

T. C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İN VİTRO ORTAMDA RADYASYONA MARUZ BIRAKILAN İNSAN KAN
HÜCRELERİNİN SİTOLOJİK, SİTOGENETİK VE SİTOKİMYASAL YÖNDEN
ARAŞTIRILMASI

M. BETÜL ÜNVER

HAZİRAN 2008

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Zafer BAHÇECİ

Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Yrd. Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

ÖZET

İN VİTRO ORTAMDA RADYASYONA MARUZ BIRAKILAN İNSAN KAN HÜCRELERİNİN SİTOLOJİK, SİTOGENETİK VE SİTOKİMYASAL YÖNDEN ARAŞTIRILMASI

ÜNVER, M. Betül

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Haziran 2008, 62 sayfa

Bu çalışmada, iyonize radyasyonun *in vitro* ortamda insan kan hücreleri üzerine etkisi araştırıldı.

Bu amaçla 20-25 yaş arasında, 5'i sigara kullanan, 5'i kullanmayan 10 bay ve 10 bayandan oluşan 20 sağlıklı bireyden elde edilen kan örneklerine 1000 cGy dozunda gama radyasyonu uygulandı. Daha sonra bu bireylerin kan örneklerindeki mikronükleus oluşumu, kromozom hasarı ve diğer hücresel hasarlar gibi dejeneratif değişiklikler Nikon Elipse E600 marka ışık mikroskobu ile belirlendi. Kan örneklerinin alkalin fosfataz (ALP) ölçümlerinde Modüler P800 marka analiz cihazı kullanıldı. Uygulama sonuçları, radyasyonun kan hücrelerinde membran hasarı, vakuolizasyon ve mikronükleus oluşumu gibi sitolojik hasarlara ve kırık, disentrik, halka (ring)

ve boşluk (gap) gibi kromozom hasarlarına neden olduğunu gösterdi. Buna ilave olarak ALP ölçümleri sonucunda, bazı örneklerin ALP düzeylerinde artış gözlenirken, bazı örneklerin ALP düzeylerinde ise düşüş gözlemlendi. ALP düzeylerindeki bu artış ve düşüşler radyasyonun etki mekanizmaları ile ilişkili olabilir.

Bu çalışma sonuçları terapide kullanılan iyonize radyasyonun korunulması gerekli bir etken olduğunu gösterdi çünkü o sağlıklı kan hücrelerinde morfolojik, kromozomal ve biyokimyasal hasarlara neden olabilir.

Anahtar Kelimeler : İyonize Radyasyon, Mikronükleus, Morfolojik Hasar

Kromozom Hasarı, Alkalen Fosfataz (ALP).

ABSTRACT

INVESTIGATION OF HUMAN BLOOD CELLS EXPOSED TO RADIATION
IN VITRO BY CYTOLOGICAL, CYTOGENETIC AND CYTOCHEMICAL
METHODS

ÜNVER, M. Betül

Kırıkkale University

Graduate School Of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M. Sc. Thesis

Supervisor : Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

June 2008, 62 pages

In this study, the effects of ionizing radiation on human blood cells *in vitro* have been investigated.

With this aim 1000 cGy doses of gamma radiation was exposed to the blood samples which were taken from 20 healthy individuals aged between 20-25, 5 of 10 males and 5 of 10 females were smoking. Subsequently degenerative changes such as micronucleus formation, chromosomal aberrations and other cell defects in blood samples of these individuals were observed under Nikon Elipse E600 model light microscop. Modular P800 analyser was used to determine alkaline phosphatase (ALP) level of blood samples. Results of the experiments have shown that radiation caused the cytological damages such as membrane deffect, vacuolation, micronucleus

formation and chromosome defects such as break, disentric, ring and gap in blood cells. In addition an increase in some ALP levels and a decrease in some ALP levels of blood samples were observed. This increase and the decrease in ALP levels maybe related to the effect of radiation mechanisms.

The results of this study have shown that, it is necessary to safeguard from ionizing radiation which used for therapy. Because it may cause morphological, chromosomal and biochemical damages on healthy blood cells.

Key Words: Ionizing Radiation, Micronucleus, Morphological Damage
Chromosomal Damage, Alkaline Phosphatase (ALP).

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım sırasında değerli bilgi ve önerileriyle beni yönlendiren tez danıőmanım Sayın Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA'a teşekkür ederim.

Ayrıca çalıőmalarımda özverili katkılarından dolayı Sayın Yrd. Doç Dr. Kültiğin ÇAVUŞOğLU'na ve istatistiksel analizlerdeki yardımlarından dolayı Sayın Arő. Gör. Abdullah YILMAZ'a teşekkür ederim.

Daima maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan değerli anne ve babama da teőekkürü bir borç bilirim.

SİMGELER DİZİNİ

U/L	Mikron cinsinden litredeki enzim miktarı
X-ışını	Elektromanyetik bir radyasyon çeşiti
cGy	Uygulanan radyasyon dozu birimi (santi Gray)

KISALTMALAR

ALP	Alkalen fosfataz
-----	------------------

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

3.1.	Normal bir nötrofil hücrenin görünümü.....	20
3.2.a.	Normal bazofil hücrelerinin görünümü.....	20
3.2.b.	Normal bazofil hücrelerinin görünümü.....	21
3.3.	Normal bir eozinofil hücrenin görünümü.....	21
3.4.	Normal bir lenfosit hücrenin görünümü.....	22
3.5.	Normal bir monosit hücrenin görünümü.....	22
3.6.	Normal alyuvar hücrelerinin görünümü.....	23
3.7.a.	Radyasyon etkisiyle alyuvar hücrelerinde meydana gelen şekil bozukluğunun görünümü.....	23
3.7.b,c.	Radyasyon etkisiyle alyuvar hücrelerinde meydana gelen şekil bozukluğunun görünümü.....	24
3.7.d.	Radyasyon etkisiyle alyuvar hücrelerinde meydana gelen şekil bozukluğunun görünümü.....	25
3.8.	Radyasyon etkisiyle alyuvar hücrelerinde meydana gelen vakuolizasyon görünümü.....	25
3.9.a,b.	Radyasyon etkisiyle tamamen tahrip olmuş alyuvar hücrelerinin görünümü.....	26
3.10.	Radyasyon etkisiyle alyuvar hücrelerinde oluşan mikronükleus görünümü.....	27
3.11.	Radyasyon etkisiyle alyuvar hücrelerinde oluşan şekil bozukluğunun görünümü.....	27
3.12.	Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait alyuvar sayıları.....	30

3.13.	Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde oluşan mikronükleus sayıları.....	31
3.14.a.	Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait kromozom kırığı içeren metafaz görüntüleri.....	32
3.14.b,c.	Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait kromozom kırığı içeren metafaz görüntüleri	33
3.14.d.	Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait kromozom kırığı içeren metafaz görüntüleri.....	34
3.15.a.	Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait disentrik kromozom içeren metafaz görüntüleri.....	34
3.15.b.	Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait disentrik kromozom içeren metafaz görüntüleri.....	35
3.16.a.	Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait halka (ring) kromozom içeren metafaz görüntüleri.....	35
3.16.b.	Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait halka (ring) kromozom içeren metafaz görüntüleri.....	36
3.17.a.	Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait boşluk (gap) kromozom hasarı içeren metafaz görüntüleri.....	36
3.17.b.	Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait boşluk (gap) kromozom hasarı içeren metafaz görüntüleri.....	37
3.18.	Radyasyon etkisiyle akyuvar hücrelerine ait erken sentromer ayrılması içeren metafaz görüntüsü.....	37
3.19.	Radyasyon etkisiyle akyuvar hücrelerine ait fragment (kırılmış parça) içeren metafaz görüntüsü.....	38

3.20.	Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde görülen kırık şeklindeki kromozom mutasyonu sayısı.....	42
3.21.	Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde görülen disentrik şeklindeki kromozom mutasyonu sayısı.....	43
3.22.	Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde görülen halka (ring) şeklindeki kromozom mutasyonu sayısı.....	44
3.23.	Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde görülen boşluk (gap) şeklindeki kromozom mutasyonu sayısı.....	45
3.24.	Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerindeki anormal kromozom sayısına sahip metafaz (anöplöidi) değerleri.....	46
3.25.	Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait serum ALP değerleri.....	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

2.1. Kan örnekleri incelenen 20-25 yaş arasındaki bireylerin özellikleri ve uygulanan deneysel aşamalar.....	18
3.1. Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait mikronükleus ve akyuvar sayıları.....	29
3.2. Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerine ait lenfosit hücrelerindeki kromozom hasarı değerleri.....	40
3.3. Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin lenfosit hücrelerinde anormal kromozom sayısına sahip metafaz (anöploidi) değeri ve yüzdesi.....	41
3.4. Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait serum ALP değerleri.....	48

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
İÇİNDEKİLER.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
1.1. İyonize radyasyonun kan hücrelerine morfolojik etkisi.....	7
1.2. İyonize radyasyonun kromozomlara morfolojik etkisi.....	8
1.3. Serum ALP düzeyi.....	10
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	13
2.1. Kan hücrelerindeki morfolojik hasarın belirlenmesi.....	13
2.2. Kromozom eldesi ve kromozom hasarının belirlenmesi.....	14
2.2.1. Hücre kültürünün hazırlanması.....	14
2.2.2. Hücre inkübasyonu.....	14
2.2.3. Hipotonik işlem.....	15
2.2.4. Yıkama işlemi.....	15
2.2.5. Yayma işlemi.....	15
2.2.6. Boyama işlemi.....	16
2.3. İstatistiksel analiz.....	16
2.4. Serum ALP ölçümü.....	17

3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	19
3.1. Kan hücrelerindeki morfolojik hasarlar.....	19
3.2. Kromozom hasarları.....	32
3.3. Serum ALP düzeyleri.....	47
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	50
4.1. Kan hücrelerindeki morfolojik hasarlar.....	50
4.2. Kromozom hasarları.....	52
4.3. Serum ALP düzeyleri.....	55
KAYNAKLAR.....	58

1. GİRİŞ

Günümüzde radyasyondan farklı amaçlarla yararlanılmaktadır. Yan etkileri de olduğu bilinen radyasyonun insan yararına kullanılması sırasında toplum sağlığı ön planda tutulmalıdır. Bu nedenle radyasyonun canlılar üzerinde oluşturduğu biyolojik etkilerin ve radyasyondan korunma yöntemlerinin iyi bilinmesi gerekir⁽¹⁾.

Radyoaktiflik tanımı ilk kez 1895 yılında Wilhelm Röntgen'in X-ışınlarını keşfinden sonra kullanılmaya başlandı ve 1896 yılında Henry Becquerel'in uranyumun gözle görülemeyen ışınlar yaydığını belirlemesiyle literatüre girdi. Bu buluşların ardından Marie ve Pierre Curie tarafından başka radyoaktif elementler de bulunarak izole edildi⁽²⁾.

Radyasyonu en temel anlamda "ortamda yol alan enerji" olarak tanımlamak mümkündür. Yani doğal ya da yapay radyoaktif çekirdeklerin kararlı yapıya geçebilmek için dışarı saldıkları hızlı parçacıklar ve elektromanyetik dalga şeklinde taşınan enerjiler "radyasyon" olarak adlandırılır. Radyasyon iyonize ve iyonize olmayan radyasyon şeklinde ikiye ayrılır. Radyo dalgaları, mikrodalga, kızıl ötesi ışınlar (ısı), görünebilir dalga boyundaki ışınlar ile mor ötesi ışınlar iyonize olmayan radyasyonu meydana getirirken, X-ışınları, gama ışınları ve kozmik ışınlar iyonize radyasyonu oluşturur⁽³⁾.

X-ışınları ve radyoaktivitenin keşfiyle birlikte radyasyonun tıp, endüstri ve tarım alanlarındaki kullanımı günümüze kadar giderek arttı ve radyasyonu yaşantımızın ayrılmaz bir parçası haline getirdi. Özellikle tıp alanında

radyoterapi uygulamalarına çok fazla gereksinim duyulmaktadır. Tıpta hastalıkların araştırılması, teşhis ve tedavisinde radyasyon geniş bir uygulama alanına sahiptir ve bu amaçlar için kullanılan radyasyonun dozu da farklılık gösterir⁽⁴⁾.

Dünya üzerinde canlılar hem yer kabuğu (^{238}U , ^{232}Th ve ^{40}K), hem de uzay kökenli (nötronlar, protonlar, elektronlar ve müyonlar) doğal kaynaklardan yayılan radyasyonlara tüm yaşamları boyunca maruz kalır. Ayrıca uzaydan gelen kozmik ışınların dünya atmosferinde bulunan gazlar ve yer kabuğu orijinli bazı radyoaktif elementler ile reaksiyona girmeleri sonucu üretilen bazı radyoaktif izotoplar da bulunur. Bunlardan en önemlileri ^{14}C ve ^3H tür⁽⁵⁾.

İnsan doğal radyasyonun yanı sıra, hızla ilerleyen teknolojiye kaynaklanan yapay radyasyonlara da maruz kalmaktadır. Nükleer bomba denemelerinden kaynaklanan radyoaktif serpintiler, Çernobil benzeri nükleer kazalardan kaynaklanan serpintiler, nükleer reaktörlerin işletilmesi sırasında ortaya çıkan radyoaktif maddeler, tıpta kullanılan radyoaktif kaynaklar, bilim ve teknoloji alanındaki uygulamalarda kullanılan radyasyon kaynakları, televizyon ve radyo gibi çeşitli cihazlardan yayılan radyoaktif ışınlar en önemli yapay radyasyon kaynakları olarak gösterilir⁽⁶⁾.

İnsanların maruz kaldığı doğal ve yapay radyasyonun miktarı, yaşanılan yere ve çevre koşullarına bağlı olarak yılda yaklaşık 2-3 mSv civarındadır⁽⁷⁾.

Radyasyon teknolojisi yaşamı kolaylaştırmasının yanında radyasyona maruz kalmaya bağlı pek çok sağlık sorununu da beraberinde getirmiştir. Bu

sağlık sorunları içerisinde ikincil kanser vakalarının gelişimi, Akut Radyasyon Sendromu (ARS), radyolojik yanıklar, fibrozis, sklerozis, nekrozis, katarakt, cilt ülserasyonu, sperm üretiminde azalma ve kan değerlerindeki değişimler ile daha temel seviyede hücre ve doku tahribatı, genetik mutasyonlar ve kromozomal hasarlar gösterilmektedir⁽⁸⁾.

Radyasyonla yapılan çalışmalarda sonuca ulaşabilmek ve oluşacak zararlı biyolojik etkileri belirleyebilmek amacıyla uygulanan ya da maruz kalınan radyasyon miktarının bilinmesi gerekir. Uluslararası birimler sisteminde (SI) doz için bazı birimler tanımlanmıştır. Bunlar Becquerel, Röntgen, Rem, Rad ve Gray'dir. Becquerel (Bq), radyoaktif maddenin saniye başına bozunma sayısını gösteren aktivite birimi olarak tanımlanır. Röntgen, normal hava şartlarında (0 °C ve 760 mm Hg basıncı) havanın 1 kg'ında 2.58×10^{-4} Coulomb'luk elektrik yükü değerinde + ve – iyonlar oluşturan X ve gama radyasyon miktarıdır. Rem, 1 röntgenlik X ve gama ışını ile biyolojik etkiyi oluşturan herhangi bir radyasyon miktarıdır. Rad, ışınlanan maddenin 1 kg'ına 10^{-2} Joule'luk enerji veren radyasyon miktarıdır. Gray (Gr) ise günümüzde radyasyon dozunu ifade etmede kullanılan en temel birimdir ve ışınlanan maddenin 1 kg'ına 1 Joule'luk enerji veren radyasyon miktarı olarak tanımlanır⁽⁷⁾.

Radyasyonun etkileri maruz kalınan akut doz miktarına göre değişmektedir. 0-250 mGy arasındaki radyasyonun saptanabilen herhangi bir klinik etkisinin olmadığı fakat düşük bir olasılıkla gecikmiş etkisinin görülebileceği rapor edilmiştir. 250-1000 mGy arasındaki radyasyonun tedavi edilebilir küçük yaralara ve bulantıya neden olabileceği, kesin olmamakla

birlikte ciddi geç etkilerinin ortaya çıkabileceği rapor edilmiştir. 1000-2000 mGy radyasyona maruz kalmada bulantı ve yorgunluk hissi ile birlikte kusma meydana gelebileceği, kan hücrelerinde hasar görülebileceği, ancak bu durumun tedavi edilebileceği bildirilmiştir. 2000-3000 mGy arasındaki radyasyona maruz kalmada ilk gün bulantı ve kusma gelişebileceği, iki haftalık gelişim süreci sonunda iştah kaybı, ishal ve kilo kaybı şeklinde etkilerinin olabileceği bildirilmiştir. 3500 mGy'den daha fazla radyasyon etkisinde kalanlardan %50'sinin yaşamını kaybedebileceği, 6000 mGy ve üzerindeki dozlarda birkaç saat içinde bulantı, kusma ve ishalin gelişebileceği, hızlı bir kilo kaybıyla beraber ikinci haftadan itibaren maruz kalanların hemen hemen tamamının yaşamını kaybedebileceği rapor edilmiştir. 10 Gy ve daha yüksek dozda radyasyonun çok yüksek oranda zarara yol açabileceği, sindirim sistemini felce uğratabileceği, böyle bir durumda ise ölümün gerçekleşebileceği bildirilmiştir. 100 Gy'den fazla akut doza maruz kalma sonucu bütün vücut dokusunun hasara uğrayacağı, etkinin en hızlı beyin ve sinir sisteminde görüleceği ve saatler içinde ölümün gerçekleşebileceği bildirilmiştir. En önemlisi ise, Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı radyasyonun en zararlı etkisinin psikolojik olduğunu rapor etmiştir⁽⁹⁾.

Radyasyonun biyolojik etkileri nonsitokastik ve sitokastik etkiler şeklinde sınıflandırılabilir. Nonsitokastik etki, dozun artışı ile çok daha şiddetlenen etkidir. Katarakt, kandaki değişiklikler ve sperm üretimindeki azalma radyasyonun nonsitokastik etkisidir. Sitokastik etki, radyasyonun düşük dozlarında oluşabilen etkidir. Bu etki dozun artışı ile doğru orantı göstermez. Doz miktarı arttığında hasarın büyüklüğü değil, hastalığın ya da

hasarın ortaya çıkma olasılığı artar. Kanser oluşumu ve genetik etkiler sitokastik etkiler grubuna dahil edilir⁽¹⁰⁾.

Radyasyonun moleküler düzeydeki etkileri doğrudan ve dolaylı yollarla gerçekleşir. İyonlaştırıcı radyasyon hücrede DNA, RNA ve protein gibi önemli bir biyolojik moleküle doğrudan isabet ettiğinde molekülü deforme ederek biyolojik olarak yararlı olmayan parçacıklara ayrışmasına neden olur. X-ışınlarının etki ettiği hücrede radyasyonun karşılaştığı moleküllerin atomlarından elektron koparması sonucu kararlı (stabil) moleküller ve atomlar serbest radikallere, reaktif iyonlara dönüşür. Bu iyonların başlattığı çeşitli kimyasal reaksiyonlar doğrudan veya dolaylı olarak genetik materyali etkiler ve pürin ve pirimidinleri değiştirerek nokta mutasyonları oluşturur. İyonize radyasyon fosfodiester bağlarını da kırarak kromozomların bütünlüğünü bozar ve çeşitli hasarlar meydana getirir. Radyasyonun dolaylı etkisinde ise, iyonize radyasyon sonucu oluşan bazı ara ürünler bir dizi kimyasal reaksiyona girerek moleküllerin değişmesine neden olur. İyonize radyasyon hücrede bol miktarda bulunan su molekülünün ayrışmasına sebep olarak, canlı hücrede negatif ve pozitif iyonlar veya yüksek enerjili radikaller oluşturur. Bu tür serbest radikaller suyu parçalayabilir ve zararlı bir biyokimyasal madde olan hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumuna neden olur. Serbest radikaller, oksijen ile reaksiyona girerek, hücre içinde, hidrojen peroksitten daha sakıncalı olan yeni peroksi radikallerin oluşumuna da sebep olabilir. Ayrıca oluşan serbest radikaller, hücrede yeni reaksiyonlar aracılığı ile yeni serbest radikallerin oluşumlarını, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını, DNA zincir kırılmalarını mutajenik ve karsinojenik etkileri oluşturabilir^(2,11).

Radyasyona tamamiyle dirençli hiçbir hücre yoktur. Radyasyonun hücre düzeyindeki en belirgin etkilerinden biri hücre bölünmesini baskılamasıdır. Hücre bölünmesi (mitoz) sırasında radyasyona maruz kalan hücrelerde büyüme kesintiye uğrar. Bir hücre bölünmesinin tamamlanmasından bir sonraki bölünmeye kadar geçen olaylar, hücre döngüsünü oluşturur. Hücre döngüsünün başlangıç evresi interfaz evresidir. İnterfaz G_1 , S ve G_2 evrelerinden oluşur. G_1 'in geç bir noktasında bütün hücreler ya döngüden çıkarak bölünmenin olmadığı G_0 evresine girer, ya da yeni bir döngü için DNA sentezini başlatarak S fazına girer. G_0 'a giren hücreler canlı ve metabolik olarak aktif kalırlar fakat çoğalmazlar. G_1 , S ve G_2 evreleri tamamlandıktan sonra mitoz başlatılır. Hücreler G_2 evresi ve mitoz sırasında hücre ölümüne en duyarlıdır. Mitoz sırasında radyoduyarlılık yaklaşık dört kat daha fazladır. Hücre döngüsünün interfaz evresine ait S ve G_0 fazındaki hücrelerde radyasyona karşı daha yüksek bir rezistans görülür. S fazındaki rezistansın DNA kırıklarını hızlı onarabilme yeteneğine sahip olan sentez enzimlerinin varlığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Radyasyonun, hücre zarındaki madde taşınımının değişmesine de sebep olduğu bilinmektedir. Radyasyon sonucu hücre zarının çift tabakalı lipid yapısında ve zar protein moleküllerindeki iyonizasyon, molekülleri inaktive ederek transport mekanizmaları bozar. Hücre döngüsünün interfaz safhasında hücrelerin ölmesinden, özellikle de lenfositlerin radyasyona aşırı duyarlılığından bu mekanizmanın sorumlu olduğu düşünülür. Değişik hücre tiplerinin radyasyona karşı duyarlılık dereceleri farklılık gösterir. Örneğin lenfositler, olgunlaşmamış hemopoetik hücreler, intestinal epitel hücreleri, spermatogonia, ovaryum folikül hücreleri radyasyona en duyarlı hücrelerken,

mesane epitel hücreleri, ösefagus epiteli, mide mukozası, epidermal epitel ve optik lens epitel hücreleri radyasyona çok duyarlı olan hücrelerdir. Endotel, büyüyen kemik ve kartilaj, fibroblast, glial hücreler, meme glandüler epiteli, akciğer epiteli, böbrek epiteli, karaciğer epiteli, pankreas epiteli, tiroid epiteli ve böbrek üstü bezi epitel hücreleri radyasyona orta derecede duyarlı hücrelerken, olgun eritrositler, kas hücresi, olgun bağ dokusu, olgun kemik ve kartilaj ile gangliyon hücrelerinin ise radyasyona en az duyarlılık gösteren hücreler olduğu bilinmektedir^(4,10,11).

1.1. İyonize radyasyonun kan hücrelerine morfolojik etkisi

Kemik iliği, dalak, lenf bezleri gibi kan yapan organlar radyasyona karşı duyarlıdır. Kan hücreleri içerisinde lökositler, özellikle de lenfositler radyasyona en çok duyarlı olan hücrelerdir. Bunu sırasıyla eritrosit ve trombositler izler. Özellikle eritrositlerde, iyonize radyasyona maruz kalınması durumunda, aşırı derecede serbest radikal oluşumundan kaynaklanan hücresel hasarlar görülebilir. Eritrositlerin oksijen taşıma rolleri, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu daha da artırır. Eritrosit hücreleri kemik iliğindeki üretim safhalarının ilk dönemlerinde yani olgunlaşmamış dönemde radyasyona karşı oldukça duyarlı olmalarına rağmen, olgunlaşmalarını tamamlamaları ile bu duyarlılıklarını yitirmeye başlarlar. Benzer şekilde trombositler de kök hücrelerinden oluşum safhalarında radyasyona karşı oldukça duyarlıdır. Bu hücrelerin de olgunlaştıkça radyasyona karşı duyarlılıkları giderek azalır. Trombosit kök hücreleri olgunlaşma safhasında radyasyona maruz kalırsa kandaki miktarları azalabilir^(4,12).

Mikronükleus (MN) analizi, lenfositlerde radyasyonun neden olduğu hasarların belirlenmesinde kullanılan oldukça önemli sitogenetik yöntemlerden biridir. Mikronükleus hücre sitoplazması içerisinde ana çekirdeğin dışında fakat çekirdek ile şekil, yapı ve boyanma özellikleri bakımından aynı olan küçük küresel yapılardır. Radyasyona maruz kalmış lenfositlerde mikronükleus oluşumu, hasar gören kromozomlar ve onların asentrik parçaları veya mitotik iğdeki hatalar sonucu kromozomun tamamının kutuplara çekilememesi sonucu gerçekleşir. Hücredeki mikronükleus sayısı maruz kalınan radyasyon dozuna, yaşa, cinsiyete, alkol ve sigara kullanımına bağlı olarak değişebilir. Mikronükleusun kadınlarda erkeklere göre, yaşlılarda gençlere göre, sigara kullananlarda kullanmayanlara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca X ve Y kromozomlarının vücut kromozomlarına göre daha fazla mikronükleus oluşumuna neden olduğu görülmekle birlikte insan lenfositlerindeki kromozom 1, 9 ve 16'nın da sıkça mikronükleus oluşumuna katıldığı bildirilmektedir^(1,12).

1.2. İyonize radyasyonun kromozomlar üzerine etkisi

İyonize radyasyonun kromozomlar üzerinde oluşturduğu hasar 20. yy başlarından beri bilinir. X-ışınları ve gama ışınlarının kromozomlar üzerine etkisi ile ilgili olarak *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. İlk olarak Hermann J. Müller X-ışınlarının *Drosophila*'da kromozom hasarına neden olduğunu 1927 yılında rapor etmiştir. 1928 yılında Lewis J. Stadler X-ışınlarının arpa üzerinde aynı etkiyi yaptığını belirtmiştir. Radyasyonun kromozomlar üzerine etkisini belirleyebilmek amacıyla çekirge ve rat testisleri, amfibi larva hücreleri, *Ascaris* yumurtaları ile *Tradescantia*

mikrosporları ve *Vicia* bitkilerinin kökleri üzerinde de çalışmalar yapılmıştır^(11,12).

Radyasyonun sebep olduğu kromozom hasarlarının belirlenmesinde, son yıllarda lenfositler kullanılmaktadır. Bunun nedeni radyasyona karşı son derece duyarlı olmaları, dolaşımında bölünmemeleri, *in vitro* şartlarda aynı anda bölünmeye başlamaları ile disentrik oluşumu ve kromozom kırığı gibi kromozom anomalilerinin kolay bir şekilde tespit edilmesine olanak sağlamalarıdır⁽¹³⁾.

Hücreyi oluşturan yapılardan çekirdek ve özellikle de bölünme halindeki kromozomlar, hücre sitoplazmasına göre radyasyona çok daha duyarlıdır. Kromozom yapısında genetik şifreyi taşıyan DNA'ya bağlanan, histon adı verilen proteinler bulunur. DNA ve histondan meydana gelen bu yapı kromatini oluşturur. Kromatin iplik ise kısalıp kalınlaşarak kromozomu meydana getirir. Radyasyonun etkisi makro düzeyde kromozom mutasyonları şeklinde gözlenir. Bu hasarlar karsinojenik olabileceği gibi hücrenin ölümüne de neden olabilir. Kromozomlarda radyasyonun etkisiyle oluşan değişmelerin bir çoğu, DNA zincirindeki ani kırılmalardan kaynaklanabilir. DNA zincirindeki kırıklar, molekül fonksiyonunu çeşitli şekilde bozarak genetik kodu değiştirebilir. Genetik kodun değişmesi ise mutasyon frekansında bir artışa neden olur. DNA'nın oluşumu esnasında, bir bazın iyonlaşması sonucu, guanin-timin veya adenin-sitozin gibi yanlış baz eşleşmeleri oluşabilir. Bu da genetik şifrede kalıtsal değişmelere neden olur⁽⁴⁾.

İyonize radyasyonla ışınlama sonucu oluşan DNA ve kromozom hasarları tamir edilebilir, tamir edilmeden kalabilir veya yanlış tamir edilebilir.

Yanlış tamir sonucunda disentrik, trisentrik ve halka (ring) kromozomlar gibi kararsız kromozom değişmeleri ve translokasyonlar gibi kararlı kromozom değişmeleri ortaya çıkar. Fakat translokasyonlar kimyasalların etkisi ile de oluşmaktadır ve radyasyon ile kimyasallar tarafından oluşturulan translokasyonları birbirlerinden ayırt etmek mümkün olmadığı için disentrik ve ring kromozomlar radyasyonun kromozomlara olan etkilerini belirlemede kullanılan en önemli biyolojik belirleyicilerdir^(12,13).

Disentrik kromozom hasarları radyasyona özgüdür ve yalnızca bir kaç özel radiomimetrik kimyasal (bleomisin, endoksan vs.) tarafından oluşturulabilir. Disentrik kromozomların doğal görülme sıklığı düşüktür (1/2000) ve kolay belirlenirler. Bazı araştırmacılar doz tahminlerinde disentriklerle birlikte ring kromozom hasarlarını da kullanmaktadır. Serbest asentrikler, disentrik ve ring kromozom hasarlarından bağımsız olarak bulunur. Bu hasarlar radyasyondan farklı etkenlerle de oluşabildikleri için tek başlarına radyasyonun kromozomlara olan etkisini belirlemede yeterli değildirler⁽¹⁾.

Canlıların genetik özellikleri kromozomlarda taşındığı için radyasyonun kromozomlarda oluşturduğu hasarlar toplum sağlığı açısından oldukça önemlidir. Bu konuda elde edilen her veri diğer çalışmaların sonuçları ile birleştirilerek, radyasyonun neden olduğu muhtemel sağlık sorunlarının giderilmesi amaçlanmalıdır.

1.3. Serum ALP düzeyi

Alkalin fosfataz (ALP), bakterilerden memelilere kadar bütün canlılarda bulunan ve alkali bir ortamda çeşitli monofosfat esterlerinin

hidrolizini katalizleyen bir enzimdir. İnsan vücudundaki her hücre yaşamı boyunca en az bir defa da olsa bu enzimi sentezler. ALP miktarı hücre büyüme süresince değişiklik gösterir. ALP, hücrelerin dış yüzeyinde lokalize olur. Hücre membranına glikozilfosfatidilinositol (GPI) ile bağlanan ALP, serum, vücut sıvısı ve bazı kanser hastalarının tümörlü dokularında da bulunur ve bu tür hastalıklarda hasarların takip edilmesinde kullanılır⁽¹⁴⁾.

ALP, kemiğin gelişme süresinde, kemikleşme aşamalarında oldukça önemli görevler üstlenen bir seri hidrolitik ve katalitik enzimler arasında yer almaktadır. Başlıca ALP kaynakları; karaciğerde safra kanaliküllerini örten hücreler, kemik dokusunda osteoblastlar ve gebe kadınlarda plasentadır. Hızlı kemik gelişiminin olduğu dönemde ve gebeliğin son trimesteri serum ALP düzeyinin arttığı fizyolojik durumlardır. Paget hastalığı, kemik tümörü, osteomalazi, raşitizm, kemik kırıkları ve hiperparatiroidide; tıkanma sarılığı, viral hepatitler, karaciğer maliniteleri, alkole bağlı sirozda ALP düzeyi artar. Karaciğer hücre harabiyetinin olduğu hepatitlerde ALP düzeyi orta derecede yükselir, ancak karaciğer içi ve dışı safra yolları tıkanıklıklarında çok daha yüksek düzeylere ulaşır. Aşırı D vitamini kullanımında ve doğumsal hipofosfatazya gibi durumlarda ALP düzeyi azalır^(15,16).

Alkalen fosfatazlar bugüne kadar pek çok araştırmacı tarafından farklı canlı türlerinin değişik organ ve dokularında saflaştırılmış ve fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Enzim üzerinde yapılan çalışmalar, birbirinden farklı izoenzimlerin varlığını ortaya koymuştur. Farklı hastalarda farklı izoenzimlerin tespit edilmesi, hastalığın tanı ve tedavisine yardımcı olduğu için bu enzimin yapı ve özellikleri üzerindeki çalışmalar devam etmektedir⁽¹²⁾.

Günümüzde radyasyon tıp, endüstri, tarım ve hayvancılık, nükleer santraller ve askeri teçhizat gibi pek çok alanda yaygın bir şekilde kullanılır. Gerek bireysel gerekse de toplumsal olarak (Çernobil vb.) radyasyona maruz kalma, insan ve hücreleri üzerinde pek çok olumsuz durumu ortaya çıkarabilir. Bu nedenle hücreler tarafından absorbe edilen radyasyon dozunun etki mekanizmasının bilinmesi ve takip edilmesi halk sağlığı açısından büyük önem arz eder.

Bu çalışmanın amacı, *in vitro* ortamda 1000 cGy gama radyasyona maruz bırakılan insan kan hücrelerinde radyasyonun meydana getirdiği sitolojik, sitogenetik ve biyokimyasal etkileri araştırmaktır. Bu amaçla kan hücrelerindeki morfolojik ve kromozomal hasarlar ile mikronükleus (MN) oluşumu ve alkalin fosfataz enzim düzeyindeki değişim belirlenerek radyasyonun etkileri araştırıldı.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma farklı cinsiyete sahip, sigara kullanan ve kullanmayan, 20-25 yaş arasındaki 20 sağlıklı bireyden temin edilen kan örnekleri ile gerçekleştirildi. Kan örnekleri alınmadan önce tüm bireylerden yazılı onay alındı. Her bireyden 2'şer ml heparinli ve heparinsiz tüplere toplam 8 ml kan örneği alındı. Alınan kan örneklerinden 4 ml'si (2 ml heparinli tüpten ve 2 ml heparinsiz tüpten) Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda 17 dakika süreyle 1000 cGy dozda gama radyasyona maruz bırakıldı. Radyasyon kaynağı olarak ise Kobalt 60-gama ışını (1.3 MeV) kullanıldı. Geri kalan 4 ml kan örneği ise kontrol grubu olarak kullanıldı. Kan örnekleri incelenen 20-25 yaş arasındaki bireylerin özellikleri ve uygulanan deneysel aşamalar Çizelge 2.1'de verildi.

2.1. Kan hücrelerindeki morfolojik hasarın belirlenmesi

Morfolojik hasarların ve mikronükleus sıklığının belirlenmesi amacıyla bireylerden alınan, 2 ml radyasyon uygulanan ve 2 ml radyasyon uygulanmayan 4 ml kan örneği "BD Vacutainer K3E" marka heparinli steril tüplere alınarak 4°C'de laboratuvar ortamına getirildi. Kan örneklerinden 0.01 ml mikropipet yardımı ile lam üzerine alındı ve diğer bir lam yardımıyla yayılarak kurumaya bırakıldı. Kurutma işleminin ardından kan hücrelerini lam üzerine sabitlemek amacıyla lamlar %70'lik alkolde 5 dakika tespit edildi. Bu süre sonrasında %50'lik Giemsa solüsyonuyla 30 dakika süre ile boyanarak saf suyla yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Kuruyan lamlar daimi preparatlar haline getirildikten sonra mikroskop analizleri "Nikon Elipse E600" marka ışık

mikroskobu kullanılarak gerçekleştirildi. Mikronükleus ve hücre hasarları tespit edilerek fotoğrafları çekildi ve mikronükleusların belirlenmesinde aşağıdaki kriterler temel alındı.

- a) Sitokalsinin yokluğunda mikronükleus analizleri mononükleer hücreler sayılarak gerçekleştirilir.
- b) Mikronükleusun uzunluğu hücrenin temel çekirdeğinin 1/3'ü kadar veya daha kısa olmalıdır.
- c) Mikronükleus ile hücrenin temel çekirdeğinin kenarları birbirine temas edebileceği gibi etmeyebilirde. Fakat temas ettiği durumlarda bu aradaki sınırın belirgin bir şekilde ayırt edilmesi gerekmektedir.
- d) Mikronükleus boyandığında temel çekirdeğin aldığı renge yakın bir renk almalıdır⁽¹⁷⁻²⁰⁾.

2.2. Kromozom eldesi ve kromozom hasarlarının belirlenmesi

2.2.1. Hücre kültürünün hazırlanması

Besiyeri, 80 ml RPMI 1640, 15 ml fetal dana serumu, 3-4 ml fitohemaglutinin, 0.3 ml penicilin-streptomisin kullanılarak hazırlandı.

2.2.2. Hücre inkübasyonu

Hazırlanan besiyerinden 5 ml alınarak steril tüplere konuldu. Her bir tüpün üzerine 24 saat içerisinde alınan ve +4°C'de heparinli tüplerde muhafaza edilen kan örneklerinden 1 ml eklendi. Elde edilen karışım etüvde 37°C' de 72 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun 70. saatinde

mitoz bölünmeyi metafaz safhasında durdurmak amacıyla tüplere 0.25 ml kolşisin solüsyonu eklendi ve kalan 2 saatlik inkübasyon süresi tamamlandı.

2.2.3. Hipotonik işlem

İnkübasyonun tamamlanmasıyla tüpler 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant kısım pastör pipeti ile uzaklaştırıldı. Tüpte kalan kısım üzerine 0.075 molar 2 ml KCl ilave edildi. Bu işlem sonrasında her bir tüpe 4-5 ml hipotonik solüsyon eklendi ve oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.

2.2.4. Yıkama işlemi

Fiksatif solüsyonu, 1:3 oranında glasiyel asetik asit-metanol kullanılarak hazırlandı. Oda sıcaklığında bekletilen tüpler tekrar 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı ve üzerine 5 ml olana kadar soğuk fiksatif solüsyonu eklendi. Bu işlem sonrasında tüpler -20 °C'de 30 dakika bekletilerek 5000 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı. Tekrar hazırlanıp soğutulan fiksatif solüsyonu ile yapılan bu yıkama işlemi tüpteki sıvı berraklaşınca kadar 3 defa tekrarlandı.

2.2.5. Yayma işlemi

Fiksasyon işleminden sonra her bir tüpte oluşan süpernatant alınarak üzerine yeniden hazırlanıp soğutulan fiksatif solüsyonundan 0.5 ml ilave edildi. Karışım, önceden soğutulmuş lamlar üzerine 45 derecelik açı ile yaklaşık 45-50 cm yükseklikten damlatıldı. Lam üzerine üflenerek yayma işlemi gerçekleştirildi ve lamlar oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

2.2.6. Boyama işlemi

Kuruyan lamlar %5'lik Giemsa solüsyonuyla 20 dakika boyandı. Boyama işleminden sonra saf su ile yıkanarak 25°C'lik etüvde bir gece tekrar kurumaya bırakıldı. Daha sonra hazırlanan kromozom preparatlarının analizleri "Nikon Elipse E600" marka ışık mikroskobu kullanılarak yapıldı ve belirlenen görüntülerin fotoğrafları çekildi. Radyasyon etkisi ile meydana gelen kromozom hasarlarının değerlendirilmesinde aşağıdaki kriterler esas alındı.

- a) Kromozomun bir yada her iki kolunda meydana gelen, kromozom kolunun kalınlığından fazla olan veya kromozom aksını değiştiren kayıplar kırık olarak,
- b) Kromozom aksını değiştirmeyen ve kromozom kolunun kalınlığını aşmayan kayıplar boşluk (gap) olarak,
- c) Sentromer ihtiva eden yada etmeyen, hasar dolayısıyla kromozom uçlarının yapışkanlık kazanmasına bağlı olarak birleşmeleri sonucunda yüzük şeklini almaları halka (ring) olarak,
- d) Kendiliğinden oluşan ya da bir takım faktörler tarafından oluşturulan iki adet sentromere sahip olan kromozomlar ise disentrik olarak kabul edildi⁽²¹⁻²⁴⁾.

2.3. İstatistiksel Analiz

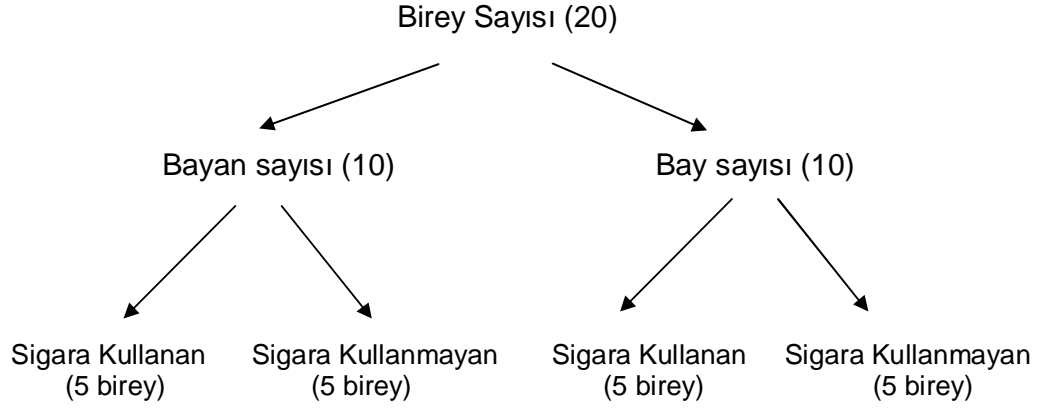
Mikronükleus ve kromozom hasarları ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde SPSS programına dayalı "eşleştirilmiş örnekler T-testi

(paired samples T-test)” kullanıldı ve %95 güven düzeyinde veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

2.4. Serum ALP ölçümü

Bireylerden alınan, 2 ml radyasyon uygulanan ve 2 ml radyasyon uygulanmayan 4 ml kan örneği “BD Vacuteiner CAT” marka heparinsiz steril tüplere konularak laboratuvar ortamına getirildi. Kan örnekleri 4000 rpm’de 10 dk süreyle santrifüjlenerak serumları elde edildi. Serum ALP ölçümleri Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Süleyman DEMİREL Araştırma ve Uygulama Hastanesi’nde bulunan “MODÜLER P800” marka ölçüm cihazı ile gerçekleştirildi.

Çizelge 2.1. Kan örnekleri incelenen 20-25 yaş arasındaki bireylerin özellikleri ve uygulanan deneysel aşamalar



Deneysel Analizler	İncelenen kan örneklerinin sayısı
--------------------	-----------------------------------

Morfolojik hasarın tespiti	40 (20 R.Ö + 20 R.S)
----------------------------	----------------------

Kromozom hasarının tespiti	40 (20 R.Ö + 20 R.S)
----------------------------	----------------------

Serum ALP düzeyi	40 (20 R.Ö + 20 R.S)
------------------	----------------------

R.Ö : Radyasyon uygulaması öncesi

R.S : Radyasyon uygulaması sonrası

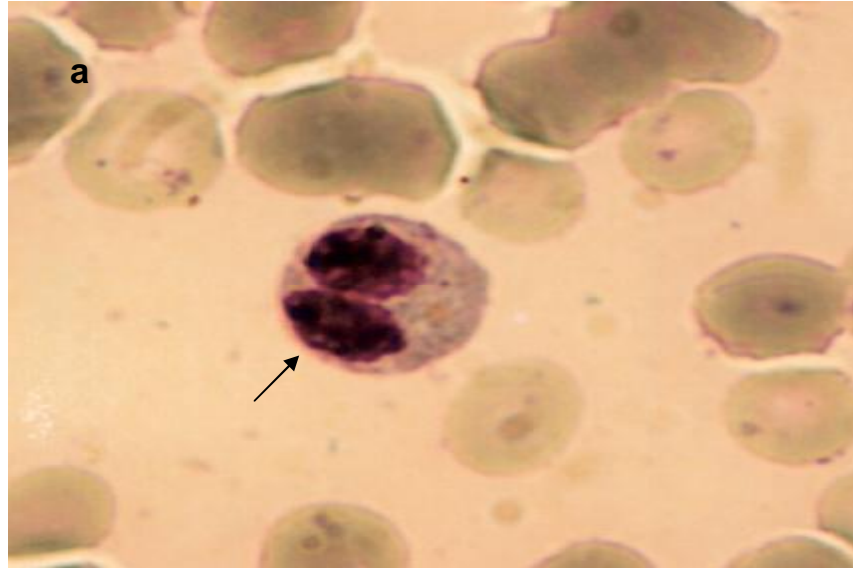
3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Kan hücrelerindeki morfolojik hasarlar

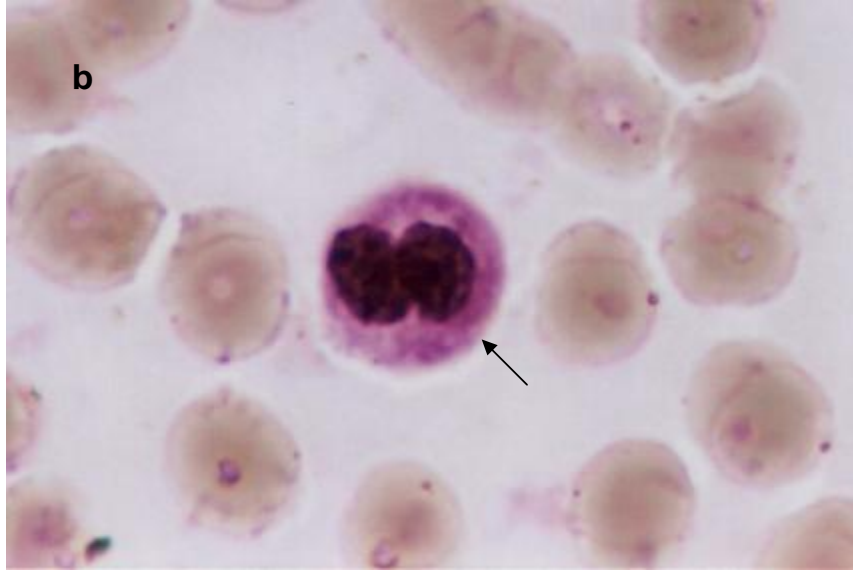
Sağlıklı, 20-25 yaş arasındaki 5'i sigara kullanan, 5'i sigara kullanmayan 10 bay ve 10 bayan olmak üzere toplam 20 bireyden alınan kan örnekleri 1000 cGy gama radyasyon uygulaması öncesinde ve sonrasında hücre morfolojileri açısından incelendi ve radyasyon uygulanmayan kan örneklerine ait nötrofil, bazofil, eozinofil, lenfosit ve monosit gibi akyuvar ve alyuvar hücrelerinde herhangi bir morfolojik hasara rastlanmazken (Şekil 3.1-6), radyasyon uygulamanın hücrelerde hasarlar meydana getirdiği tespit edildi (Şekil 3.7-11). Radyasyon uygulanan kan örnekleri incelendiğinde, akyuvar hücrelerinde meydana gelen hasarlar, hücrede şekil bozuklukları, zar bütünlüğünde bozulmalar ve yer yer parçalanmalar, vakuolizasyon, tüm hücre tahribatı ve mikronükleus oluşumu şeklinde gözlenirken, alyuvar hücrelerinde meydana gelen hasarlar, hücre zarından kaynaklanan şekil bozuklukları olarak kendini gösterdi (Şekil 3.7-11).



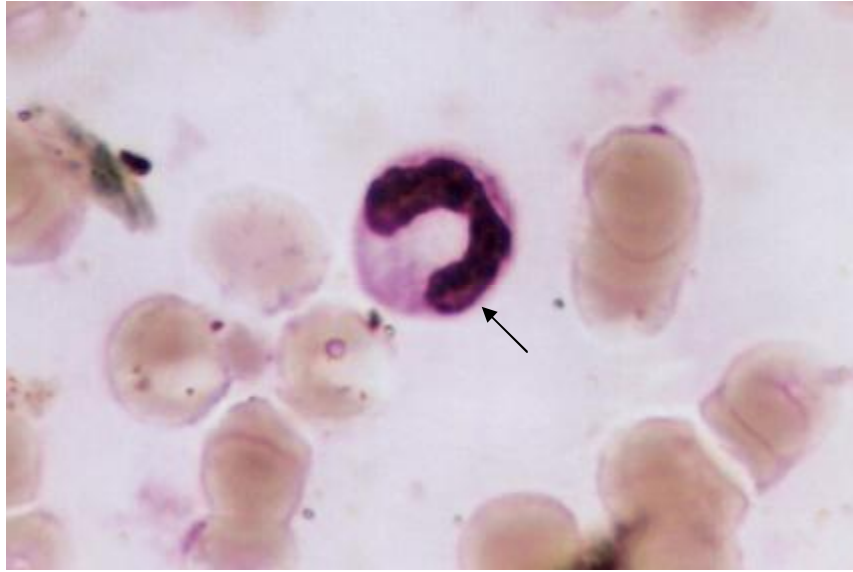
Şekil 3.1. Normal bir nötrofil hücresinin görünümü



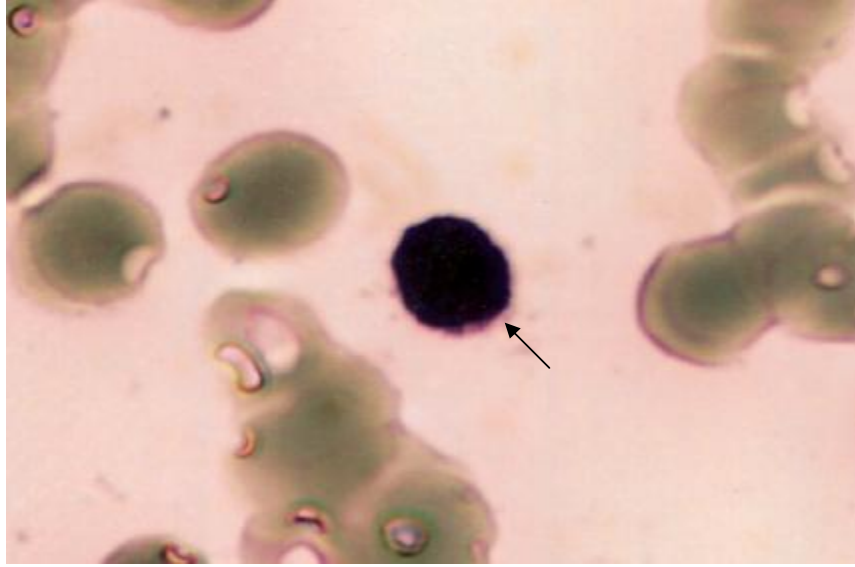
Şekil 3.2.a. Normal bazofil hücrelerinin görünümü



Şekil 3.2. (devam) b. Normal bazofil hücrelerinin görünümü



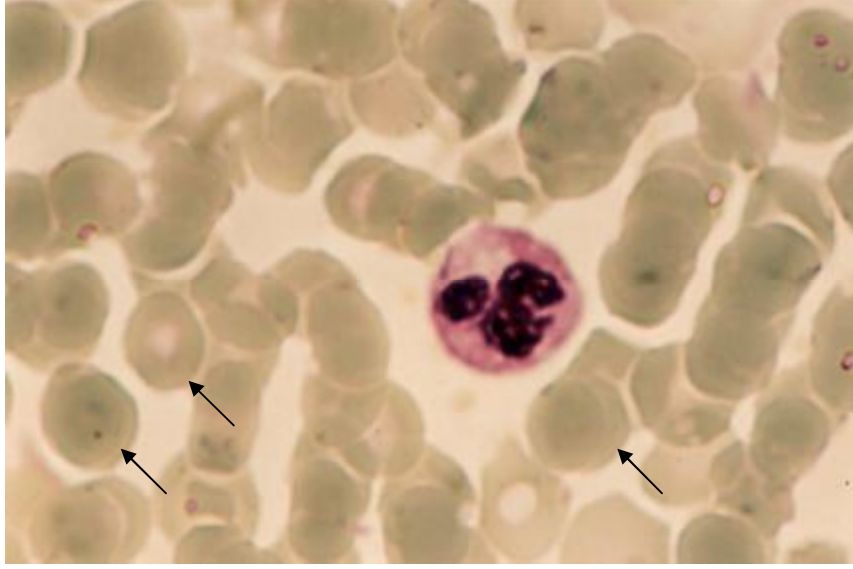
Şekil 3.3. Normal bir eozinofil hücresinin görünümü



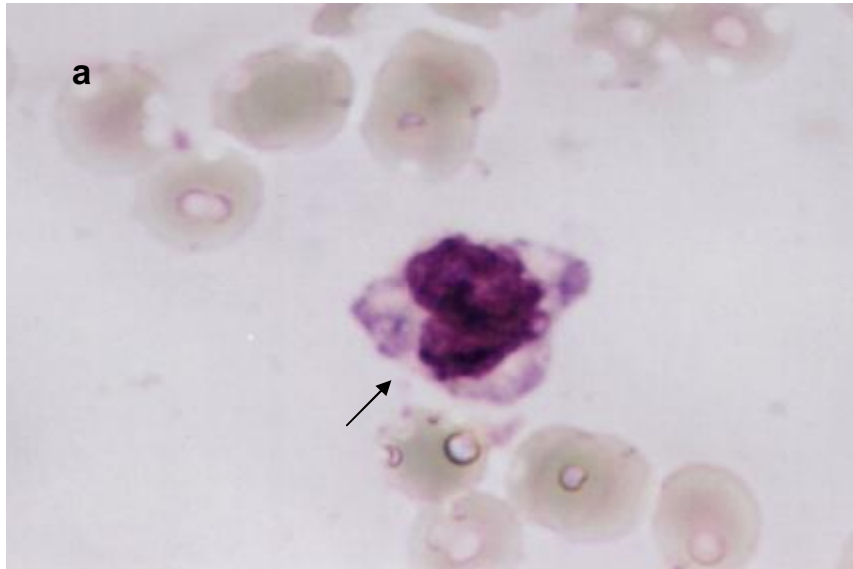
Şekil 3.4. Normal bir lenfosit hücresinin görünümü



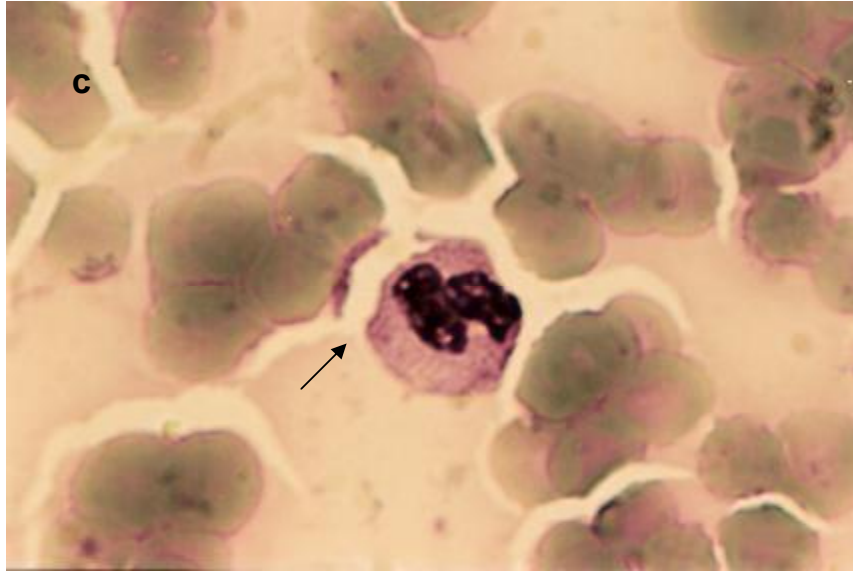
Şekil 3.5. Normal bir monosit hücresinin görünümü



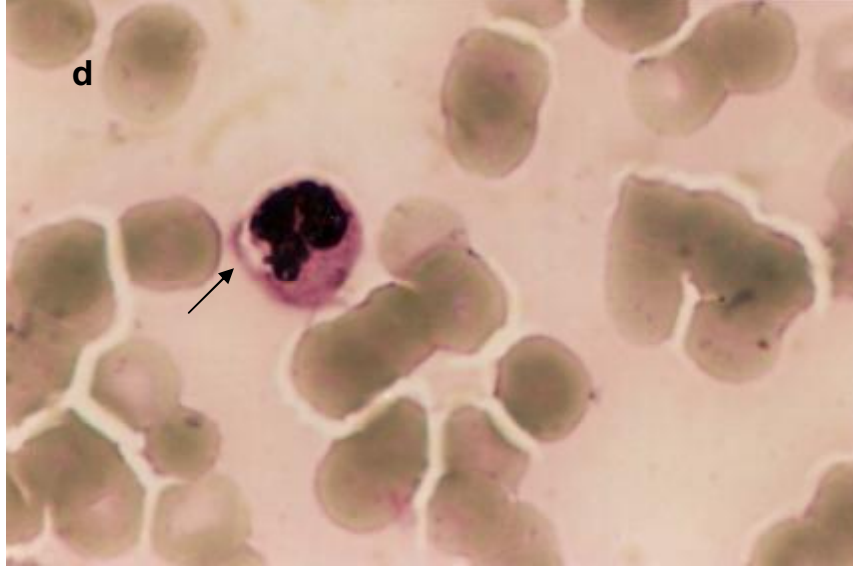
Şekil 3.6. Normal alyuvar hücrelerinin görünümü



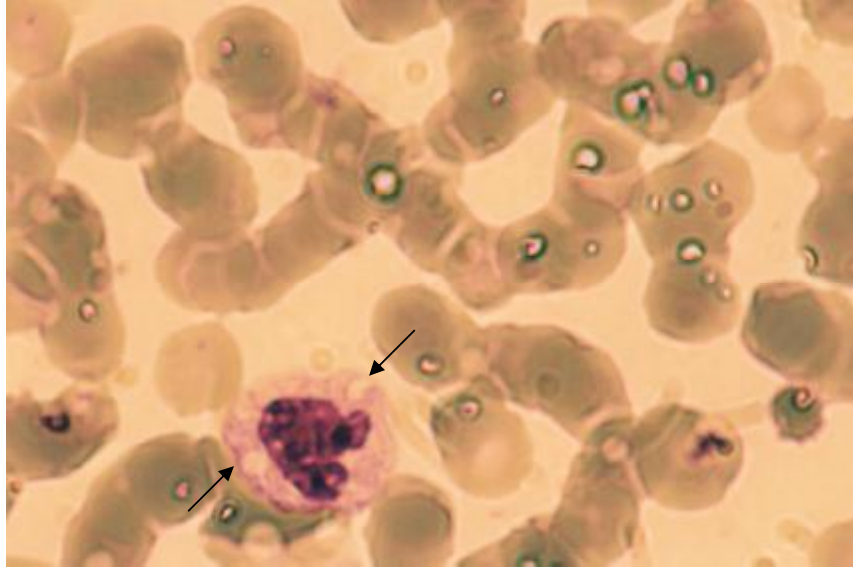
Şekil 3.7.a. Radyasyon etkisiyle akyuvar hücrelerinde meydana gelen şekil bozukluğunun görünümü



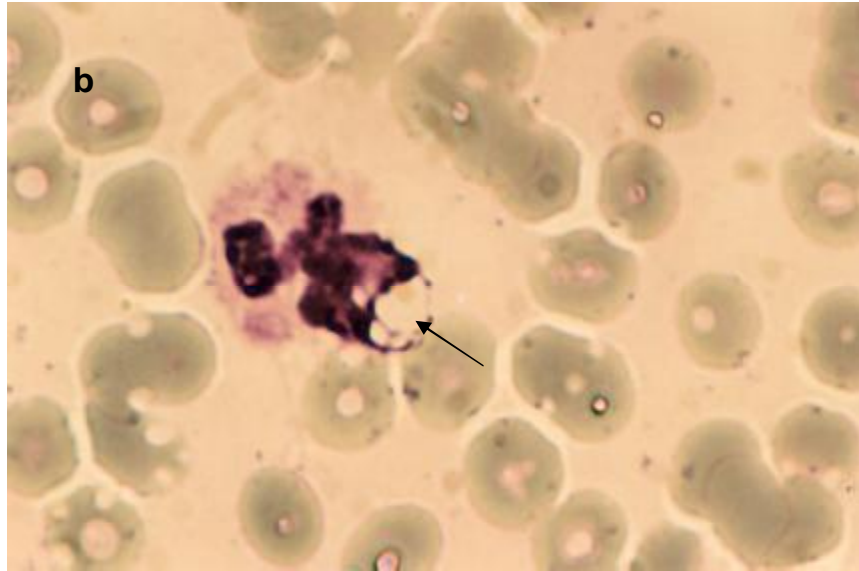
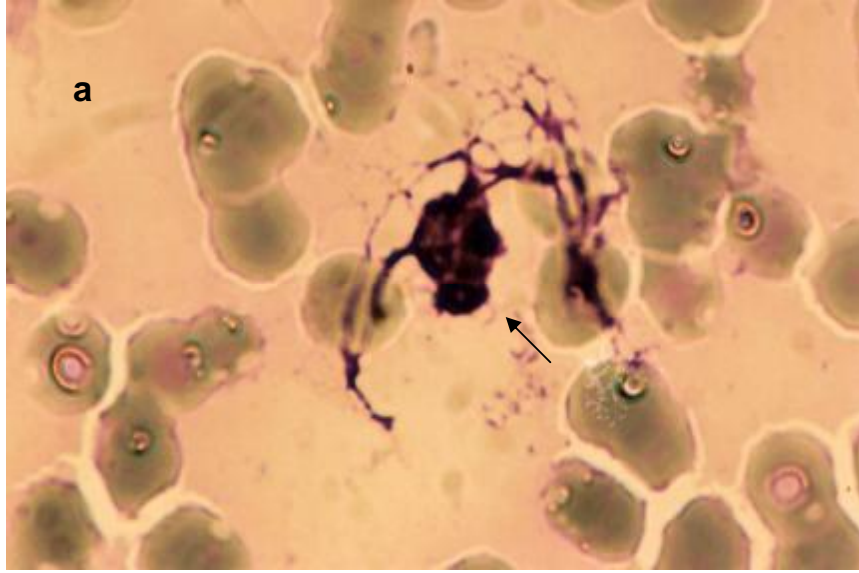
Şekil 3.7. (devam) b,c. Radyasyon etkisiyle akyuvar hücrelerinde meydana gelen şekil bozukluğunun görünümü



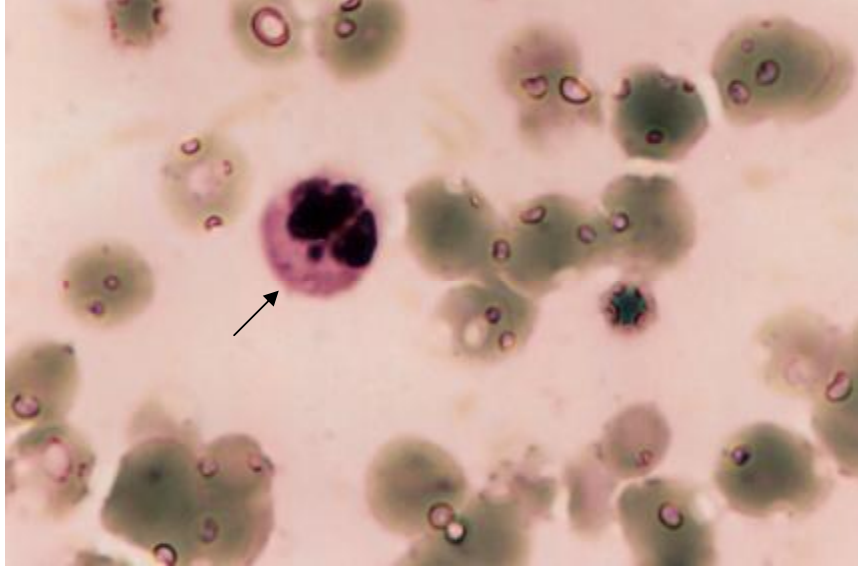
Şekil 3.7. (devam) d. Radyasyon etkisiyle akyuvar hücrelerinde meydana gelen şekil bozukluğunun görünümü



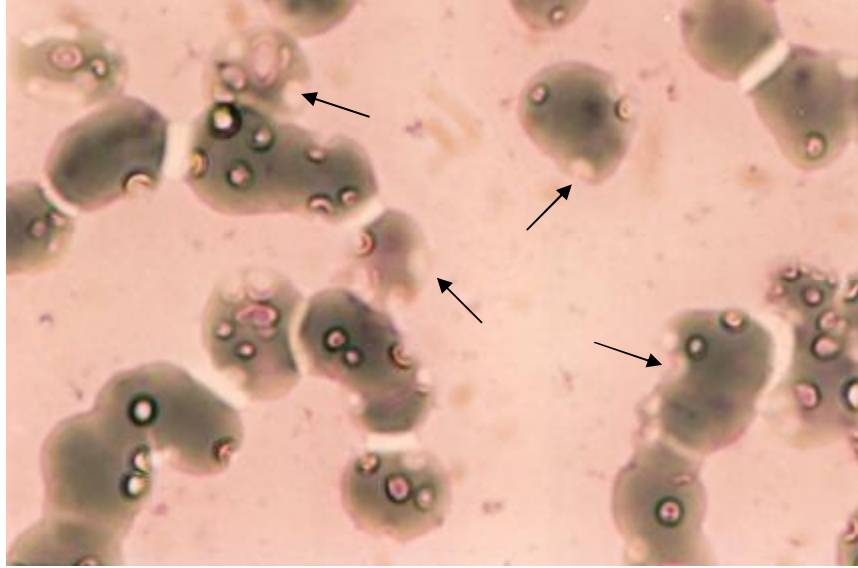
Şekil 3.8. Radyasyon etkisiyle akyuvar hücresinde meydana gelen vakuolizasyon görünümü



Şekil 3.9.a,b. Radyasyon etkisiyle tamamen tahrip olmuş akyuvar hücrelerinin görünümü



Şekil 3.10. Radyasyon etkisiyle akyuvar hücresinde oluşan mikronükleus görünümü



Şekil 3.11. Radyasyon etkisiyle alyuvar hücrelerinde oluşan şekil bozukluğunun görünümü

Bireylerin kan örneklerine radyasyon uygulanmasıyla akyuvar sayılarında düşüş gözlemlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.12). Bunun yanı sıra kan örneklerine radyasyon uygulanmasının lenfosit hücrelerinde mikronükleus oluşumunu arttırdığı tespit edildi (Çizelge 3.1, Şekil 3.13). Radyasyon uygulanmayan kan örnekleri incelendiğinde, sigara kullanmayan bireylerin (1, 2, 3, 4, 7, 9, 11, 14, 15 ve 20 no'lu bireyler) lenfosit hücrelerinde mikronükleus oluşumu (3 no'lu birey hariç) gözlenmezken sigara kullanan bireylerin (5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18 ve 19 no'lu bireyler) lenfosit hücrelerinde mikronükleus oluşumuna rastlandı. Radyasyon uygulanan kan örneklerinde ise sigara kullanan bireylerin mikronükleus değerlerinde, kullanmayan bireylere oranla bir artış tespit edildi (Çizelge 3.1, Şekil 3.13). Ayrıca bayanların radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait toplam mikronükleus değerlerinin baylara oranla daha fazla olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.13).

Radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait mikronükleus değerleri SPSS programında "eşleştirilmiş örnekler T-Testi" (Paired Samples T-Test) yardımıyla istatistiksel olarak analiz edildi ve radyasyon uygulanan kan örneklerinde meydana gelen mikronükleus değerlerindeki artışın %95 güven düzeyinde önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$). Ayrıca bayanların mikronükleus değerlerinde baylara oranla önemli bir artış gözlenirken, sigara kullanan bireylerin mikronükleus değerlerinde kullanmayan bireylere oranla meydana gelen artış istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p < 0.05$).

Çizelge 3.1. Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait mikronükleus ve akyuvar sayıları

Birey No	1	2*	3*	4	5	6*	7	8*	9*	10*	11	12*	13	14*	15*	16	17	18	19*	20
R.Ö MN/AS	0/ 5319	0/ 4465	1/ 4713	0/ 5267	2/ 5628	5/ 4156	0/ 5124	4/ 5233	0/ 5286	2/ 4258	0/ 5687	3/ 4639	2/ 6745	0/ 4264	3/ 5492	2/ 6524	3/ 5571	1/ 5921	2/ 3916	0/ 5697
R.S MN/AS	5/ 4941	14/ 4138	10/ 4377	8/ 4839	7/ 5318	14/ 3742	15/ 4986	17/ 4143	14/ 5047	11/ 3928	8/ 5603	18/ 4089	10/ 6422	16/ 4036	13/ 5115	9/ 6287	12/ 5246	13/ 5698	14/ 3673	10/ 5413

* : Bayan birey

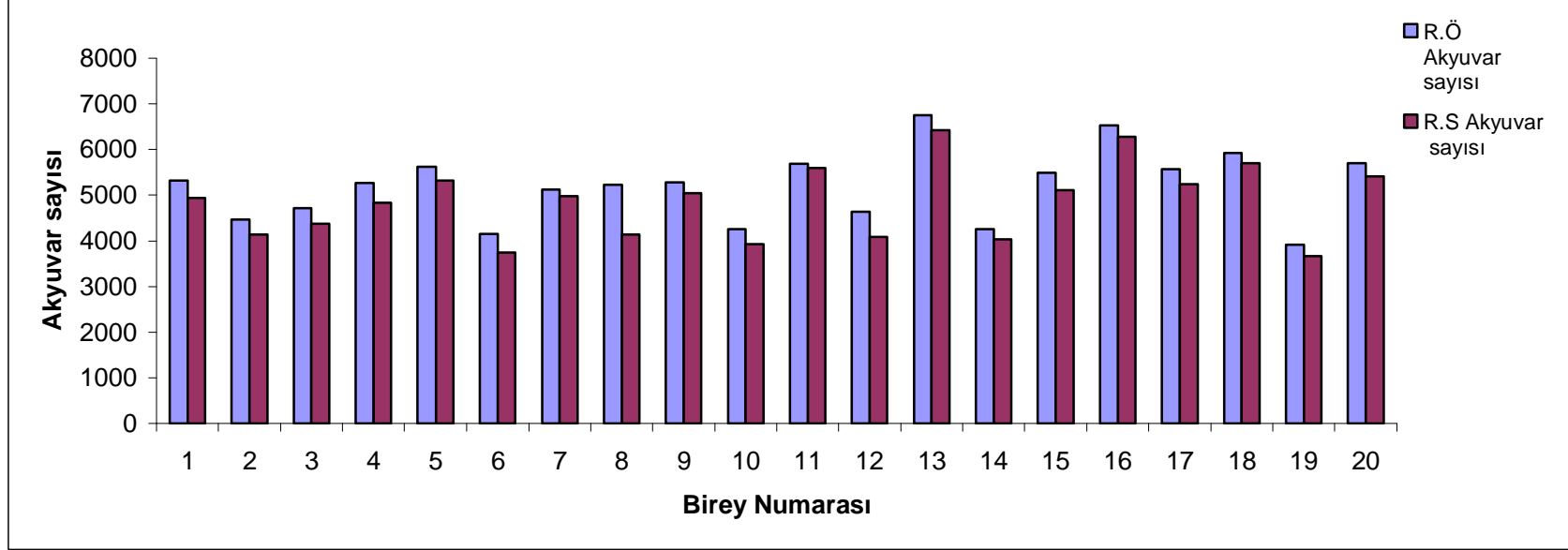
R.Ö : Radyasyon uygulaması öncesi

R.S : Radyasyon uygulaması sonrası

M.S : Mikronükleus sayısı

A.S : Akyuvar sayısı

Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19 no'lu bireyler



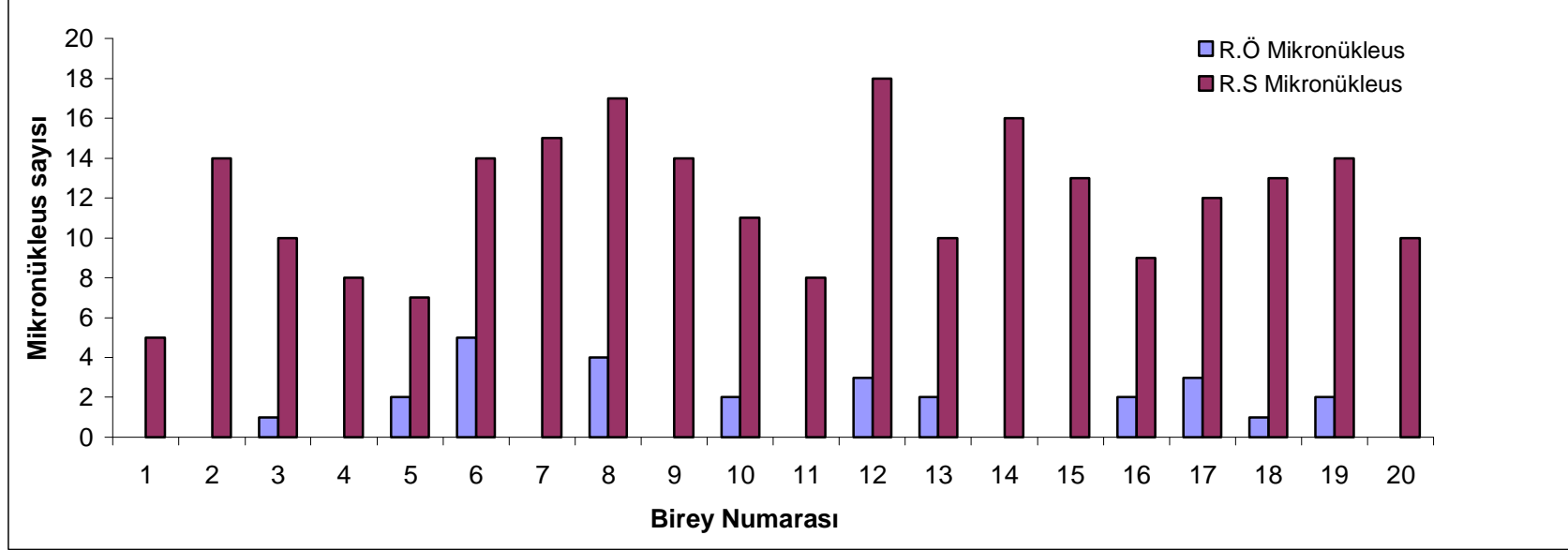
Şekil 3.12. Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait akyuvar sayıları

Bayan bireyler : 2, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15 ve 19 no'lu bireyler

R.Ö : Radyasyon uygulaması öncesi

R.S : Radyasyon uygulaması sonrası

Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18 ve 19 no'lu bireyler



Şekil 3.13. Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde oluşan mikronükleus sayıları

Bayan bireyler : 2, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15 ve 19 no'lu bireyler

R.Ö : Radyasyon uygulaması öncesi

R.S : Radyasyon uygulaması sonrası

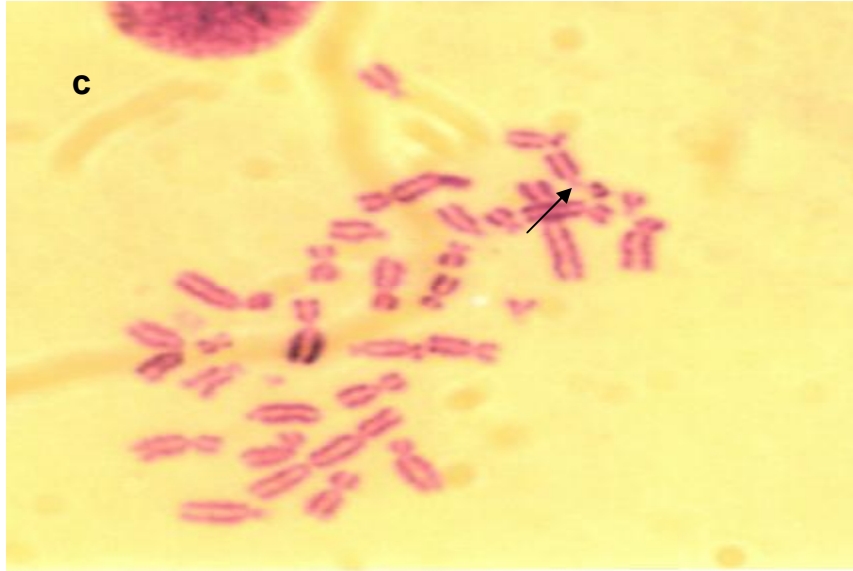
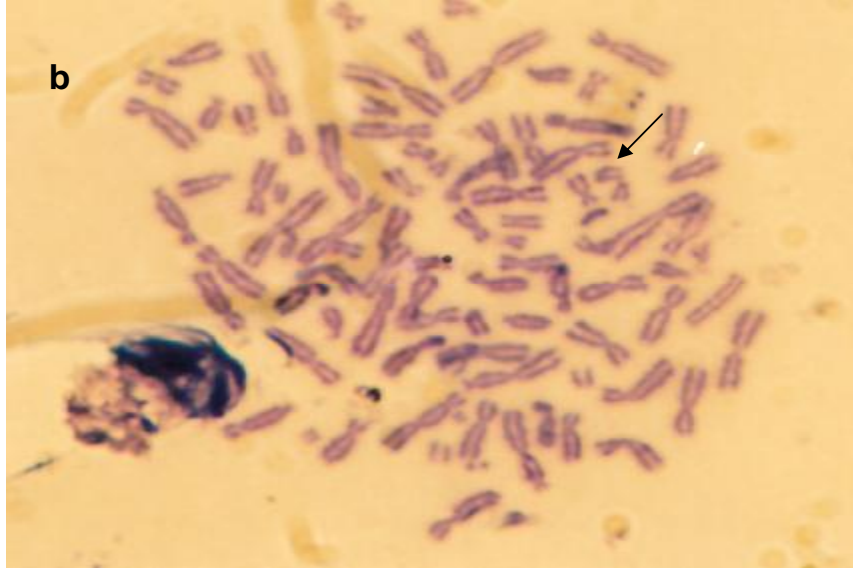
Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18 ve 19 no'lu bireyler

3.2. Kromozom Hasarları

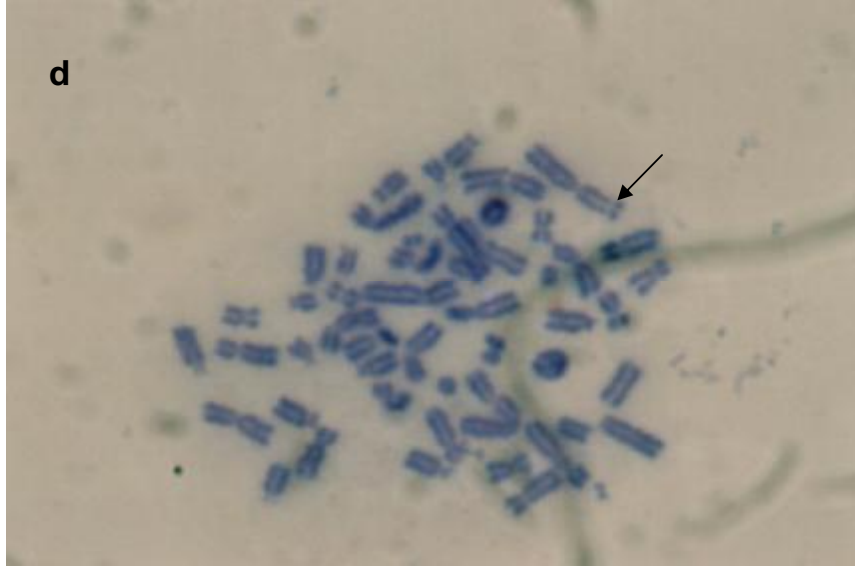
In vitro ortamda 1000 cGy gama radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örnekleri kromozom eldesi için standart yöntemle göre kültüre alındı. Her bireyin radyasyon öncesi ve sonrası kültür örneklerinden 75 metafaz dönemindeki hücre kromozomları incelendi ve radyasyon uygulanmayan kan örneklerine ait lenfosit hücrelerinde herhangi bir kromozom hasarına rastlanmazken radyasyon uygulanan lenfosit hücrelerinde meydana gelen kırık, disentrik, halka (ring) ve boşluk (gap) şeklinde kromozom hasarları tespit edildi (Şekil 3.14-17). Ayrıca kan örneklerine radyasyon uygulanmasıyla lenfosit hücrelerinde erken sentromer ayrılması ve fragment (kırılmış parça) hasarları da gözlemlendi (Şekil 3.18-19).



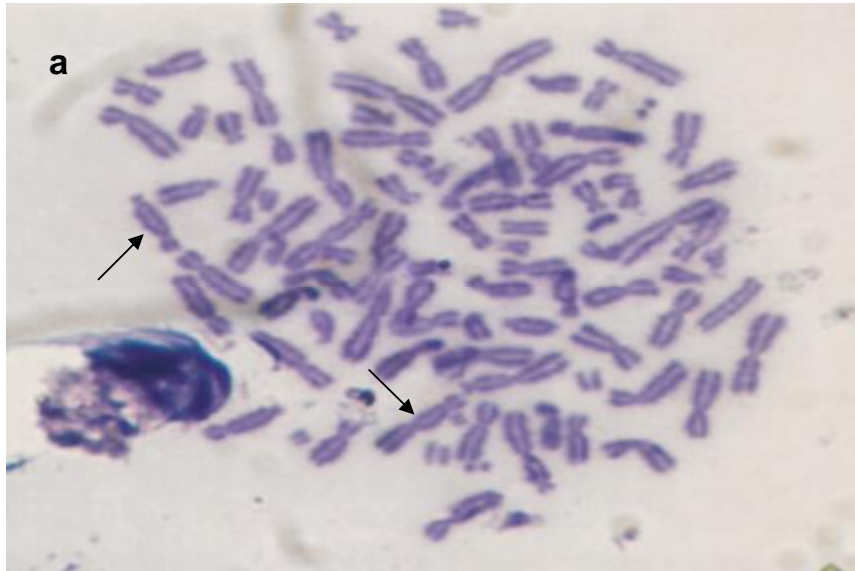
Şekil 3.14.a. Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait kromozom kırığı içeren metafaz görüntüleri



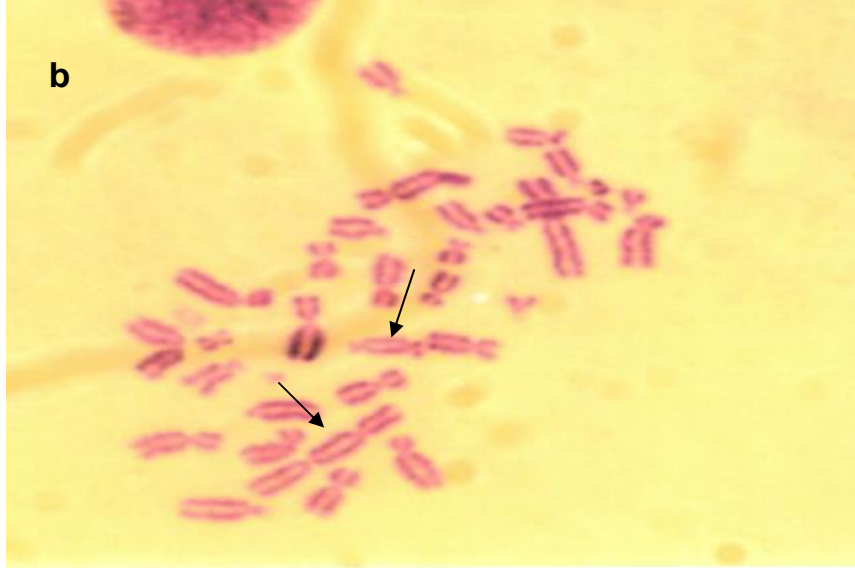
Şekil 3.14. (devam) b,c. Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait kromozom kırığı içeren metafaz görüntüleri



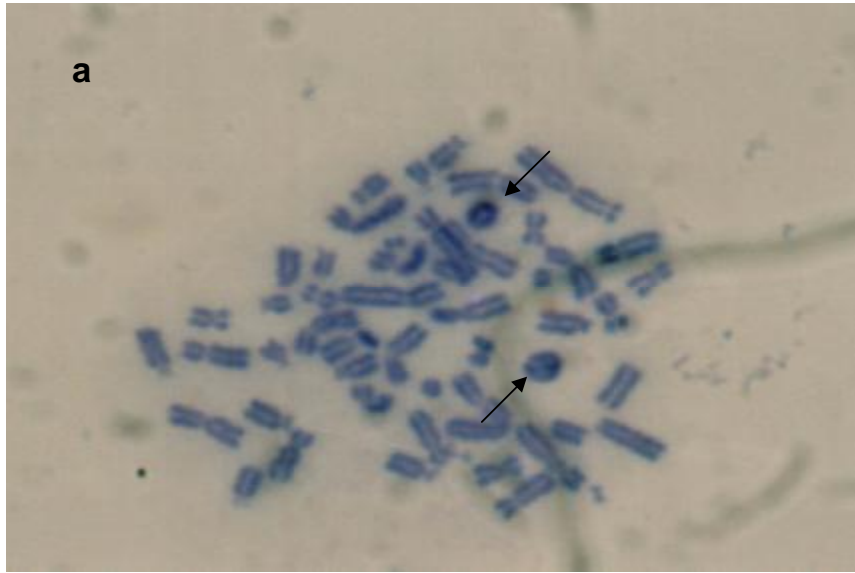
Şekil 3.14. (devam) d. Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait kromozom kırığı içeren metafaz görüntüleri



Şekil 3.15.a. Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait disentrik kromozom içeren metafaz görüntüleri



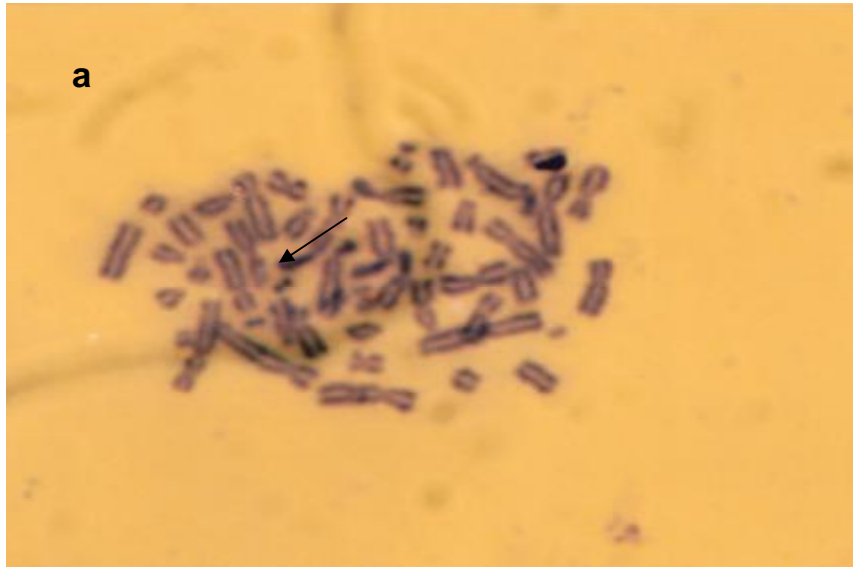
Şekil 3.15. (devam) b. Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait disentrik kromozom içeren metafaz görüntüleri



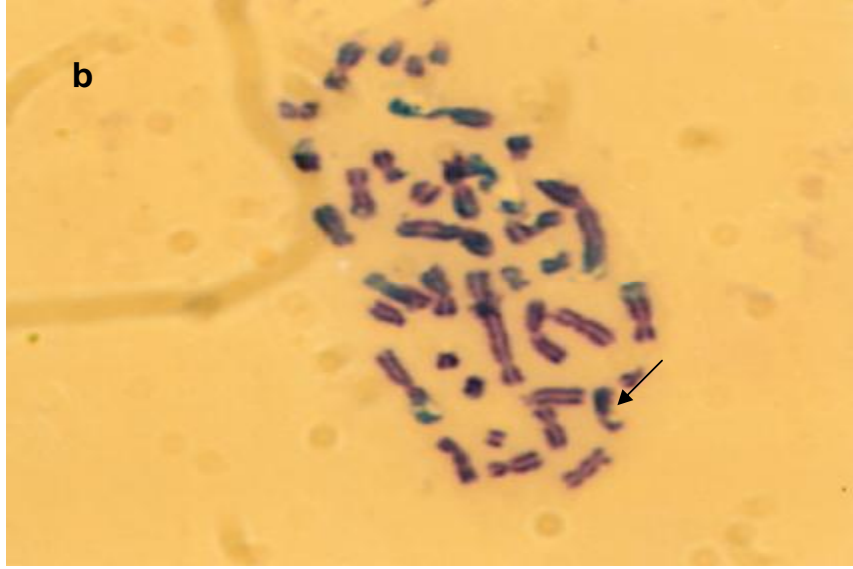
Şekil 3.16.a. Radyasyonun etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait halka (ring) kromozom içeren metafaz görüntüleri



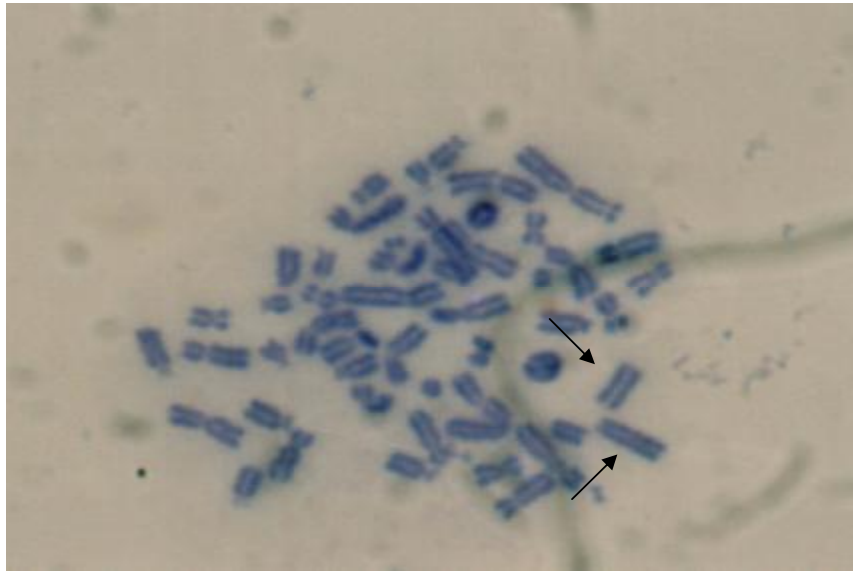
Şekil 3.16. (devam) b. Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait halka (ring) kromozomu içeren metafaz görüntüleri



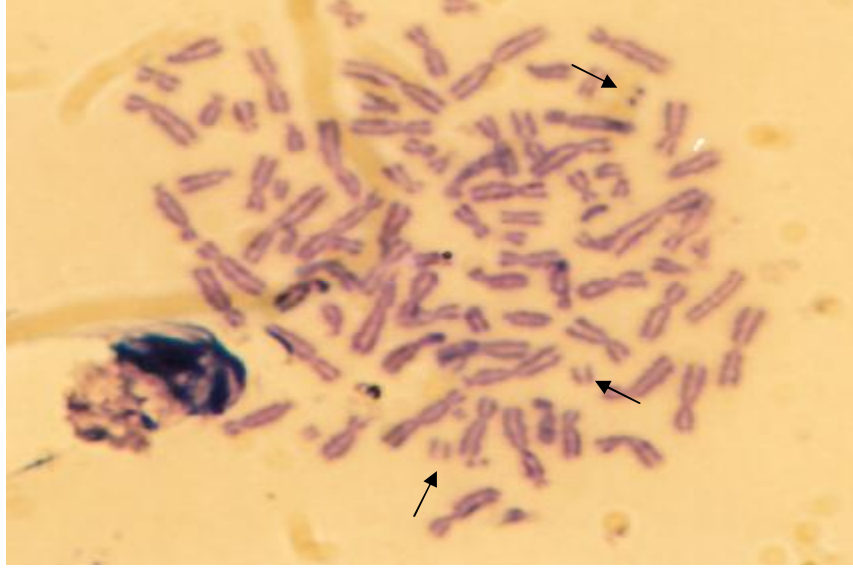
Şekil 3.17.a. Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait boşluk (gap) kromozom hasarı içeren metafaz görüntüleri



Şekil 3.17. (devam) b. Radyasyon etkisiyle farklı akyuvar hücrelerine ait boşluk (gap) kromozom hasarı içeren metafaz görüntüleri



Şekil 3.18. Radyasyon etkisiyle akyuvar hücrelerine ait erken sentromer ayrılması içeren metafaz görüntüsü



Şekil 3.19. Radyasyon etkisiyle akyuvar hücresine ait fragment (kırılmış parça) içeren metafaz görüntüsü

Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerine ait lenfosit hücrelerinde meydana gelen kromozom hasarlarında, kırık ve disentrik sayısının, ring ve gap sayısından fazla olduğu görüldü (Çizelge 3.2, Şekil 20-23). Ayrıca bayanların radyasyon uygulanan kan örneklerine ait lenfosit hücrelerinde baylara oranla daha fazla kromozom hasarına rastlandı (Çizelge 3.2, Şekil 20-23).

Sigara kullanan bireylerin kan örneklerine radyasyon uygulanmasıyla lenfosit hücrelerinde, kullanmayan bireylere oranla daha fazla kromozom hasarı oluştu (Çizelge 3.2, Şekil 20-23).

Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait lenfosit hücre metafaz sayıları ve yüzde değerleri de belirlendi. Radyasyon uygulanmayan lenfosit hücre metafazlarında anormal kromozom sayısına

(anöploidi) rastlanmazken, radyasyon uygulanan kan örneklerinin lenfosit hücrelerinde anormal kromozom sayısına sahip metafaz değerleri tespit edildi (Çizelge 3.3, Şekil 3.24). Kan örneklerine radyasyon uygulanmasıyla lenfosit hücrelerinde meydana gelen anormal kromozom sayısına sahip metafaz değerinin sigara kullanan bireylerde kullanmayan bireylere oranla daha fazla olduğu belirlendi (Çizelge 3.3, Şekil 3.24).

Radyasyon uygulaması sonrasında oluşan hasarların istatistiki açıdan önemi araştırıldı ve her hasar tipine ait verilere SPSS programında “eşleştirilmiş örnekler T-testi (Paired Samples T-Test)” uygulandı. Radyasyon uygulanan kan örneklerinde meydana gelen kırık, disentrik, halka ve boşluk tipi kromozom hasarlarının ve hücre metafazlarında meydana gelen anormal kromozom sayılarının %95 güven düzeyinde önemli olduğu belirlendi ($p<0.05$). Ayrıca radyasyon uygulanmasıyla, bayan bireylerin kan örneklerine ait lenfosit hücrelerinde oluşan kromozom hasarlarında, baylara oranla meydana gelen artışın da istatistiki olarak önemli olduğu belirlendi. Sigara kullanan bireylerin kan örneklerine ait lenfosit hücrelerinde, kullanmayan bireylere oranla meydana gelen kromozom hasarındaki artışın ise istatistiki olarak önemli olmadığı tespit edildi.

Çizelge 3.2. Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerine ait lenfosit hücrelerindeki kromozom hasarı değerleri

Birey No	1	2*	3*	4	5	6*	7	8*	9*	10*	11	12*	13	14*	15*	16	17	18	19*	20
R.S Kırık	13	18	19	14	15	17	10	20	15	18	8	12	11	16	19	14	12	14	23	10
R.S Disentrik	6	8	9	7	6	8	6	9	11	8	5	9	8	10	8	8	7	10	12	7
R.S Ring	4	6	5	4	3	4	3	4	6	5	3	5	4	4	5	4	5	3	4	3
R.S Gap	1	2	3	1	2	3	0	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0	2	1	0

* : Bayan birey

R.S : Radyasyon uygulaması sonrası

Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19 no'lu bireyler

Çizelge 3.3. Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin lenfosit hücrelerinde anormal kromozom sayısına sahip metafaz (anöploidi) değeri ve yüzdesi

Birey No	1	2*	3*	4	5	6*	7	8*	9*	10*	11	12*	13	14*	15*	16	17	18	19*	20
Sayılan Metafaz	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
R.S A.K.S.M	11	10	8	13	14	12	9	11	10	12	8	13	12	10	8	10	11	14	9	10
R.S A.K.S.M (%)	14,6	13,3	10,6	17,3	18,6	16	12	14,6	13,3	16	10,6	17,3	16	13,3	10,6	13,3	14,6	18,6	12	13,3

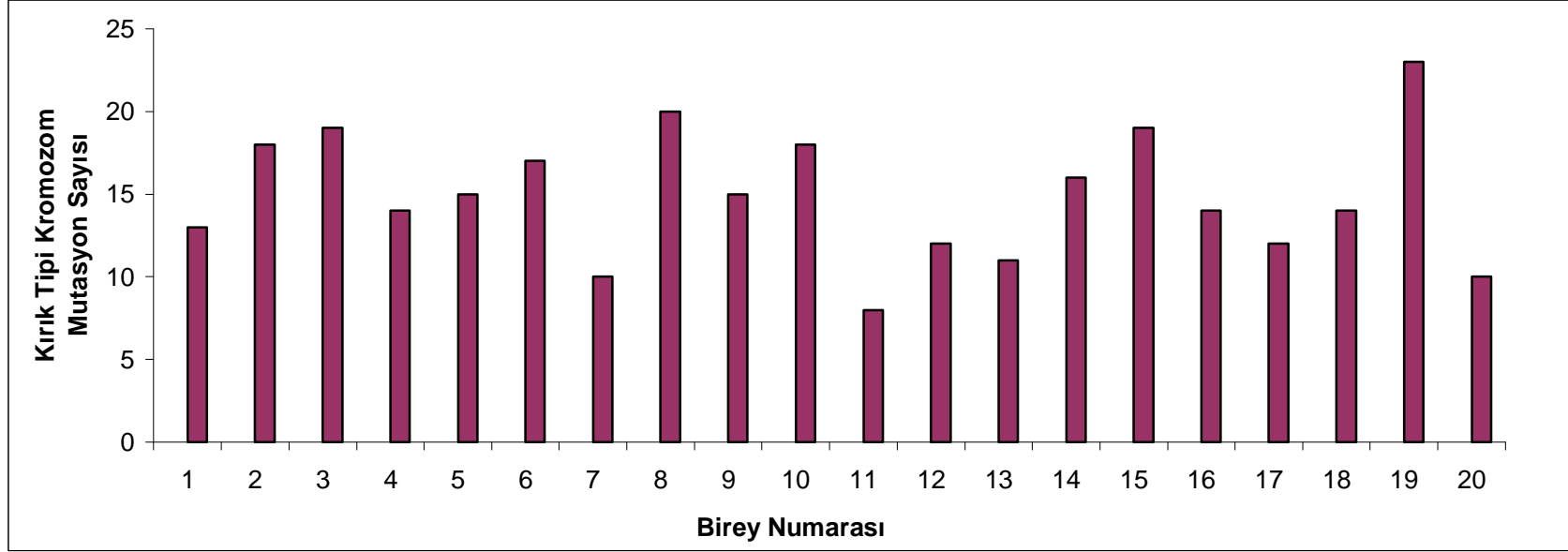
* : Bayan birey

R.S : Radyasyon uygulaması sonrası

A.K.S.M : Anormal kromozom sayısına sahip metafaz değeri

A.K.S.M (%) : Anormal kromozom sayısına sahip metafaz yüzdesi

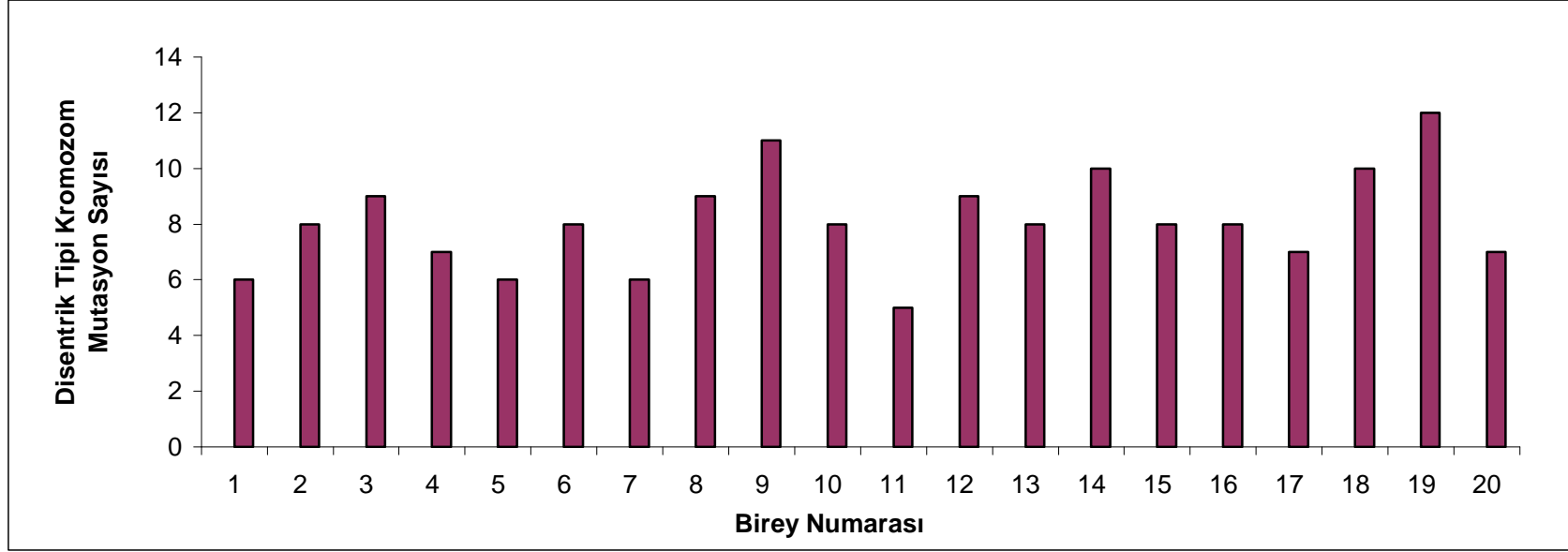
Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19 no'lu bireyler



Şekil 3.20. Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde görülen kırık şeklindeki kromozom mutasyonu sayısı

Bayan bireyler : 2, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15 ve 19 no'lu bireyler

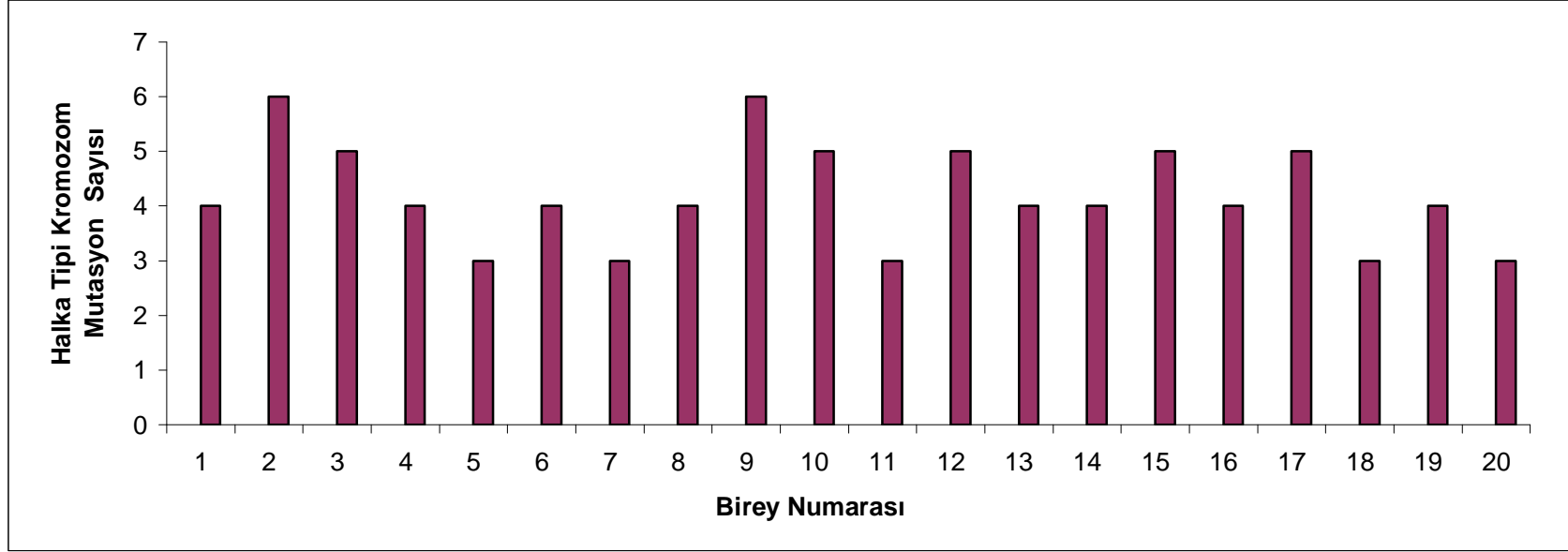
Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18 ve 10 no'lu bireyler



Şekil 3.21. Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde görülen disentrik şeklindeki kromozom mutasyonu sayısı

Bayan bireyler : 2, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15 ve 19 no'lu bireyler

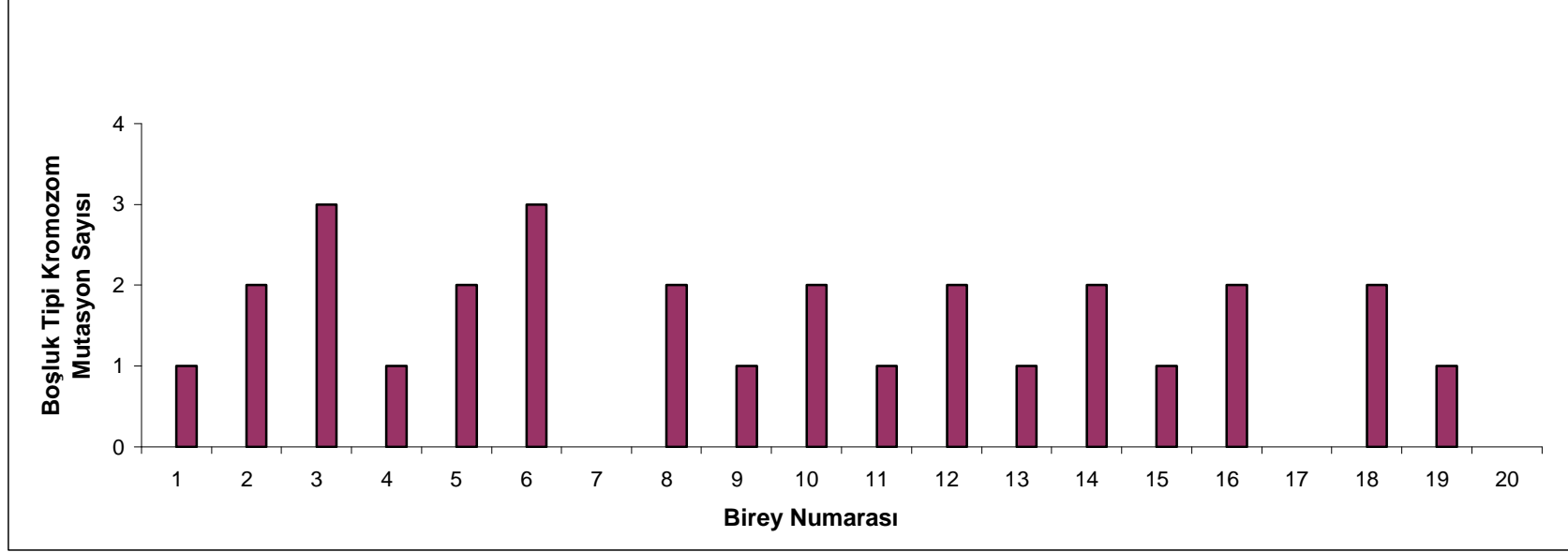
Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18 ve 10 no'lu bireyler



Şekil 3.22. Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde görülen halka (ring) şeklindeki kromozom mutasyonu sayısı

Bayan bireyler : 2, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15 ve 19 no'lu bireyler

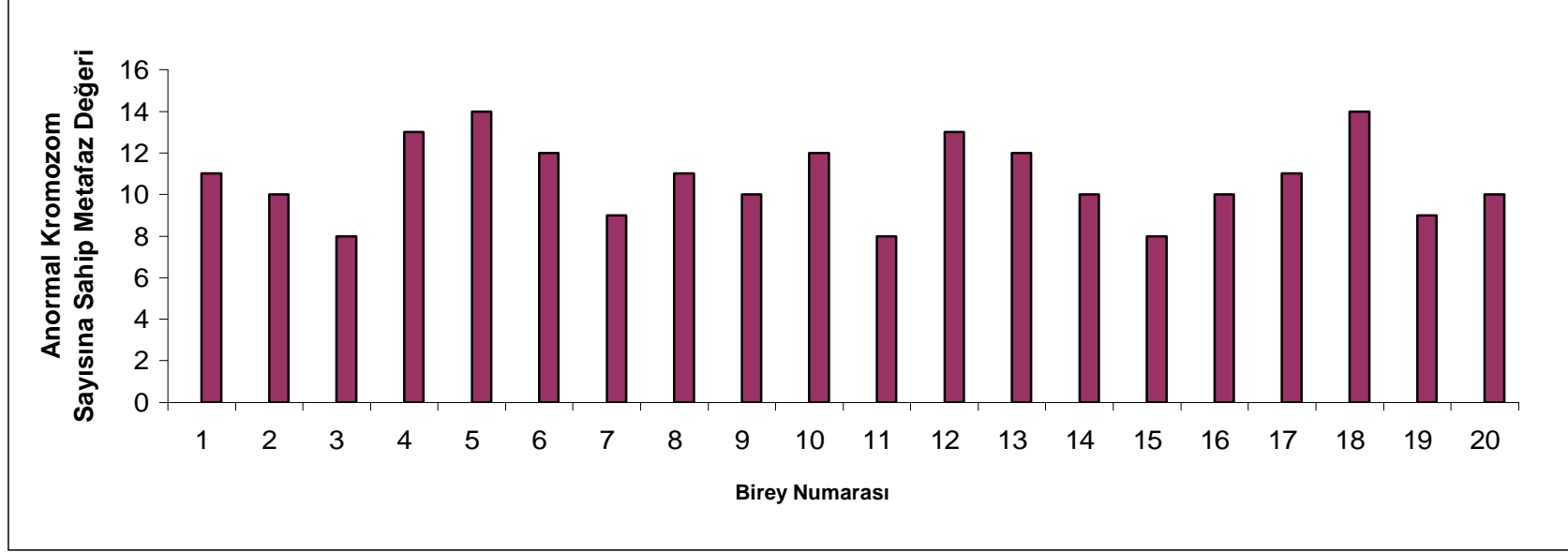
Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18 ve 10 no'lu bireyler



Şekil 3.23. Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin akyuvar hücrelerinde görülen boşluk (gap) şeklindeki kromozom mutasyonu sayısı

Bayan bireyler : 2, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15 ve 19 no'lu bireyler

Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18 ve 10 no'lu bireyler



Şekil 3.24. Bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerinin akyuvar hücrelerindeki anormal kromozom sayısına sahip metafaz (anöploidi) değerleri

Bayan bireyler : 2, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15 ve 19 no'lu bireyler

Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18 ve 10 no'lu bireyler

3.3. Serum ALP düzeyleri

Sigara kullanan ve kullanmayan, 20-25 yaş arasında, farklı cinsiyete sahip 20 sağlıklı bireyden elde edilen, radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait serum ALP değerleri belirlendi (Çizelge 3.4, Şekil 3.25). Bireylerin radyasyon uygulanmayan kan örneklerinin serum ALP değerleri bir birey (17 no'lu birey) hariç referans değer aralığında bulundu. Radyasyon uygulanan kan örneklerine ait serum ALP düzeylerinde de referans değer aralığını aşmayan artış ve düşüşler gözlemlendi. Bir bireyde (1 no'lu birey) ise herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Kan örneklerine radyasyon uygulanmasıyla artan serum ALP değerlerinin daha çok bayanlara ait olduğu tespit edildi (Çizelge 3.4, Şekil 3.25). Ayrıca sigara kullanımıyla serum ALP düzeyleri arasında herhangi bir ilişki bulunmadı.

Çizelge 3.4. Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait serum ALP değerleri

Birey No	1	2*	3*	4	5	6*	7	8*	9*	10*	11	12*	13	14*	15*	16	17	18	19*	20
R.Ö ALP (U/L)	188	136	151	196	99	176	227	150	93	131	240	85	143	123	142	206	293	227	133	178
R.S ALP (U/L)	188	139	124	218	149	179	224	158	138	365	228	87	137	172	139	199	284	128	134	173

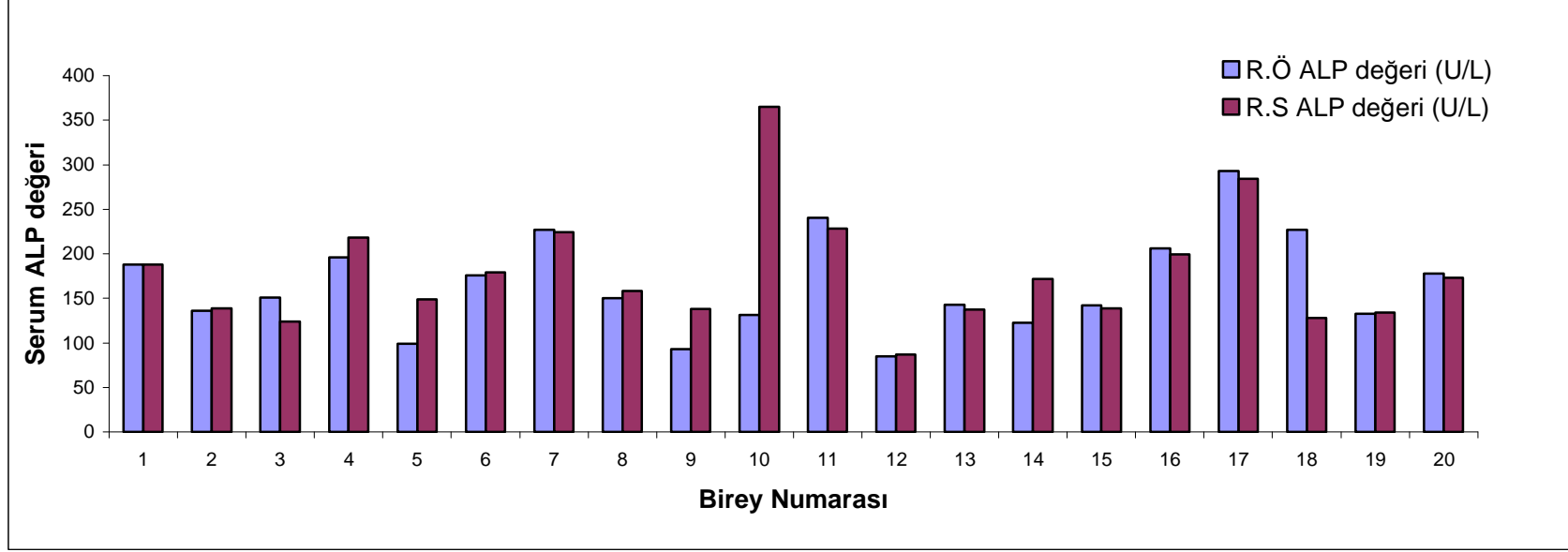
* : Bayan birey

R.Ö ALP (U/L): Radyasyon öncesi ALP değeri

R.S ALP (U/L) : Radyasyon sonrası ALP değeri

ALP için referans değer aralığı : 5-270 U/L

Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19 no'lu bireyler



Şekil 3.25. Bireylerin radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerine ait serum ALP değerleri

Bayan bireyler : 2, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15 ve 19 no'lu bireyler

Sigara kullanan bireyler : 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 18 ve 10 no'lu bireyler

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

4.1. Kan hücrelerindeki morfolojik hasarlar

Bireylerin *in vitro* ortamda 1000 cGy dozda gama radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerinden elde edilen preparatlarının incelenmesi sonucu radyasyon uygulanmayan kan hücrelerinde herhangi bir morfolojik hasara rastlanmazken, radyasyon uygulanan kan hücrelerinde şekil bozuklukları, zar bütünlüğünde bozulmalar ve yer yer parçalanmalar, vakuolizasyon, tüm hücre tahribatı şeklindeki hasarlar ile mikronükleus oluşumları tespit edildi (Şekil 3.1-11). Radyoloji tedavisi gören yirmi akciğer kanseri hastanın lenfosit hücrelerine gama radyasyonun sitolojik, sitogenetik ve biyokimyasal etkisini araştıran çalışmada da benzer sonuçlar alındığı bildirilmiştir⁽¹²⁾. Bu araştırmada akyuvar hücrelerinde gözlenen morfolojik hasarlara ek olarak alyuvar hücrelerinde de hücre zar bütünlüğünde bozulmalar tespit edildi (Şekil 3.11). Akyuvar hücrelerinin yanı sıra alyuvar hücrelerinde de morfolojik hasarların gözlenmesi, *in vivo* ortamdan farklı olarak *in vitro* ortamda hücrelerin radyasyonla doğrudan temas etmesinden kaynaklandığı düşünülebilir. Radyasyon hücre ile doğrudan etkileşime girerek ya da serbest radikal oluşumları aracılığıyla hücrede hasarlar oluşturur. Radyasyon etkisi ile oluşan bu serbest radikaller DNA bileşenleri ile etkileşerek DNA zincirinde kırılmalara (baz hasarı, tek ve çift zincir kırılmaları) veya diğer tipteki hücresel hasarlara neden olabilir. Bu çalışmada bireylerin radyasyon uygulanan kan örneklerine ait akyuvar sayılarının, radyasyon uygulanmayan kan örneklerine göre azaldığı tespit edildi (Çizelge

3.1, Şekil 3.12). Ayrıca radyasyon uygulanmayan kan örnekleri incelendiğinde sigara kullanmayan bireylerde mikronükleus oluşumuna rastlanmazken (3no'lu birey hariç), sigara kullanan bireylerin kan örneklerinde bu oluşuma rastlandı. Radyasyon uygulanan kan örnekleri incelendiğinde ise gerek sigara kullanan, gerekse sigara kullanmayan grupların her ikisinde de mikronükleus oluşumunun arttığı gözlemlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.13).

İstatistiksel analizler radyasyon uygulanan kan örneklerinde meydana gelen mikronükleus değerlerindeki artışın önemli olduğunu gösterdi ($p < 0.05$). Ayrıca, bayanların kan örneklerine ait lenfosit hücrelerindeki mikronükleus oluşumlarında, baylara oranla tespit edilen artışın da istatistiki olarak önemli olduğu belirlendi. Radyasyon uygulanan kan örneklerinde, sigara kullanan bireylerin lenfosit hücrelerindeki mikronükleus oluşumlarında, kullanmayan bireylere oranla meydana gelen artışın ise istatistiki olarak önemli olmadığı tespit edildi. Radyasyonun kan hücrelerinde meydana getirdiği hasarlar ile ilgili bu çalışmada elde edilen bulgular, diğer bazı literatür sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Örneğin Hadjidekova ve arkadaşları⁽²⁵⁾, nükleer termik santral işçilerinin periferik kan lenfositlerinde iyonize radyasyona bağlı mikronükleus sıklığını araştırmışlardır. İyonize radyasyondan kaynaklanan genetik hasarın boyutunun belirlenmesi için, 133 nükleer termik santral işçisi ve 39 sağlıklı kontrol grubunun mikronükleus değerleri, CBMA (Cytokinesis Blocked Micronucleus Analysis) yöntemi kullanılarak karşılaştırılmış ve bu *in vitro* çalışmada olduğu gibi, iyonize radyasyona maruz kalan işçilerinin periferik kan lenfositlerinde, kontrol grubuna göre mikronükleus sıklığında önemli oranda bir artış tespit edilmiştir.

Benzer biçimde yapılan bir diğer çalışmada ise radyoterapi sonrası hastaların normal ve hasarlı dokularında radyasyon sebepli mikronükleus oluşumu incelenmiş ve genel olarak radyasyon dozunun artmasıyla mikronükleus sıklığının arttığı gözlenmiştir⁽²⁶⁾.

Thierens ve arkadaşları⁽²⁷⁾ tarafından yapılan bir başka çalışmada ise X-ray cihazlarına el ile dokunan nükleer güç santrali işçileri ve tıbbi alanda çalışan işçilerden oluşan 269 bireyin periferal kan lenfositlerine mikronükleus deneyi uygulanarak yaş, sigara kullanımı ve radyasyonun mikronükleus oluşumu üzerine etkisi araştırılmıştır. Söz konusu çalışmada mikronükleus sıklığının yaş ile sistematik olarak arttığı tespit edilirken sigara kullanımı ile mikronükleus oluşumu arasında herhangi bir ilişki kurulamamıştır. Bu çalışmada ise sigara kullanımı ile mikronükleus sıklığında istatistiksel açıdan önemli olmayan kısmi bir artış tespit edildi.

4.2. Kromozom Hasarları

Bu çalışma radyasyon uygulamasının akyuvar hücrelerinde kırık, disentrik, halka ve boşluk tipi hasarlara neden olduğunu gösterdi (Şekil 3.14-17). Ayrıca erken sentromer ayrılması ve fragment hasarları da gözlemlendi (Şekil 3.18-19). Her bireye ait metafaz kromozomları incelendiğinde kırık ve disentrik hasarlarının ring ve gap hasarlarına göre daha fazla olduğu görüldü (Çizelge 3.2).

Radyasyonun oluşturduğu kromozom hasarları ile ilgili pek çok literatür örneği vardır. Bunlardan biri Balakrishnan ve arkadaşlarının⁽²⁸⁾ mesleki olarak düşük doz radyasyona maruz kalan işçilerin periferal kan lenfositlerinde kromozom hasarlarını araştırdıkları çalışmadır. Bu bireylerde, disentrik ve

asentrik kromozom sıklığının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmacılar çalışmalarında kontrol grubunu oluşturan 17 sağlıklı bireyde 3700 metafaz içerisinde 2 disentrik gözlemlerken meslekleri nedeniyle uzun süreli düşük doz radyasyona maruz kalan bireylerde ise 8400 metafaz analizinde 27 disentrik ve 1 gap kromozom oluşumuna rastlamışlardır. Bir diğer çalışmada Lloyd ve arkadaşları⁽²⁹⁾ *in vitro* ortamda çok düşük dozlardaki X-ışınlarının insan lenfositlerinde oluşturduğu kromozomal hasarları incelemiştir. Söz konusu çalışmada 24 sağlıklı bireyden alınan kan örneklerine 0-300 mGy arasında farklı dozlarda (0.3, 0.6, 5, 6, 10, 20, 30, 50 ve 100 mGy) X-ışınları uygulanmış ve sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 20 mGy üzerinde uygulanan X-ışınları dozunun kromozomlar üzerinde oluşturduğu hasarların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Purrott ve arkadaşları⁽³⁰⁾ tarafından yapılan bir başka çalışmada ise, gama radyasyonun farklı dozlarına maruz bırakılan insan lenfositlerindeki kromozom hasarlarının incelenmesi amacıyla hücre döngüsünün Go evresindeki insan periferal kan lenfositlerinin *in vitro* ortamda 100, 250 ve 500 rad sezyum-137 gama radyasyona maruz bırakılması sonucu oluşan kromozom hasarları belirlenmiştir. Bu çalışmada bireylerin kan örneklerine uygulanan 1000 cGy (1000 cGy=1000 rad) dozda radyasyonun etkisiyle meydana gelen disentrik kromozom oluşumunda olduğu gibi 100 rad (100 rad=100 cGy), 250 rad (250 rad=250 cGy) ve 500 rad (500 rad=500 cGy) radyasyon uygulamasının da insan lenfosit kromozomlarında disentrik oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir. Oliveirae ve arkadaşları⁽³¹⁾ ise insan lenfosit kromozomlarına ⁹⁰Sr β-Radyasyonun etkilerini araştırmışlardır. Sağlıklı 5 bireyden alınan kan örnekleri *in vitro*

ortamda 0.2-5.0 Gy dozları arasında ⁹⁰Sr radyasyona maruz bırakıldıktan sonra kromozom analizleri gerçekleştirilmiştir. Sitogenetik analizler sonucunda en fazla asentrik, fragment ve disentrik hasarlarına rastlanılmıştır. Yukarıdaki literatürlere benzer şekilde bu çalışmada da uygulanan radyasyonun sağlıklı kan hücrelerinde istatistiki olarak anlamlı (p<0.05) kromozom hasarları (kırık, disentrik, halka ve boşluk gibi) oluşturduğu belirlendi.

Bu çalışmada olduğu gibi sigara kullanımı ve cinsiyetin radyasyonun olumsuz etkilerine katkısını araştıran çalışmalar yapılmıştır. Örneğin Wojewodzka ve arkadaşları⁽³²⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, düşük doz iyonize radyasyona maruz kalan 49 işçiden oluşan bir grupta sigara alışkanlığının DNA hasarına etkisi araştırılmıştır. Sonuçta DNA kırıkları ile toksik etkisi bilinen sigara arasında bir ilişki kurulamamıştır. İkinci bir örnek olan, Li ve arkadaşları⁽³³⁾ tarafından yapılan çalışmada gama radyasyona olan duyarlılık üzerine sigara kullanımı, yaş ve cinsiyetin etkileri araştırılmıştır. Çalışma 18-95 yaş arasındaki 441 birey ile gerçekleştirilmiştir. *In vitro* ortamda gama radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örnekleri kromozom kırıkları açısından analiz edilmiştir. Çalışma bulguları radyasyon uygulamasıyla meydana gelen kromozom kırıklarının yaş ile ilişkili olmadığını, fakat erkeklerde kadınlara oranla oluşan kromozom kırığında anlamlı bir artış olduğunu göstermiştir. Ayrıca söz konusu çalışmada radyasyon uygulamasıyla sigara kullanan bireylerde kullanmayan bireylere oranla kromozom kırığında anlamlı bir artış belirlenmiştir. Bu çalışmada ise radyasyon uygulamasıyla meydana gelen kromozom hasarlarında sigara kullanan bireylerde kullanmayan bireylere oranla istatistiki olarak önemli

olmayan kısmi bir artış gözlemlendi. Ayrıca radyasyon uygulanan kan örneklerindeki kromozom hasarlarında bayanlarda baylara oranla meydana gelen artışın istatistik olarak önemli olduğu tespit edildi.

4.3. Serum ALP düzeyleri

Radyasyon uygulanan ve uygulanmayan kan örneklerinin serum ALP değerleri incelendiğinde referans değer aralığını aşmayan artış ve düşüşler olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.4, Şekil 3.25). Bu bulgulara dayanarak radyasyonun etki mekanizmasına göre bireylerin serum ALP düzeylerini arttırdığı ya da düşürdüğü söylenebilir. Radyasyonun temas ettiği akyuvar hücre membranlarının zarar görerek parçalanması sonucu hücre içerisinde depolanan ALP enzimi seruma çıkarak serum ALP düzeyinin artmasına neden olur. ALP düzeyindeki düşüş ise radyasyonun hücrede oluşturduğu serbest radikallerin seruma geçen enzimle etkileşime girerek enzimin yapısını bozması sonucu miktarının azalmasından kaynaklanır. Radyasyonun serum ALP üzerine etkisini araştırmak için yapılan çalışmalara Gevorgyan ve arkadaşları⁽³⁴⁾ tarafından yapılan çalışma örnek olarak verilebilir. Çalışmada Yeni Zelanda beyaz tavşanlarından elde edilen hücre kültürleri alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi, hücresel çoğalma, kollajen tip I ifadesi ve mineralizasyon bakımından analiz edilmiştir. Takiben tavşanlar 15 Gy radyasyona maruz bırakıldıktan sonra hücre kültürleri tekrar elde edilmiş, alkalen fosfataz aktivitesi ve diğer analizler tekrar gerçekleştirilerek kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve radyasyon alan grupta yüksek alkalen fosfataz aktivitesi, kollajen tip I ifadesi ve mineralizasyon tespit edilmiştir.

Li ve arkadaşları⁽³⁵⁾ tarafından yapılan bir çalışmada ise insan mezenkimal stroma hücreleri üzerine farklı dozlarda X-ışınlarının etkisi araştırılmıştır. Çalışmada osteogenik aktivite üzerindeki maksimum baskılayıcı etkinin, mezenkimal stroma hücrelerine uygulanan yüksek doz radyasyon (12 Gy) ile meydana geldiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada elde edilen bazı serum ALP düzeylerindeki azalmada olduğu gibi, kemik oluşum aktivitesi olarak ifade edilen alkalen fosfataz (ALP) ve kalsiyum ifadesinin radyasyon dozuna bağlı olarak azaldığı gözlenmiştir.

Bir başka çalışmada ise 1000 cGy dozda Kobalt-60 gama radyasyona maruz bırakılan ratlarda meydana gelen morfolojik hasarlar tespit edilerek serum değerlerinden alkalen fosfataz (ALP), alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) ve laktöz dehidrogenaz (LDH) enzim düzeyleri belirlenmiş ve radyasyon alan kontrol grubunda serum değerlerini oluşturan ALP, ALT, AST ve LDH aktivitelerinde artış olduğu gözlenmiştir⁽³⁶⁾.

Altıntaş ve arkadaşları⁽³⁷⁾ tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise 30-watt UVC lambası (254 nm ve 0.00014 J/cm²/s) ile ışınlanan farelerde yapay UVC radyasyonun bazı kan ve urin parametreleri üzerinde oluşturduğu etki çalışılmıştır. Bunun için serum üre, keratinin, kolesterol, AST, ALP ve GGT düzeyleri radyasyon uygulanması öncesi (kontrol grubu olarak) ve sonrası belirlenerek kontrol grubu ve deney grubu değerleri karşılaştırılmıştır. Sonuçta bu çalışmada radyasyon uygulanan kan örneklerine ait serum ALP değerlerinin bazılarında görülen azalmada olduğu gibi, serum ALP ve GGT seviyelerinde belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Serum ALP ve GGT

düzeylerindeki anlamlı azalmanın ($p<0.01$) radyasyonun enzim aktivitesi üzerindeki inhibitör etkisi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Radyasyonun serum ALP düzeyi üzerine etkisi, yapılan çalışmalarla açıklık kazanmıştır. ALP enzimi radyasyona maruz kaldığında DNA gibi makromoleküllerle etkileşime girerek inaktif hale geçebilmekte, bu da serum ALP seviyesinde radyasyon sebepli değişikliklere neden olmaktadır. Bu durum ise araştırmacıların radyasyon hasarının belirlenmesinde serum parametrelerinden ALP enzimi ile çalışmalarına neden olmaktadır.

Radyasyonun hücre morfolojisi, kromozom yapısı ve enzim değerleri üzerine olumsuz etkisi bu *in vitro* çalışma ile literatürde olduğu gibi bir kez daha anlaşılmıştır. Fakat modern yaşamda radyasyondan tümüyle kaçınmak imkansız hale gelmiştir. Doğal radyasyon kaynakları dışında tıpta kullanılan radyoaktif kaynaklar, bilim ve teknoloji alanında kullanılan radyasyon kaynakları gibi yapay kaynaklar da canlı sağlığını tehdit etmektedir. Hücrede meydana gelen hasarlarda tamir mekanizmalarına rağmen zaman içinde bir birikim söz konusudur. Bu sebeple günümüzde kullanım alanları giderek yaygınlaşan radyasyondan korunma yöntemlerinin çok iyi bilinmesi ve bu konuda halkın bilinçlendirilmesi kısacası radyasyonla beraber ve radyasyondan minimum düzeyde etkilenerek nasıl yaşanılacağıının öğrenilmesi gerekir.

KAYNAKLAR

1. M. Coşkun, M. Coşkun, Biyolojik dozimetri ve ilgili gelişmeler, Cerrahpaşa Tıp Dergisi, **34**, 207(2003).
2. <http://www.aof.edu.tr/kitap/EHSM/1222/unite13.pdf> (Erişim tarihi 15 Ağustos 2007).
3. H. Yaren, T. Karayılıanoğlu, Radyasyon ve insan sağlığı üzerine etkileri, TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, **4 (4)**, 199(2005).
4. A. Kaya, İyonize radyasyonun biyolojik etkileri, Dicle Tıp Dergisi, **29 (3)**, 65(2002).
5. C. Canbazoğlu, M. Doğru, Maden ilçesinde (Elazığ) çevresel gama radyasyon dozu ölçümleri, VIII. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, Samsun, 15-17 Ekim 2003.
6. <http://www.taek.gov.tr> (Erişim tarihi 16 Haziran 2007)
7. H. Kumbur, Z. Özer, Nükleer savaş maddelerinin olası çevre etkileri, Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü, VIII. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, Kayseri, 15-17 Ekim 2003.
8. B. Günalp, İyonize radyasyonun biyolojik etkileri, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ve Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, 2003.
9. A. Bozbıyık, Ç. Özdemir, İ. H. Hancı, Radyasyon yaralanmaları ve korunma yöntemleri, Sürekli Tıp Eğitim Dergisi, **11 (7)**, 272(2002).
10. E. Kekilli, Nükleer Tıp'a Giriş, Yılıgüntaş Matbaası, Malatya, 2001.
11. W. S. Klug, M. R. Cummings, Genetik Kavramlar, Palme Yayıncılık, Ankara, 2002.
12. K. Çavuşoğlu, Radyoterapi gören akciğer kanseri hastaların kan hücrelerinin sitolojik, sitogenetik ve biyokimyasal yönden araştırılması. Doktora Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2006.

13. D. Dalcı, G. Dörter, İ. Güçlü, G. Köksal, E. M. Köksal, Biyolojik doz tayininde kullanılan başlıca sitogenetik yöntemler ve uygulama alanları, VIII. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, Kayseri, 15-17 Ekim(2003).
14. H. Akçakaya, A. Aroymak, S. Gökçe, A quantitative colorimetric method of measuring alkaline phosphatase activity of eukaryotic cell membranes, *Cell Biology International*, **31**, 186(2007).
15. İ. Üstünel, G. Akkoyunlu, E. Kocamaz, R. Demir, Sıçan fetüslerinde primer ossifikasyon bölgesi gelişimi: histolojik ve histokimyasal bir çalışma, *Turk, J. Biol.*, **24**, 2(2000).
16. C. Duman, B. F. Erden, Birinci basamak sağlık hizmetlerine yönelik biyokimyasal laboratuvar verilerinin kısa yorumu, *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi*, **13 (7)**, 257(2004).
17. G. Çakmak, Trafik polisleri ve taksi sürücülerinde hava kirliliği maruziyetine yönelik idrarda 1-hidroksipiren değerlerinin, periferal lenfositlerde kromozomal aberasyon ve mikroçekirdek sıklıklarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara 2002.
18. S. Burgaz, G. Ç. Demircigil, M. Yılmaz, N. Ertap, Y. Kemaloğlu, Y. Burgaz, Assessment of cytogenetic damage in lymphocytes and in exfoliated nasal cells of dental laboratory technicians exposed to chromium, cobalt and nickel, *Mutation Res.*, 521(2002).
19. M. Kirsh-Volders, M. Fenech, Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes, *Mutagenesis*, **16(1)**, 51(2001).
20. M. Fenech, W. P. Chang, M. Kirsch-Volders, N. Holland, S. Bonassi, E. Zeiger, Human micronucleus Project, HUMN Project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultured, *Mutation Res.*, **534(1-2)**, 65(2003).

21. I. Testard, M. Ricoul, F. Hoffschir, A. Flury, B. Dutrillaux, B. Federenko, V. Geresimenko, L. Sebatier, Radiation-induced astronauts lymphocytes, *Int. J. Radiat. Bio.*, **70**, 403(1996).
22. R. M. Anderson, S. J. Marsden, E. G. Wright, M. A Kadhim, D. T. Goodhead, C. S. Griffin, Complex chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes as a potential biomarker of exposure to High-LET alpha-particles, *Int. J. Radiat. Bio.*, **76**, 31(2001).
23. K. E. Buckton, H. J. Evans, *Methodes D' analyse Des aberrations chromosomiques humaines*, Organisation Mondiale De La Sante, Geneve, 1973.
24. P. Mosezzo, M. Suchuber, D. Seibt, C. Schmitz, M. Fiore, A. Schinoppi, S. Pena, F. Palitti, X-ray-induced chromosome aberrations in human lymphocytes in vitro are potentiated under simulated microgravity conditions (clinostat), 1st International workshop on space radiationresearch and 11th annual Nasa spaces radiation health investigators workshop arona (Italy), 27(2000).
25. Hajidekova VB, Bulanova M, Bonassi S, Neri M, Micronucleus frequency is increased in peripheral blood lymphocytes of nuclear power plant workers, *Radiat Research*, **160 (6)**, 684(2003)
26. U. Nachtrab, U. Oppitz, M. Flentje, H. Stoper, Radiation-induced micronucleus formation in human skin fibroblast of patients showing severe and normal tissue damage after radiotherapy, *International Journal of Radiation Biology*, **73 (3)**, 279(1998).
27. H. Thierens, A. Vral, L. De Ridder, A cytogenetic study of radiological workers: effect of age, smoking and radiation burden on the micronucleus frequency, *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, **360 (2)**, 75(1996).
28. S. Balakrishnan, S. B. Rao, Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes of occupational workers exposed to low levels of ionising radiation, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **442 (1)**, 37(1999).

29. D. C. Lloyd, A. A. Edwards, A. Leonard, G. L. Deknudt, L. Verschaeve, A. T. Natarajan, F. Darroudi, G. Obe, F. Palitti, C. Tanzarella, E. J. Tawn, Chromosomal aberrations in human lymphocytes induced in vitro by very low doses of X-rays, *International Journal of Radiation Biology*, **61(3)**, 335(1992).
30. Purrott RJ, Reeder E, The effect of changes in dose rate on the yield of chromosome aberrations in human lymphocytes exposed to gamma radiation, *Mutat. Res.*, **35 (3)**, 437(1976)
31. E. M. de Oliveirae, M. F. Suzuki, P. A. do Nascimento, M. A. da Silva, K. Okazaki, Evaluation of the effect of ⁹⁰Sr β-radiation on human blood cells by chromosome aberration and single cell gel electrophoresis (comey assay) analysis, *Mutat. Res.*, **476 (1-2)**, 109(2001).
32. M. Wojewodzka, M. Kruszewski, T. Iwanenko, A. R. Collins and I. Szumiel, Lack of adverse effect of smoking habit on DNA strand breakage and base damage, as revealed by the alkaline comet assay, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **440 (1)**, 19(1999).
33. Li-E Wang, M. L. Bondy, M. de Andrade, S. S. Strom, X. Wang, A. Sigurdson, M. R. Spitz, Q. Wei, Gender difference in smoking effect on chromosome sensitivity to gamma radiation in a healthy population, *Radiat Res.*, **154 (1)**, 20(2000).
34. A. Gevorgyan, GC Ia Scala, B. Sukhu, IT. Leung, H. Ashrafpour, I. Yeung, PC. Neligan, CY. Pang, CR. Forrest, An in vitro model of radiation-induced craniofacial bone growth inhibition, *J. Craniofac Surg.*, **18 (5)**, 1044(2007).
35. J. Li, DL. Kwong, GC. Chan, The effects of various irradiation doses on the growth and differentiation of marrow-derived human mesenchymal stromal cells, *Pediatr Transplant.*, **11 (4)**, 349(2007).

36. R. Yanardağ, S. Bolkent, A. Kizir, Protective effects of DL- α -tokoferol asetat and sodium selenate on the liver of rats exposed to gamma radiation, *Biological Trace Element Research*, **83 (3)**, 263(2001).
37. A. Altıntaş, A. Bilgili, D. Eşsiz, N. Üren, L. Altıntaş, M. Pekcan, H. Türker and Ç. Serkan, Effects of artificial Ultraviolet C Radiation on several blood and urine parameters related to renal and hepatic functions in albino mice, *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, **51**, 303(2007).