T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

NÖRON HÜCRE KÜLTÜRÜNDE GAMA IŞINI, LAZER, X IŞINI, VE GÖRÜNÜR IŞIK IŞINLARININ HÜCRELER ÜZERİNDEKİ CANLILIK ORANLARINA, TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERE, KALSİYUM, POTASYUM VE SODYUM ELEMENTLERİNİN KONSANTRASYONUNA ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Dr. Abdullah ÇOLAK

Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Mürteza ÇAKIR

Uzmanlık Tezi
ERZURUM- 2013

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalında yürütülmek üzere ‘Nöron hücre kültüründe Gama ışını, LAZER, X ışını ve görünür ışık ışınlarının hücreler üzerindeki canlılık oranlarına, total oksidan ve antioksidan parametrelere, Kalsiyum, Potasyum ve Sodyum Elementlerinin Konsantrasyonuna etkilerinin incelenmesi’ adlı uzmanlık tez konusu Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 12.7.2013 tarih ve "68" numaralı kararı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı’nın 11.04.2013 tarih ve "07" numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

İÇİNDEKİLER

ONAY ..... **I**
İÇİNDEKİLER ..... **II**
TEŞEKKÜR ..... **III**
ÖZET ..... **IV**
ABSTRACT ..... **V**
KISALTMA ve SİMGELER ..... **VI**
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **VII**
TABLOLAR LİSTESİ ..... **VIII**
ÖZGEÇMİŞ ..... **IX**
1. GİRİŞ ve AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Santral Sinir Sistemi **3**
2.2. Korteksin Fonksiyonel Sahaları **5**
2.3. Nöron Fizyolojisi **8**
2.4. Hücre Ölümü Mekanizmaları Apopitoz ve Nekroz **12**
2.5. Hücre Hasarı Nedenleri **14**
2.6. Hücre Ölümünde Serbest Radikallerin Rolü **16**
2.7. WDXRF Spektrometresi **18**
3. MATERYAL ve METOD **21**
3.1. Nöron Kültürü Hazırlama **21**
3.2. MTT Analizi **22**
3.3. Numunelerin Işına Maruz Bırakılması **22**
4. BULGULAR **26**
5. TARTIŞMA **33**
SONUÇ **42**
6. KAYNAKLAR **44**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana tüm konularda bilgi ve birikimlerini aktararak yol gösteren anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Hakan Hadi KADIOĞLU hocama ve Nöroşirurji eğitimi boyunca bana büyük katkı sağlayan özellikle tez konumun hazırlanmasında, araştırma ve deney aşamasında her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen anabilim dalı öğretim üyemiz, tez danışmanım Yard. Doç. Dr. Mürteza ÇAKIR hocama ve bana katkı sağlamış tüm hocalarıma en samimi duygularımla yardım ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmalarımda bana her türlü kolaylığı gösteren ve yardımı yapan Prof. Dr. Ahmet HACIMÜFTÜOĞLU hocama, aynı şekilde çalışmalarıma her türlü yardım ve katkıyı sağlayan ablam Prof. Dr. Sabriye SEVEN'e, LAZER'le yapılan deneylerde yapmış olduğu yardım ve desteklerden dolayı Doç. Dr. Sadullah KAYA hocama, radyasyon doz ölçümleri esnasında yapmış olduğu yardımlardan ötürü Yard. Doç. Dr. Erdem SAĞSÖZ hocama, ve yine yapmış olduğu yardımlardan dolayı Doç. Dr. Hasan Türkez hocama, element analizi ölçümleri sırasında bana yardım ve desteklerini sağlayan Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Yusuf Şahin' e ve laboratuvar çalışanlarına, uzmanlık eğitimi süresince beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, klinik hemşirelerine ve personellerine teşekkür ederim. Yapmış olduğu eşsiz fedakârlıklar, yardım ve desteği nedeniyle bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi anneme, ayrıca tez yazımında ve deney çalışmalarında bana her türlü desteği sağlayan proje ekibime vermiş oldukları yardım ve desteklerden dolayı teşekkürü borç bilirim.

Erzurum 2013 Dr. Abdullah ÇOLAK

ÖZET

NÖRON HÜCRE KÜLTÜRÜNDE GAMA IŞINI, LAZER, X IŞINI VE GÖRÜNÜR IŞIK IŞINLARININ HÜCRELER ÜZERİNDEKİ CANLILIK ORANLARINA, TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERE, KALSİYUM, POTASYUM VE SODYUM ELEMENTLERİNİN KONSANTRASYONUNA ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Bu çalışmada radyoaktif kaynaklardan elde edilen ışınlar (Gama Işını, X ışını), LAZER ve görünür ışığın nöron hücre kültürlerinde etkileri araştırıldı. Bu amaçla nöron hücreleri üzerinde bu ışınların nörotoksik veya koruyucu etkileri tespit edilmeye çalışıldı. Hücreler nöron kültürü protokollerine göre çoğaltıldı ve sonrasında radyoaktif kaynaklardan elde edilen ışınlara, LAZER'e ve görünür ışığa belirli dozlarda ve belirli sürelerde maruz bırakıldı.

Işınların, bu ışınlara maruz bırakılan nöron hücre kültürlerinde MTT yöntemiyle canlılık üzerine, total oksidan kapasitesine, total antioksidan kapasitesine, kalsiyum, potasyum ve sodyum elementlerinin konsantrasyonuna olan etkileri değerlendirildi.

Bu değerlendirmeler sonucunda radyasyonun düşük dozlarda canlı nöronlar üzerinde apopitozisi indükleyerek etki yapabildiği, görünür ışığın ise yüksek şiddette ve dalga boyunda maruz bırakılan ışının süresine de bağlı olarak canlı nöronlar üzerine yüksek oranda apopitozisi indükleyerek etkileyebildiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Nöron, radyasyon ve görünür ışık, oksidan ve antioksidan kapasite, kalsiyum-potasyum-sodyum konsantrasyonu

ABSTRACT

EFFECTS of GAMMA RAY, X RAY, LAZER and VİSİBLE LİGHT on VİABİLİTY, TOTAL OXİDANT-ANTİOXİDANT CAPACİTY, Na, K and Ca CONCENTRATİONS İN NEURONAL CELL CULTURE

In this study, the effects of Gamma ray, x ray, LAZER and visible light on neuronal cell culture were investigated. Hence the neurotoxic or protective effects of this rays were studied to determine on neurons. The cells were amplified by neuron culture protocols then were exposed to radyoactive beams, LAZER and visible light for specific doses and times. The effects of beams on neuronal cell cultures viability by MTT assay that exposed to the beams, total oxidant-antioxidant capacity, Ca, K, Na concentrations were evaluated. As a result of this evaluations, it was determined that radiation can affected on live neurons with including the induction of apoptosis at lower doses, visible light can highly affected on live neurons that exposed to high intensity and wavelength of the light with including the induction of apoptosis.

Key Words: Neuron, radiation and visible light, oxidant and antioxidant capacity, Ca, Na and K concentrations

KISALTMA ve SİMGELER

AMPA : Alfa-amino 3-hidroksi-5-metilisokzasole-4-propionik asit

ATP : Adenozin Trifosfat

Ca : Kalsiyum

Kaspaz : Sistein Aspartat Spesifik Proteaz

CCl_4 : Karbontetraklorit

cGy : Santigray

CO : Karbonmonoksit

CO_2 : Karbondioksit

DNA : Deoksiribonükleik asit

Gy : Gray

H_2O_2 : Hidrojen peroksit

HBSS : Hanksin dengeli tuz çözeltisi

K : Potasyum

mEq/L : Miliekivalan/litre

MTT : 3 – (4,5 –dimethylthiazol-2-yl)-2,5-tetrazolium bromid

Na : Sodyum

NMDA : N-metil-D-aspartat

O_2 : Oksijen

OH : Hidroksil

SSS : Santral Sinir Sistemi

UV : Ultraviyole

WDXRF : Dalga boyu dispersiv x ışını spektrometresi

µGy : Mikrogray

γ ışını : Gamma ışını

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Korteksin fonksiyonel sahaları. 7

Şekil 2. Nöron yapısı 9

Şekil 3. Myelin kılıf 10

Şekil 4. Sinaps. 10

Şekil 5. Apoptozis süreci 13

Şekil 6. Dalga boyu dispersiv X ışını Spektrometresi (WDXRF). 20

Şekil 7. Işınlara maruz bırakılan nöron kültürlerinin bulunduğu plate'ler ve her sütunda ikişer adet bulunan radyasyon ölçüm çipleri……23

Şekil 8. Normal ve apoptotik nöronların ışık mikroskobunda görünümü……32

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Nekroz ve Apoptozis arasındaki farklar……14

Tablo 2. Eu^{152}, Am^{241}, Ba^{132} elementlerinden açığa çıkan radyasyona ve görünür ışığa maruz bırakılan nöron hücre kültürlerinde gözlenen hücre canlılık oranları (MTT analizi)…….26

Tablo 3. Uzun süreyle görünür ışığa maruz bırakılan nöron hücre kültürlerinde gözlenen hücre canlılık oranları (MTT analizi)…….27

Tablo 4. LAZER'e maruz bırakılan nöron hücre kültürlerinde gözlenen hücre canlılık oranları (MTT analizi)……27

Tablo 5. Eu^{152} ve Ba^{132} kaynaklarından çıkan radyasyona maruz bırakılan materyallerdeki element analizi sonuçları……28

Tablo 6. Am^{241}'den çıkan radyasyona ve görünür ışığa kısa süreyle maruz bırakılan materyallerdeki element analizi sonuçları…….28

Tablo 7. LAZER'e maruz bırakılan materyallerdeki element analizi sonuçları……29

Tablo 8. Görünür ışığa uzun süreyle maruz bırakılan materyallerdeki element analizi sonuçları.....29

Tablo 9. Am^{241}, Ba^{132}, Eu^{152}'dan çıkan radyasyona ve kısa süreyle görünür ışığa maruz bırakılan materyallerdeki TAS düzeyleri……...30

Tablo 10. Görünür ışığa uzun süreyle ve LAZER'e maruz bırakılan materyallerdeki TAS düzeyleri…….....30

Tablo 11. Am^{241}, Ba^{132}, Eu^{152}'den çıkan radyasyona ve görünür ışığa kısa süreyle maruz bırakılan materyallerdeki TOS değerleri……31

Tablo 12. Uzun süreyle görünür ışığa ve LAZER'e maruz bırakılan materyallerdeki TOS değerleri…….....31

Tablo 13. Europium, Americium ve Barium test kaynaklarından plate'lerdeki hücre kültürlerine uyguladığımız radyasyon dozları……..32

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Erzurum'da doğdum. İlk öğrenimi Erzurum'da tamamladıktan sonra 1993 yılında Anadolu Liseleri sınavını kazanarak 1993-1997 yılları arasında Erzurum Anadolu Lisesi'ne, 1997 yılında Fen Liseleri sınavını kazanarak 1997-2000 yılları arasında Erzurum Fen Lisesi'ne devam ettim. 2000 yılında üniversite sınavını kazanarak Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne kayıt yaptırdım ve 2006 yılında mezun oldum. Aynı yıl zorunlu hizmet atamaları çerçevesinde İstanbul Sultanbeyli Hamidiye Sağlık Ocağı'na atandım ve 2008 yılına kadar burada çalıştım. 2008 yılında TUS sınavını kazanarak Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimine başladım.

1. GİRİŞ

Santral Sinir Sistemi(SSS) gibi karmaşık bir sistem temel olarak iki hücre tipinden oluşur. Bu iki hücre tipini fibriler bir matriks (nöropil) içinde yer alan glial hücreler ve nöronlar oluşturur(1). SSS'nin fonksiyonel ünitesi nöronlardır. Nöronlar genel olarak postmitotik hücreler olduğundan özgün bir göreve sahip küçük bir grup nöronun yitirilmesi bile klinik olarak belirgin nörolojik fonksiyon kaybına neden olabilir. Hipokampus dentat girus sungranüler bölgesi ve subventriküler zonda tanımlanan kök hücre populasyonunun tamir süreçlerinde potansiyel olarak rol alabileceği bildirilmektedir(2, 3).

Nöronlar pekçok yönüyle diğer hücrelere benzemekle birlikte, bilgiyi almak, depolamak ve iletmek gibi son derece kendilerine has fonksiyonları olan hücrelerdir. Her nöronun bir hücre gövdesi (perikaryonu), tek bir aksonu ve çok sayıda dendriti vardır. Hücre gövdesinde nükleusun yanısıra protein sentezi, katabolik aktivite gibi olayların gerçekleştiği çok sayıda organel bulunmaktadır. Dendritik ağaç nöronun alıcılarını oluştururken, akson hedefe sinyal göndermekten sorumludur. Benzer yapıya sahip olmalarına karşın nöronlar görevleri (duysal, motor, otonomik), bağlantılarının dağılımı, sinaptik transmisyon sırasında kullandıkları nörotransmitterler, metabolik gereksinimleri ve elektriksel aktivite seviyeleri açısından belirgin farklılıklar gösterirler(1)

SSS hücrelerinin %90' ını oluşturan glial hücreler, nöroektoderm kökenli makroglia(astrositler, oligodendroglia ve ependimal hücreler) ve mezodermal kökenli mikroglia olmak üzere iki ana grupta incelenir. Glial hücreler nöronlara yapısal ve işlevsel destek sağlayan hücrelerdir (1). Nöronlarda metabolizma ve iyon homeostazisi şu şekilde özetlenebilir. Kalsiyum (Ca), sinyalleri dışarıdan hücre içindeki metabolik ve

genetik bölüme taşıyan ikincil mesajcıdır. Presinaptik uçta kalsiyum sitoplazmaya girerek glutamat salınımını sağlar. Salınan glutamat iki tür glutamat reseptörünü aktive eder; Alfa-amino 3-hidroksi-5-metilisokzasole-4-propionik asit(AMPA) ve N-metil-D-Aspartat(NMDA). Glutamat AMPA reseptörünü aktive ettiğinde kanallar açılarak Na^{+}, K^{+} ve H^{+}' in geçişine izin verilir. Na^{+} içeri girdiğinde elektrokimyasal farklılık nedeniyle hücre membranı depolarize olur. Bu durum Ca^{++} akışını sağlar. Ek olarak magnezyumun (Mg^{++}) ortaya çıkışı NMDA kanalları ile Ca girişine sebep olur. Bu eksitatör olay, presinaptik nöronal yapılar ve glial hücrelerin içine glutamatın yeniden alınması ile sonuçlanır(4).

Hücrede kontrol dışı ve hızlı Ca artışı hücre hasarına neden olur(5). Bu Ca artışı sonucu aktiflenen bazı enzimler özellikle lipazlar membran hasarına sebep olur. Fosfolipaz A2, membrandan araşidonik asit serbestleşmesine neden olur.(6) Araşidonik asidin metabolize olması sonucu prostoglandin ve lökotrienler süperoksit serbest radikallerinin oluşumuna neden olur. Daha sonra mitokondrial hasara ve lipid peroksidasyonu ile membran hasarına yol açarlar(7).

Sonuçta hücre içinde gelişen bu olaylar hücrenin tamir mekanizmasını bastırarak nöron ölümüne yol açarlar. Bütün bu olaylar sonucu gelişen nöron ölümü nekrotik ve apoptotik hücre ölümü olarak ikiye ayrılır. Nekrotik hücre ölümü; hücre dışından kaynaklanan hasarla hızlı hücre şişmesi şeklinde gerçekleşir. Nükleus, endoplazmik retikulum ve mitokondri şişer. Nekrotik hücre ölümünün karakteristik özelliği sitoplazmanın asidofilik olmasıdır(8). Apoptozis ise hücresel intihardır. Kromatin birikimi, hücre membranının içeri çökmesi ve mitokondrilerin şişmesi şeklinde oluşur. Sonra nöronlar birçok apopitotik cisimciğe bölünürler.

Mevcut çalışmada nöronlar üzerinde etkileri incelenen radyasyon; enerjinin uzayda dalgalar ve tanecikler halinde yayılmasıdır. Isı, ışık, radyo dalgaları ve

elektromanyetik dalgaları örnek gösterebiliriz(9). Radyasyon iyonize ve non-iyonize radyasyon olmak üzere ikiye ayrılabilir. İyonize radyasyon; atomlardan ve moleküllerden elektron koparan yüksek enerjili fotonlardan oluşan elektromanyetik dalgalardır. Yüksek frekanslı ve dolayısıyla yüksek enerjili x-ışınları ve gamma ışınları bu radyasyonlara örnektir. Düşük enerjili elektromanyetik dalgalar non-iyonize radyasyon sınıfında yer alır(10, 11). Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar, DNA ve DNA'yı kapsayan canlı hücrede değişiklik yapar. Bu değişikliğin oluşabilmesi için dokunun yüksek enerjili fotonlara yani gamma ve X-ışınlarına tabi tutulması gerekir.(9) Mevcut çalışmada nöron hücre kültürleri bu yüksek enerjili ışınlara (gamma ışınları, X ışınları), LAZER'e ve görünür ışığa tabi tutularak bu ışınların nöronlar üzerinde etkilerinin araştırılması planlandı.

2.GENEL BİLGİLER

1. Santral Sinir Sistemi

İnsan vücudunu oluşturan dokular ve bunları oluşturan hücreler oldukça karmaşık bir yapıya sahiptir. Zigotun bölünmesiyle ve çoğalmasıyla oluşan hücreler, ilerleyen haftalarda bölünmenin ve çoğalmanın yanısıra yapılarında ve fonksiyonlarında görülen değişmeler neticesinde farklılaşırlar, bunun sonucunda dokuları ve sistemleri oluştururlar. İşte sinir sistemi, bunları oluşturan nöronlar ve bu nöronlara destek görevi gören glial hücreler ve dokular, organizmada oldukça farklılaşmış ve özelleşmiş hücre grubuna girer(12)

SSS' de nöronlar yerleşim olarak değişik düzenlemeler gösterirler. Nükleus ve ganglion şeklinde kümelenmeler, omurilikte kolonlar, serebral kortekste tabakalar şeklinde düzen alırlar. Tüm uzantıları ile birlikte bir sinir hücresine nöron denir.(13)Nöronlar uyarılabilmeleri nedeniyle periferden aldıkları uyarıyı beyin ve

omuriliğe, merkezin ürettiği uyarıları perifere ve çevresel organlara iletirler. Şekil ve büyüklük bakımından birçok farklı nöronlar bulunur. Ama hepsinde bir hücre gövdesi ve bu gövdeye bağlanan bir veya birden fazla uzantı bulunur. Bunlar dendrit ve akson olmak üzere iki çeşittir. Kısa olanlara dendrit uzun olanlara akson denir(13). Akson üzeri myelin ve schwan kılıf ile kaplıdır. SSS'deki nöronlarda sadece myelin kılıf bulunur. Beyinde hücre gövdeleri, beyin yüzeyinde korteks ve daha derinde subkortikal çekirdeklerde yerleşmiştir. Beyin yüzey tabakasının altında subkortikal çekirdekler dışında aksonlar yerleşiktir ki bu kısma beyaz cevher, kortekse yani hücre gövdelerinden oluşan kısma ise gri cevher adı verilir.(13)Gri cevher yapısında olan korteks beyin hemisferlerini saran bir kabuk şeklindedir. Bu yapının içinde nöronlar, aksonlar, glial hücreler ve vasküler yapılar bulunur. Nöronlar ise piramidal hücreler, yıldız biçiminde, fuziform şekilli, horizontal şekilli ve martinotti hücreleri olmak üzere beş kısımda incelenirler(13).

Piramidal Hücreler

Hücre gövdelerinin piramide benzemesi sebebiyle bu adı alır. Gövde uzunlukları 10 ile 50 mikrometre arasında değişir. Presantral girusta yerleşirler.

Yıldız Hücreleri

Poligonal şekilli olmalarından dolayı bu ismi alırlar. Birden fazla dendritleri ve bir kısa aksonları vardır.

Fuziform Hücreler

Korteksin derin kısımlarında bulunurlar ve uzun eksenleri beyin yüzeyine dik olarak yerleşir. Aksonu hücre gövdesinin alt kısmından çıkar ve derin kısımlarda beynin beyaz cevherine gider.

Horizontal Hücreler

Korteksin en yüzeyel tabakasında horizontal olarak yerleşen iğ şeklinde hücrelerdir. Bu hücrelerden çıkan dendritler beyin yüzeyine paralel olarak uzanır ve piramidal hücrelerle bağlantı kurar.

Martinotti Hücreleri

Korteksin tüm tabakalarında mevcuttur. Küçük multipolar hücrelerdir. Kısa dendritleri olmasının yanında beyin yüzeyine kadar uzanan ve yan dallar veren aksonları vardır.

2. Korteksin Fonksiyonel Sahaları

Beyinde fonksiyonları ve görevleri birbirinden farklı olan birçok alan vardır. Bununla birlikte beyindeki bu alanlar birbiriyle iletişim halindedir.

Beyinde farklı işlev gören alanlar birbirlerine yardımcı olmakta ve birbirlerinin fonksiyonlarını etkilemektedirler. Özellikle beynin korteks bölümündeki fonksiyonel sahaları belirlemek amacıyla beyin ameliyatları esnasında beynin bazı bölgelerinin çıkarılmış, korteksin bazı bölümleri uyarılmış ve çeşitli hayvan deneyleri yapılmıştır. Bu alanda **Brodmann**, Nissl boyama tekniği ile yaptığı çalışmada beyin korteksini 52 sahaya ayırmıştır. **Vogts**, myelinli lifler arasındaki farklara göre yaptığı çalışma sonucunda 200 farklı saha ortaya koymuştur. **Von Economo**, 5 temel yapı tipi içeren bölgelerden oluşan korteks haritasını çıkarmıştır(13).

Lobus Frontalis

4 nolu saha:

Primer motor alan olup Gyrus precentralis'de bulunur. Gyrus precentralis'de alt kısımdan yukarı doğru baş bölgesi, üst ekstremite, gövde ve alt ekstremite şeklinde motor görev icra eden fonksiyonel bir sıralama mevcuttur. Buna motor homonculus denir.

6 nolu saha:

Premotor alan olarak görev yapar ve 4 nolu alanın önünde yer alır. İstemli motor hareketlerin planlanmasında fonksiyonu olduğu düşünülmektedir.

8 nolu saha:

Frontal göz sahasıdır. İstemli göz hareketlerini düzenler.

44 ve 45 nolu sahalar:

Broca alanı olarak bilinir. Motor konuşma merkezidir. Girus frontalis inferiorda bulunur. Canlıların çoğunda bu merkez sol tarafta dominanttır. Dominant merkezin harabiyetinde konuşma fonkisyonu olmaz.

9, 10, 11 ve 12 nolu sahalar:

Karar verebilme, kişilik, mantıklı düşünebilme ve entelektüel davranışların düzenlendiği kortikal sahadır.

Lobus parietalis

3, 1 ve 2 nolu sahalar:

Postsantral girusta bulunur. Primer duyu merkezidir. Alt kısımdan üste doğru baş, üst ekstremite, gövde ve alt ekstremite şeklinde bir duyu sıralaması vardır ve buna duyu homonkulusu denir.

40 nolu saha:

Sekonder duyu merkezidir. Sulcus sentralisten başlar ve arkaya doğru uzanır.

5 ve 7 nolu sahalar:

Duyusal asosiasyon merkezidir. Görevi; aldığı çok çeşitli duyuları değerlendirir, analiz ve entegre eder.

Lobus Temporalis

41 ve 42 nolu sahalar:

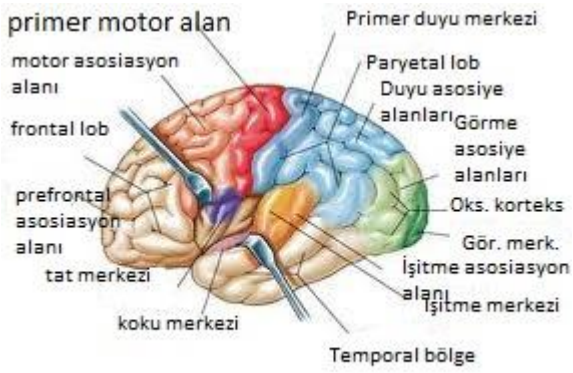
Heschl girusları olarak adlandırılan primer işitme merkezidir. Girus temporalis süperiorda bulunur.

22 nolu saha:

Wernicke alanı olarak adlandırılır. İşitmenin değerlendirildiği asosiasyon alanıdır. Primer işitme merkezinin arkasında bulunur. Wernicke alanı fasciculus arcuatus aracılığı ile Broca konuşma merkezine bağlanır. Wernicke alanı kortikal örme ve işitme merkezinden impuls alır. Esas fonksiyonu; bize okunan ve konuşulanların anlamının kavranabilmesini sağlamasıdır.

39 nolu saha:

Girus angulariste bulunur. Okuma ve okuduğunu anlama fonksiyonunu sağlar. Yazmada da görev alır.



Şekil 1: Korteksin Fonksiyonel Sahaları

Lobus Oksipitalis

17 nolu saha:

Oksipital lobun iç yüzünde bulunur. Sulcus calcarinus'un arka bölümünde bulunur. Primer görme merkezi burada bulunur. Korteksin en ince yeridir.

18 ve 19 nolu sahalar:

Primer görme merkezinin çevresinde bulunur. Sekonder görme alanıdır. Bumerkezin görevi görme duyusunun değerlendirilmesi, daha önce görülen objelerin hafızada tutulmasının sağlanmasıdır(13).

3. Nöron Fizyolojisi

Çok hücreli organizmalarda hücreler kendi aralarında farklılaşarak görev bölümü oluşturmuşlardır. Hareket, beslenme, savunma ve bunun gibi birçok görev bölümü vardır. Bu hücrelerin birbirleriyle haberleşebilmesi için özel bir sistem gereklidir. İnsan gibi gelişmiş, büyük ve karmaşık organizmalarda hücreler arasında haberleşmenin çok kısa bir sürede gerçekleşmesi gereklidir. Bazı küçük canlılarda hücreler arası haberleşme difüzyon yoluyla veya hormonal yolla olmaktadır. Bu haberleşmede verilmek istenen uyarı kısa sürede verilemez ve istenilen alandan daha fazla bir alanda etki oluşur.(14)

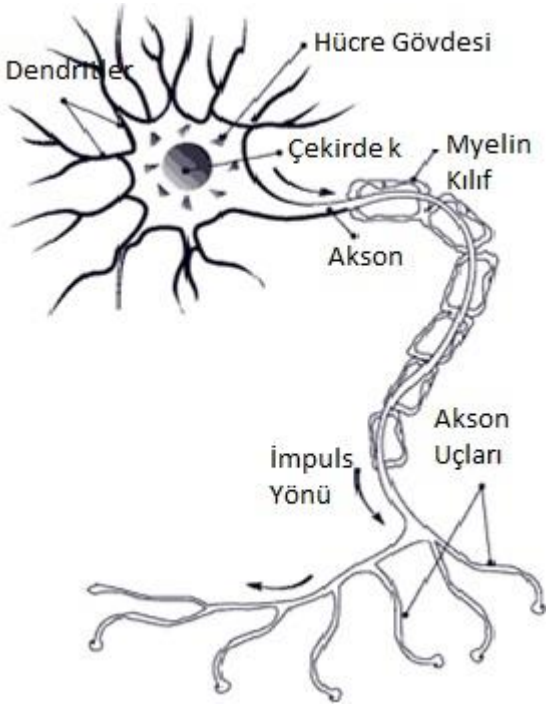
Büyük organizmalarda özellikle insanda bu uyarının etki süresi daha da uzar ve etki alanı daha büyür ve istenilen etki elde edilemez. Bu yüzden hızlı ve sınırlı bir etki için uyarıların etki etmesini sağlayan kimyasal habercilerin istenilen sınırlı etki alanına çok kısa sürede ulaşması gerekir. İşte bu etkiyi sağlayan sinir sistemi yani nöronlardır(14).

Nöronlar, hücre gövdesi, dendritler ve aksonlar olmak üzere üç kısımda incelenir:

Hücre Gövdesi: Nöronun merkezidir. Metabolik işlevlerin yönetildiği ve uyarıların üretildiği bölgedir.

Dendritler:Hücre gövdesinden dışa doğru uzanan çıkıntılardır. Reseptör görevi görürler. Diğer hücrelerden gelen uyarıları alırlar.

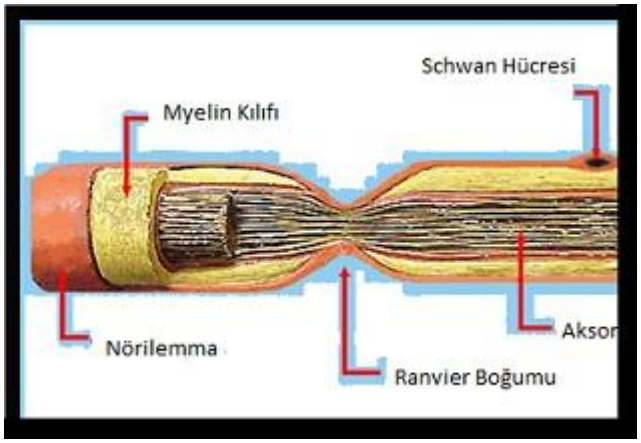
Akson:Hücre gövdesinde sentezlenen nörotransmitterleri ve uyarıları diğer nöronlara veya efektör organlara iletmek amacıyla hücre gövdesinden çıkan uzun parçaya verilen addır(14).



Şekil 2: Nöron Yapısı

Myelin Kılıf

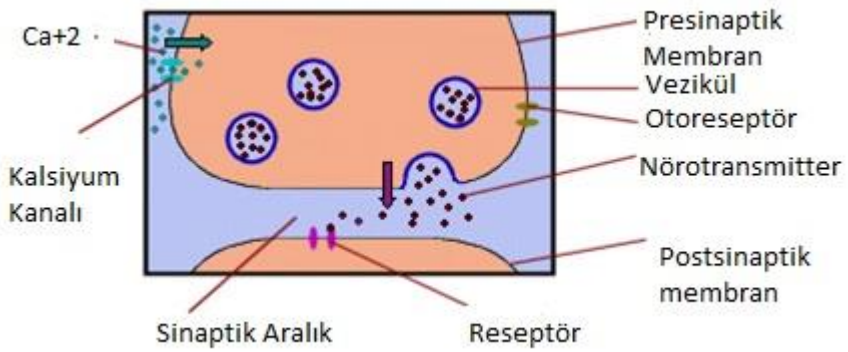
Aksonların çevresini saran boğumlu yapılardır. Schwan hücrelerinden oluşur. Myelin kılıf her 1-3 mm de bir kesintiye uğrar. Bu kesinti yerlerine Ranvier boğumu adı verilir. Myelin kılıflı nöronlarda uyarı iletimi daha hızlıdır. Çünkü sıçrayıcı tarzda bir iletim mevcuttur. Myelinsiz nöronlarda iletim hızı 0.25 m/sn iken myelinli nöronlarda iletim hızı 100 m/sn dir(14)



Şekil 3 : Myelin Kılıf

Sinaps

Bir nöronun aksonu ile diğer nöronun dendritleri arasındaki bağlantıya verilen isimdir. Uyarı iletiminde görev alırlar(14).



Şekil 4: Sinaps

Kimyasal sinaps ve elektriksel sinaps olmak üzere insan vücudunda iki çeşit sinaps vardır. Sinyal iletiminde çoğunlukla kimyasal sinapslar işlev görür. Sinapsı

oluşturan 1.nöron, nörotransmitter adı verilen bir kimyasal madde salgılar. Bu madde 2. nöronun membranındaki reseptörleri etkiler. Bu nörotransmitterler arasında en çok bilinenleri asetilkolin, norepinefrin, gama-aminobütirik asit, glisin ve glutamattır(15).

Elektriksel sinapslar, elektriği hücreden hücreye direk ileten kanallardır. Bu kanalların çoğu küçük protein tübüllerden oluşur(15).

Sinapslarda Kalsiyum İyonlarının İşlevi

Presinaptik nöron membranında çok sayıda voltaj kapılı kalsiyum kanalları vardır. Sinirde oluşan aksiyon potansiyeli esnasında akson terminali depolarize olduğu zaman hücre içinde bulunan çok sayıda kalsiyum iyonu bu kanallardan terminale akar. Bu kalsiyum iyonları terminale akarken aynı zamanda presinaptik membranın iç yüzeyindeki özel proteinlere bağlanırlar. Bu durum nörotransmitterlerin içinde bulunduğu veziküllerin membranla kaynaşmasını ve ekzositozla dışarı açılmasına neden olur(15).

Nöronlarda Na, K ve Cl İyonlarının İntra ve Ekstraselüler Konsantrasyonları

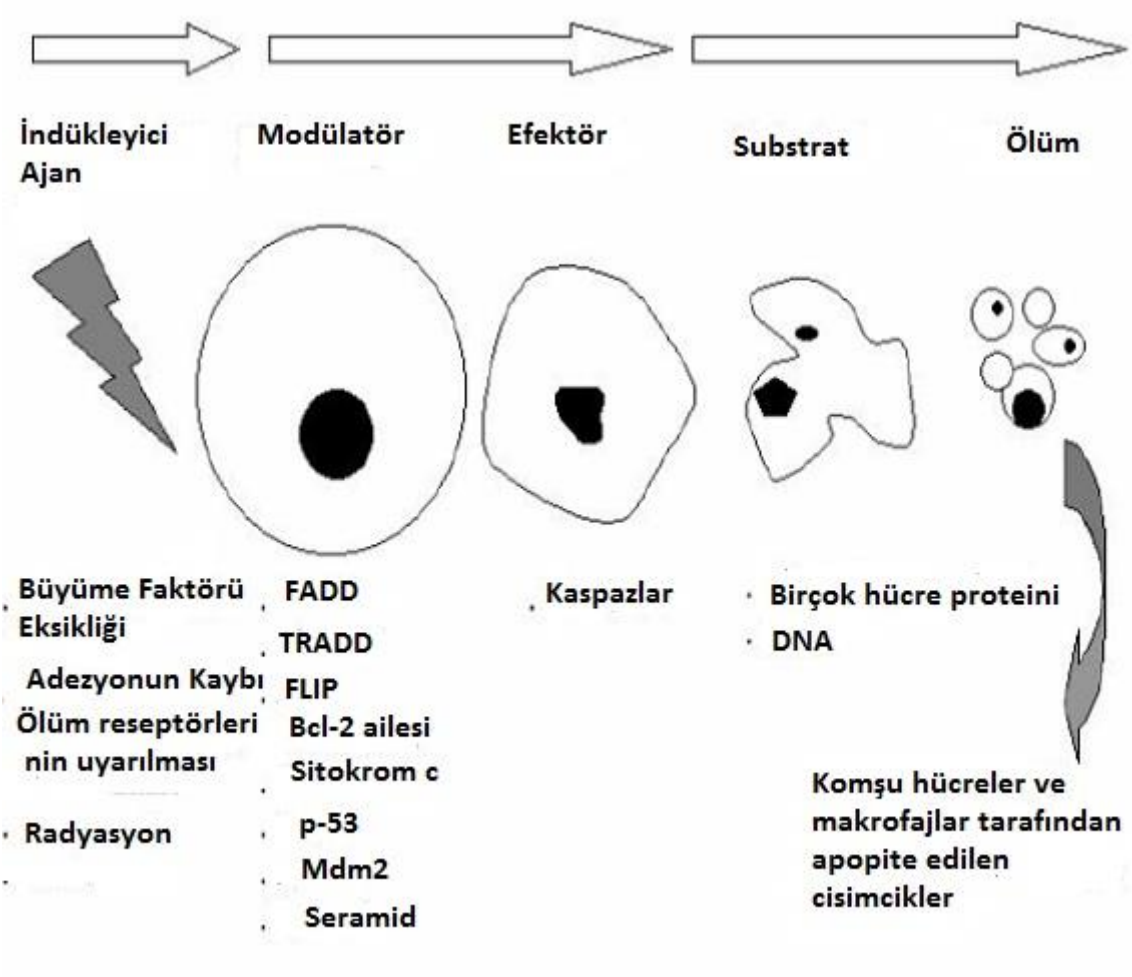
Sodyum(Na) iyonunun hücre dışında yani ekstraselüler sıvıdaki konsantrasyonunun (142 mEq/litre) yüksek, hücre içinde ise (14 mEq/litre) düşük olduğu bilinmektedir. Buna sebep olan durum ise sodyumu nöron dışına sürekli pompalayan sodyum pompasıdır. Potasyum(K) iyon konsantrasyonu nöron içinde yüksek (120 mEq/litre) ama nöron dışında ise düşüktür(4.5 mEq/litre). Bu da bize potasyumu içeri pompalayan bir potasyum pompasının varolduğunu göstermektedir. Klor(Cl) iyonları ise ekstraselüler sıvıda yüksek(107 mEq/litre), nöron içinde ise

düşüktür(8 mEq/litre). Bu durum ise nöron içindeki -65 milivoltluk negatif potansiyel farkıyla açıklanmaktadır. Bu negatif potansiyel, negatif yüklü klor iyonlarını membran dışındaki konsantrasyon farkı içerdekinden çok daha fazla oluncaya kadar membran porlarından dışarı doğru iter(15).

4. Hücre Ölümü Mekanizmaları Apoptozis Ve Nekroz

Bir organizmada canlı hücreler iki mekanizma ile ölürler. Bu mekanizmalar apopitoz ve nekrozdur. Bunlardan nekroz hücrede meydana gelen ısı değişiklikleri, hipoksi gibi hücre dışı fiziksel ve kimyasal etkiler sonucu gelişen travmatik hücre ölümüdür(16, 17).

Programlanmış hücre ölümü demek olan apoptozis, organizmaların hücrelerindeki genetik kodda bulunan hücre intiharı programlarının gelişimsel veya dış uyaranlarla etkileşmesi sonucu gelişme ve farklılaşma sırasında ortaya çıkan organ ve sistemlerin gelişimini amaçlayan fizyolojik hücre ölümüdür(18). Başka bir ifadeyle hücrelerin gerektiğinde diğer hücrelerin devamı ve iyiliği için kendi genetik kodlarında var olan programlanmış hücre intiharının çevreye zarar vermeden devreye sokulmasıdır(19).



Şekil 5: Apoptozis Süreci

Bu iki mekanizma morfolojik ve biyokimyasal yönden farklı özellikler taşırlar. Nekroz patolojik uyaranlarla, apoptozis ise hem fizyolojik hem de patolojik uyaranlarla oluşabilir. Nekrozda birçok hücre bir anda apoptozisde ise hücreler tek tek ölür. Nekroz pasif bir olaydır, enerji gerektirmez. Apoptozis ise enerji gerektiren bir işlemdir. Nekrozda hücre şişer ve erir. Apoptozisde hücre zarı büzülür, çekirdek ve hücre zarı parçalanır, kromatin yoğunlaşır ve çöker. Hücre içi çapraz bağlar artar ve hücre membranı yapısı değişir. Bu da makrofajların apopitotik hücreyi tanımasını sağlar ve bu apopitotik materyaller makrofajlar tarafından yok edilir. Bu sayede hücre içeriği dış

ortamla temas etmediği için enflamasyon gelişmez. Ama nekrozda hücre içeriği dış ortamla temas ettiği için enflamasyon oluşur. Apoptozisde en önemli olay hücrenin endonükleaz aktivitesi ile internükleozomal bölgelerden parçalanmasıdır **(Tablo 1)** (16, 17,20-22).

Apopitoz	**Nekroz**
Fizyolojik veya patolojik	Patolojik
Tek veya birkaç hücre	Çok sayıda hücre
Aktif olay	Pasif olay
Hücre büzüşmesi	Hücre şişmesi
Organeller korunur	Organeller şişer veya lizise uğrar
Zar geçirgenliği korunur	Hücre zarı parçalanır
İnflamasyon yok*	İnflamasyon var
Doku yapısı değişmez**	Doku yapısı değişir (kalsifikasyon)
Apopitotik cisim	Skar

*Viral infeksiyon hariç

**Patolojik aktiviteyle gelişen apopitoz dışında

Tablo 1: Nekroz ve Apoptozis Arasındaki Farklar

5. Hücre Hasarı Nedenleri

Hücre hasarı ve hücre ölümünün nedenleri oldukça geniş bir yelpaze içinde ele alınabilir. Bu geniş yelpaze içinde şu şekilde sıralanabilir:

a-Hipoksi: Hipoksi hücre hasarının en yaygın ve önemli nedenidir. Hipoksinin üç nedeni vardır. Bunlardan birisi, solunum veya dolaşım yetmezliğine bağlı kanın yetersiz oksijenizasyonu, diğeri arteriyel veya venöz tıkanma sonucu dokudaki kan akımının yetersiz kalması, üçüncü neden ise anemi ya da karbonmonoksit(CO) zehirlenmesinde olduğu gibi kanın oksijen taşıma kapasitesinde kayıptır(23).

b-Kimyasal Nedenler: Kimyasal maddeler ve ilaçlar da hücresel adaptasyon, hasar ve ölümünün belli başlı nedenlerinden birisidir. Zehir olarak bilinen ajanlar ise çok şiddetli hücre hasarı yaparlar ve sonuçta tüm organizmanın ölümüne neden olurlar. Bu kimyasal maddeler ve ilaçların büyük kısmı etkilerini hücrenin hayati fonksiyonları (membran permeabilitesi, osmotik denge, bir enzim ya da kofaktörün bütünlüğü gibi) üzerine etki göstererek hücre hasarına ve ölümüne neden olurlar(23, 24).

c-Fiziki Nedenler: Işın enerjisi, travma, aşırı sıcaklık veya soğukluk ve elektrik enerjisi hücreler üzerinde etkiler oluşturabilir. Işın enerjisinin hasar yapıcı etkisi Japonya'da atılan atom bombasıyla çok belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır. Ancak daha az ışın enerjisi de hasar meydana getirebilir. Bu hasarı hem hücrenin içindeki kimyasal bileşiklerin direk iyonizasyonu ile hem de hücre sıvısının iyonizasyonu sonucu oluşan serbest "sıcak" radikallerin intraselüler maddeler ile sekonder olarak ilişkiye geçmesi yoluyla yaparlar. Işın enerjisi aynı zamanda değişik mutasyonlar oluşturarak hücre hasarı ve ölümüne neden olur(23) (24).

d-Mikrobiyolojik Nedenler: Submikroskopik viruslardan, gözle görülebilir nematodlara kadar değişen boyutlarda canlı etkenler hücrelere etkilerini gösterebilirler. Hücre hasarı, hücre ölümü ve kişinin ölümüne sebep olabilirler(23).

e-İmmun Nedenler: İmmunolojik reaksiyonlar hücre hasarının nadir olmayan nedenleri arasında yer alır. İmmunolojik reaksiyona neden olan antijenler eksojen veya endojen olabilir. Endojenler, otoimmun hastalıkların nedeni olurlar(23).

f-Genetik Bozukluklar: Hücrenin dengesinde genetik yapı önemli bir rol oynar. Bu genetik yapının bozukluğunda hücre hasarı veya ölümü meydana gelebilir. Genetik yapının bozulmasına mutasyonlar neden olur. Bu mutasyonların oluşumunda yukarıda saydığımız nedenler rol oynar(23, 24).

İrreversibl hücre hasarının (hücre ölümü) iki önemli göstergesi vardır. Birincisi mitokondrial fonksiyon bozukluğu yani oksidatif fosforilasyon ve ATP üretiminin kaybı, ikincisi de membran fonksiyonlarında ileri derecede bozulmadır. İşte bu olayların gelişiminden birçok mekanizma sorumludur. Bu mekanizmaları beş başlık altında toplayabiliriz:(23, 24)

1-Membran Fosfolipidlerinin Kaybı: Özellikle iskemi nedeniyle oluşan hücre ölümlerinde oluşan bu durumda membran fosfolipidlerinde belirgin azalma vardır. İskemi sonucunda sitoplazmik kalsiyum artışı ile endojen fosfolipazlar aktive olur. Bunun sonucunda hücre parçalanması oluşabilir.

2-Hücre İskelet Anomalileri: Hücre içi kalsiyumun artmasıyla aktive olan proteazlar hücre çatısına zarar verirler. Hücre şişmesinde bazı ajanlar hücre membranı ile hücre iskeletini ayırarak membranı gerilmeye ve yırtılmaya hassas hale getirebilir.

3-Toksik Oksijen Radikalleri: İndirgenmiş oksijen türevleri hücre elemanları ve hücre membranları için oldukça toksiktir.

4-Lipit Yıkım Ürünleri: Fosfolipid parçalanması sonucu oluşurlar. Membranlar üzerine deterjan etkisi yapar.

5-İntraselüler Aminoasitlerin Kaybı: Belirli aminoasitlere ek olarak özellikle glisin ve L-alanin hücreleri membran hasarından korumaktadır. Bu aminoasitlerin olmayışı membranları hasarlanmaya hazır hale getirir.

Sonuç olarak membran hasarı mekanizması nasıl olursa olsun tanımlanan olaylarla hücre içine yüksek oranda kalsiyum girişi olur. Membran hasarı ve hücre içi kalsiyum birikimi letal hücre zedelenmesinin gelişiminden sorumludur. Ayrıca kalsiyum hücre ölümünün morfolojik değişikliklerinin potansiyel aracıdır.

6. Hücre Ölümünde Serbest Radikallerin Rolü

Serbest radikallerle oluşan hücre zedelenmesi önemli hücre hasarı mekanizmalarından biridir. Diğer hücre hasarına neden olan mekanizmalara da katkıda bulunur. Özellikle oksijen türevi radikaller bu mekanizmada büyük bir rol oynar(24).

Serbest radikaller dış yörüngelerinde çiftleşmemiş tek bir elektron bulundururlar. Bu gibi kimyasallar son derece kararsız ve değişken olup çevresinde bulunan organik ve inorganik moleküllerle kolayca reaksiyona girerler. Bu reaksiyonlar sonucunda hücrelerde nükleik asitler ve membranlar parçalanır. Ayrıca serbest radikallerle reaksiyona giren moleküllerin kendileri de serbest radikal olur ve zincirleme bir hasar oluşur(24)

Serbest radikaller üç mekanizma ile oluşur:(23)

1-Radyasyon: Radyasyon serbest radikal oluşumuna sebep olabilir.Örneğin ionize radyasyon suyu hiroksil (OH^-) ve hidrojen(H^+) iyonlarına dönüştürebilir.

2-Redoks Reaksiyonları: Normal fizyolojik olaylar esnasında oluşan redoks (redüksiyon-oksidasyon) reaksiyonlarında az miktarda toksik türevler oluşur. Bunlar süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil(OH^-) radikalleridir.

3-Eksojen Kimyasal Maddeler: Örneğin CCl_4 (karbontetraklorit) molekülünün katabolizması sonucu oluşan serbest radikaller.

Serbest radikaller DNA da timin ile reaksiyon tek çizgi şeklinde bir kırılmaya yol açar ve bu DNA hasarı hücrede hem ölümün hem de malign trasformasyonunun bir göstergesidir.

Serbest radikaller genellikle kararsız moleküllerdir ve spontan olarak azalabilirler. Ama hücreler serbest radikallerden başlıca üç mekanizma ile kurtulurlar:

a)Endojen ve Eksojen Antioksidanlar: Bunlar hem oksidan oluşumunu önler hem de oluştuklarında onları yok ederler. Bunlara örnek olarak A ve E vitaminleri, askorbik asit ve glutatyonu(GSH) söyleyebiliriz.

b)Demir ve Bakır İçeren Bazı Taşıyıcı Proteinler: Ferritin, laktoferrin ve seruloplazmin gibi bazı taşıyıcı proteinler reaktif oksijen türevlerini bağlayarak bu serbest radikallerin seviyesini düşürürler.

c)Enzimler: Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler redüksiyon kabiliyetini artırır.

7. Dalga Boyu Dispersiv X Işını Spektrometresi (WDXRF Spektrometresi)

X ışını floresans tekniği, atom ve radyasyon fiziği alanlarında ve malzemelerin tahribatsız element analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik, bombardımanla numuneden ikincil x ışınlarının yayımlanması esasına dayanır. Bilinmeyen bir numunedeki elementlerin konsantrasyonu bilinen başka standart numunelerdeki değerlerle karşılaştırılarak bulunur.

Mevcut çalışmada Rigaku® firması tarafından üretilen ZSX 1000e dalga boyu ayrımlı X ışını flöresans cihazı kullanılmıştır.

WDXRF sistemi x ışını üreteci, ana ünite ve vakum ünitesi olmak üzere üç kısımdan oluşur. Hepsine birden kontrol ünitesi denir. Ana ünite; numune değiştirici, numune odası ve analiz odasından oluşur.

a.Ana Ünite:

Numune değiştirici: Bu kısımda numuneleri peş peşe analiz edebilmek için 12 numune değiştirici bulunmaktadır. Kontrol ünitesinden verilen komuta göre sensör yardımıyla istenilen numune değiştiriciden otomatik olarak çağrılır

Numune odası: İki kısımdan oluşur: numune hazırlama odası ve analiz odası.

Numune hazırlama odası: Burada analiz yapılması için vakumlama yapılır. Numune uygun vakuma alındıktan sonra analiz odasına alınır.

Analiz odası: Bu oda numuneyi, numune odasından uygun x ışını ölçüm pozisyonuna taşır. Analizler genellikle vakum ortamında yapıldığından, analiz odası normal olarak vakumlanır.

b.Vakum Ünitesi:

Vakum sistemi rotary pompalardan oluşur. İki tip vakum sistemi vardır. Birincisi; iki rotary pompalı ve otomatik basınç kontrollü analiz odasının basıncını sabit tutar. İkincisi genel amaçlı tek rotary pompalı vakum sistemi.

Spektroskopik odaya yerleştirilmiş optik sistem, flöresans x ışınlarını saymak ve analiz etmek için kullanılır.

Primer X Işını Filtresi: X ışını tüpü ve numune arasına yerleştirilir ve tüpten gelen sürekli veya karakteristik x ışınlarını azaltmak için kullanılır.

Diyafram: Bu mekanizma sadece numuneden sayaca gelen x ışınlarını saymak ve numune tutucu ve diğer kısımlardan gelen x ışınlarını engellemek için yerleştirilmiştir. Farklı x ışını türleri için farklı çaplarda hazırlanmaktadır(25).

Araştırmalarımızda WDXRF spektrometresini kullanmamızdaki amaç hücre kültürlerine ışınlama yapıldıktan sonra ekstraselüler sıvılardaki iyon konsantrasyonlarını ölçerek hücre ölümü derecesi hakkında yorum yapabilmektir.



Şekil 6: WDXRF Spektrometresi

3.MATERYAL METOD

1.Nöron Kültürü Hazırlama:

9 adet yeni doğmuş (24 saati doldurmamış) sıçan yavrusu alındı. Batikonla temizlendikten sonra steril ortamda dekapite edildi. Baş kısmından önce derisi ve kafatası çıkarıldı, beyin zarı da ayrıldıktan sonra korteks dikkatlice çıkarıldı. İçinde Hanks'in dengeli tuz solüsyonu (HBSS) bulunan tüplere korteks parçaları koyuldu. Tüpler etüve konuldu. Steril şartlarda etüvden alındı.

Dibe çökmüş olan korteks materyallerin üzerindeki HBSS döküldü. Materyaller steril petri kabına yerleştirildi. Daha sonra 20 numaralı steril bisturi ile doğranarak makro parçalama yapıldı. Parçalanan materyallerin üzerine 1.5 ml HBSS ile 0.3 tripsin eklendi(l/4 .oranında). Enjektörle alınıp 15 ml'lik tüpe boşaltıldı. Tripsinin mikro parçalama yapabilmesi için 35 dk etüvde bekletildi. Tripsinin parçalayıcı etkisini durdurmak amacıyla DNAaz I in bulunduğu kabın içine tripsin ile muamele edilen korteks materyalleri eklendi. DNAaz I in bulunduğu kabın içine %10 oranında Fetal Calf Serum katıldı. DNAaz I in parçalamayı durdurarak tripsini dokulardan ayırması için 10 dk beklendi. Bu sıvının üzerine 6 ml HBSS eklendi ve 800 devirde 10 dk santrifüj edildi. Dibe çöken materyallerin üzerindeki HBSS döküldü ve üzerine 10 ml nöronal base medium konuldu. Bu karışımın üzerine nöronal base medimun suplementi olan B27, 1/50 oranında döküldü ve sonra 1/1000 oranında penicilin eklendi. 96'lık flaskların her kuyucuğuna 150µl yerleştirildi ve 37 °C'de, %5 CO_2 içeren etüve bırakıldı. 1 hafta sonra kuyucuklara yapışmış olan hücrelerin bulunduğu her kuyucuğa hacimlerinin 1/2 oranında nörobasal medium + B27 oluşan karışım eklendi ve nöron hücrelerinin flask tabanını kaplaması ve mikroskop altında görülebilir dallanma göstermesi için gereken süre kadar beklendi.

2. MTT [3 – (4,5 –dimethylthiazol-2-yl)-2,5-tetrazolium bromid] Analizi

Mitokondriyel dehidrogenaz enziminin canlı hücrelerde MTT' deki tetrazolium halkalarını parçalaması sonucu geçirgen olmayan hücre zarı içindeki koyu mavi formazan kristallerinin birikmesi esasına dayanan ve bir hücre kültüründeki canlı hücre sayısı oranları hakkında bilgi veren bir ölçüm yöntemidir.

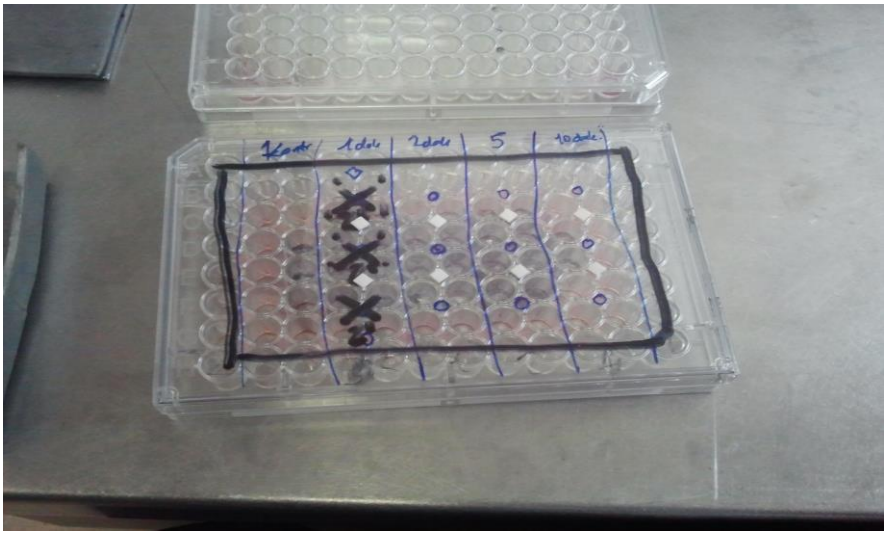
MTT Reaktifinin Hazırlanması:

1 mL analiz tamponu(şişel #2) şişe #1 içerisine eklenip pipetle iyice kanştınlarak MTT Reaktifi(şişe 1 #) çözülür. Tampon şişe #2'ye geri alınır ve kalan Analiz Tamponu ile kanştınlır. Şişe #1'in bütün içeriği çözünene ve şişe #2'ye aktarılana kadar tekrarlanır. Son çözeltinin rengi sapsarı olmalıdır. Eğer sulandırılmış MTT reaktifinin tamamı bir analizde kullanılmayacaksa küçük parçalara ayırılıp -20°C' de saklanmalıdır. -20°C'de muhafaza edildiğinde hazırlanmış MTT reaktifi birkaç ay stabil kalır. Tekrarlanan dondurup çözme işleminden kaçınılmalıdır.

3. Numunelerin Işına Maruz Bırakılması

Daha sonra bu hücre kültürlerinin üretildiği her biri 96 kuyucuktan oluşan 4 adet plate'e test kaynakları olan Americium-241(Am^{241}), Europium-152(Eu^{152}), Barium-132(Ba^{132})' dan elde edilen gama ışınları ve görünür ışık sırasıyla 1, 2, 5 ve 10 dakika süreyle uygulandı. Plate'lerin alt taraflarına yerleştirilen çiplerle uygulanan radyasyon dozu ölçüldü (Çipler her birine farklı sürede uygulanan radyasyona maruz kalan ve 12 kuyucuktan oluşan sütuna 2 adet yerleştirilmiştir). Aynı işlem aynı şartlarda üretilen hücre kültürlerine bir kez daha uygulandı. Daha sonra aynı şartlarda üretilen ve yine 96 kuyucuktan oluşan 2 ayrı plate' teki hücre kültürleri LAZER 0.2, 0.5, 1 ve 2 sn süreyle ve görünür ışığa 20, 40, 80 ve 160 dakika süreyle tabi tutuldu. Daha sonra ışın

uygulanan hücre kültürlerinde MTT analizi yöntemiyle canlı hücre sayısı oranları, total oksidan durum ve total antioksidan kapasite düzeyleri ölçüldü. Hücre plaklarından elde edilen hücre sıvısı için WDXRF spektrometresinde element analizi yapıldı ve Na, K ve Ca'un (µg/cm) konsantrasyonları tespit edildi.



Şekil 7: Işınlara maruz bırakılan nöron kültürlerinin bulunduğu plate'ler ve her sütunda ikişer adet bulunan radyasyon ölçüm çipleri

4. Total Antioksidan Kapasite Ölçümü

Total antioksidan kapasite tespitinde ilk olarak 2001 yılında Tomasch tarafından geliştirilen fotometrik yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem 2-2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin 6-sülfonat = ABTS) radikal katyonunun oluşumunu inhibe eden antioksidan kapasitenin tespitini öngörür. Tespit işleminde TAS(Total Antioksidan Status) ticari kitleri kullanıldı(Rel Assay®, Gaziantep, TÜRKİYE)

Kit Bileşenleri:

Reaktif 1 Solüsyonu: 50 ml

Reaktif 2 Solüsyonu: 10 ml

Standart 1 Solüsyonu:10 ml

Standart 2 Solüsyonu:10 ml

30 µl örneğin bulunduğu plate'lere 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan eklenerek ilk absorbansı 660 nm de spektrofotometrede okundu. Daha sonra aynı kaba 75 µl Reaktif 2 solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. Süre sonunda spektrofotometrede 660 nm de ikinci kez absorbansı okundu. Elde edilen değerler aşağıdaki formülle tekrar değerlendirilip mmol Trolox Equiv./L cinsinden total antioksidan kapasite düzeyleri ölçüldü.

Total Antioksidan Kapasite Düzeyi (mmol Trolox Equiv./L) = [(ΔStandart 1 in Absorbansı) – (ΔÖrneğin Absorbansı)] / [(ΔStandart 1 in Absorbansı) – (ΔStandart 2 nin Absorbansı)] x 20

5. Total Oksidan Kapasite Ölçümü

Tam otomatik kalorimetrik bir yöntemdir. İncelenen materyalde bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidin yapısını ferrik iyona oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu işlemi 3 kat hızlandırmaktadır. Asidik ortamda ferrik iyonlar "xylenol orange" ile renkli bir kompleks meydana getirirler. Rengin yoğunluğu spektrofotometrede ölçülerek total oksidan kapasite hakkında bilgi edinilir. Çalışmamızda total oksidan status (TOS) ticari kitleri kullanıldı(Rel Assay®).

Kit Bileşenleri

Reaktif 1 Solüsyonu: 50 ml

Reaktif 2 Solüsyonu: 10 ml

Standart 1 Solüsyonu: 10 ml

Standart 2 Solüsyonu: 10 ml

75 µl örneğin bulunduğu plate'lere 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan eklenerek 530 nm de ilk absorbansı okundu. Daha sonra aynı kaba 25 µl Reaktif 2 solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. Bekleme sonunda 530 nm de ikinci kez absorbansı okundu. Elde edilen değerler aşağıdaki formülle değerlendirilerek mmol Trolox Equiv./L cinsinden total oksidan kapasite düzeyleri ölçüldü.

Total Oksidan Kapasite Düzeyi (mmol Trolox Equiv./L) = (ΔÖrneğin Absorbansı/ΔStandart 2 nin Absorbansı) x Standart 2

6. İstatistiksel Analizler

mQuant spektrofotometre ile ölçülen değerlerin istatistiksel analizleri "SPSS for Windows Computing Program, Version 15.0" ile gerçekleştirildi.İstatistiksel analiz için One Way Anova testini takiben Post Hoc LSD testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Eu^{152}'den çıkan radyasyona 2, 5 ve 10 dk süreyle maruz bırakılan hücrelerde kontrol grubuna göre canlılık oranlarında yapılan istatistiki analizler sonucunda anlamlı düşüş olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Am^{241}'dan yayılan radyasyona 1, 2, 5 ve 10 dk süreyle maruz bırakılan hücreler içinde kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düşüş olduğu görüldü. Ba^{132}'dan yayılan radyasyona yalnızca 10 dk süreyle maruz bırakılan hücrelerde kontrol grubuna göre istatistiki fark görüldü. Benzer şekilde görünür ışığa kısa süreyle maruz bırakılan hücrelerde de MTT canlılık testi analizine göre 1,2,5 ve 10 dakikalık süreyle ışınlanan grupların tamamında kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düşüş gözlendi.

Uzun süreyle görünür ışığa maruz bırakılan hücrelerde 20, 40, 80 ve 160 dk süreyle maruz bırakılanların kültürlerin tümünde kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düşüş görülmüştür. Aksine LAZER'e maruz bırakılan hücrelerde kontrol grubuna kıyasla istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

MTT analizlerinden elde edilen nöronların canlılık oranları **Tablo 2**, **3** ve **4**'te gösterilmiştir.

Tablo 2: Eu^{152}, Am^{241}, Ba^{132} elementlerinden açığa çıkan radyasyona ve görünür ışığa maruz bırakılan nöron hücre kültürlerinde gözlenen hücre canlılık oranları (MTT analizi). Kontrol grupları 100 olacak şekilde oranlanmıştır.*$p<0.05$

	Kontrol grubu(%)	1 dk	2 dk	5 dk	10 dk
Europium152	100	92±6.2	88±5.6*	78±3.4*	76±6.7*
Americium241	100	86±2.7*	88±2.6*	85±3.5*	88±2.6*
Baryum132	100	96±2.8	97±1.8	97±4.7	88±2.8*
Görünür Işık	100	84±3.4*	87±3.4*	85±2.7*	84±4.8*

. **Tablo 3**: Uzun süreyle görünür ışığa maruz bırakılan nöron hücre kültürlerinde gözlenen hücre canlılık oranları (MTT analizi). Kontrol grupları 100 olacak şekilde oranlanmıştır.

	Kontrol grubu(%)	20 dk	40 dk	80 dk	160 dk
Görünür ışık	100.00	81.00±5.20*	71.69±5.09*	44.34±2.35**	37.74±0.57**

*p<0.05 **p<0.001

Tablo 4: LAZER'e maruz bırakılan nöron hücre kültürlerinde gözlenen hücre canlılık oranları (MTT analizi). Kontrol grupları 100 olacak şekilde oranlanmıştır.

	Kontrol grubu(%)	0,2 sn	0,5 sn	1 sn	2 sn
LAZER	100.00	97.00±7.10	96.03±7.93	98.41±7.14	96.83±3.17

Nöron hücre kültürlerine ışınlar tabi tutulduktan sonra hücre plaklarından elde edilen hücre sıvısı alınarak WDXRF spektrofotometresi ile yapılan element analizi sonucunda elde edilen değerler ise **Tablo 5**,**6**,**7** ve **8**' de verilmiştir.

Eu^{152}'den yayılan radyasyona 2, 5 ve 10 dk süreyle maruz kalan materyallerde kontrol grubuna göre Na ve Ca değerleri istatistiki olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. K değeri 2 ve 5 dk süreyle maruz bırakılanlarda anlamlı bir şekilde düşmüştür. Ba^{132} ile yapılan deneyde 2, 5 ve 10 dk süreyle maruz bırakılanlarda kontrol grubuna göre Na ve K değeri istatistiki olarak anlamlı bir şekilde düşmüş, 1 dk süreyle maruz bırakılan

materyalde istatistiki olarak anlamlı bir şekilde Ca değeri yükselmiş, 2, 5 ve 10 dk süreyle maruz bırakılan materyallerde ise Ca değeri düşmüştür **(Tablo 5)**.

Tablo 5: Eu^{152} ve Ba^{132} kaynaklarından çıkan radyasyona maruz bırakılan materyallerdeki element analizi sonuçları.

Grup	Europium			Barium		
	Na	K	Ca	Na	K	Ca
Kontrol	0.54±0.12	0.79±0.23	0.36±0.005	0.60±0.01	0.90±0.02	0.45±0.02
1 Dk	0.52±0.25	0.77±0.28	0.38±0.14	0.62±0.02	0.91±0.02	0.51±0.01*
2 Dk	0.26±0.02*	0.39±0.07*	0.17±0.05*	0.44±0.01*	0.61±0.02*	0.30±0.01*
5 Dk	0.21±0.04*	0.36±0.14*	0.16±0.07*	0.33±0.02*	0.48±0.02*	0.23±0.01*
10 Dk	0.37±0.02**	0.58±0.01*	0.34±0.07	0.35±0.008*	0.58±0.02*	0.28±0.01*

* $p<0.001$ ** $p<0.05$

Am^{241} ve görünür ışıkla ile yapılan deneyde 1, 2, 5 ve 10 dk süreyle radyasyona maruz bırakılan materyallerde Na, K ve Ca değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir (Tablo 6).

Tablo 6: Am^{241}'den çıkan radyasyona ve görünür ışığa kısa süreyle maruz bırakılan materyallerdeki element analizi sonuçları

Grup	Americium			Görünür Işık		
	Na	K	Ca	Na	K	Ca
Kontrol	0.42±0.08	0.65±0.13	0.32±0.07	0.5±0.02	0.68±0.01	0.35±0.02
1 Dk	0.25±0.005*	0.41±0.03**	0.21±0.03**	0.25±0.02*	0.44±0.02*	0.20±0.02*
2 Dk	0.3±0.03**	0.46±0.039**	0.21±0.02**	0.62±0.02*	0.76±0.02*	0.15±0.02*
5 Dk	0.16±0.09*	0.26±0.19*	0.12±0.09*	0.11±0.01*	0.13±0.02*	0.05±0.01*
10 Dk	0.29±0.08**	0.43±0.19**	0.22±0.06**	0.06±0.09*	0.07±0.01*	0.03±0.01*

* $p<0.001$ ** $p<0.05$

Tablo 7'de sunulan değerler incelendiğinde 0.2 sn süreyle LAZER'e maruz bırakılan materyalde kontrol grubuna göre Na ve K değerleri yüksek, 0.5 sn süreyle maruz bırakılanlarda Na ve K değeri düşük, 1 ve 2 sn süreyle maruz bırakılanlarda ise Na değeri yüksek bulunmuştur. Ca değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Tablo 7: LAZER'e maruz bırakılan materyallerdeki element analizi sonuçları

Grup	LAZER		
	Na	K	Ca
Kontrol	0.51±0.02	0.82±0.021	0.41±0.01
0.2 sn	0.59±0.03*	0.92±0.02*	0.43±0.02
0.5 sn	0.47±0.01**	0.73±0.02*	0.39±0.02
1 sn	0.56±0.01**	0.81±0.02	0.41±0.02
2 sn	0.69±0.02*	0.83±0.02	0.41±0.02

* $p<0.001$ ** $p<0.05$

Tablo 8'de sunulan değerler incelendiğinde 20 dk süreyle maruz bırakılan materyalde kontrol grubuna göre Na ve K değerlerinde istatistiki olarak anlamlı bir yükselme, 40, 80 ve 160 dk süreyle maruz bırakılanlarda ise düşme gözlenmiştir. Ca değerinde ise 20 dk süreyle maruz bırakılanda anlamlı bir değişiklik olmayıp 40, 80 ve 160 dk süreyle maruz bırakılanlarda kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüklük görülmüştür.

Tablo 8: Görünür ışığa uzun süreyle maruz bırakılan materyallerdeki element analizi sonuçları.

Grup	Görünür Işık		
	Na	K	Ca
Kontrol	0.47±0.05	0.72±0.11	0.44±0.06
20 Dk	0.62±0.11*	0.97±0.19*	0.41±0.09
40 Dk	0.30±0.01*	0.53±0.03**	0.24±0.02*
80 Dk	0.32±0.03*	0.51±0.06**	0.26±0.06*
160 Dk	0.32±0.05*	0.54±0.03**	0.31±0.02*

* $p<0.001$ ** $p<0.05$

Eu^{152} ile yapılan deneyde 1, 2 ve 5 dk süreyle maruz bırakılan materyallerde kontrol grubuna göre TAS değerleri istatistiki olarak anlamlı kabul edilen düzeylerde azalmış olarak değerlendirilmiştir. Ba^{132} ile yapılan deneyde 10 dk süreyle maruz bırakılan materyalde

TAS değerinin kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir. Görünür ışık ile yapılan deneyde yine kontrol grubuna göre 5 dk süreyle maruz bırakılan materyalde TAS değeri değişmiştir. Am^{241} ile yapılan çalışmada ise istatistiksel önemli bir değişiklik görülmemiştir.

Nöron hücre kültürleri ışınlara maruz bırakıldıktan sonra incelenen TAS ve TOS değerleri **Tablo 9**,**10**,**11** ve **12**'de verilmiştir.

Tablo 9: Am^{241}, Ba^{132}, Eu^{152}'dan çıkan radyasyona ve kısa süreyle görünür ışığa maruz bırakılan materyallerdeki TAS düzeyleri

	Amerisyum	Baryum	Europiyum	Görünür Işık
Kontrol	3.94±0.17	3.94±0.14	3.94±0.20	3.94±0.18
1 Dk	3.59±0.16	3.69±0.17	3.48±0.12*	4.25±0.15
2 Dk	3.62±0.22	3.81±0.18	3.35±0.08*	4.2±0.11
5 Dk	3.7±0.2	3.85±0.09	3.56±0.13*	4.44±0.11*
10 DK	4.05±0.2	3.13±0.13*	3.65±0.08	4.23±0.22

*p<0.05

40 ve 80 dk süreyle görünür ışığa maruz bırakılan materyallerde TAS değerinde kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı kabul edilen bir düşüş gözlenmiştir. Benzer şekilde LAZER'e 0.5 ve 2 sn süreyle maruz bırakılanlarda TAS değerinde anlamlı bir düşüş gözlenmiştir.

Tablo 10: Görünür ışığa uzun süreyle ve LAZER'e maruz bırakılan materyallerdeki TAS düzeyleri

	Görünür Işık		LAZER
Kontrol	3.94±0.11	Kontrol	3.94±0.17
20 Dk	3.68±0.12	0.2 Sn	3.93±0.09
40 Dk	3.59±0.09*	0.5 Sn	3.63±0.09*
80 dk	3.59±0.12*	1 Sn	3.87±0.16
160 Dk	3.69±0.09	2 Sn	3.76±0.21*

*p<0.05

Am^{241} ile yapılan çalışmada TOS değerinde süreye bağlı olarak kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli düzeyde yükselme, Ba^{132} ile yapılan çalışmada 2, 5 ve 10 dk süreyle maruz bırakılanlarda azalma, Eu^{152} ile yapılan çalışmada 1 ve 10 dk süreyle maruz bırakılanlarda yükseliş gözlenmiştir. Kısa süreyle görünür ışığa maruz bırakılan materyallerde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Benzer şekilde, kontrol grubuna kıyasla ne LAZER'e ne de uzun süreyle görünür ışığa maruz bırakılan materyallerde tespit edilen TOS düzeylerinde önemli bir değişiklik görülmemiştir.

Tablo 11: Am^{241}, Ba^{132}, Eu^{152}'den çıkan radyasyona ve görünür ışığa kısa süreyle maruz bırakılan materyallerdeki TOS değerleri.

	Amerisyum	Baryum	Europiyum	Görünür Işık
Kontrol	85.08±4.72	65.16±7.00	81.47±6.89	55.25±4.35
1 dk	94.72±5.50*	60.02±5.42	99.06±5.57*	54.55±2.42
2 dk	89.38±6.84*	46.43±5.12*	91.74±5.25	54.56±1.97
5 dk	95.31±5.11*	53.28±3.99*	77.43±4.66	49.83±5.45
10 dk	124.04±8.32**	46.62±2.72*	100.47±4.61*	61.94±3.93

*p<0.05 **p<0.001

Tablo 12: Uzun süreyle görünür ışığa ve LAZER'e maruz bırakılan materyallerdeki TOS değerleri

Görünür Işık		LAZER	
Kontrol	5123.21±57.29	Kontrol	288.76±9.21
20 Dk	5083.16±87.48	0.2 Sn	307.22±3.09
40 Dk	5193.13±94.61	0.5 Sn	296.76±8.98
80 Dk	5198.88±44.61	1 Sn	287.62±8.69
160 Dk	5300.8±101.98	2 Sn	276.58±6.61

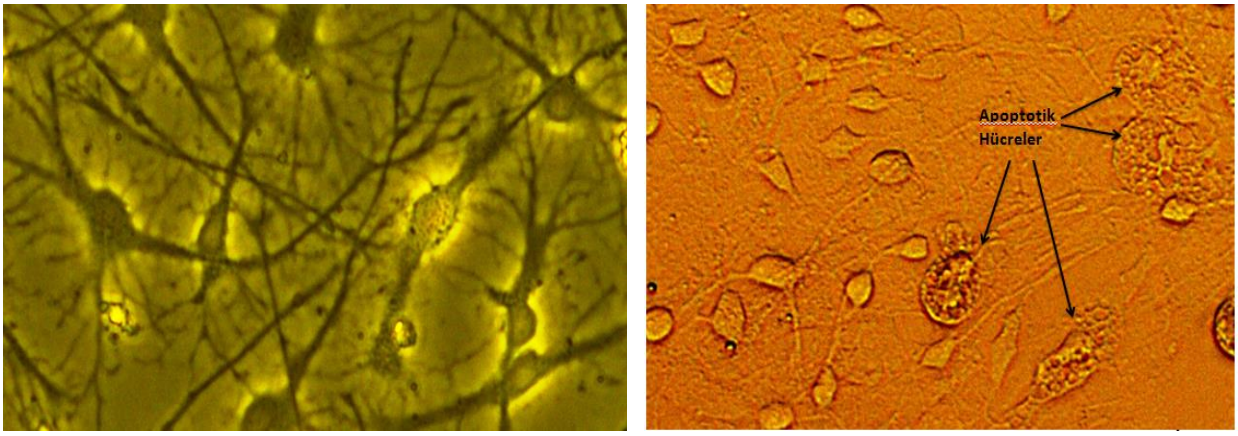
Europium, Americium ve Barium test kaynaklarından plate'lerdeki hücre kültürlerine uyguladığımız radyasyon dozları **Tablo 13'** te verilmiştir.

Element	Eu^{152}		Am^{241}		Ba^{132}	
Süre	1.kısım	2.kısım	1.kısım	2.kısım	1.kısım	2.kısım
1dk	542.4 µGy	369.9 µGy	716.5 µGy	485.8 µGy	597.4 µGy	481.7 µGy
2dk	403.2 µGy	402.7 µGy	467.7 µGy	510.5 µGy	466.6 µGy	427.2 µGy
5dk	549.1 µGy	650.8 µGy	922 µGy	1323.6 µGy	669.8 µGy	884.8 µGy
10dk	577. µGy	621.3 µGy	974.7 µGy	1007.1 µGy	778.3 µGy	744.1 µGy

Tablo 13: Ölçülen radyasyon dozları dk: dakika, µGy: mikrogray,

Not: Her 12 kuyucuktan oluşan sütunun 6 kuyucuktan oluşan her iki bölgenin ortasına 2 adet ölçüm çipi yerleştirilmiştir. 1. kısım olarak ifade edilen değer **Şekil 7**'deki üst taraftaki çipten elde edilen değer, 2. kısım olarak ifade edilen değer **Şekil 7**'deki alt taraftaki çipten elde edilen değerdir.

Tablo 13'te sunulan değerler incelendiğinde ölçülen radyasyon dozlarına bakılırsa düşük dozlarda olduğu gözlenir.



A B

Sekil 8 : **A**- Normal hücreler **B**- Apoptotik Hücreler

Özellikle uzun süreli görünür ışığa maruz bırakılan nöron hücre kültürlerinde apoptotik hücreler ışık mikroskobuyla yapılan incelemede görülmüştür (Şekil 8 B).

5. TARTIŞMA

Günümüzde yapılan kranial mikronöroşirurjikal girişimlerde operasyon sahasına mikroskop yaklaştırılarak operasyon gerçekleştirilmektedir. Çok sık yapılan bu operasyonlar neticesinde kranial nöral yapılara çok yakın mesafeden beyaz ışık etki etmektedir. Ayrıca günümüzde özellikle radyoaktif kaynaklardan elde edilen ışınların birçok kranial hastalıkta tedavi edici yönleri de bilinmektedir. Biz bu çalışmada görünür ışıkla radyoaktif kaynaklardan elde edilen ışınların nöronlardaki hem sağkalım hem de fizyolojik düzeydeki kalıcı veya geçici etkilerini inceledik.

Radyasyon, radyoterapi adıyla özellikle onkoloji alanında geniş kullanım ağına sahiptir. Hem bu radyoterapi yoluyla hem de diğer radyoaktif kaynaklardan çıkan radyasyonun (özellikle nükleer enerji santrallerinde ortaya çıkan radyasyon) insanlığa olumlu etkileri olduğu kadar birçok olumsuz etkileri olduğu da gösterilmiştir. Tedavi dozuyla kullanılan radyasyonun (radyoterapinin) kranial bölgedeki uygulamaları özellikle beyin tümörlerinde uygulanan radyoterapinin bilişsel fonksiyonlara yan etkileri hastanın yaşam kalitesini belirlemektedir.(26) Beynin frontal lobuna etki eden radyasyon sonucunda uzun dönemde ağır hafıza, düşünce ve konuşma bozukluğu ortaya çıkabilir.(26) Radyasyon etkisiyle diffüz lökoensefalopati ve serebral atrofi gelişebilir.(27) Nitekim Çernobil nükleer santral kazası sebebiyle değişik düzeyde radyasyon alan gruplarda kazadan sekiz yıl sonra bazı araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmada 63 cGy radyasyona maruz kalan kurtarma çalışmalarına katılanlar, 13 cGy radyasyona maruz kalan orman işçileri ve 9 cGy radyasyona maruz kalan tarım işçileri incelenmiştir. Kurtarma çalışmalarına katılanlarda ve orman işçilerinde önemli kognitif fonksiyonlarda kayıp olduğu bildirilmiştir.(28)

Radyasyon yüksek dozlarda canlı dokularda radyonekroz, diffüz lökoensefalopati veya ak madde hasarı gibi mikroskobik boyutlarda hasar yapabileceği

gibi düşük dozda da canlı dokularda ve hücrelerde hasar meydana getirebilir. Özellikle γ ışınları ve beraberinde yayılan X ışınları yüksek frekanslarda ışımalar olduğundan oluşan radyasyon kimyasal bağları kırabilecek enerjiye sahiptir. Bir başka deyişle hücre materyali DNA' nın yapısını bozacak kadar enerjiye sahiptir. DNA' nın zarar görmesi hücre ölümüne sebep olabilir. Aynı zamanda DNA daki çok az bir zedelenme (nokta mutasyon) daha sonra neoplaziye yol açabilecek kalıcı değişikliklere sebep olabilir.(29)

Literatürde, radyasyonun sitotoksisiteye neden olabileceğini gösteren birçok çalışma mevcuttur. Yang M. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ratlarda immatür hipokampal nöronlar üzerinde akut γ radyasyonunun zararlı etkilerini incelemişlerdir. *İnvitro* ortamda hazırlanan nöron kültürü üzerine ortam hazırlandıktan 12 saat sonra 0-4 Gy (0-0.5-2-4) dozlarında γ ışını uygulamışlardır. Yapılan çalışma sonucunda γ ışınının olgunlaşmamış nöron hücreleri üzerine oksidatif stres aracılığıyla kaspaz bağımlı sitotoksisiteye neden olabileceği gösterilmiştir.(30)

Kim J.S. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada fareler γ ışınıyla 0-4 Gy (0-0.5-2-4) dozlarda ışınlanmış ve ışınlandıktan 6, 12, 24 saat ve 3, 7 ve 14 gün sonra her birinin hipokampusları diseksiyonla çıkarılmıştır. Yapılan inceleme sonucunda 0-4 Gy dozunda yapılan γ ışınının hipokampal nöronlarda apoptozise neden olabileceği gösterilmiştir.(31)

Moore ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada radyoaktif ışınların fare beyinleri üzerindeki bir başka etkisi gösterilmiştir. Yapılan çalışmada fare beyinlerinin ışınlanmasından 4 ve 24 saat sonra yapılan incelemede serebral ödem oluşumuyla beraber prostoglandin E(2) ve tromboksan A(2) düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda radyasyonun etkilediği serebral dokuda uzun dönemde siklooksijenaz 2 (COX2) enzimi aracılığıyla kan-beyin bariyerinin bozulduğu, inflamatuar sitokinlerin salgılandığı, vasküler kollaps ve bunun sonucunda serebral

ödemin geliştiği ortaya konulmuştur. Başka bir deyişle radyasyonun nöral dokuda indüklediği değişikliklerden biride COX-2 aracılı otokrin ve parakrin mediatörlerin rol aldığı vasküler permabilite bozukluğunu da içine alan serebral ödemdir.(32)

Song M.S. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada olgunlaşmamış ve olgunlaşmış nöron hücre kültürlerine 0-4 Gy(0-0.5-2-4) dozlarında γ ışını tabi tutulmuştur. Bu çalışmadaki amaç γ ışınına maruz kalan olgunlaşmış ve olgunlaşmamış nöron hücre kültürleri arasındaki farkı hücre canlılığı yönüyle tespit etmektir. Yapılan çalışma sonucunda γ ışınının her iki hücre grubuna canlı hücre sayısının azalması şekliyle etki ettiği gösterilmiştir. Çalışmada olgunlaşmamış nöronlara olgunlaşmış olanlardan daha fazla etki ettiği bildirilmiştir. Ek olarak, yapılan incelemelerde DNA fragmantasyonunun arttığı ve dolayısıyla hücre ölümünün büyük oranda apoptozis yoluyla gerçekleştiği ifade edilmiştir.(33)

Yoshida Y. ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, Wistar fetal ratlardan 18. embriyonik günde elde edilen hipokampal hücreler üzerine, daha önce γ ışını ve x ışını ile yapılan çalışmalara ek olarak karbon iyon ışınları tabi tutulmuş ve x ışınıyla mukayese edilerek etkileri araştırılmıştır. X ışını 10 Gy ve 30 Gy dozlarında, karbon iyon ışınları 1, 3, 5 ve 10 Gy dozlarında uygulanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda hem x ışını hem de karbon iyon ışınına tabi tutulan hücre kültürlerinde apoptozis şekliyle hücre ölümü gözlenmiş olup özellikle 10 Gy dozda verilen karbon iyonu ışınlamasındaki apoptozis oranı önemli derecede artış göstermiştir. Tüm gruplar üzerinde yapılan istatistiksel analizde Karbon iyonu ışınları x ışınlarına göre 10 kat daha fazla etki göstermiştir.(34)

Al-Jahdarl W.S. ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise yine karbon iyon ışınlarının 8 ve 16 günlük tavuk embriyosundaki dorsal kök ganglionundaki ve sempatik ganglion zincirlerindeki nöronlardan elde edilen hücre kültürleri üzerindeki

etkisi incelenmiştir. Yapılan inceleme sonucunda nöronal apopitozis ve büyüme zonu daralması gözlenmiştir.(35)

Okamoto M. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada radyasyonun hipokampal nöral hücrelerde gelişimi nasıl etkilediği incelenmek istenmiştir. Bu amaçla 18. embriyonik günde fetal ratlardan elde edilen hipokampal nöron hücre kültürlerine x ışını uygulanmıştır. Yapılan ışınlama sonucunda nöronlarda apopitozis oranı artmasının yanında nöronlardaki dendritlerde oluşan sinaptik protein kümelerinin sayısında azalma tespit edilmiştir. Bu durum bize aynı zamanda radyasyonun nöral gelişimi de etkileyebileceğini göstermektedir.(36)

Inouye M. ve arkadaşlarının yaptığı çalışma, hızlandırılmış ağır Karbon iyonu ışınları ile X ışınlarının ratlarda beyincik gelişimi üzerinde nasıl etki ettiklerini mukayese ederek tespit etmiştir. Bu amaçla gebe ratlara Karbon iyonu ışınları ve X ışınları uygulanmıştır. Karbon iyonu ışınlanan gebe ratların fetüsleri çıkarılmış ve serebellar doku incelenmiştir. İnceleme sonucunda, serebellumun dış granüler tabakasında mikroskopik düzeyde hücre ölümü gözlenmiştir. Buna karşın X ışını uygulanan grubun doğum yapmasına izin verilmiş ve yeni doğmuş ratların 6 haftalık olmasına kadar beklenmiştir. Yapılan inceleme sonucunda ikinci grubun serebellar dokularında yaprak şekilli malformasyon tespit edilmiştir. Ek olarak Karbon iyonu ışınlarının, aynı dozlarda uygulanan x ışınlarından nöronların gelişimi üzerine etkisi daha fazla denilebilir.(37)

Michelin S. ve arkadaşları yaptıkları başka bir çalışmada gelişen rat beyninden elde ettikleri nöronal prekürsör hücreler üzerinde γ ışınının indüklediği apopitoz süreci içinde kaspaz 3 enziminin ne gibi bir rol üstlendiğini belirlemek istemişlerdir. Yapılan çalışmada doz artışına bağlı olarak hücre ölüm oranının arttığı, hücrelerde nükleer yoğunlaşma ve DNA fragmantasyonunun arttığı bununla beraber kaspaz 3 aktivitesinin

de arttığı tespit edilmiştir. Bu durumda γ ışınının indüklediği apoptozis sürecinde kaspaz 3 enziminin rol oynadığı söylenebilir.(38)

Yukarıda verilen literatür bilgilerinden anlaşıldığı üzere radyasyon özellikle γ ve X ışınları nöronlara etki edebilmektedir. Radyasyon yüksek dozlarda nöronlar veya nöral doku üzerine doku ödemi veya nekroz şeklinde etki edebildiği gibi düşük dozlarda da mikroskobik olarak etki göstermese de nöronal apoptozisi indükleyerek etki edebildiğini görmekteyiz. Yine bu çalışmalar bize radyasyonun düşük dozlarda özellikle daha gelişimini tamamlamamış nöronlara, gelişimini kısmen tamamlamış nöronlarda ise mitoz safhasında veya mitoz safhasına yakın zamanda bulunan nöronlara etki edebildiğini göstermektedir. Aynı zamanda sadece hücre canlılığına etki etmeyip hücre gelişimi üzerinde de olumsuz etkileri olduğu tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmamızda özellikle düşük dozlardaki radyasyonun hücre kültüründeki nöronlara ne gibi etkileri olduğunu tekrar araştırmakla beraber literatürde pek fazla çalışma olmayan ve aslında araştırmanın esas bölümünü teşkil eden yüksek şiddette olan ve radyoaktif bir kaynaktan yayınlanmayan görünür ışığın nöronlara olan etkilerini inceledik. Elde ettiğimiz sonuçlarda düşük dozda radyasyonla yaptığımız çalışmalardan Eu^{152} ile yapılan deneyde MTT analizine göre kontrol grubundaki canlılık oranı esas alındığında özellikle 5 ve 10 dk süreyle maruz bırakılanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmüştür. Yine görünür ışık ile yapılan kısa süreli ışınlamalarda MTT analizine göre kontrol grubu canlılık oranı %100 iken 1, 2, 5 ve 10 dk süreyle yapılan ışınlamalarda canlılık oranları sırasıyla %84, %87, %85 ve %84 olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Am^{241} ile yapılan çalışmalarda kontrol grubuna göre 1, 2, 5 ve 10 dk süreyle maruz bırakılanlarda canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşmüştür. Ba^{132} ile yapılan deneyde yine 10 dk süreyle maruz bırakılan hücrelerde canlılık oranı kontrol grubuna göre istatistiki

olarak anlamlı bir şekilde düşmüştür. Görünür ışık ile yapılan uzun süreli ışınlamalarda diğer deneylere göre daha dikkat çekici sonuçlar elde edilmiştir. Uzun süreli ışınlamalarla yapılan deneylerde MTT analizine göre kontrol grubu canlılık oranı %100 iken 20, 40, 80 ve 160 dk süreyle ışına maruz bırakılan numunelerdeki canlılık oranları sırasıyla %81, %72.69, %44.34 ve %32.74 dir ki kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı azalmıştır. Bu değerler hücre canlılık oranlarında kontrol grubuna göre önemli oranda düşüklük olduğunu göstermektedir.

Element analizi sonuçları değerlendirildiğinde Eu^{152} ile yapılan deneyde kontrol grubundaki Ca oranı 0,36µg/cm² tespit edilmiştir. 2 ve 5 dk süreyle yapılan ışınlamalarda numunelerdeki Ca oranı sırasıyla 0.17µg/cm² ve 0.16µg/cm² tespit edilmiştir. 10 dk süreyle yapılan ışınlama sonrası Ca değeri 0.37 çıkmıştır. Bu sonuçlar Eu^{152} uygulaması sonrası 2 dk süreyle ışınlama sonrası Ca değerinin arttığını, 5 dk lık sürede toksisite oluşturacak seviyeye geldiğini, 10 dk lık sürede ölüm canlılık testinde daha da artmış olup hücrenin membran yapısı bozulduğu için Ca ortama salındığından değeri tekrar yükseldiğini, Na ve K' daki değişikliklerin de Ca' a bağlı olarak 2 dk da başladığını göstermektedir.

Am^{241} ile yapılan çalışmada 1, 2, 5 ve 10 süreyle maruz bırakılan materyallerde canlılık oranlarıyla paralel olarak Na ve Ca değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiki olarak bir düşüş saptanmıştır.

Ba^{132}, dan yayılan radyasyona 2, 5 ve 10 dk süreyle maruz bırakılan materyallerde Na ve Ca değeri kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir şekilde düşmüştür. MTT analizinde de 10 dk süreyle ışınlananlarda canlılık oranında anlamlı bir azalma vardır. Bu durumda Ba^{132} ile yapılan çalışmada hücrelere maruziyet süresi uzadığında belirlenebilen bir sitotoksik etki olduğu düşünülmektedir.

Görünür ışık ile yapılan kısa süreli ışınlamalarda kontrol grubu Ca değeri 0.35µg/cm² iken 1, 2, 5 ve 10 dk süreyle yapılan ışınlamalarda Ca değerleri sırasıyla 0.20µg/cm², 0.15µg/cm², 0.05µg/cm² ve 0.03µg/cm² dir. Kontrol grubunda Na değeri 0.5µg/cm² iken 1, 5 ve 10 dk süreyle ışınlananlarda 0.25µg/cm², 0.11µg/cm² ve 0.06µg/cm² tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmüştür. Görünür ışık ile yapılan uzun süreli ışınlamalarda kontrol grubu Ca değeri 0.44µg/cm² iken 20, 40, 80 ve 160 dk süreyle yapılan ışınlamalardan sonraki Ca değerleri sırasıyla 0.41µg/cm², 0.24µg/cm², 0.26µg/cm² ve 0.31µg/cm² tespit edilmiştir. Kontrol grubu Na değeri 0.47µg/cm² iken 20, 40, 80 ve 160 dk süreyle yapılan ışınlamalardan sonraki Na değerleri sırasıyla 0.62µg/cm², 0.3µg/cm², 0.32µg/cm² ve 0.32µg/cm² tespit edilmiştir. Eu^{152}' deki hücre membranının bozulup Ca' un ortama salınarak yüksek çıkması ile ilgili benzer istatistikler Ba^{132}, Am^{241} ve uzun süreli görünür ışık uygulamalarında da ortaya çıkmıştır.

Elde edilen sonuçlardan ve yapılan tespitlerden de anlaşılacağı üzere radyasyonun (γ ışınlarının ve x ışınlarının) nöronların sağkalım üzerine etkisi özellikle Eu^{152} ve Am^{241} ile yapılan deneylerde olumsuz yönde görülmüştür. Bu etki Na ve Ca ölçümleriyle de desteklenebilir niteliktedir. Çünkü şu bilinmektedir ki düşük dozdaki radyasyonun hücreler (nöronlar) üzerine etkisi direkt etki yani nekrotik etki şeklinde olmayıp apopitozu indükleme şekliyle olmaktadır. Apopitozda, eğer dış etken bir mesajcı molekül değilse bu etken (radyasyon, ısı, ışık, UV ışını) hücre zarını değil de ya direkt hücredeki kalıtım materyalini yani DNA'yı etkiliyor demektir ya da hücre içinde serbest Oksijen radikalleri oluşturarak yine aynı şekilde DNA'yı ve diğer hücre içi yapıları etkiliyor demektir. Bu şekilde apopitoz indüklendiği zaman mitokondri fonksiyonunu yitirmiş olup hücre için yeterli derecede ATP üretilemez olur. Bunun sonucunda nöronlar için son derece mühim Na-K pompası çalışamaz. Ama membran

yapısı nekrozdaki hücre ölümünün aksine korunur. Membranın yapısının korunmasıyla beraber Na-K pompasının çalışamamasını da müteakip membran permabilitesi bozulur. Apopitoz indüklendiğinde özellikle kaspaz 3 enzim sistemi aktive olarak hücre içi protein yapılar lizise uğrar. İşte bu kaspaz 3 enzim sistemi Ca ile aktive olur ve hücre dışından içeriye Ca akışı olur. Aynı şekilde hücre zarı permabilitesi ve Na-K pompası bozulduğundan hücre içine Na girişi olur. İşte ölçülen Na ve Ca değerleri yine MTT analizi ile ölçülen canlılık oranlarının düşmesine paralel olarak düşmüştür. Dolayısıyla daha önce yapılan çalışmalara da uygun olarak mevcut çalışmada da sonuçlar gösteriyor ki düşük dozdaki radyasyon nöronlara ve özellikle gelişimine yeni başlamış nöronlara apopitozu indükleyerek etki edebilmektedir.(16-19, 23, 24)

Çalışmamızın esas bölümünü teşkil eden görünür ışıkla yapılan deneylerden kısa süreli ışınlananlarda MTT analizine göre canlılık oranlarında azalma Ca ve Na'un konsantrasyonlarındaki azalmalara paralel olarak ortaya çıkmıştır. Yalnız bu deneyde 2 dk süreyle yapılan ışınlama sonrası ortaya çıkan değerlerde hem Na hem de Ca kontrol grubundan yüksek çıkmıştır ki ölçüm hatası olarak değerlendirilmiştir. Olayın esas yönü değerlerde genel bir düşüş şekliyle olmaktadır. Bu yüzden dikkate alınmamıştır.

Görünür ışık ile yapılan uzun süreli ışınlamalarda çarpıcı bir biçimde MTT analizine göre canlılık oranlarında kontrol grubuna göre bir düşüş gözlenmektedir. Aynı zamanda bu düşüş ölçülen Ca ve Na konsantrasyonlarının azalmasıyla desteklenmektedir ki bu durum bize kullandığımız şiddette ve dalga boyundaki görünür ışığın nöronlar üzerinde yüksek oranda apoptotik etkisini göstermektedir. Yine element analizi sonuçlarında uzun süreli görünür ışıkla yapılan ışınlamalarda 20 dk süreyle yapılan ışınlama sonrası Na değerleri abartılı olarak yüksek çıkmıştır ki yanlış ölçüm olarak değerlendirilip dikkate alınmamıştır. Zaten Ca değerleri de canlılık oranlarındaki düşüşe paralel olarak düşmüştür. Çalışmamızda K değerlerinde anlamlı bir değişiklik

görülmemiştir. Ayrıca LAZER'le tedavi dozlarında yapılan ışınlamalarda da anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir.

Sonuç olarak; görünür ışığın vitaminler ve amino asitler gibi biyolojik materyaller üzerine etkileri detaylı olmasa da bilinmektedir. Özellikle görünür ışığın bir formu olan UV'nin canlı hücrelerin genetik materyallerine etki ettiği, 450 nm dalga boyundaki görünür ışığın *invivo* ve *invitro* hücre DNA'sında hasara neden olduğu ve buna bağlı hücre ölümlerine yol açtığı bazı araştırmalarda ortaya konmuştur.(39, 40) UV ışığının kromozomlar üzerindeki olumsuz etkileri 1960'lardan beri araştırılmaktadır. Yapılan *invitro* çalışmalarda özellikle hücre kültürlerinde görünür ışığa maruz kalan hücrelerdeki değişimler oldukça çelişkilidir. Marshall R.R. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fototerapide kullanılan ışığın etki ettiği hücrelerde nükleus dejenerasyonu ve yüksek oranlı hücre ölümleri rapor edilirken(41) gerek Parrington M.J. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gerekse Sandor G. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fototerapi ışığının nükleer materyal üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.(42, 43) Yine kato H. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ışığa maruz kalma süresi uzadıkça kromozomal anomalilerin arttığı tespit edilmiştir.(44) Rosenstein B.R. ve Parshad R. nin yaptığı çalışmalarda da 400-450 nm dalga boyunda floresan ışığa maruz kalan fibroblast hücrelerinde kromozom ve kromatid kırıklarında önemli artışlar olduğu belirtilmiştir.(45, 46) Bizim çalışmamızda da gördüğümüz durum, düşük dozdaki radyasyonun canlı nöronlar üzerine apopitozisi indükleyerek istatistiksel olarak anlamlı etkide bulunsa da bu etkinin çok büyük bir oranda olmadığıdır. Ama görünür ışıkla özellikle uzun süreli görünür ışığa maruziyette dikkat çekici bir biçimde canlı hücre sayısında azalma olması ve bu durumun da element analizi ölçümleriyle destekleniyor olması az önce bahsettiğimiz 1960'larda ve

1970'lerde kaleme alınan literatürdeki çalışmalardan hareketle yüksek şiddette görünür ışığın eğer maruziyet süresi de uzarsa hücrenin genetik materyaline etki edip apoptozisin indüklenerek hücre ölümüne sebebiyet vermesidir. Yapılan çalışmalarda kromozom ve kromatid kırıkları da olduğu ifade edilmekte ve bu durumun az da olsa çeşitli anomalilere de sebep olabileceği düşünülmektedir. Yine ışığın özellikle beyin gelişimini de etkileyeceğini düşünerek uzun dönemde olabilecek bu kronik etkisini anlayabilmek için daha ileri genetik çalışmalar yapılabileceği düşünülmektedir. Zaten radyoaktivitenin ve görünür ışığın nöron üzerine etkilerini daha iyi inceleyip ilerde daha etkili ve organizmaya daha az zararlı alternatif tedavi yöntemlerinin ortaya çıkarılması şeklinde özetleyebileceğimiz araştırmamızın kapsamı içinde bu genetik çalışmalar da yer almaktadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışma sonunda elde edilen sonuçlardan yola çıkarak aşağıdaki tespitler ve değerlendirmeler ele alınabilir:

1. Radyasyonun canlı dokular ve hücreler üzerine etkileri zaten bilinmektedir. Araştırma sonunda düşük dozlarda radyasyonun özellikle nöronlara etki edebildiği gösterilmiştir.

2. Düşük dozdaki radyasyonun ve görünür ışığın nöronlara etkisi apoptozisi indükleyerek sitotoksik etki oluşturmaktır.

3. Radyasyon ve görünür ışığın etki derecesi nöronların gelişimleriyle yakından ilgilidir. Bu iki ışıma henüz gelişimini tamamlamamış prekürsör nöronlara daha etkilidir.

4. Radyasyon ve görünür ışığın nöronlara etkileri, maruz bırakılan nöron kültürlerine uygulama süresi ile yakından ilişkilidir. Özellikle uzun süreli görünür ışığa olan maruziyette dikkat çekici sonuçların alınması buna örnektir.

5. LAZER'le yapılan deneylerde LAZER'in, medikal tedavide uygulanan dozlarda nöronlar üzerine istatistiksel açıdan önemli kabul edilebilecek bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

6. Radyasyon ve görünür ışığın nöronlar üzerine etkileri uygulanan dozla ve şiddetle de yakından ilişkilidir. Radyasyon yüksek dozlarda daha yaygın hasar yapabileceği gibi düşük dozlarda kısmen ve direkt etki ile değil de apoptozis yoluyla, görünür ışık yüksek şiddette yüksek oranda apoptozis yoluyla etki etmiştir.

Sonuçta tıpta tedavi ve tanı amacıyla yaygın olarak kullanılan radyasyon ve görünür ışığın canlı nöronlar üzerine etkileri araştırılmıştır. Şimdiye kadar yapılmış çalışmalar ve bu araştırma sonucunda bu ışınların canlı organizmalar üzerindeki olumlu ve olumsuz etkileri tekrar değerlendirilip daha yeni tekniklerin gelişimine katkıda bulunulabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Fuller GN BP. Central nervous system. In Stenberg SS (ed): Histology for Pathologist, Philadelphia, Lippincott-Raven. 1997;2nd ed.
2. Doetsch F, Caille I, Lim DA, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. Cell. 1999;97(6):703-16.
3. Johansson CB, Momma S, Clarke DL, Risling M, Lendahl U, Frisen J. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. Cell. 1999;96(1):25-34.
4. Eimerl S, Schramm M. The quantity of calcium that appears to induce neuronal death. J Neurochem. 1994;62(3):1223-6.
5. Furukawa K, Fu W, Li Y, Witke W, Kwiatkowski DJ, Mattson MP. The actin-severing protein gelsolin modulates calcium channel and NMDA receptor activities and vulnerability to excitotoxicity in hippocampal neurons. J Neurosci. 1997;17(21):8178-86.
6. Chen ST, Hsu CY, Hogan EL, Halushka PV, Linet OI, Yatsu FM. Thromboxane, prostacyclin, and leukotrienes in cerebral ischemia. Neurology. 1986;36(4):466-70.
7. Pieper AA, Verma A, Zhang J, Snyder SH. Poly (ADP-ribose) polymerase, nitric oxide and cell death. Trends Pharmacol Sci. 1999;20(4):171-81.
8. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. Physiol Rev. 1999;79(4):1431-568.
9. Tübitak. Elektromanyetik dalgalar ve insan sağlığı sıkça sorulan sorular ve yanıtları. wwwbiltektubitakgovtr/sandikgsmpdf. 2001.
10. HASAK SvS, Yardım Vakfı A. Radyasyon ve Sağlık. Teknik Rapor No:1. 1994.

11. Knaw B. Radiation, non-ionizing. Encyclopedia of occupational health and safety ILO Geneva. 1998;vol:2 fourth edition.
12. Kumar C, Robbins. Nervous System. Basic Pathology. 1992.
13. Arıncı KE, A. . Anatomi. 2 Baskı. 1997;2. Cilt:S. 275.
14. 80.251.40.59/sports.ankara.edu.tr/koz/fizyoloji/sinir.pdf.
15. Guyton ACH, J.E. Textbook of medical physiology. 2001.
16. CU. R. Apoptosis and cutaneous biology. J Am Acad Dermatol. 1997;36:885-96.
17. Kam PCA FN. Apoptosis: mechanisms and clinial implications. Anaesthesia. 2000;55:1081-93.
18. Alles A AK, Barrett JC et al. Apoptosis: a general comment. FASEB J. 1991;5: 2127-8.
19. Kerr JFR WA, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer. 1972;26: 239-57.
20. Nai-Kang KBS PE. Apoptosis: Programmed cell death. Arch Surg. 1998;133:773-5.
21. Delhalle S DA, Schnekenburger M, et al. An introduction to the molecular mechanisms of apoptosis. Ann NY Acad Sci. 2003;1010:1-8.
22. Melino G KR, Nicotera P. How many ways to die? How many different models of cell death? Cell Death Diff. 2005;12:1457-62.
23. OKTEN T. PATOLOJİYE GİRİŞ (HÜCRE HASARI ve ÖLÜMÜ) http://wwwsteteskopnet. 2013.
24. Kumar V CR, Robbins SL. Cell Death and Adaptation. Basic Pathology. 2000.
25. Büyükyıldız M. EDXRF VE WDXRF SPEKTROMETRİK ANALİZLERİNDE MATRİS SOĞURMA ETKİLERİNİN DÜZELTİLMESİ. 2011:1, 31, 2.

26. R. M. Beyin Işınlamalarının Geç Yan Etkileri ve Yaşam Kalitesi. Türk Nöroşirurji Dergisi. 2007;3(Radyasyonun Bilişsel Fonksiyonlara Etkileri):139-48.

27. Taphoorn MJ KM. Cognitive deficits in adult patients with brain tumours. Lancet Neurol. 2004;3(3):159-68.

28. W. S. Effects of Atomic Radiation. New York : Wiley-Liss. 1995.

29. Wagner LK RG, Lester and Luis R, Saldana. Exposure of the Pragnant Patient to Diagnostic Radiation A Guide to Medical Management, Medical Physics Publishing, madison, Wisconsin. 1997.

30. Yang M, Song MS, Kim SH, Kim JC, Kim JS, Shin T, et al. Cytotoxicity of gamma-ray in rat immature hippocampal neurons. J Vet Sci. 2011;12(3):203-7.

31. Kim JS, Lee HJ, Kim JC, Kang SS, Bae CS, Shin T, et al. Transient impairment of hippocampus-dependent learning and memory in relatively low-dose of acute radiation syndrome is associated with inhibition of hippocampal neurogenesis. J Radiat Res. 2008;49(5):517-26.

32. Moore AH, Olschowka JA, Williams JP, Paige SL, O'Banion MK. Radiation-induced edema is dependent on cyclooxygenase 2 activity in mouse brain. Radiat Res. 2004;161(2):153-60.

33. Song MS, Kim JS, Yang M, Kim SH, Kim JC, Park SH, et al. Gamma-ray susceptibility of immature and mature hippocampal cultured cells. J Vet Med Sci. 2010;72(5):605-9.

34. Yoshida Y, Suzuki Y, Al-Jahdari WS, Hamada N, Funayama T, Shirai K, et al. Evaluation of the relative biological effectiveness of carbon ion beams in the cerebellum using the rat organotypic slice culture system. J Radiat Res. 2012;53(1):87-92.

35. Al-Jahdari WS, Suzuki Y, Yoshida Y, Hamada N, Shirai K, Noda SE, et al. The radiobiological effectiveness of carbon-ion beams on growing neurons. Int J Radiat Biol. 2009;85(8):700-9.

36. Okamoto M, Suzuki Y, Shirai K, Mizui T, Yoshida Y, Noda SE, et al. Effect of radiation on the development of immature hippocampal neurons in vitro. Radiat Res. 2009;172(6):718-24.

37. Inouye M, Hayasaka S, Takahashi S, Kubota Y, Murata Y. A comparison of effects between accelerated heavy ion irradiation and X-irradiation on the development of rat cerebellum. Environ Med. 1999;43(1):69-71.

38. Michelin S, del Rosario Perez M, Dubner D, Gisone P. Increased activity and involvement of caspase-3 in radiation-induced apoptosis in neural cells precursors from developing rat brain. Neurotoxicology. 2004;25(3):387-98.

39. Speck WTR, H.S. The bilirubin-induced photodegradation of DNA. Pediatr Res. 1975(9):703-5.

40. Lewin B. Genes IV. Oxford University Press. 1990:376-90.

41. Marshall RRS, D. The relationship between chromosome damage and cell killing in UV-irradiated normal and xeroderma pigmentosum cells. Mutation Res. 1976(36):397-400.

42. Parrington MJ. UV-induced chromosome aberrations and mitotic delay in human fibroblast cells. Cytogenetics. 1972(11):117-31.

43. Sandor G. Phototerapy and Chromosome Structure. The Lancet. 1973(15):1384 5.

44. kato h. Induction of SCE by UV light and its inhibition by caffeine. Experimental Cell Res. 1973(82):383-90.

45. Rosenstein BRD, J.M. Enhancement by bilirubin of DNA damage induced in human cells exposed to phototerapy light. Pediatr Res. 1984(18(1)):3-7.

46. Parshad RS, K.K. Jones, G.M. Tarone, E.T. Fluorescent light-induced chromosome damage and its presention in mouse cells in culture. Proc Natl Acad Sci USA 1978;75(4):1830-3.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Deneysel Nöron Hücre Kültüründe Gama Işını, Lazer, X Işını, ve Görünür Işık Işınlarınının Hücrelerindeki Canlılık Oranlarına, Total Oksidan ve Antioksidan Parametrelere, Kalsiyum, Potasyum ve Sodyum Elementlerinin Konsantrasyonuna Etkilerinin İncelenmesi

Dr. Abdullah ÇOLAK

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 18.11.2008
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 20.03.2014
Uzmanlık Sınavı Tarihi : 20.03.2014
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Mürteza ÇAKIR
Jüri üyesi : Prof. Dr. Hakan Hadi KADIOĞLU
Jüri üyesi : Yrd. Doç. Dr. Mürteza ÇAKIR
Jüri üyesi : Yrd. Doç. Dr. Çağatay ÇALIKOĞLU
Jüri üyesi : Prof. Dr. Suat EREN
Jüri üyesi : Prof. Dr. Hızır ULVİ

Prof. Dr. Hakan Hadi KADIOĞLU
Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

MART-2014
ERZURUM