>	D3	S22	Unknown	20.91			
<input checked="" type="checkbox"/>	E1	MA5	Unknown	19.63			
<input checked="" type="checkbox"/>	E2	MA14	Unknown	21.07			
<input checked="" type="checkbox"/>	E3	S23	Unknown	19.45			
<input checked="" type="checkbox"/>	F1	MA6	Unknown	19.14			
<input checked="" type="checkbox"/>	F2	MA15	Unknown	20.33			
<input checked="" type="checkbox"/>	F3	K25	Unknown	20.29			
<input checked="" type="checkbox"/>	G1	MA7	Unknown	20.97			
<input checked="" type="checkbox"/>	G2	MA16	Unknown	21.48			
<input checked="" type="checkbox"/>	G3	K26	Unknown	19.23			
<input checked="" type="checkbox"/>	H1	Sample 85	Unknown	19.92			
<input checked="" type="checkbox"/>	H2	S17	Unknown	19.45			
<input checked="" type="checkbox"/>	H3	Sample 87	Unknown	21.05			

Şekil 4.5. Tp53 mutasyonu Abs Quant/2nd Derivative Max cp değerleri.



Şekil 4.6. Tp53 mutasyonu Abs Quant/2nd Derivative Max amplifikasyon eğrisi.

4.2. Bakteri Tespit Sonuçları

4.2.1. *Fusobacterium* sonuçları

18,00 cp sonuç alındığında 1.000.000 kopya bakteri olduğu, 25,00 cp sonuç alındığında ise 10.000 kopya bakteri olduğu bilinmektedir. Sonuçlarda elektromanyetik alan grubunda cp değerleri 12.17 ve 12.81 değerleri arasındadır. Sham grubu 28.13 ve 33.20 cp aralığındadır. Kontrol grubu 29.05 ve 39.07 cp değerleri aralığındadır (Şekil 4.7, 4.8). Elektromanyetik alan grubunda konsantrasyon 3.47×10^7 ve 5.32×10^7 arasındadır. Sham grubunda konsantrasyon 1.36×10^3 ve 6.44×10^1 değerleri arasındadır. Kontrol grubunda konsantrasyon 1.46×10^2 ve 7.67×10^1 değerleri arasındadır. Kontrol grubu ve negatif kontrol paralellik göstermektedir (Şekil 4.9).

Kontrol grubunda cp değeri 25,00 ten sonra görüldüğünden dolayı bakteri miktarı önemsiz kabul edilmiştir. Elektromanyetik alan grubunda cp 18,00 den önce görüldüğünden ve standart çalışmasıyla da paralellik gösterdiğinden bakteri miktarı diğer gruplara göre artış göstermiştir (Şekil 4.8).

Abs Quant/2nd Derivative Max for New Subset 1 (Abs Quant/2nd Derivative Max)
Settings

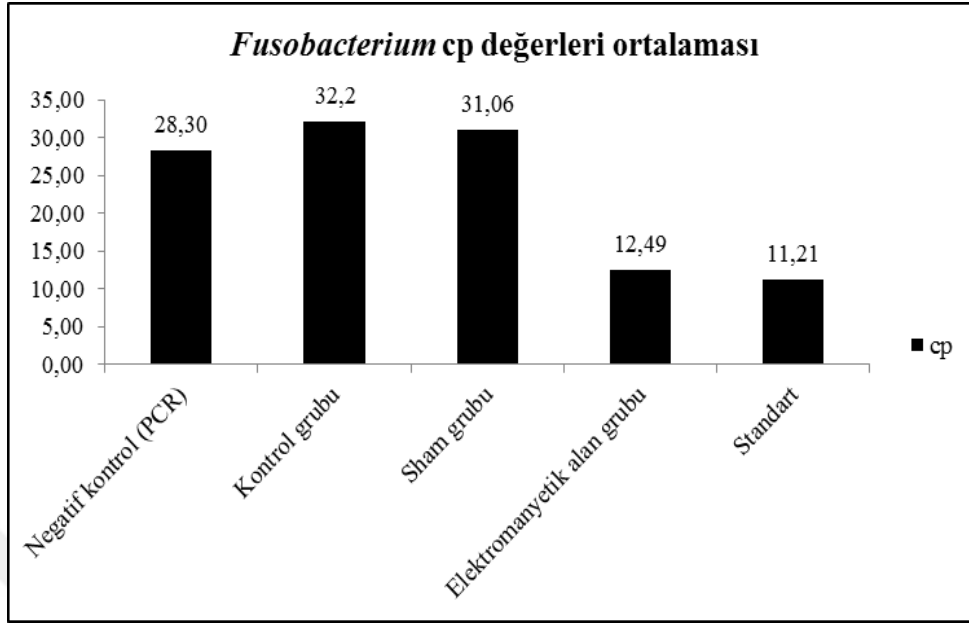
Channel	465-510
Color Compensation	Off
Program	Amplification
Mode	High Confidence

Subset Name	New Subset 1
-------------	--------------

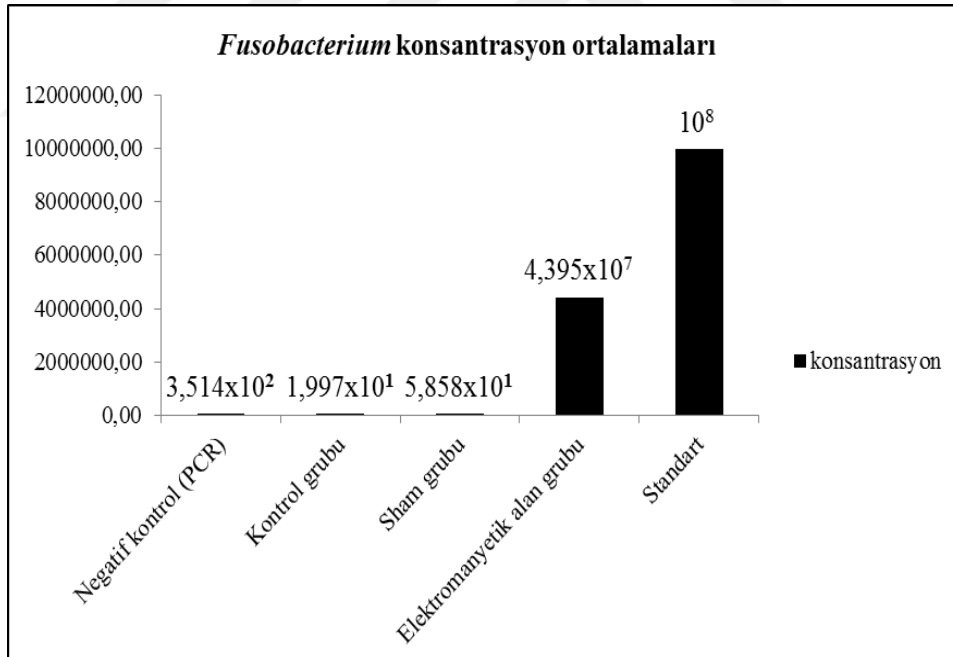
Results

Inc	Pos	Name	Type	CP	Concentration	Standard	Status
<input checked="" type="checkbox"/>	A1	MA1	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	A2	MA9	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	A5	S17	Unknown	33.00	5.58E-7		E
<input checked="" type="checkbox"/>	A8	K25	Unknown	32.52	7.67E-7		E
<input checked="" type="checkbox"/>	A12	NC	Negative Control	25.73	6.80E-5		
<input checked="" type="checkbox"/>	B1	MA2	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	B2	MA10	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	B5	S19	Unknown	32.78	6.44E-7		E
<input checked="" type="checkbox"/>	B8	K26	Unknown	34.07	2.76E-7		E
<input checked="" type="checkbox"/>	B12	NC	Negative Control	30.87	2.28E-6		
<input checked="" type="checkbox"/>	C1	MA3	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	C2	STD	Standard	11.21	1.00E0	1.00E0	
<input checked="" type="checkbox"/>	C5	S20	Unknown	33.20	4.88E-7		E
<input checked="" type="checkbox"/>	C8	K27	Unknown	31.54	1.46E-6		E
<input checked="" type="checkbox"/>	D1	MA4	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	D2	MA13	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	D5	S21	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	D8	K29	Unknown	33.83	3.23E-7		E
<input checked="" type="checkbox"/>	E1	MA5	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	E2	MA14	Unknown	12.17	5.32E-1		
<input checked="" type="checkbox"/>	E5	S22	Unknown	28.17	1.36E-5		E
<input checked="" type="checkbox"/>	E8	K30	Unknown	29.05	7.61E-6		E
<input checked="" type="checkbox"/>	F1	MA6	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	F2	MA15	Unknown	12.81	3.47E-1		
<input checked="" type="checkbox"/>	F5	S23	Unknown	28.13	1.40E-5		E
<input checked="" type="checkbox"/>	G1	MA7	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	G2	MA16	Unknown				
<input checked="" type="checkbox"/>	H1	MA8	Unknown				

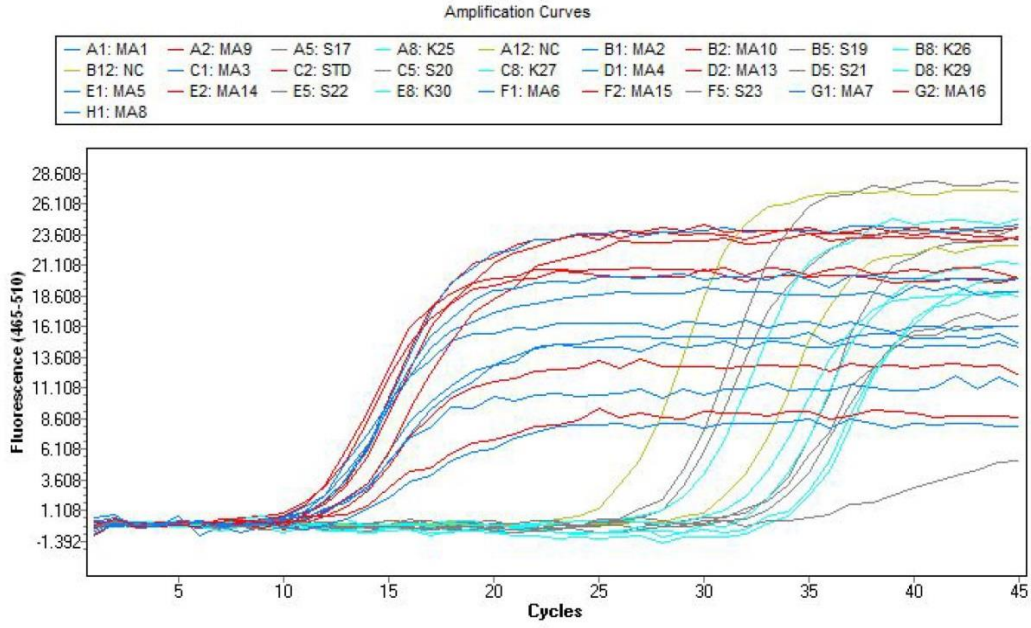
Şekil 4.7. *Fusobacterium* Abs Quant/2nd Derivative Max cp değerleri.



Şekil 4.8. *Fusobacterium* cp değerleri ortalaması grafiği.

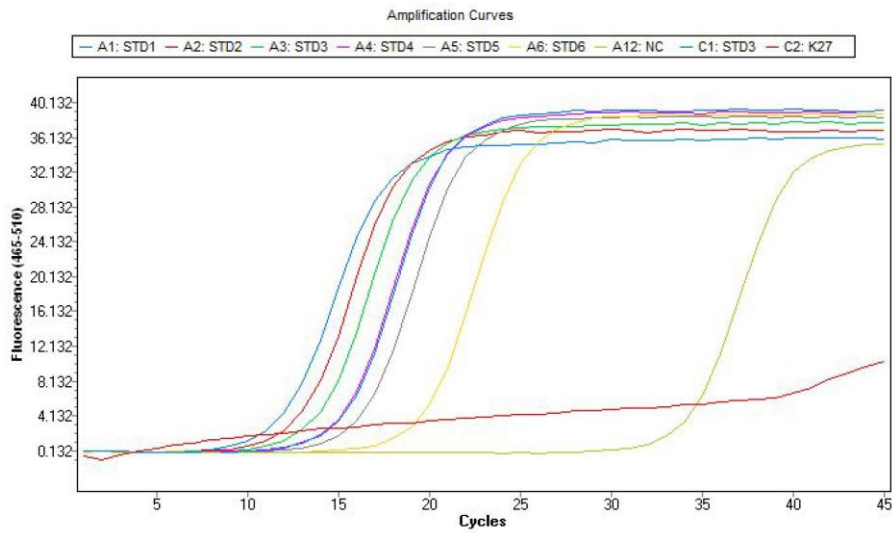


Şekil 4.9. *Fusobacterium* konsantrasyon değerleri ortalaması grafiği.



Şekil 4.10. *Fusobacterium* Abs Quant/2nd Derivative Max amplifikasyon eğrisi.

Pozitif bilinen *Fusobacterium* örneğinden standart çalışması yapıldı (Şekil 4.11, 4.13). Sonuçlarda elektromanyetik alan grubunun cp verdiği döngüde, pozitif olan standart örnekler cp vermiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.11. *Fusobacterium* Abs Quant/2nd Derivative Max amplifikasyon eğrisi.

Abs Quant/2nd Derivative Max for New Subset 1 (Abs Quant/2nd Derivative Max)

Settings

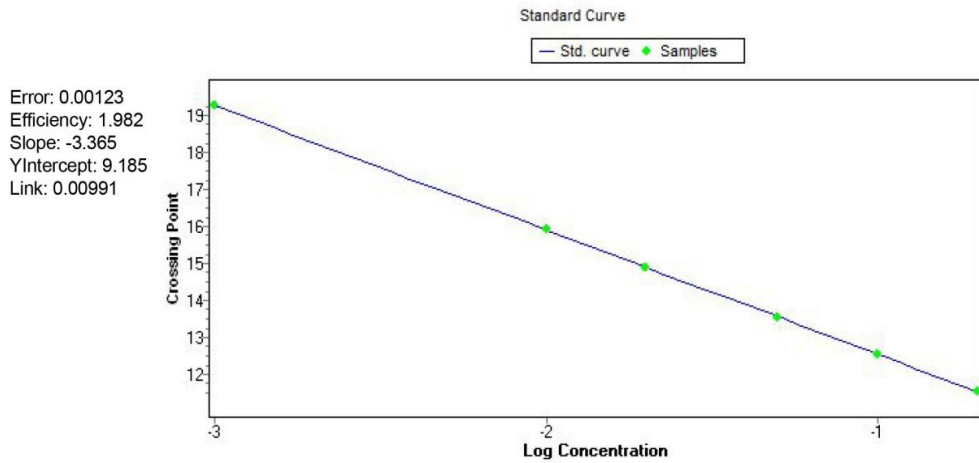
Channel	465-510
Color Compensation	Off
Program	Amplification
Mode	High Confidence

Subset Name	New Subset 1
-------------	--------------

Results

Inc	Pos	Name	Type	CP	Concentration	Standard	Status
<input checked="" type="checkbox"/>	A1	STD1	Standard	11.54	1.99E-1	2.00E-1	
<input checked="" type="checkbox"/>	A2	STD2	Standard	12.55	9.97E-2	1.00E-1	
<input checked="" type="checkbox"/>	A3	STD3	Standard	13.55	5.06E-2	5.00E-2	
<input checked="" type="checkbox"/>	A4	STD4	Standard	14.89	2.01E-2	2.00E-2	
<input checked="" type="checkbox"/>	A5	STD5	Standard	15.93	9.91E-3	1.00E-2	
<input checked="" type="checkbox"/>	A6	STD6	Standard	19.28	1.00E-3	1.00E-3	
<input checked="" type="checkbox"/>	A12	NC	Negative Control	33.86	4.97E-8		
<input checked="" type="checkbox"/>	C1	STD3	Unknown	14.99	1.88E-2		
<input checked="" type="checkbox"/>	C2	K27	Unknown	40.00	7.81E-10		>, E

Şekil 4.12. *Fusobacterium* standartları Abs Quant/2nd Derivative Max cp değerleri.



Şekil 4.13. *Fusobacterium* için standart grafiği.

4.2.2. *Bacteroides* sonuçları

18,00 cp sonuç alındığında 1.000.000 kopya bakteri olduğunu, 25,00 cp sonuç alındığında ise 10.000 kopya bakteri olduğunu bilmekteyiz. Bizim sonuçlarımızda standartlar 40,00 cp aralığında görülmüştür (Şekil 4.14). Gruplarda cp değeri alınamamıştır. *Bacteroides* erime eğrisi analizi sonuçlarına göre elektromanyetik alan ve kontrol gruplarında *Bacteroides* konsantrasyonu tespit edilememiştir (Şekil 4.14).

Abs Quant/2nd Derivative Max for New Subset 1 (Abs Quant/2nd Derivative Max)**Settings**

Channel	465-510		
Color Compensation	Off		
Program	Amplification	Units	
Mode	High Confidence		

Subset Name	New Subset 1
-------------	--------------

Results

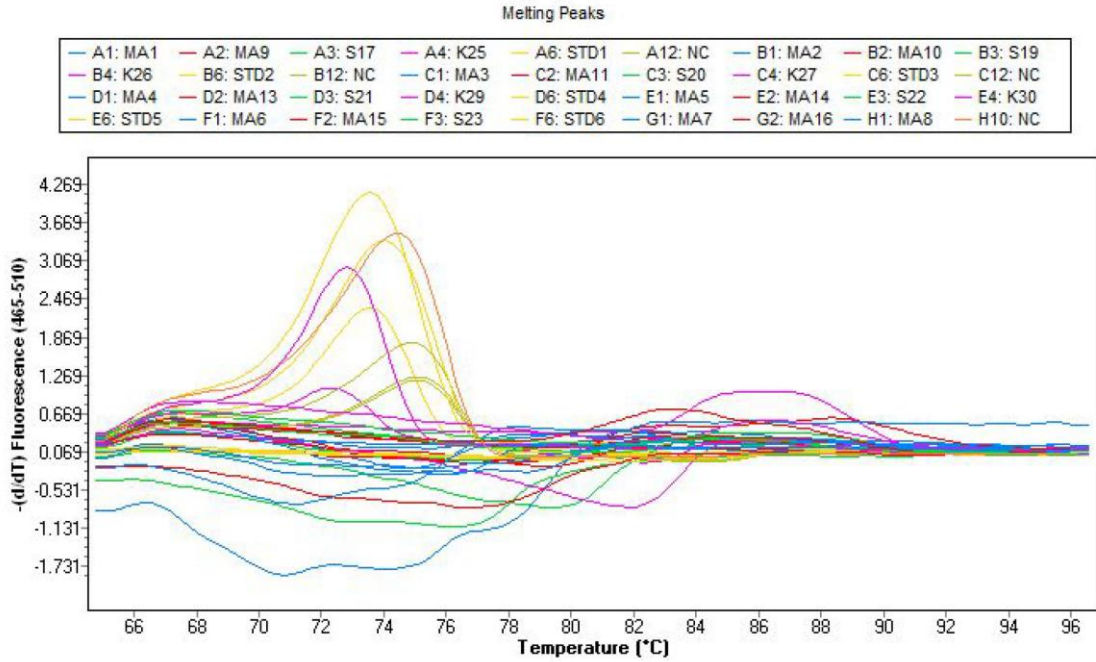
Inc	Pos	Name	Type	CP	Concentration	Standard	Status
<input checked="" type="checkbox"/>	A1	MA1	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	A2	MA9	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	A3	S17	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	A4	K25	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	A6	STD1	Standard	40.00		1.00E0	?, >
<input checked="" type="checkbox"/>	A12	NC	Negative Control				
<input checked="" type="checkbox"/>	B1	MA2	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	B2	MA10	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	B3	S19	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	B4	K26	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	B6	STD2	Standard	40.00		5.00E-1	>
<input checked="" type="checkbox"/>	B12	NC	Negative Control	40.00			>
<input checked="" type="checkbox"/>	C1	MA3	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	C2	MA11	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	C3	S20	Positive Control/Calibrator				

Şekil 4.14. *Bacteroides* Abs Quant/2nd Derivative Max cp değerleri.

Results

Inc	Pos	Name	Type	CP	Concentration	Standard	Status
<input checked="" type="checkbox"/>	C4	K27	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	C6	STD3	Standard	40.00		2.00E-1	>
<input checked="" type="checkbox"/>	C12	NC	Negative Control				
<input checked="" type="checkbox"/>	D1	MA4	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	D2	MA13	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	D3	S21	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	D4	K29	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	D6	STD4	Standard			1.00E-1	
<input checked="" type="checkbox"/>	E1	MA5	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	E2	MA14	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	E3	S22	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	E4	K30	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	E6	STD5	Standard			1.00E-2	
<input checked="" type="checkbox"/>	F1	MA6	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	F2	MA15	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	F3	S23	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	F6	STD6	Standard			1.00E-3	
<input checked="" type="checkbox"/>	G1	MA7	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	G2	MA16	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	H1	MA8	Positive Control/Calibrator				
<input checked="" type="checkbox"/>	H10	NC	Negative Control	40.00			>

Şekil 4.14. *Bacteroides* Abs Quant/2nd Derivative Max cp değerleri (devamı).



Şekil 4.15. *Bacteroides* erime eğrisi analizi.

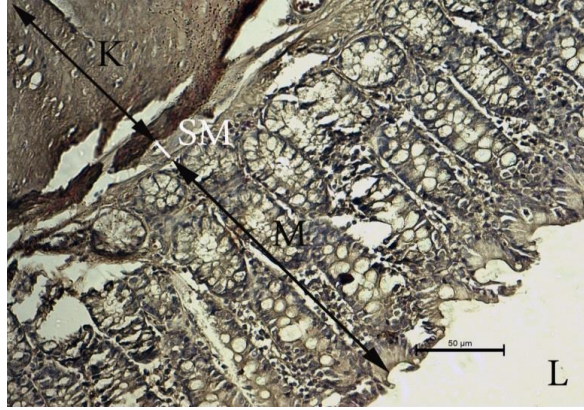
4.3. Işık Mikroskobu ile Kolon Dokusu Analizleri

Boyanan kesitler kapatma ortamıyla kapatılarak Leica DMI2500 mikroskobuyla fotoğraflandırdı ve kaydedildi. Görüntü J analiz programında 8-bit'lik Masson trikrom boyanmış kolon kesitlerine renk dekonvolüsyon işlemi uygulandı (Şekil 3.6). Her grupta yer alan hayvanlardan x40 büyütmede elde edilen 3 ayrı görüntüyerenk dekonvolüsyon işlemi uygulandı (Lesack ve Naugler, 2012; Hirano, vd, 2014; Varghese, vd., 2014).

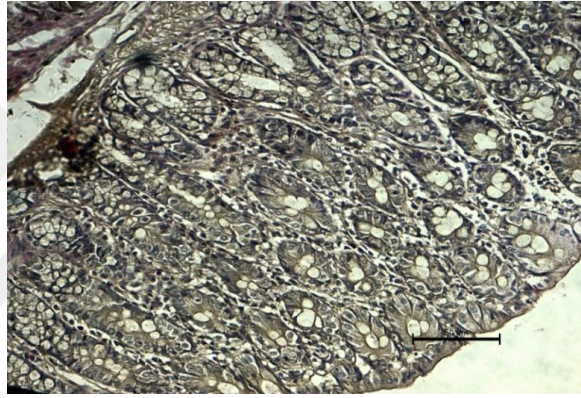
Goblet Hücre Sayımı: Her gruptaki hayvanlarda mukozadan x40 büyütmede 60 µm 'lik rastgele seçilen 3 alanda yer alan Goblet hücre sayısı saptandı.

4.4. Histopatolojik Sonuçlar

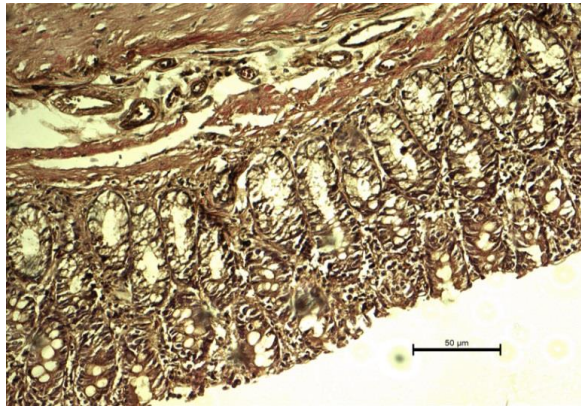
Kontrol, sham ve manyetik alan gruplarına ait masson trikrom boyaması yapılmış kesitler histopatolojik olarak incelendi. Kontrol ve sham grupları arasında histopatolojik olarak fark gözlenmedi. Kontrol ve sham gruplarında kolon dokusuna ait mukoza epiteli sağlamdı ve bütünlük gösteriyordu, bezler düzenliydi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve ödem gözlenmedi (Şekil 4.16a, 4.16b, 4.17a, 4.17b). Elektromanyetik alan grubunda ise mukoza epitelinde aşınma ve yer yer dökülmeler gözlemlendi. Elektromanyetik alan grubunda bez yapısı bozulmuştu ve mukozada ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 4.16c, 4.17c).



(a)

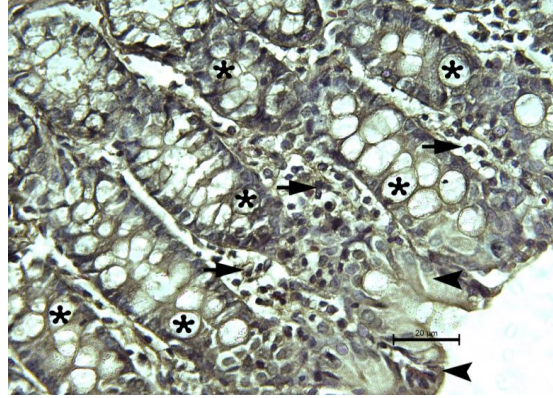


(b)

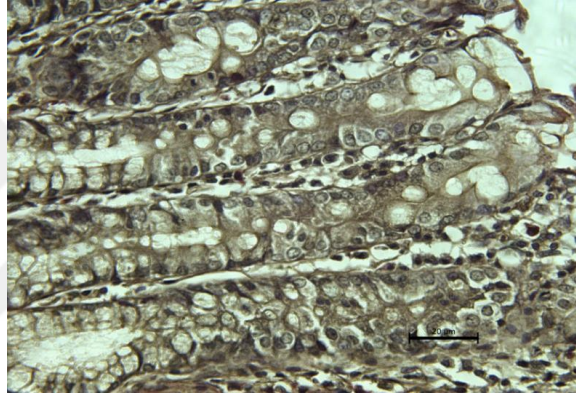


(c)

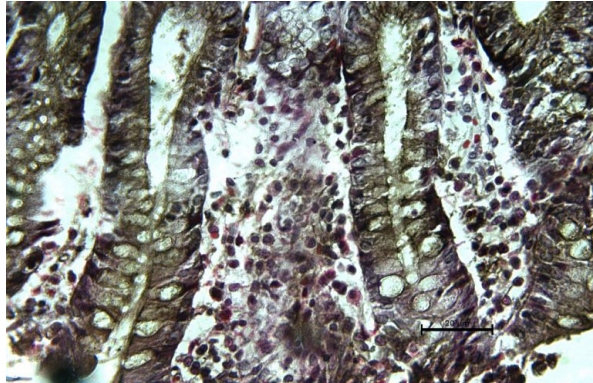
Şekil 4.16. Sırasıyla düşük büyütmede kontrol (a), sham (b) ve manyetik alan (c) gruplarına ait barsak kesitleri görülmektedir. Epitel ve lamina propriayı içeren mukoza tabakası (M), submukoza tabakası (SM) ve muskularis mukoza tabakasına (K) ait kas kesitleri görülmektedir. Lümen (L), masson trikrom boyaması, bar 50 µm.



(a)



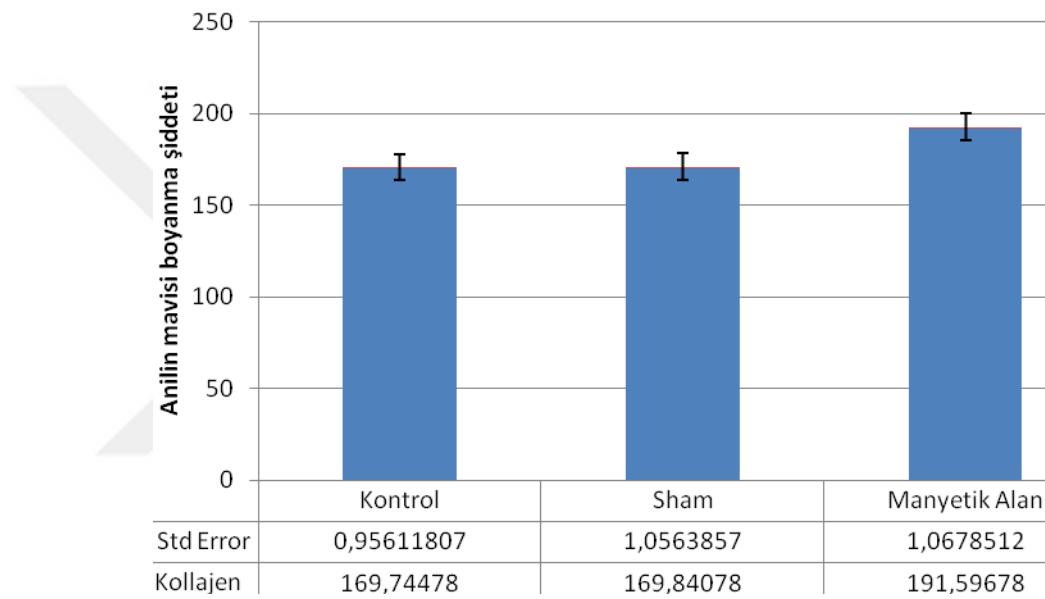
(b)



(c)

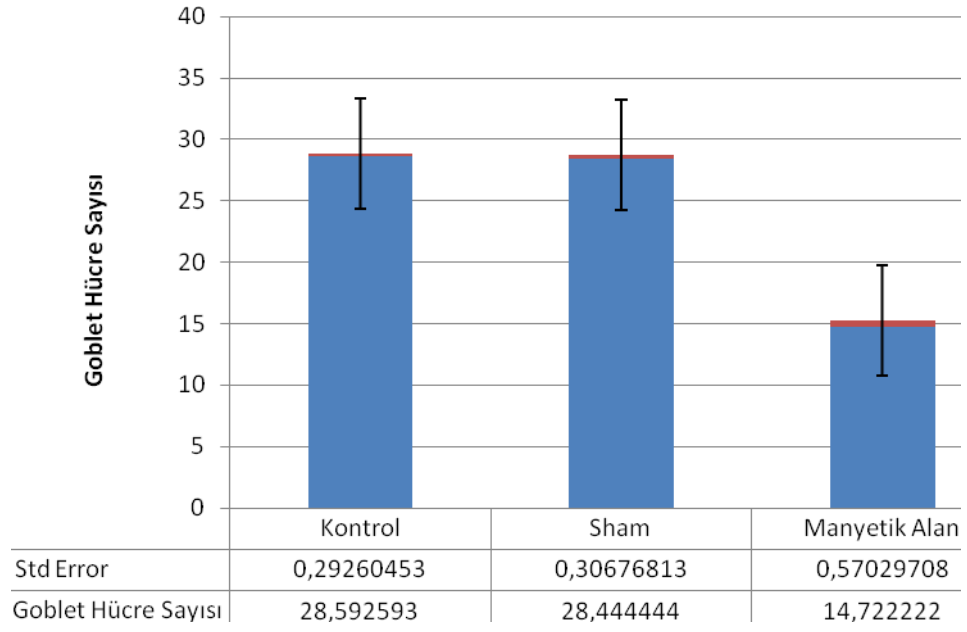
Şekil 4.17. Sırasıyla yüksek büyütmede kontrol (a), sham (b) ve manyetik alan (c) gruplarına ait barsak kesitleri görülmektedir. Asteriksler, goblet hücrelerini; ok başları barsak yüzey epitelini ve oklar bezler arasında yer alan lamina propriaya ait bağ dokusunu göstermektedir. Masson trikrom boyaması, bar 20 μm .

Görüntü J analiz programında masson trikrom boyanmış kolon kesitlerine renk dekonvolüsyon işlemi uygulanarak anilin mavisiyle boyanmış görüntülerde kollajen miktarları saptandı. Gruplar arasındaki kollajen boyanması şiddetindeki artış saptanarak, fibrozis gelişmesi saptandı. Kontrol ve sham gruplarında anilin boyanma şiddeti istatistiksel açıdan bir fark göstermedi. Elektromanyetik alan grubunda ise anilin boyanma şiddeti hem kontrol hem de sham grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gösterdi (Şekil 4.18). Elektromanyetik alan grubunda kollajen miktarında artış olduğu ve fibrozis olayının geliştiği saptandı.



Şekil 4.18. Görüntü J analiz programında masson trikrom boyanmış kolon kesitlerine renk dekonvolüsyon işlemi uygulandı. Gruplar arasındaki kollajen boyanması şiddeti, anilin mavisi görüntülerde istatistiksel olarak değerlendirildi.

Her gruptaki hayvanlarda mukozada yer alan goblet hücre sayısı saptandı. Kontrol ve sham gruplarında Goblet hücre sayısı istatistiksel açıdan bir fark göstermedi. Elektromanyetik alan grubunda ise goblet hücre sayısı hem kontrol hem de sham grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gösterdi (Şekil 4.19). Elektromanyetik alan grubunda goblet hücre sayısındaki azalma ve bez yapısının bütünlüğünün bozulması arasında paralellik görüldüğü saptandı.



Şekil 4.19. Kontrol, sham ve manyetik alan gruplarında goblet hücre sayısını gösteren tablo.

5. TARTIŞMA

Kablosuz cep telefonları ve diğer telekomünikasyon cihazlarının kullanımını artması, elektromanyetik alanın olası yan etkilerini artırmaktadır. Birçok araştırma ve kamusal tartışmaya rağmen insan sağlığı üzerindeki radyofrekans radyasyonun olumsuz etkileri hakkında endişeler vardır. Yapılan çalışmalar ve radyofrekans radyasyona maruz kalan bireylerde genetik hasar (örneğin, kromozomal anormallikler) görülme sıklığının arttığını göstermektedir. İyi koordine edilmiş multi disiplinler araştırmaların daha net sonuca ulaşmak için gerekli olduğu vurgulanmaktadır (Verschaeve, 2009).

Bu çalışmada sıçanlara 90 gün süre ile günde 45 dakika 1800 MHz elektromanyetik alan uygulaması yapıldı. Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada cep telefonundan kaynaklanan elektromanyetik alanların biyolojik sistemler üzerine etkileri araştırılmıştır. Özellikle üreme sistemi üzerine etkilerine dair çalışmalar yoğunluktadır. Yapılan araştırmalar, elektromanyetik alanların erkek ve dişi üreme sistemindeki organlarda hipertermi, inflamasyon ve apoptozise sebep olduğunu, ayrıca testesteron seviyelerini değiştirdiğini göstermiştir (Daşdağ vd, 1999; Aitken vd, 2005; Oral vd, 2006; Guney vd, 2007; Pourlis, 2009; Bahaodini vd, 2015).

Üreme sistemi üzerindeki yoğun çalışmalara rağmen, elektromanyetik alanların vücutta aynı bölgede lokalize olmuş olan bağırsaklar üzerine etkilerine dair hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Bu sebeple, bu çalışmada, kolon dokusu üzerine cep telefonundan kaynaklı elektromanyetik alanın etkisi olup olmadığı araştırmayı amaçladık.

5.1. Moleküler Sonuçların İncelenmesi

5.1.1. KRAS SNP analizi sonuçları tartışması

KRAS geni bir proto-onkogendir ve hücre dışı sinyallerin alınarak hücre içine iletilmesini sağlayan bir GTP-az proteindir. KRAS'ı onkogene dönüştüren mutasyonlar hücre çoğalması sinyal iletiminde GTP'nin GDP'ye hidrolizini engelleyerek hücreyi sürekli bölünmeye teşvik eder.

KRAS mutasyonları tümörögenesinin erken evresinde görülür (Andreyev vd., 2001, Santini vd., 2008). Bu sebeple KRAS gen bölgesinin kodon 12-13 gen muatsyonlarının belirlenmesi klinikte, hastalığın seyrinin değerlendirilmesi ve tedavi amaçlı kullanılacak stratejilerin belirlenmesinde etkili olmaktadır (Pinto vd., 2011).

Bugüne kadar yapılan çalışmalara bakıldığında, elektromanyetik alan uygulamasının kolonda KRAS mutasyonu oluşumuna sebep olup olmadığına dair bir çalışma

bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızdaki sonuçlara göre, 1800 MHz manyetik alan uygulanan sıçanların kolon dokusu örneklerinin tümünde yabancı tip KRAS mutasyonu tespit edilmiştir. Bu da 90 gün süreyle (45 dk/ gün/ hafta) cep telefonu kaynaklı manyetik alan uygulamasının, RT-PCR sonuçlarına göre, kolonda KRAS mutasyonuna sebep olmadığını göstermektedir. Bu konuda özgün bir çalışma olduğundan sonuçlar mukayese edilememiştir.

5.1.2. Tp53 SNP analizi sonuçları tartışması

P53 bir tümör baskılayıcı genidir. Tümör gelişimindeki kritik olaylar zincirinde önemli işlevlere sahiptir (Ay vd., 2006). *P53* bu işlevlerini gen transkripsiyon kontrolü, DNA tamiri, hücre döngüsü kontrolü, genomik stabilite, kromozom segregasyonu, senesens, anjiyogenez, apoptoz ve tümör baskılanması gibihücrel süreçlerde direkt veya sahip olduğu moleküler etkileşimler yolu ile yerine getirmektedir (Benard vd., 2003). *p53* proteini DNA hasarı, hipoksi, nükleotid havuz depleksiyonu, viral enfeksiyonlar ve onkogen aktivasyonu gibi çeşitli genomik stres durumlarında aktive olmaktadır. *P53* geninde saptanan mutasyonlar, genin tümör baskılayıcı işlevini ortadan kaldırmaktadır. Normal *p53* (wild-type *p53*) işlevinin bozulması, kanser gelişimini baskılayan hücre içi yolların işlevlerinin bozulmasına neden olur ve bu durum hücrenin kanserleşme sürecine katkıda bulunmaktadır (Ay vd., 2006).

Yapılan çalışmalar, *p53* mutasyonlarının, insan tümörlerinde sıklıkla görülen genetik anomalilerden biri olduğunu göstermektedir (Haris ve Hollstein 1993; Erol, 2007; Arriaga vd., 2012).

Bugüne kadar yapılan çalışmaları incelediğimizde, cep telefonu kaynaklı elektromanyetik alan uygulamasının kolonda *p53* mutasyonuna sebep olup olmadığına dair bir çalışmaya rastlamadık. Bizim çalışmamızın RT-PCR sonuçlarına göre, 1800 MHz elektromanyetik alan uygulanan sıçanların kolon dokusu örneklerinin tümünde yabancı tip *p53* mutasyonu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, elektromanyetik alan uygulamasının kolonda *p53* mutasyonuna sebep olmadığını göstermektedir.

P53 mutasyonu kolorektal karsinogenezin nispeten geç evrelerinde, genelde tümörler makroskobik olarak görülmeye başlandığında tespit edilmektedir (Noda vd., 2001; Dobrucalı, 2003). Bu da bizim çalışmamızda ileri bir karsinogenez varlığının olmadığını göstererek histopatolojik bulgularımızı desteklemektedir.

5.2. Mikrobiyolojik Sonuçların İncelenmesi

Manyetik alanın bakteriler üzerindeki olumsuz etkisini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır (Kohno vd., 2000; Strasak vd., 2002; Fojt vd., 2004; Potenza vd., 2004).

Yapılan çalışmada düşük frekanslı manyetik alanın (50 Hz) gram negatif bakteri olan *Escherichia coli* de maruz kalma süresi arttıkça koloni oluşturabilme yeteneğini azalttığı bulunmuştur (Strasak vd., 2002). Düşük frekanslı manyetik alan açıldığından hemen sonra koloni oluşturan birimin (CFU, number of colony-forming units) azaldığı gözlenmiştir. *E.coli* de manyetik alan uygulamasıyla canlı hücre sayısı önemli derecede azalmıştır (Fojt vd., 2004).

Yapılan bir çalışmada statik manyetik alanın *E.coli* üzerindeki etkileri incelenmiştir. Statik manyetik alan uygulanan bakteride, taramalı elektron mikroskobu (TEM) ve geçirimli elektron mikroskobunda (SEM) morfolojik analizler yapılmıştır. Hücre yüzeyinde hasarlar bulunmuştur (Ji vd., 2009). Başka bir çalışmada ise 300 militesla (mT) statik manyetik alanının hücre büyümesini ve gen ekspresyonunu etkilediği bulunmuştur (Potenza vd., 2004).

Manyetik alanın bakteriler üzerinde olumsuz etkinin aksine bizim çalışmamızda artışına baktığımız *Fusobacterium* türleri genellikle fırsatçı patojenler olarak tanımlanırken insan normal florasında bulunan türleri de vardır. Bağırsak normal mikroflorasında bulunabilen *Bacteroides*, direnci kırılan kişilerde tek başlarına veya diğer aerop ve fakültatif anaerop bakterilerle birlikte bulunurlar. Doku haraplıklı abse, gangren ve sepsis gibi enfeksiyonlara neden olabilirler. Bizim çalışmamızın sonuçlarında bakteri artışı gözlenmesinin sebebi patojen olmalarıyla ilişkilendirilmiştir.

5.2.1. *Bacteroides* sonuçları tartışması

Epitelial hasarların ve kanserlerin yaklaşık % 20'sinin mikrobiyal enfeksiyonlara bağlı kronik inflamasyondan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Kolonda da mikrobiyal değişiklikler inflamasyonların en önemli kaynağıdır (Coussens ve Werb, 2002; Aggarwal vd., 2006).

Bacteroides türleri kolon mikroflorasının önemli bir parçası olup, insan anaerobik patojenlerinde ilk sıralarda yer alır (Coussens ve Werb, 2002; Aggarwal vd., 2006). Yapılan çalışmalar kolon kanserli hastalarda dışkı florasında *Bacteroides* artışının, kolon kanserinde artan riski temsil ettiğini göstermektedir (Vargo D., vd., 1980).

Ojetti ve arkadaşları, *Bacteroides* ve *Clostridium* cinslerinin, hayvanlarda kolonik tümörlerin büyüme insidansını arttırdığı bulmuşlardır (Ojetti vd., 2009).

Yapılan literatür araştırmasına göre elektromanyetik alan uygulamasının kolonda *Bacteroides* miktarını artırıp arttırmadığına dair çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda RT-PCR sonuçlarına bakıldığında, gruplarda cp değeri alınamamıştır. *Bacteroides* erime eğrisi analizi sonuçlarına göre elektromanyetik alan ve kontrol gruplarında *Bacteroides* konsantrasyonu tespit edilememiştir.

5.2.2. *Fusobacterium* sonuçları tartışması

Fusobacterium türleri, normal insan florasında nadiren bulunan bakterilerdendir. Yapılan çalışmalar kolonda *Fusobacterium* türlerinin artışı ile kolorektal kanserler arasında ilişki bulunduğunu göstermektedir (Kostic vd., 2012; Castellarin vd., 2012; McCoy vd., 2013).

Önceki çalışmalara bakıldığında, elektromanyetik alan uygulaması ile kolon mikroflorasındaki *Fusobacterium* değişimi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre, manyetik alan uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla *Fusobacterium* miktarında önemli derecede artış gözlenmiştir. Bu bulgu, histopatolojik sonuçlarla paralellik göstermekte ve kolon dokularında görülen hücre infiltrasyonlarının sebebini açıklamaktadır (McCoy vd., 2013).

McCoy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kolorektal kanserli dokularda KRAS mutasyonu sonuçları pozitif görülmüştür. Bu çalışmada KRAS mutasyonu ile *Fusobacterium* miktarındaki artış birlikte seyretmiştir. Bizim çalışmamız kanserli dokular üzerinde yapılmadığından dolayı KRAS mutasyonu pozitif gözlenmemiştir. Fakat *Fusobacterium* artışı dokudaki hasarların başlangıç aşaması olabileceğini göstermektedir.

5.3. Histopatolojik Sonuçların Tartışması

Cep telefonu kullanımı sonucunda maruz kalınan elektromanyetik radyasyon, vücutta antioksidan enzim aktivitesinin düşüşüne, buna bağlı olarak da reaktif oksijen türlerinin artışına, artan reaktif oksijen türleri ise dokularda hasarlara sebep olmaktadır (Chan, 2001; Harakawa vd., 2005; Meral vd., 2007; Çeliközlü vd., 2012; Dogan vd., 2012).

Yapılan çalışmalarda, elektromanyetik radyasyonun dokuda nekroz, tromboz, dilatasyon, interstitial fibrozis, vakuolizasyon, inflamasyon, atrofi, skleroz gibi etkilere sebep olduğu tespit edilmiştir. Asınar epitelyal hücrelerde atrofi, vakuolizasyon, perivasküler inflamasyon gözlenmiştir. Ayrıca periduktal fibrozis ve periduktal infiltrasyon da tespit edilmiştir (Aydoğan vd, 2015).

Koca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, cep telefonundan kaynaklanan elektromanyetik dalgaların mesane dokusu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Histolojik inceleme sonucunda elektromanyetik alana maruz kalan grupta lamina propriya ve kas tabakasında inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmüştür. (Koca vd., 2014).

Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre, 1800 MHz elektromanyetik alan uygulaması ile, elektromanyetik alan grubunda mukoza epitelinde aşınma ve yer yer dökülmeler gözlendi. Yine

elektromanyetik alan grubunda bez yapısı bozulmuştu ve mukozada ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edildi (Şekil 4.16c, 4.17c). Kontrol gruplarında ise dokuda herhangi bir hasara rastlanmadı (Şekil 4.16a, 4.16b, 4.17a, 4.17b).

Ayrıca, elektromanyetik alan grubunda anilin boyanma şiddeti hem kontrol hem de sham grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gösterdi (Şekil 4.18). Elektromanyetik alan grubunda kollagen miktarında artış olduğu ve fibrozis olayının geliştiği saptandı.

Bunula birlikte elektromanyetik alan grubunda goblet hücre sayısı hem kontrol hem de sham grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gösterdi (Şekil 4.19). Elektromanyetik alan grubundaki, goblet hücre sayısındaki azalma ile bez yapısının bütünlüğünün bozulması arasında paralellik görüldüğü saptandı.

Başka bir çalışmada, barsak mikroflorasının kolorektal kanser oluşumundaki rolü araştırılmıştır. Çalışma sonucuna göre, *Fusobacterium* miktarındaki artış ile kolon mukozasında oluşan inflamasyonlar arasında ilişki bulunmuştur (McCoy vd, 2013).

Bu sonuçlar da, bizim çalışmamızda tespit edilen *Fusobacterium* artışı ile birlikte görülen doku hasarlarını desteklemektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Cep telefonları ile görüşmeler kısa tutulmalı ve görüşme sırasında kulaklık kullanılmalıdır.
- Cep telefonu ile görüşme yaparken çocukların yanından uzaklaşılmalıdır.
- Çocukların ve gençlerin cep telefonu ve tablet bilgisayar kullanımı mümkün olduğunca kısıtlanmalıdır.
- Telefon şirketlerinin çocuklara yönelik pazarlama yapmalarının önüne geçilmelidir.
- Günlük hayatta kullandığımız cep telefonu vb cihazların yatak odalarında bulunmamasına dikkat edilmelidir.
- Cep telefonu kullanımının olumsuz etkileri uzun süre sonra ortaya çıkabildiğinden gerekmedikçe cep telefonu kullanılmamalıdır.
- Kolon doku hasarını engellemek için cep telefonu pantolon cebinde taşınmamalıdır.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, cep telefonundan kaynaklanan 1800 MHz elektromanyetik alana 12 hafta günde 45 dk (7 gün/ hafta) maruz kalmak sıçanlarda kolon dokusunda hafif bir hasara sebep olmaktadır ancak kanserleşmeye sebep olmamaktadır. Bununla birlikte, cep telefonundan yayılan elektromanyetik alanın kolon dokuları üzerine etkilerine dair araştırmaların devam etmesinde fayda vardır. Bu çalışmanın pek çok elektromanyetik alan çalışmasına ve kolondaki değişimlerle ilgili çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Aggarwal, B.B., Shishodia, S., Sandur, S.K., Pandey, M.K., Sethi, G., (2006), Inflammation and cancer: How hot is the link?, *Biochem Pharmacol.*, 72, s.1605-1621.

Aitken, R.J., Bennetts, L.E., Sawyer, D., Wiklendt, A.M., King, B.V., (2005), Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germ line *Inter, J. Androl.*, 28, s.171–179.

Akbal, A., Balık, H.H., (2011), Mobil Telefonların Yayıdığı Elektromanyetik Dalgaların E.coli'nin Gelişimine Etkisi, 1. Ulusal EMC Konferansı, İstanbul.

Andreyev, H.J., Norman, A.R., Cunningham, D., Oates, J., Dix, B.R., Iacopetta, B.J., Young, J., Walsh, T., Ward, R., Hawkins, N., Beranek, M., Jandik, P., Benamouzig, R., Jullian, E., aurent-Puig, P., Olschwang, S., Muller, O., Hoffmann, I., Rabes, H.M., Zietz, C., Troungos, C., Valavanis, C., Yuen, S.T., Ho, J.W., Croke, C.T., O'Donoghue, D.P., Giaretti, W., Rapallo, A., Russo A, Bazan, V., Tanaka, M., Omura, K., Azuma, T., Ohkusa, T., Fujimori, T., Ono, Y., Pauly, M., Faber, C., Glaesener, R., de Goeij, A.F., ArenF, J.W., Andersen, S.N., Lövig, T., Breivik, J., Gaudernack, G., Clausen, O.P., DeAngelis, P.D., Meling, G.I., Rognum, T.O., Smith, R., Goh, H.S., Font, A., Rosell, R., Sun, X.F, Zhang, H., Benhattar, J., Losi, L., Lee, J.Q., Wang, S.T., Clarke, P.A., Bell, S., Quirke, P., Bubb, V.J., Piris, J., Cruickshank, N.R., Morton, D., Fox, J.C., Al-Mulla, F., Lees, N., Hall, C.N., Snary, D., Wilkinson, K., Dillon, D., Costa, J., Pricolo, V.E., Finkelstein, S.D., Thebo, J.S., Senagore, A.J., Halter, S.A., Wadler, S., Malik, S., Krtolica, K., (2001), Urosevic, N., Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the "RASCAL II" study, *British Journal of Cancer*, 85, s.692-6.

Arriaga, J.M., Bravo, I.A., Bruno, L., Morales, B.S., Hannois, A., Sanchez, Loria, F., Pairola, F., Huertas, E., Roberti, M.P., Rocca, Y.S., Aris, M, Barrio MM, Baffa Trasci S, Levy EM, Mordoh J, Bianchini M., (2012), Combined metallothioneins and p53 proteins expression as a prognostic marker in patients with Dukes stage B and C colorectal cancer, *Hum Pathol.*, 43,10, s.1695-703.

Ashktorab, H., Nouraie, M., Hosseinkhah, F., (2009), A 50-year review of colorectal cancer in African Americans: implications for prevention and treatment, *Digestive Diseases and Sciences*, 54, s.1985-90.

Aslan, A., (2011), Ratlarda Azoksimetan Uygulanarak Oluşturulan Kolorektal Kanserde Likopenin Siklooksijenaz-2 (cox-2), Kaspaz-3, Kaspaz-9, Bax, Bcl-2, p53 Proteinlerinin Ekspresyonu ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Ay, M.E., Terzioğlu, O., Terzi, C., Ay, Ö.İ., (2006), p53 ve p73 ekspresyon düzeyi kolorektal kanser için tanısal bir belirteç midir?, *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 15, 1, s.26-34.

Aydoğan, F., Unlu, İ., Aydın, E., Yumusak, N., Devrim, E., Samim, E.E, Ozgur, E., Unsal, V., Tomruk, A., Ozturk, G.G., Seyhan, N., (2015), The effect of 2100 MHz radiofrequency radiation of a 3G mobile phone on the parotid gland of rats, *American Journal of Otolaryngology-Head and Neck Medicine and Surgery*, 36, s.39-46.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Bahaodini, A., Owifard M., Tamadon A., Jafari S.M., (2015), Low frequency electromagnetic fields long-term exposure effects on testicular histology, sperm quality and testosterone levels of male rats, *Asian Pasific Journal of Reproduction*, 4, 3, s.195-200.

Balamurugan, R., Janardhan, H.P., George, S., Raghava, M.V., Muliyl, J., Ramakrishna, B.S., (2008), Molecular studies of fecal anaerobic commensal bacteria in acute diarrhea in children, *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 46, s.514-519.

Benedix, F., Meyer, F., Kube, R., Kropf, S., Kuester, D., Lippert, H., Roessner, A., Krüger, S., (2012), Influence of anatomical subsite on the incidence of microsatellite instability, and KRAS and BRAF mutation rates in patients with colon carcinoma, *Pathology - Research and Practice*, 208, 10, s.592-597.

Benson, V.S., Pirie, K., Schüz, J., Reeves, G.K., Beral, V., Green, J., (2013), Mobile phone use and risk of brain neoplasms and other cancers: prospective study, *International Journal of Epidemiology*, s.1-11.

Benard, J., Douch-Rasy, S., Ahomadegbe, J.C., (2003), TP53 Family Members and Human Cancers, *Hum Mutat.*, 21, s.182-91.

Bhargava, S., Motwani, M.B., Patni, V.M., (2012), Effect of handheld mobile phone use on parotid gland salivary flow rate and volume, *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology.*, 114, 2, s.200-206.

Bingham, S.A., (1999), High-meat diets and cancer risk, *Proc Nutr Soc.*, 58, 243-48.

Blank, M., Goodman, R., (1997), Do Electromagnetic Fields Interact Directly With DNA?, *Bioelectromagnetics* 18, s.111-115.

Blank, M., Goodman, R., (2001), Electromagnetic Initiation of Transcription at Specific DNA Sites, *Journal of Cellular Biochemistry* 81, s.689-692.

Bold, A., Toros, H., Şen, O., (2003), Manyetik alanın insan sağlığı üzerindeki etkisi, III. Atmosfer Bilimleri Sempozyumu, 19-21 Mart, İTÜ, İstanbul.

Budak G.G., Muluk N.B., Budak B., (2009), Effects of intrauterine and extrauterine exposure to GSM-like radiofrequency on distortion product otoacoustic emissions in infant male rabbits, *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 73, s.391-399.

Castellari, M., Warren, R.L., Freeman, J.D., Dreolini, L., Krzywinski, M., Strauss, J., Barnes, R., Watson, P., Allen-Vercoe, E., Moore, R.A., Holt, R.A., (2012), *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma, *Genome Res.*, 22, s.299-306.

Cengiz, A.T., Mısırlıgil, A., Aydın, M., (2004), Tıp ve Dış Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, s.24,620-632.

Chan, P.H., (2001), Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain, *J Cereb Blood Flow Metab.*, 21, s.2-14.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chiu, C.T., Chang, Y.H., Chen, C.C., Ko, M.C., Li, C.Y., (2014), Mobile phone use and health symptoms in children, *Journal of the Formosan Medical Association*, s.1-7.
- Coussens, L.M., Werb, Z., (2002), Inflammation and cancer, *Nature*, 420, s.860-867.
- Çelik, S., Aridogan, I.A., Izol, V., Erdoğan, S., Polat, S., Doran, Ş., (2012), An Evaluation of the Effects of Long-term Cell Phone Use on the Testes Via Light and Electron Microscope Analysis, *Urology*, 79, s. 346–350.
- Çeliközlü, S.D., Özyurt, M.S., Cımbız, A., Yardımoğlu, M.Y., Çaycı, M.K., Özay, Y.,(2012), The effects of long-term exposure of magnetic field via 900-MHz GSM radiation on some biochemical parameter and brain histology in rats, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 31, 4, s.344-355.
- Çeliközlü, S.D., (2010), Cep telefonunun oluşturduğu manyetik alanın sıçanlarda bazı kan parametreleri ile beyin histolojisine etkileri ve *Lycopersicon esculentum*'un bu etkiler üzerindeki rolü, Doktora Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
- Daşdağ, S., Akdağ, M.Z., Ulukaya, E., Uzunlar, A.K., Yegin, D., (2008), Mobile Phone Exposure Does Not Induce Apoptosis on Spermatogenesis in Rats, *Archives of Medical Research*, 39,s.40-44.
- Daşdağ, S., Ketani, M.A., Akdag, Z., Ersay, A.R., Sari, I., Demirtas, O.C., Celik, M.S., (1999), Whole body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats, *Urol. Res.*, 27, s.219–223.
- Dobrucalı, A., (2003), Kolorektal kanserde sınıflama ve etyopatogenez. Kolon, rektum ve anorektal bölge hastalıkları, Tasarım yayıncılık, İstanbul, 1.Baskı, s:395-412.
- Dogan, M., Turtay, M.G., Oguzturk, H., Samdanci, E., Turkoz, Y., Tasdemir, S., Alkan, A., Bakir, S., (2012), Effects of electromagnetic radiation produced by 3G mobile phones on rat brains: magnetic resonance spectroscopy, biochemical, and histopathological evaluation, *Hum Exp Toxicol.*, 31, s.557–64.
- Dominici, L., Villarini, M., Fatigoni, C., Monarca, S., Moretti, M., (2011), Genotoxic hazard evaluation in welders occupationally exposed to extremely low-frequency magnetic fields (ELF-MF), *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 215, s. 68– 75.
- Eddy, D.M., (1990), Screening for colorectal cancer, *Ann Intern Med.*, 113, s.373.
- Edelstyn, N., Oldershaw, A., (2002), The acute effects of exposure to the electromagnetic field emitted by mobile phones on human attention, *Neuroreport*, 13,1, s.119-121.
- Edwards, B.K, Ward, E., Kohler, B.A., (2010), Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates, *Cancer*, 116, s.544.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Ermol C., (2008), 900 ve 1800 MHz Mobil Telefonların Oluşturduğu Elektromanyetik Alanın Tendon İyileşmesine Etkisi: Ratlarda Deneysel Çalışma, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Isparta, s.1.

Erol, D., (2007), Gastrointestinal sistem adenokarsinom örneklerinde p53 kodon 72 polimorfizmi ve insan papilloma virüs (HPV) arasındaki ilişkinin araştırılması, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Finegold, S.M., Dowdd, S. E., Gontcharova, V., Liu, C., Henley, K. E., Wolcott, R. D., Youn, E., Summanen, P. H., Granpeesheh, D., Dixon, D., Liu, M., Molitoris, D.R., Green III, J. A., (2010), Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children, *Anaerobe*, 16, s.444-453.

Fojt, L., Strasaka, L., Vetterl, V., Smarda, J., (2004), Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* and *Staphylococcus aureus*, *Bioelectrochemistry*, 63, 1–2, s.337–341.

Goodwin, A. C., Shields, C.E.D., Wu, S., Huso, D.L., Wu, X., Murray-Stewart, T.R., Hacker-Prietz, A., Rabizadeh, S., Woster, P.M., Sears, C.L., Casero, R.A., (2011), Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis, *PNAS*, 108, 37, s.15354-15359.

Guarner, F., Malagelada, J.R., (2003) Gut flora in health and disease, *The Lancet*, 361, s.512-519.

Guney, M., Ozguner, F., Oral, B., Karahan, N., Mungan, T., (2007), 900MHz radiofrequency induced histopathologic changes and oxidative stress in rat endometrium: protection by vitamins E and C, *Toxicol. Ind. Health*, 23, s.411–420.

Güler, G., Tomruk, A., Özgür, E., Seyhan, N., (2010), The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in non-pregnant and pregnant rabbits and their newborns, *Gen. Physiol. Biophys.* 29, s.59–66.

Güler, İ., Çetin, T., Özdemir, A.R., Uçar, N., (2010), Türkiye Elektromanyetik Alan Maruziyet Raporu, Bilgi Teknolojileri ve İletişim Kurumu, Sektörel Araştırma ve Stratejiler Dairesi Başkanlığı.

Harakawa, S., Inoue, N., Hori, T., (2005), Effects of a 50Hz electric field on plasma lipid peroxide level and antioxidant activity in rats, *Bioelectromagnetics*, 26, s.589–94.

Hardell, L., Carlsberg, M., (2015), Mobile phone and cordless phone use and the risk for glioma-Analysis of pooled case control studies in Sweden, 1997-2003 and 2007-2009, *Pathophysiology*, 22, s.1-5.

Haris, C.C., Hollstein, M., (1993), Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene, *N Engl J Med.*, 329, s.1318-27.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Hekmat, A., Saboury, A.A., Moosavi-Movahedi, A.A., (2013), The toxic effects of mobile phone radiofrequency (940 MHz) on the structure of calf thymus DNA, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 88, s.35-41.

Hirano, H., Yokoyama, S., Yunoue, S., Yonezawa, H., Yatsushiro, K., Yoshioka, T., Hanaya, R., Tokimura, H., Arita, K., (2014), MRI T2 hypointensity of metastatic brain tumors from gastric and colonic cancers, *Int J Clin Oncol.*, 19,4, s.643-648.

Horie, H., Kanazawa, K., Okada, M., (1999), Effects of intestinal bacteria on the development of colonic neoplasm: an experimental study, *Eur J Cancer Prev.*, 8, 237-45.

Hughes, R., Cross, A.J., Poolock, J.R.A., (2001), Dose-dependent effect of dietary meat on endogenous colonic N-nitrosation, *Carcinogenesis*, 22, s.199-202.

<http://www.cancer.gov/>

<http://www.emo.org.tr/>

<http://www.iarc.fr/>

<http://www.icnirp.org/>

<http://www.mikrobiyoloji.org/>

<http://www.who.int/>

Itzkowitz, S.H., Rochester, J., (2006), Colonic Polyps and Polyposis Syndromes.

Ji, W., Huang, H., Deng, A., Pan, C., (2009), Effects of static magnetic fields on *Escherichia coli*, *Micron*, 40, 8, s.894–898.

Karaca, E., Durmaz, B., Altug, H., Yildiz, T., Guducu, C. , Irgi, M., Gulcihan, M., Koksall, C., Ozkinay, F., Gunduz, C. , Cogulu, O., (2012), The genotoxic effect of radiofrequency waves on mouse brain, *J Neurooncol* 106, s.53–58.

Karadede, B., Akdağ, M.Z., Kanay, Z., Bozbıyık, A., (2009), The Effect of 900 MHz Radiofrequency (RF) Radiation on Some Hormonal and Biochemical Parameters in Rabbits, *Journal of International Dental And Medical Research*. 2, 3, s.110-115.

Karaman, A., (2003), Mide Kanserinde p53 Tümör Supresör Geninin Rolü, *T Klin Tıp Bilimleri*, 23, s.67-73.

Khurana, V.G., Teo, C., Kundi, M., Hardell, L., Carlberg, M., (2009), Cell phones and brain tumors: a review including the long-term epidemiologic data, *Surgical Neurology*, 72, s.205–215.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Klug, W.S., Cummings, M.R., Spencer, C.A., Palladino, M.A., (2012), Concepts of Genetics, Pearson, inc U.S., 10th ed., s.375, 383, 384, 478, 482, 483, 485, 486, 488.

Koca, O., Gökçe, A.M., Akyüz, M., Ercan, F., Yurdakul, N., Karaman, M.I., (2014), A new problem in inflammatory bladder diseases: Use of mobile phones!, *İnt. Braz. J. Urol.*, 40, s.520-525.

Kohno, M., Yamazaki, M., Kimura, I., Wada, M., (2000), Effect of static magnetic fields on bacteria: *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*, *Pathophysiology*, 7, 2, s.143–148.

Kokturk, S., Ceylan S., Etus V., Yasa N., Ceylan S., (2013 a), Morinda citrifolia L. (noni) and memantine attenuate periventricular tissue injury of the fourth ventricle in hydrocephalic rabbits, *Neural Regen Res.*, 8,9, s.773-782.

Kokturk, S., Yardimoglu M., Celikozlu S.D., Dolanbay E.G., Cimbiz A., (2013 b), Effect of extract on apoptosis in the rat cerebellum, following prenatal and postnatal exposure to an electromagnetic field, *Exp Ther Med.*, 6,1, s.52-56.

Kostic, A.D., Gevers, D., Pedamallu, C.S., Michaud, M., Duke, F., Earl, A.M., Ojesina, A.I., Jung, J., Bass, A.J., Taberero, J., Baselga, J., Liu, C., Shivdasani, R.A., Ogino, S., Birren, B.W., Huttenhower, C., Garrett, W.S., Meyerson, M.,(2012), Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 22, s.292–298.

Koşar, M.N., (2008), Tıkanma İkteri Oluşturulan Ratlarda Karaciğerde Apoptotik İndeks ve p53 Ekspresyonunun İncelenmesi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, s.18.

Lahkola, A., Salminen, T., Raitanen, J., Heinavaara, S., Schoemaker, M.J., Christensen, H. C., Feychting, M., Johansen, C., Klæboe, L., Lönn, S., Swerdlow, A.J., Tynes, T., Auvinen, A., (2008), Meningioma and mobile phone use a collaborative case-control study in five North European countries, *International Journal of Epidemiology*, 37, s.1304–1313.

Lesack, K., Naugler, C., (2012), Performance of a simple chromatin-rich segmentation algorithm in quantifying basal cell carcinoma from histology images, *BMC Research Notes*, 5, 1, s.1-9.

Lopez, I., Oliveira, L.P., Tucci, P., Álvarez-Valín, F., Coudry, R.A., Marin, M., (2012), Different mutation profiles associated to P53 accumulation in colorectal cancer, *Gene*, 499, s.81–87.

Macedo, M.P., Lima, L.G.C.A., Begnami, M.D.F.S., Melo, F. M., Andrade, L.D.B., Lisboa B.C.G., Soares L.M., Soares F.A., Carraro, D.M., Cunha, I.W., (2014), KRAS insertions in colorectal cancer: What do we know about unusual KRAS mutations?, *Experimental and Molecular Pathology*, 96, s.257–260.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Masuda, H., Ushiyama, A., Hirota, S., Wake, K., Watanabe, S., Yamanaka, Y., Taki, M., Ohkubo, C., (2007), Effects of Subchronic Exposure to a 1439 MHz Electromagnetic Field on the Microcirculatory Parameters in Rat Brain, *in vivo*. 21, s.563-570.

Meral, I., Mert, H., Mert, N., Deger, Y., Yoruk, I., Yetkin, A., Keskin, S., (2007), Effects of 900-MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stress and some vitamin levels of guinea pig, *Brain Res.*, 1169, s.120–4.

Mccoy, N.A., Araujo-Perez, F., Azcara, A.P., Yeh, J.J., Sandler, R.S., Keku, T.O., (2013), *Fusobacterium* Is Associated with Colorectal Adenomas, *Plos One*, 8,1,s.1-8.

Mortazavi, S.M.J., Habib, A., Ganj-Karimi, A.H., Samimi –Doost, R., Pour-Abedi, A., Babaie, A., (2009), Alterations in TSH and Thyroid Hormones Following Mobile Phone Use, *Iran J Med Sci.*, 34,4, s.299.

Moore, W.E.C., Moore, L.H., (1995), Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer. *Appl Environ Microbiol.*, 61,9, s.3202-7.

Nisbet, H.O., Nisbet, C., Akar, A., Cevik, M., Karayigit, M.O., (2012), Effects of exposure to electromagnetic field (1.8/0.9 GHz) on testicular function and structure in growing rats, *Research in Veterinary Science*. 93, s.1001–1005.

Noda, H., Maehara, Y., Irie, K., Kakeji Y., Yonemura T., Sugimachi K., (2001), Growth Pattern and Expression of Cell Cycle Regulator Proteins p53 and p21WAF1/Cip1 in Early, Gastric Carcinoma, *Cancer*, 92,7,s.1828-35.

Odacı, E., Bas, O., Kaplan, S., (2008), Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on the dentate gyrus of rats: a stereological and histopathological study, *Brain Research*, 1238, s.224–229.

Ojetti, V., Gigante, G., Ainora, M.E., Fiore, F., Barbaro, F., Gasbarrini, A., (2009), Microflora imbalance and gastrointestinal diseases, *Digestive and Liver Disease Supplements*, 3, s.35–39.

Oral, B., Guney, M., Ozguner, F., Karahan, N., Mungan, T., Comlekci, S., Cesur, G., (2006), Endometrial Apoptosis Induced by a 900-MHz Mobile Phone: Preventive Effects of Vitamins E and C, *Advances in Therapy*, 23, s.6.

Parkin, D.M., Pisani, P., Ferlay, J., (1999), Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.*, 49, s.33.

Pinto, P., Rocha, P., Veiga, I., Guedes, J., Pinheiro, M., Peixoto, A., Pinto, C., Fragoso, M., Sanches, E., Araujo, A., Alves, F., Coutinho, C., Lopes, P., Henrique, R., Teixeira, M.R., (2011), Comparison of methodologies for KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer, 204, s.439-446.

Pool-Zobel, B.L., Neudecker, C., Domizlaff, I., (1996), Lactobacillus and bifidobacterium-mediated antigenotoxicity in the colon of rats, *Nutr Cancer.*, 26, s.365-80.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Potenza, L., Ubaldi, L., Sanctis, R.D., Bellis, R.D., Cucchiari, L., Dacha, M., (2004), Effects of a static magnetic field on cell growth and gene expression in *Escherichia coli*, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 561,1–2, s.53–62.
- Pourlis, A., (2009), Reproductive and developmental effects of EMF in vertebrate animal models, *Pathophysiology*, 16, s.179-89.
- Purcell, E.M., (1994), Elektrik ve Magnetizma, (3.Baskıdan Çeviri: Durlu T.N.,Elerman Y.), Bilim Yayınları, cilt 2, Ankara, s.172-176.
- Rafter, J., Glinghammar, B., (1998), Interactions between the environment and genes in the colon, *Eur J Cancer Prev.*,7, s.69-74.
- Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., Jackson, R.B., (2011), Campbell Biology, Pearson, inc U.S.,9th ed.,United States of America, s.242, 243, 403, 404, 556.
- Repacholi, M., (2012), Concern that “EMF” magnetic fields from power lines cause cancer, *Science of the Total Environment*, 426, s.454–458.
- Rieger, M.A., Parlesak, A., Pool-Zobel, B.L., (1999), A diet high in fat and meat but in dietary fiber increases the genotoxic potential of ‘fecal water’, *Carcinogenesis*, 20, s.2311-16.
- Roggeveen, S., (2014), Effects of mobile phone radiation on heart rate: a radiation-detector controlled pilot study, *PeerJ PrePrints*, s.1.
- Sakurai, T., Kiyokawa, T., Narita, E., Suzuki, Y., Taki, M., Miyakoshi, J., (2011), Analysis of gene expression in a human-derived glial cell line exposed to 2,45 GHz continuous radiofrequency electromagnetic fields, *J. Radiat. Res.*, 51, s.185-192.
- Salford, L.G., Brun, A.E., Eberhardt, J.L., Malmgren, L., Persson, B.R.R., (2003), Nerve Cell Damage in Mammalian Brain after Exposure to Microwaves from GSM Mobile Phones, *Environmental Health Perspectives*, 111,7, s.881-3.
- Santini, D., Loupakis, F., Vincenzi, B., Floriani, I., Stasi, I., Canestrari, E., Rulli, E., Maltese, P.E., Andreoni, F., Masi, G., Graziano, F., Baldi, G.G., Salvatore, L., Russo, A., Perrone, G., Tommasino, M.R., Magnani, M., Falcone, A., Tonini, G., Ruzzo, A., (2008), High concordance of KRAS status between primary colorectal tumors and related metastatic sites; implications for clinical practice, *The Oncologist*, 13, s.1270-5.
- Sears, C.L., (2012), In celebration of Sydney M. Finegold, M.D.: *Bacteroides fragilis* in the colon: The good & the bad, *Anaerobe*, 18, s.192-196.
- Stewart, B.W., Wild C.P., (2014), World Cancer Report 2014, World Health Organization, s.559-575.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Strasak, L., Vetterl, V., Smarda, J., (2002), Effects of low-frequency magnetic fields on bacteria *Escherichia coli*, *Bioelectrochemistry*, 55, 1–2, s.161–164.

Şeker, S., Çerezci, O., (2000), Radyasyon Kuşatması Elektriğin ve Nükleer Enerjinin Sağlığımıza Etkileri, Boğaziçi Üniversitesi Yayınevi, İstanbul.

Şekeroğlu, V., Akar, A., Şekeroğlu, Z.A., (2012), Cytotoxic and genotoxic effects of high-frequency electromagnetic fields (GSM 1800 MHz) on immature and mature rats, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, s.140–144.

Tahara, T., Yamamoto, E., Suzuki, H., Maruyama, R., Chung, W., Garriga, J., Jelinek, J., Yamano, H., Sugai, T., An, B., Shureiqi, I., Toyota, M., Kondo, Y., Estecio, M.R.H., Issa, J.J., (2014), *Fusobacterium* in Colonic Flora and Molecular Features of Colorectal Carcinoma, *Cancer Res.*, 74, 5, s.1311-18.

Taşpınar, T., (2008), Gsm 900 ve 1800 Mhz Telefonların Oluşturduğu Manyetik Alanın Hematolojik Parametreler ve Kemik İliği Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta.

Tsiatis, A.C., Norris-Kirby, A., Rich, R.G., Hafez, M.J., Gocke, C.D., Eshleman, J.R., Murphy, K.M., (2010), Comparison of Sanger Sequencing, Pyrosequencing, and Melting Curve Analysis for the Detection of KRAS Mutations, *J Mol Diagn.*, 12, 4, s.425–432.

Temizkan, G., Arda, N., Ed., (2004), Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, (çev: Arı Ş.) Nobel Tıp Kitabevleri, Genişletilmiş 2. baskı, İstanbul, s.101-120.

Topdag M., Iseri M., Topdag D.O., Kokturk S., Ozturk M., Iseri P., (2014), The effect of etanercept and methylprednisolone on functional recovery of the facial nerve after crush injury, *Otol Neurotol.*, 35, 7, s.1277-1283.

Toprak N.U., Yagci A., Gulluoglu B.M., Akin M.L., Demirkalem P., Celenk T., Soyletir G., Turan İ., Özütemiz Ö., (2006), A possible role of *Bacteroides fragilis* enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer, *Clin Microbiol Infect.*, 12, s.782–786.

Türkan A., Pala K., (2009), Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Radyasyon ve Sağlık Etkileri, *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, Cilt 14, Sayı 2, s.18.

Türker, Y., Nazıroğlu, M., Gümral, N., Çelik, Ö., Saygın, M., Çömlekçi, S., Arce, M.F., (2011), Selenium and L-Carnitine Reduce Oxidative Stress in the Heart of Rat Induced by 2.45-GHz Radiation from Wireless Devices, *Biol Trace Elem Res.*, 143, s.1640–1650.

Uçar, A., (2013), 2001-2010 Yılları Arasında Kolorektal Karsinom Tanılı Olguların Retrospektif İncelenmesi ve KRAS Mutasyonunun Histopatolojik Parametrelerle İlişkisi, Uzmanlık Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Antalya.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Varghese F., Bukhari A.B., Malhotra R., De A., (2014), IHC Profiler: an open source plugin for the quantitative evaluation and automated scoring of immunohistochemistry images of human tissue samples, PLoS One, 9, 5, s.96801.

Vargo, D., Moskovitz, M., Floch, M.H., (1980), Faecal bacterial flora in cancer of the colon, Gut, 21, s.701-705.

Verschaeve, L., (2009), Genetic damage in subjects exposed to radiofrequency radiation, Mutation Research 681, s.259–270.

Wang, T., Cai, G., Qiu, Y., Fei, N., Zhang, M., Pang, X., Jia, W., Cai, S., Zhao, L., (2012), Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers, The Isme J., 6, s.320-329.

Winawer, S.J., Sherlock, P., (2007), Best practice and research clinical gastroenterology, Colorectal cancer screening, 21, 6, s.1031.

Wollowski, I., Rechkemmer, G., Pool-Zobel, B.L., (2001), Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer, Am J Clin Nutr., 73, s.451-45.

Wu, N., Yang, X., Zhang, R., Li, J., Xiao, X., Hu, Y., Chen, Y., Yang, F., Lu, N., Wang, Z., Luan, C., Liu, Y., Wang, B., Xiang, C., Wang, Y., Zhao, F., Gao, G.F., Wang, S., Li, L., Zhang, H., Zhu, B., (2013), Dysbiosis Signature of Fecal Microbiota in Colorectal Cancer Patients, Microb Ecol., 66, s.462–470.

Yan, Z.H., Cui, L.H., Wang, X.H., Li, C., He, X., (2014), Comparative study of mutations in SNP loci of K-RAS, hMLH1 and hMSH2 genes in neoplastic intestinal polyps and colorectal cancer, World J Gastroenterol., 28, 20, 48, s.18338-45.

Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B., (2007), Moleküler Biyoloji Protein Sentezi ve Yıkımı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

Yıldırım, M.E., Kaynar, M., Badem, H., Cavis, M., Karatas, O.F., Cimentepe, E., (2015), What is harmful for male fertility: Cell phone or the wireless internet?, Kaohsiung Journal of Medical Sciences, 31, s.480-484.

Yılmaz, D., Yıldız, M., (2010), Analysis of the Mobile Phone Effect on the Heart Rate Variability by Using the Largest Lyapunov Exponent, J Med Syst., 34, s.1097–1103.

Yılmaz H., (2007), Kablosuz Yerel Alan Ağlarından Kaynaklanan Elektromanyetik Alanın, İşitme Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, İstanbul Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, s.39, 42.

EKLER

Ek 1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Başvurusu Onayı

T.C.
DUMLUPINAR ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	1800 MHz manyetik alanın sıçanlarda kolon mikroflorası ve patolojisi üzerine etkileri ile kolondaki bazı gen mutasyonlarının belirlenmesi	
	ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Yrd.Doç.Dr.Saadet ÇELİKÖZLÜ DPU Biyoloji Anabilim Dalı	
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Yrd.Doç.Dr.Saadet ÇELİKÖZLÜ DPU Biyoloji Anabilim Dalı	
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Yrd.Doç.Dr.Saadet ÇELİKÖZLÜ Prof.Dr.Hayri DAYIOĞLU Doç.Dr.M.Kasım ÇAYCI	Öğr.Gör.Sinan DARCAN Ezgi ECE
	ARAŞTIRMANIN TAHMİNİ SÜRESİ	12 Ay	
KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	Sprague Dawley (E) – 30 adet		
DESTEKLEYİCİ KURULUŞ	DPÜBAP		

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi
	DİLEKÇE	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2015.02.04	Tarih : 11.02.2015
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen dilekçe gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. 2014.05.06 karar nolu çalışmada hayvan gruplarının sayısı grup 1 (n=16) deney grubu, grup 2 (n=8) sham grubu, grup 3 (n=6) kontrol grubu olarak değiştirilmesinin etik açıdan uygunluğuna çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya iletilmesine OY BİRLİĞİ ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması, 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi, 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması, 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURULU BİLGİLERİ

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza
Doç.Dr. Aynur GÜLCAN Başkan	Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ahmet KOÇAK Üye	Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Sezer AKÇER Üye	Anatomi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ceylan AYADA Üye	Fizyoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç. Dr. Hasan METİNEREN Üye	Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. M.Kasım ÇAYCI Üye	Biyoloji Anabilim Dalı	Fen-Edebiyat Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr. Muhammed OYLUMLU Üye	Kardiyoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Zulfü BAYHAN Üye	Genel Cerrahi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Vet. HEKİM Aydın AKCILAR Üye	Veteriner HEKİM	Tıp Fakültesi DEHYUAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Erkan ERKOL Üye			<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişkisi

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ezgi ECE

Doğum Tarihi ve Yeri: 04/09/1991-Bursa

Uyruk: Türkiye Cumhuriyeti

e-posta: ece.ezgi91@gmail.com

Yabancı dil: İngilizce

Lisans ve Mezuniyet Yılı: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü /2013

Sertifikalar: Gazi Üniversitesi, XVII.Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Katılım Sertifikası /2015.

Dumlupınar Üniversitesi, Pedagojik Formasyon Sertifikası, Eğitim Fakültesi /2015.

Roche Light Cycler 480, Real-Time PCR, Cihaz Eğitimi Sertifikası, Elips Sağlık Ürünleri İthalat ve İhracat LTD.ŞTİ /2013.