

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİMDALI**

**RADYO FREKANS RADYASYON VE OLDUKÇA DÜŞÜK
FREKANSLI MANYETİK ALANLARIN DİYABETİK VE
DİYABETİK OLMAYAN SIÇANLARIN TESTİS DOKUSUNDA
OKSİDAN STRES ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DİLEK KUZAY**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ÇİĞDEM ÖZER**

**ANKARA
ARALIK 2014**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİMDALI**

**RADYO FREKANS RADYASYON VE OLDUKÇA DÜŞÜK
FREKANSLI MANYETİK ALANLARIN DİYABETİK VE
DİYABETİK OLMAYAN SIÇANLARIN TESTİS DOKUSUNDA
OKSİDAN STRES ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DİLEK KUZAY**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ÇİĞDEM ÖZER**

*Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından
TF.01/2011-18 proje numarası ile desteklenmiştir.*

**ANKARA
ARALIK 2014**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince emeklerini, bilgilerini ve sevgilerini benden esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Lamia PINAR'a,

Eğitimimde önemli katkıları olan, bana ışık tutan ve sevgisini her an hissettiğim danışman hocam Prof. Dr. Çiğdem ÖZER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde tüm olanakları sağlayan, her konuda verdiği destek ve ilgisi ile yetişmemde katkıları olan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Bahriye SIRAV ARAL'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca ilgi, bilgi ve sevgilerini benden esirgemeyen Prof. Dr. Aydan BABÜL'e, Prof. Dr. Deniz ERBAŞ'a, Prof. Dr. Sibel DİNÇER'e, Prof. Dr. K. Gonca AKBULUT'a, Doç. Dr. Şevin GÜNEY'e, Uzm. Dr. Tayfun GÖKTAŞ'a,

Çalışmalarım boyunca yardımlarını benden esirgemeyen Biyolog Başak OKUDUCU arkadaşşıma sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın her anında sevgi ve emeklerini benden esirgemeyen, destekleriyle her zaman yanımda olan ve yüreklendiren çok değerli annem Kezban KUZAY, babam Taner KUZAY ve kardeşim İbrahim KUZAY'a tüm içtenliğimle çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1-GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	6
2.1 Elektromanyetik alanlar ve elektromanyetik spektrum	6
2.2 IARC ve kanser monografisi	10
2.3 Elektromanyetik alanların biyolojik yapılarla etkileşimi	12
2.3.1 Fiziksel parametreler	13
2.3.2 Biyolojik parametreler	13
2.3.3 Çevresel faktörler	13
2.3.4 Elektromanyetik alanların etki mekanizması	14
2.3.4.1 ELF alanların etki mekanizmaları	14
2.3.4.2 Radyo Frekans alanların biyolojik etkileri ve etki mekanizması	14
2.4 Elektromanyetik alanlar için oluşturulmuş standartlar	15
2.4.1 Türkiye Radyofrekans standardı	16
2.4.2 Elektromanyetik alanlar ve ihtiyat ilkesi	17
2.5 Elektromanyetik alanların biyolojik etkileri	17
2.5.1 Genetik etkiler	18
2.5.2 Üreme-büyüme ve gelişmeye etkileri	19
2.5.3 Karsinojenik etkiler	20
2.5.4 Hematolojik ve immünolojik etkiler	22

2.5.5 Hastane cihazları ile etkileşimi	23
2.6 Diyabet	25
2.6.1 Deneysel diyabet oluşturma modelleri	26
2.7 Serbest radikaller	29
2.7.1 Bağların termal ayrılması	30
2.7.2 Radikallerin fotokimyasal oluşumu	30
2.7.3 Bağların iyonize radyasyon ile ayrılması	31
2.7.4 Elektron transferi	31
2.7.5 Molekül destekli hemoliz	32
2.8 Reaktif oksijen türevleri ve oksidatif stres	33
2.8.1 Süperoksit anyon radikali	34
2.8.2 Hidroksil radikali	35
2.8.3 Singlet oksijen	36
2.9 Serbest radikallerin biyomoleküllerle etkileşimi	40
2.9.1 Serbest radikal-protein etkileşimi	40
2.9.2 Serbest radikal-lipit etkileşimi	42
2.9.3 Serbest radikal-DNA etkileşimi	46
2.10 Antioksidan savunma sistemi	48
2.10.1 Antioksidan sistemler	49
2.10.2 GSH metabolizması ve antioksidan rolü	49

2.10.3 Elektromanyetik radyasyon ve oksidan stres	51
2.10.4 Diyabet ve oksidan stres	55
2.11 Testis	57
2.12 Testis ve diyabet	61
3-GEREÇ VE YÖNTEM	63
3.1 Deney hayvanları	63
3.2 Laboratuvar koşulları	64
3.3 Araştırmada kullanılan cihazlar ve malzemeler	64
3.4 Kimyasal çalışmada kullanılan cihazlar	66
3.5 Araştırmada kullanılan kimyasallar	66
3.6 Deneysel diyabet oluşturma	66
3.7 Deneklerde ötenazi	67
3.8 Çalışma süresince ölçülen parametreler	67
3.9 Çalışmanın bitiminde testiste bakılacak parametreler	69
3.10 Dokuda TBARS tayini	69
3.11 Dokuda glutatyon tayini	70
3.12 Dokuda NO_x tayini	70
3.13 İstatistiksel analiz	71
4-BULGULAR	72
5-TARTIŞMA	87

6-SONUÇ	92
7-KAYNAKLAR	94
8-ÖZET	115
9-SUMMARY	116
10-ÖZGEÇMİŞ	118

ŞEKİLLER

Şekil 1: Elektromanyetik dalga yayılımı	7
Şekil 2: Elektromanyetik spektrum	8
Şekil 3: Reaktif Oksijen Ürünlerinin temel kaynakları	33
Şekil 4: Temel durumdaki oksijen, süperoksit radikali ve singlet oksijen	36
Şekil 5: Protein yapısı	40
Şekil 6: Hücre membranı	42
Şekil 7: Hücre membranı bileşeni kolesterol(a) ve fosfolipitler(b)	43
Şekil 8: Lipit peroksidasyon basamakları	45
Şekil 9: RF alanların termal ve termal olmayan etkileşim mekanizmaları	52
Şekil 10: Diyabette artan glukoz ile oksidan stresin artışı	56
Şekil 11: Kemoterapötiklerin erkek üreme sistemi üzerindeki yan etkileri ve koruyucu stratejiler	58
Şekil 12: İnfertilite açısından büyük öneme sahip faktörlerden biri olan oksidatif strese yol açan erkek üreme sisteminin primer patolojileri	59
Şekil 13: Reaktif oksijen ürünlerinin fertilitateye etkisi	60
Şekil 14: Radyofrekans radyasyon maruziyet sistemi	64
Şekil 15: Oldukça düşük frekanslı manyetik alan sistemi	65
Şekil 16: Diyabet yapılmayan (sağlıklı) grupların 1 aylık uygulama sonrası (feda edilmeden önce) AKŞ düzeyleri	73
Şekil 17: Diyabet yapılmayan (sağlıklı) grupların 1 aylık uygulama sonrası beden ağırlıkları.	74

Şekil 18: Diyabet yapılmayan (sağlıklı) grupların 1 aylık uygulama sonrası metabolik kafes düzeneyinde aldıkları sıvı miktarı	75
Şekil 19: Diyabet yapılmayan (sağlıklı) grupların 1 aylık uygulama sonrası metabolik kafes düzeneyinde çıkardıkları idrar miktarları	76
Şekil 20: Diyabetik grupların STZ enjeksiyonu öncesi (1), STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra (2) ve 1 aylık radyasyon uygulaması sonrası (3) AKŞ düzeyleri	78
Şekil 21: Diyabetik grupların STZ enjeksiyonu öncesi (1), STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra (2) ve 1 aylık radyasyon uygulaması sonrası (3) beden ağırlıkları	79
Şekil 22: Diyabetik grupların STZ enjeksiyonu öncesi (1), STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra (2) ve 1 aylık radyasyon uygulaması sonrası (3) aldıkları sıvı miktarları.	80
Şekil 23: Diyabetik grupların STZ enjeksiyonu öncesi (1), STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra (2) ve 1 aylık radyasyon uygulaması sonrası (3) çıkardıkları idrar miktarları	81
Şekil 24: Testis dokusu MDA düzeyleri	84
Şekil 25: Testis dokusu NOx düzeyleri	85
Şekil 26: Testis dokusu GSH düzeyleri	86

TABLÖLAR VE RESİMLER

Tablo 1: IARC kanser monografi	11
Tablo 2: IARC kanser sınıflandırması	12
Tablo 3: Telekomünikasyon kurumu yönetmeliğinde yer alan RF standartları	16
Tablo 4: Reaktif oksijen metabolitleri	38
Tablo 5: Reaktif nitrojen metabolitleri	39
Tablo 6: Deney grupları	63
Tablo 7: Diyabet yapılmayan gruplara ait AKŞ, beden ağırlığı, alınan sıvı ve çıkarılan idrar miktarları	72
Tablo 8: Diyabetik gruplara ait STZ enjeksiyonu öncesi, STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra ve 1 aylık Radyasyon uygulaması sonrası AKŞ, beden ağırlığı, alınan sıvı ve çıkarılan idrar miktarları	77
Tablo 9: Testis dokusu MDA, NO _x ve GSH düzeyleri	82
Tablo 10: Tesis dokusu MDA, NO _x ve GSH verilerinin istatistik özeti	83
Resim 1: R&S SMBV100A vector signal generator, anteni ile beraber	64
Resim 2: ELF manyetik alan sistemini içeren Helmholtz bobin sistemi	65
Resim 3: Metabolik kafes düzeneği	68
Resim 4: Alındıkları su ve çıkardıkları idrar miktarları	68

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Endüstrileşme, teknoloji ve bilimin gelişimiyle hayatımıza yoğun bir şekilde giren ve son yıllarda trafik ve askeri alanlarda kullanılan radarların, mikrodalga fırınların, telsiz iletişim sistemlerinin, özel TV ve radyoların, cep telefonlarının ve baz istasyonlarının artmasıyla daha yoğun olarak maruz kaldığımız Radyo Frekans (RF) radyasyon kaynaklarını, aynı zamanda tedavi amaçlı diatermi ve MRI üniteleri gibi medikal sistemlerde de kullanmaktayız. Oldukça düşük frekanslı (ELF - Extremely Low Frequency) alanlar ise evlerde ve ofislerde kullandığımız elektrikli cihazlar, trafolar ve yüksek gerilim hatları (YGH) ile giderek artan oranda yaşamımızda yerini yoğun biçimde almaktadır. Buna paralel olarak kanser çeşitlerinin, Alzheimer, Parkinson, Multiple Sclerosis (MS) gibi hastalıkların yine son yıllarda çok fazla artması, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO-World Health Organization) ilgisini çekmiş ve bu nedenle örgüt, bünyesinde 1996 yılında WHO Elektromanyetik Alan Projesi (EMF – Electro Magnetic Field Project)'ni başlatmıştır. Proje kapsamında her yıl Elektromanyetik (EM) alanların sağlığa etkilerine ilişkin yapılan bilimsel çalışmalar ve sonuçları tartışılmakta, halkın EM alanlara maruziyetini sınırlayan standartlar oluşturulmaktadır. Söz konusu projenin süresi EM alanların insan sağlığına olası etkileri konularında belirsizliklerin devam etmesi nedeni ile uzatılmaktadır.

Son yıllarda oldukça yoğun görülen Alzheimer, Parkinson, MS, beyin tümörleri gibi sinir sistemi ile ilişkili rahatsızlıkların nedenlerinden birinin EM alan kaynakları olup olmadığı, 2000'li yılların önemli bilimsel araştırma

konularından birini oluşturmaktadır. İnsanlarda yapılan laboratuvar çalışmalarında ELF elektromanyetik alanların, kan biyokimyası ve hematolojisinde sapmalara neden olduğu, nöroendokrin sistemde hormon salgılanmasını, sindirim sistemini, kardiyovasküler sistemde kan basıncı ve EKG potansiyellerini etkilediği, sinir sisteminde EEG dalga potansiyelinde değişim oluşturduğu, davranış değişimlerine neden olduğu, deri sıcaklığını etkilediği, fibroplastlarda DNA sentezini artırdığı gözlenmiştir. Evlerde ELF manyetik alan seviyelerindeki artışla depresyon arasında ilişki bulunmuştur. YGH yakınında yaşayanlarda baş ağrısı, depresyon, halüsinasyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulan çalışmalar vardır. ELF, EM alanlara maruz bırakılan deney hayvanlarında (maymun, kobay, fare, sıçan ve tavşan) nötrofil, lenfosit ve lökosit sayılarında azalma, beyinde biyokimyasal ve yapısal değişimler, yine seratonin ve dopamin seviyelerinde azalma gibi bulgular mevcuttur. ELF alanlardan en çok etkilenen dokular iletkenlik özelliklerine göre beyin sıvısı ve kan, ikinci derecede etkilenen dokular ise göz sıvısı, tiroid, kas, gastrointestinal sistem, prostat ve testislerdir. ELF Manyetik alan, melatonin sentezini yavaşlatarak uyku düzeninin bozulmasına neden olmaktadır.

RF alanların değişik biyolojik etkilere neden olduğunu gösteren çok sayıda araştırma mevcuttur. Bu çalışmalar çeşitli kanser türleri, lösemi ve lenfoma, kan beyin bariyeri geçirgenliğinin artması, beyin sıcaklığının, hücre ve DNA sentezinin artması, üremede azalma, kromozomal bozulmalar, beyin elektriksel aktivitesinin, kan basıncının artması, davranış bozukluğu, çocuklarda öğrenme güçlüğü gibi pek çok etkinin varlığını göstermektedir. RF alan kaynakları kalp pili

kullanıcılarının üzerinde de etkili bulunmuştur (1). RF alanların başağrısı ile ilişkisini bulgulayan çalışmalar vardır. 16 yaşın altındaki çocukların WHO'nun tavsiye etmemesine rağmen giderek artan oranda cep telefonu kullanıyor olması ve çocukların yaşamları boyunca yetişkinlerden daha çok RF radyasyona maruz kalacak olmaları gerçeği, RF'in özellikle hamilelerde ve çocuklarda etkilerine yönelik yeni araştırmalara ivme kazandırma gereğini ortaya çıkarmıştır. Cep telefonlarının çocuklarda beyin delta dalgasını değiştirdiğine dair bulgular mevcuttur. Isı artışına neden olmayacak seviyede (non-termal) RF radyasyonun deney hayvanlarında davranışta değişimlere neden olduğunu bulgulayan çalışmalar mevcuttur. Cep telefonları; çağrı sistemleri, telsiz telefonlar, hastane cihazları ile girişim yaparak fonksiyonlarda bozulmaya (alarm, stop, dalga formunda değişim, hata ve kısa süre kilitlenmeye) neden olur. Girişimi önleyen minimum mesafe 1 m alınabilir. Yapılan deneysel (in vitro / in vivo) çalışmalar RF alan maruziyetinin hücre membran fonksiyonları ve hücre metabolizması üzerine de etkilerinin olduğunu göstermektedir. Özellikle hücre membran bileşenleri olan kolesterol ve fosfolipidler gibi doymamış lipidler ile oksidatif hasara neden olan Reaktif Oksijen (ROS) ve Nitrojen (RNS) türleri arasında meydana gelen bir seri zincir reaksiyon sonucunda doymamış lipidlerde degradasyon olayı gerçekleşmekte ve bu olay Lipid Peroksidasyonu (LPO) olarak tanımlanmaktadır. Gerçekleşen bir seri reaksiyon neticesinde LPO son ürünleri olarak basit hidrokarbonlar ve kısa zincirli aldehidler oluşmaktadır. Serbest radikallerden daha uzun ömürlü ve daha fazla reaktiviteye sahip olan aldehidler başta DNA olmak üzere birçok biyomolekül ile kolayca reaksiyona girerek hücre

seviyesinde çeşitli şekillerde oksijen toksisitesine sebep olmaktadır. Oluşan sitotoksik etkiler arasında aldehidlerin DNA ile etkileşimi sonrasında meydana gelen DNA hasarı ve mutasyon da yer almaktadır.

Diyabet son yıllarda dünyada ve ülkemizde sıklığı hızla artan, yaşam kalitesini bozan, kronik metabolik bir hastalıktır (2). Giderek daha sık rastlanan ve bu nedenle tedavisi ve etki mekanizması hakkında çok sayıda araştırma yapılan diyabet ile ilgili deneysel çalışmalar hayvan modellerinde yapılarak, veriler insanlardaki bulgularla karşılaştırılmaktadır. Diabetes Mellitus (DM) vücudun hiç insülin üretmemesi, yeterli düzeyde insülin üretememesi veya insülini kullanamamasından kaynaklanan hiperglisemiye neden olan karbonhidrat, lipid ve protein metabolizma bozukluğu ile karakterizedir. DM’ da hipergliseminin karakteristik semptomları, polidipsi, poliüri, kilo kaybı, nadiren polifaji ve görmede bulanıklıktır. Eğer hastalık iyi kontrol edilmezse hiperglisemi, ketoasidoz ya da nonketotik hiperozmolar koma gibi akut komplikasyonlar gelişebilir. Hastalığın kronik komplikasyonları arasında ise; hipertansiyon, kalp yetmezliği ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıklar nefropati, retinopati, periferik nöropati ve yara iyileşmesini geciktiren mikrovasküler bozukluklar sayılabilir (3).

Teknolojinin gelişimi ile birlikte diyabet gibi kronik rahatsızlığı olan bireylerde RF radyasyona ve ELF manyetik alana uzun dönemli maruz kalmaktadır. Diyabet gibi rahatsızlığı olan bireylerde bu EM alan kaynaklarının olası sağlık ve biyolojik etkileri konusunda bilimsel bilgi oldukça yetersizdir. RF radyasyon ve ELF manyetik alanların sperm sayısına ve kalitesine yönelik

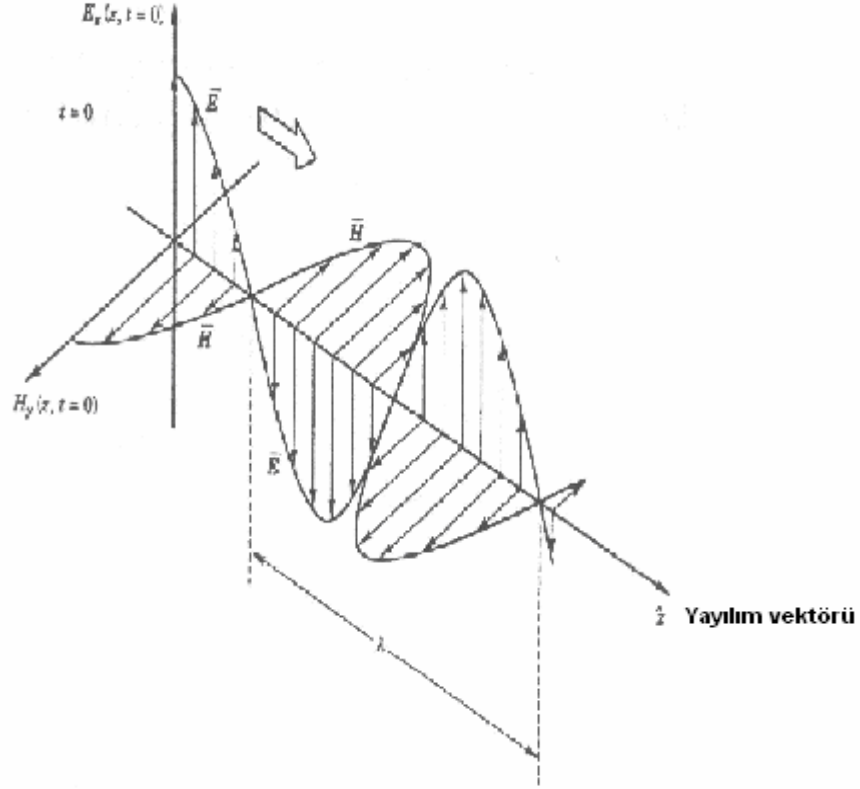
literatürde çok sayıda çalışma olmasına karşın testislerde oksidan stres üzerine olan etkisi ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda 17.25 V/m elektrik alan şiddetine ve 0.23 W/kg SAR değerine sahip RF elektromanyetik alan ve 50 Hz - 8.2 mT ELF manyetik alan maruziyetinin diyabet olan ve olmayan (nondiyabetik) sıçanların testis dokusu üzerinde meydana getireceği oksidan stres ve antioksidanlar üzerine olan etkileri araştırmayı amaçladık.

2-GENEL BİLGİLER

2.1 Elektromanyetik Alanlar ve Elektromanyetik Spektrum

EM dalga, uzayda ya da maddesel bir ortamda yayılan elektrik ve manyetik alan dalgalarının ortak adıdır. Hareket eden bir elektrik yükü zamanla değişen elektrik ve manyetik alanlar üretir. Faraday indüksiyon yasasına göre bir manyetik alandaki değişim elektrik alana yol açar, bunun tersi olarak değişken bir elektrik alan da manyetik alan üretir. Buna göre hareket eden bir yükün oluşturduğu elektrik ve manyetik alanlar sürekli birbirini etkiler; bu alanlardaki dalgalanmalar yükten dışa doğru elektromanyetik bir dalga olarak yayılır. Çevremizdeki enerjinin boşlukta elektrik ve manyetik dalgalar şeklinde iletildiği ilk kez Maxwell tarafından matematiksel olarak ifade edilmiştir. Zamanla sinüzoidal olarak değişen, birbirine dik elektrik ve manyetik alanların oluşturduğu düzleme dik doğrultuda belirli bir hızla yayılan elektromanyetik enerjiye elektromanyetik dalga denir. (Şekil 1)

EM alan teorisine göre elektrik ve manyetik alanlar birbirlerine dik düzlemlerde dalga şeklinde salınırlarken, bu düzlemlerin arakesiti boyunca da ışık hızı ile ($C=3 \times 10^8$ m/sn) yayılırlar (4).



Şekil 1. Elektromanyetik dalga yayılımı (5)

EM alanlar atomları oluşturan elektronları, protonları ve nötronları, mikroskobik ve makroskobik cisimleri oluşturan molekülleri bir arada tutar.

EM dalgaların tümünün frekanslarına, dalga boylarına veya enerjilerine göre sıralanması EM spektrumu oluşturur. (Şekil 2) Spektrumda gittikçe artan frekanslarda olmak üzere ELF, Düşük Frekans (Low Frequency - LF), RF, mikrodalga (Microwave - MW), kızıl ötesi radyasyon (Infrared Radiation - IR), görünür ışık (visible light), mor ötesi (Ultra Violet -UV) ışın, X ışını, γ ışını ve kozmik ışınlar yer alır. Her biri spektrumun birer bileşeni olmalarına rağmen maddeler ve biyolojik sistemler ile etkileşimleri farklıdır. Bu farklılık ışık hızında hareket etmelerine karşın dalga boylarının (λ) dolayısı ile frekans (f) ve

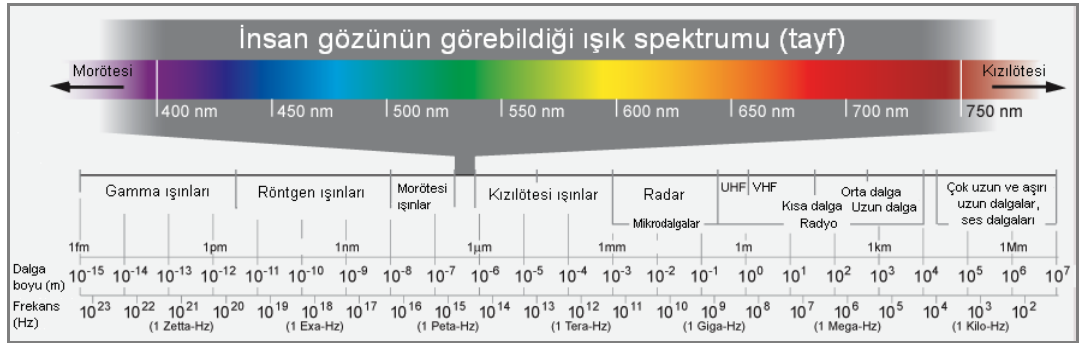
enerjilerinin (E) farklı olmasından kaynaklanır. Spektrumun tüm bileşenleri dalga formunda yayılırlar, davranışları elektromanyetik dalga prensibiyle açıklanır. Enerjileri ise fotonlar ya da enerji paketleri şeklinde dağılır. Fotonun enerjisi dalga boyuyla ters orantılıdır yani kısa dalga boylu fotonun enerjisi daha büyüktür.

Bir dalganın titreşim frekansı (f) ne kadar büyükse dalga o kadar çok enerjiye sahiptir.

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

h: Planck sabiti (j.sn); 6.626×10^{-34}

f: Frekans (Hz = 1/sn)



Şekil 2. Elektromanyetik spektrum

Spektrumun en başında en düşük frekanslı ELF (Extremely Low Frequency) alanlar mevcuttur, evde tüm elektronik cihazlarda kullandığımız şehir cereyanı (50 Hz) bu frekans aralığına girer. Şehir cereyanında Avrupa'da 50 Hz, Amerika'da 60 Hz kullanılmaktadır. LF daha çok amatör radyoculukta kullanılırken, RF ise televizyon ve radyo yayıncılığının yanı sıra cep telefonu ve

baz istasyonlarında, radar sistemlerinde, diatermi - MRI (Manyetik Rezonans Görüntüleme) gibi tıbbi uygulamalarda kullanılır. Mikrodalgalar yine cep telefonu ve baz istasyonları ile beraber, mikrodalga fırınlarda, radarlarda, uydu haberleşmeciliğinde kullanılır. Canlılar başta olmak üzere sıcak tüm yapılar infrared radyasyon kaynağıdır. Görünür ve ultraviyole ışığın en önemli kaynağı güneştir. X-ışınları tıbbi amaçlı görüntülemede kullanılır. Spektrumun yüksek enerjiye sahip bileşenlerinden biri ise gama (γ) ışınlarıdır. Spektrumda en yüksek frekanslı ışınlar kozmik ışınlardır. Elektromanyetik spektrum bileşenleri enerjilerine ya da frekanslarına göre İyonize ve Non-İyonize (iyonize olmayan-iyonlaştırmayan) gruba dâhil olabilirler.

On elektron volt (eV)'dan düşük enerjilere sahip fotonlar Non-İyonize (İyonlaştırmayan) olarak tanımlanır. Non-İyonize radyasyonun kanser yapıcı etkisinin olup olmadığına dair çalışmalar devam etmektedir. İyonize radyasyonla Non-İyonize radyasyon arasında iyonlaştırmaya neden olup olmamaları farkı yanında önemli farklılıklardan bir diğeri de, iyonize radyasyonun kümülatif etkisinin olmasıdır, yani değişik şiddetlerde veya sürelerde uygulanan iyonize radyasyon biyolojik yapıda birikerek sonuçlanan etkiler gösterir. Mikrodalga, RF ve daha düşük frekanslı elektromanyetik alanların kümülatif (biriken) etkisinin olduğuna dair bilimsel bir kanıt henüz yoktur. Gama - γ ışınları ve X ışınları (frekans aralığı $3 \times 10^{20} - 10^{16}$ Hz) ile daha düşük frekanslı UltraViolet (UV) radyasyonun bir bölümü ise iyonize radyasyon olarak bilinir.

RF radyasyon, enerjilerinin 10 eV'dan düşük olması nedeniyle Non-İyonize radyasyon olarak tanımlanır.

RF için dalga boyu, frekans ve enerji bilgileri;

$$\lambda = 100 \text{ km} - 300 \text{ mm}$$

$$f = 3 \times 10^3 - 1 \times 10^9 \text{ Hz}$$

$$E = 1.2 \times 10^{-11} - 4 \times 10^{-6} \text{ eV'tur.}$$

ELF dalgalarının frekansı ise 0 – 300 Hz aralığında değişir. LF ve ELF elektromanyetik alanların dalga boyları insan vücudunun tipik boyutlarından oldukça büyüktür.

2.2 IARC ve Kanser Monografisi

Tüm dünya da bir ajanın kanserojen olup olmadığı Dünya Sağlık Örgütü'nün bir parçası olan Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer (IARC)) tarafından tanımlanmaktadır. İnsanda görülen kanserlerin nedenlerini bulmaya yönelik çalışmaları destekleyen ve koordine eden IARC, ayrıca karsinogenez mekanizmalarını incelemekte ve kontrol amaçlı bilimsel stratejiler belirlemektedir. 2001 yılında ELF manyetik alanları olası kanserojen (2 B sınıfı kansinojen) olarak tanımlamıştır. IARC'ın bir ajanı karsinojen olup olmadığı konusunda sınıflama stratejisi Tablo 1'de verilmektedir (6). IARC Avrupa Birliği 5. Çerçeve Programı kapsamında "INTERPHONE – International case-control studies of cancer risk in relation to mobile phone use – Uluslararası Kanser Riski – Cep Telefonu Kullanımı İlişkisini İnceleyen Vaka Kontrol Çalışmaları" başlıklı uluslararası bir epidemiyolojik çalışmayı koordine etmiştir ve bu çalışma sonrasında 2011'de RF radyasyon akustik nöroma riskini artırıyor olması sebebiyle 2B sınıfı karsinojen ilan

edilmiştir. INTERPHONE projesi aynı çekirdeği taşıyan çok uluslu (13 ülke ile) bir epidemiyolojik çalışma olup, baş ve boyun tümörleri ile cep telefonu kullanımının ilişkisini çözmeyi amaçlamıştır (7) .

Tablo 1. IARC kanser monografi

	DENEY HAYVANLARINDA KANSER			
İNSANLARDA KANSER		Yeterli	Limitli	Yetersiz
	Yeterli	1-Karsinojenik	1-Karsinojenik	1-Karsinojenik
	Limitli	2A-Muhtemel Karsinojenik	2B-Olası Karsinojenik	2B-Olası Karsinojenik
	Yetersiz	2B-Olası Karsinojenik	3-Bilinmiyor	3-Bilinmiyor

IARC tarafından şimdiye kadar karsinojenitesi tanımlanmış ajanlardan bazıları aşağıda (Tablo 2) verilmektedir. Tablo’da görüleceği üzere ELF manyetik alanlar 2 B sınıfı karsinojen, ELF elektrik alanlar ise 3. sınıf karsinojendir. RF alanlara dair araştırmalar ve mevcut verilerin analizi ise 2011’de tamamlanmış ve akustik nöroma riskini cep telefonu kullanılan bölgede artırıyor olması sebebi ile RF elektromanyetik alan 2B sınıfı karsinojen ilan edilmiştir.

Tablo 2. IARC kanser sınıflandırması

Sınıflandırma	Örnek
İnsanlara karsinojen / 1. Derece Karsinojen (insanlarda kanıtlanmış karsinojenite çalışmalarına dayanan)	Asbestos Mustard gazı Tütün (içen ya da içilen ortamda bulunan) Gama Radyasyonu
İnsanlara Muhtemel Karsinojen / 2 A –Karsinojen (hayvanlarda kanıtlanmış karsinojenite çalışmalarına dayanan)	Dizel Motoru Egzozu Solaryum Lambaları UV Radyasyon Formaldehit
İnsanlara Olası Karsinojen / 2 B –Karsinojen (insanlarda kanıtlanmış karsinojenite çalışmalarına dayandığına inanılan)	Kahve Styrene Gaz Motoru Egzozu Kaynak Dumanı ELF Manyetik Alan RF Elektromanyetik Alan
Ajan karsinojenite açısından sınıflandırılmaz / 3	ELF Elektrik Alan
Ajan olasılıkla karsinojen değildir / 4	

2.3 Elektromanyetik Alanların Biyolojik Yapılarla Etkileşimi

RF Alanların dokularla etkileşimi bazı fiziksel, biyolojik ve çevresel faktörlere bağlı olarak gerçekleşir.

2.3.1 Fiziksel Parametreler

Verici cihazın tipi, alanın frekansı, polarizasyonu (lineer, eliptik ve dairesel polarizasyon), modülasyonu (AM, FM, puls ve CWSürekli dalga), güç yoğunluğu, yapısı (yakın alan ya da uzak alan), homojenliği vs gibi sıralanabilir. Biyolojik yapıların her birinin bir rezonans frekansı yani canlının tüm vücudunda maksimum radyasyon soğurulmasının yaşandığı bir frekans vardır (8).

2.3.2 Biyolojik Parametreler

Biyolojik yapının boyutu, dokunun dielektrik ve iletkenlik özellikleri, doku geometrisi ve alanın polarizasyonuna göre canlının konumu gibi sıralanabilir. Dokunun dielektrik sabiti, iletkenliği gibi doku yapısını açıklayan parametreler biyolojik materyalde elektromanyetik alanların yayılımını ve biyolojik yapı tarafından soğurulan enerjiyi açıklamada önemlidir. Dokunun dielektrik sabiti ne kadar yüksekse doku o kadar az iletkendir. Elektromanyetik dalga'nın biyolojik yapıya geliş açısı da soğurulan enerjiyi etkilemektedir (8,9).

Her elektromanyetik dalga'nın enerjisi vardır, bu enerji dalga'nın frekansına bağlıdır (8) . EM dalga dokuda enerjisini harcayarak ilerler ve dalga enerjisi doku içinde e^{-2} faktörü ile azalmaktadır ($e= 2.718$). Doku içinde EM dalga'nın enerjisinin $1/e^2$ 'ye (7.38'de birine) düştüğü mesafe “girginlik” olarak tanımlanmıştır (9).

2.3.3 Çevresel Faktörler

Çevresel faktörler EM radyasyonun canlıya etkisini azaltabilir ya da artırabilir. Bu faktörler zeminin veya çevrenin iletkenliği, metal implantların

bulunup bulunmadığı, EM alanı azaltıcı materyaller (ferromanyetik maddeler), alandaki metal ya da metal olmayan objeler, ortamdaki sıcaklık ve nem olarak sıralanabilir. Örneğin biyolojik yapının elektromanyetik alana maruz kaldığı ortamda yansıtıcı malzemeler mevcutsa bu durum maruz kalınan alan değerini artırabilir. Sıcaklığı yüksek bir ortamda çalışma gerçekleştiriliyorsa çalışmanın tüm verileri sıcaklıktan etkilenebilir. Ortamdaki fazla sıcaklık ya da nem elektromanyetik alanların biyolojik etkilerini artırıcı / hızlandırıcı olabilir. Ferromanyetik maddelerin kullanılması ile alanlar azalabilir. Biyolojik yapının metal protezi varsa EM alanı yansıtma özelliğinden dolayı metaller bazı bölgelerde alan değerini artırırken, bazı bölgeler için ise shielding / alan azaltıcı görev yapabilir (8).

2.3.4 Elektromanyetik Alanların Etki Mekanizmaları

2.3.4.1 ELF Alanların Etki Mekanizmaları

ELF manyetik alan maruziyetinin biyolojik dokulara etkisinin moleküler boyutta olduğu, özellikle dokulardaki magnetit ve demir iyonu ile etkileştiği tartışılmaktadır. ELF manyetik alan limitlerinin tanımlanmasında ise bu alanların kas ve sinir dokularında uyarıya neden olacak eşik değerleri dikkate alınarak limitler belirlenmiştir (8).

2.3.4.2 RF Alanların Biyolojik Etkileri ve Etki Mekanizmaları

RF dalgalarının termal ve non-termal (termal olmayan) olmak üzere iki tip etkisi vardır. Biyolojik yapılarda ısı artışına neden olabilecek seviyede RF

uygulaması varsa, bu önce dokuda ısı artışını, sonra da ısı artışına bağlı biyolojik değişimleri beraberinde getirir. Bu etkilere termal etkiler denir. Sıcaklık artışına bağlı olarak hücreler ölebilir veya mutagenez oluşabilir. Uygulanan alanın ısı artırıcı etkisi yoksa ve buna bağlı olarak vücudun ısı regülasyon mekanizmasının çalışmasına gerek kalmıyorsa, fakat yinede RF alan biyolojik değişimlere neden oluyorsa bu etkiler nontermal (termal olmayan) olarak tanımlanır (10). Davranış bozuklukları, beyin dokusunda Ca^{+2} akışının değişimi, EEG dalgalarının değişimi, lenfositlerin yeteneklerinin azalması, sperm hücrelerinde kromozomal değişimler, hücre içi enzim aktivitesinin değişimi vb etkiler non-termal etkileşim sonrasında gözlenen etkiler olarak sıralanabilir(11). Bugüne kadar oluşturulan RF radyasyon güvenlik standartları termal etkiler dikkate alınarak hazırlanmıştır. Vücudun 1 kg'ının sıcaklığını 1°C artıracak gücün 4 W olduğundan yola çıkılarak 4 W/kg SAR değeri insanlar için güvenlik standardı olarak temel alınmış ve mesleki maruziyet için bu değerin 10'da 1'i (0,4 W/kg) genel halk için 50'de 1'i (0,08 W/kg) alınarak güvenlik standardı limit değerleri oluşturulmuştur.

2.4 Elektromanyetik Alanlar için Oluşturulmuş Standartlar

Ulusal ve uluslararası alanda EM alan maruziyetine dair olası sağlık etkilerinden korunmak için EM alan düzeyleri belirli kuruluşlar tarafından sınırlandırılmaktadır. Amerika'da bu düzeyler FCC (Federal Communication Commission, USA -Federal İletişim Komisyonu, ABD) ve IEEE (Institute of Electrical and Electronics Engineers, USA-Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Enstitüsü, ABD) tarafından düzenlenmektedir. Avrupa Ülkeleri için bu alanlara

dair limitler ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection –Uluslararası Non-İyonize Radyasyondan Korunma Komisyonu) tarafından belirlenmiştir. Türkiye’de ise sadece RF radyasyon ile ilgili Telekomünikasyon Kurumu (TK) 12 Temmuz 2001 tarihinde bir yönetmelik yayınlamıştır. Bu bölümde ICNIRP ve TK elektromanyetik radyasyon limitlerine yer verilecektir. Son dönemde elektromanyetik alanlara maruziyetle ilgili hassas bilim insanları daha ihtiyatlı yaklaşılması gerekliliğini vurgulamaktadırlar.

2.4.1 Türkiye RF Standardı

Türkiye RF limitleri Telekomünikasyon Kurumu’nca Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı’nın da görüşleri alınarak hazırlanmış ve 12.07.2001 Tarih ve 24460 Sayılı Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe girmiştir. “10 kHz - 60 GHz Frekans Bandında Çalışan Sabit Telekomünikasyon Cihazlarından Kaynaklanan Elektromanyetik Alan Şiddeti Limit Değerlerinin Belirlenmesi, Ölçüm Yöntemleri ve Denetlenmesi Hakkında Yönetmelik”te yer alan RF standartları Tablo 3’de verilmektedir (12).

Tablo 3. Telekomünikasyon kurumu yönetmeliğinde yer alan RF standartları (12)

Frekans Aralığı (MHz)	E-alan şiddeti (V/m)		H-alan şiddeti (A/m)		B-Manyetik akı yoğunluğu (μT)		Eşdeğer düzlem dalgı güç yoğunluğu (W/m ²)	
	Tek bir cihaz için limit değeri	Ortamın toplam limit değeri	Tek bir cihaz için limit değeri	Ortamın toplam limit değeri	Tek bir cihaz için limit değeri	Ortamın toplam limit değeri	Tek bir cihaz için limit değeri	Ortamın toplam limit değeri
0.010 - 0.15	22	87	1.3	5	1.5	6.25	-	-
0.15 - 1	22	87	0.18/f	0.73/f	0.23/f	0.92/f	-	-
1 - 10	22/f ^{1/2}	87/f ^{1/2}	0.18/f	0.73/f	0.23/f	0.92/f	-	-
10 - 400	7	28	0.02	0.073	0.023	0.092	0.125	2
400 - 2000	0.341.f ^{1/2}	1.375.f ^{1/2}	0.0009f ^{1/2}	0.0037f ^{1/2}	0.001f ^{1/2}	0.0046f ^{1/2}	f/3200	f/200
2000 - 60000	15	61	0.04	0.16	0.05	0.2	0.625	10

f= frekans (MHz)

2.4.2 Elektromanyetik Alanlar ve İhtiyat İlkesi

EM alanların biyolojik etkilerinin halen tartışıldığı ve buna paralel olarak yukarıda bahsedilen EM alan limitlerinin yeniden gözden geçirildiği günümüzde önlemlerin “ihtiyat ilkesi” dikkate alınarak alınması gerekmektedir. Bir eylem insan sağlığına ya da çevreye zararı artırıyorsa bilimsel olarak sebep sonuç ilişkileri tamamen netleşmemiş bile olsa ihtiyat önlemleri alınmalıdır. İhtiyat ilkesinin kabul edildiği anlaşmalar şunlardır:

- Rio Çevre ve Gelişme Deklarasyonu – Madde 15 - The Rio Declaration on Environment and Development, 1992 - Principle 15 (13)
- Avrupa Birliği Antlaşması – Maastricht Antlaşması - Treaty on European Union (Maastricht Treaty), 1992(14)
- Wingspread Raporu - Wingspread Statement (15)

2.5 Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri

EM alanlar ve biyolojik etkileri ile ilgili ilk çalışmalar Doğu Bloğu ülkelerde 1900’lü yılların başında başlayıp, sonrasında hızlanmıştır. 1980’lerden sonra tüm dünyadaki araştırmalarda bu konuda bir patlama yaşanmıştır. 1990’larda özellikle RF kaynaklarının yoğun bir şekilde kullanılması ile birlikte WHO-EMF Proje’si kapsamında çalışmalar ayrı bir hız kazanmıştır. Elektromanyetik alanların biyolojik etkileri, Genetik, Üreme-Gelişme, Nörolojik, Davranış, Kardiovasküler, Hematolojik-İmmünolojik etkiler başlıkları altında incelenebilir. Ayrıca RF alanların Hastane Cihazları ile etkileşimi söz konusudur. Üreme ve Gelişme çalışmalarının en önemlilerinden biri, EM alanların kontrolsüz

hücre çoğalımı üzerine etkisinin olup olmadığına yönelik kanser çalışmalarıdır. Nörolojik etkiler üzerine yapılan, en önemli çalışmalar ise, EEG ve kan beyin bariyeri çalışmalarıdır.

2.5.1 Genetik Etkiler

Şimdiye kadar yapılan birçok genetik etki çalışması kısa süreli maruziyet koşullarında in-vitro'da yapılmış çalışmalardır. Kısa süre maruziyet durumunda bile etkilerin gözlenmesi uzun dönemde EM alanların ne tür ciddi değişimlere neden olabileceği açısından oldukça önemlidir.

30 gün boyunca günde iki saat 910 MHz radyasyona maruz kalan sıçanların kemik iliğinde kontrol grubuna göre 3 kat fazla mikronüklei gözlenmiş ve 910 MHz RF dalgasının genotoksik etkileri olan zararlı ajan olarak tanımlanabileceği açıklanmıştır (16). Bazı araştırmacılar, RF ve mikrodalga radyasyona maruz bırakılan bitki ve hayvan hücre kültürlerinde kromozomal değişimler olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan araştırmalarda, maruziyet değerleri 70 W/m^2 ve 2 kW/m^2 aralığında değişmektedir (8). Farklı frekanslarda GSM mobil telefonlarına sağlıklı insanların lenfositlerinin maruz bırakıldığı başka çalışmada, GSM mobil telefonların kromatin oluşumunda, 53BP1/gama-H2AX ve heat shock proteinlerinde (hsp) etkili olduğu saptanmıştır(17). İnsan lenfositleri üzerinde yapılan bir diğer araştırma da 900 MHz cep telefonu frekansı kullanılmıştır. Üç farklı modda maruziyet yaratılmış ve 0 ile 10 W/kg arasında değişen SAR değeri uygulanmıştır. Mutajenik/ co-mutajenik/ sinerjik etki saptanmamıştır (18). 1800 MHz frekansta 1,4 ve 2,0 W/kg SAR değerlerindeki

cep telefonu radyasyonunun perifer kan hücrelerine uygulanması sonucunda apoptosiz ve heat shock proteininde değişim olmadığı belirtilmiştir (19).

2.5.2 Üreme-Büyüme ve Gelişmeye Etkiler

Deneysel çalışmalarda, teratolojik etkilerin ancak biyolojik olarak zararlı boyutta sıcaklık artışı olduğu zaman görülebileceği saptanmıştır. Sıçanlarda yüksek RF radyasyonun, fetüsün ilk ağırlığında azalışa ve düşüklerde artışa neden olduğu belirtilmektedir. Bazı araştırmalarda bu sonuçların oluşması için gereken RF radyasyonun öldürücü dozda olması gerektiği belirtilmiştir.

Standart değerlerin altında RF alanlara maruz kalan hamile bayanlarda herhangi bir anormallik saptanmamıştır (20). Kısa dalga diatermi sistemlerinde ve plastik kaynak yapan iş yerlerinde çalışan kadınlarda yapılan epidemiyolojik incelemede düşük ve hasta bebek doğum oranı kontrol gruplarına göre artış olduğu görülmüştür (21).

1300 MHz pulslu, 7,7 W/kg'luk radyasyon sıçanlara, günde 90 dakika, 13 gün süresince uygulanmış ve üreme hücrelerine zarar verdiği tespit edilmiştir (22).

100 MHz GSM maruziyetinin sperm kalitesi ve sayısında etkisi olup olmadığını araştırmak için yapılan bir çalışmada farelere 100 μ W/cm², ortalama 0,018–0,023 W/kg SAR değerindeki radyasyon günde 2 saat olmak üzere 2 hafta boyunca toplam 10 gün uygulanmıştır; serum testosteron, serum kimyası ve hematolojik incelemeler sonunda bu parametrelerde istatistiksel fark saptanmamıştır (23).

2450 MHz'de sıçanlar ile yapılan bir çalışmada güç yoğunluğu 50 W/m² ve 0,9 – 4,5 W/kg SAR değerine sahip RF alanların günde 240 dakika maruziyeti

sonucunda testislerde etki oluşturmadiğı saptanmiştir. Güç yoğunluğu değeri 100 W/m², SAR değeri 2 W/kg ‘a çıkartıldığında ve 5 gün boyunca günde 360 dakika maruziyet sağlandığında uygulanan alanın testislerde yine değışim yaratmadığı belirtilmiştir (24). 289 evli radar operatörü ve 148 evli kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada anket uygulanmış ve mikrodalga maruziyeti ölçülmüştür. Çalışmada radar operatörlerinin % 43,6’sında seksüel fonksiyon bozukluğu gözlenirken bu değeri kontrol grubunda ise % 24,4 olarak tanımlanmıştır. Araştırmacılar uzun dönem düşük şiddette mikrodalga radyasyona maruziyetin üreme üzerinde etkilerinin olabileceğini ifade etmektedirler (25).

2.5.3 Karsinojenik Etkiler

Kablosuz iletişim teknolojilerinden dolayı hızla artan EM alanlara maruziyetin, merkezi sinir sistemi tümörleri üzerine potansiyel etkileri, RF alanların sağlık etkilerine dair önemli çalışma alanlarından biridir.

Avrupa Birliği 5. Çerçeve Programı tarafından desteklenmiş ve IARC koordinatörlüğünde 13 ülke ile koordinasyonlu olarak yürütölen INTERPHONE (Uluslararası cep telefonu kullanımı – kanser riski ilişkisi ile ilgili vaka kontrol çalışmaları - International case-control studies of cancer risk in relation to mobile phone use) çalışmalarından birinde, Danimarka, Finlandiya, Norveç, İsveç ve İngiltere verilerinin analiz edilmesi sonucunda 10 yıl ve daha az süredir cep telefonu kullanan bireylerde glioma riski ile cep telefonu kullanımı arasında herhangi bir ilişki gözlenmezken, 10 yıl ve daha fazla süredir cep telefonu kullanan bireylerde glioma riski kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Glioma cep telefonu kullanılan kulak civarında gözlenmiştir (7,26).

1990 yılında yapılan bir çalışmada insan glioma hücre proliferasyonunda, 5 W/kg'a 2 saat maruziyet sonucunda değişimler olduğu rapor edilmiştir (27). Sıçanlarda, 2 saatlik 2450 MHz mikrodalga radyasyona tüm vücut maruziyeti sonrasında beyin hücrelerinde DNA hasarı olduğu Lai ve Singh tarafından 1995 yılında yapılan çalışma sonrasında bulunmuştur. 4 saatlik maruziyet sonrasında ise tekli ve çiftli ipçiklerde kırıklar gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan Sürekli Alanlar- CW(Continuous Wave) ve 2 μ s genişliğinde ve 500 p/s puls aralığında Pulsu Alanlar arasında etki açısından fark olmadığı gözlenmiştir. Ortalama güç yoğunluğu ve SAR'ın sırasıyla 2 mW/cm² ve 1–2 W/kg olduğu belirtilmiştir. Beyinde oluşan yerel SAR değeri 1–4 W/kg olarak hesaplanmıştır. DNA sarmal kırıklarında artışa rastlanmamıştır. Sürekli ve pulslu radyasyonun yarattığı etkiler arasında fark gözlenmemesi, uzun sayılabilecek bir sürede, düşük bir SAR değeri olmasına rağmen ısı etkisi gibi ortalama bir etkinin varlığını işaret etmektedir. DNA'daki hasarlar, özellikle sarmal kırıkları kanser oluşumunda önemli rol oynadığı için, bu araştırmalar düşük seviyeli RF ve mikrodalga radyasyonun karsinogenik potansiyel etkileri açısından önemli bulgular teşkil etmektedir. Yaşamları boyunca pulslu mikrodalga radyasyona maruziyetlerin hayvanların yaşam süresinin uzunluğuna ve genel sağlık durumlarına etkisini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada; Sprague-Dawley sıçanlar, 8 haftalıktan itibaren, 25 hafta süresince 10 mikro saniye kare pulsların 8 Hz de modüle edildiği ve 800 pps puls kalınlıklı, ortalama SAR değeri 0,15 ile 0,4 W/kg arasında değişen pulslu mikrodalga radyasyona maruz bırakılmıştır. Birincil kötü huylu tümörlerden

ölümde, maruz bırakılan 18 sıçanda, 5 kontrol sıçanına göre istatistiksel önemli artış gözlenmiştir. Fakat yaşam sürelerinde önemli bir fark gözlenmemiştir (28).

1800 MHz frekansın karsinojenik etkisinin incelendiği bir çalışmada insan ve sıçan hücre kültürlerine; 1,2 ve 2 W/kg SAR değerindeki cep telefonu radyasyonu 5 dakika açık, 10 dakika kapalı aralıklı olarak ve sürekli olarak 4, 16 ve 24 saat süresince uygulanmış, 16 saat sonraki tüm maruziyetlerde tekli ve çiftli DNA sarmallarındaki kırıklarda artış saptanmıştır (29). 2.45 GHz, CW, 36 W/kg alan 4–7–10 ve 14 gün / günde 120 dakika maymunlara uygulandığında akciğer kanser kolonileri artmış ve oxazolone’a hassasiyet azalmıştır (30).

2.5.4 Hematolojik ve İmmünolojik Etkiler

RF alanların kan biyokimyasına ve immünolojik sisteme etkileri olduğuna dair önemli bulgular mevcuttur.

Mikroalgaların anti kanser ilacı olan siklofosfamid (CPA)’nın NK (Natural Killer) hücrelerindeki aktivitelerini modüle edip/etmediklerini araştırmak amaçlı yapılan bir çalışmada $42,2 \pm 0,2$ GHz radyasyon üreten, Rus yapımı YAV–1 jeneratörü ile RF alan oluşturulmuştur. CPA 100 mg/kg olarak, her 3 günlük maruziyetin 2. gününde interperitoner olarak farelere uygulanmıştır. NK hücre aktivasyonu ve sitotoksitesi, CPA enjeksiyonundan sonraki 2,5 ve 7. günlerde ölçülmüştür. Sonuçta, 42,2 GHz mikrodalga radyasyonun etkisi saptanmıştır (31). 425 MHz, CW, 3–7 W/kg alan 47gün / günde 240 dakika uygulandığında sıçanlarda lenfositler artarken, PMN lökosit azalmıştır (32). 2450 MHz, pulslu ve CW, 12,3 W/kg radyasyona 5 gün / günde 720 dakika maruz bırakılan insanlarda

blast transformasyonu gözlenmiş, değişim CW alanlara göre pulslu alanlarda daha şiddetli bulunmuştur (33). 27 MHz ve 2450 MHz, CW radyasyon insanlara 120 dak ve 50–196 W/kg aralığında SAR değeri ile uygulandığında lenfositlerde 3H-timidin alımı artmıştır (27). 2450 MHz, CW, 11,8–5 W/kg alanlar 15–30 dakika maymunlara uygulandığında dalak hücrelerinde immün komplementlerin artışına neden olmuştur (hücrelerin uyarıldığı gösterilmiştir) (34). Yine maymunlara 2600 MHz, CW, 3,8 veya 19 W/kg alanların 60 dakika boyunca uygulanması akciğerden dalağa lenfosit akışını azaltmıştır (35).

2.5.5 Hastane Cihazları ile Etkileşim

Kablosuz iletişim sistemlerinin (cep telefonları, çağrı sistemleri, telsiz telefonlar...) hastanelerde kullanılan birçok sistemle girişim yaparak bu sistemlerin fonksiyonlarını bozduğuna dair çalışmalar mevcuttur.

Siemens C25 ve Motorola CD930 markalı iki cep telefonu ile yapılan ve 7 elektronik personel dozimetre, 4 taşınabilir doz monitörü ve 2 kontaminasyon monitörünün incelendiği çalışmada, cep telefonlarının bu sistemlere etkileri değişik uzaklıklarda (bitişik, 60 cm, 1 m ve 2 m) ve değişik modlarda (arama, bekleme, konuşma gibi) incelenmiştir. Personel dozimetrelerin üçünde anormallikler gözlenirken, iki portable doz monitörü ve bir kontaminasyon monitöründe anormallikler saptanmıştır. Bir metre mesafede etkiler azalırken 3 metre kesinlikle girişimin gözlenmediği mesafe olmuştur. Arama modu en yüksek elektrik alan değerlerine neden olmuştur. Sonuçlar cep telefonlarının iyonizan radyasyon doz görüntüleme cihazlarında etkileri olabildiğini göstermektedir. 500–

1000 MHz aralığındaki radyo dalgalarının dozimetreleri etkileyebildiği açıklanmıştır (36).

2005’de Wallin ve arkadaşları tarafından yapılan ve GPRS (General Packet Radio Service), UMTS (Universal Mobile Telecommunications System) ve WLAN (Wireless Local Area Network) iletişim teknolojilerinin 76 tıbbi cihazlarla etkileşiminin incelendiği çalışmada GPRS sistemlerinin diğer iki sisteme göre daha fazla etkili olduğunu, tıbbi cihaz ve sistemlerden minimum 1 m mesafede tutulması gerektiği açıklanmıştır (37).

Aynı çalışmada GPRS sistemleri;

50 cm mesafede infüzyon pompasında alarm ve işlemin durdurulmasına neden olmuş, değişik marka cihazlarda 10 ve 15 cm mesafelerde EKG eğrilerini değiştirmiştir. Değişik marka monitörlere 30 cm mesafede girişime neden olurken, 5 cm mesafede ekranlarla girişim yapmıştır (37).

Sharratt ve Coleman tarafından İngiltere’de 178 doktor ile yapılan anket çalışmasında doktorların % 98’i cep telefonu kullanıcısı olarak tanımlanmıştır. % 66’sı cep telefonlarını hastane ortamlarında kullanmayı onaylamaktadır. % 64’ü yüksek risk taşıyan ameliyathaneler ve hassas cihazların olduğu bölgelerde cep telefonu kullanımının kısıtlanması gerekliliğini belirtmişlerdir (38). Ang ve arkadaşları da iki hastanenin 23 adet ophthalmic cihazını değerlendirmişlerdir. 6 değişik cep telefonunun 3 m, 1 m, 30 cm ve daha yakın mesafelerde incelendiği çalışmada cihazların 22’sinde herhangi bir girişim gözlenmezken, CE (Conformité Européene) belgesi taşımayan bir adet cihazda 30 cm ve daha kısa

mesafelerde girişim gözlenmiştir. Cep telefonlarının bu ortamlarda kontrollü kullanımının gerekliliği vurgulanmıştır (39).

Medikal cihazlarda yanlış fonksiyonların olmaması için elektromanyetik alan kaynaklarından minimum 1 m ötede olması gerekmektedir (40).

Telsiz teknolojinin artması ile beraber bu sistemlerden kaynaklı riskler konusuna ilgi artmıştır. Gerekli yerlerde girişime neden olmamaları için yasaklar koymak, zorunlu bölgelerde kullanımına limitli izin vermek ve bu konularda hastane çalışanlarını, ziyaretçileri ve hastaları bilgilendirmek ve uyarmak konusunda politikalar yapılmaktadır (41).

2.6 Diyabet

Diyabetes mellitus (DM) insülin yapımında ve salınımında veya dokularda insüline yanıtta bozulma ile karakterize dünya çapında yaygın bir sendromdur. İnsüline dokulardaki yanıtısızlığa göre; insüline bağımlı (IBDM-Tip I) ve insüliniden bağımsız (NIBDM-Tip II) olarak sınıflandırılmaktadır (42).

DM; poliüri,polidipsi,polifaji ve buna rağmen kilo kaybı, hiperglisemi, glikozüri, ketoz, asidoz ve koma ile karakterizedir. Glukoz metabolizmasının yanı sıra protein ve lipit metabolizmalarında da meydana gelen değişiklikler nedeniyle kontrolsüz diyabette akut ve kronik pek çok komplikasyonla karşılaşılabilir(42).

Diyabetin akut komplikasyonları arasında diyabetik ketoasidoz, hiperosmolar koma, hipoglisemi, laktik asidoz sayılabilir. Kronik komplikasyonları ise genel olarak makro ve mikrovasküler düzeydedir. Makrovasküler komplikasyonlar

arasında hipertansiyon, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar ile periferik arter hastalığı yer alırken, nöropati, retinopati ve nefropati mikrovasküler komplikasyonları oluşturur (43).

Mikrovasküler ve nöropatik komplikasyonların nedeni kronik hiperglisemidir ve diyabetin iyi denetlenmesi bunların insidansını düşürür. Hücre içi hiperglisemi aldoz redüktaz enzimini etkinleştirir. Bu ise hücrelerde sorbitol üretilmesini artırır ve bu da hücrel Na-K ATPaz ı azaltır. Ek olarak, hücre içi glikoz Amadorin ürünleri adı verilen maddelere dönüşebilir ve bunlar da daha sonra matriks proteinleriyle çapraz bağlanan ileri glikolizasyon son ürünlerini (AGEs) oluşturabilir. Bu, kan damarını tahrip eder. AGE'ler enfeksiyona lökosit yanıtlarını da bozar (44).

Diyabette protein glikasyonu ve glukoz otooksidasyonu sonucu serbest radikallerin oluşumu artar. Diyabetin kronik komplikasyonlarının etyopatogenezinde artmış oksidan stresin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (45).

2.6.1 Deneysel Diyabet Oluşturma Modelleri

Deney hayvanlarında selektif pankreas hasarı ile diyabet oluşturmak üzere en sık kullanılan iki ajan Alloksan ve Streptozotosin' dir (46). Deneysel çalışmalar hayvan modellerinde yapılarak veriler insandaki bulgularla karşılaştırılmaktadır.

Streptozotosin (STZ), *Streptomyces acromogenes* bakterisi tarafından yapılan doğal bir antibiyotiktir. Kimyasal yapısı C2 pozisyonunda D-glukoz bağlı nitrozamid metilnitrozüre(MNU) (2-deoxy-2(3-methyl-3-nitrosoüreido)-D-glucopyronase))olarak tanımlanmıştır. Önceleri, diğer nitrozüre'lerin güçlü antikanser özellikleri nedeniyle STZ de kanser tedavisinde denenmiş, preklinik çalışmalarda sıçanlarda ve köpeklerde diyabet oluşturunca etkisi tespit edilmiştir (47).

Pankreas β hücreleri in vitro STZ'ye maruz bırakıldığında STZ, yapısındaki glukoz parçası sayesinde β hücrelerine GLUT 2 glukoz taşıyıcıları ile alınır. Hücre içerisinde metabolize olmaksızın izosiyanat ve metildiyazohidroksit bileşiklerine ayrışır. İzosiyanat bileşiği ya çeşitli hücresel elemanları karbomoiller ya da intramolekuler karbomoilasyona uğrar. Metildiyazohidroksit bileşiği ise yüksek reaktiviteye sahip olan karbonyum iyonuna ayrışır. Karbonyum iyonu, DNA veya proteinler gibi hücresel elemanları alkiler veya su ile reaksiyona girerek 1. Karbon havuzuna katılır (47). STZ nin β hücreleri üzerine gösterdiği toksik etkisinin en önemli sebeplerinden biri hücreyi ölüme götüren DNA alkilasyonudur (48). STZ , glukoz oksidasyonunu bozar (49) insülin biyosentezi ve salınımını azaltır (50).

STZ, molekül yapısında NO taşır (47). Hücre içine girdiğinde serbestlenen NO'nun akonitaz'ı ve böylece krebs siklusunu inhibe ettiği (51) , mitokondride O_2 tüketimini azalttığı ve ATP üretimini sınırlayarak hücre içerisinde tükenmesine neden olduğu (50) gösterilmiştir.

ATP defosforilasyonundaki artış nedeniyle β hücrelerinde yüksek aktiviteye sahip olan Ksantin Oksidaz enzimine substrat eklenmesi ve sonuçta ATP tükenmesinin son ürünü olan ürik asit yapımı artar. Bu arada Ksantin Oksidaz süperoksit anyonu oluşturan reaksiyonu katalizler (52). STZ' nin bu reaktif oksijen türevleri oluşturucu etkisi, hem bu türevlerin hem de NO ile birleşerek oluşturdıkları peroksinitrit (ONOO^-) gibi toksik ürünlerin de hücrel hasara katılmasına neden olmaktadır(46).

STZ'ye bağlı DNA hasarı, hücrel NAD^+ 'nın ve ATP içeriğinin azalması ile sonuçlanan poli ADP-ribozilasyonunu aktive eder. Bunu insülin sentezi ve salınımının azalması takip eder.

Ayrıca STZ, bir N-Asetilglukozamin analogu olarak protein glikolizasyonuna da sebep olmaktadır. Bunu pankreas adacık hücrelerinde proteinlerden O-Asetilglukozaminleri ayıran enzim olan N-Asetil- β -glukozaminidaz enzimini inhibe ederek yapar (53). STZ 'ye bağlı GLUT2 ekspresyonunda ve Glukokinaz aktivitesinde azalma da bildirilmiştir (54).

Tüm bu tanımlanmış etkileriyle STZ hem insüline bağımlı (IBDM) hem de insüliniden bağımsız (NIBDM) deneysel diyabet oluşturmak amaçlı kullanılmaktadır (46).

IBDM oluşturmak için erişkin sıçanlarda sıklıkla intravenöz, tek doz 40-60 mg/kg-beden ağırlığı (BA) olacak şekilde kullanılır ancak daha yüksek dozlarda da kullanılmaktadır (55). Bununla birlikte benzer dozlarda subkutan veya intraperitoneal STZ uygulaması da etkilidir (46,55).

2.7 Serbest Radikaller

Serbest radikaller, orbitallerinde bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektrona sahip atom veya moleküllerdir. Ortaklanmamış elektronlar molekülleri kararsız hale getirir. Serbest radikaller kararlı bir yapı kazanabilmek amacıyla diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerek sahip oldukları ortaklanmamış elektronları paylaşırlar ki bu durum serbest radikale büyük bir aktivite kazandırır. Serbest radikaller, pozitif (+) yüklü, negatif (-) yüklü ya da elektrikçe nötr olabilirler ve sağ üst köşelerine yazılan nokta ile sembolize edilirler (56-60). Mitokondriyal, endoplazmik ve nüklear elektron taşıma sistemlerinde (sitokrom P-450), peroksizomlarda, monosit ve nötrofillerin fagositozu gibi normal metabolik olaylar sırasında bol miktarda üretilen serbest radikaller 3 şekilde oluşur:



Biyolojik sistemlerde, elektron transferi homolitik bölünmeye nazaran daha yaygın gerçekleşen bir işlemdir. Bu işlemin gerçekleşmesi için yüksek sıcaklık, UV ışık ya da iyonize radyasyondan kaynaklı yüksek enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Heterolitik bölünme işleminde ise kovalent bağdan ayrılan elektron ya da elektronlar bölünme sonrasında ayrılan iyonlardan yalnız biri

tarafından muhafaza edilir; ancak bu bölünme sonrasında serbest radikaller değil, yüklenmiş iyonlar meydana gelir (57).

Homolitik bölünme işlemi de dışarıdan alınan enerji ile gerçekleşen bir olaydır ve bu enerji bağ ayrılma enerjisi olarak da bilinmektedir. Moleküller arasındaki bağın ayrılması aşağıdaki yöntemler ile sağlanabilmektedir:

2.7.1 Bağların Termal Ayrılması

Molekülleri bir arada tutan bağlar ısı enerjisi ile koparılabilmektedir. Bağların ısı enerjisi ile koparılmasına verilebilecek en güzel örnek hidrokarbonların parçalanması işlemidir. Bu teknik işlem sırasında yüksek molekül ağırlığına sahip olan hidrokarbonlar, düşük molekül ağırlığındaki moleküllere ayrılmaktadır. İşlem sonrasında oluşan düşük molekül ağırlığına sahip moleküller vücut içerisinde gerçekleşen diğer metabolik olaylar esnasında yakıt olarak kullanılmaktadır. Bu işlem ile açığa çıkan enerjinin miktarı, moleküller arasındaki bağın ayrılması için gerekli enerji miktarına bağlı olarak belirlenir (61).

2.7.2 Radikallerin Fotokimyasal Oluşumu

Bu yöntemde, bağların ayrılması için gerekli enerji fotonun soğurulması ile gerçekleşir. Termal olarak bağların ayrılması yöntemi ile karşılaştırıldığında özgülüğü açısından farklılık gösterir. Çünkü fotonlar büyük moleküllerin yapılarında bulunan ve moleküle rengini veren özgül kromoforlara

bağlanabilmektedir. Bu işlemdeki en önemli basamak fotonun soğurulma basamağıdır ki eğer foton soğurulmazsa işlem gerçekleşmemektedir (61).

2.7.3 Bağların İyonize Radyasyon ile Ayrılması

Elektronun uzaklaştırılması ile iyonların oluşumunu ifade eden iyonize radyasyon ile bağların ayrılması sonrasında ortaklanmamış bir elektron ve pozitif yüke sahip bir radikal katyon meydana gelir. Ortaklanmamış elektron O_2 gibi bazı moleküllerle birleşerek süper oksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$) gibi radikal anyonların oluşmasını sağlar. Bağların ayrılmasında kullanılan diğer yöntemler göz önünde bulundurulduğunda daha az tercih edilen bir yöntemdir(61).

2.7.4 Elektron Transferi

Bazı bağlar, (HO-OH, RO-OR- ya da RO-OH' lerin yapılarında bulundurdıkları -O-O- bağı gibi) homolitik olarak bir elektronun yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları aracılığı ile bölünebilmektedir. Bu reaksiyonlar Fe^{+2} , Cu^+ , Ti^{+3} , Ce^{+3} , Ce^{+4} , ya da Co^{+2} -EDTA gibi bazı geçiş metal iyonlarına ihtiyaç duymaktadırlar. Biyolojik sistemler için en önemli radikal oluşum reaksiyonları olarak hidrojen peroksitin (H_2O_2), peroksitlerin (ROOR) ya da hidroperoksitlerin (ROOH), Fe^{+2} ya da Cu^+ gibi geçiş metalleri aracılığı ile tek elektron indirgenme reaksiyonları gösterilmektedir (61).

2.7.5 Molekül Destekli Homoliz

Molekül destekli reaksiyonlarda bir molekül indirgenirken diğer molekül yükseltgenmektedir. Bu nedenle reaksiyonun gerçekleşmesi için elektron tutucusu olarak peroksitlere ve elektronca zengin bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır (61).

Tüm hücre ve dokularda hali hazırda gerçekleşen serbest radikal reaksiyonları, enzimatik ve enzimatik olmayan birtakım reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır.

- Enzimatik reaksiyonları, solunum zincirinde, fagositozda ve sitokromda P-450 sisteminde gerçekleşen reaksiyonlar(62-67).
- Enzimatik olmayan reaksiyonları ise oksijenin organik bileşiklerle gerçekleştirdiği ya da iyonize radyasyon etkisi ile meydana gelen reaksiyonlar olarak belirtmek mümkündür (67).

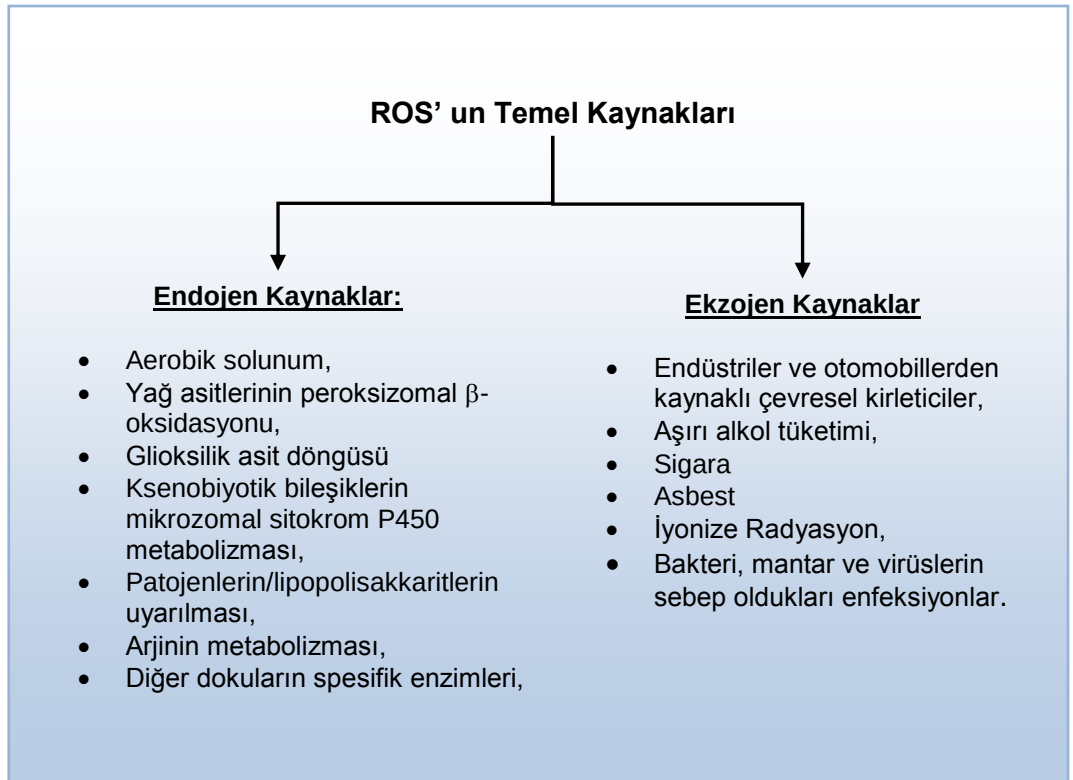
Yüksek reaktiviteye sahip ara ürünler olan serbest radikallerin tüm vücut bileşenleri ile kolaylıkla reaksiyona girerek bu bileşenler üzerinde kimyasal değişimlere neden olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar sonrasında, serbest radikallerin biyomoleküller üzerindeki etkileri şöyle sıralanabilir:

- Uzun ömürlü kollajen, elastin ve kromozomal materyalde oksidatif değişimler,
- Oksidatif bozulmadan dolayı mukopolisakkaritlerin (karbonhidrat) parçalanması,
- Lipidlerden özellikle çoklu doymamış lipidlerin ve proteinlerin katıldığı oksidatif polimerizasyon reaksiyonlarından dolayı seroid gibi lipid granüllerinin ve yaş pigmentleri gibi inert maddelerin toplanması,

- Lipid peroksidasyon nedeniyle mitokondri ve lizozom gibi karakteristik membran elemanlarında tespit edilen değişimler (67).

2.8 Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Reaktif Oksijen Molekülleri (ROM) ya da Reaktif Oksijen Türleri (ROS), oksijen radikallerini ve oksidan olan fakat radikal yapıda olmayan ve/veya radikallere kolaylıkla dönüşebilen maddelerin tümünü kapsamaktadır (68). Reaktif oksijen türlerinin temel kaynakları Şekil 3’de verilmektedir.



Şekil 3. Reaktif oksijen ürünlerinin temel kaynakları

Biyolojik sistemler içerisinde gerçekleşen reaksiyonlarda görev alan en önemli oksijen radikal türevleri iki ana sınıfta gruplandırılabilir:

1) Oksijen üzerinde paylaşılmamış elektrona sahip radikaller : Superoroksid anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidroperoksil radikali ($HO_2^{\bullet}$), hidroksil radikali ($^{\bullet}OH$), alkoksil radikali ($RO^{\bullet}$), peroksil radikali ($ROO^{\bullet}$)’ dir (61).

2.8.1 Superoksid anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$)

Moleküler oksijen, birbirlerine paralel iki eşlenmemiş elektrona sahip olduğu için paramanyetik özelliğe sahiptir. Bu konfigürasyon, oksijen molekülünde spin sınırlaması uygular ve diğer moleküllere nazaran daha az reaktif özelliğe sahip olmasına neden olur. Bütün bunlara rağmen, bazı normal ve patolojik koşullar altında dioksijenden bir elektronun ayrılması ile oksijenin indirgenmiş formu olan superoksid anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$) meydana gelir. Oluşan bu anyonik form, asidik Hidroperoksil radikali ($HO_2^{\bullet}$)’in konjuge bazıdır.

Normal koşullar altında insanlar tarafından tüketilen oksijeninin 1/5 ‘i çeşitli kaynaklar tarafından $O_2^{\bullet-}$ ‘ ye dönüştürülür (69).

Örneğin;

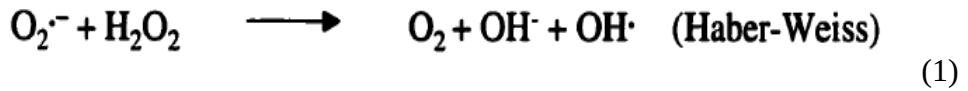
- Oksidazlar, sitozolde ksantin oksidaz (XO), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) -oksidaz ve sitokrom P450 tarafından $O_2^{\bullet-}$ oluşturulur.
- Katekolamin ve ubikinon gibi moleküllerin de dahil olduğu bazı moleküller tarafından spontan olarak gerçekleşen oto-oksidasyon ile $O_2^{\bullet-}$ oluşturulur.
- Akut oksidatif stres esnasında $O_2^{\bullet-}$ oluşturulur. Radikalin seviyesinde %17 ‘lik bir artış olduğu tespit edilmiştir.

➤ Mitokondrial elektron taşıma zinciri sırasında O_2 'in oto-oksidasyonu sonucu $O_2^{\bullet-}$ oluşturulur (70).

Hücre içerisinde, $O_2^{\bullet-}$ nin oluşumuna neden olan metabolik yolların tamamı bilinmemektedir. Ancak, yapılan deneysel çalışmalar gösteriyor ki, oksidatif stresin olduğu koşullarda yüksek oksijen tüketimine bağlı olarak, heksoz monofosfat şant aktivitesi beraberinde NADPH' ın oluşumuna neden olur ve NADPH-oksidaz enziminin de kofaktörü olan NADPH, $O_2^{\bullet-}$ nin oluşumundan sorumludur(71).

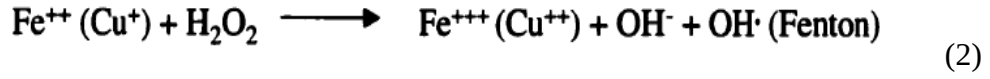
2.8.2 Hidroksil radikali ($\bullet OH$)

Haber ve Weiss tarafından oksidasyon reaksiyonlarının çalışıldığı 1934 yılında, hidrojen peroksitin (H_2O_2) reaksiyonlarda hızlı bir şekilde ayrıştığı tespit edilmiştir. Bu tespit sayesinde, $O_2^{\bullet-}$ nin oluşumundan sonra, H_2O_2 ile reaksiyona girdiği sonucuna varılmıştır. Haber-Weiss reaksiyonu (1) olarak da bilinen bu reaksiyon ile; yarılanma ömrü çok kısa ancak çok güçlü bir oksidan olduğu için kuvvetli hasar oluşturan hidroksil radikali ($\bullet OH$) meydana gelir(72).



Oksijen reaksiyonlarının anlaşılmasında önemli bir gelişme olduğu kabul edilen bu reaksiyon, Fenton reaksiyonu (2) ile geliştirilerek; redoks aktif metal iyonlarının (demir, Fe^{++} ve bakır, Cu^+) bu reaksiyonu katalizlediğini ve bu

etkileşim sonucunda $\cdot\text{OH}$ radikalinin oluştuğu Mycord ve Day tarafından gösterilmiştir.

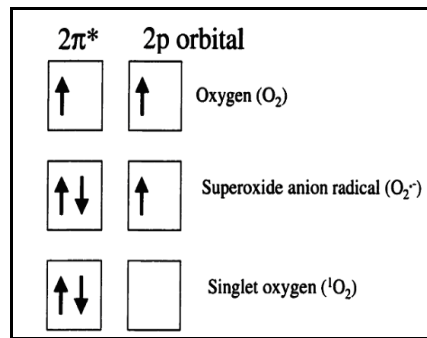


Reaktivitesi yüksek olan $\cdot\text{OH}$ radikali, yarı ömrünün yalnızca 10^{-9} saniye olması nedeniyle oluştuğu bölgeden daha uzak bölgelere gidemez.

2) Moleküler oksijen içeren ürünler: Hidrojen peroksit (H_2O_2), ester (ROOR), hidroperoksit (ROOH), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), epoksidler, endoperoksidler ve 1,2-dioxetanlardır (61).

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

Eşlenmemiş olan elektronlarının bulunması nedeniyle oksijen bir radikal olarak kabul edilir. Aynı nedenlerden dolayı, singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)’ de radikal olarak tanımlanır (Şekil 4). Ancak, $^1\text{O}_2$ sahip olduğu elektronlarından birinin yüksek enerji seviyesine yükselmesi nedeniyle temel durumdaki oksijenden farklılık gösterir. Spinlerdeki sınırlama ortadan kalkar ve oksijen oldukça reaktif bir hale gelir.



Şekil 4. Temel durumdaki oksijen, superoksid radikali ve singlet oksijen

Singlet oksijen ve dioxetanlar hariç diğer moleküler ürünler oldukça kararlı bir yapıya sahiptirler; ancak moleküler ürünler bazı metal iyonları tarafından son derece yüksek reaktiviteye sahip hidroksil ve alkoksil radikallerine dönüştürülürler. Bu nedenle, bu moleküler ürünler ROM ya da ROS olarak adlandırılırlar (61).

Organizmada ROS' ların yanı sıra Reaktif Nitrojen Metabolitleri (RNS) de oluşmaktadır. RNS, nitrik oksit (NO), nitrojen dioksit radikallerini, nitroz asit (HNO_2) ve dinitrojen tetroksit (N_2O_4) gibi radikal olmayan maddelerin tümünü kapsayan bir terimdir. İnsan organizmasında oluşan ROS ve RNS 'ler Tablo 4 ve Tablo 5' de görülmektedir.

Serbest radikaller, yükseltgen ya da indirgen olarak radikal olmayan bileşiklerle reaksiyona girebilme özelliğine sahiptirler. Tüm biyomoleküller serbest radikallerle etkileşime girmeye hassastırlar (70).

ROS normal fizyolojik şartlar altında birçok biyokimyasal reaksiyona katılmaktadır; ancak oluşumlarında meydana gelen zamansız artışlar kanser, ateroskleroz (damar sertliği), diyabet gibi pek çok hastalığın patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Serbest radikallerin katıldığı reaksiyonlar neticesinde oluşan hasarın yaşlanma sürecinde de önemli etkisi olduğu bilinmektedir (57, 67).

Tablo 4. Reaktif oksijen metabolitleri

Reaktif Oksijen Metabolitleri (ROS)		
Radikaller	Superoksit	$O_2^{\bullet}$
	Hidroksil	$^{\bullet}OH$
	Peroksil	$RO_2^{\bullet}$
	Alkoksil	$RO^{\bullet}$
	Hidroperoksil	$HO_2^{\bullet}$
Radikal Olmayanlar	Hidrojen peroksit	H_2O_2
	Hipokloröz asit	$HOCl$
	Ozon	O_3
	Singlet Oksijen	$^1O_2$

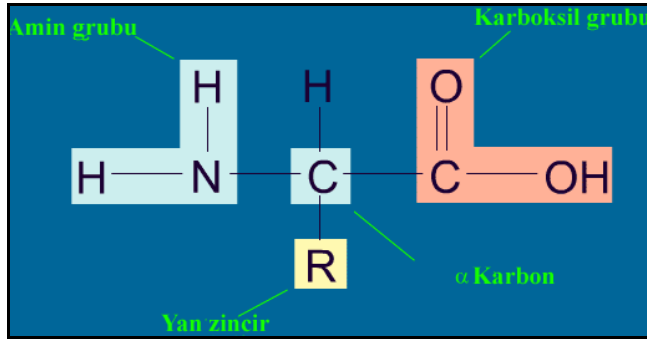
Tablo 5. Reaktif nitrojen metabolitleri

Reaktif Nitrojen Metabolitleri (RNS)		
Radikaller	Nitrik Oksit	$\text{NO}^\cdot$
	Nitrojen Dioksit	$\text{NO}_2^\cdot$
Radikal Olmayanlar	Nitröz Asit	HNO_2
	Nitrozil Katyon	NO^+
	Nitrozil Anyon	NO^-
	Dinitrojen Tetroksid	N_2O_4
	Dinitrojen Trioksit	N_2O_3
	Peroksinitrit	ONOO^-
	Peroksinitrös Asit	ONOOH
	Nitronyum Katyon	NO_2^+
	Alkil Peroksinitrit	ROONO

2.9 Serbest Radikallerin Biyomoleküllerle Etkileşimi

2.9.1 Serbest Radikal-Protein Etkileşimi

Hücrelerin ve dokuların kuru ağırlığının yaklaşık olarak % 68'lik kısmını oluşturan proteinler ve amino asitler oksidatif hasara maruz kalma açısından potansiyel hedefler olarak tanımlanırlar (73). (Şekil 5)



Şekil 5. Proteinin yapısı

ROS-protein etkileşimi sonucunda protein yapılarında enzimatik anlamda kovalent değişimler meydana gelir. Protein yapılarında meydana gelen bu kovalent değişimler, protein oksidasyonu olarak adlandırılır. Protein oksidasyonu, serbest radikallerin veya oksidasyon yan ürünlerinin proteinlerin peptit bağlarıyla ya da amino asit yan zincirleri ile kovalent bağlanmaları sonucunda oluşur. Arginin, lizin, prolin, histidin, sistein, metiyonin, triptofan, fenilalanin ve tirozin gibi bazı aminoasitlerin özellikle karboksil gruplarındaki OH grubu çıkarıldıktan sonra kalan açıl grupları serbest radikallerin oluşturdukları hasara karşı oldukça duyarlıdır (74).

Protein oksidasyonu, proteinlerin hücre yapısı, hücre sinyal iletimi ve hücredeki çeşitli enzimatik reaksiyonlarda düzenleyici göreve sahip olmaları nedeniyle hücresel homeostazi için hayati önem teşkil eder.

Temel protein oksidasyon mekanizmaları sonucunda ürün olarak protein karbonil oluşur. Karbonil grupları, lipid peroksidasyon ürünü 4-hidroksilnonenal (HNE), indirgen şekerler ya da bunların oksidasyon ürünleri ile gerçekleşen ikincil reaksiyonlar sonucu oluşur.

Okside proteinler, fonksiyonel açıdan aktif değildir ve yapılarının katlanmamış olması (unfolding) proteinaz aktivitesine karşı okside proteinleri hassas hale getirmektedir. Bu nedenle, hücreler genellikle okside proteinleri proteoliz işlemi ile uzaklaştırır; ancak bazı okside proteinler hücreler tarafından tamamen uzaklaştırılmaz ve hücrelerde biriken bu okside proteinler yeni okside proteinlerin oluşumunda artışa neden olur (75).

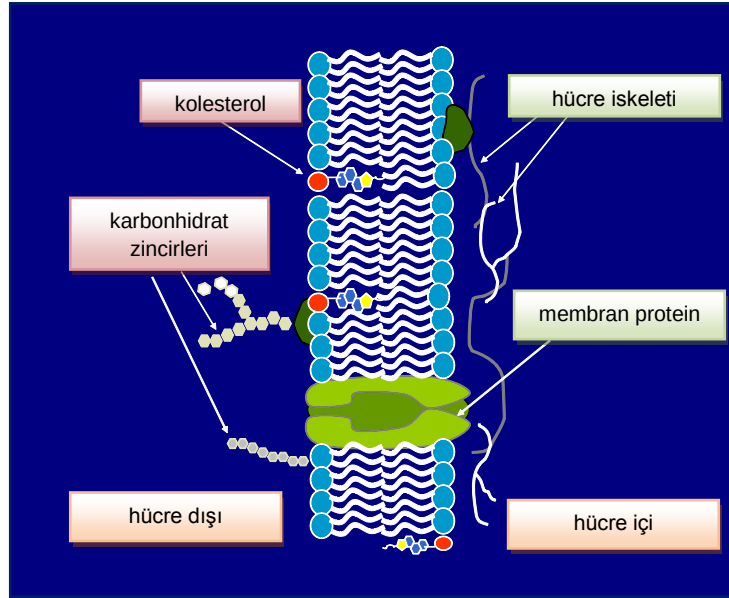
Protein oksidasyonu biyokimyasal açıdan değerlendirildiğinde;

- Enzim aktivitesindeki azalma,
- Proteaz inhibitör aktivitenin kaybı,
- Protein agregasyonu,
- Proteolize artmış/azalmış yatkınlık,
- Reseptör aracılı endositozun bozulması,
- Gen transkripsiyonundaki değişimler
- İmmünojen aktivitede artış olduğu tespit edilmiştir (98).

Diyabet, ateroskleroz, nöronal dejenerasyon gibi önemli hastalıkların patogeneğinde ve yaşlanma sürecinde okside proteinlerin önemli rolleri olduğu da tespit edilmiştir (76).

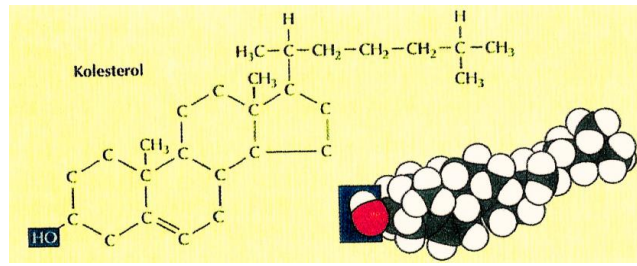
2.9.2 Serbest Radikal-Lipid Etkileşimi

Hücrelerde enerji depo formunu sağlamaları, hücre zarlarının temel bileşenlerini oluşturmaları ve hücre sinyal iletimi gibi üç önemli role sahip olan lipidler, serbest radikallerin üzerlerinde en çok hasar meydana getirdikleri biyomoleküllerdir. Membran, seçici geçirgen özelliği ile bazı bileşikler için bariyer oluşturmaları, hücrelerin ve hücre altı organellerin canlılığı için hayati öneme sahiptir (Şekil 6) (77).

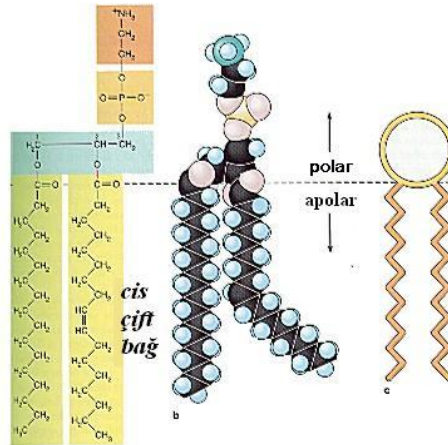


Şekil 6. Hücre membranı

Hücre membranı bileşenleri kolesterol (Şekil 7 (a)) ve fosfolipidlerin (Şekil 7 (b)) sahip oldukları çoklu doymamış yağ asitleri, serbest radikallere karşı oldukça duyarlıdırlar. Lipidlerde, ROS aracılı meydana gelen degradasyon olayı genel olarak lipid peroksidasyon (LPO) terimi ile ifade edilir.



(a)

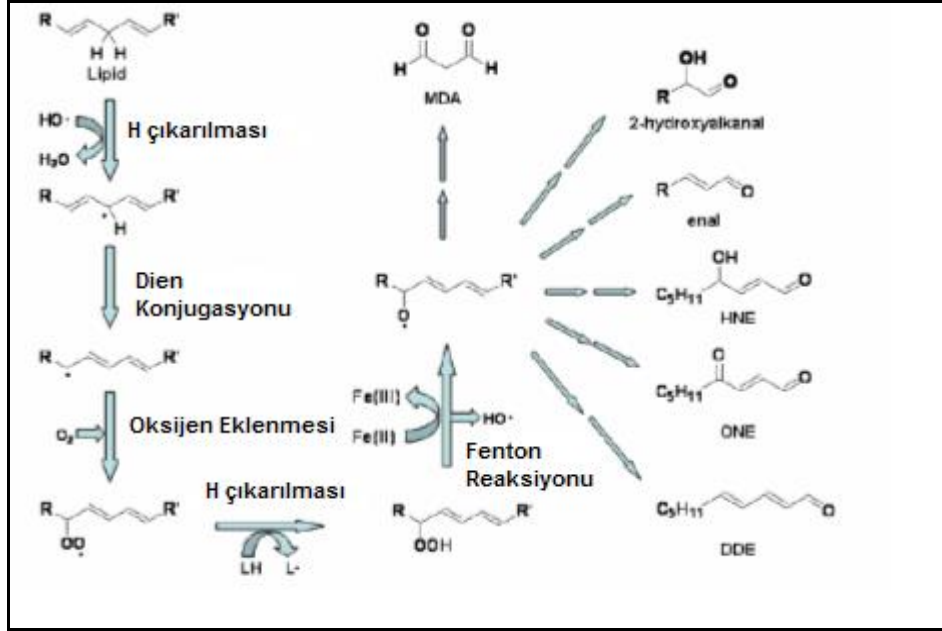


(b)

Şekil 7. Hücre membranı bileşeni kolesterol(a) ve fosfolipitler(b)

Lipid peroksidasyonu (Şekil 8), $\cdot\text{OH}$ radikalının membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin (LH) metilen grubundan ($-\text{CH}_2-$) H atomunu çıkarması ile başlar. $\cdot\text{OH}$ radikalının indüklemesi ile gerçekleşen bu olay doymamış yağ asitlerinden serbest radikallerin oluşumunu başlatır. Oluşan karbon merkezli radikaller kararlı hale gelebilmek için kendi yapılarında moleküler anlamda yeniden düzenleme ile konjuge dienlerin oluşumuna neden olurlar. Aerobik koşullar altında, oluşan konjuge dienler ortamdaki O_2 ile reaksiyona girerek peroksil radikalleri ($\text{LOO}\cdot$) oluştururlar. Peroksil radikalının oluşumu ile başlama reaksiyonu biter, ilerleme reaksiyonları başlar. Lipit peroksil radikalleri membrana bağlı proteinlerin fonksiyonlarını ya membran yapısında değişim meydana getirerek ya da doğrudan proteinleri oksidasyona uğratarak engelleyebilmektedir. LPO' daki ilerleme reaksiyonu ise, oldukça aktif moleküller olan peroksil radikallerinin ortamdaki mevcut doymamış yağ asitlerinin metilen gruplarından H çıkarması ile başlar. Bu reaksiyon sonrasında oluşan lipit hidroperoksit (LOOH) Fe (III) ya da Cu (II) varlığında lipit alkoksil radikalini ($\text{LO}\cdot$) oluşturur. Oluşan alkoksil radikali ile aynı zamanda bifonksiyonel aldehydlerin (malondialdehit (MDA), 4-hidroksi-2-nonenal (HNE), 4-oxo-2-nonenal (ONE), 2-hidroksialkanal, enal) oluşumu ile sonuçlanan zincir reaksiyonları da gerçekleşir. Düşük molekül ağırlıklı olan bu ürünlerden HNE ve MDA oksidatif hasarın belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan belirteçlerdendir.

Bu reaksiyon zincirleri ancak radikal yapılı iki ürünü etkileyerek radikal yapısında olmayan bir ürün oluşturmasıyla ya da serbest radikali ortadan kaldıran maddelerin (tokoferoller, mannitol ve format) etkisiyle sonlanabilir (78,79).



Şekil 8. Lipid peroksidasyon basamakları (78)

Biyolojik sistemlerde oksidatif stresin ölçülmesinde yaygın olarak kullanılan üç karbonlu bir ketoaldehit olan MDA, normal metabolik şartlarda asetat veya malonata kadar okside olduktan sonra Krebs döngüsü ile CO₂'ye indirgenerek atılır. Ancak LPO'nun aşırı olduğu koşullarda, MDA konsantrasyonunda da artış tespit edilir. Özellikle, proteinlerin lizin bakiyeleri veya bazı fosfolipitlerin (fosfotidiletanolamin, fosfotidilserin) amin gruplarıyla etkileşerek kovalent modifikasyonlar oluşturabilir (80). Yapılan çalışmalar doğrultusunda, Diyabet, miyokard enfarktüsü, alzheimer ve kalp yetmezliği gibi hastalıkların yaşandığı durumlarda MDA konsantrasyonunda da artış olduğu tespit edilmiştir.

Hücre membranında meydana gelen peroksidasyon olayı moleküler seviyede;

- Membranda görülen yapısal değişim ve membran akışkanlığının azalmasıyla Ca^{+2} iyonları gibi normalde geçişine izin verilmeyen maddelerin geçişinde artışa,
- Lizozomal enzimlerin salınımına,
- Na^+ , K^+ -ATPaz, süksinik dehidrojenaz, sitokrom oksidaz ve sitokrom P450 gibi intrinsik enzim ve taşıyıcıların inaktivasyonuna,
- Kovalent çapraz bağlı lipid ve proteinlerin oluşumuna,
- Polipeptit bağının ayrılmasına,
- DNA hasarı ve mutajenez,
- Glutasyon Peroksidaz / Glutasyon Redüktaz antioksidan aktivitesindeki değişimden dolayı NADPH'in azalması gibi birçok sitotoksik etkiye neden olur (81)

2.9.3 Serbest Radikal-DNA Etkileşimi

DNA kararlı yapıda bir molekül olmasına rağmen hücre içerisindeki diğer moleküller (lipitler, proteinler, karbonhidratlar) gibi serbest radikaller ile etkileşebilir ve oksidatif hasara uğrayabilir. Serbest radikaller, çeşitli etkileşim mekanizmaları ile DNA üzerinde lezyonlar oluşturabilir. Bu lezyonlar; baz veya şeker lezyonları, tek veya çift iplik kırıkları, abazik bölgelerin oluşumu ve DNA protein çapraz bağlarının oluşumu şeklinde sıralanabilir (82).

Oksidatif DNA hasarı, hücrelerde normal aerobik metabolizma ya da iyonize radyasyon ve karsinojenik bileşikler gibi ekzojen kaynaklara maruziyet sonucunda oluşan serbest radikallerin DNA ile etkileşimi sonucunda oluşur (83). Çeşitli iç ve dış sebeplerden dolayı hasara uğrayan biyomoleküllerin onarımı için gerekli kodların DNA bünyesinde bulunması nedeniyle DNA' da oluşan oksidatif

hasarın belirlenmesi hayati önem taşımaktadır. Özellikle kanser, yaşlanma ve yaşa bağlı olarak gelişen hastalıkların ilerlemesinde önemli bir etken olarak oksidatif DNA hasarı gösterilmektedir.

Yapılan çalışmalar; DNA' da mutasyona sebep olan oksidatif hasarın

- Hidrojen çıkarma,
- Singlet oksijen oluşumu,
- Elektron transferi gibi üç mekanizma ile gerçekleştiğini ortaya koymaktadır (84).

ROS ve RNS doğrudan DNA molekülündeki azotlu bazlara etki ederek, bazlar üzerinde modifikasyonların oluşmasına neden olur. Özellikle Fe^{+2} ve Cu^{+2} gibi geçiş metalleri deoksiriboz şekerlere bağlanarak, Fenton reaksiyonlarının gerçekleşmesini sağlar. Bu reaksiyonlar sonucu oluşan $\cdot OH$ radikali deoksiriboz şekerlerde hasar meydana getirir. Cu^{+2} iyonları DNA' nın Guanin-Sitozine zengin bölgelerine bağlanır ve Guaninin H_2O_2 ile reaksiyona girmesi sonucunda Guaninde hasar meydana getirir. $\cdot OH$ radikali, pürin ve pirimidin bazlarında modifikasyonlar meydana getirerek, çok sayıda ürünün oluşmasını sağlar. Bu baz modifikasyonlarından en çok bilineni 8 hidroksi-deoksi-guanozin (8OHdG)' dir (85). Guanin' in $\cdot OH$ radikalinin etkisi ile C-8 pozisyonunda hidroksillenir ve Guaninde modifikasyonlara neden olur. Bu hidroksil modifikasyonu, yapısal ve konformasyonel değişimlere olduğu kadar DNA molekülünü oluşturan dört azotlu bazın yanlış eşlenmesi sonucunda mutasyonların görülmesine de neden olur. Bu oluşan hasar hidroksil radikaleline spesifiktir (86).

Yakın zamanda yapılan çalışmalar, 8OHdG'in parkinson, alzheimer gibi bazı hastalıkların gelişim evresini tanımlamada yararlı bir belirteç olduğunu göstermektedir (87,88).

2.10 Antioksidan Savunma Sistemi

Hücrel yaşamın sürekliliği karmaşık biyokimyasal tepkimelerin denge içinde yürümesine bağlıdır. Bu dengeyi bozacak yönde ortaya çıkan endojen ve/veya eksojen kaynaklı faktörler hücre hasarına yol açarlar. Bunlar içinde oksidatif stres farklı patolojik durumların ortaya çıkması nedeniyle gittikçe önem kazanmakta ve araştırmacıları bu yönde araştırma yapmaya yöneltmektedir. Radikal reaksiyonları hücre homeostazının bir parçasıdır. Sağlıklı hücreler homeostatik olarak antioksidanların kullanılmasıyla serbest radikalleri ortadan kaldırırlar.

Hücreler, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı antioksidan savunma sistemleri ile korunurlar.

Savunma sistemleri enzimatik (Methemoglobin redüktaz, Süperoksit dismutaz, Katalaz, Glutasyon peroksidaz, Glutasyon redüktaz, Glutasyon S-transferaz) ve nonenzimatik (Glutasyon, vitamin E, vitamin C, redükte nikotinamid adenin dinükleotit-NADH⁺, redükte nikotinamid adenin dinükleotit fosfat-NADPH⁺) olmak üzere iki grupta toplanabilirler. Glutasyon (GSH) un hücre, doku ve organ sistemlerinin bütünlüğünün yapısal ve fonksiyonel olarak korunmasında antioksidan bir molekül olarak önemi büyüktür. Aşırı oksidatif stres veya antioksidan potansiyelin yetersizliğinde gözlenen oksidatif hasar sonucu, GSH düzeyi azalmakta ve serbest radikal harabiyetine bağlı olarak,

patolojik durumlar ortaya çıkmaktadır. GSH, kanser, yaşlanma, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alması açısından önem taşımaktadır.

2.10.1 Antioksidan Sistemler

Zincir kırıcı antioksidanlar, peroksil radikalleri ile direkt olarak tepkimeye girerler ve zincir uzunluğunu mümkün olduğu kadar kısa tutarak peroksidasyonu engellerler. (89) Antioksidanların fonksiyonları, genel olarak koruma, durdurma ve tamir olmak üzere 3 kısımda toplanabilmektedir (90,91). Radikal stresin başlangıcında meydana gelen primer radikal ($R^{\cdot}$), lipid radikallerin ($L^{\cdot}$) oluşumuna yol açmaktadır. Daha sonra oluşan lipid peroksil radikali, α -tokoferol radikalinin oluşumuna neden olmaktadır. Askorbik asit (vitamin C) ve α -tokoferol (vitamin E) membranı oksidatif hasara karşı koruyabilen önemli antioksidanlardır. Askorbik asit tokoferoksil radikalini indirgeyerek tokoferolün radikal temizleme aktivitesini düzenlerken, askorbik asitin redoks durumu hücre içi GSH tarafından kontrol edilmektedir. Dolayısıyla, E vitamininin fonksiyonunun devamı ve rejenerasyonu için askorbik asit ve GSH'a ihtiyaç duyulmaktadır (92).

2.10.2 GSH Metabolizması ve Antioksidan Rolü

GSH biyolojik olarak iki önemli yapıyı (tiyol grubu ve γ -glutamin bağı) yapısında bulundurur. Yapısındaki sisteinin tiyol grubundan ve yüksek konsantrasyonundan dolayı (0.1-10 mM) hücre içinde önemli bir antioksidan olan GSH'un %99'dan fazlası indirgenmiş formda bulunur (93,94). Bu formda

tutulabilmesi pentoz fosfat metabolik yoluna bağlıdır. Bu yolda üretilen NADPH, glutatyon disülfid redüktaz (GR)'ın katalize ettiği reaksiyonda koenzim olarak görev alır. Önemli bir indirgeyici güç olan GSH, hücre içi proteinlerin, sistein, dihidrolipoat ve koenzim A gibi moleküllerin tiyol gruplarının, askorbat, α - tokoferol gibi antioksidan moleküllerin korunmasında, ayrıca DNA'nın deoksiribonüklozid öncüllerinin oluşması için ribonükleotidlerin indirgenmesinde kullanılır. GSH ayrıca hücrelerin oksidatif hasara, toksik bileşiklere, radyasyona karşı korunmasında, bazı ilaçların inaktivasyonunda, östrojen, prostaglandin ve lökotrienler gibi bazı endojen bileşiklerin metabolik işlemlerinde yer alır. GSH homeostazı hücresel düzeyde, biyosentez, oksidasyon, import ve eksport arasındaki dengeyle sağlanırken, doku düzeyinde GSH metabolizması ile ilgili işlemlere ve dokular arasındaki GSH akışına bağlı olarak düzenlenmektedir. Eritrosit hariç tüm hücrelerde gözlenen GSH salınımı, homeostatik mekanizmalar için önemli bir faktördür. GSH biyosentezinden sorumlu olan γ -glutamil döngüsü, koruyucu, metabolik, katalitik ve taşıma işlemlerinin bir kısmında, ayrıca GSH sentezi ve kullanımının düzenlenmesinde ve sistein amino asidinin taşınması ve depolanmasında oldukça önemlidir. GSH sentezi iki aşamada, γ -glutamilsistein sentetaz ve GSH sentetaz enzimleri aracılığıyla gerçekleşir (92).

GSH'nin derişimi, sentezinde kullanılan substratlarının teminine ve sentezinde görev alan enzimlerin derişimine bağlıdır. Hücreler glutamat ve glisinden zengindir, fakat sistein sınırlı miktarlarda bulunur. Bazı hücrelerde sistein oluşumu sistatyonin yolunda serin amino asitinin metiyonin tarafından transsülfürasyonu ile başaarılır. Sistein aynı zamanda doku proteinlerinin

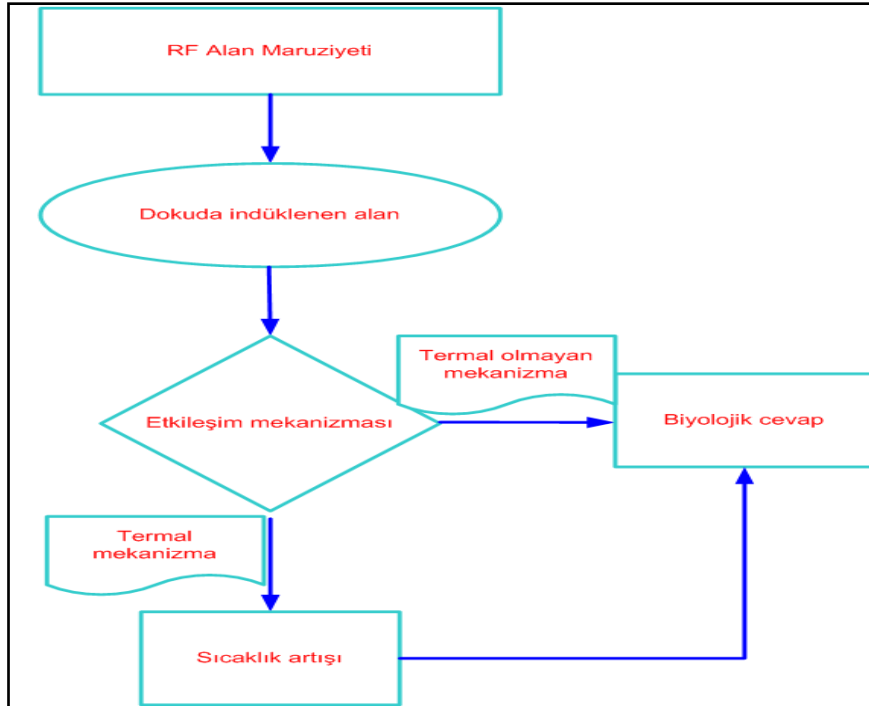
yıkımından ve diyetle alınan proteinlerden de gelir. Bu şartlar altında, iki sentetazın substratlarının derişiminin artmasıyla, glutatyon sentezi artar. Hücre içi glutatyon membrana bağı transpeptidaza aktarılarak taşınır. GSH'ın membrana bağı olan γ -glutamil transpeptidaza taşınması, γ -glutamil aminoasitlerin oluşumuna yol açmaktadır. γ -glutamil sistein taşınımı hücre sel sisteinin korunmasında oldukça önemlidir (92). Hücre sel glutatyon taşınımı, tiyol gruplarını ve α -tokoferol gibi diğ er membran bileşiklerini koruyarak hücre membranının oksidan hasara karşı korunmasını sağı lamakta, bunun yanı sıra, serbest radikallerle direkt reaksiyonu ile, Glutatyon peroksidazlara ve Glutatyon S-transferazlara substrat olmasıyla bir antioksidan olarak davranmaktadır (92).

2.10.3 Elektromanyetik Radyasyon ve Oksidan Stres

RF alanların biyolojik sistemlerle etkileşimi termal ve termal olmayan olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir (Şekil 9). Termal mekanizmada biyolojik dokular tarafından soğ urulan RF dalgaların sıcaklık artışına neden olmaktadır. Biyolojik dokuların birçoğ u elektriksel iletkenliğ e sahip olduğ undan RF alan elektrik akımı oluş umuna neden olur. Oluş an elektrik akımının doku içerisindeki yayılımı ile dokuda ısınma meydana gelir. Biyokimyasal reaksiyonların sıcaklığ a bağı olarak gerçekleşmesinden dolayı, sıcaklıktaki en ufak bir artış dahi biyolojik cevapların oluş masına neden olabilmektedir.

RF alanların termal olmayan mekanizması ise doğ rudan sıcaklık artışına bağı olmayan etkilerin tespit edilmesi ile değ erlendirilmektedir. Termal olmayan etkiler birkaç farklı mekanizma ile açıklanabilmektedir.

Bu mekanizmalar: a) protein konformasyonundaki değişimler, b) iyon kanalları ile ilişkili ATPaz enzimindeki konformasyonel değişimler, c) biyolojik bileşiklerin vibrasyonel durumlarına göre RF enerjinin soğurulması, d) hücre reseptör proteinlerine ligandların bağlanmasındaki değişimler, e) hücrelerarası çekim kuvvetlerinin RF enerji tarafından güçlendirilmesi, f) pulslu RF enerjinin demodülasyonundan kaynaklanan düşük frekanstaki elektriksel alanların etkileşimi şeklindedir. RF manyetik alanı ile oluşturulan mekanizmalar; manyetit (Fe_3O_4) partikülleri içeren dokular ile RF etkileşimi ve radikal iyon çiftlerinin rolü göz önünde bulundurularak geliştirilmektedir.



Şekil 9. RF alanların termal ve termal olmayan etkileşim mekanizmaları

RF alanların termal olmayan etkileşim mekanizmaları içerisinde hücredeki biyolojik olarak aktif biyomoleküllerin yapılarında meydana gelen değişimler ayrıca önem taşımaktadır.

Hücrelerin %68'lik bölümünü oluşturan proteinler, yaklaşık 300 amino asidin peptid bağı ile bağlanarak oluşturduğu primer, sekonder, tersiyer ve kuaterner olmak üzere 4 organizasyon düzeyine sahiptir. Canlı organizmada, iyonların hücre içi ve dışına olan hareketleri aktin ağı boyunca veziküllerin taşınması, DNA'nın çevrimi ve genel olarak tüm metabolik reaksiyonların katalizlenmesi gibi önemli görevler üstlenen protein ve enzimlerin bu fonksiyonları konformasyonel özelliklerine bağlı olarak gerçekleşmektedir. RF radyasyonun da protein konformasyonlarında değişikliğe neden olabileceği ve bu değişikliğin hücre içerisinde önemli biyolojik cevapların oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir (95).

EM radyasyonun verdiği hasarın temelinde serbest radikallerin oluşumu yatar. Serbest radikal olarak adlandırılan oksidatif maddeler proteinlere, DNA'ya, hücre zarına, enzimlere zarar vererek vücuttaki birçok fonksiyonun bozulmasına yol açabilir. EM alan maruziyeti sonrasında oluşan serbest radikallerin vücuttaki kalsiyum dengesi üzerine de zararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Özellikle merkezi sinir sisteminde, beyinde ve de kalpte bu tesir daha belirgindir. Hücre içi kalsiyum seviyesinin düşmesiyle birlikte hücre büyümesi, üremesi ve hücreler arası haberleşmede aksamalar meydana gelir. EM radyasyonun etkisi maruz kalınan zamanla doğru orantılı olarak artar. (96).

Fazla miktarda oluşan ve hücre savunma elemanları olan antioksidan enzimler tarafından etkili bir şekilde hücreden uzaklaştırılamayan radikaller, hedef olarak belirledikleri diğer hücrelerde oksidatif stres olarak tanımlanan fizyolojik olaylara neden olmaktadır. Hücrede biyolojik olarak aktif molekülleri (lipidler, proteinler ve nükleik asitler) hedef alan ve oksidatif hasara uğratan radikaller membran lipidlerinin peroksidasyonu, nikotin amid nükleotidlerinin azalması, hücre içi Ca^{+2} iyonlarının artması ve DNA hasarı gibi metabolik bozukluklara neden olmaktadır. Oluşan metabolik bozukluklar, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, katarakt ve Alzheimer gibi hastalıkların oluşumunu ve gelişimini de tetiklemektedir (83).

Serbest radikaller nedeniyle oluşan oksidatif hasarın sebep olduğu diğer bir metabolik bozukluk da membran lipidlerinin peroksidasyonudur. Serbest radikallerin katıldığı karmaşık zincir reaksiyonları sonucunda oluşan lipid peroksidasyonu, hücresel işlevlerde hayati öneme sahip hücre membranının temel bileşeni olan çoklu doymamış yağ asitlerinin kararlı düzeninin bozulması ve hücre içerisine giremeyen zararlı molekül ve iyonların hücre içerisine geçişinin kolaylaşmasıyla hücrede hasarların oluşması anlamına gelmektedir(77).

Son yıllarda yapılan  alışmalar RF alanların serbest radikallerin oluşumunu arttırarak, oksidatif strese neden olan dış etkenlerden biri olduğunu göstermektedir. 900 MHz de 3 hafta 20dk/gün uygulanmış sıçanlarda kalp, akciğer, testis ve karaciğer dokularında MDA ve NO_x seviyeleri artarken, GSH seviyeleri azalmıştır (97).

0.9/1.8 GHz de 28 gün boyunca her gün 1 saat uygulanmış sıçanlarda olgun sperm sayısı, testis ve epididimde GSH seviyeleri azalırken ve lipid peroksidasyonu artmış (98). 2.45 GHz (Wi-Fi), 900 MHz ve 1800 MHz (mobile phone) ye yenidoğan sıçanlar 60 dk/gün 6 hafta maruz bırakılmış 4. 5. ve 6. haftanın sonunda böbrek ve testis örneklerinde GSH, Glutasyon Peroksidaz ve total antioksidan kapasitede azalma, lipid peroksidasyonunda artma tespit edilmiştir (99) . 900 MHz RF radyasyona günde 1 saat olmak üzere 7 gün boyunca maruz bırakılmış sıçanların beyin dokularında serbest radikal parametreleri (MDA, NO, XO, ADA) ve antioksidan enzim aktivitelerini (SOD, GSH-Px) incelemiştir. Serbest radikal parametrelerinde artış olduğu, antioksidan enzim aktivitelerinde de azalma olduğunu tespit edilmiştir. Dışarıdan uygulanan antioksidan maddelerinde RF radyasyonun bu etkisini azaltabileceği sonucuna varılmıştır (100).

2.10.4 Diyabet ve Oksidan Stres

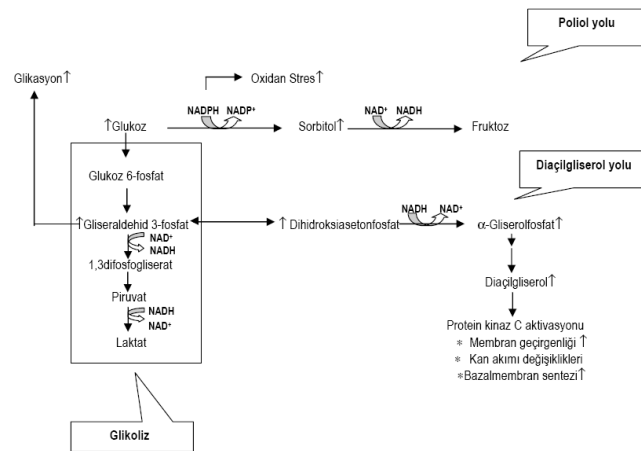
Diyabet, kronik metabolik bir bozukluk olduğu gibi aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumudur. Diyabette artmış serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal veya fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır. Organizma bu zararlı radikallerin etkisiyle başa çıkabilmek için bazı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan defans sistemlerine sahiptir (101-105).

Oksidatif stres, serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Bunun da diyabetin makro ve mikrovasküler komplikasyonlarına neden olduğu pek çok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (101-105). (Şekil 10)

Literatürde Tip 1 diyabetik hastaların bazılarında (106) antioksidan düzeylerinin arttığı (106) bazılarında ise azaldığı (107) bildirilmiştir.

NO, nitrik oksid sentaz (NOS) olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksit düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur (108,109).

Tartışmalı olmakla birlikte diyabette görülen endotel fonksiyon bozukluklarından endoteldeki NO üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır (109,110,111). Ancak diyabette NO'nun artmış olduğunu rapor eden araştırmacılar da vardır(112).



Şekil 10. Diyabette artan glukoz ile oksidan stresin artışı

STZ ile diyabet oluşturulmuş 4-6 haftalık sıçanlarda testiküler atrofi ve MDA, hidroperoksit ve reaktif oksijen ürünleri gibi oksidatif stres markırlarında artışın yanısıra mitokondriyal hasar markırı olarak aldehit dehidrojenaz ve trikarboksilik asit döngü enzimlerinde azalma, oksidatif fosforilasyon enzimlerinde artma, kalsiyum homeostazisinde ve membran potansiyelinde de dalgalanma görülmüştür (113). Bir başka çalışmada da farelerde tek doz (150 mg/kg) STZ indüksiyonu sonrasında henüz diyabetin erken fazında testiste ve epididimal spermde sitozolik ve mitokondriyal lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen ürünleri artmış. Testiste Glutasyon Peroksidaz (GPx), glutasyon-S-transferaz (GST) ve SOD enzim aktiviteleri yükselirken, epididimal sperm azalmış (114).

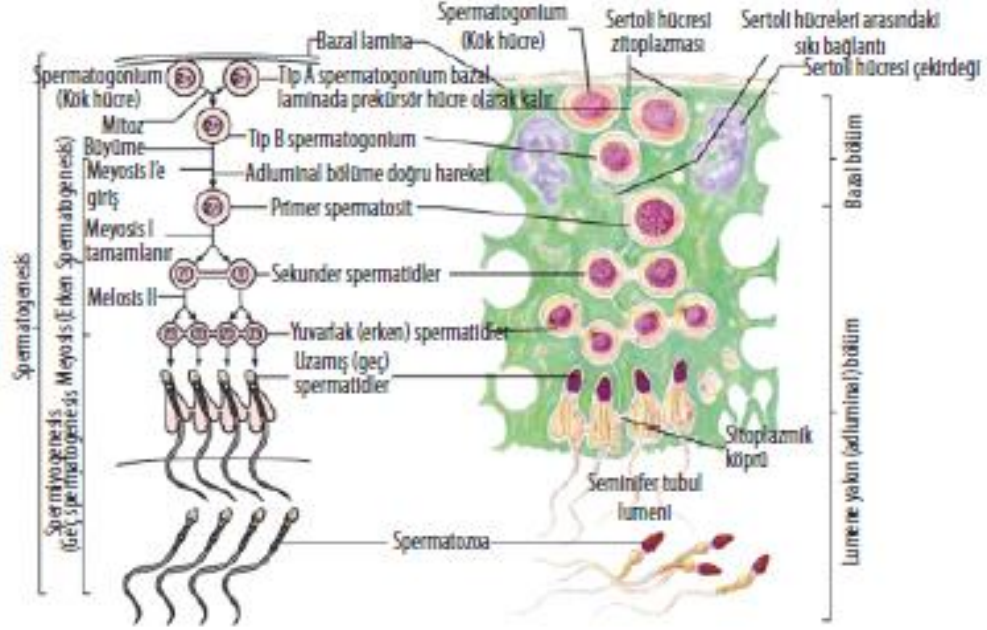
2.11 Testis

Testislerin testosteron hormonu salgılanması, spermelerin üretilmesi ve erkeklere özgü bazı fiziksel özelliklerin gelişmesi gibi görevleri vardır.

Skrotum içinde sağlı sollu yer alan testisler, sperm kanallarının bir kısmı ve çok sayıda damar yapısı içeren bir yapıdır. Skrotumun sperm işlevlerini korumak açısından çok önemli bir özelliği vardır.

Sperm hücreleri ısı değişikliklerinden olumsuz etkilenirler ve işlevlerini en iyi şekilde yerine getirebilmeleri için vücut ısısından yaklaşık 2 derece daha düşük bir ortamda bulunmaları gerekir. Torbanın vücut dışında bulunmasının nedeni budur. Torbanın içindeki ısı vücut ısısından daha düşüktür ve soğukta büzüşerek

ısı kaybını önler. Sıcakta ise aksine sperm hücrelerinin aşırı ısıya maruz kalmalarını önlemek için gevşer (115).

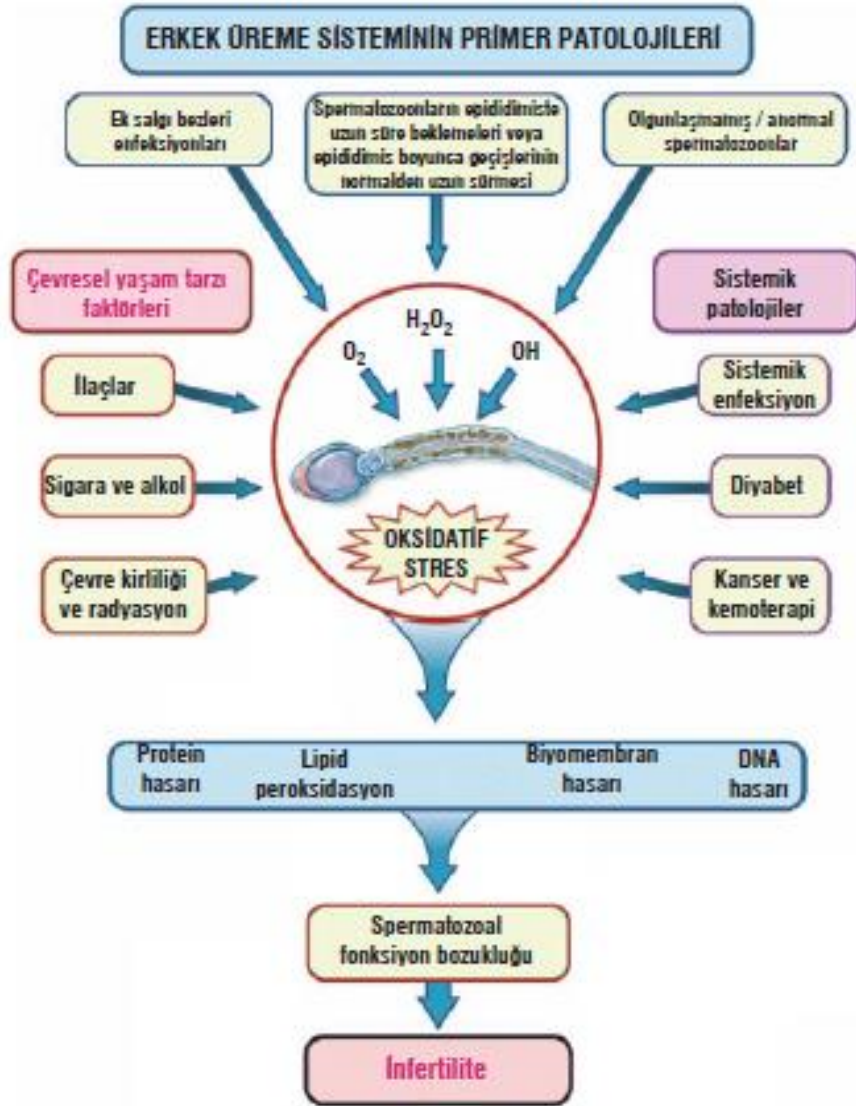


Şekil 11. Kemoterapötiklerin erkek üreme sistemi üzerindeki yan etkileri ve koruyucu stratejiler (116)

Son çalışmalarda testikuler germ hücrelerinde ısı artışına bağlı oluşan dejeneratif değişikliklerin testiste apoptozis gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir(117). Oksidan-antioksidan sistemindeki değişikliklerin de apoptozisi arttırdığı bilinmektedir (118).

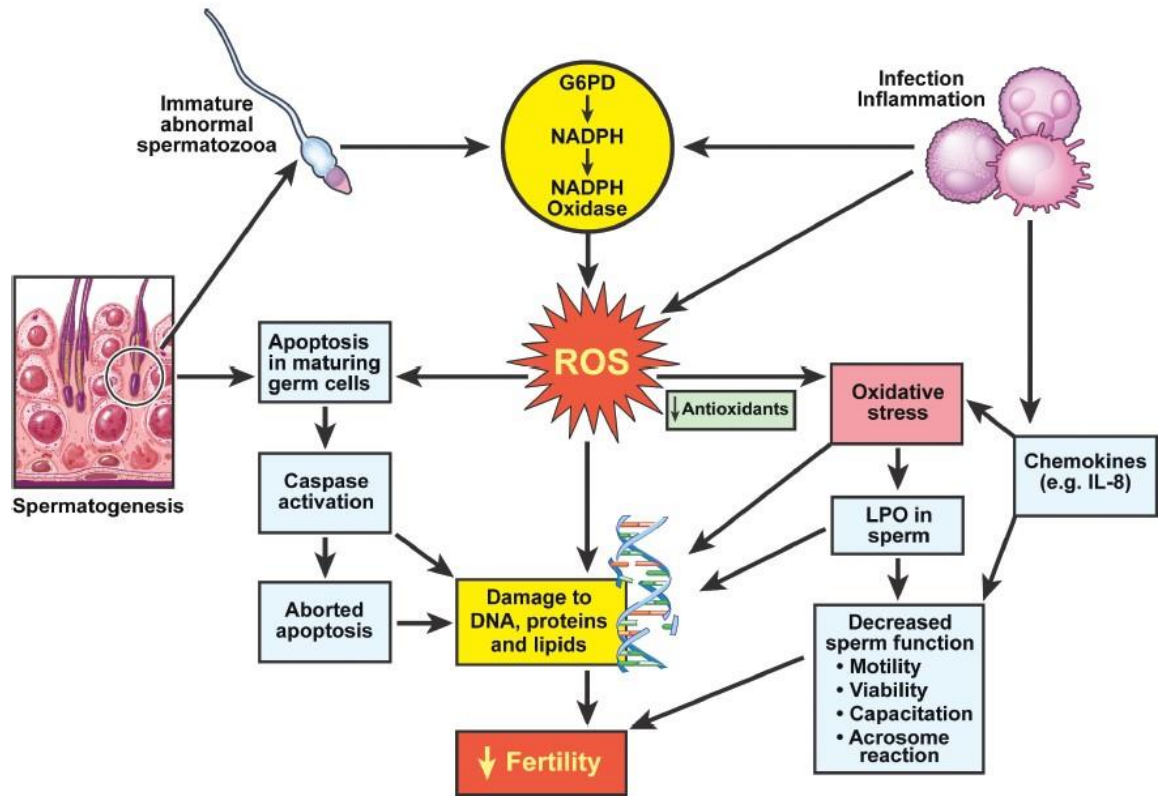
Seminifer tübul epitelinin ısı, radyasyon veya soğutma gibi faktörlere olan sensitivitesi de germ hücrelerinin programlanmış hücre ölümlerini artıran diğer bir faktördür (119). Sonuçta, testikuler fizyolojiyi bozan ekzojen stimulanların varlığında fizyolojik olmayan düzeyde apoptozis gerçekleşir ve klinik olarak spermatogenezde bozulma ve infertilite oluşabilir (120,121,122).

Ayrıca yapılan farklı çalışmalarda testiküler ısı artışı, inmemiş testis, radyasyona veya kemoterapiye maruz kalma, androjen seviyesinde azalma gibi etkenlerin germ hücre apoptozisini arttırdığı gösterilmiştir(123,124,125).



Şekil 12. İnfertilite açısından büyük öneme sahip faktörlerden biri olan oksidatif strese yol açan erkek üreme sisteminin primer patolojileri (126)

Çevresel faktörlere ve hastalıklara bağlı olarak artan Serbest radikaller hücrelerde özellikle yağ asitleri ve lipidler olmak üzere proteinlere de saldırarak çeşitli yapı ve biyomembran bozukluklarına sebep olmaktadır. Memeli spermatozoonunun lipid kompozisyonu somatik hücrelerden önemli derecede farklıdır. Sperm plazma membranı fosfolipidler, steroller, doymuş ve doymamış yağ asitlerinden oldukça zengin olduğu için ROS hasarlarına karşı aşırı hassastırlar (127,128,129).



Şekil 13. Reaktif oksijen ürünlerinin fertiliteye etkisi (130)

2.12 Diyabet ve Testis Dokusu

Diyabetin, testiste oksidan stresi artırıp, antioksidan stresi azalttığı (131,132) gonadal fonksiyonları etkileyerek, düşük testosteron düzeyleri, testiküler disfonksiyon ve yetersiz spermatogenez oluşturduğu insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir(133,134). Diyabete bağlı olarak testislerde, tunika albugineada, seminifer tubüllerde, interstisyel bağdokusu içinde ve Leydig hücrelerinde histolojik değişiklikler izlenmektedir (134,135) .

Kılarkaje ve arkadaşları sıçanlarda 55 mg/kg STZ enjeksiyonu ile diyabet modeli oluşturup, 1 ve 3 ay sonra testis dokusunda Total Oksidan Kapasite (TOS) ve Total Antioksidan Kapasite (TAS) ölçümü yapmışlardır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1 aylık diyabetik olan deneklerde TOS yaklaşık 3 katına çıkarken, TAS yaklaşık 2 kat azalmış. 3 aylık diyabetik deneklerde ise TOS yaklaşık 4 katına çıkarken, TAS yaklaşık 3 kat azalmıştır . Olgun sperm sayısı ise 3 aylık grupta daha fazla olmak üzere her iki diyabetik grupta da artmıştır (136). Yongde Xu ve arkadaşları ise 55 mg/kg STZ enjeksiyonundan 1 ay sonra diyabetik sıçanlarda spermatogenik hücrelerde apoptozun belirgin artmış olduğunu görmüşler, MDA düzeylerinde de yükselme olduğunu rapor etmişlerdir (137).

Erkek sıçanlarda STZ ile oluşturulan deneysel diabetin üreme fonksiyonunu bozduğu bildirilmiştir (138,139,140). Mikroskopik incelemede sıçanların seminifer tubuluslarında fonksiyon bozukluğunu belirleyen yapılar saptanmıştır. Preparatlarda seminifer tubulusların hemen hemen tümünün çapı sağlıklı kontrol gruba göre dar ve lumenleri geniş, germ epiteli ince olarak

görülmüş, ayrıca tubulus duvarını döşeyen germ epitelinde hücre kaybı ve düzensizlik bildirilmiştir (138,139). Diabette seminifer tubuluslardaki dejenerasyon yanında interstisyel dokunun Leydig hücrelerinde de artan diyabet süresine bağlı olarak morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler meydana geldiği bildirilmektedir (139,141).

Diabette insulin eksikliğine bağlı olarak Leydig hücrelerinde meydana gelen yapısal değişikliklerin steroid sentezini dolayısıyla testosteron üretimini olumsuz yönde etkilenmesi, seminifer tubuslarda spermatogenez ve spermiogenezin bozulmasının nedeni olabilmektedir. Nitekim diyabetik sıçanların Leydig hücrelerinde lipid birikimi ve androjen sentezinde iş gören hücre elemanlarında yapısal değişikliklerin meydana geldiği ve bu durumun düşük plazma testosteron seviyeleriyle korelasyon sağladığı bildirilmektedir (139,140,142).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları

Çalışmada GÜDAM'dan temin edilen, 12–16 haftalık ağırlıkları 250 ± 20 gr olan 60 adet erişkin, erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlarda yapılan deneyler GÜDAM laboratuvarında gerçekleştirildi.

Sıçanların her biri ayrı kafeslerde 12 saat aydınlık-karanlık siklusunda, $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'lik ortamda, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile serbest olarak beslendi.

Tablo.6 Deney grupları

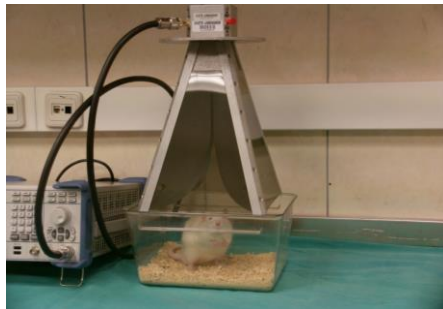
Grup	Açıklama	Sıçan sayısı
Kontrol - <u>K</u>	Kontrol	6
Sham grup - <u>S</u>	Alan uygulamaları almayan ama uygulanıyor gibi davranılan grup	6
Manyetik Alan - <u>M</u>	Sadece 50 Hz manyetik alan maruziyeti alan grup	6
Radyo Frekans Radyasyon- <u>R</u>	Sadece Radyo frekans radyasyon alan grup	6
Manyetik alan+Radyo Frekans Radyasyon - <u>MR</u>	Manyetik alan ve Radyo frekans radyasyon alan grup	6
Diyabet Kontrol - <u>DK</u>	Diyabetli Kontrol	6
Diyabet Sham grup - <u>DS</u>	Diyabet yapılıp alan uygulamaları almayan ama uygulanıyor gibi davranılan grup	6
Diyabet Manyetik Alan - <u>DM</u>	Diyabet yapılıp 50 Hz manyetik alan maruziyeti alan grup	6
Diyabet Radyo Frekans Radyasyon- <u>DR</u>	Diyabet yapılıp Radyo frekans radyasyon alan grup	6
Diyabet Manyetik alan+Radyo Frekans Radyasyon - <u>DMR</u>	Diyabet yapılıp manyetik alan ve Radyo frekans radyasyon alan grup	6

3.2. Laboratuvar Koşulları

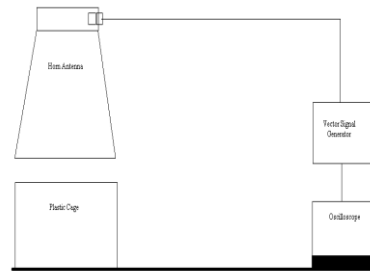
Sıçanların barındırılmaları ve bakımları da yine GÜDAM’ da yapıldı. Sıçanların her biri ayrı kafeslerde, 12 saat aydınlık karanlık siklusunda, 24 ± 2 °C ‘lik ortamda standart sıçan yemi ve musluk suyu kullanılarak serbest olarak beslendi. Bulundukları ortamın nisbi nem oranı % 30-45 arasında tutuldu. Sıçanların polikarbonattan yapılmış kafeslerde, altlarında talaş olacak şekilde barınmaları sağlandı. Her gün kafes temizliği yapıp, talaşların yenilenmesi sağlanarak kafes altının kuru kalması sağlandı.

3.3 Araştırmada Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

RF sinyal kaynağı olarak Rohde & Schwarz sinyal jeneratörü (Rohde & Schwartz, SMBV100A, Germany) (Resim 1), alan yayılımı için ise ETS Lindgren 3164–04 horn anteni (ETS Lindgren, Model 3164-03, USA) kullanıldı (Şekil 14). Horn anteni mikrodalga ve RF sinyallerinin gönderilmesi ya da alınması için kullanılan anten tiplerinden biridir. Konik görüntüsünden dolayı horn anten ismini almıştır. Horn antenin çalışma frekans aralığı 700 MHz – 6 GHz arasında değişirken, frekansına göre değişen 3 dBi – 12 dBi kazanca sahip olabilmektedir.



Resim 1. R&S SMBV100A vector signal generator, anteni ile beraber



Şekil 14. RF radyasyon maruziyet sistemi

Sistemde RF radyasyonu ölçmek için aşağıdaki cihaz ve birimler kullanıldı;

- Narda EMR 300 (Narda, Germany) Ana Ünitesi
- Narda EMR 300'e ait Tip 8,3 Elektrik Alan Probu; 100 kHz – 3 GHz

EMR 300 ile ölçülen RF alan değerleri ortalama 17.25 V/m'dir. RF sistem kapatıldığında gözlenen ortam RF alanı ise 0.1-0.21 V/m aralığında değişmektedir.

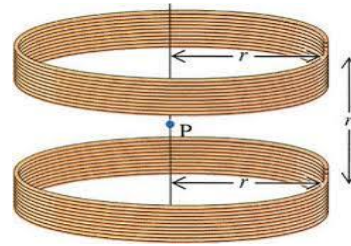
ELF alanların uygulanmasında Biyofizik Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Ayşe Canseven Kurşun tarafından dizayn edilen Helmholtz Bobin Sistemi (Resim 2, Şekil 15) kullanıldı. Helmholtz bobin sisteminin önemi merkez hatta homojen manyetik alan oluşturmastır. Bunun için iki aynı boyutta bobin sarılmıştır. Her biri bakır telden oluşturulmuş 154 sarımdan ibaret 42,75 cm çaplı ve iki bobinin aralarında 21.375 cm mesafe ile merkezleri aynı doğrultuda olmak üzere birbirine paralel konumlandırılmış sistem Helmholtz Bobin Sistemi olarak adlandırılmaktadır. Bobinler 2.7 KVA (kilovoltamper) varyak ile beslendi. Besleme devresinin bobinlere bağlantısı on/off pozisyonlu anahtar ile sağlandı.

ELF manyetik alanların ölçülmesinde ise EFA 300 (Narda, Germany) Ana Ünitesi ile elektrik ve manyetik alan problemleri kullanıldı.

EFA 300 ile ölçülen ELF manyetik alan değerleri ortalama 8.2 mT'dır.



Resim 2. ELF manyetik alan sistemini içeren Helmholtz bobin sistemi



Şekil 15. ELF manyetik alan sistemi

Elektromanyetik alan RF radyasyon ve ELF manyetik alan gruplarına ve sham gruplara 1 ay boyunca, 20 dakika/gün, 5 gün/hafta olmak üzere uygulandı.

3.4 Kimyasal Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Elektronik tartı(Sartorius basic)
- Vorteks (Nüve NM 110-02488)
- Ph metre (Cole Parmer 05669-20)
- Glukometre (Glucotrend / Roche)
- Homojenizator (Heidolph DIAX 900 297000010)
- Soğutmalı santrifuj (Hettich Universal 32 R)
- Eliza okuyucusu (Biokit ELx 800 Bioekisa Reader)
- Mikropipet 10- 100 µl, 100-1000 µl ve 1-5 ml (Pipetman)

3.5 Araştırmada Kullanılan Kimyasallar

- Rompun , Ketamin
- Sitrat tamponu , STZ
- TCA , TBA , BHT
- NaH₂PO₄ , DTNB
- Fosfat tamponu, NaOH, ZnSO₄

3.6 Deneysel Diyabet Oluşturma

Deneye başlamadan önce bütün hayvanlar 8 saatlik açlığı takiben tartıldı ve kuyruk veninden kan alınarak açlık kan şekeri (AKŞ) ölçüldü.

Hayvanlara 0.1 M (pH:4.5) soğuk sitrat tamponun 1 ml'sinde çözünen, 65mg/kg Streptozotosin (STZ) tek doz, intra-peritoneal olarak enjekte edildi. STZ uygulamasından 48 saat sonra 8 saat önceden aç bırakılan hayvanların AKŞ'leri tespit edildi ve AKŞ'leri 250 mg/dl üzeri olanlar diyabet kabul edilerek diyabet gruplarına dahil edildi (143). 1 ay diyabetin stabilizasyonu için beklendi. Diyabet

oluşumundan sonra 2 ay süreyle denekler haftada 2 kere ölçülmek üzere kan şekeri takibine alındı.

3.7 Deneklerde Ötenazi

Denekler uygulamaların sonunda intra-muskuler (IM) Rompun (5mg/kg) + Ketamin (45mg/kg) anestezisi altında kalplerinden kan alınarak feda edildi. Deneklerden çıkarılan testisler sıvı azotta dondurulup, çalışılınca kadar -80°C de saklandı.

3.8 Çalışma Süresince Ölçülen Parametreler

Beden ağırlığının tespiti [diyabet öncesi, STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonrası ve uygulama sonrası] AKŞ tespiti [diyabet öncesi, STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonrası, uygulama sonrası ve çalışma süresince haftada 2 kere] Alınan sıvı ve çıkarılan idrar miktarları tespiti [diyabetik gruptaki hayvanlar AKŞ bakıldıktan bir gün sonra metabolik kafese yerleştirildi (Resim 3). Metabolik kafeste kaldıkları 24 saatin sonunda aldıkları su ve çıkardıkları idrar miktarı (Resim 4) kaydedildi. Bu ölçümler diyabetik grupta çalışma süresince; STZ enjeksiyonu öncesi, STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra ve uygulama sonrası olmak üzere 3 defa tekrarlandı]



Resim 3. Metabolik kafes düzeneği



Resim 4. Aldıkları su ve çıkardıkları idrar miktarları

3.9 Çalışmanın Bitiminde Testis Dokusunda Bakılacak Parametreler

1. Tiyoarbitürük asit reaktif madde (TBARS-spektrofotometrik yöntemle çalışıldı)
2. Glutasyon (GSH- spektrofotometrik yöntemle çalışıldı)
3. Total nitrik oksid (NOx- Griess yöntemi ile çalışılıp Elisa okuyucu ile saptandı)

3.10 Dokuda TBARS Tayini

Dokuda (TBARS) MDA düzeyleri tiyoarbitürük asit reaktif madde oluşumu yöntemiyle çalışıldı.

Kullanılan Solüsyonlar:

- %10'luk tri karboksilik asit (TCA)
- %1'lik butil hidroksi tolue (BHT), %95'lik alkol içinde
- %0.67'lik tiyoarbitürük asit (TBA)

Doku örnekleri tartıldı. Homojenizatör ile soğuk TCA (1 gr doku + 9 ml %10'luk TCA) içinde buzlu ortamda homojenize edildi. Daha sonra homojenat 15 dk süre ile 4000 rpm'de, +4°C de santrifüj edilip süpernatant alınarak 4000 rpm'de 8 dk tekrar santrifüj edildi. Örnekten 750 µl alınarak üzerine 750 µl %67'lik TBA ve 10 µl %1'lik BHT eklendi. Vorteksle iyice karıştırılarak kaynayan su banyosunda 15 dk bekletildi ve daha sonra oda ısısına kadar soğutularak 4000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant alınarak numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede 535 nm'de, köre karşı okundu. Doku MDA düzeyleri nmol olarak gr doku başına hesaplandı (144).

3.11 Dokuda Glutasyon Tayini

Dokuda GSH tayini için modifiye Ellman yöntemi kullanıldı.

Kullanılan solüsyonlar:

- 0,3 M NaH_2PO_4
- DTNB-dithio nitro benzoik asit (0,4 mg / ml %1'lik sodyum sitrat)

Testis doku örnekleri TBARS yöntemindeki gibi homojenize edilip santrifüj edildikten sonra 2 hacim süpernatant, 8 hacim NaH_2PO_4 ve 1 hacim DTNB çözeltisi ile karıştırıldı. Oda ısısında 5-10 dk bekletildikten sonra karışımın absorbansı spektrofotometrede köre karşı 412 nm dalga boyunda okundu. Doku GSH düzeyleri $\mu\text{mol} / \text{gr}$ doku başına hesaplandı (145).

3.12 Dokuda NOx Tayini

Dokuda NO' nun temsilcisi olarak nitrit+nitrat (NOx) düzeylerinin tayininde modifiye Griess yöntemi kullanıldı. Standart olarak deiyonize su ile hazırlanmış sodyum nitratın 0-50 μM dilusyonları kullanıldı.

Doku örneklerini pH 7,4 olan fosfat tamponu ile 5:1 (w/v) oranında homojenize edildi. Homojenat +40C de 3000x g de 20 dk santrifüj edilerek süpernatant ayrıldı. 0,5 ml süpernatant alınarak üzerine 250 μl 0.3 N NaOH ilave edildi. Oda ısısında 5 dk inhibisyonuna bırakıldı.

Üstüne 250 mikrolitre %10'luk ZnSO_4 ilave edildi. Vortekslenen karışım +4 0°C de 3000g de 5 dk santrifüj edildi. Üst fazın tamamı ayrılarak +4 0 C de 14000 rpm de 5 dk daha santrifüj edildi.

Doku örneklerinin deproteinizasyon ve çöktürme işlemlerinden sonra elde edilen üst fazlarından NO_x tayini için 0,1 ml alınarak her bir örnekten çift tekrar olacak şekilde 96 çukurlu ELISA plağına yerleştirildi. Eş hacimde standart solüsyonları da ayrı çukurlara yerleştirildi. Standart solüsyonlar ve numunelerin üzerine 1 birim VaCl₃ (400 mg VaCl₃ tartılır, 1 molar HCl çözeltisi ile 50 ml'ye tamamlanarak karıştırılır.) 0,05 ml sülfanilamid ve ardından 0,05 ml NEDD eklendi. Plak 37°C de 30 dk etüvde inkübe edildi. Inkübasyon sonunda ELISA okuyucusunda 540 nm dalga boyunda ölçüldü. (146)

3.13 İstatistiksel Analiz

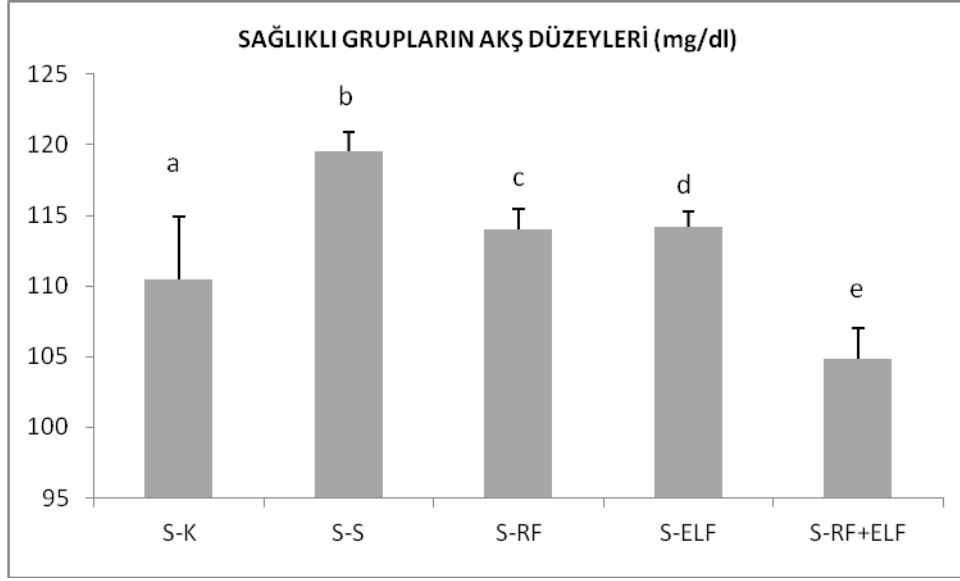
Çalışmamızda istatistiksel analizleri değerlendirmek için SPSS 11.5 programı kullanıldı. Gruplar arası istatistik Mann-Whitney U Test ile yapıldı. 2 grup arasında grup içi istatistik Wilcoxon Signed Ranks Test ile , 3 grup arasındaki grup içi istatistik Friedman Test ile yapıldı. $p < 0.05$ olanlar anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Tablo 7. Diyabet yapılmayan gruplara ait, AKŞ, beden ağırlığı, alınan sıvı ve çıkarılan idrar miktarları

GRUP (n=6)	AKŞ (mg/dl)	Ağırlık (gr)	Alınan sıvı (ml)	Çıkan idrar (ml)
S-K	110 ± 4	308 ± 5	34 ± 4	9 ± 1
S-S	120 ± 1	302 ± 9	39 ± 2	13 ± 1
S-RF	114 ± 1	282 ± 9	21 ± 2	10 ± 2
S-ELF	114 ± 1	296 ± 8	23 ± 4	8 ± 1
S-RF+ELF	105 ± 2	307 ± 7	16 ± 4	8 ± 3

Değerler ort ± SH olarak verildi.



Şekil 16. Diyabet yapılmayan (sağlıklı) grupların 1 aylık uygulama sonrası (feda edilmeden önce) AKŞ düzeyleri

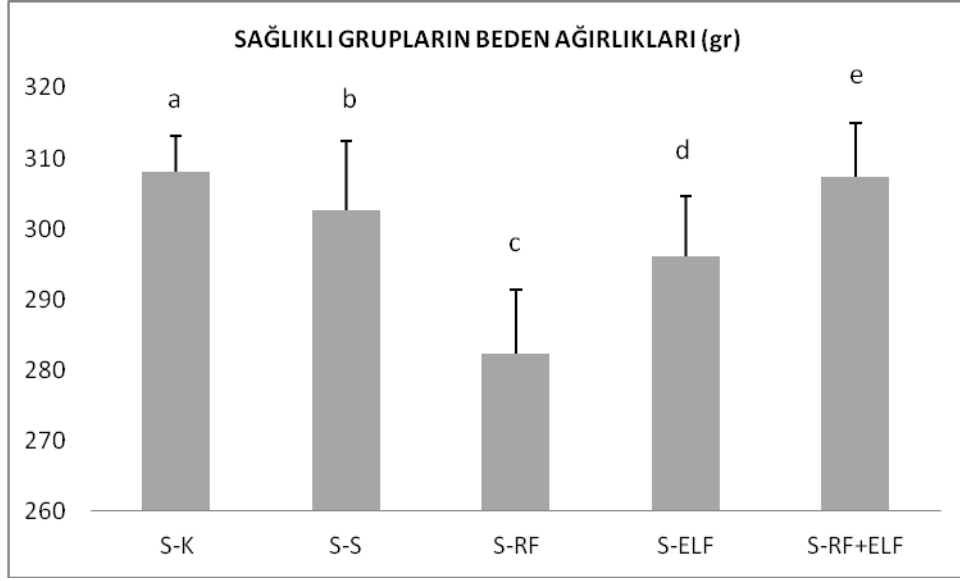
Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

$p < 0.05$; b/c, b/d, a/b

$p < 0.01$; b/e, d/e, c/e

Çalışmanın başında deneklerin AKŞ düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu.

1 aylık uygulama sonrasında S-RF, S-ELF ve S-RF+ELF gruplarındaki deneklerin AKŞ de, S-S grubuna göre anlamlı bir azalma olurken, S-K grubundaki deneklere göre anlamlı bir değişiklik bulunmadı. S-S grubundaki deneklerin AKŞ S-K grubundaki deneklerin AKŞ'e göre anlamlı olarak arttığı görüldü. AKŞ düzeylerindeki en belirgin azalma S-RF+ELF grubundaki deneklerde görüldü ve bu azalma S-RF ve S-ELF grubundaki deneklere göre anlamlı bulundu.

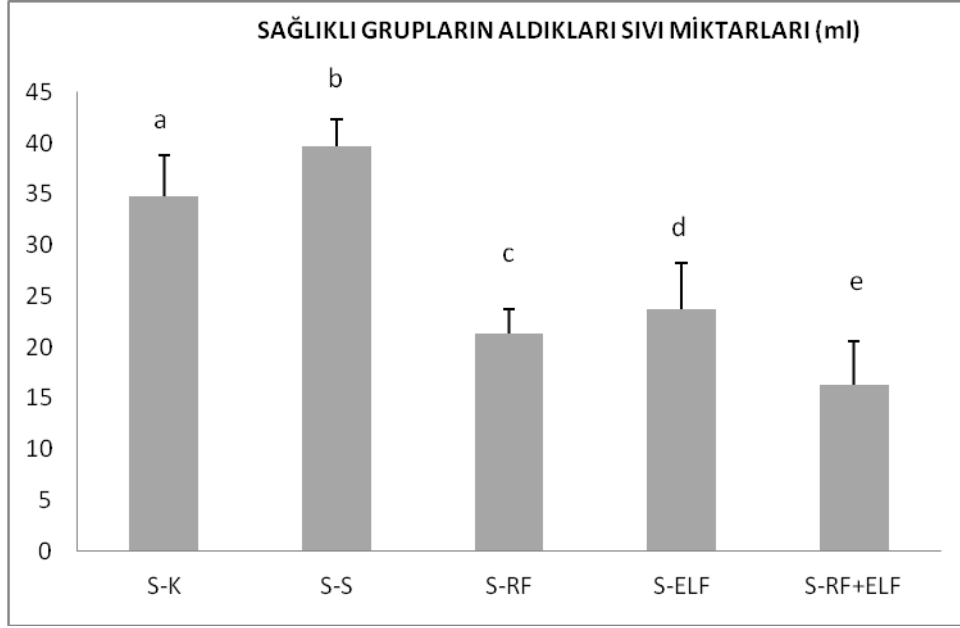


Şekil 17. Diyabet yapılmayan (sağlıklı) grupların 1 aylık uygulama sonrası beden ağırlıkları.

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

$p < 0.05$: a/c, c/e, b/c

Çalışmanın başında deneklerin beden ağırlıkları arasında anlamlı bir fark yoktu. 1 aylık uygulama sonrasında S-K ve S-S grupları arasında beden ağırlığı yönünden anlamlı bir fark tespit edilemezken, S-ELF ve S-RF+ELF grubundaki deneklerin ağırlıkları kontrollere göre bir miktar azaldı ancak bu azalma da anlamlı değildi. S-RF grubundaki deneklerin beden ağırlıklarında ise S-K, S-S ve S-RF+ELF grubuna göre anlamlı olarak azalma tespit edildi.



Şekil 18. Diyabet yapılmayan (sağlıklı) grupların 1 aylık uygulama sonrası metabolik kafes düzeneyinde aldıkları sıvı miktarı

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

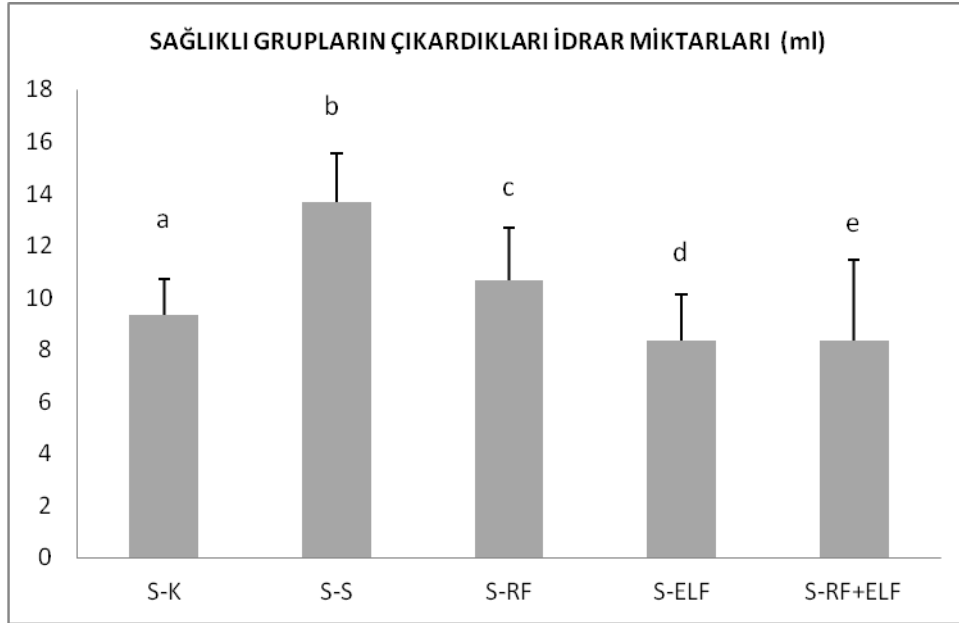
$p < 0.05$: b/d, a/d

$p < 0.005$: a/c, a/e, b/c, b/e

1 aylık uygulama sonrası metabolik kafes düzeneyinde alınan sıvı miktarları

değerlendirildiğinde, S-RF , S-ELF ve S- RF+ELF grubundaki deneklerin

aldıkları sıvı miktarının kontrollere göre anlamlı olarak düşük olduğu tespit edildi.



Şekil 19. Diyabet yapılmayan (sağlıklı) grupların 1 aylık uygulama sonrası metabolik kafes düzeneyinde çıkardıkları idrar miktarları

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

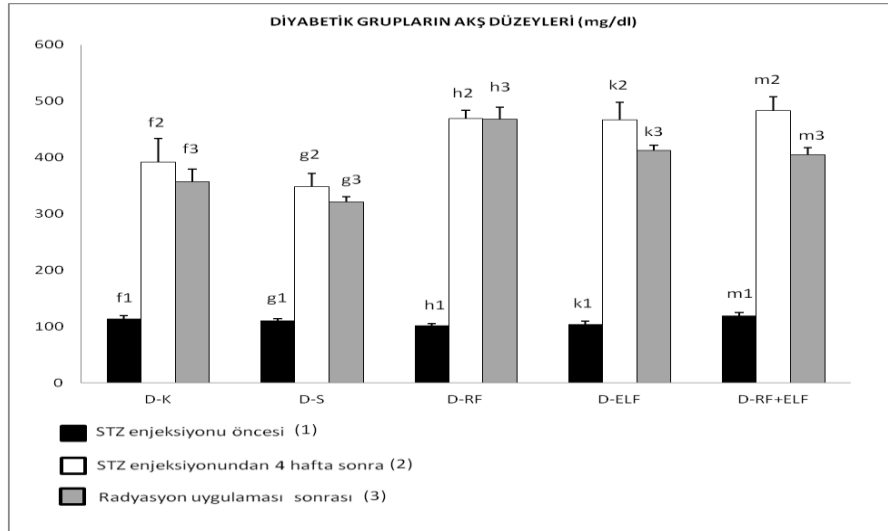
$p < 0.05$: b/d, b/e, a/b

S-ELF ve S-RF+ELF grubundaki deneklerin çıkardıkları idrar miktarı S-K grubuna göre anlamlı olmayan bir azalma gösterdi. Bu azalma S-S grubundaki deneklere göre anlamlı idi.

Tablo 8. Diyabetik gruplara ait STZ enjeksiyonu öncesi, STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra ve 1 aylık Radyasyon uygulaması sonrası AKŞ, beden ağırlığı, alınan sıvı ve çıkarılan idrar miktarları

	AKŞ (mg/dl)			Beden Ağırlıkları (gr)			Alınan sıvı (ml)			Çıkan idrar (ml)		
GRUP (n=6)	STZ enj. Öncesi	STZ enj. 1 ay sonra	1 ay radyasyon uygulama sonrası	STZ enj. öncesi	STZ enj. 1 ay sonra	1 ay radyasyon uygulama sonrası	STZ enj. öncesi	STZ enj. 1 ay sonra	1 ay radyasyon uygulama sonrası	STZ enj. öncesi	STZ enj. 1 ay sonra	1 ay radyasyon uygulama sonrası
D-K	114± 5	392±41	357±22	228±17	221±12	218±10	33±2	41±5	36±3	9±2	23±6	15±2
D-S	110±3	348±22	321±8	239 ±11	245 ±16	237±6	25±3	50±5	52±6	8±1	19±3	23±3
D-RF	101±3	469±14	468±20	225 ±10	237 ±10	194±17	29±2	80±3	104±30	7±1	45±5	43±9
D-ELF	104±4	467±30	412±9	231 ±9	228 ± 13	204±12	32±4	72±11	70±14	7±2	42±7	34±6
D- RF+ELF	119±6	483±24	405±12	233 ±4	245±6	219±10	27±3	103±6	89±11	5±1	56±7	52±7

Değerler ort ± SH olarak verildi.



Şekil 20. Diyabetik grupların STZ enjeksiyonu öncesi (1), STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra (2) ve 1 aylık radyasyon uygulaması sonrası (3) AKŞ düzeyleri

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

Gruplar Arası

$p < 0.01$: g2/h2, g2/k2, g2/m2, g3/h3, g3/k3, g3/m3, h3/m3, f3/h3

$p < 0.05$: h3/k3, f3/k3, f3/m3

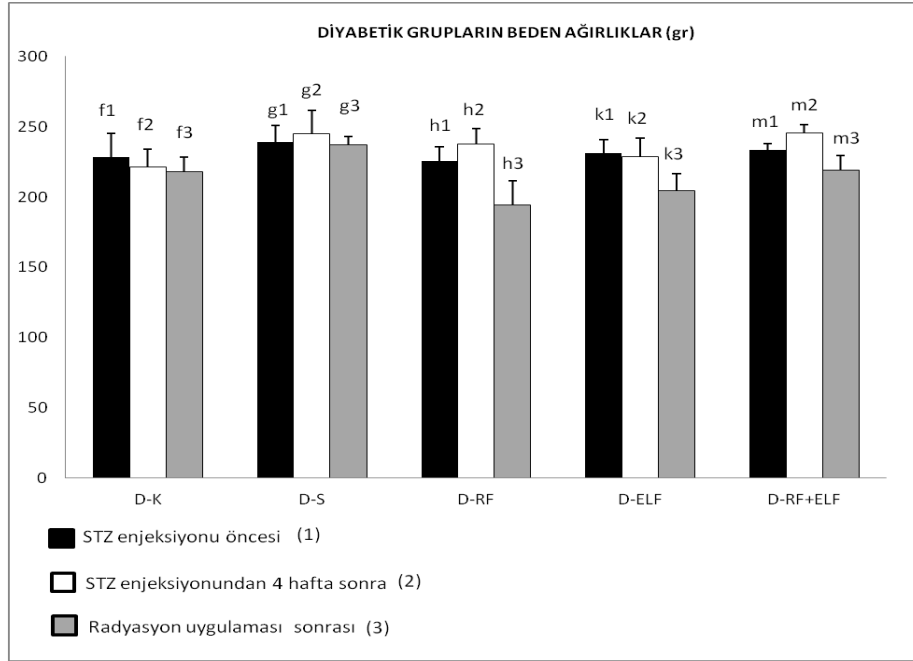
Grup içi

$p < 0.001$: f1/f2, f1/f3, g1/g2, g1/g3, h1/h2, h1/h3, k1/k2, k1/k3, m1/m2, m1/m3,

$p < 0.05$: m2/m3, k2/k3

Gruplar arasında STZ enjeksiyonu öncesinde AKŞ düzeyleri açısından bir fark yoktu. STZ uygulaması tüm grupların AKŞ düzeylerini anlamlı olarak arttırdı. STZ uygulamasından 4 hafta sonra yapılan ölçümlerde bu anlamlılık devam etti.

ELF ve RF+ELF Radyasyon uygulamalarının AKŞ lerini uygulama öncesine göre anlamlı olarak düşürdüğü tespit edildi.



Şekil 21. Diyabetik grupların STZ enjeksiyonu öncesi (1), STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra (2) ve 1 aylık radyasyon uygulaması sonrası (3) beden ağırlıkları

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

Gruplar Arası

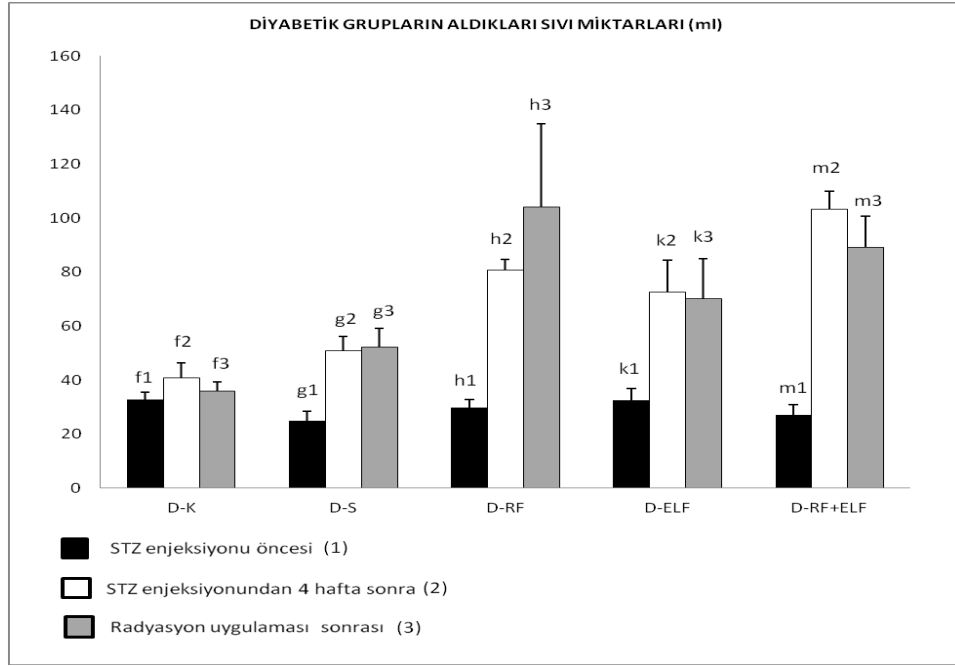
$p < 0.05$: g3/h3, g3/f3, g3/k3, g3/m3

Grup İçi

$p < 0.05$: m1/m2, h1/h3

$p < 0.01$: k1/k3, k2/k3, h2/h3, m2/m3

Gruplar arasında STZ enjeksiyonu öncesinde beden ağırlıkları açısından bir fark yoktu. 1 aylık radyasyon uygulaması sonrasındaki ağırlık ölçümlerinde, uygulama öncesine göre anlamlı azalma tespit edildi.



Şekil 22. Diyabetik grupların STZ enjeksiyonu öncesi (1), STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra (2) ve 1 aylık radyasyon uygulaması sonrası (3) aldıkları sıvı miktarları.

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

Gruplar arası

$p < 0.05$: k2/m2, h2/m2, g3/m3, g3/h3

$p < 0.01$: f3/h3, f2/h2, f2/m2, g2/h2, g2/m2

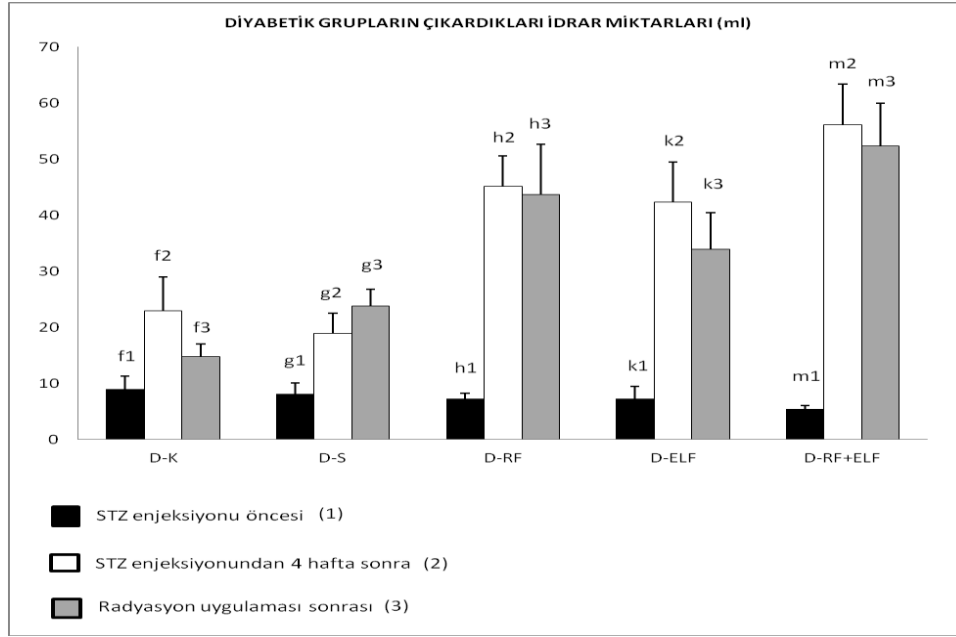
$p < 0.005$: f3/m3

Grup içi

$p < 0.05$: g1/g3, g1/g2, f1/f2

$p < 0.01$: h1/h2, k1/k2, m1/m2, m1/m3

Tüm gruplarda STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra yapılan ölçümlerde alınan sıvı düzeylerinde anlamlı bir artış oldu. 1 aylık radyasyon uygulaması alınan sıvı miktarını D-RF grubunda arttırıp, D-ELF ve D RF+ELF grubunda azaltmasına rağmen bu değişiklikler anlamlı değildi.



Şekil 23. Diyabetik grupların STZ enjeksiyonu öncesi (1), STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra (2) ve 1 aylık radyasyon uygulaması sonrası (3) çıkardıkları idrar miktarları

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

Gruplar arası

$p < 0.01$: g2/m2, f2/m2, g2/h2, g3/m3, f3/h3, f3/m3

$p < 0.05$: f2/h2, f2/k2, g2/k2, f3/g3, f3/k3, g3/h3

Grup içi

$p < 0.01$: f1/f2, g1/g2, h1/h2, k1/k2, k1/k3, m1/m2, h1/h3, m1/m3

$p < 0.05$:, f1/f3, g1/g3

Tüm grupların STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonraki çıkardıkları idrar miktarında STZ enjeksiyonu öncesi değerlerine göre anlamlı bir artış görüldü. 1 aylık radyasyon uygulaması çıkarılan idrar miktarlarında anlamlı bir değişiklik yapmadı.

Tablo 9. Testis dokusu MDA, NO_x ve GSH düzeyleri

Grup adı	MDA (nmol/g)	NO_x (μmol/g)	GSH (nmol/g)
Sağlıklı Kontrol (S-K)	5.71 ± 0.15	9.31 ± 0.13	3.02 ± 0.08
Sağlıklı Sham (S-S)	5.39 ± 0.29	9,05 ± 0,15	2,91 ± 0.09
Sağlıklı RF (S-RF)	6.9 3 ± 0.20	15,24 ± 0.27	2,73 ± 0.08
Sağlıklı ELF (S-ELF)	6.72 ± 0.12	14.31 ± 0.23	2,84 ± 0.04
Sağlıklı RF+ELF (S-RF+ELF)	7.01 ± 0.19	17.58 ± 0.47	2.73 ± 0.09
Diyabet Kontrol (D-K)	7.53 ± 0.19	18.88 ± 0.99	2.58 ± 0.08
Diyabet Sham (D-S)	6.52 ± 0.11	18.74 ± 0.20	2.58 ± 0.07
Diyabet RF (D-RF)	8.25 ± 0.13	24.66 ± 0.68	2.34 ± 0.04
Diyabet ELF (D-ELF)	7.53 ± 0.31	22.09 ± 0.36	2.55 ± 0.09
Diyabet RF+ELF (D-RF+ELF)	9.90 ± 0.31	26.97 ± 0.50	2.15 ± 0.11

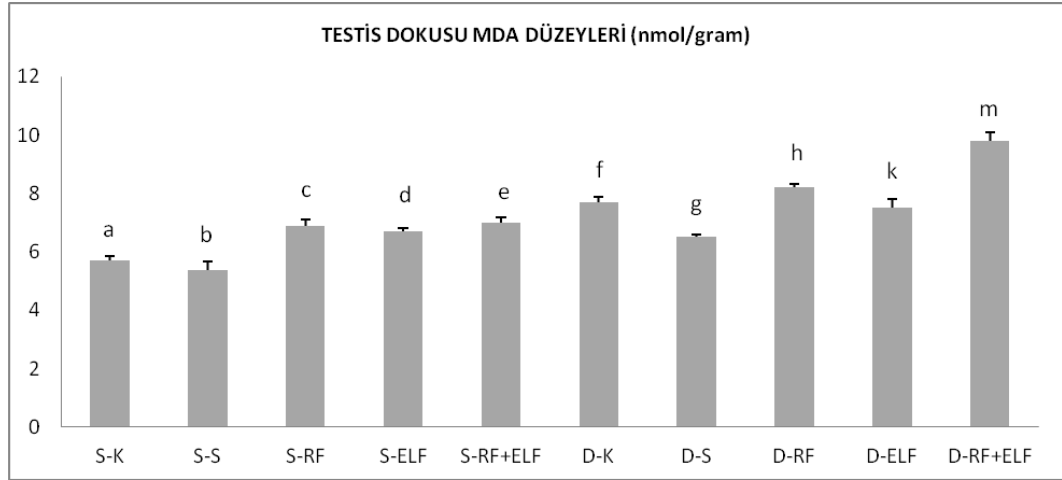
Değerler Ort ± Standart Hata olarak verildi.

Tablo 10. Tesis Dokusu MDA, NOx ve GSH verilerinin istatistik özeti

Gruplar		S-S	S-RF	S-ELF	S-RF+ELF	D-K	D-S	D-RF	D-ELF	D-RF+ELF
S-K	MDA	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	NOx	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	GSH	-	+	-	+	+	+	+	+	+
S-S	MDA		+	+	+	+	+	+	+	+
	NOx		+	+	+	+	+	+	+	+
	GSH		-	-	-	+	+	+	+	+
S-RF	MDA			-	-	+	-	+	-	+
	NOx			+	+	+	+	+	+	+
	GSH			-	-	-	-	+	-	+
S-ELF	MDA				-	+	-	+	+	+
	NOx				+	+	+	+	+	+
	GSH				-	+	+	+	+	+
S-RF+ELF	MDA					-	-	+	-	+
	NOx					-	-	+	+	+
	GSH					-	-	+	-	+
D-K	MDA						+	+	-	+
	NOx						-	+	-	+
	GSH						-	+	-	+
D-S	MDA							+	+	+
	NOx							+	+	+
	GSH							+	-	+
D-RF	MDA								-	+
	NOx								+	+
	GSH								+	-
D-ELF	MDA									+
	NOx									+
	GSH									+

+ : $p < 0.05$ grupların birbirinden farklı olduğunu ifade etmektedir.

- : $p > 0.05$ grupların farkının istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ifade etmektedir.



Şekil 24. Testis dokusu MDA düzeyleri

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

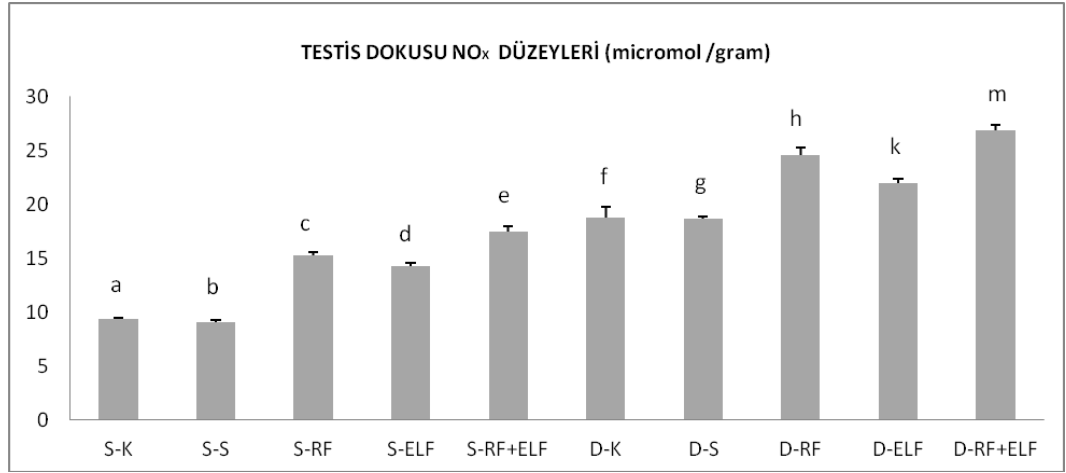
$p < 0.05$: d/f, f/h, g/k ;

$p < 0.01$: a/g, f/g

$p < 0.005$: a/c, a/d, a/e , a/f, a/h, a/k, a/m, b/c, b/d, b/e, b/f, b/g, b/h, b/k, b/m, c/h,

c/m, d/h, d/m, e/h, e/m, f/m, g/h, g/m, h/m, k/m

Sağlıklı gruplarda radyasyon uygulaması doku MDA düzeyini arttırdı. Diyabet yapılan deneklerde kontrollerine göre MDA düzeyleri yüksek bulunurken radyasyon uygulaması bu yükselmeyi daha da belirgin hale getirdi. Doku MDA düzeyindeki en anlamlı artış D-RF+ELF grubunda kaydedildi.



Şekil 25. Testis dokusu NOx düzeyleri

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

$p < 0.05$: h/m

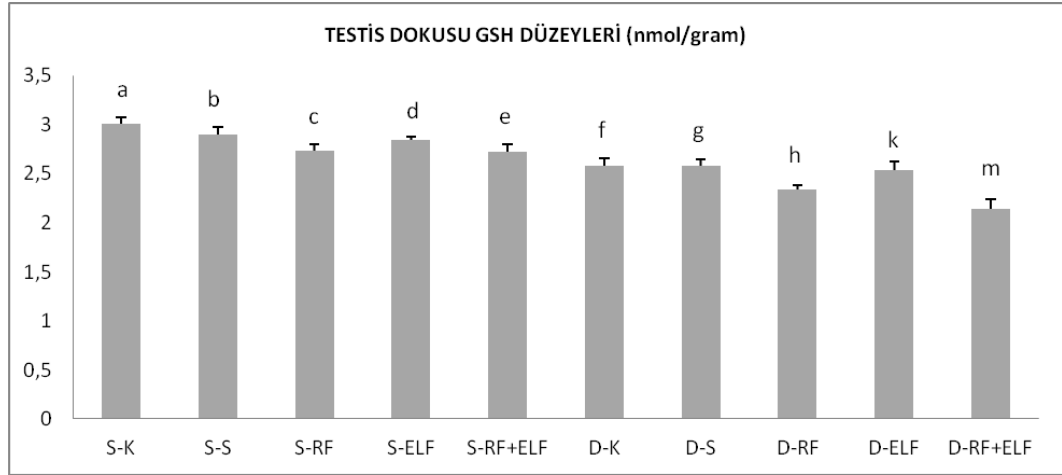
$p < 0.01$: c/e, f/h, c/d, h/k

$p < 0.005$: a/c, a/d; a/e, a/f, a/g, a/h, a/k, a/m, b/c, b/d, b/e, b/f, b/g, b/h, b/k, b/m,

c/f, c/g, c/h, c/k, c/m, d/e, d/f, d/g, d/h, d/k, d/m, e/h, e/k, e/m, f/m, g/h,

g/k ; g/m; k/m

Sağlıklı gruplarda radyasyon uygulaması doku NOx düzeyini anlamlı olarak arttırdı. Diyabet yapılan deneklerde kontrollerine göre NOx düzeyleri yüksek bulunurken radyasyon uygulaması bu yükselmeyi daha da belirgin hale getirdi. Doku NOx düzeyindeki en anlamlı artış D-RF+ELF grubunda kaydedildi.



Şekil 26. Testis dokusu GSH düzeyleri

Değerler ort $\pm$ SH olarak verildi.

$p < 0.05$: a/e, b/f, b/g, f/h, h/k, a/c, b/k, d/f, d/g, d/k, f/m, g/h, g/m, k/m

$p < 0.01$: a/f, a/g, a/k, c/m, e/h, e/m

$p < 0.005$: a/h, a/m, b/c, b/e, c/h, d/h, d/m

S-ELF grubu hariç sağlıklı gruplarda radyasyon uygulaması doku GSH düzeyini anlamlı olarak azalttı. Diyabet yapılan deneklerde kontrollerine göre GSH düzeyleri düşük bulundu. Hem diyabet yapıp hem de radyasyon uygulanan gruplarda, kontrollerine göre doku GSH düzeyleri anlamlı olarak düşük tespit edildi. Doku GSH düzeyindeki en belirgin azalma D-RF+ELF grubunda kaydedildi.

5.TARTIŞMA

Günümüzde teknolojinin ilerlemesi ve endüstrileşme ile birlikte hayatımızın hemen hemen her alanında yer alan RF ve ELF Radyasyona maruziyet gittikçe artmaktadır. Bu tür radyasyonların vücuttaki etkileri hakkında yapılan çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte, literatürde RF ve ELF radyasyon maruziyetini aynı anda ve diyabetik denekler üzerinde uygulayan bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda sağlıklı ve diyabetik sıçanlar üzerinde her iki radyasyon uygulamasının yapılarak karşılaştırılması literatüre ışık tutması açısından önem arz etmektedir.

ELF radyasyon, 0-300 Hz aralığında değişmektedir. Yaşadığımız mekanlardaki elektronik cihazlarda kullandığımız şehir cereyanı (50 Hz) alanları ELF (Extremely Low Frequency-Oldukça Düşük Frekans) aralığına girmektedir. Çalışmamızda erkek sıçanlara 1 ay boyunca, 20 dk/5 gün/1 hafta 50 Hz - 8.2 mT ELF manyetik alan maruziyeti yaptık. Sağlıklı sıçanların maruziyet gruplarında testis dokusunda MDA ve NO_x düzeylerinde artış, GSH düzeylerinde azalma olduğunu gördük.

Araştırmalarımız literatürde 50 Hz ELF radyasyon uygulaması yapan çalışmaların oldukça kısıtlı sayıda olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalar, 50 Hz ELF radyasyonun canlılarda üreme sistemi üzerinde olumsuz etkiler yaptığı yönündeki sonuçlarıyla bizim çalışmamızı desteklemektedir. De Vita Re ve arkadaşları, farelere 28 gün boyunca 1.7 mT , 50Hz ELF radyasyonu günde 2 ve 4 saat olmak üzere iki farklı sürede uygulamışlar, günde 2 saat uygulama yapılan

grubun spermatidlerinde bir değişme olmazken, günde 4 saat uygulama yapılan grubun spermatidlerinde belirgin azalma tespit etmişlerdir (147).

Seyhan N. ve Güler G. kobayları 1,3,5,7 ve 10 gün süreyle, günde 8 saat 50 Hz, 1,35 kV/m radyasyona maruz bıraktıkları çalışmalarında böbrek, akciğer, karaciğer dokusu ve plazma da MDA, SOD düzeylerinin 3. 5.ve 7.günde yaklaşık 2 kat arttığını, uygulamanın 10. gününde ise artışın yaklaşık 3 katına çıktığını görmüşlerdir(148).Yapılan bu çalışmalar biyolojik sistemlerdeki olumsuz etkilerin maruziyet süresine göre de değişebileceğini göstermektedir.

RF ise televizyon ve radyo yayıncılığının yanı sıra cep telefonu ve baz istasyonlarında, radar sistemlerinde, diatermi MRI gibi tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır. On elektron volt (eV)' dan düşük enerjilere sahip fotonlar Non-İyonize olarak tanımlanır. Dolayısıyla RF radyasyon, enerjilerinin 10 eV'dan düşük olması nedeniyle Non-İyonize radyasyon olarak tanımlanmaktadır. RF için frekans aralığı 3×10^3 - 1×10^9 Hz dir. Çalışmamızda 1 ay boyunca 20 dk/5 gün/1 hafta 2100 MHz frekansa, 17.25 V/m elektrik alan şiddetine ve 0.23 W/kg SAR değerine sahip RF elektromanyetik alan maruziyeti yaptığımız gruplarda hem sağlıklı hem diyabetik sıçanlarda testis dokusunda MDA ve NOx düzeylerinde artma, GSH düzeylerinde ise azalma tespit ettik.

Literatürdeki çalışmalara baktığımızda, RF radyasyona maruziyet, süresi ile de korele olarak, testiste oksidan stresi arttırdığı, antioksidan kapasiteyi azalttığı ifade edilmektedir (98,149-152). Örneğin Mailankot ve arkadaşları 0.9/1.8 GHz radyasyonu 28 gün boyunca her gün 1 saat uyguladıkları sıçanlarda testis dokusunda GSH düzeyleri azaldığını ve lipid peroksidasyonu arttığını ifade

etmişlerdir (98). Bir başka çalışmada da yenidoğan sıçanlar 6 hafta süreyle günde 60 dk olacak şekilde 2.45 GHz (Wi-Fi), 900 MHz ve 1800 MHz (mobile phone) ye maruz bırakılmış 4, 5 ve 6. haftanın sonunda böbrek ve testis dokusu örneklerinde GSH, Glutasyon Peroksidaz ve total antioksidan kapasitede azalma, lipid peroksidasyonunda artma tespit edilmiştir (99) .

Benzer bu çalışmaların sonuçları bulgularımızı destekler niteliktedir.

Tas ve arkadaşları sıçanları 1 yıl boyunca günde 3 saat 900 MHz RF radyasyona maruz bıraktıkları çalışmalarında, histopatolojik olarak spermatogenezin önemli ölçüde azaldığını, tunica albugineanın ise önemli ölçüde incelendiğini görmüşlerdir. Testis, epididim, prostat ve veziküloseminalis ağırlıklarının değişmediğini, sperm konsantrasyonu ve motilitesinde ise istatistiksel olarak bir fark olmadığını belirtmişlerdir (153). Yine bir başka çalışmada 1900 MHz RF radyasyon 14 gün boyunca 60 dk uygulandığında, seminifer tubul çapında genişleme, bazı spermatogenik çekirdeklerde karyomegali ve spermatozoa olmayan seminifer tubullerde dejenerasyon görüldüğü ifade edilmektedir (149).

Mailankot ve arkadaşları da çalışmalarında sıçanlara 28 gün boyunca 1 saat/gün 0.9/1.8 GHz (GSM) lik radyasyon uygulaması yaptıktan sonra kontrol grubu ve uygulama grubu arasında total sperm miktarında fark bulamazken, olgun sperm miktarının uygulama grubunda yaklaşık %40 azaldığını tespit etmişlerdir (150).

Çalışmamızda direk olarak testis fonksiyonlarında bozulmayı gösteren parametrelere ilişkin bir araştırmamız olmamasına karşın literatürle uyumlu

olarak ELF ve RF maruziyeti ile artan oksidan stres ve azalan antioksidan düzeyi bize dolaylı olarak testis fonksiyonlarının da olumsuz etkilendiğini düşündürmektedir. Literatürde direk testis fonksiyonlarına yönelik yapılan çalışmalarda bu düşüncemizi desteklemektedir.

Günümüzde giderek sıklığı artan, metabolik bir bozukluk olan diyabetin komplikasyonlarının çoğundan artmış oksidan stres ve azalmış antioksidan kapasite sorumlu tutulmaktadır. Lipitler , proteinler ve nükleik asitlerle etkileşen serbest radikaller membranların bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır (101-105).

Literatürdeki bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda sıçanlarda diyabet modeli oluşturmak amacıyla tek doz 65 mg/kg STZ uygulaması yapıldı ve 72 saat sonra AKŞ' i 250 mg/dl 'nin üzerinde olan denekler diyabetik olarak kabul edildi (154,155,156). Diyabet oluşumundan sonra 4 haftalık süreçte diyabetin stabilizasyonunun sağlanması için beklendi. Sonraki 4 haftada RF, ELF ve RF+ELF radyasyon uygulaması yapıldı. Çalışma boyunca diyabetin semptomlarından hiperglisemi ve hiperglisemiye bağlı semptomlardan, polidipsi, poliüri ve beden ağırlığında azalmayı literatürle uyumlu olarak biz de deneklerimizde gözlemledik (156,157,158,159).

Yine diyabetik deneklerimizde testis dokusunda oksidan stresin arttığını, buna karşılık antioksidan savunmanın azaldığını belirledik. Rambir Singh ve arkadaşları çalışmalarında i.p. 75 mg/kg STZ ile diyabet oluşturdukları sıçanlarda testis dokusu MDA düzeylerinde artma , SOD, CAT, GP_x, glutathione-S-transferase (GST), Glutatyon Reduktaz (GR) ,GSH ve protein seviyeleri azalma

olduğunu ifade etmişlerdir (160). Zhao ve arkadaşları da sıçanlara 50 mg/kg STZ induksiyonu ile diyabet modeli oluşturmuşlar, diyabetin başlangıcından 2 ay sonra testis dokusunda apoptotik hücre sayısını artarken, SOD, TSH ve LH'nin azaldığını tespit etmişlerdir (161).

Diyabet kronik metabolik bir hastalık olup canlıların üreme sistemlerinde, direkt üreme fonksiyonları üzerinde olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Zhao ve arkadaşları 12 haftalık diyabetik sıçanlarda LH ve FSH'nin azaldığını, serum testosteronunda ise bu azalmanın %50'den fazla olduğunu belirtmişlerdir (162).

Bir başka çalışmada da diyabetik sıçanlarda ,serum testosteron seviyelerinin STZ enjeksiyonunu takip eden 14. günde daha fazla olmak üzere 7. ve 14. günde kontrole göre azaldığı, MDA seviyelerinin 5. günden itibaren arttığı. SOD, Katalaz ve GP_x seviyelerinin ise özellikle 14. günden itibaren hızla azaldığı ifade edilmektedir (163). Çalışmamızda diyabetik sıçanlarda testis dokusunda MDA ve NO_x düzeylerinde kontrole göre artma, GSH düzeylerinde ise azalma tespit ettik. Diyabetik deneklerde gördüğümüz bu artış ve azalma yalnız sağlıklı kontrollere göre değil, aynı zamanda RF ve ELF radyasyon uygulanan gruplara göre de anlamlı düzeyde idi. Elde ettiğimiz bu bulgular diyabetin tek başına seçtiğimiz aralıktaki radyasyon maruziyetinden daha etkili olarak dokuda oksidan strese neden olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda hormon düzeyleri veya histopatolojik inceleme yapılmamakla birlikte benzer çalışmalardan da yola çıkarak testis dokusunda diyabete bağlı olarak artan oksidan stresin üreme fonksiyonlarında olumsuz etkiliyebileceğini düşünmekteyiz.

Literatürde diyabetlerde RF veya ELF radyasyon maruziyetinin herhangi bir dokuda etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlayamadık. Bu nedenle diyabetik deneklerimizdeki radyasyon maruziyeti sonucu elde ettiğimiz veriler bu alanda yapılan ilk çalışmanın sonuçları olması açısından önem arz etmektedir. Çalışmamızda diyabetik deneklere gerek RF gerekse ELF radyasyon uygulaması testis dokusunda MDA ve NOx düzeylerinde artma, GSH düzeylerinde ise azalmaya neden oldu. En belirgin etki ise hem diyabetik hem de RF ve ELF radyasyonun birlikte uygulandığı grupta görüldü. Bu sonuç bize diyabetik deneklerin, sağlıklı deneklere göre radyasyondan daha fazla olumsuz yönde etkilendiğini göstermektedir.

6.SONUÇ

1 ay süreyle, 2100 MHz frekansta, 17.25 V/m elektrik alan şiddetine ve 0.23 W/kg SAR değerine sahip RF elektromanyetik alan ve 50 Hz - 8.2 mT ELF manyetik alan maruziyetinin diyabetik ve nondiyabetik sıçanların testis dokusunda, oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkilerini araştırdık. Her iki radyasyon uygulaması diyabetik deneklerde çok daha belirgin olmak üzere testis dokusunda oksidan stresi arttırırken, antioksidan düzeyinde azalmaya neden olduğunu gördük. Direk olarak üreme fonksiyonları üzerindeki etkileri bakılmamakla birlikte, RF ve ELF radyasyonun bu yöndeki olumsuz etkilerini gösteren çalışmaların da ışığında, testis dokusunda oksidan stresin artması ve antioksidan savunmanın azalmasına ilişkin sonuçlarımız deneklerimizde üreme fonksiyonlarının da olumsuz etkilendiğini

düşündürmektedir. Diyabetik deneklerdeki bulgularımız, ELF ve RF radyasyonun üreme sistemi üzerinde olumsuz etkilerinin çok daha fazla olabileceği yönündedir.

Çalışmamızdaki veriler ve literatür incelendiğinde ELF ve RF radyasyonun özellikle yüksek hassasiyete sahip diyabetik bireylerde üreme sistemi üzerindeki etkilerini açıklayan daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1) Seyhan N. Elektromanyetik Kirlilik ve Sağlığımız. Nöropsikiyatri Arşivi. 2010 ; 47:158–61) .
- 2) L M Tierney, S J McPhee, M A Papadakis (2002). Current medical Diagnosis & Treatment. International edition. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill. ss. 1203–1215.)
- 3) Mailloux, Lionel (2007-02-13). "UpToDate Dialysis in diabetic nephropathy". UpToDate. <http://patients.uptodate.com/topic.asp?file=dialysis/15147.>)
- 4) Giancoli DC. Elements of Physics, New Jersey, Prentice Hall Inc,1985.
- 5) Mount Holyoke Collage web site [online]. 2008 [cited 2008 Feb 8] Available from: URL:http://www.mtholyoke.edu/~mlyount/MySites/Pictures/e_mag.JPG
- 6) Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC-International Agency for Research on Cancer) web sitesi [online]. 2008 [cited 2008 Feb 8] Available from: URL: <http://www.iarc.fr/>
- 7) EMF NET – Fact Sheet on Epidemiological studies on mobile telephone exposure and brain Cancer, March 1, 2007, [online]. 2008 [cited 2008 Feb 8] Available from: URL: <http://web.jrc.ec.europa.eu/emf-et/doc/EFRTDocuments/EMFNET%20EFRT%20EPI%20Mobiles%20brain%20cancer%2001MAR2007.pdf> .
- 8) Polk C, Postow E. Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, 2nd ed, Florida, USA, CRC Press, 1996.

- 9) Michaelson SM, Lin JC. Biological Effects and Health Implications of Radiofrequency Radiation, New York, Plenum Press, 1987.
- 10) Repacholi M. Low level exposure to RF electromagnetic fields: Health effects and research needs. Bioelectromag. 1998; 19: 1–19.
- 11) Suess MJ, Benwell-Morison DA. Non-Ionizing Radiation Protection, 2nd ed, Geneva, WHO, 1989.
- 12) Telekomünikasyon Kurumu web sayfası [online]. 2008 [cited 2008 Feb 8] Available from: URL: www.tk.gov.tr
- 13) Rio Çevre ve Gelişme Deklarasyonu – Madde 15 - The Rio Declaration on Environment and Development, 1992 - Principle 15 [online]. 2008 [cited 2008 Feb 8] Available from:
URL:<http://www.unep.org/Documents.Multilingual/Default.asp?DocumentID=78&ArticleID=1163>
- 14) Avrupa Birliği Antlaşması – Maastricht Antlaşması - Treaty on European Union (Maastricht Treaty), 1992 [online]. 2008 [cited 2008 Feb 8] Available from: URL:
<http://www.eurotreaties.com/maastrichtec.pdf>
- 15) Wingspread Raporu - Wingspread Statement [online]. 2008 [cited 2008 Feb 8] Available from: URL: <http://www.gdrc.org/ugov/precaution-3.html>
- 16) Demsia G, Vlastos D, Matthopoulos DP. Effect of 910 MHz Electromagnetic Field on Rat Bone Marrow. The Scientific Journal. 2004; 4(S2): 48–54.

- 17) Markova E, Hillert L, Malmgren L, Persson BR, Belyaev IY. Microwaves from GSM mobile telephones affect 53BP1 and gamma-H2AX foci in human lymphocytes from hypersensitive and healthy persons. *Environ Health Perspect.* 2005;113(9):1172–7.
- 18) Maes A, Collier M, Verschaeve L. Cytogenetic effects of 900 MHz (GSM) microwaves on human lymphocytes. *Bioelectromagnetics.* 2001;22(2): 91–6.
- 19) Capri M, Scarcela E, Bianchi E, Fumelli C, Mesirca P, Agostini C, Remondini D, Schuderer J, Kuster N, Franceschi C, Bersani F. 1800 MHz radiofrequency (mobile phones, different Global System for Mobile communication modulations) does not affect apoptosis and heat shock protein 70 level in peripheral blood mononuclear cells from young and old donors. *Int J Radiat Biol.* 2004; 80(6): 389–97.
- 20) Heynick LN, Merritt JH. Radiofrequency fields and teratogenesis. *Bioelectromagnetics*, 2003; 6: 174–86.
- 21) Larsen AL, Olsen J, Svane O, Gender. Specific Reproductive Outcome And Exposure To High Frequency Electromagnetic Radiation Among Physiotheropists. *Scand J Work Environ Health*, 1991; 17: 324–329.
- 22) Lebovitz RM, Johnson L, Samson WK. Effects of pulse modulated microwave radiation and conventional heating on sperm production. *J.Appl. Physiol.* 1987; 62(1): 245–52.

- 23) Forgacs Z, Kubinyi G, Sinay G, Bakos J, Hudak A, Surjan A, Revesz C, Thuroczy G. Effects of 1800 MHz GSM-like exposure on the gonadal function and hematological parameters of male mice, *Magy Onkol.* 2005; 49: 149–51.
- 24) Berman E, Carter HB, House D. Tests Of Mutagenesis and Reproduction in Male Rats Exposed to 2,450 MHz (CW) Microwaves. *Bioelectromagnetics.* 1980; 1(1): 65–76.
- 25) Yan SW, Zhang N, Tang J, Lu HO, Wang XL. Long-term exposure to low intensity microwave radiation affects male reproductivity *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2007; 13(4): 306–8. Chinese.
- 26) Lahkola A, Auvinen A, Raitanen J, Schoemaker MJ, Christensen HC, Feychting M, Johansen C, Klaeboe L, Lonn S, Swerdlow AJ, Tynes T, Salminen T. Mobile phone use and risk of glioma in 5 North European Countries. *Int J Cancer.* 2007; 120 (8): 1769–75.
- 27) Clearly SM, Liu, LM, Merchant RE. Glioma Proliferation Modulated in-vitro by Isothermal Radiofrequency Radiation Exposure. *Radiation Research.* 1990; 121: 38–45.
- 28) Chou CK, Guy AW, Kunz LL, Johnson RB, Crowley JJ, Krupp JH. Long-term, low- level microwave irradiation of rats. *Bioelectromagnetics.* 1992; 13: 469–496.
- 29) Diem E, Schwartz C, Adlkofer F, Jahn O, Rudiger H. Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation (1800 MHz) in human fibroblasts and in transformed GFSH-R17 rat granulosa cells in vitro. *Division of Occupational*

Medicine, Medical University of Vienna, Waehringer Guertel 18–20, Vienna 1090, Austria.

30) Roszkowski W, Wrembel JK, Roszkowski K, Janiak M, Szmigielski S. The search for an influence of whole body microwave hyperthermia on anti tumor immunity. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1980; 96: 311–7.

31) Makar VR, Logani MK, Bhanushali A, Kataoka M, Ziskin MC. Effect of millimeter waves on natural killer cell activation. *Bioelectromagnetics.* 2005; 26(1):10–9.

32) Smialowichz RJ, Weil CM, Kinn JB, Elder JA. Exposure of rats to 425 MHz (CW) radiofrequency radiation: effects on lymphocytes. *J. Microwave Power.* 1982; 17: 211–21.

33) Czerska EM, Elson EC, Davis CC, Swicord ML, Czerski P. Effects of continuous and pulsed 2450 MHz radiation of spontaneous lymphoblastoid transformation on human lymphocytes in vitro. *Bioelectromagnetics.* 1992; 13: 247–59.

34) Sulek K, Schlagel CJ, Wiktor-Jedrzecjak W, Ho HS, Leach WM, Ahmed A, Woody JN. Biologic effects of microwave exposure, I. Threshold conditions for the induction of the increase in complement positive (CR+) mouse spleen cells following exposure to 2450 MHz microwaves. *Radiation Research.* 1987; 83: 127–37.

- 35)Liburdy RP. Radiofrequency radiation alters the immune system. II. Modulation of in vivo lymphocyte circulation. *Radiation Research*. 1980; 83: 66–73.
- 36)Gilligan P, Somerville S, Ennis JT. GSM cell phones can interfere with ionizing radiation dose monitoring equipment. *The British Journal of Radiology*. 2000; 73: 994–98.
- 37)Wallin MKEB, Marve T, Hakansson PK. Modern Wireless Telecommunication Technologies and Their Electromagnetic Compatibility with Life-Supporting Equipment. *Anesth Analg*. 2005; 101: 1393–1400.
- 38) Sharratt AGK, Coleman J. Mobile telecommunication regulations updated: how safely are doctors telephones used? *Qual Saf Health Care*, 2004.
- 39) Ang GS, Lian P, Ng WS, Whyte I, Ong JM. Digital Mobile Telephones and interference of ophthalmic equipment. *Eye* 2007; 21: 29–32.
- 40) Lapinsky SE, Easty AC. Electromagnetic interference in critical care. *J Crit Care*. 2006; 21(3): 267–70.
- 41) Boyle J. Wireless technologies and patient safety in hospitals. *Telemed J E Health*. 2006; 12(3): 373–82.
- 42) Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. Ganong’un Tıbbi Fizyolojisi. In: Gökbel H, editors. Pankreasın Endokrin İşlevler ve Karbonhidrat metabolizmasının Düzenlenmesi. 23nd ed.İstanbul:Nobel Pres, 2011;322
- 43) Orhan Y. Diabetes mellitus. In: Sencer E, editörs. Endokrinoloji, metabolizma ve beslenme hastalıkları. 1nd ed.İstanbul: Nobel Pres; 2001:246-51.

- 44) Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi. In: Gökbel H, editors. Endokrin İşlevler ve Karbonhidrat metabolizmasının Düzenlenmesi. 23rd ed. İstanbul:Nobel Pres, 2011;333.
- 45)Darby I, Bisucci T, Hewitson TD, MacLellan DG: Apoptosis is increased in a model of diabetes-impaired wound healing in genetically diabetic mice. Int J Biochem Cell Biol 29: 191-200, 1997
- 46)Szkudeński T: The mechanism of Alloxan and Streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res 50:537-46, 2001.
- 47) WilsonGL, Leiter EH: Streptozotocin interactions with pancreatic Bcells and induction of insulin-dependent diabetes. Curr Top Microbiol and Immunol 156:27-54, 1990.
- 48)Delaney C, Dunge A, Di Matteo M, Cunningham JM, Green MH, Green IC: Comparison of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and methanesulphonates. Lack of correlation with nitric-oxide release or O6- alkylating ability.Biochem Pharmacol 50 : 2015-20, 1995.
- 49)Kohl C, Ravel D, Girard J, Pegorier JP: Effects of Benfluorex on Fatty Acid and Glucose Metabolism in Isolated Rat Hepatocytes, Diabetes, 51: 2363-68 (2002)
- 50) Nukatsuka M, Yoshimura Y, Nishida M, Kawada J. Importance of the concentration of ATP in rat pancreatic beta cells in the mechanism of streptozotocin-induced cytotoxicity. J Endocrinol 1990; 127(1): 161-5.

- 51) Turk J, Corbett JA, Ramanadham S, Bohrer A, McDaniel ML: Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun* 197 : 1458-64, 1993.
- 52) Nukatsuka M, Yoshimura Y, Nishida M, Kawada J: Allopurinol protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of streptozotocin : in vitro study. *J Pharmacobiodyn* 13 : 259-62, 1990
- 53) Konrad RJ, Mikolaenko I, Tolar JF, Liu K, Kudlow JE: The potential mechanism of the diabetogenic action of streptozotocin : inhibition of pancreatic β -cell O-GlcNAc-selective N-acetyl- β -glucosaminidase. *Biochem J* 356 : 31-41, 2001
- 54) Park C, Kim JR, Shim JK, Kang BS, Park YG, Nam KS, Lee YC, Kim CH: Inhibitory effects of Streptozotocin, Tumor Necrosis Factor- α , and interleukin-1 β on Glucokinase activity in pancreatic islets and gene expression of GLUT-2 and Glucokinase. *Arch Biochem Biophys* 362 : 217-24, 1999.
- 55) Gajdosik A, Gajdosikova A, Stefek M, Navarova J, Hozova R : Streptozotocin-induced experimental diabetes in male wistar rats. *Gen Physiol Biophys* 18 : 54-62, 1999.
- 56) Türközer Z. Kobaylarda Radyasyon aracılı Oksidatif Streste bir Stres Proteini Olarak Hem Oksijenaz-1 Aktivitesinin ve Bazı Antioksidan Değerlerin İncelenerek Bu Sistem Üzerine N- Asetilsisteinin Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2004.
- 57) Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin* 1993; 49(3): 481–93.

- 58) Davies KJA. Oxidative stress: The paradox of aerobic life. In: Rice-Evans C, Halliwell B, Lung CG, eds. Free radicals and oxidative stress: Environment, Drugs and Food additives. Portland Press, pp1–31; 1994.
- 59) Gutteridge JM, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health and disease. Oxford University Press 1994.
- 60) Aydılek N, Aksakal M. Testesteronun Tavşanlarda Karaciğer Antioksidan Sistemi Üzerine Etkisi. YYÜ. Vet. Fak. Derg. 2003; 14(2): 22–25.
- 61) Eberhardt MK. Reactive Oxygen Metabolites: Chemistry and Medical Consequences. 1st ed. New York: CRC Press; 2000.
- 62) Harman D. The biologic clock: the mitochondria?. J. Am. Geriatr. Soc. 1972; 20:145–147.
- 63) Nohl H, Hegner D. Do Mitochondria Produce Oxygen Radicals in vivo?. Eur. J. Biochem. 1978; 82: 563–567.
- 64) Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. Ann. Intern. Med. 1980; 93: 480–489.
- 65) Nohl H, Breuninger V, Hegner D. Influence of Mitochondrial Radical Formation on Energy-Linked Respiration Eur. J. Biochem. 1978; 90: 385–390.
- 66) Nohl H, Hegner D, Summer KH. Responses of mitochondrial superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities to aging. Mech. Ageing Dev. 1979; 11: 145–151.
- 67) Harman D. The aging process. Proc. Natl. Acad. Sci. 1981; 78(11): 7124–7128.

- 68)Andican ZG. Oksidatif DNA Hasarının Göstergesi olan 8-Hidroksi Deoksiguanozin'in Analiz Yöntemi ve STZ Diabetik Sıçanlara uygulanması. Doktora. İstanbul: İstanbul Üniversitesi; 2000.
- 69)Fridovich I. Superoxide radicals, Superoxide dismutases and the aerobic life style. Photochem. Photobiol. 1978; 28: 733–741.
- 70)Pelle E. Endogenous, ultraviolet B-, and induced oxidative damage in human skin cells. Doctor of Philosophy. New York: New York University; 2002.
- 71)Cross AR, Jones OTG. Enzymic mechanisms of Superoxide production. Biochim. Biophys. Acta 1991; 1057: 281–298.
- 72)Haber F, Weiss J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. Proc. Roy. Soc. (Ser A) 1934; 147: 332–351.
- 73)Stadtman ER, Levine RL. Free radical- mediated oxidation of free aminoacids and amino acid residues in proteins. Amino Acids 2003; 25: 207–218.
- 74)Kayalı R, Çakatay U. Protein Oksidasyonunun Ana Mekanizmaları. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 2004; 35(2): 83–89.
- 75)Cecarini V, Gee J, Fioretti E, Amici M, Angeletti M, Eleuteri AM, Keller JN. Protein oxidation and cellular homeostasis: Emphasis on metabolism. Biochimica et Biophysica Acta 2007; 1773: 93–104.
- 76)Dean RT, Shanlin FU, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. Biochem. J. 1997; 324:1-18.
- 77)Esterbauer H. Lipid peroxidation products; formation, chemical properties and biological activities. In: Poli G, Cheeseman KH, Diamani MV. Slatter TF.(eds), 29–47 Free Radicals in Liver Injury IRL Pres Limited, Oxford, (1985)

- 78)Yuan Q. Modification of biomolecules by lipoxidation derived aldehydes. Doctor of Philosophy. Cleveland, Ohio: Case Western Reserve University; 2006.
- 79)Güney Y. Farklı dozlardaki iyonize radyasyonun kobay beyin dokusunda oksidan ve antioksidan sistemlere etkisi. Doktora Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi tıp fakültesi; 2002
- 80)Lee SH, Blair IA. Characterization of 4-oxo-2-nonenal as a novel product of lipid peroxidation. *Chem. Res. Toxicol.* 2000; 13: 698–702.
- 81)Girotti AW. Mechanisms of lipid peroxidation. *Journal of Free Radicals in Biology and Medicine* 1985; 1: 87–95
- 82)Dizdaroğlu M. Mechanisms of oxidative DNA damage; lesions and their measurement. In: Dizdaroğlu M, Karakaya AE, editors. *Proceedings of a NATO Advanced Study Institute on Advances in DNA Damage and Repair: Oxygen radical effects, cellular protection, and biological consequences.* 1997 October 14–24; Antalya, Turkey. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 1999.
- 83)Cooke MS, Evans MD, Dizdaroğlu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *FASEB J.* 2003; 17: 1195–214.
- 84) Ndebe TS. Oxidative damage in DNA: an exploration of various DNA structures. Doctor of Philosophy. Atlanta, Georgia: Georgia Institute of Technology; 2006
- 85) Auroma OI, Halliwell B, Gajewski E, Dizdaroğlu M. Copper ion dependant damage to the bases in DNA in the presence of DNA. *Biochemical Journal*; 1991: 273:601–604.

- 86) Auroma OI, Halliwell B, Dizdaroğlu M. Iron dependent modification of bases in DNA by superoxide radical generating system hypoxanthine, xanthine oxidase. *Journal of Biological Chemistry* 1989; 264:1324–1328.
- 87) Yasuhara T, Hara K, Sethi KD, Morgan JC, Borlongan CV. Increased 8-OHdG levels in the urine, serum and substantia nigra of hemiparkinsonian rats. *Brain Research* 2007; 1133: 49–52.
- 88) Sato S, Mizuno Y, hattori N. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine levels as a biomarker for progression of Parkinson disease. *Neurology* 2005; 64: 1081–1083.
- 89) Burton GW, Ingold KU. Vitamin E as an in Vitro and in Vivo Antioxidant. *Annals New York Academy of Sciences* 1989; 570: 7-21.
- 90) Sies H. Oxidative stress: From Basic Research to Clinical Application. *Am J Med* 1991; 91: 31-8.
- 91) Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Damage. *Clin Chem* 1995; 41/12: 1819-28.
- 92) The role of glutathione in antioxidant mechanism. Yasemin AKSOY. *T Klin J Med Sci* 2002, 22.
- 93) Meister A. Glutathione Metabolism. *Methods Enzymol* 1995; 251: 3-7.
- 94). Meister A. Selective Modification of Glutathione Metabolism. *Science* 1983; 220: 472-477.
- 95) Challis LJ. Mechanism for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics supplement* 2005; 7: 98–106.

- 96) Yunus Kaan Truvalı. Elektromanyetik dalgalar. Available from:
URL:<http://www.zaferdergisi.com/makale-453-elektromanyetik-dalgalarin.html>.
2002 [cited 2002 April]
- 97) 900 MHz pulse-modulated radiofrequency radiation induces oxidative stress on heart, lung, testis and liver tissues. Esmekaya MA, Ozer C, Seyhan N. General Physiology and Biophysics Vol.30, No.1, p.84–89, 2011.
- 98) Mailankot M, Kunnath AP, Jayalekshmi H, Koduru B, Valsalan R. Radio Frequency Electromagnetic Radiation (RF-EMR) from GSM (0.9/1.8GHZ) Mobile Phones Induces Oxidative Stress and Reduces Sperm Motility in Rats.Clinics 2009; 64(6); 561-5.
- 99) Özorak A, Nazıroğlu M, Çelik Ö, Yüksel M, Özçelik D, Özkaya MO et al. 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.Springer 2013;156(1-3):221-9.
- 100) İlhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamilsı S, İraz M, Akyol O, et al. Ginkgo biloba prevents mobile phone- induced oxidative stres in rat brain. Clinica Chimica Acta 2004; 340: 153–162.
- 101) Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. Endocrine Reviews 2004; 25: 612-628.
- 102) Memisogulları R, Taysı S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. Cell Biochem Func 2003; 21: 291-296.
- 103) Sacks DB. Diabetes mellitus. In: Burtis CA, Ashwood ER, (Editors). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia: WB Saunders Co 1999; 766-776.

- 104)Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine* 2005; 39: 841-852.
- 105)Memisogullari R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2004; 18: 193-197.
- 106)Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W., et al. Enhanced Serum levels of thiobarbituric acid - reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med* 1995; 98: 469-75.
- 107)Giugliano D, Ceriello A. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes care* 1996; 19: 257-67.
- 108) Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL: Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*. 25: 612–28, 2004.
- 109)Pratic`o D: Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis*. 181: 215–24, 2005.
- 110)Sacks DB: Diabetes Mellitus. In: Burtis CA, Ashwood ER, (Ed). *Tietz Texbook of clinical chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Co: 766-76, 1999.
- 111)Akçay F, Aksoy H, Memişoğulları R: Effect of breast-feeding on concentration of nitric oxide in breast milk. *Ann Clin Biochem*. 39: 68-9, 2002.
- 112)Abou-Seif MA, Youssef A. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta* 346 (2004) 161–70
- 113) Chandrashekar KN, Muralidhara. Evidence of oxidative stress and mitochondrial dysfunctions in the testis of prepubertal diabetic rats. *International journal of impotence research* 2009;21(3):198-206.

- 114)Shrilatha B, Muralidhara. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: Its progression and genotoxic consequences. *Reproductive toxicology* 2007;23(4):578–87.
- 115) Testis. Available from: URL:tr.wikipedia.org/wiki/Testis 2014 [cited 2014 Ekim]
- 116)Gaffari Türk.Marmara eczacılık dergisi. 2013; 17(2):73-92)
- 117)Feng H L, Sandlovv J I, Sparks A E T, Sandra A, Zheng L J. Decreased expression of the c-kit receptor is associated with increased apoptosis in subfertile human testes. *Fertil Steril*, 71:85, 1999.
- 118)Hasueh AJW, Eisenhauer K, Chun SY, Hsu SY, Billig H: Gonadal celi apoptosis. *Rec Prog in Hor Res*, 51: 433, 1996.
- 119) Blanco-Rodriguez J, Garcia Martinez C. Apoptosis partern elicited by several apoptogenic agents on the seminiferous epithelium of the adult rat testis. *JAndrol*. 19:487-497, 1998.
- 120)Kerr J F R, Wyllie A H, Currie A R. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26; 239-45.
- 121)Cohen J J. Overview: Mechanisms of apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14;126-30.
- 122)Korsmeyer S J. Regulators of cell death. *Reviews* 1995: 1; 101-05.
- 123)Shikone T, Billig H, Hsueh A J W. Experimentally induced cryptorchidism increases apoptosis in rat testis. *Biol Repr* 1994: 51; 865-72.

- 124) Socher S A, Yin Y, Dewolf W C. and Morgentaler A. Temperature-mediated germ cell loss in the testis is associated with altered expression of the cell-cycle regulator p53. *J Urol* 1997; 157; 1986
- 125) Hasegawa M, Zhang Y, Niibe H, Terry N H. and Meistrich M.L. Resistance of differentiating spermatogonia to radiation-induced apoptosis and loss in p53-deficient mice. *Radiat Res* 1998; 149; 263.
- 126) Gaffari Türk. Kemoterapötiklerin erkek üreme sistemi üzerindeki yan etkileri ve koruyucu stratejiler. *Marmara eczacılık dergisi*. 2013; 17(2); 73-92.
- 127) Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid Med Cell Longev* 2008;1:15-24.
- 128) Tremellen K. Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 2008;14:243-58.
- 129) Agarwal A, Cocuzza M, Abdelrazik H, Sharma RK. Oxidative stress measurement in patients with male or female factor infertility. In: *Handbook of Chemiluminescent Methods in Oxidative Stress Assessment*. Editors: I Popov, G Lewin. Transworld Research Network, Kerala- India. 2008. pp. 195-218.
- 130) Agarwal A, Sekhon LH. Oxidative stress and antioxidants for idiopathic oligoasthenoteratospermia: Is it justified?. *Indian Journal of Urology* 2011;27:74-85.
- 131) Shi J, Gong Y, Xie GY, Liu HR, Qi MY .Protective effect of total flavonoids of herba epimedii on testis degeneration in diabetic mice. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi* 2013;29(5):428-31.

- 132) Kyathanahalli CN¹, Manjunath MJ, Muralidhara. Oral supplementation of standardized extract of *Withania somnifera* protects against diabetes-induced testicular oxidative impairments in prepubertal rats. *Protoplasma*. 2014;251(5):1021-9.
- 133) Steger RW, Rabe MB. The effect of diabetes mellitus on endocrine and reproductive function. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 214(1):1-11.
- 134) Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985;213:53-62.
- 135) Anderson JE, Thliveris JA. Morphometry and cytochemistry of Leydig cells in experimental diabetes. *Am J Anat* 1987;180(1):41-8.
- 136) Narayana Kilarkaje, Heba Al-Hussaini, Maie M. Al-Bader. Diabetes-induced DNA damage and apoptosis are associated with poly (ADP ribose) polymerase 1 inhibition in the rat testis. *European Journal of Pharmacology* 2014;737;29–40.
- 137) Yongde Xu, Hongen Lei, Ruili Guan, Zhezhu Gao, Huixi Li, Lin Wang et al. Studies on the mechanism of testicular dysfunction in the early stage of a streptozotocin induced diabetic rat model *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2014;450(1);87–92.
- 138) Anderson. J.E. ,Thlivers J.A. :Testicular histology in streptozotocin-induced diabetes. *Anat. Rec.* 1986: 214 (4);378-82.

- 139) Benitez A , Perez D. Effect of streptozotocin diabetes and insulin treatment on regulation of Leydig cell function in the rat. *Hor. Metab. Res.* 1985;17(1); 5-7.
- 140) Oksanen A. : Testicular lesions of streptozotocin diabetic rat. *Hormone Res.* 1975;6: 138-144. .
- 141) Cameron DF. , Murray IT. , Drylie DD. : Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec.* 1985 Sep. 213 (1): 53-62.
- 142) Fushimi H., Horie H, Inoue T et al.: Low testosterone levels in diabetic men and animals: a possible role in testicular impotence. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1989 May 15.6 (4): 297-301.
- 143) Velio Bocci , Iacopo Zanardi , Maya S.P. Huijberts et al. Diabetes and chronic oxidative stress. A perspective based on the possible usefulness of ozone therapy. *Elsevier* 2011;5;45–9.
- 144) Gilbert DL. Fifty years of radical ideas. *Ann. N. Y. Acad. Sci* 2000: 899; 1-14.
- 145) Aykaç G, Uysal M, Yalçın AS, Koçak-Toker N, Sivas A, Öz H. The effects of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats, *Toxicology* 1985;36:71-6.
- 146) Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 2001;5(1);62-71.

- 147) De Vita R, Cavallo D, Raganella L, Eleuteri P, Grollino MG, Calugi A. Effects of 50 Hz magnetic fields on mouse spermatogenesis monitored by flow cytometric analysis. *Bioelectromagnetics* 1995;16(5):330-4.
- 148) Nesrin SEYHAN ve Gökür GÜLER Review of In Vivo Static and ELF Electric Fields Studies Performed at Gazi Biophysics Department. *Electromagnetic Biology and Medicine* 2006;25:307–23.
- 149) Mona Abdullah Al-Damegh. Rat testicular impairment induced by electromagnetic radiation from a conventional cellular telephone and the protective effects of the antioxidants vitamins C and E. *Clinics (Sao Paulo)* 2012; 67(7): 7785–929.
- 150) Maneesh Mailankot, Anil P Kunnath, H Jayalekshmi , Koduru B, Valsalan R. Radio Frequency Electromagnetic Radiation (RF-EMR) from GSM (0.9/1.8GHZ) Mobile Phones Induces Oxidative Stress and Reduces Sperm Motility in Rats. *Clinics (Sao Paulo)* 2009; 64(6): 561–65.
- 151) Meric A. Esmekaya, Cigdem Ozer and Nesrin Seyhan. 900 MHz pulse-modulated radiofrequency radiation induces oxidative stress on heart, lung, testis and liver tissues. *Gen. Physiol. Biophys* 2011: 30; 84–9.
- 152) Halil I. Atasoy , Mehmet Y. Gunal , Pinar Atasoy, Elgun S, Bugdaycı G. Immunohistopathologic demonstration of deleterious effects on growing rat testes of radiofrequency waves emitted from conventional Wi-Fi devices. *Elsevier. Journal of Pediatric Urology* 2013: 9; 223-29.
- 153) Tas M, Dasdag S, Akdag MZ, Cirit U, Yegin K, et al. Long-term effects of 900 MHz radiofrequency radiation emitted from mobile phone on testicular tissue

and epididymal semen quality. Informa healthcare Electromagnetic Biology and Medicine 2013. doi:10.3109/15368378.2013.801850.

154) Ramzy MM, El-Sheikh AA, Kamel MY, Abdelwahab SA, Morsy MA.

Mechanism of testicular protection of carvedilol in streptozotocin-induced diabetic rats. Indian journal of pharmacology 2014: 46(2); 161-5

155) Tunali S, Yanardag R. Protective effect of vanadyl sulfate on skin injury in streptozotocin-induced diabetic rats. Human ve experimental toxicology 2013: 32(11); 1206-12

156) Wang YJ, Xie XS, Feng SG, Long QX . Causes of death in STZ-induced rat models of diabetes mellitus. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2014:45(4);691-5.

157) Giribabu N, Kumar KE, Rekha SS, Muniandy S, Salleh N. *Chlorophytum borivilianum* Root Extract Maintains near Normal Blood Glucose, Insulin and Lipid Profile Levels and Prevents Oxidative Stress in the Pancreas of Streptozotocin-Induced Adult Male Diabetic Rats. International journal of medical sciences 2014: 11(11); 1172-84.

158) Ngubane PS, Hadebe SI, Serumula MR, Musabayane CT. The effects of transdermal insulin treatment of streptozotocin-induced diabetic rats on kidney function and renal expression of glucose transporters. Informa Healthcare 2014:10;1-9.

159) Mohammad Reza Hajizadeh, Ebrahim Eftekhari, Fatemeh Zal, Jafarian A, Mostafavi-Pour Z. Mulberry Leaf Extract Attenuates Oxidative Stress-Mediated

Testosterone Depletion in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Iran J Med Sci 2014; 39(2); 123–29.

160) Rambir Singh, Priyanka Bhardwaj ve Poonam Sharma. Antioxidant and toxicological evaluation of *Cassia sopherain* streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. Pharmacognosy Research 2013; 5(4) ; 225-32.

161) Zhao Y, Zhao H, Zhai X, Dai J, Jiang X, Wang G, et al. Effects of Zn deficiency, antioxidants, and low-dose radiation on diabetic oxidative damage and cell death in the testis. Informa Healthcare. Toxicology Mechanisms and Methods 2013; 23; 42-7.

162) Zhao H, Xu S, Wang Z, Li Y, Guo W, Lin C et al. Repetitive exposures to low-dose X-rays attenuate testicular apoptotic cell death in streptozotocin-induced diabetes rats. Elsevier. Toxicology Letters 2010; 92; 356–64.

163) Kyathanahalli C, Bangalore S, Hanumanthappa K, Muralidhara. Experimental diabetes-induced testicular damage in prepubertal rats . Journal of Diabetes 2014; 6; 48–59.

8. ÖZET

Radyo Frekans Radyasyon (RF) ve Oldukça Düşük Frekanslı Manyetik Alanların (ELF) Diyabetik ve Diyabetik Olmayan Sıçanların Testis Dokusunda Oksidan Stres Üzerine Etkisi

Çalışmamızda RF ve ELF radyasyon maruziyetinin diyabetik ve sağlıklı sıçanlarda testis dokusunda oksidatif stres ve antioksidan düzeyleri üzerine olan etkileri incelemeyi amaçladık. Çalışmada Wistar albino erkek sıçanlar 10 gruba ayrıldı. 1. Sağlıklı-Kontrol , 2. Sağlıklı-Sham 3. Sağlıklı-RF, 4. Sağlıklı-ELF, 5. Sağlıklı-RF+ELF, 6.Diyabetik-Kontrol , 7. Diyabetik-Sham, 8. Diyabetik-RF, 9. Diyabetik-ELF, 10. Diyabetik-RF+ELF. Diyabet; intraperitoneal, tek doz 0.1M (pH:4.5) sitrat tampon içinde çözünen STZ (65 mg/kg) ile yapıldı. 2100 MHz, 17.25 V/m elektrik alan şiddetine ve 0.23 W/kg SAR değerine sahip RF elektromanyetik alan ve 50 Hz - 8.2 mT ELF manyetik alan, 1 ay boyunca, 20 dk/5 gün/1 hafta uygulandı. Denekler uygulamaların sonunda intra-muskuler Rompun (5mg/kg) + Ketamin (45mg/kg) anestezisi altında kalplerinden kan alınarak feda edildi. Deneklerimizde diyabet öncesi, STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra ve uygulama sonrası beden ağırlığı, alınan sıvı ve çıkarılan idrar miktarları ölçüldü. Çalışma sonunda testis dokusunda malondilaldehit (MDA), nitrik oksid (NOx) ve glutatyon (GSH) düzeylerine bakıldı. İstatistiksel analizler SPSS 11.5 programı ile gruplar arası karşılaştırmada Mann-Whitney U Testi, grup içi karşılaştırmada Wilcoxon Signed Ranks ve Friedman Testi ile yapıldı. $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi. Diyabetik sıçanlarda beklenildiği üzere poliüri ve polidipsi görüldü. Radyasyon uygulaması her iki semptomda da azalmaya neden oldu. Sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda ELF ve RF radyasyon; testis dokusunda MDA ve NO_x düzeylerinde artış, GSH düzeylerinde azalmaya neden oldu. En belirgin etki D-RF+ELF grubunda kaydedildi. Her iki radyasyon uygulaması diyabetiklerde çok daha belirgin olarak testiste oksidan stresini arttırırken, antioksidan düzeyinde azalmaya neden oldu. Sonuçlarımız ELF ve RF radyasyonun özellikle diyabetik bireylerde üreme sistemi üzerindeki etkilerini açıklayan daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelime: ELF radyasyon, RF radyasyon, Testis dokusu

9. SUMMARY

Effect of Radio Frequency Radiation and Extremely Low Frequency Magnetic Fields on Oxidant Stress in the Testes Tissues Of Diabetic and Non-Diabetic Rats

In our study, we aimed to examine the effects of RF and ELF radiation exposure on testis tissue in the diabetic and healthy rats via oxidative stress and antioxidant parameters. Wistar male rats were divided into 10 groups; 1. Healthy-Control, 2. Healthy-Sham 3. RF Healthy, 4. ELF Healthy, 5. RF + ELF Healthy, 6. Diabetic-Control, 7. Diabetic-Sham, 8. Diabetic-RF, 9. Diabetic-ELF, 10. Diabetic RF + ELF. Diabetic groups were prepared with administration of intraperitoneal, single dose 0.1 M (pH 4.5) STZ dissolving in citrate buffer (65 mg / kg). RF electromagnetic fields (2100 MHz, 17.25 V / m electric field intensity of 0.23 W / kg SAR) and 50 Hz - 8.2 mT ELF magnetic fields were used as an exposure for 1 month, 20 min / 5 days / 1. Rats were sacrificed under the anesthesia with intra-muscular injection of Rompun (5mg / kg) + ketamine (45mg / kg) and their blood removed from the heart tissues. We measured body weight, received liquid and issued urine in our diabetic animals before being diabetic and after 4 weeks of STZ injection. At the end of biochemical analysis, testicular tissue MDA, GSH and NOx levels were measured. Statistical analyzes were performed with SPSS 11.5 software and inter-group comparisons performed with the Mann-Whitney U test and finally intra-group comparisons were performed by Wilcoxon Signed Ranks and Friedman test. $P < 0.05$ was considered significant. Poly-uria and poly-dipsia as expected in diabetic rats was observed. Irradiation caused a reduction in both symptoms. Healthy and diabetic rats ELF and RF

radiation increase in testicular tissue MDA and NO_x levels and caused a decrease in GSH levels. The most pronounced effect was recorded in D-RF + ELF group. Both irradiation significantly increases oxidative stress in diabetic animals and caused a decrease in antioxidant levels. Our results indicate the need for further ELF and RF radiation studies, describing the effects on the especially reproductive system in diabetic individuals.

Keywords: ELF radiation, RF radiation, testicular tissue

10.ÖZGEÇMİŞ

Adı: Dilek

Soyadı: KUZAY

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara / 25.11.1985

Eğitimi:

Uzmanlık Eğitimi : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ab.D' da

Lisans:Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA, 2006

Lise:Yahya Kemal Beyatlı Lisesi (2002)

Ortaokul: Atatürk İlköğretim Okulu (1999)

İlkokul: 120. Yıl İlkokulu (1996)

Laboratuvar Deneyimleri:

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Merkez Laboratuvarda Biyokimya ve Mikrobiyoloji Bölümünde Staj (2005)

Başlıca Çalışma Konuları :

- Serbest radikaller ve antioksidan sistem
- Diyabet
- Radyofrekans radyasyon
- Oldukça düşük frekanslı mantetik alanlar

Katıldığı Kurslar

- İnsan Reflekslerinin Ölçümü ile Sinir Sistemi Fonksiyonlarının İncelenmesi (Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ab.D.)

- EMG Çalışmalarının Fizyolojik Araştırmalardaki Yeri (Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ab.D.)
- Sıçanlarda Kortikal ve Derin Beyin EEG Kaydı ve Yorumlanması (Ege Üniversitesinde Tıp Fakültesinde Fizyoloji Ab.D.)
- Western Blot Uygulaması (Teorik-Pratik) (Hacettepe Üniversitesinde Tıp Fakültesinde Fizyoloji Ab.D.)
- VIII. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu

Katıldığı Kongreler

- 38.Ulusal Fizyoloji Kongresi (Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi)
- 11. Sinirbilim Kongresi (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi)
- 39.Ulusal Fizyoloji Kongresi (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi)
- 40.Ulusal Fizyoloji Kongresi (Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi)

Poster Sunumları

- **Dilek KUZAY**, Çiğdem ÖZER, Bahriye SIRAV, Nesrin SEYHAN. Radyofrekans radyasyon diyabetik ve normal sıçanlarda böbrek dokusunda oksidan stres üzerine etkisi (40.Ulusal Fizyoloji Kongresi (Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi))
- **Dilek KUZAY**, Çiğdem ÖZER, Bahriye SIRAV, Nesrin SEYHAN. Radyofrekans radyasyon diyabetik ve normal sıçanlarda karaciğer dokusunda oksidan stres üzerine etkisi (39.Ulusal Fizyoloji Kongresi (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi))

- Bahriye SIRAV ARAL, **Dilek KUZAY**, Çiğdem ÖZER, Ayşe CANSEVEN KURŞUN, Nesrin SEYHAN. Çok frekanslı elektromanyetik alanların karaciğer dokusunda etkileri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2014:6 (ISSN 1309-3320) (26. Ulusal Biyofizik Kongresi)
- Bahriye SIRAV ARAL, **Dilek KUZAY**, Çiğdem ÖZER, Ayşe CANSEVEN KURŞUN, Nesrin SEYHAN. Oldukça Düşük frekanslı manyetik alanların diyabetik ve normal sıçanlarda karaciğer dokusunda oksidan stres üzerine etkisi. (Karadeniz Teknik Üniversitesi-25. Ulusal Biyofizik Kongresi)

Sözlü sunumlar

- Sinem BOZKURT, Çiğdem Özer, Lale MERAY, **Dilek KUZAY**. Diz osteoartritinde eksantrik egzersizin yorgunluk, propriyosepsiyon ve oksidatif stres üzerine etkisi. (Ulusal Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kongresi)

(Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisinde yayınlanmıştır.)

Yayın aşamasında olan çalışmalar

- **Dilek Kuzay** , Çiğdem Özer, Bahriye Sirav, Ayşe G. Canseven, Nesrin Seyhan' Extremely Low Frequency Magnetic Field and 2100 MHz GSM Modulated Radio Frequency Radiation induce oxidant damage on testes tissues of diabetic and non-diabetic rats.

(Electromagnetic Biology and Medicine dergisine yayınlanmak üzere gönderildi)

- Neslihan Gurbuz, Bahriye Sirav, **Dilek Kuzay**, Cigdem Ozer, Nesrin Seyhan

Does Radio Frequency Radiation induce micronuclei frequency in exfoliated bladder cells of diabetic rats?

(Asian Pacific Journal of Cancer Prevention dergisine yayınlanmak üzere gönderildi)

Yazım aşamasında olan çalışmalar

- Sinem BOZKURT, Çiğdem ÖZER, Lale MERAY, **Dilek KUZAY**. Diz osteoartritinde eksantrik egzersizin yorgunluk, propriyosepsiyon ve oksidatif stres üzerine etkisi.