

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**50 HZ ELEKTRİK ALANIN BEYİN DOKUSUNDA OLUŞTURDUĞU
ETKİLERİN İMMUNOHİSTOKİMYASAL, KAN DOKUSUNDA
OLUŞTURDUĞU ETKİLERİN İSE BİYOKİMYASAL, FİZYOLOJİK VE
COMET YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Erşan KAYA

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nurgül ŞENOL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2018



©2018 [Erşan KAYA]

TEZ ONAYI

Erşan KAYA tarafından hazırlanan "50 Hz Elektrik Alanın Beyin Dokusunda Oluşturduğu Etkilerin İmmunohistokimyasal, Kan Dokusunda Oluşturduğu Etkilerin ise Biyokimyasal, Fizyolojik ve Comet Yöntemi ile Değerlendirilmesi " adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Nurgül ŞENOL
Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi

Doç. Doç. Dr. Serdal ÖĞÜT
Adnan Menderes Üniversitesi

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Emel DEMİRBAĞ
Süleyman Demirel Üniversitesi

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Yasin TUNCER

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans göstererek tezde yer aldığını beyan ederim.

Ersan KAYA



İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
2.1. Elektromanyetik ve Temel Kavramlar	6
2.1.1. Elektriksel Alan	6
2.1.2. Manyetik Alan	7
2.1.3. Elektromanyetik Alan	7
2.1.4. Radyasyon.....	7
2.2. Elektrik ve Elektromanyetik Alanın Biyolojik Etkileri.....	8
2.3. Apoptoz ve Nekroz.....	12
2.3.1. Apoptoz ve Nekroz Arasındaki Farklar	12
2.3.2. Apoptoz ve Fagositoz.....	13
2.4. Antioksidanlar	14
2.4.1. Juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon)	18
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER	21
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar	21
3.2. EA Oluşturulması.....	21
3.3. Vücut Ağırlıkları.....	24
3.4. Vücut Isısı	24
3.5. Kan Örneklerinin Alınması.....	24
3.6. Doku Örneklerinin Hazırlanması.....	25
3.7. Histopatolojik İncelemeler	25
3.8. İmmünohistokimyasal İncelemeler.....	25
3.9. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini.....	26
3.9.1. Slaytların hazırlanması	27
3.9.2. Hücrelerin jele gömülmesi.....	27
3.9.3. Lizis aşaması.....	27
3.9.4. Elektroforez tamponu.....	27
3.9.5. Elektroforez	28
3.9.6. Nötralizasyon	28
3.9.7. Boyama.....	28
3.9.8. Değerlendirme	28
3.10. Oksidan ve Antioksidan Enzim Yöntemleri.....	29
3.10.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Saptanması.....	29
3.10.1.1. MDA ölçümü için kullanılan reaktifler	29
3.10.1.2. Dokuda protein tayini.....	29
3.10.1.3. Protein ölçümü için kullanılan reaktifler	30
3.10.2. Katalaz (CAT) düzeyinin saptanması	30
3.10.2.1. CAT ölçümü için kullanılan reaktifler	30
3.10.3. Süperoksit Dismutaz Düzeyinin (SOD) saptanması.....	30

3.10.3.1. SOD ölçümü için kullanılan reaktifler	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	32
4.1. Vücut Ağırlık Ölçüm Sonuçları.....	32
4.2. Vücut Isısı Ölçüm Sonuçları	33
4.3. Biyokimyasal Bulgular	33
4.4. Tam Kan Bulguları	34
4.5. Histopatolojik Bulgular	35
4.6. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	38
4.7. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini Bulguları	42
4.8. Oksidan ve Antioksidan Bulguları.....	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	46
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ.....	61



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

50 HZ ELEKTRİK ALANIN BEYİN DOKUSUNDA OLUŞTURDUĞU ETKİLERİN İMMUNOHİSTOKİMYASAL, KAN DOKUSUNDA OLUŞTURDUĞU ETKİLERİN İSE BİYOKİMYASAL, FİZYOLOJİK VE COMET YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Erşan KAYA

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nurgül ŞENOL

Çalışmamızda Wistar-Albino cinsi erkek ratlara uygulanan 50 Hz (10 kV/s) elektrik alanının(EA) beyin dokusunda oluşturduğu etkilerin ve bu etkileri azaltmak için uygulanan antioksidan juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon)'un olumlu etkisinin immunohistokimyasal, kan dokusunda oluşturduğu etkilerin ise biyokimyasal, fizyolojik ve comet yöntemi ile değerlendirilmesi amaçlandı. Bu çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda (HADYEK) yetiştirilen ergin erkek Wistar-Albino türü ratlar kullanıldı. Denekler rastgele 3 gruba ayrıldı (n=8). Grup I; kontrol, Grup II; 50 Hz elektrik alan, Grup III; 50 Hz elektrik alan + Antoksidan (juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon)/300 ppm), her gruba 30 gün boyunca günlük tek seferde gavaj yöntemi uygulandı. Deney sonunda ratların beyin dokuları çıkartıldı ve rutin histolojik takipler yapıldıktan sonra histolojik boyama ve immunohistokimyasal yöntem uygulandı. Histopatolojik değerlendirmelerde elektrik alan grubu beyin dokusunda anlamlı derecede hasar saptandı. İmmunohistokimyasal değerlendirmelerde ise gruplar arası anlamlı farklılığı belirlemek için non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis yöntemi uygulandı. Buna göre gruplar arası farklılık anlamlı tespit edildi (p<0.05). Bu anlamlı farklılık EA grubundan kaynaklanırken, EA+Juglon grubu ile Kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi. Kaspaz 3 ve tnf- α immun pozitif hücre yoğunluğu kıyaslandığında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Toplam comet skoru açısından gruplar arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.001). Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; kontrol grubu ile elektrik alan grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ve elektrik alan grubunda comet skoru artmıştır (p=0.001), juglon grubunda comet skoru kontrol grubuna göre azalmış olsa da, fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0.05). Juglon grubu ile elektrik alan grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ve juglon grubunda comet skorunda azalma tespit edilmiştir (p=0.001). Kandaki antioksidan parametrelerini belirlemek için değerlendirilen MDA, CAT aktivitelerindeki değişiklik gruplar arasında anlamlı bulunmazken, elektrik alan grubundaki SOD aktivitesindeki artıştan kaynaklanan gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kandaki Glukoz, ALT, Direkt Bilirubin, BUN biyokimyasal parametrelerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (p>0.05). Üre, AST ve İndirekt bilirubin biyokimyasal parametreleri ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu, bu farklılığın EA grubundaki artıştan kaynaklandığı belirlenmiştir (p<0.05). Tam kan parametrelerinde, gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimler: 50 Hz, Elektrik Alan, Beyin, Kan, Doku

2018, 60 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

EVALUATION OF THE EFFECTS OF 50 HZ ELECTRIC FIELD ON BRAIN TISSUE BY IMMUNOHISTOCHEMICAL, ON BLOOD TISSUE BY BIOCHEMICAL, PHYSIOLOGICAL AND COMET METHOD

Erşan KAYA

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Nurgül ŞENOL

The aim of this study was to evaluate the possible effects of 50 Hz electric field (EF) on the brain tissue and positive effect of juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon) which has antioxidant property by immunohistochemical technique of male Wistar-Albino rats. The effects on blood tissue was also examined using biochemical, physiological and comet methods. Animals were randomly divided into three groups (8 in each group); group I: control, group II: electric field, group III: 50 Hz electric field+ juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon)/300 ppm. Each group was performed one juglone application per day by gavage during 30 days. At the end of the thirty day, the animals were sacrificed and brain tissue was subjected to routine histologic and immunohistochemical processes. As a result of histopathological examination; the brain tissue of 50 Hz electric field exposure rats showed severe histopathological changes. To evaluate of immunohistochemical process results Kruskal-Wallis was used and there was a significant ($p < 0.05$) differences were detected between groups. While this significant difference was due to the EA group, it was determined that there was no significant difference between the EA+Juglon group and the Control group. When compare to caspase 3 and $\text{tnf-}\alpha$ immunoreactive cell density; there wasn't observed any difference. The difference between groups was statistically significant according to total comet score ($p = 0.001$). In comparison between the groups; the difference between the control group and the electric field group was statistically significant and the comet score in the electric field group was increased ($p = 0.001$), although the comet score in the juglone group was lower than the control group, the difference was not statistically significant ($p > 0.05$). It was found that the comet score was reduced in the juglone group and the difference between the juglone group and the electric field group was statistically significant ($p = 0.001$). Assessed to determine antioxidant parameters on the blood, although increasing in SOD activity in electric field group was found significant among all of the groups, we did not find significant differences in MDA, CAT activity level. Also there was no significant differences in glucose, ALT, Direct Bilirubin and BUN levels in blood between groups ($p > 0.05$). Urea, AST, and indirect bilirubin biochemical parameters were found to be significantly different among the groups, and this difference was determined to be due to the increase in the EA group. In our whole blood parameters, no statistically significant difference was observed between the groups.

Keywords: 50 Hz, Electric Field, Brain, Blood, Tissue

2018, 60 pages

TEŞEKKÜR







Yüksek lisans öğrenimim süresince akademik olarak yetişmemde büyük emekleri olan, engin bilgi ve tecrübeleriyle gerek bilimsel gerekse sosyal olarak çok şeyler öğrendiğim, zor anlarımda yanımda olan ve beni her an destekleyen ve doğruya yönlendiren, değerli ve saygıdeğer danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Nurgül ŞENOL'a, deney düzeniğinin hazırlanmasında yardımcı olan Prof. Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ ve Doç. Dr. Özlem ÇOŞKUN'a, tam kan ve biyokimya numulerinin alınmasında ve Comet Analizi çalışmasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Rahime ASLANKOÇ'a teşekkür ederim.

Erşan KAYA
ISPARTA, 2018



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. Sıçanlara uygulanan maruziyet düzeneği.....	21
Şekil 3.2. Elektrik alan deney düzeneği.....	23
Şekil 4.5.1. Grupların Nöron Sayılarının İstatiksel Grafiği.....	35
Şekil 4.2. Elektrik alan grubunda nöronlar, Luxol fast blue-cresyl violet boyaması, X40	36
Şekil 4.3. a. Elektrik alan+Juglon grubunda nöronlar, b. Kontrol grubunda nöronlar, Luxol fast blue-cresyl violet, X40	37
Şekil 4.4. Grupların Kaspaz-3 ve tnf- α immun pozitif hücre yoğunluğunu grafiği.....	38
Şekil 4.5. a,b, c, d,e,f: Elektrik alan grubunda kaspaz-3 immun pozitif hücreler, X 40.....	39
Şekil 4.5. g: Elektrik alan+ Juglon grubunda kaspaz-3 immun negatif hücreler, X 40.....	39
Şekil 4.5. h: Kontrol grubunda kaspaz-3 immun negatif hücreler, X 40.....	39
Şekil 4.6. a,b, c, d,e,f: Elektrik alan grubunda tnf- α immun pozitif hücreler, X40.....	40
Şekil 4.6. g: Elektrik alan+ Juglon grubunda tnf- α immun negatif hücreler, X 40.....	40
Şekil 4. 6. h: Kontrol grubunda tnf- α immun negatif hücreler, X 40.....	40
Şekil 4.7. Grup I (K) Comet Analizi. Sarı ok (); 0. kategori, hiç hasar bulunmayan hücre. Mavi ok () 1. kategori, az hasarlı hücre..	42
Şekil 4.8. Grup II (EA) Comet Analizi. Mavi ok () 1. kategori, az hasarlı hücre. Yeşil ok () 2. kategori, çok hasarlı hücre	42
Şekil 4.9. Grup III (EA+Juglon) Comet Analizi. Sarı ok (); 0. kategori, hiç hasar bulunmayan hücre. Mavi ok () 1. kategori, az hasarlı hücre.	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Ev Aletlerinden Bazılarının Oluşturmuş Oldukları Elektrik Alanlar(Arslankoç,2016).....	7
Çizelge 4.1. Grupların Vücut Ağırlıklarının Paired Samples T Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi (p<0.05).....	31
Çizelge 4.2. Grupların Vücut Isılarının Paired Samples T Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi (p<0.05).....	32
Çizelge 4.3. Grupların Biyokimyasal Değerlerinin Tukey Test Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi (p<0.05).....	33
Çizelge 4.4. Grupların Tam Kan Değerlerinin Kruskal-Wallis Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi (p<0.05).....	34
Çizelge 4.5. Grupların Nöron Sayılarının Tukey Test Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi (p<0.05).....	35
Çizelge 4.6. Grupların Kaspaz-3 ve ve tnf- α immun pozitif hücre yoğunluğunun Kruskal-Wallis yöntemiyle istatistiksel olarak değerlendirilmesi (p<0.05).....	38
Çizelge 4.7. Comet Analizinin İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	41
Çizelge 4.8. Araştırma Gruplarının Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri.....	44

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CA	Cornu ammonis
CAT	Katalaz
DCS	Digital Cellular Service
EKG	Elektrokardiyogram
ELF	Aşırı alçak dalga
EMA	Elektromanyetik Alan
EMD	Elektromanyetik Dalga
EMR	Elektromanyetik Radyasyon
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GSM	Global System for Mobile
H&E	Hematoksilen & Eosin
HCT	Hematokrit
HGB	Hemoglobin
Jug	Juglon
KMY	Kemik Mineral Yoğunluğu
MBP	Myelin basic protein
MDA	Malondialdehit
MRS	Magnetic Resonance Spectroscopy
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
Na ₂ EDTA	Etilendiamintetraasetik asit sodyum tuzu
NGF	Sinir büyüme faktörü
NMA	Normal Kaynama Dereceli Agoroz
NO	Nitrik oksit
NSE	Nöron spesifik enolaz
PBS	Phosphate Bufferol Saline
PLT	Trombosit
ppm	miligram çözünen / kilogram veya litre çözelti
RD	Radyo Dalga
RF	Radyo Frekans
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SD	Sprague Dowley
SOD	Süperoksit dizmutaz
TAC	Total Antioksidan Kapasitesi
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Trikloroasetik asit
TEP	Tetraethoxypropane
TNF	Tümör nekroz edici faktör
TP	Total protein
TUNEL	TdT dUTP Nick End Labeling
UMTS	Universal Mobile Telecommunications System
UV	Ultraviyole
WBC	Lökosit
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
α	Alfa
β-	Negatron

1.GİRİŞ

Son yıllarda insanlar günlük yaşantılarında elektrik ve elektromanyetik alana maruz kalmaktadırlar. İletişim sistemlerinin hızla gelişmesi ile birlikte kullanıcı sayısının artması sonucunda elektrik ve elektromanyetik alan kirliliği ortaya çıkmaktadır. Mikrodalga fırın sistemlerinin çalışma frekansları, 3G ve 4G sistemlerinin yaydıkları elektromanyetik dalgalar, bazı elektrikli ev aletlerinin ve yüksek gerilim hatlarının yaydığı elektrik alan canlılar için endişe kaynağı oluşturmaktadır (Karadağ vd., 2014). Yüksek frekanslı elektrik ve elektromanyetik dalgalar ile çalışan baz istasyonlarının sayısındaki artış bu alanların insanlar üzerindeki etkilerinin araştırılmasını gerektirmektedir.

Elektromanyetik radyasyonlar (EMR) dalga özellikli radyasyonlar olup, boşlukta yayılmasının yanında iyonlaştırıcı olanlar ve iyonlaştırıcı olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Deveci vd., 2007). İyonize radyasyon X ve gama ışınları iken, düşük frekanslı dalgalar kızılötesi ışık, radyofrekans (RF) iyonize olmayan radyasyonlardır. Cep telefonlarının yaydığı elektromanyetik dalgalardan iyonize olmayan radyasyonun ısı ve ısı olmayan etkileri bilinmektedir (Tok ve Ercan, 2013). Elektromanyetik dalgalar vücuttaki dokulara ya ısıtarak ya da kimyasal değişimler yoluyla zarar verir. Yüksek güçlü Elektro Manyetik Dalga (EMD) dokuları ısıtarak zarar verirken, düşük güçlü EMD'ye uzun süre maruziyet kimyasal değişikliklere neden olur. Elektromanyetik radyasyonlar boşlukta ışık hızına eşit hızla yayılır. Dalga boyu küçüldüğünde EMR madde ile karşılaştığında dalga özelliği yerine enerji topluluğu gibi davranmaktadır. Bu enerji kümelerine foton adı verilir. Bu tipteki EMR'lar X ışınları, gama ışınlarıdır. Bu ışınların özelliği hücrelerdeki molekülleri bir arada tutan atomik bağları kırmaktır. Enerjileri çok yüksek olan bu ışınlar moleküllere çarparak iyonize hale gelirler. Böylece molekül yapısı bozulur ve olumsuz biyokimyasal tepkimeler sonucunda kanser oluşumunu tetikleyebilir. Yapılan bazı çalışmalarda bu ışınlara maruz kalan kişilerde kanser oluşumunun arttığı bildirilmiştir (Yağmur vd., 2003).

Bir diğer EMR grubu ise noniyonize radyasyon grubudur. Noniyonize radyasyon molekülleri bir arada tutan atomik bağları kırmak için yeterli enerjiye sahip

olmayan fotonlara denir. Bu gruptaki dalgalar yüksek enerjiden az enerjiye sıralandığında ultraviyole (UV) ışınları, lazer ışınları, görünür ışınlar, infrared radyasyon, mikro dalgalar, radyo dalgaları olarak sıralanabilir. Farklı frekanstaki EMD değişik canlı türlerini farklı şekilde etkileyebilir. Biyolojik sistemdeki etkiler EMD yoğunluğuna, fotonların sahip olduğu enerji miktarına göre değişiklik gösterilebilir. Biyolojik etki EMD'ye maruziyet sonucunda ölçülür, anlamlı fiziksel değişiklikler ortaya çıkabilir. Yan etki ise biyolojik etkinin vücudun tolere edemediği durumlarda ortaya çıkar ve zararlı etkilere yol açar. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda elektromanyetik alanın (EMA) olumsuz etkiler oluşturduğu bildirilmiştir. Ayrıca EMA olan yerlerde çalışan kişilerde depresyon, lösemi, santral sinir sistemi kanserleri, astrositoma gibi merkezi sinir sistemi (MSS) solid tümörleri, melanom ve akciğer kanseri gibi hastalıklar ile ilişkisinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Değişik deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda kısa dalgalar ile mikrodalgalar arasındaki frekansa sahip olan elektromanyetik dalgaların biyolojik etkilerinin elektrik alan ile doğru, dalga uzunluğu ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (Floderus, 1992; Yağmur vd., 2003; Inbaraj ve Chignell, 2004; Sarmaşık vd., 2012; Peng vd., 2015).

EMR'na en fazla maruz kalan meslek grubu sağlık çalışanlarıdır. Özellikle kısa dalga cihazları ile temas halinde çalışan fizik tedavi çalışanlarının sıklıkla şikayet ettiği halsizlik, apati, baş ağrısının bu cihazların etkisiyle gerçekleştiği düşünülmektedir. Hastanelerde anestezi ve ameliyathanede yaşamsal önem taşıyan bu tür cihazların çok sayıda bulunması ve bu bölgelerde cep telefonlarının da çok sayıda kullanılması elektromanyetik alanın etkisini artırmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve bazı kuruluşlar elektromanyetik alan oluşturan cihazların güvenliği konusunda çeşitli çalışmalar yaparak belirli standartlar oluşturmaya çalışmışlardır. Amerikan ordusu radar istasyonlarına 10^{-2} W/cm²'lik bir değere uzun süre maruziyet sonrası bir yan etki görülmediğini kaydetmiştir. NATO için ise bu sınır 5×10^{-4} W/cm² değeri belirlenmiştir. Sovyetlerde maksimum izin verilen değer 10^{-5} W/cm²' dir (Floderus, 1992; Yağmur vd., 2003).

Son yıllarda iyonize olmayan radyasyon uygulamaları birçok alanda etkisini göstermektedir. Radyo frekans (RF) bölgesinde yer alan elektromanyetik dalgalar iletişim, radyo ve televizyon yayınlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu nedenle birçok insan iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kalmaktadır. Elektromanyetik alanın cihazların üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğu, bilgisayarların radyoların FM dalga yayınlarını bozması, elektrik süpürgesinin çalışmasının televizyonlarda karlanmaya neden olması, cep telefonlarının araçların ABS fren sistemini kilitlemesi olarak gösterilebilir (Deveci vd., 2007).

İnsan vücudundaki manyetik alan biyoelektrik yüklerinin hareketinden oluşur. Sinir, kas, kalp, beyin gibi organlar birbirleriyle haberleşmek için kullandıkları manyetik alan sistemleri uyum içerisinde çalışır. Bu alanda birçok çalışma yapılmış zayıf manyetik alanın insan sağlığına zararlı olup olmadığı kesin olarak bilinmemekte olup, hayvan deneylerinde hormon ve enzim seviyesini değiştirdiği ve dokulardaki kimyasalların hareketini engellediği belirlenmiştir. İngiltere, İsveç ve ABD; elektromanyetik alanların akut myeloid lösemi riskini arttırdığını bildirmişlerdir. Günlük yaşamda sıklıkla maruz kalınan bu manyetik alanların beyin tümörlerini ve özellikle erkeklerde lösemi ve akut myeloid lösemiye tetiklediği bilinmektedir. 2 mG gibi çok küçük manyetik alanların lösemi, lenfoma, yumuşak doku sarkomlarını daha fazla olmak üzere, bütün kanser türlerini 1,4 kat arttırdığı tespit edilmiştir. Manyetik alanın kısa sürede ve uzun sürede olmak üzere iki tür etkisi bilinmektedir. Kısa vadede stres, görüş alanının daralması, kulak bölgesinde ısınma, kalp pilinin bozulma riski, kulak çınlaması, yorgunluk hissi, konsantrasyon bozulması, baş ağrısı, işitmede geçici aksaklıklar ve sersemleme gibi etkiler gözlenmiş iken; uzun vadede genetik yapının bozulması, beyin hücrelerinde ölüm ve beyin tümörü, lenf kanseri, kan beyin bariyerinin zedelenmesi, kalp rahatsızlıkları, hafıza zayıflaması, kalıcı işitme bozuklukları, embriyo gelişiminin zarar görmesi, düşük riskinin artması ve kan hücrelerinin bozulması çalışmalarla belirlenmiştir (Schwan, 1985; Floredus, 1992; Şeker ve Çerezci, 1997; Yağmur vd., 2003; Sarmaşık vd., 2012).

Elektrik şebekelerinden kaynaklanan 50 Hz gibi çok düşük frekanslı elektromanyetik dalgalar iyonlaştırılmayan ışınlar iken, gama ışınları, röntgen ışınları ise yüksek frekanslı iyonlaştırıcı ışınlardır. Yayıdıkları kuvvetli enerjilerle canlı ve cansız dokularda hasar meydana getirmektedir. Elektrik alan (EA), bir elektrik yükün başka bir elektrik yükü üzerinde meydana getirdiği çekme veya itme kuvvetidir. Yani elektriksel alanı elektriksel yükler meydana getirmektedir. Elektrik şebekesine bağlı olan bir lamba yanıyor olmasa bile bir elektriksel alan oluşturur. Cihazın beslenmesi gerilimi yükselttiği için elektriksel alanı artırır. Elektrik alanın şiddeti kaynağa yakınlığa bağlıdır. Elektriksel alanı yalıtkanlar engeller. Tüm canlıların zayıf yada güçlü manyetik özelliği vardır. Dolayısıyla tüm canlılar bir manyetik alana sahiptir. Dünyadaki manyetik alanla canlılardaki manyetik alan uyum içerisinde olmalıdır. Son zamanlarda kullanılan bazı cihazlar bu manyetik alanlar arasındaki dengeyi bozmaktadır (Sarmaşık vd., 2012).

Düşük frekans ve şiddetteki elektrik alan hücrelerde Ca^{++} alımı ve salgılaması ile, beyindeki Na^+ ve K^+ miktarını etkilediği bilinmektedir. Yine elektrik alanın LH ve FSH gibi hormonlar üzerinde değişiklik meydana getirdiği deneylerle kanıtlanmıştır. (Schwan, 1985). Elektrik alan insanların gözünde zamansız katarakt oluşumuna, embriyoda normal dışı gelişime, yüz derisinde döküntüye, bağışıklık sisteminde zayıflamaya neden olduğu bilinmektedir (Şeker ve Çerezci, 1997).

Canlıların elektrik alanlara verdiği tepkilerin farklılıklarının yanında, farklı hücre türlerinin de çoğalma ve farklılaşma gibi süreçlerde elektrik alanlara farklı tepkiler verdiği birçok çalışmada belirtilmiştir. Tüm bu farklı parametrelerin kapsadığı geniş spektrum sebebiyle EA'nın etkileri ve bu etkilerin mekanizmaları henüz net anlaşılabilmiş değildir (Schwan, 1985; Şeker ve Çerezci, 1997; Sarmaşık vd., 2012).

Juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon)'un cevizden türetilen bitkisel preparatları akne, enflamatuar hastalıklar, mantar, bakteri ve viral enfeksiyonların tedavisi için topikal olarak uygulanmıştır. Juglon (1-20 μ M) konsantrasyonuna bağlı hücre viyabilitesinde bir azalma meydana geldiği görülmüştür. Juglon

inflamasyon ve tümör hücrelerinin büyümesini önlemek amacıyla çeşitli hastalıklara karşı güçlü koruyucu bir etki göstermektedir (Inbaraj ve Chignell, 2004; Peng vd., 2015).

Son yıllarda kanser vakalarının artmasının cep telefonu kullanımının fazlalığı, yüksek gerilim hatlarının yaygınlaşması, elektrikli ev aletlerinin kullanımının artması ile orantılı olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmayı planlamamızdaki hedefimiz daha önce yapılan çalışmalarda elektrik ve elektromanyetik alanın dokularda ciddi hasarlar oluşturduğunun belirlenmesindedir. Bu tez çalışmasında Wistar-Albino cinsi erkek ratlara uygulanan 50 Hz (10 kV/s) elektrik alanının beyin dokusunda oluşturduğu etkilerin ve bu etkileri azaltmak için uygulanan antioksidan juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon)'un olumlu etkisinin immunohistokimyasal, kan dokusunda oluşturduğu etkilerin ise biyokimyasal, fizyolojik ve comet yöntemi ile değerlendirilmesi amaçlandı.

Bu çalışma sayesinde 50 Hz elektrik alanının etkisini azaltmak için antioksidan (Juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon)) uygulaması ile olumlu sonuçların elde edilmesi ile elektrik alanının zararlı etkilerinden insan sağlığını koruma yönünden birçok bilim (Tıp, Biyoloji, Histoloji, Beslenme Bilimleri) dalına ışık tutacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Son zamanlarda EMA ve EA'nın insan sağlığı üzerine etkileri araştırılmış, beyin üzerine önemli risk faktörleri oluşturduğu gözlenmiştir. Elektrik ve manyetik alanların etkisi serbest radikaller aracılığıyla olmaktadır. Proteinler ve lipitlerin hasarlanması serbest radikaller tarafından gerçekteşirken, DNA hasarı insan sağlığı üzerinde önemli etkilere yol açmaktadır (Lai ve Singh, 1997b) .

2.1. Elektromanyetik ve Temel Kavramlar

2.1.1. Elektriksel Alan

Elektrik yüklü bir cismin, elektrik yüklü diğer bir cisme uyguladığı çekme veya itme kuvveti uzaklığın karesi ile ters orantılıdır. Bu nedenle belli bir bölgenin dışında etki ölçülemeyecek kadar az olur. Bir yükün etkisini gösterdiği bölge o yükün elektrik alanı olarak ifade edilir. Elektrik alan, büyüklüğu ve doğrultusu olan vektörel bir büyüklüktür. Elektrik alanı elektrikselse yükler oluşturur. Her elektrik yükü bir elektrik alan meydana getirir. Bir cihazın beslenme gerilimi elektrik alan değerisi ile doğru orantılıdır. Kaynağa yaklaştıka elektrik alanı artar. Elektrikselse alan insan derisinden geçerken şiddeti azalırken, duvardan ise geçemez. Cihazların açma kapama düğmesi kapalı olduğu durumlarda bile elektrikselse alan oluşmaktadır. Elektrik alanın birimi V/m (Volt/metre)'dir. Elektrik alan şiddeti, kaynağa olan uzaklıkla ters orantılıdır (Sarıkahya, 2014).

Son yıllarda teknolojinin hızla gelişmesi sonucunda insanlar çevrelerindeki elektrik alan ve manyetik alan oluşturan aletlere çok fazla maruz kalmaktadır. Bu aletler ve yaydıkları elektrik alan Çizelge 2.1'de görölmektedir (Aslankoç, 2016).

Çizelge 2.1. Ev Aletlerinden Bazılarının Oluşturmuş Oldukları Elektrik Alanlar(Arslankoç,2016)

Cihaz	Oluşturdukları Elektrik Alan (V/m)
Ampul	2
Süpürge	16
Kahve Makinası	30
Televizyon	30
Ütü	60
Buzdolabı	60

2.1.2. Manyetik Alan

Elektrik alan statik yüklerin oluşturduğu alan iken, manyetik alan ivmesiz hareket eden yüklerin oluşturduğu alandır. Manyetik alan ölçü birimi A/m veya Tesla'dır. Manyetik alan oluşması için ortamda elektrik akımının bulunması gereklidir. Yani cihazın açık konumda olması şarttır. Manyetik alanın şiddeti kaynağa yakınlıkla doğru orantılıdır. Manyetik alanlar bedenin iç kısımlarına girerek zayıf akımların iç organlarda oluşmasına neden olur (Sarıkahya, 2014).

2.1.3. Elektromanyetik Alan

Elektromanyetik alan manyetik alan ile elektrik alanın birleştirilmiş halidir. Bir elektron veya hareketsiz yük kendi etrafında bir elektrik alan oluşturur. Eğer yük hareketli ise mıknatıs alan da oluşturur. Bu iki alan ise elektromanyetik alanı oluşturur (Kiray, 2010).

2.1.4. Radyasyon

Elektromanyetik dalgalar veya parçacıklar biçimindeki enerjinin emisyonu veya aktarımına radyasyon denir. Maddenin yapı taşı atomlardır. Atomun merkezinde yer alan çekirdek proton ve nötronlardan oluşurken, etrafında elektronlar

bulunmaktadır. Bir maddenin atom çekirdeğindeki nötronların sayısı, proton sayısına göre çok fazla ise kararsız bir yapı göstererek, çekirdeğindeki nötronlar β^- (negatron) yayarlar. Eğer protonlar, nötronlardan daha fazla ise protonlar dönüşerek β^+ (positron) yayarlar. Atom çekirdeğinden ayrılan nötronlar ve protonlar kararlı olmayan atom çekirdeği gama (γ) ışını yayar. Ağır çekirdekler alfa (α) ışını yayarken, fizyon reaksiyona maruziyet söz konusu olabilir. Bu maruziyet sonucu parçalanmış maddelere radyoaktif madde denir. Çevreye yayılan alfa, beta ve gama ışınlarına radyasyon denir. Akım geçiren her şey manyetik alan meydana getirir (Sarıkahya, 2014).

2.2. Elektrik ve Elektromanyetik Alanın Biyolojik Etkileri

Deveci vd., (2007) ilköğretim öğrencilerinin cep telefonu, bilgisayar, televizyon gibi elektromanyetik alan oluşturan cihazların kullanımıyla öğrencilerde ortaya çıkan rahatsızlıklar arasında ilişki olduğunu deneye dayalı olmayan gözlemsel değerlendirmeler ile bildirmiştir.

Ergüder ve Durak (2006), bilgisayar kullanımının tükürükten alınan numularda MDA düzeyini arttırdığı, SOD aktivitesini azalttığı, CAT aktivitesini arttırdığı, bu nedenle enzimatik antioksidan savunma sisteminin bozulup oksidatif stresin oluştuğunu belirtmişlerdir. Guenel vd., (1996) 1978-1989 yılları arasında çalışan elektrik işçilerinde 50-60 Hz elektrik alana maruziyetin beyin tümör riskini arttırdığını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada 100 mGauss manyetik alanın rat beyin dokusunda MDA düzeyini artırdığı tespit edilmiştir (Köylü vd., 2005).

Bir sene boyunca belli bir seviyede elektrik alana maruz kalan insanlarda yapılan çalışmada 2 mGauss'un üzerinde manyetik alana maruz kalan insanlarda lösemi riskinin 2,7 kat arttığı, 3 mGauss manyetik alana maruz kalan insanlarda ise 3,8 kat arttığı saptanmıştır (Feychting ve Ahlbom, 1993). Norveç'te elektrik işçilerinden oluşan bir grupta yapılan incelemelerde Hodgkin ve Nonhodgkin lenfoma insidansı düşük iken, bu işçilerde meme kanseri, plevra, gırtlak, mesane ve yumuşak doku sarkomu insidansının arttığı bildirilmiştir (Tynes ve Andersen, 1990).

Şenol ve Çınar (2008), yaptıkları çalışmada, 10 kV/m, 1.9 kV/m ve 0.9 kV/m elektrik alan uygulamasının karaciğer, böbrek ve dalak dokuları üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Böbrek dokusunda kontrolden farklı olarak elektrik alana maruz bırakılan gruplarda vasküler dilatasyon, dalak dokusunda kırmızı pulpada sinuzoidlerde genişlemeler, karaciğerde ise hepatositler arasında zonal olmayan dağınık yerleşimli lenfosit topluluklarının bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Margonato vd., (1993), ratları 50 Hz'lik elektrik alana günde 8 saat olmak üzere toplamda 280, 440 ve 1240 saat maruz bırakmışlardır. Maruz kalma süresinin elektrik alan şiddetinden bağımsız olarak karaciğer, kalp ve lenf nodlarının histolojik ve kan parametrelerinin biyokimyasal incelemelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimler oluşturmadığı ancak 1240 saatlik elektrik alan uygulamasının testis/vücut ağırlığı oranında istatistiksel olarak anlamlı olmasada bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Bir başka çalışmada da 100 kV/m'lik 60 Hz elektrik alanın 15, 30, 60 ve 120 gün süreyle uygulanan sıçanlarda kan hematolojik ve biyokimyasal incelemelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişimin olmadığı belirtilmiştir (Ragan vd., 1983).

Güler vd., (2005), yaptıkları çalışmada kobaylarda günde 8 saat 3 günlük 1.8 kV/m, 1.35 kV/m, 1 kV/m, 0.8 kV/m, ve 0.3 kV/m elektrik alan uygulamasının akciğer ve karaciğer dokularında elektrik alan şiddeti artışına bağlı olarak SOD ve MDA seviyelerinde artış olduğunu tespit etmişlerdir.

Portet ve Cabanes, (1988). 50 kV/m'lik 50 Hz elektrik alan sekiz haftalık erkek sıçanları günde 8 saat 4 hafta boyunca, tavşanları ise gebeliğin son 2 haftasından doğumdan sonraki 6. haftaya kadar maruz bırakmışlardır. Elektrik alana maruz kalan sıçan ve tavşanların vücut organ büyüklüğünde anlamlı farklılık gözlenmediği, plazmadaki ACTH, GH, T3, T4 seviyelerinde de azalma olsada istatistiksel açıdan önemli olmadığı, tiroid veya adrenallerde histolojik açıdan hasarların olmadığı bildirilmiştir.

Güler vd., (2004), yaptıkları çalışmada 0.3 kV/m, 0.9 kV/m, 1.8 kV/m'lik elektrik alan günde 8 saat 3 gün boyunca uygulamanın dalak ve testis dokularında elektrik alanın şiddetinin artmasıyla MDA ve SOD seviyesindeki artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Çınar vd., (2009), yaptıkları çalışmada farelerin derisinde açık yara modeli oluşturulup, yara iyileşmesi üzerine 10 kV/m, 1.9 kV/m ve 0.9 kV/m elektrik alanın etkilerini araştırmışlardır. Kontrol grubuna göre 1.9 kV/m ve 0.9 kV/m elektrik alan uygulamasında kollajen iplik yoğunluğunun fazla ve yara iyileşme sürecinin daha hızlı olduğu, 10 kV/m elektrik alan uygulamasında ise iyileşme sürecinin olumsuz etkilendiği bildirilmiştir.

Ratlar gebelik süresince günde 60 dk olmak üzere 21 gün boyunca 50-60 Hz radyofrekansa maruz bırakılmıştır. Kontrol ve diğer gruplarda, yenidoğan rat deri dokularında ışık mikroskopik incelemelerde çok anlamlı yapısal dejenerasyonlara rastlanmamış, ayrıca epidermal kalınlık ölçümleri sham ve kontrol grubunda benzerlik göstermiştir. Ultrastrüktürel incelemede, radyofrekansa maruz kalan grupta dermiste bağ doku elemanlarında azalmayla birlikte hücresel değişiklikler gözlemlendiği belirtilmiştir (Bahar vd., 2014).

Çetiner vd. (2012), mobil cep telefonu baz istasyonunun oluşturduğu elektromanyetik alanın işitme üzerine etkisini araştırmak için ratları en yüksek elektrik alanın (4000 V/m) bulunduğu kullanıcı yoğunluğunun en fazla olduğu saatlerde (18.00-21.00) günde bir saat boyunca baz istasyonuna 5 metrelik mesafeye koymuşlardır. İki hafta boyunca elektromanyetik alana maruz bırakılan ratlara çalışmanın başladıktan bir ve iki hafta sonra BERA testi yapılarak değerlendirme yapılmıştır. Birinci hafta ve ikinci hafta sonunda elde edilen veriler karşılaştırıldığında çalışmada kullanılan elektromanyetik alanın işitme üzerine olumsuz etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir.

Sorkun vd. (2009), yapmış oldukları çalışmada ratları üç ay boyunca her gün, bir gruba 2,5 saat, diğer gruba 2,5 dakika olmak üzere manyetik alana maruz bırakmışlardır. Manyetik alana maruz kalan ratların beyin dokusundaki nöronal

ve glial hücrelerde proliferatif aktive artışı AgNOR tanecikleri ile ortaya çıkarılmıştır. Ortalama tanecik sayısının 2.5 saat manyetik alana maruz bırakılan grupta 2.5 dk. manyetik alana maruz bırakılan gruba göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Keklikçi vd. (2008), çok düşük frekanslı manyetik alanın (1,5 mT şiddetindeki ve 50 Hz frekanslı) lens fibrilleri ve lens epitel hücreleri üzerine etkilerinin olmadığını bildirmiştir. Erdal vd. (2000), 380 kV'luk şalt sahasında elektromanyetik alanda, 3-15 yıl çalışan kişilerin Fenol-Kloroform ekstraksiyon yöntemiyle izole edilen DNA'larında delesyon veya mutasyona rastlanmadığını bildirmiştir.

3G cep telefonları tarafından üretilen elektromanyetik radyasyonun sıçan beyin dokusu üzerine etkisi manyetik rezonans spektroskopi (MRS) yöntemiyle kullanılan EMR yoğunluğu ve maruziyet süresi hücre düzeyinde anlamlı bir oksidatif stres oluşturmadığı, apoptotik hücre sayısı açısından anlamlı bir fark gözlenmediği belirtilmiştir (Doğan vd., 2012).

Eraslan vd. (2002), yapmış olduğu çalışmada 90 Hz ve 5 mT alan şiddetindeki EMA'nın kan Ca^{++} , P^{+++} , Na^+ , K^+ , Cl^- düzeyleri üzerine etkisinde, kalsiyum düzeyinde 30. günde anlamlı bir düşme, fosfor düzeyinde 15. ve 45. günlerde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış, tüm periyotlarda plazma sodyum düzeyinde artış potasyum ve klor düzeylerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Uzar vd. (2011), doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde 24 saat boyunca 50 Hz elektrik alanının rat spinal kord malondialdehid ve nitrik oksit seviyelerine etkisini incelediklerinde yavru dişi ratlarda prenatal+postnatal gruptaki spinal kord dokularında MDA ve NO seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Postnatal grupta ise MDA ve NO seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık oluşmadığı belirtilmiştir.

2.3. Apoptoz ve Nekroz

Apoptoz, fizyolojik veya programlanmış hücre ölümüdür. Nekroz, hücre şişmesi ve parçalanması ile karakterize, ani ağır iskemi, mekanik travma gibi büyük çevresel değişikliklerin neden olduğu patolojik ve pasif bir süreçtir. Bu tür hücre ölümünde hücre içi denetim mekanizmalarının bir etkisi yoktur. Nekroz "hücre katili" olarak da adlandırılmaktadır ve mitokondriyal şişme, karyolizis, plazma membranının yırtılması ve sitoplazmik içeriğin dışarı salınması ile karakterizedir. Nekroz sonucu dokuda inflamatuvar reaksiyon oluşur (Gölçek, 2012; Berghe vd., 2013).

2.3.1. Apoptoz ve Nekroz Arasındaki Farklar

Nekroz esnasında hücre şişer, mitokondri genişler, organeller çözünür, plazma membranı yırtılır. Sitoplazma materyali hücre dışına geçerek inflamasyona neden olur. Enerji gerektirmez ve dış etkenlerle başlar (iskemi, toksin, radyasyon). Patolojik bir olay olup hücre topluluklarını etkiler. Kontrolsüz ölümdür. Apoptozis sırasında ise plazma membranı yırtılmaz, yüksek ATP seviyeleri apoptozis için gerekli olur. Apoptozda kontrollü ölüm gerçekleşir. İç ve dış sinyallerle başlar. Enerji gerektirir ve tek hücre etkilenir. Hücre büzülür, fagosite olur, fizyolojik bir olay olup inflamatuvar yanıt oluşmaz. Hücre içi ATP seviyesi hücrenin apoptozis veya nekroz ile öleceğine yön verir. Bu da mitokondrinin önemini apoptozisin erken fazında göstermektedir. Eğer hücre ciddi olarak yaralanırsa apoptotik yol için gerekli olan enerjiyi sağlayamayacak ve nekroz ile ölecektir. Apoptozis hücrede yarattığı değişikliklerle nekrozun bir parçası gibi algılanabilir (Gölçek, 2012; Nikoletopoulou vd., 2013; Ashkenazi ve Salvesen, 2014).

2.3.2. Apoptoz ve Fagositoz

Ölüm mekanizması nasıl olursa olsun, ölü hücrelerin ortadan kaldırılması gerekmektedir. Gerek nekroz gerekse apoptozisde ölü hücre fagositozla ortadan kaldırılır. Apoptozis sırasındaki hücre zarı değişimleri komşu hücrelerin ölü

hücreyi fagosite etmesi için gerekli tüm uyarıları verecek şekilde düzenlenir. Oluşan apoptotik hücreler, hücreler arası alana dağılırlar veya lümene dökülürler. Dokuda 4-9 saat tanınabilir halde kalan apoptotik hücreler daha sonra fagozomlar içinde birkaç saat kadar görülebilir, sonra da sindirilemeyen materyal olarak kalırlar (Gölçek, 2012; Green ve Levine, 2014).

Apoptotik cisimlerin makrofajlar tarafından tanınması, normalde hücre zarının iç membranda yer alan fosfatidilserinin apoptotik mekanizmayla birlikte hücre zarının dış kısmına çıkmasıyla olur. Ayrıca bu olayda fibronektin benzeri bir serum proteini olan ve doku hücrelerinin birbirine bağlanmasını kolaylaştırdığı bilinen vitronektin reseptörünün rol oynadığı belirlenmiştir. Apoptotik cisimlerin makrofajlarca tanınmasında rol oynayan diğer reseptörler; trombospondin reseptörleri olan α ve β , CD-36 ile Fas reseptörüdür (Gölçek, 2012; Segawa ve Nagata, 2015).

Trombospondin, trombositler tarafından sentezlenen ve hücre içi granüllerde depolanan bir glikoprotein olup, trombosit bağlanmasında otokrin büyüme düzenleyicisi olarak işlev görmektedir. Trombospondine trombosit dışında epitelyum hücrelerinin ekstraselüler matrikslerinde, düz kas hücrelerinde ve fibroblastlarda da rastlamak mümkündür. Fakat bu hücrelerdeki fonksiyonu bilinmemektedir. Fas, tümör nekroz edici faktör (TNF) ve sinir büyüme faktörü (NGF) ile yapısal benzerlik gösteren bir hücre yüzeyi proteini olup, apoptozisin başlamasında rol oynar. Apoptotik hücrenin tanınmasında lektinin de rolü olabilir. Bilindiği üzere lektin, hücre yüzeyinde bulunan karbonhidrat yapısındaki reseptörlere bağlanabilen bir proteindir. Apoptozisde izlenen hücre zar değişiklikleri, apoptotik hücre zarındaki bu moleküller aracılığı ile makrofajlara ve çevre hücrelere iletilerek hücrenin fagositozuna yol açar (Nagata, 1997; Gölçek, 2012)

2.4. Antioksidanlar

Çeşitli mekanizmalar sonucu ortaya çıkan serbest radikallere karşı vücutta doğal bir savunma mekanizması vardır ve bu savunma mekanizmasını oluşturan

bileşiklere “antioksidanlar” denmektedir. Antioksidanlar doğal antioksidanlar ve ilaçlar olmak üzere iki sınıfta toplanabilir (Gökpınar vd., 2006; Giorgio, 2015).

Doğal antioksidanlar arasında enzimler (superoksit dismutaz-SOD, katalaz-CAT, glutatyon peroksidaz-GP, glutatyon redüktaz, sitokrom-C-oksidad, hidroksiperoksidaz), makromoleküller (seruloplazmin, transferrin, ferritin, myogloblin, haptoglobilin) ve mikromoleküller (β -karoten, A-vitamini, C-vitamini, E-vitamini, tokoferoller, tiol içerenler, glutatyon (GSH), N-asetil sistein, metionin, kaptopril, ubiguinon) şeklinde sayılabilmektedir (Gökpınar vd., 2006; Nimse ve Pal, 2015).

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler;

1. Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki ederler.
2. Söndürme etkisi (Quenching): Oksidanlara hidrojen timetazidin ve mannitol bu şekilde etki etmektedirler.
3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır mineraller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive etmektedirler.
4. Onarma etkisi (Repair): Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarmaktadırlar (Gökpınar vd., 2006; Gupta vd.,2014).

Antioksidan enzim sistemleri; iki süperoksit dismutaz (CuZnSOD ve MnSOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri şeklinde olup, non-enzimatik endojen antioksidanların en önemlilerinden biri glutatyon (GSH)'dur (Aydoğdu vd., 2005). Bilinen biyolojik antioksidanlar olan glutasyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutazın (SOD) serbest radikallerin ortadan kaldırılması ve baskılanmasında önemli bir role sahip olduğu saptanmıştır (Yüce ve Aksakal, 2007).

Superoksid dismutaz (SOD), en etkin intrasellüler enzimatik antioksidanlardan biri olup, Cu-Zn SOD sitozolde, Mn SOD mitokondride bulunmaktadır.

Oksijenden ilk oluşan reaktif ürün olan superoksit anyonun moleküler oksijene ve daha az reaktif bir ürün olan hidrojen peroksida dönüşünü katalize etmektedir (Derviş, 2011; Warille vd., 2017).

Katalaz, esas olarak peroksizom denen hücre organellerinde bulunmaktadır. Hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlamaktadır. SOD ve katalazın ilk reaktif ürünler olan superoksit radikal ve hidrojen peroksidi katalize edici etkileri nedeniyle teorik olarak antioksidan etkilerinin diğer antioksidanlara göre avantajlı olabileceği şeklinde düşünülmektedir. Yüksek molekül ağırlıklı olan enzimatik antioksidanlar sindirim sisteminden değişmeden emilirlerse etkin olabilirler. SOD ve katalazın hem bitkisel hem hayvansal ürünlerde bulunduğu tespit edilmiştir (Derviş, 2011).

Nonenzimatik antioksidanlar, düşük molekül ağırlıklı olan bu antioksidanlar okside olarak başka bir substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirir veya önler. Bunların bir kısmı endojendir (lipoik asit, glutatyon, koenzim Q 10 gibi), bir kısmı diyetle alınır (α tokoferol, askorbik asit, karotenoidler, polifenoller gibi) (Derviş, 2011; Prasad, 2016).

Karotenoidler sadece fitoplankton, algler, bitkiler ve sınırlı sayıdaki mantar ve bakteriler tarafından üretilebilen, 700'ün üzerinde yağda çözünebilen tabiatta pigmente sahip olan bir aile olmaktadır. Karotenoidler genel olarak havuç, domates, greyfurt, portakal, ıspanak gibi sebze ve meyvelerin kırmızı, turuncu, sarı ve yeşil renklerinden sorumludur. Alglerin fotosentetik pigmentleri arasında yer alan karotenoidlerin çoğu fotosentez işleminde aktif olarak rol oynamazlar ve ışıktan kapılan enerjinin klorofil moleküllerine aktarılmasını sağlamaktadırlar. Bu nedenle karotenoidler alglerde aksesuar pigmentler arasında kabul edilir ve pek çok alg grubunda yaygın olarak bulunduğu gözlemlenmiştir. Karotenoidler insanda ince barsakta %5-50 oranında pasif diffüzyon ile emilip, bu emilimin oranı diyetteki yağ miktarıyla ilişkili olduğu saptanmıştır. Karotenoidler hücreyi oksidatif stresten; triplet molekülleri ve singlet oksijeni süpürerek, serbest radikalleri inhibe ederek koruduğu gözlemlenmiştir. Provitamin A aktivitesi gösteren karotenoidler α , β , γ karoten ve kriptoksantindir. Yanı sıra zeaksantin

ve lutein pigmentlerinin *Dunaliella salina* (Chlorophyceae)'dan elde edilebildiği saptanmıştır (Gökpınar vd., 2006; Carochi ve Ferreria, 2013).

Diğer taraftan çok güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olduğu için süper karotenoid olarak adlandırılan “astaksantin” pigmenti, *Haematococcus pluviialis* (Chlorophyceae)'ten kuru ağırlığının % 5'ine bir değerinde elde edilebildiği gözlemlenmiştir (Gökpınar vd., 2006).

C vitamininin, kan ve plazmada serbest radikallere karşı ilk savunmayı sağladığı tespit edilmiştir. Lipit peroksidasyonunu engellediği bildirilmiştir. Vitamin E nin rejenerasyonunu sağlar ve antioksidan etkinliğini artırdığı gözlemlenmiştir (Derviş, 2011). Suda çözünen bir vitamin olan C-vitamini vücut sıvısında genellikle askorbat olarak bulunmaktadır. Kolayca elektron vererek dehidro askorbik asite kendiliğinden okside olur ve superoksit, hidrojen peroksit, hipoklorit, hidroksil radikali, peroksil radikali ve singlet oksijeni süpürücü etki göstermektedir. C-vitamini lipid peroksidasyonunu başlatmadan peroksil radikallerini su fazında inhibe ederek, biyolojik membranları peroksidatif hasardan korumaktadırlar (Gökpınar vd., 2006, Barros vd., 2011).

E vitamini, hücre membranlarında ve dolanan lipoproteinlerde bulunmaktadır. Görevi poliansantüre yağ asitlerinin serbest radikal etkisinden korumaktadır. Lipit peroksidasyonuna karşı C vitamini ile birlikte çalışmaktadır. Minimum gereksinim 12 mg/gün iken 400 mg/gün üstündeki dozlarda ölüm riskinde artış olduğu bildirilmiştir (Traber, 1997; Derviş, 2011). Tokoferoller (E-vitamini), askorbik asit (C-vitamini), karotenoidler, bioflavonoidler ve retinoidler karasal kaynaklı ürünlerde ve alglerde bulunabilen antioksidan bileşikler olarak kabul edilmektedirler. Tokoferollerden insan vücudunda en çok α -tokoferol, daha sonra da γ -tokoferol bulunmaktadır (Gökpınar vd., 2006; Marchese vd., 2014). Koenzim Q-10, endojen sentezlenen, yağda çözünen tüm membranlarda bulunan bir antioksidandır ve E vitamini ile sinerjistik olarak çalıştığı tespit edilmiştir. Lipoik asit, hem suda hem yağda çözünmektedir. Prooksidan metallerle şelat yaparak antioksidan etkisini gösterdiği ileri sürülmüştür. Lipoik asit ve Q enzime ilgili çalışmalarda daha çok kardiyovasküler sistem koruyuculuklarıyla ilgili

olduğu saptanmıştır. Glutasyon, suda cözünen bir antioksidandır. Glisin, glutamat ve sisteinden oluşmaktadır. Ksenobiyotik metabolizmada önemlidir. C vitamini ile sinerjik calışmaktadır. Oral yoldan verilmesinin kan seviyesini etkilemediği gösterilmiştir. Melatonin, Pineal bezde serotonininden sentezlenen bir hormondur. Hem lipit hem aköz cevrede oksidatif hasara karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Redoks sistemine katılmaz, enzimatik antioksidanları aktive etmektedir. SOD, GSH-Px, NO sentetaz aktivite ve ekspresyonunu stimüle etmesi nedeniyle güçlü antioksidan olduğu belirlenmiştir (Derviş, 2011; Aslani ve Ghobadi, 2016).

Metabolizmanın işleyişi sırasında doğal bir proses olan oksidasyon sonucunda, organizmada ceyitli hasarlar yaratan ve kanser, kalp v.b. hayati öneme sahip bazı kronik hastalıkların başlatıcısı olan serbest radikallerin oluşumu, bunlarla mücadele eden antioksidan bileşiklere olan ilgiyi artırmış olup, bu ilgi esas olarak yaşlanma sürecinde ve pek çok hastalığın patojenitesinde Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) yarattığı hasarlara yönelmiştir. İnsanlarda yaşlanma ve kronik hastalıklar karmaşık biyolojik süreçler sonucu oluşmaktadır. ROS'nin hücrede giderek artan bir şekilde oluşturduğu zararlar esas olarak, yaşlı (senescent) hücrelerde telomer erozyonu, genom kararsızlığı, DNA mutasyonları ve gen profillerindeki değişimleri kapsamaktadır (Gökpınar vd., 2006; Choudhari vd., 2014; Schieber ve Chandel, 2014; Pisoschi ve Pop, 2015).

Kimyasal bileşikler iki veya daha çok elementin aralarında kimyasal bağ oluşturması ile meydana gelmektedir. Bu bağlar negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır ve bu elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlamaktadırlar. Kararlı bileşiklerin elektronları çiftlenmiş halde bulunmaktadırlar. Eğer elektron çiftlenmemiş ise molekül daha reaktif ve kararsız duruma geçer ve bir ya da daha fazla sayıda çiftlenmemiş elektrona sahip element veya bileşiklere "serbest radikaller" denmektedir (Gökpınar vd., 2006).

Serbest radikallerin oluşumu organizmada oksijen kullanımı sırasında ortaya çıkmaktadır. Eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller hücrelerin zarar gördüğu reaksiyonlar dizisini başlatmaktadır. Vücutta serbest radikallerin oluşumu katabolik reaksiyonların yanı sıra yağlı diyetler, sağlıksız beslenme,

sigara, ilaç tedavileri, alkol tüketimi, radyasyon, böcek ilaçları ve çevre kirliliği gibi nedenlerle başlamakta ve artmaktadır ve serbest radikaller bağışıklık sistemini zayıflatarak çeşitli hastalıklara ve erken yaşlanmaya neden olmaktadır. Bu bakımdan antioksidanların, hücre koruyucu tedavi ve dejeneratif hastalıklardan korunmada önemli olduğu saptanmıştır. Yapılan araştırmalar, antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin zarar görmesine engel olduklarını ortaya koymaktadır (Gökpinar vd., 2006; Milkovic vd., 2014).

2.4.1. Juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon)

Ceviz ağacı (*Juglans regia L.*) Güneydoğu Avrupa, Asya, Hindistan ve Çin gibi ülkelerde doğal olarak yetişen bir bitkidir. Ülkemizin her bölgesinde ceviz ağaçları doğal olarak yetişebilmektedir. Ceviz meyvesi esansiyel yağ asitleri ve tokoferoller açısından zengindir. Linoleik asit, oleik, linolenik, palmitik ve stearik asit LDL kolesterolün düşmesi ve HDL kolesterolün yükselmesini sağlayarak kalp damar hastalıklarında koruyucu özellik göstermektedir. Buna ek olarak ceviz meyvesi sahip olduğu bitkisel steroller, folat, tanin ve polifenoller gibi maddelerden dolayı beslenme diyetinde çok önemli bir meyvedir (Yiğit vd., 2009). Juglon ceviz ağacının kökünden, yapraklarından ve yeşil kabuğundan elde edilmektedir (Paulsen ve Ljungman, 2005; Ji vd., 2011; Xu vd., 2012). Ceviz yeşil kabuk ve yaprak aksamaları geleneksel tıpta halk arasında damar kuvvetlendirici, kanama durdurucu, antihelmintik, antidiaretik, antifungal, hipoglisemik, hipotansiyon ve sedativ özellikleri ile bilinmekte ve kullanılmaktadır. Özellikle kurutulmuş ceviz yaprağı bazı Avrupa ve Asya ülkelerinde kırsal kesimlerde çay şeklinde yaygın olarak tüketilmektedir. Yeşil kabuk ve yaprak aksamaları fenolik maddeler ve favonoidler açısından oldukça zengindir. Bu fitokimyasallar oksidatif stresi indirgeyerek ve makromoleküler oksidasyonu engelleyerek dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etki sağlamakta ve serbest radikal giderici etkileri de anti-kanserojenik özellik göstermektedir. En iyi bilinen etken madde yeşil genç yapraklarda fazla miktarda bulunan juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon) maddesidir ve bu madde çok güçlü antioksidan ve antimikrobiyal özelliğe sahiptir. Farklı çalışmalarla cevizin özellikle ağaç kabuğu, yaprak, yeşil meyve kabuğu ve juglon maddesinin antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir (Pereira vd., 2007; Oliveira vd., 2008; Yiğit vd., 2009).

Juglonun farklı dozları kolon kanseri hücre HT29 hatlarına uygulandığında apoptotik/nekrotik etkiye sebep olmaktadır (Paulsen ve Ljungman, 2005). Son yapılan çalışmalarda juglon ile uyarılmış akciğer kanseri hücreleri, kolon kanseri ve keratonosit HaCaT kanser hücrelerinde apoptozun meydana geldiği bildirilmiştir. Lösemili HL-60 kanserli hücrelerde juglon apoptotik etki oluşturmaktadır (Xu vd., 2010). Juglon cevizin yeşil kabuğundan ve yapraklarından elde edilen önemli bir doğal bileşendir. Son çalışmalarda juglon maddesinin anti kanser, anti bakteriyel ve anti-viral etkisi olduğu gösterilmiştir (Paulsen ve Ljungman, 2005; Yiğit vd., 2009; Ji vd., 2011; Kwiecinski vd., 2012; Xu vd., 2010; 2012; 2013). Prostat LNCaP kanseri hücrelerinde juglon apoptotik etki oluşturmaktadır (Xu vd., 2013). İnsan mide kanserinde SGC-7901 cevizden ekstrakte edilen juglonun apoptozun farklı mekanizmaları ile kanserli hücreleri öldürdüğü bildirilmiştir (Xu vd., 2012). Ji ve ark., (2011) tarafından yine mide kanserinde SGC-7901 juglonun 5, 10, 15, 20 Mmol/L farklı dozlarının hepsinde apoptotik etkinin olduğu ancak 20 Mmol/L dozda etkinin daha fazla olduğu belirtilmiştir. Ratlarda azoksimetanın etkisiyle oluşan bağırsak kanseri tümörlerine farklı dozlarda ve kombinasyonlarda juglon ve plumbagin uygulanması sonucu kontrol grubuna göre tümörde küçülme olduğu gözlenmiştir (Sugie vd., 1998).

Bu tez çalışmasında 50 Hz elektrik alanın ratların beyin dokusunda oluşturduğu etkiler immunohistokimyasal olarak, kan dokusunda oluşturduğu etkiler biyokimyasal, fizyolojik ve comet yöntemi ile değerlendirildi. 50 Hz elektrik alan uygulaması günlük 21 saat boyunca 30 gün süresince gerçekleştirildi. Gruplardan birine 50 Hz elektrik alan uygulamasının yanı sıra juglon antioksidanı verildi. Bu konuyu seçmemizdeki amaç 50 Hz elektrik alanın etkilerinin henüz tam olarak bilinmemesinden kaynaklanmaktadır. Bu çalışma ile 50 Hz elektrik alanın beyin dokusunda oluşturduğu hasar ve bu hasarı önlemede juglon antioksidanın etkisi histolojik, fizyolojik ve moleküler düzeyde ayrıntılı olarak belirlendi.

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

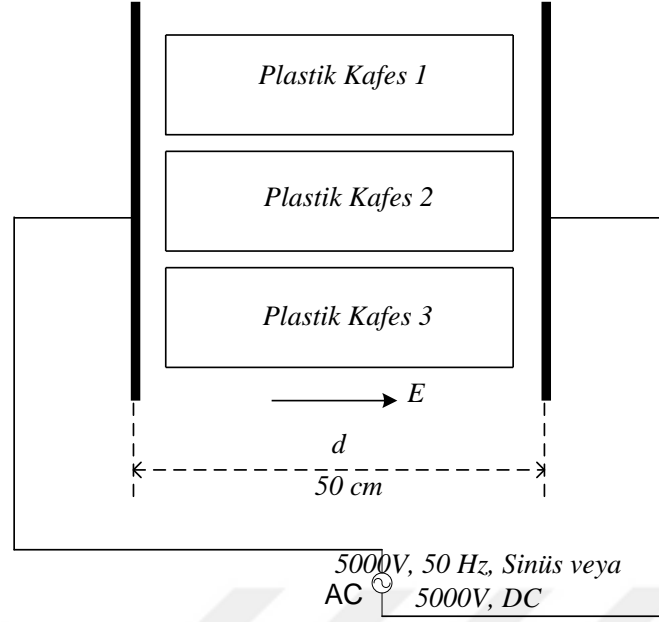
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar

Bu çalışmada Wistar albino 24 adet genç rat (250-300 g) kullanıldı. Çalışmalar için Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Biriminden etik izin (21438139-267 nolu karar) alındı. Tüm hayvanlara deney süresince Deney Hayvanları Laboratuvarında standart koşullarda bakıldı. Ratlar EA (Elektrik alan) ve EA+Juglon (EA+JUG) ve Kontrol olarak rastgele üç gruba ayrıldı. EA ve EA+JUG gruplarına 30 gün boyunca 21 saat/gün elektrik alan uygulandı. Bu süre içinde EA+JUG grubuna elektrik alan uygulaması ile birlikte Juglon (JUG) antioksidan madde gavaj yöntemi ile verildi. Çalışma grupları aşağıdaki şekilde oluşturuldu.

- I. grup: Kontrol grubu. Elektrik Alana maruz kalma ve gavaj uygulaması olmayan ratlar (8 rat)
- II. grup: EA grubu. Elektrik Alana maruz kalan grup (8 rat)
- III. grup: EA+JUG grubu. Elektrik Alana maruz kalma ve 1 ml 300 ppm'lik Antoksidanın (juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon) gavaj yöntemi ile uygulanan grup (8 rat)

3.2. EA Oluşturulması

Çalışmada kullanılan AC 50 Hz için Anderson ve arkadaşlarının kullandıkları metodoloji takip edilmiştir (Anderson ve Morris, 2001). Deney, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Biriminde gerçekleştirilmiştir. Güç ölçümü Süleyman Demirel Üniversitesi, Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği öğretim üyeleri tarafından yapılmış ve ölçümler yapılırken IEEE standartları baz alınmıştır. Odaya cep telefonu veya ortamı etkileyecek herhangi bir cihaz ile girilmemiştir. Kontrol grubu ise yine aynı oda içerisinde ama elektrik alandan uzak sayılabilecek bir bölgede tutulmuştur.



Şekil 3.1. Sıçanlara uygulanan maruziyet düzeneği

Düzgün ve homojen elektrik alan; 1x0.5 m boyutlarında birbirlerine bakan yüzleri tamamen düzgünleştirilmiştir. Yana yatık yerleştirilmiş mükemmel iletken plakalar ve alanın yeterince düzgün olması için; uçları plakaların tam ortasında plakalar delinmeden kaynatılmış, paslanmaz civatalarla irtibatlandırılmış AC 50 Hz, 5000 V'luk güç transformatörü yardımıyla oluşturulmuştur. Plakaların boyutları yeterli düzgün elektrik alanı verebilecek kadar büyük seçilmiştir. Kafesin hacmi 40x50x20 cm³ (w_xl_xh) boyutlarındadır. Seçilen plakalar; çalışılan konu itibariyle, kullanılan ve araştırılan materyale göre oldukça büyüktür. Bu büyüklükteki plakalar, yeterli düzgünlükteki elektrik alan çizgilerini verebilmektedir. Köşe etkilerini de ihmal edildiği takdirde plakalar arasındaki bu alan oldukça düzgündür.

Kafes boyutları hayvanların sağlıklı ve uzun süreli yaşamları için hesaplanmıştır. Kafeslerin eni 50 cm olup, sulama aparatları da homojen elektrik alan çizgilerini bozmayacak şekilde plastik veya cam seçilmiştir. Uygulanan elektrik alanın homojenliğinin bozulmaması için, kafeslerin temizliği her gün yapılarak ortamın sıcaklık ve nem değerleri kaydedilmiştir.

Plakalar arasında oluşan E alanı için;

$$E = \left(\frac{V}{d}\right)y \quad (1)$$

Burada V plakalar arasında oluşan elektrik gerilimi, d aradaki uzaklık, E elektrik alan yoğunluğu ve y de yatay vektördür (Plakadan plakaya eksen, maksimum indüklenen eksen). Eşitlik (1)'den görüldüğü üzere, plakalar arasındaki elektrik alan yoğunluğu, 5000 Volt/0.5 metre ya da $E_{rms}=10000 \text{ V/m}=10 \text{ kV/m}$ 'dir.

Böylece;

$$E_{loc} = \frac{E}{\epsilon_r} \quad (2)$$

Burada E dış ve E_{loc} içerideki alandır.

Güç frekanslarında; sıçanlar için kabul edilen dielektrik sabiti ϵ_r , 10^6 'dır. Eşitlik (2)'den,

$$E_{loc} = 10 \times 10^{-3} (\text{V} / \text{m}) = 10 \text{mV/m} \quad (3)$$

ϵ_r ; frekansa bağımlı olduğundan, sinüs dalga tarafından belirlenir. ϵ_r bu alandaki kuvvetleri belirleyen önemli bir parametredir. Güç frekanslarında (50 Hz) dielektrik sabiti, 10^6 civarındadır. Sıçanlar için lineer dielektrik sabiti, yüz milyonlar seviyesindedir (Polk, 1995).

Canlı hücrenin sonlu membran potansiyelinin; yüksek polarize olabilirliği özelliğinden dolayı, zar üzerine anlamlı kuvvetler etki eder. İlâveten dielektrik tepkiler nonlinear olmaktadır ve hücrenin metabolik durumlarına etkilemektedir



Şekil 3.2. Elektrik alan deney düzeneği

3.3. Vücut Ağırlıkları

Deneysel grupların her birinde deney öncesi vücut ağırlıkları alındı. Denemenin başlamasından itibaren haftalık olarak ağırlık takibi bir ay boyunca gerçekleştirildi. Sonuçların değerlendirilmesinde, deney grupları ve kontrol grubu arası farkın anlamlılığının test edilmesinde Paired Samples T testi kullanılmıştır.

3.4. Vücut Isısı

Deneysel grupların her birinde deney öncesi vücut ısıları ölçüldü (Infrared Termometre). Denemenin başlamasından itibaren haftalık olarak vücut ısı takibi bir ay boyunca gerçekleştirildi. Sonuçların değerlendirilmesinde, deney grupları ve kontrol grubu arası farkın anlamlılığının test edilmesinde Paired Samples T testi kullanılarak karşılaştırıldı.

3.5. Kan Örneklerinin Alınması

30 günlük deneyin tamamlanmasının ardından 24 saat sonra tüm ratlardan ketamin-ksilazin anestezisi altında beyin dokusu çıkarılmadan önce hızlı bir şekilde kan alım işlemi gerçekleştirildi (5-8 ml.). Kan örneklerinde tam kan ve biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

3.6. Doku Örneklerinin Hazırlanması

30 günlük deneyin tamamlanmasının ardından 24 saat sonra tüm ratlar ketamin-ksilazin anestezisi altında diseksiyon işlemi ile beyin dokusu çıkarılıp ve %10 formaldehitte 48 saat bekletildi. Ardından bir gece akan musluk suyu altında yıkamaya alındı. Rutin histolojik takip işlemlerinin ardından dokular parafine gömüldü. Mikrotom yardımıyla (Leica RM2125) beyin dokusundan 5-6 µm kalınlığında kesitler alınarak örnekler lizinli lamlara yerleştirildi.

3.7. Histopatolojik İncelemeler

5-6 µm kalınlığında alınan beyin dokusuna ait kesitler ilk olarak ksilol-alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra distile sudan geçirilip Luxol Fast Blue solusyonunda 2 saat 60 °C'de etüvde inkübe edildi. %95'lik alkolden geçirilip distile suda yıkandı. Lithium carbonate solusyonunda oda ısısında 20 dk. bekletilen örnekler %70'lik alkolde bekletilip distile suya alındı. Örnekler Cresyl Violet solusyonunda oda ısısında 2-5 dk. tutuldu. Distile sudan hızlıca geçirilen preparatlar alkol ve ksilol serilerinden geçirilip entellan ile kapatıldı (Bancroft 1996). Leica DM 500 ışık mikroskobunda incelenen preparatlarda nöronların sayım işlemi gerçekleştirildi. Grupların nöron sayılarının normal dağılımda olup olmadığını anlamak için Kolmogrov-Smirnov testi yapılarak, normal dağılımda olduğu belirlendi. Gruplar arası anlamlı farklılığı belirlemek için parametrik testlerden Tukey testi uygulandı.

3.8. İmmünohistokimyasal İncelemeler

Beyin dokusunda apoptotik hücreler tnf-α ve kaspaz-3 antikoları kullanılarak Streptavidin Peroxidase İmmünohistokimyasal Yöntemi (Bancroft, 1996) ile belirlendi. Polylyzinli lamlara alınan örneklerde ilk olarak deparafinize edilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline) ile yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksit solüsyonu ile 5 dakika muamele edildi. PBS ile 3x5 dakika yıkanan dokular, antijenik reseptörlerin açığa

çıkarılması amacıyla 1 M'luk sodyum sitrat solüsyonu (pH 6.0) içerisinde 12 dakika mikrodalga fırında bekletildi. Birkaç defa PBS ile yıkanan doku kesitleri, spesifik olmayan antikor bağlanmasını engellemek amacıyla, 5 dakika Ultra V Block solüsyonu uygulandıktan sonra primer antikorlar tnf- α , kaspaz-3 ile 60 dk. nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulamasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Polyvalent) ile 30 dk. nemli ortamda oda ısısında bekletildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara DAB Substrate Kit solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Hazırlanan preparatlar Leica DM 500 mikroskopunda incelenip değerlendirildi ve fotoğraf çekim işlemi gerçekleştirildi.

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (0:Yok, +1:Az, +2:Orta, +3:Şiddetli). Gruplar arası anlamlı farklılığı belirlemek için non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis yöntemi uygulandı.

3.9. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini

Comet Assay tekniği hücre düzeyinde DNA hasarını saptamak ve miktarını belirlemek için uygulanan non-invaziv, hızlı ve hassas bir floresan mikroskopik yöntemdir. Yaşlanma, moleküler epidemiyoloji, klinik ve genetik toksikoloji alanların da önemli uygulamaları olan "Comet Assay" son yıllarda giderek artan bir sıklıkta apoptoz, oksidatif stres, antioksidan çalışmalarında da yer almıştır (Ostling ve Johanson, 1984; Higami vd., 1994; Kaya vd., 2006; Dinçer ve Kankaya, 2010).

Mikroskop lamı üzerindeki agaroz jel içine gömülen hücreler, zarların parçalanıp nükleusta bulunan DNA sarmallarının serbestleşmesi için lizis işlemine tabi tutulur. Alkali ortamda DNA sarmalları gevşer, açılır ve kırıklar ortaya çıkar. Daha

sonra elektroforez etkisi ile kırılmış DNA zincirleri göç ederek kuyruklu yıldız görüntüsü oluşturur. Lizis aşamasından sonra bütün işlemler karanlık ortamda yapıldı.

3.9.1. Slaytların hazırlanması

Etüv ısısı 50°C ayarlanarak lamlar ısıtıldı. Fosfat tamponu (PBS) %1'lik normal kaynama dereceli agaroz (NMA) ile kaynatılarak agaroz hazırlandı. Hazırlanan agaroz tüpü bir beher içine konularak iyice şeffaflaşmaya kadar eritildi. Polimerleşmesini önlemek için sıcak su içinde tutuldu. 200 µl NMA lam üzerine alındı ve lamlar kurumaya bırakıldı.

3.9.2. Hücrelerin jele gömülmesi

Hücreler jele gömülmeden önce PBS tamponu ile düşük kaynama dereceli agaroz (LMA) hazırlandı ve 37°C su banyosu içine alındı. Tam kan örnekleri -20°C'den çıkartılarak 37°C su banyosuna alındı. 20 µl tam kan ile 150 µl LMA 37°C'de karıştırıldı. Hazırlanan örnekten 140 µl alınarak NMA'lı lam üzerine damlatıldı, üzeri lamelle kapatıldı ve +4°C'de 20 dk bekletildi.

3.9.3. Lizis aşaması

Lizis solüsyonu hücre ve çekirdek zarını parçalayarak DNA sarmallarının agaroz içinde serbest kalmasını sağlamak amacıyla kullanılır. Lamlar, en az 30 dakika önceden hazırlanıp buzdolabında bekletilen soğuk lizis çözeltisine daldırılarak 1 saat süreyle buzdolabında bekletildi.

3.9.4. Elektroforez tamponu

Lizis çözeltisinden çıkarılan lamlar elektroforez tankına yerleştirildi ve lamların üzerini kaplayacak şekilde elektroforez tamponu yavaşça tanka boşaltıldı. Hazırlanmış olan preparatlar elektroforez öncesinde yüksek alkali özellikteki (pH>13) elektroforez tamponunda 30 dk inkübe edildi. Böylece alkali tampon

içerisinde çekirdekteki çift sarmal DNA'nın, zincir kırıklarının bulunduğu noktalardan açılması sağlandı.

3.9.5. Elektroforez

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra elektroforez 25 V, 300 mA akım'da 25 dk süre içinde gerçekleştirildi. Elektrik akımı uygulandığı zaman, DNA parçaları anoda doğru hareket ederek bir kuyruklu yıldız görüntüsü verir. Hasarsız DNA ise çekirdekten çıkamaz.

3.9.6. Nötralizasyon

Alkali ortamda elektroforezden sonra, lamlar pH 7,5 olan nötralizasyon tamponu içinde 10 dk bekletildi. Nötralizasyondan sonra lamların boyanma işlemine geçildi.

3.9.7. Boyama

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra lamlar karanlık ortamda oda ısında 1 saat kurumaya bırakıldı. Boyama işlemi için etidyum bromür kullanıldı. Etidyum bromürden 50 µl alınarak lam üzerine damlatıldı 15 dk bekledikten sonra örnekler floresan mikroskobunda incelendi. Her örnek için 100 adet DNA görüntüsü incelendi.

3.9.8. Değerlendirme

Her numune için hazırlanan bir preparattan 100 hücre seçilerek floresans mikroskobunda (Olympus BX50, Japonya) 40X büyütme ile incelendi. Görsel olarak değerlendirilen hücrelerde oksidatif DNA hasarı düzeyi kuyruk uzunlukları göz önüne alınarak 5 kategoriye ayrıldı; hiç hasar bulunmayan hücreler 0, az hasarlı hücre 1, orta hasarlı hücre 2, çok hasarlı hücre 3, ileri derecede hasarlı hücre 4 olarak değerlendirildi. DNA hasarının şiddetine göre her örnek için toplam comet skoru oluşturuldu.

3.10. Oksidan ve Antioksidan Enzim Yöntemleri

Beyin dokusundan alınan örnekler, doku ağırlığının 9 katı fosfat tamponu ile birlikte homojenizatörde sonra sonikatörde parçalandı. Tüpler santrifüj edilerek elde edilen numuneler ependorf tüpler içine konuldu. MDA, SOD ve CAT analizleri için -20°C'de saklandı.

3.10.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Saptanması

Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan MDA ölçümü için Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi kullanıldı. Örnekler önce trikloroasetik asit (TCA) eklendi, vortekslendi, 15 dk kaynatıldı sonra 10 dk santrifüj edildi. Daha sonra hazırlanan bu örnekler tiyobarbitürik asit (TBA) eklenerek tekrar kaynatıldı. MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturdu. Elde edilen örneklerin spektrofotometrede 532 nm'de (Shimadzu UV-1601, Almanya) absorbans ölçümleri yapıldı. MDA sonuçları nmol/gr.Hb olarak verildi ve aynı örneklerden elde edilen standart absorbans değerleri ile hesaplandı (Draper ve Hadley, 1990).

3.10.1.1. MDA ölçümü için kullanılan reaktifler

1. %40'lık etanol
2. TEP (1,1,3,3-Tetraethoxypropane)
3. % 10'luk Trikloroasetik asit
4. % 0.67'lik Tiyobarbitürik asit

3.10.1.2. Dokuda protein tayini

Homojenize edilen örneklerin süpernatantlarında mikroprotein düzeyleri Bradford Yöntemi ile manuel spektrofotometre ile ölçüldü (Bradford,1976). Standartların absorbans değerleri ile oluşturulan optik dansite-konsantrasyon grafiği çizildi ve tüm numuneler bu standart grafiğe göre hesaplandı. Sonuçlar mikroprotein düzeyine bölünerek dokuda enzim aktivitesi olarak verildi.

3.10.1.3. Protein ölçümü için kullanılan reaktifler

1. Commassia Brilliant Blue G-250 renk reaktifi
2. Sığır serum albümini

3.10.2. Katalaz (CAT) düzeyinin saptanması

CAT aktivitesi Aebi yöntemine göre çalışıldı. Yöntem, CAT'ın H₂O₂ (hidrojen peroksit) su ve moleküler oksijene dönüştürmesi sırasında harcanan H₂O₂'in absorbansının 240 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır (Aebi, 1984). Önce pH 7,0 olan birinci reaktif hazırlandı. Daha sonra H₂O₂ ve birinci reaktiften alınan miktarlarla ikinci reaktif hazırlandı. Doku örneği, birinci reaktif ve ikinci reaktif karıştırılarak 0. sn ve 30. sn'lerdeki absorban değerlerine bakıldı CAT sonuçları U/mg protein olarak verildi.

3.10.2.1. CAT ölçümü için kullanılan reaktifler

1. pH 7,0 50 mM fosfat tamponu
2. %30'luk Hidrojen peroksit

3.10.3. Süperoksit Dismutaz Düzeyinin (SOD) saptanması

SOD aktivitesi, Olympus AU 2700 (Japonya) marka otoanalizöre applike, Randox marka ticari kit kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü. Yöntemin prensibi, ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyon sonucunda ksantinden ürik asit ve O₂⁻ radikali oluşumuna ve bunu takiben oluşan O₂⁻ radikalinin de kırmızı renkli formazon bileşiği oluşturmak üzere INT (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5 phenil tetrazolium chloride) ile reaksiyona girmesine dayanır. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür. SOD aktivite değerleri, 1 mg protein şeklinde ifade edilmiştir (Sun vd., 1988).

3.10.3.1. SOD ölçümü için kullanılan reaktifler

1. 0.3 mM Ksantin
2. 1 M sodyum hidroksit
3. 0,6 mM etilendiamintetraasetik asit disodyum tuzu (Na_2EDTA)
4. Nitroblue tetrazolium
5. Sodyum karbonat
6. 1 g/L sığır serum albümini
7. 167 U/L ksantin oksidaz
8. 2 M amonyum sülfat



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Vücut Ağırlık Ölçüm Sonuçları

Çalışmamızda 30 gün boyunca ağırlıkları haftalık olarak alınan Wistar albino cinsi ratların vücut ağırlıklarının normal dağılımda olup olmadığını anlamak için Kolmogrov-Smirnov testi yapılarak, normal dağılımda olduğu tespit edildi. Daha sonra Paired Samples T testi kullanılarak grupların deneme başlamadan önceki ilk ölçümleri ile haftalık ölçümleri arasında anlamlı farklılık olup olmadığı ($P<0.05$) değerlendirildi. EA, EA+Juglon ve Kontrol gruplarında 4. haftanın sonunda yapılan ölçümlerde ilk ölçüme göre anlamlı farklılık olduğu gözlemlendi. EA+Juglon grubunda birinci ve ikinci haftanın sonunda, kontrol grubunda ise birinci haftanın sonunda da anlamlı farklılık saptanmıştır. Genel olarak EA, EA+Juglon ve Kontrol gruplarında ilk ölçüm ile haftalık ölçümler arasında farklılık olmasından dolayı ratlardaki vücut ağırlığındaki azalış EA etkisi ile olmadığı sonucuna varılmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Grupların Vücut Ağırlıklarının Paired Samples T Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi ($p<0.05$)

Gruplar		P değeri	Mean	Std. Error Mean
EA	İlkölçüm-Hafta 1	0,087	312,625-306,125	3,995-3,642
	İlkölçüm-Hafta 2	0,146	312,625-307,875	3,995-4,344
	İlkölçüm-Hafta 3	0,174	312,625-317,125	3,995-4,413
	İlkölçüm-Hafta 4	0,011	312,625-322,500	3,995-4,208
EA+JUGLON	İlkölçüm-Hafta 1	0,004	334,000-325,875	2,927-3,597
	İlkölçüm-Hafta 2	0,031	334,000-327,625	2,927-3,863
	İlkölçüm-Hafta 3	0,728	334,000-333,125	2,927-3,136
	İlkölçüm-Hafta 4	0,025	334,000-338,625	2,927-3,240
Kontrol	İlkölçüm-Hafta 1	0,032	370,125-362,250	6,136-7,724
	İlkölçüm-Hafta 2	0,440	370,125-367,000	6,136-8,742
	İlkölçüm-Hafta 3	0,901	370,125-370,625	6,136-8,823
	İlkölçüm-Hafta 4	0,011	370,125-379,875	6,136-7,987

4.2. Vücut Isısı Ölçüm Sonuçları

Çalışmamızda 30 gün boyunca vücut sıcaklığı haftalık olarak alınan ratların vücut ısılarının Kolmogrov-Smirnov testi ile normal dağılımda olduğu belirlendi. Daha sonra Paired Samples T testi kullanılarak grupların deneme başlamadan önceki ilk ölçümleri ile haftalık ölçümleri arasında anlamlı farklılık olup olmadığı ($P<0.05$) değerlendirildi. Grupların vücut ısı ölçüm sonuçları arasında ilk ölçüm ile haftalık ölçüm arasında anlamlı farklılığın tüm gruplarda olması elektrik alanın vücut sıcaklığı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını göstermiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Grupların Vücut Isılarının Paired Samples T Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi ($p<0.05$)

Gruplar		P değeri	Mean	Std. Error Mean
EA	İlkölçüm-Hafta 1	0,163	30,600-29,500	0,463-0,307
	İlkölçüm-Hafta 2	0,022	30,600-29,175	0,463-0,261
	İlkölçüm-Hafta 3	0,012	30,600-28,800	0,463-0,384
	İlkölçüm-Hafta 4	0,022	30,600-28,575	0,463-0,517
EA+JUGLON	İlkölçüm-Hafta 1	0,037	30,862-29,762	0,362-0,265
	İlkölçüm-Hafta 2	0,158	30,862-29,862	0,362-0,527
	İlkölçüm-Hafta 3	0,248	30,862-30,137	0,362-0,494
	İlkölçüm-Hafta 4	0,007	30,862-28,587	0,362-0,446
Kontrol	İlkölçüm-Hafta 1	0,004	31,125-28,912	0,355-0,217
	İlkölçüm-Hafta 2	0,012	31,125-30,287	0,355-0,341
	İlkölçüm-Hafta 3	0,008	31,125-29,375	0,355-0,355
	İlkölçüm-Hafta 4	0,001	31,125-27,987	0,355-0,595

4.3. Biyokimyasal Bulgular

Deneyimizin bitiminde gruplardan alınan kanlarda biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı. Kolmogrov-Smirnov testi yapılarak grupların biyokimyasal parametrelerinin, normal dağılımda olduğu belirlendi. Gruplar arası anlamlı farklılığı belirlemek için parametrik testlerden Tukey testi uygulandı. Gruplar arasında Glukoz, ALT, Direkt Bilirübin, BUN biyokimyasal parametrelerinde anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Üre, AST ve İndirekt bilirubin biyokimyasal parametreleri ise gruplar arasında

anlamli bir farklılık göstermektedir ($p<0.05$) (Çizelge 4.3). 50 Hz elektrik alanının bu parametreler üzerinde olumsuz etkisi olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Grupların Biyokimyasal Değerlerinin Tukey Test Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi ($p<0.05$)

Biyokimyasal	EA	EA+Juglon	Kontrol	P değeri
Glukoz	200,658±23,155	241,761±30,186	261,947±11,757	0,164
Üre	0,108±0,124	0,943±0,012	0,133±0,106	0,030
AST	167,738±10,153	140,172±7,178	102,586±7,253	0,000
ALT	64,107±3,810	61,114±4,279	54,698±5,812	0,155
D. Bil.	0,040±0,005	0,0350±,003	0,036±0,003	0,753
İnd. Bil.	0,068±0,014	0,058±0,008	0,975±0,041	0,022
BUN	26,285±1,062	24,714±0,944	23,500±0,779	0,126

4.4. Tam Kan Bulguları

Çalışmamızda 30 günlük deneyimizin sonunda gruplardan alınan kanlarda tam kan parametreleri değerlendirildi. Grupların tam kan parametrelerinin normal dağılımda olup olmadığını anlamak için Kolmogrov-Smirnov testi yapılarak, normal dağılımda olmadığı belirlendi. Bu yüzden gruplar arası anlamlı farklılığı belirlemek için Nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis testi uygulandı. WBC (Lökosit miktarı), HGB (Hemoglobin miktarı), HCT (kırmızı kan hücrelerinin kandaki hacim yüzdesi), PLT (Kan pulcukları), RBC (eritrosit miktarı), MCV (kırmızı kan hücrelerinin büyüklüğü), MCH (her bir kırmızı kan hücresindeki ortalama hemoglobin miktarı) tam kan parametreleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı, p değerinin $p>0.05$ olduğu tespit edildi (Çizelge 4.4). Çalışmamızda kullandığımız 50 Hz elektrik alanının tam kan parametreleri üzerine olumsuz bir etkisi olmamıştır.

Çizelge 4.4. Grupların Tam Kan Değerlerinin Kruskal-Wallis Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi (p<0.05)

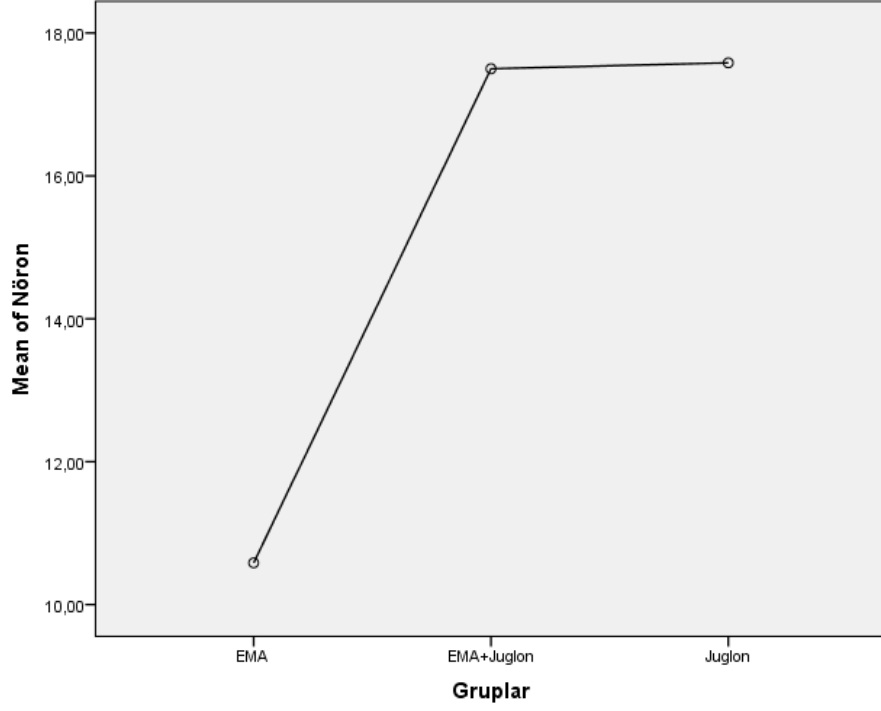
TAM KAN	EA	EA+Juglon	Kontrol	P değeri
WBC	1,466±0,817	1,675±0,425	1,457±0,419	0,956
HGB	14,666±1,383	14,200±0,192	13,885±0,247	0,477
HCT	47,566±5,261	43,550±0,771	43,200±0,922	0,223
PLT	430,333±108,728	771,000±45,910	759,000±16,567	0,985
RBC	6,093±1,766	8,003±0,124	7,908±0,161	0,053
MCV	56,700±1,442	54,400±0,380	54,628±0,753	0,121
MCH	20,333±2,018	17,737±0,187	17,585±0,233	0,984

4.5. Histopatolojik Bulgular

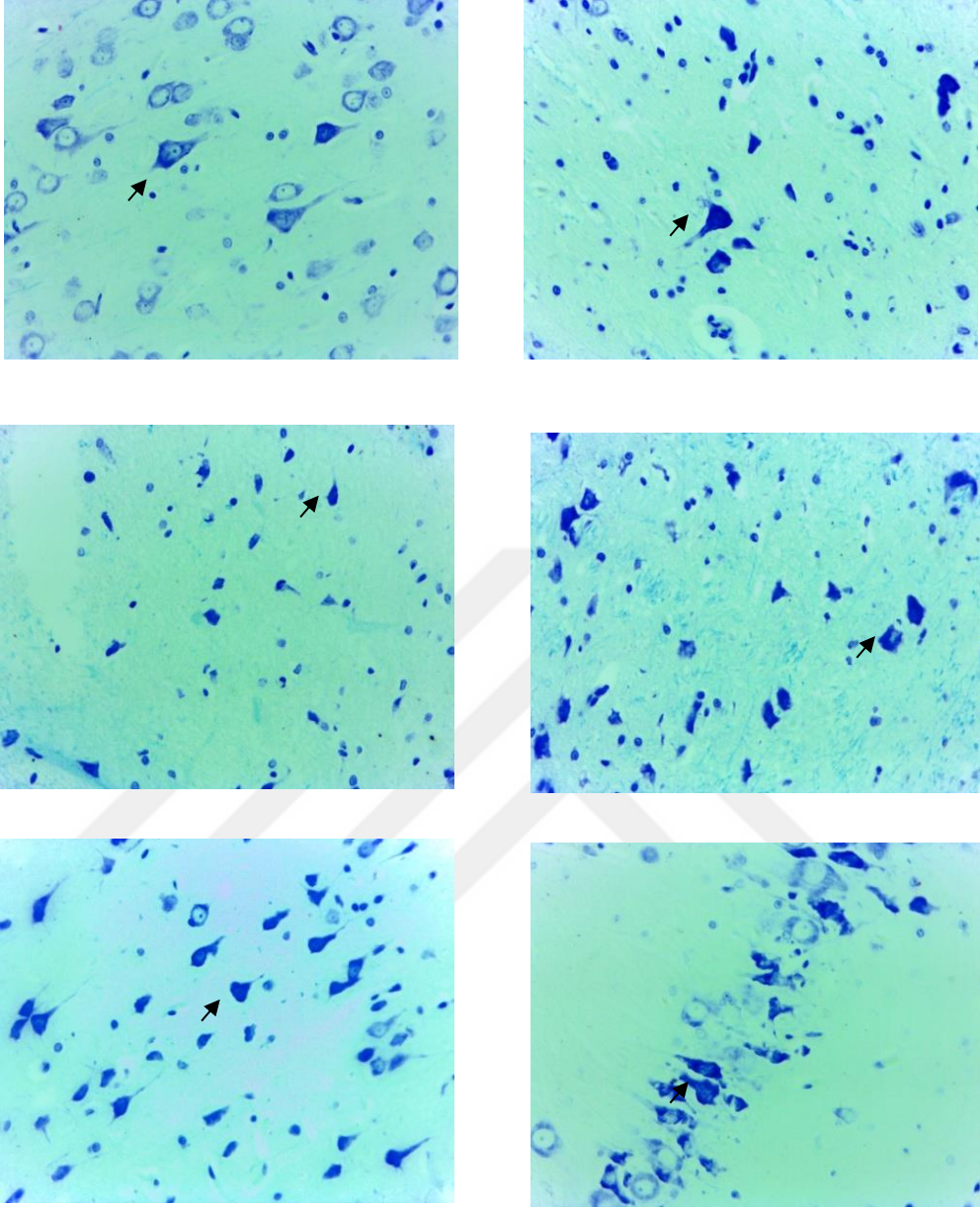
Beyin dokusunda oluşabilecek hasarlar 0'dan +3'e kadar (0:Yok, +1:Az, +2:Orta, +3:Şiddetli) sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı. Nöronlarda dejenerasyon seviyesi, nöroglia hücrelerinin zarar görmesi, boşluklar ve otofajik vakuoller, ödem, konjesyon açısından gruplar kıyaslandığında EA grubunda +1 (Az) seviyesinde hasarlar tespit edilirken EA+Juglon ve Kontrol Gruplarında herhangi bir hasar tespit edilemedi (0:Yok). EA grubunda beyinde özellikle kortikal bölgedeki nöronlarda dejenerasyonlar, vakuolizasyonlar ve az seviyede ödem tespit edilirken konjesyon gözlenmedi. Kontrol ve EA+Juglon gruplarında yer alan ratların beyin dokusunda kortikal bölgede yer alan nöronların morfolojik açıdan normal sayıda ve görünümde oldukları saptandı. Ayrıca hipokampal bölgedeki nöronların da normal histolojik yapıda oldukları tespit edildi. Luxol Fast Blue -Cresyl Violet Boyamasına göre EA, EA+Juglon ve Kontrol gruplarının nöron sayıları bakımından kıyaslaması istatistiksel olarak yapıldı (Şekil 4.5.1). EA grubundaki ratların nöron sayısında belirgin bir azalma dikkat çekmekteydi (Şekil 4.2). EA+Juglon ve Kontrol gruplarının nöron sayıları birbirine yakındı (Şekil 4.3.a; Şekil 4.3.b). Grupların nöron sayılarının normal dağılımda olup olmadığını anlamak için Kolmogrov-Smirnov testi yapılarak, normal dağılımda olduğu belirlendi. Gruplar arası anlamlı farklılığı belirlemek için parametrik testlerden Tukey testi uygulandı. Buna göre gruplar arası farklılık anlamlı tespit edildi (p<0.05) (Çizelge 4.5). Bu anlamlı farklılık EA grubundan kaynaklanırken, EA+Juglon grubu ile Kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi.

Çizelge 4.5. Grupların Nöron Sayılarının Tukey Test Yöntemiyle İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi ($p < 0.05$)

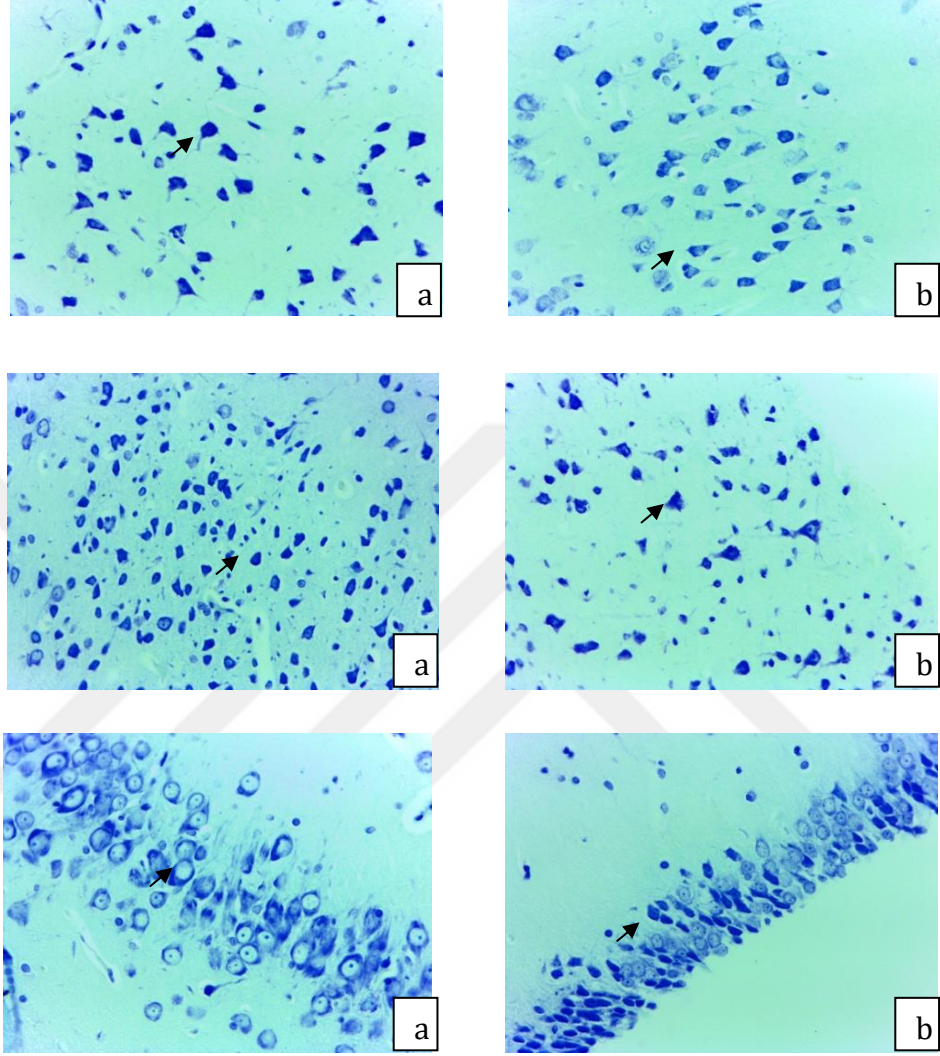
Gruplar	EA	EA+Juglon	Juglon	P değeri
Nöron Sayıları	10,583±0,633	17,500±0,596	17,583±0,652	0,000



Şekil 4.5.1. Grupların Nöron Sayılarının İstatistiksel Grafiği



Şekil 4.2. Elektrik alan grubunda nöronlar, Luxol fast blue-cresyl violet boyaması,
X40



Şekil 4.3.a. Elektrik alan+Juglon grubunda nöronlar, b. Kontrol grubunda nöronlar, Luxol fast blue-cresyl violet, X40

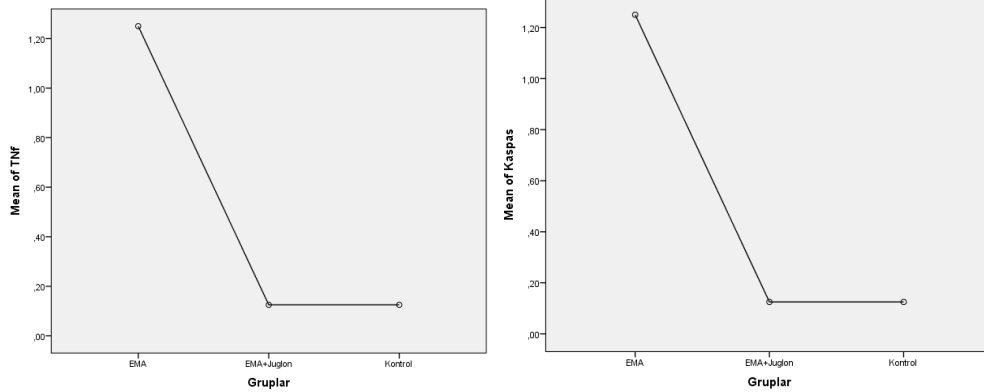
4.6. İmmunohistokimyasal Bulgular

Sitoplazmik immün boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (0:Yok, +1:Az, +2:Orta, +3:Şiddetli). Kaspaz 3 ve tnf- α immün pozitif hücre yoğunluğu her grubun 8 ratında tek tek skorlandığında EA grubunda 2 rata ait preparatda +2 (Orta) düzeyde yoğunluk saptanırken, diğer 6 ratın beyin dokusunda +1 (Az) seviyesinde immün pozitif hücre yoğunluğu

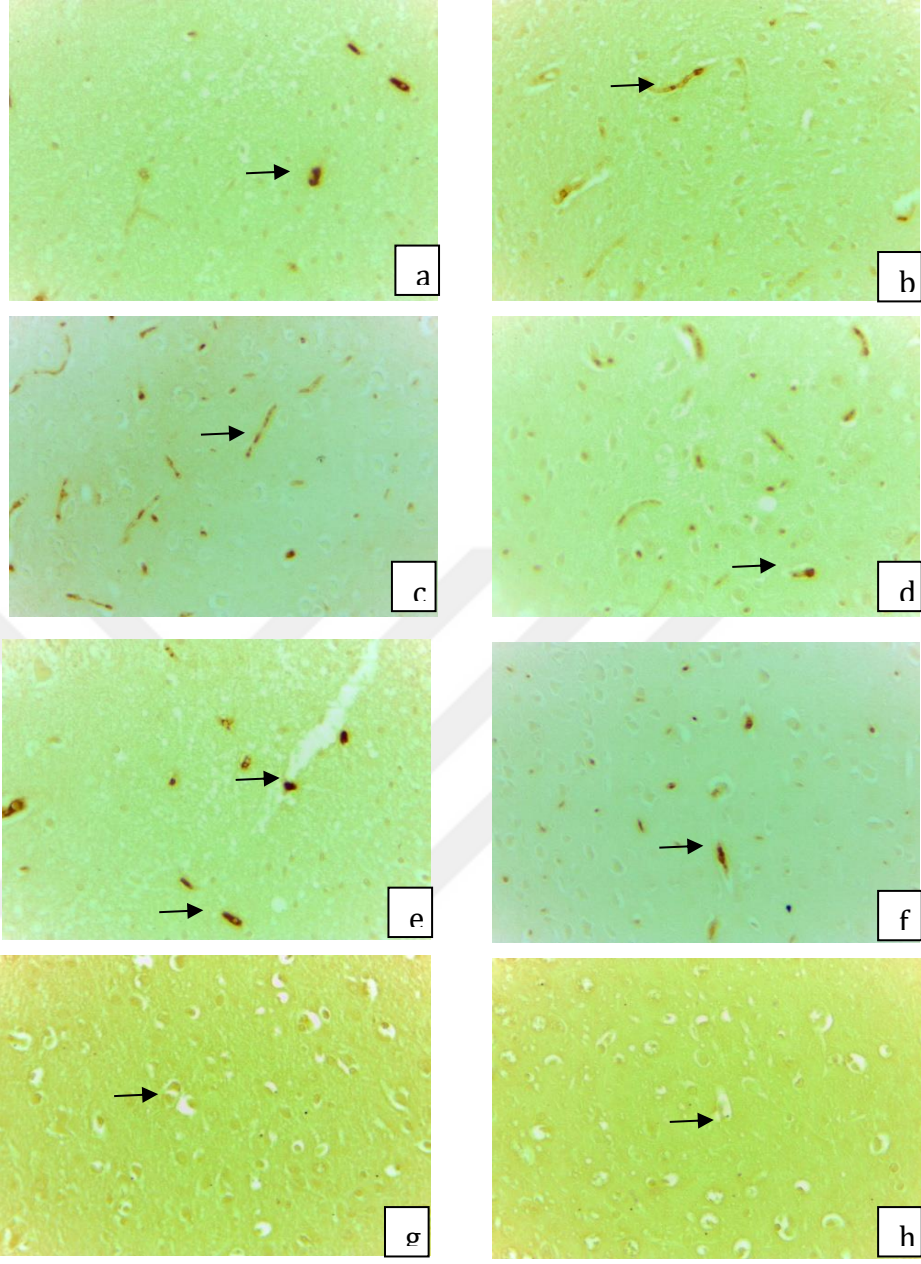
tespit edildi (Şekil 4.5.a,b,c,d,e,f; Şekil 4.6.a,b,c,d,e,f). EA+Juglon ve Kontrol gruplarında ise immün pozitif boyanmanın neredeyse yok denecek kadar az olduğu saptandı (Şekil 4.5.g,h; Şekil 4.6.g,h). Gruplar arası anlamlı farklılığı belirlemek için non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis yöntemi uygulandı. Buna göre gruplar arası farklılık anlamlı tespit edildi ($p < 0.05$). Bu anlamlı farklılık EA grubundan kaynaklanırken, EA+Juglon grubu ile Kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi. Kaspaz 3 ve tnf- α immün pozitif hücre yoğunluğu kıyaslandığında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p > 0.05$) (Çizelge 4.6, Şekil 4.4).

Çizelge 4.6. Grupların Kaspaz-3 ve ve tnf- α immün pozitif hücre yoğunluğunun Kruskal-Wallis yöntemiyle istatistiksel olarak değerlendirilmesi ($p < 0.05$)

Gruplar	EA	EA+Juglon	Juglon	P değeri
Kaspaz 3 immün pozitif hücre yoğunluğu	1,250±0,163	0,125±0,125	0,125±0,125	0,000
Tnf- α immün pozitif hücre yoğunluğu	1,250±0,163	0,125±0,125	0,125±0,125	0,000



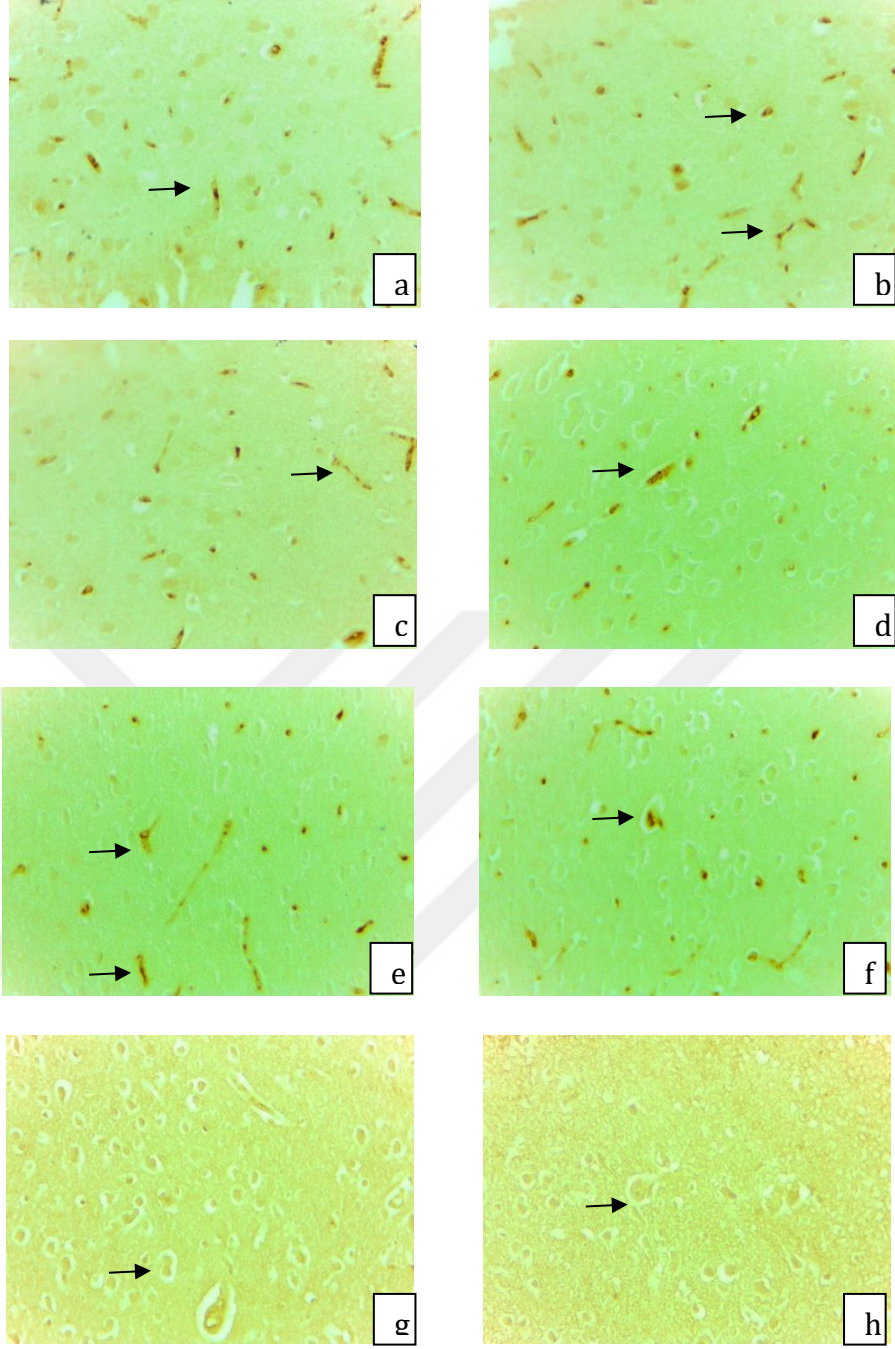
Şekil 4.4. Grupların Kaspaz-3 ve tnf- α immün pozitif hücre yoğunluğunu grafiği



Şekil 4.5. a,b, c, d,e,f: Elektrik alan grubunda kaspaz-3 immun pozitif hücreler, X 40.

Şekil 4.5. g: Elektrik alan+ Juglon grubunda kaspaz-3 immun negatif hücreler, X 40.

Şekil 4.5. h: Kontrol grubunda kaspaz-3 immun negatif hücreler, X 40.



Şekil 4.6. a,b, c, d,e,f: Elektrik alan grubunda tnf- α immun pozitif hücreler, X40.

Şekil 4.6. g: Elektrik alan+ Juglon grubunda tnf- α immun negatif hücreler, X 40.

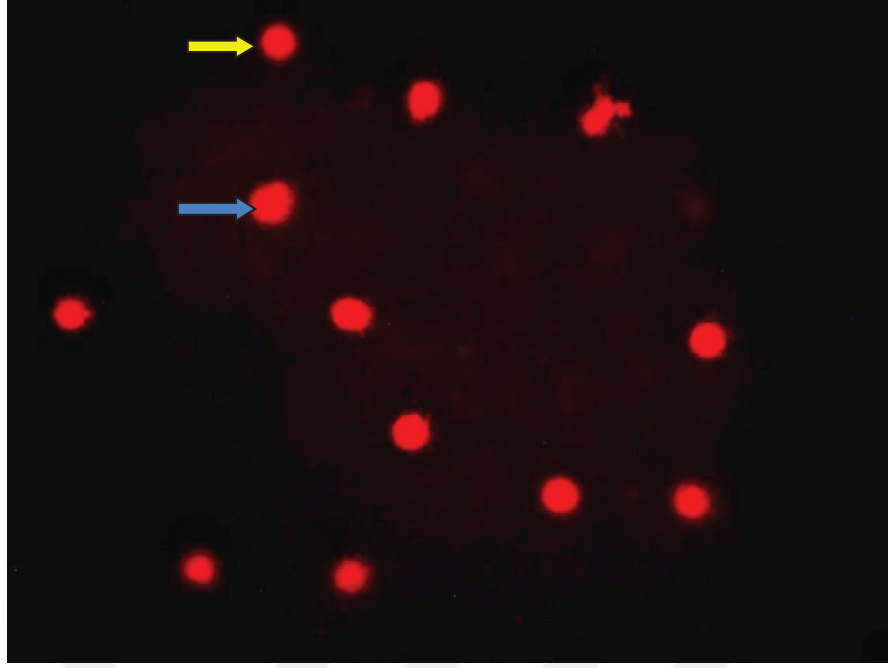
Şekil 4. 6. h: Kontrol grubunda tnf- α immun negatif hücreler, X 40.



4.7. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini Bulguları

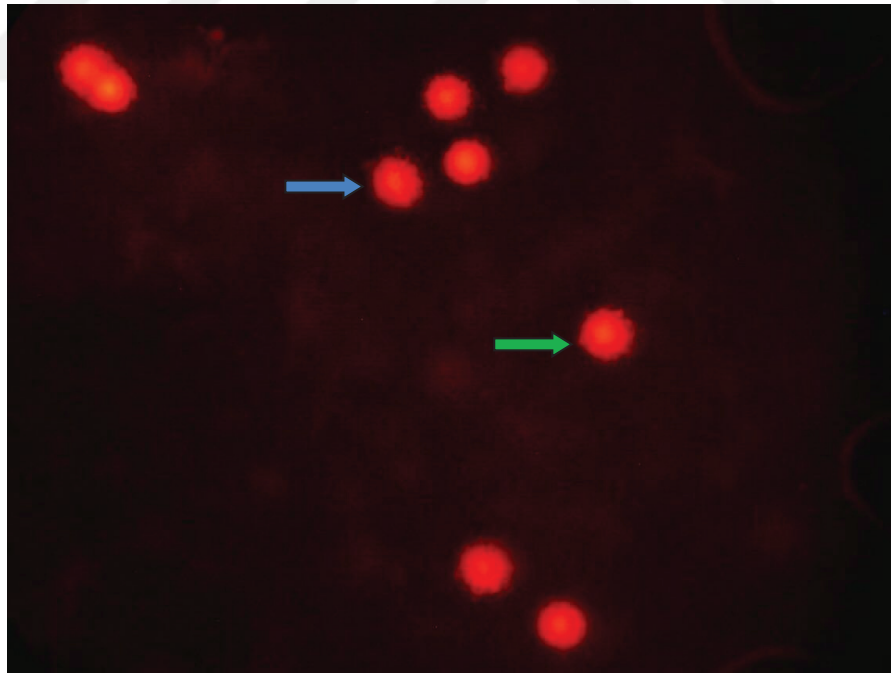
Materyal ve yöntemler bölümünde anlatıldığı şekilde DNA kırıklarını tespit etmek için uygulanan comet yönteminde kuyruk uzunluklarına göre cometler 5 kategoriye ayrıldı; hiç hasar bulunmayan hücreler 0, az hasarlı hücre 1, orta hasarlı hücre 2, çok hasarlı hücre 3, ileri derecede hasarlı hücre 4 olarak değerlendirildi. DNA hasarının şiddetine göre her örnek için toplam comet skoru oluşturuldu. Yapılan analizler sonucunda 3. ve 4. derecede DNA kırıklarına rastlanmadı. Skorlama 0, 1 ve 2. derece DNA kırıkları üzerinden yapıldı. Elde edilen sonuçlar aritmetik ortalama (\bar{X}) ve standart sapma (SD) olarak ifade edildi ve SPSS 20.0 programı kullanılarak istatistiksel analizi yapıldı. Bütün çalışma gruplarındaki parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Çalışma gruplarına ait ilgili parametrelerde gözlenen değişim Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile çoklu karşılaştırma ise Bonferroni testine göre yapıldı. $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Elde edilen comet skoru verileri ve uygulanan istatistiksel analiz sonuçları (Çizelge 4.7) sunulmuştur. Toplam comet skoru açısından gruplar arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$). Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; kontrol grubu ile elektrik alan grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ve elektrik alan grubunda comet skoru artmıştır ($p=0.001$), juglon grubunda comet skoru kontrol grubuna göre azalmış olsa da, fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Juglon grubu ile elektrik alan grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı ve juglon grubunda comet skorunda azalma tespit edildi ($p=0.001$). Araştırma gruplarına ait comet görüntüleri Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9' da gösterilmiştir.



Çizelge 4.7. Comet Analizinin İstatistiksel Değerlendirilmesi

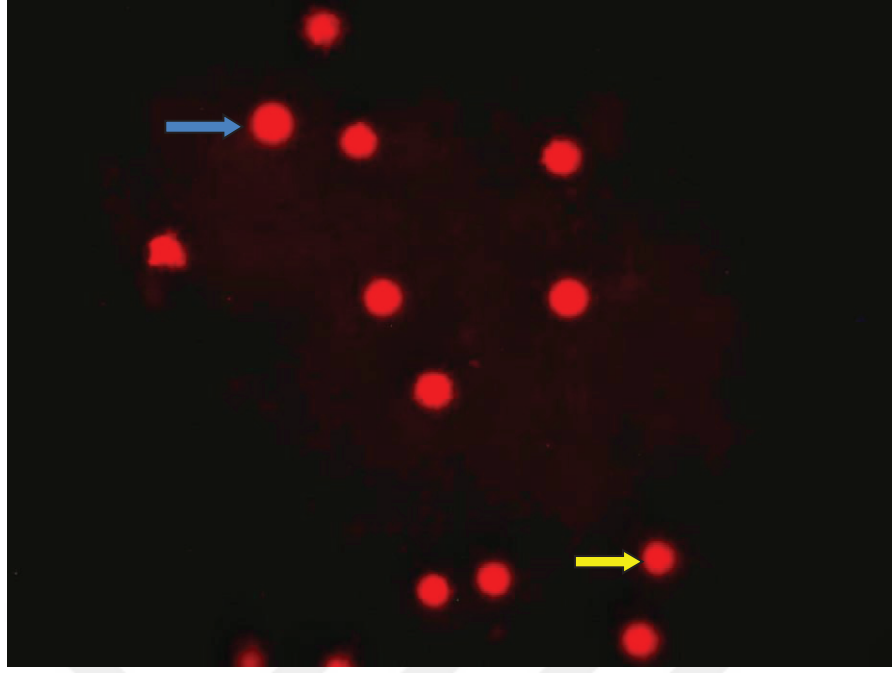
Gruplar	Comet Skoru		
	Ortalama \pm SS	Ortanca (min-max)	P değeri
Grup I (K)	43,12 \pm 11,60	43 (23-61)	0.001
Grup II (EA)	72,25 \pm 17,95	76 (35- 91)	
Grup III (Juglan)	33,62 \pm 8,61	31 (23 - 51)	



Şekil 4.7. Grup I (K) Comet Analizi. Sarı ok () ; 0. kategori, hiç hasar bulunmayan hücre. Mavi ok () 1. kategori, az hasarlı hücre



Şekil 4.8. Grup II (EA) Comet Analizi. Mavi ok () 1. kategori, az hasarlı hücre. Yeşil ok () 2. kategori, çok hasarlı hücre



Şekil 4.9. Grup III (EA+Juglon) Comet Analizi. Sarı ok (→); 0. kategori, hiç hasar bulunmayan hücre. Mavi ok (→) 1. kategori, az hasarlı hücre.

4.8. Oksidan ve Antioksidan Bulguları

Araştırma gruplarının MDA, CAT ve SOD aktivitelerine uygulanan istatistiksel değerlendirme sonuçları Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. Araştırma gruplarının MDA ortalamaları en fazla elektrik alan grubunda olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. CAT değerleri açısından elde edilen verilere uygulanan istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark anlamlı değildir ($p>0.05$). Juglon uygulanan grubun CAT aktivitesi elektrik alan uygulanan gruptan fazla olmasına rağmen uygulanan dozun CAT aktivitesini anlamlı bir şekilde arttırmadığı tespit edilmiştir. Araştırma gruplarının SOD aktivitelerine uygulanan istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Bu anlamlı farklılık Juglon grubunda SOD aktivite ortalamasının diğer gruplardan düşük olmasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 4.8. Araştırma Gruplarının Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri

	Grup I (K)	Grup II (Elektrik alan)	Grup III (EA+Juglon)	P
MDA	1,59±0,37	1,62±0,58	1,60±0,62	AD
CAT	0,36±0,16	0,33±0,23	0,34±0,27	AD
SOD	0,90±0,19	0,86±0,03	0,82±0,25	*

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

* : p<0.001

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Günümüzde kullanılan cihazlardan radarlar, mobil telefonlar, radyo ve televizyon vericileri, bazı tıbbi cihazlar, yüksek gerilim hatları, mikrodalga fırınlar ve çeşitli elektrikli ev aletleri elektrik ve elektromanyetik alan oluşturmaktadır (Özgüner ve Mollaoğlu, 2006). Lai vd. (1997a), radyofrekans dalgalarına maruz kalan rat beyin hücrelerinde DNA kırıklarının oluştuğunu ortaya koymuştur.

Güler vd. (2006), yapmış olduğu çalışmada 3 gün boyunca günde 8 saatlik 1.35 kV/m, 1.5 kV/m, 1.8 kV/m dikey ve yatay elektik alan uygulamasının serumdaki SOD aktivitesindeki artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğunu, 0.3 kV/m, 1 kV/m dikey ve yatay elektik alan uygulamasının serumdaki SOD aktivitesindeki artışın ise istatistiksel açıdan anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise SOD seviyesindeki azalma EA ve EA+juglon grubunda anlamlı bulunmuştur. Yine aynı çalışmada 1.35 kV/m, 1.5 kV/m, 1.8 kV/m 0.3 kV/m, 1 kV/m dikey ve yatay elektik alan uygulamasının biyokimyasal parametrelerde (total kolesterol, LDL, VLDL, toplam protein, albümin, GGT, ALT, ALP, LDH, üre, ürik asit, glikoz, kreatin, BUN) artışa sebep olmasına rağmen bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda gruplar arasında Glukoz, ALT, Direkt Bilirübin, BUN biyokimyasal parametrelerinde anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Üre, AST ve İndirekt bilirubin biyokimyasal parametrelerinde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu bu farklılığın EA grubundaki artıştan kaynaklandığı belirlenmiştir ($p<0.05$)

Coşkun ve Çömlekçi (2010), 50 Hz 10 kV/m şiddetinde elektrik alan prenatal ve postnatal dönemdeki sıçanlara uygulamış, hipotalamusta ödem, hücrel organizasyonda bozulma tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da benzer şekilde 50 Hz elektrik alan uygulaması nöronlarda ve nöroglia hücrelerinde hasara, ödeme, yer yer kanama alanlarına sebep olduğu saptandı. Çalışmamızdaki EA grubunda oluşan hasarları immunohistokimyasal değerlendirmelerimiz de desteklemektedir.

50 Hz aşırı düşük frekanslı EA'nın beyin dokusunda lipid peroksidasyon düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri araştırılmış ve elektrik alana maruz kalan gruplar ile sham grupları arasında lipid peroksidasyon seviyeleri ve enzim aktiviteleri açısından farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (Türközer vd., 2008). Bizim çalışmamızda bu çalışmaya benzer olarak MDA, CAT aktivitelerindeki değişiklik anlamlı bulunmazken, elektrik alan grubundaki SOD aktivitesindeki artıştan kaynaklanan gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

10 mW, 100 mW ve 1000 mW cep telefonu kaynaklı günde 2 saat boyunca elektromanyetik alan uygulamasının beyin korteksinde, hipokampal bölgede ve bazal ganglionda ciddi nörolojik hasarın olduğu belirtilmiştir (Salford vd., 2003). Bu çalışmada ise EA grubunda nöronlarda ve glial hücrelerde azalmaların olmasına rağmen çok ciddi hasarların oluşmadığı saptanmıştır.

Uzar vd. (2011), doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde 24 saat boyunca 50 Hz elektrik alanının yavru dişi ratlarda prenatal+postnatal gruptaki spinal kord dokularında MDA ve NO seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek bulmuştur. Postnatal grupta ise MDA ve NO seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu çalışmada da MDA seviyesi açısından benzer bulgular elde edilmiştir.

50 Hz 01 mT manyetik alana 10 gün boyunca sürekli olarak maruz kalan ratlarda genç bireylerin oksijen radikal türleri olası bir ELF-MF uygulamasına artışa karşı nörotrofik sinyalizasyon ve anti-oksidatif enzimatik savunma geliştirdiğini ortaya koymuştur. Aksine yaşlı ratlar ELF-MF uygulamasına karşı anti oksidatif enzimatik savunma sistemini geliştirememiştir. GPX1,GR ve GST enzim aktiviteleri de gençlere göre anlamlı bir şekilde yükselmiştir. Genç ratlarda ise SOD1, CAT, GPX1, GST önemli bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Yaşlı ratlarda glutatyona bağlı detoksifikasyon enzimatik aktivitesinde SOD hariç güçlü azalma görülürken, CAT aktivitesinde ise anlamlı azalma olduğu belirtilmiştir. Çalışmanın sonucu ELF-MF maruziyetinin yaşa bağlı olarak oksidatif stres temelli sinir sistemi patolojisinde bir risk faktörü oluşturduğunu

göstermiştir (Falone vd., 2008). Bu çalışmada MDA, CAT aktivitelerindeki değişiklik anlamlı bulunmazken, elektrik alan grubundaki SOD aktivitesindeki artıştan kaynaklanan gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Düşük frekanslı elektromanyetik alana (60 Hz) akut olarak 2 saat maruz bırakılan ratlar da beyin dokusunda SOD, CAT ve GSH aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edilmiştir. Fakat NO seviyesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Samano vd., 2012). Bizim çalışmamızda ise CAT aktivitesi en düşük EA grubunda belirlenirken, SOD aktivitesi en düşük Juglon+EA grubunda tespit edilmiştir.

Juglonun hücre döngüsü moleküler mekanizması ve apoptoz ile protein ekspresyon seviyeleri, Siklin D1 leke analizi, bcl-2, Bax, sitokrom C, kaspaz-9 ve kaspaz-3 ile ölçülmüştür. Hareket yeteneklerini araştırmak için juglon ile muamele edilen SKOV3 hücresi juglonun SKOV3 hücre çoğalmasını inhibe ettiği ortaya konmuştur. Juglonun SKOV3 hücrelerinde antitümör etki gösterdiği, hücre döngüsünün durmasına neden olurken SKOV3 hücre yayılmasını önlediği tespit edilmiştir (Fang vd., 2015). Bizim çalışmamızda ise kaspaz-3 ve tnf- α ile apoptotik hücre sayısı belirlenmiş olup EA grubundaki apoptotik hücre sayısının EA+Juglon grubuna göre daha fazla olması nedeniyle Juglonun apoptozu azalttığı sonucuna varılmıştır.

Juglonun proapoptotik mekanizmasını araştırmak için, HL-60 hücrelerinde juglon ile indüklenen apoptozis, reaktif oksijen türlerinin (ROS) rolü araştırılmış, 24 saat süre ile juglon (2, 4 ve 8 μ M) ile muamele edildikten sonra hücre kontrolü ile karşılaştırıldığında ROS üretiminin 2-8 kat arttığı belirtilmiştir. Glutatyon azalması juglon ile muamele edildikten sonra ROS üretimi ile tutarlılık göstermiştir. Juglonun büyümeyi inhibe ettiği ve bir reaktif oksijen türü bağımlı mekanizma yoluyla insan lösemi hücre HL-60 apoptozu yol açtığı bildirilmiştir (Xu vd., 2012). Bizim çalışmamızda ise MDA ve katalaz seviyesinde anlamlı bir farklılık gözlenmezken SOD aktivitesinde anlamlı farklılık gözlenmiştir. Ayrıca

Juglon verilen grupta EA'nın oluşturduğu olumsuz etkinin azalması immunohistokimyasal ve comet sonuçlarımızla desteklenmiştir.

Mide kanserinde SGC-7901 hücrelerin juglonun 5, 10, 15, 20 Mmol/L farklı dozları ile apoptotik etkinin belirlenmesi çalışmalarında 20 Mmol/L dozda etkinin diğer dozlara göre daha fazla olduğu belirtilmiştir. Juglon ROS üretimi ve Bcl-2/Bax oranında bir azalmaya neden olduğu, mitokondriyal yol aracılığıyla SGC 7901 hücrelerinde apoptozisi teşvik ettiği belirtilmiştir (Ji vd., 2011). Bir başka çalışmada Caski hücrelerinin 24 saat 20, 40, 60, 80 ve 100 µmol/L juglon ile inkübasyonunda, uygulanan dozların Caski hücre büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği ve hücrelerde apoptoza neden olduğu bildirilmiştir (Zhang vd., 2014). Çalışmamızda juglon uygulanan grupta EA'dan kaynaklanan hasarların azalması ile juglonun antioksidan etkisinin olduğu sonucuna varıldı.

Juglon (1 mg / kg)+ Pin1 inhibitörünün, iskemik beyin hasarı sonrasında 7 gün boyunca günde bir kez uygulanmasının nöronal hücre kurtarma sinyali oluşturduğu apoptotik hücre ölümünü hafifletmeye neden olduğu bildirilirken (Kim vd. 2016), bu çalışmada da benzer etki tespit edilmiştir.

Değişik dozlardaki (0.1, 0.25, 0.5 mT) 60 Hz manyetik alanın 2 saat ratlara uygulanmasının maruziyetten 4 saat sonrasında mikrojel elektroforez yöntemiyle beyinde DNA kırıklarına sebep olduğu bildirilmiştir. DNA liflerindeki kopmanın doza bağımlı artış gösterdiği, DNA tek ipliğindeki kırıklar 0.1, 0.25 ve 0.5mT manyetik alanlara maruz kaldıktan sonra artış gösterirken, çift iplikli DNA kırıklarının ise 0.25, 0.5mT'lik EA uygulanan gruplarda artış gösterdiği belirtilmiştir (Lai ve Singh, 1997a). Bu çalışmada da 50 Hz elektrik alan uygulamasının comet skorunda artışa sebep olduğu tespit edildi.

Kablosuz iletişim için kullanılan iyonize olmayan radyofrekans alanlarına (RF) 1, 3, 5, 7 ve 14 gün süre ile 4 saat / gün 120 uW / cm² güç yoğunluğunda maruz kalan farelerde periferik kan lökositlerindeki DNA'daki tek iplik hasarı comet assay yöntemi uygulanıp, gruplarda DNA hasarında artış olduğu bildirilmiştir (Jiang, vd., 2012). 915 MHz GSM mikrodalgasının rat beyin dokusuna iki saat

maruziyeti sonucunda DNA çift sarmalında kırıklar oluşturduğu ve kromatin yapılarındaki değişiklikler ve gen ekspresyonunu etkilediği belirtilmiştir (Belyaev vd., 2006). Bu çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

50 Hz elektromanyetik alana 30 gün boyunca maruz bırakılan ratlarda kontrol grubuna göre ağırlıkların azaldığı belirtilmiştir (Hashish vd., 2008). Bizim çalışmamızda ise EA, EA+Juglon ve Kontrol gruplarında 4. haftanın sonunda yapılan ölçümlerde ilk ölçüme göre anlamlı farklılık olduğu gözlemlendi. EA+Juglon grubunda birinci ve ikinci haftanın sonunda, kontrol grubunda ise birinci haftanın sonunda da anlamlı farklılık saptanmasına rağmen, EA, EA+Juglon ve Kontrol gruplarında ilk ölçüm ile haftalık ölçümler arasında farklılık olması ratlardaki vücut ağırlığındaki azalışın EA etkisi ile olmadığı saptanmıştır.

Düşük frekanslı 60 Hz 0,1 mT ve 0.5 mT elektromanyetik alanın günde 24 saat 7 hafta boyunca uygulanması, vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı düşüş göstermemesi (Lee vd., 2004) bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Margonato vd. (1993), yaptıkları çalışmada erkek sıçanları 25 kV/m, 100 kV/m'lik 50 Hz'lik elektrik alana günde 8 saat olmak üzere 280, 440 ve 1240 saat maruz bırakılmasında, maruz kalma süresinin elektrik alan şiddetinden bağımsız olarak kan değişkenleri, vücut ağırlığı, doku morfolojisi ve histolojisinde istatistiksel olarak anlamlı değişimler oluşturmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde 50 Hz elektrik alanının tam kan parametreleri ve biyokimyasal parametrelerden Glukoz, ALT, Direkt Bilirubin, BUN üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı saptandı. Ancak Üre, AST ve İndirekt bilirubin biyokimyasal parametreleri ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermektedir.

Erpek vd. (2007), yapmış oldukları çalışmada 50 Hz elektrik alana günlük 8 saat açık, 16 saat kapalı şekilde maruz kalan ratlarda 8 hafta sonundaki ağırlıkta elektrik alana maruz kalan gruptaki kilo artışı kontrol grubuna göre daha az olmakla birlikte bu farkın iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise EA, EA+Juglon ve Kontrol gruplarında ilk

ölçüm ile haftalık ölçümler arasında farklılık olmasından dolayı ratlardaki vücut ağırlığındaki azalışın EA etkisi ile olmadığını belirledik.

Akpınar (2011), 50 Hz frekanslı 12 kV/m şiddetindeki elektrik alana günde 1 saat maruz kalan pre ve postnatal dönemdeki ratların beyin dokusunda apoptotik TUNEL pozitif hücreler tespit ettiğini bildirmiştir. Bu çalışmada da benzer şekilde EA grubunda Kaspaz-3 ve TNF- α pozitif hücreler belirlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızın tam kan, biyokimyasal parametreler, histolojik, immunohistokimya, comet, oksidan ve antioksidan sonuçlarına göre 50 Hz elektrik alan uygulamasının beyin dokusunda hasarlar oluşturduğu gözlenmiştir. Ancak bu hasarların çok şiddetli olmadığı, hafif düzeyde +1 seviyesinde olduğu tespit edildi. Deneyimizde 50 Hz elektrik alanının bir aylık uygulanmasının ciddi hasarlar oluşturmadığı ancak daha uzun süreli maruziyetlerin hasarları artırabileceği sonucuna varıldı. EA+Juglon grubunda ise bu hasarların ortadan kalktığı, kontrol grubuna yakın bulgular elde edildiği belirlendi. 300 ppm'lik juglon antoksidan uygulamasının hasarları önlemede koruyucu bir doz olabileceği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

- Aebi H., 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymology*, 105, 121–26.
- Akpınar, D., 2011. Pre ve/veya Postnatal Dönemde Uygulanan Elektrik Alanın Elektrofizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelere Etkisi. Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 69s, Antalya.
- Anderson, L.E., Morris, J. E., 2001. Large Granular Lymphocytic Leukemia in Rats Exposed to Intermittent 60 Hz Magnetic Fields. *Bioelectromagnetics*, 22, 185-193.
- Ashkenazi, A., Salvesen, G., 2014. Regulated Cell Death: Signaling and Mechanisms. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 30, 337-356.
- Aslani, B.A., Ghobadi, S., 2016. Studies on Oxidants and Antioxidants with a Brief Glance at Their Relevance to the Immune System. *Life Sciences*, 146, 163-173.
- Aslankoç, R., 2016. Elektrik Alanın Sıçan Testis Dokusundaki Fizyopatolojik Etkileri ve Resveratrolün Koruyucu Rolü. Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 111s, Isparta.
- Aydoğdu, N., Kaymak, K., Yalcın, Ö., 2005. Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında N-Asetilsisteinin Etkileri. *Fırat Tıp Dergisi*, 10(4), 151-155.
- Bahar, L., Eralp, A., Rumevleklioğlu, Y., Yüncü, M., Ertürk, S.E., 2014. Elektromanyetik Alanın Prenatal Deri Gelişimi Üzerine Teratojenik Etkileri. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 3 (2), 1-6.
- Bancroft, J.D., Steven, A., Turner, D.R., 1996. *Theory and Practice of Histological Techniques*, Churchill Livingstone, pp. 129. New York, Edinburg, London,766.
- Barros, A.I.R.N.A., Nunes, F.M., Gonçaves, B., Bennet, R.N., Silva, A.P., 2011. Effect of Cooking on Total Vitamin C Contents and Antioxidant Activity of Sweet Chestnuts (*Castanea sativa mill*). *Food Chemistry*, 128, 165-172.
- Belyaev, I.G., Koch, C.B., Terenius, O., Roxstöm-Lindquist, K., Malmgren, L.O.G., Sommer, W.H., Salford, L.G., Persson, B.R.R., 2006. Exposure of Rat Brain to 915 MHz GSM Microwaves Induce Changes in Gene Expression but not Double Stranded DNA Breaks or Effects on Chromatin Conformaion. *Bioelectromagnetics*, 27, 295-306.
- Berghe, T. V., Grootjans, S., Goossens, V., Dondelinger, Y., Krysko, D. V., Takahashi, N., Vandenabeele, P., 2013. Determination of Apoptotic and Necrotic Cell Death in Vitro and in Vivo. *Methods*, 61(2), 117-129.

- Blank, M., (Ed.), 1995. Electromagnetic Fields Biological Interactions and Mechanism. Advances in Chemistry; Chemical Society, 250, Washington.
- Bradford M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilising the Principle of Protein Dye Binding. Analytical Biochemistry, 72, 248-254.
- Carocho, M., Ferreira, I.C.F.R., 2013. A Review on Antioxidants, Prooxidants and Related Controversy: Natural and Synthetic Compounds, Screening and Analysis Methodologies and Future Perspectives. Food and Chemical Toxicology, 51, 15-25.
- Choudhari, S. K., Chaudhary, M., Gadail, A. R., Sharma, A., Tekade, S., 2014. Oxidative and Antioxidative Mechanisms in Oral Cancer and Precancer: A Review. Oral oncology, 50(1), 10-18.
- Constantino, S., Paneni, F., Lüscher, T.F., Cosentino, F. 2016. Pin1 Inhibitor Juglone Prevents Diabetic Vascular Dysfunction. International Journal of Cardiology, 203, 702-707.
- Coşkun , Ö., Çömlekçi, S., 2010. Çok Çok Düşük Elektrik Alana (ELF) Maruz Kalan Sıçanların Gelişimlerinin İncelenmesi. E-Journal of New World Sciences Academy, 5(4), 612-618.
- Çetiner, H., Kaygusuz, İ., Keleş, E., Karlıdağ, T., Alpay, H.C., Yalçın, Ş., 2012. Mobil Cep Telefonu Baz İstasyonunun Oluşturduğu Elektromanyetik Alanın İşitme Üzerine Etkisi. KBB ve BBC Dergisi, 20(1), 1-6.
- Çınar, K., Çömlekçi, S., Şenol, N., 2009. Effects of a Specially Pulsed Electric Field on an Animal Model of Wound Healing. Lasers Med Sci, 24(5), 735-740.
- Derviş, E., 2011. Oral Antioksidanlar. Dermatoz, 2(1), 263-267.
- Deveci, E.S., Açık, Y., Gülbayrak, C., Demir, F.A., Karadağ, M., Koçdemir, E., 2007. İlköğretim Öğrencilerinin Cep Telefonu, Bilgisayar, Televizyon Gibi Elektromanyetik Alan Oluşturan Cihazların Kullanım Sıklığı. Fırat Tıp Dergisi 12(4), 279-283.
- Dinçer Y, Kankaya S., 2010. DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 30(4), 1365-1373.
- Dogan, M., Turtay, M.G., Oguzturk, H., Samdancı, E., Turkoz, Y., Tasdemir, S., Alkan, A., Bakır, S., 2012. Effects of Electromagnetic Radiation Produced by 3G Mobile Phones on Rat Brains: Magnetic Resonance Spectroscopy, Biochemical and Histopathological Evaluation. Human and Experimental Toxicology, 31(6), 557-564.
- Drapper HH, Hadley M., 1990. Malondialdehyde Determination as Index of Lipid Peroxidation. Methods Enzymology, 186, 421-431.

- Eraslan, G., Bilgili, A., Eşsiz, D., Saltaş, H., 2002. Elektromanyetik Alanın (90 Hz ve 5 mT) Erkek Farelerde Bazı Kan Elektrolit (Ca^{++} , P^{+++} , Na^+ , K^+ , Cl^-) Düzeyleri Üzerine Etkileri. *Turk J Vet. Anim. Sci.* 26, 1233-1236.
- Erdal, M.E., Erdal, N., Barlas, İ.Ö., Görücü, Ş., 2000. Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Kişilerde K-Ras Onkogeninin Moleküler Analizi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1(2), 107-112.
- Ergüder, İ.B., Durak, İ., 2006. Effects of Computer Use on Human Salivary Oxidant/Antioxidant Status. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 6(1), 14-17.
- Erpek, S., Bilgin., M.D., Dikicioğlu, E., Karul, A., 2007. The effects of Low Frequency Electric Field in Rat Testis. *Revue De Medecine Veterinaire*, 158(4), 206-212.
- Falone, S., Mirabilio, A., Carbone, M.C., Zimmiti, V., Loreto, S.D., Mariggio, M.A., Mancinelli, R., 2008. Chronic Exposure to 50 Hz Magnetic Fields Causes a Significant Weakening of Antioxidant Defence Systems in Aged Rat Brain. *The International Journal of Biochemistry Cell Biology*, 40(12), 2762-2770.
- Fang, F., Qin, Y., Qi, L., Fang, Q., Zhao, L., Chen, S., Li, Q., Zhang, D., Wang, L., 2015. Juglone Exerts Antitumor Effect in Ovarian Cancer Cells. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(6), 544-548.
- Feychting, M., Ahlbom, A., 1993. Magnetic Fields and Cancer in Children Residing Near Swedish High-Voltage Power Lines. *American Journal of Epidemiology*, 138(7), 467-481.
- Floderus, B., Persson, T., Stenlund, C., 1992 Increased Risk of Leukemias and Brain Tumors in Occupational Exposure to Magnetic Fields. *Lakartidningen*, 89(50), 4363-4366.
- Giorgio, M., 2015. Oxidative Stress and the Unfulfilled Promises of Antioxidant Agents. *Ecancermedalscience*, 9, 556.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal Antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 23, 85-89.
- Gölçek, C., 2012. Melatoninin Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Travmatik Sekonder Beyin Hasarındaki Apoptozis Sürecine Etkisinin Araştırılması. İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 75s, Malatya.
- Green, D. R., Levine, B., 2014. To Be or Not to Be? How Selective Autophagy and Cell Death Govern Cell Fate. *Cell*, 157(1), 65-75.

- Guenel, P., Nicolau, J., Imbernon, E., Chevalier, A., Goldberg, M., 1996. Exposure to 50-Hz Electric Field and Incidence of Leukemia, Brain Tumors, and Other Cancers among French Electric Utility Workers. *American Journal of Epidemiology*, 144(12), 1107-1121.
- Gupta, R.K., Patel, A.K., Shah, N., Choudhary, A.K., Jha, U.K., Yadav, U.C., Gupta, P.K., Pakuwal, U., 2014. Oxidative Stress and Antioxidants in Disease and Cancer: A Review. *Asian Pac J Cancer Prev*, 15(11), 4405-4409.
- Güler, G., Seyhan, N., Arıcıoğlu, A., 2004. Effects of Electric Fields on Radical and Antioxidant Enzyme Levels. *Gazi Medical Journal*, 15(3), 101-106.
- Güler, G., Hardalaç, F., Arıcıoğlu, A., 2005. Examination of Electric Field Effects on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes by Using Multilayer Perceptron Neural Network. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18(1), 27-37.
- Güler, G., Seyhan, N., Arıcıoğlu, A., 2006. Effects of Static and 50 Hz Alternating Electric Fields on Superoxide Dismutase Activity and TBARS Levels in Guinea Pigs. *Gen Physiol Biophys*, 25, 177—193.
- Güler, G., Türközer, Z., Seyhan, N., 2017. Electric Field Effects on Guinea Pig Serum: The Role of Free Radicals. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 26(3), 207-223.
- Hashish., A.H., El-Missiry., Abdelkader., H.I., Abou-Saleh., R.H., 2008. Assessment of Biological Changes of Continuous Whole Body Exposure to Static Magnetic Field and Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields in Mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(3), 895-902.
- Higami Y, Shimokawa I, Okimoto T, Ikeda T., 1994. Vulnerability to Oxygen Radicals is More Important than Impaired Repair in Hepatocytic Deoxyribonucleic Acid Damage in Aging. Laboratory Investigation; a *Journal of Technical Methods and Pathology*, 71(5), 650-656.
- Inbaraj, J.J., Chignell, C.F. 2004. Cytotoxic Action of Juglone and Plumbagin: A Mechanistic Study Using HaCaT Keratinocytes. *Chem. Res. Toxicol*, 17 (1), 55-62.
- Ji, Y. B., Qu, Z. Y., Zou, X., 2011. Juglone Induced Apoptosis in Human Gastric Cancer SGC-7901 Cells Via the Mitochondrial Pathway, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63(1-2), 69-78.
- Jiang, B., Nie, J., Zhou, Z., Zhang, J., Tong, J., Cao, Y., 2012. Adaptive Responce in Mice Exposed to 900 MHz Radiofrequency Fields: Primary DNA Damage. *Plosone*, 7(2), 1-4.

Karadağ, T., Özdemir, A.R., Abbasov, T., 2014. İnönü Üniversitesi Yerleşkesinde Dönemsel Elektromanyetik Kirlilik Ölçüm Değerleri ve Haritaları. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 20(8), 314-318.

Kaya M, Boleken ME, Memetoğlu E, Çelik H, Kanmaz T, Koçyiğit A, Yücesan S., 2006. Evaluation of Systemic Oxidative Status and Mononuclear Leukocytes DNA Damage in Children with Caustic Esophageal Stricture. Diseases of the Esophagus, 19(4), 280-284.

Keklikçi, U., Akpolat, V., Özekinci, S., Ünlü, K., Çelik, M.S., Tunik, S., 2008. Çok Düşük Frekanslı Manyetik Alanın Ratlarda Lens Üzerine Etkileri. Dicle Tıp Fakültesi Dergisi, 35(4), 249-253.

Kim, J.H., Lee, S., Hong, Y., 2016. Critical Role of Pin1 on Neuronal Rescue after Transient İschemic Brain İnjury. The FASEB Journal, 30(1).

Kiray, M., 2010. Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Sıçan Beyin Dokusunda Oksidatif Stres Üzerine Karnitinin İmmünohistokimyasal ve Yapısal Etkileri. Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 81s, İzmir.

Köylü, Ö., Gürbilek, M., Bodur, S., Çiçekçibaşı, E.A., Salbacak, A., 2005. Elektromanyetik Alanların Rat Beyin Dokusu ve Plazmasında, Karsinojenik Bir Bileşik Olan MDA Düzeyleri Üzerine Etkileri. Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 3(1), 27-33.

Kviecinski, M.R., Pedrosa, R.C., Felipe, K.B., Farias, M.S., Glorieux, C., Valenzuela, M., Sid, B., Benites, J., Valderrama, J.A. Verrax, J., 2012. Inhibition of Cell Proliferation and Migration by Oxidative Stress from Ascorbate-Driven Juglone Redox Cycling in Human Bladder-Derived T24 Cell. Biochemical and Biophysical Research Communications, 421(2), 268-273.

Lai, H., Singh, N.P., 1997a. Acute Exposure to a 60 Hz Magnetic Field Increases DNA Strand Breaks in Rat Brain Cells. Bioelectromagnetics, 18, 156-165.

Lai, H., Singh, N.P., 1997b. Melatonin and a Spin-Trap Compound Block Radiofrequency Electromagnetic Radiation-Induced DNA Strand Breaks In Rat Brain Cells. Bioelectromagnetics, 18(6), 446-454.

Lee, J.S., Ahn, S.S., Jung, K.C., Kim, Y.W., Lee, S.K., 2004. Effects of 60 Hz Electromagnetic Field Exposure on Testicular Germ Cell Apoptosis in Mice. Asian Journal of Andrology, 6, 29-34.

Marchese, M. E., Kumar, R., Colangelo, L. A., Avila, P. C., Jacobs, D.R., Gross, M., Cook-Mills, J. M., 2014. The Vitamin E Isoforms α -tocopherol and γ -tocopherol Have Opposite Associations with Spirometric Parameters: the CARDIA study. Respiratory Research, 15(1), 31.

- Margonato, V., Veicsteinas, A., Conti, R., Nicolini, P., 1993. Biologic Effects of Prolonged Exposure to ELF Electromagnetic Fields in Rats. I. 50 Hz Electric Fields. *Bio Electro Magnetics*, 14(5), 479-493.
- Milkovic, L., Siems, W., Siems, R., Zarkovic, N., 2014. Oxidative Stress and Antioxidants in Carcinogenesis and Integrative Therapy of Cancer. *Current Pharmaceutical Design*, 20(42), 6529-6542.
- Nagata, S., 1997. Apoptosis by Death Factor. *Cell*, 88(3), 355-365.
- Nikoletopoulou, V., Markaki, M., Palikaras, K., Tavernarakis, N., 2013. Crosstalk between Apoptosis, Necrosis and Autophagy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*, 1833(12), 3448-3459.
- Nimse, S.B., Pal, D., 2015. Free Radicals, Natural Antioxidants, and their Reaction Mechanisms. *Rcs Advances*, 5(35), 27986-28006.
- Oliveira, I., Sousa, A., Isabel, C.F.R., Bento, A., Estevinho, L., Pereira, J.A. 2008. Total Phenols, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Walnut (*Juglans regia* L.) Green Husks. *Food and Chemical Toxicology*, 46(7), 2326-2331.
- Ostling O, Johanson K.J., 1984. Microelectrophoretic Study of Radiation-Induced DNA Damages in Individual Mammalian Cells. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 123(1), 291-298.
- Özgüner, F., Mollaoğlu, H., 2006. Manyetik Alanın Organizma Üzerindeki Biyolojik Etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13(1), 38-41.
- Paulsen, M. T., Ljugman, M. 2005. The Natural Toxin Juglone Causes Degradation of p53 and Induces Rapid H2AX Phosphorylation and Cell Death in Human Fibroblasts, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 209(1), 1-9.
- Peng, X., Nie, Y., Wu, J., Huang, Q., Cheng, Y. 2015. Juglone Prevents Metabolic Endotoxemia-Induced Hepatitis and Neuroinflammation Via Suppressing TLR4/NF- κ B Signaling Pathway in High-Fat Diet Rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 462(3), 245-250.
- Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valentão, P., Andrade, P.B., Ferreira, I.C., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R., Estevinho, L. 2007. Walnut (*Juglans regia* L.) Leaves: Phenolic Compounds, Antibacterial Activity and Antioxidant Potential of Different Cultivars, *Food and Chemical Toxicology*, 45(11), 2287-2295.
- Pisoschi, A.M., Pop, A., 2015. The Role of Antioxidants in the Chemistry of Oxidative Stress: A Review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- Polk, C., 1995. Bioelectromagnetic Dosimetry. In Blank M (ed): *Electromagnetic Field : Biological Interactions and Mechanisms*, *Advances in Chemistry*

Series 250, American Chemical Society. USA: Washington DC: San Francisco Press, Inc.; p. 57-78.

Portet, R., Cabanes, J., 1988. Development of Young Rats and Rabbits Exposed to a Strong Electric Field. *Bio Electro Magnetism*, 9(1), 95-104.

Prasad, K. N., 2016. Simultaneous Activation of Nrf2 and Elevation of Dietary and Endogenous Antioxidant Chemicals for Cancer Prevention in Humans. *Journal of the American College of Nutrition*, 35(2), 175-184.

Ragan, H.A., Buschbom, R.L., Pipes, M.J., Phillips, R.D., Kaune, W.T., 1983. Hematologic and Serum Chemistry Studies in Rats Exposed to 60-Hz Electric Fields. *Bio Electro Magnetism*, 4(1), 79-90.

Salford, L.G., Brun, A.E., Elberhardt, J.L., Malmgren, L., Persson, B.R.R., 2003. Nerve Cell Damage in Mammalian Brain after Exposure to Microwaves from GSM Mobile Phones. *Environmental Health Perspectives*, 111(7).

Samano, J.M., Duran, P.V.T., Oropeza, M.A.J., Diaz, L.V., 2012. Effect of Acute Extremely Low Frequency Electromagnetic Field Exposure on the Antioxidant Status and Lipid Levels in Rat Brain. *Archives of Medical Research*, 43(3), 183-189.

Sarıkahya, N.M., 2014. Bir İşyerinde Elektromanyetik Alan Ölçümü Yapılması ve Sonuçlarının İş Sağlığı ve Güvenliği Yönünden Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanlık Tezi, 103s, Ankara.

Sarmaşık, G., Durusoy, R., Özkurt, A., 2012. Bilgisayar Laboratuvarlarında Maruz Kaldığımız Elektromanyetik Alanların Zararları ve Çözüm Önerileri. Akademik Bilişim 12- XIV. Akademik Bilişim Konferansı Bildirileri, 1-3 Şubat 2012, Uşak Üniversitesi, 394-399.

Schieber, M., Chandel, N.S., 2014. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Current Biology*, 24(10), 453-462.

Schwan, H.P., 1985. Biophysical Principles of the Interaction of ELF Fields with Living Matter. *Biological Effects and Dosimetry of Static and ELF Electromagnetic Fields*, 243-271, Plenum Press, New York.

Segawa, K., Nagata, S., 2015. An Apoptotic 'Eat Me' Signal: Phosphatidylserine Exposure. *Trends in Cell Biology*, 25(11), 639-650.

Sorkun, H.Ç., Yalçın, N., Erken, G., Erken, H.A., Genç, O., 2009. Manyetik Alana Maruz Kalan Sıçan Beyinlerinin Proliferatif Aktivitesinin Agnor İle Değerlendirilmesi. *Journal of Neurological Sciences*, 26(2), 198-205.

Sugie, S., Okamoto, K., Rahman, K. M. W., Tanaka, T., Kawai, K., Yamahara, J., Mora, H., 1998. Inhibitory Effects of Plumbagin and Juglone on Azoxymethane-

- Induced İntestinal Carcinogenesis in Rats. *Cancer Letters*, 127 (1-2), 177-183.
- Sun Yi, Larry W. Oberley, Ying Li, 1988. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500.
- Şeker, S., Çerezci, o., 1997. Çevremizdeki Radyasyon ve Korunma Yöntemleri, Boğaziçi Yayınları, 468s, İstanbul.
- Şenol, N., Çınar, K., 2008. Farklı Elektrik Alanların (0.9-1.9-10 kV/m) Kan, Karaciğer, Böbrek ve Dalak Dokuları Üzerine Etkileri. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 15, 9-14.
- Tok, O.E., Ercan, F., 2013. Cep Telefonlarının Yayıdığı Elektromanyetik Dalgaların Sıçan Testis Morfolojisi Üzerine Etkileri. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 3(3), 138-144.
- Traber, M.G., 1997. Cellular and Molecular Mechanisms of Oxidants and Antioxidants. *Mineral and Electrolyte Metabolism*, 23(3-6),135-139.
- Türközer, Z., Güler, G., Seyhan, N., 2008. Effects of Expoure to 50 Hz Electric Field at Different Strengths on Oxidative Stress and Antioxidant Enzyme Activities in the Brain Tissue of Guinea Pigs. *İnternational Journal of Radiation Bioogy*, 84 (7), 581-590.
- Tynes, T., Andersen, A., 1990. Electromagnetic Fields and Male Breast Cancer. *Lancet*, 336, 1596.
- Uzar, E., Yılmaz, H.R., Yılmaz, M., Uz, E., Yürekli, V.A., Dündar, B., Koyunuoğlu, H.R., Çömlekçi, S., 2011. Effects of 50 Hz Electric Field on Malondyaldehyde and Nitric Oxide Levels in Spinal Cord of Rats at Prenatal Plus Postnatal Period. *Turk J. Med Sci*, 41(1), 65-72.
- Xu, H. L., Yu, X. F., Qu, S. C., Zhang, R., Qu, X. R., Chen, Y. P., Ma, X. Y., Sui, D. Y. 2010. Anti-Proliferative Effect of Juglone From *Juglans Mandshurica Maxim* on Human Leukemia Cell HL-60 by Inducing Apoptosis Through the Mitochondria-Dependent Pathway. *European Journal of Pharmacology*, 645 (1-3), 14-22.
- Xu, H. L., Yu, X. F. Qu, S. C., Qu, X. R., Jiang F. Y., Sui D. Y. 2012. Juglone, From *Junlans Mandshruica Maxim*, İhibits Growth and İnduces Apoptosis in Human Leukemia Cell HL-60 Trought a Reactive Oxygen Species-Dependent Mechanism. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3-4), 590-596.
- Xu, H. L., Yu, X., Qu, S., Sui, D. 2013. Juglone, İsolated From *Juglans Mandshurica Maxim*, İnduces Apoptosis Via Down-Regulation of AR Expression in Human Prostate Cancer LNCaP Cells. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 23 (12), 3631-3634.

- Warille, A. A., Altun, G., Elamin, A. A., Kaplan, A. A., Mohamed, H., Yurt, K.K., El Elhaj, A., 2017. Skeptical Approaches Concerning the Effect of Exposure to Electromagnetic Fields on Brain Hormones and Enzyme Activities. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 4(5), 177-184.
- Yağmur, F., Bozbıyık, A., Hancı, H., 2003. Elektromanyetik Dalgaların İnsan Biyokimyası Üzerine Etkileri. *Sted.* , 12(8), 297.
- Yiğit, D., Yiğit, N., Aktaş, E., Özgen, U., 2009. Ceviz (*Junglans regia L.*)'in Antimikrobiyal Aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 39 (1-2), 7-11.
- Yüce, A., Aksakal, M.,2007. Ratların Karaciğer ve Testis Dokusundaki Antioksidan Aktivite Üzerine Nar Suyunun Etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 21(6), 253-256.
- Zhang, W., Li, Y., Luo, J., Zhao, X., Xu, J., Zhu, W., Jiang, Y., Fang, F., 2014. Proliferation İnhibition And Apoptosis İnduction Of Juglone On Human Cervical Cancer Caski Cells, Wei Sheng yan jiu. *Journal of Hygiene Research*, 43(6), 959-61, 971.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Erşan KAYA

Doğum Yeri ve Yılı: Edremit, 1980

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili :İngilizce

E-posta :nasreskaya@hotmail.com

Eğitim Durumu

Lise :Edremit Lisesi, 1997

Lisans: ÇOMÜ, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 2002

Tezsiz Yüksek Lisans: Balıkesir Üniversitesi, 2004