

ELEKTRİK ALANIN DNA HASARI VE BEYİN DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİ - ASTAKSANTİN'İN ROLÜ

THE EFFECTS OF ELECTRIC FIELD ON DNA DAMAGE AND BRAIN TISSUE - THE ROLE OF ASTAXANTHIN

Rahime ASLANKOÇ¹, Oğuzhan KAVRIK¹, Özlem ÖZMEN²

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Isparta, Türkiye

² Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Patoloji AD, Burdur, Türkiye

Cite this article as: Aslankoç R, Kavrik O, Özmen Ö. The Effects Of Electric Field On Dna Damage And Brain Tissue - The Role Of Astaxanthin. Med J SDU 2020; 27(2): 166-172.

Öz

Amaç

Bu çalışmada, uzun süreli elektrik alan (EA) maruziyetinin lenfosit DNA hasarı ve beyin dokusu üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Doğal bir karotenoid pigmenti olan astaksantin'in (AST) EA'nın zararlı etkilerini azaltabileceğini düşündük.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada, 30 adet Wistar Albino (3-4 aylık) dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar her grupta 10 hayvan olmak üzere rastgele üç gruba ayrıldı; Grup I (Kontrol), Grup II (EA uygulanan grup - 10 kV/m EA, 30 gün, günde 23 saat), Grup III (EA+AST tedavi grubu - 10 kV/m EA, 30 gün, günde 23 saat + 100 mg/kg/gün AST, 30 gün, gavaj). Kan dokusunda comet assay yöntemi ile lenfosit DNA hasarı analizi, beyin dokuda malondialdehit (MDA) seviyesi, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri çalışıldı.

Bulgular

EA uygulanan grupta kontrol grubuna göre MDA ve comet skoru yüksek bulundu. AST uygulanan grupta EA grubuna göre MDA ve comet skoru azalırken SOD ve CAT enzim aktiviteleri arttı.

Sonuç

Çalışma sonuçları EA'nın kan dokuda lenfosit DNA hasarına ve beyin dokuda oksidatif strese neden ol-

duğunu gösterdi. Ayrıca AST tedavisinin lenfosit DNA hasarını ve oksidatif stresi azalttığını gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Elektrik alan, Oksidatif stres, Astaksantin, DNA hasarı

Abstract

Objective

In this study, we aimed to investigate the effects of long-term electric field (EF) exposure on lymphocyte DNA damage and brain tissue. We thought astaxanthin (AST), a natural carotenoid pigment, could reduce the harmful effects of EF.

Materials and Methods

Thirty Wistar Albino (3-4 months old) female rats were used in the study. The rats were randomly divided into three groups with ten animals in each; Group I (control), Group II (EF applied group - 10 kV/m EF, 30 days, 23 h/day), Group III (EF+AST treatment group- 10 kV/m EF, 30 days, 23 h/day + 100 mg/kg/days AST, 30 days, gavage). By comet assay method, in blood tissue were studied lymphocyte DNA damage. Also, malondialdehyde (MDA) levels, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzyme activities were investigated in brain tissue.

Results

MDA and comet scores were higher in the EF group

İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: asrahime@hotmail.com

Müracaat tarihi/Application Date: 28.06.2019 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 31.07.2019

Available online at <http://dergipark.gov.tr/sdutfd>

Makaleye <http://dergipark.gov.tr/sdutfd> web sayfasından ulaşılabilir.

compared to the control group. MDA and comet scores decreased and SOD and CAT activities increased in AST group compared to EF group.

Conclusion

The results of the study showed that EF causes lymphocyte DNA damage in blood tissue and oxidative

stress in brain tissue. It also showed that AST treatment reduces lymphocyte DNA damage and oxidative stress.

Keywords: Electric field, Oxidative stress, DNA damage, Astaxanthin

Giriş

Günümüzde teknolojinin gelişmesi insanların elektrik ve manyetik alanlara maruziyetini artırmıştır. Elektrik ve manyetik alanlara uzun süreli bir maruziyet hücrelerin fizyolojik elektriksel akımlarını bozarak ısı artışı ve oksidatif strese neden olur (1). Oksidatif stres hücrelerde reaktif oksijen türlerinin birikmesiyle meydana gelir (2). Bu radikaller hücre içerisinde bulunan protein ve lipitlerle etkileşime girerek yapılarını ve aktivitelerini bozar. Hücrede bulunan lipidlerin, proteinlerin yapılarının bozulması, hücredeki birçok metabolik fonksiyonların bozulmasına neden olur (3). Elektrik alanın oluşturduğu oksidatif stres, özellikle DNA'nın yapısında hasarlara neden olur. Hücrenin yönetici molekülü konumundaki DNA'nın hasarlanması, hücrede işlev gören birçok protein, enzim gibi yapıların işleyişlerini bozar. Yani oksidatif stres sadece hücre içindeki biyomoleküllerin yapılarını bozmakla kalmayıp, hücrenin işleyişini kontrol eden DNA'nın da yapısını bozmaktadır. DNA üzerinde oluşturduğu hasar sonucu, DNA zincirinde kırıklara neden olur. Bu kırıklar, DNA'nın kodlama işlevini etkiler. DNA üzerinde gen bölgelelerinin okunmasında, dolayısıyla da genin ürünü olan protein molekülünün oluşumu zarar görmüş olur (4).

Astaksantin provitamin A aktivitesine sahip karides, ıstakoz, yengeç, kerevit gibi kabuklularda bulunan karotenoid bir pigmenttir. Astaksantin antioksidan, antidiyabetik, fotoprotektif, hepatodetoksifikant ve antiinflamatuvar birçok etkisi mevcuttur (5). Astaksantin antioksidan özelliği birçok antioksidana göre daha güçlüdür. Astaksantin kan beyin bariyerini geçmesinden dolayı oksidatif strese bağlı gelişen merkezi sinir sistemi hastalıklarında antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterebilir (6). Astaksantin birkaç çalışmada özellikle antioksidan aktivitesi gösterilmiş vitamin E ve β -karotenden daha güçlü etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir (5, 7). Güçlü antioksidan etkisi nedeniyle astaksantin serbest radikalleri süpürür, özellikle UV ışınların deride oluşturduğu oksidatif strese karşı koruma sağlar (8). Hücrede mitokondriyal fonksiyonların sürdürülmesini sağlar, ayrıca bazı çalışmalar anti-kanser etkili olduğunu göstermektedir. Karaciğer fonksiyonlarından detoksifikasyonu güçlendirir. Astak-

santin özellikle hayvan çalışmalarında immün cevabı güçlendirdiği gözlenmiştir (9).

Oksidatif stres Alzheimer's, Huntington's, Parkinson'a ve amniyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi majör nörodejenaratif hastalıkların sebebi olarak görülmektedir. Bu hastalıkların meydana gelme riskini azaltmak için antioksidanlardan zengin diyetler alternatif tedavi olarak önerilmektedir (5, 10-12). Astaksantin birçok nörodejenaratif hastalığın patogeneğinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, elektrik alan maruziyetinin sıçanlarda beyin dokusu ve lenfosit DNA'sı üzerinde oluşturduğu oksidatif hasarı ve astaksantin olası koruyucu rolünü araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışma Grubu

Tüm deneyler Ulusal Sağlık Enstitüleri Hayvan Araştırma esaslarına uygun olarak yapıldı ve Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onay alındı (Etik No: 474, 12/Aralık/2018).

Çalışmada, 30 adet Wistar Albino (250-300 gr) dişi sıçanlar kullanıldı (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur, Türkiye). Hayvanlar standart koşullarda tutuldu (sıcaklık; 22 ± 3 °C, nem; %55-60 ve 12 saat ışık/12 saat karanlık ortam). Hayvanlar plastik kafes içinde herhangi bir kısıtlama olmadan tutuldu. Tüm sıçanlar standart yem (Korkuteli yem) ve musluk suyu ile beslendi. Bir haftalık adaptasyon sürecinden sonra 30 hayvan rastgele her grupta 10 hayvan olmak üzere üç gruba ayrıldı;

Grup I: (Kontrol grubu), sıçanlara 30 gün boyunca gavaj yoluyla 0.1 ml fizyolojik serum verildi.

Grup II: (EA grubu), 30 gün boyunca 10 kV/m (50 Hz) elektrik alan günde 23 saat olmak üzere uygulandı. Ayrıca gavaj yoluyla 0.1 ml fizyolojik serum verildi.

Grup III: (EA+AST grubu), 30 gün boyunca 10 kV/m (50 Hz) elektrik alan ve 100 mg/kg/gün astaksantin gavaj yoluyla verildi. Astaksantin uygulaması her sabah saat 09:00'da yapıldı.

Elektrik alan uygulamasında, 'Dünya Sağlık Örgütü ve Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Enstitüsü' standart ve düzenlemelerine göre vücut içi zararlı olan elektrik alan maruziyet sınırı (10 kV/m, 50 Hz) kullanıldı. Elektrik alan ölçümleri LF elektrik alan ölçer (VX 0003 with 3 kHz internal antenna) ile sürekli ölçümü Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektronik ve Haberleşme Bölümü tarafından yapıldı. 50 Hz (10 kV/m) EA uygulaması günde 23 saat yapıldı bir saat kafes temizliği ve hayvanların bakımı için ayrıldı. Bakım her gün saat 09:00 – 10:00 arasında yapıldı.

Deney sonunda tüm hayvanlar anestezi (ketamin/ksilazim) altında standart etik prosedürlere göre sakrifiye edildi. Comet assay analizi için kan örnekleri alındı. Beyin hızlı bir şekilde çıkarıldı. beyin dokusu fosfat tamponu içinde homojenize edildi ve oksidan/antioksidan analizler için -80°C de saklandı.

Elektrik Alan Düzenegi

Elektrik alan (EA) düzenegi Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektrik Elektronik Mühendisliği Telekomünikasyon Anabilim Dalı tarafından planlanarak uygulandı. Bu düzenekte aynı ölçüde iki paralel plaka kullanıldı ve paralel plaka arasında elektrik alan oluşturuldu. Bu plakaların etki alanı 0.5 m^2 ($0.5 \times 1.0\text{ m}$)'dir. Plakalar arasındaki alanın değişen değerini önlemek için plakalar arasına güç frekansı yerleştirildi. Bu sistemde kullanılacak hayvan kafeslerinin (6-8 hayvan için) özellikleri; kafesinin alanı $40 \times 50 \times 20\text{ cm}^3$ ($w \times l \times h$) boyutlarında, elektrik alanı engellemeyen, metal parçalı olmayan tamamen plastik yapılmış malzemelerden oluşmaktadır. Plakaların yapımında 2 mm kalınlığında ve iyi bir iletkenlik oluşturabilmek için paslanmaz çelik kullanıldı. EA direnci $E = V/d$ eşitliğine göre hesaplandı.

Bu denklemdaki E, plakalar arasındaki elektrik potansiyeli, d ise mesafeyi ve V volt/metredeki elektrik alan yoğunluğunu göstermektedir. Kafes köşeleri uç etkisinden kurtulmak için yuvarlandı. Kafesler birbirine paralel pozisyonda yerleştirildi. Alanı bozmamak için kafeslerin dış köşe alanı üzerinden plakaların merkezine kablo bağlandı. Maruziyet sisteminde setup transformer hızı 220 Vrms/5000 Vrms ve 1000 VA kullanıldı. Plakalar 50 cm genişliğinde aralıkla yerleştirildi.

Çalışmamızda kaynaktan akım çekilmediği için etkin olan güç elektrik alan olacaktır. Bu düzenegin dezavantajları ortamda bulunan iletken malzemelerin elektrik alan vektör yönünü ve şiddetini değiştirebilecek olmasıdır. Bu durum göz önüne alındığında kafesin günlük rutin temizliği (ıslak zeminden kurtarma) yapıldı.

$E = V/d$ denklemine göre plakalar arasında elektrik akımın ortalama yoğunluğu, EA grubunda $5000\text{ V}/0.5\text{ m} = 10.000\text{ V}/\text{m}$ (10 kV/m) şeklinde hesaplandı. Ölçüm için multimeter voltaj Max 3000 TRMS Model'i kullanıldı (Chauvin Arnoux, Paris, France). Güç transformer'in birinci voltajı, ikinci voltajı ve EF yoğunluğu, sırasıyla 219-229 Vrms, 4975-5202 Vrms ve 9951-1045 V/m aralığındadır. Dijital Gauss/Tesla ölçer MFS zemininden EA saflığı testinde kullanıldı. Maksimum MF yoğunluğu 0.001 mT 'dir. Deney odasında istenmeyen yüksek frekans alanları HI-3804 Electromagnetic Field Survey Meter-Industrial Compliance ölçer kullanılarak yapıldı (Holaday Industries, Inc, UK) (13).

Biyokimyasal Analizler

Antioksidan analizlerinin yapılabilmesi için beyin dokusundan alınan örnekler, doku ağırlığının 9 katı fosfat tamponu ile birlikte homejenizatörde sonra sonikatore parçalandı Tüpler santrüfuj edilerek elde edilen numuneler ependorf tüpler içine konularak antioksidan analizleri için -80°C 'de saklandı. Bütün uygulamalar soğuk ortamda gerçekleştirildi. Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan MDA ölçümü için Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi kullanıldı. Elde edilen örneklerin renk absorbans ölçümleri spektrofotometrede 532 nm 'de (Shimadzu UV-1601, Almanya) yapıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein olarak verildi (14). CAT enzim aktivitesi Aebi yöntemine göre çalışıldı. Doku örneğine, birinci reaktif ve ikinci reaktif karıştırılarak 0. sn ve 30. sn'lerdeki absorbans değerlerine bakıldı. Absorbanslar spektrofotometrede 240 nm 'de ölçüldü. Sonuçlar ku/mg protein olarak verildi (15). SOD aktivitesi spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür (Olympus AU 2700, Japonya). Beyin dokusuna ait SOD aktivite değerleri, U/mg protein şeklinde ifade edildi (16).

Comet Assay Analizi

Lenfosit DNA hasarı comet assay yöntemi kullanılarak analiz edildi. Kısaca, $20\ \mu\text{l}$ tam kan numunesi $150\ \mu\text{l}$ düşük erime noktalı agoroz (LMA) ile 37°C 'de karıştırıldı. Hazırlanan karışımın $140\ \mu\text{l}$ 'si, normal erime agorozu (NMA) ile önceden kaplanmış lam üzerine yerleştirildi. Lamalar 4°C 'de 5 dk bekletildi. Sonra lamalar 1 saat boyunca lizis solüsyonu içine yerleştirildi. Lizis sonrasında 30 dk süre ile soğuk alkali elektroforez tamponu ($1\text{ mmol}/\text{L}$ EDTA and 300 mM NaOH, $\text{pH}>13$) ile dolu tank içine kondu. Daha sonra 25V , 300 mA 'de 25 dakika boyunca elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Elektroforezden sonra lamalar 5 dakika boyunca nötralize (0.4 M Tris, pH 7.4) edildi. Lamalar üzerine etidyum bromür eklenerek bir floresan mikroskopu (Olympus BX-50, Japon) altında rastgele 100 hücre analiz edildi. Hasar derecelerine göre, hücreler 0, 1, 2, 3, 4 olarak hasarsızdan (DNA göçü yok) şiddetli hasarlıya (DNA göç etmiş) kadar 5 kategoride

sınıflandırıldı (17). Comet skorlaması Şekil 1'de elde ettiğimiz görüntüler doğrultusunda yapıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 21.0 for Windows paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımının ön koşulu Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak test edildi. Kolmogorov-Smirnov testine göre homojen olan verilere One Way ANOVA; homojen olmayan verilere ise Kruskal Wallis testi uygulandı. Bu test sonuçlarına göre farkın anlamlı olduğu durumlarda anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak için Bonferroni düzeltmesi yapıldı. İstatistik anlamlılık değeri %95 güven aralığında $p < 0.05$ olarak alındı.

Bulgular

Elektrik Alanın Beyin Dokusu Üzerinde Oluşturduğu Oksidatif Stres ve Astaksantin Antioksidan Etkileri

Tüm gruplara ait oksidan/antioksidan sonuçları tablo 1'de sunulmaktadır. MDA seviyesi tüm gruplar arasında anlamlı bulundu ($p = 0,016$). EA uygulanan grupta MDA seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p = 0,015$). AST uygulaması MDA seviyesini EA grubuna göre azalttı fakat fark anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). CAT enzim aktivitesi gruplar arasında anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Gruplar arası iki karşılaştırılarda; EA uygulaması anlamlı olmasa da CAT enzim aktivitesi azalttı, ancak AST uygulaması EA grubuna göre anlamlı olarak CAT enzim aktivitesini arttırdı ($p = 0.047$). SOD enzim aktivitesi gruplar ara-

sında anlamlı bulundu ($p = 0,001$). EA uygulanan grupta SOD enzim aktivitesi anlamlı olarak arttı ($p = 0,001$). AST tedavisi SOD enzim aktivitesini EA uygulanan gruba göre anlamlı olarak azalttı ($p = 0,001$).

Elektrik Alan İle Uyarılan Lenfosit DNA Hasarı Üzerine Astaksantin Etkileri

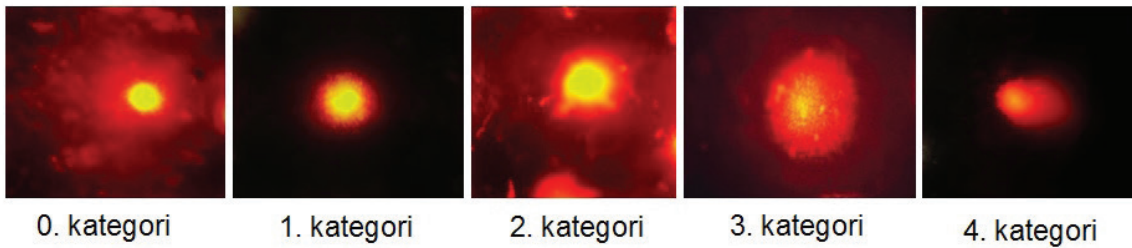
Tüm grupların comet skorlaması Şekil 1'de sunulan ve çalışmadan elde edilen görüntüye göre yapıldı. Gruplara ait comet skorlaması ise Tablo 2'de gösterilmektedir. EA uygulanan gruptaki hayvanların lenfosit DNA hasarı, kontrol grubuna göre daha fazla olduğu tespit edildi ($p < 0.001$). AST uygulanan grupta ise, AST'nin lenfosit DNA hasarını EA uygulanan gruba göre anlamlı derecede azalttığı belirlendi ($p < 0.001$). Tüm gruplara ait DNA hasar görüntüleri Şekil 2'de gösterildi.

Tartışma

Psikolojik stres, hava kirliliği, sigara kullanımı, elektrik ve manyetik alanlar gibi çevresel faktörler serbest radikallerin üretimini artırabilir (5). Serbest radikaller DNA hasarına, membran proteinlerine ve lipitlerine hasar verir. Oksidatif stres kardiyovasküler, inflamatuvar hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın fizyopatolojisinde rol oynar (18) Destek antioksidanların alınması önemli hastalıkların önlenmesine yardımcı olabilir. Hatakawa ve ark. sıçanlarda 50 Hz elektrik alanının plazma lipit peroksit ve antioksidan aktiviteleri üzerine yaptıkları çalışmada, oksidatif stresli sıçanlarda lipit peroksit seviyelerini etkilediğini gösterdiler (19). Benzer şekilde, çalışmamızda, EA

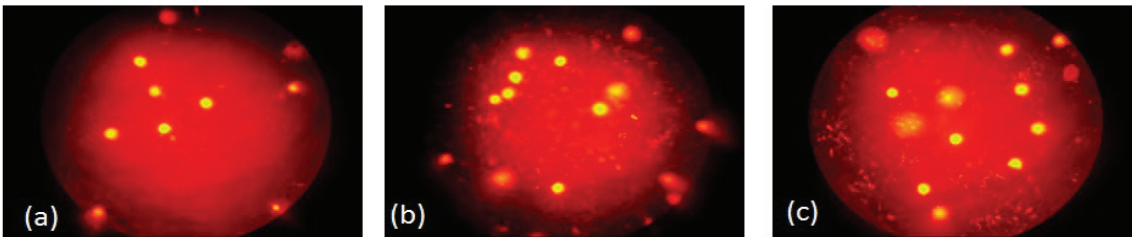
Şekil 1

Comet skorlama görüntüsü. Bu görüntüler çalışma bulgularından elde edilmiştir.



Şekil 2

Gruplara ait Comet görüntüsü; (a): kontrol grubu, (b): EA grubu, (c): AST tedavi grubu



uygulanan grupta MDA seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttı. Çalışma bulgularımıza göre günümüzde yoğun olarak maruz kaldığımız EA'ların beyin dokusu üzerinde oksidatif strese neden olduğunu söyleyebiliriz.

Al-Amin ve ark. genç farelerin beyin dokusu üzerinde astaksantin antioksidan etkileri araştırdıkları çalışmada, astaksantin tedavisinin korteks, striatum, hipotalamus, hipokampus ve serebellumda MDA seviyelerini azalttığını, SOD ve CAT enzim aktivitelerini güçlendirdiğini göstermişlerdir (20). Liu ve Osawa'nın astaksantin, nöronal hücreleri oksidatif hasara karşı koruduğu ve beyin beslenmesi için güçlü madde olarak gösterdikleri çalışmada hücre içi ROS ve AST ölçümü yaptılar. AST'nin nöroprotektif etkisinin, antioksidan potansiyeline ve mitokondri korumasına bağlı olduğu; bu nedenle, AST ile tedavinin oksidatif stresle ilişkili nörodejenerasyon için etkili olabileceği ve doğal beyin beslenmesi için potansiyel bir aday olabileceğini önermektedirler (21). Chan ve ark. farklılaşmış PC12 hücrelerinde sinir büyüme faktörleri üzerine AST'in antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri çalıştıkları çalışmada, AST'nin PC12 hücrelerinde MDA seviyesini azalttığını göstermişlerdir (22). SOD ve CAT bulgularımıza göre AST'in antioksidan etkilerini söyleyebiliriz ancak farklı dozlarda çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar elektrik ve manyetik alanların hücre proliferasyonunu, morfolojisini ve gen ekspresyonunu değiştirdiğini gösterdi. Hücrelerin mikro elektrik alanlara maruz bırakılması hücrenin dış zarının hasar görmesine neden olmaktadır (23). Yüksek yoğunluklu darbeleri elektrik alanların hücreler üzerindeki etkileri rapor edilmiştir. Kısa süreli darbeleri elektrik alan uygulamalarının hücre içi zarlarının ve hücre dış zarının hasar görmesine neden olmaktadır. Bu hipotez insanda bazofil üzerinde gösterilmiştir (24). Hücre içi zarlarının etkilenmesi hücre içi organel modifikasyonuna neden olabilir. Bu hipotezi temel alarak çalışmamızda 50 Hz elektrik alanının lenfosit DNA'sı üzerine uzun süreli etkilerini araştırdık. Çalışmada lenfosit DNA hasarı analizi için alkali comet assay yöntemini kullandık. Comet assay yöntemi DNA hasarı analizi için diğer sitogenetik yöntemlere göre daha avantajlıdır (17). Ayrıca yöntem çok sayıda hücre ve çok sayıda hücre tipine uygulanır. Bu nedenle yöntem yaygın olarak kullanılmaktadır.

Stacey ve ark. yaptıkları çalışmada çok kısa, yüksek yoğunluklu elektrik alanlara maruz kalan hücrelerde hücre sağ kalım oranı, DNA hasarı ve hücre döngüsünü analizi ettiler. Araştırmacılar farklı hücre tiplerine kısa süreli darbeleri elektrik alan (PEF) uyguladılar ve genotoksik etkinin hücre tipine bağlı olduğunu gösterdiler. Ayrıca araştırmacılar PEF uygulamasının DNA

Tablo 1 Tüm grupların beyin dokusunda MDA ve antioksidan enzim aktiviteleri

Groups	MDA ($\mu\text{mol/mg protein}$)	CAT (ku/mg protein)	SOD (U/mg protein)
Control	15,78 \pm 1,41	4,01 \pm 0,62	12,96 \pm 0,14
EA	30,50 \pm 5,26 ^a	2,43 \pm 0,38	41,54 \pm 0,50 ^b
EA+AST	21,00 \pm 1,81	12,55 \pm 6,06 ^b	23,46 \pm 0,35 ^c

Veriler ortalama \pm SE olarak verildi. Gruplar ve sonuçlar arasındaki ilişkiler tek yönlü ANOVA ile değerlendirilir. a: $p < 0.05$ kontrol grubuna göre karşılaştırma, b: $p < 0.001$ kontrol grubuna göre karşılaştırma, c: $p < 0.001$ EA grubuna göre karşılaştırma

Tablo 2 Tüm gruplara ait Comet skoru ortalama ve standart sapmaları

Gruplar	Comet skoru (Arbitrary Unit)	
	Ortalama \pm SD	P değeri
Kontrol grubu	88,33 \pm 34,55	NS
EA grubu	260,00 \pm 56,08 ^a	a: 0.001
EA+AST grubu	109,00 \pm 52,56 ^b	b: 0.001

Veriler ortalama \pm SD olarak verildi. Gruplar ve sonuçlar arasındaki ilişkiler tek yönlü ANOVA ile değerlendirilir. a: $p < 0.001$ kontrol grubuna göre karşılaştırma, b: $p < 0.001$ EA grubuna göre karşılaştırma

üzerine etkilerini araştırdılar. EA'nın uygulanmadığı grupta 5 kez EA uygulanan gruba göre DNA bandının daha sıkı olduğunu tespit ettiler (23). Çalışmamızda, EA uygulaması comet skorunu kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttırdı. Çalışmadan elde ettiğimiz bulgular 50 Hz EA uygulamasının sıçanlarda lenfosit DNA hasarı oluşturduğunu gösterdi.

DNA hasarı kanser, nörodejenerasyon, kardiyovasküler, ve inflamatuvar hastalıkları gibi bir çok hastalığın patofizyolojisinde yer alır. İster endojen olsun ister ekzojen olsun antioksidanların hücrelerde DNA hasarını önlediği ya da onardığı çalışmalarda gösterilmektedir (25). AST oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu olabilir. Park ve ark 2010 yılında yaptıkları insan çalışmasında farklı dozlarda 4 ve 8 hafta AST alan hastalarla plesebo - kontrol grubunu karşılaştırdılar. Araştırmacılar AST'nin lenfosit DNA hasarını azalttığını ve genç sağlıklı kadınlarda immün sistemi güçlendirdiğini gösterdiler (26).

Tripathi ve ark. farelerde siklofosamid kaynaklı oksidatif stres ve DNA hasarına karşı astaksantin etkilerini araştırdıkları çalışmada, astaksantin, farelerde siklofosamid kaynaklı oksidatif stresi ve ardından DNA hasarını azalttığı ve antikanser ilaç siklofosamidin toksisitesine karşı kemoprotektif bir ajan olarak kullanılabilirliği sonucuna varmışlardır (27). Araştırmacıların diğer bir çalışmasında siklofosamid ile uyarılan sperm DNA hasarını astaksantin azalttığı gösterilmiştir (28).

Santocona ve ark. UVA radyasyon ile uyarılan hücrelerde astaksantin, zeaksantin ve luteinin DNA hasarı ve onarımına etkisini araştırdılar. Araştırmacılar trakea epitel hücrelerinde alkali comet assay yöntemi ile primer DNA hasarını değerlendirdiler. Ayrıca, comet assay analizinde 2 dakikalık maruz kalmadan hemen sonra sıçan trakea epitel hücreleri için UVA aracılı DNA hasarı bulunduğunu astaksantin DNA hasarını önlemede seçeneğe olabileceğini gösterdiler (29). Astaksantin, in vitro çalışmalarda UVA kaynaklı oksidatif strese karşı lutein ve β -karoten'den yaklaşık 100 kat daha koruyucu olduğu bildirilmektedir (30). Çalışmamızda, AST tedavisi uygulanan grupta ise comet skoru EA uygulanan gruba göre anlamlı derecede azaldı. Elde ettiğimiz bu bulguya göre AST'nin lenfosit DNA hasarını önleyebileceğini söyleyebiliriz. Ancak bu sonuçların ileride yapılacak çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç

Bu çalışma sonuçlarına göre uzun süre EA maruziyeti beyin dokusunda ve lenfosit DNA'sında oksidatif

stres oluşturabilmektedir. Oksidatif stres Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların ve kanserin fizyopatolojisinde rol oynamaktadır. Ayrıca lenfosit DNA hasarına yol açmaktadır. Bu nedenle elde ettiğimiz sonuçlar sadece medikal alana değil aynı zamanda mühendislik alanına da katkı sağlayacaktır. Mühendislik açısından, çalışma sonuçları evlerde ve iş yerlerimizde elektrik kablolarının ve elektrikli ekipmanların daha sağlıklı kullanılmasını teşvik edecektir. Ayrıca ülkeler için oluşturulan maruziyet sınırlarının güncellenmesine katkı sağlayacaktır. Antioksidan olarak AST EA ile oluşturulan oksidatif hasarı önlemekle birlikte farklı doz çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

- Güler G, Turkozer Z, Tomruk A, Seyhan N. The protective effects of N-acetyl-L-cysteine and Epigallocatechin-3-gallate on electric field-induced hepatic oxidative stress. *Int. J. Radiat. Biol.* 2008; 84(8): 669–680.
- Yokus B, Cakir DU, Akdag MZ, Sert C, Mete N. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electromagnetic fields. *Free Radical Research* 2005; 39(3): 317-323.
- Paradisi S, Donelli G, Santini MT, Straface E, Malorni W. 50 Hz magnetic field induces structural and biophysical changes in membranes. *Bioelectromagnetics* 1993; 14(3): 247-255.
- Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 1997; 387(3): 147-163.
- Guerin M, Huntly ME, Olaizola M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *TRENDS in Biotechnology* 2003; 21(5): 210-216.
- Naguib YMA. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *Journal of agricultural and food chemistry* 2000; 48(4):1150-1154.
- Shimidzu N, Goto M, Miki W. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fish. Sci.* 1996; 62(1):134–137.
- O'Connor I, O'Brien N. Modulation of UVA light-induced oxidative stress by beta-carotene, lutein and astaxanthin in cultured fibroblasts. *J. Dermatol. Sci.* 1998; 16(3): 226–230.
- Nakagawa K, Kiko T, Miyazawa T, Burdeos GC. Antioxidant effect of astaxanthin on phospholipid peroxidation in human erythrocytes. *British Journal of Nutrition* 2011; 105(11): 1563-1571.
- Engelhart MJ, Geerlings MI, Ruitenber A, Van Swieten JC, Hofman A, Witteman JCM, Breteler MMB. Intake of vitamin E, vitamin C, and carotenoids and the risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 287(24): 3223-3229.
- Velusamy T, Panneerselvam AS, Purushottam M, Anusuyadevi M, Kumar Pal P, Jain S, Essa MM, Guillemin GJ, Kandasamy M. Protective Effect of Antioxidants on Neuronal Dysfunction and Plasticity in Huntington's Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017 (2017): doi.org/10.1155/2017/3279061.
- Etminan M, Gill SS, Samii A. Intake of vitamin E, vitamin C, and carotenoids and the risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. *The Lancet Neurology* 2005; 4(6): 362-365.
- Aslankoc R, Gumral N, Saygin M, Senol N, Ascı H, Cankara FN, Comlekci S. The impact of electric fields on testis physiopathology, sperm parameters and DNA integrity—The role of resveratrol. *Andrologia* 2018; 50(4): e12971
- Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymology* 1990; 186: 421–431.
- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymology* 1984; 105: 121–126.

16. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood various breed crosses of sheep. *Research Veterinary Science* 1983; 34: 69–77.
17. Collins AR. The comet assay for DNA damage and repair. *Molecular Biotechnology* 2004; 26: 249–261.
18. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2015; 97: 55-74.
19. Harakawa S, Inoue N, Hori T, Tochio K, Kariya T, Takahashi K, Doge F, Suzuki H, Nagasawa H. Effects of a 50 Hz Electric Field on Plasma Lipid Peroxide Level and Antioxidant Activity in Rats. *Bioelectromagnetics* 2005;26: 589-594.
20. Mamun Al-Amin Md, Akhter S, Hasan AT, Alam T, Nageeb Hasan SM, Saifullah ARM, Shohel M. The antioxidant effect of astaxanthin is higher in young mice than aged: a region specific study on brain. *Metab Brain Dis.* 2015; 30:1237–1246.
21. Liu X, Osawa T. Astaxanthin Protects Neuronal Cells against Oxidative Damage and Is a Potent Candidate for Brain Food. *Life-style Related Diseases*. Yoshikawa T (ed): Food Factors for Health Promotion. Forum Nutr. Basel, Karger, 2009, vol 61, pp 129–135.
22. Chan KC, Mong MC, Yin MC. Antioxidative and Anti-Inflammatory Neuroprotective Effects of Astaxanthin and Canthaxanthin in Nerve Growth Factor Differentiated PC12 Cells. *Journal of Food Science* 2009; 74(7): 225-231.
23. Stacey M, Stickley J, Fox P, Statler V, Schoenbach K, Beebe SJ, Buescher S. Differential effects in cells exposed to ultra-short, high intensity electric fields: cell survival, DNA damage, and cell cycle analysis. *Mutation Research* 2003; 542: 65–75.
24. Schoenbach K, Beebe S, Buescher S. Intracellular effect of ultra-short electric pulses, *Bioelectromagnetics* 2001; 22: 440–448.
25. Azqueta A, Collins AR. Carotenoids and DNA damage. *Mutation Research* 2012; 733: 4–13.
26. Park JS, Chyun JH, Kim YK, Line LL, Chew BP. Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. *Nutrition & Metabolism* 2010; 7:18.
27. Tripathi DN, Jena GB. Intervention of astaxanthin against cyclophosphamide-induced oxidative stress and DNA damage: A study in mice. *Chemico-Biological Interactions* 2009; 180: 398–406.
28. Tripathi DN, Jena GB. Astaxanthin inhibits cytotoxic and genotoxic effects of cyclophosphamide in mice germ cells. *Toxicology* 2008; 248: 96–103.
29. Santocona M, Zurria M, Berrettini M, Fedeli D, Falcioni G. Influence of astaxanthin, zeaxanthin and lutein on DNA damage and repair in UVA-irradiated cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2006; 85: 205–21.
30. O'Connor I, O'Brien NM. Modulation of UVA light-induced oxidative stress by β -carotene, lutein and astaxanthin in cultured fibroblasts. *J Dermatol Sci.* 1998;16: 226-230.