



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**KONİK IŞINLI BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİ KAYNAKLI RADYASYONUN
KARDİYOGENEZ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ZEBRA BALIĞI
EMBRİYOLARINDA İNCELENMESİ**

CELAL BAYAR
UZMANLIK TEZİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE RADYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. ŞEBNEM ERÇALIK YALÇINKAYA

EŞ-DANIŞMAN
Prof. Dr. EBRU IŞIK EMEKLİ

2025-İSTANBUL

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



Celal BAYAR

İmza

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan, akademik gelişimime katkıda bulunan, her aşamada destek ve rehberliğini esirgemeyen, saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Şebnem ERÇALIK YALÇINKAYA'ya,

Tez sürecimde güler yüzlü tutumu, yönlendirici katkıları ve zebra balığı laboratuvarında çalışma imkânı sunarak deneysel aşamaların gerçekleşmesini sağlayan eş danışmanım Prof. Dr. Ebru Işık EMEKLİ'ye,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalanma fırsatı bulduğum Marmara Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve bölümümüz çalışanlarına,

Zebra balığı laboratuvarındaki çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle sürece katkı sağlayan başta Dr. Öğr. Üyesi Derya CANSIZ olmak üzere biyokimya laboratuvarında destek olan tüm çalışma arkadaşlarıma,

Tez çalışmam sırasında dozimetre temini konusundaki desteği ve titiz değerlendirmeleriyle katkı sağlayan sayın Dr. Hüseyin GÜNDÜZ'e,

Çalışmam kapsamında ihtiyaç duyduğum anatomi laboratuvarını kullanmam konusunda sağladıkları destek için Dr. Öğr. Üyesi Özlem KİRAZLI ve Dr. Öğr. Üyesi Sercan Doğukan YILDIZ'a,

Her zaman yanımda olan, kararlarıma içtenlikle destek veren, anlayışları, güvenleri ve sevgileriyle bu süreci sağlam adımlarla tamamlamamda en büyük paya sahip olan aileme,

Doğdukları andan itibaren hayatı güzelleştiren, her zaman içten bir gülümsemenin kaynağı olan Nil,Nehir ve Demir Tuna'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından ***'Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi Kaynaklı Radyasyonun Kardiyogenez Üzerindeki Etkilerinin Zebra Balığı Embriyolarında İncelenmesi'*** başlıklı ve ***TDH-2024-11331*** numaralı proje ile desteklenmiştir.

İçindekiler Tablosu

ŞEKİL LİSTESİ	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY.....	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER	4
4.1. Radyasyon	4
4.1.1. İyonize radyasyon	4
4.1.2. Non-iyonize radyasyon.....	4
4.1.3. Radyasyon Kaynakları	5
4.1.4. X-ışınlarının üretimi.....	5
4.2. Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi	5
4.2.1. Avantaj ve Dezavantajları	7
4.2.2. KIBT ve etkin doz.....	7
4.3. İyonize Radyasyonun Canlı Doku Üzerinde Oluşturduğu Etki Evreleri	8
4.4. Serbest Radikaller.....	8
4.4.1. Lipitler Üzerine Etkileri.....	9
4.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri.....	9
4.4.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri.....	10
4.4.4. DNA Üzerine Etkileri.....	10
4.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	11
4.6. Oksidan-Antioksidan Sistem Parametreleri	11
4.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	11
4.6.2. Lipit Peroksidasyonu (LPO).....	12
4.6.3. Nitrik Oksit (NO).....	12
4.6.4. Katalaz (CAT)	13
4.6.5. Glutasyon-s-transferaz (GST).....	13
4.7. İyonize Radyasyonun Biyolojik Etkileri	13
4.8. İyonize Radyasyonun Hamilelik Sırasındaki Etkileri	14
4.8.1. Preimplantasyon evresi.....	15

4.8.2. Organogenez Evresi.....	15
4.8.3. Fetal Dönem.....	16
4.9. Radyasyondan korunma	16
4.9.1. Embriyo ve fetüsün radyasyondan korunması	17
4.10. Apoptoz ile ilişkili genler	17
4.10.1. <i>bax</i> geni.....	17
4.10.2. <i>bcl-2</i> geni.....	17
4.10.3. <i>p53</i> geni	18
4.11. İyonize Radyasyon ve Kardiyogenez	18
4.11.1. <i>slc8a1</i> geni	19
4.11.2. <i>rarg</i> geni.....	19
4.11.3. <i>ugt1a6</i> geni.....	20
4.12. Model Organizma Olarak Zebra Balığı	20
4.13. Zebra Balığının Gelişim Aşamaları	21
4.14. Zebra Balığında Kardiyogenez	21
4.14.1. Zebra Balığında Kardiyogenez Aşamaları	22
4.15. Zebra Balığı Kalp Atım Hızı	23
4.16. Zebra Balığında <i>Sinus Venozus</i> (SV) ile <i>Bulbus Arteriosus</i> (BA) Arası Mesafe	23
4.17. Zebra Balığı ile İnsan Kalbinin Karşılaştırılması	24
4.18. Kardiyotoksisite Çalışmasında Zebra Balığının Avantajları	24
5. GEREÇ ve YÖNTEM	26
5.1. Zebra Balıklarının Bakım ve Beslenme Prosedürü.....	26
5.2. Zebra Balıklarından Embriyo Eldesi	27
5.3. Zebra Balığı Embriyoları X-Işını Maruziyet Grupları ve Uygulaması	27
5.3.1. Kontrol grubu çözeltisi ve uygulama	30
5.4. Kullanılan Cihazlar	30
5.5. Kullanılan Kimyasallar.....	31
5.6. Zebra balığı embriyolarında <i>sinüs venosus</i> (SV)- <i>bulbus arteriosus</i> (BA) arası mesafe ölçümünün yapılması	32
5.7. Zebra Balığı Kalp Atım Hızı Ölçümü	32

5.8. Akridin Turuncusu (AO) Boyama Yöntemi.....	34
5.9. Biyokimyasal Parametreler	34
5.9.1. Oksidan ve antioksidan parametrelerin incelenmesi	34
5.9.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi tayini	34
5.9.1.2. Lipit peroksidasyon (LPO) tayini	35
5.9.1.3. Total nitrik oksit (NO) tayini.....	37
5.9.1.4. Katalaz (CAT) aktivitesi tayini.....	38
5.9.1.5. Glutasyon-S-Transferaz (GST) aktivitesi tayini	39
5.10. Gen İfadesi Analizleri	40
5.10.1. RNA ekstraksiyonu	40
5.10.2. cDNA eldesi.....	40
5.10.3. RT PCR ile gen ekspresyon analizi	40
5.10.4. Delta Delta CT metodu ile veri analizi	41
5.11. İstatistiksel Analiz	41
6. BULGULAR	42
6.1. Dozimetreye Ait Bulgular	42
6.2. Gelişimsel Parametrelere Ait Bulgular.....	42
6.3. Mortalite ve Koryondan Çıkış Oranları	43
6.4. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulguları	44
6.4.1. Süperoksit dismutaz aktivitesinin istatistiksel değerlendirmesi	44
6.4.2. Lipit peroksidasyon aktivitesinin istatistiksel değerlendirmesi	44
6.4.3. Nitrik oksit aktivitesinin istatistiksel değerlendirmesi.....	45
6.4.4. Katalaz aktivitesinin istatistiksel değerlendirmesi.....	45
6.4.5. Glutasyon-s-transferaz aktivitesinin istatistiksel değerlendirmesi	46
6.5. Gen İfadesi Analiz (RT-PCR) Bulguları	46
6.5.1. <i>bax</i> geni ekspresyon düzeyleri	46
6.5.2. <i>bcl2</i> geni ekspresyon düzeyleri	47
6.5.3. <i>p53</i> geni ekspresyon düzeyleri.....	47
6.5.4. <i>slc8a1</i> geni ekspresyon düzeyleri.....	48
6.5.5. <i>rarg</i> geni ekspresyon düzeyleri	49
6.5.6. <i>ugt1a6</i> geni ekspresyon düzeyleri.....	49
6.6. Akridin Turuncusu (AO) Boyama Yöntemi Sonuçları	50
6.7. Sinus venosus (SV)- Bulbus arteriosus (BA) Arası Mesafe Bulguları	50

6.8. Kalp Atım Hızı Sonuçları	51
7.TARTIŞMA.....	53
8. SONUÇLAR	71



KISALTMALAR LİSTESİ

BA: Bulbus arteriosus

CAT : Katalaz

cDNA : Kopya DNA

DNA : Deoksiribonükleik asit

GPO : Glutasyon peroksidasyon

GST : Glutasyon S-Transferaz

Gy : Gray

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

LC50 : Populasyonun yarısını öldürmek için gerekli konsantrasyon

K : Kontrol grubu

LPO : Lipit peroksidasyon

MA : Molekül ağırlığı

MDA: Malondialdehit

mg : Miligram

mGy : Miligray

MgSO₄ : Magnezyum sülfat

mSv : Milisievert

Na₂CO₃ : Sodyum karbonat

Na₂HPO₄ : Sodyum dihidrojen fosfat

NaCl : Sodyum klorür

NO : Nitrik oksit

RARG : Retinoik asit reseptörü gamma geni

RNA : Ribonükleik asit

RT-PCR : Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

SOD: Süperoksit dismutaz

SV : Sinüs venozus

Sv : Sievert

Ugt1a6 : UDP-glukuronosiltransferaz 1A6 geni

ZnSO₄ : Çinko sülfat

μSv : mikrosievert

IAEA : International Atomic Energy Agency

ICRP : International Commission on Radiological Protection

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. KIBT'nin temel prensipleri.	6
Şekil 2. ZEBTEC Mini Akvaryum sistemi	26
Şekil 3. Zebra balıklarının yetişkin bireylerinin belirlenmesi ve eşleştirme tankı.....	27
Şekil 4. Deneyin uygulanışı.	29
Şekil 5. Dozimetrenin ışınlanması.	29
Şekil 6. Zebra balığı embriyosunda kalp atım hızı ölçüm adımları.	33
Şekil 7. Gruplarda embriyolarda gözlenen malformasyonlar	42
Şekil 8. Kontrol ve maruziyet gruplarında mortalite oranlarının karşılaştırılması.	43
Şekil 9. Kontrol ve maruziyet gruplarında koryondan çıkma oranlarının karşılaştırılması.....	43
Şekil 10. Kontrol ve maruziyet gruplarının SOD aktiviteleri	44
Şekil 11. Kontrol ve maruziyet gruplarının LPO aktiviteleri	44
Şekil 12. Kontrol ve maruziyet gruplarının NO aktiviteleri	45
Şekil 13. Kontrol ve maruziyet gruplarının CAT aktiviteleri.....	45
Şekil 14. Kontrol ve maruziyet gruplarının GST aktiviteleri.....	46
Şekil 15. Kontrol ve maruziyet gruplarında <i>bax</i> ekspresyonlarının karşılaştırılması	47
Şekil 16. Kontrol ve maruziyet gruplarında <i>bcl2</i> ekspresyonlarının karşılaştırılması	47
Şekil 17. Kontrol ve maruziyet gruplarında <i>p53</i> ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	48
Şekil 18. Kontrol ve maruziyet gruplarında <i>slc8a1</i> ekspresyonlarının karşılaştırılması	48
Şekil 19. Kontrol ve maruziyet gruplarında <i>rarg</i> ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	49
Şekil 20. Kontrol ve maruziyet gruplarında <i>ugt1a6</i> ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	49
Şekil 21. 72. Saatte akridin orange boyaması sonrası floresan mikroskop görüntüleri.	50
Şekil 22. 48., 72. Ve 96. saatlerde kontrol ve iyonize radyasyon grubuna ait SV-BA arası mesafe ölçümleri.....	51
Şekil 23. A. 48 hpf B. 72 hpf C. 96 hpf zebra balığı embriyolarında SV-BA arasındaki mesafe ölçümleri.....	51
Şekil 24. A. 48 hpf, B. 72 hpf ve C. 96 hpf'de zebra balığı embriyolarının dakikadaki kalp atım sayıları	52

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Deney grupları	29
Tablo 2. Deneyde kullanılan cihazlar	30
Tablo 3. Deneyde kullanılan kimyasallar	31
Tablo 4. SOD aktivitesi tayini	35
Tablo 5. LPO aktivitesi tayini	36
Tablo 6. Nitrik oksit tayin yöntemi	37
Tablo 7. CAT aktivitesi tayini	38
Tablo 8. GST aktivitesi tayini	39



1. ÖZET

Tezin Başlığı: Konik ışınli bilgisayarlı tomografi kaynaklı radyasyonun kardiyogenez üzerindeki etkilerinin zebra balığı embriyolarında incelenmesi

Öğrencinin Adı: Celal Bayar

Danışman Adı: Prof. Dr. Şebnem Erçalık Yalçınkaya

Programın Adı: Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi Uzmanlık Programı

Amaç: Bu çalışmada, diş hekimliğinde diagnostik amaçlarla kullanılan konik ışınli bilgisayarlı tomografi (KIBT) cihazından kaynaklanan iyonize radyasyon maruziyetinin, zebra balığı embriyolarındaki kardiyak gelişim ve kardiyotoksisite üzerindeki etkilerinin moleküler düzeyde analiz edilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Zebra balığı embriyoları fertilizasyon sonrası 2.saatte (2 hpf) KIBT cihazı kullanılarak 90 kVp. 10 mA sabit dozda 18 saniye boyunca iyonize radyasyona maruz bırakılmıştır. Kalp atım hızı ölçümleri, *sinüs venosus* (SV) ve *bulbus arteriosus* (BA) arasındaki mesafeler değerlendirilmiştir. Oksidan ve antioksidan parametreler spektrofotometrik yöntemlerle, apoptoz ve kardiyotoksisite ile ilgili genlerin ifadeleri qRT-PCR yöntemi ile analiz edilmiştir.

Bulgular: X-ışını maruziyetine bağı absorbe edilen vücut dozu 5,69 mSv olarak ölçülmüştür. Oksidan ve antioksidan parametreler karşılaştırıldığında maruziyet grubunda, lipid peroksidasyon düzeyleri ile glutatyon S-transferaz (GST) aktiviteleri artarken, nitrik oksit düzeyleri ile süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri azalmıştır *p53* ve *bax* gen ekspresyonları artarken, *bcl-2* gen ekspresyonu azalmıştır. Akridin oranj boyaması sonrası floresan mikroskopunda kalpte apoptotik hücreler gözlenmiştir. *slc8a1*, *rarg*, *ugt1a6* gen ekspresyonları artmıştır. Maruziyet grubunda kalp atım sayıları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artarken, kalpte SV-BA arası mesafe azalmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda KIBT kaynaklı iyonize radyasyonun oksidatif stresi arttırması ile beraber artan GST aktivitesi detoksifikasyon mekanizmalarının uyarıldığını göstermiştir. SOD ve CAT aktivitelerinin azalması ile antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kalması sonucu apoptoz kaçınılmaz hale gelmiştir. Kalpte izlenen yapısal, fonksiyonel ve moleküler düzeydeki değişiklikler, radyasyonun ‘düşük doz’ dahi olsa kardiyogenez sürecini olumsuz yönde etkileyebileceğini ve zebra balığı embriyolarının radyasyonun kardiyogenez üzerindeki yapısal ve moleküler etkilerini incelemek için uygun bir model olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Zebra balığı, embriyo, kalp atım hızı, KIBT, kardiyogenez, radyasyon

2. SUMMARY

Title of Thesis: Evaluation of the effects of radiation from cone beam computed tomography on cardiogenesis in zebrafish embryos

Student Name, Surname: Celal BAYAR

Supervisor Name: Prof. Dr. Şebnem ERÇALIK YALÇINKAYA

Objective: The aim of this study was to analyse the effects of ionising radiation exposure from a cone beam computed tomography (CBCT) unit -which is used for dental radiodiagnostics- on cardiac development and cardiotoxicity in zebrafish embryos at the molecular level.

Material and methods: Zebrafish embryos were exposed to ionising radiation from a CBCT unit (90 kVp, 10 mA) for 18 seconds. Heart rate measurements, distances between sinus venosus (SV) and bulbus arteriosus (BA) were evaluated. Oxidant and antioxidant parameters were analysed by spectrophotometric methods and the expression of apoptosis and cardiotoxicity related genes were analysed by qRT-PCR.

Results: The absorbed body dose was measured to be 5.69 mSv. Comparing oxidant and antioxidant parameters, lipid peroxidation levels and glutathione S-transferase (GST) activities were increased, whereas nitric oxide levels and superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were decreased in the exposed group. *p53* and *bax* apoptotic gene levels were increased, whereas *bcl-2* gene level was decreased. Apoptotic cells were observed in the heart in fluorescence microscopy after acridine orange staining. *slc8a1*, *rarg*, *ugt1a6* gene expressions were increased. In the exposure group, the number of heart beats was increased statistically significantly compared to the control group, while the distance between SV-BA in the heart was decreased.

Conclusion: In our study, increased GST activity together with increased oxidative stress caused by CBCT-induced ionising radiation showed that detoxification mechanisms were stimulated. Apoptosis became inevitable as a result of inadequate antioxidant defence mechanisms with decreased SOD and CAT activities. The structural, functional and molecular changes observed in the heart showed that radiation may adversely affect the cardiogenesis process even at ‘low dose’ and that zebrafish embryos are a suitable model to study the structural and molecular effects of radiation on cardiogenesis.

Keywords: zebrafish, embryo, heart rate, CBCT, cardiogenesis, radiation

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Tüm organizmalar, üreme ve gelişim süreçlerini çevresel stres faktörlerinin etkisi altında sürdürmektedir. Embriyogenez sürecinin erken evresindeki embriyolar, iyonlaştırıcı radyasyonun etkilerine karşı genellikle yüksek derecede duyarlılık göstermektedir. Bu yüksek duyarlılık, gelişim evresinde transkripsiyon süreçlerinin etkin olmaması ve adaptif yanıt mekanizmalarının yeterince çalışmamasıyla açıklanmaktadır. Bununla birlikte, gelişim evresinde canlı hücrelerin çevresel radyasyona verdiği yanıtın altında yatan biyolojik mekanizmalar tam olarak anlaşılamamış olup bu süreç moleküler düzeyde karmaşıklığını hala korumaktadır (Brent, 2015).

Dijital teknolojilerin gelişimiyle dış hekimliğinde radyodiagnostik cihazlardan elde edilen iyonize radyasyonun dozu önemli ölçüde azalmıştır (Tang ve Loganovsky, 2018). Bu dijital teknolojiler arasında kullanımı giderek yaygınlaşan ve radyasyon dozu konvansiyonel yöntemlere oranla fazla olan KIBT'ın embriyonel dönemdeki etkisinin, gelişim morfolojisi açısından önemli bir risk taşıdığı düşünülmektedir. Erken gelişim evresindeki kardiyogenez, embriyonun hayatta kalması ve normal fizyolojik gelişimin sağlanması açısından kritik bir süreçtir. Bu süreç, çevresel faktörlere oldukça hassas bir yanıt sergilemekte ve iyonlaştırıcı radyasyon gibi stres faktörleri tarafından kolayca etkilenebilmektedir. Örneğin, radyasyonun sebep olduğu oksidatif stres, embriyonik kalp hücrelerinde programlanmış hücre ölümüne (apoptoz) yol açarak kalp dokusunun normal gelişimini engelleyebilmektedir. Bu durum, erken dönemde meydana gelen anomalilerin ilerleyen yaşam evrelerinde kalp-damar hastalıkları riskini artırabileceği göstermektedir (Baker ve ark., 2011; Helm ve ark., 2016). Literatürde dış hekimliğinde diagnostik amaçlı kullanılan iyonize radyasyonun kardiyogenez ve kardiyotoksisite üzerine araştırma bulunmamaktadır.

Proje önerimizin hipotezi, embriyonel gelişim sürecinde iyonlaştırıcı radyasyon maruziyetinin oksidatif stresle indüklenen apoptoz yollarını etkileyerek, embriyoda kalp atış hızında ve kardiyogenezle ilişkili gen ifadelerinde değişikliklere yol açacağıdır.

Bu doğrultuda çalışmanın amacı, dış hekimliğinde son yıllarda diagnostik amaçlarla sıklıkla kullanılan KIBT cihazı kaynaklı iyonize radyasyon maruziyetinin embriyonel kardiyak gelişim üzerindeki etkilerini moleküler düzeyde değerlendirmektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Radyasyon

Radyasyon, enerji yüklü parçacıkların veya elektromanyetik dalgaların bir kaynaktan dışarıya yayılımını ifade etmektedir. Enerjinin transferini kapsayan bu yayılım süreci çeşitli şekillerde olabilmektedir. Radyasyon atom çekirdeğinde veya elektronların enerji seviyelerinde meydana gelen değişimlerden kaynaklanabilmekte (Bushberg ve ark., 2013), doğada kendiliğinden veya insan ürünü cihazlarla oluşabilmektedir.

Radyasyon enerji yapısına ve madde ile etkileşim şekline bağlı olarak iki ana grupta incelenmektedir: (Hall ve Giaccia, 2006)

4.1.1. İyonize radyasyon

İyonize radyasyon, yeterli enerji seviyesine sahip olup madde ile etkileşime geçtiğinde atomlardan elektron kopararak iyonlaşmaya neden olabilir (Protection, 2007). Bu durum, atomlar üzerinde değişiklikler yaparak biyolojik dokular üzerinde potansiyel riskler oluşturabilmektedir. İyonize radyasyon çeşitlerine X-ışınları, gama ışınları, alfa parçacıkları, beta parçacıkları ve nötronlar örnek verilebilir. İyonize radyasyon tıp alanında görüntüleme amacıyla ve özellikle kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Hall ve Giaccia, 2006).

4.1.2. Non-iyonize radyasyon

Non-iyonize radyasyon türü ise daha düşük enerji seviyesine sahiptir. Atomlardan elektron kopartabilme kapasitesine sahip olmadığından, iyonlaşma gözlenmemektedir (Charles, 2001). Non-iyonize radyasyon, iyonize radyasyon kadar insan vücudu için tehlikeli değildir. Ancak uzun süre ve yüksek yoğunlukta maruziyetin potansiyel riskler oluşturduğu saptanmıştır. Radyo dalgaları, mikrodalgalar, infrared ışınlar, görünür ışık ve ultraviyole ışınlar örnek olarak verilebilir (Bushberg ve ark., 2013). Haberleşme teknolojilerinden (radyo ve televizyon sinyalleri) mikrodalga fırınlara, lazer sistemine kadar çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

4.1.3. Radyasyon Kaynakları

Radyasyon kaynakları, doğal ve yapay olmak üzere iki ana grupta incelenmektedir (Charles, 2001). Doğal radyasyon kaynaklarına; dünya atmosferi, yeryüzü ve su kaynaklarında bulunabilen radon gazı gibi radyoaktif elementler örnek verilebilir (Council ve ark., 2006). Tüm canlılar bu doğal radyasyon seviyelerine maruz kalmaktadır. Yapay radyasyon kaynakları ise insanlar tarafından üretilen radyasyondur. Bunlar çeşitli amaçlarla kullanılan radyasyon kaynaklarıdır. Yapay radyasyon kaynaklarına tıbbi görüntüleme cihazları (X-ışınları, CT tarayıcıları), nükleer santraller, endüstriyel radyasyon kaynakları örnek verilebilir.

4.1.4. X-ışınlarının üretimi

Alman fizikçi Wilhelm Conrad Röntgen, 1895 yılında x-ışınlarını keşfetmiştir. Röntgen, Würzburg Üniversitesi'nde karanlık odada katot ışın tüpünde çalışırken, bir radyasyon türünün parlayan bir floresan ekran oluşturduğunu gözlemlemiş, oluşan ışınların diğer bilinen ışın türlerinden farklı olduğunu gören Röntgen, bu ışınlara 'x' (bilinmeyen) anlamına gelen x ışını adını vermiştir (Glasser, 1993).

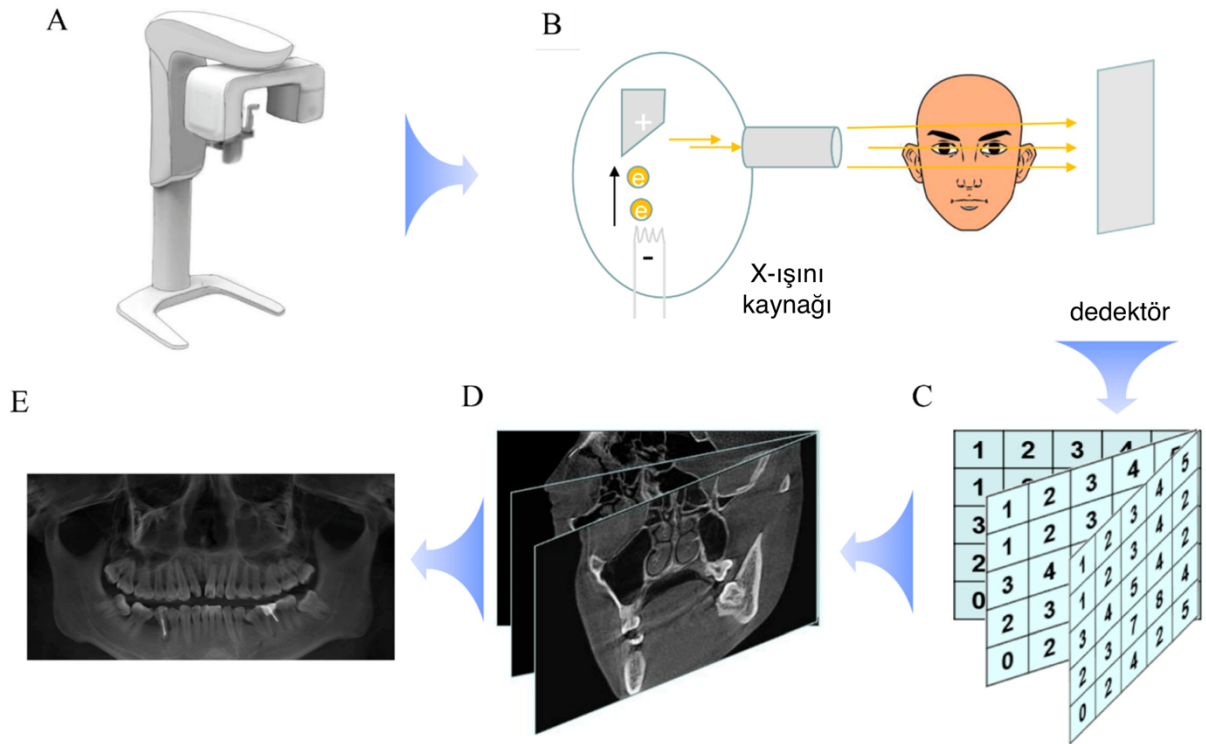
X ışın tüpünde yer alan katot, yüksek sıcaklıklarda termiyonik emisyon yoluyla elektronları serbest bırakmaktadır. Serbest bırakılan elektronlar yüksek voltaj sayesinde hedef materyale doğru hızlandırılarak yol alır. Bu hedef materyali yüksek atom numarasına sahip tungsten olup, hızlandırılmış elektronlar tungstene çarparak aniden yavaşlamaya başlarlar. Bu yavaşlama ile beraber kaybedilen kinetik enerjinin bir kısmı elektromanyetik dalga enerjisine dönüşerek x-ışını olarak salınmaktadır. X-ışını iki şekilde oluşmaktadır. İlki 'Bremmstrahlung' (frenleme radyasyonu), olup elektronların yavaşlaması esnasında oluşur. Bir diğeri 'karakteristik radyasyon' olup, hedef atomun iç yörüngelerindeki elektronların yer değiştirmesi sonucu oluşmaktadır. Tüpten çıkan bu x ışınları, tıbbi görüntüleme, malzeme analizi ve çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılmak üzere farklı alanlarda değerlendirilir (Bushberg ve ark., 2013).

4.2. Konik Işınlı Bilgisayarlı Tomografi

Konik ışınlı bilgisayarlı tomografinin (KİBT) diş hekimliği alanında kullanılmaya başlaması, tanı ve tedavi planlamasını önemli ölçüde değiştirmiş ve geliştirmiştir. Konik ışınlı bilgisayarlı tomografi, maksillofasiyal cerrahiden ortodontiye kadar çeşitli alanlarda kullanılmakta olup, diş hekimlerine üç boyutlu görüntüler sağlamaktadır. Diş yapıları, çene kemikleri ve karmaşık

yapıda olan sinüslerin anatomik olarak detaylı incelenmesini sağlar. KIBT'nin sağladığı yüksek çözünürlüklü görüntüler daha güvenilir teşhisler koyarak, etkin tedavilerin yapılmasında rol oynar (Scarfe ve Farman, 2008).

KIBT, geleneksel BT'deki gibi geniş bir alana yayılan ışın yerine koni şeklinde bir X ışını demeti kullanır. Konik ışın, taranmak istenen bölgeye yönlendirilir. Bu sayede geniş bir alan tek seferde taranabilmektedir. KIBT ile tek bir döngüde çok sayıda projeksiyon görüntüsü elde edilebilir. KIBT'taki X-ışını kaynağı ve dijital dedektör hastanın etrafında genellikle 180-360 derece olmak üzere belirli bir açıda döner. Konik ışın demeti döngüler sırasında hastanın anatomisini farklı açılardan tarar ve çok sayıda iki boyutlu görüntü elde eder. Tarama bittiğinde, rekonstrüksiyon algoritmaları elde edilen iki boyutlu projeksiyon görüntülerini bilgisayarda işler. Bu algoritmalar, her projeksiyonu tüm açılardan değerlendirerek verileri birleştirir. Böylece taranmak istenen bölgenin üç boyutlu görüntüsünün elde edilmesini sağlar. Elde edilen son görüntü üzerinde, aksiyal, koronal ve sagittal gibi çeşitli düzlemlerde incelemeler yapılabilir (Scarfe ve Farman, 2008).



Şekil 1. KIBT'nin temel prensipleri. KIBT (A), temel olarak bir X-ışını kaynağı ve bir dedektörden (toplayıcıdan) oluşmaktadır. X-ışını kaynağı, kafa bölgesine gönderilen ve dedektör tarafından toplanan X-ışınlarını üretir (B). Dedektör, gönderilen bu X-ışınlarını dijital verilere çevirir (C). Bu sayısal veriler, Lambert-Beer Yasası ve Radon dönüşümü (D)

kullanılarak kafa bölgesindeki her bir noktaya ilişkin değerlerin hesaplanmasında kullanılır. Son aşamada, tüm bu hesaplamalar özetlenerek KIBT görüntülerine (E) dönüştürülür. (Fan ve ark., 2023).

4.2.1. Avantaj ve Dezavantajları

KIBT, ince detayları ve kompleks anatomik yapıları yüksek çözünürlükte ve üç boyutlu olarak görüntüleyebilir. Bu özellik dental implant planlamasında, kök kanallarının değerlendirilmesinde ve maksillofasiyal bölgede daha güvenilir tanı koymada avantaj sağlamaktadır. KIBT cihazları çekim sürelerini kısaltarak hasta için daha konforlu bir süreç sunar. Elde edilen görüntülerdeki harekete bağlı artefakt oluşmasını azaltır (Scarfe ve Farman, 2008). Bilgisayarlı Tomografi'ye kıyasla KIBT'in daha düşük radyasyon dozu altında çekilmesi, hastanın iyonize radyasyona maruziyetinin azalması açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır (Ludlow ve ark., 2006).

KIBT'in yumuşak dokulardaki çözünürlük oranı düşüktür, bu nedenle kemik yapılar üzerinde ayrıntılı bilgi vermektedir (Naitoh ve ark., 2009). KIBT cihazı hasta hareketlerine karşı hassastır. Özellikle pediatrik hasta grubunda harekete bağlı artefaktları oluşabilmektedir. Bu da düşük kalitede görüntü elde edilmesine sebep olabilmektedir (Scarfe ve Farman, 2008). KIBT cihazı düşük doz da olsa iyonize radyasyon içermektedir. Sık kullanımının uzun vadede risk oluşturabileceği göz önünde tutularak sadece gerekli durumlarda görüntü alma kararı verilmelidir (Ludlow ve ark., 2006).

4.2.2. KIBT ve etkin doz

KIBT'in etkin dozu, hastanın radyasyona maruz kalma miktarını belirlemek için kullanılan ve alınan radyasyonun biyolojik etkilerini değerlendiren bir ölçüttür (Pauwels ve ark., 2012). Etkin doz, milisievert (mSv) cinsinden ifade edilir. İnsan vücudunun farklı bölgeleri radyasyona karşı farklı duyarlılıktadır. Etkin doz da bu farklılıkları dikkate alarak toplam maruziyetin biyolojik etkisini değerlendirir (Lofthag-Hansen ve ark., 2011). Ayrıca çekim parametreleri, kullanılan cihazın türü, çekim alanı (FOV), çözünürlük ve hastanın pozisyonu KIBT'in etkin dozunu değiştirir (Pauwels ve ark., 2012). KIBT'in etkin dozu diğer görüntüleme yöntemleri ile kıyaslanırsa medikal BT'den daha düşük ancak panoramik radyografiden daha yüksek tespit edilmiştir (Ludlow ve ark., 2006).

Çekim alanının büyüklüğü etkin doz üzerinde belirleyici bir faktördür. Büyük FOV'lar, daha geniş bir alanı kapsadığı için daha yüksek doz gerektirir (Loubele ve ark., 2009). Küçük FOV'lar ise yalnızca belirli bir bölgeye odaklanarak etkin dozu düşürür (Silva ve ark., 2008). Küçük voksel boyutları daha fazla radyasyon gerektirir. Bu da yüksek çözünürlük gerektiren çekimlerde daha yüksek etkin doz demektir (Hatcher, 2010). Farklı model ve markadaki KIBT cihazlarının etkin dozlarında da farklılıklar gözlenmektedir. Cihazlar arasında doz farklılıklarının temel nedeni kullanılan teknoloji ve görüntüleme protokolleridir (Pauwels ve ark., 2012).

4.3. İyonize Radyasyonun Canlı Doku Üzerinde Oluşturduğu Etki Evreleri

Fiziksel Evre (Fizikokimyasal Etkiler): İyonize radyasyon, dokulardan geçerken atomların ve moleküllerin elektronlarını çıkararak iyonizasyon meydana getirir. Bu da su gibi vücutta bulunan moleküllerin serbest radikallere dönüşmesine sebep olur. Serbest radikaller, özellikle hücre içinde DNA gibi moleküllerin fonksiyonları üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir (Hall ve Giaccia, 2006).

Kimyasal Evre: İyonize radyasyonun oluşturduğu serbest radikal ve reaktif oksijen türleri; hücre zarı, proteinler DNA ile etkileşebilir. Bu bazen organizmanın kompanse edebileceği hasarlara sebep olabilirken bazen DNA üzerinde doğrudan hasar oluşturarak hücre bölünmesini ve DNA onarım mekanizmalarını etkileyebilir (Little, 2000).

Biyolojik Evre: Hücrede, DNA hasarı sonucu ya apoptozis gözlenir ya da kanser olarak adlandırılan kontrolsüz hücre bölünmeleri izlenir. Vücutta rejenerasyonun hızlı olduğu hematopoetik, gastrointestinal sistem dokuları radyasyona daha duyarlıdır. Kısa ve yoğun veya kronik ve uzun maruziyet kanser gibi mortal seyreden hastalıklara sebep olabilir. İyonize radyasyonun, kanser riskini doğrudan arttıran bir faktör olduğu kanıtlanmıştır (Hall ve Giaccia, 2006; Little, 2000)

4.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, reaktif ve kararsız yapıdaki kimyasal moleküllerdir. Bu reaktivlikleri nedeniyle, biyolojik moleküllerle hızlıca etkileşime girebilirler (Valko ve ark., 2007). İyonize radyasyonun bir atom veya molekülden elektronları çıkarmasıyla gelişen sürece iyonizasyon adı verilmektedir. Bu süreç sonucunda vücutta yaygın olarak bulunan su gibi biyomoleküller iyonize olur ve hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) gibi reaktif serbest radikaller oluşur. Oluşan serbest

radikaller, DNA, proteinler ve hücre zarı gibi hücresel yapılara zarar verebilir. Özellikle DNA üzerinde çift zincir kırıkları gibi hasarlara sebep olarak potansiyel kanser gelişimine zemin hazırlayabilirler (Spitz ve ark., 2004).

4.4.1. Lipitler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller, hücrede zincirleme oksidatif reaksiyonlara sebep olabilir. Örneğin, hidroksil radikalleri ($\cdot\text{OH}$) hücre zarının çoğunluğunu oluşturan doymamış yağ asitleri ile etkileşime girer. İlk aşamada lipid oksidasyonu gerçekleşip, hemen ardından lipit radikalini oluşturur. Bu radikal de diğer yağ asitlerinin radikalleşmesine neden olarak daha fazla serbest radikal oluşmasına neden olur.

Lipit peroksidasyonu sonucu, hücre zarının akışkanlığı ve geçirgenliği bozulur. Bu durum homeostaz denilen hücre içi ve hücre dışı dengenin bozulmasıyla ve hücresel işlevlerin yerine getirilememesiyle sonuçlanır. Lipit bariyerin ve beraberindeki proteinden oluşan kanalların zarar görmesi, toksik bileşiklerin hücre içine girmesine veya hücredeki önemli bileşenlerin dışarı sızmasına yol açabilir. Bu durum hücre ölümü veya apoptozla sonuçlanır.

Lipit peroksidasyonu sürecinde malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi -2-nonenal (4-HNE) gibi toksik bileşikler oluşur. Bu bileşikler hücresel proteinler ve DNA ile etkileşime girerek başka hasarlara da neden olabilir (Ayala ve ark., 2014).

4.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller, proteinlerde oksidasyona, karbonilasyona, tiyol grubu oksidasyonuna veya aromatik amino asit hidroksilasyonu gibi modifikasyonlara sebep olabilir. Bunlar içerisinde özellikle sülfür içeren amino asitlerin ve aromatik halkaların, reaktif oksijen türlerine karşı hassas olduğu gözlenmiştir.

Okside proteinlerde sadece yapısal değişiklikler değil, işlev kayıpları da gözlenebilir. Enzimatik aktivitelerde azalma, hücresel sinyal iletiminde bozulma ve protein-protein etkileşimlerinde kopmalar gözlenir. Hücrede biriken okside proteinler, yanlış katlanmış proteinlerin oluşumuna neden olmaktadır. Hücre için toksik olan bu durum, protein agregatlarının oluşumuna yol açmaktadır.

Oksidatif stres ve protein oksidasyonu, Alzheimer hastalığı, Parkinson, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Okside proteinlerin hücrede birikmesi, özellikle nörodejeneratif hastalıklarda görülen hücre ölümlerine neden olmaktadır (Stadtman ve Levine, 2000).

4.4.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri, protein ve lipit gibi diğer biyomoleküllere göre daha az belirgindir. Hücresel enerji metabolizması veya yapısal işlev değişikliklerine sebep olabilirler. Serbest radikaller, karbonhidratların yapısındaki hidroksil grupları ile etkileşime girerek ve karbonil gruplarını oluşturarak oksidatif değişikliklere yol açabilir. Bu etkileşim dolaylı yoldan kollajen ve elastin gibi yapısal proteinleri, dolayısıyla hücre dışı matriksin yapısal bütünlüğünü etkileyebilir.

Serbest radikaller, şekerleri proteinlerle reaksiyona sokarak ileri glikasyon son ürünleri denilen bileşikler oluşturabilir. Bu bileşiklerin dokularda birikmesi, yaşlanma sürecini hızlandırır ve diyabet, kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıklarla ilişkilendirilir. AGE birikiminin, hücre yüzeyindeki reseptörlerle etkileşime girerek hücre içi sinyal yollarında bozulmalara neden olduğu gözlenmiştir (Baynes ve Thorpe, 1999).

4.4.4. DNA Üzerine Etkileri

Serbest radikaller özellikle oksidatif stres altında hücresel DNA'nın zarar görmesine neden olmaktadır. Bu durum, hücre mutasyonuna, hücresel işlev bozukluklarına uzun vadede kanser gibi hastalıklara yol açabilmektedir.

Serbest radikaller, DNA'nın yapısında bulunan bazlara ve şeker-fosfat iskeletine zarar vererek oksidatif DNA hasarına neden olur. DNA üzerindeki en ciddi hasarlardan birini oluşturan hidroksil radikali, baz modifikasyonlarına, tek veya çift zincir kırıklarına yol açabilmektedir. DNA bazları, serbest radikallerin saldırısına uğradığında 8-okso-guanin gibi okside olmuş DNA bazları oluşturmaktadır. Bu tür modifikasyonlar, yanlış eşleşmelere ve mutasyonlara yol açabilmektedir.

Onarılamayan DNA hasarı, genomik instabilite ve bunun sonucunda hücrenin yaşam döngüsünde aksaklıklar ile seyreder. Hücrede mutasyonlar ve ilerleyen zamanlarda kanser gelişebilir. Serbest radikaller, hücrenin mitoz döngüsünde kontrol mekanizması olarak görev

alan *p53* geninde mutasyonlara yol açabilir. Bu durum hücrel kontrol mekanizmalarını bozarak hücrelerin kontrolsüz çoğalmasına neden olur (Valko ve ark., 2007).

4.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Vücudu serbest radikallerin zararlarından koruyan çeşitli enzim ve moleküllere antioksidan savunma sistemi adı verilmektedir. Serbest radikaller, oksidatif stres ile hücrede zarar meydana getirir. Bu durum kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Antioksidan savunma sistemi, oksidatif stresi azaltarak hücrel yapıları korur. Antioksidanlar oluşumuna göre endojen (vücutta üretilen) ve eksojen (besinlerden alınan) olarak gruplandırılır. Endojen antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimler bulunur. Eksojen antioksidanlar ise C vitamini, E vitamini, beta-karoten gibi besinlerden alınan maddelerdir. Bu moleküller, serbest radikallerin etkisini nötralize ederek hücrelere zarar vermelerini engellemektedir (Halliwell ve Gutteridge, 2015).

4.6. Oksidan-Antioksidan Sistem Parametreleri

Oksidan ve antioksidan sistem parametreleri, vücudun oksidatif stres durumunu değerlendirmek için kullanılan biyokimyasal göstergelerdir. Bu parametreler oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengeyi belirleyerek, vücutta oksidatif stresin varlığını veya antioksidan savunmanın yeterliliğini anlamamıza yardımcı olur.

4.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, vücudun oksidanlara karşı ilk savunma hattını oluşturarak oksidatif hasara karşı hücrelerin korunmasını sağlar. Hücrelerde doğal yollardan oluşan süperoksit radikalini (O_2^-) daha az toksik bir madde olan hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştüren ve hücrel oksidatif stresin yönetiminde kilit rol oynayan bir enzimdir. Hidrojen peroksit ise devam eden süreçte katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler tarafından suya ve oksijene dönüştürülerek zararsız hale getirilir.

SOD, üç ana izoforma sahiptir:

SOD1 (Bakır-Çinko SOD): Sitoplazmada bulunmaktadır.

SOD2 (Manganez SOD): Hücresel enerjinin üretildiği mitokondride yer alarak buradaki radikallere karşı etkinlik gösterir.

SOD3 (Ekstraselüler SOD): Hücre dışı alanlarda süperoksit radikallerini etkisiz hale getirerek oksidatif hasara karşı koruma sağlar. Bu nedenle dolaşım sistemi ile bağ dokuları için önemli bir savunma hattı oluşturur.

Azalmış SOD aktivitesi, artan oksidatif stresle ilişkili ALS, Alzheimer hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar ve hatta bazı kanser türleri gibi çeşitli hastalıklara yol açabilir (McCord ve Fridovich, 1969).

Kardiyovasküler sistemde özellikle oksidatif stresin artışı, damar endotel hücrelerine zarar verir. Ateroskleroz, hipertansiyon, kalp yetmezliği gibi hastalıklara neden olabilmektedir. SOD, bu oksidatif hasarı sınırlayarak damar sağlığını korumada önemli bir rol oynar (Madamanchi ve Runge, 2013).

4.6.2. Lipit Peroksidasyonu (LPO)

Hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinin oksijen radikalleri ile reaksiyona girmesine lipit peroksidasyonu denir. Lipit peroksidasyonu, hücre zarında bulunan doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle reaksiyona girmesi sonucu oluşan bir süreçtir. Bu süreç, hücre zarının yapısal bütünlüğünün ve işlevselliğinin bozulmasına neden olur. Lipit peroksidasyonu oksidatif stresin önemli bir göstergesi olarak kabul edilir ve malonaldehit bu durumun en yaygın belirtisi olarak kullanılır (Ayala ve ark., 2014).

4.6.3. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit (NO), suda çözünebilen ve lipit membranına serbest difüzyon ile geçebilen bir gaz molekülüdür. Fazladan bir elektrona sahip olan serbest radikal formu son derece reaktif ve zararlıdır (Bredt, 1999). 1900'lerin sonlarında, NO'nun vasküler endotelde üretildiği ve yine bulunduğu damarda vazodilatasyona yol açtığı bildirilmiştir (Palmer ve ark., 1987). Endojen NO, vazodilatasyon, bağışıklık tepkileri, nörotransmisyon, apoptoz, üreme, gen transkripsiyonunun düzenlenmesi, mRNA translasyonu ve proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonları gibi birçok fizyolojik durumda yer alır. Hücresel süreçlerde önemli bir efektör ve sinyal iletim molekülü olarak görev yapar (O'dell ve ark., 1991).

4.6.4. Katalaz (CAT)

Katalaz (CAT) enzimi, reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunda kritik rol oynayan bir oksidoredüktaz enzimidir (Beers ve Sizer, 1952). Özellikle, aerobik solunumun yan ürünü olarak üretilen hidrojen peroksitin parçalanmasını katalize ederek hücreyi oksidatif strese karşı korur (Abbott ve ark., 2009). Bu özelliği nedeniyle, katalaz enzimi önemli bir antioksidan enzim olarak kabul edilmektedir. Katalaz enzimi, geniş bir filogenetik dağılıma sahip olup hem aerobik hem anaerobik organizmalarda bulunur. Son derece yüksek bir katalitik kapasiteye sahip olan bu enzimin bir molekülü, saniyede bir milyondan fazla hidrojen peroksit substratını parçalayabilmektedir. Bu yüksek dönüşüm hızı, katalazın biyolojik sistemlerde etkin bir antioksidan savunma mekanizması olarak işlev görmesini sağlamaktadır (Lončar ve Fraaije, 2015; Zámocký ve Koller, 1999).

4.6.5. Glutasyon-s-transferaz (GST)

Glutasyon-s-transferaz, hücrelerin oksidatif stresi karşısında önemli bir rol oynayan enzim ailesidir. Bu enzimler, reaktif oksijen türleri ve toksik maddeler gibi zararlı bileşikler glutasyon (GSH) ile birleştirerek hücreler için daha az zararlı hale getirir. GST'ler, bu reaksiyonları katalize ederek toksik maddelerin hücreden atılmasını ve detoksifikasyon sürecini kolaylaştırır. GST, birçok yabancı kimyasal maddeyi (örneğin, ilaç metabolitleri, çevresel toksinler) ve hücrel metabolizma yan ürünlerini glutasyon ile konjuge ederek, bu bileşiklerin suda çözünabilir hale gelmesini sağlar. Vücuttan bu maddelerin atılmasını kolaylaştırır. GST, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı azaltarak hücrelerin yaşlanmasını ve hasarını önler. Böylece hücrel yapıların ve DNA'nın oksidatif strese karşı korunmasında yardımcı olur. Bazı GST izoenzimleri, kanserojenlerin metabolizmasında önemli bir rol oynar. Bu enzimler, kanserojen maddeleri detoksifiye ederek hücrelerin genetik materyalinin hasara uğramasını ve kanser gelişme riskini azaltabilir. GST, alfa, mü, pi ve teta gibi farklı izoformlar, vücudun çeşitli organlarında bulunur ve farklı substratlara spesifik olarak etki edebilirler (Hayes ve ark., 2005).

4.7. İyonize Radyasyonun Biyolojik Etkileri

İyonize radyasyon, biyolojik sistemler üzerinde doğrudan veya dolaylı yollardan hücrelere zarar verebilir. Örneğin iyonize radyasyon hücrelerin genetik materyali olan DNA'ya doğrudan

zarar vererek DNA kırıkları ve mutasyonlara yol açabilmekte ve bu da hücresel fonksiyonları bozarak uzun vadeli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Brenner ve Hall, 2007). İyonize radyasyon ayrıca dolaylı olarak serbest radikaller oluşturarak oksidatif strese yol açar. Bu serbest radikaller, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve hücre zarında hasar gibi ciddi biyolojik hasarlar meydana getirir (Azzam ve ark., 2012). İyonize radyasyonun biyolojik etkileri, deterministik ve sitokastik olarak iki ana kategoriye ayrılır. Deterministik etkiler belirli bir eşik doza ulaşılmadan görülmez ve eşik doz aşıldığında etkilerin şiddeti dozla birlikte artar. Örneğin, akut radyasyon sendromu ve ciltte yanıklar gibi etkiler deterministik etkilerdir. Bu tür etkilerde, yüksek dozlar hücre ölümüne veya organ hasarına neden olabilir (Hall ve Giaccia, 2006). Sitokastik etkiler ise herhangi bir eşik doza bağlı olmaksızın düşük dozlarda bile ortaya çıkabilir ve alınan doz arttıkça etkilerin olasılığı artar; ancak şiddeti değişmez. Sitokastik etkilere örnek olarak kanser ve genetik mutasyonlar verilebilir. Radyasyonun neden olduğu DNA mutasyonları, uzun vadede kanser riskini arttırabilir ve üreme hücrelerinde meydana geldiğinde kalıtsal olarak gelecek nesillere aktarılabilir (Little ve ark., 2012). Yüksek dozda radyasyon, akut radyasyon sendromuna yol açarak mide bağırsak sisteminde hücre ölümüne neden olur; bu da bulantı, kusma ve ishal gibi belirtilerle kendini gösterir (Williams ve ark., 2010). Düşük dozlarda bile uzun süreli radyasyon maruziyeti, kardiyovasküler sistemde hasara yol açarak kalp ve damar hastalıkları riskini arttırabilir (Little ve ark., 2012). Hücreler, radyasyon kaynaklı DNA hasarını onarmak için çeşitli mekanizmalara sahip olsa da, bazı durumlarda onarım mekanizmaları yeterli olmayabilir ve kalıcı hasar meydana gelebilir (Jackson ve Bartek, 2009). Bu kalıcı hasar hızlı bölünen hücrelerde daha yaygın olarak görülür. Çünkü radyasyon, özellikle kemik iliği ve gastrointestinal sistem gibi hızlı hücre döngüsüne sahip dokularda daha fazla hasara yol açar (Hall ve Giaccia, 2006).

4.8. İyonize Radyasyonun Hamilelik Sırasındaki Etkileri

Hamilelik sırasında iyonize radyasyona maruz kalınması, fetüs üzerinde çeşitli etkiler oluşturabilir. Bu etkiler, maruz kalınan doz miktarına ve gebeliğin hangi aşamasında radyasyona maruz kalındığına bağlı olarak değişiklik gösterir. İyonize radyasyon, hücrelerde DNA hasarına yol açarak hücre ölümüne, mutasyonlara veya anormal hücre bölünmesine neden olabilir. Bu durum özellikle fetüs gibi hızlı bölünen hücrelerin bulunduğu gelişim aşamalarında daha risklidir. Hamilelik döneminde radyasyona maruziyet, doğumsal anomaliler, büyüme geriliği, nörolojik gelişim bozuklukları ve kanser riskinde artış gibi sonuçlar doğurabilir (Brent, 2009).

4.8.1. Preimplantasyon evresi

İyonize radyasyonun gebeliğin preimplantasyon dönemi (döllenmeden implantasyon aşamasına kadar olan, yaklaşık 1-2 hafta) üzerindeki etkileri genellikle ‘ya hep ya hiç’ ilkesi doğrultusunda gerçekleşir. Preimplantasyon evresinde embriyo yalnızca birkaç hücreden oluşur ve hücrelerin çoğu henüz farklılaşmamıştır. Radyasyonun etkileri embriyonun hayatta kalma veya ölüm ihtimali üzerinde yoğunlaşır. ‘Ya hep ya hiç’ ilkesine göre; radyasyona maruz kalmanın sonucunda embriyo ya tamamen yok olur (implantasyon gerçekleşmez) ya da hayatta kalır ve normal gelişimine devam eder. Embriyonun bu evredeki hücreleri pluripotenttir; yani zarar gören hücrelerin yerini sağlıklı olanlar alabilir. Bu nedenle düşük doz radyasyonda hayatta kalma şansı daha yüksektir (Chang ve ark., 2021; Streffer ve Molls, 1987).

4.8.2. Organogenez Evresi

Organogenez, embriyonun organlarının şekillenmeye başladığı kritik bir evredir. Bu süreç, embriyonik gelişimde yaklaşık üçüncü ve sekizinci haftalar arasında gerçekleşir ve bu dönemde gelişmekte olan embriyo, dış etkenlere karşı oldukça hassas hale gelir. İyonize radyasyon, bu hassasiyeti artıran önemli bir çevresel etkindir. Organogenez sırasında iyonize radyasyona maruz kalmak, embriyonun gelişiminde geri dönüşü olmayan değişimlere neden olabilir.

İyonize radyasyon, yüksek enerjisi nedeniyle embriyonik hücrelerin DNA’sında kırılmalara yol açabilir. DNA hasarı, hücre ölümü veya mutasyon ile sonuçlanabilir ve bu durum organların gelişiminde yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olabilir (Little, 2000). Özellikle organogenez sürecinde hızlı hücre bölünmesi ve farklılaşması olduğu için, radyasyonun etkileri daha belirgin hale gelir. Yüksek doz radyasyon, hücre yapısının bozulmasına, hücre ölümü ve organ gelişiminde aksamalara neden olabilirken, düşük doz radyasyon da yapısal değişikliklere yol açabilir (Otake ve Schull, 1993). Sinir sisteminin gelişimi organogenez döneminde başladığı için, merkezi sinir sistemi bu dönemde iyonize radyasyona en duyarlı yapılardan biridir (Radiation, 2000). Organogenez safhasında radyasyona maruz kalan embriyolarda zihinsel gerilik, mikrosefali ve sinirsel işlev bozuklukları gibi ciddi sorunlar görülebilir (Otake ve Schull, 1998)

4.8.3. Fetal Dönem

Fetal dönem, insan gelişiminin embriyonik dönemden sonraki aşamasını ifade eder ve gebeliğin 9. haftasından doğuma kadar olan süreci kapsar. Bu süreçte temel organ yapıları oluşmuş olup, fetüs hızla büyür ve organ sistemleri işlevsel hale gelmeye başlar. Beynin gelişimi açısından kritik bir evre olduğundan, radyasyona maruz kalma zihinsel gerilik, öğrenme güçlükleri ve davranışsal sorunlar gibi nörolojik bozukluklara yol açabilir (Otake ve Schull, 1998). Yüksek dozda iyonize radyasyona maruz kalmak, fetüsün büyüme hızını etkileyebilir ve doğumda düşük ağırlıklı bebek doğumuna yol açabilir. Bu durum özellikle hamileliğin ilerleyen dönemlerinde radyasyona maruz kalındığında daha belirgindir (Brent, 2009).

4.9. Radyasyondan korunma

Radyasyondan korunma, özellikle medikal amaçlı radyasyona maruz kalan hastalar ile tıp ve diş hekimliği alanlarında sağlık çalışanları için büyük önem taşır. Radyasyondan korunmada en etkili yöntemlerden biri fokusla obje arasındaki mesafeyi ya da diğer bir deyişle ışın kaynağına olan mesafeyi arttırmaktır. Radyasyon kaynağından uzaklaştıkça, maruz kalınan radyasyon miktarı ters kare kanununa göre azalır. Yani radyasyona maruz kalma süresi ne kadar kısa olursa, alınan doz o kadar düşük olur. Bu nedenle, radyasyonla çalışanların mümkün olduğunca hızlı çalışmaları önerilir (Martin ve Sutton, 2015). Radyasyondan korunmada kurşun önlük, tiroid koruyucu ve gözlük gibi kişisel koruyucu ekipmanlar, maruziyeti azaltmada önemli bir rol oynamaktadır. Kurşun, x-ışınlarını ve gama ışınlarını büyük ölçüde absorbe ederek radyasyonun vücuda ulaşmasını engeller (Valentin, 2007). Radyasyona maruz kalan sağlık çalışanları için dozimetreler kullanılarak alınan dozların düzenli olarak takip edilmesi önemlidir. Ayrıca, her yıl maksimum kabul edilen doz sınırlarının aşılması gereklidir. Uluslararası Radyasyondan Korunma Komisyonu (ICRP) tarafından belirlenen yıllık doz sınırları; radyasyon çalışanları için 20 mSv, halk için ise 1 mSv olarak belirlenmiştir (ICRP, 2007). Radyasyon kaynaklarının bulunduğu alanlarda duvarlarda kurşun veya beton kullanılarak radyasyon geçişi engellenir. Bu yöntem, radyasyonun yayılmasını sınırlayarak çevredeki bireylerin korunmasını sağlar. ALADA (As Low As Diagnostically Acceptable), radyasyondan korunmada en önemli prensiplerden biridir. Bu prensip, tıbbi görüntüleme sırasında radyasyon dozunun mümkün olan en düşük seviyeye indirilmesini, ancak tanısal kaliteyi koruyacak ölçüde olmasını ifade eder (Jaju ve Jaju, 2015; Sedentext, 2012; Sherer ve ark., 2013).

4.9.1. Embriyo ve fetüsün radyasyondan korunması

Embriyo ve fetüs, hızlı hücre bölünmesi ve farklılaşma süreçleri nedeniyle radyasyona karşı son derece duyarlıdır. Radyasyon gelişimsel anomalilere, düşük riskine, doğumsal kusurlara ve ilerleyen yaşlarda kanser riskine yol açabilir. Bu nedenle radyasyondan korunma protokollerinin uygulanması büyük önem taşır. Hamilelik sırasında özellikle ilk trimesterde radyasyon maruziyetinden kaçınılmalıdır. Bu dönemde hücrelerin hızlı bölünmesi ve organ gelişimi gerçekleşir ve dolayısıyla embriyo radyasyona karşı en hassas dönemdedir. Tıbbi görüntüleme veya tedavi gibi zorunlu durumlarda radyasyon maruziyetini azaltmak için kurşun önlükler ve diğer koruyucu ekipmanlar kullanılmalıdır. X-ışını veya diğer iyonize radyasyon gerektiren görüntüleme yöntemleri yerine ultrason veya MRI gibi radyasyon içermeyen alternatif yöntemler tercih edilmelidir. Radyasyon uygulanacak alanı mümkün olduğunca sınırlamak, embriyo ve fetüsün maruz kaldığı dozu azaltmak için önemlidir (Brent, 2009).

4.10. Apoptoz ile ilişkili genler

4.10.1. *bax* geni

Apoptozda önemli bir rol oynayan pro-apoptotik bir gendir ve hücre ölümü mekanizmalarında aktif rol alır. *bax*, özellikle mitokondriyal yoldan apoptozu başlatmada etkilidir. *bcl-2* protein ailesinin bir üyesidir ve *bcl-2* ailesindeki anti-apoptotik proteinlerin aksine, hücre ölümü sürecini başlatır. *bax*, hücrel stres sinyalleri aldığı mitokondri zarında gözenekler oluşturarak sitokrom c gibi apoptozu aktifleştiren faktörlerin sitoplazmaya salınmasını sağlar, böylece kaspaz kaskadını başlatır ve hücreyi kontrollü bir şekilde apoptoza yönlendirir (Oltval ve ark., 1993).

4.10.2. *bcl-2* geni

bcl-2 geni, apoptoz sürecinde hücreyi koruyan anti-apoptotik bir gendir. Hücre ölümünü engelleyerek hücre yaşam süresini uzatır. *bcl-2*, mitokondriyal zar üzerinde bulunur ve pro-apoptotik proteinlerin (örneğin, *bax*) mitokondriye bağlanmasını engelleyerek sitokrom c salınımını önler. Bu şekilde, kaspaz kaskadının başlatılmasını durdurarak apoptoz sürecini

baskılar. *bcl-2*'nin bu etkisi, özellikle kanser hücrelerinde proliferasyonu teşvik eden önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (Tsujimoto ve Croce, 1986).

4.10.3. *p53* geni

p53, hücre döngüsünün düzenlenmesinde ve hücrede DNA hasarı tespit edildiğinde apoptoz sürecinin başlatılmasında önemli rol oynayan bir tümör baskılayıcı gendir. 'Genomun koruyucusu' olarak bilinen *p53*, DNA hasarı veya stres durumlarında hücre döngüsünü durdurarak onarım sürecine olanak sağlar. Hasar onarılmadığında ise apoptozu tetikleyerek kontrolsüz hücre bölünmesini engeller ve kanser gelişimini önleyici bir savunma mekanizması oluşturur. Ancak *p53* geninde mutasyon meydana geldiğinde, bu kontrol mekanizması bozulur. Hücrelerin kontrolsüz çoğalmasına bağlı olarak tümör oluşumu kaçınılmaz hale gelir. Tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybı, apoptoz sürecinin bozulmasına neden olarak kanser gelişimi ve hücrel dengeszizliklere yol açabilir (Eğilmezer, 2019; Levine, 1997).

4.11. İyonize Radyasyon ve Kardiyogenez

İyonize radyasyon, embriyonik dönemde kardiyogenez sürecini olumsuz etkileyerek kalp hücrelerinde DNA hasarına, oksidatif strese ve gelişimsel anomalilere yol açabilir. İyonize radyasyon, DNA moleküllerinde tek veya çift sarmallı kırılmalara yol açarak hücrelerde ciddi hasarlara neden olur. Bu tür DNA hasarı, hücrelerde apoptoz ve nekroz gibi süreçleri başlatabilir. Embriyonik dönemde, kardiyomiyositlerde meydana gelen bu tür hasarlar kalp hücrelerinin sayısında azalmaya yol açarak kalbin gelişimsel sürecini olumsuz etkileyebilir. Bu durum özellikle embriyonik gelişim sırasında radyasyona maruz kalan organizmalarda gözlenmiştir. Kısaca iyonize radyasyon kalp gelişimi ve işlevi üzerinde ciddi sonuçlar doğurabilir ve doğuştan gelen kalp hastalıkları gibi sağlık sorunlarının temelini oluşturabilir. Bu yüzden embriyonik dönemde radyasyon maruziyetinin kontrolü ve minimum düzeyde tutulması, kalp gelişiminin sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Helm ve ark., 2016; Little, 2016).

4.11.1. *slc8a1* geni

slc8a1 geni, insanlarda sodyum/kalsiyum değişiminden sorumlu olan ve hücre içi kalsiyum homeostazının düzenlenmesine katkıda bulunan bir proteini kodlamaktadır (Liu ve ark., 2018). Bu gen tarafından kodlanan sodyum/kalsiyum değiştirici 1 (NCX1) proteini, plazma membranında bulunur ve hücre içi kalsiyum seviyelerini dengelemek amacıyla Ca^{+2} iyonlarını Na^{+} iyonları ile değiştirerek iyonik dengenin korunmasını sağlar (Piccirillo ve ark., 2018). *slc8a1* geni, özellikle kardiyak kas hücrelerinde yüksek düzeyde eksprese edilmekte olup, kalp kası kasılmalarının düzenlenmesinde kritik bir rol üstlenmektedir (Ren ve Philipson, 2013). Bunun yanı sıra, genin ekspresyonu iskelet kası, beyin kası gibi çeşitli dokularda da gözlenmiştir (Piccirillo ve ark., 2018). Genetik haritalama çalışmaları *slc8a1* geninin insan kromozomu 2p21-p23 bölgesinde yer aldığını göstermektedir (Shieh ve ark., 1992). Bu lokasyon, genin düzenlenmesini ve fonksiyonlarını etkileyen çeşitli transkripsiyonel ve epigenetik faktörler açısından önem taşımaktadır. Sonuç olarak, *slc8a1* geni ve kodladığı NCX1 proteini, başta kardiyomiyositler olmak üzere birçok dokuda kalsiyum homeostazını düzenleyen kritik bir bileşen olarak görev yapmaktadır. Bu genin mutasyonları ve regölasyonundaki anormallikler, kardiyovasküler hastalıkların yanı sıra nörolojik bozukluklarla da ilişkilendirilmekte olup, gelecekte terapötik hedefler açısından önemli bir araştırma konusu olarak değerlendirilmektedir.

4.11.2. *rarg* geni

Retinoik asit reseptör ailesine ait olan *rarg* (Retinoik asit reseptörü gamma) geni, transkripsiyon faktörünü kodlayan bir gendir. Retinoik asit, hücrel proliferasyon, gelişim, hücrel ölüm ve homeostaz gibi olaylarda görev alan bir sinyal molekülüdür (Mark ve ark., 2009). *rarg* geni, kalp hücresinin gelişimi ve fonksiyonunda da önemli bir rol oynar. Son araştırmalar, *rarg* genindeki belirli varyantların, özellikle de rs2229774 tek nükleotid polimorfizminin (S427L), antrasiklin grubu kemoterapi ilaçlarının neden olduğu kardiyotoksisite riskini arttırabileceğini göstermektedir. Bu varyant, *rarg*'nin fonksiyonunu azaltarak, kalp hücrelerinin doxorubicin gibi ilaçlara karşı daha hassas hale gelmesine yol açabilir (Christidi ve ark., 2020). Ayrıca *rarg*'nin topoisomerase 2β (TOP2B) enziminin ekspresyonunu baskılayarak, antrasiklinlerin kalp üzerindeki toksik etkilerini azaltabileceği öne sürölmektedir. *rarg*'nin bu baskılayıcı etkisinin azalması, TOP2B seviyelerinin artmasına ve dolayısıyla kardiyotoksisite riskinin yükselmesine neden olabileceği bildirilmiştir (Hasbullah ve ark., 2022). Bu bulgular *rarg*

genindeki varyantların özellikle de rs2229774'ün, antrasiklin kaynaklı kardiyotoksisite riskini öngörmeye biyobelirteç olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, kemoterapi öncesi genetik taramalarla bu varyantın tespiti, hastaların kardiyotoksisite riskinin değerlendirilmesinde faydalı olabilir (Magdy ve ark., 2021).

4.11.3. *ugt1a6* geni

ugt1a6 (UDP-glukuronosiltransferaz 1A6) geni, çeşitli ilaçların ve toksik maddelerin detoksifikasyonunda rol oynayan bir enzim kodlar. Bu enzim, antrasiklinler gibi kemoterapötik ajanların metabolizmasında da görev alır. Antrasiklinler, özellikle doksorubisin, etkili antikanser ilaçları olmalarına rağmen kardiyotoksisite riski taşırlar. Yapılan araştırmalar, *ugt1a6* genindeki belirli polimorfizmlerin, antrasiklin kaynaklı kardiyotoksisite riskini etkileyebileceğini göstermektedir. Örneğin, *ugt1a6* rs17863783 varyantı, kardiyotoksisite risk belirteci olarak güçlü kanıtlara sahiptir. Bu nedenle, doksorubisin ve/veya daunorubisin alan pediatrik kanser hastalarında bu varyantın test edilmesi önerilmektedir (McDermott-Roe ve Ky, 2020).

4.12. Model Organizma Olarak Zebra Balığı

Cyprinidae familyasına ait küçük bir teleost balığı olan zebra balığı, biyotıpta, özellikle sinir bilimde, kanserde, toksikolojide ve farmakolojide model organizma olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Son yıllarda zebra balığı dental araştırmalarında da tercih edilen bir model organizma haline gelmiştir (Karaman ve ark., 2020; Ünal ve Emekli-Alturfan, 2019). Zebra balığında dış döllenme gerçekleşir, bu da şeffaf zebra balığı embriyosuna doğrudan erişimi mümkün kılarak toksisite ve ilaç keşfi gelişimini izlenebilir kılmaktadır. Ayrıca zebra balığında insan genlerinin %76'sının ortologları bulunmaktadır, bu da onu genetik araştırmalar için tercih edilen bir organizma yapar (Sieber ve ark., 2019). Organogenez sürecinde, embriyo/fetüs radyasyona karşı en savunmasız durumdadır ve hamilelik sırasında radyasyona maruz kalmanın etkisi gebelik aşamasına bağlı olarak değişir. Ancak etik nedenlerden dolayı fetüsün araştırma amacıyla kullanılması yasaktır (Brent, 2009). Bilimsel amaçlarla kullanılan hayvanların kullanılmasına ilişkin AB Direktifi 2010/63/EU'ya göre, hayvanların en erken yaşam evreleri hayvan deneyleriyle ilgili düzenleyici çerçevelerin kapsamına girmemektedir. Bağımsız beslenme, serbest yaşayan larvaların hayvan deneylerine yönelik düzenlemelerine tabi olduğu aşama olarak kabul edilir. Zebra balığı embriyoları fertilizasyondan itibaren 120 saat sonra

bağımsız beslenebilen organizmalar olarak kabul edilir. Bu nedenle, zebra balıklarıyla yapılan deneyler, fertilizasyondan sonraki 120 saat itibarıyla hayvan deneylerine ilişkin düzenlemelere tabi olmalıdır. Bu durum, fertilizasyondan sonraki ilk 5 gün, zebra balığı embriyosunun, radyasyonun organogenez sürecine etkilerinin incelenmesi açısından uygun bir model organizma olmasını sağlar (Strähle ve ark., 2012).

4.13. Zebra Balığının Gelişim Aşamaları

Zebra balığı yumurtaları, döllenmenin ardından yarı saydam ve şeffaf bir görünüm kazandığından, dış ortamda kolaylıkla izlenebilir. Döllenmiş yumurtalar yaklaşık 45 dakika içinde ilk hücre bölünmesine uğrar ve bu süreçte blastodisk yapısı oluşur. Blastomerlerin bölünmesi 15 dakikada bir gerçekleşerek, embriyonun hücre sayısını hızla arttırır. İlk aşama olan zigot aşamasının ardından 45 dakika ile 2 saat arasında devam eden yarıma aşaması gelir. Yarıma aşamasını izleyen blastula aşaması, 2 saatten 5,5 saate kadar sürer ve embriyonun hücrelerinin daha organize bir yapıya ulaşmasını sağlar. Bu aşamanın ardından gelen gastrulasyon, 5 saat ile 10 saat arasında gerçekleşir ve embriyo hücreleri içe doğru hareket ederek üç ana hücre tabakası olan ektoderm, mezoderm ve endodermi oluşturur. Gastrulasyon aşamasının tamamlanmasının ardından segmentasyon aşaması başlar ve yaklaşık 10 saatten 24 saate kadar sürer. Bu süreçte, embriyonun omurga ve kas sisteminin temel yapı taşları olan somitler gelişir. Pharyngula aşaması ise 24 ile 48 saat arasında tamamlanır ve embriyo daha belirgin bir şekle kavuşur. Kalp atışı gözlemlenebilir hale gelir ve sinir sistemi daha fazla gelişir. Kuluçka aşaması 48-72 saat arasını kapsar. Zebra balığı embriyosunun gelişiminin ileri düzeye ulaştığı ve organ sistemlerinin işlevsel hale gelmeye başladığı bir dönemdir. 72 saatten sonra embriyo, larva aşamasına geçer. Bu aşama embriyonun bağımsız bir organizma olarak gelişimini sürdürdüğü kritik bir dönemdir. Embriyo artık kendi başına hareket edebilir hale gelir. Kas ve sinir sistemlerinin daha gelişmiş olması sayesinde yüzme hareketleri başlar. Bu çevreyle daha fazla etkileşime geçebilmesine olanak tanır ve yavaş yavaş çevreye adaptasyon süreci başlar (Kimmel ve ark., 1995).

4.14. Zebra Balığında Kardiyogenez

Zebra balığı embriyosunda gelişen ilk organ kalptir (Stainier, 2001). Zebra balığı kardiyogenez, yani kalp gelişim süreci, gelişim biyolojisi alanında önemli bir araştırma

konusudur. Zebra balığı, kalp gelişiminin dış ortamda kolayca gözlemlenebilmesi ve bu sürecin ayrıntılı olarak incelenebilmesine olanak sağlar. Bu nedenle, kalp morfogenezinin, hücre hareketlerinin ve moleküler sinyallerin incelenmesinde ideal bir model organizma olarak kabul edilir. Kardiyogenez, kalp hücrelerinin farklılaşması, organizasyonu ve işlevsel bir kalp yapısına dönüşmesi ile ilerleyen karmaşık bir süreçtir.

4.14.1. Zebra Balığında Kardiyogenez Aşamaları

Kalp alanının belirlenmesi ve hücre göçü: Zebra balığı embriyolarında kardiyogenez, gastrulasyon aşamasında başlar. Hücreler, mezoderm tabakasında organize olur ve kalp alanı olarak bilinen bölgeyi oluşturur. Bu aşamada kalp hücrelerinin progenitör hücreleri belirlenir ve göç ederek kalp yapısını oluşturmak için organizasyon sağlar (Stainier ve Fishman, 1992).

Kalp tüpünün oluşumu: Kalp progenitör hücreleri, embriyonun ventral kısmında birleşerek tek bir kalp tüpü oluşturur. Bu yapı, zebra balığında kardiyogenezin temel yapısıdır ve kalp hücrelerinin organize bir yapıya dönüşmesi burada başlar. Kalp tüpü oluşumuyla birlikte, hücrelerin bölünmesi ve farklılaşması başlar (Glickman ve Yelon, 2002).

Bölümlenme ve oda gelişimi: Kalp tüpü oluştuktan sonra, bu yapı ventrikül ve atrium olarak bilinen iki ana odaya ayrılmaya başlar. Bölümlenme süreci, kalbin gelişiminde önemli bir adımdır çünkü her iki odanın gelişimi ve işlevsel özellikleri bu süreçte belirlenir (Yelon ve ark., 1999)

Valf ve kan akışı düzenlenmesi: Kalp odalarının farklılaşması sırasında, kalpteki kan akışını düzenleyen valfler oluşur. Bu valf yapıları, kanın doğru yönlerde akmasını sağlar ve kalp kaslarının ritmik olarak kasılmasına olanak tanır. Bu aşama, kalbin işlevselliği açısından kritik bir öneme sahiptir (Bartman ve ark., 2004).

Kalp atışı ve kan dolaşımının başlaması: Yaklaşık 24 saat sonra zebra balığı embriyosunda kalp atışları başlar. İlk aşamada düzensiz olan bu kasılmalar, zamanla senkronize hale gelir. Bu süreç, kanın kalp boyunca etkili bir şekilde dolaşmasını sağlar ve embriyonun gelişimi için gerekli oksijen ve besinlerin taşınmasına yardımcı olur (Stainier, 2001).

Son olarak moleküler düzeyde kardiyogeneze bakacak olursak, zebra balığı gelişimi sırasında çeşitli genler ve sinyal yolları etkindir. Nkx2.5 ve Gata4 gibi transkripsiyon faktörleri, kalp hücrelerinin farklılaşmasında önemli roller oynar. Ayrıca, Wnt ve BMP gibi sinyal yolları, hücrelerin bölünmesi, göçü ve farklılaşması süreçlerinde kritik düzenleyici roller üstlenir (Tirosh-Finkel ve ark., 2006).

4.15. Zebra Balığı Kalp Atım Hızı

Zebra balığı kalp atım hızı, embriyonik gelişimin farklı evrelerinde değişiklik gösterir. Araştırmacılar tarafından kalp gelişimi, çevresel etkiler ve toksikoloji çalışmalarında önemli bir biyomarker olarak kullanılır. Zebra balığının kalp atım hızı, çevresel koşullara, sıcaklık değişikliklerine ve embriyonik gelişim evresine bağlı olarak değişebilir. (Baker ve ark., 1997). Kalbin ilk atımları aritmik ve kontrolsüzdür (Kimmel ve ark., 1995). Yaklaşık 20 hpf’de, kalp tüpü oluşur; bu tüp gelişmekte olan dolaşım sistemine henüz bağlanmamıştır, ancak kendini kasabilir. İki kalp odası (ventrikül, atriyum) 30 hpf’de farklılaşmaya başlar ve yaklaşık 36 hpf’de kalp atışı belirgin ve düzenli hale gelir (Barrionuevo ve Burggren, 1999).

4.16. Zebra Balığında *Sinus Venozus* (SV) ile *Bulbus Arteriosus* (BA) Arası Mesafe

Zebra balığı embriyosu ve yetişkinlerin kardiyak anatomisi, gelişimsel biyoloji ve kardiyovasküler çalışmalar için önemli bilgiler sunar. Zebra balığında *sinus venozus* ve *bulbus arteriosus* kalbin önemli yapılarıdır. *Sinus venozus*, zebra balığı kalbinde kanın toplandığı ilk bölgedir ve kalbe gelen deoksijenize kanı alır. Bu yapı kalbin elektriksel uyarıların başlatıldığı birincil *pacemaker* bölgesi olarak işlev görür. İnsan kalbindeki sinoatriyal düğüme benzer bir rol üstlenir. Embriyonik gelişim sırasında, SV kalp atım hızının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. *Bulbus arteriosus*, zebra balığı kalbinde kanı ventrikülden aorta taşımadan önce basıncı düzenleyen elastik bir yapıdır. BA kan akışının düzgün bir şekilde ilerlemesini sağlar ve kan basıncını düzenleyerek damarlarda oluşabilecek ani basınç dalgalanmalarını önler (Hu ve ark., 2000). SV ve BA arasındaki mesafe, kalbin fonksiyonel verimliliğini ve kanın kalp içindeki yolculuğunu anlamada önemli bir parametredir. SV-BA arasındaki mesafe, kalbin odacıklarının düzgün bir şekilde oluşup oluşmadığını ve kalp tüpünün doğru ekseninde katlanmasını değerlendirmek için kullanılmaktadır. Ayrıca kalp gelişiminin normal seyrini ve kalp atım döngüsünün koordinasyonunu etkileyebilir. Anormal bir mesafe, embriyonik kalpteki

yapısal sorunları veya fonksiyonel bozuklukları yansıtabilir. SV-BA mesafesi, kalpte kan akışının düzenlenmesi ve pompalama işlevinin sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi açısından önemli bir rol oynamaktadır. Bu mesafede meydana gelen değişiklikler, hemodinamik stres ve kardiyovasküler fonksiyonlardaki olası aksaklıkları gösterebilir. Embriyonik evredeki değişiklikler ve bu yapılar arasındaki mesafe, kalp fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kritik öneme sahiptir (Hu ve ark., 2000; Schwerte ve Pelster, 2000; Stainier, 2001).

4.17. Zebra Balığı ile İnsan Kalbinin Karşılaştırılması

Zebra balığı, kalp gelişimi ve kardiyovasküler araştırmalar için önemli bir model organizma olarak kullanılır. Bunun temel nedeni, zebra balığı kalbinin, yapısal ve genetik düzeyde insan kalbi ile birçok benzerliğe sahip olmasıdır. Zebra balığı kalbi, insan kalbine benzer şekilde dört odacıktan oluşmaz; ancak embriyonik evredeki temel işlevleri yerine getiren iki odacıklı bir yapı vardır. Bu yapı, memelilerdeki kalbin erken gelişim aşamalarına benzer özellikler taşır (Bakkers, 2011). Zebra balığı ve insan kalpleri arasında kardiyovasküler gelişimden sorumlu genler büyük ölçüde benzerdir. Örneğin; NKX2.5, GATA4 ve TBX5 gibi kalp gelişiminde rol oynayan genler her iki türde de bulunur ve benzer fonksiyonlara sahiptir (Staudt ve Stainier, 2012). Zebra balığı embriyoları, şeffaf yapısı sayesinde kalp atım hızı ve kardiyak fonksiyonların gözlemlenmesine olanak tanır. İnsan kardiyovasküler hastalıkları ve ilaç testleri üzerine yapılan çalışmalarda önemli bir model olarak kabul edilir (Bakkers, 2011).

4.18. Kardiyotoksisite Çalışmasında Zebra Balığının Avantajları

Zebra balığı embriyosu, geleneksel hücre kültürü modellerine nazaran birçok avantaj sunan çok hücreli bir organizma olarak kabul edilmektedir (De Esch ve ark., 2012; Garcia ve ark., 2016; Hill ve ark., 2005; Planchart ve ark., 2016). Eksternal gelişim gösteren zebra balığı embriyoları, çevresel bir etkene maruz bırakıldığında, stereomikroskop yardımıyla kalp gelişiminin doğrudan izlenmesine olanak tanır. Zebra balığı embriyosunda kalp atış hızı ölçümleri, kimyasal kardiyak bileşenlerle olan etkileşimlerinin değerlendirilmesi ve kalp ödemi gibi yapısal bozuklukların görselleştirilmesi mümkündür (Milan ve ark., 2003). Çalışmalarda, doğum öncesinde çeşitli teratojenlere maruz kalındığında, insanlarda ve zebra balıklarında benzer kalp kusurlarının ortaya çıktığı gözlenmiştir (Sarmah, Chism III, ve ark., 2016; Sarmah ve Marrs, 2013; Sarmah, Muralidharan, ve ark., 2016). Özetle, anne vücudu dışında hızla

gelişme ve kardiyogenez aşamalarının görüntülenmesine olanak tanıyan embriyonun şeffaf görüntüsü, zebra balığı embriyosunu kardiyak teratojenite taramaları için uygun bir model haline getirir (Hill ve ark., 2005).

Tüm bu bilgiler ışığında çalışmanın amacı, son yıllarda diş hekimliğinde diagnostik amaçla yaygın olarak kullanılan KIBT cihazından kaynaklanan iyonize radyasyonun, embriyonik kardiyak gelişim üzerindeki etkilerini moleküler düzeyde değerlendirmektir.



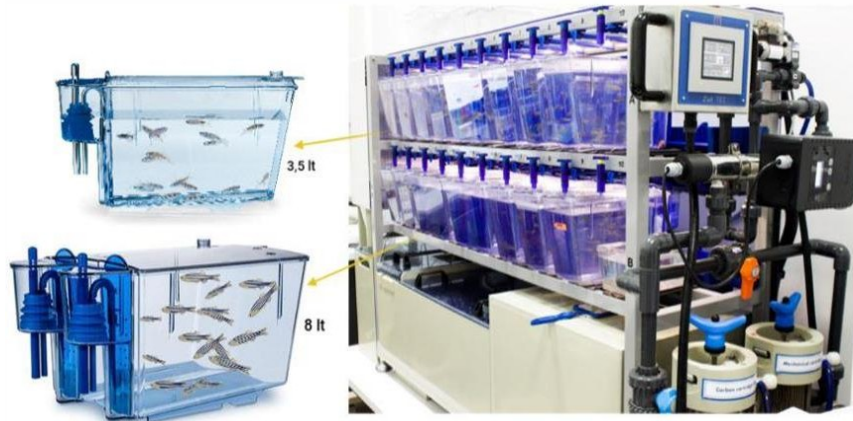
5. GEREÇ ve YÖNTEM

Zebra balığı embriyolarının elde edilmesi ve biyokimyasal parametrelerin analizi, Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Zebra Balığı Araştırma Laboratuvarında; konik ışınli bilgisayarlı tomografi kaynaklı radyasyona maruziyet işlemleri ise Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi Anabilim Dalı Röntgen biriminde yürütölmüştür. Zebra balığı embriyoları üzerinde 120 saatlik gelişim süresine kadar yapılan çalışmalarda etik kurulu onayı gerekmemektedir. Dolayısıyla, bu tez çalışmasında etik kurul onayına başvurulmamıştır.

Bu tez Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Komisyonu tarafından TDH-2024-11331 proje kodu ile desteklenmiştir.

5.1. Zebra Balıklarının Bakım ve Beslenme Prosedürü

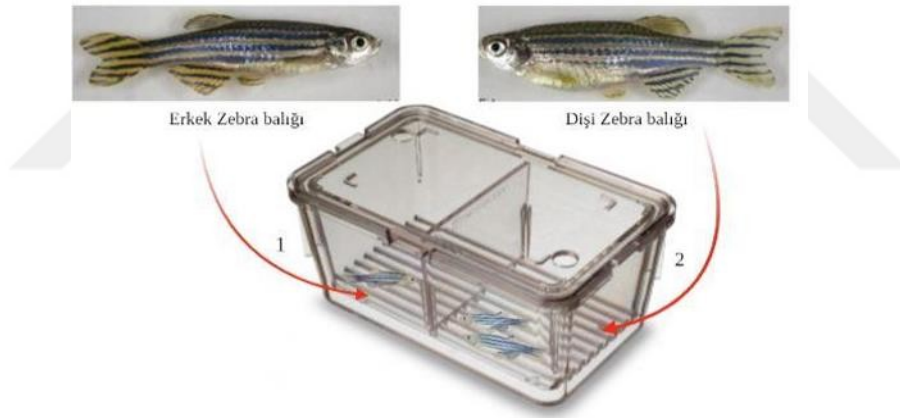
Bu araştırmada, ZEBTEC akvaryum sisteminde yetiştirilmiş ve üreme olgunluğuna ulaşmış AB/AB suşu yabani tip zebra balıklarından elde edilen embriyolar kullanılmıştır. Zebra balıkları, bilgisayar kontrollü inkübasyon tankında (ZEBTEC Mini system) yetiştirilmiştir. Embriyo verimini arttırmak amacıyla optimum çevre koşulları oluşturulmuştur. Sistem, balıkların üremesi için gerekli olan biyolojik ritmi sağlamak adına 14 saat aydınlık ve 10 saat karanlık bir döngüye ayarlanmıştır. Sıcaklık $28\pm1^{\circ}\text{C}$ seviyesinde, nem oranı ise %61 düzeyinde sabitlenmiş ve bu parametreler otomasyon sistemi ile sürekli izlenmiştir. Suyun pH değeri 6,9-7,2 aralığında korunmuştur. Balıkların yaşam ortamının temizliğı, UV filtreleme ve fiziksel sistemlerle sağlanmıştır. Balıklara günde iki kez kuru yem ve bir kez canlı yem verilerek düzenli bir beslenme programı uygulanmıştır.



Şekil 2. ZEBTEC Mini Akvaryum sistemi

5.2. Zebra Balıklarından Embriyo Eldesi

Zebra balıkları, ışık döngüsüne bağlı üreme davranışları sergileyen model organizmalar olarak bilinmektedir. Güneş ışığının etkisiyle üreme faaliyetlerini başlatan bu balıklar, uygun çevre koşulları sağlandığında yumurta ve sperm salınımı gerçekleştirir, böylece embriyo üretimi mümkün hale gelir. Dişi zebra balıkları, erkeklere göre daha şiş ve belirgin bir karın yapısına sahiptir. Çiftleşme tanklarında, dişi ve erkek balık oranı 2:1 olarak düzenlenmiş ve karışımlarını önlemek için tank içine uygun aparatlar yerleştirilmiştir. Bu yöntem, yeterli embriyo sayısına ulaşmak amacıyla dört farklı tankta uygulanmış ve toplamda dört kez tekrar edilmiştir. Gün ışığının etkisiyle balıkların üreme davranışlarını gösterebilmesi için aparatlar kaldırılmış ve tank dipleri düzenli olarak kontrol edilmiştir. Döllenen embriyolar, tank altındaki delikler aracılığıyla toplanmıştır. Yeterli miktarda embriyo elde edilene kadar bu işlem sürdürülmüştür. Döllenen embriyolar stereomikroskop altında değerlendirilmiş; döllenmeyen embriyolar ise 28°C’de E3 çözeltisi içerisinde etüvde uygun koşullarda saklanmıştır (Bhasin ve ark., 2016).



Şekil 3. Zebra balıklarının yetiştirilmesi ve eşleştirme tankı

5.3. Zebra Balığı Embriyoları X-Işını Maruziyet Grupları ve Uygulaması

Zebra balığı embriyolarının radyasyona en hassas döneminin embriyo gelişiminin 2’nci saati (2 hpf) olduğu bildirilmiştir (Honjo ve Ichinohe, 2019; McAleer ve ark., 2005). 2 hpf’deki zebra balığı embriyoları 16 hücreli aşamada iken, kontrol ve maruziyet grubu için ayrı ayrı 2 adet petri kutusuna 150’şer adet 1 ml E3 çözeltisi içinde embriyo yerleştirilmiştir.

Çalışmada Fakültemizde Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi Anabilim Dalı röntgen biriminde ekstraoral üç boyutlu çekimlerde diagnostik amaçla kullanılmakta olan C kollu, içerisinde düz

panellerde 13x13 cm boyutlarında aktif yüzeye sahip, 2.5 mm Al filtrasyonu içeren Planmeca Promax 3D Mid dental volümetrik cihazı (Planmeca Oy, Helsinki, Finland) kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında maruziyet grubuna 90 kVp, 10 mA sabit dozda 18 saniye boyunca iyonize radyasyon uygulanmıştır.

İyonlaştırıcı radyasyonun birim kütledeki maddeye ilettiği enerji miktarını saptamak amacıyla bu çalışmada dozimetrelerden faydalanılmıştır. Her bir ışınlama için ölçüme hazır, su veya sıvıdan etkilenmeyecek, oldukça düşük dozlarda radyasyona duyarlı, optik uyarlamalı luminesens dozimetre (OSL, Epsilon Landauer Dozimetri Teknolojileri, Ataşehir, İstanbul) hedef bölgeye (embriyoların içinde bulunduğu petri kutusuna) ölçüme hazır şekilde yerleştirilmiştir. OSL dozimetrenin içinde radyasyona karşı duyarlı olan 0,3 mm kalınlığında iki tabaka polyester arasında sandviç edilmiş bir $Al_2O_3:C$ kristal tabakası bulunur. OSL dozimetreler 5keV-20MeV enerji aralığındaki gama, x-ışını ve beta radyasyon tipleri hakkında bilgi verebilmekte ve buna bağlı olarak da radyasyon dozunu ölçebilmekte ve bunun için özel bir doz algoritması kullanılmaktadır. OSL dozimetreler yaklaşık 2,5x4 cm boyutlarında olup minimum raporlanan doz seviyesi 0,05 mGy olarak bildirilmiştir. Bu özellikleriyle en düşük olarak yaklaşık 0,10 mGy'e dek ölçüm yapabilen termoluminesens film dozimetrelere göre daha duyarlıdır (Jursinic, 2007). OSL dozimetre pencere yapısı/barkodlu kısmı yukarı gelecek şekilde embriyoların bulunduğu petri kutusuna yerleştirilmiştir. Böylelikle elde edilen eşdeğer doz Sievert (Sv), soğurulan doz Gray (Gy) birimleriyle tespit edilmiştir (1mSv=1 mGy).

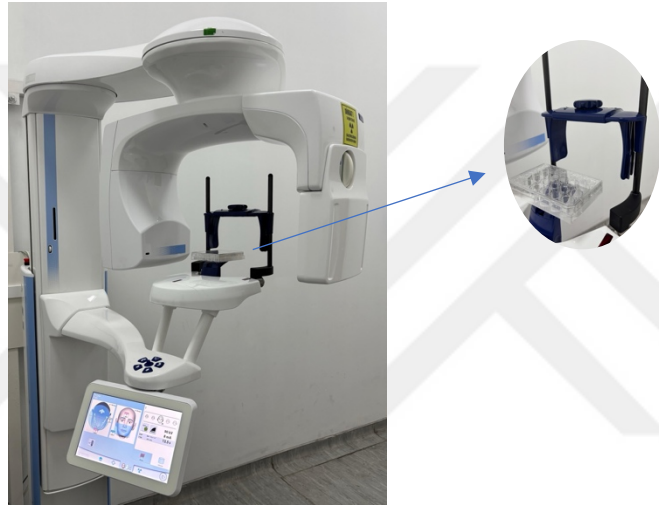
Düzenekte yer alan embriyolar 2 hpf'de tek bir ışınlama olmak suretiyle X-ışını maruziyeti gerçekleştirilmiştir. Zebra balığı üzerinde yapılacak deneysel kurulumda 4 adet dozimetre kullanılmıştır. Bu dozimetrelerden biri kontrol grubu olarak kullanılmış olup, diğer üçü KIBT içinde ışınlamaya maruz bırakılmıştır. Işınlanan üç dozimetrenin ortalaması alınarak eşdeğer doz ve soğurulan doz değerleri saptanmıştır. Belirtilen dozimetrelerin okunması için Al_2O_3 dedektörlerini kullanan Auto 200 Dozimetre okuyucu (Glenwood, Illinois, ABD) cihazıyla gerçekleştirilmiştir.

Kontrol ve maruziyet grubunda bulunan embriyoların morfolojik değişimleri deney süresi olan 5 gün (120 hpf) boyunca Zeiss Sterio Discovery V8 mikroskobu altında incelenirken, ayrı ayrı grupların görüntüleri, malformasyonları, mortaliteleri (ölüm oranı) koryondan çıkış (hatching oranları fertilizasyondan sonra 24., 48., 72., 96. ve 120. saatlerde düzenli olarak kaydedilmiştir.

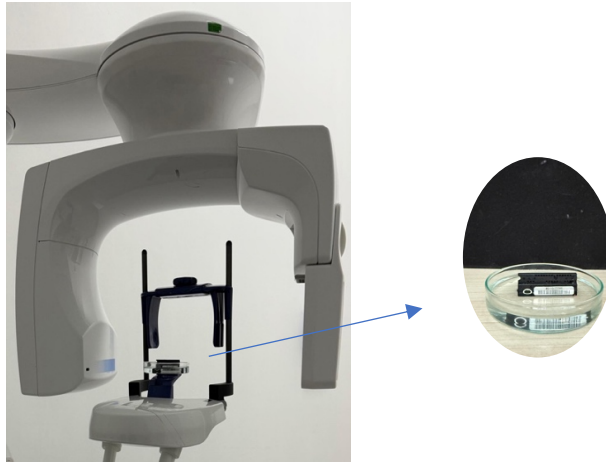
120. saatin sonunda gruplarda sağ kalan embriyolar serum fizyolojik ile homojenize edilerek PCR tayinleri ve biyokimyasal parametrelerin tayini için -20°C’de buzdolabında saklanmıştır.

Tablo 1. Deney grupları

Deney Grubu	Maruziyet
Kontrol Grubu (K)	Herhangi bir radyasyon uygulanmamış sağlıklı embriyolardan oluşan grup
X-Ray Grubu (XR)	90 kVp, 10 mA sabit dozda 18 saniye ışınlama



şekil 4. Deneyin uygulanışı. 24 çukurlu kültür plağı içerisinde yer alan embriyolar, KIBT cihazında 90 kV, 10 mA sabit dozunda radyasyona maruz bırakılmıştır



şekil 5. Dozimetre nin ışınlanması. OSL dozimetre, embriyoların maruz kaldığı radyasyon dozunu ölçmek amacıyla KIBT cihazında konumlandırılmıştır

5.3.1. Kontrol grubu çözeltisi ve uygulama

2 hpf bölünme evresinde seçilen kontrol grubundaki embriyolar, petri kaplarına 1 ml E3 çözeltisi içerisinde, her bir kapta 150 embriyo olacak şekilde yerleştirilmiştir. E3 çözeltisi; 5 mM NaCl, 0,17 mM KCl, 0,33 mM CaCl₂ ve 0,33 mM MgSO₄ bileşenlerinden hazırlanmıştır. Çözeltinin pH seviyesi 7,2 olarak ayarlanmış ve tamponlama amacıyla NaHCO₃ eklenmiştir.

5.4. Kullanılan Cihazlar

Deneyde kullanılan cihazlar Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Deneyde kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka
RT-PCR	Rotor Gene-Q, Qiagen
DNA-RNA izolasyon cihazı	QIAcube, Qiagen
Spektrofotometre	Shimadzu UV-120-02
Santrifüj	Sigma 1-16K, Sigma
Vorteks	V-1 PLUS, Biosan
pH metre	Hanna HI 2211
Hassas terazi	Shimadzu ATX224
Otomatik pipet	Rainin
Homojenizatör	Tissuelyser LT, Qiagen
Etüv	Nüve EN 400
Manyetik karıştırıcı	Witeg Wisd Hotplate Stirrer MSH
Mikroskop	Zeiss Sterio Discovery V8
Akvaryum	Zebtec mini sistem
Distile su cihazı	Elge Option-Q Ultra saf su sistemi
Buzdolabı	Indesit TAA 12 V
Termostat	EHEIM thermocontrol
Kamera	Canon Zoom Lens 5X IS

5.5. Kullanılan Kimyasallar

Tablo 3. Deneyde kullanılan kimyasallar

Sodyum karbonat (Na_2CO_3)	Merck 1.06392.1000
Sodyum hidroksit (NaOH)	Merck 1.06482.1000
Bakır (III) sülfat	Fisher Chemical C/8600/50
Sodyum potasyum tartarat	Merck 1.08087.1000
Folin çözeltisi	Sigma-Aldrich F9252
Sodyum klorür (NaCl)	Sigma-Aldrich S9888
Albümin	Sigma-Aldrich A3912
Tiyobarbürik asit (TBA)	Sigma-Aldrich T5500-25G
Triklorasetik asit (TCA)	Acros 421451000
Hidroklorik asit (HCl)	Merck 1.00317.2500
n-bütanol ($\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$)	Sigma-Aldrich 4800/17
Çinko sülfat heptahidrat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	Merck 1.08883.1000
Vanadyum (III) Klorür (VCl_3)	Acros 197000250
Sülfanilamid (SULF)	Sigma-Aldrich S9251
N-(1-Naftil)-etilendiamin dihidroklorür (NEDD)	Merck 1.06237.0025
Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4)	Sigma-Aldrich P2222-100G
Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)	Sigma-Aldrich P5655-100G
Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)	Sigma-Aldrich 255793-10G
Sodyum Etilendiamin tetraasedik asit (Na-EDTA)	Sigma-Aldrich E4884-100G
Riboflavin (B_6 veya $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$)	Fisher Bioreagents SBP167-50
o-dianisin	Acros 407890050
L-Glutatyon (GSH)	Sigma Aldrich – G4251 -5G
1 kloro-2,4-dinitro-benzen (CDNB)	Acros 160511000
Ditiyobisnitro-benzoat (DTNB)	Sigma-Aldrich -D8130
Propil4-Hidroksibenzoat (propil paraben;PP)	Sigma-Aldrich P 53367-56
2-propilvalerik asid (Valproik asit; VPA)	Sigma-Aldrich P4543-10G
Serum fizyolojik	

Dimetil Sülfoksit (DMSO)	Sigma-Aldrich P 41640-2,5 L
Potasyum klorür (KCl)	Sigma-Aldrich P101575967
Kalsiyum klorür (CaCl ₂)	Sigma-Aldrich P101624562
Magnezyum sülfat (MgSO ₄)	Sigma-Aldrich P101612225

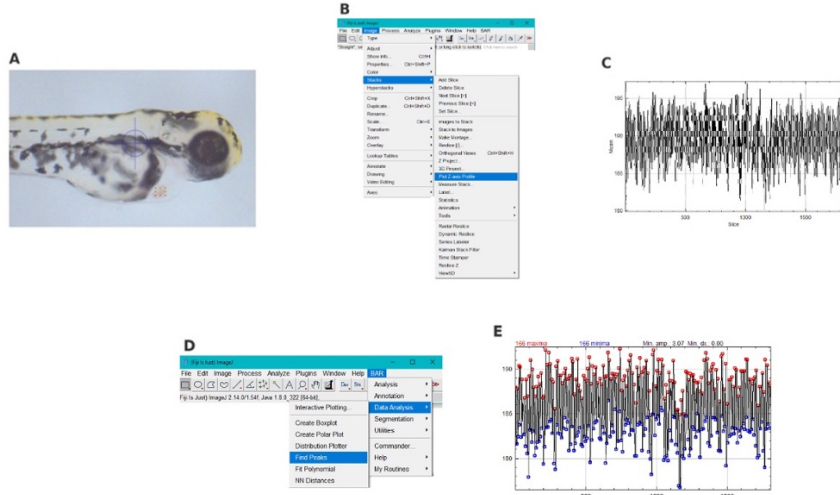
5.6. Zebra balığı embriyolarında *sinüs venosus* (SV)- *bulbus arteriosus* (BA) arası mesafe ölçümünün yapılması

Zebra balığı embriyolarında SV-BA arası mesafeyi ölçmek için, mikroskop altında çekilen görüntüler Image J (Fiji) yazılımında analiz edilmiştir (Schindelin ve ark., 2012). Ölçüm işlemi şu adımlarla gerçekleştirilmiştir. Zebra balığı embriyolarına ait mikroskop görüntüleri JPEG formatında kaydedilip ve Image J yazılımına aktarılmıştır. Ölçüm işlemi öncesinde görüntülerin çözünürlük ve ölçek bilgileri doğrulanmış, mikroskop görüntülerinde mesafelerin doğru ölçülmesi için yazılıma görüntüye ait ölçek (mikron/piksel) bilgisi girilmiştir. Ölçek, mikroskopta kullanılan kalibrasyon cetveli temel alınarak belirlenmiştir. *Sinus venosus* ve *bulbus arteriosus* bölgeleri görsel olarak tanımlandı ve her iki yapı arasındaki doğrusal mesafe manuel olarak Line Tool (çizgi aracı) ile işaretlenmiştir. İşaretlenen bölge, ‘Analyze>Measure’ komutu ile ölçülmüş, elde edilen ölçüm verileri otomatik olarak milimetre (mm) cinsinden kaydedilip Excel’e aktarılarak istatistiksel analize hazır hale getirilmiştir (Antkiewicz ve ark., 2005; Mi ve ark., 2020).

5.7. Zebra Balığı Kalp Atım Hızı Ölçümü

Zebra balığı embriyolarının kalp atım hızını ölçmek amacıyla, 48., 72. ve 96. saatlerde birer dakikalık videolar çekilmiştir. Bu videolar öncelikle .mp4 formatında kaydedilmiştir. Ardından, VirtualDub yazılımı kullanılarak bu videolar .avi formatına dönüştürülmüş olup, .avi formatındaki videolar, Image J (Fiji) yazılımına aktarılmıştır (Schindelin ve ark., 2012). Kalbin ventrikül bölgesi yazılımda ROI (Region of Interest) olarak seçilmiş olup, ROI manuel olarak çizilerek doğruluğu gözle kontrol edilmiştir. Belirlenen ROI’deki piksellerin zamanla değişen parlaklık yoğunluğu ölçülmüş olup, bu değişimler kalp atımının her bir döngüsü ile ilişkili dalgalanmaları göstermiştir. ‘Analyze>Plot Z-axis Profile’ komutu kullanılarak seçilen ROI’den zaman serisi verileri çıkarılmıştır. Bu grafik zamanla yoğunluk değişimini gösterip, yoğunluk değişim grafiğindeki pikler (tepe noktaları) analiz edilerek belirli bir zaman

dilimindeki kalp atım sayısı hesaplanmıştır. Elde edilen pikler, kalp atımlarını temsil etmiştir. Veriler Excel'e aktarılıp grafikler oluşturuldu ve istatistiksel analizlere hazır hale getirilmiştir.



Şekil 6. Zebra balığı embriyosunda kalp atım hızı ölçüm adımları. **(A)** ROI (Region of interest) seçimi. **(B)** Z- eksen profili oluşturma. **(C)** Piksel yoğunluğu zaman serisi grafiği. **(D)** Kalp atım hızınının tepe noktalarının belirlenmesi. **(E)** Kalp atım hızı ölçümü.

Yukarıda yer alan şekle göre, Zebra balığı embriyosunun kalp bölgesi belirlenerek ROI (Region of Interest) seçimi yapılmaktadır. Bu adımda analiz edilecek alan belirlenerek görüntü işleme sürecine başlanır (Şekil 6A). Image J yazılımında 'Plot Z-axis Profile' komutu kullanılarak seçilen ROI içindeki piksel yoğunluğu zaman serisi olarak analiz edilir. Bu işlem, kalp atım hızına dair ham verileri elde etmek için gereklidir (Şekil 6B). Seçilen bölgedeki piksel yoğunluğu değişimleri grafiğe dökülerek kalp atımına bağlı osilasyonlar gözlemlenir (Şekil 6C). Elde edilen zaman serisi verileri üzerinden 'Find Peaks' fonksiyonu kullanılarak maksimum ve minimum noktalar belirlenir. Bu adım, kalp atım sayısının doğru bir şekilde hesaplanabilmesi için önemli bir aşamadır (Şekil 6D). Maksimum noktalar, sistol sırasında piksel yoğunluğunun en yüksek olduğu anları, minimum noktalar ise diyastol sırasında piksel yoğunluğunun en düşük olduğu anları temsil etmektedir. Maksimum ve minimum noktalar belirlenerek kalp atım hızı (beats per minute, BPM) hesaplanır (Şekil 6E).

5.8. Akridin Turuncusu (AO) Boyama Yöntemi

Zebra balığı embriyolarında KIBT kaynaklı iyonize radyasyona maruziyetin kalp bölgesinde neden olduğu apoptotik hücrelerin tespiti için akridin oranj (AO) boyama yöntemi kullanılmıştır. Deney kapsamında, iyonize radyasyona maruz bırakılan zebra balığı embriyoları 72 hpf sonunda toplandı ve embriyo kültür ortamında üç kez fosfattan zengin tampon çözeltisi (PBS) ile yıkandı. Yıkama işlemini takiben, embriyolar 37°C’de karanlık koşullarda, 20 dakika süreyle 5 mg/L konsantrasyonunda AO içeren kültür ortamında inkübe edildi. AO, apoptotik hücrelerin çekirdeklerine bağlanarak floresan sinyaller oluşturdu ve bu sinyallerin görselleştirilmesine olanak sağladı. İnkübasyon sonrasında, embriyolar trikain ile anestezi altına alındı ve apoptotik hücrelerin özellikle kalp bölgesindeki yoğunluğunu incelemek için floresan stereomikroskop kullanılarak görüntülendi. Kalp bölgesinde yer alan apoptotik hücreler, parlak ve granüler yeşil sinyaller şeklinde gözlemlendi.

5.9. Biyokimyasal Parametreler

5.9.1. Oksidan ve antioksidan parametrelerin incelenmesi

5.9.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi tayini

Çalışma prensibi:

SOD aktivitesi, riboflavin ile başlatılan o-dianisidinin foto-oksidasyon hızını artırma kapasitesiyle ölçülmektedir. Riboflavinin floresans ışık altında süperoksit radikalleri oluşturarak bu radikallerin SOD enzim aracılığıyla hidrojen peroksit dönüşmesini sağlar. Ortaya çıkan H_2O_2 , o-dianisidin ile reaksiyona girerek renkli bir ürün meydana getirir. SOD aktivitesi arttıkça oluşan renkli ürün miktarı da artış gösterir. Oluşan renkli ürünün absorbansı 460 nm’de spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir (Mylroie ve ark., 1986).

Gerekli Çözeltiler

- **Fosfat Tamponu (50 mM, pH = 7,8):** 0.136 gram KH_2PO_4 ve 0.697 gram K_2HPO_4 tartılıp ayrı ayrı bir miktar distile su içinde çözülmüş, ardından çözeltiler birleştirilerek toplam hacim distile su ile 100 ml’ye tamamlanmıştır. Hacim 100 ml ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilerek 7,8’e ayarlanmıştır.

- **Fosfat tamponu + 0,1 mM lık Na-EDTA:** 0,0037 gram Na-EDTA tartılır biraz 50mM lık fosfat tamponunda çözülür ve hacmi 50 mM'lık fosfat tamponu ile 100 ml'ye tamamlanır.
- **Potasyum fosfat tamponu (10 mM, pH=7,5):** 0,041 gram KH_2PO_4 ve 0,122 gram K_2HPO_4 tartılıp ayrı ayrı distile su içinde çözülür, birleştirilir ve hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Hacim 100 ml ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 7,5'a ayarlanır.
- **Riboflavin (0,2 mM):** 7,5 mg riboflavin pH=7,5 olan 100 ml potasyum fosfat tamponunda çözdürülmüştür.
- **o- dianisin (6 mM):** 19 mg o-dianisin 10 ml distile suda çözdürüldükten sonra kullanılacağı zaman süzdürülmüştür.

Deneyin Yapılışı:

%10 gramlık embriyo homojenatı, 4000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Elde edilen Süpernatant, 1/10 oranında serum fizyolojik ile seyreltilmiş ve Tablo 4'te belirtilen şekilde analiz edilmiştir.

Numune, standart ve kör olmak üzere 3 deney ayrı deney tüpünde hazırlanmıştır.

Tablo 4. SOD aktivitesi tayini

	Numune	Kör
Fosfat Tamponu (pH = 7,8)	2,6 ml	2,6 ml
o- dianisidin	0,1 ml	0,1 ml
Distile Su	--	0.1 ml
--	--	--
Dilue süpernetant	0.1 ml	--
Her tüpe 30 sn ara ile 0,2 ml riboflavin konur, vorteksle karıştırılır. Plastik makro küvette 460 nm 'de absorbands okunur		

5.9.1.2. Lipit peroksidasyon (LPO) tayini

Çalışma prensibi:

LPO ürünlerinden malondialdehit (MDA) ve tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembemsi rengin absorbandsı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Gerekli Çözeltiler :

- **NaOH (1 M):** 4 gram NaOH tartılmış, bir miktar distile suda çözülmüş ve toplam hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- **TBA çözeltisi (0.047 M):** 500 mg TBA ile 6 ml 1 M lık NaOH ile karıştırılır. Üzerine 69 ml distile su ilave edilir.
- **Triklorasetik asit (TCA) çözeltisi (1,22 M, 0,6 M HCl deki):** 20 ml TCA (%100 g TCA) ile 5 ml HCl (% 37 g lık, d=1,19 g/dl lik HCl) karıştırılmış ve toplam hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- **n-butanol:** Direkt olarak orijinal şişeden kullanılmıştır.

Deneyin Yapılışı

2 tane deney tüpü alınarak numune ve kör olmak üzere işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

Tablo 5. LPO aktivitesi tayini

	Numune	Kör
Embriyo homojenatı	0,25 ml	-
Distile su	-	-
TCA	1,25 ml	-
Vortekste karıştırıldıktan sonra 15 dk bekletilmiştir.		
TBA	0,75 ml	-
Vorteks ile karıştırılır ve 30 dk kaynar su banyosunda inkübe edilmiştir.		
n-butanol	2 ml	1 ml

Çözeltiler eklendikten sonra deney tüpleri vorteks ile karıştırılmış ve 3000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üst fazdan 1 ml n-butanol alınmış ve 532 nm'de cam küvette, köre karşı absorbans değerleri ölçülmüştür. Ölçüm sonuçları, MDA'nın ekstinksiyon katsayısı ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanmıştır (Ledwozyw ve ark., 1986).

5.9.1.3. Total nitrik oksit (NO) tayini

Çalışma prensibi:

Nitrat, vanadyum (III) klorür yardımıyla nitrite indirgenir. Elde edilen nitrit, sülfanilamid ve N-(1-Naftil) etilendiamine dihidroklorür ile asidik ortamda reaksiyona girerek diazonyum bileşiği oluşturur. Bu renkli kompleksin absorbanası 540 nm’ de spektrofotometrik olarak ölçülür.

Gerekli Çözeltiler

- **0,3 M NaOH çözeltisi:** 0,6 g NaOH bir miktar distile su içinde çözülmüş ve hacim, distile su ile 50 ml’ ye tamamlanmıştır.
- **%10’luk ZnSO₄:** 5 g ZnSO₄ ya da 8,9 g ZnSO₄.7 H₂O bir miktar distile suda çözülmüş ve toplam hacim 50 ml’ye tamamlanmıştır.
- **1 M HCl:** 4,20 ml HCl ölçülerek alınmış ve distile su ile hacim 50 ml’ye tamamlanmıştır.
- **VCl₃:** 0,4 g VCl₃ bir miktar 1 M HCl de çözülür ve üzerine aynı çözelti ile 50 ml’ ye tamamlanır.
- **%5’lik HCl:** 5,67 ml %37’lik HCl’nin üzerine hacim 50 ml olacak şekilde distile su eklenmiştir.
- **%2’lik SULF(Sülfanilamid):** 0,5 g Sülfanilamid tartılır, 25 ml % 5’ lik HCl içerisinde çözülür.
- **%0,1’lik NEDD (N-(1-Naftil)-etilendiamin dihidroklorür):** 0,025 g NEDD tartılır. Bir miktar deiyonize suda çözülür ve üzeri deiyonize su ile 25 ml’ ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı

Embriyo homojenatı 4000 rpm’de 10 dk santrifüj edilmiştir. 0,3 ml süpernatant alınarak üzerine 0,3 ml 0,3 M NaOH eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiş, ardından 0,3 ml %10’luk ZnSO₄ eklenerek vortekslenmiştir. Çözelti +4°C’de 14000 rpm’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Üst faz alınmış ve tekrar aynı koşullarda santrifüj edilmiştir. İki adet deney tüpü alınır, kör ve numune olarak işaretlenerek aşağıdaki gibi çalışılır.

Tablo 6. Nitrik oksit tayin yöntemi

	Numune	Kör
Deproteinize Sıvı	0,3 ml	-
Distile Su	-	0,6 ml
VCl ₃	0,3 ml	0,3 ml
SULF	0,15 ml	-

NEDD	0,15 ml	-
30 dk 37 °C’de etüvde inkübe edilir.		

Absorbans değerleri, 540 nm’de köre karşı ölçülmüştür. Sonuçlar 53000 M⁻¹/cm⁻¹ ekstinsiyon katsayısı ile % µmol cinsinden hesaplanır (Miranda ve ark., 2001).

5.9.1.4. Katalaz (CAT) aktivitesi tayini

Çalışma prensibi:

Katalaz enzimi; H₂O₂’nin H₂O’ya dönüşümünü katalize eden bir enzimdir. Bu dönüşüm 240 nm’de absorbansın azalmasıyla takip edilebilir. Absorbansın 1 dakikadaki azalmasının katalaz enzim aktivitesini yansıttığı bilinmektedir.

Gerekli Çözeltiler:

- **Fosfat tamponu (50 mM, ph=7,0):**

6,81 g KH₂PO₄ ve 8,90 g Na₂HPO₄.2H₂O ayrı ayrı bir miktar distile suda çözülmüş ve her biri distile su eklenerek 1000 ml’ye tamamlanmıştır. KH₂PO₄’ten 1 hacim Na₂HPO₄.2H₂O’dan 1,5 hacim alınarak ve pH’ye ayarlanarak karıştırılmıştır.

- **H₂O₂ çözeltisi (20 mM) + Fosfat tamponu:** Yoğunluğu d=1,11 g/ml olan %30 g’lık H₂O₂ çözeltisinden 0,31 ml alınmış ve pH’sı 7 olan 50 mM’lık fosfat tamponu ile 100 ml’ye seyreltilmiştir.

Deneyin Yapılışı:

%10 gramlık embriyo homojenatı, 4000 rpm’de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınarak 1/10, 1/20 veya 1/40 oranında serum fizyolojik ile seyreltilmiş ve deney için kullanılmıştır.

Numune ve kör olarak işaretlenmiş 2 ayrı deney tüpü alınarak Tablo 7’deki gibi çalışılmıştır.

Tablo 7. CAT aktivitesi tayini

	Numune	Kör
Fosfat tamponu	-	0,2 ml

Dilue süpernatant	0,4 ml	0,4 ml
H ₂ O ₂ çözeltisi+ fosfat tamponu	0,2 ml	--

Çözeltiler karıştırıldıktan 1 dk sonra, kuartz küvet kullanılarak 240 nm’de absorbans ölçümleri yapılmıştır. Ölçüm sonuçları, ekstinksiyon katsayısı 0,004 (0,00394) mM⁻¹/mm⁻¹ dikkate alınarak hesaplanmıştır (Aebi, 1984).

5.9.1.5. Glutatyon-S-Transferaz (GST) aktivitesi tayini

Çalışma prensibi:

GST aktivitesi tayini, GSH ve 1-kloro-2,4-dinitro-benzen (CDNB) arasında gerçekleşen konjugasyon sonucu oluşan ürünün 340 nm’deki absorbans artışının spektrofotometrik olarak ölçülmesi temeline dayanmaktadır.

Gerekli Çözeltiler:

- **Sodyum fosfat tamponu (0,2 M, pH= 6,5):** 0,534 gram Na₂HPO₄.2H₂O ve 2,3 gram KH₂PO₄ ayrı ayrı biraz distile suda çözdürüldükten sonra karıştırılmış ve hacim 100 ml olacak şekilde üzerine distile su ilave edilmiştir. Hacim 100 ml’ye tamamlanmadan önce pH=6,5’e ayarlanmıştır.
- **Glutatyon (GSH) (60mM):** 1,84 gram glutatyon bir miktar distile su içinde çözülmüş ve toplam hacim 100 ml’ye tamamlanmıştır.
- **1-klor-2,4-dinitro-benzen (CDNB) (60 mM):** 1,22 gram CDNB bir miktar etanol içinde çözülmüş ve hacim 100 ml’ye tamamlanmıştır.

Deneyin Yapılışı:

%10 gramlık embriyo homojenatı, 4000 rpm’de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınarak 1/40 oranında serum fizyolojik ile seyreltilmiş ve deneylerde kullanılmıştır. Numune ve kör olarak işaretlenmiş iki tüp alınmış ve Tablo 8’de anlatıldığı şekilde çalışılmıştır.

Tablo 8. GST aktivitesi tayini

	Numune	Kör
Dilue süpernatant	0,5 ml	--
SF veya Distile Su	--	0,5 ml

GSH çözeltisi	0,05 ml	0,05 ml
CDNB çözeltisi	0,05 ml	0,05 ml
Distile su	0,90 ml	0,90 ml
Toplam Hacim	3 ml	3 ml
Fosfat Tamponu	1,5 ml	1,5 ml

Tüm çözeltiler karıştırıldıktan sonra karışımların absorbens değerleri, 340 nm’de 3 dakika boyunca (0., 1., 2., 3. dakikalarda) ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Glutasyon ve CDBN’nin konjugasyonu sonucu oluşan ürün için belirlenen ekstinksiyon katsayısı $9,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ kullanılarak sonuçlar hesaplanmıştır. Enzimatik konjugasyon sonucundan, enzimatik olmayan konjugasyonun absorbens değerleri çıkarılarak sonuç elde edilmiştir (Habig ve Jakoby, 1981).

5.10. Gen İfadesi Analizleri

5.10.1. RNA ekstraksiyonu

RNA izolasyonları RNeasy Mini kit ile Qiacube (Qiagen) aleti kullanılarak yapılmıştır. RNA izolasyonu için, embriyolara RLT lizis tamponu eklenerek homojenize edilmiştir. Daha sonra lizata etanol eklenerek RNA’nın RNeasy membranına bağlanabilmesi için gerekli koşullar sağlanmış ve örnekler RNeasy spin kolonuna aktarılmıştır. Total RNA membrana bağlandığında kontaminantların da yıkanması ile RNA elüsyonu RNase-free su içinde gerçekleştirilmiştir. Bağlanma, yıkanma ve elüsyon işlemleri Qiacube (Qiagen) izolasyon cihazı kullanılarak yapılmıştır.

5.10.2. cDNA eldesi

Elde edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi, RT2 First Strand Kit (Qiagen) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

5.10.3. RT PCR ile gen ekspresyon analizi

İstenilen genlerin ekspresyonları, ‘RT2 SYBR Green master mix’ karışımına elde edilen cDNA örneklerinin eklenmesi şeklinde RT-PCR aleti kullanılarak tespit edilmiştir. House keeping gen olarak β -aktin kullanılmıştır. Her bir örnek üçer defa çalışılmıştır.

5.10.4. Delta Delta CT metodu ile veri analizi

Verilerin analizi house keeping gen β -aktin ile normalizasyona dayalı delta delta CT ($\Delta\Delta CT$) metodu kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntem ile PCR'da belirlenen eşik değeri döngü sayısı (threshold cycle number-Ct), kontrol ve araştırılan gen için karşılaştırılmıştır. Kontrol (referans) ile incelenecek gen bölgesi arasındaki Ct değeri farklılığı housekeeping gen ile normalize edilip $\Delta\Delta Ct$ oranı belirlenerek bulunmuştur. 'Housekeeping' genler tüm çekirdekli hücrelerde aktif olarak bulunan genlerdir ve bunlara spesifik primerlerle amplifiye edilerek belirlenmektedirler. Bu amaçla kullanılan gen bölgeleri arasında β -aktin, albumin, β -globin, hipoksantin fosforibozil transferaz sayılabilir. Bu tez çalışmasında house keeping gen olarak β -aktin kullanılmıştır. Karşılaştırmalı Ct metodu aynı zamanda $2^{-[\Delta\Delta Ct]}$ olarak bilinmektedir.

5.11. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi One-Way Anova sonrası Post Hoc Tukey Çoklu Karşılaştırma Analizi kullanılarak Graph Pad Prism 9 Software (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) istatistik programı ile yapılmıştır. Sonuçlar Ortalama $\pm$ Standart Sapma şeklinde verilmiş ve $p<0,05$ anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

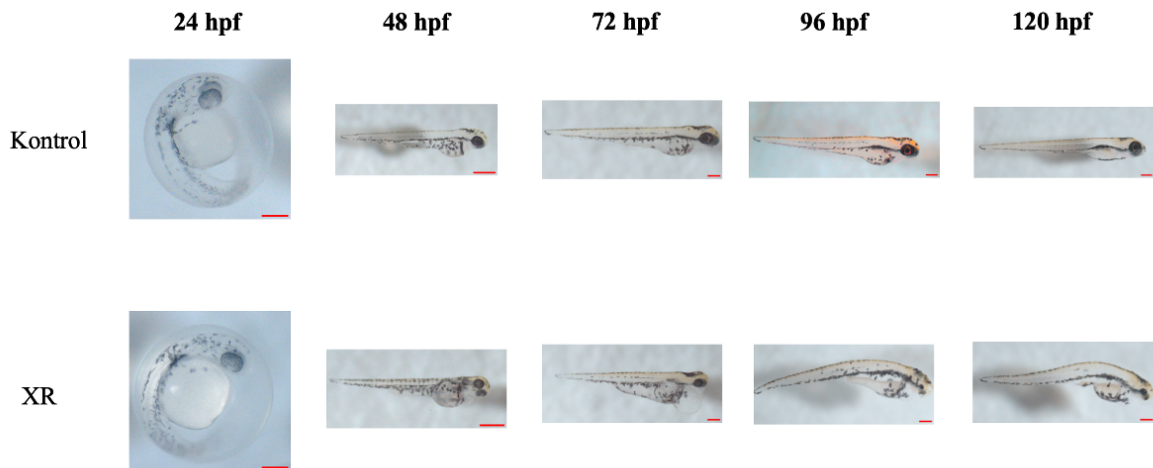
6. BULGULAR

6.1. Dozimetreye Ait Bulgular

Çalışmada, KIBT dozu için OSL dozimetre kullanılarak maruziyet değerleri hesaplanmıştır. Ölçümler mSv cinsinden değerlendirilmiş ve elde edilen ortalama sonuçlar sunulmuştur. X-ray grubunda, 90 kVp, 10 mA sabit dozunda 18 saniye boyunca ışınlama yapılmış olup, X-ışını maruziyetine bağlı absorbe edilen vücut dozu 5,69 mSv, deri dozu 5,53 mSv olarak belirlenmiştir.

6.2. Gelişimsel Parametrelere Ait Bulgular

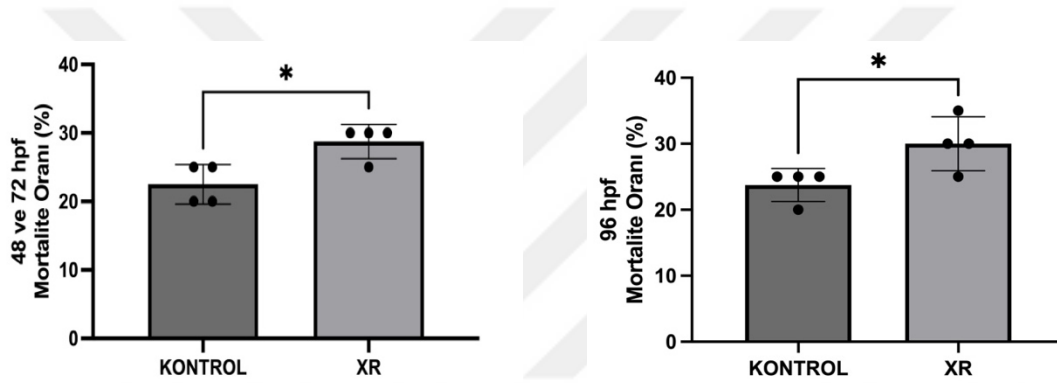
Kontrol ve X-ışını maruziyet grubunda yer alan zebra balığı embriyoları, fertilizasyon sonrası 24., 48., 72., 96. ve 120. saatlerde mikroskop altında izlenmiştir. Bu incelemeler sonucu embriyolarda görülen malformasyonlar Şekil 7’ de verilmiştir. 48 ve 72 hpf’de maruziyet grubunda perikardiyal ödem, yolk kesesi ödemi izlenmiştir. 96 hpf ve 120 hpf’de ise yine maruziyet grubunda perikardiyal ödem, yolk kesesi ödemi, değişen derecelerde skolyoz, baş ve göz gelişim geriliği gibi bulgular sıklıkla izlenmiştir.



Şekil 7. Gruplarda embriyolarda gözlenen malformasyonlar

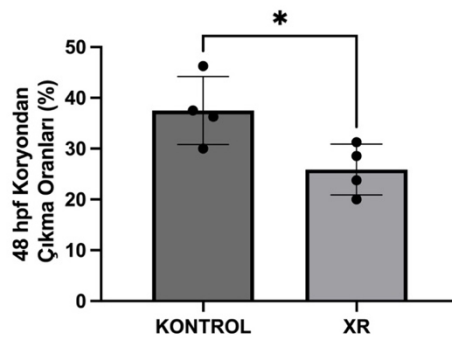
6.3. Mortalite ve Koryondan Çıkış Oranları

İyonize radyasyona maruziyet sonrası zebra balığı embriyolarında görülen fertilizasyon sonrası 48,72 ve 96 hpf’de mortalite oranları Şekil 8’de gösterilmiş olup, 48 hpf’de koryondan çıkma oranları Şekil 9’da gösterilmiştir. Ancak 48 hpf’den sonra koryondan çıkış oranlarının ölçülmesine gerek duyulmamıştır, çünkü her iki grupta da embriyolar tamamen çıkmıştır. Mortalite oranları 48,72 ve 96 hpf’de maruziyet grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede artış tespit edilmiştir. Koryondan çıkma oranları ise 48 hpf’de maruziyet grubunda kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulunmuştur.



Şekil 8. Kontrol ve maruziyet gruplarında mortalite oranlarının karşılaştırılması.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. * $p < 0,05$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.



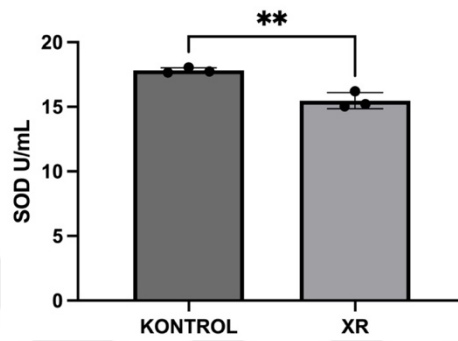
Şekil 9. Kontrol ve maruziyet gruplarında koryondan çıkma oranlarının karşılaştırılması

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. * $p < 0,05$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.4. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulguları

6.4.1. Süperoksit dismutaz aktivitesinin istatistiksel değerlendirmesi

Kontrol ve maruziyet gruplarının süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin sonuçları Şekil 10’da verilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda SOD aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir (**p<0,01).

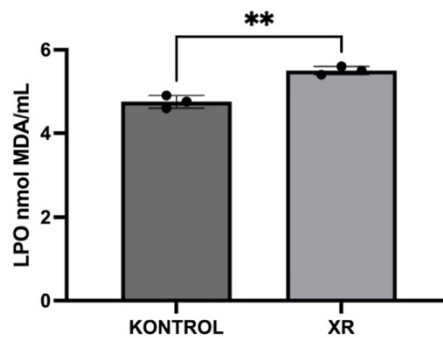


Şekil 10. Kontrol ve maruziyet gruplarının SOD aktiviteleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. **p<0,01 ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.4.2. Lipit peroksidasyon aktivitesinin istatistiksel değerlendirmesi

Kontrol ve maruziyet gruplarının lipit peroksidasyon (LPO) aktivitesinin sonuçları Şekil 11’de verilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda LPO aktivitesinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (**p<0,01).

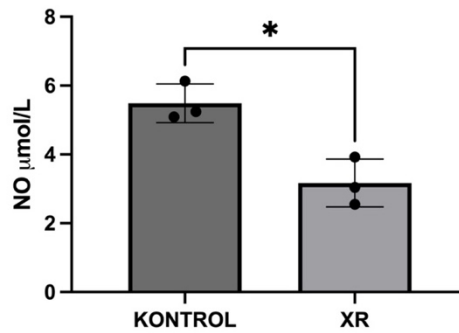


Şekil 11. Kontrol ve maruziyet gruplarının LPO aktiviteleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. $**p<0,01$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.4.3. Nitrik oksit aktivitesinin istatistiksel değerlendirmesi

Kontrol ve maruziyet gruplarının nitrik oksit (NO) aktivitesinin sonuçları Şekil 12’de verilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda NO aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($*p<0,05$).

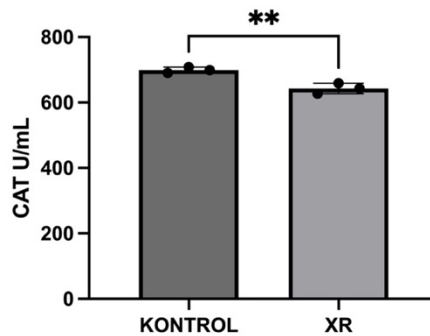


Şekil 12. Kontrol ve maruziyet gruplarının NO aktiviteleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. $*p<0,05$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.4.4. Katalaz aktivitesinin istatistiksel değerlendirmesi

Kontrol ve maruziyet gruplarının katalaz (CAT) aktivitesinin sonuçları Şekil 13’te verilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda CAT aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($**p<0,01$).

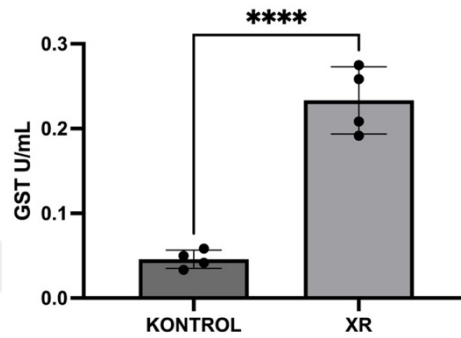


Şekil 13. Kontrol ve maruziyet gruplarının CAT aktiviteleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. $**p<0,01$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.4.5. Glutasyon-s-transferaz aktivitesinin istatistiksel değerlendirilmesi

Kontrol ve maruziyet gruplarının glutasyon-s-transferaz (GST) aktivitesinin sonuçları Şekil 14'te verilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda GST aktivitesinde belirgin bir artış gözlenmiştir ($****p<0,0001$).



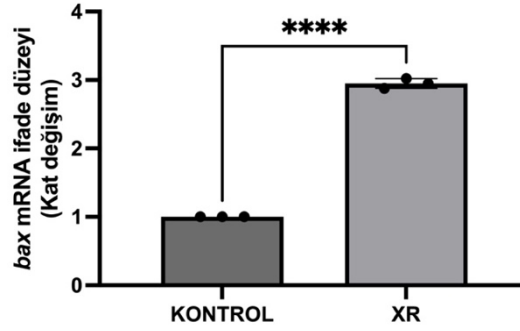
Şekil 14. Kontrol ve maruziyet gruplarının GST aktiviteleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. $****p<0,0001$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.5. Gen İfadesi Analiz (RT-PCR) Bulguları

6.5.1. *bax* geni ekspresyon düzeyleri

Kontrol ve maruziyet gruplarının *bax* geninin ekspresyon düzeyleri Şekil 15'te verilmiştir. Deneyler üçer tekrarlı yapılmış olup housekeeping gen olarak beta aktin kullanılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda *bax* gen ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir ($****p<0,0001$).

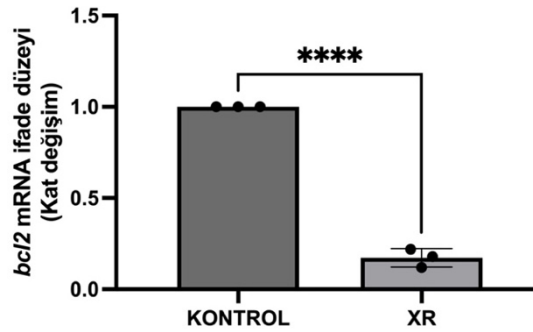


Şekil 15. Kontrol ve maruziyet gruplarında *bax* ekspresyonlarının karşılaştırılması

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. **** $p<0,0001$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.5.2. *bcl2* geni ekspresyon düzeyleri

Kontrol ve maruziyet gruplarının *bcl2* geninin ekspresyon düzeyleri Şekil 16’da verilmiştir. Deneyler üçer tekrarlı yapılmış olup housekeeping gen olarak beta aktin kullanılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda *bcl2* gen ekspresyonunun anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir (**** $p<0,0001$).



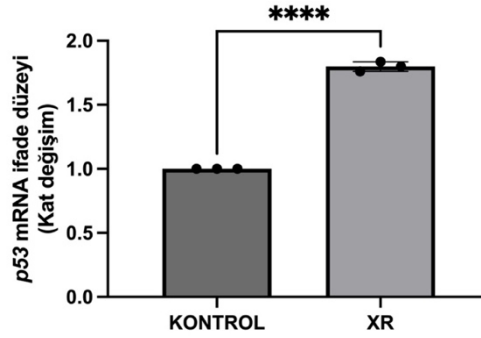
Şekil 16. Kontrol ve maruziyet gruplarında *bcl2* ekspresyonlarının karşılaştırılması

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. **** $p<0,0001$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.5.3. *p53* geni ekspresyon düzeyleri

Kontrol ve maruziyet gruplarının *p53* geninin ekspresyon düzeyleri Şekil 17’de verilmiştir. Deneyler üçer tekrarlı yapılmış olup housekeeping gen olarak beta aktin kullanılmıştır. Elde

edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda *p53* gen ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir (**** $p<0,0001$).

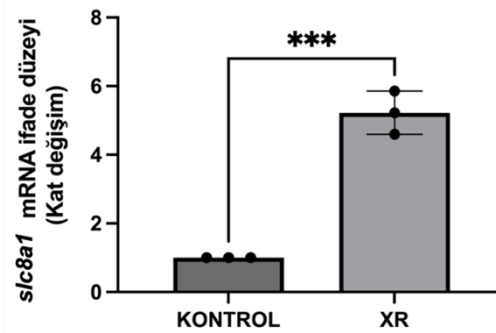


Şekil 17. Kontrol ve maruziyet gruplarında *p53* ekspresyonlarının karşılaştırılması

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. **** $p<0,0001$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.5.4. *slc8a1* geni ekspresyon düzeyleri

Kontrol ve maruziyet gruplarının *slc8a1* geninin ekspresyon düzeyleri Şekil 18’de verilmiştir. Deneyler üçer tekrarlı yapılmış olup housekeeping gen olarak beta aktin kullanılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda *slc8a1* gen ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir (** $p<0,001$).

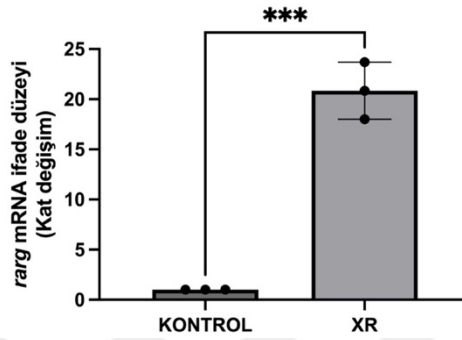


Şekil 18. Kontrol ve maruziyet gruplarında *slc8a1* ekspresyonlarının karşılaştırılması

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. *** $p<0,001$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.5.5. *rarg* geni ekspresyon düzeyleri

Kontrol ve maruziyet gruplarının *rarg* geninin ekspresyon düzeyleri Şekil 19’da verilmiştir. Deneyler üçer tekrarlı yapılmış olup housekeeping gen olarak beta aktin kullanılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda *rarg* gen ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir (** $p < 0,001$).

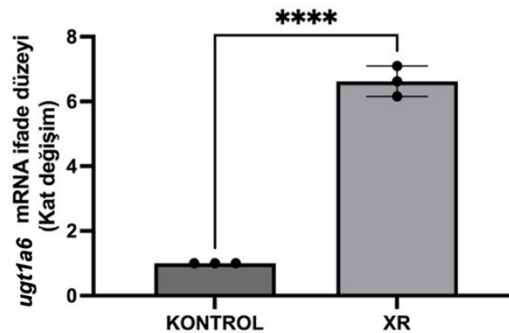


Şekil 19. Kontrol ve maruziyet gruplarında *rarg* ekspresyonlarının karşılaştırılması

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. *** $p < 0,001$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.5.6. *ugt1a6* geni ekspresyon düzeyleri

Kontrol ve maruziyet gruplarının *ugt1a6* geninin ekspresyon düzeyleri Şekil 20’de verilmiştir. Deneyler üçer tekrarlı yapılmış olup housekeeping gen olarak beta aktin kullanılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda XR grubunda *ugt1a6* gen ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir (**** $p < 0,0001$).

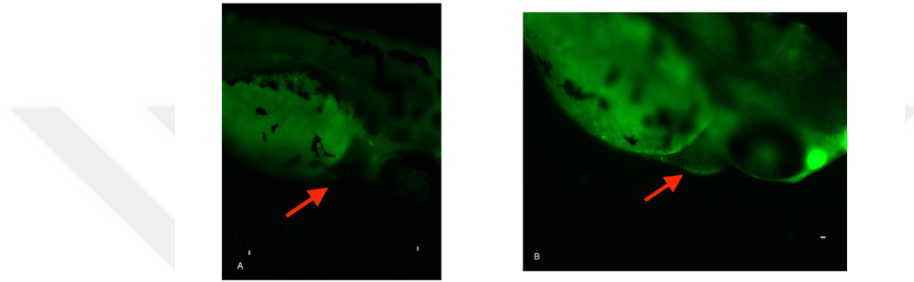


Şekil 20. Kontrol ve maruziyet gruplarında *ugt1a6* ekspresyonlarının karşılaştırılması

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. **** $p < 0,0001$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

6.6. Akridin Turuncusu (AO) Boyama Yöntemi Sonuçları

İyonize radyasyonun kardiyak doku üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla, akridin orange boyaması maruziyet sonrası 72. Saatte uygulandı. Floresan mikroskobu analizi sonucunda radyasyon grubunda kalp bölgesinde apoptotik hücrelerin yoğunluğu artmış olarak gözlemlendi.

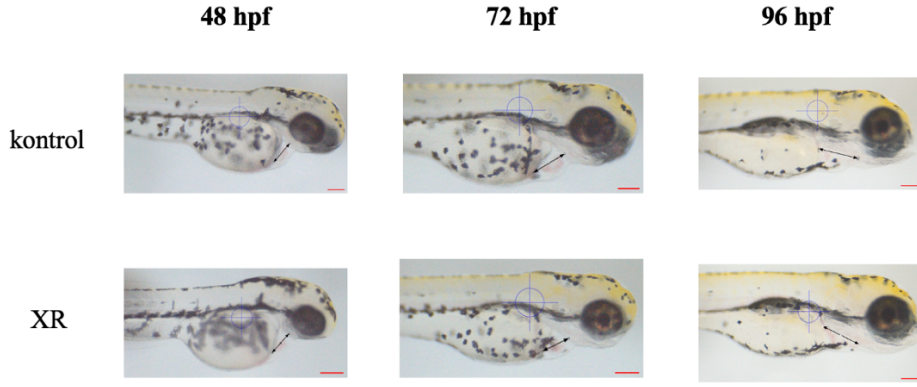


Şekil 21. 72. Saatte akridin orange boyaması sonrası floresan mikroskop görüntüleri. (A) Kontrol grubunda kardiyak bölge (B) İyonize radyasyon grubunda kardiyak bölgede apoptotik hücre yoğunluğunun arttığı görülmektedir (kırmızı ok ile gösterilmiştir).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, iyonize radyasyona maruz kalan embriyolarda kalp dokusunda apoptotik hücre birikiminin anlamlı derecede fazla olduğu tespit edildi.

6.7. Sinus venosus (SV)- Bulbus arteriosus (BA) Arası Mesafe Bulguları

Kontrol ve maruziyet gruplarının kalplerinde yer alan SV ve BA anatomik oluşumları arasındaki mesafe sonuçları Şekil 22’de verilmiştir.

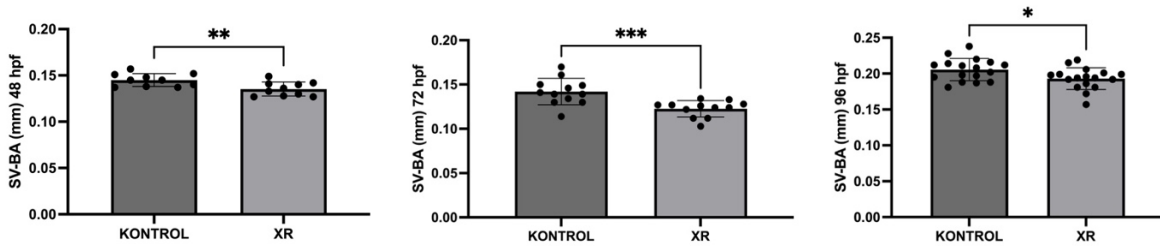


Şekil 22. 48., 72. Ve 96. saatlerde kontrol ve iyonize radyasyon grubuna ait SV-BA arası mesafe ölçümleri

48 hpf'de SV-BA arası mesafe: Maruziyet (XR) grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında SV-BA mesafesinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir (** $p < 0,01$).

72 hpf'de SV-BA arası mesafe: Maruziyet (XR) grubunda SV-BA mesafesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir (*** $p < 0,001$).

96 hpf'de SV-BA arası mesafe: Maruziyet (XR) grubunda SV-BA mesafesinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir (* $p < 0,05$).



Şekil 23. A. 48 hpf B. 72 hpf C. 96 hpf zebra balığı embriyolarında SV-BA arasındaki mesafe ölçümleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

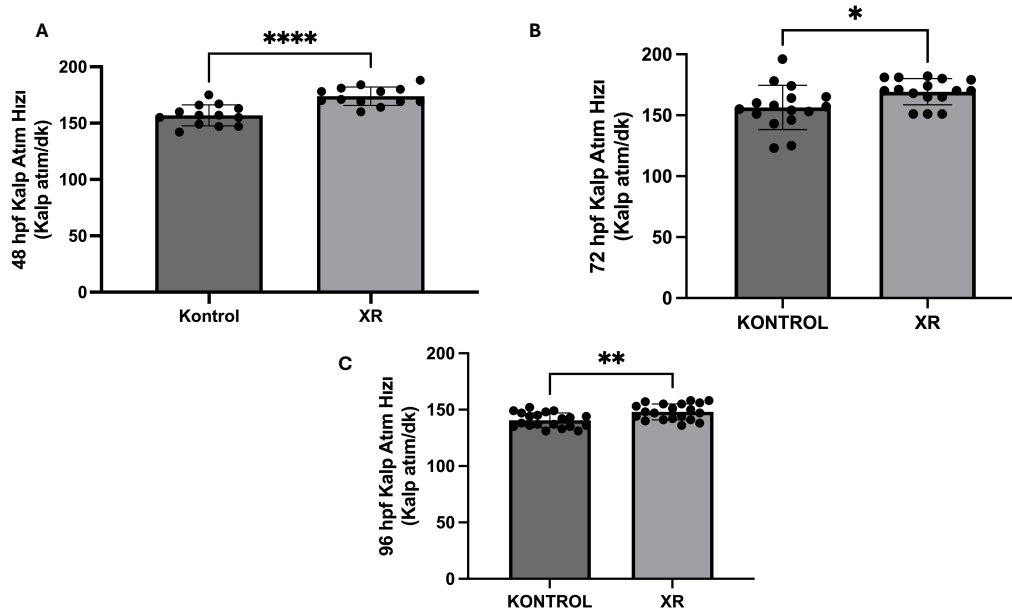
6.8. Kalp Atım Hızı Sonuçları

Kontrol ve maruziyet gruplarının kalp atım hızı değişimleri Şekil 24'te verilmiştir.

48 hpf’de kalp atım sayısı: Maruziyet grubu (XR) ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, XR grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (**** $p<0,0001$).

72 hpf’de kalp atım sayısı: Maruziyet grubunun kalp atım hızı kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde artmıştır (* $p<0,05$).

96 hpf’de kalp atım sayısı: Maruziyet grubunun kalp atım hızında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (** $p<0,01$).



Şekil 24. A. 48 hpf, B. 72 hpf ve C. 96 hpf’de zebra balığı embriyolarının dakikadaki kalp atım sayıları

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; **** $p<0,0001$ ilgili gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı. K: Kontrol; XR: Maruziyet grubu.

7.TARTIŞMA

Dış hekimliğinde klinik muayeneye yardımcı tanı yöntemi olarak sıklıkla kullanılan radyolojik görüntüleme yöntemlerinin temelini iyonize radyasyon oluşturmaktadır. Günümüzde iki boyutlu periapikal ve panoramik görüntülemelerin yanı sıra tanı ve tedavi planlamasında üç boyutlu bir görüntüleme yöntemi olan konik ışınli bilgisayarlı tomografi (KIBT) de sıklıkla kullanılmaktadır (White ve Pharoah, 2013). Ancak KIBT yönteminde diğer dental yöntemlere oranla daha fazla radyasyonun söz konusu olması birtakım biyolojik riskleri de beraberinde getirmektedir (Shatskiy, 2021; Wrzesień ve Olszewski, 2017).

Biyolojik sistemler iyonize radyasyona karşı yüksek duyarlılık göstermektedir. İyonize radyasyon, hücre zarı ve organelleri üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak etkiler gösteren, hücresel bütünlüğü bozabilen fiziksel bir ajandır. Bu etkilerini DNA hasarı, apoptoz, oksidatif stres veya inflamasyon yollarını aktive ederek çeşitli mekanizmalar aracılığıyla ortaya koymaktadır. Radyasyon etkileri genellikle doz bağımlı olup, dozdan bağımsız da gözlenebilmektedir (Hall ve Giaccia, 2006). Bu tez çalışmasında iyonize radyasyonun kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler oksidatif stres, biyokimyasal parametreler, apoptotik genler ve kardiyotoksiste ile ilgili genler üzerinden yapılmıştır.

Geçmiş yıllarda embriyonik dönemde maruz kalınan iyonize radyasyonun kardiyogenez ve kardiyovasküler sistem gelişimi üzerindeki etkilerini değerlendirmeye yönelik pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar, farklı model organizmalarla, çeşitli yöntemlerle ve doz aralıklarında yürütülmüştür. Gilani ve ark. (1971), civciv embriyolarını 600-1000 R arasında x-ışını dozlarına maruz bırakmış ve aort stenozu, septal defektler gibi konjenital kalp anomalileri bildirmiştir (Gilani ve Jaffee, 1971). Norris ve ark. (1972) ise sıçan embriyolarında 28.000-34.000 R gibi yüksek dozlarda x-ışını uygulamış ve şiddetli bradikardi gibi akut kardiyak etkiler gözlemlemiştir (Norris ve ark., 1972). Rebuzzini ve ark. (2013), fare embriyonik kök hücrelerini 5 Gy gama ışınına maruz bırakmış ve farklılaşan kardiyomiyositlerin kasılma fonksiyonlarının etkilediğini bildirmiştir (Rebuzzini ve ark., 2013). Freeman ve ark. (2014), zebra balığı embriyolarını 26 hpf'de 1-10 Gy arasında değişen x-ışını dozlarına maruz bırakarak kalp atım hızı, morfolojik ölçümler ve gen ekspresyonlarını değerlendirmiştir (Freeman ve ark., 2014). Ye ve ark. (2015) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, civciv embriyoları 900 MHz mobil telefon kaynaklı mikrodalga radyasyona günde 3 saat maruz bırakılmış, kalp yapısında deformasyonlar ve DNA hasarı gözlemlemiştir

(Ye ve ark., 2016). Helm ve ark. (2016) çalışmasında, fare embriyonik kök hücrelerine 1-6 Gy x-ışını ve 0,5-3 Gy karbon iyonları uygulanmış; kardiyomiyosit farklılaşmasının baskılandığı gösterilmiştir (Helm ve ark., 2016). Tüm bu çalışmalar, radyasyonun kardiyogenez üzerine etkilerini göstermekle birlikte, çoğunlukla yüksek dozlar veya farklı model sistemleri kullanılmıştır. Yukarıda bahsedilen çalışmalardan farklı olarak mevcut tez araştırmasında model organizma olarak zebra balığı embriyolarına, gelişimlerinin ikinci saatinde KIBT cihazı kaynaklı x-ışını uygulanmış olup, OSL dozimetreler ile maruz kalınan radyasyon dozları ölçülmüştür. OSL dozimetre analizleri sonucunda vücut dozu 5,69 mSv, deri dozu 5,53 mSv olarak belirlenmiştir. Düşük doz iyonize radyasyon, 100 milisievert (mSv)'in altındaki radyasyon maruziyetini ifade etmekte olup, bu tanım iyonlaştırıcı radyasyonun biyolojik etkilerini inceleyen çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Council ve ark., 2006). Bu çalışma, düşük doz iyonize radyasyonun embriyonik kalp gelişimi üzerindeki etkilerini zebra balığı embriyo modeli üzerinden değerlendirerek, literatüre farklı bir bakış açısı kazandırmayı hedeflemiştir.

Son yıllarda zebra balığı embriyoları kardiyotoksisite çalışmalarında önemli bir model olarak kullanılmaktadır. Zebra balığı embriyolarının insanlarla olan genetik benzerliği, şeffaf yapıları sayesinde kardiyovasküler yapıların gözlenebilir olması, hızlı gelişim süreçleri deneysel çalışmalarda önemli avantajlar sağlamaktadır. Çeşitli toksik ajanlara maruz bırakılan zebra balığı embriyolarında, insanlara benzer kardiyovasküler problemler (perikardiyal ödem, kalp atım hızı değişiklikleri gibi) görülmesi nedeniyle, kardiyotoksik ajanların etkilerinin değerlendirilmesinde güvenilir bir in vivo model olarak karşımıza çıkmaktadır (Zakaria ve ark., 2018). Bu doğrultuda, bu mevcut tez çalışmasında iyonize radyasyonun zebra balığı embriyoları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen veriler, zebra balığı modelinin kardiyotoksisite çalışmalarında kullanılabilirliğini desteklemiştir.

Süperoksit dismutaz (SOD), metabolik olaylar sonucu oluşan reaktif oksijen türlerini ve oksidatif stresi önleyen bir enzim ailesidir. Bu etkisini süperoksit anyonlarını, hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürerek göstermektedir. Böylece hücrede oluşabilecek serbest radikal hasarını sınırlamaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2015; McCord ve Fridovich, 1969). Antioksidan savunma sisteminde görev alan bu enzimin nörodejeneratif hastalıklar, kanser ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Miao ve Clair, 2009).

Lee ve ark.'nın (2001) maya hücrelerini kullanarak yapmış olduğu bir çalışmada, 40-1200 Gy değerinde iyonize radyasyonun SOD aktivitesi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma

sonucuna göre artan radyasyon dozuyla beraber SOD değerlerinde azalma izlenmiş olup, özellikle 1200 Gy’de SOD aktivitesinin baskılandığı gözlenmiştir. Bu durum yüksek doz iyonize radyasyonun antioksidan savunma sisteminde yer alan SOD enziminin aktivitesini azaltarak oksidatif stresi arttırdığını ve hücrel hasara neden olduğunu göstermektedir (Lee ve ark., 2001).

X-ışınının uzun dönemde etkilerini inceleyen bir başka araştırmada mesleki olarak x-ışınına maruz kalan sağlık çalışanlarında SOD değerleri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, SOD enzim aktivitesinde radyasyona maruz kalan grupta anlamlı bir azalma izlenmiştir. Özellikle kadın sağlık çalışanlarında bu azalmanın daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu bulgular iyonize radyasyonun uzun vadede hücrede oksidatif stresi arttırabileceğini ortaya koymaktadır (Kłucinski ve ark., 2008).

Zhou ve ark.’nın (2014) zebra balığı embriyoları üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada x-ışınının etkileri incelenmiş, gelişimlerinin 8.saatinde 1, 2, 4 ve 8 Gy dozlarında x-ışınına maruz bırakılan embriyoların, 24., 48., 72. ve 96. hpf’de antioksidan enzim aktiviteleri değerlendirilmiştir. Çalışmada, 24. hpf’de, 2 ve 4 Gy radyasyon dozunda SOD seviyelerinde anlamlı artış gözlemlenmiştir. 48. hpf’de 1 ve 2 Gy dozlarında artış devam ederken, 8 Gy dozunda azalma tespit edilmiştir. 72. hpf’de tüm maruziyet gruplarında artış gözlemlenirken, 96. hpf’de 8 Gy dozunda tekrar bir düşüş izlenmiştir. Araştırmacılar bu bulguların düşük doz x-ışını maruziyetinin antioksidan savunma mekanizmalarını aktive ederken, yüksek doz x-ışını maruziyetinin hücrel savunma mekanizmalarını baskılayabileceğini gösterdiğini ifade etmişlerdir (Zhou ve ark., 2014).

Fakültemizin Zebra Balığı Laboratuvarında yakın dönemde gerçekleştirilen üç farklı çalışmada düşük doz iyonize radyasyonun zebra balığı embriyoları üzerinde etkileri incelenmiştir. Karagöz ve ark. (2023) panoramik görüntüleme parametrelerini kullanarak zebra balığı embriyolarında SOD aktivitelerini değerlendirmiştir. Standart ve pedodontik panoramik modlarda olmak üzere iki farklı x-ışını maruziyet grubu oluşturdıkları çalışmalarında, özellikle standart panoramik modda belirgin olmak üzere SOD aktivitelerinde anlamlı bir artış tespit etmişlerdir. Kollayan ve ark. (2024) dental bir x-ışını ünitesinden farklı ekspozür sürelerinde x-ışınına maruz bıraktığı zebra balığı embriyolarında SOD seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir. Radyasyon dozu arttıkça bu azalma daha belirgin hale gelmiştir. Aydaş Bayramov (2024) tez çalışmasında yine bir dental x-ışını ünitesinden elde edilen düşük doz iyonize radyasyona (70

kV, 7 mA) maruz bıraktığı zebra balığı embriyolarında SOD seviyesinde artış gözlemlenmiştir (Aydaş Bayramov, 2024).

Mevcut tez çalışmasında, zebra balığı embriyolarına 2 hpf’de KIBT cihazı kaynaklı iyonize radyasyon uygulanmış olup 120 hpf’de süperoksit dismutaz değerleri ölçülmüştür. Maruziyet grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bu durum iyonize radyasyonun ilerleyen zamanlarda SOD aktivitesini azaltarak antioksidan savunma sistemini baskılayabileceğini düşündürmektedir. Literatürde yer alan bazı çalışmalar iyonize radyasyonun SOD seviyesinde artışa neden olabileceğini vurgularken, bazı çalışmalarda SOD seviyesinde azalma gözlenmiştir. Bu farklılığın maruziyet zamanı, doz miktarı ve hücrel adaptasyon gibi durumlardan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Katalaz (CAT) enzimi, reaktif oksijen türü olan hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalayarak daha zararsız hale getiren bir antioksidan enzimdir. Özellikle hücrenin peroksisom organelinde yer alan bu enzim, reaktif oksijen türlerinin birikimini önleyerek hücrel hasarın azalmasında önemli bir rol oynamaktadır (Chelikani ve ark., 2004).

Kłucinski ve ark. (2008) yaptığı bir çalışmada, radyoloji bölümünde çalışan sağlık personelinin iyonize radyasyona maruziyetinin uzun vadeli sonuçlarını incelemiştir. Maruziyet grubunda kontrol grubuna nazaran katalaz aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlemleyen araştırmacılar uzun süreli düşük doz iyonize radyasyon maruziyetinin katalaz aktivitesini baskılayarak hücrel savunma mekanizmalarını zayıflattığını ifade etmişlerdir (Kłucinski ve ark., 2008).

Bir başka çalışmada, yine radyoloji departmanında çalışan ve mesleki olarak iyonize radyasyona maruz kalan bir grupta katalaz seviyeleri değerlendirilmiştir. Çalışmaya 40 radyoloji personeli ve 30 kişilik kontrol grubu dahil edilmiştir. İyonize radyasyona maruz kalan sağlık personelinin dozimetre değerleri incelendiğinde, aylık dozlarının 0.10-3.8 mGy arasında değiştiği gözlenmiştir. Sonuçlara göre maruziyet grubunun katalaz aktivitesinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (Eken ve ark., 2012).

Öte yandan, gama ışınları kullanılarak yapılan başka bir çalışmada iyonize radyasyonun katalaz aktivitesine etkileri incelenmiştir. 6 Gy dozunda gama ışınına maruz bırakılan ratların eritrositlerinde katalaz seviyesinde anlamlı bir azalma saptanmıştır ve iyonize radyasyonun oksidatif stres mekanizmalarını tetikleyerek katalaz seviyesini baskıladığı bildirilmiştir (Şimşek, 2017).

Karagöz ve ark. panoramik dental röntgen cihazı kullanarak yaptıkları araştırmalarında zebra balığı embriyolarında katalaz seviyesini değerlendirmiştir. İki farklı ışınlama süresi (5.5 sn ve 4.8 sn) uygulanan araştırmada iki maruziyet grubunda da katalaz seviyesinde anlamlı bir azalma saptanmıştır (Karagöz ve ark., 2023). Kollayan ve ark. (2024) ve Aydaş Bayramov'un (2024) araştırmalarında katalaz aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir (Aydaş Bayramov, 2024; Kollayan ve ark., 2024).

Mevcut çalışmamızda, x-ışını maruziyeti sonucunda 120. hpf'de ölçülen katalaz seviyelerinde azalma gözlenmiştir. SOD enzim aktivitesinde gözlenen azalma da göz önünde bulundurulduğunda, CAT seviyesindeki azalma iyonize radyasyonun antioksidan enzimleri baskılayarak oksidatif stresi arttırdığına işaret etmektedir. SOD ve CAT seviyelerinin azalması birbiriyle tutarlıdır. Ayrıca mevcut tez çalışmasının bulgularının, literatürde bildirilen iyonize radyasyonun katalaz aktivitesini azalttığı yönündeki bulgularla uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Hücrel membranlarda bulunan doymamış yağ asitlerinin, serbest radikaller ile reaksiyona girmesiyle lipid peroksidasyonu oluşmaktadır. Bu biyokimyasal süreç, reaktif oksijen türleri tarafından başlatılır ve hücre membran bütünlüğü bozularak hücre fonksiyonları zarar görür (Halliwell ve Gutteridge, 2015; Yin ve ark., 2011). Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyon sürecinin önemli bir ürünü olup, hücrel hasarın en önemli göstergelerinden biri olarak kullanılmaktadır. (Ayala ve ark., 2014). Literatürde lipid peroksidasyon düzeyleri ile apoptoz arasında anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Bu durum, oksidatif stresin hücrel ölüm süreçlerinde rol oynayabileceğini göstermektedir (Wang ve ark., 2004).

Yardımcı ve ark. (1996) yaptıkları bir çalışmada ratlara 5 Gy dozunda gama radyasyonu uygulamış ve sonucunda MDA değerlerinde önemli bir artış saptanmıştır (Yardımcı ve ark., 1996).

Öte yandan, bir başka araştırmada kobayların böbrek dokusu üzerinde 900 MHz frekanslı elektromanyetik radyasyon uygulanmış olup, oksidatif stres parametreleri incelenmiştir. Çalışma bulguları sonucunda lipid peroksidasyon belirteci olan MDA seviyelerinde anlamlı bir artış izlenmiştir (Cellat ve Kılıçalp, 2010).

Şimşek ve ark. (2017) 6 Gy dozunda gama radyasyonu kullanarak ratların biyokimyasal parametrelerini değerlendirmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda maruziyet grubunda MDA seviyelerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Şimşek, 2017).

Zebra balığı embriyoları üzerinde yapılan bir başka çalışmada, ultraviyole A (UVA) ve ultraviyole B (UVB) maruziyetinin lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Değerlendirme sonucunda yüksek doz verilen UVA maruziyetinde 72 hpf’de LPO değerlerinde artış gözlemlenirken, UVB grubunda anlamlı bir artış tespit edilmemiştir (Hurem ve ark., 2018).

Fakültemiz Zebra Balığı Laboratuvarı’nda zebra balığı embriyoları üzerinde yapılan çalışmalarda; Panoramik röntgen cihazı kullanılarak yapılan araştırmada MDA seviyeleri değerlendirilmiş olup, maruziyet grubunda anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (Karagöz ve ark., 2023). Kollayan ve ark. (2024) düşük doz iyonize radyasyonun etkilerini incelediği çalışmasında maruziyet grubunda LPO seviyelerinin arttığını saptamıştır. Bu artışın doz artışına paralel olarak seyrettiği görülmüştür (Kollayan ve ark., 2024). Aydaş Bayramov (2024) tez çalışmasında, düşük doz iyonize radyasyon ve nörotoksin maruziyetinin LPO seviyelerinde artışa neden olduğu gözlemlenmiştir (Aydaş Bayramov, 2024).

Mevcut tez çalışmasında ise iyonize radyasyon maruziyeti sonucu LPO seviyelerinde artış gözlemlenmiş olup, literatürde yer alan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. Bu durum iyonize radyasyonun hücre membran lipitlerine zarar vererek oksidatif stresi arttırdığını göstermektedir. Ayrıca hasar gören hücre membranının apoptotik yolları da aktive ederek, kardiyotoksik etkilere neden olabileceği düşünülmektedir.

Glutatyon-s-transferaz, hücrelerin detoksifikasyon sürecinde görev alan önemli bir enzim ailesidir. Çeşitli reaksiyonlar sonucu oluşan zararlı bileşiklerin glutatyon (GSH) ile birleşmesini sağlayarak vücuttan atılımında görev almaktadırlar. Böylece oksidatif stres sonucu oluşabilecek hasarın en aza indirgenmesini sağlar (Meister, 1988).

Bir başka çalışmada, *drosophila melanogaster*’in farklı yaşam evrelerinde iyonize radyasyon maruziyeti sonucu oluşan biyokimyasal parametreler incelenmiştir. Gama radyasyonu kullanılarak yapılan çalışmada, GST aktivite seviyesi erken pupa aşamasında azalmış olup, erken pupa aşamasından beslenmenin durduğu üçüncü larva evresine kadar kademeli bir artış göstermiştir (Paithankar ve ark., 2018).

Karagöz ve ark. (2023) tarafından x-ışını kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada, zebra balığı embriyolarında oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz aracılı gelişimsel bozukluklar değerlendirilmiştir. Standart panoramik (5.5 sn) ve pedodontik panoramik (4.8 sn) modlarda yapılan çalışmada GST seviyeleri incelenmiştir. Daha uzun ekspozür süresindeki ışınlamadan kaynaklı iyonize radyasyonun GST seviyelerinde daha belirgin bir artışa neden olduğu tespit

edilmiştir (Karagöz ve ark., 2023). Benzer şekilde Kollayan ve ark.'ın araştırmasında da maruziyet gruplarında GST aktivitesinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Kollayan ve ark., 2024).

Mevcut tez çalışmasında Karagöz ve ark., Kollayan ve ark.'ın bulgularına benzer bir şekilde maruziyet grubunda GST seviyesinde anlamlı bir artış izlenmiştir. GST seviyelerinin belirgin şekilde yükselmesi, radyasyonun oksidatif stresi artırarak detoksifikasyon mekanizmalarını aktive ettiğini göstermektedir. İyonize radyasyonun GST üzerindeki etkisinin doza, organizmaya ve radyasyon tipine bağlı olarak farklılık gösterebileceği düşünülmektedir.

Antioksidanların etkisini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, gama ışınına maruz kalan sıçanların karaciğer dokusunda GST aktivitesinin anlamlı düzeyde azaldığı, ancak propolis uygulamasıyla bu azalmanın önüne geçildiği bildirilmiştir. Çalışma, iyonize radyasyonun GST enzimini baskılayabildiğini ve propolis gibi antioksidanların bu etkileri hafifletebileceğini göstermektedir (Cikman ve ark., 2024).

İkincil haberci molekülü, immün yanıt modülatörü, vazodilatasyon gibi görevleri olan nitrik oksit (NO), önemli biyomoleküller arasında yer almaktadır. Hem oksidan hem de antioksidan olarak görev alabilen NO L-argininden sentezlenmektedir. Endotel hücreleri tarafından da üretilen NO, kan damarlarının genişlemesini sağlamakta ve kardiyovasküler sistem içerisinde önemli bir düzenleyici olarak görev yapmaktadır (Moncada ve ark., 1991).

Cohen ve ark.'nın (1996) yapmış olduğu bir çalışmada, radyasyonun böbrek fonksiyonları üzerindeki etkisi incelenmiş olup, NO seviyeleri değerlendirilmiştir. Bulgular, radyasyonun endotel hücrelerine zarar verdiğini böylece NO üretiminin azaldığını göstermektedir. Bu durumun hipertansiyon ve kapiller tromboza neden olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca captopril tedavisinin NO seviyesinin azalmasını engelleyerek, böbrek fonksiyonlarını koruyabildiği saptanmıştır (Cohen ve ark., 1996).

Radyoterapinin damar endoteline etkilerinin incelendiği bir başka çalışmada, radyasyonun damar endotelinde nitrik oksit biyoyararlanımını değiştirdiği gözlenmiştir. Endotel bağımlı damar gevşemesinin bozularak NO seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum damar fonksiyonlarında bozulma meydana getirmiştir. Sonuç olarak, radyasyonun arteriyel tıkanıklık risklerini arttırabildiği ve vasküler hastalıklara yol açabildiği öne sürülmüştür (Beckman ve ark., 2001).

İyonize radyasyonun damarların gevşeme kapasitesini ve endotel fonksiyonlarını değiştirdiği gözlenen bir başka çalışmada; radyasyonun nitrik oksit üretimini baskıladığı ve buna bağlı olarak da endotel bağımlı damar genişlemesini azalttığı saptanmıştır. 2 Gy ve üzeri dozlarda bu etkinin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Soloviev ve ark., 2003).

Literatürde nitrik oksit düzeyindeki azalmaların kalp atım hızını arttırabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, nitrik oksit (NO) sentezini engelleyen L-NAME adlı inhibitörün uygulanması sonrasında, vagal uyarıya bağlı gelişen bradikardinin baskılandığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda, kalp atım hızında anlamlı bir artış meydana gelmiştir. Bu durum NO'nun bradikardiyi destekleyici bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Conlon ve ark., 1996). Benzer şekilde başka bir çalışma, sıçanların *nucleus ambiguus* bölgesine L-NAME uygulandığında kalp atım hızının arttığı gözlemlenmiştir (Ruggeri ve ark., 2000). Herring ve ark. (2002) yapmış oldukları bir çalışmada, NOS I kaynaklı NO'nun parasempatik gangliyonlarda asetilkolin salınımını kolaylaştırarak vagal uyarıya bağlı kalp atım hızı düşüşünü desteklediğini, dolayısıyla NO kaybının bu mekanizmayı bozarak taşikardiye yol açabileceğini belirtmiştir (Herring ve ark., 2002). Bu literatür bilgileri doğrultusunda, mevcut tez çalışmasında zebra balığı embriyolarında gözlenen NO seviyesindeki azalmanın kalp atım hızındaki artış ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Radyasyon maruziyetinin endotel hücre yaşlanmasına yol açtığına dair kanıtlar bulunmaktadır. Yaşlanan endotel hücrelerde nitrik oksit üretimi azalır ve reaktif oksijen türleri salınımı artar. Bu, vazodilatör tepkinin azalması ve anjiyogenezin inhibisyonu dahil olmak üzere endotel disfonksiyonuna yol açabilir. Bu etkiler, kalp, akciğerler ve deriyi içeren radyasyon kaynaklı hedef organ hasarına yol açabilir (Bansal ve ark., 2020).

Bu tez çalışmasında, x-ışını maruziyeti sonrasında NO seviyeleri değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bu durum radyasyonun nitrik oksit seviyelerini azaltarak, endotel disfonksiyonunu ve böylece kardiyovasküler risklerin artışına neden olabileceğini düşündürmektedir. Geçmiş yıllardaki araştırmalarda radyasyonun NO biyoyararlanımını azalttığı yönünde raporlar bildirilmiştir (Beckman ve ark., 2001; Cohen ve ark., 1996; Soloviev ve ark., 2003). Bulgularımız, iyonize radyasyonun NO sentezini baskılayarak vasküler disfonksiyon ve kardiyotoksik etkilere neden olabileceğini desteklemektedir.

Mevcut tez çalışmasında, tüm bu biyokimyasal parametreler beraber değerlendirildiğinde, iyonize radyasyon maruziyeti sonucunda zebra balığı embriyolarında oksidatif stresin belirgin şekilde arttığı, hücrel membran bütünlüğünün bozulduğu gözlenmiştir. Bu biyokimyasal değişiklikler, uzun vadede vasküler disfonksiyon ve kardiyotoksisite gibi yan etkilerin ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir. Bulgular, radyasyonun gelişimsel süreçler üzerindeki potansiyel risklerini ortaya koymakta ve radyasyondan korunma stratejilerinin önemine, antioksidan destekleyici koruyucu etkilerin araştırılması gerektiğine işaret etmektedir

Programlı hücre ölümü olan apoptoz, doku homeostazını koruyan önemli bir mekanizmadır. *bax*, *bcl-2* ve *p53* genleri bu süreçte görev alan temel düzenleyicilerdir. *bax*, pro-apoptik bir protein olup mitokondri zarında porlar oluşturmaktadır. Porlardan sitokrom c salınımıyla beraber, kaspaz kaskadı aktive olmaktadır. *bcl-2* hücre ölümünü engelleyen anti-apoptotik bir genidir. Bunu *bax*'ın mitokondri zarında gözenek oluşturmasını önleyerek sağlar. Genom bekçisi olarak nitelendirilen *p53* geni, tümör baskılayıcı olarak görev yapar. *p53*; DNA hasarını algıladığında *bax*'ı aktive edip, *bcl-2* ekspresyonunu baskılayarak hücreyi apoptoza yönlendirir. *p53* mutasyonu veya işlev kaybı sonucu hücre apoptozdan kaçarak, kanser gelişimine neden olabilir. Sonuç olarak, *bax*, *bcl-2* ve *p53* arasındaki denge, hücrenin hayatta kalıp kalmayacağını belirlemede önemli bir rol oynar. *bax* ve *p53* geni apoptozu teşvik ederken, *bcl-2* geni bu süreci baskılamaktadır (Elmore, 2007).

Zhan ve ark. (1997) yapmış olduğu bir çalışmada DNA hasarına neden olan ajanların apoptotik belirteçler üzerindeki etkilerini incelemiştir. İnsan miyeloid lösemi hücreleri; gama ışını, ultraviyole radyasyonu ve alkilleyici ajana maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda, DNA hasarı sonrası *p53* ve *bax* gen ekspresyonunda artış izlenirken, *bcl-2* seviyelerinde azalma gözlenmiştir. İyonize radyasyonun apoptotik süreci aktive ettiği düşünülmüştür (Zhan ve ark., 1997).

Bir başka çalışmada, ultraviyole radyasyonun insan derisindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada, güneş ışığına maruz kalmamış insan derisi, farklı dozlarda ultraviyole radyasyona maruz kalmış ve apoptozla ilgili protein seviyeleri değerlendirilmiştir. *p53* seviyesinin radyasyon maruziyetinden 4.5 saat sonra artmaya başladığı ve 72 saat boyunca devam ettiği görülmüştür. *bax* protein ekspresyonu *p53* seviyelerinin yükselmesini takiben 33. saatte maksimum seviyeye ulaşmıştır. Sonuç olarak, ultraviyole radyasyonun apoptozu indüklediği gözlenmiştir (Murphy ve ark., 2002).

Zebra balığı embriyoları üzerinde yapılan bir çalışmada iyonize radyasyonun embriyonik gelişim ve hücre hasar üzerindeki etkileri incelenmiştir. 5, 10 ve 20 Gy dozunda gama ışını kullanılarak yapılan çalışmada, embriyoda beyin ve göz gelişiminde apoptoz izlenmiştir. Ayrıca yapılan TUNEL boyama sonucunda, radyasyonun hücre hasarına neden olduğu doğrulanmıştır (Geiger ve ark., 2006).

Bir başka araştırmada, zebra balığı embriyoları üzerinde x-ışını radyasyonunun apoptozu nasıl etkilediği değerlendirilmiştir. Embriyolar 8 hpf'de 1,2,4 ve 8 Gy dozunda iyonize radyasyona maruz bırakılmış ve gelişim süreçleri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, doz bağımlı olarak apoptozun arttığı gözlenmiştir. 24 ve 48 hpf'de serbest radikallerin yükseldiği ve apoptozu aktive ettiği düşünülmüştür. Yapılan TUNEL ve akrinin oranı boyamasında, özellikle 8 Gy dozunda apoptozda belirgin bir artış izlenmiştir (Zhou ve ark., 2014).

Wu ve ark. (2019) 0.2 Gy düşük doz iyonize radyasyon kullanarak yaptığı çalışmada, insan göbek kordonunda endotel hücrelerini incelemiştir. Bu inceleme sonucunda *bcl-2* seviyelerinde belirgin bir azalma gözlenirken, kaspaz-3, kaspaz-8 ve kaspaz-9 ekspresyon seviyelerinin arttığı izlenmiştir (Wu ve ark., 2019).

Laboratuvarımızda zebra balığı embriyoları üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda; panoramik X-ışını maruziyeti sonucunda, *p53*, *bax* proteinleri ve kaspaz genlerinde anlamlı bir artış izlenmiştir (Karagöz ve ark., 2023). Farklı sürelerde düşük doz iyonize radyasyon kullanılan Kollayan ve ark.'ın (2024) çalışmasında, maruziyet süresi arttıkça *p53* ve *bax* geninde anlamlı bir artış izlenirken, *bcl-2* seviyesinde belirgin bir düşüş tespit edilmiştir (Kollayan ve ark., 2024).

Bu tez çalışmasında, KIBT kaynaklı x-ışını maruziyeti sonucunda zebra balığı embriyolarında apoptotik gen ekspresyonları qRT-PCR analizi ile değerlendirilmiştir. Bu analizler sonucunda, *p53* ve *bax* geninde anlamlı bir artış gözlemlenirken, *bcl-2* seviyelerinde azalma izlenmiştir. *p53*'ün yükselmesi, *bax* ekspresyonunun artmasına neden olmuş ve bu durum mitokondri yolağını aktive ederek hücre ölümü hızlandırmıştır. Ayrıca, *bcl-2* seviyesinin azalması apoptotik sürecin baskılanmayıp hücrelerin ölüme yönlendirildiğini göstermektedir. Bulgularımız literatür ile büyük ölçüde uyumlu bulunmuş olup, iyonize radyasyonun apoptozu aktive ettiği düşünülmüştür.

Akridin oranj boyaması yapılan zebra balığı embriyoları floresan mikroskobu altında incelenmiştir. Maruziyet grubunda kalpteki apoptotik hücrelerin belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir. Bu bulgu, *bax/bcl-2* dengesinin bozulması ve *p53* aktivasyonunu desteklemektedir. Ayrıca maruziyet grubunda SV-BA mesafesinde gözlemlenen azalma, apoptotik hücre ölümünün artışıyla açıklanabilir. Sonuç olarak, iyonize radyasyon DNA hasarı oluşturarak apoptozu hızlandırır ve zebra balığı embriyolarında kalıcı yapısal ve fonksiyonel bozulmalara neden olabilir.

slc8a1 geni, sodyum kalsiyum değiştirici (NCX1) olarak bilinen bir proteini kodlamaktadır. Bu protein hücrenin kalsiyum dengesinin korunmasında görev alır (Piccirillo ve ark., 2018). Kalp kasının düzenli olarak kasılmasını sağlar ve miyokardiyal hücrelerde yüksek düzeylerde bulunmaktadır. *slc8a1* geninin hipertansiyon ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Ren ve Philipson, 2013).

Shimizu ve ark.'ın (2016) Kawasaki hastalığına yatkınlığı belirlemek amacıyla genetik analizler yaptıkları çalışmalarında hastalığa duyarlılığı etkileyebilecek genetik varyasyonlar araştırılmıştır ve *slc8a1* geninin belirli bir nükleotid polimorfizmi (SNP) incelenmiştir. *slc8a1* genindeki bazı SNP'lerin koroner arter anomalileriyle ilişki olduğu ve Kawasaki hastalığına yatkınlığı artırdığı gözlenmiştir. Bu risk aleline sahip bireylerde hücre içi kalsiyumun hareketliliğinin arttığı görülmüş olup, bu durumun hastalığın patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmüştür. Ayrıca *slc8a1* proteini NCX1'in, inflamatuvar hücreler ve koroner arter duvarlarında da gözlendiği bildirilmiştir (Shimizu ve ark., 2016).

Diğer bir çalışmada, stereotaktik vücut radyoterapisinin ventriküler taşikardi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırmada, neonatal sıçan ventriküler kardiyomiyositleri 20 Gy foton radyasyonuna maruz bırakılmıştır. RT-qPCR ve Western blot analizleri kullanılarak *slc8a1* gen seviyeleri değerlendirilmiştir. Maruziyet grubunda *slc8a1* mRNA ve protein seviyelerinin anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte iyon taşınmasında görevli kalsiyum düzenleyici proteinlerin seviyesinde de artış izlenmiştir. Bu bulgular doğrultusunda, iyonize radyasyonun *slc8a1* genini arttırarak kalsiyum dengesini değiştirebileceği ve antiaritmik yanıtlar oluşturabileceği düşünülmektedir (Mages ve ark., 2022).

Yapılan bir çalışmada, akut miyokard enfarktüsü (AMI) sonrasında fare kalp dokularında ifade edilen mikroRNA'lar belirlenmiş ve bu mikroRNA'ların kalp atım hızıyla ilişkili hedef genlerle olan etkileşimleri incelenmiştir. Kalp kası hücrelerinde kalsiyum dengesini sağlayan ve kalp

ritmini etkileyen bir taşıyıcı protein olan *slc8a1* geninin bu süreçteki rolü araştırılmıştır. *slc8a1* geninin artan ifadesinin, AMI sonrası gözlenen kalp atım hızı değişikliklerine katkıda bulunabileceği gözlenmiştir (Tuerxun ve ark., 2024).

Mevcut tez çalışmasında, iyonize radyasyonun *slc8a1* gen ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Literatürde, radyasyonun kardiyomiyosit hücrelerinde *slc8a1* genini arttırarak hücre kalsiyum dengesini etkilediği bildirilmiştir. Bulgularımızın literatürle uyumlu olduğu gözlenmiştir. *slc8a1* genindeki artışın hücresel iyon dengesini bozduğu ve maruziyet grubunda gözlenen kalp atım hızındaki artışla ilgili olabileceği düşünülmüştür. Bu artışın mekanizması, uzun vadeli elektrofizyolojik ve metabolik etkileri, gelecekteki çalışmalarla daha ayrıntılı incelenmelidir.

Retinoik asit reseptör ailesine ait olan *rarg* (Retinoik asit reseptörü gamma) geni, transkripsiyon faktörünü kodlayan bir gendir. Retinoik asit, hücresel proliferasyon, gelişim, hücresel ölüm ve homeostaz gibi olaylarda görev alan bir sinyal molekülüdür (Mark ve ark., 2009).

Chen ve ark. (2002), RARG geninin epidermal hücrelerde tümör baskılayıcı bir rol oynadığını ve retinoik asit aracılığıyla hücre döngüsünü durdurup apoptozu desteklediğini göstermiştir. RARG eksikliğinde, bu koruyucu etkilerin ortadan kalkmasına ve hücresel proliferasyonun artmasına neden olmuştur. Bu bulgular, RARG'nin hücresel denge ve hasar yanıtında önemli bir düzenleyici olduğunu göstermektedir (Chen ve ark., 2004).

Kadigamuwa ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada RARG proteininin, DNA hasarı sonrası programlanmış hücre ölümü mekanizmalarında merkezi bir rol oynadığını göstermiştir. Araştırmada, etoposoid ve sisplatin gibi DNA hasarı oluşturan ajanlarla tedavi edilen hücrelerde, RARG'nin sitoplazmaya taşınarak nekroptotik ölüm yollarını aktive ettiği bulunmuştur. Ayrıca çalışmada, RARG geninin cilt tümörlerinde daha düşük düzeyde eksprese edildiği ve bu sebeple hücrelerin apoptozdan kaçarak cilt kanseri oluşumuna neden olabileceği bildirilmiştir (Kadigamuwa ve ark., 2019).

Xiu ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada, RARG'nin yumurtalık kanseri hücrelerinde yüksek düzeyde ifade edildiği ve bu yüksekliğin hücre proliferasyonunu arttırarak tümör gelişimini desteklediği bildirilmiştir (Xiu ve ark., 2022).

RARG geninin farklı hücre tiplerinde, bulunduğu biyolojik ortama göre hem tümör baskılayıcı hem de onkojenik roller üstlenebildiği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Chen ve ark., 2004;

Huang ve ark., 2017; Kadigamuwa ve ark., 2019; Xiu ve ark., 2022). Bu çalışmada ise, radyasyon maruziyetinin ardından *rarg* gen ekspresyonunun artmasıyla birlikte apoptozla ilişkili genlerin de anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum, *rarg* geninin bu bağlamda tümör baskılayıcı bir özellik gösterebileceğine işaret etmektedir. *rarg*'ın embriyonik gelişim sürecinde, özellikle hücrel hasarlara karşı oluşan apoptoz yanıtının düzenlenmesinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu artışın altında yatan mekanizmaların anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

ugt1a6, hem endojen hem de eksojen fenolik bileşiklerin glukuronidasyonunda görev alan faz II detoksifikasyon enzimidir. Bu enzim karaciğerin yanı sıra bağırsak, böbrek, beyin gibi organlarda da bulunmakta olup, özellikle serotonin ve parasetamol gibi bileşiklerin metabolizmasında görev almaktadır. *ugt1a6* geninin ekspresyonu bireyler arasında genetik, çevresel, dokuya özgü faktörlere bağlı olarak farklılıklar gösterebilir (Bock ve Köhle, 2005).

Genetik faktörlerin doksorubisin kaynaklı kardiyotoksisiteyi nasıl etkilediğini gösteren bir çalışmada Bernstein ve ark. (2014) *ugt1a6* genindeki *rs17863783* polimorfizminin, ilaç metabolizmasını etkileyerek serbest radikal oluşumunu ve kardiyotoksisiteyi arttırdığını bildirmiştir (Bernstein ve Burrige, 2014).

Antrasiklin kaynaklı kardiyotoksisite (ACT) riskini belirlemek için yapılan genetik bir araştırmada *ugt1a6 rs17863783* varyantının ACT ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu polimorfizm *ugt1a6* aktivitesini değiştirerek toksik metabolitlerin birikmesine neden olmuştur. Oksidatif stresin artması da kalp hücrelerini olumsuz yönde etkilemiştir (Visscher ve ark., 2013).

Antrasiklin, bir çocukluk çağı hastalığı olan akut lenfoblastik lösemi tedavisinde kullanılan kemoterapik ajan sınıfıdır. Yapılan bir çalışmada antrasiklin türevi ilaçların kardiyotoksisite incelemesinde genetik faktörlerin etkisi değerlendirilmiştir. Daunorubisin (DNR) tedavisi gören hastalarda düzenli kalp kontrolleri yapılmış ve *ugt1a6* gen polimorfizmleri analiz edilmiştir. *ugt1a6 rs17863783* polimorfizminin, antrasiklin metabolizmasını değiştirdiği saptanmıştır. Bu durum toksik metabolitlerin birikmesine ve reaktif oksijen türlerinin artmasına neden olmuştur. Kardiyomiyositlerde oluşan hasarın kardiyotoksisite riskini arttırdığı gözlenmiştir (Yu ve ark., 2021).

Bu tez çalışmasında iyonize radyasyon maruziyet grubunda *ugt1a6* gen ekspresyonunda anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Bu durum iyonize radyasyonun detoksifikasyon ve metabolik yanıt mekanizmalarını etkilediğini göstermektedir. Literatürde, kemoterapi ilaçlarına bağlı kardiyotoksisite ile ilişkili çalışmalar bulunmuş olup, iyonize radyasyon ve *ugt1a6* geni arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalara rastlanmamıştır. Bulgularımız, iyonize radyasyon maruziyetinin *ugt1a6* gen ekspresyonunu arttırarak detoksifikasyon ve hücrel metabolit düzeylerini etkilediğini düşündürmektedir. Oksidatif stres belirteçlerinin (SOD↓,CAT↓,LPO↑) değişimi bu bulguları desteklemektedir. İyonize radyasyonun *ugt1a6* geni üzerindeki etkilerini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

slc8a1, *rarg* ve *ugt1a6* gen ekspresyonları birlikte değerlendirildiğinde, iyonize radyasyonun iyon homeostazı, gelişimsel sinyal yolları ve detoksifikasyon mekanizmalarını etkilediği görülmüştür. Bu değişimler zebra balığı embriyosunda gördüğümüz hem fonksiyonel (kalp atım hızı), hem de morfolojik (SV-BA mesafesi) anomalileri desteklemektedir. Mevcut tez çalışması, iyonize radyasyonun embriyonik kalp gelişimi üzerindeki biyolojik etkilere ışık tutmakta ve gelecekte daha kapsamlı hücrel düzeyde çalışmaların yapılmasına gereksinim olduğuna işaret etmektedir.

Sinus venosus- bulbus arteriosus mesafesi, zebra balığı embriyosunun kardiyak morfogenez sürecini değerlendirmede kullanılan parametrelerden biridir. Bu parametre kalp tüpünün kıvrılması hakkında bilgiler sunmaktadır. Mesafede oluşabilecek uzama veya kısalma kalbin doğru şekilde kıvrılmadığını, bunun da yapısal bozukluklara neden olabileceğini göstermektedir. Çeşitli çevresel ajanlar, ilaçlar ve genetik faktörler SV-BA mesafesi üzerinde değişikliklere neden olabilmektedir (Hu ve ark., 2000).

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ajanlarından olan antrasiklinler kardiyotoksik etkileri ile bilinirler. Yapılan bir çalışmada, farklı antrasiklin türevleri kullanılmış ve bunların zebra balığı embriyoları üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Özellikle doksorubisin ilacının daha belirgin kalp kusurlarına neden olduğu bildirilmiştir. Doksorubisin kullanımı sonucunda SV-BA mesafesi uzamış olup, kalbin kıvrılma süreci bozulmuştur. Doksorubisinin diğer kardiyotoksik etkileri arasında perikardiyal ödem ve bradikardi gibi durumlar da tespit edilmiştir (Han ve ark., 2015)

Yaygın kullanılan bir plastikleştirici olan butil benzil ftalat (BBP) maruziyetinin zebra balığı embriyoları üzerindeki gelişimsel toksisitesini inceleyen bir çalışmada, BBP maruziyetinin

SV-BA arasındaki mesafeyi belirgin bir şekilde arttırdığı tespit edilmiştir. Bu durum kalp tüpü kıvrımının bozulduğunu göstermektedir. BBP maruziyetinin diğer kardiyotoksik etkileri arasında kalp morfolojisinde deformasyon ve bradikardi gibi olumsuz etkilerde gözlenmiştir (Sun ve Liu, 2017).

Cao ve ark. (2020) yaygın kullanılan bir herbisit olan diclofob- methyl (DM) maruziyeti sonrası zebra balığı embriyolarında kardiyogenezi incelemişlerdir. Bu maruziyet sonrası SV-BA arası mesafesinde belirgin bir artış tespit edilmiştir. DM'nin diğer kardiyotoksik etkileri arasında oksidatif stresin arttığı ve kalp atım hızının azaldığı gözlenmiştir (Cao ve ark., 2020).

Bir diğer çalışmada, 6-benzilaminupurin (6-BA) maruziyeti sonrası zebra balıklarının kardiyak gelişimi incelenmiştir. Maruziyet grubunda SV-BA arası mesafenin arttığı ve perikardiyal ödemin görüldüğü gözlenmiştir. Bu durum kardiyak morfogenez sürecinin olumsuz yönde etkilendiğini göstermektedir (Yang ve ark., 2022).

Çalışmamızda, iyonize radyasyon maruziyetinin SV-BA mesafesini azalttığı gözlemlenmiştir. X-ışını maruziyetinin bu mesafeyi kısaltması kalp tüpü kıvrılmasında değişiklikler olduğunu ve kardiyak morfogenezin radyasyondan etkilendiğini düşündürmektedir. SV-BA arasındaki mesafenin azalması lineer bir seyir göstermemiş; özellikle 72. saatte en belirgin hale gelirken, 96. saatte nispeten daha hafif bir düzeye inmiştir. Bu değişkenliğin, gelişim sürecindeki bireysel varyasyonlardan, ölçüm duyarlılığından ya da geç dönem fizyolojik adaptasyonlardan kaynaklanıp kaynaklamadığı net olarak bilinmemektedir. Bu nedenle, daha uzun süreli takipler ve daha geniş örneklem gruplarıyla çalışmanın tekrarlanması gereklidir.

Literatürde iyonize radyasyonun SV-BA mesafesi üzerine etkisine dair çalışmaya rastlanmamıştır. Çevresel toksik ajanların SV-BA mesafesini arttırdığı gözlenirken, çalışmamızda iyonize radyasyonun tam tersi etki gösterdiği görülmüştür. Bu durum farklı bir mekanizmanın etkin olabileceğini düşündürmektedir. İyonize radyasyonun kalp morfogenezi etkilediğini göz önünde bulundurduğumuzda bu konu ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Liu ve ark. (2017) yaptığı bir çalışmada triadimefon maruziyeti sonrasında zebra balığı embriyolarında dolaşım bozuklukları ve kalp atımı devam ederken kan akışının yavaşladığı veya kaybolduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda bir embriyoda kalp atımı devam etmesine rağmen kalp içinde kan hücreleri gözlenmemiştir. Bu bulgu, hematopoetik sistemin

radasyon maruziyetinden etkilenmiş olabileceği olasılığını gündeme getirmektedir. Bu nedenle, radyasyonun embriyonik dönemde hematopoez üzerindeki olası etkilerinin daha geniş örneklerle ve hedeflenmiş analizlerle araştırılması önerilmektedir (Liu ve ark., 2017).

Norris ve ark. (1972) yapmış olduğu çalışmada x-ışınlarının memeli embriyolarında kalp atım hızına etkileri araştırılmıştır. Sıçan embriyoları gebeliğin 11. gününde farklı dozlarda (1316, 1750 ve 2200 R/dakika) 250 kVp X-ışınına maruz bırakılmıştır. Radyasyon maruziyetinin başlamasıyla kalp atım hızında ani bir düşüş gözlenmiştir. Çalışmada radyasyonun toplam emilen doza bağlı olarak embriyonik kalp fonksiyonlarının değiştiği saptanmıştır (Norris ve ark., 1972).

Bir başka çalışmada, 5.6 GHz radyo frekansı radyasyonu (RFR) kullanılarak sıçanlarda kalp atım hızı, kan basıncı ve solunum hızına etkileri incelenmiştir. Sıçanlara 30 mW/cm² ve 60 mW/cm² güç yoğunluklarında RFR uygulanmıştır. 60 mW/cm² RFR maruziyeti kalp atım hızında belirgin bir artışa sebep olurken, 30 mW/cm² dozunda RFR maruziyetinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Kan basıncı ve solunum hızı üzerinde ise anlamlı bir etki gözlenmemiştir. Bu bulgular doğrultusunda, RFR'nin kalp atım hızına etkisinin güç yoğunluğuna bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir (Jauchem ve ark., 1984).

Freeman ve ark. (2014) yapmış olduğu çalışmada, farklı dozlarda (0,1,2,5,10 Gy) iyonize radyasyonun kardiyovasküler gelişim üzerine etkilerini ve gen ekspresyon değişikliklerini incelemişlerdir. Zebra balığı embriyolarında gerçekleştirdikleri araştırmalarında 10 Gy dozunda kalp atım hızında belirgin bir azalma gözlemlenirken, 1,2 ve 5 Gy dozlarında kalp atım hızında anlamlı bir artış gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Freeman ve ark., 2014).

⁵⁶Fe iyon radyasyonunun zebra balığı embriyoları üzerindeki toksik etkileri incelendiği bir araştırmada 0.5, 1, 2 ve 4 Gy dozlarında ⁵⁶Fe iyon radyasyonuna maruz bırakılan embriyolarda gelişimsel toksisite, apoptoz değişiklikleri gözlemlenmiştir. Maruziyet grubunda kalp atım hızı doz bağımlı olarak azalmıştır. 2 ve 4 Gy dozlarında kalp atım hızında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bu durum iyonize radyasyonun DNA hasarı ve apoptoza neden olması ile ilişkilendirilmiştir. Çalışma sonuçları, ağır iyonize radyasyonun zebra balığı embriyolarında gelişimsel toksisite ve bradikardiye neden olduğunu göstermektedir (Si ve ark., 2017).

Erken yaşam evrelerinde subletal ultraviyole radyasyonun zebra balığı üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmada, kalp atım hızı, davranış değişiklikleri ve oksidatif stres parametreleri

değerlendirilmiştir. UVA ve UVB maruziyetinin, kalp atım hızında doza bağlı bradikardiye neden olduğu görülmüştür. 50 hpf'de UVA ve UVB dozlarında kalp atım hızında azalma izlenirken, 60 hpf'de ise UVA maruziyetinde kalp atım hızında azalma devam ederken, UVB'nin etkisi zamanla azalmıştır. Sonuç olarak, ultraviyole radyasyonun erken gelişim döneminde kalp fonksiyonlarını etkilediği saptanmıştır (Hurem ve ark., 2018).

Mevcut tez çalışmasında, zebra balığı embriyolarına x-ışını radyasyonu uygulanmış olup 48., 72. ve 96. hpf'de kontrol grubu ile kalp atım hızları karşılaştırılmıştır. Maruziyet grubunda kalp atım hızında anlamlı artışlar izlenmiştir. Literatürde yer alan iyonize radyasyonun kardiyak fonksiyon üzerine etkileri ile ilgili bazı çalışmalarla kısmen tutarlılık göstermektedir. Kullanılan radyasyonun türü, uygulama süresi, gelişimin kaçınıcı saatinde uygulandığı ve embriyonun adaptif yanıtı gibi çeşitli faktörler çalışmalar arasında farklı sonuçlar çıkmasına neden olmaktadır. Norris ve ark. (1972) ve Si ve ark. (2017) yüksek doz iyonlaştırıcı radyasyonun bradikardiye sebep olduğunu bildirirken, Freeman ve ark. (2014) düşük dozlarda taşikardi, yüksek dozlarda bradikardi gözlendiğini saptamıştır. Ayrıca, Jauchem ve ark. (1984) radyo frekansının taşikardiye neden olduğunu bildirmiştir. Mevcut çalışmada ise, kalp atım hızı 48, 72 ve 96 hpf boyunca artmış olup, bu artış ivmesi ilerleyen saatlerde azalmıştır. Kalp atım hızı takibinin 96 hpf'de sonlandırılması çalışmayı sınırlandıran etmenlerden biridir. 120. hpf'de kalp atım hızının artışı, normal seyre veya geç dönemde bradikardiye dönüşüp dönüşmeyeceği bilinmemektedir. Bu çalışma sonucunda kardiyovasküler sistemin iyonize radyasyona karşı duyarlı olduğu saptanmıştır. X-ışınlarının embriyonik kalp gelişimi üzerine etkilerinin zamansal değişimini daha iyi anlayabilmek için daha uzun süreli ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Elde edilen bu deneysel veriler, embriyonik dönemin iyonize radyasyona karşı duyarlılığını ortaya koyarken, klinik uygulamalarda kullanılan düşük doz radyasyonun dahi biyolojik etkiler yaratabileceğine işaret etmektedir. Amerikan Diş Hekimleri Birliği (ADA), radyografik değerlendirmelere ilişkin 2024 yılına ait güncel açıklamasında, gebelik dahil herhangi bir sağlık durumu fark etmeksizin tiroid ve karın bölgesine yönelik koruyucu kurşun önlüklerin rutin olarak kullanılmasının gerekli olmadığını bildirmiştir. ADA, dijital radyografi sistemlerinin düşük doz iyonize radyasyon yaydığını ve yalnızca ilgili bölgenin ışınlanmasıyla gereksiz maruziyetin önüne geçildiğini savunmaktadır ((ADA), 2024). Dolayısıyla özellikle çocuklar, genç bireyler ve hamilelik ihtimali bulunan kadınlar başta olmak üzere, tüm bireylerde kurşun önlük kullanımının sürdürülmesi yalnızca bir tercih değil, bilimsel verilere dayanan bir

gereklilik olarak öne çıkmaktadır. **Uygulanacak görüntüleme yöntemine hastaya özgü bir değerlendirme ile karar verilmesi ve radyasyondan korunma stratejilerinin tamamen kaldırılması yerine bireyselleştirilerek yeniden düzenlenmesi, radyasyondan korunma açısından en doğru yaklaşımdır. Mevcut tez çalışmasının bulguları, diş hekimliğinde kullanılan düşük doz iyonize radyasyonun dahi biyolojik etkiler oluşturabileceğini açıkça ortaya koymakta; bu bağlamda, koruyucu önlemlerin önemini güçlü bir biçimde teyit etmektedir.**



8. SONUÇLAR

1. İyonize radyasyon, zebra balığı embriyolarının kardiyak gelişimini etkilemiştir. Kalp fonksiyonları, morfolojisi ve moleküler süreçlerinde belirgin değişiklikler saptanmıştır.
2. SOD ve CAT aktivitelerinde azalma gözlenmiş olup, LPO düzeylerinde artış saptanmıştır. Bu durum, radyasyonun oksidatif stresi artırdığını göstermektedir.
3. GST ve UGT1A6 gen ekspresyonlarında anlamlı artış izlenmiş olup, organizmanın hasarı sınırlamaya çalıştığını düşündürür niteliktedir.
4. *p53* ve *bax* ekspresyonları artmış, *bcl-2* ekspresyonu azalmış, akridin oranj boyama ile kalpte apoptotik hücreler izlenmiştir. Bu savunma yanıtlarının hasarı kontrol altına almakta yetersiz kalabileceğini ve bunun sonucunda apoptoz mekanizmasının devreye girmiş olabileceğini düşündürmektedir.
5. Kalpte yapısal ve fonksiyonel bozulmalar izlenmiştir. 48., 72. Ve 96. saatlerde SV-BA mesafesinde azalma, kalp atım hızında artış saptanmıştır. *slc8a1* gen ekspresyonundaki artış ve NO seviyelerindeki düşüşün, kalp atım hızındaki artış üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.
6. Sonuç olarak, iyonize radyasyon, embriyonik kalp atım hızında artışa, kardiyak morfolojide değişikliklere, oksidatif stresin artmasına ve apoptotik yolların aktive olmasına neden olmuştur. Bu bulgular, radyasyonun embriyonik kardiyovasküler sistem üzerindeki potansiyel toksik etkileri ortaya koymaktadır.
7. Mevcut tez çalışması, diş hekimliğinde kullanımı giderek yaygınlaşan KIBT kaynaklı iyonize radyasyon maruziyetinin kardiyak ve gelişimsel süreçler üzerindeki etkilerini inceleyen ilk çalışma olup, radyasyon maruziyetinin embriyonik kardiyotoksositeye yol açabileceğini göstermektedir.
8. Diş hekimliğinde radyasyondan korunma açısından en doğru yaklaşımın, hastaya özgü bir değerlendirme ile uygun görüntüleme yönteminin seçilmesi ve korunma yöntemlerinin bireyselleştirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

9.KAYNAKÇA

- (ADA), A. D. A. (2024). *Using thyroid collars during radiographic exams no longer recommended by ADA*. Retrieved 11 Mart 2025 from <https://adanews.ada.org/ada-news/2024/february/using-thyroid-collars-during-radiographic-exams-no-longer-recommended-by-ada/>
- Abbott, D. A., Suir, E., Duong, G.-H., De Hulster, E., Pronk, J. T., & Van Maris, A. J. (2009). Catalase overexpression reduces lactic acid-induced oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and environmental microbiology*, 75(8), 2320-2325.
- Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. In *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 121-126). Elsevier.
- Antkiewicz, D. S., Burns, C. G., Carney, S. A., Peterson, R. E., & Heideman, W. (2005). Heart malformation is an early response to TCDD in embryonic zebrafish. *Toxicological sciences*, 84(2), 368-377.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014(1), 360438.
- Aydaş Bayramov, E. C. (2024). *Zebra Balığı Embriyolarında Nörotoksin Maruziyetine Karşı Oluşan Yanıta Düşük Doz İyonize Radyasyonun Etkileri* [Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi]. İstanbul.
- Azzam, E. I., Jay-Gerin, J.-P., & Pain, D. (2012). Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer letters*, 327(1-2), 48-60.
- Baker, J. E., Moulder, J. E., & Hopewell, J. W. (2011). Radiation as a risk factor for cardiovascular disease. *Antioxidants & redox signaling*, 15(7), 1945-1956.
- Baker, K., Warren, K. S., Yellen, G., & Fishman, M. C. (1997). Defective “pacemaker” current (I_h) in a zebrafish mutant with a slow heart rate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(9), 4554-4559.
- Bakkers, J. (2011). Zebrafish as a model to study cardiac development and human cardiac disease. *Cardiovascular research*, 91(2), 279-288.
- Bansal, N., Blanco, J. G., Sharma, U. C., Pokharel, S., Shisler, S., & Lipshultz, S. E. (2020). Cardiovascular diseases in survivors of childhood cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 39, 55-68.
- Barrionuevo, W., & Burggren, W. (1999). O₂ consumption and heart rate in developing zebrafish (*Danio rerio*): influence of temperature and ambient O₂. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 276(2), R505-R513.
- Bartman, T., Walsh, E. C., Wen, K.-K., McKane, M., Ren, J., Alexander, J., Rubenstein, P. A., & Stainier, D. Y. R. (2004). Early myocardial function affects endocardial cushion development in zebrafish. *PLoS biology*, 2(5), e129.

- Baynes, J. W., & Thorpe, S. R. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48(1), 1-9.
- Beckman, J. A., Thakore, A., Kalinowski, B. H., Harris, J. R., & Creager, M. A. (2001). Radiation therapy impairs endothelium-dependent vasodilation in humans. *Journal of the American College of Cardiology*, 37(3), 761-765.
- Beers, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem*, 195(1), 133-140.
- Bernstein, D., & BurrIDGE, P. (2014). Patient-specific pluripotent stem cells in doxorubicin cardiotoxicity: a new window into personalized medicine. *Progress in pediatric cardiology*, 37(1-2), 23-27.
- Bhasin, C., Mudgal, P., Joshi, A., Mangla, A. G., Madhu, V. S., Jain, S., Sharma, K., Saluja, K., Kapoor, Y., & Kandola, P. (2016). Zebrafish Early Stage Developmental Defects as Indicator of Site Specific Water Composition of River Yamuna. *Zebrafish*, 2(1), 40-55.
- Bock, K. W., & Köhle, C. (2005). UDP-glucuronosyltransferase 1A6: structural, functional, and regulatory aspects. *Methods in enzymology*, 400, 57-75.
- Bredt, D. S. (1999). Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free radical research*, 31(6), 577-596.
- Brenner, D. J., & Hall, E. J. (2007). Computed tomography—an increasing source of radiation exposure. *New England journal of medicine*, 357(22), 2277-2284.
- Brent, R. L. (2009). Saving lives and changing family histories: appropriate counseling of pregnant women and men and women of reproductive age, concerning the risk of diagnostic radiation exposures during and before pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*, 200(1), 4-24.
- Brent, R. L. (2015). Protection of the gametes embryo/fetus from prenatal radiation exposure. *Health physics*, 108(2), 242-274.
- Bushberg, J. T., Seibert, J. A., Leidholdt, E., Boone, J. M., & Mahesh, M. (2013). The essential physics of medical imaging. *Medical Physics*, 40(7), 077301.
- Cao, Z., Huang, Y., Xiao, J., Cao, H., Peng, Y., Chen, Z., Liu, F., Wang, H., Liao, X., & Lu, H. (2020). Exposure to diclofop-methyl induces cardiac developmental toxicity in zebrafish embryos. *Environmental Pollution*, 259, 113926.
- Cellat, M., & Kılıçalp, D. K. (2010). Elektromanyetik radyasyona maruz bırakılan kobayların böbrek dokusunda prooksidan-antioksidan düzeylerine yeşil çayın etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 24(1), 17-21.
- Chang, D. S., Lasley, F. D., Das, I. J., Mendonca, M. S., Dynlacht, J. R., Chang, D. S., Lasley, F. D., Das, I. J., Mendonca, M. S., & Dynlacht, J. R. (2021). Radiation effects in the embryo and fetus. *Basic radiotherapy physics and biology*, 349-353.
- Charles, M. (2001). UNSCEAR Report 2000: sources and effects of ionizing radiation. In.

- Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61, 192-208.
- Chen, C. F., Goyette, P., & Lohnes, D. (2004). RAR γ acts as a tumor suppressor in mouse keratinocytes. *Oncogene*, 23(31), 5350-5359.
- Christidi, E., Huang, H., Shafaattalab, S., Maillet, A., Lin, E., Huang, K., Laksman, Z., Davis, M. K., Tibbits, G. F., & Brunham, L. R. (2020). Variation in RARG increases susceptibility to doxorubicin-induced cardiotoxicity in patient specific induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Scientific reports*, 10(1), 10363.
- Cikman, O., Bulut, A., & Taysi, S. (2024). Protective effect of propolis in protecting against radiation-induced oxidative stress in the liver as a distant organ. *Scientific reports*, 14(1), 21766.
- Cohen, E., Fish, B., & Moulder, J. (1996). The role of nitric oxide in radiation nephropathy. *Archives of physiology and biochemistry*, 104(2), 200-206.
- Conlon, K., Collins, T., & Kidd, C. (1996). Modulation of vagal actions on heart rate produced by inhibition of nitric oxide synthase in the anaesthetized ferret. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 81(3), 547-550.
- Council, N. R., Studies, L., Research, B. o. R. E., & Radiation, C. t. A. H. R. f. E. t. L. L. o. I. (2006). Health risks from exposure to low levels of ionizing radiation: BEIR VII phase 2.
- De Esch, C., Sliker, R., Wolterbeek, A., Woutersen, R., & de Groot, D. (2012). Zebrafish as potential model for developmental neurotoxicity testing: a mini review. *Neurotoxicology and teratology*, 34(6), 545-553.
- Eğilmezer, G. (2019). Benzo (A) Piren, Dimetil Benzantrasen ve N-Metil-N-Nitrozürenin Karsinojenik Etkilerinin Zebra Balıklarında İncelenmesi [*Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi*].
- Eken, A., Aydın, A., Erdem, O., Akay, C., Sayal, A., & Somuncu, İ. (2012). Induced antioxidant activity in hospital staff occupationally exposed to ionizing radiation. *International journal of radiation biology*, 88(9), 648-653.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495-516.
- Fan, W., Zhang, J., Wang, N., Li, J., & Hu, L. (2023). The application of deep learning on CBCT in dentistry. *Diagnostics*, 13(12), 2056.
- Freeman, J. L., Weber, G. J., Peterson, S. M., & Nie, L. H. (2014). Embryonic ionizing radiation exposure results in expression alterations of genes associated with cardiovascular and neurological development, function, and disease and modified cardiovascular function in zebrafish. *Frontiers in genetics*, 5, 268.
- Garcia, G. R., Noyes, P. D., & Tanguay, R. L. (2016). Advancements in zebrafish applications for 21st century toxicology. *Pharmacology & therapeutics*, 161, 11-21.

- Geiger, G. A., Parker, S. E., Beothy, A. P., Tucker, J. A., Mullins, M. C., & Kao, G. D. (2006). Zebrafish as a “biosensor”? Effects of ionizing radiation and amifostine on embryonic viability and development. *Cancer research*, 66(16), 8172-8181.
- Gilani, S. H., & Jaffee, O. C. (1971). Congenital cardiovascular anomalies in chick embryos exposed to x-irradiation and hypothermia. *American journal of obstetrics and gynecology*, 111(1), 47-52.
- Glasser, O. (1993). *Wilhelm Conrad Röntgen and the early history of the Roentgen rays*. Norman Publishing.
- Glickman, N. S., & Yelon, D. (2002). Cardiac development in zebrafish: coordination of form and function. *Seminars in cell & developmental biology*,
- Habig, W. H., & Jakoby, W. B. (1981). [51] Assays for differentiation of glutathione S-Transferases. In *Methods in enzymology* (Vol. 77, pp. 398-405). Elsevier.
- Hall, E. J., & Giaccia, A. J. (2006). *Radiobiology for the Radiologist* (Vol. 6). Philadelphia.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Han, Y., Zhang, J. p., Qian, J. q., & Hu, C. q. (2015). Cardiotoxicity evaluation of anthracyclines in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Applied Toxicology*, 35(3), 241-252.
- Hasbullah, J. S., Scott, E. N., Bhavsar, A. P., Gunaretnam, E. P., Miao, F., Soliman, H., Carleton, B. C., & Ross, C. J. (2022). All-trans retinoic acid (ATRA) regulates key genes in the RARG-TOP2B pathway and reduces anthracycline-induced cardiotoxicity. *Plos one*, 17(11), e0276541.
- Hatcher, D. C. (2010). Operational principles for cone-beam computed tomography. *The Journal of the american dental association*, 141, 3S-6S.
- Hayes, J. D., Flanagan, J. U., & Jowsey, I. R. (2005). Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45(1), 51-88.
- Helm, A., Arrizabalaga, O., Pignalosa, D., Schroeder, I. S., Durante, M., & Ritter, S. (2016). Ionizing radiation impacts on cardiac differentiation of mouse embryonic stem cells. *Stem Cells and Development*, 25(2), 178-188.
- Herring, N., Danson, E. J., & Paterson, D. J. (2002). Cholinergic control of heart rate by nitric oxide is site specific. *Physiology*.
- Hill, A. J., Teraoka, H., Heideman, W., & Peterson, R. E. (2005). Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. *Toxicological sciences*, 86(1), 6-19.
- Honjo, Y., & Ichinohe, T. (2019). Cellular responses to ionizing radiation change quickly over time during early development in zebrafish. *Cell Biol Int*, 43(5), 516-527. <https://doi.org/10.1002/cbin.11117>

- Hu, N., Sedmera, D., Yost, H. J., & Clark, E. B. (2000). Structure and function of the developing zebrafish heart. *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 260(2), 148-157.
- Huang, G.-L., Song, W., Zhou, P., Fu, Q.-R., Lin, C.-L., Chen, Q.-X., & Shen, D.-Y. (2017). Oncogenic retinoic acid receptor γ knockdown reverses multi-drug resistance of human colorectal cancer via Wnt/ β -catenin pathway. *Cell Cycle*, 16(7), 685-692.
- Hurem, S., Fraser, T. W., Gomes, T., Mayer, I., & Christensen, T. (2018). Sub-lethal UV radiation during early life stages alters the behaviour, heart rate and oxidative stress parameters in zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 166, 359-365.
- ICRP. (2007). The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP publication 103. *Ann ICRP*, 37(2-4), 1-332. <https://doi.org/10.1016/j.icrp.2007.10.003>
- Jackson, S. P., & Bartek, J. (2009). The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 461(7267), 1071-1078.
- Jaju, P. P., & Jaju, S. P. (2015). Cone-beam computed tomography: time to move from ALARA to ALADA. *Imaging science in dentistry*, 45(4), 263.
- Jauchem, J. R., Frei, M. R., & Heinmets, F. (1984). Heart rate changes due to 5.6-GHz radiofrequency radiation: relation to average power density. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 177(3), 383-387.
- Jursinic, P. A. (2007). Characterization of optically stimulated luminescent dosimeters, OSLDs, for clinical dosimetric measurements. *Med Phys*, 34(12), 4594-4604. <https://doi.org/10.1118/1.2804555>
- Kadigamuwa, C., Choksi, S., Xu, Q., Cataisson, C., Greenbaum, S. S., Yuspa, S. H., & Liu, Z.-g. (2019). Role of retinoic acid Receptor- γ in DNA damage-induced necroptosis. *IScience*, 17, 74-86.
- Karagöz, A., Beler, M., Altun, B. D., Ünal, İ., Cansız, D., Gündüz, H., Alturfan, A. A., Emekli-Alturfan, E., & Yalçinkaya, Ş. E. (2023). Panoramic dental X-ray exposure leads to oxidative stress, inflammation and apoptosis-mediated developmental defects in zebrafish embryos. *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*, 124(6), 101661.
- Karaman, G. E., Emekli-Alturfan, E., & Akyüz, S. (2020). Zebrafish; an emerging model organism for studying toxicity and biocompatibility of dental materials. *Cellular and Molecular Biology*, 66(8), 41-46.
- Kimmel, C. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B., & Schilling, T. F. (1995). Stages of embryonic development of the zebrafish. *Developmental Dynamics*, 203(3), 253-310.
- Kłucinski, P., Wójcik, A., Grabowska-Bochenek, R., Gmiński, J., Mazur, B., Hrycek, A., Cieślík, P., & Martirosian, G. (2008). Erythrocyte antioxidant parameters in workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Ann Agric Environ Med*, 15(1), 9-12.

- Kollayan, B. Y., Cansiz, D., Beler, M., Unal, I., Emekli-Alturfan, E., & Yalcinkaya, S. E. (2024). Effects of low-dose ionizing radiation on the molecular pathways linking neurogenesis and autism spectrum disorders in zebrafish embryos. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-14.
- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepień, A., & Kadziółka, A. (1986). The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 155(3), 275-283.
- Lee, J. H., Choi, I. Y., Kil, I. S., Kim, S. Y., Yang, E. S., & Park, J.-W. (2001). Protective role of superoxide dismutases against ionizing radiation in yeast. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1526(2), 191-198.
- Levine, A. J. (1997). p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *cell*, 88(3), 323-331.
- Little, J. B. (2000). Radiation carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21(3), 397-404.
- Little, M. P. (2016). Radiation and circulatory disease. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 770, 299-318.
- Little, M. P., Azizova, T. V., Bazyka, D., Bouffler, S. D., Cardis, E., Chekin, S., Chumak, V. V., Cucinotta, F. A., de Vathaire, F., & Hall, P. (2012). Systematic review and meta-analysis of circulatory disease from exposure to low-level ionizing radiation and estimates of potential population mortality risks. *Environmental health perspectives*, 120(11), 1503-1511.
- Liu, H.-c., Chu, T.-y., Chen, L.-l., Gui, W.-j., & Zhu, G.-n. (2017). The cardiovascular toxicity of triadimefon in early life stage of zebrafish and potential implications to human health. *Environmental Pollution*, 231, 1093-1103.
- Liu, K., Liu, Z., Qi, H., Liu, B., Wu, J., Liu, Y., Zhang, J., Cao, H., Yan, Y., & He, Y. (2018). Genetic variation in SLC8A1 gene involved in blood pressure responses to acute salt loading. *American Journal of Hypertension*, 31(4), 415-421.
- Lofthag-Hansen, S., Thilander-Klang, A., & Gröndahl, K. (2011). Evaluation of subjective image quality in relation to diagnostic task for cone beam computed tomography with different fields of view. *European journal of radiology*, 80(2), 483-488.
- Lončar, N., & Fraaije, M. W. (2015). Catalases as biocatalysts in technical applications: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 99, 3351-3357.
- Loubele, M., Bogaerts, R., Van Dijck, E., Pauwels, R., Vanheusden, S., Suetens, P., Marchal, G., Sanderink, G., & Jacobs, R. (2009). Comparison between effective radiation dose of CBCT and MSCT scanners for dentomaxillofacial applications. *European journal of radiology*, 71(3), 461-468.
- Ludlow, J. B., Davies-Ludlow, L., Brooks, S., & Howerton, W. (2006). Dosimetry of 3 CBCT devices for oral and maxillofacial radiology: CB Mercuray, NewTom 3G and i-CAT. *Dentomaxillofacial radiology*, 35(4), 219-226.

- Madamanchi, N. R., & Runge, M. S. (2013). Redox signaling in cardiovascular health and disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 61, 473-501.
- Magdy, T., Jiang, Z., Jouni, M., Fonoudi, H., Lyra-Leite, D., Jung, G., Romero-Tejeda, M., Kuo, H.-H., Fetterman, K. A., & Gharib, M. (2021). RARG variant predictive of doxorubicin-induced cardiotoxicity identifies a cardioprotective therapy. *Cell stem cell*, 28(12), 2076-2089. e2077.
- Mages, C., Gamp, H., Rahm, A., Ullrich, N., Seidensaal, K., Rhein, B., Debus, J., Frey, N., Thomas, D., & Lugenbiel, P. (2022). Radiation-induced electrophysiological remodelling in neonatal rat ventricular cardiomyocytes. *European Heart Journal*, 43(Supplement_2), ehac544. 2975.
- Mark, M., Ghyselinck, N. B., & Chambon, P. (2009). Function of retinoic acid receptors during embryonic development. *Nuclear receptor signaling*, 7(1), nrs. 07002.
- Martin, C. J., & Sutton, D. G. (2015). *Practical radiation protection in healthcare*. Oxford University Press, USA.
- McAleer, M. F., Davidson, C., Davidson, W. R., Yentzer, B., Farber, S. A., Rodeck, U., & Dicker, A. P. (2005). Novel use of zebrafish as a vertebrate model to screen radiation protectors and sensitizers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 61(1), 10-13. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2004.09.046>
- McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*, 244(22), 6049-6055.
- McDermott-Roe, C., & Ky, B. (2020). Genetics of Anthracycline-Mediated Cardiotoxicity: Current Status and Challenges. *Current Cardiovascular Risk Reports*, 14(10), 14. <https://doi.org/10.1007/s12170-020-00647-3>
- Meister, A. (1988). Glutathione metabolism and its selective modification. *Journal of Biological chemistry*, 263(33), 17205-17208.
- Mi, P., Tang, Y.-Q., & Feng, X.-Z. (2020). Acute fluorene-9-bisphenol exposure damages early development and induces cardiotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 202, 110922.
- Miao, L., & Clair, D. K. S. (2009). Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(4), 344-356.
- Milan, D. J., Peterson, T. A., Ruskin, J. N., Peterson, R. T., & MacRae, C. A. (2003). Drugs that induce repolarization abnormalities cause bradycardia in zebrafish. *Circulation*, 107(10), 1355-1358.
- Miranda, K. M., Espey, M. G., & Wink, D. A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric oxide*, 5(1), 62-71.
- Moncada, S., Palmer, R., & Higgs, E. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological reviews*, 43(2), 109-142.

- Murphy, M., Mabruk, M., Lenane, P., Liew, A., McCann, P., Buckley, A., Billet, P., Leader, M., Kay, E., & Murphy, G. (2002). The expression of p53, p21, Bax and induction of apoptosis in normal volunteers in response to different doses of ultraviolet radiation. *British Journal of Dermatology*, 147(1), 110-117.
- Mytroie, A. A., Collins, H., Umbles, C., & Kyle, J. (1986). Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicology and applied pharmacology*, 82(3), 512-520.
- Naitoh, M., Hirukawa, A., Katsumata, A., & Arij, E. (2009). Evaluation of voxel values in mandibular cancellous bone: relationship between cone-beam computed tomography and multislice helical computed tomography. *Clinical oral implants research*, 20(5), 503-506.
- Norris, J. A., Robkin, M., Shepard, T., & Tanimura, T. (1972). Prompt Effects of Radiation on the Heart Rate on a Mammalian Embryo. *Radiation research*, 52(3), 579-587.
- O'dell, T. J., Hawkins, R. D., Kandel, E. R., & Arancio, O. (1991). Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(24), 11285-11289.
- Oltval, Z. N., Milliman, C. L., & Korsmeyer, S. J. (1993). Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *cell*, 74(4), 609-619.
- Otake, M., & Schull, W. J. (1993). Radiation-related small head sizes among prenatally exposed A-bomb survivors. *International journal of radiation biology*, 63(2), 255-270.
- Otake, M., & Schull, W. J. (1998). Radiation-related brain damage and growth retardation among the prenatally exposed atomic bomb survivors. *International journal of radiation biology*, 74(2), 159-171.
- Paithankar, J. G., Raghu, S. V., & Patil, R. K. (2018). Concomitant changes in radiation resistance and trehalose levels during life stages of *Drosophila melanogaster* suggest radio-protective function of trehalose. *International journal of radiation biology*, 94(6), 576-589.
- Palmer, R. M., Ferrige, A., & Moncada, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327(6122), 524-526.
- Pauwels, R., Beinsberger, J., Collaert, B., Theodorakou, C., Rogers, J., Walker, A., Cockmartin, L., Bosmans, H., Jacobs, R., & Bogaerts, R. (2012). Effective dose range for dental cone beam computed tomography scanners. *European journal of radiology*, 81(2), 267-271.
- Piccirillo, S., Castaldo, P., Macrì, M. L., Amoroso, S., & Magi, S. (2018). Glutamate as a potential "survival factor" in an in vitro model of neuronal hypoxia/reoxygenation injury: leading role of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *Cell Death & Disease*, 9(7), 731.
- Planchart, A., Mattingly, C. J., Allen, D., Ceger, P., Casey, W., Hinton, D., Kanungo, J., Kullman, S. W., Tal, T., & Bondesson, M. (2016). Advancing toxicology research using in vivo high throughput toxicology with small fish models. *Altex*, 33(4), 435.

- Protection, R. (2007). ICRP publication 103. *Ann ICRP*, 37(2.4), 2.
- Radiation, U. N. S. C. o. t. E. o. A. (2000). *Sources and Effects of Ionizing Radiation, United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR) 2000 Report, Volume I: Report to the General Assembly, with Scientific Annexes-Sources*. United Nations.
- Rebuzzini, P., Fassina, L., Mulas, F., Bellazzi, R., Redi, C. A., Di Liberto, R., Magenes, G., Adjaye, J., Zuccotti, M., & Garagna, S. (2013). Mouse embryonic stem cells irradiated with γ -rays differentiate into cardiomyocytes but with altered contractile properties. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 756(1-2), 37-45.
- Ren, X., & Philipson, K. D. (2013). The topology of the cardiac Na⁺/Ca²⁺ exchanger, NCX1. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 57, 68-71.
- Ruggeri, P., Battaglia, A., Ermirio, R., Grossini, E., Molinari, C., Mary, D. A., & Vacca, G. (2000). Role of nitric oxide in the control of the heart rate within the nucleus ambiguus of rats. *Neuroreport*, 11(3), 481-485.
- Sarmah, S., Chism III, G. W., Vaughan, M. A., Muralidharan, P., Marrs, J. A., & Marrs, K. A. (2016). Using zebrafish to implement a course-based undergraduate research experience to study teratogenesis in two biology laboratory courses. *Zebrafish*, 13(4), 293-304.
- Sarmah, S., & Marrs, J. A. (2013). Complex cardiac defects after ethanol exposure during discrete cardiogenic events in zebrafish: prevention with folic acid. *Developmental Dynamics*, 242(10), 1184-1201.
- Sarmah, S., Muralidharan, P., & Marrs, J. A. (2016). Embryonic ethanol exposure dysregulates Bmp and Notch signaling, leading to persistent atrio-ventricular valve defects in zebrafish. *Plos one*, 11(8), e0161205.
- Scarfe, W. C., & Farman, A. G. (2008). What is cone-beam CT and how does it work? *Dental Clinics of North America*, 52(4), 707-730.
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., & Schmid, B. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature methods*, 9(7), 676-682.
- Schwerte, T., & Pelster, B. (2000). Digital motion analysis as a tool for analysing the shape and performance of the circulatory system in transparent animals. *J Exp Biol*, 203(Pt 11), 1659-1669. <https://doi.org/10.1242/jeb.203.11.1659>
- Sedentext, C. (2012). Radiation protection: Cone beam CT for dental and maxillofacial radiology. Evidence Based Guidelines. In: European Commission, Directorate-General for Energy Luxembourg.
- Shatskiy, I. (2021). Effective doses and radiation risks from common dental radiographic, panoramic and CBCT examinations. *Radiation Protection Dosimetry*, 195(3-4), 296-305.

- Sherer, M. A. S., Visconti, P. J., Ritenour, E. R., & Kelli Haynes, M. (2013). *Radiation protection in medical radiography*. Elsevier Health Sciences.
- Shieh, B.-H., Xia, Y., Sparkes, R., Klisak, I., Lusic, A., Nicoll, D., & Philipson, K. (1992). Mapping of the gene for the cardiac sarcolemmal Na⁺ Ca²⁺ exchanger to human chromosome 2p21–p23. *Genomics*, 12(3), 616-617.
- Shimizu, C., Eleftherohorinou, H., Wright, V. J., Kim, J., Alphonse, M. P., Perry, J. C., Cimaz, R., Burgner, D., Dahdah, N., & Hoang, L. T. (2016). Genetic variation in the SLC8A1 calcium signaling pathway is associated with susceptibility to Kawasaki disease and coronary artery abnormalities. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 9(6), 559-568.
- Si, J., Zhou, R., Gan, L., Zhou, X., Di, C., Liu, Y., Mao, A., Zhao, Q., Wang, Y., & Zhang, H. (2017). Toxic effects of 56Fe ion radiation on the zebrafish (*Danio rerio*) embryonic development. *Aquatic toxicology*, 186, 87-95.
- Sieber, S., Grossen, P., Bussmann, J., Campbell, F., Kros, A., Witzigmann, D., & Huwyler, J. (2019). Zebrafish as a preclinical in vivo screening model for nanomedicines. *Advanced drug delivery reviews*, 151, 152-168.
- Silva, M. A. G., Wolf, U., Heinicke, F., Bumann, A., Visser, H., & Hirsch, E. (2008). Cone-beam computed tomography for routine orthodontic treatment planning: a radiation dose evaluation. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 133(5), 640. e641-640. e645.
- Soloviev, A. I., Tishkin, S. M., Parshikov, A. V., Ivanova, I. V., Goncharov, E. V., & Gurney, A. M. (2003). Mechanisms of endothelial dysfunction after ionized radiation: selective impairment of the nitric oxide component of endothelium-dependent vasodilation. *British journal of pharmacology*, 138(5), 837-844.
- Spitz, D. R., Azzam, E. I., Jian Li, J., & Gius, D. (2004). Metabolic oxidation/reduction reactions and cellular responses to ionizing radiation: a unifying concept in stress response biology. *Cancer and Metastasis Reviews*, 23, 311-322.
- Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2000). Protein oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899(1), 191-208.
- Stainier, D. Y. (2001). Zebrafish genetics and vertebrate heart formation. *Nature Reviews Genetics*, 2(1), 39-48.
- Stainier, D. Y., & Fishman, M. C. (1992). Patterning the zebrafish heart tube: acquisition of anteroposterior polarity. *Developmental biology*, 153(1), 91-101.
- Staudt, D., & Stainier, D. (2012). Uncovering the molecular and cellular mechanisms of heart development using the zebrafish. *Annual review of genetics*, 46(1), 397-418.
- Strähle, U., Scholz, S., Geisler, R., Greiner, P., Hollert, H., Rastegar, S., Schumacher, A., Selderslaghs, I., Weiss, C., & Witters, H. (2012). Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments—A commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations. *Reproductive Toxicology*, 33(2), 128-132.

- Streffer, C., & Molls, M. (1987). Cultures of preimplantation mouse embryos: a model for radiobiological studies. In *Advances in radiation biology* (Vol. 13, pp. 169-213). Elsevier.
- Sun, G., & Liu, K. (2017). Developmental toxicity and cardiac effects of butyl benzyl phthalate in zebrafish embryos. *Aquatic toxicology*, 192, 165-170.
- Şimşek, H. (2017). Radyasyona maruz bırakılan ratlarda lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan parametreler üzerine propolisin etkisi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 12(3), 296-303.
- Tang, F. R., & Loganovsky, K. (2018). Low dose or low dose rate ionizing radiation-induced health effect in the human. *Journal of environmental radioactivity*, 192, 32-47.
- Tirosh-Finkel, L., Elhanany, H., Rinon, A., & Tzahor, E. (2006). Mesoderm progenitor cells of common origin contribute to the head musculature and the cardiac outflow tract.
- Tsujimoto, Y., & Croce, C. M. (1986). Analysis of the structure, transcripts, and protein products of bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(14), 5214-5218.
- Tuerxun, Z., He, Y., Niu, Y., Bao, Z., Liu, X., Yang, Y., & He, P. (2024). Analysis of Differentially Expressed Murine miRNAs in Acute Myocardial Infarction and Target Genes Related to Heart Rate. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 1-13.
- Ünal, İ., & Emekli-Alturfan, E. (2019). Fishing for Parkinson's Disease: A review of the literature. *Journal of Clinical Neuroscience*, 62, 1-6.
- Valentin, J. (2007). *The 2007 recommendations of the international commission on radiological protection* (Vol. 37). Elsevier Oxford.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Visscher, H., Ross, C., Rassekh, S., Sandor, G., Caron, H., Van Dalen, E., Kremer, L., Van Der Pal, H., Rogers, P., & Rieder, M. (2013). Validation of variants in SLC28A3 and UGT1A6 as genetic markers predictive of anthracycline-induced cardiotoxicity in children. *Pediatric blood & cancer*, 60(8), 1375-1381.
- Wang, A.-G., Xia, T., Chu, Q.-L., Zhang, M., Liu, F., Chen, X.-M., & Yang, K.-D. (2004). Effects of fluoride on lipid peroxidation, DNA damage and apoptosis in human embryo hepatocytes. *BIOMEDICAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCES*, 17(2), 217-222.
- White, S. C., & Pharoah, M. J. (2013). *Oral radiology: principles and interpretation*. Elsevier Health Sciences.
- Williams, J. P., Brown, S. L., Georges, G. E., Hauer-Jensen, M., Hill, R. P., Huser, A. K., Kirsch, D. G., MacVittie, T. J., Mason, K. A., & Medhора, M. M. (2010). Animal models for medical countermeasures to radiation exposure. *Radiation research*, 173(4), 557-578.

- Wrzesień, M., & Olszewski, J. (2017). Absorbed doses for patients undergoing panoramic radiography, cephalometric radiography and CBCT. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 30(5), 705-713.
- Wu, K., Chen, Z., Peng, Q., Chen, G., Yan, W., & Chen, X. (2019). Ku86 alleviates human umbilical vein endothelial cellular apoptosis and senescence induced by a low dose of ionizing radiation. *Journal of International Medical Research*, 47(2), 893-904.
- Xiu, L., Zhao, Y., Li, N., Zeng, J., Liu, J., Fu, Y., Gao, Q., & Wu, L. (2022). High expression of RARG accelerates ovarian cancer progression by regulating cell proliferation. *Frontiers in Oncology*, 12, 1063031.
- Yang, M., Luan, J., Xu, Y., Zhao, C., Sun, M., & Feng, X. (2022). Cardiotoxicity of zebrafish induced by 6-benzylaminopurine exposure and its mechanism. *International journal of molecular sciences*, 23(15), 8438.
- Yardımcı, S., Koçkar, M. C., Köksal, N., Cengiz, M., Delibaşı, T., & Yavuzer, S. (1996). Ratlarda Total Vücut Gama Radyasyonu Uygulamasına Bağlı Plazma Lipid Peroksidasyonu. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 16(6), 434-436.
- Ye, W., Wang, F., Zhang, W., Fang, N., Zhao, W., & Wang, J. (2016). Effect of mobile phone radiation on cardiovascular development of chick embryo. *Anatomia, histologia, embryologia*, 45(3), 197-208.
- Yelon, D., Horne, S. A., & Stainier, D. Y. (1999). Restricted expression of cardiac myosin genes reveals regulated aspects of heart tube assembly in zebrafish. *Developmental biology*, 214(1), 23-37.
- Yin, H., Xu, L., & Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*, 111(10), 5944-5972.
- Yu, H., Qiu, Y., Yu, H., Wang, Z., Xu, J., Peng, Y., Wan, X., Wu, X., Jin, R., & Zhou, F. (2021). Anthracycline induced cardiac disorders in childhood acute lymphoblastic leukemia: a single-centre, retrospective, observational study. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 598708.
- Zakaria, Z. Z., Benslimane, F. M., Nasrallah, G. K., Shurbaji, S., Younes, N. N., Mraiche, F., Da'as, S. I., & Yalcin, H. C. (2018). Using zebrafish for investigating the molecular mechanisms of drug-induced cardiotoxicity. *BioMed research international*, 2018(1), 1642684.
- Zámocký, M., & Koller, F. (1999). Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Progress in biophysics and molecular biology*, 72(1), 19-66.
- Zhan, Q., Bieszczad, C. K., Bae, I., & Craig, R. W. (1997). Induction of BCL2 family member MCL1 as an early response to DNA damage. *Oncogene*, 14(9), 1031-1039.
- Zhou, R., Si, J., Zhang, H., Wang, Z., Li, J., Zhou, X., Gan, L., & Liu, Y. (2014). The effects of x-ray radiation on the eye development of zebrafish. *Human & experimental toxicology*, 33(10), 1040-1050.

