

Elektromanyetik Radyasyonun (2.45 GHz) Lenfosit DNA Hasarına ve Hematolojik Parametrelere Etkisi: Vitamin C'nin Koruyucu Rolü

Effect of Electromagnetic Radiation (2.45 GHz) on Lymphocyte DNA Damage and Hematological Parameters: The Protective Role of Vitamin C

Oğuzhan KAVRIK^{1*}, Mustafa SAYGIN¹, Rahime ASLANKOÇ¹, Nurhan GÜMRAL¹, Halil AŞÇI²,
Fatma Nihan CANKARA²

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye
² Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, kanda hematolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olabilen 2.45 GHz elektromanyetik radyasyonun (EMR) etkilerini araştırmaktır. EMR maruziyetinin etkilerine karşı koruyucu özelliği olan Vitamin C'yi (Vit C) tercih ettik.

Materyal-Metot: Bu çalışma için 18 dişi Sprague Dawley sıçanı rastgele her birinde altı hayvan bulunan üç gruba ayrıldı: Kontrol, EMR ve EMR+Vit C grupları. Kontrol grubu: gavaj ile 30 gün boyunca 0.1 ml/gün salin; EMR grubu: EMR, 30 gün boyunca 1 saat/gün; EMR+Vit C grubu: EMR, 30 gün boyunca 1 saat/gün C vitamini 250 mg/kg/gün, gavaj ile. Beyaz Kan Hücre (WBC), Nötrofil, Lenfosit, Monosit, Eozinofil, Bazofil, Kırmızı Kan Hücre (RBC), Hemoglobin (Hb), Hematokrit (Htc), Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV), Kırmızı Hücre Dağılım Genişliği-SD (RDW- SD), Kırmızı Hücre Dağılım Genişliği-CV (RDW-CV), Trombosit (PLT), Ortalama Trombosit Hacmi (MPV), Trombosit Dağılım Genişliği (PDW), Trombosit Kirit (PCT) ve Trombosit Büyük Hücre Oranı (P-LCR) sayıları ölçülmüştür. Comet testi ile lenfosit DNA hasarı değerlendirildi, ayrıca malondialdehit (MDA) seviyesi ve katalaz (CAT) aktivitesi değerlendirildi.

Bulgular: Comet analiz skoru ve P-LCR sayıları EMR grubunda Kontrol grubuna göre arttı ($p<0,05$). C vitamini tedavisi sonrası comet analiz skorunda ve P-LCR sayılarında EMR grubuna göre azalma gözlemlenildi ($p<0,05$).

Sonuç: Sonuçlar, bir cep telefonu tarafından üretilen frekansta EMR'nin lenfosit DNA kırılmasına neden olduğunu ve P-LCR seviyesini artırdığını göstermektedir. C vitamini, EMF maruziyetinin neden olduğu lenfosit DNA hasarını ve P-LCR seviyesini azaltıyor gibi görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Comet Analizi, DNA hasarı, Elektromanyetik radyasyon, oksidatif stres, C vitamini.

Alınış / Received: 31.05.2022 Kabul / Accepted: 06.03.2023 Online Yayınlanma / Published Online: 13.04.2023



ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to investigate the effects of 2.45 GHz electromagnetic radiation (EMR), which may cause hematological and biochemical changes in blood. We preferred Vitamin C (Vit C) for its protective properties effects against the effects of EMR exposure.

Material and Method: For this study, 18 female Sprague Dawley rats were randomly divided into three groups with six animals in each: Sham, EMR and EMR+Vit C groups. Sham group: 0.1ml/day saline for 30 days, by oral gavage; EMR group: EMR, 1h/day for 30 days; EMR+Vit C group: EMR, 1h/day for 30 days+Vit C 250 mg/kg/daily, by oral gavage. White Blood Cell (WBC), Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil, Red Blood Cell (RBC), Hemoglobin (Hb), Hematocrit (Htc), Mean Erythrocyte Volume (MCV), Red Cell Distribution Width-SD (RDW-SD), Red Cell Distribution Width-CV (RDW-CV), Thrombocyte (PLT), Mean Platelet Volume (MPV), Platelet Distribution Width (PDW), Platelet Crit (PCT) and Platelet Large Cell Ratio (P-LCR) counts were measured. Lymphocyte DNA damage was assessed by comet assay, additionally, malondialdehyde (MDA) level and catalase (CAT) activity were evaluated.

Results: Comet analysis score and P-LCR counts were increased in EMR group compared to Sham group ($p<0.05$). We observed a decrease in comet analysis score and P-LCR counts after Vit C treatment compared to the finding in EMR group ($p<0.05$).

Conclusions: The results suggest that EMR at the frequency generated by a cell phone causes lymphocyte DNA break and increases P-LCR level. Vit C seems to reduce lymphocyte DNA damage and P-LCR level caused by EMF exposure.

Keywords: Comet assay, DNA damage, electromagnetic radiation, oxidative stress, Vitamin C



1. Giriş

Son yıllarda teknolojilerdeki gelişmelere bağlı olarak insanlar elektromanyetik alanlara (EMF) daha uzun süre ve yoğunlukta maruz kalmaktadır. İyonlaştırıcı olmayan radyasyonun birçok kaynağı, insanları günlük yaşamlarında sessizce ve sürekli olarak etkileyebilmektedir [1,2]. Bu uzun süreli EMF maruziyeti insan sağlığı üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir [3]. Çalışmalar, kablosuz ağlar, mikrodalga fırınlar ve cep telefonları gibi çeşitli kaynaklardan gelen EMF'nin çeşitli biyolojik etkilere neden olduğunu göstermiştir [4]. 2.45 GHz mikrodalga radyasyonuna uzun süre maruz kalmak nörolojik sorunlara [5], bilişsel işlev bozukluğuna [6], beyin tümörlerine, çocukluk çağı lösemisine, doğuştan malformasyonlara, nörodejeneratif hastalıklara ve kısırlığa [7] neden olabilir... Ek olarak, termal olmayan mikrodalga radyasyona kronik maruz kalma, baş ağrısı, yorgunluk, uyku, hafıza bozukluğu ve konsantrasyon eksikliği gibi çeşitli patolojik etkilere yol açar [8].

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda EMF maruziyetinin hücrenin membran fonksiyonlarında, hücresel iletimlerinde ve metabolizmasında önemli değişikliklere neden olduğu bulunmuştur [9]. Oksidatif stres membran hasarına, apoptotik ve nekrotik hücre ölümüne ve DNA hasarına neden olur. Bu nedenle oksidatif stres, iskemik, nörolojik, inflamatuvar ve dejeneratif hastalıklar ile ateroskleroz ve karsinogenez gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır [10,11]. Oksidatif stres, oksidan maddeler ile yetersiz antioksidan savunma mekanizmaları arasında bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkar [12]. EMR gibi çevresel faktörler, antioksidan savunma sistemlerini bozan oksidatif stres oluşturan reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olur [13].

2.45 GHz EMR'ye maruz kalma, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri ve oksidatif stresi gösteren malondialdehit (MDA) artışı ile sonuçlanabilir [11]. Ayrıca önceki çalışmalarda elektromanyetik alanın oksidatif stres yoluyla bazı lipid yapılarını etkilediği ve DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir [14,15]. C vitamini, kollajen reaksiyonu, epinefrin sentezi, safra asitlerinin sentezi, karnitin sentezi ve hücrede demir emilimi gibi birçok kimyasal reaksiyona katılan güçlü bir indirgeyici ajandır [16]. Ayrıca bağışıklama ve yara iyileşmesinde etkilidir. C vitamini, güçlü indirgeme aktivitesi nedeniyle önemli bir antioksidandır [17]. Bu nedenle, C vitamini kanser, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve diğer dejeneratif ve inflamatuvar hastalıklar gibi hastalık riskini azaltmada önemli bir rol oynayabilir. C vitamini lökosit fonksiyonlarını iyileştirir, interferon seviyesini ve aktivitesini, antikorların sayısını ve tepkisini, timus hormonlarının üretimini artırır ve bağışıklık sistemini güçlendirir. Ayrıca C vitamininin interferona benzer birçok etkisi vardır [18,19].

Bu çalışmanın amacı, EMR'ye maruz kalmanın uzun süreli etkilerini aydınlatmaktır. Spesifik olarak, lökosit DNA hasarı, oksidan MDA seviyeleri, eritrosit, lökosit ve trombosit parametrelerini ve EMR'nin neden olduğu oksidatif strese karşı C vitamininin koruyucu bir rolü olup olmadığını araştırdık. [2].

2. Materyal ve Metot

Çalışmamız, Ulusal Sağlık Enstitülerinden hayvan araştırmaları için yönergelere uygun olarak yapılmıştır. Ayrıca sıçanlar üzerinde yapılan işlemler Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından gözden geçirildi ve onaylandı (Etik No: 21.05. 2015/09). Süleyman Demirel Üniversitesi (Isparta, Türkiye) tarafından hazırlanan deneyde 250-300 gr ağırlığında 6-8 aylık dişi Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Hayvanlar standart laboratuvar koşullarında (sıcaklık, 21-23 °C, nem, %55-60 ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü) tutuldu ve su ve yiyeceğe serbest erişimleri sağlandı. Tüm sıçanlar standart ticari yem (Korkuteli yem) ile beslendi, diğer çevresel faktörler tüm gruplarda aynı tutuldu. Deneyden önce tüm sıçanlara bir haftalık adaptasyon uygulandı. Deney sırasında hayvanların sağlık durumları kontrol edildi. Herhangi bir sağlık sorunu yaşanmadı.

Çalışma Grubu

Bir haftalık adaptasyondan sonra, sıçanlar rastgele her birinde sekiz sıçan olacak şekilde üç eşit gruba ayrıldı;

Grup I (n=6): Kontrol grubu, sıçanlara EMR'ye maruz kalmadan C vitaminine eşit dozlarda (tek doz/gün, 30 gün) gavaj yoluyla salın uygulandı.

Grup II (n=6): EMR grubu, sıçanlar her gün 1 saat aynı saatte (30 gün) 2.45 GHz EMR'ye maruz bırakıldı [13].

Grup III (n=6): EMR+ Vit C grubu, sıçanlara 2.45 GHz EMR (1 saat/gün) uygulandı ve 30 gün süreyle 250 mg/kg Vit C gavaj ile verildi [11]. Vit C'nin ilk dozu (Bayer, İstanbul, Türkiye) deneyden 24 saat önce verildi.

Deneyin bitiminden sonra, sıçanlara standart etik prosedürler izlenerek 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Comet tahlili, hematolojik ve biyokimyasal analizler için kan örnekleri alındı (MDA: malondialdehit, CAT: katalaz). Daha sonra hayvanlar dekapite edildi. Kan tüpleri santrifüj edildi ve serum örnekleri porsiyonlandı ve sonraki analizler için -80° C de saklandı.

Kimyasallar

Tüm kimyasallar Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO) ve Merck Chemical Inc.'den (Darmstadt, Almanya) elde edildi. Tüm reaktifler, kullanım gününde taze olarak hazırlandı. Reaktifler, deney başlamadan yarım saat önce oda sıcaklığında dengelendi. C vitamini 1000 mg Askorbik Asitten hazırlanmıştır (Bayer Turck Kimya, İstanbul, Türkiye). C vitamini salin içinde 250 mg/kg doz/gün olarak salin içinde hazırlandı ve oral yoldan verildi.

Biokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizler için kan örnekleri alındı. Lipid peroksidasyon ürünlerinin bir ürünü olan malondialdehitin (MDA) ölçümü için Draper ve Hadley'nin çift ısıtma yöntemi kullanıldı. Tiobarbitürik asit ilavesi ile elde edilen örneklerin renk absorbanları spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japonya) kullanılarak 532 nm'de ölçüldü. Sonuçlar kanda $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein olarak ifade edildi. CAT enzim aktivitesi, Aebi yöntemiyle ölçüldü ve sonuçlar $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein olarak ölçüldü [21].

Comet Assay Yöntemi İle DNA Hasarının Belirlenmesi

Comet assay yöntemi, alkali pH'ta farklı elektriksel yüklere sahip DNA moleküllerinin veya parçacıklarının göçüne dayanır. Göç seviyesi, DNA'daki hasarın seviyesini gösterir. DNA hasarı, comet assay yöntemi (tek hücreli jel elektroforezi) kullanılarak araştırıldı. Kısaca, 20 μl tam kan numunesi ve 150 μl düşük erime noktalı agaroz (LMA) 37°C'de karıştırıldı. Hazırlanan karışımdan 140 μl , önceden %1 normal eriyen agaroz (NMA) ile kaplanmış lamalara yerleştirildi ve lamalar 4°C'de 5 dakika saklandı. Daha sonra, slaytlar en az bir saat boyunca parçalandı (lizis solüsyonu: pH10; 4°C).

Slaytlar, yeni hazırlanmış soğuk alkalın elektroforez tamponu (1 mmol/L EDTA ve 300 mM NaOH, pH>13) ile doldurulmuş elektroforez ünitesine, DNA'nın gevşemesine izin vermek için 30 dakikalık bir inkübasyon için 4°C'de yerleştirildi. Daha sonra slaytlar 25 V, 300 mA'da 25 dakika süreyle elektroforezlendi. Elektroforezden sonra, slaytlar 5 dakika süreyle nötralize edildi (0.4 M Tris, pH 7.4). Slaytlar kodlandı ve etidyum bromür ile boyanmış rastgele seçilmiş 100 hücrenin görüntüleri, bir floresan mikroskopu Olympus BX-50 (Olympus, Japonya) altında ayrı ayrı analiz edildi. Hücre hasarının her görüntüsü, hasarsızdan (DNA göç etmemiş) ciddi hasarlıya (DNA göç etmiş) kadar beş kategoriye (0,1,2,3,4) sınıflandırılmıştır. Tüm işlem adımları karanlıkta gerçekleştirildi [22, 23].

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz, SPSS programı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Verilerin homojen dağılımı Shapiro-Wilk ve Kruskal Wallis testleri ile kontrol edildi. Normal dağılımla karakterize edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Parametrik olmayan veriler için Kruskal Wallis ve Mann Whitney-U testleri kullanıldı. Parametrik veriler için tek yönlü ANOVA ve post-hoc Bonferroni testleri kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. Bulgular

Hematolojik Analiz Sonuçları

EMR grubunda WBC, Nötrofil, Lenfosit, Monosit, Eozinofil ve Bazofil sayıları kontrol grubuna göre anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$). EMR+Vit C grubunda bu parametreler EMR grubuna göre anlamsız bulundu ($p > 0,05$). RBC, Hb, Htc, MCV, RDW-SD ve RDW-CV seviyeleri tüm gruplarda anlamlı değildi ($p > 0,05$). EMR grubunda PLT, MPV, PDW ve PCT seviyeleri kontrol grubuna göre anlamsız bulundu ($p > 0,05$). Ancak P-LCR sayıları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0,022$). EMR+Vit C grubunda bu parametreler EMR grubuna göre anlamlı değildi ($p > 0,05$) (Tablo 1, 2, 3).

Tablo 1: Beyaz Kan Hücresi parametrelerinin istatistiksel analiz sonuçları. Değerler ortalama \pm SE olarak ifade edildi. Gruplar ve sonuçlar arasındaki ilişkiler Bonferroni tek yönlü ANOVA ile değerlendirildi. Tüm gruplar arasındaki fark anlamlı değildi ($p > 0,05$). WBC: Beyaz Kan Hücresi.

Gruplar	WBC	Lenfosit	Nötrofil	Monosit	Eozinofil	Bazofil
Kontrol	4,83 \pm 0,98	3,40 \pm 0,63	0,98 \pm 0,30	0,37 \pm 0,18	0,04 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01
EMR	4,53 \pm 2,87	3,01 \pm 1,53	0,98 \pm 1,06	0,37 \pm 0,47	0,06 \pm 0,04	0,10 \pm 0,18
EMR+Vit C	4,43 \pm 2,35	3,17 \pm 1,54	0,67 \pm 0,80	0,23 \pm 0,30	0,05 \pm 0,06	0,27 \pm 0,27

Tablo 2: Eritrosit parametrelerinin istatistiksel analiz sonuçları. Değerler ortalama \pm SE olarak ifade edildi. Gruplar ve sonuçlar arasındaki ilişkiler Bonferroni tek yönlü ANOVA ile değerlendirildi. - Tüm gruplar arasındaki fark anlamlı değildi ($p > 0.05$). RBC: Kırmızı Kan Hücresi, HGB: Hemoglobün, Htc: Hematokrit, MCV: Ortalama Eritrosit Hacmi, RDW-SD: Kırmızı Hücre Dağılım Genişliği-SD, RDW-CV: Kırmızı Hücre Dağılım Genişliği-CD

Gruplar	RBC	HGB	Htc	MCV	RDW-SD	RDW-CV
Kontrol	20,1 \pm 3,70	70,9 \pm 5,98	41,0 \pm 33,3	56,1 \pm 1,57	26,8 \pm 1,19	12,6 \pm 0,72
EMR	20,6 \pm 10,1	49,2 \pm 25,1	40,8 \pm 4,89	55,8 \pm 0,97	27,4 \pm 1,67	12,9 \pm 0,77
EMR+Vit C	13,8 \pm 8,64	41,0 \pm 33,3	38,6 \pm 2,20	55,4 \pm 1,35	26,8 \pm 0,77	12,5 \pm 0,28

Tablo 3: Trombosit parametrelerinin istatistiksel analiz sonuçları. Değerler ortalama \pm SE olarak ifade edildi. Gruplar ve sonuçlar arasındaki ilişkiler Bonferroni tek yönlü ANOVA ile değerlendirildi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ^a $p < 0.05$. PLT: Trombosit, MPV: Ortalama Trombosit Hacmi, PCT: Trombosit Kirit, PDW: Trombosit Dağılım Genişliği, P-LCR: Trombosit Büyük Hücre Oranı

Gruplar	PLT	MPV	PCT	PDW	P-LCR
Kontrol	859 \pm 226	5,38 \pm 0,20	0,46 \pm 0,12	14,4 \pm 0,13	3,45 \pm 0,90
EMR	780 \pm 420	5,62 \pm 0,55	0,43 \pm 0,23	15,2 \pm 1,08	6,44 \pm 2,70 ^a
EMR+Vit C	1045 \pm 128	5,27 \pm 0,18	0,55 \pm 0,07	15,1 \pm 1,07	3,25 \pm 0,21 ^b

Biokimyasal Analiz Sonuçları

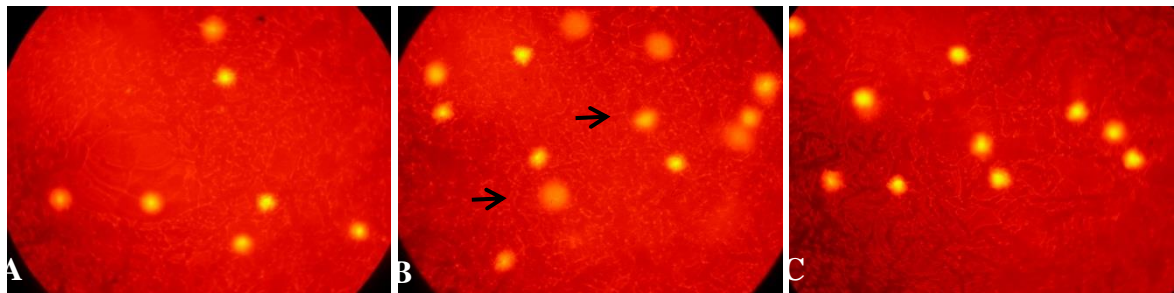
Tüm deney gruplarının oksidatif stres göstergelerinin MDA seviyeleri Tablo 4'te sunulmuştur. İstatistiksel analiz, gruplar arasında anlamlı bir fark göstermedi ($p > 0,05$). katalaz enzim aktivitesi tüm gruplar arasında anlamlı olarak farklıydı ($p < 0,05$). EMR grubunda katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre azaldı ($p < 0,01$). Vit C tedavisi, EMR grubuna kıyasla CAT aktivitesini iyileştirdi ($p < 0,01$).

DNA Hasarı Skoru

Comet skoru, kontrol grubuna kıyasla EMR grubunda anlamlı olarak arttı ($p = 0,001$) ve Vit C tedavisi, EMR+Vit C grubunda EMR grubuna kıyasla bu skoru önemli ölçüde iyileştirdi ($p = 0,0001$) (Tablo 4). Tüm grupların comet assay yöntemi sonuçları Şekil 2'de sunulmuştur.

Tablo 4: Kan dokusunda MDA seviyeleri ve DNA hasar skoru. Değerler ortalama \pm SD olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırma Bonferroni tek yönlü ANOVA ile değerlendirildi. a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$, b: EMR grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$. NS: Önemli değil. MDA: malondialdehit

Gruplar	MDA ($\mu\text{mol/mg}$ protein)		Comet skoru (Arbitrary Unit)	
	Ortalama \pm SD	p değeri	Ortalama \pm SD	p değeri
Kontrol	0,054 \pm 0,007	NS	62,16 \pm 12,01	NS
EMR	0,055 \pm 0,009	NS	206,08 \pm 41,44 ^a	$p < 0.001$
EMR+Vit C	0,055 \pm 0,0004	NS	122 \pm 17,63 ^b	$p < 0.001$



Şekil 2: Gruplar arasında Comet analizi bulguları. (A) Kontrol grubunda DNA göçü (2 ve 3°) olmadı, (B) EMR grubunda 2 ve 3° DNA göçü oldu, (C) C vitamini ile tedavi edilen grupta DNA göçü kontrol grubuna benzerdi.

4. Tartışma ve Sonuç

Mevcut çalışma, 2.45 GHz EMR'ye maruz kalmanın lenfosit DNA hasarına yol açtığını göstermektedir. Çalışmanın ana bulgusu, EMR'ye maruz kalan çalışma grubunda comet puanının artmasıydı. Ek olarak, Vit C ile tedavi edilen grupta lenfosit DNA hasarı azaldı. Mustafa et al. 800-900 MHz EMR'nin kandaki lipid peroksidasyonunu arttırdığını, antioksidan enzimlerin düzeylerini azalttığını ve oksidatif stresi indüklediğini gösterdiler. Araştırmacılar 800-900 MHz EMR'nin MDA düzeylerini arttırdığını ve SOD ve GSH-Px aktivitesini azalttığını buldular [24]. 2.45 GHz EMR ile sıçanlarda indüklenen oksidatif stresi ve selenyum ve L-karnitinin kan üzerindeki koruyucu etkilerini araştırdılar. EMR'nin kanda MDA düzeyinde artışa ve GSH ve GSH-Px'de azalmaya neden olduğu öne sürülmüştür [25]. Araştırmacılar, lenfoid organlarda, lökositlerde ve plazmada 900 MHz EMR'nin neden olduğu oksidatif stresi değerlendirdi. Lenfoid organlarda oksidatif hasar analizi, lökositler ve oksidatif hasarın plazma analizleri, EMR maruziyeti ile lipid peroksidasyon seviyelerinin, nitrik oksit seviyelerinin ve miyeloperoksidaz aktivitesinin arttığını göstermiştir [26]. Mevcut çalışmada, 2.45 GHz'e maruz kalmanın neden olduğu sıçanların kanındaki MDA seviyelerinde anlamsız bir artış gözlemlendi. Çalışma bulgularımız diğer bilimsel kaynaklardaki bulgularla benzerlik göstermemektedir.

Kan dokusunun hemodinamiğinin sabit ve değişken olduğunu düşünüyoruz. Ayrıca zamana ve doza bağlı oksidatif hasarın faktörlerinden biri olabilir. Hücrelerdeki biyolojik sistemler, lipid peroksidasyonunun zararlarına karşı çeşitli savunma mekanizmalarına sahiptir. Bu nedenle C ve E vitaminleri en sık çalışılan antioksidanlardır [25]. Devrim ve ark., 900 MHz elektromanyetik radyasyona maruz kalmanın eritrositler, kalp, böbrek, karaciğer ve yumurtalık dokularında oksidatif strese neden olduğunu göstermiştir [11]. Ayrıca, C vitamininin EMR maruziyetine karşı potansiyel koruyucu rolünü araştırdılar. Araştırmacılar dişi sıçanlara 4 hafta boyunca günde 40 dakika 900 MHz EMR uyguladılar. Deney sonunda, EMR grubunun kan dokusunda MDA, XO, GSH-Px düzeylerinde C vitamini tedavisi sonrası kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış, MDA düzeylerinde ise düşüş saptandı ancak anlamlı bir fark saptanmadı [11]. Bu çalışmada 2.45 GHz EMR ile sıçanlarda oksidatif strese karşı C vitamini kullanıldı. MDA seviyeleri, EMR grubuna kıyasla C vitamini ile tedavi edilen grupta anlamsız derecede azaldı.

Bununla birlikte, EMR grubunda katalaz aktivitesi anlamlı ölçüde azaldı. C vitamini tedavisi, EMR ile tedavi edilen gruba kıyasla katalaz aktivitesini iyileştirdi. Bu sonuç, C vitamininin EMR'nin neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu özelliklere sahip olabileceğini düşündürmektedir. Ivancsits ve ark. (2003), aralıklı elektromanyetik alanlarına maruz kalan kültürlenmiş insan diploid fibroblastlarını araştırdı [27]. DNA hasarı, alkali ve nötr comet assay yöntemi ile belirlendi. Araştırmacılar, ELF-EMR maruziyetinin (50 Hz, sinüzoidal, 1-24 saat, 20-1.000 IT, 5 dakika açık/10 dakika kapalı) doza bağlı ve zamana bağlı DNA tek zincirli ve çift zincirli kopmalara neden olduğunu öne sürdüler [27]. Waldmann ve ark., RF EMF'nin (GSM, 1,800 MHz) insan lenfositleri üzerindeki potansiyel bir genotoksik etkisini araştırdı. Araştırmacılar dört genotoksik test kullandılar: kromozom sapma testi, mikronükleus testi, kardeş kromatid değişim testi ve alkali comet assay testi. Sonuçlar, RF EMF'nin neden olduğu genotoksik etkiye dair hiçbir kanıt göstermedi [28]. Halazonetis ve ark., erkek sıçanlarda 35 gün boyunca 2 saat/gün 2.45 GHz ve 16.5 MHz uygulamış ve her iki frekansta da beyin dokusunda DNA zincir kırılması belirlenmiştir [29]. Başka bir çalışmada, araştırmacılar 4, 16 ve 24 saat boyunca 1.8 GHz sürekli dalga ve farklı tipteki GSM sinyallerini uygulamışlardır. Uygulama sürecinde 5 dakika açık / 10 dakika kapalı modu kullanıldı.

1.8 GHz GSM sinyallerinin DNA bütünlüğünü bozduğunu öne sürmüşlerdir [30]. Cho et al. (2014), insan lenfositlerinde ELF-EMF ışınlamasının ardından gadolinyumun artan sitotoksik ve genotoksik etkilerini araştırdı. Uygulama sonunda izole edilmiş insan lenfosit hücre kültürleri üzerinde mikronükleus testi, comet assay testi ve apoptoz analizi yapılmıştır. Sonuç olarak mikronükleus frekansı, tek zincirli DNA kırığı, apoptotik hücre ölümü ve ROS üretiminin arttığı saptanmıştır [31]. Yokuş ve ark., dişi sıçanlara 50 gün süreyle 3 saat/gün ve 100 gün süreyle 3 saat/gün 0.97 mT ELF-EMF uygulamış ve comet assay analizi ELF-EMF'nin DNA hasarına neden olduğunu göstermiştir [10]. Başka bir çalışmada, altı farklı hücre kültürüne günde 1 saat 1.8 GHz elektromanyetik radyasyon uygulanmıştır. Araştırmacılar onkogen analizi, immünohistokimya, DNA kırıklarını ölçmek için comet assay analizi ve DNA fragmantasyonu için tünel testi gerçekleştirdiler. İki hücre tipinde DNA kırıkları buldular. Sonuç olarak, EMR'nin belirli hücre tiplerinde DNA hasarını indükleyebileceğini öne sürdüler [32].

Aziz ve ark., elektromanyetik alanın (900 MHz, 2 hafta boyunca 2 saat/gün) albino sıçanlarda vücut ağırlığı ve kan indeksleri üzerindeki etkisini ve Vitamin C veya E'nin terapötik etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre, lökosit sayısı ve yüzdesi EMF grubunda ve EMF+Vit C grubunda lenfosit sayısı arttı. RBC sayısı EMF + Vit E grubunda azalırken, EMF + Vit C grubunda arttı. Ayrıca EMF + Vit E grubunda Hb, Htc, MCV ve MHC seviyeleri kontrol grubuna göre azalmış, ancak Ortalama Korpusküler Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC) artmıştır. EMF grubunda trombosit sayısı arttı ve Vit C veya E tedavisi ile azaldı [33]. Başka bir çalışmada, araştırmacılar, sıçanların tek başına elektromanyetik alana maruz kalmasının WBC'lerde, MCHC'de ve trombosit sayısında genel bir artış gösterdiğini belirlediler. Ayrıca, kontrol grubuna kıyasla RBC, HB, HT, MCV ve MCH değerlerinde önemli bir azalma bildirilmiştir [34]. Çalışmamızda dişi sıçanlar 30 gün boyunca 1 saat/gün 2.45 GHz EMR'ye maruz bırakıldı. EMR maruziyetinin hematolojik parametreler, DNA hasarı ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkileri araştırıldı.

Ayrıca EMR maruziyetinin etkilerine karşı C vitamininin koruyucu rolü araştırılmıştır. WBC, Lenfosit, Nötrofil, Monosit, Eozinofil ve Bazofil sayılarının tüm gruplar arasında farklı olmadığını önerdik. RBC, HBG, Htc, MCV, RDW-SD ve RDW-CV sayıları tüm gruplar arasında farklılık göstermedi. Ayrıca PLT, MPV, PCT ve PDW seviyeleri tüm gruplar arasında farklı değildi. Ancak EMR grubunda kontrol grubuna göre P-LCR artmıştı. P-LCR düzeyi Vit C tedavisi ile düşürüldü. Özetle, sonuçlarımız dişi sıçanlarda Lenfosit DNA hasarının ve serum aktivitelerinin (P-LCR) elektromanyetik alana maruz kalmasından kaynaklandığını göstermiştir. Bununla birlikte, bu değişiklikler, elektromanyetik alan maruziyetine karşı Vitamin C tedavisi ile iyileşme belirtileri gösterdi.

EMR maruziyetinin Beyaz Kan Hücre, Kırmızı Kan Hücre, Trombosit parametreleri, oksidan/antioksidan parametreleri ve DNA hasarı üzerindeki biyolojik etkilerini araştırmak için gelecekteki araştırmalara ihtiyaç vardır. Ek olarak, Vit C'nin terapötik rolü gelecekteki çalışmalarda araştırılmalı ve 2.45 GHz EMR maruziyeti, P-LCR ve DNA kırılması arasındaki korelasyonun detayları daha fazla incelenmelidir.

Teşekkür

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Koordinasyon Birimi tarafından ÖYP05707-YL-13 Proje numarası ile desteklenmiştir.

Etik Beyanı

Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul tarafından 02.07.2015 tarih ve 04 sayılı etik kurul kararıdır.

Kaynakça

[1] Koyu, A., Naziroglu, M., Ozguner, F., Yilmaz, H. R., Uz, E., Cesur, G. 2005. Caffeic acid phenethyl ester modulates 1800 MHz microwave-induced oxidative stress in rat liver. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 24: 1351-142.

[2] Maoquan, L. I., Yanyan, W., Yanwen, Z., Zhou, Z., Zhengping, Y. U. 2008. Elevation of plasma corticosterone levels and hippocampal glucocorticoid receptor translocation in rats: a potential mechanism for cognition impairment following chronic low-power-density microwave exposure. *Journal of Radiation Research*, 49: 163-170.

[3] Saygin, M., Asci, H., Ozmen, O., Cankara, F. N., Dincoglu, D., Ilhan, I. 2015. Impact of 2.45 GHz microwave radiation on the testicular inflammatory pathway biomarkers in young rats: the role of gallic acid. *Environmental Toxicology*, 31: 1771-1784.

[4] Crouzier, D., Testylier, G., Perrin, A., Debouzy, J. C. 2007. Which neurophysiologic effects at low level 2.45 GHz RF exposure? *Pathologie-biologie*, 55: 235-41.

- [5] Shahin, S., Singh, V. P., Shukla, R. K., Dhawan, A., Gangwar, R. K., Singh, S. P., Chaturvedi, C. M. 2013. 2.45 GHz microwave irradiation-induced oxidative stress affects implantation or pregnancy in Mice, *Mus musculus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169: 1727–1751.
- [6] Hossmann, K. A., Hermann, D. M. 2003. Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system. *Bioelectromagnetics*, 24: 49–62.
- [7] Khaki, A. A., Khaki, A., Ahmadi, S. S. 2016. The effect of non-ionizing electromagnetic field with a frequency of 50 Hz in rat ovary: a transmission electron microscopy study. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, 14: 125–132.
- [8] Asghari, A., Khaki, A. A., Rajabzadeh, A., Khaki, A. 2016. A review on electromagnetic fields (EMFs) and the reproductive system. *Electronic Physician*, 8: 2655–2662.
- [9] Shokri, S., Soltani, A., Kazemi, M., Sardari, M., Mofrad, F. B. 2015. Effects of Wi-Fi (2.45 GHz) exposure on apoptosis, sperm parameters and testicular histomorphometry in rats: a time course study. *Cell Journal*, 17: 322–331.
- [10] Yokus, B., Cakir, D. U., Akdag, M. Z., Sert, C., Mete, N. 2005. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electro magnetic fields. *Free Radical Research*, 39: 317-323.
- [11] Devrim, E., Erguder, İ. B., Kilicoglu, B., Yaykaslı, E., Cetin, R., Durak, I. 2008. Effects of electromagnetic radiation use on oxidant/antioxidant status and DNA turn-over enzyme activities in erythrocytes and heart, kidney, liver, and ovary tissues from rats: possible protective role of vitamin C. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 18: 679–683.
- [12] Shah, A. M., Channon, K. M. 2004. Free radicals and redox signalling in cardiovascular disease. *Heart*, 90: 486–487.
- [13] Saygin, M., Caliskan, S., Karahan, N., Koyu, A., Gumral, N., Uguz, A. C. 2001. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicology and Industrial Health*, 27: 455–463.
- [14] Carroll, R. C., Zukin, R. S. 2002. NMDA-receptor trafficking and targetting: Implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends in Neuroscience*, 25: 571-577.
- [15] Phillips, J. L., Singh, N. P., Lai, H. 2009. Electromagnetic fields and DNA damage. *Pathophysiology*, 16: 79-88.
- [16] Oral, B., Guney, M., Ozguner, F., Karahan, N., Mungan, T., Comlekci, S., Cesur, G. 2006. Endometrial apoptosis induced by a 900-MHz mobile phone: preventive effects of vitamins E and C. *Advances in Therapy*, 23: 957–973.
- [17] Carr, A. C., Frei, B. 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69: 1086–1107.
- [18] Du, J., Cullen, J. J., Buettner, G. R. 2012. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta- Reviews on Cancer*, 1826: 443–457.
- [19] Covarrubias-Pinto, A., Acuña, A. I., Beltrán, F. A., Díaz, L. T., Castro, M. A. 2015. Old things new view: ascorbic acid protects the brain in neurodegenerative disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 28194–28217.
- [20] Faraone, A., Luengas, W., Chebrolu, S., Ballen, M., Bit-Babik, G., Gessner, A. V., Kanda, M. Y., Babij, T., Swicord, M. L., Chou, C. K. 2006. Radiofrequency dosimetry for the Ferris-wheel mouse exposure system. *Radiation Research*, 165: 105–112.
- [21] Aebi, H. 1984. Catalase in Vitro. *Methods Enzymology*, 105, 121-126.
- [22] Collins, A. R. 2014. Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. *Biochimica et Biophysica Acta- Reviews on Cancer*, 1840: 794–800.
- [23] Bausinger, J., Speit, G. 2016. The impact of lymphocyte isolation on induced DNA damage in human blood samples measured by the comet assay. *Mutagenesis*, 31: 567–572.
- [24] Moustafa, Y. M., Moustafa, R. M., Belacy, A., Abou-El-Ela, S. H., Ali, F. M. 2001. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidase activities in human erythrocytes. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 26: 605-608.

- [25] Gumral, N., Naziroglu, M., Koyu, A., Ongel, K., Celik, O., Saygin, M., Flores-Arce, M. F. 2009. Effects of selenium and L-carnitine on oxidative stress in blood of rat induced by 2.45-GHz radiation from wireless devices. *Biological trace element research*, 132: 153-163.
- [26] Aydin, B., Akar, A. 2011. Effects of a 900-MHz electromagnetic field on oxidative stress parameters in rat lymphoid organs, polymorphonuclear leukocytes and plasma. *Archives of medical research*, 42.4:261-267.
- [27] Ivancsits, S., Diem, E., Jahn, O., Rüdiger, H. W. 2003. Intermittent extremely low frequency electromagnetic fields cause DNA damage in a dose-dependent way. *International archives of occupational and environmental health*, 76: 431-436.
- [28] Waldmann, P., Bohnenberger, S., Greinert, R., Hermann-Then, B., Heselich, A., Klug, S. J., Blettner, M. 2013. Influence of GSM signals on human peripheral lymphocytes: study of genotoxicity. *Radiation research*, 179: 243-253.
- [29] Halazonetis, T. D., Gorgoulis, V. G., Bartek, J. 2008. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science*, 319: 1352-1355.
- [30] Franzellitti, S., Valbonesi, P., Ciancaglini, N., Biondi, C., Contin, A., Bersani, F., Fabbri, E. 2010. Transient DNA damage induced by high-frequency electromagnetic fields (GSM 1.8 GHz) in the human trophoblast HTR-8/SVneo cell line evaluated with the alkaline comet assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 683: 35-42.
- [31] Cho, S., Lee, Y., Lee, S., Choi, Y. J., Chung, H. W. 2014. Enhanced cytotoxic and genotoxic effects of gadolinium following ELF-EMF irradiation in human lymphocytes. *Drug and chemical toxicology*, 37: 440-447.
- [32] Xu, S., Chen, G., Chen, C., Sun, C., Zhang, D., Murbach, M., Xu, Z. 2013. Cell type-dependent induction of DNA damage by 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields does not result in significant cellular dysfunctions. *PLoS One*, 8: 54906.
- [33] Aziz, I. A., El-Khozondar, H. J., Shabat, M., Elwasife, M., Mohamed-Osman, A. 2010. Effect of electromagnetic field on body weight and blood indices in albino rats and the therapeutic action of vitamin C or E. *Romanian Journal of Biophysics*, 20: 235-244.
- [34] Repacholi, M. H., Basten, A., GebSKI, V., Noonan, D., Finnie, J., Harris, A. W. 1997. Lymphomas in E μ -Pim1 transgenic mice exposed to pulsed 900 MHz electromagnetic fields, *Radiation Research*, 147: 631-640.