

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
2022-YL-042

IR IŞINLARINDAN KAYNAKLANAN DNA HASARININ
ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERLE TESPİTİ VE
HASARIN BAZI MOLEKÜLLER VARLIĞINDA
İNCELENMESİ

Pelin UYSAL ÇALICIOĞLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mıhrıcan MUTİ
2. DANIŞMAN
Prof. Dr. Hakan KARADENİZ

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
FEF 21003 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2022

ÖNSÖZ

Öncelikle yüksek lisans eğitimim süresince her konuda bana destek olan hiçbir yardımını benden esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübeleriyle bana ışık tutan, hayatımın her alanı için mentörlük yapan, okulu benimseyip kendimi geliştirmeme yardımcı olan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mihrican MUTİ' ye,

Engin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok değerli hocam, ikinci danışmanım Sayın Prof. Dr. Hakan KARADENİZ'e,

Sıcakkanlılıklarıyla beni bir kardeş gibi aralarına alan, her sıkıştığımda elimden tutan, çalışma ortamını muhabbetleriyle sıcak bir mekâna çeviren değerli ablalarım, çalışma arkadaşlarım, yüksek kimyager Aylin EROL ve doktora öğrencisi Fatma AKPINAR'a,

Hayatımın her alanında beni destekleyip cesaretlendiren en umutsuz anlarımda bile yeniden inanmamı sağlayan sevgili eşim Mehmet ÇALICIOĞLU'na, varlığı bize bir armağan olan ve bu süreci benimle geçiren beni hiç yormayan canım oğlum AREN'e,

Küçük bir kız çocuğuyken büyük hayaller kurmamı sağlayan ve bunları gerçekleştirmek için canla başla çalışan canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

Pelin UYSAL ÇALICIOĞLU

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. DNA Hasarı.....	2
1.2. Işımlar	5
1.2.1. Radyo Dalgaları (1 m – 100.000 km).....	5
1.2.2. Mikrodalgalar (1 mm – 1 m)	5
1.2.3. Kızılötesi Işıma (IR: 295-2500 nm)	5
1.2.4. Ultraviyole Bölge (UV: 295-400 nm)	6
1.2.5. Görünür Bölge (400-700 nm).....	6
1.2.6. Yakın Kızılötesi Bölge (700-2500 nm)	7
1.2.7. X-ışınları (0.01- 10 nm).....	7
1.2.8. Gama Işınları (< 0,02 nm)	7
1.3. Antioksidanlar	8
1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	9
1.3.2. Vitamin Olan Antioksidanlar:	11

1.3.2.1. C Vitamini	11
1.3.2.2. E Vitamini	11
1.3.2.3. A vitamini	12
1.3.2.4. B7 Vitamini (Biotin).....	13
1.4. Elektroanalitik Yöntemler	13
1.4.1. Voltametri Tekniği	14
1.4.2. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS).....	16
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	17
3. MATERYAL YÖNTEM.....	20
3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar	20
3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar	20
3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları.....	21
3.3.1. Tampon Çözeltilerin Hazırlanması.....	21
3.3.1.1. 0.5 M Asetat Tampon Çözeltisinin (ABS) Hazırlanması.....	21
3.3.1.2. Tris-EDTA Tampon Çözeltisinin Hazırlanması.....	21
3.3.1.3. Redoks Çözeltisinin Hazırlanması	21
3.3.1.4. Stok DNA Çözeltilerinin Hazırlanması.....	22
3.3.1.5. Askorbik Asit (C vitamini) Çözeltisinin Hazırlanması	22
3.3.1.6. Biotin Çözeltisinin Hazırlanması	22
3.3.1.7. Kitosan Çözeltisinin Hazırlanması	22
3.3.1.8. PEG Çözeltisinin hazırlanması.....	22
3.3.2. Deneylerde Kullanılan Çalışma Elektrotların Hazırlanması	23
3.3.2.1. Kalem Grafit Elektrotların (PGE) Hazırlanması	23
3.3.2.2. Kalem Grafit Elektrotların Yüzey Aktivasyonu.....	23
3.4. Elektrokimyasal Ölçümler.....	23

3.4.1. Voltametik Ölçümler.....	23
3.4.2. Elektrokimyasal Empedans Spektrometri (EIS) Ölçümleri	24
3.4.3. Hasar Çalışmaları	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	25
4.1. DNA Derişiminin Belirlenmesi	25
4.2. Hasar Çalışmaları	26
4.2.1. Voltametri Yöntemiyle HasarınTespiti	26
4.2.2. Elektrokimyasal Empedans Spektrometri Yöntemiyle Hasarın Tespiti	27
4.2.3. Maruziyet Süresinin Etkisi:	29
4.2.4. Vitaminler Varlığında Hasar Çalışmaları.....	30
4.2.4.1. C vitamini (Askorbik Asit)	30
4.2.4.2. D vitamini	31
4.2.4.3. E vitamini	33
4.2.4.4. B7 vitamini	34
4.2.5. Antioksidan madde varlığında hasar çalışmaları.....	36
4.2.5.1. Gallik asit	36
4.2.6. Polimerler varlığında hasar çalışmaları	37
4.2.6.1. Kitosan	37
4.2.6.2. poli Etilen Glikol (PEG)	39
5. SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR.....	43
BİLİMSEL ETİK BEYANI	48
ÖZGEÇMİŞ.....	49

SİMGELER DİZİNİ

- ABS** : Asetat Tampon Çözeltisi
- ctssDNA** : Buzağı timus tek sarmal DNA
- ctdsDNA** : Buzağı timus çift sarmal DNA
- CV** : Dönüşümlü Voltametri
- DNA** : Deoksiribo Nükleik Asit
- DPV** : Diferansiyel Puls Voltametri
- EIS** : Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
- fsDNA** : Balık sperm DNA
- PGE** : Kalem Grafit Elektrot
- IR** : Infrared

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. DNA molekülünün yapısı	2
Şekil 1.2. Güneşten kaynaklı UV ışığa maruz kalan DNA zincirindeki komşu iki pirimidin arasındaki kovalent bağlanma.	4
Şekil 1.3. Elektromanyetik spektrum	8
Şekil 1.4. C vitamininin kimyasal yapısı.....	11
Şekil 1.5. E vitamininin kimyasal yapısı	12
Şekil 1.6. A vitamininin kimyasal yapısı	12
Şekil 1.7. Biotinin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 1.8. Deneysel ve simüle edilmiş empedans spektrumları (Nyquist çizim eğrilerinin örnekleri ve bunların eşdeğer devreleri).....	16
Şekil 4.1. Farklı derişimlerde fsDNA çözeltilerinin guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalamasından çizilmiş olan histogram.	25
Şekil 4.2. PGE yüzeyine immobilize edilmiş 80 ppm fsDNA'nın IR ışınına maruz kalmadan ve ışına 60 dak. maruziyetten sonra Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalamalarından hazırlanmış olan histogram.	27
Şekil 4.3. Yalın-PGE, DNA-PGE ve 1 saat boyunca IR ışını ile etkileştirilmiş DNA-PGE'lere ait Nyquist eğrisi ve Ortalama Rct değerlerinden çizilmiş histogramlar. İç şekil Rs: çözelti direnci, Cd: elektrot/elektrolit/ara yüzündeki kapasitans, Rct: elektrot/elektrolit/ara yüzündeki yük transfer direnci, W: elektrot yüzeyine kütle transferi nedeniyle Warburg empedansını göstermektedir.....	28
Şekil 4.4. Maruziyet süresinin Guanin yükseltgenme sinyali üzerindeki etkisi. İç şekil Guanin yükseltgenme sinyalindeki % değişimi göstermektedir.	29

- Şekil 4.5.** 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların C vitamini yokluğunda ve 10-2 M C vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram..... 30
- Şekil 4.6.** 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların D vitamini yokluğunda ve 30000 I.U/mL D vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram..... 32
- Şekil 4.7.** 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların E vitamini yokluğunda ve 150 mg/mL E vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram..... 33
- Şekil 4.8.** 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların B7 vitamini yokluğunda ve 5 mg/mL B7 vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram..... 35
- Şekil 4.9.** 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların Gallik asit yokluğunda ve 10-2 M Gallik asit varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram..... 36
- Şekil 4.10.** 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların kitosan yokluğunda ve 10 mg/mL kitosan varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram. gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram..... 38
- Şekil 4.11.** 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların PEG yokluğunda ve 5 mg/mL PEG varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram..... 39

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Endojen Antioksidanlar	10
Tablo 1.2. Ekzojen Antioksidanlar	10
Tablo 3.1. Kullanılan Kimyasallar.....	20
Tablo 3.2. Kullanılan Cihazlar.....	20
Tablo 3.3. Diferansiyel Puls Voltametri (DPV) Koşulları:.....	24
Tablo 4.1. Farklı derişimlerde DNA immobilize edilmiş elektrotlarla ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri.....	26
Tablo 4.2. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların C vitamini yokluğunda ve 10-2 M C vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri.....	31
Tablo 4.3. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların D vitamini yokluğunda ve 30000 I.U/mL D vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri.....	32
Tablo 4.4. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların E vitamini yokluğunda ve 150 mg/mL E vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri.....	34
Tablo 4.5. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların B7 vitamini yokluğunda ve 5 mg/mL B7 vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri.....	35
Tablo 4.6. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların Gallik asit yokluğunda ve 10-2 M Gallik asit varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri.....	37

ÖZET

IR IŞINLARINDAN KAYNAKLANAN DNA HASARININ ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERLE TESPİTİ VE HASARIN BAZI MOLEKÜLLER VARLIĞINDA İNCELENMESİ

**Uysal Çalıoğlu P. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Kimya Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022**

Amaç: Bu çalışma, IR ışınlarının neden olduğu DNA hasarının, Guanin bazının yükseltgenme sinyalinde meydana gelen değişimin elektrokimyasal olarak ölçülerek tespit edilmesi ve söz konusu hasarın belirli vitaminlerin ve polimerlerin varlığında nasıl değiştiğinin incelenmesini amaçlamaktadır.

Materyal ve Yöntem: Tek kullanımlık kalem grafit elektrot yüzeyine immobilize edilen çift sarmal DNA belirli süreler IR ışığına maruz bırakıldı. Maruziyetten önce ve sonra Guanin yükseltgenme sinyalindeki değişim incelendi. Ayrıca elektrot yüzeyine immobilize edilmiş olan DNA'nın üzerine vitamin/doğal polimer kaplanarak söz konusu hasarın değişimi incelenmiştir. Böylece söz konusu vitamin/doğal polimerin hasarı engellemedeki etkisi araştırılmıştır.

Bulgular ve Sonuç: Çalışmada, C, B₇, D ve E vitaminleri ile doğal polimerler olan kitosan ve polietilen glikol (PEG)'in IR ışınlarından kaynaklanan hasarı önlemeye etkisi araştırılmış ve C ve E vitaminlerinin hasarı engellemede etkili olmadığı, D ve B₇ vitaminleri ile kitosan ve PEG polimerlerinin, DNA molekülünün IR ışınlarının etkisiyle hasara uğramasını engellediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: DNA Hasarı, Elektrokimya, Guanin, Kitosan, Vitamin,

ABSTRACT

DETERMINATION OF DNA DAMAGE CAUSED BY IR RAYS BY ELECTROCHEMICAL METHODS AND INVESTIGATION OF THE DAMAGE IN THE PRESENCE OF SOME MOLECULES

Uysal Çalicioğlu P. Aydın Adnan Menderes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Chemistry Program, Master Thesis, Aydın, 2022

Objective: This study aims to detect DNA damage caused by IR rays by measuring the change in the oxidation signals of Guanine electrochemically and to examine the changes in this damage in the presence of certain vitamins and polymers.

Materials and Methods: Double-stranded DNA was immobilized onto the surface of the disposable pencil graphite electrode and was exposed to IR light for certain periods. The change in the oxidation signal of guanine before and after exposure was measured. In addition, the DNA immobilized electrode surface was coated with vitamin/natural polymer and exposed to IR rays, and the guanine oxidation signal was measured before and after exposure. In this way, it was investigated the effect of vitamin/ polymers on preventing DNA damage caused by IR rays.

Results and Conclusion: In this study, the effects of Vitamin C, B7, D and E and natural polymers, chitosan and polyethylene glycol (PEG), on the preventing of DNA damage caused by IR rays were investigated. It has been determined that vitamins C and E are not effective in preventing damage, and vitamins D and B7, as well as chitosan and PEG polymers, prevent the DNA molecule from being damaged by the effect of IR rays.

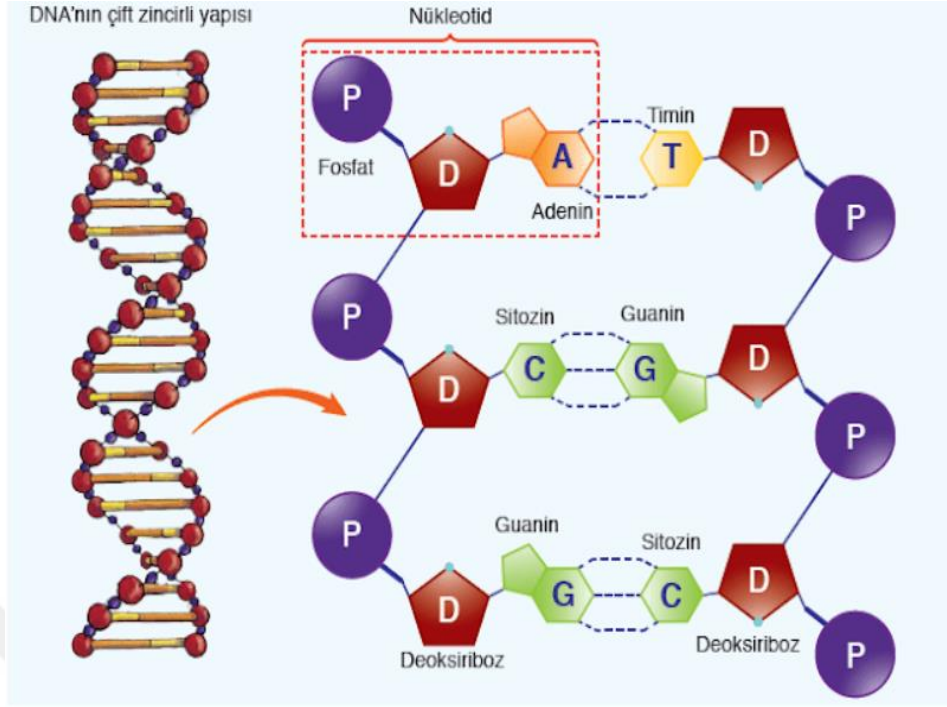
Key Words: Chitosan, DNA Damage, Electrochemistry, Guanine, Vitamin

1. GİRİŞ

DNA ya da deoksiribonükleik asit hem insanlarda hem de nerdeyse diğer tüm organizmalarda bulunan kalıtsal bir materyaldir. İnsan bedenindeki neredeyse tüm hücreler aynı DNA'ya sahiptir. DNA'da saklanan bilgiler, dört adet kimyasal bazın bir araya gelmesiyle meydana gelen bir kod şeklinde karşımıza çıkar: adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timin (T). Yaklaşık olarak 3 milyar bazdan oluşan insan DNA'sındaki bazlar yüzde 99'dan fazla bir oranla bütün insanlarda aynıdır. Bazlarının sırası ya da sıralanışı, herhangi bir organizmayı oluşturmakla sürdürmek için var olan bilgileri belirler. DNA bazları, A ve T ile C ve G olmak üzere karşılıklı eşleşerek baz çiftleri diye adlandırılan birimleri meydana getirir. Her baz ayrıca bir fosfat molekülüyle bir şeker molekülüne bağlıdır. Fosfat, şeker ve baz üçlüsüne nükleotit adı verilir. Nükleotidler, spiral ve çift sarmal şeklinde iki şerit halinde düzenlenmiştir (Şekil 1.1).

DNA'nın önemli özelliklerinden biri kendini kopyalayabilmesidir. Çift sarmal DNA dizileri, baz dizilerini kopyalamak üzere bir model görevi görebilir. Hücre bölünmeleri için bu, oldukça önemlidir çünkü yeni her hücrede eski hücrede yer alan DNA'nın eksiksiz bir kopyasının bulunması gereklidir.

Kimyasal DNA ilk kez 1869'da keşfedilmesine rağmen genetik kalıtımdaki etkileri 1943'e kadar gösterilememiştir. 1953'te Francis Crick ile James Watson isimli biyofizikçilerin çalışmalarının yardımıyla Maurice Wilkins ile Rosalind Franklin, DNA'nın yapısının, birbirine sarılmış iki DNA zincirinden oluşan bir spiral olan çift sarmallı bir polimer olduğunu belirlemişler ve bu buluş, bilim adamlarının DNA replikasyonu ve hücresel aktivitelerin kalıtsal kontrolü konusundaki anlayışlarında önemli ilerlemelere yol açmıştır.



Şekil 1.1. DNA molekülünün yapısı

1.1. DNA Hasarı

DNA hasarı, bir DNA bazında kimyasal bir ekleme veya bozulma (anormal bir nükleotit veya nükleotit parçası oluşturma) veya DNA iplikçiklerinin bir veya her iki zincirinde meydana gelen bir kırılma olması sonucu ortaya çıkan değişikliktir. Hasarlı bir baz taşıyan DNA kopyalandığında, tamamlayıcı zincirdeki hasarlı bazın bulunduğu yerin karşısına genellikle yanlış bir baz yerleşir ve bu, bir sonraki replikasyon turunda bir mutasyon haline gelebilir (Bernstein vd., 2013).

DNA, diğer tüm biyomoleküller gibi birtakım kimyasal ve fiziksel reaksiyonlarla karşı karşıya kalabilir. Ancak canlı kalıtımının kalıcı tek kopyası olduğundan dolayı, DNA'nın yapısında ortaya çıkacak herhangi bir değişim, diğer hücre bileşenlerinde de oldukça farklı etkiler meydana getirir (Copper, 2016). DNA'nın Moleküler bütünlüğünde ekzojen ile endojen faktörlerinin etkisiyle ortaya çıkan DNA hasarları gözlenmektedir (Kulaksız ve Sancar, 2007). Endojen ve ekzojen kaynaklı oluşan DNA hasarlarının insan genomunda günlük ortalama 105 civarında olduğu bildirilmiştir (Lindahl, 1993).

Hücre veya metabolizma içerisinde gerçekleşen hasarlar yani endojen kaynaklı hasarların sebepleri olarak, hücre DNA'sında rastgele meydana gelen hatalar, metabolizma yan ürünleri olan reaktif oksijen türleri (ROT), östrojen metabolitleri, kolestrol, alkilasyon ajanları, lipid peroksidasyon ürünleri ve azot ürünleri sayılabilir (De Bont ve Van Larebeke, 2004; Hoeijmakers, 2009; Iyama ve Wilson, 2013).

Hücre veya metabolizma dışında gerçekleşen yani ekzojen kaynaklı hasarların sebepleri olarak ise hava kirliliği, kemoterapi amaçlı kullanılan ilaçlar, elektromanyetik dalgalar, UV ışığı kimyasal ajanlar, iyonize radyasyon, ağır metaller hatta sigara dumanı sayılabilir (Hoeijmakers, 2009; Ciccia ve Elledge, 2010, Jepsen vd., 2011; Iyama ve Wilson, 2013).

Endojen ve ekzojen DNA hasarları özetlenirse;

Endojen (spontan) kaynaklı hasarlar:

- Oksidatif hasar: 100.000/hücre/gün
- Baz kayıpları: depurinasyon/depirimidinasyon,
- Yanlış eşleşmeler: insersiyon/delesyonlar,
- Kimyasal değişiklikler: deaminasyon, metilasyon,
- Replikasyon hataları sayılabilir.

Depurinizasyon, purin bazlarının (adenin ve guanin) ve glikozil bağlarının hidrolize olmasından dolayı yok olmasına denir. Somatik 13 mutasyonları, endojen etkenlerle oluşan hasarlar onarılmazsa ortaya çıkar (Duguid vd., 1995).

Ekzojen (dış) kaynaklı hasarlar:

- Kimyasal ajanlar: Kemoterapi ilaçları, benzopiren, aflatoksin, vinil, alkilleyici ajanlar,

klorid, mustard gazlar vb.

- Fiziksel ajanlar: İyonize radyasyon, radyasyon, UV (Ultraviyole), vb.

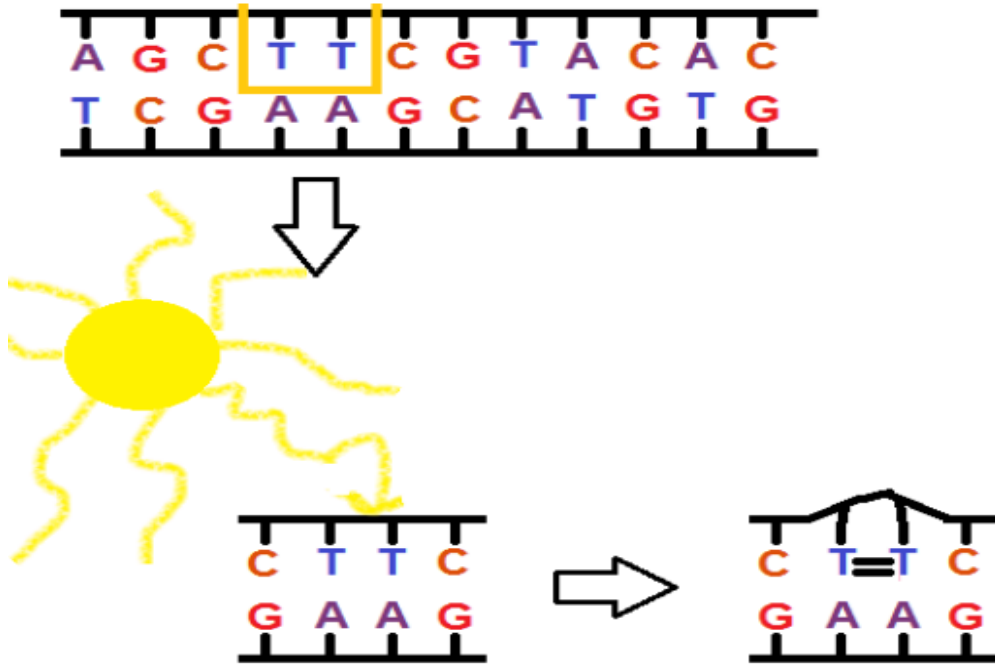
Kimyasal ajanlardan olan benzopren bileşiği kömür katranında, tütün dumanında ve birçok gıdada, özellikle ızgara etlerde bulunabilir. $C_{20}H_{12}$ formülüne sahip olan madde, pirene kaynaşmış bir benzen halkasının oluşturduğu benzopirenlerden biridir. Diol epoksit metabolitleri (daha yaygın olarak BPDE olarak bilinir) reaksiyona girer ve DNA'ya

bağlanarak mutasyonlara ve son olarak ta kansere sebep olabilir. Benzopiren hücre içerisinde okside olarak DNA'daki G-C bağlantısının arasına girer ve heliks yapıda bozulma meydana getirir.

Fiziksel ajanlardan olan UV ışınları mutajeniktir ve pirimidinlere kovalent bağlanarak dimerlerinin ortaya çıkmasına sebep olur. En sık rastlanılan dimer T-T'dir. Timin dimerleri DNA polimerazın etkinliğini, replikasyonu ve DNA konformasyonunu bozup durdurur. Güneş ışığına maruziyet sonucu UV ışınlarının etkisiyle deri kanseri olma riski arasında bağlantı olduğu bildirilmiştir (Arlett vd., 2006).

Alkilleyici ajanlar ve kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar DNA'da zincir içi çapraz bağların oluşumuna ve çift zincir kırıklarına sebebiyet verir. Reaktif oksijen türleri (ROT) oksidatif DNA hasarına, 8-hidroksideoksiguanin 8-(OH-Gua) mutasyonuna yol açmaktadır (Balajee vd., 2000). 8-OH-Gua replikasyon sırasında adeninle baz çifti oluşturduğu için mutajeniktir. 8-OH-Gua, Guanin: Sitozin yerine kanserlerde çok sık görülen mutasyon olan Timin: Adenin transversiyonuna yol açar (Verjat vd., 2000).

DNA molekülünden başka, hasar gördüğünde eski haline getirilebilen başka biyomolekül yoktur (Friedberg, 2008). UV ışınlarının etkisiyle DNA'da meydana gelen değişiklikler şekil 1.2'de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Güneşten kaynaklı UV ışığa maruz kalan DNA zincirindeki komşu iki pirimidin

arasındaki kovalent bağlanma.

1.2. Işımlar

1.2.1. Radyo Dalgaları (1 m – 100.000 km)

Elektromanyetik spektrumun en düşük aralığında bulunan radyo dalgaları, hemen hemen 30 milyar ya da 30 gigahertz'e (GHz) kadar olan frekanslarda bulunur ve dalga boyları yaklaşık olarak 10 milimetreden (0.4 inç) daha büyüktür.

1.2.2. Mikrodalgalar (1 mm – 1 m)

Kızıl ötesi ve radyo dalgaları arasında bulunan elektromanyetik spektrum bölgesinin tamamı mikrodalgalardan oluşturmaktadır. 10 mm (0.4 inç) ile 100 mikrometre (μm) veya 0.004 inç dalga boyuna sahip olan mikrodalgalar çoğunlukla 3GHz ile 30 trilyon hertz ya da 30 terahertz bandındadır. Mikrodalgalardan farklı alanlarda istifade edilmektedir. Bunların başında mikrodalga fırınlar, endüstriyel uygulamalar için ısı kaynağı, radar, yüksek bantlı iletişimler gelmektedir.

1.2.3. Kızılötesi Işıma (IR: 295-2500 nm)

Kızılötesi ışımaya, 1809 yılında William Herschel tarafından keşfedilmiş ve ilk kez bir cam prizmadan geçirilen güneş ışığının, görünür bölgesinin ötesine yerleştirilen termometreler yardımıyla incelenmiştir. Herschel incelemesinde gözle görünmeyen bu ışıkların termometre vasıtasıyla ısılarının ölçülebileceğini ortaya koymuştur.

Güneşten gelen ışığın dalga boyu aralığı çok geniştir. Toplam enerjinin neredeyse tamamı atmosfer tarafından absorblanmakta ve Dünya'nın yüzeyine sadece 295 ile 2500 nm dalga boyu aralığı ulaşmaktadır (Fang vd., 2013).

1.2.4. Ultraviyole Bölge (UV: 295-400 nm)

400 ile 700 nm dalga boyu arasına duyarlı olan gözümüzün, bu dalgaboyu aralığının dışında kalan ışınımı algılaması mümkün değildir. Algılanan en küçük dalga boyundan daha küçük dalga boylarına sahip ışınlar gözle görülemez bu bölgeye "morötesi ışınım" denir. UV ışınları karakteristikleri ve canlılar üzerinde farklı etkileri olması nedeniyle UV-A, UV-B ve UV-C olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır.

UV-A: Ozon tabakasının geçmesine izin verdiği, %95 orana sahip en yaygın UV ışınmasıdır.

UV-B: Ozon tabakası tarafından önemli ölçüde engellenen UV-B ışınımı, deride D vitamini üretimini sağlarken, maruz kalma süresinin uzaması güneş yanıklarına sebebiyet verir. UV, güneş ışınlarının yaklaşık %5'inden sorumludur ve enerji seviyesi birincil bağları parçalamak için yeterli seviyededir.

UV-C: Metrenin milyarda biri dalgaboyuna sahip bu ışınlar, en tehlikeli ışınlardır. Bu ışınlar Ozon tabakası tarafından engellenir.

1.2.5. Görünür Bölge (400-700 nm)

Görünür ışık dalgaları, gözle görülebilen tek elektromanyetik dalgalardır. Güneş enerjisinin yaklaşık %50'si bu bölgeden oluşur. Pigmentler, görünür ışığı seçerek absorblar ve geriye kalan kısmını ise yansıtır. Bir nesne tüm görünür dalga boyu aralığını yansıtırsa beyaz renk oluşmaktadır. Bu ışığın bazı bölgeleri absorblanır ve kalan kısmı ise yansıtılacak olursa, nesne renklendirilmiş olur. Siyah bir yüzey, görünür bölgedeki tüm ışınları absorbladığından ve görünür bölgede hiçbir şeyi yansıtmadığından dolayı siyah olarak görünmektedir.

1.2.6. Yakın Kızılötesi Bölge (700-2500 nm)

Yakın Kızılötesi (NIR) ışın, en uzun dalga boyuna sahip ışındır ve insan gözü tarafından görülemez. Güneş enerjinin %45'i kızılötesi ışınım bölgesine aittir. Kızılötesi ışınımın ısı üreten bölgesi 700-1100 nm dalga boyu arasındadır ve eğer bu bölgedeki ışınlar absorblanırsa ise yüzeyde ısınmaya neden olur. Güneşin, elektromanyetik radyasyon spektrumunun dünya yüzeyine ulaşan bölümü 295-2500 nm'lik geniş bir alanı kapsar (Fang vd., 2013). Bu spektrumun başlıca termal etkisi olan kısmı, 700 ile 2500 nm dalga boyları arasında yer alan ve NIR (Near Infra-Red) ışınlar olarak da bilinen ışıklardan oluşur. Absorblanıp ısıya dönüştürülen radyan enerji aynı zamanda güneş ışığının gördüğümüz kısmıdır (400-700nm) (Huber, 2014).

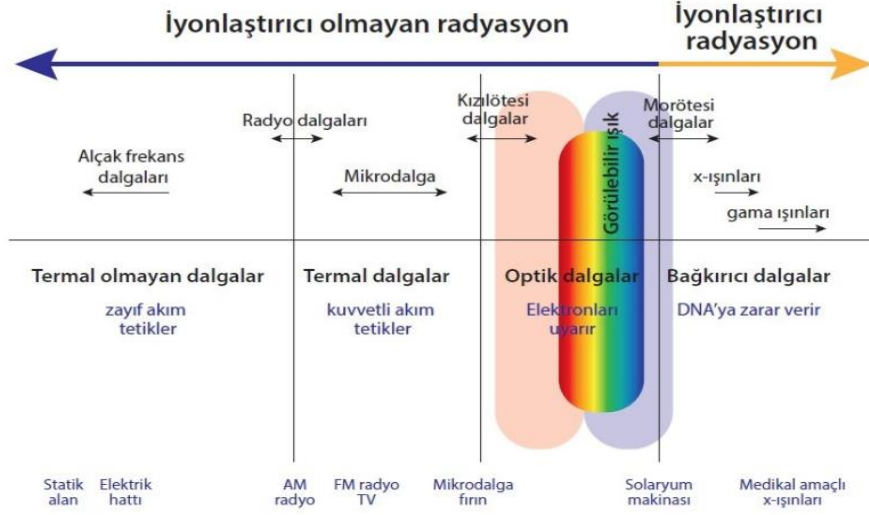
1.2.7. X-ışınları (0.01- 10 nm)

X-ışınları çoğunlukla iki şekilde gruplandırılır: hafif X-ışınları ve sert X-ışınları. Hafif X-ışınları, ultraviyole ile gama ışınları arasında yer alan elektromanyetik spektrum aralığını kapsamaktadır. Hafif X-ışınları yaklaşık olarak 3×10^{16} ila yaklaşık 1018 Hz frekans aralıklarına sahiptir ve dalga boyları ise 10 nm (4×10^{-7} inç) ile 100 pikometre (pm) arasındadır. Sert X-ışınları ise gama ışınlarıyla beraber elektromanyetik spektrumun aynı aralığını kapsamaktadır. Aralarındaki tek fark meydana geliş şekilleridir. X-ışınları elektronlar hızlandırılarak oluşurken, gama ışınları ise atom çekirdeği vasıtasıyla oluşturulur.

1.2.8. Gama Işınları (< 0,02 nm)

Gama ışınları hafif X-ışınlarının üzerindeki spektrum aralığında bulunmaktadır. Gama ışınları, 1018 Hz'den de yüksek bir frekansa ve 100 pm (4×10^{-9} inç)'den daha düşük dalga boyuna sahiptirler. Gama ışınları, canlı dokulara zarar vermektedir. Bu özelliği nedeniyle kanser tedavilerinde belirlenen bölgeye belirli dozaj ve kontrolde uygulandığında kanser

hücrelerini ortadan kaldırabilmektedir. Ancak kontrolsüz kullanımı, sağlıklı dokulara da zarar verme ihtimali olduğu için oldukça sakıncalıdır.



Şekil 1.3. Elektromanyetik spektrum

1.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerle savaşan moleküllerdir. Serbest radikallerin, seviyeleri vücuttaki düzeyi arttığında kanser, diyabet ve kalp hastalığı dahil olmak üzere pek çok hastalığa sebep olmaktadır. Canlı organizmasının serbest radikalleri kontrol altında tutabilmek için antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Bununla birlikte, antioksidanlar dışarıdan, gıdalar, özellikle meyveler, sebzeler ve diğer bitki bazlı gıdalar yoluyla da alınabilir. E ve C vitaminleri antioksidan savunması yapabilen etkili vitaminlerdendir. Hazır gıdalarda da raf ömrünü uzatmak için antioksidanlar kullanılmaktadır.

Antioksidanlar, hücrenin yapısındaki protein, lipid ve DNA gibi yapıların oksidasyonunu engeller veya geciktirir. Bu olaya "Antioksidan Savunma Mekanizması" adı verilir (Valko vd., 2006). Canlılar, hava kirliliği, güneş ışığı ve hatta sigara dumanı gibi çeşitli çevresel kaynaklar sebebiyle de serbest radikallere maruz kalabilmektedir. Serbest radikaller, hücre hasarına sebebiyet veren bir süreç olan "oksidatif strese" neden olmaktadır. Oksidatif stresin diyabet, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, Parkinson

hastalığı, Alzheimer hastalığı ve katarakt gibi yaşa bağlı göz hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir. Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşmasını engelleyerek veya oluşmuş olan radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini önlerler ve yapısında genellikle fenolik gruplar taşıyan moleküllerdir (Kahkönen vd., 1999) Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşikler, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize eder ve bu sırada serbest radikal haline dönüşmezler (Prior ve Cao, 1999). Antioksidanların insan sağlığı yönünden en önemli özellikleri, onların kimyasal yapıları, doğal yolla elde edilmeleri ve yapı/aktivite ilişkileridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Antioksidan koruması,

1-Kimyasal tepkimelerle,

2-Antioksidan moleküllerinin metal iyonlarını bağlayarak oluşturacakları kalıcı zararları engelleyerek,

3- Reaktifin metabolizma ürünlerinin aktivasyonlarının düşürerek ve yararlı ürünlere dönüştürülmesi yolu ile temizleyerek,

4- Oksijen içeren molekülleri en alt düzeyde tutarak,

5- Tamir mekanizması yardımı ile hasarlı kısımların tamirini gerçekleştirerek,

6- Tamiri yapılamayan ürünleri metabolizmadan uzaklaştırmak yoluyla sağlanır (Spletstoesser ve Werner, 2002).

1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yerleşim yerleri ve elde edildikleri kaynaklar gibi farklı özelliklerine göre gruplandırılmaktadır (Akkuş, 1996). Çözünmelerine göre, yağda ve suda çözünen, yapılarına göre fenolik, organosülfür bileşikleri, yerleşim yerlerine göre ekstraselüler ve intraselüler yapıda olan, ve aromatik yapı kaynaklarına göre ise ekzojen (iç) ve endojen (dış) kaynaklı olarak sınıflandırılırlar. Tablo 1.1’de endojen (iç) Tablo 1.2’de ise ekzojen (dış) antioksidanlar gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Endojen Antioksidanlar

1) Enzimatik yapıdaki antioksidanlar	2) Enzimatik yapıda olmayan antioksidanlar	
	I. Makromoleküller	II. Mikromoleküller
-Süperoksit Dismutaz (SOD) -Glutasyon-S-transferaz(GST) -Katalaz(CAT) -Hidroperoksidaz -Mitokondrial sitokrom oksidaz -Glutasyon Peroksidaz(GSHPx)	-Seruloplazmin -Hemoglobin -Transferin -Miyoglobin -Ferritin	Vitamin E -Vitamin C -Vitamin A -Tiyol içerenler: Glutasyon N-asetil sistein Metiyonin Kaptopril - Melatonin -Ürik asit - Selenyum -Bilirubin -Albumin - Lipoik asit -Ubiquinon

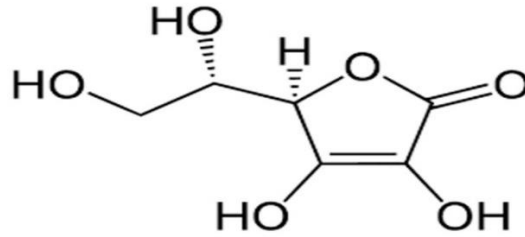
Tablo 1.2. Ekzojen Antioksidanlar

Vitamin olan ekzojen antioksidanlar	İlaç olarak kullanılan ekzojen antioksidanlar	Gıdalardaki ekzojen antioksidanlar
-Folik asit - α -tokoferol(vitamin E) - β -karoten -Askorbik asit (vitamin C)	Ksatin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, Tungsten), -Demir redoks döngüsünhibitörleri (desferroksamin), -NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler) -Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein) - Non-enzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin) -Kalsiyum kanal inhibitörleri, nonsteroid anti inflamatuvar ilaçlar (diphenylene iodonium) Trolox-C (vitamin E analogu) -Rekombinant süperoksit dismutaz, -Barbitüratlar, -Nötrofil adezyon inhibitörleri - Sitokinler(TNF ve IL-1),	-Bütil hidroksi toluen, -Fe-süperoksit dismutaz -Bütil hidroksi anizol -Propil galat -Sodyum benzoat -Ethoksikuin,

1.3.2. Vitamin Olan Antioksidanlar:

1.3.2.1. C Vitamini

Askorbik asit veya C vitamini olarak adlandırılan vitamin hem hayvanlarda hem de bitkilerde bulunan bir monosakkarit olup yükseltgenme-indirgenme katalizörüdür. C vitamini, suda çözünen vitaminler grubunun en temel bileşiklerindedir. Askorbat olarak ta bilinen C vitamini, çoğu hayvan ve bitki tarafından üretilebilirken, insanlar tarafından üretilemez ve dışarıdan alınır. C vitamini, vücutta birçok enzimin görevini yapabilmesi için gereklidir. Dokularda hasara sebebiyet veren serbest oksijen ürünlerini işlevsiz hale getirmesi nedeniyle, antioksidan olarak kullanılır. Askorbik asit, hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin miktarını azaltıp böylece nötralize olabilmelerini sağlayan bir redoks katalizörüdür (Burton, 1994). C vitamininin kimyasal yapısı şekil 1.4'te gösterilmektedir.



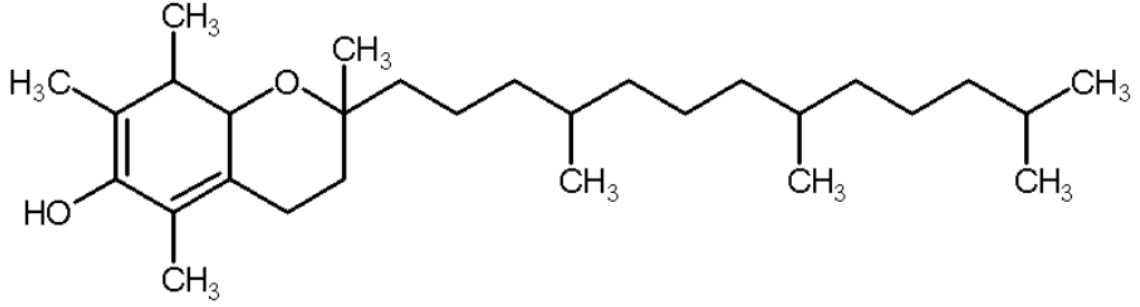
Şekil 1.4. C vitamininin kimyasal yapısı

1.3.2.2. E Vitamini

E vitamini, antioksidan özellikli ve yağda çözünebilen vitaminler olan tokoferol ve tokotrienol grubunun genel adıdır. E vitamini, aynı zamanda antisterile vitamin olarak da bilinir. E vitamini özellikle hücre zarları ve lipoproteinlerde önemli antioksidan işlevleri yapmaktadır.

Vitamin E diğer vitaminlere göre daha az reaktiftir çünkü serbest radikali rezonans

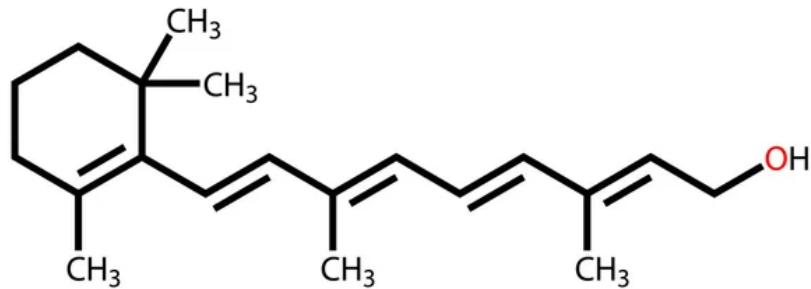
sabitliği gösterir. İkinci bir peroksil radikali ile reaksiyona girebilir ve nonradikal ürünler oluşur. Antioksidan bir madde olan E vitamini antioksidan etkisiyle, vücut bileşimlerini oksijen etkisiyle parçalanmaktan korumaktadır. Ayrıca hücre solunumu ve nükleik asit sentezinde yer alır. E vitamininin kimyasal yapısı şekil 1.5'te gösterilmektedir.



Şekil 1.5. E vitamininin kimyasal yapısı

1.3.2.3. A vitamini

A vitamini yağda eriyebilen vitaminlerdendir (şekil 1.6). Bitki kökenli olan β karoten maddesi A vitaminin öncü maddesidir (Kaplan vd. 2007). Beta karoten, retina gibi dokuların yapılarında yüksek konsantrasyonlarda birikebilir. Beta karoten, hem uyarılmış türleri bastırır hem de serbest radikallerle doğrudan reaksiyona girer. A vitaminin tipik özelliği, düşük oksijen basınçlarında işlev göstermesidir. E vitamini ile sinerjik etki gösterir ve antikanserojen etkili oldukları bilinmektedir (Singh vd., 1994).

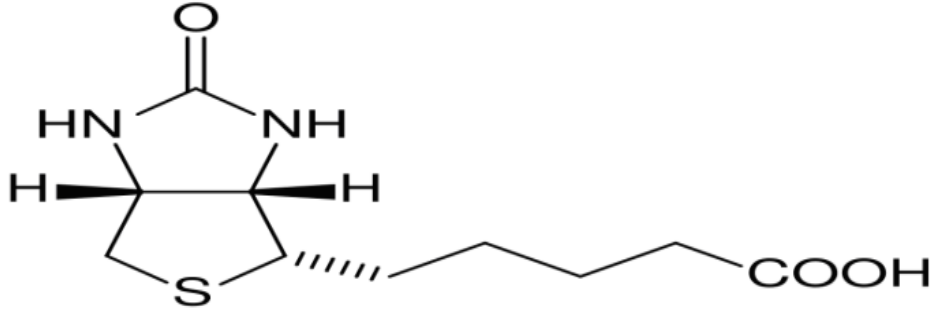


Şekil 1.6. A vitamininin kimyasal yapısı

A ve E vitaminlerinin antioksidan görevlerinin, DNA hasarını ve kötü huylu değişiminin azaltılması yönünde olduğu bilinmektedir (Cho vd., 2003).

1.3.2.4. B₇ Vitamini (Biotin)

Biotin dört karboksilaz için koenzim olan ve suda eriyen bir vitamindir. Biotin, asetil-CoA karboksilaz α (ACC- α) ve asetil-CoA karboksilaz β (ACC- β), propiyonil CoA karboksilaz (PCC), 3-metilcrotonil-CoA karboksilaz (MCC) ve piruvat karboksilaz (PC) için bir koenzim olarak işlev görmektedir. Biotin-bağımlı karboksilaz, karbohidrat metabolizmasında rol alan genler için, yağ asidi sentezi, glukonojenez, trikarboksilik asit döngüsü ve pleiotropik gen regülasyonu için kofaktör olarak önemli bir rol oynar. Biotinin kimyasal yapısı şekil 1.7'de gösterilmektedir.



Şekil 1.7. Biotinin kimyasal yapısı

1.4. Elektroanalitik Yöntemler

Elektroanalitik yöntemler, kalitatif ve kantitatif analizlerin gerçekleştirilebilmesi için maddelerin elektrokimyasal davranışlarından faydalanan yöntemlerdir. Elektroanalitik yöntemlerde, çözeltiye elektriksel bir etki uygulanmakta ve bu etkiye karşı verilen elektriksel tepki ölçülmektedir. Elektrokimyasal tekniklerin tamamında akım, potansiyel ve zaman gibi parametreler bulunmakta ve uygulanan tekniğin isimlendirilmesi bu parametrelere göre olmaktadır (Duran vd., 2009).

Elektroanalitik yöntemler diğer analitik yöntemlerle kıyaslandığında bir çok üstünlüğe sahiptir. Bunlar;

- Farklı yükseltgenme basamağına sahip türlerin eş zamanlı olarak basit bir şekilde saptanabilmesi,
- Yöntemlerin uygulanmasını sağlayan yazılımların ve ekipmanların diğer yöntemlerde kullanılanlara göre çok daha ucuz, kolay elde edilebilir ve kullanışlı olmaları,
- Birçok elektroanalitik yöntemin aynı cihazı kullanarak ölçüm alınabilmesidir (Tural vd., 2006).

1.4.1. Voltametri Tekniği

Voltametri, zamanın bir fonksiyonu olarak çalışan bir elektrotta belirli bir voltaj uygulandığı andaki akımın veya sistem tarafından üretilen akımın ölçüldüğü elektrokimyasal bir yöntemdir. Elektrokimyasal sistemde bir çalışma elektrodu ve bir referans elektrot (Ag/AgCl gibi) ayrıca bir yardımcı elektrot (genellikle Pt tel) kullanılır. Özel yonteme bağlı olarak, indirgeyici ve/veya oksitleyici potansiyellerin uygulanması mümkündür. Yüksek potansiyel değerinden daha düşük potansiyel değerleri yönünde yapılan taramalara katodik tarama, bu durumda ölçülen akıma katodik akım, düşük potansiyel değerinden daha yüksek potansiyel değerleri yönünde yapılan taramalara ise anodik tarama, ölçülen akıma ise anodik akım denir. Farklı voltametrik yöntemler, farklı voltaj profillerini içerir. Voltametrik yöntemler, günümüzde en yaygın kullanılan elektrokimyasal yöntemlerdendir. İyonların çözelti içinde hareket ettiği üç genel süreç vardır: difüzyon, konveksiyon ve elektrostatik göç. Difüzyon, maddenin çok yoğun olduğu yığın çözeltilerden, az yoğun olduğu elektriksel çift tabaka bölgesine türlerin hareketini içerir. Konveksiyon, manyetik bir karıştırma çubuğu gibi bir nesne tarafından meydana getirilen fiziksel harekettir. Elektrostatik göç, pozitif bir türün negatif yüklü bir elektroda doğru çekilmesinden veya alternatif olarak negatif bir türün pozitif yüklü bir elektroda çekilmesinden kaynaklanır. Difüzyon her zaman bir çözelti içinde meydana gelmektedir. Bazı yöntemlerde, konvektif hareketin veya elektrostatik göçün olması özellikle tercih edilebilir.

Uyarma sinyaline göre voltametrik yöntemler, doğrusal taramalı (LSV), diferansiyel

puls (DPV), kare dalga (SWV) ve dönüşümlü voltametri (CV) olarak sınıflandırılır.

Doğrusal Taramalı Voltametri (LSV)

Doğrusal taramalı voltametri, elektroaktif bir madde içeren bir çözeltide bulunan çalışma elektrodu ile referans elektrotu arasına değeri zamanla doğrusal değişen bir potansiyel uygulanarak, çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında oluşan akım tespit edilir. Elde edilen potansiyel-akım cevap eğrisine doğrusal voltamogram adı verilir (Yıldız vd., 1997).

Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)

Diferansiyel puls voltametrisinde (DPV), küçük genlikli, kısa pulslar doğrusal bir eğim üzerinde gösterilir. Akım puls uygulanmadan önce ölçülür ve her puls sonunda akımlar arasındaki fark hesaplanır. Bu prosedür, DC eğiminden dolayı arka plan akımını etkili bir şekilde azaltır ve böylece bu prosedür, kapasitif akımın gözlenmediği Faradaik akımın okunması ile sonuçlanır. DPV'nin en büyük avantajı, yüksek hassasiyete yaptığı ölçüm ile düşük kapasitif akımı okuyabilmesidir. DPV'deki küçük adım boyutları ayrıca daha dar voltametrik tepe noktalarına yol açar ve bu nedenle DPV genellikle benzer oksidasyon potansiyellerine sahip analitleri ayırt etmek için kullanılır.

Kare Dalga Voltametri (SWV)

Çalışma elektroduna uygulanan basamak sinyali ile pulsun toplamı kare dalga formunu verir. Oldukça hızlı ve duyarlı olduğu için tercih edilen bir tekniktir. Voltamogram çok kısa sürede elde edildiğinden, birkaç sinyalin ortalaması alınır. Tayin sınırları 10^{-7} - 10^{-8} M arasındadır (Wang, 2000).

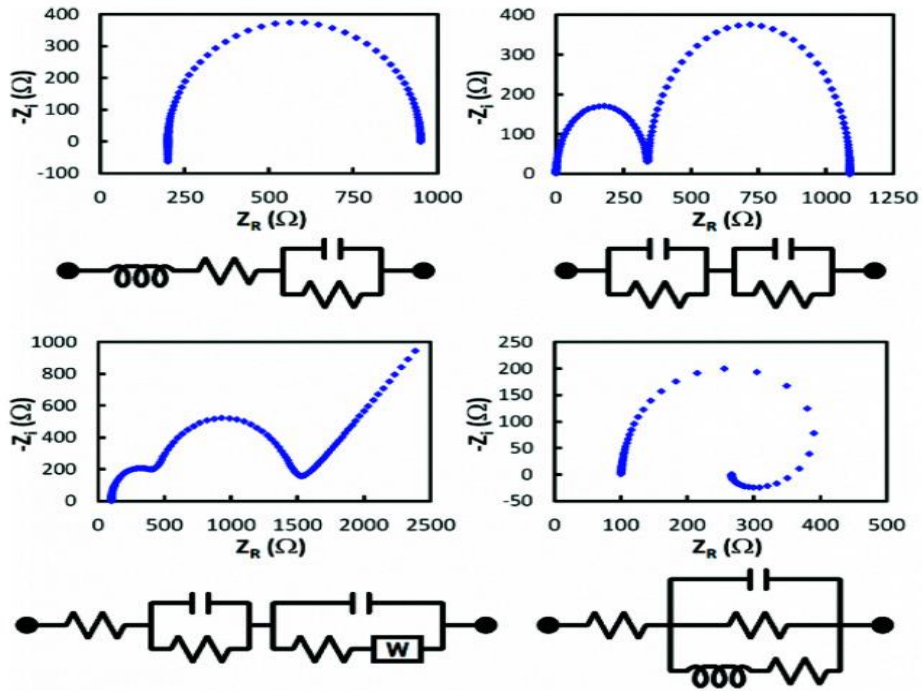
Dönüşümlü Voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametri, yüzey alanı küçük olan bir mikroelektrota belli bir hızla döngüsel bir potansiyel uygulanmasıdır. Dönüşümlü voltametri yönteminde, ileri yönde uygulanan potansiyel taraması belirli bir değere ulaştıktan sonra yine doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilir. Böylece analitin yükseltgenme ve indirgenme özellikleri aynı anda incelenebilir. Dönüşümlü voltametri ileri ve geri yöndeki potansiyel tarama hızları aynı tutulabildiği gibi farklı tarama hızları da kullanılabilir. İleri ve geri yönde yapılan tarama bir kez ya da birçok kez yapılabilir. Bu yöntemle elde edilen potansiyel-akım cevap

eğrisine de dönüşümlü voltamogram denir (Yıldız vd., 1997).

1.4.2. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS)

Elektrokimyasal empedans spektrometri (EIS), frekansın bir fonksiyonu olarak, elektrot-elektrolit ara yüzeyinde elektron transferine karşı oluşan direncin ölçüldüğü önemli bir elektrokimyasal karakterizasyon tekniğidir. Elektrokimyasal empedans ölçümleri, elektrokimyasal sistemlerin incelenmesinde sıklıkla kullanılan güçlü bir tekniktir. Aynı zamanda uygulanan potansiyelin genliği çok düşük olduğundan modifiye yüzeydeki moleküllerin zarar görmeden karakterize edilmesini sağlamaktadır (Bard ve Faulkner, 2001). Şekil 1.8’de tipik ve simüle edilmiş empedans spektrumlarının tipik bir gösterimi bulunmaktadır.



Şekil 1.8. Deneysel ve simüle edilmiş empedans spektrumları (Nyquist çizim eğrilerinin örnekleri ve bunların eşdeğer devreleri).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Berghian- Grosan ve arkadaşları grafen bazlı nanomalzeme ile kaplı modifiye elektrotlar kullanarak DNA hasarı tespiti ve DNA hasarına nanomalzemenin etkisini gözlemlemişlerdir. Bunun için öncelikle tek sarmal DNA'yı (ssDNA) hidrojen peroksit ile ön işleme tabi tutup, DNA hasarını tespit etmişlerdir. Daha sonra elektrodu grafen-altın nanomalzemesi ile modifiye edip ölçüm yapmışlardır. Aynı zamanda tek sarmal DNA'yı grafen-altın ve hidrojen peroksit ile (ssDNA-Gr-Au- H₂O₂) muamele edip tekrar DNA hasarı ölçümü yapmışlardır. Bu çalışmanın sonucu olarak grafen kompleksi ile modifiye edilen elektrotun daha iyi ölçüm sonuçları verdiğini ve indirgenmiş geçiş metalleri varlığında DNA'da oluşan hidrojen peroksit hasarının azaldığını rapor etmişlerdir (Berghian-Grosan vd., 2015).

Siklobütan pirimidin dimerleri (CPD'ler) DNA'nın UV-C ışığına maruz kaldığında timin-timin dimerleşmesi sonucu oluşan hasar ürünleridir. Huo ve arkadaşları UV-C den kaynaklanan DNA hasarı ve siklobutan pirimidin dimerlerinin fotoenzimatik onarımını EIS ile izlemişlerdir. Bunun için Au elektrot yüzeyine normal dT20, hasara uğramış dT20 ve fotoenzimatik olarak onarılmış dT20'yi immobilize ederek her bir aşamada elektron transfer direncini ölçmüşlerdir. Hasara uğramış DNA'da anti-CPD antikollarının oluştuğunu ve bunun da EIS sinyalini amplifiye ettiğini bildirmişlerdir. UV-A foto uyarılması sonucu oluşan fotolizasyonların DNA onarımını gerçekleştirdiğini rapor etmişlerdir (Huo vd., 2022).

Yeni bir antitümör ajan olan AD-NU'dan kaynaklanan DNA hasarı, GCE yüzeyi sırasıyla ctDNA, G-quadruplexes, poly dA and poly dG ile modifiye edilerek incelenmiştir. Hasar, dGuo ve dAdo yükseltgenme sinyallerindeki değişim karşılaştırılarak ve oksidatif ürün 8-oxoGuo izlenerek tayin edilmiştir (Song vd., 2022).

Hashkavayia ve arkadaşları Acanthophora alglerinin antioksidan özelliğinden faydalanarak DNA hasarı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. İlk olarak Fenton bileşiği ile DNA hasarı oluşturup bitkinin hasarı önleme yeteneğini görmek için, perde baskılı elektrot yüzeyi Acanthophora algi ekstraktında yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen Au nanopartikül ile modifiye edilmiştir. Sonuç olarak 0,20 mg/ml bitki özütü ile minimum düzeyde hasar tespit edildiğini rapor etmişlerdir (Hashkavayia vd., 2020).

Diğer bir DNA hasarı çalışmasında, 4-nonilfenol (NP) tarafından indüklenen DNA hasarının tespitine yönelik bir sensör geliştirilmiştir. Camsı karbon elektrot yüzeyi önce kitosan ile modifiye edilmiş sonra kitosan modifiye elektrot yüzeyinde Au nanopartikül elektrokimyasal olarak sentezlenmiştir. DNA, çok duvarlı karbon nanotüp ile işaretlendikten sonra elektrot yüzeyine immobilize edilmiştir. Yazarlar EIS yanıtının NP varlığında arttığını bunun da NP'nin yük transferini düşürmesi nedeniyle gerçekleştiğini, NP'lerin DNA yapısı içine yerleşmesinin DNA'nın yüzeyinde daha fazla negatif yük oluşturduğunu bunun da $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3/4-}$ redoks sistemine ait anyonların biyosensör yüzeyine ulaşmasını engellediğini bildirmişlerdir (Ghanbari vd., 2019).

Untiverosa ve arkadaşları hibrit anti-kanser bileşiğini (7ESTAC01) DNA ile etkileştirerek DNA hasar tespiti için bir biyosensör geliştirmişlerdir. Bu amaçla yazarlar Stem Loop DNA (SL-DNA) probu Au elektrot yüzeyinde immobilize ederek tamamlayıcısı ile hibridize etmişler 7ESTAC01'in çift sarmal DNA'ya daha fazla bağlandığını bu nedenle de interkale olarak DNA ile etkileştiğini ifade etmişlerdir. Çalışmada yüksek konsantrasyonda 7ESTAC01 varlığında dsDNA'nın DPV analizinin, DNA'daki mutajenik lezyonun önemli bir göstergesi olarak kabul edilen 8-oksoguanin oluşumuna yol açtığı rapor edilmiştir (Untiverosa vd., 2019).

Camsı karbon elektrotuna (GCE) dayalı basit bir elektrokimyasal DNA biyosensörü, çift sarmallı DNA'nın (dsDNA) GCE yüzeyine adsorbe edilmesiyle hazırlanmıştır. Bu elektrot hidroksil radikalleri tarafından indüklenen dsDNA hasarının tespiti için kullanılmıştır. Hájkov çalışması sonunda hidroksil radikallerinin neden olduğu dsDNA hasarı araştırılıp ve boyutu değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçların, önerilen elektrokimyasal yöntemlerin DNA hasar çalışmalarında (örneğin, DNA'nın çeşitli reaktif radikal türler tarafından oksidatif olarak hasar gördüğü mekanizmanın aydınlatılmasında) daha fazla uygulama alanı bulmasının muhtemel olduğunu gösterdiği bildirilmiştir (Hájkova vd., 2017).

Bir başka hasar çalışması Bleomycin ile DNA arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan hasarı tespit etmeye yönelik olarak geliştirilmiştir. Au nanopartikül ile modifiye edilmiş aktive kalem grafit elektrot yüzeyinde çinko (II) Schiff baz kompleksi varlığında Bleomycinden kaynaklanan DNA hasarı tespit edilmiştir. Bleomycin ile etkileşim sonucu EIS yöntemiyle ölçülen R_{ct} değerlerinde meydana gelen değişim, ayrıca DPV ile ölçülen 8-oxoG piki DNA hasarının göstergesi olarak kabul edilmiştir. Bleomycin'in tek başına iken DNA ile etkileşmediği ve DNA'ya zarar vermediği, bazı metallerin varlığında DNA'yı

hasara uğratabileceği bildirilmiştir (Heydari-Bafrooei vd., 2017).

Chen ve arkadaşları Fe^{3+} iyonları tarafından yükseltgenmiş dopaminin sebep olduğu DNA hasarının elektrokimyasal olarak tayinini gerçekleştirmişlerdir. $[Co(bpy)_3]^{3+}$ 'in indikatör olarak kullanıldığı çalışmada, dopamin- Fe^{3+} sisteminin Fenton sistmine kıyasla daha yüksek oranda DNA hasarına sebep olduğu bildirilmiştir. Fe^{3+} iyonları tarafından oluşturulan hidroksil radikalının dopaminin oksidasyonunu kolaylaştırdığı bunun da DNA çift sarmal yapısını bozması veya DNA zincirinin kopmasına neden olarak $[Co(bpy)_3]^{3+}$ 'nin pik akımının azalmasına yol açtığı rapor edilmiştir (Chen vd., 2013).

Başka bir DNA hasar çalışması Xiong ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Fenton katalizörlüğünde ksantin oksidaz ile indüklenmiş DNA hasarının hızlı tayinini gerçekleştirmek için ksantin oksidaz GCE yüzeyine modifiye edilmiş ve dsDNA bu yüzeye immobilize edilmiştir. Açığa çıkan hidroksil radikallerinden kaynaklanan DNA hasarını tayin etmek için bir redoks indikatörü olan $[Co(bpy)_3]^{3+}$ kullanılmıştır. Çalışmada askorbik asit, rutin gibi antioksidanların koruyucu özellikleri de incelenmiştir (Xiong vd., 2013).

UV-C radyasyonundan ve Fenton tarafından oluşturulan reaktif oksijen türleri nedeniyle meydana gelen DNA hasarını tespit etmek için indikatör olarak thioridazine kullanılmıştır. Karboksil fonksiyonlaştırılmış tek duvarlı karbon nanotüp ve kitosan ile modifiye edilmiş perde baskılı elektrot yüzeyine dsDNA immobilize edilmiştir. DNA hasarı hem guanin hem de thioridazine yükseltgenme sinyali ölçülerek tespit edilmiştir (Hlavata vd., 2012).

UV-A ışınlarının neden olduğu DNA hasarının EIS yöntemiyle tespit eden Mousavisani ve arkadaşları ex-vivo deri ile elektrokimyasal DNA sensörünü, UV indüklenmiş DNA hasarını ve ZnO, TiO₂ nanopartikülleri ve güneş kremleri gibi UV bloklayıcıların koruyucu etkisini incelemek için kombine etmişlerdir. Diazonyum modifiye perde baskılı elektrot yüzeyine UV kaynaklı cilt kanserlerinde en yaygın etkilenen gen olan p53 tümör baskılayıcı geni immobilize etmişler ve UV-A ışınlarından kaynaklı DNA hasarını yük transfer direncindeki değişimin ölçümüyle tayin etmişlerdir. Ayrıca UV bloklayıcı ajanlarının etkisinin domuz derisi üzerinde uygulandığı ve DNA sensörü ile başarılı bir şekilde tayin edildiği bildirilmiştir. Çıplak derinin çok az bir UV koruma gösterdiği (kontrol ile kıyaslandığında $\Delta R/R$ değerinde %18 düşüş), hem nanopartikül hem de nanopartikül uygulanmış güneş kremlerinde ZnO nanopartikülün %67,1, TiO₂ nanopartikülün %77.2, güneş kremi 1'in %77.1 ve güneş kremi 2'nin %94 oranında DNA

hasarını engellediği rapor edilmiştir (Mousavisani vd., 2019).

3. MATERYAL YÖNTEM

3.1. Deneyleerde Kullanılan Kimyasallar

Tablo 3.1. Kullanılan Kimyasallar

Asetik Asit (CH ₃ COOH)	Sigma-Aldrich
Fosforik Asit (H ₃ PO ₄)	Sigma-Aldrich
Sodyum hidroksit (NaOH)	Sigma-Aldrich
Sodyum klorür (NaCl)	Sigma-Aldrich
Potasyum hegzasiyanoferrat (K ₄ [Fe(CN) ₆])	Sigma-Aldrich
Potasyum hegzasiyanoferrit (K ₃ [Fe(CN) ₆])	Sigma-Aldrich
Potasyum klorür (KCl)	Sigma-Aldrich
Tris (hidroksimetil) aminometan hidroklorür	Sigma-Aldrich
Gallik Asit	Aldrich
Askorbik asit (C vitamini)	Sigma-Aldrich
Biotin (B ₇ vitamini)	Sigma-Aldrich
Kitosan	Sigma-Aldrich
Poli etilen glikol (PEG)	Sigma-Aldrich
Buzağı timüs bezi DNA'sı çift sarmal (ctdsDNA)	Sigma-Aldrich
Buzağı timüs bezi DNA'sı tek sarmal (ctssDNA)	Sigma-Aldrich
Balık spermi DNA'sı (fsDNA)	Sigma-Aldrich
D vitamini (Devit-3)	Eczaneden temin edildi
E vitamini (anpul)	Eczaneden temin edildi

3.2. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.2. Kullanılan Cihazlar

Elektrokimyasal analizör	Ivium Cpmpact Stat
pH metre	Orion Star, Thermo Scientific
Analitik Hassas terazi	XB serisi, Precisa
Vorteks	Classic, Velp Scientifica
Manyetik karıştırıcı	Misung Scientific Co, MS 3000 serisi
Ultrasonikatör	Bandelin Sonorex

Ultra saf su cihazı	LABCONCO WaterPro PS
Cell Stand	C3-BASI
Ag/AgCl referans elektrot	BASI
Pt karşıt elektrot	BASI

3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

3.3.1. Tampon Çözeltilerin Hazırlanması

Tüm tampon çözeltiler hazırlanırken ultra saf su kullanıldı. Tampon çözeltiler hazırlandıktan sonra cam şişelere doldurulup, 4 derecede buzdolabında saklandı.

3.3.1.1. 0.5 M Asetat Tampon Çözeltisinin (ABS) Hazırlanması

28.9 mL asetik asit ultra saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı. Asetat tamponunun hazırlanması ve çözeltinin pH'sının 4.8 değerine ayarlanması işlemi 2 M NaOH çözeltisi damla damla ilave edilerek pH metre ile gerçekleştirildi. Çözeltiye 1.168 g NaCl (0.02 mol) eklenerek çözelti hazır hale getirildi.

3.3.1.2. Tris-EDTA Tampon Çözeltisinin Hazırlanması

Oligonükleitid çözeltilerinin hazırlanması için kullanılan Tris EDTA tampon çözeltisi, litresinde 1.576 g Trizma HCl ve 0.372 g EDTA içermektedir. Çözeltinin pH'sının 8.0 değerine ayarlanması, 0.1 N NaOH ve /veya 0.1 N HCl ilavesiyle, pH metre ile ölçülerek gerçekleştirilmiştir.

3.3.1.3. Redoks Çözeltisinin Hazırlanması

Empedans ölçümlerinde kullanılan redoks çözeltisi, litresinde 0.822 g $K_3Fe(CN)_6$, 1.040 g $K_4Fe(CN)_6$ ve 7.45 g KCl içerecek şekilde ultra saf suda hazırlandı.

3.3.1.4. Stok DNA Çözeltilerinin Hazırlanması

Stok DNA çözeltisi (balık spermi DNA'sı, fsDNA) derişimi 1000 mg/L olacak şekilde Tris-EDTA tampon çözeltisi (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.00) içinde hazırlandı ve buzlukta saklandı. Gerekli seyreltmeler 20 mM NaCl içeren 0.5 M ABS içerisinde yapıldı.

3.1.1.5. Askorbik Asit (C vitamini) Çözeltilerinin Hazırlanması

Askorbik asit stok çözeltisi günlük olarak 10 mM derişimde etanol+su karışımında (1:1) 15 dakika ultrasonikatörde bekletilerek hazırlandı.

3.3.1.6. Biotin (B₇ vitamini) Çözeltilerinin Hazırlanması

Biotin stok çözeltisi günlük olarak 10 mM derişimde etanol+su karışımında (1:1) 15 dakika ultrasonikatörde bekletilerek hazırlandı.

3.3.1.7. Kitosan Çözeltilerinin Hazırlanması

Kitosan stok çözeltisi günlük olarak 10000 ppm derişimde %1'lik asetik asit içerisinde 1 saat ultrasonikatörde bekletilerek hazırlandı.

3.3.1.8. PEG Çözeltilerinin Hazırlanması

PEG-1000 çözeltisi 500 ppm olacak şekilde ultra saf su içerisinde 15 dakika ultrasonikatörde bekletilerek hazırlandı.

3.3.2. DeneYlerde Kullanılan Çalışma Elektrotlarının Hazırlanması

3.3.2.1. Kalem Grafit Elektrotların (PGE) Hazırlanması

Çalışmalarda kullanılan kalem grafit elektrotlar (Tombo, 0.5 HB), Live firmasından satın alındı ve kalem uçlarının 3.0 cm boyutunda kesilmesiyle hazırlandı. Elektrokimyasal hücre içerisinde 1.0 cm kalacak şekilde kalem içerisine yerleştirildi.

3.3.2.2. Kalem Grafit Elektrotların Yüzey Aktivasyonu

Kalem grafit elektrotlar, 0.5 M asetat tampon çözeltisi (ABS) içerisine daldırıldı ve 30 s boyunca + 1.4 V potansiyel uygulanarak çözelti karıştırılmadan yüzeyleri aktive edildi.

3.4. Elektrokimyasal Ölçümler

Tüm elektrokimyasal ölçümlerde üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. Çalışma elektrodu olarak kalem grafit elektrot, referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot, yardımcı elektrot olarak ise platin tel kullanılmıştır.

3.4.1. Voltametrik Ölçümler

Tüm voltametrik ölçümler 0.5 M asetat tampon çözeltisi (ABS) içinde diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.3. Diferansiyel Puls Voltametri (DPV) Koşulları:

E_{son}	1.5 V	$E_{adım}$	20 mV
Puls Süresi	50 ms	Tarama Hızı	50 mV/s

3.4.2. Elektrokimyasal Empedans Spektrometri (EIS) Ölçümleri

Empedans ölçümleri 0.1 M KCl içeren 2.5 mM $Fe(CN)_6^{4-/3-}$ (1:1) karışımı içerisinde Faraday kafesinde gerçekleştirildi. Empedans spektrometrisinde, uygulanan 100 mHz -100 kHz frekans aralığında 98 farklı frekansta, elektrot yüzeyinde elektron transferine karşı oluşan direnç ölçüldü.

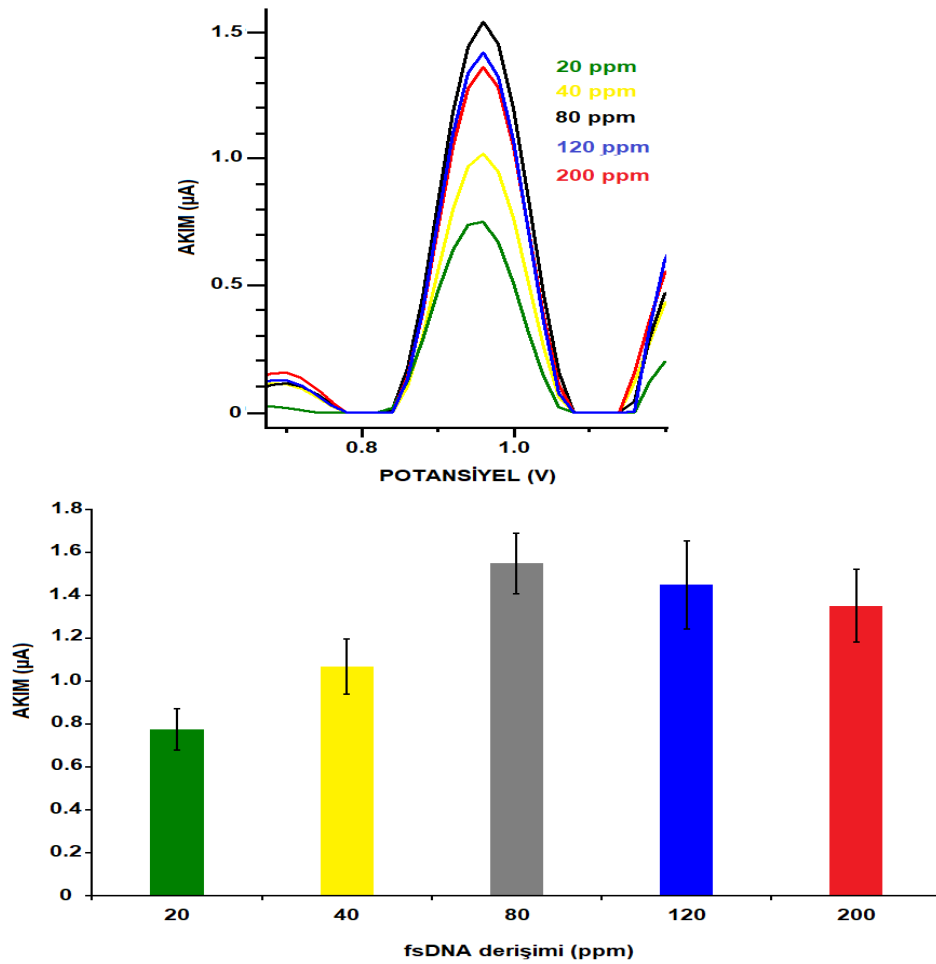
3.4.3. Hasar Çalışmaları

Yüzeyine DNA immobilize edilmiş olan 2 grup elektrottan 1. grup elektrotlar, elektrolit içerisine daldırıldı ve direk anodik tarama yapılarak, 2. grup elektrotlar ise 1 saat süre ile IR lambasının altında tutulduktan sonra elektrolit içerisine daldırıldı ve anodik tarama yapılarak guanin yükseltgenme sinyali ölçüldü. Vitamin (B₇, C, D, ve E), gallik asit ve polimer (kitosan, PEG) varlığında gerçekleştirilen çalışmalarda, yüzeyine DNA immobilize edilmiş olan elektrotlar önce belirli derişimlerde vitamin, gallik asit ve polimer çözeltilerine 1 saat süre ile daldırıldı sonra IR lambasının altında 1 saat bekletilerek guanin yükseltgenme sinyalleri DPV ile ölçüldü.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. DNA Derişiminin Belirlenmesi

IR ışını ile hasar verme çalışması, yüzeyine DNA immobilize edilmiş PGE'ların IR lambasının altında tutulması şeklinde gerçekleştirileceği için PGE yüzeyine en yüksek miktar ve kararlılıkta immobilize edilecek DNA derişiminin belirlenmesi gerekmektedir. Yüzeyine farklı derişimlerde DNA immobilize edilmiş elektrotlarla elde edilen guanin yükseltgenme sinyalleri şekil 4.1'de görülmektedir.



Şekil 4.1. Farklı derişimlerde fsDNA çözeltilerinin guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalamasından çizilmiş olan histogram.

Herbir derişime karşılık elde edilen guanin yükseltgenme sinyalleri % bağıl standart sapma ile birlikte aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Tablo 4.1. Farklı derişimlerde DNA immobilize edilmiş elektrotlarla ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri

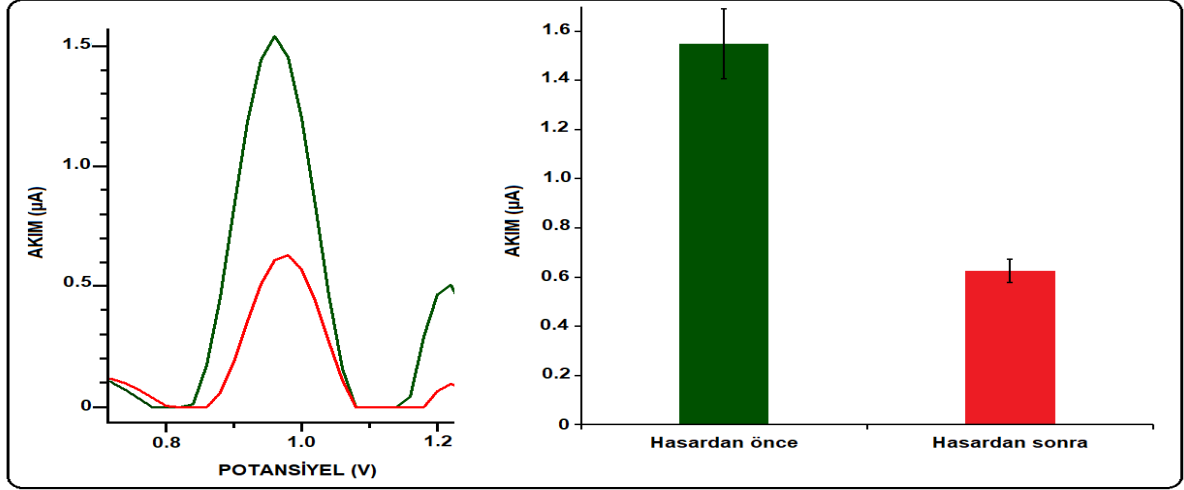
Derişim (ppm)	20	40	80	120	200
Sinyal (μ A)	0.773	1.068	1.548	1.449	1.350
%BSS	12.5, n=6	12.0, n=4	9.1, n=8	14.2, n=4	12.5, n=6

PGE yüzeyini en fazla miktar ve kararlılıkta kaplayacak fsDNA derişiminin 80 ppm olduğu açıktır. Bu sonuç grubumuzun daha önceki çalışmalarında elde ettikleri sonuçlar ile uyumludur (Öndeş vd., 2020 ve Erol vd., 2021).

4.2. Hasar Çalışmaları

4.2.1. Voltametri Tekniğiyle Hasarın Tespiti

PGE yüzeyine 1 saat pasif adsorbsiyon ile 80 ppm fsDNA immobilize edilen 2 set elektrottan 1. set elektrot, IR lambasının altında 1 saat süre ile bekletildikten sonra, 2. set elektrot ise direk anaodik tarama yapılarak DPV ile ölçüldü. Guanin sinyalindeki değişim şekil 4.2’de görülmektedir.

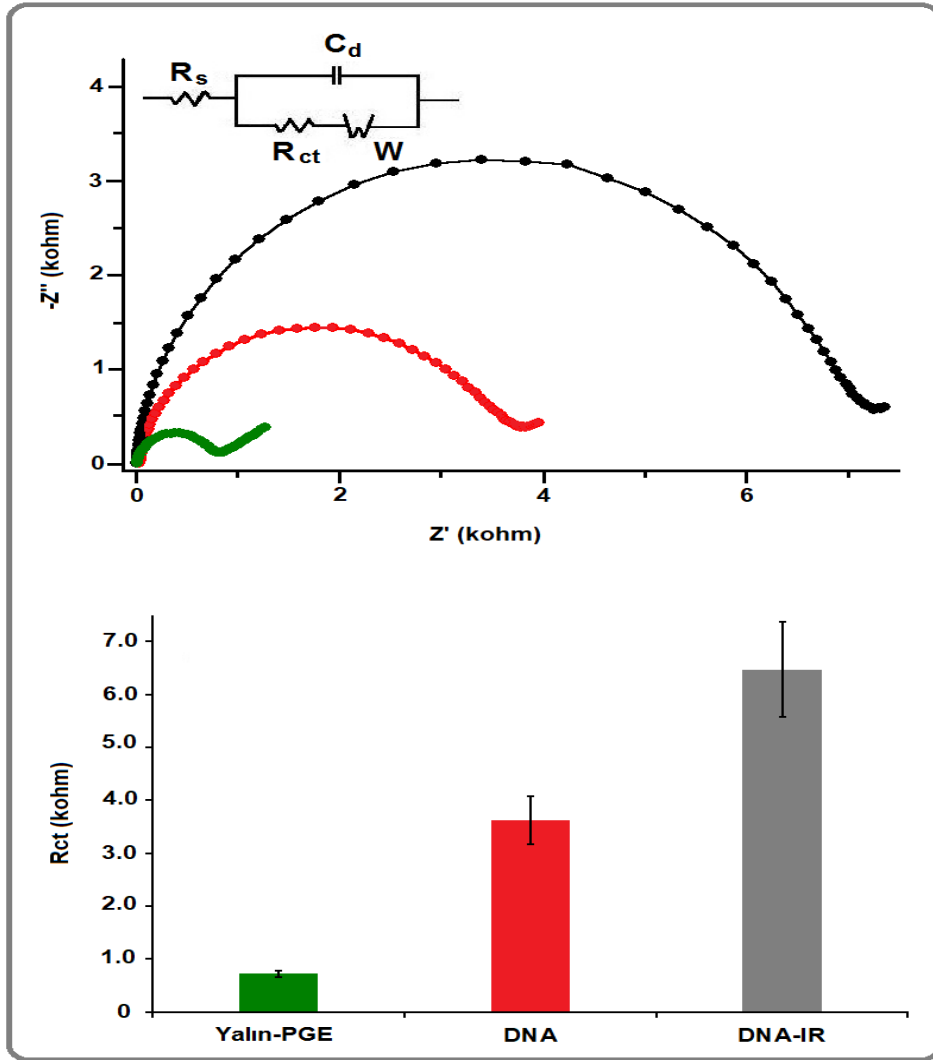


Şekil 4.2. PGE yüzeyine immobilize edilmiş 80 ppm fsDNA'nın IR ışınına maruz kalmadan ve ışına 60 dak. maruziyetten sonra Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalamalarından hazırlanmış olan histogram.

IR ışınına maruziyet öncesi guanin yükseltgenme sinyali $1.55 \mu\text{A}$ (%BSS=2.5, n=8), 1 saat maruziyet sonrası $0.67 \mu\text{A}$ (%BSS=9.3, n=8) olarak ölçülmüştür. IR maruziyeti sonucu guanin sinyalindeki azalma % 57 olarak hesaplanmıştır.

4.2.2. Elektrokimyasal Empedans Spektrometri Tekniğiyle Hasarın Tespiti

Yalın elektrotların, yüzeyine 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların ve yüzeyine DNA immobilize edildikten sonra IR altında 15 dakika bekletilmiş elektrotların her aşamadan sonra elektrot ile elektrolit arasındaki elektron transfer direnci ölçüldü. IR ışınına maruziyet sonrası meydana gelen hasar, DNA bazlarının arasındaki H bağlarının kopması şeklinde de meydana gelebileceği için hasarın EIS ile de tespit edilebilmesinin mümkün olabileceği düşünülmüştür. Çünkü pürin ve pirimidin bazları arasındaki bağların kopması elektrot ile elektrolit arasındaki elektron transfer direncini artıracaktır. Elde edilen sonuçlar şekil 4.3'te gösterilmektedir.



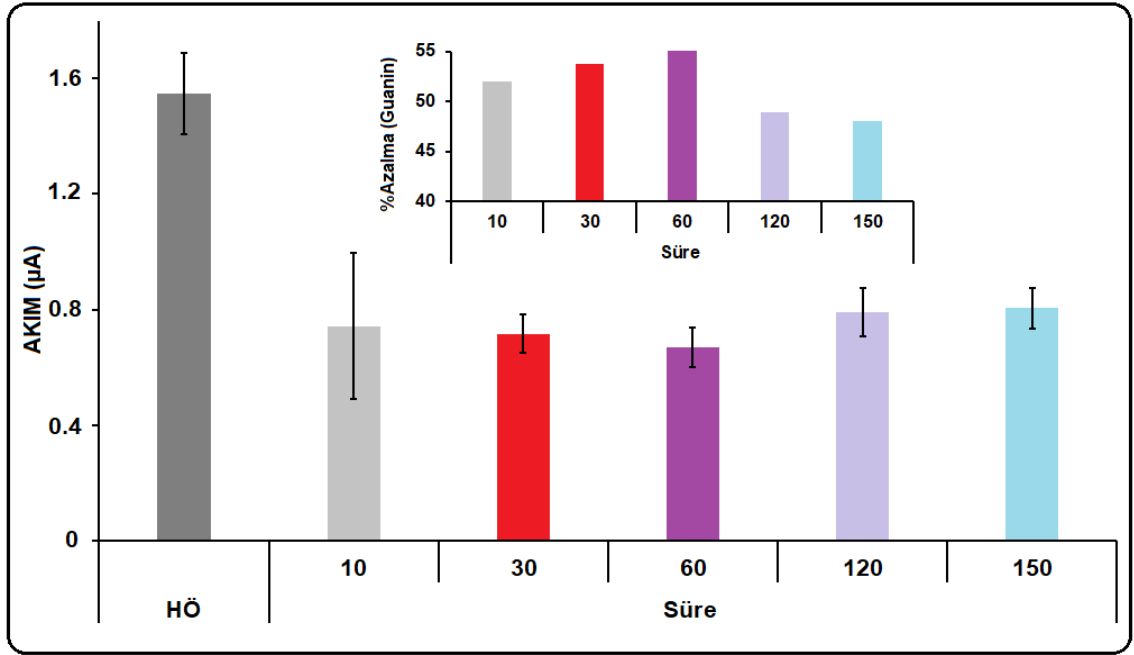
Şekil 4.3. Yalın-PGE, DNA-PGE ve 1 saat boyunca IR ışını ile etkileştirilmiş DNA-PGE'lere ait Nyquist eğrisi ve ortalama R_{ct} değerlerinden çizilmiş histogramlar. İç şekil R_s: çözelti direnci, C_d: elektrot/elektrolit/ara yüzündeki kapasitans, R_{ct}: elektrot/elektrolit/ara yüzündeki yük transfer direnci, W: elektrot yüzeyine kütle transferi nedeniyle Warburg empedansını göstermektedir.

Elektrot yüzeyine DNA immobilizasyonu sonrası artan negatif yüklü fosfat grupları nedeniyle R_{ct} değeri artmakta (Bare PGE: 0.72 kohm, %BSS=8.8 n=5; DNA-PGE:3.63 kohm, %BSS=12.4, n=8), IR ışığına maruziyet sonrası ise R_{ct} değerinde %79'luk bir artış daha olmaktadır (DNA-IR:6.47 kohm, %BSS=13.8, n=3). IR maruziyeti sonunda

Rct değerindeki artış, DNA çift zincirinde meydana gelen kırılmalar nedeniyle pürin ve pirimidin bazları arasında bulunan H bağları üzerinden elektron transferinin sağlanamaması şeklinde açıklanabilir.

4.2.3. Maruziyet Süresinin Etkisi:

DNA immobilize edilmiş elektrotların IR ışınına maruziyet süresinin guanin yükseltgenme sinyaline etkisinin tespit edilmesi için yapılan çalışmada 80 ppm fsDNA immobilize edilen elektrotlar 15, 30, 60 ve 90 dak. IR ışınına maruz bırakılmış ve guanin yükseltgenme sinyalleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar şekil 4.4'te gösterilmektedir.



Şekil 4.4. Maruziyet süresinin Guanin yükseltgenme sinyali üzerindeki etkisi. İç şekil Guanin yükseltgenme sinyalindeki % değişimi göstermektedir.

IR hasarı sonrası en fazla düşüş 1 saat maruziyet sonrası gerçekleşmiştir (HÖ: 1.548 µA, %BSS=9.1, n=8, HS:0.668 µA, %BSS=10.1, n=6). Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda IR maruziyetinin 1 saat olarak çalışılmasına karar verilmiştir.

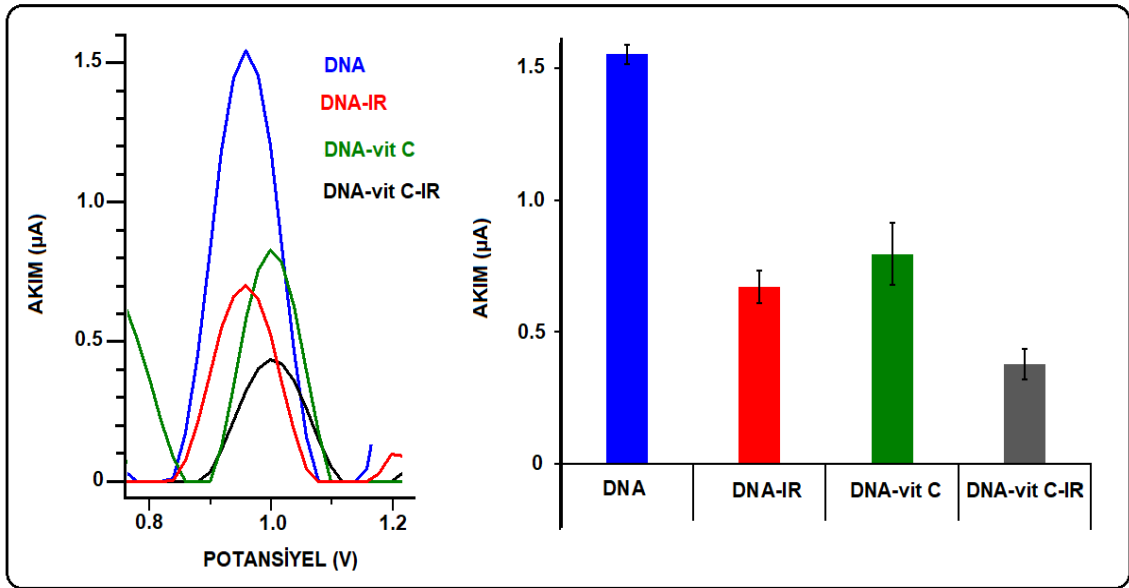
4.2.4. Vitaminler Varlığında Hasar Çalışmaları

4.2.4.1. C vitamini (Askorbik Asit)

Yüzeyine 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş 4 set elektrot hazırlanmıştır.

1. grup elektrotlar direk ölçülmüş,
2. grup elektrotlar 10^{-2} M askorbik asit (C vitamini) çözeltisine daldırılarak ölçülmüş,
3. grup elektrot IR ışınlarına 60 dak. maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüş ve
4. grup elektrotlar 10^{-2} M askorbik asit (C vitamini) çözeltisine daldırıldıktan sonra 60 dak. IR ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüştür.

Elde edilen sonuçlar şekil 4.5'te görülmektedir.



Şekil 4.5. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların C vitamini yokluğunda ve 10^{-2} M C vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram.

IR maruziyeti sonunda Guanin yükseltgenme sinyallerindeki değişim aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.2. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların C vitamini yokluğunda ve 10^{-2} M C vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri

	DNA	DNA-IR	DNA-vit C	DNA-vit C-IR
Sinyal (μ A)	1.55	0.67	0.80	0.38
%BSS	2.5, (n=8)	9.3, (n=8)	14.8, (n=3)	15.2, (n=3)

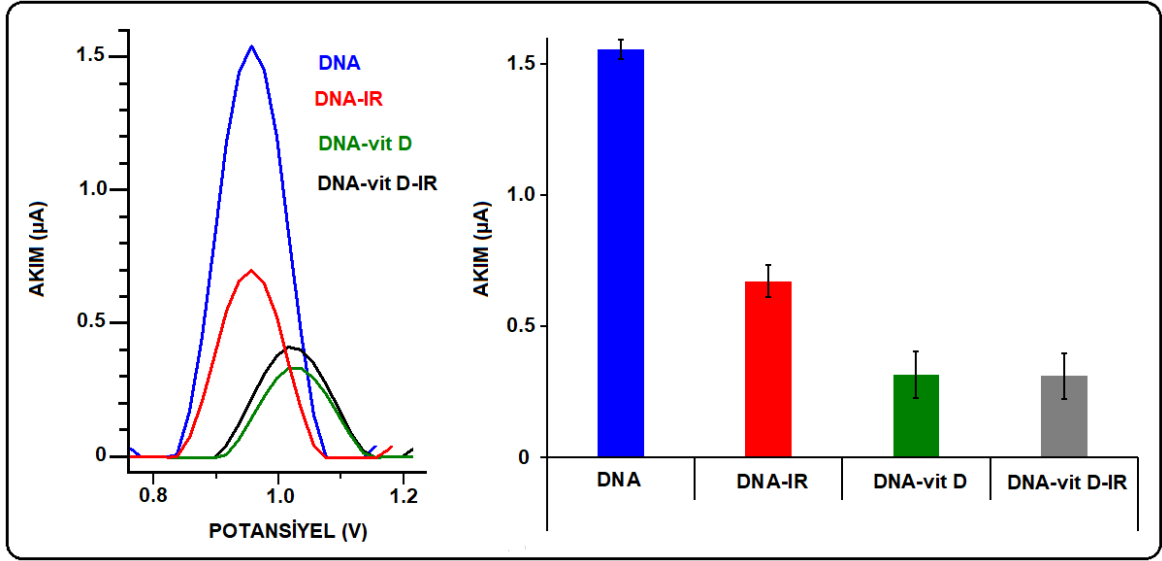
Tablodaki veriler incelendiğinde IR maruziyeti olmamasına rağmen C vitamini immobilizasyonu sonrası guanin sinyalinde bir azalma olduğu görülmektedir. IR maruziyeti olmamasına rağmen guanin yükseltgenme sinyalindeki bu azalma, DNA'nın C vitamini ile etkileşmesi ve belki de C vitamini immobilizasyonu nedeniyle guaninin yükseltgenmesinin engellenmesi olarak değerlendirilebilir. Sadece C vitamininin immobilizasyonu nedeniyle guanin yükseltgenme sinyalindeki azalma % 48.7 olarak hesaplanmıştır. Aynı azalma IR ile etkileştirilme durumunda da IR'den bağımsız olarak yine gerçekleşeceğinden, DNA-vit C-IR sonrası guanin yükseltgenme sinyalinin 0.67μ A'in % 48.7 oranında azalmasıyla 0.35μ A olarak ölçülmesi, eğer C vitamininin hasarı önleme yönünde bir etkisi varsa bu değer 0.35μ A'den büyük olması beklenmektedir. IR maruziyeti sonunda guanin yükseltgenme sinyalinin 0.38μ A olarak ölçülmesi C vitamininin IR'den kaynaklanan DNA hasarı üzerine herhangi bir etkisi olmadığını göstermektedir.

4.2.4.2. D vitamini

Yüzeyine 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş 4 set elektrot hazırlanmıştır.

1. grup elektrotlar direk ölçülmüş,
2. grup elektrotlar direk olarak 300000 I.U/mL D vitamini içerisine daldırılarak ölçülmüş,
3. grup elektrot IR ışınlarına 60 dak. maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüş ve
4. grup elektrotlar 300000 I.U/mL D vitamini içerisine daldırıldıktan sonra 60 dak. IR ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüştür.

Elde edilen sonuçlar şekil 4.6'da görülmektedir.



Şekil 4.6. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların D vitamini yokluğunda ve 30000 I.U/mL D vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram.

IR maruziyeti sonunda guanin yükseltgenme sinyallerindeki değişim aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.3. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların D vitamini yokluğunda ve 30000 I.U/mL D vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri.

	DNA	DNA-IR	DNA-vit D	DNA-vit D-IR
Sinyal (µA)	1.55	0.67	0.32	0.31
%BSS	2.5, (n=8)	9.3, (n=8)	28.3, (n=3)	28,3, (n=3)

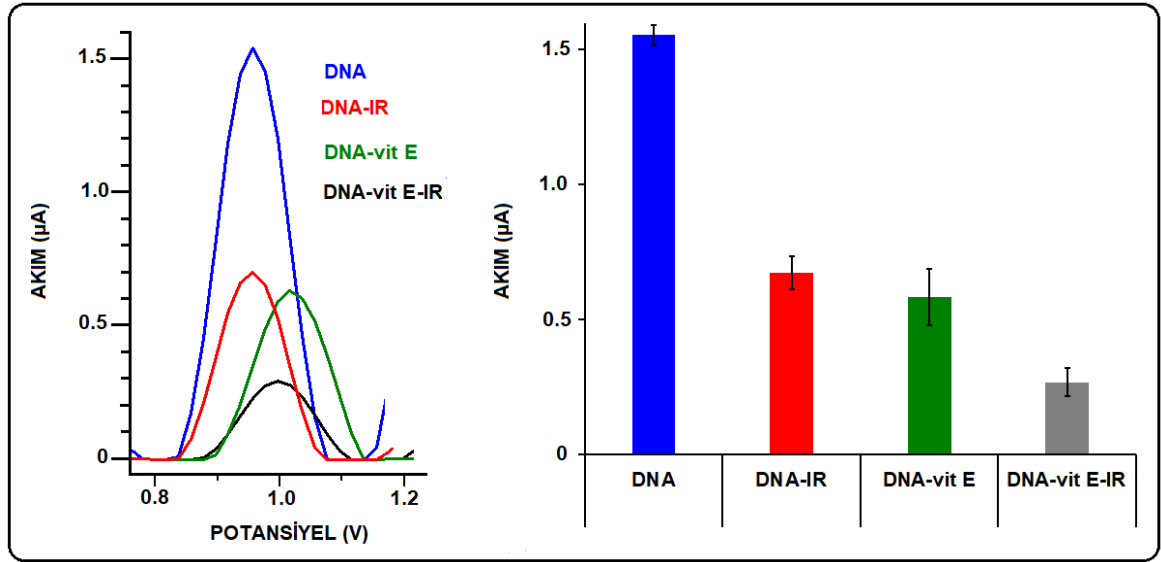
D vitamini immobilizasyonu sonrası guanin yükseltgenme sinyalindeki azalma %79.7 olarak hesaplanmıştır. Bu durumda IR maruziyeti sonrası 0.67 µA olan yükseltgenme sinyalinin sadece D vitamini immobilizasyonu nedeniyle 0.14 µA olması beklenirdi. Ancak ölçülen guanin yükseltgenme sinyalinin 0.31 µA olması D vitaminin IR hasarını engellediğini göstermektedir.

4.2.4.3. E vitamini

Yüzeyine 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş 4 set elektrot hazırlanmıştır.

1. grup elektrotlar direk ölçülmüş,
2. grup elektrotlar direk olarak 150 mg/mL E vitamini içerisinde daldırılarak ölçülmüş,
3. grup elektrot IR ışınlarına 60 dak. maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüş ve
4. grup elektrotlar 150 mg/mL E vitamini içerisinde daldırıldıktan sonra 60 dak. IR ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüştür.

Elde edilen sonuçlar şekil 4.7’de görülmektedir.



Şekil 4.7. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların E vitamini yokluğunda ve 150 mg/mL E vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram.

IR maruziyeti sonunda guanin yükseltgenme sinyallerindeki değişim aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.4. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların E vitamini yokluğunda ve 150 g/mL E vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri.

	DNA	DNA-IR	DNA-vit E	DNA-vit E-IR
Sinyal (μA)	1.55	0.67	0.58	0.27
%BSS	2.5, (n=8)	9.3, (n=8)	18.0 (n=3)	20.0, (n=4)

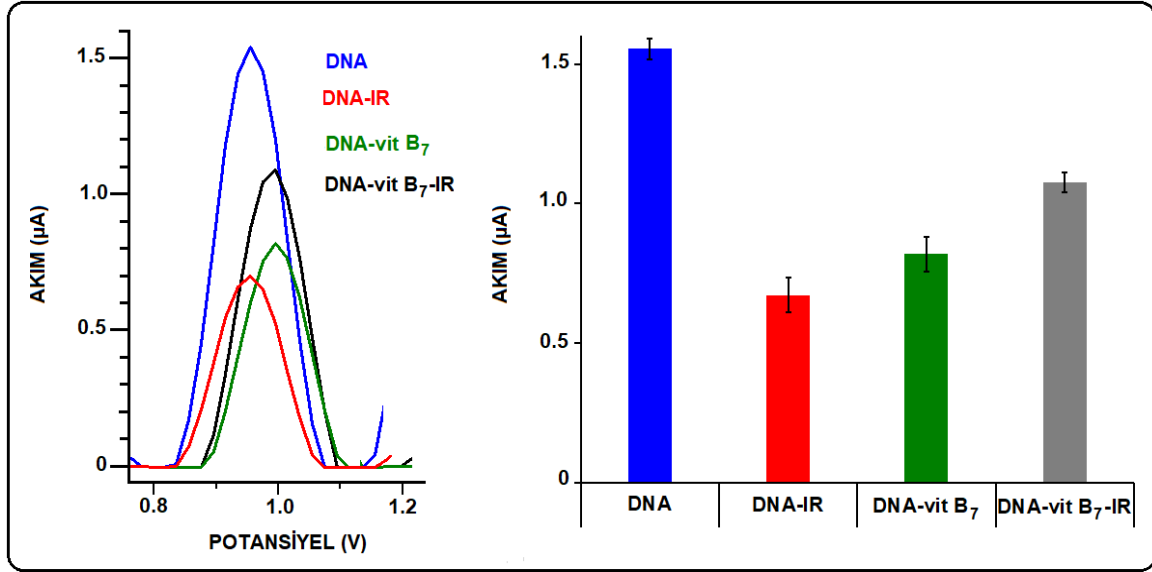
E vitamini immobilizasyonu sonrası guanin yükseltgenme sinyalindeki azalma % 62.5 olarak hesaplanmıştır. Bu durumda IR maruziyeti sonrası 0.67 μ A olan yükseltgenme sinyalinin sadece E vitamini immobilizasyonu nedeniyle 0.25 μ A olması beklenirdi. Ölçülen guanin yükseltgenme sinyalinin 0.27 μ A olması E vitaminin IR hasarını engelleme yönünde herhangi bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

4.2.4.4. B₇ vitamini (Biotin)

Yüzeyine 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş 4 set elektrot hazırlanmıştır.

1. grup elektrotlar direk ölçülmüş,
2. grup elektrotlar direk olarak 5 mg/mL B₇ vitamini içerisine daldırılarak ölçülmüş,
3. grup elektrot IR ışınlarına 60 dak. maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüş ve
4. grup elektrotlar 5 mg/mL B₇ vitamini içerisine daldırıldıktan sonra 60 dak. IR ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüştür.

Elde edilen sonuçlar şekil 4.8’de görülmektedir.



Şekil 4.8. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların B₇ vitamini yokluğunda ve 5 mg/mL B₇ vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram.

IR maruziyeti sonunda guanin yükseltgenme sinyallerindeki değişim aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.5. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların B₇ vitamini yokluğunda ve 5 mg/mL B₇ vitamini varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri

	DNA	DNA-IR	DNA-vit B ₇	DNA-vit B ₇ -IR
Sinyal (µA)	1.55	0.67	0.82	1.08
%BSS	2.5, (n=8)	9.3, (n=8)	7.6 (n=4)	3.3, (n=3)

B₇ vitamini immobilizasyonu sonrası guanin yükseltgenme sinyalindeki azalma % 47.3 olarak hesaplanmıştır. Bu durumda IR maruziyeti sonrası 0.67 µA olan yükseltgenme sinyalinin, sadece B₇ vitamini immobilizasyonu nedeniyle 0.55 µA olması beklenirdi. Ölçülen guanin yükseltgenme sinyalinin 1.08 µA olması B₇ vitaminin IR hasarını engellediğini düşündürmektedir.

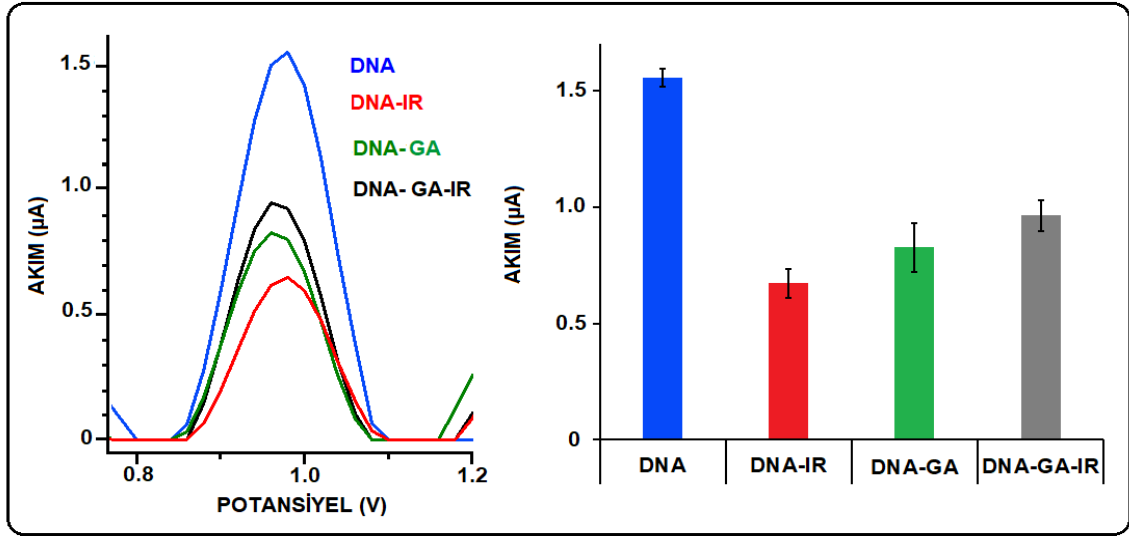
4.2.5. Antioksidan madde varlığında hasar çalışmaları

4.2.5.1. Gallik asit

Yüzeyine 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş 4 set elektrot hazırlanmıştır.

1. grup elektrotlar direk ölçülmüş,
2. grup elektrotlar direk olarak 10^{-2} M Gallik asit çözeltisi içerisinde daldırılarak ölçülmüş,
3. grup elektrot IR ışınlarına 60 dak. maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüş ve
4. grup elektrotlar 10^{-2} M Gallik asit içerisinde daldırıldıktan sonra 60 dak. IR ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüştür.

Elde edilen sonuçlar şekil 4.9'da görülmektedir.



Şekil 4.9. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların Gallik asit yokluğunda ve 10^{-2} M Gallik asit varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram.

IR maruziyeti sonunda Guanin yükseltgenme sinyallerindeki değişim aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4. 6. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların Gallik asit yokluğunda ve 10^{-2} M Gallik asit varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri

	DNA	DNA-IR	DNA-GA	DNA-GA-IR
Sinyal (μ A)	1.55	0.67	0.83	0.96
%BSS	2.5, (n=8)	9.3, (n=8)	12.6 (n=3)	7.0, (n=4)

Gallik asit immobilizasyonu sonrası guanin yükseltgenme sinyalindeki azalma % 46.8 olarak hesaplanmıştır. Bu durumda IR maruziyeti sonrası 0.67 μ A olan yükseltgenme sinyalinin, sadece B₇ vitamini immobilizasyonu nedeniyle 0.36 μ A olması beklenirdi. Ölçülen guanin yükseltgenme sinyalinin 0.96 μ A olması gallik asidin IR hasarını engellediğini düşündürmektedir.

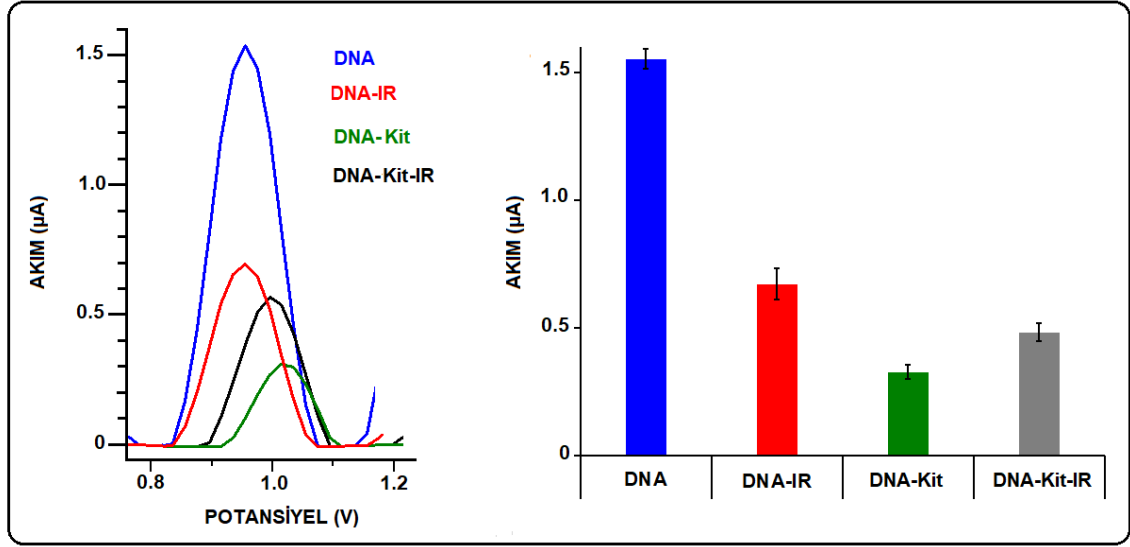
4.2.6. Polimerler varlığında hasar çalışmaları

4.2.6.1. Kitosan

Yüzeyine 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş 4 set elektrot hazırlanmıştır.

1. grup elektrotlar direk ölçülmüş,
2. grup elektrotlar direk olarak 10 mg/mL kitosan çözeltisi içerisine daldırılarak ölçülmüş,
3. grup elektrot IR ışınlarına 60 dak. maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüş ve
4. grup elektrotlar 10 mg/mL kitosan vitamini içerisine daldırıldıktan sonra 60 dak. IR ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüştür.

Elde edilen sonuçlar şekil 4.10'da görülmektedir.



Şekil 4.10. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların kitosan yokluğunda ve 10 mg/mL kitosan varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram.

IR maruziyeti sonunda guanin yükseltgenme sinyallerindeki değişim aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4. 7. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların kitosan yokluğunda ve 10 mg/mL kitosan varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri

	DNA	DNA-IR	DNA-Kit	DNA-Kit-IR
Sinyal (µA)	1.55	0.67	0.33	0.48
%BSS	2.5, (n=8)	9.3, (n=8)	8.8 (n=3)	7.2, (n=3)

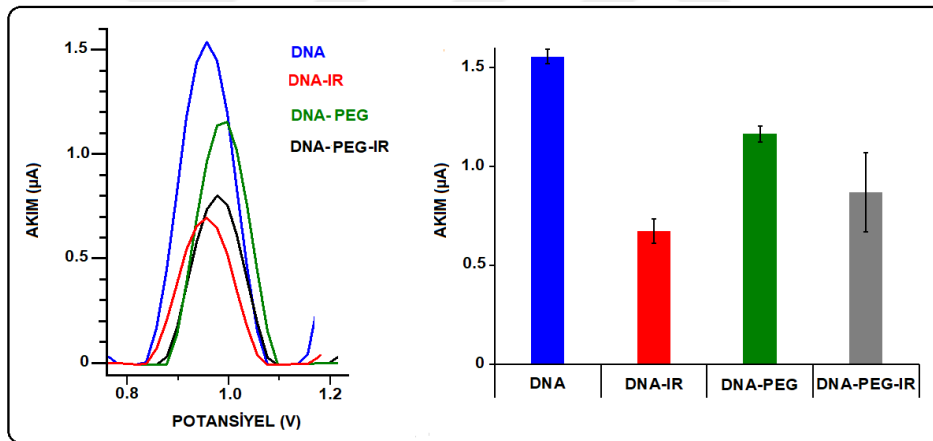
Kitosan immobilizasyonu sonrası guanin yükseltgenme sinyalindeki azalma % 78.9 olarak hesaplanmıştır. Bu durumda IR maruziyeti sonrası 0.67 µA olan yükseltgenme sinyalinin, sadece kitosan immobilizasyonu nedeniyle 0.14 µA olması beklenirdi. Ölçülen guanin yükseltgenme sinyalinin 0.48 µA olması kitosanın IR hasarını engellediğini düşündürmektedir.

4.2.6.2. poli Etilen Glikol (PEG)

Yüzeyine 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş 4 set elektrot hazırlanmıştır.

1. grup elektrotlar direk ölçülmüş,
2. grup elektrotlar direk olarak 0.5 mg/mL B₇ vitamini içerisinde daldırılarak ölçülmüş,
3. grup elektrot IR ışınlarına 60 dak. maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüş ve
4. grup elektrotlar 5 mg/mL B₇ vitamini içerisinde daldırıldıktan sonra 60 dak. IR ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra ölçülmüştür.

Elde edilen sonuçlar şekil 4.11’de görülmektedir.



Şekil 4.11. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların PEG yokluğunda ve 5 mg/mL PEG varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve sinyallerin ortalaması alınarak çizilmiş olan histogram.

IR maruziyeti sonunda guanin yükseltgenme sinyallerindeki değişim aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4. 8. 80 ppm fsDNA immobilize edilmiş elektrotların PEG yokluğunda ve 5 mg/mL PEG varlığında 1 saat IR ışını maruziyeti sonucu Guanin yükseltgenme sinyalleri

DNA	DNA-IR	DNA-PEG	DNA-PEG-IR
-----	--------	---------	------------

Sinyal (μA)	1.55	0.67	1.16	0.87
%BSS	2.5, (n=8)	9.3, (n=8)	3.5, (n=3)	23.1, (n=3)

PEG immobilizasyonu nedeniyle guanin yükseltgenme sinyalindeki azalma % 25.2 olarak hesaplanmıştır. Bu durumda IR maruziyeti sonrası 0.67 μA olan yükseltgenme sinyalinin, sadece PEG immobilizasyonu nedeniyle 0.53 μA olması beklenirdi. Ölçülen guanin yükseltgenme sinyalinin 0.87 μA olması PEG'in IR hasarını engellediğini düşündürmektedir.



5. SONUÇ

Cilt kanseri, özellikle bazı ülkelerde yaşayan insanlar için en yaygın görülen kanser çeşididir. IR ışınlarının neden olduğu DNA hasarı ve genlerde meydana gelen mutasyon, cilt kanseri ile sonuçlanabilir. Bu nedenle IR ışınların neden olduğu DNA hasarının erken, basit ve ucuz bir şekilde tespitine yönelik biyosensörlerin tasarlanması oldukça önemlidir. Bu çalışma ile IR ışınlarının neden olduğu DNA hasarının tespitine yönelik yeni bir biyosensör tasarlanmış ve söz konusu hasarın bazı moleküllerin varlığında nasıl değiştiği elektrokimyasal olarak incelenmiştir.

DNA, oksidanların etkisi ile hasara uğradığında Guanin ve Adenin bazları, oksidasyona açık uçlarının hasara uğraması nedeniyle yükseltgenmemekte ya da yükseltgenme sinyalleri düşmekte, ayrıca oksidasyon ürünü 8-oxoG açığa çıkmakta ve bu ürün Ag/AgCl referans elektroda karşı pH:7 PBS tamponunda 0,5 V potansiyelde yükseltgenmektedir. Ancak 8-oxoG yükseltgenme sinyalinin ölçülebilmesi zordur ve elektrot modifikasyonu veya farklı prosedürlerin uygulanmasını gerektirmektedir. Bu çalışmamızda DNA hasarının, Guanin yükseltgenme sinyalindeki düşmenin DPV ile ölçülmesiyle tespit edilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca hasar sonrası DNA zincirinde meydana gelen kırıklar Elektrokimyasal Empedans Spektrometri (EIS) ile incelenmiştir. Çalışmada, önce DNA, elektrot yüzeyine immobilize edilmiş ve IR ışığı altında belirli süreler bekletilerek DNA'da meydana gelen değişiklikler tespit edilmiştir. IR ile etkileşen DNA'nın etkileşimden sonra Guanin yükseltgenme sinyalinde düşüş meydana gelmiştir. IR ile hasar çalışmaları bazı vitaminler, gallik asit ve doğal polimerler varlığında tekrarlanmış ve bu moleküllerin IR ışınlarının DNA hasarı üzerine etkisi incelenmiştir.

Elektrot yüzeyine immobilize edilen fsDNA üzerine 1 saat süre ile IR ışını gönderildiğinde DPV ile ölçülen Guanin yükseltgenme sinyalinde %57 azalma olmuştur. Bu durum Guanin bazının IR ışınının etkisiyle hasara uğradığını göstermektedir. Ayrıca EIS yöntemi kullanılarak elektron transfer direncinin hasardan önce ve sonraki değerleri karşılaştırıldığında IR ile etkileşimden sonra Rct değerlerinde %79 artış olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, IR ışınlarının DNA bazları arasındaki bağlara da zarar verdiğini göstermektedir.

Hasar alışmaları C, D, E ve B₇ vitaminleri, antioksidan madde (Gallik asit) ve doğal polimerler (kitosan ve PEG) varlığında gerçekleştirilerek bu maddelerin hasarı engelleme potansiyelleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan, C vitamini ve E vitamininin hasarı önleme konusunda etkili olmadığı, D ve B₇ vitaminlerinin ise hasarı engellemede etkili oldukları, ayrıca Galik asit, kitosan ve PEG'in de IR'den kaynaklanan DNA hasarını engellediği tespit edilmiştir.



KAYNAKLAR

- Akkuş, İ., Sağlam, N. I., Çağlayan, O., Vural, H., Kalak, S., & Sağlam, M. (1996). Investigation of erythrocyte membrane lipid peroxidation and antioxidant defense systems of patients with coronary artery disease (CAD) documented by angiography. *Clinica chimica acta*, 244(2), 173-180.
- Arlett, C. F., Plowman, P. N., Rogers, P. B., Parris, C. N., Abbaszadeh, F., Green, M. H. L., ... Lehmann, A. R. (2006). Clinical and cellular ionizing radiation sensitivity in a patient with xeroderma pigmentosum. *The British Journal of Radiology*, 79(942), 510-517.
- Balajee, A. S., Bohr, V. A. (2000). Genomic heterogeneity of nucleotide excision repair. *Gene*, 250(1-2), 15-30.
- Bard, A. J. and Faulkner, L. R. 2001. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Application* 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc. , New York, 19-20.
- Berghian-Grosan, C, Biris, A. R., Coros, M., Pogacean, F., Pruneanu, S. (2015). Electrochemical and spectroscopic studies of ssDNA damage induced by hydrogen peroxide using graphene based nanomaterials, *Talanta*, 138, 209-217.
- Bernstein, C., Prasad, A. R., Nfonsam, V., ve Bernstein, H. (2013). DNA damage, DNA repair and cancer (pp. 413-465). Rijeka, Croatia: InTech.
- Burton, G. W. (1994). Vitamin E: molecular and biological function. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53(2), 251-262.
- Chen, M., Xiong, H., Zhang, X., Gu, H., Wang, S. (2013). Electrochemical biosensors for the monitoring of DNA damage induced by ferric ions mediated oxidation of dopamine, *Electrochemistry Communications*, 28, 91-94.
- Cho, E., Spiegelman, D., Hunter, D. J., Chen, W. Y., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Willett, W. C. (2003). Premenopausal fat intake and risk of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 95(14), 1079-1085.
- Ciccia, A., ve Elledge, S. J. (2010). The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Molecular cell*, 40(2), 179-204.

- Copper, J. F. (2016). *China's Foreign Aid and Investment Diplomacy, Volume III: Strategy Beyond Asia and Challenges to the United States and the International Order*. Springer.
- De Bont, R., ve Van Larebeke, N. (2004). Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis*, 19(3), 169-185.
- Duguid, J. R., Eble, J. N., Wilson, T. M., Kelley, M. R. (1995). Differential cellular and subcellular expression of the human multifunctional apurinic/aprimidinic endonuclease (APE/ref-1) DNA repair enzyme. *Cancer research*, 55(24), 6097-6102.
- Duran, A., Tuzen, M., Soylak, M. (2009). Preconcentration of some trace elements via using multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 466-471.
- Erol, A., Akpınar, F., Muti, M. (2021). Electrochemical determination of anticancer drug Bendamustine and its interaction with double strand DNA in the absence and presence of quercetin. - *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 205- 111884, 0927-7765
- Fang, C., Gilbert, M. J. Bernevig, B. A. (2013). Entanglement spectrum classification of c -invariant noninteracting topological insulators in two dimensions. *Physical Review B*, 87(3), 035119.
- Friedberg, E. C. (2008). A brief history of the DNA repair field. *Cell research*, 18(1), 3-7.
- Ghanbari, K., Roshani, M., Goicoechea H. C., Jalalvand, A. R., (2019). Developing an elegant and integrated electrochemical-theoretical approach for detection of DNA damage induced by 4-nonylphenol, *Heliyon*, 5, e02755.
- Hájková, A., Barek, J., Vyskočil, V. (2017). Electrochemical DNA biosensor for detection of DNA damage induced by hydroxyl radicals, *Bioelectrochemistry*, 116, 1-9.
- Hashkavayia, A. B., Hashemnia, S., Osfouric, S. (2020). Investigations of antioxidant potential and protective effect of *Acanthophora* algae on DNA damage: An electrochemical approach, *Microchemical Journal*, 159, 105455.

- Heydari-Bafrooei, E., Amini, M., Saeednia, S., (2017). Electrochemical detection of DNA damage induced by Bleomycin in the presence of metal ions, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 803, 104-110.
- Hlavata, L., Benikova, K., Vyskocil, V., Labuda, J. (2012). Evaluation of damage to DNA induced by UV-C radiation and chemical agents using electrochemical biosensor based on low molecular weight DNA and screen-printed carbon electrode. *Electrochimica acta*, 71, 134-139.
- Hoeijmakers, J. H. (2009). DNA damage, aging, and cancer. *New England Journal of Medicine*, 361(15), 1475-1485.
- Huber, S., Tagesson, T., Fensholt, R. (2014). An automated field spectrometer system for studying VIS, NIR and SWIR anisotropy for semi-arid savanna. *Remote Sensing of Environment*, 152, 547-556.
- Huo, H., He, Y., Chen, W., Wu, L., Yi, X., Wang, J. (2022). Simultaneously monitoring UVC-induced DNA damage and photoenzymatic repair of cyclobutane pyrimidine dimers by electrochemical impedance spectroscopy, *Talanta*, 239, 123081.
- Iyama, T., ve Wilson, D. M. (2013). DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. *DNA repair*, 12(8), 620-636.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Kaplan, B. J., Crawford, S. G., Field, C. J., Simpson, J. S. A. (2007). Vitamins, minerals, and mood. *Psychological bulletin*, 133(5), 747
- Kaur, C., Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. *International journal of food science & technology*, 36(7), 703-725.
- Kulaksız, G., ve Sancar, A. (2007). Nükleotid eksizyon onarımı ve kanser. *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem]* 2007; 32 (3); 104–111.
- Lindahl, T. (1993). Instability and decay of the primary structure of DNA nature, 362(6422), 709-715.

- Mousavisani, S. Z., Raouf, J. B., Cheung, K. Y., Camargo, A. R. H., Ruzgas, T., Turner, A. P. F., Mak, W. C. (2019). Integrating an ex-vivo skin biointerface with electrochemical DNA biosensor for direct measurement of the protective effect of UV blocking agents, *Biosensors and Bioelectronics*, 128, 159-165.
- Öndeş, B., Muti, M., (2020). Electrochemical Determination of the Effect of Caffeic Acid Onto the Interaction Between Idarubicin and DNA by Single-Use Disposable Electrodes. *Electroanalysis*. 32. 1288-1296.
- Prior, R. L., Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods1. *Free radical biology and medicine*, 27(11-12), 1173-1181.
- Singh, R. B., Niaz, M. A., Sharma, J. P., Kumar, R., Bishnoi, I., Begom, R. (1994). Plasma levels of antioxidant vitamins and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction. *Acta cardiologica*, 49(5), 441-452.
- Song, K. X., Chen, D., Liao, Z. Y., Yu, X., Guo, F. F., Yu, R. L., Xu, M Z., Xia, Y. M., Gao, W. W. (2022). Label-free electrochemical detection of genetic damage induced by the interaction of a novel potential aminoanthraquinone-derived antitumor agent with DNA modified electrode, *Sensors and Actuators: B. Chemical*, 352, 131036.
- Splettstoesser, W. D., Schuff- Werner, P. (2002). Oxidative stress in phagocytes— “the enemy within”. *Microscopy research and technique*, 57(6), 441-455.
- Tural, H., Gökçel, H. İ., Ertaş, F. N. 2006. Enstrumantal Analiz I Elektroanalitik Yöntemler. Ege Üniversitesi Yayınları Fen Fakültesi Yayın No: 186, 2. Baskı, 336, İzmir.
- Untiverosa, K.L., Silva, E. G., Abreu, F. C., Silva-Júnior, E. F., Araújo-Junior, J. X., Aquino, T. M., Armas, S. M., Moura, R. O., Mendonça-Junior, F. J. B. Serafim, V. L., Chumbimuni-Torres, K. (2019). An electrochemical biosensor based on Hairpin-DNA modified gold electrode for detection of DNA damage by a hybrid cancer drug intercalation, *Biosensors and Bioelectronics*, 130, 160-168.
- Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

- Verjat, T., Dhénaut, A., Radicella, J. P., Araneda, S. (2000). Detection of 8-oxoG DNA glycosylase activity and OGG1 transcripts in the rat CNS. *Mutation Research/DNA Repair*, 460(2), 127-138.
- Wang, J., Lu, J., Hocevar, S. B., Farias, P. A., Ogorevc, B. (2000). Bismuth-coated carbon electrodes for anodic stripping voltammetry. *Analytical chemistry*, 72(14), 3218-3222.
- Xiong, H., Chen, Y., Zhang, X., Gu, H., Wang, S. (2013). An electrochemical biosensor for the rapid detection of DNA damage induced by xanthine oxidase-catalyzed Fenton reaction, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 181, 85-91.
- Yıldız A, Genç Ö, Bektaş S. 1997. Enstrümental Analiz Yöntemleri, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, 17: 331-372. Ankara

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“IR Işınlardan Kaynaklanan DNA Hasarının Elektrokimyasal Yöntemlerle Tespiti ve Hasarın Bazı Moleküller Varlığında İncelenmesi” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Pelın UYSAL ÇALICIOĞLU

29/06/2022