

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**



**2-2.45 GHZ MİKRODALGA FREKANSININ (MW)
OLUŞTURDUĞU ELEKTROMANYETİK ALANIN (EMA)
RAT HSP 25 VE GLUTATYON DÜZEYLERİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Atakan ERİŞGİN

Danışman
Prof. Dr. Birşen BİLGİCİ

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.21.013 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Atakan ERIŞGİN tarafından, Prof. Dr. Birşen BİLGİCİ danışmanlığında hazırlanan “2-2.45 GHZ MİKRODALGA FREKANSININ (MW) OLUŞTURDUĞU ELEKTROMANYETİK ALANIN (EMA) RAT HSP 25 VE GLUTATYON DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 8.7.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Birşen BİLGİCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı		☐
			Kabul
			☐
			Ret
Üye	Prof. Dr. Nermin KILIÇ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı		☐
			Kabul
			☐
			Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Cansel ÖZMEN Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyokimya Ana Bilim Dalı		☐
			Kabul
			☐
			Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☐

İmza
13/06 / 2022
Atakan ERİŞGİN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : 2-2.45 GHZ MİKRODALGA FREKANSININ (MW) OLUŞTURDUĞU ELEKTROMANYETİK ALANIN (EMA) RAT HSP 25 VE GLUTATYON DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 13/06/2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 18

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

İmza
13 /06 / 2022
Prof. Dr. Birşen BİLGİCİ

ÖZET

2-2.45 GHZ MİKRODALGA FREKANSININ (MW) OLUŞTURDUĞU ELEKTROMANYETİK ALANIN (EMA) RAT HSP 25 VE GLUTATYON DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Atakan ERİŞGİN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Haziran/2022
Danışman: Prof. Dr. Birşen BİLGİCİ

Elektromanyetik alan(EMA), maruz kalma sonucu hücre düzeyinde oluşan hasar, reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından hücresel protein ve lipid yapılarının oksidan hasarına bağlı olarak gerçekleşebilmekte ve sonuçta birçok hastalık meydana gelebilmektedir. Isı şoku proteinleri (HSP), strese yanıtta kritik rolleri nedeniyle evrimsel olarak korunan moleküler şaperonlardır. Glutatyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptittir. Heat shock protein 25 (HSP25)'in aşırı ekspresyonunda glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz enzimlerinde artış olmaktadır. Bu enzimler glutatyon disülfid (GSSG) ve GSH oluşumunu katalizlemektedir. İki proteinin bu ilişkileri nedeniyle çalışmamızda GSH ve HSP25 düzeylerini inceledik.

Çalışmamız, 2-2.45 GHz mikrodalga (MW) frekansında EMA (Elektromanyetik Alan)'ya maruz kalan sıçanın beyin dokusu ve serumunda, HSP25 ve GSH'nin oluşabilecek oksidatif strese karşı etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda yaşları 2-3 ay arasında değişen, 250-300 gram ağırlığındaki 24 adet Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, 60 gün boyunca günde bir saat maksimum 0,00208 W/kg SAR değerinde, 3 V/m elektrik alana maruz bırakıldı. 60 gün sonunda sakrifiye işlemi yapılarak sıçanların, prefrontal korteks, hipotalamus ve periferik kanı alındı. Bu dokuların, ELISA yöntemi kullanılarak, HSP25 ve GSH düzeyleri analiz edildi. Elde edilen verilere göre uyguladığımız doz ve sürede EMA'ya maruz kalan deney grubunda, HSP25 düzeyi prefrontal korteks ve hipotalamusta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gözlenmezken; serum örneklerinde ise kontrol grubuna göre anlamlı bir azalış tespit edildi ($p<0,05$). GSH düzeyi prefrontal korteks, hipotalamus ve serum örneklerinde EMA grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi. Literatürde EMA kaynaklı oluşan oksidatif stres ve glutatyon ile ilgili anlamlı çalışmalar bulunmaktadır. Ancak bizim çalışmamızdaki SAR değeri literatürdeki çalışmalara göre düşük olduğundan çalıştığımız örneklerde GSH düzeyinde kontrol grubuna göre anlamlı bir fark gözlenmedi, serum örneklerinde HSP25'in anlamlı azalması ise HSP25'in literatürde bulunan etki mekanizması dışında farklı bir etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Elektromanyetik alan, HSP 25, Glutatyon, Oksidatif Stres

ABSTRACT

EFFECT OF ELECTROMAGNETIC FIELD (EMA) CREATED BY 2-2,45 GHZ MICROWAVE FREQUENCY ON RAT HSP 25 AND GLUTATHION LEVELS

Atakan ERİŞGİN

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Biochemistry

Master, June/2022

Supervisor: Prof. Dr. Birşen BİLGİCİ

Electromagnetic field (EMA), damage at the cellular level as a result of exposure can occur due to oxidant damage of cellular protein and lipid structures by reactive oxygen species (ROS), and as a result, many diseases may occur. evolutionarily conserved molecular chaperones. Glutathione (GSH); It is a tripeptide consisting of glutamic acid, cysteine and glycine. In overexpression of heat shock protein 25 (HSP25), glutathione peroxidase and glutathione reductase enzymes increase. These enzymes catalyze the formation of glutathione disulfide (GSSG) and GSH. Because of these relationships of the two proteins, we examined the levels of GSH and HSP25 in our study.

Our study aimed to investigate the effects of HSP25 and GSH against oxidative stress that may occur in the brain tissue and serum of rats exposed to EMA (Electromagnetic Field) at 2-2.45 GHz microwave (MW) frequency. In our study, 24 male Wistar rats aged between 2-3 months and weighing 250-300 grams were used. Rats were exposed to an electric field of 3 V/m with a maximum SAR of 0.00208 W/kg for one hour per day for 60 days. At the end of 60 days, the prefrontal cortex, hypothalamus and peripheral blood of the rats were taken by sacrificing. HSP25 and GSH levels of these tissues were analyzed using the ELISA method. According to the data obtained, there was no significant difference in the HSP25 level in the prefrontal cortex and hypothalamus compared to the control group in the experimental group exposed to EMF at the dose and time we applied; A significant decrease was detected in serum samples compared to the control group. ($p < 0.05$). No significant change was detected in the GSH level in the prefrontal cortex, hypothalamus and serum samples in the EMA group compared to the control group. There are significant studies in the literature about oxidative stress and glutathione caused by EMA. However, since the SAR value in our study was lower than the studies in the literature, no significant difference was observed in the GSH level in the samples we studied compared to the control group.

Keywords: Electromagnetic field, HSP 25, Glutathione, Oxidative Stress

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalışmamın her aşamasında bana yön gösteren, desteğini ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum değerli danışman hocam Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Birşen BİLGİCİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın deney sürecinde bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Ayşegül AKAR'a, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL'e ve Mühendislik Fakültesi Telekomünikasyon Anabilim Dalı Dr. Öğrt. Üyesi Begüm KORUNUR ENGİZ'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca yardım ve desteklerini her zaman hissettiğim kıymetli hocalarım Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Nermin KILIÇ ve Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Bahattin AVCI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında desteklerini esirgemeyen arkadaşım Arş. Gör. Sebati Sinan ÜRKMEZ'e, teşekkür ederim. Tez sürecim boyunca deneyim ve desteğini esirgemeyen arkadaşım Arş. Gör. Dr. Adem KOCAMAN'a teşekkür ederim. Tezimin istatistiğinde yardımlarından ötürü Arş.Gör. Zeynep AKÇA ANDI' ya teşekkür ederim. Tez sürecimin her aşamasında uzun süren uğraşlarda daima yanımda olan ışığı ile hayatımı aydınlatan sevgili eşim Büşra Nur ÖZCAN ERİŞGİN'e sonsuz teşekkür ederim.

Atakan ERİŞGİN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KONU VE LİTERATÜR ÖZETİ.....	2
2.1. Radyasyon.....	2
2.1.1. İyonlaştırıcı Elektromanyetik Radyasyon	2
2.1.2. İyonlaştırıcı Olmayan Elektromanyetik Radyasyon	2
2.2. Elektromanyetik dalga ve elektromanyetik alan	2
2.2.1. Elektromanyetik Dalgalar	2
2.2.2. Elektromanyetik Alan	3
2.2.3. Elektromanyetik Spektrum	4
2.2.4. Özgül Soğrulma Oranı (SAR).....	4
2.3. Kablosuz iletişim sistemleri	6
2.3.1. Kablosuz LAN sistemleri.....	6
2.4. Serbest Radikaller	7
3. MATERYAL VE METOD.....	25
3.1. Kullanılan Materyaller	25
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	25
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar	25
3.1.3. Kullanılan Kitler	25
3.1.4. Çalışma Popülasyonunun Özellikleri.....	26
3.2. Deneyin Yapılışı	26
3.2.1. EMA Uygulanması	26
3.2.2. SAR değerinin hesaplanması	28
3.2.3. Deneyin Sonlandırılması ve Numune Alımı	29
3.2.4. Biyokimyasal Analizler	31
4. BULGULAR.....	35
4.1. HSP 25 düzeyi.....	36
4.1.1. Prefrontal bölgede HSP 25 düzeyinin değerlendirilmesi	36
4.1.2. Hipotalamusta HSP 25 düzeyinin değerlendirilmesi	37
4.1.3. Seruma ait HSP 25 düzeyinin değerlendirilmesi	38
4.2. Glutasyon Düzeyi	38
4.2.1. Prefrontal bölgeye ait glutasyon düzeyinin değerlendirilmesi	38
4.2.2. Hipotalamusa ait glutasyon düzeyinin değerlendirilmesi.....	39
4.2.3. Seruma ait glutasyon düzeyinin değerlendirilmesi.....	40
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ	44
KAYNAKLAR	45



SİMGELER VE KISALTMALAR

4-HNE	:4-Hidroksinonoal
FAD	:Flavin adenin dinükleotid
GHT	:Glutasyon-S-transferaz
GSH	:Glutasyon
GSH-PX	:Glutasyon peroksidaz
GSSG	:Okside Glutasyon
H ₂ O ₂	:Hidrojen peroksit
HSP	:Isı şok proteini
HSP25	:Isı şok proteini 25
HSP70	:Isı şok proteini 70
LAN	:Yerel alan ağı
MDA	:Malondialdehit
NADPH	:Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NIC	:Kablosuz ağ ünitesi
O ₂	:Moleküler oksijen
'O ₂	:Singlet oksijen
O ₂ ⁻	:Süper oksit radikali
PC	:Bilgisayar
PDA	:Kişisel sayısal yardımcı
PRX	:Peroksiredoksin
RF	:Radyo frekansı
ROS	:Reaktif oksijen türü
SH	:Sülfidril grubu
SOD	:Süperoksit dismutaz
TRX	:Tiorredoksin
WLAN	:Kablosuz yerel alan ağı
XO	:Ksantin oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Dalga boyu ve frekans	3
Şekil 2.2 Elektromanyetik dalga yayılımı.....	4
Şekil 2.3 Elektromanyetik spektrum.....	5
Şekil 2.4 Alkenlere bromür eklenme tepkimesi (Kharasch vd.,1933)	8
Şekil 2.5 Peroksit etkisi.....	8
Şekil 2.6 Oksijenin indirgenme basamakları	11
Şekil 2.7 Lipid peroksidasyonu.....	15
Şekil 2.8 Glutasyon Sistemi	19
Şekil 2.9 HSP25/27 etki mekanizması	23
Şekil 2.10 HSP25/27 yapısı	24
Şekil 3.1 Monopol antenli mikrodalga sistemi	26
Şekil 3.2 Restrainerda sıçanlar.....	27
Şekil 3.3 Spektrum analiz cihazında 2,45 GHz sinyal frekansının doğrulanması	27
Şekil 3.4 Modellenmiş deneysel kurulum.....	28
Şekil 3.5 Voksel fare modellerinde elektrik alan dağılımı.....	29
Şekil 3.6 Voksel fare modellerinde SAR (10g) dağılımı	29
Şekil 3.7 Hayvanların serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) ile perfüzyon uygulaması	30
Şekil 3.8 Deney hayvanı beyni	31
Şekil 3.9 HSP 25 standart eğri regresyon grafiği.....	33
Şekil 3.10 GSH standart eğri regresyon grafiği	35
Şekil 4.1 Kontrol ve çalışma grubunda prefrontal bölge HSP25 düzeyleri	37
Şekil 4.2 Kontrol ve çalışma grubunda hipotalamus HSP25 düzeyleri	37
Şekil 4.3 Kontrol ve çalışma grubunda serum HSP25 düzeyleri	38
Şekil 4.4 Kontrol ve çalışma grubunda prefrontal bölge GSH düzeyleri.....	39
Şekil 4.5 Kontrol ve çalışma grubunda hipotalamus GSH düzeyleri.....	39
Şekil 4.6 Kontrol ve çalışma grubunda serum GSH düzeyleri	40

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 2.1 Oksijen merkezli olmayan serbest radikaller	9
Tablo 2.2 Reaktif oksijen türleri	11
Tablo 3.1 Standartların hazırlanması	32
Tablo 3.2 Standart numunelerin seyreltilmesi	34
Tablo 4.1 Gruplara ait biyokimyasal bulgular (Aritmetik Ortalama $\pm$ Standart Sapma)	36



1. GİRİŞ

Elektriğin icadı, insanların toplumsal yaşamında büyük değişiklikler meydana getirmiş, son yıllarda ise elektrik enerjisi yaygınlığı artmıştır ve gün geçtikçe insanların yaşamının merkezinde yer almaktadır. Artan sanayileşme, ekonomik koşulların iyileşmesi, insanların çok sayıda elektronik alet kullanmasına neden olmuştur. Günümüzde kullanılan bu elektirкли cihazların hepsi elektromanyetik alan (EMA) içermektedir ve büyük bir çoğunluğu Wi-Fi ile bağlantılı olarak çalışmaktadır. Kablosuz ağ iletişimi günümüzde yaygın olarak bilgisayar sistemleri tarafından kullanılmaktadır. Telekomünikasyon şirketleri, bağlantılı bireyler ve gruplar, Wi-Fi'nin sağlık üzerinde hiçbir etkisi olmadığını ve muhtemelen olmayacağını iddia etmektedir. Bununla birlikte, Wi-Fi maruziyetleri gittikçe yaygınlaşmakta ve bu maruziyetlerin büyük bir kısmının insanların rızası dışında gerçekleşmesi, Wi-Fi'nin sağlık etkilerine yönelik endişeye yol açmaktadır (ICNIRP,2009). Çocuklarda ve gençlerde daha uzun bir maruziyet süresi göz önüne alındığında EMA'nın önemi daha da artmaktadır. Mikrodalga frekanslı (MW) radyasyonun oluşturduğu EMA, biyolojik sistemlerde termal ve/veya termal olmayan etkilere yol açmaktadır (ICNIRP 2009). Termal olmayan etkinin, henüz biyolojik sistemler üzerinde hangi mekanizma üzerinden etki meydana getirdiği açıklanamamıştır bununla birlikte bu olgu halen tartışma konusudur (ICNIRP, 2009). Sağlık üzerine etkiler göz önüne alındığında oksidatif stresin Wi-Fi maruziyetinin sonuçlarından biri olduğu öne çıkmaktadır (Yakymenko vd.,2016). Elektromanyetik alanlar, elektronların enerji seviyelerini ve dönüş yönünü değiştirebilmekte ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırabilmektedir (Koher vd., 2002). Fizyolojik koşullarda meydana gelen oksidatif hasar, serbest radikalleri etkisizleştirmek için elektronlarını onlara kullandıran antioksidan moleküller tarafından azaltılmaya çalışılır. Son zamanlarda yapılan bazı araştırmalar Wi-Fi maruziyetinin deney hayvanlarının böbrek ve testislerinde antioksidan düzeylerini düşürdüğü görülmüştür (Hinrikus vd.,2018). Daha önce yapılmış olan çalışmalar doğrultusunda çalışmamızda 2,45 GHz Wi-Fi kaynaklı EMA maruziyetinin oksidatif strese yol açarak rat beyin, plazma dokuları ve serum numunelerinde antioksidan moleküller olan HSP 27/25 ve glutatyon(GSH) düzeyleri üzerine olan etkisi araştırılacaktır.

2. KONU VE LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Radyasyon

Kararsız yapıdaki atomun kararlı yapıya geçmesi için enerji ortaya çıkarması gerekmektedir. Bu enerji parçacık veya elektro manyetik alan şeklinde yayılmaktadır. Atomdan yayılan veya aktarılan bu enerjiye radyasyon denmektedir. Radyasyon; dalga, parçacık veya foton olarak yayılabilir. Ortaya çıkan enerji sonucu oluşan radyasyon aracılığı ile yayılan bu enerji, canlı vücudu tarafından soğurulmaktadır.

Atom ve moleküllerin elektron kaybetmesi sonucu iyonlaşma meydana gelmektedir. (Atar, 2008). Radyasyon iyonlaşma durumuna göre ikiye ayrılır:

2.1.1. İyonlaştırıcı Elektromanyetik Radyasyon

İyonlaştırıcı elektromanyetik radyasyon, moleküllerin birbirine kenetlenmesini sağlayan atomik bağları iyonlaştıracak güce sahip olan yüksek frekanslı ışınımlardır.

Madde ile etkileşimi sırasında, moleküllerin fonksiyonunu değiştirebilmekte veya kimyasal bağları kırarak serbest radikal oluşumuna neden olabilmektedir.

Radyasyon, madde ile etkileşebilmesi için madde özelliklerine göre farklı enerjide parçacık ya da elektromanyetik alan oluşturmaktadır. Atomun yapısında bulunan proton ve elektron yüklerini bir arada tutmakta olan yüksüz nötrona etki etmek suretiyle atomun yapısında bozulmalar meydana getirirler. En az 12 eV (elektron volt) enerji değerine sahiptirler. X ve gama ışınları bu radyasyon grubuna girmektedir. Bu gruba giren ışınlara uzun süre maruz kalınması durumunda, DNA zincir yapısının bozulması ve hücre organellerinin hasara uğraması gibi önemli sonuçlar oluşabilmektedir.

2.1.2. İyonlaştırıcı Olmayan Elektromanyetik Radyasyon

Molekülleri bir arada tutan atomik bağları iyonlaştırabilecek enerjisi olmayan fotonların meydana getirdiği elektromanyetik dalgalardır. İyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik ışınımları; radyo frekansı (RF) dalgaları, mor ötesi, mikrodalga, kızılötesi, görünür ışık, oluşturmaktadır.

2.2. Elektromanyetik dalga ve elektromanyetik alan

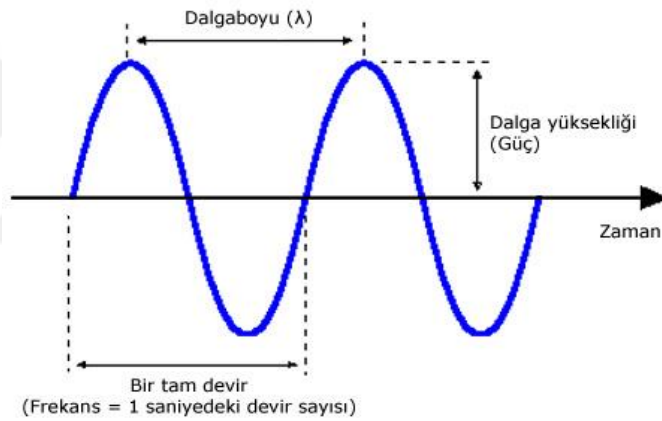
2.2.1. Elektromanyetik Dalgalar

Elektromanyetik dalga (EMD), uzayda birbirine dik olarak hareket eden elektrik

ve manyetik alanın birlikte meydana getirmiş olduğu dalgalardır. Işık hızında elektrik ve manyetik alan birlikte hareket eder.(Altun, 2001). EMA dalgaları frekans ve dalga boyları ile belirlenir. İki dalga tepesinin birbiri arasındaki mesafeye dalga boyu denmektedir ve yunanca kökenli olan lamda (λ) ile gösterilmektedir. Belirli bir noktadan saniyede geçen dalga sayısına frekans denir ve birimi Hertz (Hz)'tir. Dalga boyu ve frekans birbiriyle bağlantılı parametrelerdir ve biyolojik sistemler üzerinde birlikte veya kendi başlarına etki oluşturabilirler. Aralarında “Hız = Frekans x Dalga boyu” şeklinde bir bağıntı vardır (Şekil 1) (Altun, 2001).

EMD’lerin ilerleyişi ışık hızıyla olur ve bu ilerleme, çevre şartları ile orantılı olarak zayıflar. İlave bir etki olmaksızın ilerleme, mesafe ile ters orantılıdır.

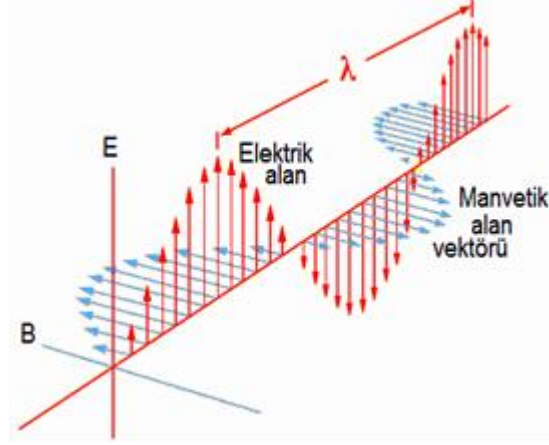
Her elektrik yükü bir elektriksel alan üretmektedir. Böylece elektrik yüklerinin birikmesiyle elektrik alanı meydana gelmektedir.



Şekil 2.1 Dalga boyu ve frekans

2.2.2. Elektromanyetik Alan

Bir elektrik yükünün başka bir yük üzerinde meydana getirdiği itme veya çekme kuvveti etkisi olarak ifade edilir. Her elektrik yükü bir elektriksel alan üretmektedir. Böylece elektrik yüklerinin birikmesiyle elektrik alanı meydana gelmektedir. Elektrik yüklerinin yer değişmesiyle elektrik akımı sirkülasyonu meydana geldiğinde manyetik alan oluşmaktadır(Zyubin vd.,2021). İyonlaştırıcı olmayan radyasyon boşlukta elektrik ve manyetik alanlar şeklinde yayılır. Elektrik akımının olduğu maddelerden yayılan elektrik alan ve manyetik alan dalgalarının meydana getirmiş olduğu alana elektromanyetik alan (EMA) denir. Vektörel olarak ifade edilir. EMA hassas cihazlar ile ölçülebilir. Tüm varlıkların bir EMA’sı vardır (Zyubin vd.,2021).



Şekil 2.2 Elektromanyetik dalga yayılımı

2.2.3. Elektromanyetik Spektrum

EMD'lerin frekanslarına göre davranışları belirlenmektedir. EMD'ler frekanslarına göre sınıflandırılırlar. Farklı dalga boyu ve frekansa sahiptirler. Bu sınıflamaya elektromanyetik spektrum (EMS) denir. Dalga boyları ve enerji miktarı, frekans ile doğrudan ilişkilidir. Dalga boyu ve frekans ters orantılıdır. Frekans arttıkça azalır, enerji miktarı ise frekans arttıkça artar (Yavuz vd., 2012).

2.2.4. Özgül Soğrulma Oranı (SAR)

EMD etkisinde kalan insan vücudunda soğurulan enerjinin etkisiyle, tüm vücut veya bazı bölgeler etkilenir. Bu termal etkilenme ısının içeride oluşmasından dolayı deri tarafından algılanamayarak sadece vücut kontrol sisteminin etkilenmesi şeklinde olur. EMD'nin frekansı ise bu etkinin bağlı olduğu bir etkidir. EMD'lerin vücut ısısının değişimindeki etkisini anlamak amacıyla standart olarak elektrik alan şiddeti, manyetik alan şiddeti ve güç yoğunluğu için değerler bulunmaktadır. Genel olarak belirlenen EMD standartları, güç yoğunluğu cinsinden ifade edilir (Bernardi vd., 2000). Radyo frekans radyasyonunun etkisi ile ilgili son kırk yılda yapılan araştırmalar, uluslararası güvenlik sınırının önemini ve gerekliliğini ortaya çıkarmıştır.

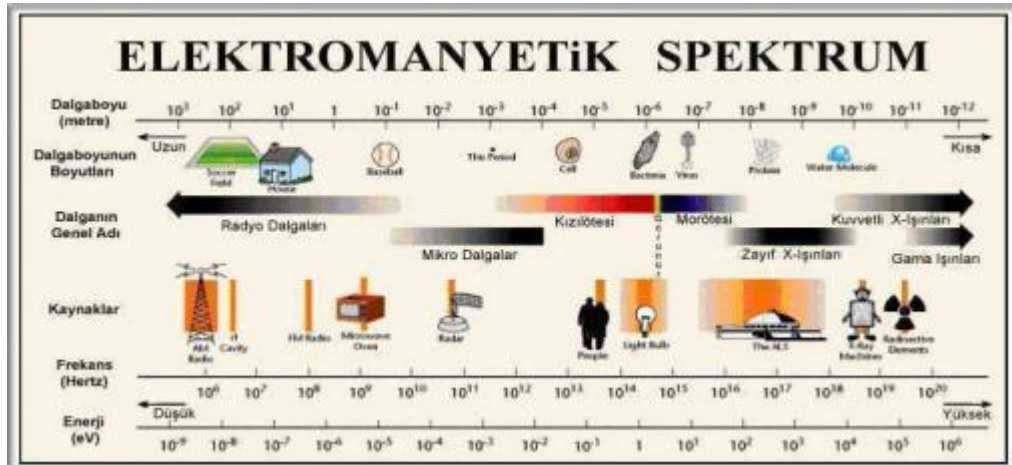
Temel olarak IEEE (Institute of Electrical and Electronics Engineers), ANSI (American National Standards Institute), ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection) ve IRPA (International Radiation Protection Agency) tarafından bir SAR (Specific Absorption Rate) belirlenmiştir.

Canlı dokunun birim kütlesince soğurulan elektromanyetik enerji miktarı “Özgül Soğrulma Oranı” (SAR) olarak adlandırılır. SAR, canlı dokunun iletkenlik, dielektrik

sabiti gibi elektriksel özelliklerine bağlıdır. EMD'nin sebep olduğu, sıcaklık artışı ve beraberinde ilişkilendirilen diğer biyolojik etkilerin ölçüm birimidir. Kilogram başına birim dokudan soğurulan enerji (W/ kg) olarak ifade edilir. SAR vücuda verilmiş olan enerjinin değerlendirmesini, bir birim zamana karşı bir birim kütle olarak verir (Bernardi vd., 2000). Dokudaki elektrik alan varlığına göre SAR değeri hesaplanır. Ancak canlı dokusunda elektrik alan ölçmek zordur. Bu nedenle parametreleri ile aynı özelliklere sahip özel jeller hazırlanır. Hazırlanan bu jeller bilgisayar ortamında modellenerek SAR değerleri hesaplanmaktadır (Bernardi vd., 2000). Tüm bu modellerde kullanılan genel amaç, soğurulan enerjiyi bulmaktır.

RF dalgaları için SAR'ın zarar oluşturabilecek minimum biyolojik etki dozu kilogram başına 4 watt olarak belirlenmiştir. Bu, vücut sıcaklığını 1°C arttıran SAR değeridir. 4 watt değerine bağlı olarak güvenli SAR sınırlarının belirlenmesine ihtiyaç duyulmuştur. Buna göre işyerlerinde 4 W/kg'nin 10 katı, genel olarak halk sağlığı için 50 katı düşük seviyede olması gerektiği tespit edilmiş, işyerleri için 0.4 W/kg, genel yerler için 0.08 W/kg değerleri güvenilirlik sınırı olarak kabul edilmiştir. Kabul edilen bu limitler dokuda soğurulan ve ısıya dönüşen güç ile ilişkilidir (Baker vd.,2004).

Amerika Birleşik Devletleri'nde bu sınır değerler IFCC (International Federal Communications Commission) tarafından belirlenmekte ve bu sınır değerlerin belirlenmesinde IEEE ve ANSI tarafından oluşturulan standart değerler referans olarak alınmaktadır.



Şekil 2.3 Elektromanyetik spektrum

2.3. Kablosuz iletişim sistemleri

Günümüzde yaygın olarak kullanılan kablosuz iletişim, yapısal olarak kablolu ve fiberoptik iletişim yapıları ile benzerlik göstermektedir. Kablosuz iletişim teknolojisinde bir ağ yapısı şeklinde bağlantı sağlanmaktadır (Gezgin vd., 2018). Kablosuz iletişimi, kablolu ve fiberoptik iletişim yapılarından ayıran en önemli özellik iletim havada belli frekansta elektromanyetik dalga iletilmesidir. Birden fazla bilgisayarın birbirine bağlanması için oluşturduğu en küçük ağ yapısına yerel alan ağı (LAN) denir (Kim vd., 2006). LAN'lar da bilgisayar ve ağ içerisindeki diğer cihazlar ile iletişimi sağlamak için RF veya kızıl ötesi kullanıldığında ise kablosuz yerel ağ (WLAN) denir (Kim vd., 2006). WLAN sistemleri; internet erişimi, sunucu üzerindeki uygulamaların kullanımı, aynı ağa bağlı kullanıcılar arasında elektronik posta üzerinden mesajlaşma ve dosya aktarımı gibi çeşitli olanaklar sağlamaktadır. Ayrıca WLAN sistemi kablosuz olarak çalıştığı için cadde, sokak, park ve benzeri açık alanlarda kullanılmaktadır. WLAN için evrensel düzeyde kabul edilmiş protokoller oluşturulmuştur. WLAN cihazları üreten firmalar bu protokole uygun kriterde olan cihazlar üretmektedir. (Gezgin vd., 2018).

2.3.1. Kablosuz LAN sistemleri

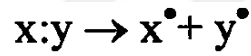
WLAN, veri iletimini elektromanyetik dalgalar ile yaptığı için kablo bağlantısı LAN sistemine göre çok daha azdır. WLAN sisteminin çalışma düzeneği iki ana yapıdan oluşmaktadır. Bunlar AP (Access point, Erişim Noktası) ve kablosuz cihazlardır (Gezgin vd., 2018). Kablosuz cihazlar dizüstü bilgisayar, kişisel bilgisayar, tablet, oyun konsolları, televizyon gibi kablosuz ağ ünitesi ile donatılmış benzeri bir cihaz olabilir. WLAN yayılımını sağlayan cihazın erişim noktası kablolu ağa bağlanır ve diğer kullanılacak elektronik cihazların kablosuz olarak ağ hizmetinden faydalanması sağlanır (Kim vd., 2006). WLAN sistemlerinde 2,4 GHz ve 5 GHz aralığında yüksek frekanslı RF sinyali yayılmaktadır. Bu aralıktaki RF sinyali katı cisimlere nüfuz edebilir ve geçebilir. Ancak bütün katı cisimlerde sinyalin enerjisi aynı değerde değildir. Cisimlerde kullanılan hammaddeye bağlı olarak sinyal gücünde değişiklikler gözlemlenir (Küçükünsal vd., 2005). WLAN, cep telefonu, bilgisayar gibi aygıtların kullanımı için belirli RF aralıkları belirlenmiştir. Bu cihazlar için alanlar geniş kapsam 900 MHz, 2,45 ve 5 GHz aralığındadır (Küçükünsal vd., 2005).

2.4. Serbest Radikaller

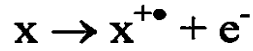
Dış yörüngelerinde en az bir eşlenmemiş elektron bulunduran iyon, molekül ve atom türlerine serbest radikal denir. Araştırmacılar reaksiyonlarda serbest radikallerin biyolojik sistemlerde üretimlerini 20. yüzyılın ortalarında tespit ettiler (Karabulut vd., 2016). Serbest radikaller; çok etkin moleküllerdir. Ancak kısa ömürlü, düşük molekül ağırlıklı, kararsız yapıdadır. Serbest radikaller değişik birçok kimyasal yapıda bulunabilirler. Serbest radikaller ($R^{\bullet}$) ile ifade edilirler. Bir ya da daha çok çiftlenmemiş elektron dizisi bulunmamaktadır. Bu elektronlar o maddenin belirli bir manyetik alana çekilmesine neden olurlar. Bu çekim sonucu oluşan reaksiyon ile birlikte reaktif meydana getirmektedir. Serbest radikaller, elektiriksel olarak nötral, pozitif veya negatif yüklü olabilirler (Zyśk vd., 2020) .

Radikallerin oluşumunda çeşitli yollar bulunumaktadır.

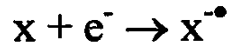
1) Kovalent bağlı bir molekülün, ortak elektronlarının homolitik olarak bölünmesi sonucunda, ortaklanmamış elektronlu molekül veya atomlar meydana gelir. Bu oluşum yoluna homolitik bölünme denir.



2) Molekülden tek bir elektronun kaybı sonucunda serbest radikal oluşur.



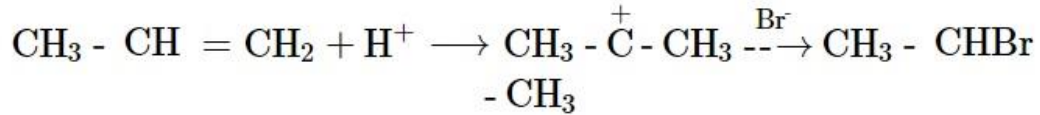
3) Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi sonucu serbest radikal oluşur.



Oksijenin merkezi sinir sistemi üzerindeki toksik etkileri (Paul Bert etkisi), oksijenin pulmoner toksisitesi (Lorrain Smith etkisi), radyosensitivite üzerinde oksijen etkisi, atomik hidrojenin izolasyonu, kanser tedavisinde X ışınlarının kullanılması, peroksitlerin keşfi, hidroksil radikallerinin üretilmesi gibi çalışmaların gerçekleşmesi ile birlikte serbest radikaller hakkında daha detaylı bilgiler elde edilmiştir. Genel olarak, çoğu serbest radikal aşırı derecede reaktiftir ve sonuç olarak kısa ömürlü türlerdir. Yüksek sıcaklıklarda gazların buhar yoğunluklarının ölçümleri, iki atomlu moleküllerin serbest atomlara ayrışabileceğini gösterse de, Bohr, bir hidrojen deşarj tüpünden yayılan spektrumun, moleküler bir hidrojen formu olarak değil, bir atomik formun emisyon spektrumu olarak yorumlanabileceğini

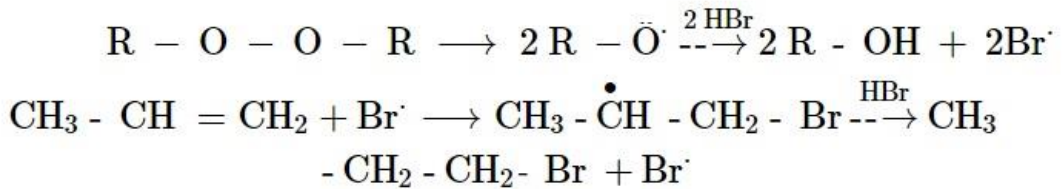
gösterdiğinde normal sıcaklıklarda hidrojen, oksijen veya klor gibi serbest atomların bağımsız varoluş olasılığı 1913'e kadar neredeyse hiç dikkate alınmadı (Bohr ,1913).

1933 yılında alkenlere hidrojen bromürün eklenmesi için serbest radikal bir mekanizma başlattılar ve bu mekanizma daha sonra diğer kimyasal sistemlere uygulanmıştır (Kharasch vd.,1933).



Şekil 2.4 Alkenlere bromür eklenme tepkimesi (Kharasch vd.,1933)

Kharasch ve Mayo, peroksitler veya hidrojen peroksit içeren alkenlerin hidrojen bromür ile reaksiyona girdiğinde, hidrojen bromürün anti-Markownikoff ilavesinin meydana geldiğini bulmuşlardır. Böylece, HBr'nin Markownikoff tepkimesinin tersi şeklinde ilave edilmesinin peroksitlerin varlığından kaynaklandığı öne sürülmüş ve ara karbon merkezli radikalın stabilize edildiği bir serbest radikal zincir ilave reaksiyon boyunca devam ettiği düşünülmüştür. Bu etki "peroksit etkisi" olarak adlandırılmıştır (Kharasch vd.,1933).



Şekil 2.5 Peroksit etkisi

Serbest radikaller üzerine yapılan araştırmalar, kauçuktan plastiğe kadar uzanan sentetik malzemelerin geliştirilmesine giden yolu açtı. Serbest radikal polimerizasyonu, kimyasal safsızlıklara ve aşırı sıcaklıklara karşı yüksek tolerans ve çok çeşitli monomerlerle (organik moleküller) kullanılabilme gibi avantajlara sahipti. Bugün serbest radikaller, kullandığımız gıda ambalajından boyaya, yapıştırıcılara, filme, halılara, borulara kadar günlük yaşantının her alanında kullanılan polimer malzemelerin üretilmesinde yer almaktadır.

Serbest radikallerin kararsız konfigürasyonda olması, proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek

salınan enerji yaratmaktadır (Rahman, 2007). Biyolojik sistemlere zarar veren serbest radikallerin geneli oksijensiz radikallerdir ve bunlar “reaktif oksijen türleri” (ROS) olarak bilinmektedir. Reaktif oksijen türleri, aerobik organizmaların hücrelerinde oluşan ana yan ürünlerdir ve otokatalitik reaksiyonları başlatabilir (Cadenas, 1989).

2.4.1. Serbest Radikal Türleri

Serbest radikalleri, merkezinde oksijen bulunmasına göre sınıflandırmak mümkündür.

2.4.1.1. Oksijen Merkezli Olmayan Serbest Radikaller

Serbest radikaller genellikle oksijen merkezli olarak bulunurlar. Ancak canlılarda karbon, kükürt, hidrojen ve demir merkezli çeşitli radikaller de bulunmaktadır.

Tablo 2.1 Oksijen merkezli olmayan serbest radikaller

Radikal	Yapısı
Karbon merkezli olanlar Lipid Radikalleri	$L\cdot$
Alkoksi Radikalleri	$R\cdot$
Kükürt Merkezli Olanlar Thiyl	$R-S\cdot$
Hidrojen Merkezli Olanlar Hidrojen Atomu	$H\cdot$
Demir Merkezli Olanlar Perferri Radikali	$Fe^{+++}-O_2-Fe^{++}$
Nitrojen kaynaklı Olanlar Nitrik oksit	NO
Fenilhidrazin radikali	$C_6H_5N=N\cdot$

2.4.1.2. Reaktif Oksijen Bileşikleri

Reaktif oksijen türleri (ROS), moleküler oksijenden türetilen çeşitli molekülleri ve serbest radikalleri tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Reaktif oksijen türleri, insanın fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerinde çok önemli bir role sahiptir. Süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit dahil olmak üzere tüm ROS, eşleşmemiş değerlik elektronlarına veya kararsız bağlara sahiptir (Inoue vd., 2003). Yüksek

konsantrasyonlarda ROS, proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerle kolayca reaksiyona girerek, çoğu zaman geri dönüşü olmayan fonksiyonel değişikliklere ve hatta tam yıkıma neden olur. Canlı metabolizmasında sürekli gerçekleşen oksidasyon-redüksiyon reaksiyonu sonucunda reaktif ROS oluşabilir. Oluşan bu ROS, canlı dokuda biyolojik bozukluğa neden olmaz. Ancak fazla üretiminde nükleik asit, enzim ve polisakkaritler üzerinde toksik etkiye sahiptirler (Eftekhari vd., 2020). Normal metabolizma esnasında gelişen oksidasyon-redüksiyon olayları sonucunda oluşan reaktif oksijen ürünleri, biyolojik bir bozukluğa neden olmazken; bazı hücrel metabolik bozukluk sonrası çok daha fazla miktarda üretilerek, membranlar, nükleik asitler, enzimler ve polisakkaritler üzerinde değişik derecelerde toksik etkiye neden olurlar. Hücrel düzeyde, ROS büyümeyi, apoptozu ve diğer sinyalleri düzenler. Sistem düzeyinde kan basıncının düzenlenmesi, bilişsel işlev ve bağışıklık işlevi gibi işlevlere de katkıda bulunmaktadır. ROS, büyüme faktörü uyarılmasına yanıtın ve inflamatuvar yanıtın oluşumuna katkı sağlar. Ayrıca patojenleri doğrudan etkisiz hale getiren bağışıklık sisteminde hayati rollere sahiptir (Brieger vd., 2012).

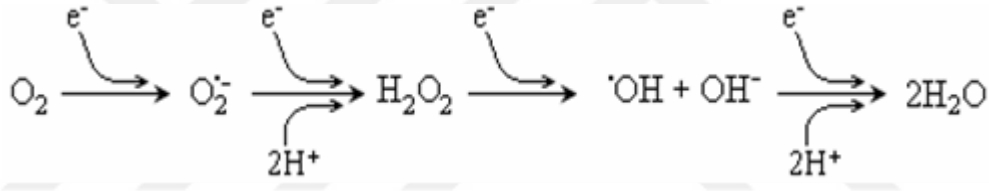
İnsanda bulunan antioksidan savunmaları, uygun ROS dengesini korumak için her zaman yeterli olmamaktadır. Ayrıca bu dengesizlik uzun süre devam ettiğinde patolojik hale gelebilir. Yaşlanma mekanizmaları, elli yıldan fazla bir süre önce yaşlanma sürecinin kısmen oksidatif hasardan kaynaklandığı önermesine yol açan serbest radikallerin katkısını içerir (Brieger vd., 2012). Oksidatif stres, genel yaşlanma süreci ve hücre ölümü ile ilişkilidir, tüm ana organ sistemlerini etkiler. ROS, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve neredeyse tüm kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere yaşa bağlı birçok hastalıkta rol oynar (Inoue vd., 2003). Oksijen merkezli serbest radikallerin başlıcaları tabloda gösterilmiştir.

Tablo 2.2 Reaktif oksijen türleri

Radikaller	Radikal olmayanlar
Hidroksil ($\cdot\text{OH}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Alkoksil ($\text{RO}\cdot$)	Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)
Peroksil ($\text{ROO}\cdot$)	Ozon (O_3)
Superoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$)	Hipokloröz asid (HOCl)
Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit ($\text{NO}_2\cdot$)	Peroksinitrit (ONOO^-)
Hidroksiperoksil ($\text{HO}_2\cdot$)	

2.4.1.2.1. Oksijen

Oksijen, dış ortamda moleküler oksijen (O_2) şeklinde bulunur. Atom numarası 8 olan kimyasal elementtir (Jones vd., 2008). Oksijen elementi, iki ortaklanmamış elektrona sahiptir. Bu elektronlar, farklı orbitallerde aynı spin yönünde iken minimum enerji seviyesindedirler. Oksijen, elektron ilgisi yüksek olan bir element olduğundan, normalde kademeli olarak dört basamakta suya indirgenir. Bu sırada tüm aerobik solunum yapan hücreler tarafından bir elektron alıcısı olarak kullanılır. (Inoue vd., 2003).



Şekil 2.6 Oksijenin indirgenme basamakları

2.4.1.2.2. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Biradikal oksijenin enerji yardımıyla elektronlarından birinin kendi dönüş yönünün zıttında başka bir orbital ile yer değiştirmesi sonucunda singlet oksijen oluşur. Singlet oksijenin eşlenmemiş elektronu bulunmaz. Bu nedenle radikal olmayan reaktif oksijen türüdür. Serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına öncülük eder. (Jones vd., 2008).

2.4.1.2.3. Süperoksit Radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$)

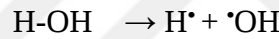
Oksijen molekülüne bir elektron eklenmesi ile süperoksit radikali oluşur.. Süperoksit radikalının üretiminin büyük bir çoğunluğu hücrenin mitokondrisinde gerçekleşir. (Kovacic vd., 2005). Süperoksit radikali, H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisidir. Artmış süperoksit düzeyleri süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile H_2O_2 ve oksijene dönüştürülerek azaltılır. Böylece hücrel süperoksit düzeyleri dengede tutulur (Kovacic vd., 2005).

2.4.1.2.4. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

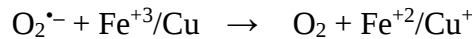
Oksijen molekülünün başka bir molekül ile reaksiyona girerek iki elektron alması sonucunda peroksit oluşur. Peroksit molekülünün iki H atomu ile reaksiyonunda H₂O₂ oluşur. O₂⁻'ye bir elektron ilavesiyle ya da O₂'ye iki elektron ilave edilmesinde de H₂O₂ meydana gelir (Flora, 2007). Hidrojen peroksitin eşlenmemiş elektronu bulunmamaktadır. Hidrojen peroksit, miyeloperoksidaz tarafından hipokloröz asite (HOCl) dönüştürülür. Bu sırada •OH radikalinin oluşmasına neden olarak ROS moleküllerinin üretilmesinde bir aracı olarak rol oynar (Flora, 2007). Bu sebep ile bir serbest radikal olmamasına rağmen biyolojik membrana nüfuz ettiği için çok önemlidir (Fang vd., 2002).

2.4.1.2.5. Hidroksil Radikali (•OH)

Hidroksil radikalinin yarı ömrü çok kısadır. Biyolojik sistemlerde hidroksil radikali birkaç şekilde oluşabilmektedir. İyonize edici radyasyona maruz kalan dokularda da hücreler tarafından soğrulan enerji sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanması sonucunda •OH radikali oluşur (Betteridge, 2000).



Geçiş metallerinden Fe⁺² ve Cu⁺ elementlerinin varlığında indirgenerek •OH 'ye dönüştürülür. Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denmektedir. Demirin serbest hale getirilmesinde öncü olan süperoksit radikali, hücre içi demir depolarından Fe⁺³ değerlikli demir iyonunu Fe⁺² değerlikli demir iyonuna dönüştürerek serbest hale gelmesini sağlar (Betteridge, 2000).



Haber-Weiss reaksiyonu: Hidrojen peroksit, Fe⁺² ve diğer geçiş elementleri (Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenerek •OH radikali oluşturur (Lloyd vd., 1997).



2.4.1.2.6. Nitrik Oksit (NO•)

Nitrik oksit veya yapısal adlandırılması nitrojen monooksit (NO) ,oksijen ve nitrojenin reaksiyona girmesi sonucu renksiz bir gazdır. Yarı ömrü çok kısadır. Lipofilik özellik göstermektedir. Süperoksit ile NO• arasındaki reaksiyon sonucu oluşan peroksinitrit, •OH radikali benzeri aktiviteye sahip olup tepkimeleri başlatmaktadır (Fang vd.,2002).

2.4.1.3. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller, endojen ve eksojen kaynaklar tarafından meydana getirilebilir. Elektron transport sistemi sırasında oksijen kaynaklı serbest radikaller yan ürün olarak oluşmaktadır. Ayrıca serbest radikaller, ksantin oksidaz (XO) ve mitokondriyel sitokrom oksidaz gibi çeşitli enzim kaynaklarından oluşabilmektedir (Sen vd., 2010). Düz kas hücrelerinde ve plateletlerde serbest radikal oluşumu gözlemlenmektedir. Ayrıca arasıdonik asit metabolizması sırasında da serbest radikaller üretilmektedir (Pham-Huy vd., 2008). Ksantin oksidaz (XO) ile nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz gibi enzimler aracılığıyla otooksidasyon sırasında endoplazmik retikulumda sitokrom p450 sisteminde meydana gelen elektronlardan serbest radikaller oluşabilir. Çevresel şartlardan kaynaklı oluşan stres durumlarında serbest radikal üretilmektedir. Ayrıca böbrek üstü bezlerde üretilen kortizol ve katekolamin gibi hormonlar, vücutta stres oluşumuna sebep olmaktadır. Strese sebep olan bu hormonların kendileri de serbest radikallere dönüşebilmektedir (Sen vd., 2010).

UV ışınlar, x-ray, gamma ışınları, mikrodalga ışınlar, pişirme sırasında organik maddelerin yakılması, orman yangınları, volkanik faaliyetler asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon ve toluen gibi hava kirliliğine sebep olan kimyasallar maddeler, temizlik ürünleri, tutkal, boya, tiner, parfümler ve böcek ilaçları gibi kimyasallar, kloroform ve diğer trihalometanlar gibi suyun kirlenmesine neden olan kimyasal maddeler, alkol ve sigara kullanımı, sigara dumanı, egzoz dumanı gibi endojen kaynaklar oksidatif stres oluşumuna neden olmaktadır (Nagendabba, 2005).

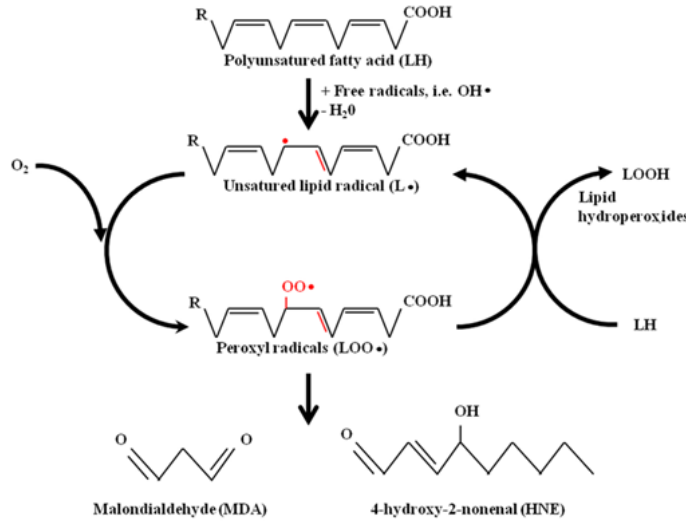
2.4.1.4. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikallerin yararlı ve zararlı birçok etkisi bulunmaktadır. Enzimatik reaksiyonların sürdürülebilirliği için serbest oksijen radikalleri gereklidir. Düşük yoğunluklarda serbest radikallerin yararlı etkilerinden söz etmek mümkündür. Serbest

oksijen radikalleri, fagositoz aracılığı ile oluşan enfeksiyonlara karşı savunma, lenfositler ve makrofajlar ile birlikte kanser hücrelerini etkisiz hale getirme, sitokrom p450 enzim ailesi tarafından ksenobiyotiklerin detoksasyonu, hücreler için gerekli ATP'nin üretilmesi, nükleer faktör kappa B (NF-kB) aktivasyonu, hücrenin intrasellüler tarafından Ca'nın salınımı, büyüme faktörünün uyarılmasında önemli rolleri bulunmaktadır (Ayala vd., 2014).

Nükleik asit, lipit, karbonhidrat, protein gibi canlılarda bulunan tüm moleküller ile serbest radikaller tepkimeye girmektedir. Tepkime sonucunda farklı bir radikal meydana gelmektedir. Oluşan bu radikal, diğer moleküller ile reaksiyona girerek zincir reaksiyonu devam ettirmektedir (Sen vd., 2010). Organellerin membranında lipitler bulunmaktadır. Serbest radikaller, membranda bulunan bu lipitler ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonu gerçekleşir. Lipit peroksidasyonu hücre membranının akışkanlığını ve geçirgenliğini bozmaktadır (Halliwell vd., 1984).

Lipit peroksidasyonu, bir yağ asitinin metilen grubundan (CH_2) bir hidrojen (H) atomunun uzaklaştırılmasıyla birlikte karbon atomu ($\cdot\text{CH}$) üzerinde eşlenmemiş bir elektron oluşması reaksiyonudur. Oluşan karbon radikali, moleküllerin yeniden düzenlenmesiyle konjuge dien ile sabitlenir. Konjuge dien ile sabitlenen karbon radikali daha sonra oksijen molekülü ile reaksiyona girerek lipit peroksil radikalini ($\text{LOO}\cdot$) oluşturmaktadır. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz substratları olan yağ asitlerinde (prostglandinler ve tromboksanlar) lipit peroksidasyonu başlatarak hidroperoksit ve endoperoksitleri meydana getirir. Böylece lipit hidroperoksitler (LOOH) oluşmaktadır ve daha fazla lipit peroksitleri üretilmektedir (Halliwell vd., 1984).



Şekil 2.7 Lipid peroksidasyonu

Membran lipid peroksidasyonu sonucunda; hücrenin membran yapısındaki hasar membran transport sistemlerinde bozulmaya yol açar. Bunu iyon dengelerinin bozulması ile hücre içi kalsiyum artışı ve buna bağlı proteazların aktivasyonu izler. Hücre içi organellerde de oluşan lipid peroksidasyonuna bağlı membran hasarına sebep olmaktadır. Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan malondialdehid (MDA), protein, nükleik asit ve lipidlerin aminleri ile Schiff bazı oluşturur. Bu reaksiyon sonucunda yaşlanma ve yıpranma pigmenti olarak bilinen, suda çözünmeyen kahverengi renkli olan makromoleküller meydana getirmektedir. MDA ile bağlantılı olarak Alzheimer hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, karaciğer hastalığı, Parkinson hastalığı gibi hastalıklar görülebilmektedir (Ayala vd., 2014).

Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan ürünler, DNA hasarına sebep olmaktadır. Ayrıca sodyum potasyum ATPaz enzimi ve glutamat taşıyıcıları gibi proteinlerin inhibisyonuna neden olmaktadır. Bazen bu durum DNA replikasyonunu engellemektedir. Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan serbest radikaller, antioksidan miktarında azalmaya sebep olmaktadır. Bu durum sonucunda epoksitler meydana gelmektedir.

Artan lipid peroksidasyonu ve azalan antioksidan korumalar sonucu oluşan epoksitler, hücre içinde nükleofilik merkezde DNA, RNA ve proteinler ile reaksiyona girmektedir. Bu reaksiyonlar; sitotoksiteye, alerjiye, mutajeniteye ve kansinogeneze neden olabilmektedir (Canbay vd., 2003).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin artması sebebi ile kanser hücrelerinde anormalliklere neden olabilmektedir (Eriksson vd., 1992). Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan ikincil ürünler (malondialdehit (MDA), propanal, heksanal, ve 4-hidroksinonenal (4-HNE)) arasında 4-HNE en toksik olanıdır (Esterbauer vd., 1990). 4-HNE, karaciğer mikrozomal lipidlerinin peroksidasyonundan kaynaklanan sitotoksik bir üründür (Ayala vd., 2014). Biyomembran lipid peroksidasyonu sırasında serbest radikaller veya kimyasallar tarafından ortaya çıkan 4- HNE, insanlarda genotoksik bir etki göstermektedir (Samak vd., 2019).

Serbest radikaller, proteinleri amino asit içeriklerine göre farklılık gösterecek şekilde doğrudan etkilemektedir. Reaktif türevler peptit bağları ya da amino asit yan zincirleri ile reaksiyona girmektedir. Triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi doymamış bağ ve sülfür içerikli amino asitlerden oluşan proteinler, serbest radikaller ile daha kolay tepkimeye girmektedir (Rao vd., 2011). Oksidatif stres sonucunda ROS ve $\cdot\text{OH}$ hücre içi proteinleri üzerinde geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olarak reaksiyona girer ve oksidatif hasar meydana getirir (Prokai vd., 2007).

Prolin, arginin, lizin ve treonin amino asitlerinden oluşan protein yapıları okside olduklarında yan zincirleri üzerinde karbonil grupları oluşmaktadır (Dalle-Donne vd., 2003). α -amidasyon ve glutamil yan zincirlerin oksidasyonu sonucunda proteinlerin parçalanması karbonil grubu ortaya çıkmaktadır.

Bunun dışında sistein, histidin ve lizin rezidülerinin lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA ve 4-HNE, indirgeyici şekerler tarafından oluşturulan karbonil ketoaminler ve ketoaldehitler, proteinlerin lizin rezidülerinin oksidasyon ürünleri glikasyon, glikoksidasyon ile sekonder reaksiyonlar sonucunda da proteinler üzerinde karbonil grupları oluşabilir. Proteinlerin oksidatif stres sonucunda oluşan modifikasyonları, hücre iskeletini oluşturan yapılarda ve enzimlerde fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır (Prokai vd., 2007).

Monosakkaritlerin oksidatif stres sonucu otooksidasyonu ile H_2O_2 ve okzoaldehid meydana gelir. Otooksidasyon sonucu meydana gelen okzoaldehidler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliğinden dolayı antimitotik etki göstermektedir. Ayrıca hidrojen peroksit ve

süperoksit bir glikozaminoglikan olan hyaluronik asidi parçalamaktadır. Bu durum gözde katarakt oluşumuna sebep olmaktadır (Avcı vd., 2001).

2.5. Antioksidanlar

Antioksidanlar, oksidanların (ROS, RNS, serbest radikaller, diğer kararsız moleküller) neden olduğu hücre hasarını önleyebilen veya geciktirebilen doğal veya sentetik maddelerdir (Azeez vd., 2017). Lipidlere, DNA'ya ve proteinlere karşı hücrel oksidatif hasara etkili bir şekilde direnç veya onarıcı etki gösterirler. Birçok çalışmada in vivo antioksidan seviyeleri inme hastalarında oksidatif stresin değerlendirilmesi için dolaylı belirteçler olarak kullanılmıştır. Maddenin antioksidan olarak kabul edilebilmesi için düşük konsantrasyonda aktif, miktarının hedef molekülü deaktive edecek düzeyde tatmin edici düzeyde olması ve reaksiyona girmesi gerekir. Antioksidanlar farklı reaktif türlerle çeşitli mekanizmalarla, çeşitli reaksiyonlara girer ve spesifik moleküler hedefleri korur (Piao vd., 2011).

Antioksidan savunma sistemi 4 farklı yol ile meydana gelmektedir (Cherubini vd., 2008).

-Serbest oksijen radikalleri ile etkileşime girerek etkisiz hale getirir. Buna Scavenging (süpürücü etki) denmektedir. Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler (Cherubini vd., 2008).

-Serbest oksijen radikalleriyle reaksiyona girip bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltırlar. Bu mekanizmaya inaktif şekle dönüştürücü etki denmektedir. (Mickle vd., 1993).

-Serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici şekilde etki ederler. Bu mekanizmaya zincir kırıcı etki denmektedir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu yolla etki gösterir (Virág vd., 2002).

Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde “onarıcı etki” gösterirler (Virág vd., 2002).

Antioksidanlar çeşitli kriterlere göre gruplanabilirler:

a)Yapılarına göre;

1-Enzimler

2-Enzim olmayan proteinler, küçük moleküller

b)Kaynaklarına göre;

1-Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar)

2-Dışarıdan alınanlar (eksojen antioksidanlar)

c)Çözünürlüklerine göre;

1-Suda çözünenler

2-Lipitlerde çözünenler

d)Yerleşimlerine göre;

1-Hücre içinde bulunanlar

2-Plazma ve diğer ekstrasellüler sıvılarda bulunanlar

2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

Akciğerlerin başlıca enzimatik antioksidanları; Süperoksid dismutaz (SOD)'lar, katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px)'tir. Bu ana enzimlere ek olarak, hem oksijenaz-1 dahil olmak üzere diğer antioksidanlar ve tioredoksinler (TRX), peroksiredoksinler (PRX) ve glutaredoksinler gibi redoks proteinleri , ayrıca pulmoner antioksidan savunmasında rol oynamaktadır (Zelko vd., 2002). Süperoksit, birincil ROS olduğundan, SOD tarafından dismutasyonu her hücre için öneme sahiptir. SOD'un tüm formları (CuZn-SOD, Mn-SOD ve EC-SOD), insan akciğerinde büyük ölçüde eksprese edilir. Manganez-süperoksit dismutaz (Mn-SOD), mitokondri matrisinde lokalizedir. Mn-SOD; mitokondride bulunur. 40 bin kDa ağırlığındadır. (Reid vd., 1994). Ekstrasellüler Süperoksid dismutaz (EC-SOD) öncelikle hücre dışı matriste, özellikle yüksek miktarda tip I kollajen lifleri içeren bölgelerde ve pulmoner ve sistemik damarların etrafında lokalize olarak bulunmaktadır. Bronş epitelinde, alveolar epitelde ve alveolar makrofajlarda da bulunmaktadır(Kinnula vd., 2005). Genel olarak, Bakır çinko süperoksid dismutaz (CuZn-SOD) ve Mn-SOD'un genellikle süperoksit radikallerinin inhibe edilmesinde kombine olarak etki ettikleri düşünülmektedir. EC-SOD seviyesi, hücre dışı matrisine spesifik olarak bağlanmaktadır. Bundan dolayı akciğer matrisini korumada temel bileşen olarak rol oynamaktadır (Zelko vd., 2002).

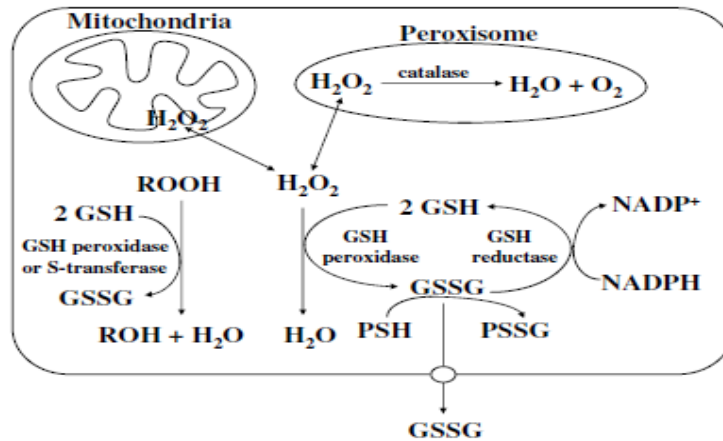
H₂O₂ ve lipid hidroperoksitlerin (membran lipid peroksidasyonunun bir sonucu olarak üretilen) indirgenmesinden sorumlu redoks döngüsünden sorumlu enzimler Glutatyon peroksidazları (GSH-Px) içerir. Esterleşmiş lipidler, indirgeyici eşdeğerler olarak birkaç farklı düşük moleküler ağırlıklı tiyol kullanabilen zara bağlı GSH-Px

tarafından indirgenir. Ayrıca gastrointestinal epitel hücrelerinde lokalizedir. En yaygın olarak ise akciğer hücrelerinde bulunmaktadır (Comhair vd., 2001).

Katalaz, hemoglobine bağlı demir içeren, birçok dokuda bulunan hemoprotein özelliğinde bir enzimdir. Katalaz; oksido-redüksiyon olayları sonucunda oluşan hidrojen peroksitten hücreleri koruyarak antioksidan etki göstermektedir (Matés vd., 1999). Bu enzimin etkisi ile H_2O_2 parçalanarak zararsız hale getirilmekte ve reaksiyon sonucu oluşan oksijen serbest halde bulunmaktadır. Ayrıca katalaz SOD'un antioksidan özellik gösterebilmesi için de gereklidir (Fox vd., 1998).

Bir başka antioksidan enzim ailesi olan Glutatyon-S-Transferazlar (GST), doymamış aldehytler, epoksitler ve hidroperoksitler gibi metabolitleri etkisiz hale getirir. Glutatyon-S-Transferaz, toksik metabolitlerin glutatyon ile konjugasyonunu sağlayarak detoksifikasyonlarında önem taşıyan bir enzimdir. Membran lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Üç GST ailesi bulunmaktadır. Bunlar sitozolik GST, mitokondriyal GST ve mikrozomal GST olarak tanımlanmıştır (Robinson vd., 2004). Ayrıca memelilerde Alfa, Mu, Pi, Sigma, Theta, Omega ve Zeta olarak adlandırılan yedi sitozolik GST sınıfı tanımlanmıştır (Sheehan vd., 2001).

NADPH'nin bir elektronunu okside glutatyonun disülfid bağlarına aktararak yeniden GSH'ye dönüştüren glutatyon redüktaz, flavin adenin dinükleotid (FAD) içeren flavoprotein bir enzimdir. Bu nedenle glutatyon redüktaz NADPH serbest radikal hasarını engellemek için gereklidir ve en önemli kaynağı heksoz monofosfat (pentoz fosfat) yoludur (Sen vd., 2010).



Şekil 2.8 Glutatyon Sistemi

2.5.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

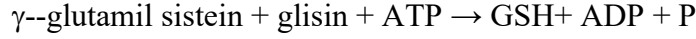
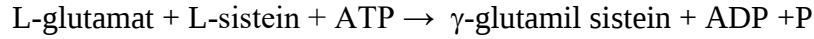
Stabil ürünler oluşuncaya kadar bir radikalden elektron koparan ya da radikale elektron ekleyen moleküllerdir. Lipit peroksidasyon basamaklarını, peroksil radikallerini ortadan kaldırarak veya hidrojen peroksit moleküllerinin oluşumunu engelleyerek ortadan kaldırırlar. Vitaminler, ROÜ'yü direk olarak temizleyebilir ve aynı zamanda da antioksidan enzimlerin aktivitelerini düzenleyebilirler. Enzimatik olmayan antioksidanların içinde C ve E vitamini, β -karoten, ürik asit, ve GSH gibi ürünler bulunabilir (Bunker vd., 1992).

Suda çözünen C vitamini (askorbik asit), öncelikle serbest oksijen radikallerini temizleyerek hücre içi ve hücre dışı sulu faz antioksidan kapasitesi sağlar. E vitamini serbest radikallerini tekrar E vitaminine dönüştürür. Plazma seviyeleri yaşla birlikte azalmaktadır. (Mezzetti vd.,1996)

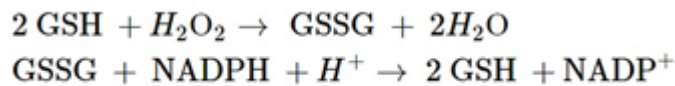
E vitamini İzoprenoid yapısı içeren, tokoferol türevlerini kapsayan bir vitamindir. İçerdiği halkadaki metil gruplarının sayısı ve pozisyonuna göre sekiz farklı şekli bulunup bu şekiller biyolojik aktivite derecesine göre farklılık gösterirler. Fosfolipit tabakadaki peroksil radikallerinin en etkin temizleyicisi olup en önemli lipit faz antioksidanıdır (Piao vd., 2011). Hücre membranı ve lipoproteinlerdeki peroksil radikalleriyle reaksiyonda çoklu doymamış yağ asitlerine göre daha hızlı davranıp lipit peroksidasyon zincirini kırar. Antioksidan olarak göre yapan E Vitamini (α -Tokoferol), hücre zarının genellikle hidrofobik bölgesinde bulunmaktadır ve ROS kaynaklı hücre zarı hasarına karşı savunma mekanizması oluşturur. E vitamini, lipid peroksidasyonu sırasında üretilen peroksil radikale elektron verir. α -Tokoferol, E vitamininin en aktif formudur ve hücrede zara bağlı başlıca antioksidandır. E vitamini kanser hücrelerinde serbest radikal oluşumunu ve çoğalmasını engelleyip ve apoptozu indüklemektedir (Piao vd., 2011). Antioksidan özelliğine ek olarak α -tokoferol, membran stabilize edici özelliğe de sahiptir. α -tokoferol'ün diyetel eksikliği, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz'ın aktivitesini azaltıp, lipit peroksidasyonunu katalizleyerek nörolojik ve kardiyovasküler hasara sebep olur (White vd., 1997).

Glutamik asit, yapısında sistein ve glisin bulunan, aktif bir sülfidril grubu içeren, düşük moleköl ağırlıklı tripeptid bir antioksidandır. L-glutamat ve L-sisteinin gama glutamil sentetaz ile katalizlenen reaksiyonuyla oluşan gama glutamil sisteinin, L-

glisin ile glutatyon sentetaz enziminin katalizörlüğünde reaksiyona girmesiyle oluşur (Masella vd., 2005). Bu reaksiyonlar esnasında iki ATP harcanır.



Glutatyon (GSH), endojen bir antioksidandır ve oksidatif hasara karşı önemli bir hücrel savunma ajanıdır. GSH'nın yaklaşık olarak %85-90'ı sitoplazma da bulunmaktadır. Ayrıca bir kısmı sitoplazmada sentezlendikten sonra mitokondri, çekirdek, peroksizomlar ve endoplazmik retikulumda da bulunabilmektedir (Masella vd., 2005). Glutatyonun antioksidan özelliği dışında ayrıca hücrenin redoks halini korumada, detoksifikasyon düzeneğinin çalışmasında, eikosanoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak faaliyet gösterir (Townsend vd., 2003). Glutatyonun sülfhidril grubu (SH), oksidatif hasara karşı koruyucu etki göstermektedir. Oksidatif stres durumunda GSH seviyeleri azalırken glutatyon disülfid (okside glutatyon) artar. Bu durumda, bir hidrojen peroksit (H_2O_2) birikimi glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidazın (GSH-Px) etkileri ile atılır (Fattman vd., 2003). Glutatyonun, okside glutatyon (GSSG) oranı, oksidatif stresin önemli bir belirleyicisidir. GSH, antioksidan etkilerini çeşitli şekillerde gösterir. (Masella vd., 2005) GSH-Px'in etkisi ile hidrojen peroksit ve lipid peroksitleri detoksifiye eder. GSH elektronunu H_2O_2 ye bağışlayarak onu H_2O ve $\text{O}_2 \cdot$ ye indirger. GSSG, elektron donörü olarak NAD(P)H kullanan GSH redüktaz tarafından tekrar GSH'ye indirgenir. GSH-Px'ler hücre zarının lipid peroksidasyonundan korunması için de önemlidir. İndirgenmiş glutatyon, protonları membran lipidlerine bağışlar ve onları oksidan saldırılardan korur.



Selenyum içeren bir antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz, GSSG'ye dönüştürülen GSH varlığında hidrojen peroksit ve lipid peroksitin indirgenmesini katalize eder. Buna karşılık, GSSG, esas olarak pentoz fosfat yolunda üretilen nikotinamid adenin dinükleotit fosfat [NAD(P)H] varlığında glutatyon redüktaz tarafından indirgenir (Luberda, 2005).

GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar. GSH eritrositleri, lökositleri ve göz merceğini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir.

2.6. Isı Şok Proteinleri

Isı şoku proteinleri, stres faktörlerine yanıtındaki kritik rolleri nedeniyle oldukça evrimsel olarak korunan moleküler şaperonlardır. Isı şok proteini (HSP) süper ailesinin üyeleri çoğu organizmada her yerde bulunur. Beyindeki ısı şoku proteinlerinin (HSP'ler) kritik işlevleri ve nöro-koruyucu özellikleri onlarca yıldır araştırılıyor, ancak HSP'lerin kesin mekanik kontrolü ve işlevi üzerine yapılan çalışmalar sürekli olarak yeni sürprizler veriyor. Ayrıca, proteinlerin HSP üst ailesi, çok sayıda alt grup ve yakından ilişkili üyeler içerir. Özellikle nöronal bağlamda, protein yönetimi ve hücre ölümündeki HSP işlevleriyle ilgili ortaya çıkan literatür, sistemik işlevler ışığında bu yeni keşfedilen rolleri gözden geçirmek için bir odak noktası oluşturur.

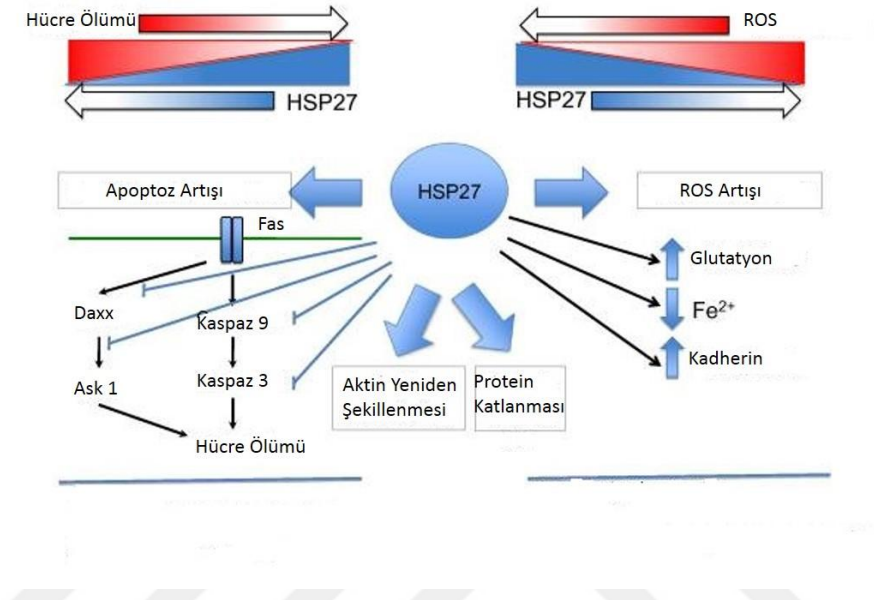
Birincil rolü, ölümcül koşullarda hücrenin hayatta kalmasını teşvik ederek hücrel homeostazı korumaktır. HSP'ler, yanlış katlanmış proteinleri düzelten moleküler şaperonlar olarak hareket ederek hücreleri korumaktadır. Genellikle kanser hücrelerinde anormal şekilde aşırı eksprese edilirler (Parcellier vd., 2005).

Isı şok proteinleri molekül ağırlıklarına göre sınıflandırılmaktadır. Moleküler ağırlıkları kullanılarak memeli HSP'leri altı ailesi bulunmaktadır. HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 ve küçük HSP'ler olarak sınıflandırılmaktadır.

HSPB ailesi olarak da bilinen memeli küçük ısı şok proteinleri ailesi on üye içerir. Bunlar HSPB1 ila HSPB10, HSP27/HSPB1, MKBP (Miyotonik distrofi protein kinaz bağlayıcı protein)/HSPB2, HSPB3, α A-kristalin/HSPB4, α B-kristalin/HSPB5 , HSP20/HSPB6, cvHSP (kardiyovasküler ısı şoku proteini)/HSPB7, HSP22/HSPB8, HSPB9 ve ODF1 (dış yoğun fiber proteini)/HSPB10 olarak isimlendirilir (Fuller vd., 1994).

HSP25/27, fare ve insanda sırasıyla 25 ve 27 kDa'lık bir monomerik moleküler kütleyle sahip küçük ısı şok preteinleri ailesinin bir üyesidir. HSP25/27'nin birincil yapısı, korunmuş -kristalin alanını içeren ve C- ve N-terminal bölgelerinde farklılık gösteren, sHSP ailesinin diğer üyelerine oldukça benzerdir. HSP25/27, ATP'den bağımsız şaperonlar ailesine aittir (Katsogiannou 2014) HSP25/27, 205 amino asitlik

bir proteini kodlayan üç ekzon halinde düzenlenmiş tek kopya bir gendir. HSP25/27, yüksek oranda korunmuş bir α -kristalin alanı içerir (Kokolakis vd., 2008). HSP25/27, hücrelerde multimerik kompleksler oluşturmak ve denatüre veya kümelenmiş proteinleri stabilize etmek ve onları orijinal formlarına döndürmek için bir şaperon görevi görür (Wang vd., 2014).



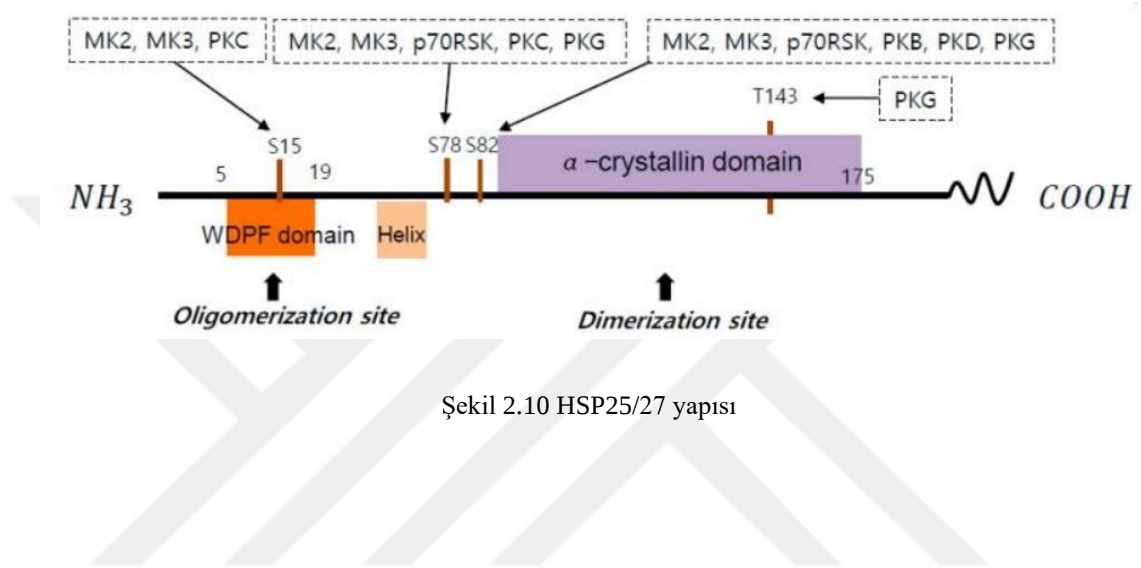
Şekil 2.9 HSP25/27 etki mekanizması (Sharp vd., 2013)

HSP25/27, kötü korunmuş, düzensiz bir N-terminaline ve oldukça esnek, değişken bir C-terminaline sahiptir. HSP25/27, pH ve sıcaklık gibi koşullara bağlı olarak yapısını değiştirmek olasıdır (Baldwin vd., 2011). HSP25/27, kötü korunmuş bir WDPF alan bölgesi, β -tabakaları ile yüksek oranda korunmuş bir α -kristalin alan bölgesi, kısmen korunmuş bir PSRLFDQXFGEXLL dizisi ve esnek bir C-terminali içerir. WDPF alan adı, W (triptofan), D (aspartik asit), P (prolin) ve F (fenilalanin) dahil olmak üzere içerdiği amino asit kalıntılarından türetilmiştir. Oligomerizasyon ve çözünürlük için α -kristalin yapısı önemlidir (Delbecq vd., 2013).

HSP25/27, astrositler ve birincil nöronal hücreler de dahil olmak üzere tüm insan dokularında bulunabilir, ancak esas olarak iskelet, düz ve kalp kaslarında ekspresyonu meydana geldiği bilinmektedir (Sugiyama vd., 2000). Hücreyi stres uyaranlarına karşı korumak için, HSP'ler şaperon proteinleri olarak işlev görür, hücre iskeletini stabilize eder ve apoptozu önler (Sugiyama vd., 2000). HSP25/27, 1.000 kDa'ya kadar

oligomerler oluşturabilir. Bu oligomerizasyon, HSP25/27'nin şaperon aktivitesinin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır (Shashidharamurthy vd., 2005).

HSP25/27'nin yapısı, N-terminal alanından, α -kristalin alanından ve C-terminal alanından oluşur. N-terminal alanı, oligomerizasyon için gerekli olan bir WDPF yapısı içerir (Kostenko vd., 2009). C-terminal alanı, türler arasında yüksek oranda korunan ve küçük oligomerizasyonun oluşumunda yer alan bir α -kristalin motifi içerir. S15, S78, S82 ve T143; HSP 27 yapısının fosforilasyon bölgeleridir (Lambert vd., 1999).



Şekil 2.10 HSP25/27 yapısı

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Materyaller

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Otomatik pipet

Hassas terazi (CHYO JL-180)

Manyetik karıştırıcı (IKAMAG RH Janke ve Kunkel)

pH metre (METTLER TOLEDO MP 220)

Vorteks (VM3)

Santrifüj (MSE CENTAUR 2)

Santrifüj (Sigma 3K30)

Derin dondurucu (-40°C, BOSH Automatic)

Sıvı azot tankı (International Cryogenics, Inc.IC 20D Storage Dewor)

Spektrofotometre (SHIMADZU, UV- 160 A)

Benmari (Kotterman)

Karıştırıcı (NÜVE, SL 350)

Ultrasonik sonikatör (Siemens, MBTU)

Etüv (Heraeus, B 5042)

Mikroplate Okuyucu (TECAN)

Mikroplate Okuyucu (Synergy-4 microplate reader)

Mikroplate Yıkayıcı (Siemens, Multi Wash)

Mikrodalga Verici Cihaz ve anten (2004X RF, Set Elektronik Ltd. Ştd., Adapazarı, Türkiye)

Restrainer (42x8 cm boyutlarında, 12 bölmeli ve kapaklı pleksiglas silindir kafes)

EMA şiddeti ölçüm cihazı ve elektrik alan probu (PMM 8053 ve EP-330)

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

3.1.3. Kullanılan Kitler

HSP 25 ELISA kiti (SUNRED)

Ref: DZE201112114

LOT: 202111 (Şanghay/ÇİN)

Glutatyon ELISA kiti (BT LAB)

Cat.No.E1101Ra

LOT:202109015 (Zhejiang/ÇİN)

3.1.4. Çalışma Popülasyonunun Özellikleri

Çalışmamız, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde yaşları 2-3 ay arasında değişen, 250-300 gram ağırlığındaki 24 adet Wistar cinsi erkek sıçan üzerinde yapıldı. Sıçanlar standart kafeslerde, odun talaşı zemininde ve standart sıçan yemi ve su sistemi ile beslenecek şekilde deney ortamına yerleştirildi. 7 günlük adaptasyon süreci sonrasında çalışmaya dahil edildi. Sıçanlara 12 saat gündüz, 12 saat gece ortamını sağlayacak şekilde aydınlatma sağlandı ve ortam ısı $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 'ye sabitlendi. Çalışmada kullanılan sıçanlar adaptasyon sürecinden sonra her grupta 12 adet olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Sıçanların her birine kuyruk numarası verildi. Gruplar; kontrol, EMA uygulanan grup olarak belirlendi. EMA günde 60 dakika olarak her gün aynı saatte uygulandı. Çalışma 60 gün sürdü.

3.2. Deneyin Yapılışı

3.2.1. EMA Uygulanması

Bu çalışmada WLAN sistemlerince üretilen 2,45 GHz frekansı üretmek için, monopol antenli Mikrodalga sistemi (2004X-RF, Everest Co., Adapazarı, Turkey) kullanıldı. Mikrodalga sistemi, 2,45 GHz frekans, 0-1 Watt çıkış gücünde, 217 Hz modülasyonda, sürekli veya kesikli dalga yayabilmektedir. Çalışma başlangıcında, 2,45 GHz MW sistemi çalıştırılmadan önce, Mühendislik Fakültesi Elektrik ve Elektronik Mühendisliği tarafından ortamda olabilecek yansımalar ve elektrik alan ölçümü belirlendi. Yansımalar ve elektrik alan ölçümleri için, Narda SRM-3006 EMF metre kullanılarak gürültü tabanını oluşturan servisler ve katkıları belirlendi.



Şekil 3.1 Monopol antenli mikrodalga sistemi

MW maruziyeti 12 dilimli pie cage restrainer içerisinde uygulandı ve elektrik alanın eşit dağılımını sağlamak amacıyla anten, her iki pie-cage restrainerın orta noktasına yerleştirildi. Kontrol grubu sıçanlar ve MW maruziyeti sonrası EMA'na

maruz sıçanlar, EMA kirliliği olmayan ayrı bir odada bulunduruldu. Maruziyet sırasında elektrik alan ölçümleri, Biyofizik Anabilim Dalı tarafından alınmıştır. Çalışmadan 5 gün önce, çalışma grubu sıçanlar, streslerinin ortadan kaldırılması amacıyla, EMA maruziyeti olmaksızın her gün bir saat 12 dilimli restrainer içerisinde bulunduruldu. Bu sırada, restrainer içerisinde ortam ve sıçanların üzerinden sıcaklık ölçümleri 5 gün süresince ölçüldü. Çalışma başladıktan sonra, haftada 1 gün kontrol ve çalışma grubu 3 sıçan üzerinden sıcaklık ve EMA ölçümleri alındı. MW maruziyeti sırasında, üç sıçan üzerinden elektrik alan ölçümü, Baş, gövde ve kuyruk kısımlarından ve Bilgi Teknolojileri Kurumu ve ICNIRP yönetmeliğine göre 6 dakika süresince ölçüm yapıldı. Alınan elektrik alan değerleri yardımıyla, CST programı üzerinden her bir sıçan için özgül soğrulma oranı (Specific absorption rate, SAR) hesaplandı.



Şekil 3.2 Restrainerda sıçanlar

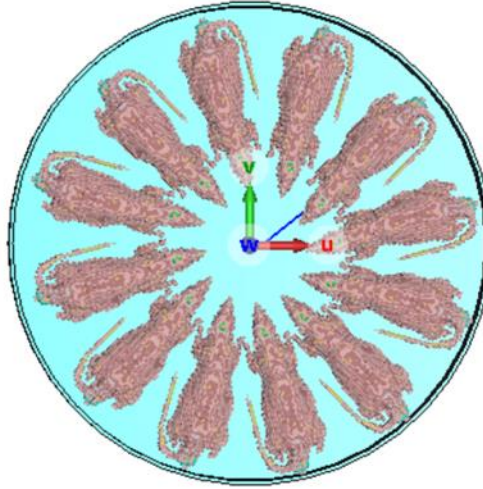


Şekil 3.3 Spektrum analiz cihazında 2,45 GHz sinyal frekansının doğrulanması

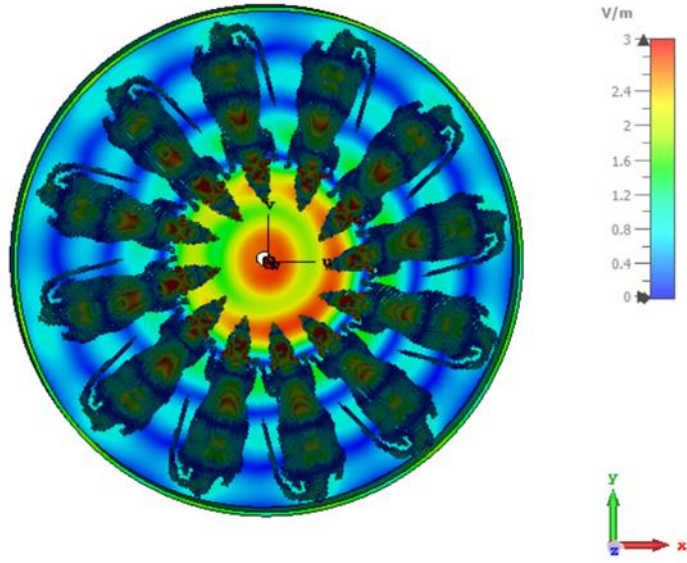
3.2.2. SAR değerinin hesaplanması

SAR (spesifik absorpsiyon oranı), biyolojik doku tarafından emilen g miktarı kullanılarak hesaplandı.

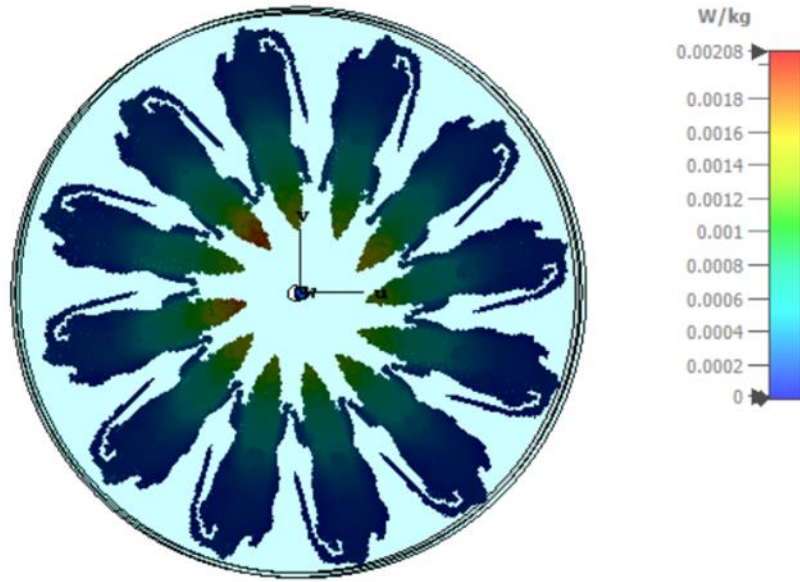
Bu çalışmada elektrik alan dağılımı, Maxwell denklemlerini ayırıklaştırmak için sonlu entegrasyon tekniğini kullanan ve sayısal simülasyonların gerçekleştirilmesine yardımcı olan CST Studio Suite kullanılarak hesaplandı. SAR'ın sayısal olarak değerlendirilmesi, elektromanyetik alan kaynağını temsil eden 2,45 GHz'de çalışan tek kutuplu bir anten kullanılarak simülasyonlar aracılığıyla yapıldı. Simülasyonlarda, IEEE/IEC 62704-1 ortalama alma yöntemine göre hesaplanan voksel sıçan modellerinde pik uzamsal ortalama SAR (10g) değerleri hesaplandı. Elektrik alan dağılımı ve ortalama SAR (10g) değerleri sırasıyla şekil 3.5 ve 3.6'da verildi. şekillerden görüldüğü gibi, kaynak çevresinde daha yüksek elektrik alan kuvveti gözlemlenir ve maksimum SAR (10g) 0,00208 W/kg olup, önerilen limitlerin altındadır.



şekil 3.4 Modellenmiş deneysel kurulum



Şekil 3.5 Voksel fare modellerinde elektrik alan dağılımı



Şekil 3.6 Voksel fare modellerinde SAR (10g) dağılımı

3.2.3. Deneyin Sonlandırılması ve Numune Alımı

Deney hayvanları 60 gün boyunca takip edildi ve 60. günün sonunda çalışma sonlandırıldı. Her üç gruptaki sıçanlar ameliyattan 12 saat önce aç bırakıldı. Anestezi için tüm sıçanlara, 0,5 cc ketamin periton içine uygulandı. Sıçanların göğüs kafesi açılarak intrakardiyak 6-8 ml kan alındı. Bu kanlar EDTA'lı tüplere ve antikoagülan içermeyen düz biyokimya tüplerine aktarıldı. Alınan kanlar 3000 x g'de 10 dk santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Hayvanların serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) ile perfüzyon uygulaması sonrasında beyin dokuları alındı. Alınan beyin dokuları sıvı

nitrojen ile dondurularak manuel olarak ezildi. Eppendorf tüplerinde bulunan, önceden hazırlanmış 1 ml PBS tamponu (pH 7.4, 10 mM) içine konularak 10 dakika sonikasyon yapıldı.

PBS hazırlanışı;

8.06 g NaCl,

0.22 g KCl,

1,15 g Na₂HPO₄,

0.20 g KH₂HPO₄, maddeleri belirtilen miktarlarda tartıldı ve beherde distile su ile çözdürüldü. Sonrasında HCL ile pH 7,4'e ayarlandı. Balon jofede 1L'ye tamamlandı.

Serum, plazma ve dokular çalışma gününe kadar -40°C'ye kaldırıldı. Çalışma günü, -40°C'de saklanan numuneler, çözülene kadar oda ısısında bekletildi, santrifüj edildi ve yeterli miktarda süpernatant çalışma eppendorflarına ayrıldı. Süpernatant ve serumlarda GSH ve HSP25 düzeylerine bakıldı. Doku örneklerinin protein miktarı Lowry metodu ile tespit edildi. Sonuçlar mg protein başına verildi.



Şekil 3.7 Hayvanların serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) ile perfüzyon uygulaması



Şekil 3.8 Deney hayvanı beyni

3.2.4. Biyokimyasal Analizler

3.2.4.1. Serum ve Doku Protein Miktarı Tayini

Çalışmamızda protein miktarının tayini, Lowry ve arkadaşlarının metodu kullanılarak yapıldı. Bu method, proteini oluşturan aminoasitler arasındaki peptit bağlarının parçalanması esasına dayanır. Aminoasitler bir araya gelmesinde rol oynayan peptit bağlarının ayrılmasında kullanılan kimyasal maddelerin özellikleri metodlar arasındaki farklılıkları oluşturmaktadır. Lowry ve arkadaşları protein miktarı ölçümünü biüret metoduna dayandırmıştır. Deneyin prensibi alkali ortamda proteinlerin peptit bağlarının ve tirozin kalıntılarının bakır ile kompleks oluşturması esasına dayanır. Peptit bağı nitrojenlerinin bakır iyonları ile reaksiyonu, daha sonra aromatik aminoasitlerin bakır katalizli oksidasyonu aracılığıyla, ortama konulan folin reaktifinin heteropolimolibden mavisine indirgenmesi şeklinde olur (Lowry ve ark., 1951).

Reaktif ve standartların hazırlanışı;

1. Solüsyon A: Na_2CO_3 , %2 (w/v)

2 gram Na_2CO_3 tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra balon jodede 100 ml'ye tamamlandı.

2. Solüsyon B: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, %1 (w/v)

0,1 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra balon jodede 10 ml'ye tamamlandı.

3. Solüsyon C: Na-K tartarat, %2 (w/v)

Na-K tartarat.4 H_2O 'dan 0,26 gram tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra balon jodede 10 ml'ye tamamlandı.

4. Complex Forming Reagent

Çalışma yapılmadan hemen önce hazırladığımız solüsyon A, B, C'den sırası ile 100:1:1 oranında alınarak hazırlandı.

5. NaOH: 2 N

4 gram NaOH tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra balon jodede 50 ml'ye tamamlandı.

6. Folin Reagent: 1 N

2 N Folin reagent ana stoğundan 50 ml alındı ve distile su ile 100 ml' ye tamamlandı.

7. Albumin standartı: 2 mg/ml

0,002 gram albumin tartıp 1ml'ye tamamlayarak çözüldü. Bundan seri dilüsyonla standartlar hazırlandı. Daha sonra tüpler karıştırıldı ve oda ısısında 30-60 dakika bekletildikten sonra numunelerin 650 nm'de absorbansları ölçüldü. Protein konsantrasyonları standart değerleri kullanılarak istatistik programı Medcalc statistical software yardımıyla oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve mg/ml olarak ifade edildi. Prefrontal korteks ve hipotalamus dokularındaki HSP25 ve GSH düzeylerinin ELISA sonuçları, Lowry yöntemine göre bulunan protein konsantrasyonlarına bölünerek ng/mg protein cinsinden ifade edildi.

3.2.4.2. HSP25 Analizi

İnkübasyon ile önceden kaplanmış monoklonal antikor enzim kuyusuna HSP 25 eklendi. Sonrasında biotin ile HSP25 antikorları ve bu işlemler gerçekleştikten sonra bağışıklık kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirildi. Daha sonra inkübasyon yapıldı ve birleşmemiş enzimin çıkartılması için tekrar yıkandı. Kromojen solüsyon A ve B yıkanmış kit kuyucuklarına eklenir, sıvının renginde değişim gözlemlendi. Bu değişim HSP25 konsantrasyonu ile pozitif olarak ilişkilendirilmektedir.

Standartlar aşağıdaki tabloya göre seyreltilmiştir.

Tablo 3.1 Standartların hazırlanması

12ng/ml	Standart No 1	120µl 1 Orijinal standart + 120µl 1 standart dilüent
6ng/ml	Standart No 2	120µl 1 Standart No 1 + 120µl 1 Standart dilüent
3ng/ml	Standart No 3	120µl 1 Standart No 2 + 120µl 1 Standart dilüent
1,5ng/ml	Standart No 4	120µl 1 Standart No 3 + 120µl 1 Standart dilüent
0,75ng/ml	Standart No 5	120µl 1 Standart No 4 + 120µl 1 Standart dilüent

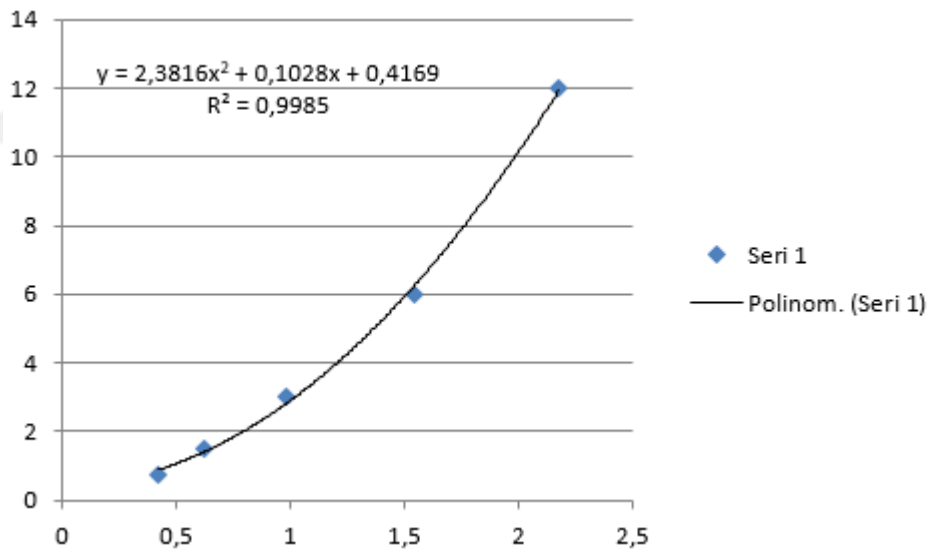
Plakaların miktarı, test edilecek numunelerin miktarlarına ve standartlara bağlıdır. Her bir standart ikişer kuyuya yerleştirilmiştir. İki adet boş kuyu bıraktık. Bu

kuyulara biotin, HRP ve HSP 25 antikoru eklenmedi. Sadece kromojen solüsyonu A,B ve stop solüsyonu eklendi.

Standartların koyulacağı kuyular için standart 50 µl ve HRP 50 µl eklendi. Standart zaten kombine biotin antikoru içerdiği için antikor eklemesi yapılmadı.

Numunelerin koyulduğu kuyulara örnek 40 µl, 25 µl HSP 25 ve 50 µl HRP eklendi. Sonrasında sızdırmasını engellemek için plate kapağını kapatıp ve nazikçe çalkaladıktan sonra 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında yıkama işlemi gerçekleştirildi. Her bir kuyuya Kromojen A 50µl, ardından Kromojen B 50µl eklendi. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37 °C derecede 10 dakika inkübe edildi. Her bir kuyuya stop solüsyonundan 50 µl eklendi.

Standart konsantrasyona ve karşılık gelen optik yoğunluk değerlerine göre, standart eğri lineer regresyon denklemi hesaplandı. Ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin optik yoğunluk değerleri regresyon denklemine uygulandı.



Şekil 3.9 HSP 25 standart eğri regresyon grafiği

3.2.4.3. Glutasyon Analizi

Glutasyon analizi sıçan glutasyon ELISA kiti ile yapıldı. Plaka, sıçan GSH antikoru ile kaplıdır. Numune bulunan GSH eklenir ve kuyucuklarda kaplanmış antikorlara bağlanır. ve daha sonra biotinlenmiş sıçan GSH antikoru eklenir ve numunedeki GSH'ye bağlanır. HRP eklenir ve biyotinlenmiş GSH antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış HRP, bir yıkama adımı sırasında

yıkılarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonu eklenir ve sıçan GSH miktarı ile orantılı olarak renk oluşur, reaksiyon asidik stop solüsyonu eklenerek sonlandırılır ve 450 nm’de absorbans ölçüldü.

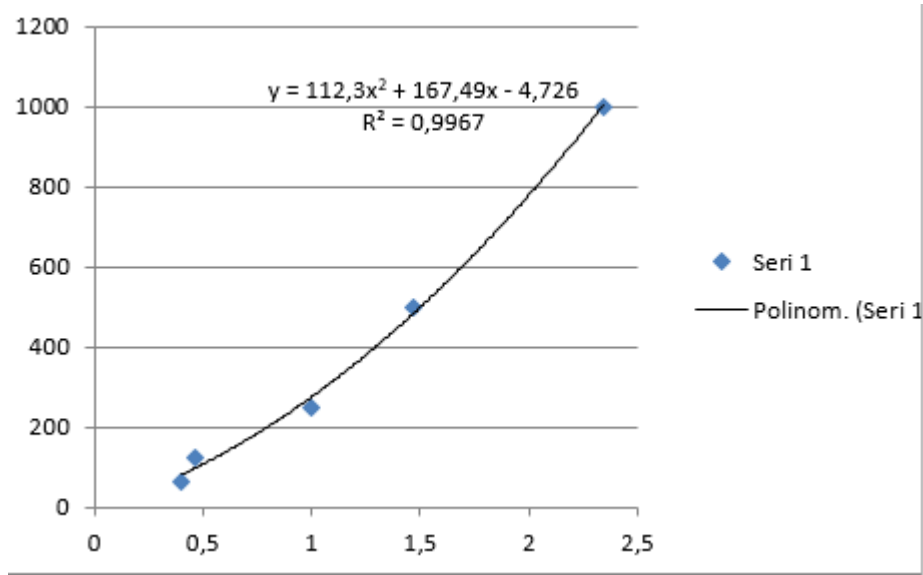
Tablo 3.2 Standart numunelerin seyreltilmesi

1000 mg/L	Standart No 1	120µl Orijinal standart + 120µ 1 standart dilüent
500 mg/L	Standart No 2	120µl Standart No 1 + 120µ 1 Standart dilüent
250 mg/L	Standart No 3	120µl Standart No 2 + 120µ 1 Standart dilüent
125 mg/L	Standart No 4	120µl Standart No 3 + 120µ 1 Standart dilüent
62,5 mg/L	Standart No 5	120µl Standart No 4 + 120µ 1 Standart dilüent

Her bir standart ikişer kuyuya yerleştirilmiştir. İki adet boş kuyu bıraktık. Bu kuyulara HRP ve GSH antikoru eklenmedi. Sadece Substrat solüsyonu A,B ve stop solüsyonu eklendi. Standartların koyulacağı kuyular için standart 50 µl ve HRP 50 µl eklendi. Standart biotin antikoru içerdiği için antikor eklemesi yapılmadı.

Numunelerin koyulduğu kuyulara örnek 40 µl , 10 µl GSH ve 50 µl HRP eklendi. Sonrasında sızdırmasını engellemek için plate kapağını kapatıp ve nazikçe çalkaladıktan sonra 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında yıkama işlemi gerçekleştirildi. Her bir kuyuya substrat solüsyonu A 50µl, ardından substrat solüsyonu B 50µl eklendi. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37 °C derecede 10 dakika inkübe edildi. Her bir kuyuya stop solüsyonundan 50 µl eklendi.

Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm’ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanarak her kuyunun optik yoğunluğu belirlendi. Standart konsantrasyona ve karşılık gelen optik yoğunluk değerlerine göre, standart eğri lineer regresyon denklemi hesaplandı. Ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin optik yoğunluk değerleri regresyon denkleminde uygulandı.



Şekil 3.10 GSH standart eğri regresyon grafiği

3.2.4.4. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi

Araştırmada elde edilen veriler istatistiksel değerlendirme için SPSS versiyon 22.0 bilgisayar paket programı kullanıldı. Verilerin tanımlayıcı özellikleri ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Parametrelerin normallik varsayımı için Shapiro Wilk testi yapıldı. Normal dağılıma uyan parametrik verilerin karşılaştırılmasında parametrik testlerden Student t-testi, normal dağılıma uymayan verilerin analizinde ise nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi kullanıldı. Parametrelerin korelasyon testi ise normal dağılım gösteren parametreler için Pearson korelasyon testi, normal dağılım göstermeyen parametreler için ise Spearman korelasyon testi uygulandı. Tüm veriler için $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda oluşturulan Kontrol ve EMA gruplarından, 60 günlük deney süresi sonunda alınan beyin dokuları ve serum örneklerinde EMA'ya bağlı oksidatif hasar sonucunda HSP 25 ve GSH düzeylerine ait bulgular ve bu bulguların istatistiksel değerlendirilmeleri Tablo 4.1'de sunulmuştur.

Tablo 4.1 Gruplara ait biyokimyasal bulgular (Aritmetik Ortalama $\pm$ Standart Sapma)

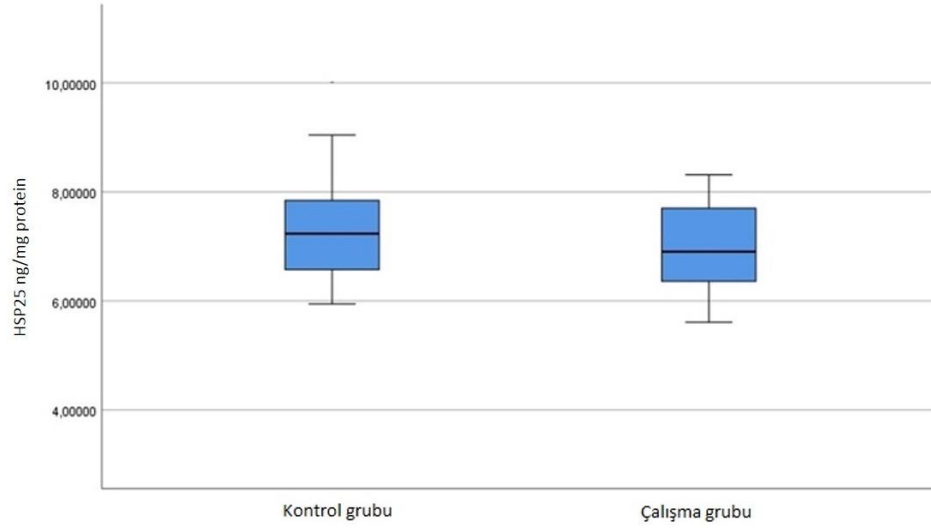
Parametreler	1.Grup (Kontrol)	2.Grup (EMA)	p değeri
Prefrontal bölge HSP25 (ng/mg protein)	7,21 $\pm$ 1,5850	7,16 $\pm$ 1,2238	0,987
Prefrontal bölge GSH (ng/mg protein)	0,26 $\pm$ 0,0319	0,26 $\pm$ 0,0497	0,903
Hipotalamus HSP25 (ng/mg protein)	7,06 $\pm$ 1,3056	7,32 $\pm$ 1,4761	0,655
Hipotalamus GSH (ng/mg protein)	0,26 $\pm$ 0,0423	0,26 $\pm$ 0,0380	0,884
Serum HSP25 (ng/ml)	4,11 $\pm$ 2,0298	2,52 $\pm$ 0,7543	0,016
Serum GSH (ng/ml)	0,14 $\pm$ 0,0409	0,14 $\pm$ 0,0502	0,664

4.1. HSP 25 düzeyi

HSP 25 düzeyi prefrontal kortekste kontrol grubu 7,21 $\pm$ 1,5850 ng/mg, EMA grubu 7,16 $\pm$ 1,2238 ng/mg, hipotalamusta kontrol grubu 7,06 $\pm$ 1,3056 ng/mg, EMA grubu 7,32 $\pm$ 1,4761 ng/mg, serumda kontrol grubu 4,11 $\pm$ 2,0298 ng/ml, EMA grubu 2,52 $\pm$ 0,7543 ng/ml olarak ölçüldü.

4.1.1. Prefrontal bölgede HSP 25 düzeyinin değerlendirilmesi

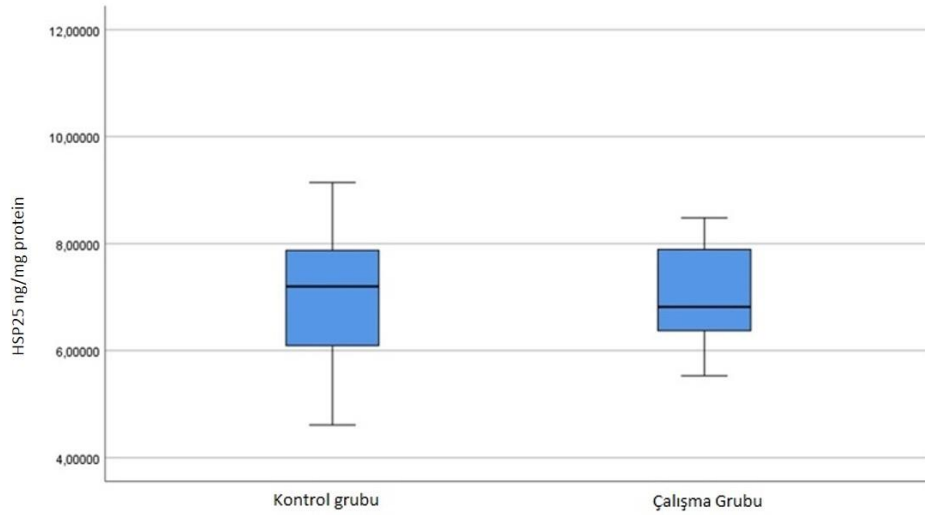
Şekil:4.1’de prefrontal beyin bölgesinde kontrol ve deney grubu arasındaki HSP 25 düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi. Sürekli verilerde normallik kontrolü yapıldı, verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi ve varyanslar homojen olduğu için Student t-test kullanıldı. Gruplar arasında HSP 25 düzeyi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,987).



Şekil 4.1 Kontrol ve çalışma grubunda prefrontal bölge HSP25 düzeyleri

4.1.2. Hipotalamusta HSP 25 düzeyinin değerlendirilmesi

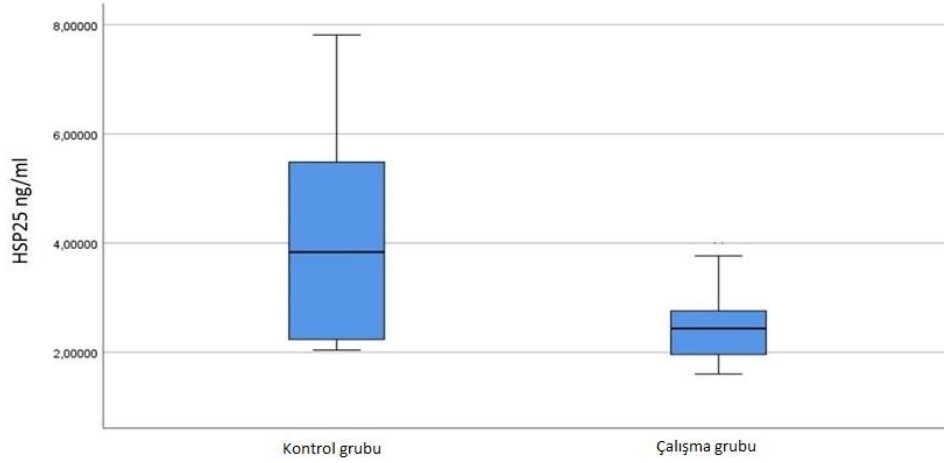
Şekil 4.2’de hipotalamusta kontrol ve deney grubu arasındaki HSP 25 düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi. Sürekli verilerde normallik kontrolü yapıldı, verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi ve varyanslar homojen olduğu için Student t-testi kullanıldı. Gruplar arasında HSP 25 düzeyi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,655$).



Şekil 4.2 Kontrol ve çalışma grubunda hipotalamus HSP25 düzeyleri

4.1.3. Seruma ait HSP 25 düzeyinin değerlendirilmesi

Şekil 4.3'te kanda kontrol ve deney grubu arasındaki HSP 25 düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi. Sürekli verilerde normallik kontrolü yapıldı, verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi ve varyanslar homojen olduğu için Student t-testi kullanıldı. Gruplar arasında HSP 25 düzeyi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,016$).



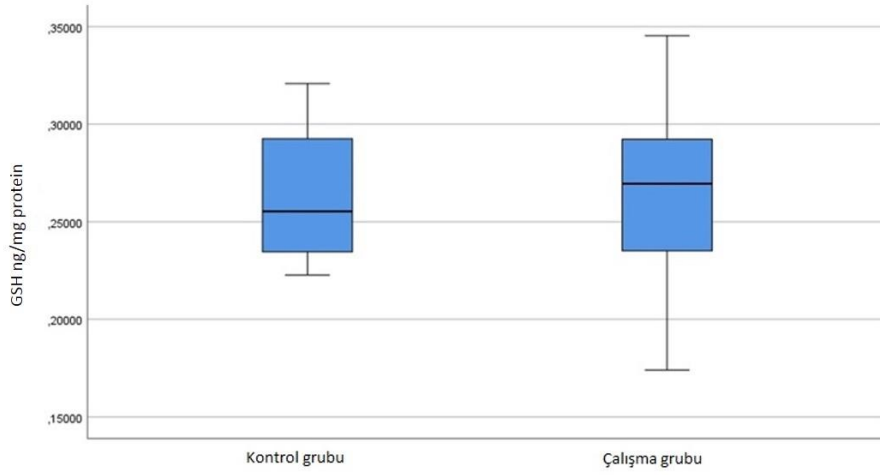
Şekil 4.3 Kontrol ve çalışma grubunda serum HSP25 düzeyleri

4.2. Glutasyon Düzeyi

Glutasyon düzeyi prefrontal kortekste kontrol grubu $0,26 \pm 0,0319$ ng/mg, EMA grubu $0,26 \pm 0,0496$ ng/mg, hipotalamusta kontrol grubu $0,26 \pm 0,0423$ ng/mg, EMA grubu $0,26 \pm 0,0380$ ng/mg, serumda kontrol grubu $0,14 \pm 0,0405$ ng/ml, EMA grubu $0,14 \pm 0,0502$ ng/ml olarak ölçüldü.

4.2.1. Prefrontal bölgeye ait glutasyon düzeyinin değerlendirilmesi

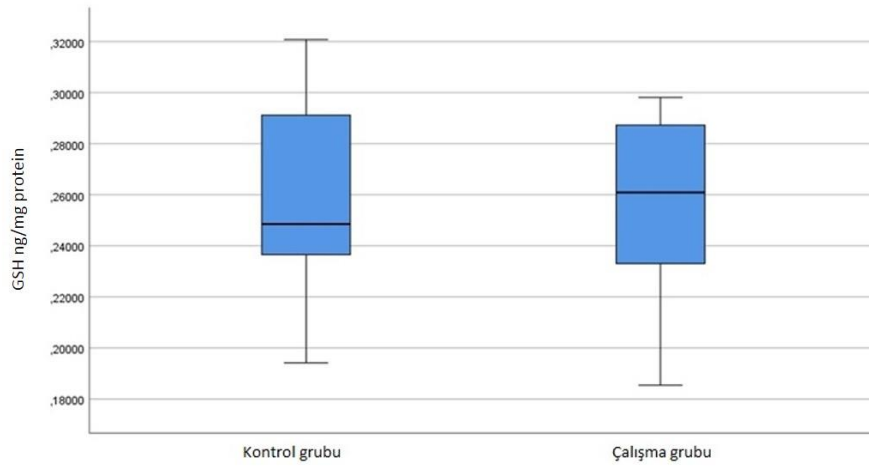
Şekil 4.4'de prefrontal bölgeye ait kontrol ve deney grubu arasındaki glutasyon düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi. Sürekli verilerde normallik kontrolü yapıldı, verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi ve varyanslar homojen olduğu için Student t-testi kullanıldı. Gruplar arasında glutasyon düzeyi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,903$).



Şekil 4.4 Kontrol ve çalışma grubunda prefrontal bölge GSH düzeyleri

4.2.2. Hipotalamusa ait glutatyon düzeyinin değerlendirilmesi

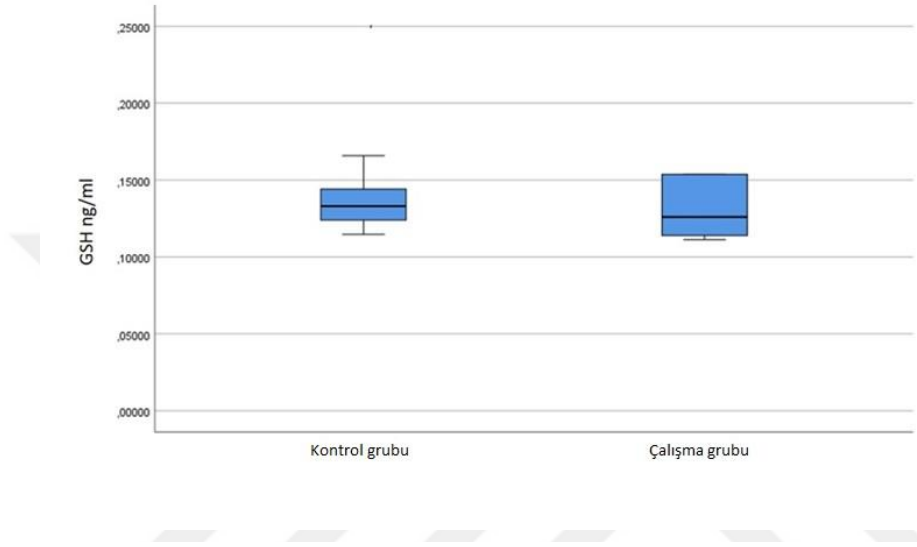
Şekil 4.5'te hipotalamusa ait kontrol ve deney grubu arasındaki glutatyon düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi. Sürekli verilerde normallik kontrolü yapıldı, verilerin normal dağılım göstermediği tespit edildi ve Mann-Whitney U istatistik testi kullanıldı. Gruplar arasında glutatyon düzeyi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,884$).



Şekil 4.5 Kontrol ve çalışma grubunda hipotalamus GSH düzeyleri

4.2.3. Seruma ait glutatyon düzeyinin değerlendirilmesi

Şekil 4.6’da seruma ait kontrol ve deney grubu arasındaki glutatyon düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi. Sürekli verilerde normallik kontrolü yapıldı, verilerin normal dağılım göstermediği tespit edildi ve Mann-Whitney U istatistik testi kullanıldı. Gruplar arasında glutatyon düzeyi değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,664$)



Şekil 4.6 Kontrol ve çalışma grubunda serum GSH düzeyleri

5. TARTIŞMA

Teknolojinin gelişimi ile birlikte günümüzde insanlar EMA ve EMD’ye maruz kalmaktadır. Yaşantımızın her anında maruz kaldığımız EMA ve EMD’nin insan yaşamını tehdit edici olduğu düşünülmektedir. Araştırmacılar maruz olunan yüksek düzeydeki EMA ve EMD’nin insan sağlığına zararlı olduğunu düşünülmektedir (Akakin vd.,2021). Bu alanda güncel araştırmalar günümüzde de devam etmektedir. Wi-Fi, telefon, bilgisayar gibi düşük EMA yayan cihazların olumsuz etkilerinin olup olmadığı tartışma konusudur. Son zamanlarda EMA oluşturan uygulamaların kullanımı, tıpta, haberleşmede, eğitimde, endüstride, ulaşım, günlük yaşamda daha da artmaktadır. 2,45 GHz’lik EMA yayan Wi-Fi’ye günümüz şartlarında insanların maruziyeti büyük oranda artmıştır (Avendano vd., 2012). Yaygın kullanım doğrultusunda çalışmamızda, 2,45 GHz EMA’nın (0,00208W/kg, 3 V/m) beyin dokusunun prefrontal ve hipotamus bölgesinde ve serum örneklerinde HSP25 ve GSH düzeylerine etkisini araştırılmıştır. Sadece serum HSP25 düzeyinde anlamlı azalma bulunmuştur.

Literatürde 2,45 GHz EMA'nın oksidatif stres üzerindeki etkisini araştıran az sayıda çalışma bulunurken, 900-1800 MHz frekans aralığında çalışan cep telefonları ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştıran birçok çalışma bulunmaktadır (Çetin vd., 2014; Sharma vd., 2020). EMA'nın, farklı frekans, şiddet, maruz kalma süresi gibi faktörlere bağlı olarak, farklı insan dokularında değişik şekillerde etkiler göstermektedir. Ancak neden sonuç ilişkisi tam olarak açıklanamamıştır.

EMA'nın etkilenimleri ICNIRP tarafından incelenmektedir. Radyo frekans dalgaları için SAR'ın oluşturabileceği biyolojik etki ICNIRP tarafından minimum kilogram başına 4 watt, SAR değerine göre güvenlik sınırları işyerleri için 0,4 watt/kg olarak belirlenmiştir (ICNIPR, 1998; 2009).

Çetin ve arkadaşları, hamilelik ve yeni doğan gelişimi sırasında cep telefonu kaynaklı EMA'a maruz kalması sırasında oluşan oksidatif stresin beyin gelişimine etkisi ile ilgili çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada otuz iki sıçan ve yavruları eşit olarak üç farklı gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu, 900 MHz ve 1800 MHz radyofrekans verilen gruplara ayrılmıştır. 900 MHz ve 1800 MHz grupları, hamilelik ve yenidoğan gelişimi sırasında 60 dakika/gün süreyle EMA'ya maruz bırakılmıştır. Altı hafta sonunda beyin dokusunda glutatyon peroksidaz konsantrasyonunda anlamlı azalma tespit edilmiştir. Bu çalışma 900 MHz EMA'nın oksidatif strese sebep olduğunu göstermektedir (Çetin vd., 2014). Sharma ve arkadaşları, 1800 MHz düzeyinde EMA'ya maruz bıraktıkları sıçanların beyinde, özellikle hipokampus ve serebral kortekste oksidatif stresin ve inflamatuvar sitokinlerin salınımının arttığını gözlemlemişlerdir. Bunun sonucunda beyin belirtilmiş olan bölgelerinde inflamatuvar süreci başlatarak nörokimyasal ve patofizyolojik hasara neden olabileceği sonucuna varmışlardır (Sharma vd., 2020).

Literatürde, 2,45 GHz frekanslı radyo dalgalarının beyin dokusundaki biyolojik etkileri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Özorak vd., 2013; Regalbuto vd., 2020; Daşdağ vd., 2015; Kamali vd., 2018; Mastrocola vd., 2012).

Özorak ve arkadaşları, gebelik sırasında sıçanların hem Wi-Fi (2.45 GHz) hem de cep telefonu (900 ve 1800 MHz) kaynaklı EMA etkilerini büyümekte olan sıçanların böbrek ve testislerindeki oksidatif stres seviyeleri üzerindeki etkilerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Otuz iki dişi sıçan ve onların 96 yeni doğan yavrusu, kontrol grubu, 2.45 GHz, 900 MHz, 1800 MHz maruz kalan grup olmak üzere dört

farklı gruba ayrılmış; 2.45 GHz, 900 MHz ve 1800 MHz grupları, hamilelik ve büyüme sırasında günde 60 dakika EMA'ya maruz bırakılmıştır. Deney sonunda elde edilen sonuçlarda, böbrek ve testislerdeki GSH, GSH-Px düzeyleri 900-1800-2450 MHz EMA gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış olarak bulunmuştur (Özorak vd., 2013). Bu çalışma bizim çalışmamızdan farklı olarak dişi ve yeni doğanlarda uygulanmıştır. Ayrıca 0,1 W/kg, 11V/m'lik EMA'da çalışılmıştır. Bizim çalışmamızda 0,00208 W/kg SAR değerinde 3V/m'lik radyo frekans EMA'da çalışıldığı için GSH düzeylerinin EMA'ya bağlı olarak azalmadığı düşünülmektedir.

Regalbuto ve arkadaşları karakterize edilmiş bir maruz kalma sistemi ve multimetodolojik bir yaklaşım aracılığıyla 2,45 GHz mikrodalga frekanslı EMA maruziyetlerinin fibroblastlarda neden olduğu potansiyel termal olmayan biyolojik etkilerinin analizini yapmayı amaçlayan çalışmasında, değerlendirilen parametreler ve koşullar için hücresel veya moleküler düzeyde önemli biyolojik etkilere neden olmadığını görmüşlerdir (Regalbuto vd., 2020). Daşdağ ve arkadaşları, bir veya daha fazla geni baskılayarak büyüme, farklılaşma, çoğalma ve hücre ölümünde önemli rol oynayan mikro RNA'ların Wi-Fi'nin yaydığı radyo frekans ortamında gösterdiği etkileşimi incelemişlerdir. Beyin dokusunda yapılan bu çalışmada 2,45 GHz radyo frekanslı EMA'nın mikro RNA'lar üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğu tespit edilmiş ve Wi-Fi'ye uzun süreli maruziyetin, nörodejeneratif hastalıklar gibi olumsuz etkilere sebep olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Daşdağ vd., 2015). Kamali ve arkadaşları, erkek Wistar sıçanları ile art arda 10 hafta boyunca günde 24 saat bir Wi-Fi'den yayılan 2,45 GHz radyo frekans radyasyonuna maruz bırakarak serum antioksidan redoks sistemindeki değişikliği değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında, Wi-Fi'ye maruz kalan grupta, serum toplam antioksidan kapasitesinde ve CAT, GSH-Px ve SOD dahil olmak üzere çeşitli antioksidan enzimlerin aktivitelerinde anlamlı bir düşüş tespit edilirken, aynı grupta GST aktivitesi anlamlı bir ölçüde artış bulunmuştur. Ancak, EMA radyasyonuna maruz kalmanın ardından GSH ve tiyobarbitürik asit seviyelerinde önemli bir değişiklik bulunmamıştır (Kamali vd., 2018). Bu sonuç GSH'nin tek başına Wi-Fi'nin yaydığı radyasyonun oluşturduğu oksidatif strese belirteç olamayacağını düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde serumda GSH düzeyinde anlamlı bir fark görülmedi. Mastrocola ve arkadaşları, antineoplastik bir ajan olan streptozotosin ile indüklenen diyabetik farelerde hipokampal bölgenin HSP25 ile ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında, fareler streptozotosin enjeksiyonu ile diyabetik

hale getirilmiş ve diyabetin başlamasından on hafta sonra hipokampal HSP25 ekspresyonu ve oksidatif stresin bir belirteci olan malonildialdehit düzeyi çalışılmıştır. Hipokampal HSP25 ekspresyonunun diyabetik hayvanlarda diyabetik olmayan hayvanlara kıyasla önemli ölçüde artmış olduğu, malonildialdehit artışının HSP25 düzeyi ile paralellik gösterdiği tespit edilmiştir (Mastrocola vd., 2012). Bu sonuç HSP25'in hipokampal bölgede oksidatif stres ile uyarıldığı göstermektedir. Yang ve arkadaşları, elektromanyetik alana maruz kalmanın stres tepkileri üretebilen bir çevresel uyaran olarak hareket edip edemeyeceğini değerlendirmek için elektromanyetik radyasyonun hassas bir hedefi olan hipokampüste çalışmışlardır. Yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanları, 6W/kg'lık bir spesifik absorpsiyon hızında 2,45 GHz EMA'ya maruz bırakılmıştır. Elektromanyetik radyasyonun biyolojik etkilerinde yer alan gen ekspresyonundaki değişiklikleri incelemek için cDNA mikrodizisi oluşturulmuştur ve HSP25 ve HSP70 gen ekspresyonu incelenmiştir. İmmünohistokimyasal yöntem sonucunda elde edilen sonuçlara göre EMA'ya bağlı olarak hipokampüste, HSP25 ve HSP70 genlerinin arttığı tespit edilmiştir (Yang vd., 2012).

Chauhan ve arkadaşları, 2,45 GHz radyo frekanslı Wi-Fi radyasyonuna maruz bıraktıkları sıçanların beyin dokusunda lipid peroksit seviyesini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda lipid peroksit seviyesi anlamlı şekilde yükselmiş olarak bulunmuştur ve 2,45 GHz radyo frekansında oksidatif değişikliklere neden olduğu tespit edilmiştir (Chauhan vd., 2017).

Sonuç olarak; literatürde GSH'nin oksidatif stres üzerinde etkili bir antioksidan olduğu ileri sürülen çalışmalar bulunmaktadır. Ancak HSP25'in Wi-Fi'nin yaydığı EMA ile ilişkisi hakkında kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar doğrultusunda yaptığımız çalışmada ise 2,45 GHz radyo frekanslı Wi-Fi radyasyonunun oluşturduğu oksidatif stres sonucunda GSH ve HSP25'in etkisi incelenmiştir. Deney hayvanları, kontrol grubu ve Wi-Fi maruziyetine maruz kalan deney grubu olarak iki gruba ayrılmıştır. Deney hayvanları 60 gün boyunca her gün aynı saatte 60 dk süre ile 2,45 GHz radyo frekanslı radyasyon (0,00208 W/kg, 3V/m) uygulanmıştır. Altmış günün sonunda beyin dokusu ve serum numunelerinde analiz yapılmıştır. Beynin, prefrontal, hipotalamus dokuları ayrıldı. Yapılan analiz sonucunda beyin dokusunun prefrontal, hipotalamus bölgelerinde HSP25 ve GSH düzeylerinde ve serum GSH düzeylerinde

anlamalı bir fark tespit edilmezken, serumda HSP25 düzeyinde anlamalı fark tespit edilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan SAR değeri diğer çalışmalara göre daha düşüktür. Bu nedenle beyin dokusunda GSH ve HSP25 düzeylerinde anlamalı bir değişiklik tespit edilmediği düşünülmektedir. Bulduğumuz bu sonuçlara göre günümüzde yaygın olarak kullanılan 2,45 GHz mikrodalga frekanslı EMA oluşturan Wi-Fi'nin kullandığı bu elektrik alan ve SAR değerlerinde beyin dokusunda GSH ve HSP25 düzeylerinde değişiklik yapmadığı düşünmekte, ancak birlikte farklı radyasyon ve farklı maruz kalma sürelerinde yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Uyguladığımız doz ve sürede EMA maruziyetinde beyin dokusunda ve serum örneklerinde oksidatif stres görülmemiştir.

Uyguladığımız doz ve sürede beyin dokusunun çalıştığımız 3 bölgesinde HSP25 miktarı kontrol grubuna göre değişmemiştir.

Uyguladığımız doz ve sürelerde serum örneklerinde HSP25 düzeyinde anlamalı fark görülmemiştir.

Uyguladığımız doz ve sürede serum örneklerinde beyin dokusunun çalıştığımız 3 bölgesinde ve serum örneklerinde GSH düzeylerinde anlamalı bir değişiklik gözlemlenmemiştir.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., Zafariet, K. (2003). Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp. Biochem. Physiol. C*. 135: 331-336.
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A. (2004). Pesticides and oxidative stress : a review. *Med. Sci. Monit.* 10: 141-147.
- Akakin, D., Tok, O. E., Anil, D., Akakin, A., Sirvanci, S., Sener, G., & Ercan, F. (2021). Electromagnetic Waves from Mobile Phones may Affect Rat Brain During Development. *Turkish Neurosurgery*, 31(3).
- Altun, N. (2001). *Elektromanyetik dalgaların insan vücudu üzerindeki biyolojik etkileri*. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.
- Alvarez-Olmedo, D. G., Biaggio, V. S., Koumbadinga, G. A., Gómez, N. N., Shi, C., Ciocca, D. R., ... & O'Brien, E. R. (2017). Recombinant heat shock protein 27 (HSP27/HSPB1) protects against cadmium-induced oxidative stress and toxicity in human cervical cancer cells. *Cell Stress and Chaperones*, 22(3), 357-369.
- An, J. J., Lee, Y. P., Kim, S. Y., Lee, S. H., Lee, M. J., Jeong, M. S., ... & Choi, S. Y. (2008). Transduced human PEP-1-heat shock protein 27 efficiently protects against brain ischemic insult. *The FEBS journal*, 275(6), 1296-1308.
- Avcı, A. Y. (2001). *Diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savunma sistemi ve E vitamininin etkileri*. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı.
- Avendano, C., Mata, A., Sarmiento, C. A. S., & Doncel, G. F. (2012). Use of laptop computers connected to internet through Wi-Fi decreases human sperm motility and increases sperm DNA fragmentation. *Fertility and sterility*, 97(1), 39-45.
- 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, 360438.
- Aynalı, G., Nazıroğlu, M., Çelik, Ö., Doğan, M., Yarıktaş, M., & Yasan, H. (2013). Modulation of wireless (2.45 GHz)-induced oxidative toxicity in laryngotracheal mucosa of rat by melatonin. *European Archives of Oto-rhino-laryngology*, 270(5), 1695-1700.
- Azeez, L., Lateef, A., & Adebisi, S. A. (2017). Silver nanoparticles (AgNPs) biosynthesized using pod extract of *Cola nitida* enhances antioxidant activity and phytochemical composition of *Amaranthus caudatus* Linn. *Applied Nanoscience*, 7(1-2), 59-66.
- Baldwin, A. J., Hilton, G. R., Lioe, H., Bagnérís, C., Benesch, J. L., & Kay, L. E. (2011). Quaternary dynamics of α B-crystallin as a direct consequence of localised tertiary fluctuations in the C-terminus. *Journal of molecular biology*, 413(2), 310-320.
- Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism*, 49(2), 3-8.
- Bohr, N. (1913). I. Atomların ve moleküllerin yapısı hakkında. The London, *Edinburgh ve Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* , 26 (151), 1-25.
- Brieger, K., Schiavone, S., Miller, FJ ve Krause, KH. (2012). Reaktif oksijen türleri: sağlıktan hastalığa. *Haftalık İsviçre tıbbı* , 142 , w13659.
- Bunker, V. W. (1992). Free radicals, antioxidants and ageing. *Medical laboratory sciences*, 49(4), 299-312.
- Cadenas, E. (1989). Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual review of biochemistry*, 58(1), 79-110.

- Canbay, E., Çelik, K., Dökmetaş, S., Karadayı, K., Turan, M., Keleştemur, F., & Şen, M. (2003). Tiroid kanserli hastalarda değişen antioksidan enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu. *CÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 25(4), 151-156.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Morand, C., Lattanzio, F., Dell'Aquila, G., Zuliani, G., ... & Andres-Lacueva, C. (2008). Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Current Medicinal Chemistry*, 15(12), 1236-1248.
- Clerk, A., Michael, A., & Sugden, P. H. (1998). Stimulation of multiple mitogen-activated protein kinase sub-families by oxidative stress and phosphorylation of the small heat shock protein, HSP25/27, in neonatal ventricular myocytes. *Biochemical Journal*, 333(3), 581-589.
- Comhair, S. A., Bhatena, P. R., Farver, C., Thunnissen, F. B., & Erzurum S. C. (2001). Extracellular glutathione peroxidase induction in asthmatic lungs: evidence for redox regulation of expression in human airway epithelial cells. *The FASEB Journal*, 15(1), 70-78.
- Çetin, H., Nazıroğlu, M., Çelik, Ö., Yüksel, M., Pastacı, N., & Özkaya, M. O. (2014). Liver antioxidant stores protect the brain from electromagnetic radiation (900 and 1800 MHz)-induced oxidative stress in rats during pregnancy and the development of offspring. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 27(18), 1915-1921.
- Çiğ, B., & Nazıroğlu, M. (2015). Investigation of the effects of distance from sources on apoptosis, oxidative stress and cytosolic calcium accumulation via TRPV1 channels induced by mobile phones and Wi-Fi in breast cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1848(10), 2756-2765.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., & Colombo, R. (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica chimica acta*, 329(1-2), 23-38.
- Dasdag, S., Akdag, M. Z., Erdal, M. E., Erdal, N., Ay, O. I., Ay, M. E., ... & Yegin, K. (2015). Effects of 2.4 GHz radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi equipment on microRNA expression in brain tissue. *International journal of radiation biology*, 91(7), 555-561.
- De Hornedo, J. P., de Arriba, G., Fernández, M. C., Martínez, S. B., & Cid, T. P. (2007). Cyclosporin A causes oxidative stress and mitochondrial dysfunction in renal tubular cells. *Nefrología (English Edition)*, 27(5), 565-573.
- Delbecq, S. P., & Klevit, R. E. (2013). One size does not fit all: the oligomeric states of α B crystallin. *FEBS letters*, 587(8), 1073-1080.
- Dodd, S. L., Hain, B., Senf, S. M., & Judge, A. R. (2009). Hsp27 inhibits IKK β -induced NF- κ B activity and skeletal muscle atrophy. *The FASEB Journal*, 23(10), 3415-3423.
- Eftekhari, Z., & Fardid, R. (2020). The Bystander Effect of ultraviolet radiation and mediators. *Journal of Biomedical Physics & Engineering*, 10(1), 111.
- Eriksson, L.C. ve Andersson, G.N. (1992). Membran biyokimyası ve kimyasal hepatokarsinogenez. *Biyokimya ve moleküler biyolojide eleştirel incelemeler*, 27 (1-2), 1-55.
- Esterbauer, H., Eckl, P., & Ortner, A. (1990). Possible mutagens derived from lipids and lipid precursors. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 238(3), 223-233.
- Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
- Fattman, C. L., Schaefer, L. M., & Oury, T. D. (2003). Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(3), 236-256.

- Flora, S. J. S. (2007). Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cellular and Molecular Biology*, 53(1), 1-2.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., & Lynch, C. M. (1998). Significance of non-starter lactic acid bacteria in cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 53(2), 83.
- Fujita, S., Ikeda, Y., Miyata, M., Shinsato, T., Kubozono, T., Kuwahata, S., ... & Tei, C. (2011). Effect of Waon therapy on oxidative stress in chronic heart failure. *Circulation Journal*, 75(2), 348-356.
- Fuller, K. J., Issels, R. D., Slosman, D. O., Guillet, J. G., Soussi, T., & Polla, B. S. (1994). Cancer and the heat shock response. *European Journal of Cancer*, 30(12), 1884-1891.
- Gezgin, D. M., & Sakallı, F. (2018). *Kablosuz ağ teknolojileri ve şifreleme*. İstanbul: Efe akademi, 18-30.
- Gupte, A. A., Morris, J. K., Zhang, H., Bomhoff, G. L., Geiger, P. C., & Stanford, J. A. (2010). Age-related changes in HSP25 expression in basal ganglia and cortex of F344/BN rats. *Neuroscience letters*, 472(2), 90-93.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1984). Oksijen toksisitesi, oksijen radikalleri, geçiş metalleri ve hastalık. *Biyokimyasal dergi*, 219 (1), 1.
- Hardell, L., & Carlberg, M. (2019). Comments on the US National Toxicology Program technical reports on toxicology and carcinogenesis study in rats exposed to whole-body radiofrequency radiation at 900 MHz and in mice exposed to whole-body radiofrequency radiation at 1,900 MHz. *International journal of oncology*, 54(1), 111-127.
- Hinrikus, H., Bachmann, M., Lass, J. (2018). Understanding physical mechanism of low-level microwave radiation effect. *Int. J. of Rad. Biol.* Vol. 94, (10): pp.877–882,
<https://www.3ds.com/products-services/simulia/products/cst-studio-suite/>
- Huey, K. A. (2006). Regulation of HSP25 expression and phosphorylation in functionally overloaded rat plantaris and soleus muscles. *Journal of Applied Physiology*, 100(2), 451-456.
- Inoue, M., Sato, E. F., Nishikawa, M., Park, A. M., Kira, Y., Imada, I., & Utsumi, K. (2003). Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Current medicinal chemistry*, 10(23), 2495-2505.
- International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) 1998. Guidelines for limiting exposure to time-varying Electric, Magnetic, and Electromagnetic Fields (Up To 300 GHz). *Health Physics*, 74 (4):494-522.
- International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. (2020). Guidelines for limiting exposure to electromagnetic fields (100 kHz to 300 GHz). *Health physics*, 118(5), 483-524.
- Jones, D. P. (2008). Radical-free biology of oxidative stress. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 295(4), C849-C868.
- Kamali, K., Taravati, A., Sayyadi, S., zahra Gharib, F., & 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.
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4(1).
- Katsogiannou, M., Andrieu, C., Baylot, V., Baudot, A., Dusetti, N. J., Gayet, O., ... & Rocchi, P. (2014). The functional landscape of Hsp27 reveals new cellular processes such as DNA repair and alternative splicing and proposes novel anticancer targets. *Molecular & Cellular Proteomics*, 13(12), 3585-3601.

- Kesari, K. K., Agarwal, A., & Henkel, R. (2018). Radiations and male fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 1-16.
- Kharasch, MS ve Mayo, FR (1933). Doymamış bileşiklere reaktiflerin eklenmesinde peroksit etkisi. I. Alil bromide hidrojen bromürün eklenmesi. *Amerikan Kimya Derneği Dergisi*, 55 (6), 2468-2496.
- Kim, H. S., Choi, H. D., Pack, J. K., Kim, N., & Ahn, Y. H. (2021). Biological Effects of Exposure to a Radiofrequency Electromagnetic Field on the Placental Barrier in Pregnant Rats. *Bioelectromagnetics*, 42(3), 191-199.
- Kim, Y. K., & Prasad, R. (2006). *4G Roadmap and Emerging Communication Technologies (Universal Personal Communications)*. Artech House, Inc..
- Kinnula, V. L. (2005). Production and degradation of oxygen metabolites during inflammatory states in the human lung. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*, 4(4), 465-470.
- Kokolakis, G., Tatari, M., Zacharopoulou, A., & Mintzas, A. C. (2008). The hsp27 gene of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*: structural characterization, regulation and developmental expression. *Insect molecular biology*, 17(6), 699-710.
- Kostenko, S., & Moens, U. (2009). Heat shock protein 27 phosphorylation: kinases, phosphatases, functions and pathology. *Cellular and molecular life sciences*, 66(20), 3289-3307.
- Kovacic, P., Pozos, RS, Somanathan, R., Shangari, N., & O'Brien, PJ (2005). Mitokondriyal ayrıştırıcıların, inhibitörlerin ve toksinlerin mekanizması: elektron transferi, serbest radikaller ve yapı-aktivite ilişkilerine odaklanma. *Güncel Tıbbi Kimya*, 12 (22), 2601-2623.
- Küçükünsal, J., Baykal, Y., Kurumu, T., İzleme, S., & Başkanlığı, D. D. (2005). Kablosuz Haberleşme Teknolojisi Wimax'de Dünyadaki Durum.
- Lambert, H., Charette, S. J., Bernier, A. F., Guimond, A., & Landry, J. (1999). HSP27 multimerization mediated by phosphorylation-sensitive intermolecular interactions at the amino terminus. *Journal of Biological Chemistry*, 274(14), 9378-9385.
- Lee, Y. P., Kim, D. W., Kang, H. W., Hwang, J. H., Jeong, H. J., Sohn, E. J., ... & Choi, S. Y. (2012). PEP-1-heat shock protein 27 protects from neuronal damage in cells and in a Parkinson's disease mouse model. *The FEBS journal*, 279(11), 1929-1942.
- Liu, L. L., He, J. H., Xie, H. B., Yang, Y. S., Li, J. C., & Zou, Y. (2014). Resveratrol induces antioxidant and heat shock protein mRNA expression in response to heat stress in black-boned chickens. *Poultry Science*, 93(1), 54-62.
- Liu, Q., Si, T., Xu, X., Liang, F., Wang, L., & Pan, S. (2015). Electromagnetic radiation at 900 MHz induces sperm apoptosis through bcl-2, bax and caspase-3 signaling pathways in rats. *Reproductive Health*, 12(1), 1-9.
- Lloyd, R. V., Hanna, P. M., & Mason, R. P. (1997). The origin of the hydroxyl radical oxygen in the Fenton reaction. *Free radical biology and medicine*, 22(5), 885-888.
- Lu, Y. S., Huang, B. T., & Huang, Y. X. (2012). Reactive oxygen species formation and apoptosis in human peripheral blood mononuclear cell induced by 900 MHz mobile phone radiation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 740280.
- Luberda, Z. (2005). The role of glutathione in mammalian gametes. *Reprod Biol*, 5(1), 5-17.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577-586.
- Masoumi, A., Karbalaeei, N., Mortazavi, S. M. J., & Shabani, M. (2018). Radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi (2.4 GHz) causes impaired insulin secretion and increased

- oxidative stress in rat pancreatic islets. *International journal of radiation biology*, 94(9), 850-857.
- Mastrocola, R., Barutta, F., Pinach, S., Bruno, G., Perin, P. C., & Gruden, G. (2012). Hippocampal heat shock protein 25 expression in streptozotocin-induced diabetic mice. *Neuroscience*, 227, 154-162.
- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*, 32(8), 595-603.
- Mezzetti, A., Lapenna, D., Romano, F., Costantini, F., Pierdomenico, S. D., De Cesare, D., ... & Associazione Medica "Sabin". (1996). Systemic oxidative stress and its relationship with age and illness. *Journal of the American Geriatrics Society*, 44(7), 823-827.
- Mickle, D. A., & Weisel, R. D. (1993). Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *The Canadian journal of cardiology*, 9(1), 89-93.
- Nagendappa, G. (2005). Serbest radikal kimyasının değerlendirilmesi 3. Hastalık ve sağlıkta serbest radikaller. *Rezonans*, 10 (4), 65-74.
- Nazıroğlu, M., Yüksel, M., Köse, S. A., & Özkaya, M. O. (2013). Recent reports of Wi-Fi and mobile phone-induced radiation on oxidative stress and reproductive signaling pathways in females and males. *The Journal of membrane biology*, 246(12), 869-875.
- Obajuluwa, A. O., Akinyemi, A. J., Afolabi, O. B., Adekoya, K., Sanya, J. O., & Ishola, A. O. (2017). Exposure to radio-frequency electromagnetic waves alters acetylcholinesterase gene expression, exploratory and motor coordination-linked behaviour in male rats. *Toxicology reports*, 4, 530-534.
- Özorak, A., Nazıroğlu, M., Çelik, Ö., Yüksel, M., Özçelik, D., Özkaya, M. O., ... & Kose, S. A. 2013. "Wi-Fi (2.45 GHz)-and mobile phone (900 and 1800 MHz)-induced risks on oxidative stress and elements in kidney and testis of rats during pregnancy and the development of offspring", *Biological trace element research*, 156(1-3), 221-229.
- Pall M. L. (2018). Wi-Fi is an important threat to human health. *Environmental research*, 164, 405-416.
- Parcellier, A., Schmitt, E., Brunet, M., Hammann, A., Solary, E., & Garrido, C. (2005). Small heat shock proteins HSP27 and α B-crystallin: cytoprotective and oncogenic functions. *Antioxidants & redox signaling*, 7(3-4), 404-413.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
- Piao, M. J., Kang, K. A., Lee, I. K., Kim, H. S., Kim, S., Choi, J. Y., ... & Hyun, J. W. (2011). Silver nanoparticles induce oxidative cell damage in human liver cells through inhibition of reduced glutathione and induction of mitochondria-involved apoptosis. *Toxicology letters*, 201(1), 92-100.
- Piao, MJ, Kang, KA, Lee, IK, Kim, HS, Kim, S., Choi, JY, ... & Hyun, JW (2011). Gümüş nanopartiküller, azaltılmış glutatyonun inhibisyonu ve mitokondri ile ilgili apoptozun indüklenmesi yoluyla insan karaciğer hücrelerinde oksidatif hücre hasarına neden olur. *Toksikoloji mektupları*, 201 (1), 92-100.
- Prokai, L., Yan, L. J., Vera-Serrano, J. L., Stevens Jr, S. M., & Forster, M. J. (2007). Mass spectrometry-based survey of age-associated protein carbonylation in rat brain mitochondria. *Journal of mass spectrometry*, 42(12), 1583-1589.
- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging*, 2(2), 219.

- Rao, R. S. P., & Møller, I. M. (2011). Pattern of occurrence and occupancy of carbonylation sites in proteins. *Proteomics*, 11(21), 4166-4173.
- Regalbuto, E., Anselmo, A., De Sanctis, S., Franchini, V., Lista, F., Benvenuto, M., ... & Sgura, A. (2020). Human fibroblasts in vitro exposed to 2.45 GHz continuous and pulsed wave signals: Evaluation of biological effects with a multimethodological approach. *International journal of molecular sciences*, 21(19), 7069.
- Reid, T. M., Feig, D. I., & Loeb, L. A. (1994). Mutagenesis by metal-induced oxygen radicals. *Environmental health perspectives*, 102(suppl 3), 57-61.
- Robinson, A., Huttley, G. A., Booth, H. S., & Board, P. G. (2004). Modelling and bioinformatics studies of the human Kappa-class glutathione transferase predict a novel third glutathione transferase family with similarity to prokaryotic 2-hydroxychromene-2-carboxylate isomerases. *Biochemical journal*, 379(3), 541-552.
- Samak, M. A., Elshatory, A., & Mohamed, E. M. (2019). Outcomes of Gallic Acid on Alternariol Induced Cyto-Morphic and Genotoxic In Vivo Changes in Parotid Gland: 4-HNE Incorporated. *Biomedicines*, 7(4), 84.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*, 3(1), 91-100.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*, 3(1), 91-100.
- Sharma, A., Shrivastava, S., & Shukla, S. (2020). Exposure of Radiofrequency Electromagnetic Radiation on Biochemical and Pathological Alterations. *Neurology India*, 68(5), 1092.
- Sharp, F. R., Zhan, X., & Liu, D. Z. (2013). Heat shock proteins in the brain: role of Hsp70, Hsp 27, and HO-1 (Hsp32) and their therapeutic potential. *Translational stroke research*, 4(6), 685-692.
- Shashidharamurthy, R., Koteiche, HA, Dong, J., & Mchaourab, HS (2005). Küçük ısı şoku proteinlerinde şaperon işlevinin mekanizması: Kararsızlaştırılmış T4 lizoziminin tanınması ve bağlanması için HSP27 oligomerinin ayrışması gereklidir. *Biyolojik Kimya Dergisi*, 280 (7), 5281-5289.
- Sheehan, D., Meade, G., FOLEY, V. M., & DOWD, C. A. (2001). Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochemical journal*, 360(1), 1-16.
- Shekoohi-Shooli, F., Mortazavi, S. M. J., Shojaei-Fard, M. B., Nematollahi, S., & Tayebi, M. (2016). Evaluation of the protective role of vitamin c on the metabolic and enzymatic activities of the liver in the male rats after exposure to 2.45 GHz of Wi-Fi routers. *Journal of biomedical physics & engineering*, 6(3), 157.
- Sugiyama, Y., Suzuki, A., Kishikawa, M., Akutsu, R., Hirose, T., Waye, M. M., ... & Ohno, S. (2000). Muscle develops a specific form of small heat shock protein complex composed of MKBP/HSPB2 and HSPB3 during myogenic differentiation. *Journal of Biological Chemistry*, 275(2), 1095-1104.
- Sun, Y., Zheng, Y., Wang, C., & Liu, Y. (2018). Glutathione depletion induces ferroptosis, autophagy, and premature cell senescence in retinal pigment epithelial cells. *Cell death & disease*, 9(7), 1-15.
- Townsend, D. M., Tew, K. D., & Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 57(3-4), 145-155.

- Tök, L., Nazıroğlu, M., Doğan, S., Kahya, M. C., & Tök, Ö. (2014). Effects of melatonin on Wi-Fi-induced oxidative stress in lens of rats. *Indian journal of ophthalmology*, 62(1), 12.
- Virág, L., & Szabó, C. (2002). The therapeutic potential of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacological reviews*, 54(3), 375-429.
- Wang, X., Chen, M., Zhou, J., & Zhang, X. (2014). HSP27, 70 and 90, anti-apoptotic proteins, in clinical cancer therapy. *International journal of oncology*, 45(1), 18-30.
- Wang, Y., Chen, Q., Shi, C., Jiao, F., & Gong, Z. (2019). Mechanism of glycyrrhizin on ferroptosis during acute liver failure by inhibiting oxidative stress. *Molecular medicine reports*, 20(5), 4081-4090.,
- White, E., Shannon, J. S., & Patterson, R. E. (1997). Relationship between vitamin and calcium supplement use and colon cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 6(10), 769-774.
- Yan, L. J., & Sohal, R. S. (1998). Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(22), 12896-12901.
- Yang, X. S., He, G. L., Hao, Y. T., Xiao, Y., Chen, C. H., Zhang, G. B., & Yu, Z. P. (2012). Exposure to 2.45 GHz electromagnetic fields elicits an HSP-related stress response in rat hippocampus. *Brain research bulletin*, 88(4), 371-378.
- Yavuz, A. T. A. R., Topaloğlu, İ., Saltürk, Z., & Sevgi, A. T. A. R. (2012). Pulsatil Elektromanyetik Alanın Sıçanlarda Ağırılık Üzerine Etkilerinin Araştırılması. *Çağdaş Tıp Dergisi*, 2(3), 137-140.
- Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3), 337-349.
- Zha, X. D., Wang, W. W., Xu, S., & Shang, X. J. (2019). Impacts of electromagnetic radiation from cellphones and Wi-Fi on spermatogenesis. *Zhonghua nan ke xue= National journal of andrology*, 25(5), 451-455.
- Zou, S., Liao, M., Yang, J., Huang, T., Green, M., Wu, J., & Qu, L. (2017). Heat shock protein 27 plays a protective role in thoracic aortic dissection by promoting cell proliferation and inhibiting apoptosis. *Cellular & molecular biology letters*, 22(1), 1-15.
- Zyśk, M., Pikul, P., Kowalski, R., Lewandowski, K., Sakowicz-Burkiewicz, M., & Pawełczyk, T. (2020). Neither Excessive Nitric Oxide Accumulation nor Acute Hyperglycemia Affects the N-Acetylaspartate Network in Wistar Rat Brain Cells. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8541.
- Zyubin, A., Kon, I., Tcibulnikova, A., Matveeva, K., Khankaev, A., Myslitskaya, N., ... & Demin, M. (2021). Numerical FDTD-based simulations and Raman experiments of femtosecond LIPSS. *Optics Express*, 29(3), 4547-4558.



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604.01.03-E.12219
Konu : Hadyek izini hk

17/07/2020

DOÇ. DR. BİRŞEN BİLGİCİ
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Laboratuvar hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Doç. Dr. Birşen BİLGİCİ'nin 2020/36 Kabul nolu **"2-2.45 GHz mikrodalga frekansının (MW) oluşturduğu Elektromanyetik alanın (EMA) rat HSP 25 ve Glutasyon düzeyleri üzerine etkisi."** başlıklı projesi 14.07.2020 tarihli Kurul toplantısında OMU- HADYEK'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

Ek: ETİK KURUL KARARI 2020 – 36 B. BİLGİCİ

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>



Kep Adresi:
omu@hs01.kep.tr

Hayriye ÇELİK
Dahili Tel: 2588

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.
Evrak teyidi <https://ebyssorgu.omu.edu.tr> adresinden 8601-8B2V-0V3G kodu ile yapılabilir.

ÖZ GEÇMİŞ

Atakan ERİŞGİN, Amasya Anadolu Lisesi'ni bitirdikten sonra Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 09.06.2018 tarihinde mezun oldu. 2019 yılında OMÜ LEE Tıbbi biyokimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi. Mezuniyetinden bu yana Elif Eczanesinin mesul müdürü ve sahibi olarak görev yapmaktadır.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-0363-8611

Yayınlar:

1. Elektromanyetik alana maruz bırakılan sıçanlarda HSP25 ve Glutasyon düzeyleri üzerine etkisi (4. Uluslararası Tıp Bilimleri ve Multidisipliner Yaklaşımlar Kongresi)
- 2.