



**BLEOMİSİNİN GENOTOKSİK HASARINA KARŞI İN VİVO RADYO
FREKANS ALAN UYGULAMANIN OLUŞTURDUĞU ADAPTİF CEVABIN
DNA ONARIM MEKANİZMALARINDA GÖREV ALAN GENLERDE
ARAŞTIRILMASI**

Yusuf KÜÇÜKBAĞRIAÇIK

**DOKTORA TEZİ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

29/03/2021

Yusuf KÜÇÜKBAĞRIÇIK

BLEOMİSİNİN GENOTOKSİK HASARINA KARŞI İN VİVO RADYO FREKANS
ALAN UYGULAMANIN OLUŞTURDUĞU ADAPTİF CEVABIN DNA ONARIM
MEKANİZMALARINDA GÖREV ALAN GENLERDE ARAŞTIRILMASI

Doktora Tezi

Yusuf KÜÇÜKBAGRIAÇIK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2021

ÖZET

Adaptif cevap; hücrenin veya canlının önce toksik olmayan düşük dozda genotoksik kimyasal ajanlara veya iyonizan radyasyona maruz kalması ve daha sonra uygulanan toksik dozların canlıda oluşturacağı hasara karşı dirençli hale getirmesidir. Kimyasal ajanların veya iyonizan radyasyon oluşturduğu bilinen bu olguyu ön radyofrekans alan uygulamasının da oluşturduğu gösterilmiştir. Ön radyofrekans alan uygulamasının daha sonra uygulanan toksik maddelere karşı hücreyi daha dirençli hale getirdiği gösterilmiştir. Fakat radyofrekans alanların oluşturduğu adaptif cevabın moleküler düzeyinde ki çalışmaları özellikle de in vivo çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Radyo frekans dalgalar ile adaptif cevabın oluşumu ve altında yatan moleküler mekanizmayı aydınlatmak için tasarladığımız çalışma da sağlıklı Swiss Albino farelerde genomik stabiliteden sorumlu genler, apoptosiz üzerine olan olası etkileri, serbest radikaller ve antioksidan mekanizması arasındaki denge araştırılmıştır. Deney için; kontrol, sham, R (900 MHz günlük 4 saat 7 gün boyunca), B (37.5 mg/kg bleomisin (BLM), intraperitoneal (i.p.), RB (900 MHz günlük 4 saat 7 gün boyunca + 37.5 mg/kg BLM, i.p.) (her grup için n=6) den oluşan 5 grup kuruldu. Çalışmamız da adaptif cevap oluşturduğumuz RB grubu sham grubuna göre karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre RB grubun da reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı adaptif cevabı tetikleyip gereken minimum stres düzeyini üretmede önemli bir rol oynamış olabilir. Adaptif cevap oluşturulan grup da ROS artışı ile eşlenik olarak DNA tamir mekanizmalarından sorumlu Tümör protein 53 (p53), 8-oksoguanin DNA glikosilaz (OGG-1), glutatyon peroksidaz-1 (GPx-1) gen ifade seviyeleri artmış ve poli (ADP-riboz) polimeraz-1(PARP-1) gen ifadesi artış eğiliminde olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve toplam antioksidan kapasite (TAC) seviyeleri adaptif cevap oluşturduğumuz grup da azalmıştır. Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) deoxyuridine triphosphate (dUTP) nick end labeling (TUNEL) analizlerinden elde edilen verilere göre; adaptif cevap oluşturduğumuz grup da DNA tamir mekanizmalarından sorumlu gen ifadelerindeki artış ile hücre ölümünü azaltarak apoptosiz azalmıştır. Araştırmamızın sonuçları, in vivo koşullarda ön radyofrekans alan maruziyeti uygulandıktan sonra genotoksik ajana karşı koruyucu bir etki yaratabileceğini gösterdi. Oluşan minimal oksidatif stres, DNA tamir mekanizmasının da rol oynayan genler ve enzimler vasıtası ile adaptif cevaba yol açtığı ve böylelikle hücrenin hayatta kalmasını sağlamaktadır.

Bilim Kodu : 1008
Anahtar Kelimeler : Radyofrekans, DNA hasarı, adaptif cevap, bleomisin
Sayfa Adedi : 122
Danışman : Doç. Dr. Elçin ÖZGÜR BÜYÜKATALAY
İkinci Danışman : Öğr. Gör. Dr. Mohammadreza DASTOURİ

INVESTIGATION OF THE DNA REPAIR MECHANISMS GENES FOR THE
ADAPTIVE RESPONSE DUE TO IN VIVO RADIO FREQUENCY FIELD
APPLICATION AGAINST GENOTOXIC DAMAGE OF BLEOMYCIN

(Ph. D. Thesis)

Yusuf KÜÇÜKBAĞRIÇIK

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

March 2021

ABSTRACT

Adaptive response; the pre-exposure of the cell or the living non-toxic low-dose genotoxic chemical agents or ionizing radiation makes it resistant to the damage caused by toxic doses. This phenomenon, which is known to cause chemical agents or ionizing radiation, is also caused by the pre-application of radiofrequency field. The pre-radiofrequency field application can then be made to make the cell more resistant to toxic substances. However, studies on the molecular level of the adaptive response created by radiofrequency fields, especially in vivo studies, are quite limited. In our study, in order to understand the molecular mechanism underlying the adaptive response created by radio frequency fields, the genes responsible for genomic stability, their possible effects on apoptosis, the balance between free radicals and antioxidant mechanisms in healthy Swiss Albino mice were investigated. For this experiment; five groups as control, sham, R (900 MHz daily for 4 hours 7 days), B (37.5 mg/kg bleomycin (BLM), i.p.), RB (900 MHz daily for 4 hours 7 days + 37.5 mg/kg BLM, i.p.) (n = 6 for each group) were established. In our study, the RB group in which we occurred an adaptive response was compared according to the sham group. According to the results, the increase of reactive oxygen species (ROS) in the RB group may play an important role in triggering the adaptive response and producing the required minimum stress level. In the group with an adaptive response, levels of tumor suppressor 53 (p53), oxoguanine DNA glycosylase (OGG-1), glutathione peroxidase 1 (GPx-1) gene expression responsible for DNA repair mechanisms increased in conjunction with the increase in ROS. Although level of poly (ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) gene expression tended to increase, it was not statistically significant. The antioxidant enzyme levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and total antioxidant capacity (TAC), decreased in the group of adaptive response. According to the data obtained from terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) analysis; in the group of adaptive response, apoptosis decreased due to decrease in cell death via the increase in gene expression responsible for DNA repair mechanisms. The results of our study showed that after applying pre-radiofrequency field exposure in vivo conditions, it can apply a protective effect against the genotoxic agent. The minimal oxidative stress occurs leads to an adaptive response with genes that play a role in the DNA repair mechanism and enzymes, thus providing the survival of the cell.

Science Code : 1008

Key Words : Radiofrequency radiation, DNA damage, adaptive response, bleomycin,

Page Number : 122

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Elçin ÖZGÜR BÜYÜKATALAY

Co-Supervisor : Lecturer Dr. Mohammadreza DASTOURI

TEŞEKKÜR

Tezin tüm aşamasında akademik bilgi, deneyim ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elçin ÖZGÜR BÜYÜKATALAY'a,

Hocalık dan önce bana abilik yapan ve insanlığı ile örnek olan, tezin her aşamasında bana sabır ve özveri ile deneyim ve tecrübelerini aktaran, akademik bilgi ve birikimini paylaşan yol gösteren ikinci danışman hocam Sayın Öğr. Gör. Dr. Mohammadreza DASTOURİ'e,

Değerli katkılarından dolayı hocam Sayın Prof. Dr. Serdar DEMİRTAŞ'a,

Değerli katkılarından dolayı hocam Sayın Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ'a,

Tez çalışmam sırasında analizler konusunda destek veren değerli arkadaşlarım Sayın Dr. Zübeyir ELMAZOĞLU, Dr. Ahmet Hulusi YEŞİL ve Dr. Özen AKARCA DİZAKAR'a,

Eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteğini hep hissettiğim ve bugüne gelmemin mimarları olan dedem Mahmut KÜÇÜKBAĞRIAÇIK, annem Nurşen KÜÇÜKBAĞRIAÇIK ve babam Mehmet KÜÇÜKBAĞRIAÇIK'a,

Grafikler konusunda yardımcı olan kardeşim Cihat KÜÇÜKBAĞRIAÇIK'a,

Doktora eğitimimin zorlu ve mutlu anlarında omuz omuza yürüdüğüm desteğini hep hissettiğim eşim Gülşen KÜÇÜKBAĞRIAÇIK'a,

Yaramazlıklarını üzerimden hiç eksik etmeyen 'baba artık çalışmasan da bizimle oynasan' diyerek tez sürecimi uzatan yaşama sevincim olan kızım Elif KÜÇÜKBAĞRIAÇIK ve oğlum Doruk KÜÇÜKBAĞRIAÇIK'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Elektromanyetik Alanlar	3
2.1.1. Elektromanyetik dalga spektrumu	5
2.2. İyonizan Radyasyon	8
2.2.1. Elektromanyetik spektrumun iyonizan bileşenleri	9
2.2.2. X-Işını.....	9
2.2.3. γ -Işını.....	10
2.3. İyonizan Olmayan Radyasyon	10
2.3.1. Elektromanyetik spektrumun iyonizan olmayan bileşenleri	11
2.3.2. Oldukça düşük frekans alanlar	11
2.3.3. Mikro dalgalar	11
2.3.4. Kızılötesi dalgalar.....	12
2.3.5. Ultraviyole dalgalar	12
2.4. RF Alanlar	12
2.4.1. Uzak alan	13
2.4.2. Yakın alan	13

Sayfa

2.4.3. Radyo frekans alanların özellikleri.....	14
2.4.4. RF alan kaynakları.....	14
2.4.5. Doğal RF alan kaynakları.....	15
2.4.6. Yapay RF alan kaynakları	16
2.4.7. Mobil telefon sistemlerinin gelişimi ve radyo frekans alanlar	17
2.5. Özgül Soğurma Oranı	18
2.5.1. Termal etki.....	19
2.5.2. Termal olmayan etki.....	19
2.6. Elektromanyetik Alanın Biyolojik Sistemler Üzerindeki Etkileri	20
2.7. Adaptif Cevap	21
2.7.1. Adaptif cevap ve RF alan maruziyet frekansının belirlenmesi	27
2.8. RF Alanlar ve Genler	30
2.8.1. RF alanlar ve p53 geni.....	30
2.8.2. RF alanlar ve PARP-1 geni	32
2.8.3. RF alanlar ve OGG-1 geni.....	33
2.8.4. RF alanlar ve GPx-1 geni	33
2.9. RF Alanların Oksidatif Mekanizması	34
2.9.1. RF alanlar ve reaktif oksijen türleri.....	35
2.9.2. RF alanlar ve 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine	38
2.9.3. RF alanlar ve malondialdehit.....	38
2.9.4. RF alanlar ve süperoksit dismutaz.....	39
2.9.5. RF alanlar ve katalaz	40
2.9.6. RF alanlar ve toplam antioksidan kapasite.....	41
2.10. Apoptozis	42
2.10.1. Apoptozis ve RF alanlar	43
2.11. Bleomisin	46

Sayfa

2.11.1. Bleomisinin kimyasal yapısı.....	48
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	51
3.1. Radyo Frekans Alan Maruziyet Sistemi	51
3.1.1. Radyo frekans radyasyon maruziyetinde kullanılan cihazlar	54
3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar	54
3.3. Analizler için Kullanılan Cihazlar	54
3.4. Deney Hayvanları.....	55
3.5. Deney grupları.....	55
3.6. Yöntem.....	57
3.7. Dokuların ve Solüsyonların Hazırlanması	59
3.7.1. Bleomisin doz ayarlaması.....	59
3.7.2. Dokuların homojenizasyonu.....	60
3.8. ELISA Kitleri	60
3.8.1. Reaktif oksijen türleri ELISA kiti	61
3.8.2. Katalaz ELISA kiti	61
3.8.3. Malondialdehit ELISA kiti	62
3.8.4. Süperoksit dismutaz ELISA kiti.....	62
3.8.5. Total antioksidan kapasite ELISA kiti	62
3.8.6. 8- hidroksi-2'-deoksiguanozin ELISA kiti	62
3.9. Eş-Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Kantitatif Real Time-PCR/qRT-PCR).63	
3.9.1. Primerlerin dizaynı	63
3.9.2. Total RNA izolasyonu.....	64
3.9.3. NanoDrop ile total RNA miktarı ölçümleri.....	67
3.9.4. RNA bütünlüğünün kontrolü ve agaroz jel elektroforezi	68
3.9.5. cDNA sentezi.....	70
3.9.6. Primerlerin sulandırılması	72

Sayfa

3.9.7. Roche 480 LightCycler Eş-Zamanlı PZR cihazı ölçümleri.....	72
3.10. TUNEL Yöntemi.....	73
3.11. İstatiksel Analiz.....	74
4. BULGULAR.....	75
4.1. Vücut Ağırlıkları	75
4.2. ELISA Analiz Sonuçları	75
4.2.1. ELISA 8-OHdG sonuçları	76
4.2.2. ELISA ROS sonuçları	77
4.2.3. ELISA MDA sonuçları.....	78
4.2.4. ELISA CAT sonuçları	79
4.2.5. ELISA SOD sonuçları	80
4.2.6. ELISA TAC sonuçları	81
4.3. Eş-Zamanlı PZR Gen İfade Analizleri Bulguları.....	82
4.3.1. p53 gen ifade seviyesi değişim bulguları	82
4.3.2. PARP-1 gen ifade seviyesi değişim bulguları	83
4.3.3. OGG-1 gen ifade seviyesi değişim bulguları	84
4.3.4. GPx-1 gen ifade seviyesi değişim bulguları	85
4.4. TUNEL Sonuçları	86
5. TARTIŞMA	89
5.1. Gen İfadesi ve Adaptif Cevap	89
5.2. Protein Analizleri ve Adaptif Cevap	92
5.3. Apoptosiz ve Adaptif Cevap	94
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	97
6.1. Sonuçlar.....	97
6.2. Öneriler	98

	Sayfa
KAYNAKLAR	99
EKLER.....	117
EK-1. Etik Kurul Onayı	118
ÖZGEÇMİŞ	120

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Elektrik alanın temel nicelikleri.....	3
Çizelge 2.2. Manyetik alanın temel nicelikleri	4
Çizelge 3.1. R&S®SMBV100A vektör sinyal jeneratörü teknik özellikleri	52
Çizelge 3.2. ETS-Lindgren 3164–04 horn antenin elektriksel özellikleri	53
Çizelge 3.3. ETS-Lindgren 3164–04 horn antenin fiziksel özellikleri	53
Çizelge 3.4. Genler için oluşturulan primerler.....	64
Çizelge 3.5. Karaciğer dokusundan elde edilen total RNA'ların A260/A280 oranları	67
Çizelge 3.6. cDNA karışım miktarları tayini	70
Çizelge 3.7. Her bir tüpte 1000 ng total RNA olması için gerekli örnek ve nükleazsız su miktarları	71
Çizelge 3.8. Reaksiyon protokolü.....	71
Çizelge 3.9. Reaksiyonda kullanılan miktarlar	73
Çizelge 4.1. Tüm grupların vücut ağırlıkları	75

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Hız, manyetik alan ve manyetik kuvvet yönelimi	4
Şekil 2.2. Elektromanyetik dalga yayılımı.....	5
Şekil 2.3. Elektromanyetik spektrum.....	6
Şekil 2.4. X ve γ -ışınlarının elektromanyetik spektrumdaki yerleri	9
Şekil 2.5. Elektromanyetik spektrum ve radyo dalgaları sınıflandırması	14
Şekil 2.6. İnsan yapımı ve doğal ışınım güç yoğunluklarından kaynaklanan radyo frekans elektromanyetik radyasyonunun farklı dönemlerle karşılaştırılması	15
Şekil 2.7. Dünya ve uzay kaynaklı elektromanyetik alanlar K:Kelvin.....	16
Şekil 2.8.Çeşitli elektromanyetik alan kaynakları	17
Şekil 2.9. RF alanlar ile uyarlanmış adaptif cevap da yer alan moleküler mekanizmalar ...	26
Şekil 2.10. p53 geni, düşük stres durumunda hücre sağ kalımı ve onarımını, yüksek stres altında hasarlı hücrenin ölüm veya yaşlanmasından sorumludur	30
Şekil 2.11. Antioksidatif savunmalar ve ROS arasındaki bozukluk durumunda.....	34
Şekil 2.12. ROS'un hücre ölümüne ve hücre fonksiyonlar üzerine olan etkisi.....	36
Şekil 2.13. Radyasyona bağlı oksidatif stresin DNA biyolojisi üzerindeki potansiyel etkileri	37
Şekil 2.14. Apoptoz, proliferasyon ve hücre yaşlanmasında radyasyona bağlı oksidatif stresin potansiyel rolleri	44
Şekil 2.15. Hücre proliferasyonunun dönemleri (hücre siklusu) ve kontrol noktaları.....	47
Şekil 2.16. Bleomisin kimyasal yapısı.....	49
Şekil 2.17. Bleomisin tarafından indüklenen DNA hasarının kimyasal yapısı.....	50
Şekil 3.1. Deney grupları ve akış diyagramı.....	57
Şekil 3.2. Deney protokolü	58
Şekil 3.3. İzolasyon sonrası oluşan fazlar	65
Şekil 3. 4. RNA peleti	66

Şekil	Sayfa
Şekil 3.4. RNA peleti.....	66
Şekil 4.1. Karaciğer dokusundan analiz edilen 8-OHdG değerleri.....	76
Şekil 4.2. Plazma örneklerinden ölçülen ROS değerleri.....	77
Şekil 4.3. Plazma örneklerinden ölçülen MDA değerleri	78
Şekil 4.4. Plazma örneklerinden ölçülen CAT değerleri	79
Şekil 4.5. Plazma örneklerinden ölçülen SOD değerleri	80
Şekil 4.6. Plazma örneklerinden ölçülen TAC değerleri	81
Şekil 4.7. p53 gen ifade seviyesi değişimi	82
Şekil 4.8. PARP-1 gen ifade seviyesi değişimi.....	83
Şekil 4.9. OGG-1 gen ifade seviyesi değişimi	84
Şekil 4.10. GPx-1 gen ifade seviyesi değişimi	85
Şekil 4.11. TUNEL pozitif hücre sayısı grafiği	87

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. R&S®SMBV100A vektör sinyal jeneratörü	51
Resim 3.2. ETS-Lindgren 3164-04 horn anten	52
Resim 3.3. Maruziyet sisteminde kullanılan cihazlar	54
Resim 3.4. Anestezi altındaki Swiss Albino fare ve sakrifiye sonrası analiz için alınan karaciğer dokusu	58
Resim 3.5. RF maruziyet altındaki fareler	59
Resim 3.6. Sonikatör ile karaciğer dokusu homojenizasyonu	60
Resim 3.7. Total RNA örneklerinin jel görüntüleri	69
Resim 3. 8. Total RNA örneklerinin jel görüntüleri	70
Resim 3.9. Reaksiyon protokolü yazılmış Thermal Cycler cihazı.....	72
Resim 4.1. A: Sham, B: R, C: B, D: RB deney gruplarına ait karaciğer kesitlerinde TUNEL pozitif hücreler (ok) izlenmekte (DAB & Hematoksilen; x 400)	86

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

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

Simgeler	Açıklamalar
amu	Atomik kütle birimi
C	Coulomb
c	Işık Hızı (3×10^8 m/sn)
e	Elektron (1.602177×10^{-19} C)
E/H	Dalganın empedansı boşlukta (377 ohm)
eV	Elektron volt
f	Frekans (Hz)
G	Gauss
Gy	Gray
h	Planck sabiti (6.626×10^{-34} J.s = 4.136×10^{-15} ev.s)
k	Boşluk ve hava için k sabiti ($1/4\pi\epsilon_0 = 9 \times 10^9$ Nm ² /C ²)
T	Tesla
ϵ_0	Boşluğun dielektrik sabiti (8.85×10^{-12} C ² / N.m ²)
λ	Dalga Boyu (m)
ρ	Doku yoğunluğu (kg/m ³)
σ	Dokunun elektriksel iletkenliği (Simens/metre)

Kısaltmalar	Açıklamalar
8-OHdG	8-hydroxy-2'-deoxyguanosine
AC	Adaptif cevap
AD	Adaptif doza
B	Manyetik akı yoğunluğu
BLM	Bleomisin
CAT	Katalaz
CD	Yüksek doza
D	Elektrik akı yoğunluğu
DNA	Deoksiribo nükleik asit
E	Elektrik alan
EHF	Oldukça yüksek frekans

Kısaltmalar	Açıklamalar
EHS	Elektromanyetik aşırı duyarlılık (elektro hipersensitivite)
ELF	Aşırı düşük frekans
EMF	Elektromanyetik alanları
FCC	Amerika Federal İletişim Komisyonu
FIR	Uzak kızılötesi
G	Nesil (Generation)
GPx-1	Glutasyon peroksidaz-1
GSM	Mobil iletişim için küresel sistem
H	Manyetik alan şiddeti
HF	Yüksek frekans
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer)
ICNIRP	Uluslararası İyonize Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu
IEEE	Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Enstitüsü
IR	Kızılötesi
ITU	Uluslararası Telekomünikasyon Birliği
LDR	Düşük doz iyonlaştırıcı radyasyon
LF	Düşük frekans
MDA	Malondialdehit
MF	Orta frekans
MIR	Orta kızılötesi
MMC	Mitomisin-C
MN	Mikronükleus
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
MW	Mikrodalgalar
NIR	Yakın kızılötesi
OGG-1	8-oksoguanin DNA glikosilaz
p53	Tümör protein 53
PARP-1	Poli (ADP-riboz) polimeraz-1
RF	Radyo frekans
RF-EMF	Radyo frekans elektromanyetik alanlar
RF-EMR	Radyo frekans elektromanyetik radyasyon
RNA	Ribo nükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri

Kısaltmalar	Açıklamalar
SAR	Özgöl soğurma oranı
SHF	Süper yüksek frekans
SOD	Süperoksit dismutaz
TAC	Toplam antioksidan kapasite
UHF	Ultra yüksek frekans
UV	Ultraviyole
VF	Ses frekansı
VHF	Çok yüksek frekans
VLf	Çok düşük frekans

1. GİRİŞ

Teknolojik gelişmeler ile paralel olarak radyo frekans (RF) alanların kullanımının artması insanların ve doğanın giderek artan miktarda elektromanyetik alanlara maruz kalmasına neden olmaktadır. Cep telefonu kullanımının artışı, baz istasyonlarının artışı ve yeni nesil teknolojiler ile daha yüksek frekanslı elektromanyetik dalgaların kullanımıyla günlük hayatımızın çoğu aşamasında elektromanyetik kirliliğe maruz kalmaktayız. RF alanlar; elektromanyetik spektrumun 3 kHz - 300 GHz frekans aralığında iyonizan olmayan radyasyon olarak ifade edilmektedir. RF radyasyonun etkileri maruz kalınan alanın frekansı, uygulama süresi, güç yoğunluğu, biyolojik materyal gibi parametrelere bağlı olarak değişim gösterebilmektedir. Elektromanyetik alanların (EMF) biyolojik yapılar üzerinde olan etkilerinin ve mekanizmalarının net bir şekilde açıklanamaması, uzun süreli etkilerinin gelecekte nelere yol açabileceğinin belirsizliği bilim insanlarını elektromanyetik alanlara karşı hep ihtiyatlı yaklaşmaya sevk etmiştir. Fakat son zamanlarda elektromanyetik alanların olumsuz etkilerinin dışında olumlu etkileri olabilir mi sorusu ortaya çıkmaktadır. Düşük doz iyonlaştırıcı radyasyonun (LDR) uyarıcı ve faydalı etkileri konusundaki çalışmaları ile bilenen Sheldon Wolff 1992 yılında yayınladığı “Radyasyonun hepsi kötü mü? Adaptasyon Arayışı” [1] isimli makalesi ile Wolff’un sorusunu “Cep telefonu radyo frekans radyasyonu tamamen kötü mü?” [2] sorgusuyla değiştirilmesi kaçınılmazdı.

Çin felsefesi olan Yin ve Yang; dünyada birbirleriyle rekabet halinde olan iki güçtür ve sürekli olarak birbirlerine üstünlük sağlamaya çalışırlar tıpkı gece/gündüz, soğuk/sıcak veya iyi/kötü gibi. Yin negatif karanlık yüzü temsil ederken, Yang pozitif aydınlık yüzü temsil etmektedir [3]. Tıpkı Yin Yang felsefesinde olduğu gibi RF alanlar da olumlu ve olumsuz etkilerini içinde barındırmaktadır. Elektromanyetik alanların her organizma ve her hücre ile farklı bir dille “konuştuğu” düşünülür ise bu çağrının yanıtı adaptif (pozitif) veya yıkıcı (negatif) etkilere neden olabilecek protein modifikasyonu, iyon değişimleri veya nükleik asit konformasyonel değişikliklerine neden olabilir. Böylece EMF modülasyonun olumlu veya olumsuz sonuçlarını belirleyebiliriz [4]. Çalışmamızda RF alanların biyolojik sistemler üzerine olan olumlu etkileri araştırılmıştır.

Adaptif cevap (AC); hücrenin veya canlının önce toksik olmayan düşük dozda genotoksik kimyasal ajanlara, iyonizan veya iyonizan olmayan radyasyona maruz kalması daha sonra uygulanan toksik dozların canlıda oluşturacağı hasara karşı dirençli hale getirmesidir.

Adaptif cevap ilk olarak Samson ve arkadaşları 1977 yılında *Escherichia coli*'de kimyasal ajan ile oluşturmuştur [5]. İyonizan radyasyonun oluşturduğu adaptif cevap ise ilk kez 1984 yılında Olivieri ve arkadaşları tarafından insan lenfositlerinde gösterilmiştir [6]. İyonizan olmayan radyo frekans alanların oluşturduğu adaptif cevap ise 2009 yılında Sanino ve arkadaşları tarafından insan lenfositlerine önce düşük doz olarak radyo frekans alanlara maruz bıraktıktan sonra yüksek doz olarak genotoksik bir ajan olan mitomisin-C (MMC) uygulanmış ve bu uygulamanın genotoksik hasarı anlamlı ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışma ile çıkan önemli bir sonuç da genotoksik olmayan bir ajan olan RF radyasyonun adaptif bir cevabı indüklemeye kabiliyetine sahip olmasıdır [7].

Çalışmamızda radyo frekans alanların oluşturduğu adaptif cevap ile sağlıklı dokuları kemoterapötik ajanların olumsuz etkilerinden korumak amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda sağlıklı Swiss Albino farelerde radyo frekans alanların oluşturduğu düşünülen adaptif cevap ve altında yatan moleküler mekanizma araştırılmıştır. Mekanizmayı aydınlatmak için tasarladığımız çalışmada, RF alanların oluşturabileceği adaptif cevabın moleküler mekanizması genomik stabiliteden sorumlu p53, PARP-1, OGG-1 ve GPx-1 genlerinin ifade seviyeleri eş-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Eş-Zamanlı PZR) yöntemi ile incelenmiştir. DNA hasarı tespiti için 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) seviyeleri ELISA yöntemiyle belirlendi. Adaptif cevabın antioksidanlar ve serbest radikaller arasındaki denge üzerine olan etkilerin belirlenmesi için oksidatif stresin belirteçleri olan ROS ve malondialdehit (MDA) seviyeleri ve antioksidan savunmanın belirteçleri olan SOD, CAT ve TAC seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. Ayrıca adaptif cevabın apoptosiz üzerine etkileri TUNEL yöntemiyle incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektromanyetik Alanlar

Yük elektromanyetik alanların nedeni ve kaynağını olarak kabul edilir. Yük yok edilemezken kapalı bir sistemde yük korunumu yasasına göre pozitif ve negatif yüklerin toplamı sabittir. 1 elektronluk yük ise; $q = \text{Coulomb (C)}$, $e = 1.602177 \times 10^{-19} \text{ C}$

Coulomb yasası ile açıklanan elektrik alan (E); bir noktadaki +1 Coulomb'luk yüke etki eden kuvvet olarak ifade edilen vektörel bir niceliktir. Elektrik alan (V/m); SI birim sisteminde Newton bölü Coulomb dur (N/C) [8].

$$\vec{E} = \frac{\vec{F}}{q_o} \quad (2.1)$$

$$E = \frac{F}{q} = k \frac{q}{d^2} \quad (2.2)$$

Boşluk ve hava için k sabiti $= 1/4\pi\epsilon_0 = 9 \times 10^9 \text{ Nm}^2/\text{C}^2$, $\epsilon_0 = \text{Boşluğun dielektrik sabiti}$
 $= 8.85 \times 10^{-12} \text{ C}^2/\text{N.m}^2$

Çizelge 2.1. Elektrik alanın temel nicelikleri

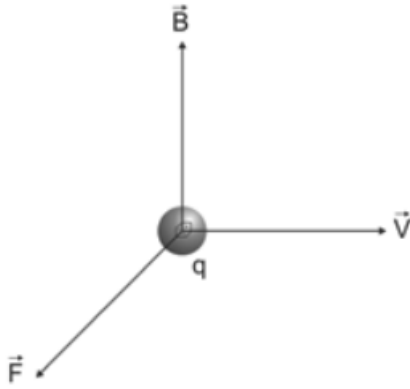
	Sembolü	Birimi
Elektrik Alan Şiddeti	$\vec{E}$	$\text{N/C} = \text{V/m}$
Elektrik Akı Yoğunluğu	$\vec{D}$	C/m^2

Hareketli yüklü parçacıkların etrafında manyetik alanlar (B) oluşturur ve vektörel bir büyüklüktür. Birimi ise Tesla (T) veya CGS birim sisteminde ifade edilirse Gauss (G) olarak adlandırılır ($1 \text{ Tesla} = 10^4 \text{ Gauss}$).

$$\vec{F} = q.\vec{v}\times\vec{B} \quad (2.3)$$

Yüklü bir parçacık manyetik alan içine girdiğinde yüke uygulanan manyetik alan büyüklüğü;

$$\vec{B} = \vec{F} / (q.\vec{v}) \quad (2.4)$$



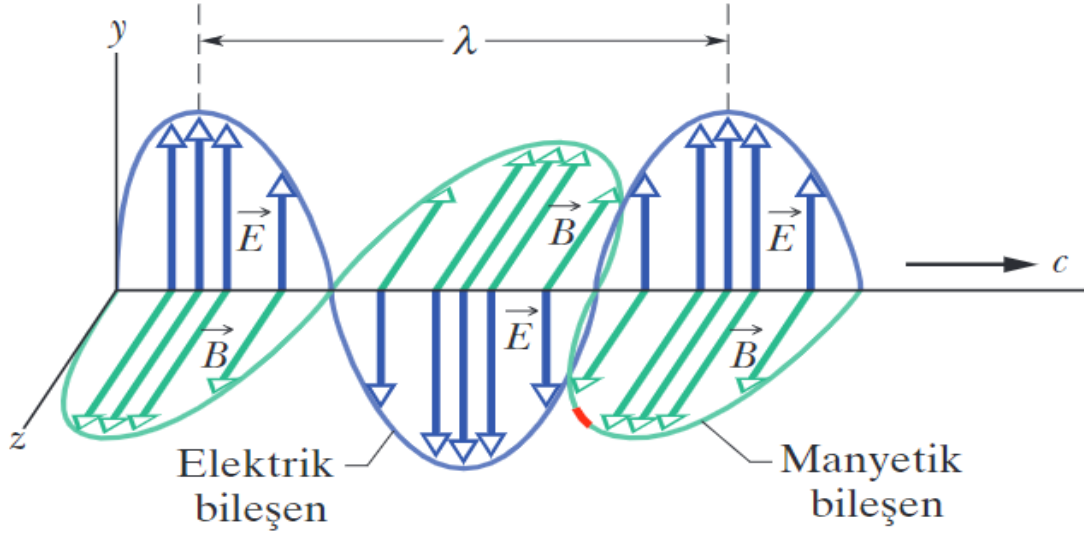
Şekil 2.1. Hız, manyetik alan ve manyetik kuvvet yönelimi [9]

Şekilde bir q yüküne etki eden manyetik kuvvet, hız ve manyetik alan vektörlerine diktir [9].

Çizelge 2.2. Manyetik alanın temel nicelikleri

	Sembolü	Birimi
Manyetik Alan Şiddeti	$\vec{H}$	A/m
Manyetik Akı Yoğunluğu	$\vec{B}$	T=Vs/m ²

James Clark Maxwell tarafından elektromanyetik dalganın keşfi ile başlamış ve Heinrich Hertz'in radyo dalgalarını keşfi ile sürmüştür [10]. Durgun yükler elektrik alanları oluştururken bu yüklere ivme kazandırılırsa etraflarında değişken bir manyetik alan meydana gelir. Yükler ivme kazanmıyor bir akım yok ise manyetik alan oluşmaz. Yükler sabit bir hızla hareket ettirilir ise etrafında manyetik alan oluşur. Elektrik ve manyetik alan çizgileri birbirine ve yayılma düzlemine dik olan zamanla sinüzoidal olarak değişen dalgalara elektromanyetik dalgalar denir. Farklı bir ifade ile uzayda veya maddesel ortamda yayılabilen elektrik ve manyetik alanların oluşturduğu dalgalara verilen addır [9].



Şekil 2.2. Elektromanyetik dalga yayılımı [10]

2.1.1. Elektromanyetik dalga spektrumu

Elektromanyetik dalgaların hızı, bir saniyedeki devir sayısı olan frekans ile tam bir devir için gerekli mesafe olan dalga boyunun çarpıma eşittir.

$$c = \lambda \cdot f \quad (2.5)$$

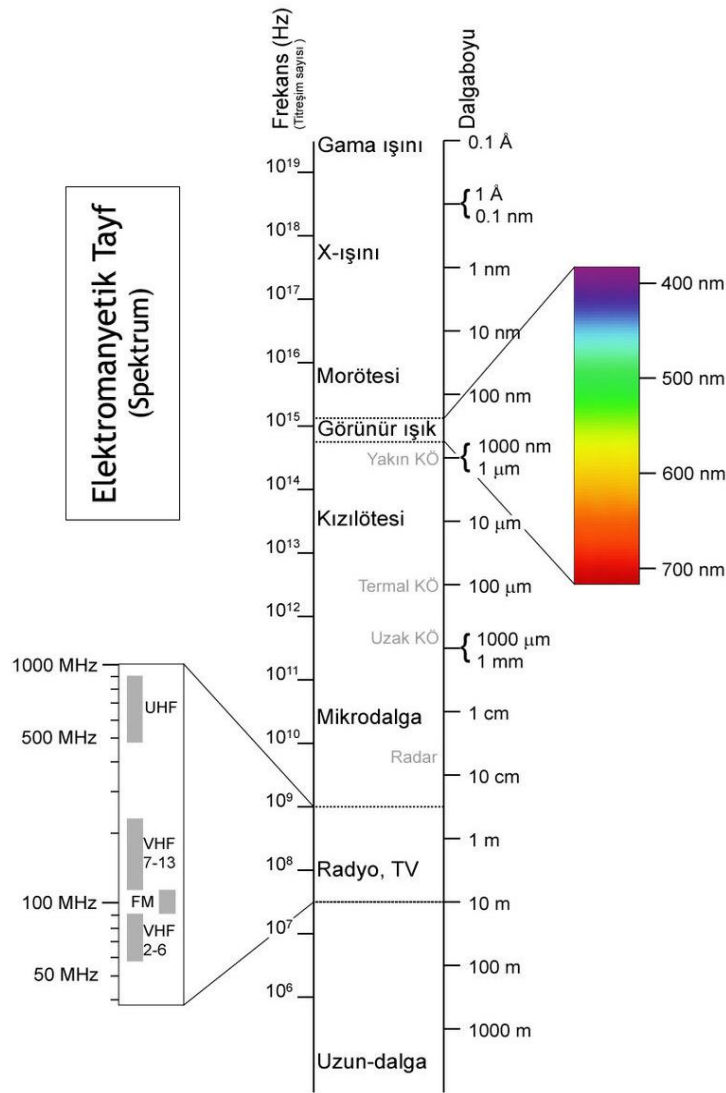
λ : Dalga Boyu (m), f : Frekans (Hz) $c = 299792458$ m/sn 1 m uzunluğu ise $1/299792458$ sn de alabilmekte ve fotonlar Dünya'dan Ay'a 1.28 sn, Güneş'ten Dünya'ya ise 8 dakika da gelebilmektedir ($c=3 \times 10^8$ m/sn vakumlu ortamda).

Bu denklem, yüksek frekanslı elektromanyetik dalgaların enerjilerinin, düşük frekanslı elektromanyetik dalgalarından daha büyük olduğunu ifade etmektedir. Elektromanyetik dalgaların enerji yayılımı, fotonlar ya da enerji paketleri şeklindedir.

$$E = h \cdot f \text{ (joule)} \quad (2.6)$$

h : Planck sabiti (j.sn) = 6.626×10^{-34} , f : Frekans (Hz = 1/sn), Elektromanyetik spektrum, evrende ki elektromanyetik dalgaların frekans, dalga boyu, enerjilerine göre sıralanırlar ve tayfta göreceli olarak yerleri Şekil 2.3'de olduğu gibi gösterilir. Elektromanyetik spektrum, dalga boylarına göre atom altı değerlerden gama ışınından başlayıp kilometre uzunluklara çıkabilen radyo dalgalarına kadar birçok farklı radyasyon tipini kapsar. Elektromanyetik

spektrum bileşenleri olan frekans, dalga boyları ve Şekil 2.3’de sıralanmıştır. Elektromanyetik spektrumdaki sınıflandırmaların belirli sınır çizgileri yoktur. Belirli bir kategoride yer alan bir dalga, başka bir kategorinin dalga boyu aralığında girebilir. Örneğin, X-ışınları ile gama ışınları arasındaki sınırları belirleyici faktör dalga boyları değildir. Bazı düşük enerjili gama ışınları, bazı yüksek enerjili X-ışınlarından daha uzun dalga boyuna sahiptir. Buna rağmen gama ışınları genellikle X-ışınlarından daha yüksek frekanslı ve dolayısıyla daha yüksek enerjili olduğu için elektromanyetik tayfın en üstünde yer almaktadırlar [8-11].



Şekil 2.3. Elektromanyetik spektrum [11]

Radyasyon, dalga formunda parçacıkların veya enerjinin emisyonudur. Radyasyon, dalga boyu ve frekansa göre değişir. Elektromanyetik spektrum, radyasyonun dalga boyu ve frekansına bağlı olarak farklı bölgelere ayrılır. Elektromanyetik radyasyonun enerjisi joule

veya elektron volt olarak ifade edilir. Radyasyon iki türe ayrılabilir: iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan. Bu iki tür radyasyon arasındaki fark, radyasyonun enerji seviyesine bağlıdır. İyonlaştırıcı radyasyon atomdan elektron koparabilir iken iyonizan olmayan radyasyon atomları veya elektronları harekete geçirebilmesine rağmen yörüngesinden elektronları koparmak için yeterli enerjisi olmayan dalgaları ifade eder [12].

2.2. İyonizan Radyasyon

Atom, (yarıçap yaklaşık 10^{-8} cm) kimyasal reaksiyona katılabilen maddenin en küçük kısmıdır, bir mol atom da bulunan atom sayısı $6.02214199 \times 10^{23}$ dür. Atomların çekirdekten farklı radyal mesafelerde yörüngelerinde negatif yüklü elektronlar vardır. Atomik kütle birimi (amu), ^{12}C atomunun kütlesi = 12.000 olacak şekilde tanımlanır:

1 amu = 1.66×10^{-24} g, Elektron kütlesi = 0.00055 amu, Proton kütlesi = 1.0073 amu, Nötron kütlesi = 1.0097 amu, Elektron volt (eV), atomdan elektronu ayırmak veya elektronu üst yörüngeye taşımak için gerekli olan enerjiye denir. 1 eV = 1.6×10^{-12} erg, 1 amu = 931 MeV.

$$E = m.c^2 \quad (2.7)$$

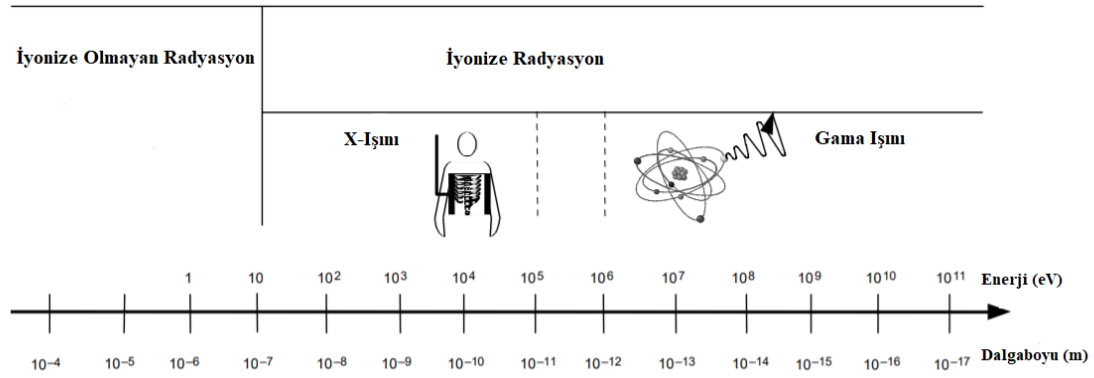
1 J/kg'lık bir enerji birikimi, ısınlanan maddenin 1 kg'ında 1 Joule'lük enerji soğurulması olarak tanımlanır. Birimi graydir. 1 gray (Gy) (yeni birim) = 100 rad (eski birim).

Yaklaşık 20 nm den az dalga boyunda ki elektromanyetik dalgaların enerjetik parçacıkları içinden geçtikleri maddeyi iyonize edebilir. Bu tür dalgalara 'iyonlaştırıcı radyasyon' denir. İyonizasyon, atomların elektronları kaybederek veya kazanarak elektriksel olarak yüklenmesine neden olur. İyonize edici enerjinin birikmesi kimyasal değişikliklere ve dolayısıyla mikroskobik ölçekte biyolojik hasara neden olur. Biyolojik etkiler ise somatik (radyasyona maruz kalan kişiyi etkileyen) ve kalıtsal (maruz kalan kişinin soyunun devamını etkileyen) olarak ikiye bölünebilir. Ayrıca stokastik ve stokastik olmayan etkilere de ayrılabilirler. Stokastik bir etki, düşük dozlarda alınan radyasyondur, etkinin ortaya çıkması için bir eşik değer söz konusu değildir. Determinist (stokastik olmayan) bir etki, maruz kalınan etkinin şiddetinin bir eşik değerinin üstünde pozlamalar da meydana geleceğini, belirli bir radyasyon dozunun aşılmasının gerektiği bir durumdur. Düşük seviyeli kronik maruziyetlerin neden olduğu hem stokastik hem de stokastik olmayan etkiler genellikle uzun latent dönemlerle (yıllar ile on yıllar) ilişkilidir [13].

Ortalama kimyasal bağın kırılması için sadece yaklaşık 3 eV gerektirdiği düşünüldüğünde iyonlaştırıcı radyasyon etkilerini aşağıdaki gibi sıralayabiliriz.

- Hücre ölümü
- Mutasyonlar
- Kromozom kırıkları
- Hücre bölünmesinin inhibisyonu
- Dev hücrelerin oluşumu
- Sağ kalım oranının azaltılması
- Makro moleküller üzerindeki etki (DNA)
- Metabolizma ve protein sentezinin azaltılması [13].

2.2.1. Elektromanyetik spektrumun iyonizan bileşenleri



Şekil 2.4. X ve γ -ışınlarının elektromanyetik spektrumdaki yerleri [14]

X-ışını ve γ -ışını arasındaki enerji 10 eV ile 10^{11} eV arasındadır. X-radyasyonu ve γ -radyasyonu, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer – IARC, 2000) tarafından Grup 1 kanserojen olarak sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma, lösemi (kronik lenfositik lösemi hariç), kadınlarda meme kanseri, çocukluk çağında maruz kalan kişilerde tiroid bezi kanseri dâhil olmak üzere cilt kanseri, mide, kolon ve akciğer kanseri risklerinin artış oranlarına göre belirlenmiştir [14].

2.2.2. X-Işını

X-ışınları; en kısa ultraviyole radyasyon ile (birkaç on elektron volt) ve γ -radyasyon (birkaç mega elektron volt) arasındaki spektral aralıktaki elektromanyetik dalgalardır.

γ -radyasyon genellikle atom çekirdeğinden kaynaklanır iken, X-radyasyonu ise elektron kabuklarından gelen foton emisyonlarından kaynaklanmaktadır.

X-ışınlarının kimyasal ve biyolojik etkilere yol açan iyonlaştırma potansiyeli Compton saçılması ve fotoelektrik etkisinin bir sonucudur. X ışınları birçok tıbbi ve teknik uygulamada kullanılmaktadır. En yaygın olarak, insan vücudunun incelenmesinde malzemelerin analizinde ayrıca yok edici etkisi kanser tedavisinde kullanılmaktadır [14].

2.2.3. γ -Işını

Ernest Rutherford tarafından 1899'da radyoaktif kaynaklardan gelen radyasyonun α , β ve γ -ışın bileşenlerinden oluştuğunu buldu. 1914'te girişim deneyleriyle γ -ışınlarının elektromanyetik spektruma eklendi. γ -ışını; atom çekirdeklerindeki γ geçişleri ile yayılırlar. Tıp alanından parçacık fiziğine kadar birçok alanda kullanılmaktadır [14].

2.3. İyonizan Olmayan Radyasyon

RF elektromanyetik radyasyon, kimyasal bağları kırmak veya biyolojik molekülleri iyonize etmek için yeterli enerjiye sahip olmayan fotonları içerdiğinden, iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak sınıflandırılır [15]. Bir elektromanyetik dalganın fotonunun enerjisi $E = hf$ ile verilir, burada h Planck sabiti (6.626×10^{-34} J.s veya 4.136×10^{-15} eV.s) dir. RF alanların spektrumundaki fotonların enerjisi, 1 GHz'de yaklaşık 4.1×10^{-6} eV (6.6×10^{-25} J), 300 GHz'de ise 1.2×10^{-3} eV (2.0×10^{-22} J) arasında değişen enerjilere sahiptirler. Bu nedenle, RF alanların organik malzemeleri veya metalleri iyonize etmek için gerekli olan enerjinin (yaklaşık 5-10 eV) çok altında enerjilere sahiptirler [16]. Bir moleküllerin iyonizasyonu için 2×10^5 fotonun soğurulması ihtiyaç vardır ve bunun için 1 ev'luk enerji gereklidir [17].

2011 yılında IARC tarafından cep telefonları ve diğer kablosuz cihazlardan yayılan iyonizan olmayan radyo frekans radyasyonunun etkileri Grup 2B olarak sınıflandırılmıştır. Mevcut bilimsel kanıtların kapsamlı analizine dayanarak RF alanların maruziyeti insanlar için olası kanserojenik hasarlara yol açabileceği sonucuna varılmıştır [18, 19]. Bazı araştırmacılar bu listenin yeniden güncellenip; Grup 2A: Muhtemelen insanlar için kanserojen olarak değiştirilmesi gerektiğini düşünmektedir [20]. Radyo frekans alanlar, canlı sistemler

tarafından emilir. Hamile kadınlar ve çocuklar, mikrodalga radyasyondan kaynaklanan gelişimsel zararlara karşı daha savunmasızdır [21, 22]. Araştırmalar, ayrıca çocukların vücut ağırlığı başına bir yetişkinden daha fazla mikrodalga radyasyonu emdikleri bilinmesine rağmen standartlar yetişkin bedenler için geliştirilmiştir [23].

2.3.1. Elektromanyetik spektrumun iyonizan olmayan bileşenleri

Günlük hayatımızın her noktasında evde işyerinde karşılaştığımız fakat farkında dahi olmadığımız birçok frekansa maruz kalmaktayız. İnsan ve ekoloji üzerine etkileri konusunda kesin bir görüş birliği olmamasına rağmen gelişen teknoloji ile giderek daha fazla iyonizan olmayan radyasyonu oluşturan farklı frekansta dalgalara maruz kalıyoruz. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon en düşük frekanstan en yüksek frekansa göre;

1. Aşırı düşük frekans (ELF)
2. Radyo frekansları
3. Mikrodalga frekansları
4. Lazerler
5. Kızılötesi
6. Görünür spektrum
7. Ultraviyole şeklinde sıralanır.

2.3.2. Aşırı düşük frekans alanlar

Elektromanyetik spektrumun en başında yer alan aşırı düşük frekanslı alanlar 0-300 Hz frekansa sahip dalgaları içermektedir. ELF'ye günlük hayatımızda, evimizde, çalışma alanlarımızda maruz kalmaktayız. Üzerinden akım geçen kablolar, her türlü elektrik ile çalışan cihazlar, yüksek gerilim hatları, televizyon ve bilgisayar gibi günlük hayatımızın parçası olan cihazlar tarafından ELF'ye maruz kalıyoruz [24].

2.3.3. Mikro dalgalar

Mikrodalgalar (MW) frekansları 300 MHz ile 300 GHz arasında değişen elektromanyetik dalgalardır. Mikrodalgalar yaygın olarak evlerde, endüstride, iletişimde, tıbbi ve askeri alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. FM radyo ve TV yayın antenlerinde 80-800 MHz arasında değişen frekanslarda mikrodalgalar kullanılmaktadır [25].

2.3.4. Kızılötesi dalgalar

Kızılötesi (IR), 780 nm ile 1000 μm arasındaki dalga boylarını içeren elektromanyetik radyasyondur. IR farklı bantlara ayrılmıştır: yakın kızılötesi (NIR, 0.78~3 μm), orta kızılötesi (MIR, 3~50 μm) ve uzak kızılötesi (FIR, 50~1000 μm) [26]. Vücudumuz da yakılan besinler sonucunda ortaya çıkan ısı vücut sıcaklığımızı artırmaktadır. Vücudumuz ise sıcaklığımızı 37 $^{\circ}\text{C}$ de tutabilmek için IR ışıma yapmaktadır. Yaklaşık oluşan ısıнын %60'ı bu yöntem ile dışarıya aktarılmaktadır. Böylece denge (hemoastasis) sağlanmaktadır. Canlılar 10^{12} Hz'den az titreşimle elektromanyetik radyasyon yaymaktadır [27].

2.3.5. Ultraviyole dalgalar

Ultraviyole dalgalar (UV) yayılımı 100-400 nm dalga boyunda elektromanyetik spektrumun bir parçasıdır. UV radyasyonunun üç alt türü vardır: UVA, UVB ve UVC. UVA ışınları 315-400 nm arasında ölçülen en uzun dalga boyuna sahiptir. Ozon tabakası tarafından emilmezler birincil olarak erken cilt yaşlanmasından sorumludurlar. UVB ışınları daha kısadır ve 280-315 nm arasındadır. Hem UVA hem de UVB'ye maruz kalmak bronzlaşmış bir görünüme neden olabilir. UVC ışınları en kısa olanıdır. 100-280 nm arasındadır. UV radyasyonda UVC'nin enerjisi UVA ve UVB'ye göre daha yüksektir. UVC'nin enerjisi 10 eV'dan büyük olduğu için iyonizan radyasyon olarak sınıflandırılır. Ozon tabakası ve atmosfer tarafından emilir [28].

2.4. RF Alanlar

RF radyasyonun enerjisi emilimi frekans, yoğunluk, polarizasyon, maruz kalma bölgesine (yakın alan veya uzak alan), maruz kalan nesnenin özelliklerine (boyut, geometri, dielektrik geçirgenlik ve elektrik iletkenliği) ve maruz kalan cismin yanındaki nesnelerin emilim veya saçılımına bağlıdır [15]. Cep telefonları için kullanılan frekanslarda (yaklaşık 1-2 GHz), karşılık gelen dalga boyları 30 ve 15 cm'dir. Yakın alan ve uzak alan oluşumu frekansa ve maruz kalan kişinin yayılan antenden uzaklığına bağlıdır. Kablosuz telekomünikasyon cihazlarının kullanımıyla hem yakın alan hem de uzak alan pozlamaları oluşabilir. Yakın alan bölgesinde, elektrik ve manyetik alanlar üniform değildir, dalga empedansı noktadan noktaya değişir, güç anten ve çevresindeki nesne arasında ileri geri aktarılır. Elektrik ve manyetik alanlar yakın alanda üniform olmadığından elektrik ve manyetik alan ayrı ayrı

ölçülemez [29]. Radyasyon alanlar; frekans, E, H'nin büyüklüklerine ve uzaysal değişimlerine göre ifade edilir. Kaynaktan uzaklaştıkça RF dalgalar düzlem dalga özelliği gösterir. Yakın alan ve uzak alan olmak üzere iki kısma ayrılır [30].

2.4.1. Uzak alan

Uzak alanlarda elektromanyetik dalgalar düzlem dalga özelliği gösterirler. Uzak alanların yaygın bir tipi olan küresel dalgaların cephesi yeterince büyük ise düzlem dalga olarak kabul edilir. Uzak alanların düzlem dalga özelliği göstermesi nedeni ile matematiksel hesapları oldukça kolaydır [30].

Düzlem dalganın özellikleri:

- Dalga cepheleri düzlemdir.
- E ve H birbirlerine ve yayılma doğrultularına diktirler.
- Dalganın empedansı boşlukta; $E/H=377$ ohm'dur.
- Düzlem dalga matematiksel bir model olup fiziksel olarak gerçek değildir.
- Düzlem dalgada ortalama güç yoğunluğu (P) ise;

$$P = E.H = E^2 / 377(\text{Watt} / \text{m}^2) \quad (2.8)$$

$$R_{uzak\ alan} > 2 \frac{D_{maks.}^2}{\lambda_{min}} \quad (2.9)$$

Rayleigh ölçütü ile uzak alan hesabı [27]:

λ = Dalgaboyu

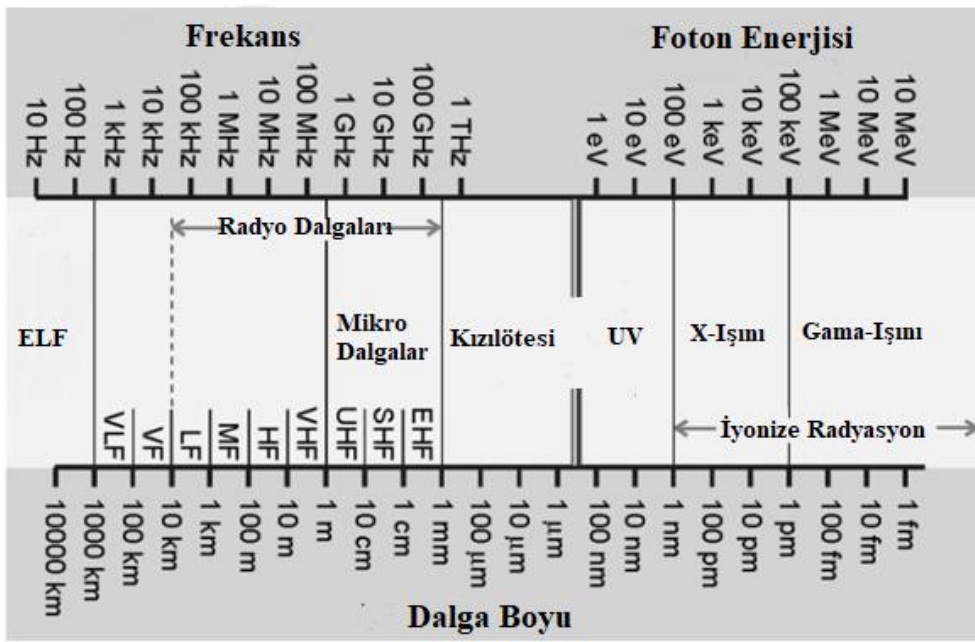
D= Kaynak antenin en uzun boyutu

2.4.2. Yakın alan

Yakın alanlarda elektromanyetik dalgalar düzlem dalga özelliği göstermez ve manyetik alan ve elektrik alan karmaşık yapıya sahip olduğundan matematiksel hesapları oldukça zordur [30].

2.4.3. Radyo frekans alanların özellikleri

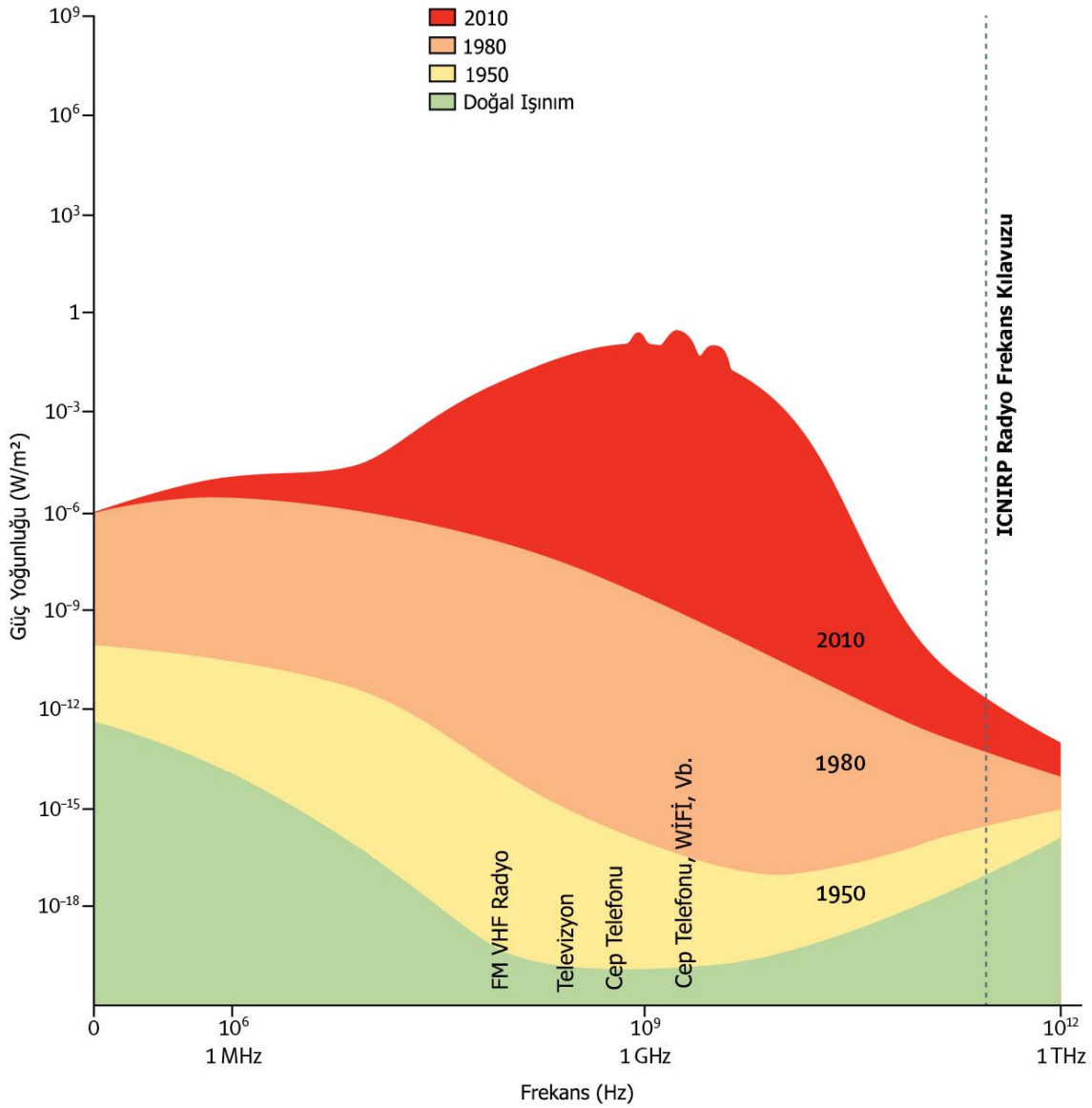
RF aralığındaki elektromanyetik alanlar radyo dalgaları olarak iletişim amacıyla kullanılmaktadır. Şekil 2.5’de gösterildiği gibi Uluslararası Telekomünikasyon Birliği (ITU) frekans dalgalarına göre radyo dalgaları için bir sınıflandırma geliştirmiştir: çok düşük frekans (VLF); ses frekansı (VF); düşük frekans (LF); orta frekans (MF); yüksek frekans (HF); çok yüksek frekans (VHF); ultra yüksek frekans (UHF); süper yüksek frekans (SHF); ve oldukça yüksek frekans (EHF) [31].



Şekil 2.5. Elektromanyetik spektrum ve radyo dalgaları sınıflandırması [16]

2.4.4. RF alan kaynakları

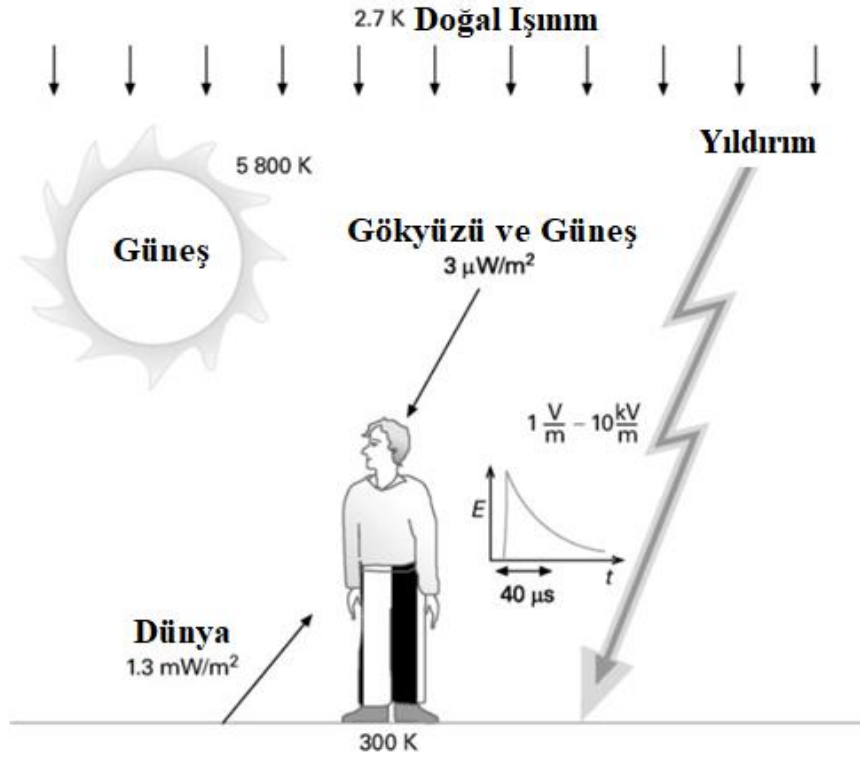
İnsanlar günlük hayatlarında hem doğal hem de insan yapımı kaynaklardan elektrik ve manyetik alanlara maruz kalırlar. İnsan yapımı kaynaklardan gelen alanların gücü doğal kaynaklardan gelen alanlardan daha büyük değerlere ulaşabilir. Şekil 2.6’da 1950’lerden 2010’lara kadar değişen insan yapımı RF-ELF değişimi gösterilmiştir.



Şekil 2.6. İnsan yapımı ve doğal ışınım güç yoğunluklarından kaynaklanan radyo frekans elektromanyetik radyasyonunun farklı dönemlerle karşılaştırılması [32]

2.4.5. Doğal RF alan kaynakları

Doğal RF alanlar oldukça yavaş değişimler sergilemektedir. Dünya yüzeyindeki havada elektrik alan 100 V/m civarındadır. Ancak güçlü fırtınalar sırasında 10 kat veya daha fazla değerlere çıkabilmektedir. Jeomanyetik alanın varlığı eski çağlardan beri bilinmekte ve yaklaşık 50 μT dir. Toplam alan yoğunluğu manyetik kutuplarda maksimum 60 μT 'ya kadar ulaşırken, ekvator yakınında minimum seviyesine ulaşarak yaklaşık 30 μT 'ya düşer. Jeomanyetik alan sabit değildir, sürekli dalgalanır ve günlük, aylık ve mevsimsel olarak değişebilir [33].



Şekil 2.7. Dünya ve uzay kaynaklı elektromanyetik alanlar K:Kelvin [34]

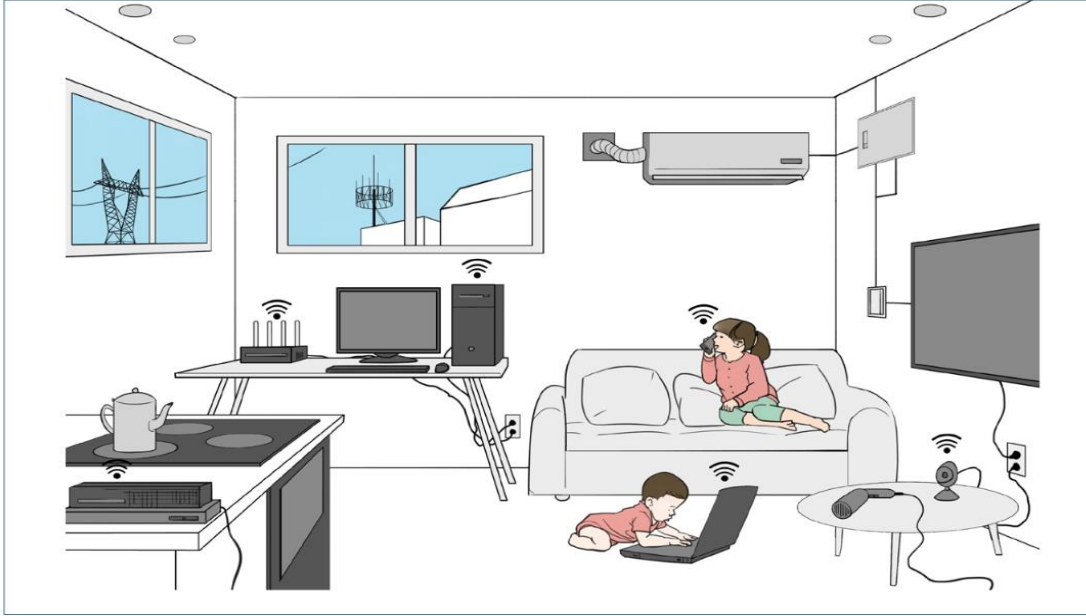
Doğal elektromanyetik alanlar çevre dünya (karasal kaynaklar) ve uzaydan (dünya dışı kaynaklar) kaynaklanmaktadır. İnsan yapımı RF alanlarla karşılaştırıldığında, doğal alan kaynakları son derece küçüktür. Güneş, elektromanyetik spektrumun da X-ışınları, ultraviyole radyasyon, görünür ışık, kızılötesi radyasyon ve radyo dalgalarından oluşmaktadır. Güneş ten gelen radyasyon dünya yüzeyine yaklaşık 1000 W/m^2 lik bir enerji bırakırken bu enerjinin yaklaşık % 53 kızılötesi, % 44 görünür ışık, % 3 ultraviyole ve küçük bir kısmı yaklaşık $3 \mu\text{W/m}^2$ radyo dalgasından oluşmaktadır [34].

2.4.6. Yapay RF alan kaynakları

İnsanların maruz kaldığı RF radyasyon üç kategoriye ayrılmaktadır;

- (a) cep telefonu baz istasyonları, yayın antenleri, akıllı sayaçlar ve tıbbi uygulamalar gibi çevresel kaynaklar;
- (b) yüksek frekanslı dielektrik ve indüksiyonlu ısıtıcılar ve yüksek güçlü darbeleri radarlar gibi mesleki kaynaklar;

(c) cep telefonları, telsiz telefonlar, bluetooth cihazları ve amatör radyolar gibi kişisel cihazların kullanımı [16].



Şekil 2.8.Çeşitli elektromanyetik alan kaynakları [35]

Aşırı düşük frekanslı EMF kaynaklarını elektrikli ev aletleri, ev içi kablolama ve yüksek gerilim hatları üretir iken radyo frekanslı EMF dalgaları cep telefonları, akıllı cihazlar, Wi-Fi, baz istasyonları ve diğer ev cihazları tarafından oluşturulur [35]. Genelde insanlar en yüksek maruziyeti; cep telefonu gibi elde tutulan cihazlar da dâhil olmak üzere RF radyasyon enerjisinin çoğunu beyine bırakan yani vücudumuza en yakın konumda olan vericilerden almaktadır [16].

2.4.7. Mobil telefon sistemlerinin gelişimi ve radyo frekans alanlar

Mobil telefon sistemlerin başlangıcı olarak kabul edilen 0 nesil (G; Generation) sistemler ile başlayan teknolojik gelişmeler sırasıyla 1G, 2G, 2.5G, 3G, 4G, 4.5G, 5G nesil sistemler kullanıldı veya kullanılmaya devam etmektedir. Kullanılmaya başlayan 5G teknoloji ile veri aktarımdaki çok ufak sapmalar sayesinde hayatımızda büyük değişimler sağlayacak. Tahmini olarak 2030 yılında da 6G sistemlerin hayatımıza girmesi beklenmektedir. Mobil İletişim İçin Küresel Sistemin de (GSM) kullanılan en yaygın RF alanlar 850, 900, 1800, 1900 ve 2100 MHz frekanslardır. Nesillerin gelişmesi ile kullanılan frekans değerleri artmaktadır. 5G teknolojisi 30-100 GHz arası frekansları kullanmakta ve muhtemelen 300 GHz'e kadar dalga boylarını kullanılacaktır. RF alanların biyolojik dokular üzerine olası

olumsuz etkileri hakkında tartışmalar devam ederken daha çok artan frekansların toplum ve ekosistem üzerine olası etkileri hakkındaki tartışmalar daha da derinleşerek devam edecek gibi görünmektedir [34, 36, 37].

2.5. Özgül Soğurma Oranı

Özgül soğurma oranı (SAR), doku kütlesi başına emilen elektromanyetik enerjidir. Birimi W/kg'dır. RF alan maruziyetine kalan vücudun 1 kg'nın sıcaklığını 1 selsiyus artıran elektromanyetik enerji miktarı 4 W olarak belirlenmiştir. Bu sebeple standartların oluşturulması ve gerekli güvenlik önlemlerinin alınması için 4 W/kg'lık SAR değeri biyolojik etki görülebilecek doz değeri olarak kullanılmaktadır. Daha yüksek değerlerde ortaya çıkabilecek olumsuz etkilere karşı koruma sağlanmalıdır. SAR değerini ölçmek insan sağlığı etkilerinin değerlendirilmesi için önemlidir. Bir biyolojik doku da bir RF-EMF'ye maruz kaldığında, RF radyasyonun enerjisi dokular tarafından emilir ve zayıflar. Enerji emilimi, büyük ölçüde radyasyon frekansının ve maruz kalan dokunun kompozisyonunun bir fonksiyonudur. Suyun yüksek dielektrik sabiti nedeniyle, su içeriği yüksek olan dokular daha çok elektromanyetik dalgaya maruz kalacaktır. Formülü;

$$SAR = \frac{\sigma}{\rho} E_{RMS}^2 = \frac{\sigma}{2\rho} E^2 \quad (2.10)$$

E dokuda indüklenen rms elektrik alan $E/\sqrt{2}$ (V/m), doku yoğunluğu (ρ) (kg/m³), dokunun elektriksel iletkenliği (σ) (Simens/metre). Tüm vücut ortalamalı SAR (wbSAR), bir vücut tarafından emilen toplam elektromanyetik güçtür ve kütlesine bölünür. Belirli bir dokuya özgü SAR (psSAR) değeri ifadesi için 1 g (psSAR-1 g) veya 10 g (psSAR-10 g) doku kütlesin de hesaplanır [16].

Genel olarak 1–3 T aralığında çalışan manyetik rezonans görüntüleme (MRI) cihazları bazen özel sistemlerle 8 T veya daha yüksek seviyelerde kalıcı bir düzgün statik manyetik alan uygulayabilir. 1.5 T'lık MRI taramasında 64 MHz de RF alanlar ölçülür. MRI tarayıcılarının içindeki hastalar tarafından alınan SAR değeri <0,1 W/kg ila yaklaşık 4 W/kg arasında değişebilir [16].

2.5.1. Termal etki

0.25 W'lık bir güç çıkışında çalışan cep telefonlarının kullanımı sırasında RF radyasyonuna maruz kalan bireylerin başındaki SAR değeri ile beyin dokusunda sıcaklığında yaklaşık 0.1 selsiyusluk bir artışa neden olacağını göstermektedir [38] bu kadar küçük sıcaklık değişiklikleri RF radyasyonun beyin dokusundaki etkilerinin sıcaklıktaki artıştan kaynaklanmadığı düşünülmektedir [39]. Bununla birlikte, sıcaklığa duyarlı moleküler ve fizyolojik etkilerin ≤ 0.1 selsiyusluk bir sıcaklık artışıyla meydana gelmesi mümkün olabilir, ancak 1 selsiyusa yaklaşan sıcaklık değişimlerin çeşitli biyolojik süreçleri etkilemesi muhtemeldir [40].

İyonize olmayan radyasyonun yüksek seviyelerine maruz kalmanın zararlı termal etkileri iyi bilinmektedir. İyonize olmayan radyasyonun termal etkileri; mikrodalgadan kaynaklı katarakt, RF ve mikrodalgalardan termal yanıklar, kas, sinir hasarı ve testis fonksiyonundaki değişikliklerdir. Bununla birlikte termal etkileri; kanser tedavisi ve radyofrekans kateter ablasyon yöntemi ile kalpte kullanılmaktadır. İyonize olmayan radyasyonun termal etkilerine maruz kalma yönergeleri, genellikle termal etkilere neden olan enerji seviyelerine ve güvenli maruziyet seviyelerine göre belirlenir. Ancak kabul edilen sınırların altındaki bir maruziyetin termal yaralanma oluşturmaması, insan sağlığı üzerinde termal olmayan olumsuz etkiler oluşturmayaacağı anlamına gelmez. Örneğin, hücresel mobil telefonlarla ve akıllı cihazlarla ilişkili frekanslar dâhil olmak üzere, RF alanlara maruz kalmanın zararlı etkileri, özellikle de beyin tümörü olabileceği çalışmalarına rağmen bilimsel net bir sonuca varılamamıştır [41].

2.5.2. Termal olmayan etki

Sıcaklık değişikliği ile doğrudan ilişkili olmayan fakat RF radyasyon elektrik veya manyetik alanlar tarafından dokuda meydana gelen biyolojik değişiklikler olarak tanımlanır [17]. Pek çok ülkede radyo frekansı elektromanyetik alanları için 3-300 GHz arasında maruz kalma limitleri için yönergeler Uluslararası İyonize Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu (ICNIRP) tavsiyelerine dayanmaktadır. Bununla birlikte, Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Enstitüsü (IEEE) veya ABD Federal İletişim Komisyonu (FCC) gibi sınır değerlerle ilgilenen başka kuruluşlar da vardır. Kılavuzlar SAR veya güç yoğunluğu olarak belirtilen temel maruz kalma sınırlarını çizerler ve çoğu ülke bu sınır değerleri göz önüne alarak kendi sınır değerlerini oluşturmaktadır. Önemli güvenlik faktörleri göz önüne alınarak

oluşturulan bu limitler, maruziyetin biyolojik malzemede termal hasara neden olmayacağı şekilde belirlenmiştir. Vücutta termal etki oluşturacak değer olan 4 W/kg SAR değeri insan için güvenlik standardı olarak alınmış ve mesleki maruziyet için bu değer 1/10 olan 0,4 W/kg, genel halk için 1/50'si olan 0,08 W/kg alınarak standart limit değerleri oluşturulmuştur. Bununla birlikte, literatürde 4 W/kg SAR değerinin altındaki biyolojik etkiler açıklanmıştır. Bu tür etkilerin ısınmadan kaynaklanmadığı düşünüldüğünden, bunlar termal olmayan etkiler olarak adlandırılır [37].

RF alanların termal olmayan etkiler sadece DNA ve protein konformasyonu üzerine etkiler olarak düşünülmemelidir. Radyo frekanslar alanlar, kalp pili ve defibratörlerle etkileşime girmemesi ve ölümcül sonuçlara yol açmaması için cihazlar dış kaynaklı RF alanlar ile girişime girmeyecek şekilde donatılmışlardır. Ayrıca mikrodalgaların işitme kayıpları üzerine etkisi (Frey etkisi) ve en tartışmalı konulardan olan elektromanyetik dalgalara aşırı duyarlılık (hypersensitivity) olarak bilinen tıbbi durumlara neden olabilir. Elektromanyetik dalgalara aşırı duyarlı kişiler, baş ağrısı, yorgunluk, kas ağrıları ve sinirsel bozukluklar gibi birden fazla semptomu ve sıklıkla deri döküntüleriyle kendini gösteren fiziksel belirtileri tarif etmektedirler [41].

2.6. Elektromanyetik Alanın Biyolojik Sistemler Üzerindeki Etkileri

Uzun süreli RF alan maruziyetinin insanlar üzerinde, baş ağrısı, yorgunluk, depresyon, kulak çınlaması, cilt tahrişi, hormonal bozukluklar ve diğer durumlar gibi çeşitli kanser dışı bozukluklara neden olabileceğini göstermektedir. Rimbach köyüne ilk cep telefonu baz istasyonu kurulduktan bir buçuk yıl sonra 60 katılımcının adrenerjik sistem üzerindeki etkileri incelenmiş. GSM baz istasyonunun aktivasyonundan sonra, adrenalin ve noradrenalin stres hormonlarının seviyeleri ilk altı ayda önemli ölçüde arttığı ve öncül dopamin seviyeleri önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Başlangıç seviyelerinde ki değerler bir buçuk yılsonunda geriye dönmemiştir. Stres sisteminin kronik dengesizliğinin bir göstergesi olan feniletilamin seviyeleri çalışma süresinin sonuna kadar önemli ölçüde azalmıştır. Katekolamin sisteminin kronik düzensizliği sağlık için büyük önem taşımaktadır ve uzun vade de insan sağlığına zarar verdiği bilinmektedir [42]. Cep telefonu baz istasyonlarının yakınında yaşayanlar nöropsikiyatrik problemler ve nöral davranışsal fonksiyonlarının performansında değişikliklere yol açabileceğinden risk altındadırlar [43]. Hallym Üniversitesinde 247 tıp öğrencisi üzerinde yapılan çalışma da, cep telefonu

kullanımının baş ağrısını artırdığı, kullanım süresinin artması ile daha da şiddetlendiği ve baş ağrısının mobil telefonun kullanıldığı tarafta meydana geldiği gösterilmiştir [44].

İnsanların iyonizan olmayan radyasyona maruz kalması nedeniyle acı çektikleri ifadesi ile elektromanyetik aşırı duyarlılık (elektro hipersensitivite, EHS) adı verilen yeni bir tıbbi durum ortaya çıkmıştır. Tipik olarak, bu kişiler görsel ekran terminallerine (televizyon, bilgisayar monitörü vb.), cep telefonlarına ve diğer elektromanyetik alanlara maruz kaldıktan sonra cilt ve mukozada karıncalanma, kaşıntı, ağrı, sıcaklık hissi belirtilerinin yanı sıra kalp ve merkezi sinir sistemi gibi iç organ sistemlerinden gelen semptomlarla sağlık kuruluşlarına başvurumaktadırlar. EHS sürekli büyüyerek 1985 te Avrupa nüfusunun % 0,06'sında bu semptomlar görülüyor iken şimdilerde bu oran % 9-11'ler de seyretmektedir. İsveç'te EHS resmi olarak tanınan bir sağlık bozukluğu haline gelmiştir [45].

RF alanlara karşı alerji reaksiyonu olan insanlar elektromanyetik cihazlara maruz kaldıktan sonra kişilerin derisindeki mast hücrelerinin seviyesinde önemli bir artış gözlenmiş. Benzer şekilde, EHS kişilerin derisinde daha yüksek düzeyde degranüle mast hücreleri tespit edilmiştir. Ayrıca alerjik reaksiyonlar ile ROS arasında lineer bir ilişki günümüzde açıkça bilinmektedir. Bu nedenle, EHS benzeri koşulların en azından kısmen RF alan maruziyetlerinden dolayı hücrelerde ki ROS artışına atfedilebilir [45-47]. Hem epidemiyolojik hem de deneysel veriler en azından belirli koşullar altında uzun süreli düşük yoğunluklu RF alanlara maruz kalmanın tümör oluşumuna yol açabileceği sonucuna götürmektedir [48]. Yapılan kohort insan çalışmalarında uzun süreli RF alan maruziyetinin, beyin kanseri [49], melanoma [50] ve akustik nörinom [51] insidansını artırdığı gösterilmektedir.

Cep telefonu kullanan çocuklarda yetişkinlere göre RF radyasyonun enerjisinin ortalama birikimi beyinde iki kat daha fazla iken bu oran kemik iliğinde on kat tan daha fazla miktarlara çıkabilmektedir. Eller serbest kitlerinin kullanılması, kulağımızda tuttuğumuzdan % 10 daha az maruziyet vermekte fakat bu vücudun diğer bölgelerine olan maruziyeti artırabilmektedir [16].

2.7. Adaptif Cevap

Elektromanyetik spektrumun 3 kHz–300 GHz bandında yer alan RF alanlar günümüzde günlük hayatımızın vazgeçilmez parçalarından olan cep telefonu, kablosuz internet gibi

teknolojilerde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra RF alanlar; tıpta görüntüleme, teşhis ve tedavide kullanılmaktadır. Artan RF alanlar ile birlikte, toplumda bu alanlardan kaynaklı oluşabilecek sağlık etkilerine yönelik endişeler de artmaktadır. Son zamanlarda araştırmacılar, *in vivo* ve *in vitro* RF alanlara maruz kalan insan ve hayvan hücrelerindeki genetik hasarın kapsamını değerlendirmektedirler çünkü somatik hücrelerde DNA ya verilen hasar hücre ölümüne ve hatta kansere yol açabilmektedir. RF alanların oksidatif hasara neden olarak DNA onarım mekanizmasının da bir tetikleyici faktör olabileceği belirtilmektedir. Canlının genotoksik bir maddeye toksik dozda maruz kalmasının canlıda neden olacağı hasara karşı dirençli hale getirmek için, bu uygulamadan önce aynı ya da başka bir toksik maddenin düşük doz uygulanabilir. Adaptif cevap olarak adlandırılan bu olgu, toksik dozdaki maddenin oluşacağı hasarın bu yolla azaltılabileceğini göstermektedir. Adaptif cevap ile iyonizan radyasyon ve kimyasal ajanlar (kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar) ilişkisi literatürde çokça yer almaktadır. Son zamanlarda ise RF alanların DNA onarımından sorumlu genlerin regülasyonunu artırarak adaptif cevap oluşturabilme yetisi araştırılmaktadır.

Genotoksik bir maddenin önce düşük (toksik olmayan) dozlarının uygulanıp, daha sonra aynı veya benzer başka bir genotoksik maddenin toksik dozunun uygulanması ile canlı hücrede oluşacak hasarın, beklenenden daha az olduğu saptanmıştır. Bu şekilde hücrede, uygulanan ajana yönelik oluşabilecek hasara direnç kazanma durumuna adaptif cevap adı verilir. Literatürde çokça yer bulan adaptif cevap ve iyonizan radyasyon ilişkisi, kimyasal ajanlar veya iyonizan olmayan radyasyon ile de incelenebilir [52]. Adaptif cevap, canlı hücrenin asgari strese maruz kalmasının birkaç saat sonra aynı veya daha yüksek stres türlerine, daha yüksek dirençle cevap vereceği bir olgu olarak da tanımlanabilir [53]. *Escherichia coli*'de adaptif cevabı ilk gösteren çalışma 1977 yılında *Nature* dergisinde yayınlanmıştır. Bu çalışma da düşük ve toksik olmayan dozlarda N-metil-N-nitro-nitroso guanidin (MNNG, 1 mg/ml, bir alkilleyici mutajen) verildikten sonra yüksek dozda MNNG (100 mg/ml) uygulanması ile bakteriler hem hücre ölümüne hem de mutasyona karşı daha dirençli hale gelmiştir [5].

İnsan lenfositlerinde radyo frekans alanlar ile indüklenen adaptif cevap, ilk olarak 2009 yılında rapor edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, genotoksik bir ilaç olan MMC'nin yüksek doz (100 ng/ml) uygulanmadan önce düşük doz (1-5-10 ng/ml) uygulanması sonucunda lenfositlerde oluşan genotoksik hasar mikronükleus (MN) testi ile ölçülmüş ve bu uygulamanın genotoksik hasarı anlamlı ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Lenfositler yüksek

doz (100 ng/ml) MMC den önce uygulanan düşük doz (1-5-10 ng/ml) MMC uygulaması yerine, 20 saat 900 MHz RF alanlara (GSM, Mobil İletişim için Küresel Sistem sinyali 1.25-10 W/kg) maruz bırakılmıştır. RF alan uygulamasının yüksek dozun oluşturduğu genotoksik hasarı anlamlı şekilde azalttığı MN testi ile gösterilmiştir. Sadece RF alanlara maruz kalan insan lenfositleri mikronükleus testi ile incelenmiş ve herhangi bir genotoksik hasar tespit edilmemiştir. Böylece RF radyasyonunun genotoksik olmadığı olduğu doğrulanmıştır. Bu araştırmadan çıkan önemli bir sonuç da genotoksik olmayan bir ajan olan RF radyasyonun adaptif bir cevabı indüklemeye kabiliyetine sahip olmasıdır. RF radyasyon düşük ölçüde strese yol açarak bir tetikleyici görevi üstlenip, yüksek dozdaki genotoksik ajanlara karşı koruma sağlıyor olabilir [7].

Adaptif cevabı açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Bunlar arasında sinyal yollarının aktivasyonu ile hücre savunması, serbest radikallerin daha etkin bir detoksifikasyonuna yönelik antioksidan koruması ve DNA tamir enzimlerinin regülasyonunun artmasında çok önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir [54]. 30, 60, 90 dakika kısa süreli maruz kalma sırasında gen ifade seviyelerinde bir etki oluşturmak için 9.3 W/kg SAR değerinde 900 MHz EMF maruziyetinin yetersiz olduğunu gösterilmiş [55]. İnsan lenfositlerin de hücre döngüsünün G0, G1 ve S fazında RF alan maruziyetinin neden olduğu adaptif cevap etkisi araştırılmış. Bunun için hücre döngüsünün ayrı ayrı G0, G1 ve S fazında 900 MHz RF (SAR 1,25 W/kg) adaptif doza (AD) 20 saat boyunca maruz bırakılmış ve daha sonra 100 ng/ml MMC yüksek doza (CD) maruz bırakılmış. AD maruz kalan hücrelerin G0 ve G1 fazında adaptif etki göstermemiş. S-fazında mikronükleus sayısında anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Bu sonuçlar RF alan maruziyetinin zamanlaması adaptif cevabı ortaya çıkarmak için önemli olduğunu göstermektedir [56]. Farelere 1, 3, 5, 7 ve 14 gün boyunca, günde 4 saat olacak şekilde 120 mW/cm² güç yoğunluğunda 900 MHz RF alan radyasyon uygulanmış ve sonra aynı fareler 3 Gy gama-radyasyonun akut dozuna maruz bırakılmıştır. Primer DNA hasarı belirleme metodu olan alkalın comet metodu ile lökositlerin DNA'sında tek sarmal kırıkları ve alkali kararsız baz hasarı analiz edilmiştir. Bir gün boyunca RF alanlara önceden maruz bırakılan ve daha sonra gama-ışınlarına tabi tutulan farelerde adaptif cevap oluşmayarak koruyucu bir etki gözlenmemiştir. Üç, beş, yedi ve on dört gün boyunca önceden RF alan uygulanan farelerde adaptif cevabın indüklenerek gama ışınlarının oluşturduğu hasar azalmıştır [57].

Yapılan çalışmalar da DNA sarmal kırılmaları ve onarımı için hücrelere sinyal veren bir gen olan PARP-1, RF alan maruziyeti ile ifade seviyesinin yükseldiği gösterilmiş ve böylece

DNA hasarını anlamlı ölçüde düşürmüştür. RF alan radyasyonun PARP-1 genini ifade seviyesini artırarak adaptif cevap mekanizmasına katkıda bulunabildiği düşünülmektedir [58, 59]. İnsan promyelositik lösemi HL-60 hücrelerine (hematopoietik dokudan türetilmiş) günde 1 saat/gün (9 AM - 10 AM) olacak şekilde 3 gün $12 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda 900 MHz radyo frekansına maruz bırakıldıktan sonra kemoterapötik bir ilaçla olan doksorubisin (DOX) uygulanmış. Bu çalışma da sağlıklı dokuda oluşturduğu koruyucu etki kanserli hücrelerde gösterip göstermeyeceği incelenmiş. Çalışma sonucunda, RF alan ön-maruziyetinin HL-60 hücrelerini DOX tarafından uygulanan toksik etkilerden koruyabildiğini göstermiştir. Böylelikle, veriler RF alanların HL-60 hücrelerinde adaptif yanıtı tetikleme potansiyelini ortaya koymaktadır [60].

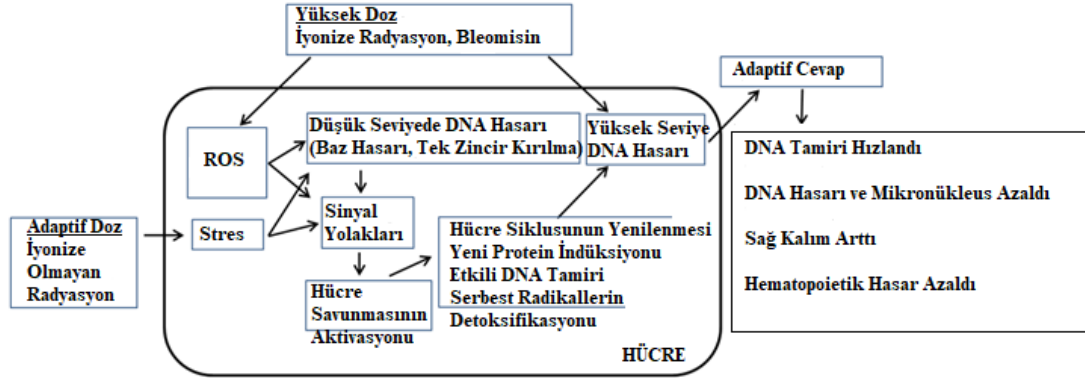
Sanino ve arkadaşları 2017 de yayınladığı araştırma da chinese hamster akciğer fibroblast hücre hattı olan V79 hücre hattı üzerinde RF alanların (1950 MHz) tek başına ve ön RF alan maruziyet sonrası MMC genotoksik etkileri araştırılmış. Sitokinez-B (Cyt-B) bloklu MN testi ile 0.15 W/kg, 0.3 W/kg, 0.6 W/kg, 1.25 W/kg kadar 4 farklı SAR değerlerinde 20 saatlik maruziyetin genotoksik ve sitotoksik etkileri ölçülmüş. RF alan ön maruziyeti ile genotoksik ve sitotoksik etkilerin azaldığı gösterilmiş ve RF alanlar ile indüklenen AC, iyonizan radyasyon ve kimyasal ajanlarla oluşturulan AC ile ilgili literatürde bildirilen verilerle iyi bir uyum içinde olduğu belirtilmektedir [61]. Adaptif cevap ve oksidatif hasar ilişkisi ile ilgili bir çalışma da sıçanlara bir hafta boyunca günde 4 saat (in vivo), 915 MHz RF alan uygulanmıştır. Son RF alan radyasyon uygulamasından 24 saat sonra, 4 Gy sublethal dozda gama radyasyon uygulanmıştır. Uygulamalardan 5 saat sonra dokular analiz için alınmıştır. 915 MHz radyo frekans radyasyona maruz kalmanın, antioksidan enzimlerin aktivitesinde ve seviyesinde değişikliklere yol açarak, karaciğerde adaptif cevaba neden olup olmadığı glutatyon (GSH) ve glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi incelenerek değerlendirilmiştir. Gama radyasyon uygulamasından önce RF alana maruz bırakılan grupta GSH ve GR değerleri kontrol grubuna yakın değerlerde saptanmıştır. Veriler RF alanların adaptif yanıtı tetikleme potansiyelini ortaya koymaktadır [62]. Her ne kadar RF radyasyon genotoksik olmasada oksidatif hasara neden olduğu belirtilmektedir. Genotoksik hasara yol açabilecek yüksek doza karşı dirençli hale gelmesine neden olan DNA onarım mekanizması gibi olayları oksidatif stres faktörleri ile tetiklemiş olabileceği düşünülmektedir [52].

Serbest radikaller DNA, proteinler, lipidler gibi biyomoleküller ile etkileşime girebilir, lipid peroksidasyonunu başlatabilir veya DNA ile reaksiyona girebilen ara ürünler oluşturabilir. ROS olarak da ifade edilebilen serbest radikaller farklı biyotik ve abiyotik uyaranlara (UV

ışınımı, iyonizan edici radyasyon, ozon maruziyeti, ağır metaller) maruz kaldıktan sonra hücre bileşenlerine zarar vererek oksidatif strese neden olurlar. ROS ayrıca baz hasarı, tek ve çift sarmallı kopmalar, DNA-DNA çapraz bağları ve DNA-protein çapraz bağları içeren çoklu lokalize lezyonları indükleyebilirler [53].

Kunming fareleri 14 gün boyunca 1 saat/gün 120 W/cm^2 güç yoğunluğunda RF alan maruziyeti uygulanmış. Son RF alan maruziyetinin sonunda, hayvanlar 5.0 Gy iyonize radyasyonun alt öldürücü dozuna tabi tutulmuş ve 3, 6, 9 ve 12 gün sonra fareler sakrifiye edilmiş. Sadece gama-ışınlamasına maruz kalan fareler ile AD + CD'ye maruz bırakılan fareler karşılaştırılmış. Kemik iliği ve dalak dokularından hazırlanan preperatlar incelendiğinde ön RF alan uygulaması zaman ilerledikçe hasarda önemli ve progresif bir azalma olduğu gösterilmiş. Kemik iliğinde koloni oluşturan birim (CFU-BM) sayısı artmış. Serumda, koloni uyarıcı faktör (CSF) ve interlökin-3 (IL-3) seviyeleri artmış. Bu bulgular, RF alanlar ile indüklenen AC daha sonra γ -radyasyonun neden olduğu hematopoietik doku hasarını daha hızlı rejenerasyonu ve restorasyonunda yardımcı olduğunu göstermektedir [63]. Sağlıklı fareler 7 gün boyunca 4 saat süreyle $120 \mu\text{W/cm}^2$ güç yoğunluğunda (hesaplanan SAR 50 mW/kg) sürekli dalga 900 MHz radyo frekans alanlarına maruz bırakıldı. Tek başına BLM enjekte edilen hayvanlar ile RF + BLM'ye maruz bırakılan fareler karşılaştırıldığında; primer DNA hasarının onarımını hızlandırmış, MDA seviyelerinden değerlendirilen oksidatif hasarı önemli ölçüde azaltmış ve antioksidan enzim olan SOD da önemli ölçüde artış gözlenmiş. Veriler RF alan maruziyetinin uyarlanabilir yanıtı indükleyebildiğini ve bazı hücrel süreçleri aktive ederek BLM'nin neden olduğu DNA ve oksidatif hasarları azalttığını göstermişler [64]. Kunming fareleri 14 gün boyunca 12, 120 ve $1200 \mu\text{W/cm}^2$ güç yoğunluğunda RF alanlara maruz bırakılmış daha sonra öldürücü dozda 8.0 Gy γ -radyasyona maruz bırakılmış. Sadece γ -radyasyona maruz bırakılan farelerde sağ kalım oranı % 18 iken 14 gün boyunca $120 \mu\text{W/cm}^2$ RF alan uygulanan farelere öldürücü doz olan 8.0 Gy γ -radyasyona maruz kalmasına rağmen sağ kalım oranı % 43 e kadar çıkmıştır. Hematopoetik hücrelerde hücre döngüsü ile ilgili genlerin, siklin-D1, siklin-E, siklin-DK4 ve siklin-DK2 ifade seviyeleri belirgin şekilde artış tespit edilmiş [65].

Otofaji, RF alan maruziyeti stresi altında hücrelerin apoptotik hücre ölümünden korunmasında önemli bir rol oynayabilir [66]. Sperm hücrelerinde radyo frekans alanların AMPK/mTOR sinyal yoluyla otofajiyi indükleyerek DNA hasarına karşı hücreyi koruyabileceği gösterilmiş [67].



Şekil 2.9. RF alanlar ile uyarlanmış adaptif cevapda yer alan moleküler mekanizmalar [68]

Adaptif bir doz olarak verilen iyonlaştırıcı olmayan radyo frekans alanlara hayvanların (ve insan hücrelerinin) maruz bırakılması, saptanamayan DNA hasarına neden olabilecek bir “stres” oluşturabilir. RF alan maruziyeti ile hücre savunma mekanizmalarının aktivasyonuna yol açan sinyal iletim yollarını uyarabilir. İyonlaştırıcı radyasyon ve BLM tarafından indüklenen reaktif oksijen türleri de sinyal yollarından hücre savunmalarının aktivasyonunda rol oynar. Aktive edilmiş hücre savunmalarına müteakip iyonlaştırıcı radyasyona ve BLM'ye (yüksek doz) maruz kalmanın neden olduğu yüksek seviyeli hasarlara direnme kabiliyeti sağlar [68].

Yapılan çalışmalar göz önüne alındığında insan lenfositlerinin (hücre döngüsünün belirli bir aşamasında) ve hayvanların tüm vücut maruziyetinde (belirli bir güç yoğunluğu frekans) RF alanlara ön maruz kalma daha sonra yüksek dozda kimyasal ve fiziksel genotoksik ajanlara karşı adaptif cevabın oluştuğunu göstermektedir. Tüm bu gözlemler RF alan kaynaklı AC için bazı birçok mekanizma sunmaktadırlar. İyonlaştırıcı radyasyona bağlı AC araştırmalarının daha fazla daha uzun süredir çalışılıyor olması çok sayıda mekanizma önerilmiştir. Yeni ortaya çıkan RF alan kaynaklı AC çalışmaları için benzer bir yaklaşım benimsenmesi muhtemeldir [52].

Adaptif cevabın altında yatan moleküler mekanizmanın anlaşılması ile kanser tedavilerinin (radyasyon ve kemoterapötik ajanlar) risk yönetimi ve değerlendirmesinde gelişmeler sağlayacak ve hatta astronotların uzun uzay uçuşlarında maruz kaldıkları radyasyona karşı da koruyucu bir etki sağlayabilir [53]. İyonizan radyasyon ve adaptif cevaba ilişkin bulgular, radyasyondan korunmada yeni ufuklar açarken, kablosuz teknolojilerin tarafından yayılan RF alanların neden olduğu adaptif cevabın; fotonlar ve radyoizotoplar ile yapılan terapötik

uygulamalarının sonucunu etkileyebileceği sorusunu akla getirmektedir [69]. Hayvanların ve insan hücrelerinin adaptif bir doz olarak verilen iyonizan olmayan radyo frekans alanlarına maruz kalması, saptanamayan DNA hasarına neden olabilecek bir “stres” yaratabilir. Bunlar, hücre savunma mekanizmalarının aktivasyonuna yol açan sinyal iletim yollarını harekete geçirebilir. Aktive edilmiş hücre savunmaları, hücreye daha sonra iyonlaştırıcı radyasyona ve yüksek doz toksik kimyasal ajana maruz kalmanın neden olduğu yüksek düzeyde hasarlara direnme kabiliyetini sağlar. Şimdiye kadar RF alan maruziyetinin biyolojik etkileri üzerine yapılan araştırmaların odak noktası olumsuz etkileri üzerine olmuştur. Yapılan çalışmalar ile RF alanlara maruz kalmanın yararlı olabileceğini hayvan ve insan hücrelerine ölümcül dozlarda iyonlaştırıcı radyasyon ve kimyasal mutajenlere maruz kalmanın verdiği zarara karşı direnç sağlayabileceğini göstermiştir. İnsan ve hayvan hücrelerine adaptif bir doz olarak verilen radyo frekans alan uygulaması, DNA hasarına neden olmayacak bir “stres” yaratabilir. Bunlar, hücre savunma mekanizmalarının aktivasyonuna yol açan sinyal iletim yollarını harekete geçirebilir. Aktive edilmiş hücre savunmaları, hücreye daha sonra maruz kalacağı iyonlaştırıcı radyasyon veya yüksek doz ilaç uygulamasının neden olacağı hasarlara karşı direnme kabiliyeti sağlar [68].

2.7.1. Adaptif cevap ve RF alan maruziyet frekansının belirlenmesi

Adaptif cevap değerlendirirken;

- Maruziyet için seçilen RF alan değerinin; frekansı, sürekli veya pulslu dalga olması, modülasyon paterni, maruz kalma süresi ve çizelgesi, spesifik absorpsiyon oranı,
- Adaptif cevabın inceleneceği biyolojik materyalin belirlenmesi; hücre veya hayvan modeli seçimi, maruziyet sisteminin konumlandırılması,
- Kullanılan testlerin; duyarlılığı, güvenilirliği, zamanlaması gibi birçok faktörün değerlendirilmesi gereken karışık bir sistemdir.

Düşük doz olarak RF alanlar seçilen yüksek doz olarak ise gama radyasyon ve radyomimetik kimyasallar kullanılan in vitro ve fareler üzerinde yapılan çalışmalar da adaptif cevabın oluşacağı en uygun dozu belirlemek için 900 MHz frekans da farklı güç yoğunlukları, farklı gün, sürelerde maruziyetler yapılmış ve birçok yöntem kullanılarak analiz edilmiş. Adaptif cevabın oluşumu için 900 MHz frekansında $120 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda 7 gün boyunca

günlük 4 saatlik RF alan uygulamanın en uygun doz olduğu tespit edilmiş [57, 63-65, 70]. Çalışmamızda literatür taraması sonucunda 23 dBm çıkış gücünde (21,36 V/m) 900 MHz frekansında 7 gün boyunca günlük 4 saatlik RF alan uygulamanın optimal doz olduğu tespit edilmiş ve bu doz kullanılmıştır.

Çalışmamızın oluşturulmasında referans alınan makalelerden olan 2015 yılında Zong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fareler 900 MHz frekansında $120 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda 7 gün boyunca günlük 4 saatlik RF alan (hesaplanan SAR $54.8\text{mW}/\text{kg}$) sürekli dalgaya maruz bırakılmış. Yüksek doz olarak radyomimetik bir ajan olan bleomisin kullanılan çalışmanın sonucu primer DNA hasarı ve oksidatif hasar parametreleri değerlendirilmiş. Tek başına BLM ile enjekte edilen hayvanlar ile RF + BLM'ye maruz bırakılan fareler karşılaştırıldığında RF alanların adaptif cevap oluşturarak BLM'nin mutajenik etkisine karşı koruma sağlamış [64].

İnsan lenfositlerine 20 saat boyunca mobil iletişim için kullanılan 1950 MHz RF UMTS (evrensel mobil telekomünikasyon sistemi) frekansında 0.15, 0.3, 0.6 ve 1.25 W/kg'lık farklı SAR değerlerine maruz bırakıldıktan sonra 48 saat 100 ng/ml MMC ile muamele edilip sonuçlar MN testi ile analiz edilmiş. 0.3 W/kg SAR değerinde RF alan ön maruziyeti adaptif cevabın indüksiyonu ile MMC'nin genotoksik etkisini azalmıştır [71]. Diğer bir çalışmadan elde edilen sonuçlar ise insan lenfositleri 20 saat boyunca 900 MHz RF GSM (mobil iletişim için küresel sistem) sinyaline 1,25 W/kg SAR değerinde RF alan maruziyet sonrası 100 ng/ml MMC uygulandığında adaptif cevabın tetiklendiği gözlenmiş [56]. Bu çalışmalar AC indüksiyonunun RF frekansına, sinyalin tipine ve SAR'a bağlı olduğunu göstermektedir.

Adaptif cevabı oluşturmada uygun frekans, güç yoğunluğu ve SAR değerinin yanı sıra modülasyonun ve bant genişliği etkisinin incelendiği çalışma için sağlıklı donörlerden alınan kan örneklerinden kültür edilen lenfositler kullanılmış. Lenfositlere 1950 MHz frekansda; sürekli dalga (CW), geniş bantlı doğrudan dizi kod bölümlü çoklu erişim (WCDMA, 4.5 MHz bant genişliği) ve beyaz gauss gürültüsü (AWGN, 9 MHz bant genişliği) sinyaller için 0.15, 0.3, 0.6 ve 1.25 W/kg SAR değerlerinde DNA hasar tespiti için mikronükleus testi kullanılmış. Sadece RF alan maruziyeti DNA hasarı oluşturmamıştır. RF alan maruziyeti sonrasında MMC uygulamasında RF alanın adaptif cevap oluşturma yetisi modülasyona ve bant genişliğine bağlı olduğunu, CW maruziyeti MMC'nin neden olduğu DNA hasarını hiçbir SAR değerinde değiştirmez iken 0.3 W/kg SAR da WCDMA ve 0.15 ve 0.3 W/kg'da AWGN sinyaller de DNA hasarı anlamlı şekilde azalmış. Bu sonuçlar, numuneler tarafından

emilen güç ve bant genişliği arasındaki ilişki ile koruyucu etkinin meydana gelmesinde modülasyonun etkili olduğunu gösterilmiş [72].

Adaptif cevabı oluşturmada en ideal frekans ve güç yoğunluğu aralığı tespit etmek için yapılan çalışmaların yanı sıra başka bir çalışma RF alan dışında ki diğer frekanslar AC'yi tetikler mi sorusunun cevabı aranmış. Elektromanyetik spektrumda, oldukça düşük frekanslı elektrik ve manyetik alanlar (0 - 300 Hz) aralığında iken RF alanlar (10 MHz- 300 GHz) sıklasında yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütüne göre ara frekans (IF) manyetik alanı, ELF ve RF alanları arasında olan 300 Hz ile 10 MHz frekans aralığı olarak tanımlamaktadır [73]. IF MF'nin iyonlaştırıcı radyasyona karşı adaptif bir cevap oluşturup oluşturmayacağına ve IF MF'nin kendi başına genotoksik etkiye neden olup olmadığı araştırılmış. IF MF olarak 250.8 kHz frekansı (birkaç yüz kHz; çeşitli tıbbi, endüstriyel ve ev cihazlarında kullanılmakta) seçilmiş. Bu çalışma da kandan izelen lökositler ve H295R insan adrenokortikal karsinom hücre hattına, 20 saat boyunca 80 A/m manyetik alan gücünde (100 uT manyetik akı yoğunluğuna eşdeğer) 250.8 kHz IF MF'ye maruz bırakıldıktan ve sonra iyonlaştırıcı radyasyon olan X-ışını (1.5 Gy) uygulanmış. Her iki hücre tipinde de IF MF maruziyetinin genotoksik bir etkisinin olmadığını yanı sıra ve IF MF için seçilen 250.8 kHz frekansının adaptif cevap oluşturmadığı gösterilmiş [74].

Deneyimizde kullandığımız frekans, modülasyon, güç yoğunluğu ve maruziyetin süresi aşağıdaki makaleler göz önüne alınarak belirlenmiştir. Fareleri 14 gün boyunca 12, 120 ve 1200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda RF alana maruz bırakılmış daha sonra öldürücü dozda 8.0 Gy γ -radyasyona maruz bırakılanlarda maksimum korumanın 120 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ olduğu tespit edilmiş [65]. Başka bir çalışma da farelere 7 gün boyunca 4 saat süreyle 120 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda (hesaplanan SAR 54.8mW/kg) sürekli dalga 900 MHz RF alanlara maruz bırakılmış. Son RF alan maruziyetinden yirmi dakika sonra, hayvanlara BLM enjeksiyonu gerçekleştirildiğinde adaptif cevabın oluştuğu görülmüş [64]. Diğer in vivo fare çalışmaları incelendiğinde [57, 70] RF alan uygulamasının adaptif cevabın indüksiyonu için ideal maruziyet dozunun sürekli dalga, 900 MHz frekansında 120 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda maruziyet süresi ise yedi gün boyunca günde dört saat olduğu tespit edilmiştir.

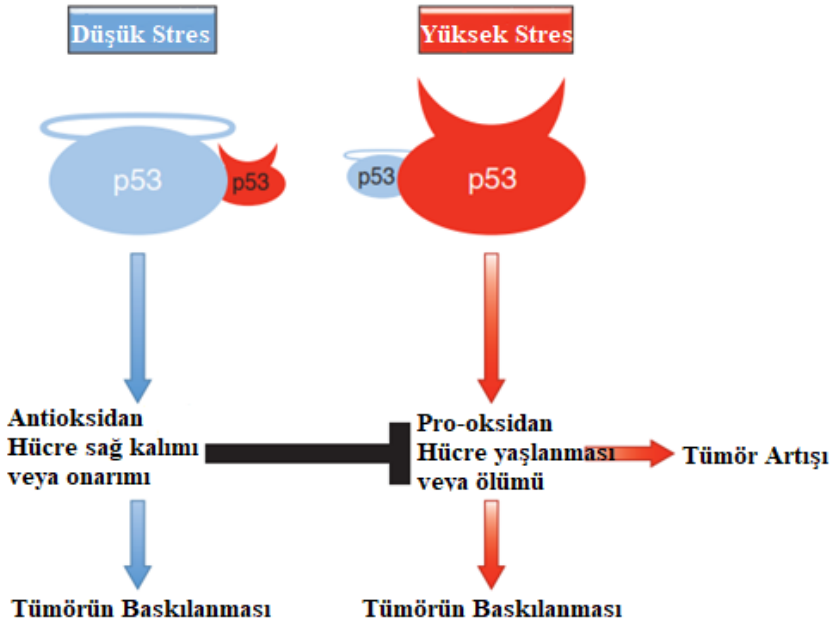
Daha önceki çalışmalar, adaptif cevabın maruziyet sonrası hemen ortaya çıkmayacağını bu yüzden adaptif cevabın aktif hale gelmesi için adaptif doz ile yüksek doz arasında belirli bir zaman aralığı gerektirdiğini de göstermiştir [52]. Çalışmamızı tasarlar iken bu bilgiyi göz

önüne alarak adaptif dozumuz olan RF alan maruziyeti uygulandıktan sonra yüksek doz olan BLM uygulanmadan önce yirmi dakikalık bir ara verilmiştir.

2.8. RF Alanlar ve Genler

2.8.1. RF alanlar ve p53 geni

Tümör protein 53 geni, genomun bütünlüğünü izleyen bir 'moleküler polis' görevi görür. DNA'da bir hasar görürse, p53 genin ifade seviyesi onarım için sentezini artırır. Onarım başarısız olursa p53 geni apoptoz ile hücreyi intihara götürür [75]. p53 geninin tümör baskılamadaki işlevine ek olarak, p53 geni özellikle DNA hasarına neden olan malign hücrelere karşı transforme olmamış hücreleri anti kanser terapötik maddesine dönüştürülmesinde rol oynar. p53 geni, yaklaşık 500 hedef geni doğrudan düzenleyerek hücre döngüsünü durdurmada, hücre yaşlanmasında, DNA onarımında, metabolik adaptasyon ve hücre ölümü dâhil olmak üzere çok çeşitli hücresel süreçleri kontrol eden homotetramerik transkripsiyon faktörleri oluşturur [76].



Şekil 2.10. p53 geni, düşük stres durumunda hücre sağ kalımı ve onarımını, yüksek stres altında hasarlı hücrenin ölüm veya yaşlanmasından sorumludur [77]

p53 geninin “genomun koruyucusu” olarak çeşitli rolleri vardır. p53 geni, genomu fizyolojik ve fizyolojik olmayan stres koşullarında korur. Stresin seviyelerine bağlı olarak, p53 geni farklı seviyelerde ifade olabilir. p53 geni, DNA'ya bağlanarak ve eksonükleaz aktivitesi ile anormal DNA yapılarını çözerek onarım işlemlerine doğrudan katılabilir veya p53 geni hedef genlerin ifade seviyelerini aktive ederek transkripsiyonel bir cevabı indükleyebilir. Ek olarak p53 geni, mitokondriyal apoptozun doğrudan aktivasyonu ile apoptoz indüksiyonu gibi transkripsiyonel olmayan cevaplara aracılık edebilir. p53 geninin tümör ilerlemesini kontrol etme yeteneğinin ve hücreyi ortadan kaldırmanın yanı sıra p53 geni düşük stres seviyelerine maruz kalan hücrelerin korunmasında ve hayatta kalmasında rol oynayabilir [78]. p53 geni düşük günlük stres seviyeleri ile başa çıkmak için; ROS seviyelerini düşürerek, sağ kalımı sürdürerek ve hatta bazı DNA onarım süreçlerine katılmak gibi bir dizi cevap geliştirmiştir [77]. Düşük doz radyasyon, protein kinaz C, p38 mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (p38MAPK) ve fosfolipaz C yolu ile dolaylı olarak aktive edilen p53 geni, radyasyona bağlı DNA çift sarmal kırılmalarının (DSB) onarımın da önemli bir role üstlenerek hücrenin hatalı onarımını ve apoptozise gitmesi engellenmektedir. Etkinleştirilmiş p53 geni, DSB'lerin onarımında yer alan homolog olmayan uç birleştirme onarım mekanizmalarını düzenler [79]. Hücreyi DSB'nin potansiyel olarak zararlı etkilerinden korumak için karmaşık DNA hasar tepkisi yolları evrimleşmiş ve evrimsel olarak korunmuştur. Homolog rekombinasyon onarımı ve homolog olmayan uç birleştirme, protein kompleksleri kullanarak DSB'leri ortadan kaldıran 2 temel yoldur [80].

Farklı düşük dozlarda verilen x-ışını sıçan ve farelerin çeşitli dokularında p53 protein seviyeleri ölçüldüğünde; hipofiz, timus, deri, akciğer, kemik iliği ve karaciğer de farklı seviyelerde p53 birikimi gözlenir iken dalak, testis ve böbrekte p53 proteini tespit edilmemiştir [81] fakat başka bir çalışma da dalak da p53 gözlemlenirken testis ve ovaryum da gözlemlenmemiştir [82]. Düşük dozlu x-ışınlarının neden olduğu p53 protein seviyeleri organa özgü olduğu görünmektedir. İnsan lenfositlerin de iyonizan radyasyonun 0.5; 1; 2 ve 4 Gy dozlarında p53 gen ifade seviyeleri incelenmiş ve tüm doz seviyelerinde p53 seviyeleri artışı gösterilmiş [83]. Vahşi tip p53'e sahip lenfoblast TK6 hücre hattına 0.1 Gy ile 3 Gy arasında değişen gama ışını dozlarına maruz bırakılması sonucunda TK6 hücre hattında tüm gama ışımlarında maruziyet uygulanmayan kontrol grubuna göre p53 geninin ifade seviyesi artmıştır [84]. Yapılan diğer bir çalışma da önce düşük doz iyonizan radyasyon ve sonrasında yüksek doz iyonizan radyasyona maruz kalan insan lenfoblastoid hücrelerin de 145 genin

tarandığı çalışma da adaptif cevabın oluşumunda ve kontrolünde p53 geninin aktif rol aldığı gösterilmiş [85].

İyonize radyasyonun DNA hasar sensörleri olan; PAR, p53, DNA'ya bağımlı protein kinaz ve ataksi-telanjiectazi mutasyona uğramış genlerinin rollerinin, adaptif cevap oluşumunda etkisinin incelendiği çalışma da bu genlerin iyonizan radyasyon ile indüklenen adaptif cevabın DNA onarımında rol aldıkları gösterilmiş [86].

2.8.2. RF alanlar ve PARP-1 geni

PARP-1 geni, stres uyarıcısının çeşidine ve gücüne bağlı olarak hücreleri DNA onarımına veya hücre ölümüne yönlendirdiği hücrel stres yanıtlarının merkezinde görev alan bir gendir. İn vitro ve hayvan modellerindeki son çalışmalar, oksidatif, nitrosatif, genotoksik, onkogenik, termal, enflamatuar ve metabolik stres dâhil olmak üzere çok çeşitli dış ve iç stres sinyallerine yanıt olarak PARP-1 ve PAR sentezlenmektedir [87]. PARP geni, DNA hasar tespiti ve onarımı, kromatin modifikasyonu, transkripsiyon, hücre ölüm yolları gibi birçok moleküler ve hücrel süreçte çeşitli roller oynar. Bu süreçler, genom bakımı, karsinogenez, yaşlanma, inflamasyon ve nöronal fonksiyon da dâhil olmak üzere birçok fizyolojik ve patofizyolojik durum için kritik öneme sahiptir [88]. p53 geni gibi PARP-1 geni de ikili etkiye sahiptir bir taraftan apoptoza neden olurken diğer taraftan DNA tamirinde rol oynayabilir.

PARP-1 geni, DNA sarmal kırılmaları ve onarımına yardımcı olmak için hücrelere sinyal veren bir gendir. Kemik iliği stromal hücrelerinde iyonizan olmayan radyo frekans alanların oluşturduğu adaptif cevapta PARP-1 geninin rolü incelenmiştir. Kemik iliği stromal hücreleri 5 gün boyunca 3 saat süreyle $120 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda 900 MHz RF radyasyon uygulanmış ve daha sonra genotoksik bir doz olan 1.5 Gy gama radyasyona maruz bırakılmıştır. Çalışmanın sonuçları incelendiğinde, RF alan maruziyeti sonrası PARP-1 gen ifade seviyesinin artışı tespit edilmiştir. Sadece gama radyasyon uygulanan gruba kıyasla, öncesinde RF alanlara maruz bırakılıp sonra gama radyasyon uygulanan grupta DNA hasarı anlamlı ölçüde düşüktür. Bunun nedeni olarak RF radyasyonun PARP-1 geninin ifade seviyelerini artırarak adaptif cevap oluşturması olabileceği belirtilmiştir [58]. Diğer bir çalışma da insan lenfositleri ve çin hamster akciğer fibroblast hücre hattına 1950 MHz (UMTS Evrensel Mobil Telekomünikasyon Sistemleri) 20 saat RF alanın maruziyetinden sonra MMC uygulanmış. Mikronükleus testi ile RF alanların adaptif cevabı tetikleyerek

koruyucu etkisi gösterilmiş. Ayrıca PARP-1 geninin inhibitörü olan 3-aminobenzamid eklenmesi ile RF alanların DNA onarım mekanizmalarının uyarılmasındaki muhtemel katılımı da gösterilmiş [59]. Gerek iyonizan radyasyon ile gerekse de kimyasal ajanlar ile oluşturulan adaptif cevapda PARP-1 geninin aktif rol aldığı gösterilmiş [89-91].

2.8.3. RF alanlar ve OGG-1 geni

DNA'da ki oksidatif hasar, 8-oksoguanin DNA glikosilaz gibi DNA glikozilazları tarafından katalize edilen bir yol olan baz onarımı yoluyla gerçekleşir. OGG-1 geni, genomik bütünlüğün korunmasında ve tümörigenezin önlenmesinde rol oynamasının yanı sıra OGG-1 geninin hücrel ve vücudun enerji homeostazını değiştirmede yeni bir rolü olduğunu bildirilmiş [92]. Sağlıklı erkek donörlerin kanından izole edilen periferik kan mononükleer hücreleri önce düşük doz daha sonra yüksek doz iyonizan radyasyona maruz kalması sonucunda OGG-1 geninin hem gen ifade seviyesi hem de protein seviyeleri artmış. OGG-1 geninin adaptif cevapda gama radyasyonunun neden olduğu spesifik baz hasarlarını tanıma ve onarmadaki aktif rollü gösterilmiş [93]. İçsel ve dışsal kaynaklardan ROS'un artması guanin bakımından zengin promoterler 8-oksoguanin üreterek epigenetik bir işaretleyici görevi görür ve oksidatif strese karşı cevap olarak OGG-1 gen ifade seviyeleri artar [94].

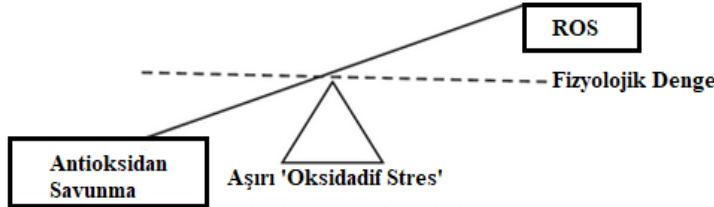
2.8.4. RF alanlar ve GPx-1 geni

Glutasyon peroksidaz-1, hücre içi hidrojen peroksitinin zararlı birikimini önlemede rol oynayan çok önemli bir antioksidan enzimdir. Tüm hücrelerde bulunur; sitozolik, mitokondriyal ve bazı hücrelerde, peroksisomal bölmelerde bulunur ve birçok fizyolojik koşul altında hücre içi peroksitlerin uzaklaştırılmasında CAT'ın daha etkili olduğu bulunmuştur. Hidrojen peroksit gibi bazı reaktif oksijen türleri, büyüme faktörü aracılı sinyal iletimi, mitokondriyal fonksiyon ve normal tiyol redoks dengesinin korunması için gereklidir. GPx-1, bu işlemleri hidrojen peroksit birikimini sınırlandırarak modüle eder. GPx-1, H₂O₂ veya organik peroksitlerin suya veya alkole indirgenmesini katalize etmekten sorumlu olan glutasyon peroksidaz enzim ailesinin bir üyesidir. Memeli GPx-1, moleküler kütlesi 83 ile 95 kDa arasında olan bir homotetramer olarak bulunur ve burada her bir monomer, türe ve alelik varyanta bağlı olarak yaklaşık 200 amino asit taşır [95]. Falone ve arkadaşları 2018'de yaptığı çalışma da; toksik ajan olan menadion uygulaması ile GPx-1 gen

ifade seviyesi önemli ölçüde azaldığını göstermişler. Hücrelerin önceden RF-EMF maruz kalması ile GPx-1 gen ifadesini normal seviyesine geri çıkarmıştır [54].

2.9. RF Alanların Oksidatif Mekanizması

Serbest radikal hasarı; kanser, kardiyovasküler hastalık, katarakt ve yaşlanma dâhil birçok dejeneratif hastalığın oluşumuyla bağlantılıdır. Aşırı ROS oluşumu, oksidatif strese neden olarak hücre ölümüyle sonuçlanabilecek hücre hasarına yol açabilir. Bu nedenle, hücrelerin aşırı üretilen ROS'u dengelemek için antioksidan mekanizmaları vardır. ROS üretimi ve temizliği arasındaki denge genel olarak homeostazisi sağlar. Bu denge bir şekilde serbest radikal artışına yönünde devam ederse zamanla biriken ROS hücre hasarlarına neden olur. Antioksidanlar, in vitro ROS'un zararlı etkilerini hafifletebilir ve hücre yaşlanmayı geciktirebilir. Bazı ROS hücre sel sinyal yollarındaki rolü ile oksidatif stresin oluşumu organizma için zararlı veya faydalı olabilir. Bu gibi durumlarda antioksidan takviyeleri ile oksidatif stres seviyelerinin düşürülmesi yararlı değildir. Oksidatif stresin ve antioksidatif stresin normal seviyeler üzerine çıkması zararlı olduğundan, ROS ve antioksidanlar arasındaki dengeyi optimal düzeyde tutulması önemlidir [96].



Şekil 2.11. Antioksidatif savunmalar ve ROS arasındaki bozukluk durumunda [96]

ROS üretimi ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin bozulması oksidatif strese neden olabilir. İyonlaştırıcı radyasyona veya iyonlaştırıcı olmayan radyasyonlara (örneğin, cep telefonlarından ve diğer kablosuz teknolojilerden yayılan radyo frekans elektromanyetik alanlar) maruz kalma gibi bazı çevresel uyaranlar bu dengeyi ciddi şekilde bozabilir [97]. İyonlaştırıcı radyasyonlar gibi iyonlaştırıcı olmayan radyasyonlar tarafından adaptif cevabın indüklenmesi, bu olgunun gerçekleşmesi için minimum bir hasar seviyesi gerektiğini ve uyarlanabilir tepkinin başlatılmasını tetiklemek için gereken minimum hasar seviyesini üretmede ROS önemli bir rol oynamaktadır. Mevcut veriler,

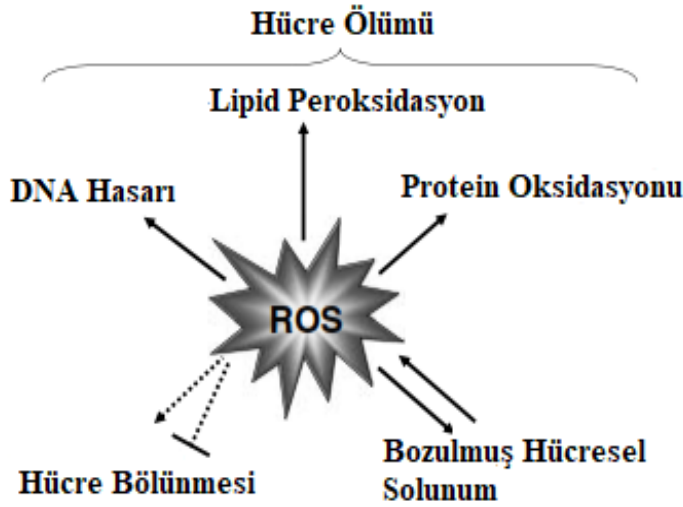
iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyonlarla adaptif cevabın indüklenmesi için benzer paternler kullandığını; oksidatif stresin iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyonlar tarafından indüklenen cevabı birbirine bağlayan bir köprü olduğu görülmektedir [98].

Literatür de canlı hücrelerde düşük yoğunluklu RF alanların neden olduğu moleküler etkileri; ROS aktivasyonu, peroksidasyon aktivasyonu, DNA'nın oksidatif hasarı ve antioksidan enzimlerin aktivitesindeki değişiklikler ile ortaya koymaktadır [46].

2.9.1. RF alanlar ve reaktif oksijen türleri

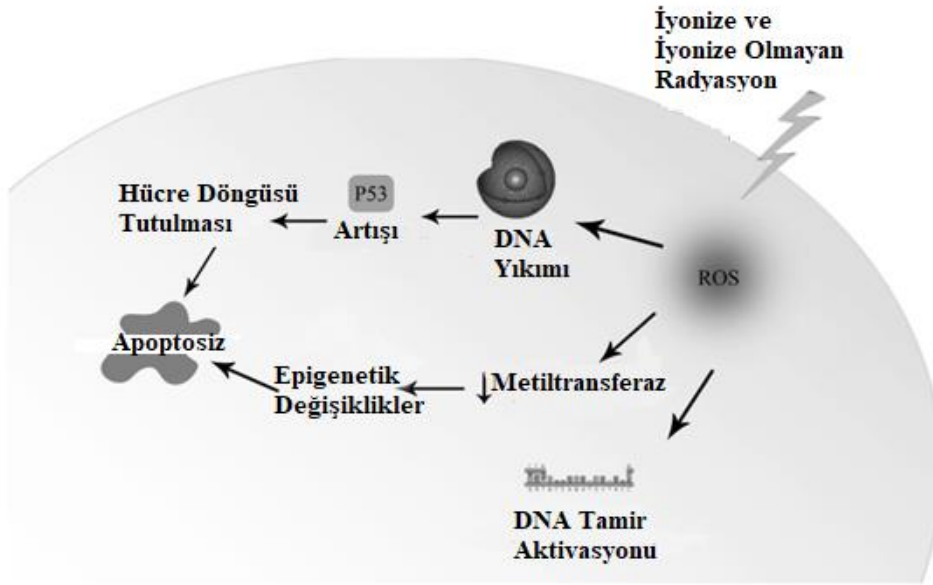
Oksidatif stres, birçok hastalığın başlaması ve ilerlemesi ile bağlantılı ciddi bir hücre hasarı nedenidir. Bu nedenle organizmalar; enzimler, küçük moleküller gibi çeşitli onarım sistemleriyle antioksidan koruyucu sistemleri geliştirmiştir. Bu koruyucu ve onarım sistemlerini etkili bir şekilde kullanmak için organizmalar, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu redoks dengesizliğini hassas bir şekilde tanır ve ardından biyolojik yanıt sinyalleşmesini başlatır. Oksidatif stres, hücrelerde ölüm sinyallerini veya hayatta kalma sinyallerini ortaya çıkarır. Ölüm sinyalleri apoptoz ve nekroza doğru ilerlerken, hayatta kalma sinyalleri üç tür biyolojik tepkiye neden olur; (i) hücrelerdeki hasarlı bileşenleri onaran, onarım cevabı, (ii) savunma ve onarım sistemlerini geliştiren, adaptif cevap ve (iii) yararlı uyarıcı etkiler sağlayan, hormesis. Antioksidan enzimlerin artan aktivitesi, ROS'un hızlı bir şekilde azaltılmasına ve dolayısıyla daha az hücre hasarına yol açacaktır. Fakat bu denge her zaman için aynı düzlemde çalışmamaktadır. Sıçan astrositlerine önce düşük doz ve ardından yüksek doz x-ışını radyasyonu maruziyetinden sonra katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon içeriğinin aktivitelerini incelemiş ve katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktazın aktiviteleri ve GSH içeriği önemli ölçüde artmamıştır. Bu nedenle, antioksidan savunmalar, astrositlerdeki radyasyonun oluşturduğu adaptif mekanizmaya kısmen katkıda bulunmuştur. ROS üretimi ve temizliği arasındaki denge genel olarak homeostazisi sağlar. ROS hücresel sinyal yollarındaki rolü ile oksidatif stresin oluşumu organizma için zararlı veya faydalı olabilir. Antioksidanlar ROS'u etkisiz hale getirerek oksidatif stresi azaltabilirler. Ancak bu bir hastalığın gelişimi ve ilerlemesi (örneğin kanser) açısından veya yaşlanmayı geciktirme açısından her zaman yararlı değildir. Çünkü antioksidanlar faydalı fizyolojik role sahip radikaller ile oksidatif hasara neden olan biyomolekülleri ayırt edemezler [96].

ROS'un mitokondri üzerindeki etkisi iki türlü olabileceği düşünülmektedir; ROS üretiminin artması mitokondriyal membrana zarar verebilir veya hasarlı mitokondriyal zar ROS üretiminin artmasına neden olabilir [46]. Mitokondriyal solunum zinciri, hücre içi ROS oluşumunun ana kaynağıdır ve aynı zamanda ROS'un zararlı etkileri için önemli bir hedeftir. Hücresel metabolizmaların çoğu mitokondride üretilen ATP'nin sürekli tedarikine bağlıdır. Bu nedenle, solunum zincirinin işlevini bozan herhangi bir hasarın hücre canlılığı üzerinde de etkisi olabilir. Hücreleri oksidatif hasardan korumak için mitokondri ROS'u detoksifiye etmelidir. Bu yüzden ROS kaynaklı hasarı onarmak için savunma mekanizmaları mevcuttur. Mitokondrinin enerji metabolizmasındaki rolüne ek olarak hücre ölümünün düzenlenmesi bu organellerin ikinci önemli işlevidir. Mitokondrinin bu ikincil işlevinde hücre içi ROS miktarına bağlı olarak bu görevini yerine getirmektedir. Mitokondri kaynaklı ROS, kaspaz ve apoptoz aktivasyonunu tetikleyebilen sitokrom-C ve diğer pro-apoptotik proteinlerin salınmasında önemli bir rol oynar [99].



Şekil 2.12. ROS'un hücre ölümüne ve hücresel fonksiyonlar üzerine olan etkisi [99]

Nispeten düşük konsantrasyonlar da ROS artışı bile nükleer faktör kabba B (NF-kB) yolunun aktivasyonu yoluyla inflamasyonu modüle edebilir [100]. RF alanlara maruz kalmanın canlı hücrede serbest radikallerin ROS'un aşırı üretimine yol açmaktadır. Bu serbest radikaller biyolojik makromoleküllerin oksidasyonu nedeniyle doğrudan hasara yol açarak zararlı etkilere neden olabilirler. Bu nedenle düşük doz RF alan maruziyetinin bile algılanamayan miktarlarda serbest radikaller üretilmesiyle anlamlı biyolojik sonuçları olabilir [46].



Şekil 2.13. Radyasyona bağlı oksidatif stresin DNA biyolojisi üzerindeki potansiyel etkileri [101]

p53 geninin ifade seviyesindeki artış hücre döngüsü durdurur ve ardından apoptozise kadar uzanan bir süreci başlatır. Oksidatif stresin DNA metiltransferaz enziminin aktivitesini azalttığı bilinmekte ve bu şekilde gen ekspresyonunun epigenetik regülasyonuna da etkileyebilir [101]. Ayrıca ROS, nükleotit eksizyon bazlı (NER) onarım gibi DNA onarım mekanizmalarının aktivitesini de değiştirebilir [102]. İnsan spermatozoasına 1.8 GHz frekansın da 0.4 W/kg ile 27.5 W/kg SAR değerleri arasında radyo frekans elektromanyetik radyasyona (RF-EMR) maruz bırakılmış. SAR değerinin artışı ile spermatozoanın motilite ve canlılığı önemli ölçüde azalırken, miyokondriyal reaktif oksijen türleri ve DNA fragmentasyonu önemli ölçüde artmış. Ayrıca, RF-EMR maruziyetinin de SAR artışı ile oksidatif DNA hasarı biyo belirteci olan 8-OHdG ve DNA fragmentasyonu arasında anlamlı ilişkiler gözlemlenmiştir. Bu bulgular, üreme çağındaki erkekler tarafından cep telefonu kullanımının doğurganlığı ve sperm kalitesini potansiyel olarak etkileyebileceğini göstermiştir [103]. İnsan mercek epitel B3 hücrelerin de 1.8 GHz RF 2, 3, 4 W/kg SAR değerinde 0.5, 1 ve 1.5 saat RF alan maruziyeti uygulanması sonucunda ROS seviyesinde önemli ölçüde artışlar gözlenmiştir [104].

Radyasyondan sonra artan hücresel oksidatif stresin başlıca kaynakları olan iyonlaştırıcı veya iyonlaştırıcı olmayan radyasyon ROS'u indükleyebilir. Bu genellikle ya mitokondriyal zar içindeki elektron transfer zincirini bozarak ya da su molekülünün serbest radikallere doğrudan ayrışmasıyla olur [101].

2.9.2. RF alanlar ve 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

Endojen veya eksojen olarak üretilen reaktif oksijen türleri, hücrelerde lipid, protein ve nükleik asitlere saldırabilir. Nükleer ve mitokondriyal DNA'da okside olmuş DNA nükleozidi olan 8-OHdG, en sık saptanan DNA lezyonudur. DNA onarımı sonrası 8-OHdG idrarla vücuttan uzaklaştırılır [105].

İnsan spermatozusun da yapılan çalışma da frekans sabit tutularak SAR değerleri artırılmış ve DNA hasarının bir ölçüsü olan 8-OHdG ile değerlendirilmiş. Spermatozoda yapılan çalışma da 1.8 GHz frekans SAR (5–27.5 W/kg) değeri artarken, oksidatif DNA hasarı da artmış. SAR seviyesi ile 8-OHdG ekspresyonu arasında güçlü bir pozitif korelasyon olduğu anlaşılmış ve mitokondriyal ROS üretimi seviyesi artarken, spermatozoda oksidatif DNA hasarının derecesi de artmış [103]. Adaptif cevabın DNA hasarı ve tamiri üzerine olan etkilerini incelenen çalışma da öncü düşük doz iyonizan radyasyon (0,02 Gy x-ışını) ve ardından yüksek doz iyonizan radyasyona (1 Gy x-ışını) maruz kalan hücrelerdeki DNA hasarı comet ve erken kromozom yoğunlaşması testi ile incelenmiş. Adaptif dozun oluşturduğu ön stres yüksek doza karşı oluşturduğu adaptif cevap ile tek ve çift sarmallı DNA kırıklarını azaltmıştır [106]. Yetişkin fareler (900 MHz, 120 μ W/cm² güç yoğunluğunda, SAR 54.8 mW/kg, 7 gün boyunca günde 4 saat) RF alanlara maruz bırakılmış. Son RF alan maruziyetinden sonra, radyomimetik bir kimyasal mutajen olan BLM enjekte edilmiş. Tek başına BLM enjekte edilen hayvanlarla karşılaştırıldığında, RF + BLM'ye maruz kalan farelerde BLM kaynaklı birincil DNA hasarı onarılmış [64]. Çin hamsteri V79 hücrelerinde gama ışınları ile insan lenfositlerinde ise ultraviyole C (UV-C) ile oluşturulan adaptif cevaplarda DNA kırıklarının azaldığı gösterilmiştir [107, 108].

2.9.3. RF alanlar ve malondialdehit

ROS tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunun bir son ürünü olan MDA; lipidlerde, proteinlerde ve nükleik asitlerde çapraz bağlanmaya neden olur. Oksidatif stresin ana belirteçlerindendir [109]. Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller gibi oksidanların karbon-karbon çift bağları ve özellikle de çoklu doymamış yağ asitlerini içeren lipitlere saldırdığı bir süreç olarak tanımlanabilir [110]. MDA, yüksek oksidatif stresten kaynaklanan lipid peroksidasyonun son ürünlerindendir. Oksidatif stres ile lipid peroksidasyonu artar ve otolog biyomoleküllere bağlanabilen MDA gibi lipid peroksidasyon son ürünlerinin oluşumuyla

sonuçlanır. Bağışıklık sistemi, hem hücrel hem de çözünür efektörler yoluyla son ürünleri bağlayarak ve nötralize etmeye çalışır [111].

HLE B3 hücrelerinde 1.8 GHz frekansında 2, 3, 4 W/kg SAR değerinde RF alan maruziyeti uygulaması sonrası yapılan analizler sonucunda RF alan maruziyeti alan grubun ROS ve MDA seviyeleri sham grubuna göre önemli ölçüde artmıştır [104]. Cep telefonlarından yayılan 900, 1800 ve 2100 MHz'lik RF alanlara altı ay boyunca günde iki saat maruz kalan erkek sıçanların frontal lobunda lipid peroksidasyonun artırdığı gösterilmiş [112]. Yetişkin fareler (900 MHz, $120 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda, SAR 54.8 mW/kg, 7 gün boyunca günde 4 saat) RF alanlara maruz bırakılmış. Son RF alan maruziyetinden sonra, radyomimetik bir kimyasal mutajen olan BLM enjekte edilmiş. Tek başına BLM enjekte edilen hayvanlarla karşılaştırıldığında, RF + BLM'ye maruz kalan farelerde MDA seviyeleri önemli ölçüde azalmış [64]. 900 MHz frekans radyasyona maruz kalan Fischer sıçanların kanında ki oksidatif stres etkilerinin değerlendirildiği çalışma da maruziyet alan grupların lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA seviyeleri artmış [113].

2.9.4. RF alanlar ve süperoksit dismutaz

Reaktif oksijen türlerinin artışı hücrel redoks dengesizliği oluşur. Değişen redoks dengesine karşı hücre süperoksit dismutaz aktivitesini artırarak bu dengeyi korumaya çalışır. SOD, hücreleri süperoksit radikallerinin toksik etkilerinden koruyan antioksidan enzimdir. Süperoksit dismutaz ailesi, ROS'un zararlı etkilerini hafifletmede önemli bir fizyolojik rol oynar [109]. Süperoksidin oksijen ve hidrojen peroksit dönüşümünü katalize ederler. Süperoksit anyonlar, özel sinyal enzimlerinin yanı sıra mitokondriyal solunum dâhil çeşitli metabolik işlemlerin yan ürünüdür. Aktiviteleri sayesinde, SOD enzimleri ROS ve reaktif nitrojen türlerinin seviyelerini kontrol eder böylece bu moleküllerin potansiyel toksisitesini sınırlandırır. Tüm aerobik organizmalar için SOD evrensel bir enzimdir [114].

Japon bıldırcınlarının embriyoları üzerinde yapılan çalışma da 900 MHz de $0.25 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda RF alanlara maruz bırakılan embriyolarda süperoksit radikallerini hidrojen peroksit ayıran bir enzim olan SOD aktivitesine bakılmış. RF alan uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5 gün 900 MHz frekans RF alanlara maruz kalan embriyo dokularında % 34.4 ($p < 0.05$) oranında SOD değeri azalmış. 10 günlük 900 MHz frekans RF alanlara maruz kalan embriyo kalp dokularında % 48.3 ($p < 0.05$) oranında SOD değeri azalmış. Gelişmekte olan bıldırcın embriyolarının GSM 900 MHz RF alanlara maruz

kalması serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerinin önemli ölçüde artmasına ve embriyo hücrelerinde ise DNA'nın oksidatif hasarına yol açmıştır [115]. Yetişkin fareler (900 MHz, $120 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda, SAR 54.8 mW/kg, 7 gün boyunca günde 4 saat) RF alanlara maruz bırakılmış. Son RF alan uygulamasından sonra, radyomimetik bir kimyasal mutajen olan BLM enjekte edilmiş. Tek başına BLM enjekte edilen hayvanlarla karşılaştırıldığında RF + BLM'ye maruz kalan farelerde bir antioksidan enzim olan SOD değeri artmıştır [64].

2.9.5. RF alanlar ve katalaz

Hücrede üretilen reaktif türleri; nükleik asitler, proteinler ve lipitler gibi hücresel biyomoleküller ile kimyasal olarak reaksiyona girebilir ve bunların oksidatif modifikasyonlarına, bileşimlerinde değişikliklere ve hücresel aktivitelerinde hasara yol açar. Hücreler reaktif türlerin veya yan ürünlerinin zararlı etkilerini etkisizleştirmek veya azaltmak için çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları (metabolitler, vitaminler ve enzimler gibi) geliştirmiştir. Antioksidan seviyesindeki ve reaktif türlerdeki dengede meydana gelen herhangi bir bozulma "oksidatif stres" adı verilen fizyolojik bir duruma neden olur. Katalaz, su ve oksijen üretmek için hücresel hidrojen peroksidi yok ederek oksidatif stresi önemli ölçüde azaltan önemli antioksidan enzimlerden biridir. Katalaz eksikliği veya işlev bozukluğunun, diabetes mellitus, hipertansiyon, anemi, vitiligo, alzheimer hastalığı, parkinson hastalığı, bipolar bozukluk, kanser ve şizofreni gibi yaşla ilişkili birçok dejeneratif hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu varsayılmaktadır [116].

Hücreleri hidrojen peroksitten koruyan bir enzim olan katalazın aktivitesi Japon bıldırcın embriyoları üzerinde yapılan çalışma da 900 MHz'de $0.25 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda RF alana maruz kalan embriyoların dokularında azalmıştır. Embriyoların karaciğer dokuları 38 saatlik maruziyet sonrası % 20 ($p < 0.05$) oranında, 10 günlük maruziyet sonrası ise % 21 ($p < 0.05$) oranında kontrol ile karşılaştırıldığında katalaz aktiviteleri azalmıştır. Öte yandan, 5 gün maruz kalan embriyoların dokularının katalaz aktivitesinin seviyesi, kontrol grubundan % 60.4 ($p < 0.05$) daha yüksek bulundu [115]. Falone ve arkadaşları 2018 yılında yaptığı bir çalışma da in vitro koşullarda nöroblastoma hücrelerine ön RF alan uygulamasından sonra menadion (MD) verilen grupta CAT seviyeleri diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde artmıştır. Ön RF alan uygulaması bir antioksidan enzim olan CAT'ın regülasyonunu artırmıştır [54].

2.9.6. RF alanlar ve toplam antioksidan kapasite

Toplam antioksidan kapasite, vücut sıvılarından antioksidan potansiyelini ölçen bir biyobelirteçtir. Kimyasal ve biyolojik sistemlerde serbest radikal antioksidan dengesini değerlendirmek için en sık kullanılan testlerdendir [117].

Sperm numuneleri üzerinde yapılan çalışma da (850 MHz GSM, maksimum güç <1 W; SAR 1,46 W/kg) RF alanlara maruz kalan numunelerde sperm hareketliliği ve canlılığında önemli bir azalmanın yanı sıra, ROS seviyesinde artış ve ROS-TAC skorunda azalış göstermiş. Maruziyet almayan grup da ise TAC ve DNA hasarı seviyelerinde önemli değişiklik gözlemlenmemiş [118]. Erkek Wister türü sıçanlar (10 hafta boyunca günde 24 saat Wi-Fi 2.45 GHz) RF radyasyonuna maruz bırakılmış. Wi-Fi'ye maruz kalan grubun plazma örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi ve CAT, GSH-Px ve SOD dâhil antioksidan enzimlerinin aktivitelerinde önemli bir azalma tespit edilmiş ($P < 0.05$). Wi-Fi sinyaline maruz kalan sıçanlarda oksidatif savunma mekanizması kontrol grubuna göre önemli ölçüde etkilenmiştir [119]. Leydig hücreleri (1, 2 ve 4 saat boyunca $200.27 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda, SAR 0.116 W/kg 1800 MHz) RF alanlara maruz bırakıldığında total antioksidan kapasite ve CAT aktivite seviyeleri azalmış ve MDA seviyesi artmıştır. Ayrıca birçok genin gen ifade seviyesinin regülasyonu maruziyet ile azalmıştır [120].

Düşük yoğunluklu RF alanların oksidatif etkileri ile ilgili yapılan 100 araştırmanın 93'de RF alanların biyolojik sistemlerde oksidatif etkilere neden olduğunu doğrulanmış. Düşük yoğunluklu RF alanların hem kanser hem de kanser olmayan patolojileri içeren biyolojik / sağlık açısından etkisi; ROS'un indüklenmesi ve bunların hücre sinyal yollarının aktivasyonu ile açıklanabilir. RF alanların oksidatif etkinliği; mitokondriyal ve fagositik olmayan NADH oksidazları da içeren ROS üreten sistemlerin aktivitelerindeki değişiklikler, su molekülleri üzerindeki doğrudan etkileri ve biyolojik açıdan önemli makro moleküllerdeki konformasyon değişiklikleri ile açıklanabilir. Sonuç olarak düşük yoğunluklu RF alan maruziyeti canlı hücre için güçlü bir oksidatif stres edici bir ajan olduğunu göstermektedir. RF alan maruziyetlerinin yoğunluğunu ve süresini en aza indirmek ve günlük yaşamımızda kablosuz teknolojilere karşı ihtiyatlı bir yaklaşım sergilenmesi gerektiği önerilmektedir. Bu ihtiyatlı yaklaşımın yanı sıra RF alanların "faydalı" etkilerini açıklamak için zararlı konsantrasyonların altındaki seviyelerde indüklenen serbest radikallerin aktivasyonu sayesinde olduğu hipotezi ile açıklanabilir. Zarar vermeyecek konsantrasyondaki RF alanların serbest radikal oluşturması bir ön uyarı sistemi gibi

vücudumuzu daha dikkatli ve temkinli olmaya sevk edebilir. Dış çevresel etkinin yararlı gibi görünen herhangi bir etkisi dikkatle ele alınmalı ve uzun vadeli sonuçların dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi yapılmadan önce RF alan maruziyetleri en aza indirilmelidir. Düşük yoğunluklu RF alanların olumsuz sağlık etkileri bize doğrudan oksidatif hasarla veya bozulmuş hücresel sinyalleşme ile net bir uyarı verir [46].

2.10. Apoptozis

Hücreler doğarlar, çoğalırlar, farklılaşırlar ve ölürlər (apoptozis) bütün bu mekanizma bir denge halinde süre gelir. Homeostazisin sürdürülmesinde apoptozis ve proliferasyon arasındaki dengenin sağlıklı bir şekilde devam etmesine bağlıdır. Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozis, immün sistemin düzenlenmesi ve gelişmesinde önemli rol almaktadır. Yunanca da ‘düşen yaprak’ anlamına gelen apoptosiz hücrenin aldığı sinyaller sonucunda hücrenin intiharı olarak da bilinen fizyolojik bir durumdur. Hücrenin kendisini yok etmesi için gelen komutları taşıyan genlerin bir kısmı indükleyici bir kısmı ise inhibitör rolü oynarlar. Fizyolojik sistemde görevini tamamlamış artık ihtiyaç duyulmayan veya hasar oluşmuş hücreler genlerin kontrolünde ortadan kaldırılır. Apoptozis mekanizmasında ortaya çıkacak sorunlar patolojik durumlara (tümör gelişimi) ve hastalıklara yol açmaktadır. Örneğin hasarlı DNA’lar kanser gelişimine neden olabilir [121, 122].

Apoptozis, nekrozisden birçok özelliği bakımından oldukça farklı bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Nekroz patolojik olaylar sonucu hücrenin zarar görerek ölümü iken apoptozis ise patolojik olmayan bir fizyolojik uyarı tarafından başlatılan bir yıkım sürecidir. Nekrozda hücreler hacimsel olarak genişler ve patlayarak dağılır iken apoptosiz de hücre hacimsel olarak küçülür ve daha sonra komşu hücreler absorbe ederler. Bunlara ek olarak apoptozisde çekirdek yoğunlaşması, DNA parçalanması, apoptotik yapıların oluşması gibi morfolojik değişiklikler sayesinde tespit edilebilir [123]. Üçüncü bir hücre ölümü ise yunanca da ‘kendini yemek’ anlamına gelen otofaji, hücrelerin kendi organellerini ve makro moleküllerini sindirerek enerji ve metabolitler ürettiği bir süreçtir. Hücre ölümü genetik olarak kontrol ediliyorsa ‘programlı ölüm’ gerçekleşiyor demektir. Apoptoz ve otofajiyle ilişkili hücre ölümü iki temel programlanmış hücre ölümü türüdür. Hücre ölümünün genetik olarak kontrol edilen süreçlerle meydana geldiğinin bulunması ile birçok hastalığın mekanizmalarının çözülmesinde ilerlemeler sağlamıştır ve bu bilgi programlanmış hücre ölümünü başlatan veya inhibe eden farmakolojik ajanların gelişimini kolaylaştırmıştır [124].

İki ana apoptoz yolu vardır; reseptörlerinin aktivasyonunun aracılık ettiği hücre ölüm reseptörleri yolu ve bcl-2 tarafından düzenlenen mitokondriyal yol. Hücrelerdeki kaspaz aktivasyonu iki farklı fakat birbirine yakınsak yoldan birine bağlanırlar.

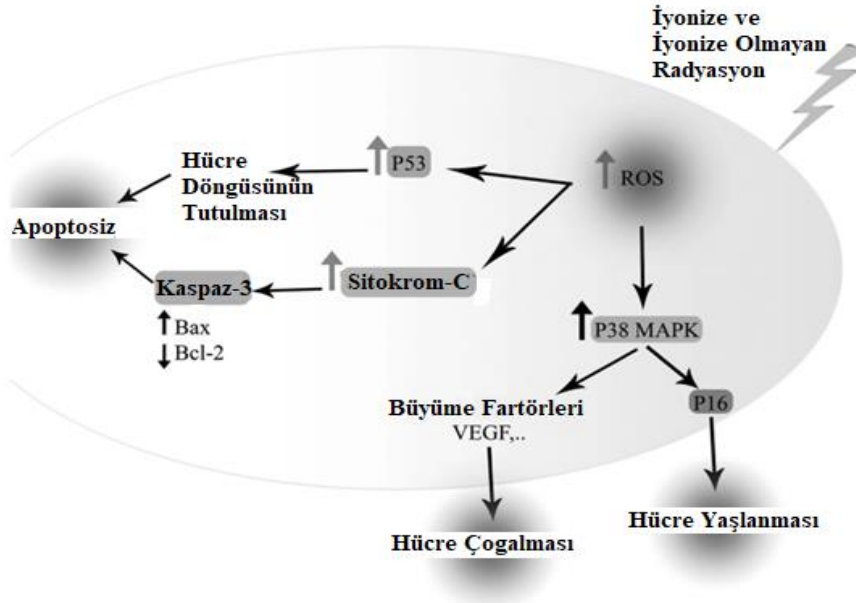
Hücre ölüm reseptörleri, tümör nekroz faktörü (TNF) ailesine ait hücre yüzey reseptörleridir. Apoptozun indüklenmesinde görev alan bu reseptörler, hücre çoğalmasını ve programlı hücre ölümünü denetleyen homeostazın sürdürülmesini sağlayan transmembran proteinleridir. Tümör nekroz faktörü reseptör 1 (TNF-R1), fas reseptör (Fas, FasR), TRAIL-R1 ve R2 (TNF ilişkili apoptoz indükleyen ligand reseptörleri) apoptozu tetikleyen ölüm reseptörleridir. Ölüm reseptörleri apoptozun başlatıcısı olan kaspaz 8 ve kaspaz 10'un aktive eder. Kaspaz 8 ve 10'nun tetiklenmesi ile efektör kaspazlar olan kaspaz 3 ve 7 aktivasyonu gerçekleşerek apoptozise karakteristik morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler meydana gelir [124, 125].

Apoptoz ikinci bir yol olan mitokondri organeli ile düzenlenmektedir. Mitokondrinin aktivasyonu sitoplazmaya sitokrom c ve apoptozis uyarıcı faktör gibi apoptotik faktörlerin salınımı ile başlar. Sitokrom-C'nin salınımı düzenlenmesi ise bcl-2 ailesi üyeleri tarafından gerçekleştirilir. Bcl-2 ailesi, antiapoptotik ve proapoptotik üyelerden oluşur ve üyeleri arasındaki etkileşim mitokondriyal apoptotik yolu kontrol eder. Bu grupların birbirine zıt etkiye sahiptir. Anti-apoptotik grup (BHRL-1, bcl-xl, bcl-w, bfl-1, brag-1 vb.) apoptozisi baskılayıcı, pro-apoptotik grup (Bad, Bax, Bak, Bcl-xS, bid, bik, p53, p21 vb.) ise apoptozisi indükleyici bir etkiye sahiptir. Hücre ölüm reseptörleri ve mitokondriyal apoptoz için efektör kaspazlar olan kaspaz 3 ve kaspaz 7'nin aktivasyonu her ikisi içinde ortaktır [124, 126].

2.10.1. Apoptozis ve RF alanlar

İnsan akciğer karsinom hücre hattına (A549) farklı güç yoğunluğu ve sürelerde mikrodalga uygulanması apoptozu artırmış. Mikrodalga radyasyonunun süresine ve dozajına bağlı olarak p53 proteinlerinin seviyesi artırmıştır [127]. Özgür ve arkadaşları, hepatokarsinom hücrelerini (Hep G2) 1, 2, 3 ve 4 saat boyunca 15 dakika açık, 15 dakika kapalı 2 W/kg özgül soğurma oranında GSM-EDGE modülasyonun da 900 ve 1800 MHz frekansa RF alanlara maruz bırakmışlar. Sonuçları TUNEL yöntemi ile analiz edilmiş ve özellikle 4 saatlik uygulama sonucunda RF alanların hücreleri apoptoza götürdüğü görülmüştür [128]. Fare embriyonik fibroblast hücre hattı (NIH/3T3) 2 W/kg SAR değerinde aralıklı olarak 1800 MHz RF alana maruz kaldıktan sonra ROS seviyesinde ve apoptozis de artış olur iken DNA

çift sarmallarında kopma tespit edilmemiştir [129]. İyonizan radyasyona ışınlama maruz kalmış hücrelerden gelen sinyaller ışına maruz kalmayan hücrelerde de hasara yol açar bu olay ‘bystander effect’ (seyirci etkisi) olarak ifade edilir. Jurkat hücre hattında 900 MHz RF alanların seyirci etkisine yol açıp açmadığı flow sitometrik yöntemle Annexin V 7-AAD kiti ile apoptozun indüksiyonu aracılığı ile araştırılmış. Jurkat hücre hatları üç gruba ayrılmış; maruziyetsiz grup, maruziyet grubu ve bystander grubu (herhangi bir RF alana maruz kalmamış fakat maruziyet grubunun medyumunu transfer edilmiş). Apoptoz, hem maruziyet hem de bystander grubunda gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlardan, Jurkat hücrelerinde RF radyasyona maruz kalmanın sadece maruziyet grubunda değil, aynı zamanda seyirci hücrelerde de apoptoz oranında önemli bir artışa yol açtığı sonucuna varılmış. Bu sonuçlar gösteriyor ki iyonizan olmayan radyasyonunda ‘bystander effect’ etkisine yol açtığını ortaya koymuştur [130].



Şekil 2.14. Apoptoz, proliferasyon ve hücre yaşlanmasında radyasyona bağlı oksidatif stresin potansiyel rolleri [101].

Şekil 2.14’de artan ROS ile hem p53 sinyalinin indüklenmesi hem de intrinsik kaspaza bağımlı apoptozun aktivasyonu ile apoptotik yolları teşvik edebilir. Ayrıca, radyasyona maruz kalan hücrelerin artan ROS içeriği, p38 MAPK sinyalleri yolu ile proliferatif yanıtı teşvik edebilir. MAPK yolunun, p16 yollarının uyarılması ile hücre yaşlanmasına yol açabileceği de ileri sürülmüştür [101]. Önceden verilen düşük dozda iyonizan radyasyon,

Trp53^{+/+} fare embriyolarında yüksek doz radyasyonun neden olduğu apoptosizi baskılar iken Trp53^{-/-} fare embriyolarında yüksek doz radyasyonun neden apoptosiz baskılanmamıştır. Bu veriler gösteriyor ki adaptif cevabın apoptosiz oluşumunu engelleme de Trp53 geni aktif rol oynamaktadır. Trp53 geni apoptosizin baskılanmasında rol alan önemli bir gendir [131]. Embriyogenesiz üzerine yapılan çalışma da Trp53^{+/+}, Trp53^{-/-} farelere 11 gün düşük doz iyonizan radyasyon uygulandıktan sonra 12. gün yüksek doz iyonizan radyasyon uygulanması sonucunda Trp53^{+/+} farelerinin yaşayan fetüs sayısı önemli ölçüde artmış ayrıca apoptosiz insidansını azalmıştır [131]. SA-NH murin sarkom hücrelerine önce düşük doz iyonizan radyasyon arkasından verilen yüksek doz iyonizan radyasyon sonucunda hücreler de AC oluşumu, sağ kalım ve TUNEL yöntemi ile apoptosiz incelenmiştir. SA-NH hücrelerin de sağ kalım % 20-40'lık bir artış gözlenirken, TUNEL yöntemi ile incelenen apoptosiz de ise % 20-40'lık azalış tespit edilmiştir. Ayrıca çalışma da bu sağ kalımın adaptif cevabın hücrelerin NF-kB'yı aktive etme kabiliyetine bağlı olduğu gösterilmiştir [132]. Düşük doz iyonizan radyasyonun (α , γ ve x-ışını) [133-137] ve düşük doz kimyasal ajanların [138-140] oluşturduğu adaptif cevaptaki Nrf2 antioksidan yolağı, NF-kB inflamatuvar yolağını rolü gösterilmiştir. RF-EMF indüklenen adaptif cevaptaki NF-kB'nin rolü incelemeye değer görünmektedir. p53 geni, yaklaşık 500 hedef geni doğrudan düzenleyerek DNA onarımının da dâhil olduğu, metabolik adaptasyon ve apoptosiz de aktif rol oynar [76].

Radyasyonun indüklediği oksidatif stres; apoptosiz oluşumuna, proliferatif süreçlere ayrıca p53 ve MAPK ile moleküler sinyal yollarını tetikler. Dahası radyasyon ile indüklenen oksidatif stres; ATG4, AMPK/mTOR, Beclin 1, Bcl-2, NF-kB ve Nrf2/Keap1 sinyal yolları ile otofaji üzerinde rol oynayabilir [101].

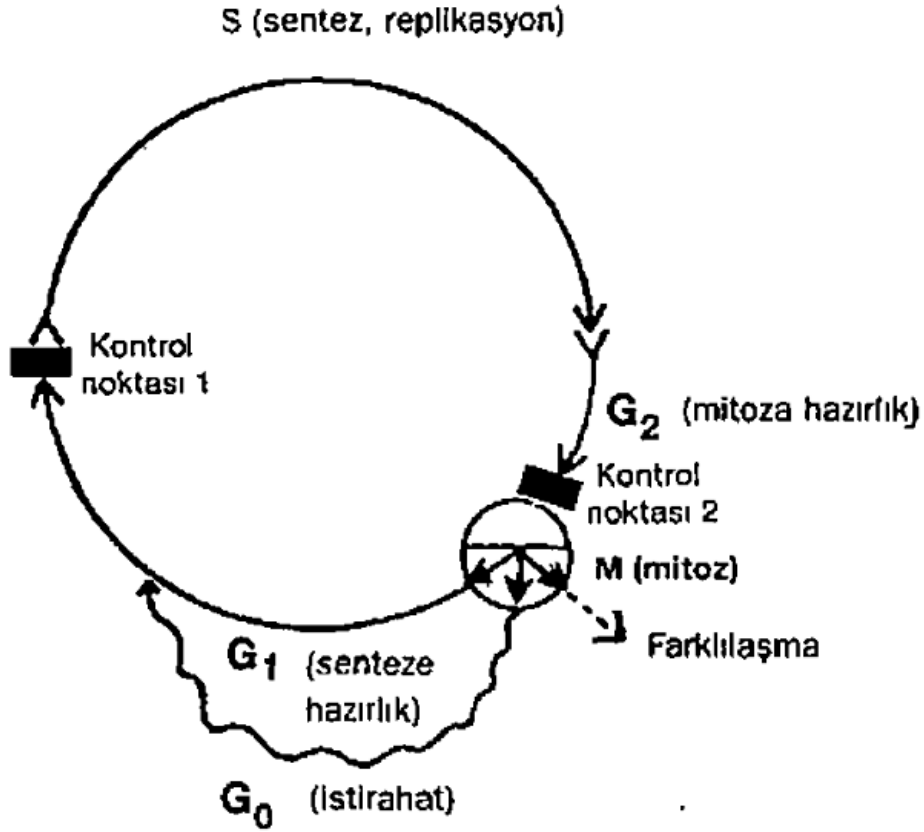
2.11. Bleomisin

Bleomisin, *Streptomyces Verticillus*dan mikroorganizma kültüründen izole edilen bir antibiyotiktir. Farmakolojide antibiyotik terimi sadece antimikrobik ilaçlar için değil ayrıca kültürden izole edilen antineoplastik ilaçlar içinde kullanılmaktadır [141]. Bleomisin serbest radikalleri üreten, tek sarmal kırılmalarına ve çift sarmal kırılmalarına neden olan ve dolayısıyla kromozomal hasarı indükleyen bir radyomimetik (radyoterapi ile alınan neticelere benzer sonuç veren) bir ajandır. Bir hücre sistemine uygulanan fiziksel veya kimyasal stres (iyonizan radyasyon, toksik ajanlar vb.), bu strese maruz kalmamış komşu hücrelere bir sinyal kaskatı olarak iletilir bu iletim "bystander effect" (seyirci etkisi) olarak adlandırılır. Kemoterapik bir ajan olan BLM'nin birçok hücrede yapılan testlerde bystander etki cevabı gözlenmiştir. Kemoterapötik ajanlar, hücre tipinden bağımsız olarak iyonlaştırıcı radyasyona benzer bir yanıtı indüklemektedirler. DNA üzerinde radyomimetik etki gösterdiğinden birçok farklı kanser türlerinin tedavisinde klinik kemoterapide yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, BLM genotoksitenin incelenmesinde sıklıkla kullanılan bir ajandır [142, 143].

BLM, esas olarak tek sarmal kırılmalara ve çift sarmal kırılmalara neden olan ve böylece kromozomal sapmalara neden olan bir radyomimetik ajandır. MMC, DNA 'cross-link' (çapraz-bağlama) neden olan ve 'sister chromatid exchanges' kardeş kromatid değişimlerini indükleyen, alkilleyici bir ajan olarak işlev gören güçlü bir mutajendir [144, 145]. Bleomisin başta akciğer kanseri, testis kanseri, serviks kanseri, baş-boyun kanseri, hodgkin hastalığı, melonama ve uterus kanseri olmak üzere oldukça yaygın olarak kullanılan antitümöral etkiye sahip bir antibiyotiktir. Vücutta kolayca yayılabilir iken santral sinir sistemine geçmez ve önemli miktarda böbrekten atılımı sağlanır. İnsanda eliminasyon yarılanma süresi 2 ile 4 saat arasındadır. Akciğer ve böbrek sorunları yaşayan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır. Bleomisin; hiperpigmentasyon, cilt lezyonlarına, bulantı, kusma alopesi, ateş ve üşüme titreme gibi yan etkilere yol açabilmektedir [146].

Antineoplastik kemoterapinin hedefi tümörlü hücrelerin büyümesi veya çoğalmasını dururmak ve yok ederken de sağlıklı hücreleri ise korumak hedeflenmektedir. Fakat normal doku ile tümör dokusu arasındaki benzerlik antineoplastik ilaçların selektifitesini olumsuz etkilemektedir. Böylece antineoplastik ilaçların çoğu tümör hedeflenmiş ilaçlar olmadığı için kanser hücreleri harabiyetinin yanı sıra normal hücrelere de zarar vermektedir. Yani bu tür ilaçların kanserojen, teratojen ve mutajen etkileri vardır. Hücre proliferasyonun dönemleri

(hücre siklusu) göz önüne alındığında bleomisin başta G_2 fazı olmak üzere geç G_1 , erken S ve M de döneme özgü etki göstermektedir [141].



Şekil 2.15. Hücre proliferasyonunun dönemleri (hücre siklusu) ve kontrol noktaları [141]

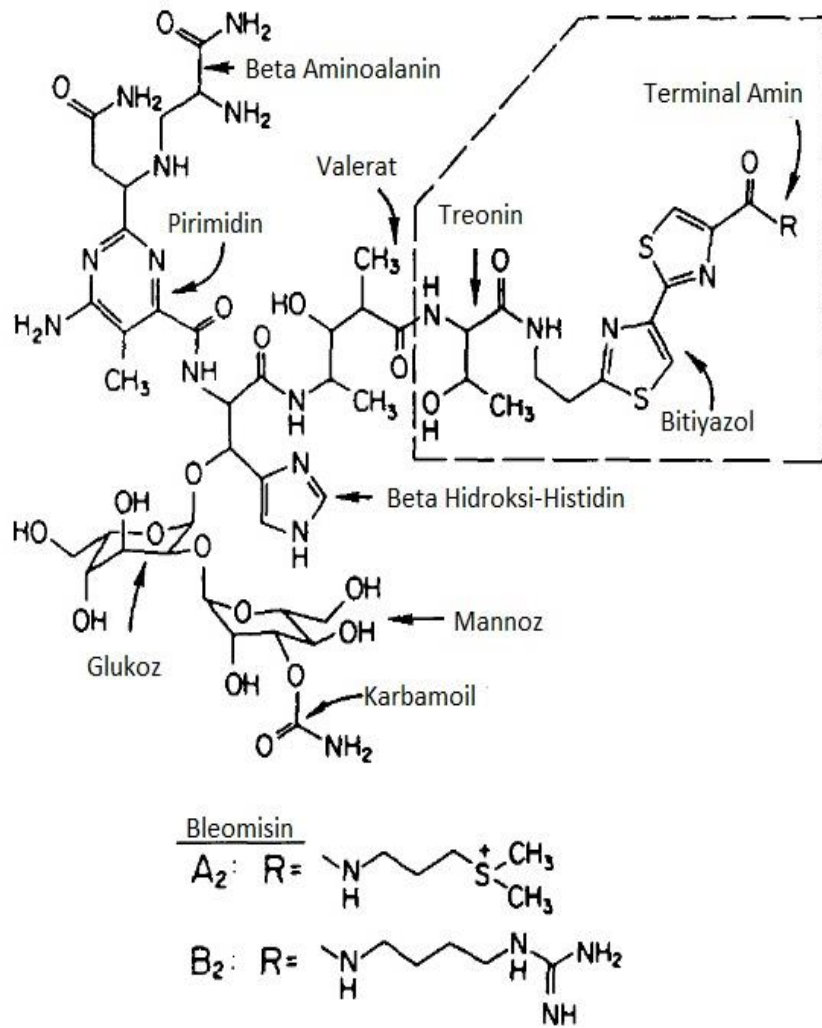
Antineoplastik ajanlar; serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin ekspirasyonunu artırarak oksidatif stresi indükler. Antineoplastik ajanlar ile uygulanan antioksidan diyet takviyeleri ROS detoksifiyesi ile kemoterapinin antikanser etkisini artırabilir. Tam tersinde ise artmış oksidatif stres hücre proliferasyon hızını azaltacağı için hızlı çoğalan kanser hücrelerini hedef alan antineoplastik ilaçların sitotoksik etkilerine müdahale edebilir [146]. Schlade-Bartusiak ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma da insan lenfositleri üzerinde BLM ve MMC'nin adaptif cevap yanıtları karşılaştırılmış. Aynı donör grubunun lenfositlerinde BLM ve MMC'nin oluşturduğu adaptif cevap yanıtında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Öncelikle verilen düşük dozda BLM ardından yüksek dozda BLM maruz kalma sonucunda kromozal hasar frekansı %50 azalır iken bu oran MMC de %20'nin altında gerçekleşmiştir [145]. Antineoplastik (sitotoksik) ilaçlar, çoğalma fraksiyonu ve iki katına çıkma süresi yüksek olan ve anormal biçimde hücre popülasyonunu artıran kanser hücrelerini yok etmelerinin yanında vücuttaki proliferasyonu yüksek olan ağız mukozası epiteli, bağırsak

epideli, kıl follikülleri ve kemik iliği gibi hücrelere ayrıca hücre proliferasyonun belirgin olmadığı karaciğer ve böbrek gibi dokulara da zarar verebilir [141]. Bu yüzden kanser hücrelerini yok etmek için mücadele ederken normal hücrelerin korunması büyük önem arz etmektedir.

Hedeflerimizden biri antineoplastik ajanların normal hücre üzerindeki olumsuz etkileri RF alan uygulaması ile en aza indirilmesi hedeflenmektedir. Muhtemelen RF alan maruziyeti ile indüklenen ROS ve serbest radikallerin artışı oksidatif stresi artırmakta ve böylece antineoplastik ilaçların etkinliğinin azalmasına sebep olabildiği düşünülmektedir.

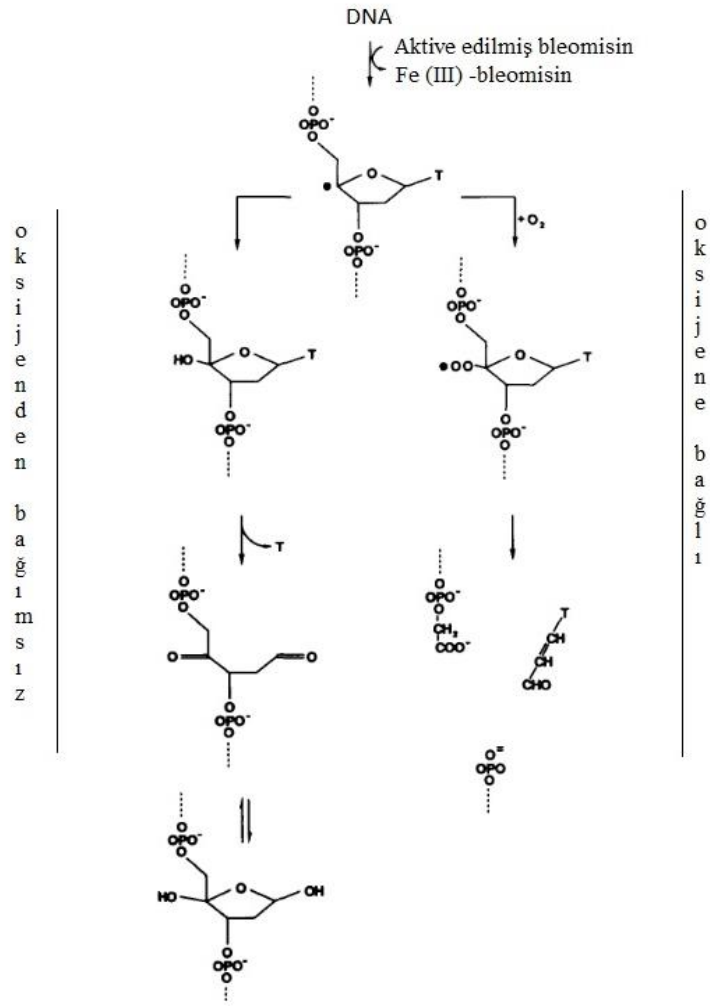
2.11.1. Bleomisin kimyasal yapısı

Bleomisin, genotoksik özelliklere sahip bir radyomimetik antitümör ajandır. Klinik formülasyon olan Blenoxane, başlıca bleomisin A2 ve B2 bileşenlerinin bir karışımıdır [147]. Şekil 2.16’da Blenoxanenin başlıca A2 ve B2 formları gösterilmiştir.



Şekil 2.16. Bleomisinin kimyasal yapısı [147]

Bu ilacın klinik kemoterapide oldukça yaygın kullanımı nedeninden olan genetik toksisitesinin yanı sıra, bleomisin DNA'nın deoksiribozun C-4' pozisyonuna da belirli bir oksidatif hasar verme yeteneğine sahiptir. Fe (II)-bleomisine oksijen eklenmesi veya Fe (III)-bleomisine H₂O₂ eklenmesi ile "aktive edilmiş bleomisin" (bleomisin ferrik peroksit) oluşumuyla sonuçlanır.



Şekil 2.17. Bleomisin tarafından indüklenen DNA hasarının kimyasal yapısı [147]

C-4' pozisyonun üzerindeki ilk başlangıç radikali; oksijenden bağımsız bir yolla (sol) baz salınımına ve AP bölgesi oluşumuna ya da oksijene bağlı bir yola (sağ) baz propenal salınımına ve iplikçik bölünmesine yol açar [147].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma ile sağlıklı dokularda RF alanların oluşturabileceği adaptif cevabın altında yatan moleküler mekanizma biyokimyasal olarak ve gen düzeyinde araştırılmıştır. Çalışma öncesinde Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan G.Ü-ET-19.038 kodlu etik kurul onayı alınmıştır. Bu amaç doğrultusunda, erkek Swiss Albino farelere tüm vücut 3G modülasyonu 23 dBm çıkış gücünde (21,36 V/m) 900 MHz günlük 4 saat (9:30-13.30) 7 gün boyunca radyo frekans alana maruz bırakıldıktan 20 dakika sonra 37.5 mg/kg, i.p. bleomisin enjeksiyonu gerçekleştirildi. Bleomisin enjeksiyonundan 30 dakika sonra anestezi altında (ksilazin 10 mg/kg, ketamin 200 mg/kg i.p.) kan ve doku örnekleri alındı.

Tüm maruziyetler Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Biyoelektromanyetik Laboratuvarı RF alan uygulama sistemi ile gerçekleştirildi. Tüm bu işlemler, steril koşullar altında ve veteriner hekimler gözetiminde Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) da gerçekleştirildi. Yapılan biyokimyasal deneyler ve gen ifade analizleri Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.1. Radyo Frekans Alan Maruziyet Sistemi

Sinyal jeneratörü olarak R&S®SMBV100A Vektör Sinyal Jeneratörü (Resim 3.1) kullanılmıştır. Sinyal jeneratörünün teknik özellikleri Çizelge 3.1 de verilmiştir.



Resim 3.1. R&S®SMBV100A vektör sinyal jeneratörü

Çizelge 3.1. R&S®SMBV100A vektör sinyal jeneratörü teknik özellikleri

	R&S®SMBV100A
Frekans aralığı:	9 kHz - 3.2 GHz
Frekans çözünürlüğü:	0.001 Hz
Çıkış gücü:	$1 \text{ MHz} \leq f \leq 6 \text{ GHz}: (-145 \text{ dBm}) - (+30 \text{ dBm})$ $300 \text{ kHz} \leq f < 1 \text{ MHz}: (-145 \text{ dBm}) - (+18 \text{ dBm})$ $100 \text{ kHz} \leq f < 300 \text{ kHz}: (-145 \text{ dBm}) - (+13 \text{ dBm})$ $9 \text{ kHz} \leq f < 100 \text{ kHz}: (-145 \text{ dBm}) - (+8 \text{ dBm})$
Güç çözünürlüğü:	0.01 dB
Çıkış doğruluğu:	$200 \text{ kHz} \leq f \leq 3 \text{ GHz} : < 0.5 \text{ dB}$ $f > 3 \text{ GHz} : < 0.9 \text{ dB}$
Çıkış empedansı:	50 Ohm
Modülasyon:	AM, FM, Puls, Faz, I/Q

Oluşturulan sistemde RF alan yayılımı için ETS-Lindgren 3164-04 horn anten (Resim 3.2) kullanılmıştır. Horn antenler, radyo dalgalarını yönlendirmek için boynuz gibi şekillendirilmiş metal dalga kılavuzundan oluşan bir anten tipidir. Bu tür antenlerin avantajları yönlendirilebilir olması, basit geometrik yapıları, geniş bir frekans aralığında ve geniş bir bant genişliğinde çalışabilmeleridir. Horn antene ait özellikler Çizelge 3.2 ve 3.3’ de verilmiştir [148].



Resim 3.2. ETS-Lindgren 3164-04 horn anten

Çizelge 3.2. ETS-Lindgren 3164-04 horn antenin elektriksel özellikleri

	Model 3164-04
Frekans Aralığı:	700 MHz–6 GHz
Gerilim Duran Dalga Oranı (VSWR):	$\leq 3.5:1$
Anten Kazancı:	3 dBi–12 dBi
Maksimum Sürekli Gücü:	10 W
Empedans (İç Direnç Nominal):	50 Ω
Çapraz Polarizasyon İzolasyonu:	> 20 dB
Çift Polarizasyon Simetrisi:	$\pm 0.1 \text{ dB} < 3 \text{ GHz} \pm$ 0.25 dB 3–6 GHz
Konnektör:	SMA (2)

Çizelge 3.3. ETS-Lindgren 3164-04 horn antenin fiziksel özellikleri

	Model 3164-04
Uzunluk:	22.3 cm
Genişlik:	22.3 cm
Derinlik:	35.6 cm
Ağırlık:	3.9 kg

Maruziyet için 23 dBm çıkış gücünde (21,36 V/m), 900 MHz 3G modülasyonlu cep telefonu sinyali tipinde RF alanlar kullanıldı.

Elektromanyetik alan ölçümleri; Narda EMR 300 ve Narda EMR 300'e ait Tip 8,3 elektrik alan probu (100 kHz – 3 GHz) kullanıldı. Sistem kapalı iken maruziyet yaptığımız odada <1 V/m'den küçük değerler ölçüldü. Oluşturulan deney düzeneği değerleri Narda EMR 300 ile deney süresince kontrol edildi.

3.1.1. Radyo frekans radyasyon maruziyetinde kullanılan cihazlar

1. R&S®SMBV100A Vektör Sinyal Jeneratörü
2. ETS-Lindgren 3164-04 Horn Anten (700 MHz-6 GHz)
3. Narda EMR 300 Ana Ünitesi ve Tip 26.1 Elektrik Alan Probu, (300 kHz – 40 GHz)



Resim 3.3. Maruziyet sisteminde kullanılan cihazlar

3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

1. Ksilazin (Bioveta Ltd. Şti., Xylazinbio %2)
2. Ketamin (İnterhas Tıbbi ve Kimyevi Ürünler San. ve Tic. A.Ş., Ketamol %10)
3. Bleomisin (Onko Eczacı San. ve Tic. Ltd. Şti., Bleocin-S 15 mg)
4. Serum Fizyolojik (Koçak Farma İlaç ve Kimya Sanayi A.Ş., Serum Fizyolojik İzotonik % 0.9)
5. Nükleaz P1 (Sigma, N8630)
6. Alkalın fosfat (Sigma, PO114)
7. Trizma base (Sigma, T1503)
8. Borik asit (Sigma, B6768)
9. 0.5 M EDTA (Sigma, E5134)

3.3. Analizler için Kullanılan Cihazlar

1. Eş-Zamanlı PZR Cihazı (Roche 480 LightCycler)
2. ELISA Cihazı (Perkin Elmer VICTOR 3 1420)
3. Nanodrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, USA)

4. Termal Döngü Cihazı (Bio-Rad T100)
5. Işık Mikroskobu (Leica DM4000, Almanya)
6. Bidistile ve Ultra Saf Su Sistemi
7. Spin Santrifüj
8. Soğutmalı Santrifüj (Beckman Coulter, Allegra X-15R, 392934)
9. Sonikatör (Sonics, Amerika)
10. Etüv
11. Manyetik Karıştırıcı
12. Isı Tablası
13. Vorteks
14. Hassas Terazî
15. Otoklav
16. Kırık Buz Makinesi
17. Su Banyosu
18. Mikro pipetler (10 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl) ve diğer rutin laboratuvar malzemeleri

3.4. Deney Hayvanları

Deney için 5 grup oluşturulmuştur. Her bir grup 6 adet Swiss Albino erkek fareden oluşacak şekilde toplamda 30 adet fare kullanılmıştır. Hayvanların sakrifiye edilme işlemi sonlanana kadar, tüm maruziyetler ve dokuların alınması Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde gerçekleştirilmiştir ve hayvanlar bu işlemler süresince başka bir ortama çıkarılmamıştır. Hayvanlar doğadaki yaşam ortamlarının sağlanması amacı ile 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünde (07:00-19:00 / 19:00-07:00 saatleri arasında), % 50 nem ortamında sıcaklık 23 °C olacak şekilde kafeslerde steril koşullar altında muhafaza edilmiştir. Deney süresince farelere herhangi bir yiyecek kısıtlaması yapılmamıştır. Otuz fare rastgele her bir kafeste altı hayvan olacak şekilde 5 ayrı gruba ayrılmıştır.

3.5. Deney Grupları

- 1) Kontrol, n=6
- 2) Sham, n=6
- 3) R, n=6 (900 MHz günlük 4 saat 7 gün boyunca)

4) B, n=6 (37.5 mg/kg BLM, i.p.)

5) RB, n=6 (900 MHz günlük 4 saat 7 gün boyunca + 37.5 mg/kg BLM, i.p.)

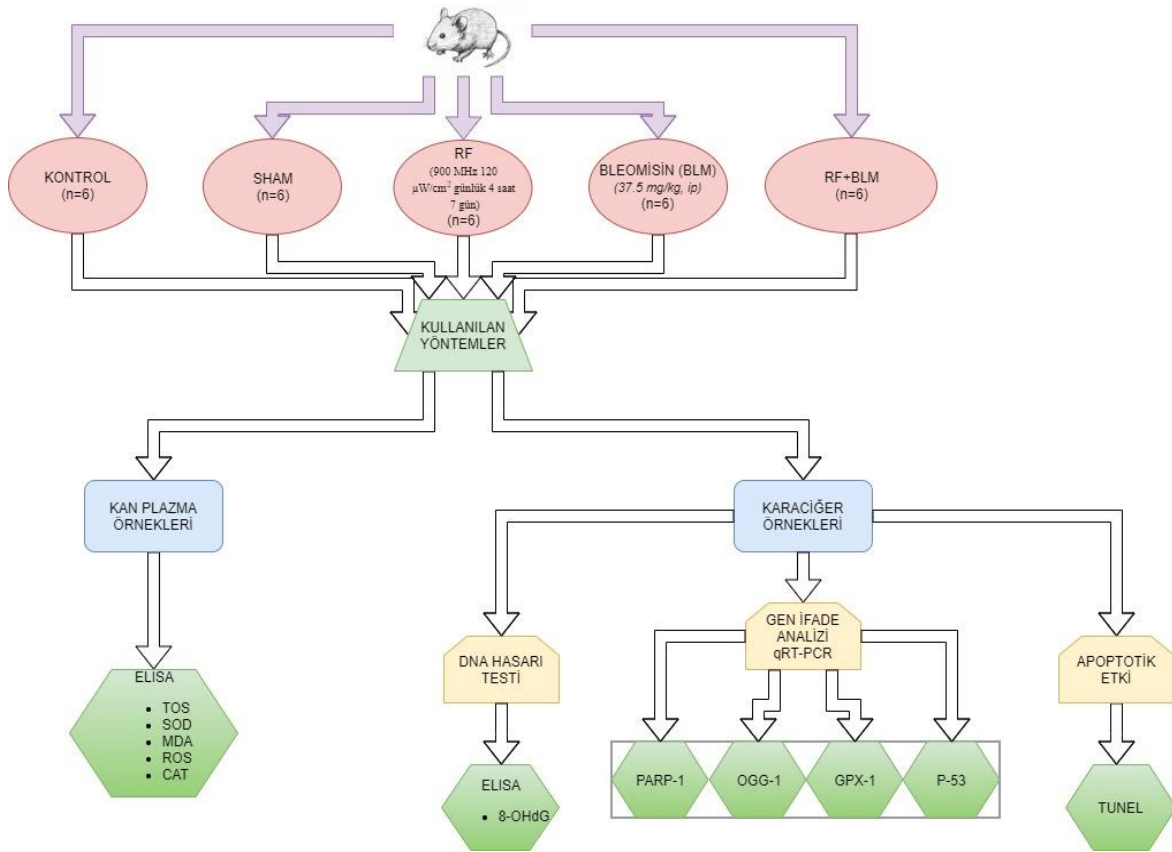
Grup 1 (K, n=6) =Kontrol grubu farelere deney süresince herhangi bir işlem uygulanmamıştır. 7. gün sonunda fareler anestezi altında intra kardiyak kan alınarak sakrifiye edildi.

Grup 2 (S, n=6) = Sham grubu fareler RF alan kapalı iken maruziyet sistemi düzeneğine koyuldu. Böylece maruziyet sisteminin herhangi bir etkisinin olup olmadığı tespit edildi. Hayvanlar 7 gün boyunca aynı koşullar altında kurulan deney sisteminde RF alan kapalı olacak şekilde konuldu ve 7. gün sonunda fareler anestezi altında intra kardiyak kan alınarak sakrifiye edildi.

Grup 3 (R, n=6) = RF alan maruziyetinin etkilerinin araştırılması için 900 MHz frekansında günlük 4 saat olacak şekilde 7 gün boyunca RF alana maruz bırakıldı. 7. gün sonunda fareler anestezi altında intra kardiyak kan alınarak sakrifiye edildi.

Grup 4 (B, n=6) = Bleomisin etkilerinin araştırılması için 37.5 mg/kg intraperitoneal (i.p.) enjeksiyon yapıldıktan 30 dakika sonra anestezi altında intra kardiyak kan alınarak sakrifiye edildi.

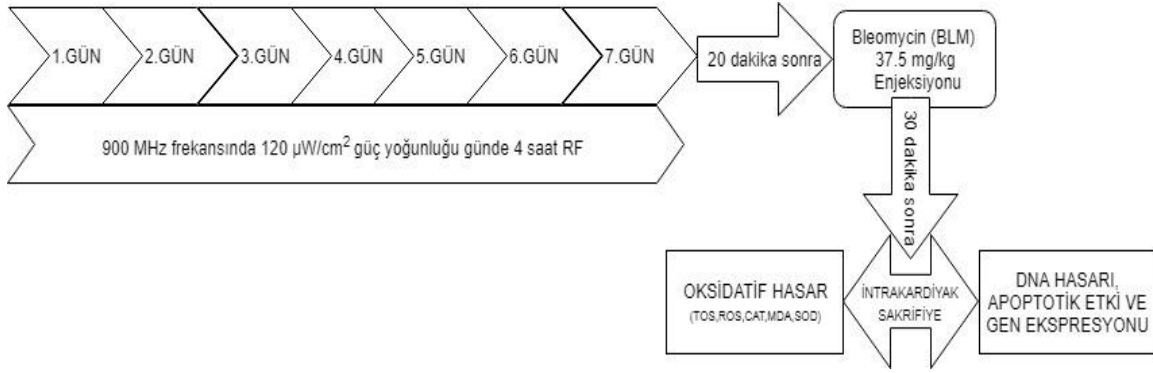
Grup 5 (RB, n=6) = RF alanın adaptif cevap oluşturma yetisinin test edilmesi için öncesinden 900 MHz frekansında günlük 4 saat 7 gün boyunca RF alana maruz kalan farelere son maruziyetten 20 dakika sonra bleomisin (37.5mg/kg, i.p.) uygulandı. 30 dakika sonra anestezi altında intra kardiyak kan alınarak sakrifiye edildi.



Şekil 3.1. Deney grupları ve akış diyagramı

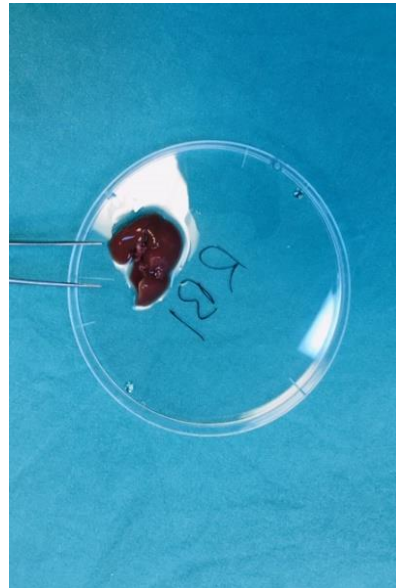
3.6. Yöntem

Çalışma radyo frekans alanların oluşturduğu adaptif cevap ile sağlıklı dokuları kemoterapötik ajanların olumsuz etkilerinden koruma hedeflendi. Bu amaç doğrultusunda, fareler, tüm vücut 23 dBm çıkış gücünde (21,36 V/m) 900 MHz günlük 4 saat (9:30-13.30) 7 gün boyunca radyo frekans alana maruz bırakıldıktan 20 dakika sonra 37.5 mg/kg, i.p. bleomisin enjeksiyonu gerçekleştirildi. Enjeksiyondan 30 dakika sonra anestezi altında (ksilazin 10 mg/kg, ketamin 200 mg/kg i.p.) kan ve doku örnekleri alındı. Şekil 3.2’de şematik olarak deney protokolü özetlenmiştir.



Şekil 3.2. Deney protokolü

Kan örnekleri steril tek kullanımlık etilen-diamin-tetra-asetik asit (EDTA) içeren tüplere alındı. Daha sonra biyokimyasal testler için alınan kan örnekleri Hettich Rotina 420 R santrifüj de 3000 RPM de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmalar 1000'lik pipet yardımı ile 1.5 ml ependorf tüplere alınarak -80 selsiyus derecede analiz yapılana dek muhafaza edildi. Farelerden alınan karaciğer örnekleri ise bir kısmı TUNEL testi için %10 formaldehit solüsyon içine alınarak fiksasyon işlemine başlandı. Tüm bu işlemler steril koşullar ve veteriner hekimler gözetiminde GÜDAM da gerçekleştirildi.



Resim 3.4. Anestezi altındaki Swiss Albino fare ve sakrifiye sonrası analiz için alınan karaciğer dokusu

Gen ifade analizleri, DNA hasarı tespiti ve apoptotik etkinin analizi için karaciğer dokusu kullanılmıştır. Alınan karaciğer dokusu ELISA, Eş-Zamanlı PZR ve TUNEL yöntemi için 3 parçaya bölündü. ELISA ve diğer yöntemler için alınan karaciğer dokuları tüm hayvanlar için karaciğerin aynı lokalizasyonundan lobundan alınmıştır. DNA hasarı belirlenmesinde

kullanılan 8-OHdG ELISA yöntemi ile karaciğer dokusunda DNA hasarı analiz edilmiştir. Çıkarılan karaciğer dokusu serum fizyolojik ile yıkanarak kandan temizlendikten sonra 2 ml ependorf tüplere koyularak sıvı azot tankına atılmıştır.

Tüm maruziyetler Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Biyoelektromanyetik Laboratuvarı RF alan uygulama sistemi ile yapıldı. Alınan plazma örneklerinden oksidatif hasarın tespiti için ELISA testleri ve karaciğer dokusundan adaptif cevap ile ilgili gen ifade analizi için Eş-Zamanlı PZR kullanılarak p-53, PARP-1, OOG-1 ve GPx-1 gen ifade düzeyleri ölçüldü. Bu amaçla yapılan biyokimyasal deneyler ve gen ifade analizleri Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü laboratuvarlarında gerçekleştirildi.



Resim 3.5. RF maruziyet altındaki fareler

3.7. Dokuların ve Solüsyonların Hazırlanması

3.7.1. Bleomisin doz ayarlaması

Deneyimizde kullandığımız radyomimemetik bir ajan olan BLEOCİN-S, kanser tedavisinde kullanılan, Streptomyces Verticillus isimli bakteriden elde edilen antineoplastikler grubuna dâhil sitotoksik bir antibiyotiktir.

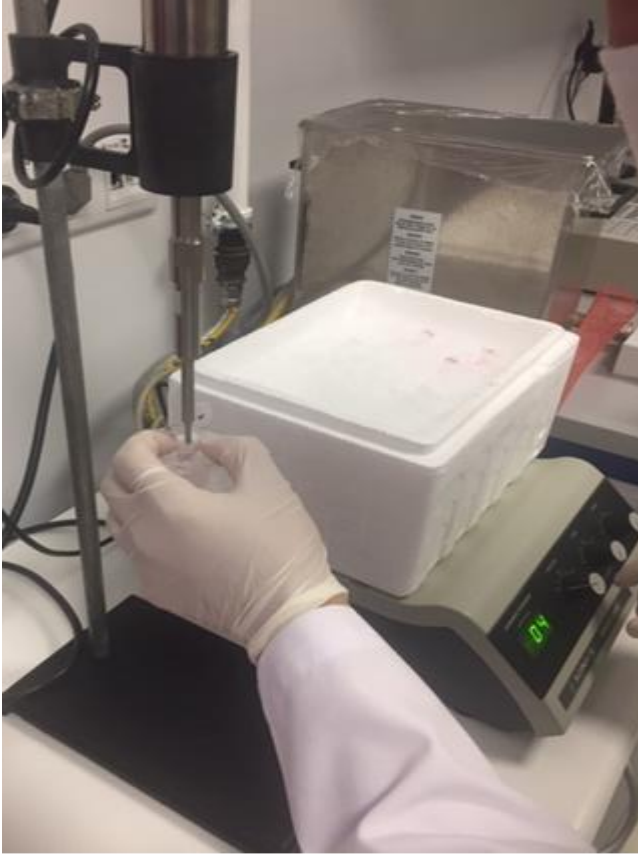
BLEOCİN-S 15 mg liyofilize toz içeren flakon, 15.000 IU eşdeğer liyofilize blomisin sülfat içerir. Her bir fare için enjeksiyon öncesi ağırlıkları ölçülerek 37.5 kg/mg olacak şekilde i.p enjeksiyon gerçekleştirildi.

Ruhsat sahibi: Onko Ecza San. ve Tic. Ltd. Şti. Koşuyolu Cad. No: 102, 34718 Kadıköy/İstanbul Türkiye Ruhsat tarihi: 12/6/1996 Ruhsat No: 99/41

Üretici firma: Nippon Kayaku Co., Ltd. 11-2 Chiyoda-ku, Tokyo 102-8172 Japonya

3.7.2. Dokuların homojenizasyonu

Karaciğer dokusundan Total RNA izolasyonu PureZOL RNA izolasyon reaktifi (Bio-Rad Kat: 7326890) kullanılarak gerçekleştirildi. 50-100 mg arasında tartılan karaciğer dokusu 2ml ependorfun içine 1 ml PureZOL koyularak sonikatör ile 40 amplitüdde 5 sn olacak şekilde 3 kez tekrarlanarak karaciğer dokusunun homojenizasyonu yapıldı. RNA bozulmasını engellemek için tekrarlar arası 10 sn beklenildi ve tüm bu işlemler esnasında ependorf buz için de muhafaza edildi.



Resim 3.6. Sonikatör ile karaciğer dokusu homojenizasyonu

3.8. ELISA Kitleri

ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay), antijen-antikor ilişkisini, antikora bağlanan enzim aktivitesini araştırma prensibi ile çalışan kantitatif ölçümdür. ELISA ölçümleri için uygulama bitiminden sonra anestezi altındaki farelerden alınan intra kardiyak kan plazması kullanıldı. Steril tek kullanımlık etilen-diamin-tetra-asetik asit (EDTA) 2 ml içeren tüplere alınan kan 3000 RPM de 10 dakika sentrifüj edilerek plazma kısımları 1000 ml ve 100 ml'lik steril pipet ucu yardımı ile alınarak 1.5 ml'lik ependorf tüplerine koyulmuştur.

Toplanan kan plazmaları biyokimyasal analizlerin başlayacağı zamana kadar -80 selsiyusda muhafaza edildi. Kan plazmasından; reaktif oksijen türleri, katalaz, malondialdehit, süper oksit dismutaz, total antioksidan kapasite ölçümleri yapıldı.

ELISA kitleri;

- ROS (BioVision, Katalog No: K936),
- CAT (BioVision, Katalog No: K773),
- MDA (BioVision, Katalog No: K739),
- SOD (BioVision, Katalog No: K335),
- TAC (BioVision, Katalog No: K274) ölçümleri için plazmalar kullanıldı.
- 8-OHdG (Abcam, Katalog No: ab201734) ölçümü karaciğer dokusunda gerçekleştirildi.

3.8.1. Reaktif oksijen türleri ELISA kiti

Reaktif oksijen türlerinin düzeyleri, reaktif oksijen türleri dedeksiyon test ELISA kiti (BioVision, Katalog No: K936) kullanılarak, üretici firma kit prosedürlerine uygun olarak ELISA yöntemi kan plazmasında çalışıldı. Emilim değerleri Perkin Elmer VICTOR 3 1420 çoklu plate ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak $Ex/Em = 495/529$ nm de okutuldu. Sonuçlar bağıl floresans yoğunluğu (relative fluorescence units, RFU 495/529) protein olarak verildi. [149].

3.8.2. Katalaz ELISA kiti

Katalaz aktivitede kolorimetrik/floremetrik ELISA test kiti (BioVision, Katalog No: K773) kullanılarak, üretici firma kit prosedürlerine uygun olarak ELISA yöntemi kan plazmasında çalışıldı. Absorbans değerleri Perkin Elmer VICTOR 3 1420 çoklu plate ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 570 nmde okutuldu. Sonuçlar $\mu\text{g}/\text{ml}$ protein olarak verildi [149].

3.8.3. Malondialdehit ELISA kiti

Malondialdehit düzeyleri, Lipid Peroksidaz kolorimetrik/florimetrik ELISA test kiti (BioVision, Katalog No: K739) kullanılarak, üretici firma kit prosedürlerine uygun olarak ELISA yöntemi ile kan plazmasında çalışıldı. Absorbans değerleri Perkin Elmer VICTOR 3 1420 çoklu plate ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 532 nm de okutuldu. Sonuçlar nmol/ml protein olarak verildi [149].

3.8.4. Süperoksit dismutaz ELISA kiti

Süperoksit Dismutaz aktivite ELISA test kiti (BioVision, Katalog No: K335) kullanılarak, üretici firma kit prosedürlerine uygun olarak ELISA yöntemi kan plazmasında çalışıldı. Absorbanslar Perkin Elmer VICTOR 3 1420 çoklu plate ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm de okutuldu. Sonuçlar % inhibisyon oranı (inhibition rate %) protein olarak verildi [149].

3.8.5. Total antioksidan kapasite ELISA kiti

Total antioksidan kapasite kolorimetrik ELISA kiti (BioVision, Katalog No: K274) kullanılarak, üretici firma kit prosedürlerine uygun olarak ELISA yöntemi kan plazmasında çalışıldı. Absorbanslar Perkin Elmer VICTOR 3 1420 çoklu plate ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 570 nm de okutuldu. Sonuçlar nmol/ml protein olarak verildi [149].

3.8.6. 8- hidroksi-2'-deoksiguanozin ELISA kiti

DNA üzerindeki oksidatif hasarın tayini için karaciğer dokusundan izole edilen DNA'lar nükleaz P1 ve alkalın fosfat ile sindirim işleminden sonra Abcam (katalog no: ab201734) 8-OHdG kiti kullanılarak, üretici firma kit prosedürlerine uygun olarak Perkin Elmer VICTOR 3 1420 spektrofotometre de ölçüm yapıldı. Sonuçlar ng/ml protein olarak verildi [149].

3.9. Eş-Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Kantitatif Real Time-PCR / qRT-PCR)

Kantitatif revers-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile p53, PARP-1, OGG-1 ve GPx-1 genlerinin ifade seviyeleri analiz edildi.

3.9.1. Primerlerin dizaynı

Gen ifade analizi için deneyimizde bakılacak olan p53, PARP-1, OGG-1 ve GPx-1 genleri için;

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome

<https://eu.idtdna.com/pages>

<https://www.ensembl.org/index.html>

web sitelerinin veri tabanı kullanılarak her bir gen için forward ve reverse primer dizileri oluşturuldu.

Karaciğer, bir yaralanma tepkisine yanıt olarak aktif proliferasyona uğrama ve rejenerasyon özelliği ile kütesini geri kazanma konusunda kendine özgü bir yeteneğe sahiptir. Bu rejeneratif süreç, karmaşık fakat iyi organize edilmiş gen ifade seviyelerindeki değişimi ile gerçekleşmektedir. Karaciğer rejenerasyonunun çeşitli aşamalarında hedef genlerin doğru ve güvenilir gen ifade seviyelerini tespit edebilmek için, tek tip olarak eksprese olan kararlı bir referans genin (housekeeping genler) belirlenmesi önemlidir. Yapılan bir çalışma da karaciğer dokusunda Peptidilprolil İzomeraz A (PPIA) ve TATA kutu bağlayıcı protein (TBP) gen ifade seviyeleri diğer referans genlere nispeten istikrarlı olduğu ve normalizasyon için ideal olduğu bulunmuştur [150]. Çalışmamızda referans gen olarak PPIA geni seçilmiştir.

Çizelge 3.4. Genler için oluşturulan primerler

Genler	Forward Primer	Reverse Primer
GPx-1	TATGTGTGCTGCTCGGCTC	TCTTCATTCTTGCCATTCTGGTG
p53	TGCTCACCTGGCTAAAGTT	AATGTCTCCTGGCTCAGAGG
PARP-1	CCTCTCTGTCACCTCAGCAC	ACTCATCTTCTCCACCTCCTTTTT
OGG-1	CCCAGAAATTCCAAGGTGTGAGA	TTGGCACTGGCAGTACATA
PPIA	CCAAGACTGAATGGCTGGATG	AATGCCCGCAAGTCAAAAGAA

3.9.2. Total RNA izolasyonu

Eş-Zamanlı PZR analizi için fare karaciğer dokusundan total RNA izolasyonu yapılmıştır.

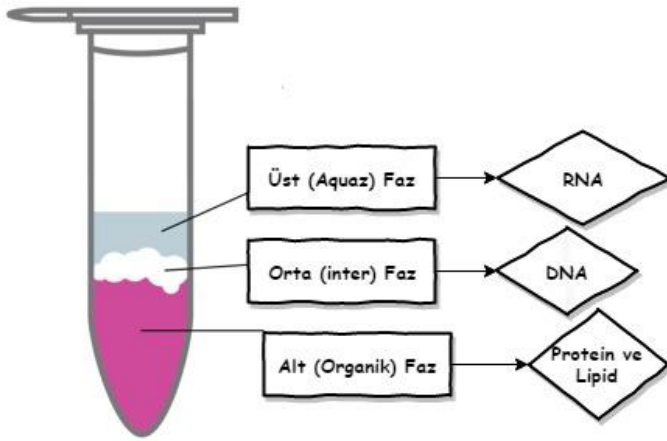
Total RNA izolasyonun da kullanılan solüsyonlar:

- PureZOL RNA izolasyon reaktifi (Bio-Rad, 7326890)
- Kloroform (Sigma, C2432)
- İsoopropanol (Sigma, I9516)
- % 75'lik etanol (EtOH; DEPC'li su ile hazırlandı)
- 1.5 ml RNase/DNase free falkon tüpleri
- DEPC'li su (SERVA, 39798.03)

Total RNA İzolasyon Aşamaları:

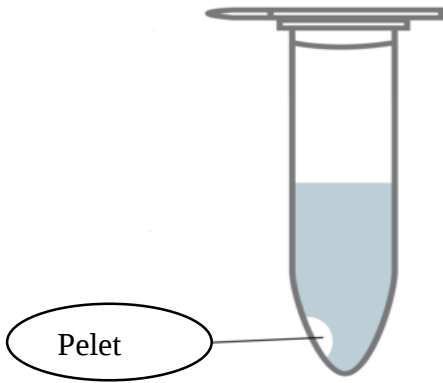
1. -80 selsiyusdan çıkarılan karaciğer dokuları 50-100 mg arasında olacak şekilde makas yardımı ile kesilerek hassas terazi de tartıldı
2. 2 ml ependorfa alınan karaciğer dokusunun içine 1 ml PureZOL eklendi (tüm işlemler buz üzerinde gerçekleşti).
3. Doku homejenizasyonu için sonikatör de 40 amplitüdde 5 sn tutuldu 3 kez tekrarlandı ve her bir tekrar arasında 10 sn ara verildi (RNA degradasyonundan kaçınmak için).
4. Buz üzerinde 5 dakika inkübasyona bırakıldı.

5. İnkübasyon sonrası tortu ve kalıntılardan kurtulmak için 12.000 g de 10 dakika 4 °C’de santrifüj edildi ve süpernatant başka bir ependorf alınırdı.
6. Süpernatant üzerine 200 µl kloroform eklendi ve ependorf 15 sn boyunca kuvvetlice çalkalandı.
7. Buz üzerinde 5 dakika inkübasyona bırakılan ependorf tüpleri belirli aralıklarla çalkalandı.
8. Daha sonra 4 °C de 12.000 g de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra tüplerde üst orta ve alt kısım olmak üzere 3 faz meydana gelir.



Şekil 3.3. İzolasyon sonrası oluşan fazlar

9. Üstteki RNA içeren akuaz faz kısmı steril 1000 µl’lik pipetle çekilerek yeni bir ependorf tüpe aktarıldı.
10. Ependorf tüplere 500 µl izopropanol eklendikten sonra tüpler iyice çalkalandı ve buz üzerinde 5 dakika inkübasyona bırakıldı.
11. 4 °C de 12.000 g de 10 dakika santrifüj edildi.
12. Ependorf tüpün dibinde beyaz bir RNA peleti oluştu.



Şekil 3.5. RNA peleti

Peletin kalkmamasına dikkat edilerek üst kısımdaki izopropanol pipet aracılığı ile uzaklaştırdı.

13. Yıkama amaçlı ependorf tüplere 1 ml %75'lik etanol (EtOH) eklendi hafifçe çalkaladı.

14. Ependorf tüpler 4 °C de 7500 g de 5 dakika santrifüj yapıldı.

15. Peletin kalkmamasına dikkat edilerek alkol steril 1000 ml pipet aracılığıyla veya bir peçete üzerine dökülerek uzaklaştırdı.

16. Ependorf tüpler kapağı açık bir şekilde peçete üzerine alkolün buharlaşması için kurumaya bırakıldı (pelletin kurumamasına dikkat edildi).

17. Alkolün tamamen uçtuğundan emin olduktan sonra tüp içindeki peletin büyüklüğüne göre 50 µl RNAz serbest su eklendi ve steril 1000 ml pipet yardımı ile pelet dikkatli bir şekilde çözüldü.

18. Bu aşamada peletler çözüldükten sonra RNA kaybını engellemek için izole ettiğimiz RNA stoğu -80 selsiyus dereceye sahip buzdolabına kaldırıldı.

19. Nanodrop ve jel elektroforez de yürütmek için 2 µl örnekler ependorf tüplere koyularak -20 °C ye kaldırıldı.

3.9.3. NanoDrop ile total RNA miktarı ölçümleri

Karaciğer dokusundan izole edilen total RNA'ların miktar ve saflık derecesinin ölçüsü olan A260/A280 absorbands oranları NanaDrop (ND-1000, Thermofisher) cihazı ile iki tekrarlı ölçülerek ortalama değeri baz alınmıştır. Değerler Çizelge 3.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. Karaciğer dokusundan elde edilen total RNA'ların A260/A280 oranları

Örnek	Miktar (ng/ul)	A260/A280
K1	598,98	2,07
K1-2	600,42	2,06
K2	633,77	2,08
K2-2	631,98	2,07
K3	1554,11	2,13
K3-2	1534,5	2,12
K4	751,32	2,08
K4-2	775,29	2,08
K5	672,88	2,07
K5-2	666,51	2,06
K6	1108,51	2,1
K6-2	1104,29	2,09
S1	711,1	2,07
S1-2	715,21	2,08
S2	834,47	2,07
S2-2	838,15	2,08
S3	781,05	2,07
S3-2	790,86	2,08
S4	805,77	2,07
S4-2	802,62	2,07
S5	700,74	2,07
S5-2	712,28	2,07
S6	853,1	2,09
S6-2	845,8	2,07
R1	923,65	2,09
R1-2	920,63	2,09
R2	818,65	2,08
R2-2	816,2	2,08
R3	920,1	2,09
R3-2	924,86	2,1
R4	552,29	2,07
R4-2	559,36	2,05
R5	551,44	2,06
R5-2	556,71	2,06
R6	648,24	2,07
R6-2	661,87	2,05

Çizelge 3.5 (devamı). Karaciğer dokusundan elde edilen total RNA'ların A260/A280 oranları

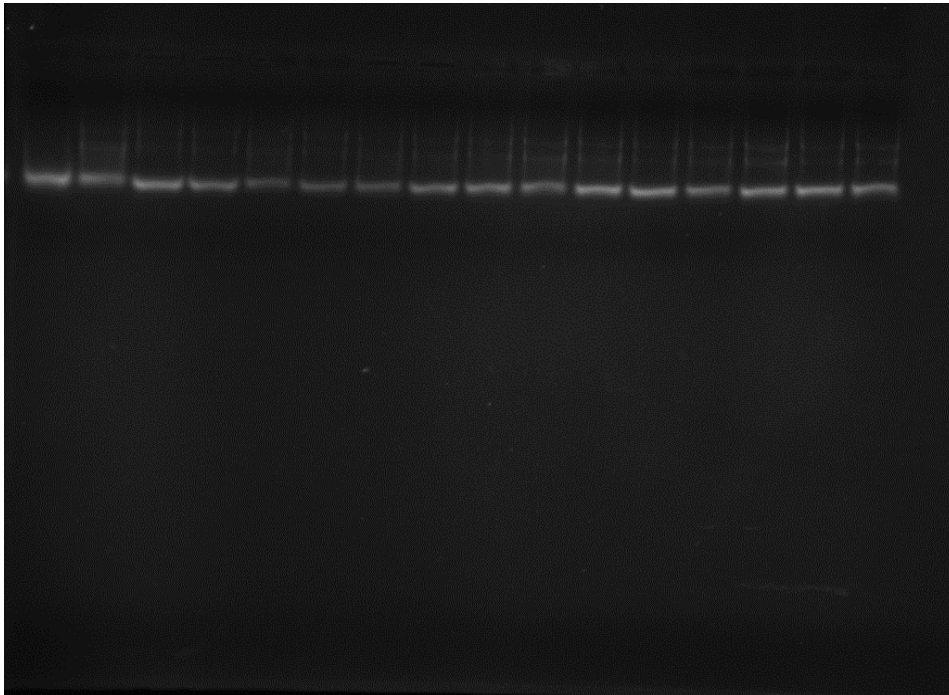
Örnek	Miktar (ng/ul)	A260/A280
B1	610,79	2,06
B1-2	607,47	2,06
B2	864,84	2,06
B2-2	869,98	2,07
B3	694,9	2,08
B3-2	698,49	2,06
B4	865,24	2,07
B4-2	859,04	2,07
B5	606,42	2,05
B5-2	601,05	2,06
B6	697,24	2,06
B6-2	700,17	2,07
RB1	660,7	2,05
RB1-2	669,16	2,05
RB2	539,27	2,07
RB2-2	539,86	2,04
RB3	666,34	2,08
RB3-2	665,07	2,06
RB4	759,77	2,06
RB4-2	754,76	2,07
RB5	624,87	2,04
RB5-2	624,09	2,05
RB6	626,34	2,06
RB6-2	630,52	2,07

3.9.4. RNA bütünlüğünün kontrolü ve agaroz jel elektroforezi

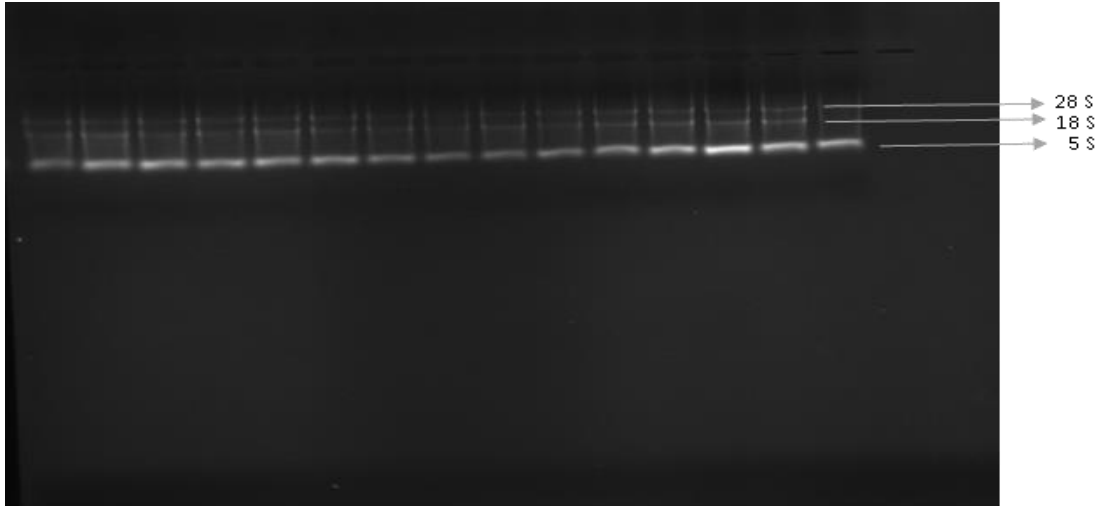
RNA bütünlüğü agaroz jel elektroforezi ile kontrolü için; 1 gr agaroz, 100 ml Trizma Base EDTA mikrodalga içinde eriyinceye kadar ısıtıldı. Jel bir süre soğumaya bırakıldıktan sonra, 4 ml RedSafe™ nükleik asit boyama solüsyonu katılarak jel tankına döküldü. Polimerizasyondan sonra, RNA'lar jele 1 µl RNA örneği, 9 µl elektroforez boyası 5X Green GoTaq® ile kuyucuklara yüklendi. Örnekler 120 V'luk güç kaynağı ile % 1'lik agaroz jelde 30 dakika boyunca yürütüldü. Elektroforezis sonuçlarına göre 28s, 18s ve 5s bantlar Jel görüntüleme sistemi ile bakıldı.

Jel Elektroforezi için kullanılan malzemeler;

- Agaroza (Sigma, A9539)
- Stok (5x) TBE (Trizma Base EDTA) tamponu
 - 54 gr trizma base (Sigma, T1503)
 - 27.5 gr borik asit (Sigma, B6768)
 - 0.5 M EDTA 20 ml (Sigma, E5134)
 - 1 Litre çift distile su (Millipore, ZMQS5V001)
- 5X Green GoTaq® (Katolog No:M891A)
- RedSafe™ Nükleik Asit Boyama Solüsyonu (Katolog No:21141)
- Elektroforez güç kaynağı (ATTO, myPower 300, AE8130)
- Elektroforez tankı (Thermo, Minicell Primo Horizontal Gel System, EC320)
- Jel görüntüleme sistemi (Gene Genius Bioimaging System, SYDR2-1352)



Resim 3.7. Total RNA örneklerinin jel görüntüleri



Resim 3. 8. Total RNA örneklerinin jel görüntüleri

3.9.5. cDNA sentezi

cDNA Sentezi için kullanılan materyaller;

- iScript™ cDNA Sentez kiti (Bio-Rad katalog no: 1708891)
- Total RNA örnekleri
- 0.2 ml PZR tüpleri (Sarstedt, 72.737.002)
- Termal Döngü Cihazı (Bio-Rad T100)

İzole edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi için iScript™ cDNA Sentez kiti (Bio-Rad katalog no: 1708891) protokolü izlendi.

Çizelge 3.6. cDNA karışım miktarları tayini

5x iScript Reaksiyon Karışımı	4 µl
iScript Revers Transkriptaz	1 µl
Nucleazsız Su	.. µl
RNA örneği (1000 ng total RNA)	.. µl
Toplam Miktar	20 µl

Çizelge 3.7. Her bir tüpte 1000 ng total RNA olması için gerekli örnek ve nükleazsız su miktarları

Gruplar	Total RNA Miktarı (ng/ul)	Örnek Miktarı (μl)	Su (DEPC) (μl)
K1	598,98	1,67	13,33
K2	633,77	1,58	13,42
K3	1544,305	0,65	14,35
K4	763,305	1,31	13,69
K5	669,695	1,49	13,51
K6	1106,4	0,90	14,10
S1	713,155	1,40	13,60
S2	836,31	1,20	13,80
S3	785,955	1,27	13,73
S4	804,195	1,24	13,76
S5	706,51	1,42	13,58
S6	849,45	1,18	13,82
R1	922,14	1,08	13,92
R2	817,425	1,22	13,78
R3	922,48	1,08	13,92
R4	555,825	1,80	13,20
R5	554,075	1,80	13,20
R6	655,055	1,53	13,47
B1	609,13	1,64	13,36
B2	867,41	1,15	13,85
B3	696,695	1,44	13,56
B4	862,14	1,16	13,84
B5	603,735	1,66	13,34
B6	698,705	1,43	13,57
RB1	494,215	2,02	12,98
RB2	551,205	1,81	13,19
RB3	665,705	1,50	13,50
RB4	757,265	1,32	13,68
RB5	624,48	1,60	13,40
RB6	628,43	1,59	13,41

Çizelge 3.8. Reaksiyon protokolü

Hazırlanma Aşaması	25 °C de 5 dakika
Revers Transkriptaz	46 °C de 20 dakika
Revers Transkriptaz İnaktivasyonu	95 °C de 1 dakika
Opsiyonel	4 °C de 5 dakika



Resim 3.9. Reaksiyon protokolü yazılmış Thermal Cycler cihazı

3.9.6. Primerlerin sulandırılması

PARP-1, OGG-1, GPx-1, p53 genleri ve PPIA için tasarladığımız primerler DEPC su ile sulandırıldı.

3.9.7. Roche 480 LightCycler Eş-Zamanlı PZR cihazı ölçümleri

PARP-1, OGG-1, GPx-1, p53 genleri ve PPIA'nın gen ifade ölçümleri 480 LightCycler Eş-Zamanlı PZR cihazında yapıldı.

Eş-Zamanlı PZR ölçümleri için kullanılan materyaller;

- SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad Katalog No: 1725201)
- DEPC su
- Forward ve Reverse Primerler (Oligomer)
- cDNA örnekleri
- LightCycler® 480 Multiwell plate 384 (Roche, 4729749)

SsoFast™ EvaGreen® Supermix protokolü takip edildi. 384-kuyucuklu PZR platinin her bir kuyucuğuna;

Çizelge 3.9. Reaksiyonda kullanılan miktarlar

SsoFast™ EvaGreen® Supermix	5 µl
DEPC su	3 µl
Forward Primer	0,5 µl
Reverse Primer	0,5 µl
cDNA Örneği	1 µl

toplamda 10 µl olacak şekilde karışım yüklendi (tüm işlemler buz üzerinde yapıldı). Her bir örnek için 3 teknik tekrar yapıldı. Hazırlanan 384-kuyucuklu PZR plakası Roche 480 LightCycler Eş-Zamanlı PZR cihazına yerleştirilerek ölçümler alındı ve istatistiksel analizler için bilgisayara kaydedildi.

3.10. TUNEL Yöntemi

Deney gruplarına ait karaciğer doku örneklerinde DNA fragmentasyonu ile oluşan apoptozisi saptamak için terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) deoxyuridine triphosphate (dUTP) nick end labeling (TUNEL) yöntemi kullanılmıştır. TUNEL metoduyla DNA fragmentasyonu olan hücrelerin belirlenmesi için Millipore ApopTag Peroxidase In Situ Apoptosis Detection kit (ApopTag Peroxidase In Situ Apoptosis Detection kit, Cat: S7101, Millipore, Billerica, MA) kullanıldı. 4 µm kalınlığında parafin bloklardan alınan kesitler deparafinizasyon işlemini takiben 5 er dakika sırasıyla 2 kez absöü alkol, 1 kez %96'lık ve %70'lik alkolden geçirildi. Kesitler, alkolden arındırılmak için 5 dakika PBS ile yıkandı. Doku çevresi PAP-pen ile sınırlandırıldıktan sonra 15 dakika boyunca 20 µg/ml proteinaz K (katolog:2393903; Millipore, Germany) ile inkübe edildi. Dokular 2 kez 2'şer dakika PBS ile yıkandı ve sonra 5 dakika %3'lük hidrojen peroksit (Lab Vision, Fremont, CA) bırakıldı. PBS ile tekrar yıkanan kesitler Equilibration Bufferda ile oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi. 60 dakika boyunca 37°C nemli ortamda TdT enzim solüsyonu ile bekletilme işleminin ardından dokular durdurma/ yıkama (stop/wash) tamponunda 10 dakika bekletildi. PBS ile yıkanan kesitler Anti-Digoxin Peroksidase solüsyonu ile nemli ortamda, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Dokular tekrar 4 kez 2'şer dakika PBS ile yıkandı ve yıkama sonrasında DAB ile inkübe edildi. Distile su ile yıkamanın ardından zemin boyası

olarak Mayer's Hematoksilen kullanıldı. Boyanan lamalar distile suda yıkandıktan sonra artan alkol serilerinden geçirildi. Son olarak ksilolde bekletilme işleminin ardından entellan kullanılarak lamelle kapatıldı. Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde Leica Las V 9 programı kullanılarak elde edilen görüntüler değerlendirildi. TUNEL pozitif hücreler sayılarak elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi [151].

3.11. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için GraphPad Prism 8.0.2 kullanılmıştır. Verilerin ortalaması $\pm$ SEM olarak verildi. Normallik testi Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov testleri ile analiz edildi. One Way Anova testi uygulanarak parametrik analizler yapıldı. P'nin 0,05, 0,001, 0,0001'in altında olan değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda 900 MHz GSM-EDGE modülasyonlu cep telefonu sinyallerinin sağlıklı Swiss Albino erkek farelere bir hafta boyunca günde 4 saatlik maruziyetin oluşturduğu düşünülen adaptif cevabın moleküler mekanizması, ELISA, Eş-Zamanlı PZR ve TUNEL yöntemi ile araştırılmıştır. Kontrol (K) grubu ile Sham (S) grubu arasında istatistiksel bir fark olmadığı için grafiklerde sadece Sham grubu gösterildi. İstatistiksel anlamlılıklar sham grubuna göre karşılaştırıldı.

4.1. Vücut Ağırlıkları

Fareler 1 hafta boyunca maruziyet öncesinde tartıldı. Vücut ağırlıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Çizelge 4.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Tüm grupların vücut ağırlıkları

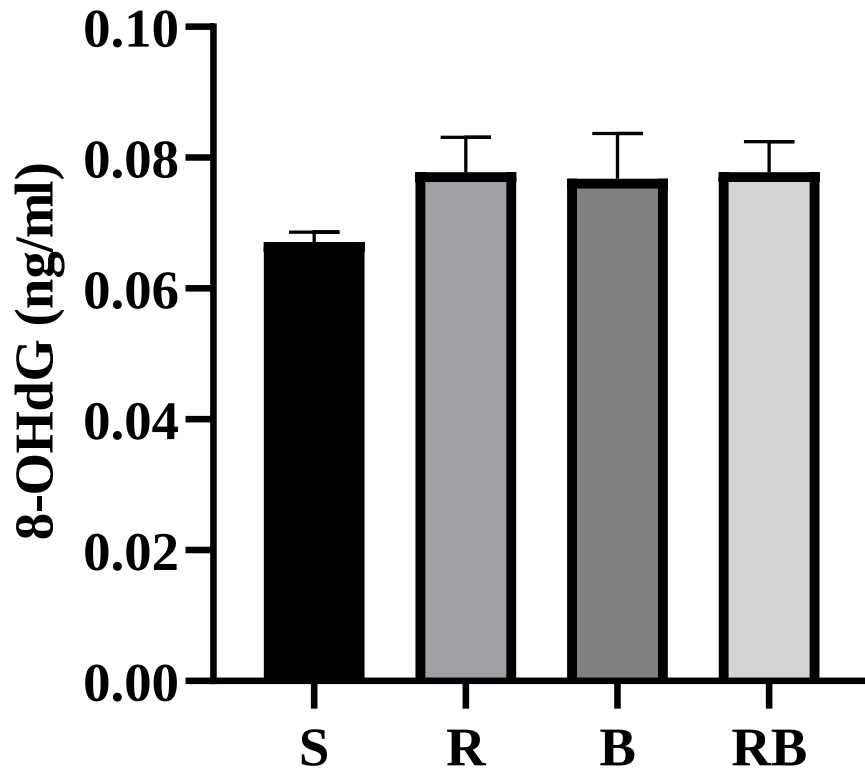
Grup	Vücut Ağırlığı (gr)
K (n=6)	36,27 ± 1,667
S (n=6)	39,63 ± 1,052
R (n=6)	36,28 ± 1,848
B (n=6)	38,12 ± 0,6478
RB (n=6)	38,87 ± 0,9461

4.2. ELISA Analiz Sonuçları

Enzime bağlı immünosorbent testi ile 8-OHdG, ROS, MDA, CAT, SOD ve TAC enzim seviyeleri ölçüldü.

4.2.1. ELISA 8-OHdG sonuçları

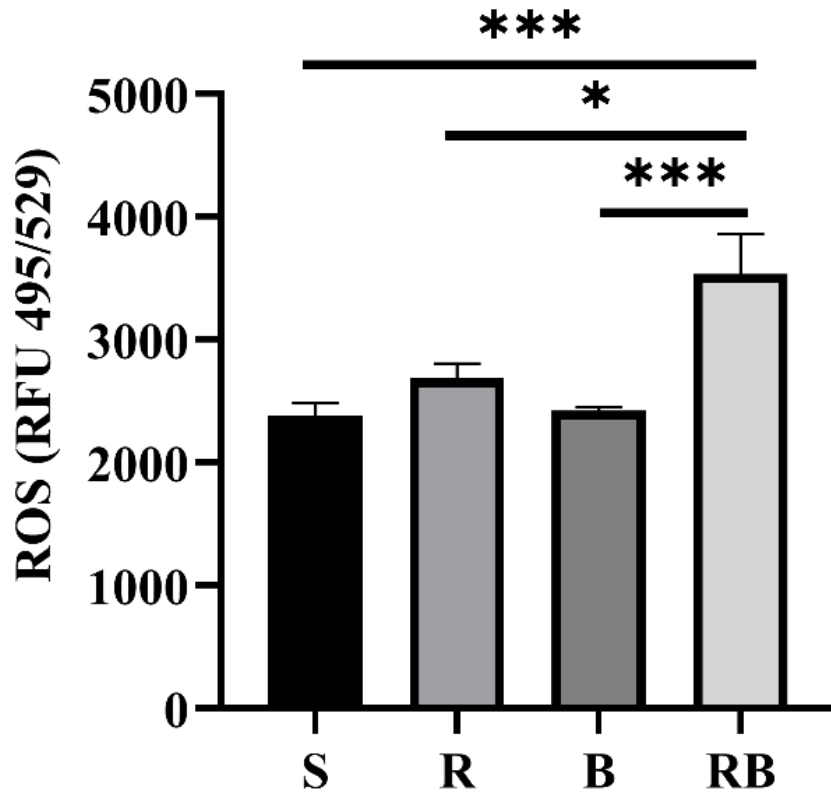
Deney gruplarına ait karaciğer dokusundan izole edilen DNA'lardan ölçülen değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.1'de DNA üzerindeki oksidatif hasarın tayini için 8-OHdG kiti ile yapılan ölçüm sonucunda gruplar arasında istatistiksel bir anlamlılık bulunamamıştır.



Şekil 4.1. Karaciğer dokusundan analiz edilen 8-OHdG değerleri

4.2.2. ELISA ROS sonuçları

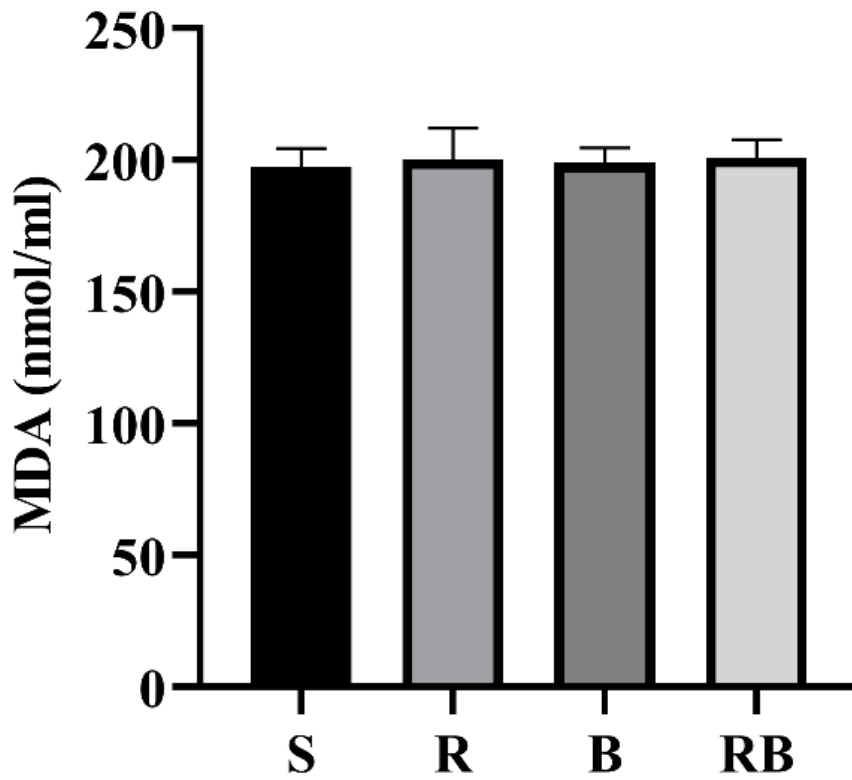
Deney gruplarında yer alan farelerden anestezi altında alınan intra kardiyak kan numunelerinden elde edilen plazmalardan ölçülen değerler, istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.2’de 900 MHz frekansında günlük 4 saat 7 gün boyunca RF alana maruz kalan farelere son maruziyetten 20 dakika sonra bleomisin (37.5mg/kg, i.p.) uygulanmış olan RB grubunda, diğer gruplara göre ROS değeri, anlamlı olarak artmıştır. RB grubunda S, B ve R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterilmiştir (sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,0001$, $p<0,05$).



Şekil 4.2. Plazma örneklerinden ölçülen ROS değerleri

4.2.3. ELISA MDA sonuçları

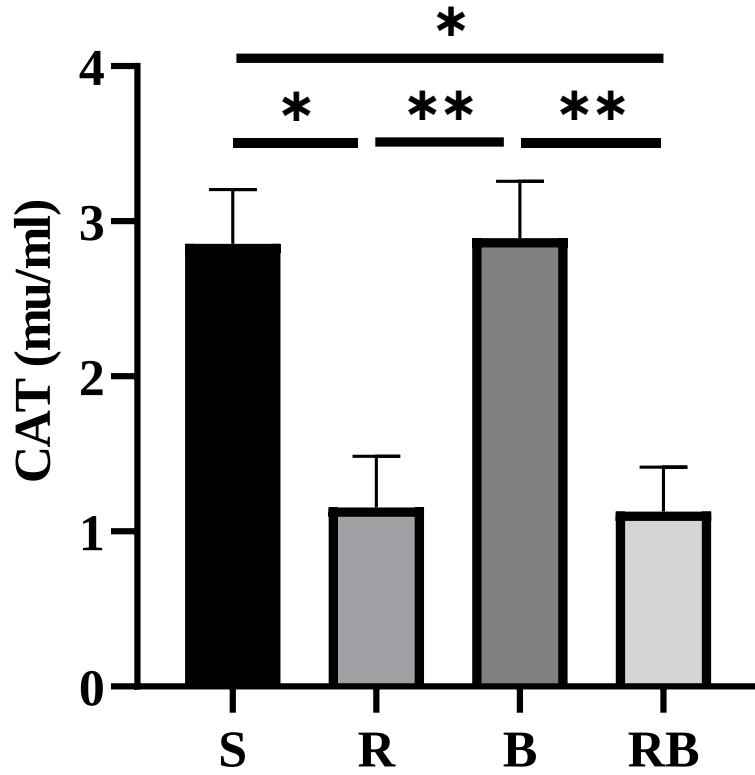
Deney gruplarında yer alan farelerden anestezi altında alınan intra kardiyak kan numunelerinden elde edilen plazmalardan ölçülen değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.3’de MDA ölçümlerinde tüm gruplar arasında herhangi bir istatistiksel farklılığa rastlanmamıştır.



Şekil 4.3. Plazma örneklerinden ölçülen MDA değerleri

4.2.4. ELISA CAT sonuçları

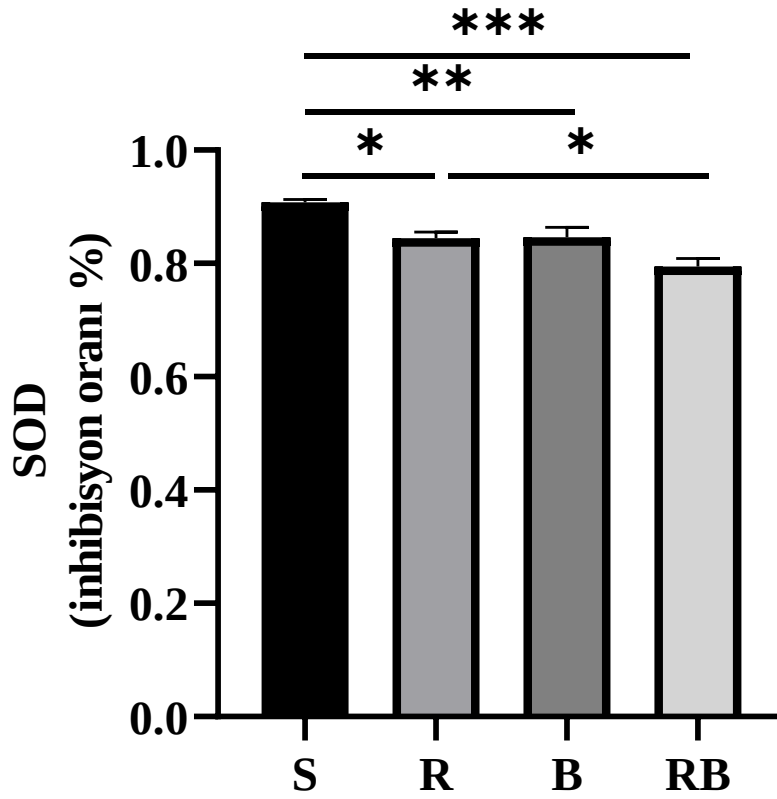
Deney gruplarında yer alan farelerden anestezi altında alınan intra kardiyak kan numunelerinden elde edilen plazmalardan ölçülen değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.4’de R ve RB grubu, Sham (S) grubuna göre ($p<0,05$) ve B grubuna göre ($p<0,001$) katalaz değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Sham ve bleomisin grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur. R ve RB grupları arasında da istatistiksel bir fark yoktur.



Şekil 4.4. Plazma örneklerinden ölçülen CAT değerleri

4.2.5. ELISA SOD sonuçları

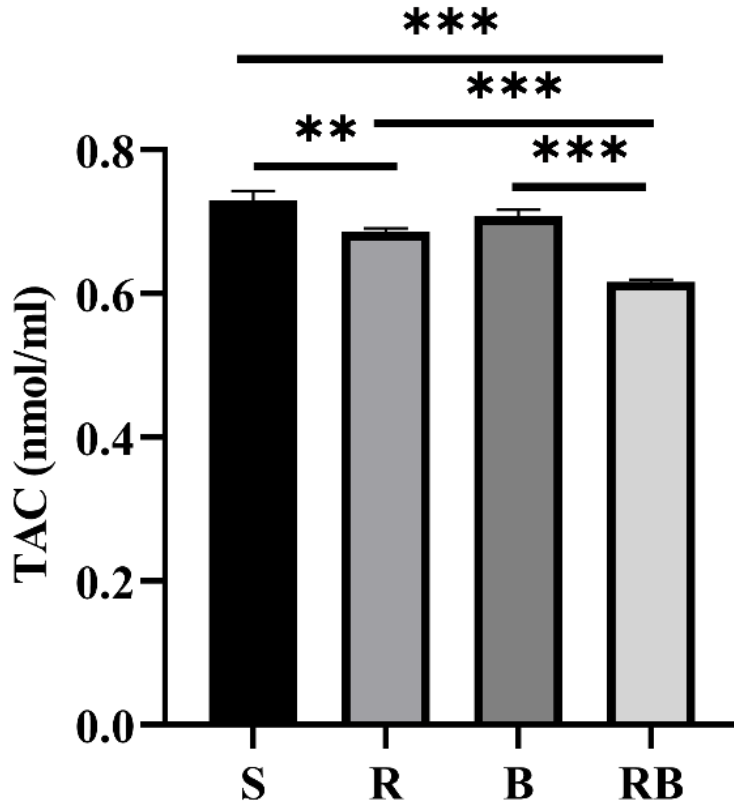
Deney gruplarında yer alan farelerden anestezi altında alınan intra kardiyak kan numunelerinden elde edilen plazmalardan ölçülen değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.5’de ölçülen SOD inhibisyon oranı değerlerine göre karşılaştırıldığında R grubu S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,05$). B grubu S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,001$). RB grubu S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,0001$). RB grubu R grubuna göre istatistiksel olarak azalmıştır ($p<0,05$).



Şekil 4.5. Plazma örneklerinden ölçülen SOD değerleri

4.2.6. ELISA TAC sonuçları

Deney gruplarında yer alan farelerden anestezi altında alınan intra kardiyak kan numunelerinden elde edilen plazmalardan ölçülen değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.6'da ölçülen TAC değerlerine göre; R grubu S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,001$). RB grubu S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,0001$). RB grubu R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,0001$). RB grubu B grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,0001$).

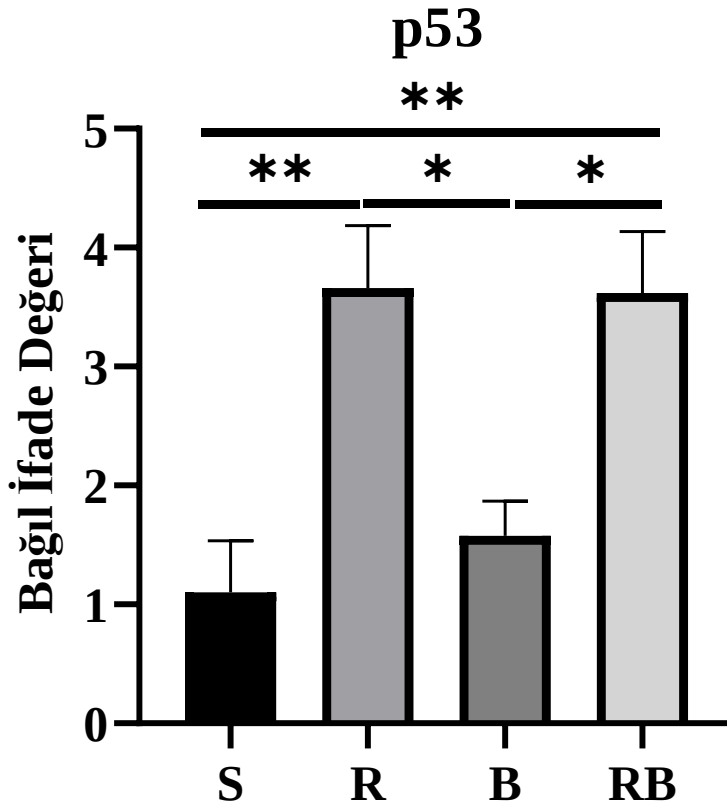


Şekil 4.6. Plazma örneklerinden ölçülen TAC değerleri

4.3. Eş-Zamanlı PZR Gen İfade Analizleri Bulguları

4.3.1. p53 gen ifade seviyesi değişim bulguları

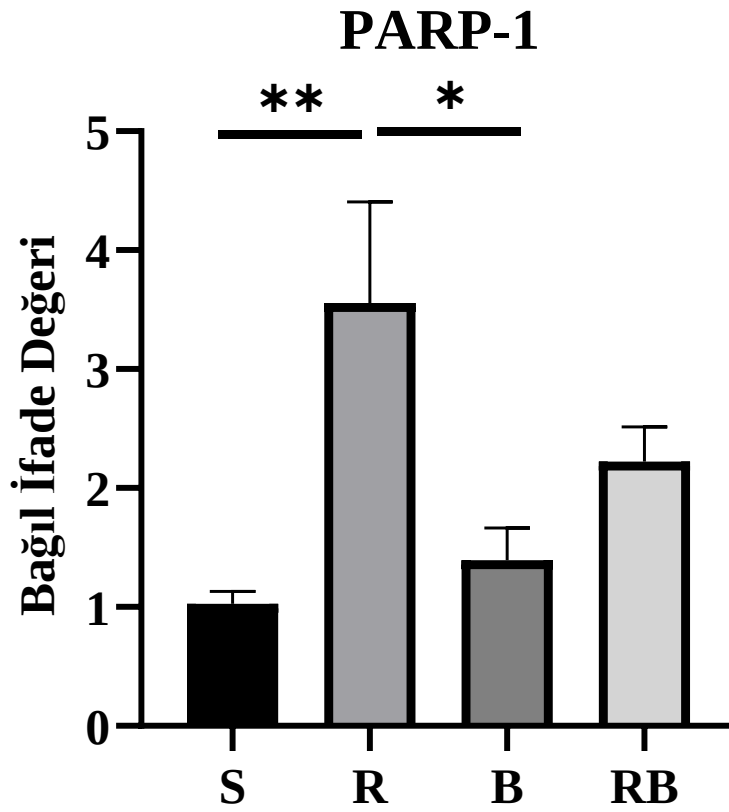
Deney gruplarına ait karaciğer dokusundan izole edilen RNA'lar dan ölçülen gen ifadeleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.7'de R ve RB grubu, S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0,001$). R ve RB değeri B grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0,05$). S grubu ve B grubu arasında herhangi bir istatistiksel bir fark bulunmamaktadır. R ve RB grupları arasında da anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.7. p53 gen ifade seviyesi değişimi

4.3.2. PARP-1 gen ifade seviyesi değişim bulguları

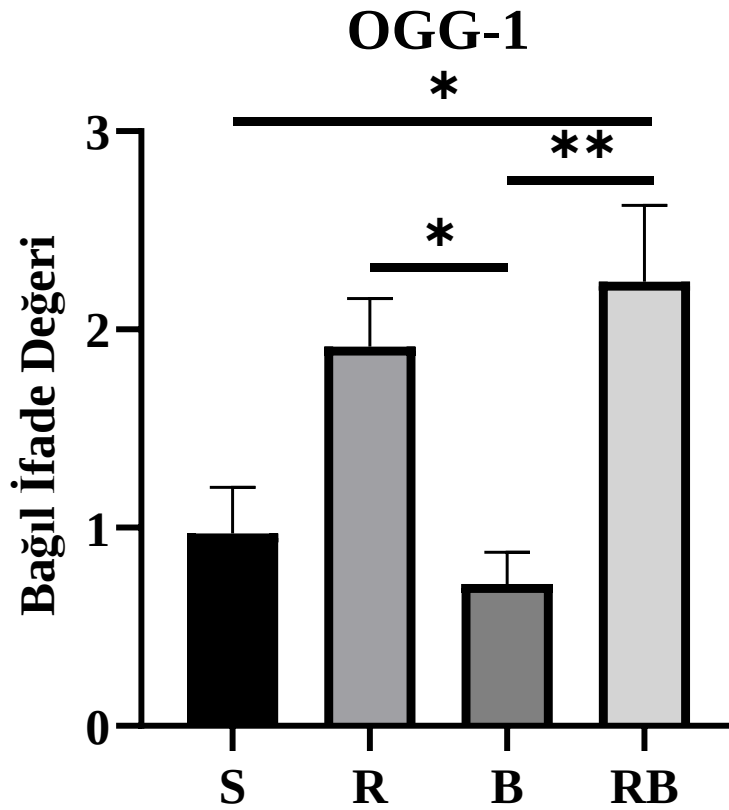
Deney gruplarına ait karaciğer dokusundan izole edilen RNA'lar dan ölçülen gen ifadeleri istatiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.8'de R grubu, S ve B grubuna göre istatiksel olarak bir artış göstermiştir (sırasıyla; $p<0,001$, $p<0,05$). RB gurubunda S ve B grubuna göre bir artış vardır fakat bu artış istatiksel olarak anlamlı değildir. R ve RB grupları arasında istatiksel olarak bir fark yoktur.



Şekil 4.8. PARP-1 gen ifade seviyesi değişimi

4.3.3. OGG-1 gen ifade seviyesi değişim bulguları

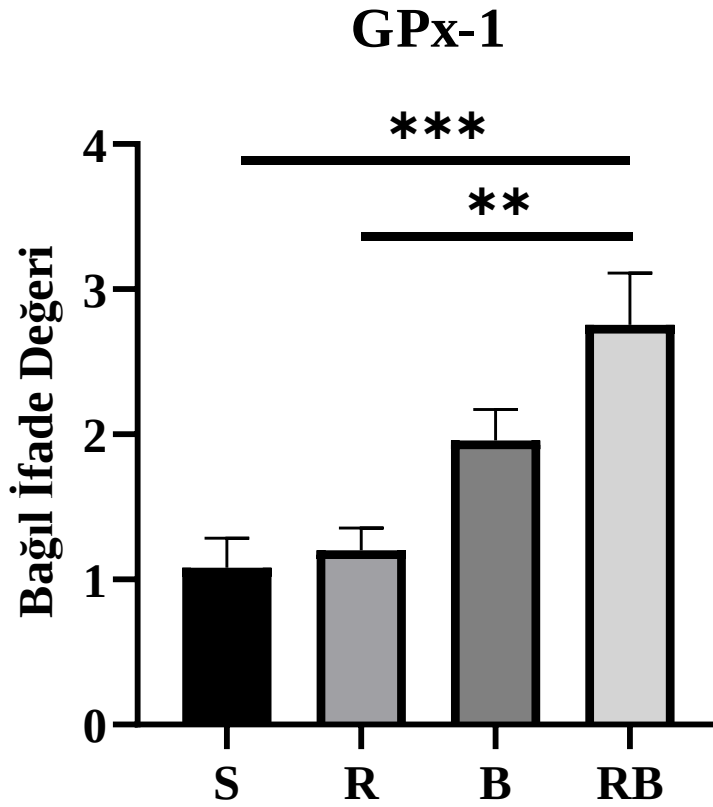
Deney gruplarına ait karaciğer dokusundan izole edilen RNA'lar dan ölçülen gen ifadeleri istatiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.9'da RB grubunda, S ve B grubuna göre istatiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır (sırasıyla; $p<0,05$, $p<0,001$). R grubu ise B grubuna göre istatiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$). S ile B grupları arasında ve R ile RB grupları arasında istatiksel olarak bir anlamlılığa rastlanmamıştır.



Şekil 4.9. OGG-1 gen ifade seviyesi değişimi

4.3.4. GPx-1 gen ifade seviyesi değişim bulguları

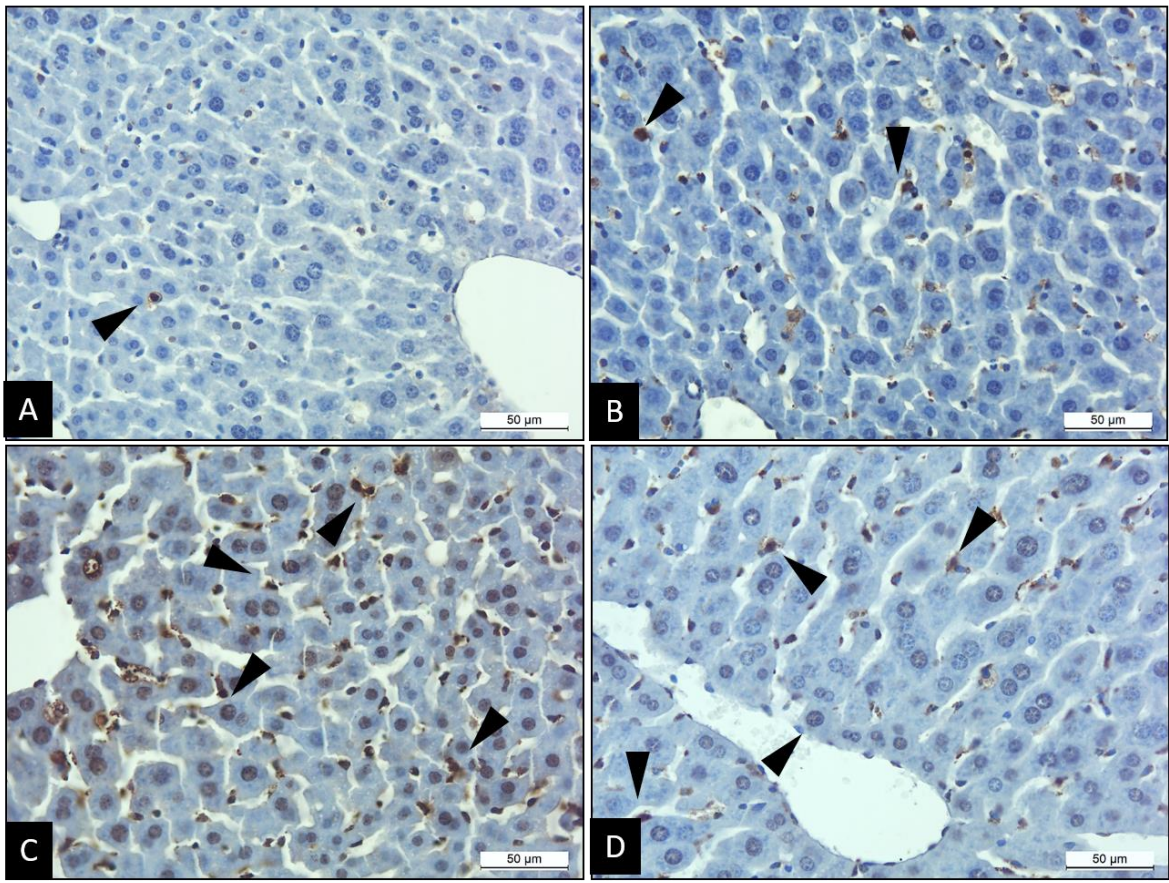
Deney gruplarına ait karaciğer dokusundan izole edilen RNA'lar dan ölçülen gen ifadeleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 4.10'da RB grubunda, S ve R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir (sırasıyla; $p<0,0001$, $p<0,001$). RB grubu ve B grubu arasında herhangi bir istatistiksel bir fark yoktur. S grubu ve R grubu arasında da bir istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



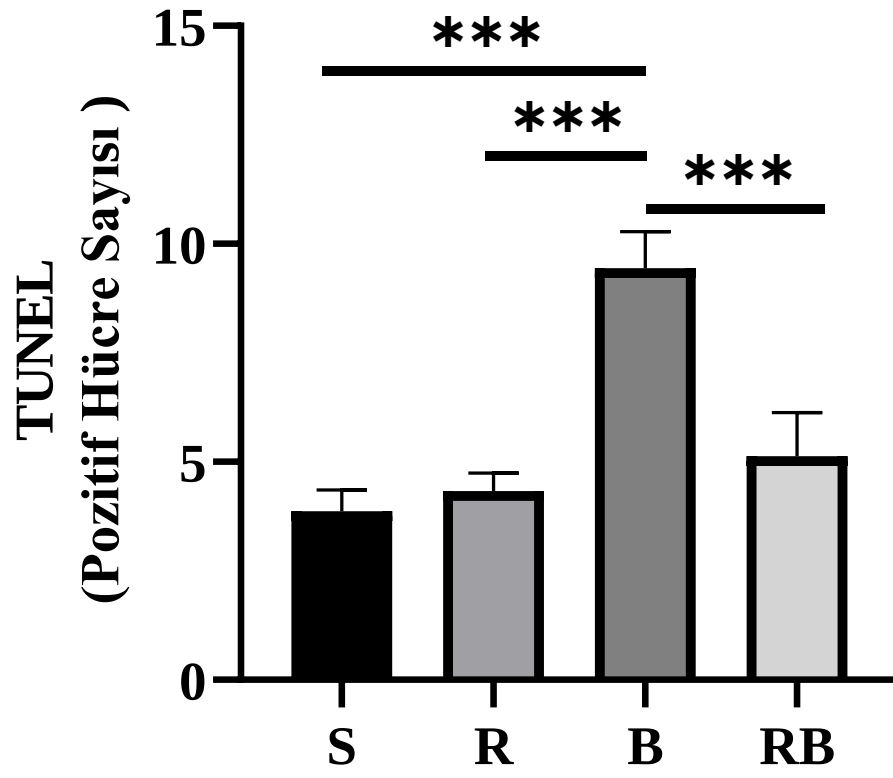
Şekil 4.10. GPx-1 gen ifade seviyesi değişimi

4.4. TUNEL Sonuçları

Deney gruplarına ait karaciğer dokularında TUNEL pozitif hücre sayısı gruplar arası istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Resim 4.1’de Grup S ile Grup R ve RB arasında herhangi istatistiksel olarak bir anlamlılık yoktur (sırasıyla; $p=1.000$ ve $p=1.000$). Grup B’de TUNEL pozitif hücre sayısı Grup S ve Grup R’ye göre anlamlı şekilde artış gösterdi (sırayla; $p<0.001$ ve $p<0.001$). Grup R ve Grup RB arasında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık izlenmezken ($p=1.000$), Grup RB’de TUNEL pozitif hücre sayısı Grup B’ye göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştü ($p=0.004$).



Resim 4.1. A: Sham, B: R, C: B, D: RB deney gruplarına ait karaciğer kesitlerinde TUNEL pozitif hücreler (ok) izlenmekte (DAB & Hematoksilen; x 400)



Şekil 4.11. TUNEL pozitif hücre sayısı grafiği

5. TARTIŞMA

Düşük doz iyonizan radyasyonun neden olduğu radyo adaptif cevabın; bakterilerde, bitkilerde, böcek hücrelerinde, in vitro insan/hayvan hücrelerinde ve in vivo hayvan modellerinde minimal düzeydeki bir stresin (düşük doz iyonizan radyasyon) yüksek dozdaki benzer veya diğer genotoksik ajanların hasarına karşı dirençli hale getirdiği gösterilmiştir. Adaptif cevabın altında yatan moleküler mekanizmayı açıklanmaya yönelik çalışmalar devam etmektedir. Radyobiyojoloji biliminde adaptif cevap oldukça iyi bilinen ve çalışılan konular arasında yer almaktadır [53]. Hücre düzeyinde AC'nin iyonizan olmayan radyasyon ile de oluştuğunu gösteren çalışmalarda farklı frekans, güç yoğunluğu ve SAR değerlerinde AC'nin mekanizması açıklamaya yönelik çalışmalar başlamıştır [7, 54, 64]. İnsan lenfositleri ön RF alan uygulamasından sonra yüksek dozda kemoterapötik ilaçlara veya x-ışınına maruz bırakılmıştır. Ön RF alan uygulanan grup da genetik hasara karşı önemli bir savunma mekanizması devreye sokmuştur [7, 56, 71, 152]. Ön RF alanlara maruz kalan sıçanlar ve farelere öldürücü dozda iyonizan radyasyon veya Escherichia Coli bakterisi verilmiş ve sağ kalım önemli ölçüde artmıştır. Ön RF alan uygulaması hayvanlarda öldürücü seviyedeki radyasyon veya bakterilere karşı bir direnç oluşturmuştur [153, 154] ve RF ile indüklenen AC'nin mekanizmasını henüz tam olarak açıklanmamıştır. Literatür taramalarımız neticesinde RF-EMF'lerin oluşturduğu AC ile ilgili hayvan deneylerinin az olması nedeniyle çalışmamızı in vivo olarak tasarladık. Sağlıklı Swiss Albino farelerde; genomik stabiliteden sorumlu genler, serbest radikaller ve antioksidan mekanizma arasındaki denge ve TUNEL yöntemi ile apoptosiz üzerine etkileri incelenmiştir.

5.1. Gen İfadesi ve Adaptif Cevap

Çalışmamız da DNA tamir mekanizmasında görev alan genler olan p53, PARP-1, OGG-1 ve GPx-1 genlerin rolü incelenmiştir. p53 geni radyasyona bağlı DNA çift sarmallı kırıklarının onarımın da önemli bir role sahiptir [79]. p53 geni, onkojenlerin aktivasyonu ve DNA hasarı dâhil birçok stres uyarısına yanıt olarak aktive olur [76]. Literatür taramasında; p53 geni iyonizan radyasyon ve kimyasal ajanlar ile oluşturulan adaptif cevapda rolü incelenmiş fakat RF alanların oluşturduğu AC de hücresel veya hayvan çalışmaları ile incelenmemiştir. Literatüre ilk defa RF-EMF kaynaklı adaptif cevapda ki p53 geninin rolü çalışmamız ile gösterilmiştir. Yaptığımız bu deney de AC oluşturduğumuz gurubun p53 gen ifade seviyesi Sham ve BLM grubuna göre karşılaştırıldığında; AC ile savunma

mekanizmasını tetikleyerek doku hücrelerini ölüme götürmemektedir. Ayrıca bu mekanizmanın tetiklenmesi ile hücreleri genotoksik ajana karşı dirençli hale getirmiştir. RF-EMF uyguladığımız gruplar da p53 gen ifade seviyeleri uygulamadığımız gruplara göre anlamlı bir biçimde artmıştır. Mevcut deneyler AC oluşumunda p53 geninin gerekliliğini ve aktif rol oynadığını göstermektedir [79]. İn vitro ve in vivo çalışmalar ile iyonizan radyasyon indüklü AC oluşumundaki p53 geninin rolü gösterilmesine rağmen RF-EMF indüklü AC oluşumundaki p53 geninin rolü hücrel veya hayvan deneyleri ile gösterilmemiştir. RF alan uygulaması sonucun da sham ve BLM grubuna göre p53 geninin ifade seviyesi R ve RB grubunda anlamlı ölçüde artış göstermiştir. p53 geninin ifade seviyelerindeki bu artışı AC oluşturmada önemli rol aldığını düşünmekteyiz.

PARP-1 geni, DNA hasarının onarımı ve genomun korunmasında birçok yolak ile DNA hasarına hücrel yanıtta çok yönlü rol oynar [155, 156]. PARP-1 geninin RF alanlar ile oluşturulan AC rolünü araştıran çalışmalar da He ve arkadaşları kemik iliği stromal hücrelerine adaptif doz olarak $120 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda 900 MHz frekansında 5 gün boyunca günde 3 saat RF alan uygulamasından sonra gama radyasyon uygulanmış. Maruziyet grupları ile sham grubu karşılaştırıldığında maruziyet grubunda PARP-1 genin ifade seviyelerinin arttığı gösterilmiş ve böylece RF alan indüklü AC'nin oluşumunda rol aldığı gösterilmiş [58, 157]. Diğer bir çalışma da insan lenfositleri ve çin hamsteri akciğer fibroblast hücre hatlarına ön RF alan uygulamasına bırakıldıktan sonra kemoterapik ajan uygulaması sonucu onarım mekanizmasında görev alan PARP-1 geninin ifade seviyesinin artışı ile AC de aktif olarak katıldığı gösterilmiş [59]. İn vitro çalışmalar ile RF-EMF indüklü AC oluşumundaki PARP-1 geninin rolü gösterilmesine rağmen hayvan deneylerinde PARP-1 genin rolü ilk kez bizim çalışmamız ile gösterilmiştir. RF alan uygulaması sonucun da sham ve B grubuna göre PARP-1 gen ifade seviyesi anlamlı ölçüde in vitro çalışmalar ile aynı doğrultuda artış göstermiştir. İstatiksel olarak bir anlamlılık gösterilmemesine rağmen RB grupta ki PARP-1 geninin ifadesinde artış gözlenmiştir. PARP-1 geninin ifade seviyelerindeki bu artışı ile AC oluşturmada önemli rol aldığını düşünmekteyiz.

DNA; çevresel, fiziksel veya kimyasal etkiler ile reaktif oksijen türlerine maruz kalmasıyla genotoksik veya mutajenik sonuçlara neden olan lezyonlara yol açar. 7,8-dihidro-8-oksoguanin (8-oxoG), oksidatif hasarın ürettiği başlıca lezyonlardan biridir. 8-oxoG'nin onarımından OGG-1 geni sorumludur. Falone ve arkadaşları 2018 yılında yaptığı bir çalışma da in vitro koşullar da nöroblastoma hücrelerine menadion (MD) verilmesi ile OGG-1 genin

ifade seviyesi azalmış fakat ön RF alan uygulaması ile OGG-1 gen ifade seviyesini normal hale döndürmüştür. Ön RF alan uygulaması kritik bir DNA onarım enzimi olan OGG-1, MD ye bağlı aşağı regülasyonunu ortadan kaldırmıştır [54]. Çalışmamız da RF alan uygulaması gruplarda OGG-1 genin ifade seviyeleri anlamlı bir şekilde artmıştır. Bu artış ile adaptif cevapda rol alabileceği gösterildi. Elde ettiğimiz sonuçlar literatürde bulunan in vitro çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. OGG-1 geninin ifade seviyelerindeki bu artışı ile AC oluşturmada önemli rol aldığını düşünmekteyiz. Ayrıca ROS'un artışı ile indüklenen oksidatif strese cevap olarak OGG-1 gen ifadesi artmaktadır [94]. Çalışmamız da ROS'un artışı ile OGG-1 geninin ifade seviyesi eşlenik olarak artmıştır.

Glutasyon peroksidaz-1; hücre ölümü, hayatta kalma, protein kinaz fosforilasyonu ve NF- κ B'nin aktivasyonu da dâhil olmak üzere hücresel sinyal yollarında aktif rol alır. GPx-1^{+/+} ve GPx-1^{-/-} fare modellerin de GPx-1 in oksidatif yaralanmalara ve reaktif oksijen türlerinin aracılık ettiği ölüm oranlarına karşı koruma sağladığı gösterilmiş. GPx-1 seviyesinin düşmesi ile hücrenin oksidatif strese karşı direnci azalır [158, 159]. Falone ve arkadaşları 2018'de yaptığı in vitro çalışma da toksik bir kimyasal ajan olan menadion uygulaması ile GPx-1 gen ifade seviyesi önemli ölçüde azaldığını göstermişler. Hücrelerin önceden RF-EMF maruz kalması ile GPx-1 gen ifade seviyesi normal seviyeye geri getirdiğini ortaya koyulmuş [54]. İn vitro çalışmalar ile RF-EMF indüklü AC oluşumundaki GPx-1 geninin rolü gösterilmesine rağmen hayvan deneylerinde GPx-1 genin rolü ilk kez bizim çalışmamız ile gösterilmiştir. İn vivo çalışmamız da RB grup da GPx-1 gen ifade seviyesi artmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar literatürde bulunan in vitro çalışma sonuçları ile aynı yönde seyretmektedir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre düşük hasar seviyeleri, DNA onarım sistemlerindeki rol oynayan genlerin aktivasyonunu tetikleyebilir [160-162] çalışmamız da ROS'un oluşturduğu minimal stres ile DNA onarım sistemlerin de rol oynayan genlerin aktivasyonunu indüklemiş olabilir.

5.2. Protein Analizleri ve Adaptif Cevap

Farelere 900 MHz frekansında $120 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ güç yoğunluğunda günde 4 saat 7 gün ön RF alan uygulaması BLM ile oluşan DNA hasarını azaltmış [64]. DNA hasarı tespiti için mikronükleüs ve comet yöntemi kullanılan çalışmalar da çeşitli ve farklı dozlarda ön RF alan uygulaması sonrasında DNA hasarına yol açan bir ajan (x-ışını, BLM vb.) verilmesi ile oluşan hasarı azalttığı gösterilmiş [54, 70, 72, 152]. Çalışmamızda 8-OHdG ELISA kiti ile değerlendirilen DNA hasarında gruplar arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunamadı.

ROS'un yüksekliği "oksidatif stres" olarak adlandırılan moleküler hasarlara yol açar. ROS'un yükselmesi aynı zamanda fizyolojik fonksiyonları sürdüren koruyan redoks biyolojisidir. Redoks sinyali fizyolojik koşullara katkı sağlar iken oksidatif stres patolojik koşullara katkı sağlamaktadır. Redoks biyolojisi düşük ROS seviyelerini ifade ederken, oksidatif stres; DNA, protein veya lipidlere zarar veren yüksek ROS seviyelerini belirtir [163]. Ni ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları in vitro çalışma da RF alan uygulaması sonucunda ROS seviyesinin arttığını göstermişler [104]. Fakat bununla birlikte, Xu ve arkadaşları altı farklı tip hücreye [164] ve Lantow ve arkadaşları ise insan göbek kordonu kanından elde edilen monositler ve lenfositlerde [165], RF-EMF alanlara maruz kaldıktan sonra hücresel ROS seviyesinde önemli bir artış gözlenmemiştir. Luukkonen ve arkadaşları 2009 yılında yaptığı çalışma da 5 W/kg güç yoğunluğunda 872 MHz frekansında RF radyasyonu insan SH-SY5Y neuroblastoma hücrelerin de ROS üretimin de ve DNA hasarı üzerinde hiçbir etkisi görülmemiş. Fakat RF radyasyonun kimyasal ajan ile birlikte verilmesi ROS üretimini artırdığı ve DNA hasarına neden olduğu gösterilmiş [166]. RF-EMF kaynaklı maruziyet sonucunda ROS seviyeleri incelendiğinde birçok çalışmada artış [167-169] gözlenir iken çok az çalışmada [170] ROS seviyeleri değişmemiştir [46, 171]. Çalışmamızda RF alan uygulaması yapılan grupların ikisinde de bir artış eğilimi olmasına rağmen sadece RB grubunda ROS miktarı istatistiksel olarak anlamlı bir artış sergilemiştir. ROS, adaptif cevabın indüksiyonunu tetiklemek için gereken minimum hasar düzeyini üretmede önemli bir rol oynar [98]. Elde ettiğimiz bu verilere göre literatürle uyumlu olarak adaptif cevabın oluşumunda minimum hasar düzeyinin oluşmasında ROS önemli rol alabilir.

Malondialdehit, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan ana zincir reaksiyonları parçaları bu nedenle güvenilir bir oksidatif stres markeri olarak hizmet eder [172]. 900 MHz radyasyondan sonra tavşan serumunda ve beyin dokusunda lipid hasarı bulunmaz iken, diğer oksidatif parametreler de değişiklikler gösterilmiştir [173]. Ultra yüksek

frekanslı elektromanyetik alanların (UHF-EMF) 800–1800 MHz frekansa maruz kalan sıçanlarda antioksidan hasar; lipid ve protein deneyleriyle oksidatif hasarın değerlendirildiği çalışmada frontal korteks ve hipokampusta lipid ve protein hasarı bulunmamıştır [174]. İn vitro çalışmalar da farklı hücre hatları ve RF alanlara maruziyetde de lipid hasarının belirteci olan MDA'nın değişmediği gösterilmiş [175, 176]. Fakat erkek sıçanlar üzerinde yapılan başka bir deney de (900 MHz, 1 saat/gün, 60 gün boyunca) RF radyasyona maruz kalan grupta beyin, karaciğer ve böbrek dokularında MDA seviyeleri artış göstermiştir [177]. Çalışmamızda ise MDA seviyelerinde literatürle uyumlu olarak gruplar arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır.

Oksidatif stres, artan serbest radikal oluşumunun veya serbest radikallere karşı antioksidan savunmanın azalan fizyolojik aktivitesinin bir sonucudur. [96]. Aktif oksijen moleküllerini toksik olmayan bileşiklere dönüştüren SOD ve CAT savunma mekanizmasının önemli antioksidan enzimleridir [178]. GPx, SOD ve CAT gibi enzimler, oksidatif stresin zararlı etkileriyle mücadele etmek için hücre içinde redoks dengesinin korunmasına yardımcı olurlar [179]. Yetişkin farelerin plazma, karaciğer ve akciğer dokularındaki SOD seviyelerinin ölçüldüğü deneyde BLM enjeksiyonu ile tüm dokularda SOD değeri azalmış ve ön RF-EMF uygulanmış grup da sadece karaciğer dokusunda SOD değeri artış göstermiştir [64]. Bravard ve arkadaşları iyonizan radyasyon ile oluşturulan adaptif cevapda antioksidan enzimlerin aktivitelerini rapor ettikleri çalışma da insan lenfoblastoid AHH-1 önce düşük doz sonra yüksek doz iyonizan radyasyona maruz bırakılıyor. Cu-Zn SOD (SOD1), MnSOD (SOD2), katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) ve ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini AHH-1 lenfoblast hücrelerinde incelenmiş. SOD2, GST, GPx ve katalaz seviyeleri ön maruziyet uygulanan hücreler uygulanmayan hücreler göre oldukça az indüklendiği gözlenmiştir. Antioksidan savunmaların aktivasyonu AHH-1 lenfoblastlarının radyo adaptasyonunun altında yatan koruyucu mekanizmaya yalnızca kısmen katkıda bulunduğunu düşünmektedirler [180]. Sıçan glial hücrelerinde düşük doz ve ardından yüksek doz x-ışınlamasından sonra katalaz, GPx, GR ve glutatyon içeriğinin aktivitelerini incelendiği çalışma da katalaz, GPx, GR ve glutatyon içeriğinin aktiviteleri de önemli ölçüde indüklenmemiş. Sıçan glial hücrelerinde adaptif cevap mekanizmasına yalnızca kısmen katkıda bulmuşlardır [181]. Erkek sıçanlar üzerinde yapılan başka bir deney de (900 MHz, 1 sa/gün, 60 gün boyunca) RF radyasyona maruz kalan grup da beyin, karaciğer ve böbrek dokularında TAC seviyelerinde önemli bir düşüşe yol açmıştır [177]. RF radyasyona maruz

kalan hayvanları çeşitli dokuların da RF radyasyon kaynaklı oksidatif stres artarken SOD, CAT seviyeleri azalmıştır [182-184]. ROS ayrıca antioksidan sistem üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir, düşük glutatyon (GSH) seviyesine ve antioksidan enzimlerin aktivitesinin azalmasına neden olabilir [185-188]. Antioksidan savunma sisteminin kaybı veya azalması, ROS'un seviyesinin hasara neden olan eşiğin üstüne çıkmasına neden olabilir [163]. Oksidatif stres, artmış bir serbest radikal oluşumunun yanı sıra koruyucu antioksidan savunma sisteminin azalmış aktivitesinin yansımasıdır [96]. İn vivo çalışmamız da SOD, CAT ve TAC gibi antioksidan seviyesinin düşmesi serbest radikalın ROS'un artışı doğrulamaktadır. Çalışmamızda incelediğimiz antioksidan enzimler olan SOD, CAT ve TAC seviyeleri ROS miktarı artmış olan RF-EMF maruziyeti alan gruplarda azalmıştır. Bu sonuçlar literatürde bulunan bazı çalışmalar ile benzerlik göstermesine rağmen birçok çalışma ile de ters yönde seyretmektedir. Radyasyon ile indüklenen yanıtta antioksidan sistemler ile ilişkin tutarsızlık, hücre tipi ve radyasyon dozları ve aralıkları dahil olmak üzere deneysel koşullar gibi biyolojik sisteme bağlı olduğu görünmektedir [189]. Oksidatif stres ile artan ROS'un antioksidan sistemlerden tarafından düşürülmemesi, redoks dengesizliğine neden olur ve redoksa duyarlı sinyal yollarını aktive eder bu da hücrel yanıtla, çeşitli protein sentezlerine [189], hücre proliferasyonun artması [190], gen ifade seviyesi [191] da dâhil cevaplara yol açar. Çalışmamızda ROS ve antioksidanlar arasındaki denge göz önüne alındığında AC oluşturduğumuz RB grubunda antioksidan seviyelerinin artmaması ROS seviyesini düşürmeyerek daha farklı savunma mekanizmaların devreye girmesine imkan sağlamış olabilir.

5.3. Apoptosiz ve Adaptif Cevap

p53 geni, malignite ile ilişkili çeşitli stres sinyallerine yanıt olarak aktive edilir böylece p53 geninin aktivasyonu ile tümör hücresi büyümesinin inhibisyonu sağlanır. Stresin p53 genini aktif hale getirmesiyle; hücre döngüsünün durması, yaşlanma, farklılaşma ve apoptoz da dâhil olmak üzere çeşitli sonuçlara neden olabilir. Bazı koşullar altında ise p53 geni genotoksik hasarın onarımına da katkıda bulunur ve böylece rehabilite edilen hücrenin çoğalma havuzuna geri salınmasına izin verir. Bununla birlikte, p53 geninin indüksiyonu apoptozu aktive ederek hücre büyümesinin geri döndürülemez bir yola sokar. p53 geni, hücreleri genotoksik hasarına karşı rehabilite etme özelliğinin yanında apaoptoza götürerek de savunma mekanizmasında önemli görevler üstlenir [192]. Düşük doz iyonizan radyasyonun oluşturduğu adaptif cevap ile apoptosizin azaldığı birçok in vivo ve in vitro

çalışma ile gösterilmiştir [193-200]. Şuana kadar literatür çalışmalarına baktığımız da iyonizan olmayan radyasyonla oluşan adaptif cevapda apoptosiz arasında bir ilişki araştırılmamıştır. Yaptığımız deneylerden elde ettiğimiz sonuçlara göre B grubun da artan hücre ölümü RB grubunda anlamlı bir biçimde düşmüş ve apoptosiz azalmıştır. Sadece RF alan uygulaması ile p53, OGG-1, PAPR-1 genlerinin ifade seviyeleri artarken, ön RF alan uygulaması sonrası BLM uygulanan grupta p53, OGG-1 ve GPx-1 gen ifade seviyeleri artmıştır. Muhtemelen DNA tamir mekanizmasında görev alan bu genlerin [201] RF-EMF ile aktivasyonu BLM'nin oluşturduğu apoptosize karşı koruma sağlamış olabilir.

Araştırmaların sonuçları, ön RF alan uygulaması memeli hücrelerinde adaptif cevap oluşturarak genotoksik ajanların oluşturduğu hasara karşı koruyucu bir etki yaratabileceğine dair daha fazla kanıt sunmaktadır. Düşük radyasyon dozları ile indüklenen AC, reaktif oksijen türleri, DNA hasarı onarımı ve proliferatif süreçlerde rol oynayan genlerin ifadesini değiştirdiğini göstermiştir. Düşük doz radyasyonun neden olduğu normal hücrelerin proliferatif tepkisi, hem in vitro hem de in vivo birçok kanser hücresinde yoktur. Radyasyon tedavisinde normal hücreleri korumak için kullanılabilir [202]. Yapılan retrospektif kohort çalışma da bilgisayarlı tomografi ile alınan düşük doz iyonlaştırıcı radyasyonun bile çocuk ve gençlerde beyin tümörü ve lösemi insidansını yaklaşık üç kat artmıştır [203]. Aynı zamanda 0.05-0.1 Gy (uzun süreli maruziyet) veya 0.01-0.05 Gy (akut maruziyet) iyonizan radyasyon dozlarına maruz kalmanın bazı kanser riskini artırdığı bildirilmiştir [204]. Bleomisin benzeri antineoplastik ilaçların radyomimetik etkilerinin oldukça yüksek olduğu için ışın tedavisi ile birlikte kullanılmamaktadırlar. İkisinin bir kullanılması durumunda dokuda toksisite artmaktadır [141]. İyonlaştırıcı radyasyonun güvenli dozu olmadığını bilmek önemlidir [205]. İyonize radyasyonun oluşturduğu adaptif cevabın kullanımı düşük dozda dahi olsa, iyonlaştırıcı radyasyonun DNA üzerinde oluşturabileceği hasar nedeni ile klinik anlamda kullanılabilmesi gerçekçi değildir. RF alan ön maruziyeti ile AC oluşturulabilir. Böylece RF alanların iyonlaştırıcı olmayan doğası ile düşük doz iyonizan radyasyonun oluşturabileceği olası sağlık sorunlarının üstesinden gelinebilir. Adaptif cevabın altında yatan moleküler mekanizmanın anlaşılması ile kanser tedavilerinin (radyasyon ve kemoterapötik ajanlar) risk yönetimi ve değerlendirmesinde gelişmeler sağlayacaktır. Kemoterapötik ajanların tümör hücreleri üzerindeki öldürücü etkisinin yanı sıra sağlık doku üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu bilinmektedir. RF alanların sağlıklı dokularda adaptif cevap oluşturulması ile sağlıklı dokular kemoterapinin olumsuz etkilerine karşı daha dirençli hale gelebilecektir. Böylece kanser tedavisinin sağlıklı doku üzerindeki

olumsuz etkilerine karşı RF alanlar ile bir savunma mekanizması gerçekleştirilebilir. Ayrıca RF alanlar ile oluşturulacak adaptif cevabın koruyucu etkisi sistemin oluşturulmasının düşük maliyeti de büyük avantaj sağlamaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Radyo frekans dalgalar ile adaptif cevabın oluşumu ve altında yatan moleküler mekanizmayı aydınlatmak için tasarladığımız in vivo çalışma da genomik stabiliteden sorumlu genler, serbest radikaller ve antioksidan mekanizmasının yanı sıra AC oluşumunun apoptosiz üzerine olan olası etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla DNA tamir mekanizmasında görev alan p53, PARP-1, OGG-1 ve GPx-1 genlerinin ifade seviyeleri Eş-Zamanlı PZR ile DNA hasarı tespiti için 8-OHdG, oksidatif stresin belirlenmesi için ROS ve MDA, antioksidan etki için ise SOD, CAT ve TAC seviyelerini belirlemek için ELISA yöntemi kullanıldı. Ayrıca apoptosiz üzerine olası etkilerini incelemek için TUNEL yöntemi kullanıldı.

Mutant p53 hücre hatlarında yapılan LDR mauriziyeti sonucunda PARP-1 geninin p53 gen ifade seviyelerinin artmasına ve DNA hasarından sonra transkripsiyonel aktivitesi için gerekli olduğu gösterilmiş. p53 geni birçok stres entegratörü olarak hücrelerde ki DNA hasarı üzerine olan etkisini sadece fosforilasyon ve redoks ile değil ayrıca PARP-1 geni ile düzenlemektedir [206]. PARP-1 ve p53 genleri, LDR'nin oluşturduğu AC de önemli roller oynayabilir [207]. Çalışmamızda LDR için gösterilen PARP-1 ve p53 genlerinin önemli rolleri RF-EMF ile oluşturulan AC için de geçerli olabileceğini gösterdik. PARP-1, OGG-1'in N terminali üzerinden doğrudan bağlanır ve bu etkileşimin oksidatif stres ile doğru orantılı olarak artar. OGG-1 ve PARP-1 genleri oksidatif stres ve DNA hasarına hücrel yanıtta anahtar rol oynamaktadır [208, 209]. OGG-1 geninin ifade seviyesi PARP-1 geninin ifade seviyesiyle eşlenik olarak artış göstermiş ve AC'nin oluşumuna katkı sunmuş olabilirler. GPx-1 geninin ifade seviyelerinin artması ile oksidatif strese karşı hücrel yanıtları geliştirerek genotoksik hasarın azalttığını düşünmekteyiz. ROS, adaptif cevabın indüksiyonunu tetiklemek için gereken minimum hasar düzeyini üretmede önemli bir rol oynar [98]. Bugüne kadar yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre düşük hasar seviyeleri, DNA onarım sistemlerin de ki rol oynayan genlerin aktivasyonunu tetikliyor olabilir [160-162]. ROS'un oluşturduğu minimal düzeydeki stres ile DNA tamir mekanizmasında rol alan genler olan p53, PARP-1, OGG-1 ve GPx-1 genlerinin ifade seviyelerinin artışına neden olarak dokudalardaki hücreleri daha dirençli hale getirebilir. Ayrıca p53 gen ifade seviyesindeki artış ile hücre ölümünü azaltarak apoptosizi azalmış

olabilir. Literatürde AC oluşumunda rol aldığı ifade edilen antioksidan savunma [64] bizim çalışmamız da ise aktif hale gelmemiş ve düşüş göstermiştir [16].

Düşük doz iyonizan radyasyonun oluşturduğu adaptif cevap ile kanser tedavisinde sağlıklı dokuları daha dirençli hale getirmek için kullanılabilir. Yapılan çalışmalar da düşük doz iyonizan radyasyon kanser riskini artırabilir ayrıca kemoterapik ilaçlar birlikte iyonizan radyasyonun verilmesi dokuda toksisitenin artmasına neden olacaktır. İyonizan radyasyon yerine iyonizan olmayan radyasyonun AC'yi indükleme özelliği kullanılarak, iyonizan radyasyonun oluşturabileceği olası sağlık sorunlarının üstesinden gelebilir. Kemoterapi ve radyoterapinin tümör öldürücü etkilerinin yanı sıra sağlık doku üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Sağlıklı dokuya uygulanacak ön RF alan uygulaması ile kemoterapi ve radyoterapinin sağlıklı doku üzerine oluşturacağı olumsuz etkiler azaltılabilir. Ayrıca RF alan uygulaması ile oluşturulacak adaptif cevabın koruyucu etkisi, RF alanların oluşturulmasının düşük maliyeti de büyük avantaj sağlamaktadır. Bu çalışmanın sonuçlarının geliştirilmesi ile radyasyon ve kemoterapötik ajanların risk yönetimi ve değerlendirmesine sunduğu katkı ile klinik kanser tedavisine olumlu katkılar sağlayabilir.

6.2. Öneriler

Daha sonraki çalışmalar da aşağıdaki önerilerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

- Mikroarray yöntemi ile tüm genom dizilimi analiz edilerek adaptif cevabın oluşumunda hangi set genlerin rol aldığı tespit edilebilir.
- Adaptif cevabın apoptosiz üzerine oluşturduğu olumlu etkinin mekanizmasının aydınlatılması için kaspazlar ve yolaklar incelenebilir.
- Sadece sağlıklı hayvanlar üzerinde yapılan bu çalışma, kanser modeli oluşturulmuş fareler ile adaptif cevabın kanser ve tümör dokusu üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi önerilerimizdendir.

KAYNAKLAR

1. Wolff, S. (1992). Failla Memorial Lecture. Is radiation all bad? The search for adaptation. *Radiation Research*, 131(2), 117-123.
2. Mortazavi, S. M. J. (2014). Is mobile phone radiofrequency radiation all bad? *Journal of Medical Hypotheses and Ideas*, 8(1), 42-43.
3. Jaeger, S. (2012). *A Geomedical Approach to Chinese Medicine: The Origin of the Yin-Yang Symbol*. In: InTech. Çin: InTech, 30-35.
4. Gherardini, L., Ciuti, G., Tognarelli, S., & Cinti, C. (2014). Searching for the Perfect Wave: The Effect of Radiofrequency Electromagnetic Fields on Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(4), 5366-5387.
5. Samson, L., & Cairns, J. (1977). A new pathway for DNA repair in Escherichia coli. *Nature*, 267(5608), 281-283.
6. Olivieri, G., Bodycote, J., & Wolff, S. (1984). Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine. *Science*, 223(4636), 594-597.
7. Sannino, A., Sarti, M., Reddy, S. B., Prihoda, T. J., Vijayalaxmi, & Scarfi, M. R. (2009). Induction of adaptive response in human blood lymphocytes exposed to radiofrequency radiation. *Radiation Research*, 171(6), 735-742.
8. Civelek, C. (2016). *Temel Elektromanyetik Alan ve Dalga Kuramı: Tanım - Kavram - Yorumlama - Uygulama* (Birinci Baskı). Ankara: Seçkin Yayıncılık, 30-350.
9. Mehmet Fatih Taşar, M. O. (2014). *Genel Fizik II: Klasik Elektrik ve Manyetizma Teorisine Giriş* (Birinci Baskı). Ankara: Pegem Akademi Yayıncılık, 48-280.
10. Holliday D, R. R. (2014). *Fiziğin Temelleri* (Dokuzuncu Baskı). Ankara: Palme Yayıncılık, 220-350.
11. Yilmaz, S., Ardagil, A., Akalin, I., Altinel, M. G., Dag, Y., Kurum, E., Bayramlar, H. (2017). Cilioretinal artery: Vasculogenesis might be promoted by plasminogen activator inhibitor-1 5G allele. *Ophthalmic Genet*, 38(5), 428-433.
12. Principles of Nonionizing Radiation. (1998). In Journal T. Talty (Ed.), *Industrial Hygiene Engineering* (İkinci Baskı) Park Ridge, NJ: William Andrew Publishing, (564-597).
13. Hack, R. C. (1989). Chapter 8 - Ionizing radiation. In H. A. Waldron (Ed.), *Occupational Health Practice* (Üçüncü Baskı). Butterworth-Heinemann, (151-174).
14. IARC Working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans: ionizing radiation, Part I, X- and gamma- radiation and neutrons. Lyon, France, 26 May-2 June 1999. (2000). *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Humans*, 75 Pt 1(Pt 1), 1-448.

15. Stuchly, M. A. (1979). Interaction of radiofrequency and microwave radiation with living systems. *Radiation and Environmental Biophysics*, 16(1), 1-14.
16. Non-ionizing radiation, Part 2: Radiofrequency electromagnetic fields. (2013). *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Humans*, 102(Pt 2), 1-460.
17. Challis, L. J. (2005). Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics*, 26(S7), S98-S106.
18. İnternet: IARC. (2017). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Web: <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/on> adresinden 09.12.2020'de alınmıştır.
19. İnternet: IARC. (2011). Classifies RadiofrequencyElectromagnetic Fields as Possibly Carcinogenic to Humans. Web: https://www.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/07/pr208_E.pdf on adresinden 12.01.2021'de alınmıştır.
20. Morgan, L. L., Miller, A. B., Sasco, A., & Davis, D. L. (2015). Mobile phone radiation causes brain tumors and should be classified as a probable human carcinogen (2A) (Review). *International Journal of Oncology*, 46(5), 1865-1871.
21. Othman, H., Ammari, M., Rtibi, K., Bensaid, N., Sakly, M., & Abdelmelek, H. (2017). Postnatal development and behavior effects of in-utero exposure of rats to radiofrequency waves emitted from conventional WiFi devices. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 52, 239-247.
22. Othman, H., Ammari, M., Sakly, M., & Abdelmelek, H. (2017). Effects of prenatal exposure to WIFI signal (2.45 GHz) on postnatal development and behavior in rat: Influence of maternal restraint. *Behavioural Brain Research*, 326, 291-302.
23. Morgan, L., Kesari, S., & Davis, D. (2014). Why children absorb more microwave radiation than adults: The consequences. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 2(4), 197.
24. N, S. (2010). Elektromanyetik Kirlilik ve Sağlığımız - Electromagnetic Pollution and Our Health. *Nöropsikiyatri Arşivi Dergisi*, 47, 158-161.
25. Zhi, W.-J., Wang, L.-F., & Hu, X.-J. (2017). Recent advances in the effects of microwave radiation on brains. *Military Medical Research*, 4(1).
26. Vatansever, F., & Hamblin, M. R. (2012). Far infrared radiation (FIR): Its biological effects and medical applications. *Photonics & Lasers in Medicine*, 1(4).
27. Polk C, P. E. (1996). *Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields* (İkinci Basım). Florida, USA.: CRC Press, 48-59.
28. Watson, M., Holman, D. M., & Maguire-Eisen, M. (2016). Ultraviolet Radiation Exposure and Its Impact on Skin Cancer Risk. *Seminars in Oncology Nursing*, 32(3), 241-254.

29. Lin, J. C. (2007). Dosimetric Comparison Between Different Quantities For Limiting Exposure In The Rf Band: Rationale And Implications For Guidelines. *Health Physics*, 92(6), 547-553.
30. Şeker ŞS, Ç. O. (1991). *Elektromagnetik Alanların Biyolojik Etkileri Güvenlik Standartları ve Korunma Yöntemleri*. İstanbul: Boğaziçi Üniversitesi Matbaası, 58-98.
31. International Telecommunication Union. (2008). *Radio Regulations*. 2(1)
32. Bandara, P., & Carpenter, D. O. (2018). Planetary electromagnetic pollution: it is time to assess its impact. *The Lancet Planetary Health*, 2(12), e512-e514.
33. H. L. König, A. P. K., S. Lang, W. Sönning. (1981). *Biologic Effects of Environmental Electromagnetism* (Birinci Baskı). New York: Springer-Verlag.
34. Exposure to high frequency electromagnetic fields, biological effects and health consequences (100 kHz to 300 GHz). (2009a). (R. M. Paolo Vecchia, Gunde Ziegelberger, James Lin, Richard Saunders, Anthony Swerdlow Ed.). Germany: ICNIRP; International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection.
35. Moon, J.-H. (2020). Health effects of electromagnetic fields on children. *Clinical and Experimental Pediatrics*, 63(11), 422-428.
36. Russell, C. L. (2018). 5 G wireless telecommunications expansion: Public health and environmental implications. *Environmental Research*, 165, 484-495.
37. Simkó, & Mattsson. (2019). 5G Wireless Communication and Health Effects—A Pragmatic Review Based on Available Studies Regarding 6 to 100 GHz. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(18), 3406.
38. Leeuwen, G. M. J. V., Lagendijk, J. J. W., Leersum, B. J. A. M. V., Zwamborn, A. P. M., Hornsleth, S. N., & Kotte, A. N. T. J. (1999). Calculation of change in brain temperatures due to exposure to a mobile phone. *Physics in Medicine and Biology*, 44(10), 2367-2379. 1
39. Repacholi, M. H. (2001). Health risks from the use of mobile phones. *Toxicology Letters*, 120(1-3), 323-331.
40. Foster, K. R., & Glaser, R. (2007). Thermal Mechanisms Of Interaction Of Radiofrequency Energy With Biological Systems With Relevance To Exposure Guidelines. 92(6), 609-620.
41. Salvatore, J. R. (2014). *Electromagnetic Fields*. In P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology* (Üçüncü Basım). Oxford: Academic Press, (316-319).
42. Buchner K, & Eger H. (2011). Changes of Clinically Important Neurotransmitters under the Influence of Modulated RF FieldsA Long-term Study under Real-life Conditions. *Umwelt -Medizin-Gesellschaft*, 24(1), 44-57.

43. Abdel-Rassoul, G., El-Fateh, O. A., Salem, M. A., Michael, A., Farahat, F., El-Batanouny, M., & Salem, E. (2007). Neurobehavioral effects among inhabitants around mobile phone base stations. *Neuro Toxicology*, 28(2), 434-440.
44. Chu, M. K., Song, H. G., Kim, C., & Lee, B. C. (2011). Clinical features of headache associated with mobile phone use: a cross-sectional study in university students. *BMC Neurology*, 11(1), 115.
45. Johansson, O. (2006). Electrohypersensitivity: State-of-the-Art of a Functional Impairment. 25(4), 245-258.
46. Yakymenko, I., Tsybulin, O., Sidorik, E., Henshel, D., Kyrylenko, O., & Kyrylenko, S. (2016). Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 35(2), 186-202.
47. Johansson, O., Gangi, S., Liang, Y., Yoshimura, K., Jing, C., & Liu, P.-Y. (2001). Cutaneous mast cells are altered in normal healthy volunteers sitting in front of ordinary TVs/PCs - results from open-field provocation. *Experiments*. 28(10), 513-519.
48. Yakymenko, I., Sidorik, E., Kyrylenko, S., & Chekhun, V. (2011). Long-term exposure to microwave radiation provokes cancer growth: evidences from radars and mobile communication systems. *Experimental oncology*, 33(2), 62-70.
49. Brain tumour risk in relation to mobile telephone use: results of the INTERPHONE international case-control study. (2010). *International Journal of Epidemiology*, 39(3), 675-694.
50. Hardell, L., Carlberg, M., Hansson Mild, K., & Eriksson, M. (2011). Case-control study on the use of mobile and cordless phones and the risk for malignant melanoma in the head and neck region. *Pathophysiology*, 18(4), 325-333.
51. Sato, Y., Akiba, S., Kubo, O., & Yamaguchi, N. (2011). A case-case study of mobile phone use and acoustic neuroma risk in Japan. *Bioelectromagnetics*, 32(2), 85-93.
52. Vijayalaxmi, Cao, Y., & Scarfi, M. R. (2014). Adaptive response in mammalian cells exposed to non-ionizing radiofrequency fields: A review and gaps in knowledge. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*, 760, 36-45.
53. Dimova, E. G., Bryant, P. E., & Chankova, S. G. (2008). 'Adaptive response' - Some underlying mechanisms and open questions. *Genetics and Molecular Biology*, 31, 396-408.
54. Falone, S., Sannino, A., Romeo, S., Zeni, O., Santini, S. J., Rispoli, R., Scarfi, M. R. (2018). Protective effect of 1950 MHz electromagnetic field in human neuroblastoma cells challenged with menadione. *Scientific Reports*, 8(1), 13234.
55. Lamkowski, A., Kreitlow, M., Radunz, J., Willenbockel, M., Sabath, F., Schuhn, W., Abend, M. (2018). Gene Expression Analysis in Human Peripheral Blood Cells after 900 MHz RF-EMF Short-Term Exposure. *Radiation Research*, 189(5), 529-540.

56. Sannino, A., Zeni, O., Sarti, M., Romeo, S., Reddy, S. B., Belisario, M. A., Scarfi, M. R. (2011). Induction of adaptive response in human blood lymphocytes exposed to 900 MHz radiofrequency fields: Influence of cell cycle. *International Journal of Radiation Biology*, 87(9), 993-999.
57. Jiang, B., Nie, J., Zhou, Z., Zhang, J., Tong, J., & Cao, Y. (2012). Adaptive response in mice exposed to 900 MHz radiofrequency fields: primary DNA damage. *Plos One*, 7(2), e32040.
58. He, Q. N., Zong, L., Sun, Y. L., Vijayalaxmi, Prihoda, T. J., Tong, J., & Cao, Y. (2017). Adaptive response in mouse bone marrow stromal cells exposed to 900 MHz radiofrequency fields: Impact of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP). *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 820, 19-25.
59. Sannino, A., Zeni, O., Romeo, S., Lioi, M. B., & Scarfi, M. R. (2019). Treatment with 3-Aminobenzamide Negates the Radiofrequency-Induced Adaptive Response in Two Cell Models. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(15).
60. Jin, Z., Zong, C., Jiang, B., Zhou, Z., Tong, J., & Cao, Y. (2012). The effect of combined exposure of 900 MHz radiofrequency fields and doxorubicin in HL-60 cells. *Plos One*, 7(9), e46102.
61. Sannino, A., Zeni, O., Romeo, S., Massa, R., & Scarfi, M. R. (2017). Adverse and beneficial effects in Chinese hamster lung fibroblast cells following radiofrequency exposure. *Bioelectromagnetics*, 38(4), 245-254.
62. Mortazavi, S. M. J., Mostafavi-Pour, Z., Daneshmand, M., Zal, F., Zare, R., & Mosleh-Shirazi, M. A. (2017). Adaptive Response Induced by Pre-Exposure to 915 MHz Radiofrequency: A Possible Role for Antioxidant Enzyme Activity. *Journal of Biomedical Physics and Engineering*, 7(2), 137-142.
63. Cao, Y., Xu, Q., Jin, Z. D., Zhang, J., Lu, M. X., Nie, J. H., & Tong, J. (2010). Effects of 900-MHz microwave radiation on gamma-ray-induced damage to mouse hematopoietic system. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 73(7), 507-513.
64. Zong, C. Y., Ji, Y. X., He, Q. N., Zhu, S. X., Qin, F. J., Tong, J., & Cao, Y. (2015). Adaptive response in mice exposed to 900 MHz radiofrequency fields: Bleomycin-induced DNA and oxidative damage/repair. *International Journal of Radiation Biology*, 91(3), 270-276.
65. Cao, Y., Xu, Q., Jin, Z. D., Zhou, Z., Nie, J. H., & Tong, J. (2011). Induction of adaptive response: Pre-exposure of mice to 900 MHz radiofrequency fields reduces hematopoietic damage caused by subsequent exposure to ionising radiation. *International Journal of Radiation Biology*, 87(7), 720-728.
66. Liu, K., Zhang, G., Wang, Z., Liu, Y., Dong, J., Dong, X., Zhang, S. (2014). The protective effect of autophagy on mouse spermatocyte derived cells exposure to 1800MHz radiofrequency electromagnetic radiation. *Toxicology Letters*, 228(3), 216-224.

67. Li, R., Ma, M., Li, L., Zhao, L., Zhang, T., Gao, X., Wang, M. (2018). The Protective Effect of Autophagy on DNA Damage in Mouse Spermatocyte-Derived Cells Exposed to 1800 MHz Radiofrequency Electromagnetic Fields. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(1), 29-41.
68. Cao, Y., & Tong, J. (2014). Adaptive Response in Animals Exposed to Non-Ionizing Radiofrequency Fields: Some Underlying Mechanisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(4), 4441-4448.
69. S.M.J. Mortazavi, Z. B., , R. G., , M. A. M.-S., S. Bonyadi, , A. R. T., M. Shafie, & , M. T., M. Haghani. (2011). A comparative study on the increased radioresistance to lethal doses of gamma rays after exposure to microwave radiation and oral intake of flaxseed oil. *Iran Journal Radiation Research*, 9(1), 9-14.
70. Jiang, B. C., Zong, C. Y., Zhao, H., Ji, Y. X., Tong, J., & Cao, Y. (2013). Induction of adaptive response in mice exposed to 900 MHz radiofrequency fields: Application of micronucleus assay. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 751(2), 127-129.
71. Zeni, O., Sannino, A., Romeo, S., Massa, R., Sarti, M., Reddy, A. B., Scarfi, M. R. (2012). Induction of an adaptive response in human blood lymphocytes exposed to radiofrequency fields: Influence of the universal mobile telecommunication system (UMTS) signal and the specific absorption rate. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 747(1), 29-35.
72. Romeo, S., Sannino, A., Zeni, O., Angrisani, L., Massa, R., & Scarfi, M. R. (2019). Effects of Radiofrequency Exposure and Co-Exposure on Human Lymphocytes: the Influence of Signal Modulation and Bandwidth. *IEEE Journal of Electromagnetics, RF. Microwaves in Medicine and Biology*, 1-1.
73. İnternet: WHO. (2005). Electromagnetic fields and public health Intermediate Frequencies (IF). International EMF Project Information Sheet, 1-4. Web: <https://ci.nii.ac.jp/naid/20001637179/en/> adresinden 23.09.2020'de alınmıştır.
74. Thuróczy, G., Kubinyi, G., Szilágyi, Z., Brech, A., Laczkovich-Szaladják, E., & Németh, Z. (2019). Intermediate frequency magnetic field at 250.8 kHz does not induce DNA damage or “Adaptive Response” in vitro. *Genetics & Applications*, 3(1).
75. Lane, D. P. (1992). Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*, 358(6381), 15-16.
76. Aubrey, B. J., Kelly, G. L., Janic, A., Herold, M. J., & Strasser, A. (2018). How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death & Differentiation*, 25(1), 104-113.
77. Gottlieb, E., & Vousden, K. H. (2010). p53 Regulation of Metabolic Pathways. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(4), 10-40.
78. Kim, E., Giese, A., & Deppert, W. (2009). Wild-type p53 in cancer cells: When a guardian turns into a blackguard. *Biochemical Pharmacology*, 77(1), 11-20.

79. Sasaki, M. S., Ejima, Y., Tachibana, A., Yamada, T., Ishizaki, K., Shimizu, T., & Nomura, T. (2002). DNA damage response pathway in radioadaptive response. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504(1), 101-118.
80. Willers, H., Gheorghiu, L., Liu, Q., Efstathiou, J. A., Wirth, L. J., Krause, M., & von Neubeck, C. (2015). DNA Damage Response Assessments in Human Tumor Samples Provide Functional Biomarkers of Radiosensitivity. *Seminars in Radiation Oncology*, 25(4), 237-250.
81. Wang, X., Matsumoto, H., Takahashi, A., Nakano, T., Okaichi, K., Ihara, M., & Ohnishi, T. (1996). p53 accumulation in the organs of low-dose X-ray-irradiated mice. *Cancer Letters*, 104(1), 79-84.
82. Wang, X., Matsumoto, H., Okaichi, K., & Ohnishi, T. (1996). p53 accumulation in various organs of rats after whole-body exposure to low-dose X-ray irradiation. *Anticancer Research*, 16(4a), 1671-1674.
83. Cavalcanti, M. B., Fernandes, T. S., Silva, E. B., & Amaral, A. (2015). Correlation between radiation dose and p53 protein expression levels in human lymphocytes. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(3), 1783-1790.
84. Hendrikse, A. S., Hunter, A. J., Keraan, M., & Blekkenhorst, G. H. (2000). Effects of low dose irradiation on TK6 and U937 cells: induction of p53 and its role in cell-cycle delay and the adaptive response. *International Journal of Radiation Biology*, 76(1), 11-21.
85. Coleman, M. A., Yin, E., Peterson, L. E., Nelson, D., Sorensen, K., Tucker, J. D., & Wyrobek, A. J. (2005). Low-dose irradiation alters the transcript profiles of human lymphoblastoid cells including genes associated with cytogenetic radioadaptive response. *Radiation Research*, 164(4 Pt 1), 369-382.
86. Szumiel, I. (1998). Monitoring and Signaling of Radiation-Induced Damage in Mammalian Cells. *Radiation Research*, 150(5), S92.
87. Luo, X., & Kraus, W. L. (2012). On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. *Genes & development*, 26(5), 417-432.
88. Kim, M. Y. (2005). Poly(ADP-ribosyl)ation by PARP-1: 'PAR-laying' NAD⁺ into a nuclear signal. *Genes & development*, 19(17), 1951-1967.
89. Kleczkowska, H. E., & Althaus, F. R. (1996). The role of poly(ADP-ribosyl)ation in the adaptive response. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 358(2), 215-221.
90. Vijayalaxmi, & Burkart, W. (1989). Effect of 3-aminobenzamide on chromosome damage in human blood lymphocytes adapted to bleomycin. *Mutagenesis*, 4(3), 187-189.

91. Wiencke, J. K., Afzal, V., Olivieri, G., & Wolff, S. (1986). Evidence that the [3H]thymidine-induced adaptive response of human lymphocytes to subsequent doses of X-rays involves the induction of a chromosomal repair mechanism. *Mutagenesis*, 1(5), 375-380.
92. Sampath, H., Vartanian, V., Rollins, M. R., Sakumi, K., Nakabeppu, Y., & Lloyd, R. S. (2012). 8-Oxoguanine DNA Glycosylase (OGG1) Deficiency Increases Susceptibility to Obesity and Metabolic Dysfunction. *Plos One*, 7(12), e51697.
93. Toprani, S. M., & Das, B. (2015). Radio-adaptive response of base excision repair genes and proteins in human peripheral blood mononuclear cells exposed to gamma radiation. *Mutagenesis*, 30(5), 663-676.
94. Hao, W., Qi, T., Pan, L., Wang, R., Zhu, B., Aguilera-Aguirre, L., Boldogh, I. (2018). Effects of the stimuli-dependent enrichment of 8-oxoguanine DNA glycosylase1 on chromatinized DNA. *Redox Biology*, 18, 43-53.
95. Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*, 15(7), 1957-1997.
96. Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 956792.
97. Azzam, E. I., Jay-Gerin, J. P., & Pain, D. (2012). Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer Letters*, 327(1-2), 48-60.
98. Mortazavi, S. A. R., Mortazavi, G., Haghani, M., & Mortazavi, S. M. J. (2016). Oxidative Stress, a Bridge that Links Radioadaptive Responses Induced by Ionizing Radiation to Those Induced by Non-Ionizing Radiation. *Reactive Oxygen Species*, 1(3).
99. Ott, M., Gogvadze, V., Orrenius, S., & Zhivotovsky, B. (2007). Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis*, 12(5), 913-922.
100. Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2011). NF- κ B in immunobiology. *Cell Research*, 21(2), 223-244.
101. Sisakht, M., Darabian, M., Mahmoodzadeh, A., Bazi, A., Shafiee, S. M., Mokarram, P., & Khoshdel, Z. (2020). The role of radiation induced oxidative stress as a regulator of radio-adaptive responses. *International Journal of Radiation Biology*, 1-16.
102. Al-Serori, H., Ferk, F., Kundi, M., Bileck, A., Gerner, C., Mišík, M., Knasmüller, S. (2018). Mobile phone specific electromagnetic fields induce transient DNA damage and nucleotide excision repair in serum-deprived human glioblastoma cells. *Plos One*, 13(4), e0193677.

103. De Iuliis, G. N., Newey, R. J., King, B. V., & Aitken, R. J. (2009). Mobile Phone Radiation Induces Reactive Oxygen Species Production and DNA Damage in Human Spermatozoa In Vitro. *Plos One*, 4(7), e6446.
104. Ni, S., Yu, Y., Zhang, Y., Wu, W., Lai, K., & Yao, K. (2013). Study of Oxidative Stress in Human Lens Epithelial Cells Exposed to 1.8 GHz Radiofrequency Fields. *Plos One*, 8(8), e72370.
105. Wu, L. L., Chiou, C.-C., Chang, P.-Y., & Wu, J. T. (2004). Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clinica Chimica Acta*, 339(1-2), 1-9.
106. Stoilov, L., Mullenders, L., Darroudi, F., & Natarajan, A. (2007). Adaptive response to DNA and chromosomal damage induced by X-rays in human blood lymphocytes. *Mutagenesis*, 22(2), 117-122.
107. Ikushima, T., Aritomi, H., & Morisita, J. (1996). Radioadaptive response: Efficient repair of radiation-induced DNA damage in adapted cells. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 358(2), 193-198.
108. Ye, N., Bianchi, M. S., Bianchi, N. O., & Holmquist, G. P. (1999). Adaptive enhancement and kinetics of nucleotide excision repair in humans. *Mutation Research/DNA Repair*, 435(1), 43-61.
109. Shi, M. H., Wu, Y., Li, L., Cai, Y. F., Liu, M., Gao, X. H., & Chen, H. D. (2017). Meta-analysis of the association between vitiligo and the level of superoxide dismutase or malondialdehyde. *Clinical and Experimental Dermatology*, 42(1), 21-29.
110. Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1-31.
111. Busch, C. J., & Binder, C. J. (2017). Malondialdehyde epitopes as mediators of sterile inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1862(4), 398-406.
112. Alkis, M. E., Bilgin, H. M., Akpolat, V., Dasdag, S., Yegin, K., Yavas, M. C., & Akdag, M. Z. (2019). Effect of 900-, 1800-, and 2100-MHz radiofrequency radiation on DNA and oxidative stress in brain. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 38(1), 32-47.
113. Deshmukh, P. S., Banerjee, B. D., Abegaonkar, M. P., Megha, K., Ahmed, R. S., Tripathi, A. K., & Mediratta, P. K. (2013). Effect of low level microwave radiation exposure on cognitive function and oxidative stress in rats. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 50(2), 114-119.
114. Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., & Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, 217(6), 1915-1928.

115. Burlaka, A., Tsybulin, O., Sidorik, E., Lukin, S., Polishuk, V., Tsehmistrenko, S., & Yakymenko, I. (2013). Overproduction of free radical species in embryonal cells exposed to low intensity radiofrequency radiation. *Experimental Oncology*, 35(3), 219-225.
116. Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1-19.
117. Fraga, C. G., Oteiza, P. I., & Galleano, M. (2014). In vitro measurements and interpretation of total antioxidant capacity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1840(2), 931-934.
118. Agarwal, A., Desai, N. R., Makker, K., Varghese, A., Mouradi, R., Sabanegh, E., & Sharma, R. (2009). Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: an in vitro pilot study. *Fertility and Sterility*, 92(4), 1318-1325.
119. Kamali, K., Taravati, A., Sayyadi, S., Gharib, F. Z., & Maftoon, H. (2018). Evidence of oxidative stress after continuous exposure to Wi-Fi radiation in rat model. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(35), 35396-35403.
120. Qin, F., Shen, T., Cao, H., Qian, J., Zou, D., Ye, M., & Pei, H. (2019). CeO(2)NPs relieve radiofrequency radiation, improve testosterone synthesis, and clock gene expression in Leydig cells by enhancing antioxidation. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 4601-4611.
121. Akşit H., A. B. (2008). Apoptozis. *YYÜ VET FAK DERG*, 19(1), 55-63.
122. Atagün G., Z. E., Gürkanlı İ. (2011). Apoptoziste Mitokondrinin Rolü. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4 (2), 49-53.
123. Çalışkan M. (2000). Apoptosis: Programlanmış Hücre Ölümleri. *Turkish Journal of Zoology*, 24, 31-35.
124. Hotchkiss, R. S., Strasser, A., McDunn, J. E., & Swanson, P. E. (2009). *Cell Death*. *New England Journal of Medicine*, 361(16), 1570-1583.
125. Yoon, J. H., & Gores, G. J. (2002). Death receptor-mediated apoptosis and the liver. *Journal of Hepatology*, 37(3), 400-410.
126. Tsujimoto, Y., & Shimizu, S. (2000). Bcl-2 family: Life-or-death switch. *FEBS Letters*, 466(1), 6-10.
127. Song, X. L., Wang, C. H., Hu, H. Y., Yu, C., & Bai, C. (2011). Microwave induces apoptosis in A549 human lung carcinoma cell line. *Chinese Medical Journal*, 124(8), 1193-1198.
128. Ozgur, E., Guler, G., Kismali, G., & Seyhan, N. (2014). Mobile phone radiation alters proliferation of hepatocarcinoma cells. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 70(2), 983-991.

129. Hou, Q., Wang, M., Wu, S., Ma, X., An, G., Liu, H., & Xie, F. (2015). Oxidative changes and apoptosis induced by 1800-MHz electromagnetic radiation in NIH/3T3 cells. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 34(1), 85-92.
130. Mortazavi, S. M. J. E., N. Mozdarani, H. Azmoonfar, R. Shokrpour, N. (2015). Induction of apoptosis by 900 MHz radiofrequency radiation emitted from a GSM mobile phone simulator in bystander Jurkat cells. *International Journal of Radiation Research*, 13(2), 181-186.
131. Wang, B., Ohyama, H., Haginoya, K., Odaka, T., Itsukaichi, H., Yukawa, O., Hayata, I. (2000). Adaptive Response in Embryogenesis. III. Relationship to Radiation-Induced Apoptosis and Trp53 Gene Status. *Radiation Research*, 154(3), 277-282.
132. Grdina, D. J., Murley, J. S., Miller, R. C., Woloschak, G. E., & Li, J. J. (2015). NF κ B and Survivin-Mediated Radio-Adaptive Response. *Radiation Research*, 183(4), 391-397.
133. Murley, J. S., Baker, K. L., Miller, R. C., Darga, T. E., Weichselbaum, R. R., & Grdina, D. J. (2011). SOD2-mediated adaptive responses induced by low-dose ionizing radiation via TNF signaling and amifostine. *Free Radical Biology & Medicine*, 51(10), 1918-1925.
134. Rödel, F., Hantschel, M., Hildebrandt, G., Schultze-Mosgau, S., Rödel, C., Herrmann, M., Voll, R. E. (2004). Dose-dependent biphasic induction and transcriptional activity of nuclear factor kappa B (NF- κ B) in EA.hy.926 endothelial cells after low-dose X-irradiation. *International Journal of Radiation Biology*, 80(2), 115-123.
135. Lödermann, B., Wunderlich, R., Frey, S., Schorn, C., Stangl, S., Rödel, F., Frey, B. (2012). Low dose ionising radiation leads to a NF- κ B dependent decreased secretion of active IL-1 β by activated macrophages with a discontinuous dose-dependency. *International Journal of Radiation Biology*, 88(10), 727-734.
136. Park, H. S., Seong, K. M., Kim, J. Y., Kim, C. S., Yang, K. H., Jin, Y.-W., & Nam, S. Y. (2013). Chronic low-dose radiation inhibits the cells death by cytotoxic high-dose radiation increasing the level of AKT and acinus proteins via NF- κ B activation. *International Journal of Radiation Biology*, 89(5), 371-377.
137. Chen, N., Wu, L., Yuan, H., & Wang, J. (2015). ROS/Autophagy/Nrf2 Pathway Mediated Low-Dose Radiation Induced Radio-Resistance in Human Lung Adenocarcinoma A549 Cell. *International Journal of Biological Sciences*, 11(7), 833-844.
138. Murley, J. S., Kataoka, Y., Weydert, C. J., Oberley, L. W., & Grdina, D. J. (2006). Delayed radioprotection by nuclear transcription factor κ B -mediated induction of manganese superoxide dismutase in human microvascular endothelial cells after exposure to the free radical scavenger WR1065. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(6), 1004-1016.

139. Khan, N. M., Sandur, S. K., Checker, R., Sharma, D., Poduval, T. B., & Sainis, K. B. (2011). Pro-oxidants ameliorate radiation-induced apoptosis through activation of the calcium–ERK1/2–Nrf2 pathway. *Free Radical Biology & Medicine*, 51(1), 115-128.
140. Mathew, S. T., Bergström, P., & Hammarsten, O. (2014). Repeated Nrf2 stimulation using sulforaphane protects fibroblasts from ionizing radiation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 276(3), 188-194.
141. Kayaalp, O. (2009). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (Onüçüncü Baskı). İstanbul: Pelikan Yayıncılık, 200-398.
142. Chinnadurai, M., Chidambaram, S., Ganesan, V., Baraneedharan, U., Sundaram, L., Paul, S. F., & Venkatachalam, P. (2011). Bleomycin, neocarzinostatin and ionising radiation-induced bystander effects in normal diploid human lung fibroblasts, bone marrow mesenchymal stem cells, lung adenocarcinoma cells and peripheral blood lymphocytes. *International Journal of Radiation Biology*, 87(7), 673-682.
143. Bolzan, A. D., & Bianchi, M. S. (2018). DNA and chromosome damage induced by bleomycin in mammalian cells: An update. *Mutation Research*, 775, 51-62.
144. Meistrich, M. L. (2019). Risks of Genetic Damage in Offspring Conceived Using Sperm Produced during Chemotherapy or Radiotherapy. *Andrology*, 8, 545–558.
145. Schlade-Bartusiak, K., Stembalska-Kozłowska, A., Bernady, M., Kudyba, M., & Sasiadek, M. (2002). Analysis of adaptive response to bleomycin and mitomycin C. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 513(1-2), 75-81.
146. Conklin, K. A. (2000). Dietary Antioxidants During Cancer Chemotherapy: Impact on Chemotherapeutic Effectiveness and Development of Side Effects. *Nutrition and Cancer*, 37(1), 1-18.
147. Austin, L. F. P. a. M. J. F. (1991). Genotoxicity of bleomycin. *Mutation Research*, 257, 127-143.
148. Sıray B, S. N. (2004). *Radyo Frekans Deney Sistemi*. Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi Kesin Raporu, TF.01/2003–62.
149. Aydin, S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, 72, 4-15.
150. Tatsumi, K., Ohashi, K., Taminishi, S., Okano, T., Yoshioka, A., & Shima, M. (2008). Reference gene selection for real-time RT-PCR in regenerating mouse livers. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 374(1), 106-110.
151. Volkmann, X., Fischer, U., Bahr, M. J., Ott, M., Lehner, F., Macfarlane, M., Bantel, H. (2007). Increased hepatotoxicity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in diseased human liver. *Hepatology*, 46(5), 1498-1508.

152. Sannino, A., Zeni, O., Romeo, S., Massa, R., Gialanella, G., Grossi, G., Scarfi, M. R. (2014). Adaptive response in human blood lymphocytes exposed to non-ionizing radiofrequency fields: resistance to ionizing radiation-induced damage. *Journal of Radiation Research*, 55(2), 210-217.
153. Mortazavi, S. M. J., Motamedifar, M., Mehdizadeh, A. R., Namdari, G., & Taheri, M. (2012). The Effect of Pre-exposure to Radiofrequency Radiations Emitted from a GSM Mobile Phone on the Suseptibility of BALB/c Mice to Escherichia coli. *Journal of Biomedical Physics and Engineering*, 2(4).
154. Haghani, M., Mortazavi, S. M. J., Sardari, D., Mosleh-Shirazi, M. A., & Mansouri, A. (2013). Assessment of the role of specific absorption rate of mobile phones on the induction of microwave-induced survival adaptive responses after exposure to lethal doses of gamma radiation. *International Journal of Radiation Research*, 11(3), 167-173.
155. Pascal, J. M. (2018). The comings and goings of PARP-1 in response to DNA damage. *DNA Repair*, 71, 177-182.
156. Ray Chaudhuri, A., & Nussenzweig, A. (2017). The multifaceted roles of PARP1 in DNA repair and chromatin remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 18(10), 610-621.
157. He, Q., Sun, Y., Zong, L., Tong, J., & Cao, Y. (2016). Induction of Poly(ADP-ribose) Polymerase in Mouse Bone Marrow Stromal Cells Exposed to 900 MHz Radiofrequency Fields: Preliminary Observations. *BioMed Research International*, 2016, 4918691.
158. Lei, X. G., Cheng, W. H., & McClung, J. P. (2007). Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. *Annual Review of Nutrition*, 27, 41-61.
159. Cheng, W. H., Ho, Y. S., Valentine, B. A., Ross, D. A., Combs, G. F., Jr., & Lei, X. G. (1998). Cellular glutathione peroxidase is the mediator of body selenium to protect against paraquat lethality in transgenic mice. *The Journal of Nutrition*, 128(7), 1070-1076.
160. Boreham, D. R., & Mitchel, R. E. J. (1991). DNA Lesions That Signal the Induction of Radioresistance and DNA Repair in Yeast. *Radiation Research*, 128(1), 19.
161. Wolff, S. (1998). The adaptive response in radiobiology: evolving insights and implications. *Environmental Health Perspectives*, 106 (1), 277-283.
162. Matsumoto, H., Takahashi, A., & Ohnishi, T. (2004). Radiation-Induced Adaptive Responses and Bystander Effects. *Biological Sciences in Space*, 18(4), 247-254.
163. Schieber, M., & Navdeep. (2014). ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Current Biology*, 24(10), R453-R462.
164. Xu, S., Chen, G., Chen, C., Sun, C., Zhang, D., Murbach, M., Xu, Z. (2013). Cell Type-Dependent Induction of DNA Damage by 1800 MHz Radiofrequency Electromagnetic Fields Does Not Result in Significant Cellular Dysfunctions. *Plos One*, 8(1), e54906.

165. Lantow, M., Lupke, M., Frahm, J., Mattsson, M. O., Kuster, N., & Simko, M. (2006). ROS release and Hsp70 expression after exposure to 1,800 MHz radiofrequency electromagnetic fields in primary human monocytes and lymphocytes. *Radiation and Environmental Biophysics*, 45(1), 55-62.
166. Luukkonen, J., Hakulinen, P., Mäki-Paakkanen, J., Juutilainen, J., & Naarala, J. (2009). Enhancement of chemically induced reactive oxygen species production and DNA damage in human SH-SY5Y neuroblastoma cells by 872MHz radiofrequency radiation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 662(1), 54-58.
167. Kesari, K. K., Kumar, S., & Behari, J. (2011). 900-MHz microwave radiation promotes oxidation in rat brain. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 30(4), 219-234.
168. Kumar, S., Kesari, K. K., & Behari, J. (2010). Evaluation of genotoxic effects in male Wistar rats following microwave exposure. *Indian Journal of Experimental Biology*, 48(6), 586-592.
169. Kesari, K. K., Meena, R., Nirala, J., Kumar, J., & Verma, H. N. (2014). Effect of 3G Cell Phone Exposure with Computer Controlled 2-D Stepper Motor on Non-thermal Activation of the hsp27/p38MAPK Stress Pathway in Rat Brain. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 68(2), 347-358.
170. Hong, M.-N., Kim, B.-C., Ko, Y.-G., Lee, Y.-S., Hong, S.-C., Kim, T., Lee, J.-S. (2012). Effects of 837 and 1950 MHz radiofrequency radiation exposure alone or combined on oxidative stress in MCF10A cells. *Bioelectromagnetics*, 33(7), 604-611.
171. Santini, S. J., Cordone, V., Falone, S., Mijit, M., Tatone, C., Amicarelli, F., & Di Emidio, G. (2018). Role of Mitochondria in the Oxidative Stress Induced by Electromagnetic Fields: Focus on Reproductive Systems. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1-18.
172. Del Rio, D., Stewart, A. J., & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316-328.
173. Irmak, M. K., Fadilloğlu, E., Güleç, M., Erdoğan, H., Yağmurca, M., & Akyol, Ö. (2002). Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits. *Cell Biochemistry and Function*, 20(4), 279-283.
174. Ferreira, A. R., Bonatto, F., De Bittencourt Pasquali, M. A., Polydoro, M., Dal-Pizzol, F., Fernández, C., Moreira, J. C. F. (2006). Oxidative stress effects on the central nervous system of rats after acute exposure to ultra high frequency electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 27(6), 487-493.
175. Huang, T.-Q., Lee, M. S., Oh, E., Zhang, B.-T., Seo, J.-S., & Park, W.-Y. (2008). Molecular responses of Jurkat T-cells to 1763 MHz radiofrequency radiation. *Molecular Responses to Non-Ionizing Radiation*, 84(9), 734-741.

176. Ana, Pavicic, I., Lovakovic, B. T., Pizent, A., & Trosic, I. (2017). In vitro non-thermal oxidative stress response after 1800 MHz radiofrequency radiation. *General physiology and biophysics*, 36(04), 407-414.
177. Ragy, M. M. (2015). Effect of exposure and withdrawal of 900-MHz-electromagnetic waves on brain, kidney and liver oxidative stress and some biochemical parameters in male rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 34(4), 279-284.
178. Yousri, R. (2011). Evaluation of Anti-Oxidant Status and Radioprotective Activity of a Novel Anti-Cancer Drug in Mice. *Journal of Cancer Therapy*, 02, 616-628.
179. Zuo, L., Zhou, T., Pannell, B. K., Ziegler, A. C., & Best, T. M. (2015). Biological and physiological role of reactive oxygen species--the good, the bad and the ugly. *Acta Physiologica*, 214(3), 329-348.
180. Bravard, C. L. E. M. A. (1999). Contribution of antioxidant enzymes to the adaptive response to ionizing radiation of human lymphoblasts. *International Journal of Radiation Biology*, 75(5), 639-645.
181. Miura, Y. (2004). Oxidative stress, radiation-adaptive responses, and aging. *Journal of Radiation Research*, 45(3), 357-372.
182. 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 pigs. *Brain Research*, 1169, 120-124.
183. Sokolovic, D., Djindjic, B., Nikolic, J., Bjelakovic, G., Pavlovic, D., Kocic, G., Pavlovic, V. (2008). Melatonin Reduces Oxidative Stress Induced by Chronic Exposure of Microwave Radiation from Mobile Phones in Rat Brain. *Journal of Radiation Research*, 49(6), 579-586.
184. Akbari, A., Jelodar, G., & Nazifi, S. (2014). Vitamin C protects rat cerebellum and encephalon from oxidative stress following exposure to radiofrequency wave generated by a BTS antenna model. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 24(5), 347-352.
185. Turan, R., Yagmurdu, H., Kavutcu, M., & Dikmen, B. (2007). Propofol and tourniquet induced ischaemia reperfusion injury in lower extremity operations. *European Journal of Anaesthesiology*, 24(2), 185-189.
186. Rani, V., Deep, G., Singh, R. K., Palle, K., & Yadav, U. C. S. (2016). Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sciences*, 148, 183-193.
187. Zhu, N., Liu, R., He, L.-X., Mao, R.-X., Liu, X.-R., Zhang, T., Li, Y. (2019). Radioprotective Effect of Walnut Oligopeptides Against Gamma Radiation-Induced Splenocyte Apoptosis and Intestinal Injury in Mice. *Molecules*, 24(8), 1582.

188. Hutcheson, R., & Rocic, P. (2012). The Metabolic Syndrome, Oxidative Stress, Environment, and Cardiovascular Disease: The Great Exploration. *Experimental Diabetes Research*, 1-13.
189. Miura, Y., & Endo, T. (2010). Survival responses to oxidative stress and aging. *Geriatrics & Gerontology International*, 10, S1-S9.
190. Murrell, G. A. C., Francis, M. J. O., & Bromley, L. (1990). Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochemical Journal*, 265(3), 659-665.
191. Schreck, R., Rieber, P., & Baeuerle, P. A. (1991). Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *The EMBO journal*, 10(8), 2247-2258.
192. Vousden, K. H., & Lu, X. (2002). Live or let die: the cell's response to p53. *Nature Reviews Cancer*, 2(8), 594-604.
193. Candas, D., Fan, M., Nantajit, D., Vaughan, A. T., Murley, J. S., Woloschak, G. E., Li, J. J. (2013). CyclinB1/Cdk1 phosphorylates mitochondrial antioxidant MnSOD in cell adaptive response to radiation stress. *Journal of Molecular Cell Biology*, 5(3), 166-175.
194. Azimian, H., Bahreyni-Toossi, M., Rezaei, A., Rafatpanah, H., Hamzehloei, T., & Fardid, R. (2015). Up-regulation of Bcl-2 expression in cultured human lymphocytes after exposure to low doses of gamma radiation. *Journal of Medical Physics*, 40(1), 38-44.
195. Wei, L. C., Ding, Y. X., Liu, Y. H., Duan, L., Bai, Y., Shi, M., & Chen, L. W. (2012). Low-dose radiation stimulates Wnt/ β -catenin signaling, neural stem cell proliferation and neurogenesis of the mouse hippocampus in vitro and in vivo. *Current Alzheimer Research*, 9(3), 278-289.
196. Wang, X., Wei, L., Cramer, J. M., Leibowitz, B. J., Judge, C., Epperly, M., Yu, J. (2015). Pharmacologically blocking p53-dependent apoptosis protects intestinal stem cells and mice from radiation. *Scientific Reports*, 5(1), 8566.
197. Liu, C., Tanaka, K., Katsube, T., Varès, G., Maruyama, K., Ninomiya, Y., Wang, B. (2020). Altered Response to Total Body Irradiation of C57BL/6-Tg (CAG-EGFP) Mice. *Dose-Response*, 18(3), 155932582095133.
198. Mohammadi, S., Taghavi-Dehaghani, M., Gharaati, M. R., Masoomi, R., & Ghiassi-Nejad, M. (2006). Adaptive Response of Blood Lymphocytes of Inhabitants Residing in High Background Radiation Areas of Ramsar- Micronuclei, Apoptosis and Comet Assays. *Journal of Radiation Research*, 47(3/4), 279-285.
199. Gandhi, N. M. (2018). Cellular adaptive response and regulation of HIF after low dose gamma-radiation exposure. *International Journal of Radiation Biology*, 94(9), 809-814.
200. Gong, S. L., Liu, S. C., Liu, J. X., Zhang, Y. C., & Liu, S. Z. (2000). Adaptive response of thymocyte apoptosis and cell cycle progression induced by low dose X-ray irradiation in mice. *Biomedical and Environmental Sciences*, 13(3), 180-188.

201. Guéguen, Y., Bontemps, A., & Ebrahimian, T. G. (2019). Adaptive responses to low doses of radiation or chemicals: their cellular and molecular mechanisms. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76(7), 1255-1273.
202. Mikhailov, V. F., Shulenina, L. V., Raeva, N. F., Vasilieva, I. M., Saleeva, D. V., Neznanova, M. V., & Zasukhina, G. D. (2019). The Effect of Low Doses of Ionizing Radiation on Expression of Genes and Noncoding RNA in Normal and Malignant Human Cells. *Cell and Tissue Biology*, 13(6), 423-433.
203. Pearce, M. S., Salotti, J. A., Little, M. P., McHugh, K., Lee, C., Kim, K. P., Berrington De González, A. (2012). Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study. *The Lancet*, 380(9840), 499-505.
204. Brenner, D. J., Doll, R., Goodhead, D. T., Hall, E. J., Land, C. E., Little, J. B., Zaider, M. (2003). Cancer risks attributable to low doses of ionizing radiation: Assessing what we really know. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(24), 13761-13766.
205. Puckett, Y., & Nappe, T. M. (2020). *Ionizing Radiation*. In StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright , StatPearls Publishing LLC.
206. Wang, X., Ohnishi, K., Takahashi, A., & Ohnishi, T. (1998). Poly(ADP-ribosyl)ation is required for p53-dependent signal transduction induced by radiation. *Oncogene*, 17(22), 2819-2825.
207. Cheng, G. H., Wu, N., Jiang, D. F., Zhao, H. G., Zhang, Q., Wang, J. F., & Gong, S. L. (2010). Increased levels of p53 and PARP-1 in EL-4 cells probably related with the immune adaptive response induced by low dose ionizing radiation in vitro. *Biomedical and Environmental Sciences*, 23(6), 487-495.
208. Noren Hooten, N., Kompaniez, K., Barnes, J., Lohani, A., & Evans, M. K. (2011). Poly(ADP-ribose) Polymerase 1 (PARP-1) Binds to 8-Oxoguanine-DNA Glycosylase (OGG1). *Journal of Biological Chemistry*, 286(52), 44679-44690.
209. Tempka, D., Tokarz, P., Chmielewska, K., Kluska, M., Pietrzak, J., Rygielska, Ż., Robaszkiewicz, A. (2018). Downregulation of PARP1 transcription by CDK4/6 inhibitors sensitizes human lung cancer cells to anticancer drug-induced death by impairing OGG1-dependent base excision repair. *Redox Biology*, 15, 316-326.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı**

Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

**Sayın Doç. Dr. Elçin ÖZGÜR BÜYÜKATALAY
Biyofizik Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi**

Araştırmacı grubu Elçin ÖZGÜR BÜYÜKATALAY, Mohammadreza DASTOURİ ve Yusuf KÜÇÜKBAGRIÇIK'tan oluşan G.Ü.ET-19.038 kod numaralı ve **"Bleomisinin Genotoksik Hasarına Karşı in vivo Radyo Frekans Alan Uygulamanın Oluşturduğu Adaptif Cevabın DNA Onarım Mekanizmalarında Görev Alan Genlerde Araştırılması"** başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-19.038 and entitled **"Investigation of the DNA Repair Mechanisms Genes for the Adaptive Response due to in vivo Radio Frequency Field Application Against Genotoxic Damage of Bleomycin"** is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Fare Swiss Albino
Hayvan Sayısı : 30

Ek: 1 Liste

EK-1. (devam) Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ	
TOPLANTI TARİHİ :28/06/2019	TOPLANTI SAYISI : 05
ADI-SOYADI	İMZA
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ	
Doç.Dr.Emre BARIŞ	
Doç.Dr.İpek SÜNTAR	
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR	
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KÜÇÜKBAĞRIÇIK Yusuf
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik ABD	2021
Yüksek Lisans	Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Biyofizik ABD	2011
Lisans	Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü	2008

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2016- devam ediyor	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik ABD	Araştırma Görevlisi
2015-2016	Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik ABD	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

Uluslararası dergilerdeki yayınlar:

- 1) Ayaz, M, Guney O, Erdi F, Kucukbagriacik Y. Electrophysiology of papillary muscle in sah: changes and nacetylcyteine protection. J Interv. Card. Electrophysiology. 2009 Nov;26(2):95-100.
- 2) Kökçam SS, Tekin S, Kartal A, Ayaz M, Sahin M, Acar F, Cakir M, Kucukbagriacik Y. Effect of sex steroids on soleus muscle response in hypocalcemic medium. J Surg Res. 2013 Mar;doi: 10.1016/j.jss.2013.02.029.

- 3) Ayaz M, Akand M, Kucukbagriacik Y, Dursunoglu D. The effects of estradiol on cardiac muscle electrophysiology in orchiectomized rat model: a new insight to side effects caused by castration. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2015 Aug;19(15):2866-74.
- 4) Akyüz Özkan E, Göçmen AY, Küçükbağrıaçık Y, Akyüz M. Serum Levels of Trace Elements, Vitamin D and Oxidant Status in Children with Asthma. J Basic Clin Health Sci. 2019; 3:63-68.

Ulusal yayınlar

- 1) Ayaz M, Barışkaner H, Baysal H, Küçükbağrıaçık Y. Arı zehirinin kardiyotoksik etkisi: in-vitro çalışma. Selçuk Tıp Dergisi. 2009 25(1):1-6.
- 2) Yusuf Küçükbağrıaçık, Elçin Özgür Büyükatalay. Yeni nesil cep telefonu frekansları ve biyolojik etkileri. Genel Tıp Dergisi. 2021 GTD-01647.

Kongre poster ve sözlü bildirileri:

i. Uluslararası:

- 1) Y. Kucukbagriacik, M. Ayaz, D. Dursunoglu. The effect of 17-Beta Estradiol on the male rat heart electrophysiological parameters. European Human Genetics Conference. Paris, France June 8-11, 2013 21(2):J04.28.
- 2) M.R. Dastouri, Y. Bağrıaçık, A. Can, B. İnan, A.R.Akar. Isolation, Identification and in vitro Characterization of C-Kit (+) Lin (-) Cardiac Progenitor Cells From Human Heart Tissue. International Symposium on Cellular Therapy in Cardiovascular Medicine: Stem Cell Opportunity. Ankara, Turkey October 30 November 01, 2019 P:14.

ii. Ulusal:

- 1) Ayaz M, Küçükbağrıaçık Y. 17 beta estradiolün erkek sıçan kalbi elektrofizyolojik yanıtları üzerine etkileri. XXIII. Ulusal Biyofizik Kongresi. 13-16 Eylül, 2011, Edirne, Özet: Bildiri Kitapçığı, (Sözlü Bildiri) sayfa: 20.
- 2) Küçükbağrıaçık Y, Zamani A, Durakbaşı G, Ayaz M. Kronik Sodyum Selenit Uygulamasının Diyabetle Bozulmuş Kv Protein Ekspresyonu Üzerine Etkileri. XX. Ulusal Biyofizik Kongresi, Mersin, 2008, Özet Kitapçığı (Poster) S:40.
- 3) Ayaz M, Güney AÖ, Erdi MF, Küçükbağrıaçık Y. Subaraknoid Kanama Modellerinde Gözlenen Kardiyak Değişimlerin Elektrofizyolojik Yöntemlerle İncelenmesi. XX. Ulusal Biyofizik Kongresi, Mersin, 2008, Özet Kitapçığı (Poster) S:25.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..