

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

**RADYASYONUN RATLARDA ERKEN VE GEÇ DÖNEMDE
BEYİN DOKUSUNDA ENDOTELİN-1 DÜZEYİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Ahmet KILINÇ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Metin KAPLAN**

**ELAZIĞ
2012**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Fatih Serhat EROL

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Metin KAPLAN.....

Danışman

Uzmanlık Sınavı Değerlendirme Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Fatih Serhat EROL

Doç. Dr. Metin KAPLAN

Yrd. Doç. Dr. İsmail DEMİREL

TEŞEKKÜR

Fırat Üniversitesi Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalıştığım dönem boyunca, bilgisi, tecrübesi ve sabrı ile yetişmemde her türlü destek ve yardımı gösteren Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Fatih Serhat EROL'a,

Mesleğine olan sevgisi ve hayata olan bakış açısı ile her zaman örnek aldığım tez danışmanım Doç. Dr. Metin KAPLAN'a,

Tezimde yürütücü olarak görevlendirilmeyi kabul eden ve bu konuda ellerinden gelen her yardımı gösteren Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Nevin İLHAN'a,

Biyokimyasal analiz işlemlerinde emeği geçen Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına,

Radyasyonun verilmesinde desteğini esirgemeyen İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Şimay GÜROCAK'a

Hem tez çalışmamda hem de klinikteki diğer işlerimizde benimle severek ve güzellikler içerisinde çalışan, iyi ve kötü günlerimde yanımda olan tüm asistan, sekreter, hemşire ve personel arkadaşlarıma

Hastalığına rağmen desteğini esirgemeyen, beni devamlı motive eden eşime ve çocuklarıma

Üzerinde emeği olan anne ve babama teşekkür ederim.

ÖZET

Yanagisawa ve arkadaşları tarafından 1988 yılında domuz aorta endotelinden izole edilen Endotelin-1 (ET-1), 21 aminoasitten oluşan bir nöropeptid olup bilinen en güçlü vazokonstriktör maddedir. ET-1 prostat, over, kolon, serviks, meme, böbrek, akciğer, merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere birçok tümör tiplerinde ilgili bir büyüme faktörüdür.

İyonize radyasyon biyolojik bir maddeden geçtiğinde o maddeyle etkileşir. Bu etkileşme sırasında birçok fiziksel, fiziko-kimyasal, kimyasal ve biyolojik olaylar zinciri sonucunda asıl biyolojik cevap oluşur. Radyasyon en yoğun çalışılan karsinojendir. Aynı zamanda tümör progresyonuna da neden olmaktadır.

İn vitro olarak iyonize radyasyona maruz kalan insan endotelyal hücrelerinde Endothelin-1 gibi vazoaktif aminlerin üretimini arttırdığı gösterilmiştir.

Bu deneysel çalışmada radyasyonun ratlarda erken ve geç dönemde beyin dokusunda Endotelin-1 düzeyi üzerine etkisini araştırdık ve tümör gelişiminde ve progresyonunda etkisini tartıştık.

Çalışmamızda 28 adet 4-6 haftalık (150-200 gr), Sprague Dawley rat kullanıldı. Kontrol grubu dahil herbiri 7 rattan oluşan 4 grup oluşturuldu. Çalışma 30 gün sürdürüldü. Kontrol grubu hariç diğer gruplara 7 Gy radyasyon verildi. Radyasyon verilen gruplar 1.gün, 7.gün ve 30.günde dekapitize edilip beyin dokularındaki ET-1 düzeyleri çalışıldı.

Çalışmamızda kontrol grubuna göre 1.gün, 7.gün ve 30.günde doku ET-1 düzeylerinde azalma olmasına rağmen istatistiksel olarak $p>0,05$ olduğu için anlamlı kabul edilmedi. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında ET-1 düzeylerinde minimal değişiklikler saptandı. İstatistiksel olarak $p>0,05$ olduğu için istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi.

Sonuç olarak erken ve geç dönemde radyasyon etkisi ile beyin dokusu ET-1 düzeyleri anlamlı bir ilişki bulunamadı. Bu bulgumuz radyasyona bağlı sekonder beyin tümörü oluşumunda yada malignite derecesinin artışında radyasyonun etkisinin ET-1 düzeyi üzerinden olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Endotelin-1, Beyin, Radyasyon, Kanser

ABSTRACT

THE EFFECT OF RADIATION ON ENDOTHELIN-1 LEVELS OF RAT BRAIN TISSUE IN EARLY AND LATE PERIODS

Endothelin-1 (ET-1) is a neuropeptide that consisting of 21 amino acids and the most potent vasoconstrictor agent which isolated from porcine aortic endothelial by Yanagisawa et al in 1988. Endothelin is a growth factor on many types of tumor including prostate, ovaries, colon, cervix, breast, kidney, lung, colon cancer and central nervous system.

If ionizing radiation passes through a biological matter that interacts with it. During this interaction many physical, physico-chemical, chemical and biological chains occur and as a result of these chains actual biological response seen. Radiation is the most frequently studied carcinogenic. And also, radiation causes tumor progression.

An increased production of vasoactive amines like ET-1 in irradiated human endothelial cells in vitro.

In this experimental study, we have investigated the effect of ET-1 levels on brain tissues in rats with early and late period after radiation and we have discussed the effect of ET-1 on tumor growth and progression.

4-6 weeks (150-200 gr) of 28 Sprague Dawley rats were used in our study. Rats were divided into 4 groups including the control group, each consisting of 7 rats. This study continued for 30 days of work. 7 Gy of radiation was given to all groups except the control group. Irradiated groups were decapitated 1. day, 7. day and 30. days after radiation and ET-1 levels were studied in irradiated brain tissues.

Despite the reduction of ET-1 levels in irradiated brain tissues which obtained in the 1., 7. and 30. days of study when compared with the control group, it is not considered statistically significant because of $p > 0,05$. These groups showed minimal changes in the levels of ET-1 compared with each other. This information also not considered statistically significant because of $p > 0,05$.

Consequently, we couldn't found a significant correlation between ET-1 levels of irradiated brain tissues and effect of radiation in early and late period. This finding showed that no correlation between ET-1 levels and secondary brain tumors or malign transformaiton.

Key Words: Endothelin-1, Brain, Radiation, Cancer

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Radyasyon	1
1.1.1. Tanım	2
1.1.2. Radyasyon Türleri	3
1.1.2.1. Partiküler Radyasyon	4
1.1.2.2. Elektromanyetik Radyasyon	5
1.1.3. Radyoaktivite Birimleri	6
1.1.4. Radyasyonun Etkileri	7
1.2. Endotelinler	15
1.2.1. Sentez ve Salınım	16
1.2.2. Endotelinlerin Vücut Sistemleri Üzerine Etkisi	19
1.2.2.1. Pulmoner Sistem Üzerine Etkisi	19
1.2.2.2. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi	19
1.2.2.3. Renal Sistem Üzerine Etkisi	19
1.2.2.4. Sinir Sistemi Üzerine Etkisi	21
1.2.3. Endotelin ve Kanser	23
1.2.3.1. Endotelin ve Tümör Hücre Proliferasyonu	24
1.2.3.2. Endotelin ve Tümör Neovaskularizasyonu	24
1.2.3.3. ET-1 ve apoptoz	25
1.2.3.4. ET-1 ve tümör progresyonu/metastaz	25
2. GEREÇ VE YÖNTEM	27
2.1. Deney Hayvanları	27

2.2. Radyasyonun Verilmesi	28
2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	28
2.4. Örneklerin Alınması	28
2.5. Biyokimyasal Yöntem	28
2.6. Verilerin İstatistiksel Analizi	29
3. BULGULAR	30
4. TARTIŞMA	33
5. KAYNAKLAR	37
6. ÖZGEÇMİŞ	47

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Radyasyon Birimleri	7
Tablo 2. Proto Onkogenler	10
Tablo 3. Deney hayvanlarına verilen fare yeminin terkibi	27
Tablo 4. Beyin doku endotelin düzeyleri	30
Tablo 5. Kontrol grubu ile 1.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları	30
Tablo 6. Kontrol grubu ile 7.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları	30
Tablo 7. Kontrol grubu ile 30.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları	31
Tablo 8. 1.gün ile 7.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları	31
Tablo 9. 1.gün ile 30.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları	31
Tablo 10. 7.gün ile 30.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları	31
Tablo 11. Varyans Analizi	32
Tablo 12. Tukey Testi	32

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Radyasyon Türleri	4
Şekil 2. Elektromanyetik Radyasyon	6
Şekil 3. Bystander Etki	11
Şekil 4. Radyasyonun hücreler üzerine etki mekanizması	12
Şekil 5. Radyasyon Karsinogenezisi	15
Şekil 6. Endotelin-1'in Kimyasal Yapısı	16
Şekil 7. Endotelin-1 Sentezi	17
Şekil 8. Mesengial Hücrelerde ETRA ve ETRB Tarafından Oluşturulan Biyolojik etkiler	21
Şekil 9. Endotelinler , Reseptörleri ve Etkileri	23
Şekil 10. Kanserde ET-1 Etkileri	26
Şekil 11. Beyin Dokusu ET-1 Düzeyleri Gruplara Göre Dağılımı	32

KISALTMALAR LİSTESİ

BSE	: Bystnader Etki
Ca	: Kalsiyum
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ECE	: Endotelin Converting Enzim
ET	: Endotelin
ETRA	: Endotelin Reseptör A
ETRB	: Endotelin Reseptör B
İL	: İnterlökin
LET	: Lineer Enerji Transferi
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinaz
RBE	: Rölatif Biyolojik Etki
RNA	: Ribo Nükleik Asit
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör alfa

1. GİRİŞ

İyonize radyasyon geçtiği hücre ve dokulara enerjilerini aktarırlar ve iyonizasyon oluşur. İyonizasyon sonucu hücre içi moleküllerde hasar gelişir. DNA en önemli hedef moleküldür ve genetik hasarlar oluşur. Mutasyon adı verilen bu hasarlar tamir mekanizmaları ile düzeltilemez ise hücreyi ölüme götürür. Ancak hücre ölümü olmaz ise yıllar sonra kanser gelişir (1). Çok sayıda çalışmada açıkça radyasyona maruz kalma karsinogenez ile bağlantılı bulunmuştur (2). Radyoterapi, kan damarlarının kontraktıl elemanları ve endotel hücrelerinde hasarlanmaya sebep olur. İn vitro çalışmalarda, iyonize radyasyona maruz kalan insan endotel hücrelerinde Endotelin-1 gibi vazoaktif aminlerin üretimini arttırdığı gösterilmiştir (3).

Endotelinler, bilinen en güçlü vazokonstriktör moleküllerdir. 1988 yılında Yanagisawa ve arkadaşları tarafından domuz aorta endotelinden izole edilmiştir (4). Endotelinler endotelyal hücrelerin bazolateral kompartmanından üretilmektedir. Ayrıca makrofajlar, beyinde astrositler, kalp, böbrek, akciğer, dalak, pankreas tarafından da üretilmektedir (5). Endotelinler, 21 residü peptidten oluşan Endotelin-1 (ET-1), Endotelin-2 (ET-2) ve Endotelin-3(ET-3) ü içerir. Endotelinler vaskuler ve non vaskuler dokularda etkilerini iki reseptör aracılığı ile gösterir. Bu reseptörler, G protein bağlı reseptör ailesinden gelen Endotelin A reseptörleri ve Endotelin B reseptörleridir (6).

Endotelin-1 gelişim, hücresel proliferasyon, apoptozis ve kanser gibi biyolojik fonksiyonlarda önemli bir peptiddir (7). ET-1 prostat, over, kolon, serviks, meme, böbrek, akciğer, merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere birçok tümör tiplerinde ilgili bir büyüme faktörüdür ve bu tümörlerde plazma düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (8).

Bu çalışmada radyasyonun beyin tümör oluşumu ya da tümör derecesinin artışıdaki mekanizmasının ET-1 düzeyi ile ilişkisi incelendi.

1.1. Radyasyon

Radyasyon en yoğun çalışılan karsinojendir. Aynı zamanda tümör progresyonuna da neden olmaktadır (9).

Ayrıca radyasyon tıpta tanı ve tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Radyoterapi çoğu primer beyin tümörleri, metastatik beyin kanserlerinin tedavisinde başarı ile uygulanmaktadır. Fakat istenmeyen etkileri de göz ardı edilemez. Radyasyonun yan etkilerine neden olan çok sayıda faktör vardır, bunlar radyasyonun spesifik karakteristik özelliklerinin yanı sıra nonspesifik özellikleri de içerir (10).

1.1.1. Tanım

Maddenin temel yapısını atomlar meydana getirir. Atom ise, proton ve nötronlardan oluşan bir çekirdek ile bunun çevresinde dönmekte olan elektronlardan oluşmaktadır. Normal şartlarda atomların yapılarında bulunan elektronların sayısı çekirdekteki proton sayısına eşittir. Atom çekirdeğindeki pozitif yüklü protonlar ile çekirdek etrafındaki negatif yüklü elektronlar aynı değerdedir. Bu nedenle atomlar nötrdürler. Proton ve nötron oranı dengesiz olduğunda anstabil atom meydana gelmektedir. Anstabil atomlar çeşitli ışınlar yaparak stabil hale geçmeye çalışırlar. Tanım olarak radyasyon, elektromanyetik dalgalarla yayılan yüksek hızlı parçacıkların oluşturduğu bir enerji şeklidir (11).

Radyasyon doğal kaynaklardan elde edilebildiği gibi yapay olarak da elde edilmektedir (12).

Günümüzde canlıların maruz kaldığı radyasyonun en önemli kaynağı doğal kaynaklardır. Yaklaşık %80'ini oluşturur. Doğal radyasyonun bir kısmı uzaydan gelen kozmik ışınlardan kaynaklanır. Kozmik ışınların büyük bir kısmı atmosferde tutulur. Küçük bir kısmı yerküreye ulaşır. Doğal radyasyonun diğer bir kaynağı ise fosil yakıtlardır. Fosil yakıtlar kullanıldıklarında atmosfere radyasyon yayarlar. Sonrasında bu radyasyon toprağa karışarak radyasyon artışına sebep olurlar. İnsan vücudunda bulunan elementlerden dolayı da radyasyona maruziyet olmaktadır. Doğal radyasyonu artıran en önemli neden radyum elementinin bozunumu sırasında oluşan radon gazıdır. Radon gazı toprak yüzeyine doğru yükselir. Eğer bu yükselme sırasında konsantrasyonu düşmez ise akciğerlere geçici olarak yerleşip tüm

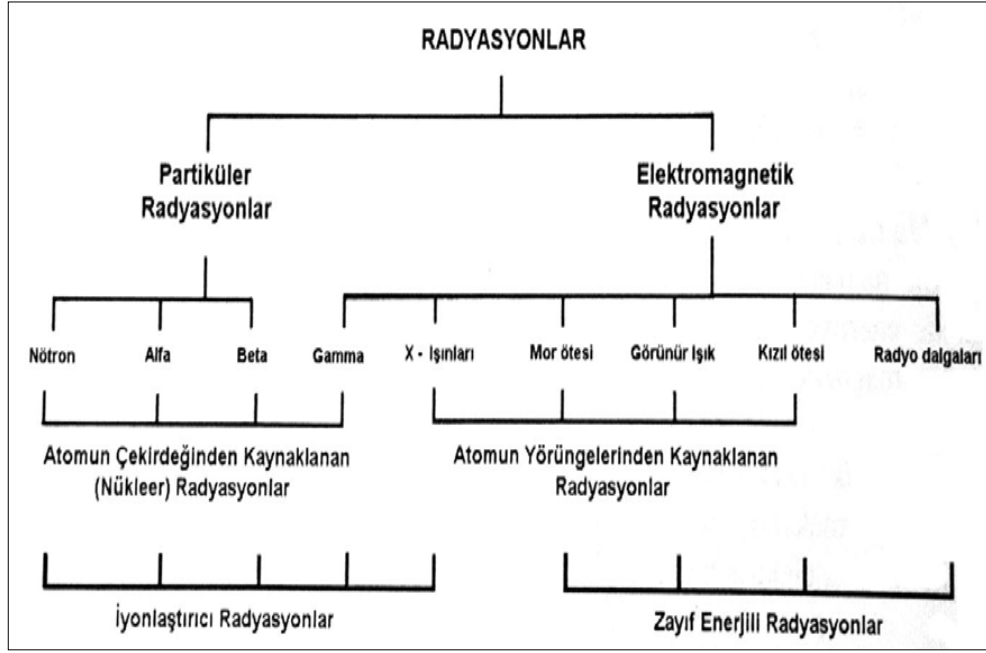
dokuların radyasyona maruziyetine neden olurlar. Radon gazı hariç diğer doğal radyasyonun sağlık üzerine zararlı etkisi olmaz (13).

Teknolojik gelişmelerin gereği olarak bazı radyasyon kaynaklarını yapay olarak elde edilmektedir. Yapay radyasyon kaynakları ile belli miktarda radyasyona maruziyete neden olmaktadır. Bu maruziyet doğal kaynaklara göre daha azdır. Ayrıca kontrol altına alınabilirler. Tıbbi ve endüstriyel amaçlı kullanılan x ışınları, nükleer bomba denemeleri sonucu oluşan serpintiler, nükleer güç üretimi sonrası oluşan radyoaktif maddeler yapay radyasyonu oluşturan etmenlerdir (14).

1.1.2.Radyasyon Türleri

Radyasyon etrafa yayılırken etraftaki atom ve moleküllerle çarpışır. Şayet radyasyon yeterli enerjiye sahip ise çarptığı atomdan bir elektronu kopartır ve atom iyonlaşır. İyonize radyasyon yüksek enerjili bir işlemdir.

İyonize radyasyon temel olarak iki tip enerji formu içerir. İlki partiküler radyasyon anstabil atomların parçalanması sonucu oluşur. Hem kütle hem enerji içerirler. İkincisi elektromanyetik radyasyon sadece enerji içerir, kütle içermez (Şekil 1). Radyasyon ister elektromanyetik olsun ister partiküler olsun geçtiği maddelere enerjilerini aktarır. Bu enerji, hücre ve doku içerisinde absorbe edildiğinde hücre ve dokuyu uyarırlar ve iyonizasyona neden olurlar. Elektronlar ve protonlar gibi yüklü parçacıklar direkt olarak iyonizasyona yol açarlar. Bunlar yeterli kinetik enerjileri sayesinde kimyasal bağları koparabilirler. Elektromanyetik ışınlar (X ve gamma) ve nötronlar ise indirekt olarak iyonizasyon yaparlar. Yani kendileri kimyasal bağları kırmamakla birlikte bu işi yapan yüksek kinetik enerjili, yüklü parçacıklar oluşturarak iyonizasyon yaparlar (15).



Şekil 1. Radyasyon Türleri

1.1.2.1. Partiküler Radyasyon

Alfa ışını, beta ışını ve nötrondan oluşur.

1.1.2.1.1. Alfa Işını (α)

İki proton ve 2 nötronun birleşmesinden oluşur ve yüksek hızda hareket ederler. Alfa ışınları uranyum ve plutonyum gibi ağır ve kararlı olmayan atomların bozunmasından kaynaklanır. Çekirdek, radyoaktif bozunma sonucu alfa ışını salar. Enerjileri 4-8 MeV arasındadır ve ana çekirdeğin kütlesi ile artar. Bu ışınlar yüksek yoğunluklu olmakla beraber delici değildirler ve cildi geçemezler (16).

1.1.2.1.2 Beta Işını (β)

Potasyum 40 gibi radyoaktif çekirdeklerden salınır. Proton ve nötron ihtiva etmez. Kütlesi elektronun kütlesine eşittir. Çekirdekten nötron fazlalılığı nedeniyle salındığında negatif yük taşırlar ve negatron adı verilir. Proton fazlalılığı nedeniyle salındığında pozitif yük taşır ve pozitron adı verilir. Beta ışınları α ışınları ile aynı enerjiye sahiptir. Fakat α ışınlarına göre daha hızlı ve daha penetrandırlar. Yoğun atom ağırlıklı maddelerde sekonder Breamstrahlung oluştururlar. Breamstrahlung

aslında elektromanyetik radyasyondur. Beta partikülü bir atomun çekirdeği yakınından geçerken hızla çekirdeğin pozitif çekim alanına doğru çekilir. Bu aslında negatif bir hızlanma olup, partikülün geliş doğrultusunu değiştirerek yavaşlatılması anlamına gelir. Bu olay sonucunda beta partikülünün enerjisi yavaşça azalarak kaybolur. Bu olayla aynı anda, kaybolan beta enerjisine karşılık X-ışınları salınımı olur (17).

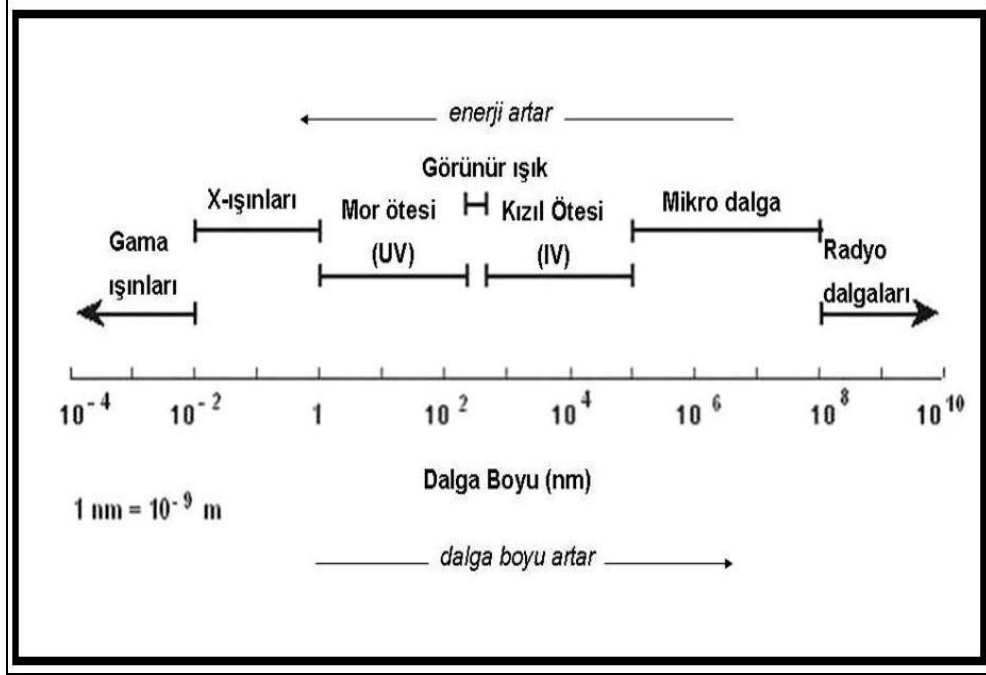
1.1.2.1.3. Nötron

Hafif elementlerin alfa ışını ile maruziyeti sonrası oluşur. Yüksüzdürler ve penetrandırlar, birkaç yolla çekirdekten yayılırlar. Dünya atmosferindeki yüksek enerjili kosmik radyasyon ile etkileşim, nükleer fizyon (bölünme) ve nükleer birleşme (füzyon)dir. Fizyon nötronları birkaç MeV enerjiye sahip iken füzyon nötronları yaklaşık 10 MeV enerjiye sahiptir. Alfa partikülleri gibi elektrik yüklü parçacıkların çarpışması sonucu da oluşabilirler. Radyografi ve radyoterapide kullanılırlar (18).

1.1.2.2. Elektromanyetik Radyasyon

Elektromanyetik radyasyon foton denilen enerji paketlerinin dalgalar şeklinde salınması olayıdır. Elektromanyetik dalgalar elektrik yüklü parçacıkların osilasyonu sonucu oluşur. Elektrik ve manyetik bileşenleri mevcuttur.

Bütün elektromanyetik dalgalar aynı hıza sahip oldukları için frekansları ile doğru, dalga boyları ile ters orantılı olan enerji seviyelerine göre bir spektruma sahiptirler. Frekans, bir saniyede oluşan döngü sayısıdır. Birimi Hertzdir. Elektromanyetik dalgalarda hız sabit olduğu için dalga boyu frekansla ters orantılıdır. Elektromanyetik spektrumda dalga boyu en yüksekten en düşüğe, ya da enerji seviyesi en düşükten en yükseğe aşağıda verilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Elektromanyetik Radyasyon

Spektrum içinde gama ışınları çekirdekten kaynaklanan radyasyona örnek iken, x ışınları ile kızıl ötesi ışınlar arasında kalan ışınlar atomun yörüngesinden oluşurlar. X ve gama ışınları iyonizasyona neden olurken diğer ışınlar iyonizasyona neden olmazlar.

1.1.2.2.1. X Işınları

Ortalama dalga boyları 5 pikometre ile 10 nano metre arasında değişen elektromanyetik radyasyon tipidir. X ışınları medikal amaçlı olarak kullanılırlar (18).

1.1.2.2.2. Gama Işınları (γ)

Subatomik parçacıkların reaksiyonları ile oluşur. Frekansı ve enerjisi yüksektir. Birçok radyoaktif atomlardan kaynaklanır (18).

1.1.3. Radyoaktivite Birimleri

İyonlaştırıcı radyasyonların tüm etkileri radyasyonun geçtiği ortamda meydana getirdiği iyonlaşmaya bağlıdır. Bu iyonlaşma da radyasyonun enerjisi, radyasyonun penetrasyon gücü, iyonizasyon yeteneği, fiziksel yarılanma süresi,

biyolojik yarılanma süresi, efektif yarılanma süresi ile yakından ilişkilidir. Radyoaktivite birimleri aktivitenin ölçülmesi amacıyla kullanılmaktadır. Uluslararası Birimler Sistemi International System of Unit (SI) 'nin kabul edilmesiyle, ICRU 1971 yılında SI birimlerini tanımlamıştır. Bu amaçla kullanılan eski ve yeni birimler aşağıda verilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Radyasyon Birimleri

	Eski birim	Yeni birim (SI)	Dönüşüm
Aktivite	Curie (Ci)	Becquerel(Bq)	1Bq= 2.7 10 ⁻¹¹ Ci
Absorbe Doz	Rad	Gray(Gy)	1 Gy= 100 rad
Eşdeğer ve Etkin Doz	Rem	Sievert(Sv)	1 Sv= 100 rem
Işınlanma	Roentgen(R)	Coulomb / kg (C/kg)	1 C / kg = 3.876 x10 ³ R

1.1.4. Radyasyonun Etkileri

İyonize radyasyon, vücut parçalarına ve fizyolojisine zarar verir. Farklı iyonize radyasyon tipleri doz/doz oranı üzerinden farklı kanser riski oluştururlar. Gama radyasyon gibi seyrek iyonize radyasyon genellikle doza lineer cevap oluştururlar. Bu direkt doz oranı etkisi olarak bilinir. Nötron ve alfa partikülleri gibi yoğun iyonize radyasyonda başlangıçta risk doz ile büyür sonunda platoya ulaşır veya azalmaya başlar. Bu ters doz etkisi olarak bilinir (19-21).

İyonlaştırıcı radyasyonların biyolojik sistemlerde oluşturduğu etkiler, radyasyonun cinsine göre farklılık gösterir ve iki temel değer olan LET (Lineer Enerji Transferi) ve RBE (Rölatif Biyolojik Etki)'ye bağlıdır (22).

Kanser insidansı, radyasyonun total dozu, doz aralığı ve kalitesi tarafından düzenlenir. İyonizan radyasyonun içinden geçtiği maddede takip ettiği yolun herbir birim uzunluğunda aktardığı enerji miktarına Linear enerji transferi (LET) adı verilir. Yüksek linear enerji transferli radyasyon, düşük linear transferli radyasyondan (x veya gama radyasyon) biyolojik olarak daha etkilidir (23).

Rölatif Biyolojik Etki; farklı tip radyasyonların aynı etkiyi oluşturması için gerekli dozlarının kıyaslanmasıdır. Buna bağlı olarak, alfa ışınları ve nötronların RBE değerleri X-ışını ve gama ışınlarından daha yüksektir (24, 25).

Radyasyonun canlı üzerinde oluşturduğu etkiler 4 aşamada incelenir. İlk basamakta enerji maddeye transfer edilir. Bu aşama fiziksel basamak olarak bilinir ve maddenin iyonizasyonuna neden olur. İlk aşama sonrası ortaya çıkan ürünler kararsızdır ve reaktif ürünlere neden olur. Bu aşama fiziko-kimyasal aşamadır.

3.aşama olan kimyasal aşama da reaktif ürünler hücresel yapılarla reaksiyona girer. Sonuçta serbest radikaller oluşur. Biyolojik basamak son aşama olup çeşitli hasarlara yol açan enzim reaksiyonları ile başlar. Bu arada DNA molekülünde hasarlar oluşur. Ancak bunların bir kısmı onarılabılır. Onarılamayan hasarlar ise hücre ölümüne yol açarlar (26).

İyonize radyasyonun hücrede oluşturduğu fiziko-kimyasal değişiklikler bir saniyeden daha az sürer. Buna karşılık biyolojik sonuçların ortaya çıkması için saatler, günler, aylar hatta yıllar geçmesi gerekebilir (27).

Radyasyonun sebep olduğu DNA lezyonları uzun zamandır bilinmektedir. Bu lezyonlar geniş spektrumludur (28). İyonize radyasyon hücre içi moleküllerde özellikle kromozomlarda kimyasal bağların kopmasına neden olurlar (29). Mutasyon olarak adlandırılan bu genetik hasarlar tamir mekanizmaları ile düzeltilmez ise hücreyi ölüme götürür. Ancak hücre ölümü olmaz ise yıllar sonra kansere neden olurlar (1).

İyonize radyasyon direkt olarak enerji absorpsiyonu tarafından indirekt olarak reaktif serbest radikaller tarafından oluşturulan çeşitli DNA hasarı meydana getirirler (30).

Radyasyonun biyolojik dokular üzerindeki etkileri somatik (bedensel) ve genetik etkiler olmak üzere başlıca 2 gruba ayrılmaktadır.

Radyasyonun hücrede oluşturduğu bu etkiler ve biyolojik değişiklikler saniyeler ile ifade edilen süresinden 20-30 yıla varan zaman aralığında gelişebilir. Bu etkiler; hücresel hareketlerde yavaşlama veya durma, büyümede gecikme veya durma, hücresel metabolizmada ve hücrenin bölünmesinde (mitoz çoğalmasında) anormalliklerdir (27).

Radyasyona tamamiyle dirençli hiçbir hücre yoktur. Radyasyonun hücre düzeyindeki en belirgin etkilerinden biri hücre bölünmesini baskılamasıdır. Mitoz sırasında irradе hücrelerde büyüme kesintiye uğrar. Hücre döngüsünün başlangıç evresi interfaz evresidir. İnterfaz G1, S ve G2 evrelerinden oluşur. G1'in geç bir noktasında bütün hücreler ya döngüden çıkarak bölünmenin olmadığı G0 evresine girer, ya da yeni bir döngü için DNA sentezini başlatarak S fazına girer. G0'a giren hücreler canlı ve metabolik olarak aktif kalırlar fakat çoğalmazlar. G1, S ve G2 evreleri tamamlandıktan sonra mitoz başlatılır. Hücreler G2 evresi ve mitoz

sırasında hücre ölümüne en duyarlıdır. Hücre döngüsünün interfaz evresine ait S ve G0 fazındaki hücrelerde radyasyona daha rezistandır. Radyasyon, hücre zarının çift tabakalı lipid yapısında ve zar protein moleküllerinde iyonizasyon ile molekülleri inaktive ederek transport mekanizmalarını bozar.

Dokuların radyasyona karşı cevapları farklıdır. Duyarlılıkları bakımından dokular, radyosensitiv (duyarlı), radyoresponsif (radyasyona cevap verebilen) ve radyorezistans (dirençli) olmak üzere üçe ayrılır. Çoğalma yeteneği yüksek hücrelerde radyasyona duyarlılık fazladır. Sindirim sistemi epiteli, deri gibi dokular radyasyona cevap verebilirken; kas, kemik ve sinir dokuları ise radyasyona karşı dirençli vücut dokularına örnektir (9).

Hücre radyasyona maruz kaldığında su molekülleri iyonlaşır. Pozitif yüklü su molekülü ile serbest elektron oluşur. Serbest elektron başka bir su molekülü ile birleşerek negatif yüklü su molekülü oluşturur. Pozitif ve negatif su molekülleri kararsızdırlar ve parçalanarak iyon ve serbest radikaller oluşturur (31).

Radyasyonun oluşturduğu hücre hasarların serbest radikaller aracılığı ile olduğu kanıtlanmıştır. Serbest radikaller dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektrona sahip elektriksel açıdan yüksüz atom ve moleküllerdir. Reaktif serbest radikaller süperoksit anyonu, hidroksi radikali, hidrojen peroksit gibi oksidanları içerir. Bu radikaller farklı redoks potansiyeline sahiptirler ve spesifik DNA hasarlarına neden olurlar (32). Bu hasarlar nükleotid baz defektleri, çapraz bağlar, DNA tek ve çift zincirinde kırılmaları içerir. Çift zincir kırılmaları kritik sitotoksik lezyonlardır ve gen mutasyonları ve kromozomal anomalilerin indüksiyonunda önemlidirler (28, 30). İyonize radyasyon direkt olarak mutasyonları, kromozomal sapmaları ve homolog rekombinasyonlara neden olurlar. Son yıllarda radyasyonun gecikmiş genomik instabiliteye sebep olduğuna dair kanıtlar vardır. Gecikmiş etkiler kromozomal düzenlemeler, sapmalar, mikronükleuslar, gen mutasyonları, mikrosatellit instabilitesi, ploidi değişikliklerini içerir (33).

İyonize radyasyonun karsinogenik potansiyeli 1895 yılında Röntgen'in X-ray'ı buluşundan sonra ortaya çıkmıştır. 1902de radyasyona bağlı ilk kanser ülseri deri bölgesinde rapor edilmiştir. Marie Curi ve kız kardeşi radyasyonun indüklediği lösemilerin komplikasyonlardan ölmüşlerdir (28).

Radyasyon karsinogenezi düşük doz radyasyonun en önemli somatik etkisidir. Doz ne kadar küçük olursa olsun kanser riski yok değildir. 0,1 Gy altında insan sağlığında biyolojik bozulmalar tespit edilmiştir. 0,1 ile 4 Gy arası Japon atom bombası araştırmalarında kanserlerde artış gözlenmiştir (9).

Radyasyon karsinogenezi dört evrede incelenir. Onkogen, süpressör gen ve/veya hücre tamiri enzimlerini kodlayan genlerin mutasyonu ile başlar (inisiasyon). Diğer hücre içi ve dışı faktörler mutasyonlu hücrelerin çoğalmasına neden olur (promotion). Preneoplastik hücrelerin neoplastik değişimi preneoplastik hücre kolonisindeki fazla sayıda gen mutasyonları ile yönetilir (konversiyon). Aynı hücrelerin proteaz, kollajenaz gibi enzimleri üretmesi ve kontakt inhibisyonun kalkması ile invazyon ve metastaz oluşur (progresyon) (34).

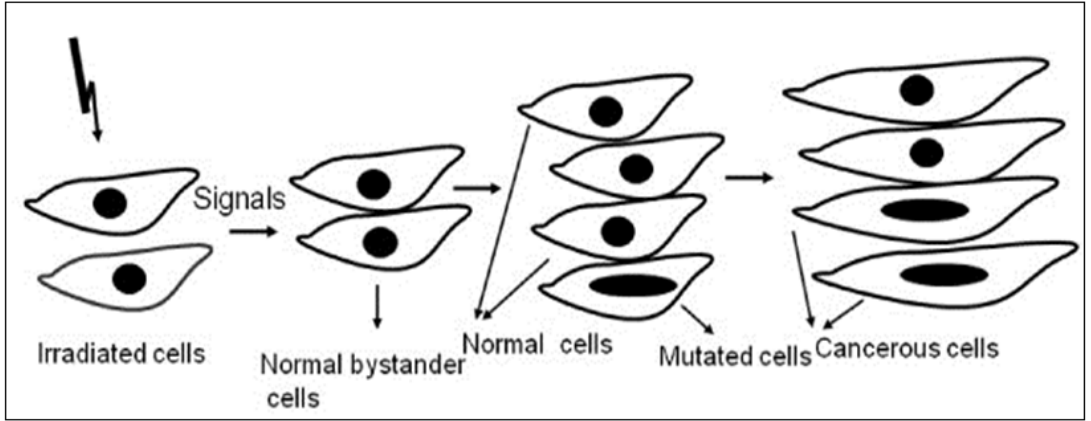
İyonize radyasyona bağlı karsinogeneziste sellüler genlerin etkili olduğuna ait kanıtlar vardır. Bu genler onkogenleri, tümör supressor genleri vb. içerir (Tablo 2). Son yıllarda radyasyon ile sellüler onkogenler arasındaki etkileşimi araştıran sayısız çalışmalar vardır. Bu çalışmalara ilk örnek radyasyona bağlı tümörlerde K-ras onkogenin aktive olduğunun gösterilmesidir. İyonize radyasyon için sadece K-Ras hedef onkogen değildir. Bunun yanında N-ras, H-ras ve non Ras onkogenlerde radyasyona bağlı karsinogeneziste önemlidirler (35).

Tablo 2. Proto Onkogenler

Proto Onkogenler		
Class 1	Growth factors	PDDGF- β chain (<i>sis</i>) and FGF-related growth factor (<i>hst</i>)
Class 2	Receptor and non-receptor protein tyrosine kinases (RPTK and NRPTK)	<i>src</i> (NRPTK) and <i>erbB</i> (RPTK)
Class 3	Receptors lacking protein kinase activity	Angiotensin receptor (<i>mas</i>)
Class 4	Membrane-associated G proteins	<i>Ras</i> family
Class 5	Cytoplasmic protein-serine kinases	<i>raf-1</i> and <i>mos</i>
Class 6	Cytoplasmic regulators	SH2/SH3 protein (<i>crk</i>)
Class 7	Nuclear transcription factors	<i>myc</i> , <i>myb</i> , <i>jun</i> , <i>fos</i>
Class 8	Cell survival factors	<i>bcl-2</i>
Class 9	Cell cycle genes	<i>PRAD1</i> (cyclin D1)

Radyasyon DNA tamir mekanizmalarını ve apoptozisi indükler. Minor hasarlar DNA tamir mekanizmaları ile giderilirken majör hasarlar programlanmış apoptotik hücre ölümü ile giderilir. Bu mekanizmaların bozulması sonucu hücre yaşlanması ve ölümü gecikir ve tümör hücreleri oluşur (17).

İyonize radyasyona maruz kalan hücreler indirek olarak komşu iyonize radyasyona maruz kalmayan hücreleri etkiler. Bu etki bystander etki (BSE) olarak bilinir (Şekil 3). Gap junction ve ya solubl moleküller tarafından sağlanır (17). Gap junctionlar hücreler arasında kontakt ve iletişim sağlayan küçük tübüllerden oluşan haberleşme kanallarıdır. Bu kanallar <1 kDa ağırlığında küçük moleküllerin bitişik hücreler arasında geçişini sağlayabilecek kadar özelleşmiştir (36).

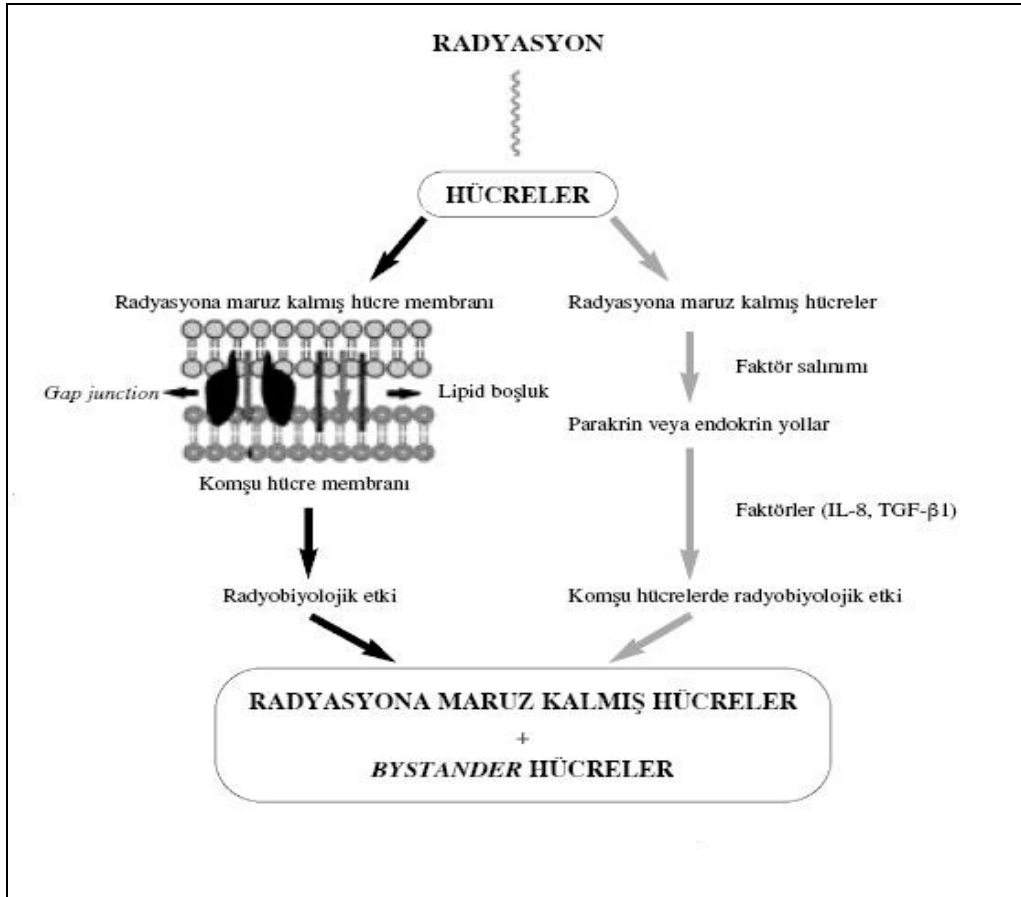


Şekil 3. Bystander Etki

Bir diğer hücreler arası kontakt iletişim mekanizması da lipid boşluklar aracılığıyla olan yoldur. Hücre zarında bulunan ve kolesterol ve sfingolipidlerden zengin olan bu lipid boşluklar yüzeyel hücre reseptörlerinden sinyal transdüksiyonunu da içine alan bir dizi hücresel olayların oluşumuyla ilişkilendirilmiştir. Giderek artan bir şekilde lipid boşlukların bystander etki bağımlı mutasyonlar ve kardeş kromozom değişimleri, mikronükleus oluşumu ile nitrik oksit (NO) oluşumunda rolü olduğuna dair bilgiler artmaktadır. Ayrıca BSE oluşumunda rol oynadığı bilinen NAD(P)H oksidaz ve konneksin proteinlerinin de bu boşluklarda yerleşmiş olması da bu bilgiyi destekler niteliktedir (37).

Radyasyona bağlı BSE, radyasyona maruz kalan hücrelerden salınan faktörlerin komşu hücrelere gap junctionlar aracılığıyla hücreler arası iletişim ile

etki etmesi ile görülebileceği gibi hücreler arası mesafeye salınan ve kısa mesafedeki komşu hücrelere etki eden (parakrin) veya kan yoluyla çevre veya uzak hücrelere etki eden (endokrin) mekanizmalara da bağlı olabilmektedir. Kan yoluyla taşınan bu faktörler “klastojenik faktörler” olarak anılır ve radyasyona maruz kalmamış hücre gruplarında kromozom hasarına sebebiyet verebilirler (Şekil 4). Bu mekanizmada savunulan hipotez, her ne kadar izole edilmiş kesin bir faktör olmasa da, radyasyon uygulanmış hücrelerin besi yerine birtakım faktörler salgıladığı ve bunların da bazı sinyal ileti yollarını aktifleyerek radyasyon uygulanmamış hücrelerde hücre ölümüne varabilen değişiklikler zincirini tetikleyebileceği yönündedir (38).



Şekil 4. Radyasyonun hücreler üzerine etki mekanizması

Bystander etki birçok hücre grubunda radyasyon türünden bağımsız olarak rapor edilmektedir. BSE, yüksek LET yapan alfa partikülleri ve düşük LET yapan γ -radyasyon tipinde görülebilmektedir (39).

Radyoterapiye bağlı Santral Sinir Sistemi toksisitesi nadir görülen ama ciddi bir komplikasyon olup, mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Santral sinir sisteminde 3 major hücre tipi bulunur. Bunlar nöronlar, glial hücreler ve vaskular endotelyal hücrelerdir. Vaskular endotelyal hücreler kan beyin bariyerini oluşturur. İyonlara, hidrofilik moleküllere ve çoğu proteine karşı geçimsizdir. Glial hücreler oligodendrosit, astrosit ve mikroglialara ayrılır. Oligodendrositler nöronların aksonlarının myelinizasyonu sağlar. Astrositler nöronal sinyalin geçişini sağlar ve kan beyin bariyerinin devamını sağlar. Mikroglialar fagositik özellikleri vardır ve inflamatuvar durumlarda aktive olurlar. Radyasyon hasarında esas hedef hücreler endotelyal ve glial hücreler olup, endotel hücre hasarı en çok üzerinde durulan mekanizmadır (40). Ancak bu esas hedefler astrosit, mikroglia, subependimal hücreler gibi diğer hücre tiplerinin cevabından önemli ölçüde etkilenir (41).

Radyasyon toksisitesine bağlı hasara bağlı klinik belirtiler ortaya çıkmadan önceki latent periyod sitokinler ve büyüme faktörlerinin hücre içi ve hücrelerarası iletişimi etkilediği zamandır. Endotelyal hücreler, oligodendrosit, astrosit ve mikroglialarca salınan büyüme faktörlerinin arasındaki etkileşme demyelinizasyonu başlatabilir (42). Radyasyon sonrası astrosit ve mikroglialardan TNF- α ve IL-1 (interlökin 1) salınımı olur (43). TNF- α oligodendrositlerin apoptosisine neden olduğu gibi progenitör hücrelerin oligodendrositlere dönüşümünü engeller (44). Ayrıca endotel hasarına neden olur (45). Fibrinoid yolakların aktivasyonu ve otoimmün vaskulit de üzerinde durulan diğer mekanizmalardır (46).

Santral sisteminde radyasyon yaralanması üç şekilde ortaya çıkar (41).

Akut dönem yaralanmada kan beyin bariyerinde bozulma ve sonuçta sekonder ödeme neden olur. Radyasyona maruziyet sonrası ilk birkaç gün içinde oluşur (47).

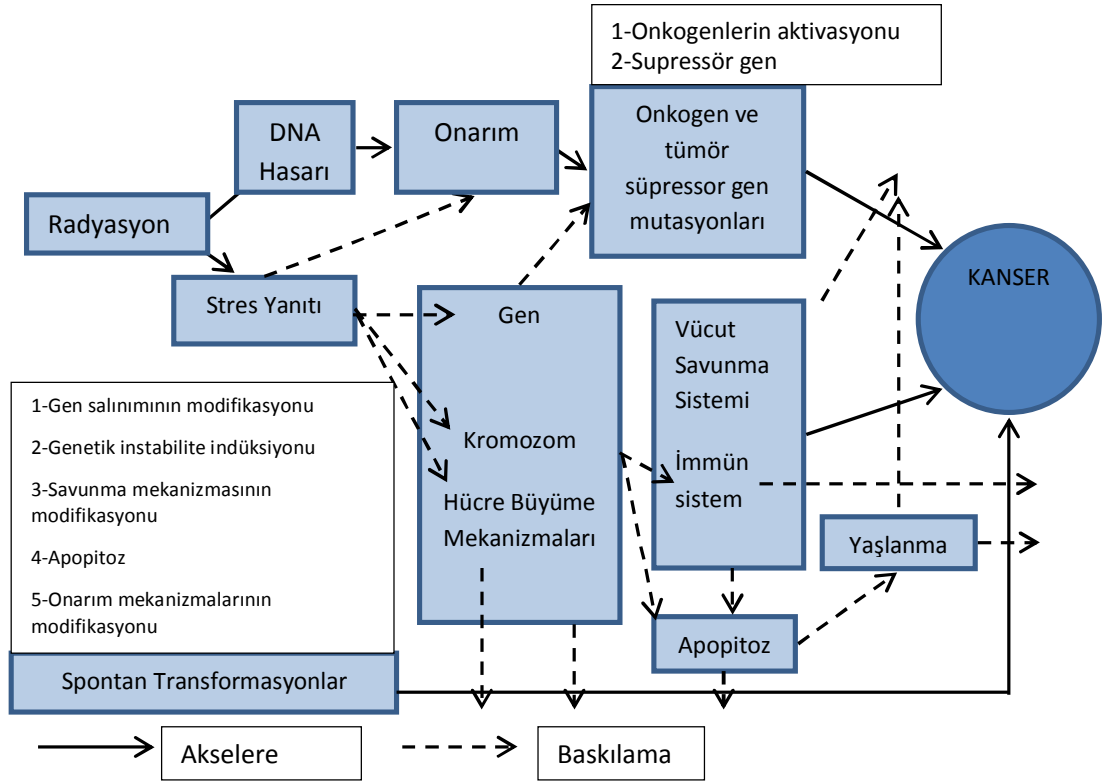
Kendi kendini sınırlayan subakut dönem yaralanma beyaz cevherde demiyelinizasyona bağlıdır ve muhtemelen oligodrogia hasarı oluşmaktadır. Semptomlar ilk birkaç hafta içinde gelişir. Bu durum özellikle spinal kordun

radyoterapisi sonrası görülür. İki dört aylık latent period sonrası boyun fleksiyonda iken bacaklarda pareteziler ortaya çıkar (48).

Geç dönem yaralanma geriye dönüşsüzdür ve klinik olarak önemlidir. Birkaç ay ve yıl içinde oluşur. Beyinde geç etkiler minör ya da şiddetli nörokognitif defisitler ve fokal nekrozu içerir. Spinal kordun radyasyon yaralanması kalıcı motor ve duyuşal defisitler ile birlikte dir. Özellikle üst servikal bölgede olan yaralanmalar öldürücü olabilirler (49).

Radyoterapi sonrası erken dönemde histopatolojik değişikler hücreşel ve moleküler düzeyde gözlenir. Radyasyona bağlı geç histopatolojik değişikler beyaz cevhere sınırlı glial atrofi, demyelinizasyon, nekroz ve gri ve beyaz cevherin her ikisinde değişik derecede vasküler değişikleri içerir. Glial atrofi düşük doz ve geç dönem sonrası gözlenmiştir (50).

Radyasyonun geç etkisine bağlı santral sinir sistemi damarlarındaki morfolojik değişikler damar duvarında kalınlaşma, damarlarda dilatasyon ve endotelyal hücre nukleuslarında büyümeyi içerir. Vasküler hasar iskemiye yol açar sonuçta beyaz cevher nekrozu oluşur (51).

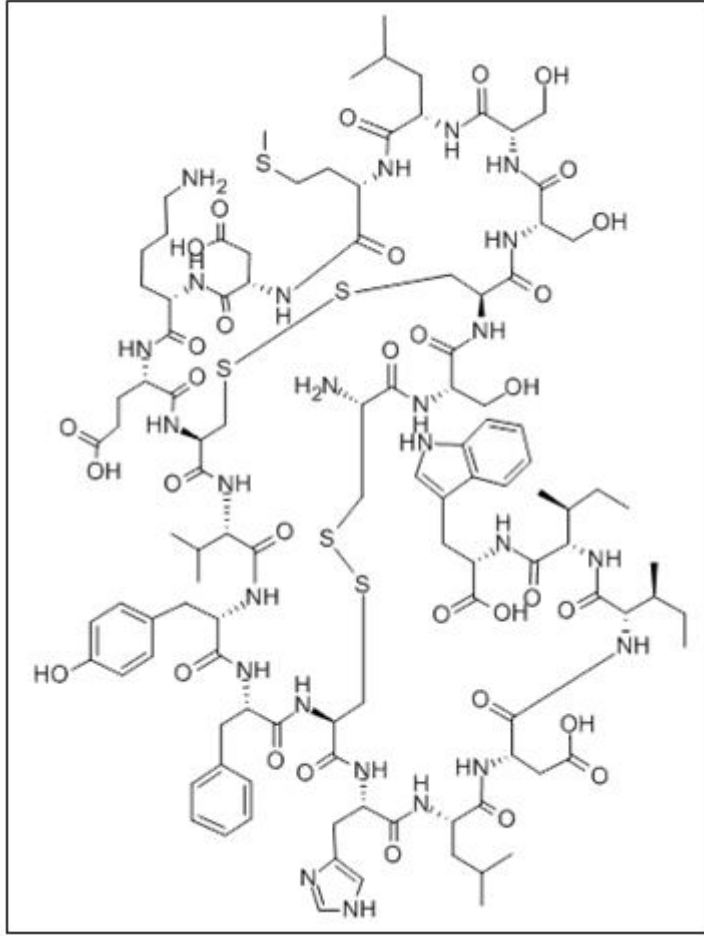


Şekil 5. Radyasyon Karsinogenezis

1.2. Endotelinler

Endotel kan damarlarının intimasında tek tabakalı hücre çizgisi şeklinde uzanır ve vasküler tonus, permeabilite, koagulasyon ve remodelingi kapsayan çeşitli fonksiyonları vardır. Endotel kanın plazma ve hücrel elemanları ile temas halindedir ve çoğu sitokin ve büyüme faktörü için hedeftirler (52).

Endotelinler (ET), bilinen en güçlü vazokonstriktör moleküllerdir. Endotelinler, biyokimyasal olarak 2 disülfid köprüsü içeren alfa helix yapısındadır (Şekil 6). 1988 yılında Yanagisawa ve arkadaşları tarafından domuz aorta endotelinden izole edilmiştir (4). Kimyasal yapıları, akrepler ve yılanlar tarafından yapılan ve bir nörotoksin olan sarafatoksinlere benzer. Endotelinler değişik organizmaların çeşitli hücre kültürlerinden elde edilmektedir (53). Endotelial hücrelerin bazolateral kompartmanından üretilmektedir. Ayrıca makrofajlar, beyinde astrositler, kalp, böbrek, akciğer, dalak, pankreas tarafından da üretilmektedir (5).



Şekil 6. Endotelin-1'in Kimyasal Yapısı

1.2.1. Sentez ve Salınım

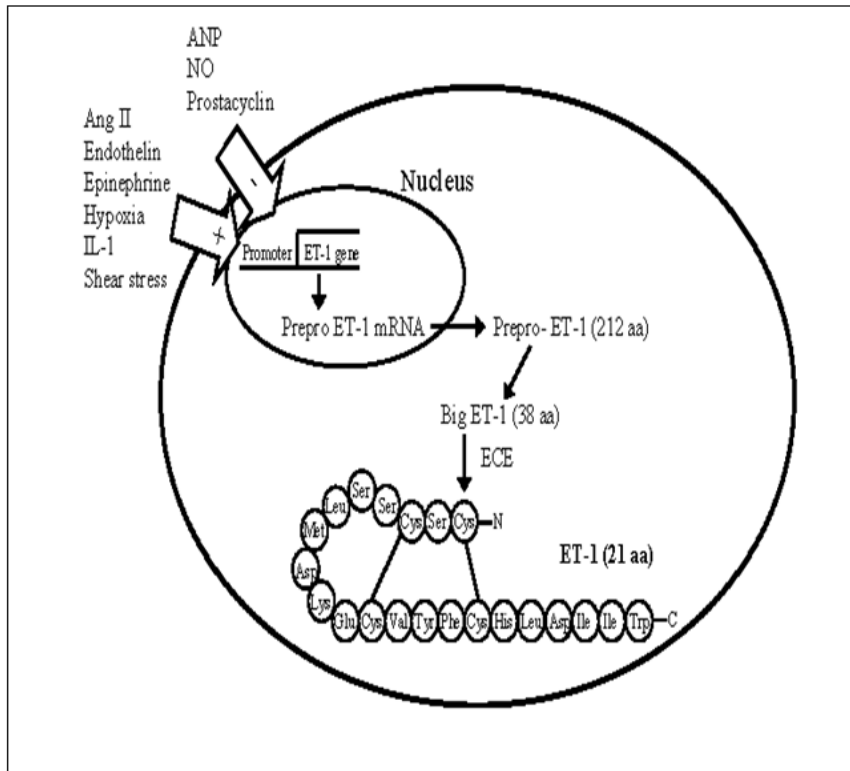
Endotelinler, 21 residü peptidten oluşan Endotelin-1 (ET-1), Endotelin-2 (ET-2) ve Endotelin-3 (ET-3)'ü içerir. Karboksil ucundaki 7. ve 11. aminoasitler ile amino ucundaki 1. ve 3. aminoasitler arasında iki tane zincir içi disülfid bağı vardır. İzofomlar arasındaki fark amino ucundadır (54). Her bir tip ayrı genler tarafından kodlanmakta ve post translasyonel işlem sonrası oluşmaktadır (55).

Endotelinler, proteolitik işlemler sonrası sentezlenir. ET-1 geni, ET-1 RNA'yı, ET-1 mRNA'da prekursor bir peptid olan 212 aminoasitli preproendotelini kodlar. Preproendotelin nötral endopeptidaz ile proendotelin-1 veya big ET-1'e dönüşür. Big ET-1, endotelin converting enzim (ECE) aracılığı ile 21 aminoasitten oluşan ET-1 dönüşmektedir. Endotelin converting enzim bir matriks metalloproteinazdır (6). 7 adet ECE izoformu vardır. Bunlar ECE-1a, 1b, 1c, 1d, 2a,

2b ve 3 tür. 3 adet ECE geni vardır. Bunlarda ECE-1, 2 ve 3 tür. ECE-1 ve ECE2 big ET-1'i tercih ederken, ECE-3 ET-3'ü tercih eder (56).

Endotelin-1 mRNA'nın kısa yarılanma ömrü ve ET-1'in sınırlı intrasellüler depolanma özelliği ile mRNA düzeyleri ve peptid sekresyonu arasında yakın ilişki vardır (57).

Endotelin-1 peptid salınımı gen transkripsiyonun regülasyonu, mRNA stabilizasyonu ve/veya ECE aktivitesinin regülasyonu ile kontrol edilmektedir (Şekil7). Primer kontrol gen transkripsiyonun regülasyonu ile sağlanmaktadır (58).



Şekil 7. Endotelin-1 Sentezi

Endotelinler, vasküler ve non vasküler dokularda etkilerini iki reseptör aracılığı ile gösterir. Bu reseptörler glikoproteinlerden oluşurlar. Endotelin A reseptörleri (ETRA) ve Endotelin B (ETRB) reseptörleri. Bütün canlılarda Endotelin reseptörleri 2 ayrı gen tarafından kontrol edilir. ETRA 427 aminoasitten oluşur ve 4.kromozom üzerinde lokalizedir (59). ETRB 442 aminoasitten oluşur ve 13.kromozomda lokalizedir. Endotelin reseptörleri hücre yüzeyinde bulunur.

Endotelin B reseptörleri her üç endoteline eşit affinite gösterir. Endotelin A reseptörü ise ET-1'e daha fazla affinite gösterir (60).

Endotelin reseptörlerinin çeşitli dokulardaki farklı dağılımı, endotelinlerin farklı etkilerin açığa çıkmasına neden olur. ETRA kalp, beyin, damar düz kas hücrelerinde sentezlenir. ETRB ise böbrekler, uterus, santral sinir sistemi ve endotel hücrelerinde daha yoğun bulunmaktadır (54).

Endotelin-1, G protein bağlı kendine özgü membran reseptörlerini aktive eder. Reseptörlerin aktivasyonu fosfolipaz C, protein kinaz C aktivasyonuna ve başlangıçtaki fosfoinozimid hidrolizine neden olur ve oluşan inositol trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol aracılığı ile etkisini oluşturur (61). IP3, hücreyi alkalize eder. Bunun sonucu olarak Na/H değişimi olur ve endoplazmik retikulumdan Ca⁺⁺ salıverilmesini artırır ve ET-1 daha sonra membran Ca⁺⁺kanallarını açarak ekstrasellüler Ca⁺⁺ un hücreye girişine neden olur. Ca⁺⁺ artışı, intrasellüler depolardan salınımın yanısıra dihidropiridinden bağımsız yollardan girişini de bağlıdır. Bunun sonucunda damarlarda yavaş gelişen fakat uzun süren bir vazokonstriksiyon meydana gelir (62). ET bilinen endojen vazokonstriktör maddelerin en güçlüsü olup, etki gücü Angiotensin II'den 10 kat daha fazladır. Böbrek damar yatağı bu maddeye karşı diğer damar yataklarına göre 10 kat daha duyarlıdır (63).

Endotel hücresinde endotelinlere ait sekretuar granüllerin bulunmayışı, bunların hücre içinde depo edilmediğini, çeşitli kimyasal ve mekanik uyarılara yanıt olarak hızla sentezlenip salındıklarını gösterir. ET-1'in sirkülasyondaki yarılanma ömrü 7 dakikadır. Başlıca böbrek ve karaciğerden elimine edilmektedir. Endotelin klirensi 2 yolla olmaktadır. Endotelin B aracılığı ile lizozomal degradation ve ekstrasellüler nötral endopeptidaz ile katabolizmadır (64).

Endotelin-1 üretimi çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından uyarılmaktadır. Bunlar interlökin-1 alfa(IL-1 α), tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), tümör growth faktör beta (TGF- β), epinefrin, norepinefrin, endotoksin, insülin, forbol ester, kalsiyum ve kalsiyum iyonoforları hipoksi, vazopressindir. İnhibitör faktörler nitrik oksit (NO), prostosiklin ve atrial natriüretik peptiddir. Atrial Natriüretik Peptid ve NO etkilerini siklik GMP üzerinden gösterirler (63).

1.2.2. Endotelinlerin Vücut Sistemleri Üzerine Etkisi

1.2.2.1. Pulmoner Sistem Üzerine Etkisi

Akciğer, endotelinin etkilerine en fazla cevap veren ve endotelin klirensinin en fazla olduğu organdır (61). Yüksek dozda pulmoner vazokonstriksiyon düşük dozda ise pulmoner vazodilatasyon yapar (65). Pulmoner sisteme diğer bir etkisi ise bronkospazmdır.

1.2.2.2. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi

Endotelinler primer olarak endotelden salınır ve parakrin etkisi olduğu düşünülür. Vasküler hastalıklarda makrofaj, lökosit, düz kas hücresi, mesengial hücreler, kardiyomiyosit tarafından üretilir ve otokrin etkilere sahiptir (66).

Vazokonstriktif ve mitojen etkileri vardır. Endotelinler sitokin ve vasküler endotelyal growth faktör, basic fibroblast growth faktör ve epiregulin gibi büyüme faktörlerinin yapımını uyarır. Ayrıca endotelinler extrasellüler matriks proteinlerini ve fibronektini indükler, transforming growth faktör $-\beta$ ve platelet derived growth faktör etkilerini potansiyelize eder. Dikkat çekici olarak ET-1 kan hücreleri ile etkileşime girerek nötrofil adezyonu ve platelet agregasyonunu stimüle eder. Etkilerini baskın olarak ETRA ile yapar (67).

Endotelinlerin damar üzerine etkisi damar tipine ve endotelin dozuna bağlıdır. Venler endotelinin etkisine arterlerden daha fazla duyarlıdır (61). Yüksek doz endotelinler önce vazodilatasyon ardından güçlü vazokonstriksiyona neden olur. Düşük dozda ise vazodilatasyon oluşur. Erken hipotansif period boyunca kardiyak indekste azalma gözlenmez. Hipertansif periodda periferik vasküler dirençte artma, bradikardi ve kardiyak indekste azalma gözlenir. İzole olarak miyokarda pozitif inotropik etki yapar. Bu etkilerini voltaja duyarlı kalsiyum kanalları aracılığı ile yapar. Endotelinler koroner arterlerde lokal vazokonstriksiyon yapar ve koroner kan akımını minimal azaltır (68).

1.2.2.3. Renal Sistem Üzerine Etkisi

Endotelinler renal fonksiyonların düzenlenmesinde önemlidirler. Renal dokuda bol miktarda reseptörleri bulunur ve endotelyal ve epitelyal hücrelerden

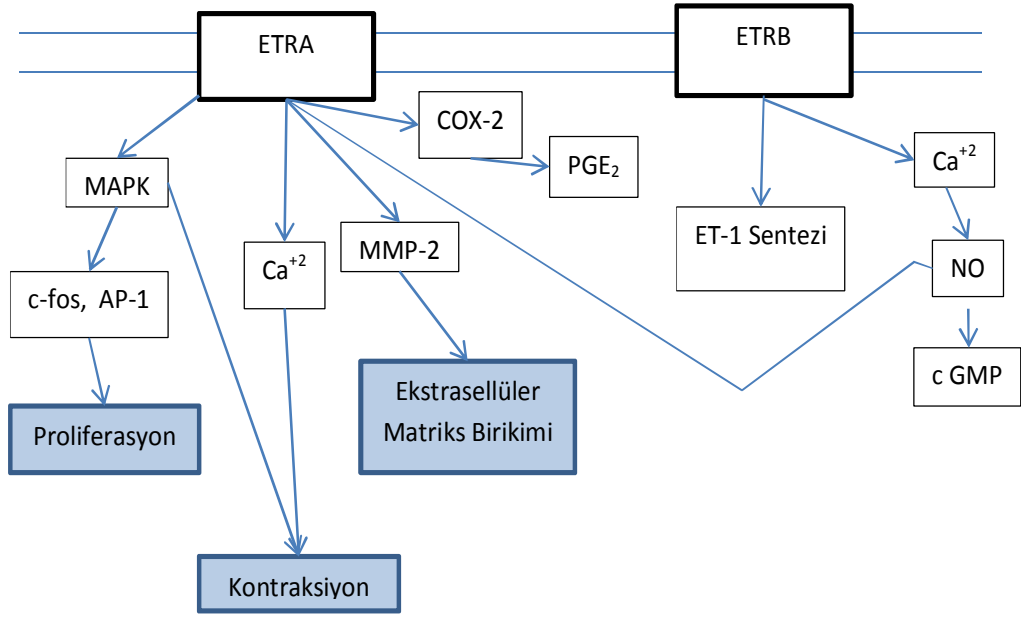
salınırlar. Böbrekte endotelinler böbrek kan akımı, glomeruler hemodinamik, su ve sodyum homeostazında parakrin-otokrin faktör fonksiyonu olabilir. Böbrek üzerine en belirgin etkileri böbrek kan akımını ve glomerüler filtrasyon hızını azaltmalarıdır. Bu etkisini afferent ve efferent arteriollerde oluşan vazokonstriksiyon ile yapar (69). ET-1, böbrekte proksimal tüp ve medullar toplayıcı kanallarda sodyum ve su dengesinin düzenlenmesinde de rol oynar. Sodyum tutulumunu artırır, idrar miktarını azaltır. Renin salınımını azaltırlar. Endotelin dolaşımdaki atrial natriüretik peptid düzeylerini etkiler. Köpeklerde atrial natriüretik peptid salınım ve dolaşan atrial natriüretik peptid düzeylerini in vitro olarak artırır (68).

Mesengial hücreler, ET-1'in böbrekte fizyoloji ve patofizyolojisinde merkezi role sahiptirler. Mesengial hücrelerden ET-1 salınımı çeşitli faktörlere bağlıdır. Reseptör aktivasyonu kompleks sinyal iletimine neden olur ve mesengial hücrelerde hipertrofi, proliferasyon, kontraksiyon, ekstrasellüler matriks birikimi olur (Şekil 8). Aşırı ET-1 yapım ve aktivasyonu olan hipertansiyon, diabet ve glomerulonefrit gibi patolojik glomerular hasar oluşur (58).

Mesengial hücrelerde hipertrofi ve proliferasyon ET-1'in direk ve indirek etkisine kısmen de diğer proliferasyon faktörlerine bağlıdır (70). Bu mitojenik etki primer olarak Endotelin A reseptörüne bağlıdır. Ancak kısmen de Endotelin B reseptörlerin aktivasyonu düşündürülen verilerde vardır (71). Mesengial hücrelerde ET-1 stimülasyonu birkaç yolla olmaktadır. Mitogen-activated protein kinaz (MAPK) kaskadı primerdir. ET-1 üç majör MAPK aktivitesini uyarır. Bunlar ERK1 ve ERK2, JNK/SAPK ve p38 MAPK2'dir (72,73).

Endotelin-1 Mesengial hücrelerin kontraksiyonunu kuvvetli olarak uyarır. Bu etki dihidropiridin duyarlı Ca^{++} kanallarından bağımsızdır ve ETRA aracılığı ile olmaktadır. Protein tirozin kinaz(Pyk2) mesengial hücre kontraksiyonunda kritik role sahiptir (74).

Endotelin-1 mesengial hücrelerde fibronektin, tip 1 ve tip 4 kollajen yapımını artırır. Primer olarak bu etkiler ETRA aracılığı ve proteinaz C(PKC)- β , - δ , - ϵ , α ve - ζ aktivasyonu sonucu olur.



Şekil 8. Mesangial Hücrelerde ETRA ve ETRB Tarafından Oluşturulan Biyolojik etkiler

1.2.2.4. Sinir Sistemi Üzerine Etkisi

Endotelinler çoğu dokuda bulunmasına rağmen beyin dokusunda sadece ET-1 ve ET-3 bulunur (75).

Santral sinir sistemi (SSS) boyunca heterojen bir dağılım gösterirler. SSSde hipotalamus, beyin sapında ve bazal ganglionlarda endotelin bağlayan bölgeler tanımlanmıştır ve kardiyovasküler fonksiyonları regüle ettiği bilinir. Nöronal dokularda ET-1 ve ET-3, beyin sapında ET-1, hipofiz bezinde ise ET-3 daha fazladır. ET-1 mRNA ve peptidi paraventricüler nucleus ve nervus vagus dorsal motor nucleusunda bulunur. ET-1 mRNA medulla oblongatada lokalizedir (76). ECE-1 benzer bölgelerde haritalandırılmıştır (77). ET-3 mRNA ve peptidi rostral beyin dokusunda bulunur (78). Ayrıca ET-1 mRNA ve peptidi koroid pleksusta bol miktarda bulunur ve beyin omurilik sıvısına girişini açıklar (77). SSSde ETRB yoğunluğu ETRA yoğunluğundan fazladır. Endotelin reseptörleri nöral hücre maturasyonu düzenler (79) ve çeşitli endotelin peptidleri ile schwann hücreleri (80), astrositler (81) ve nöral krest hücrelerini kapsayan hücre tiplerinin gelişimini

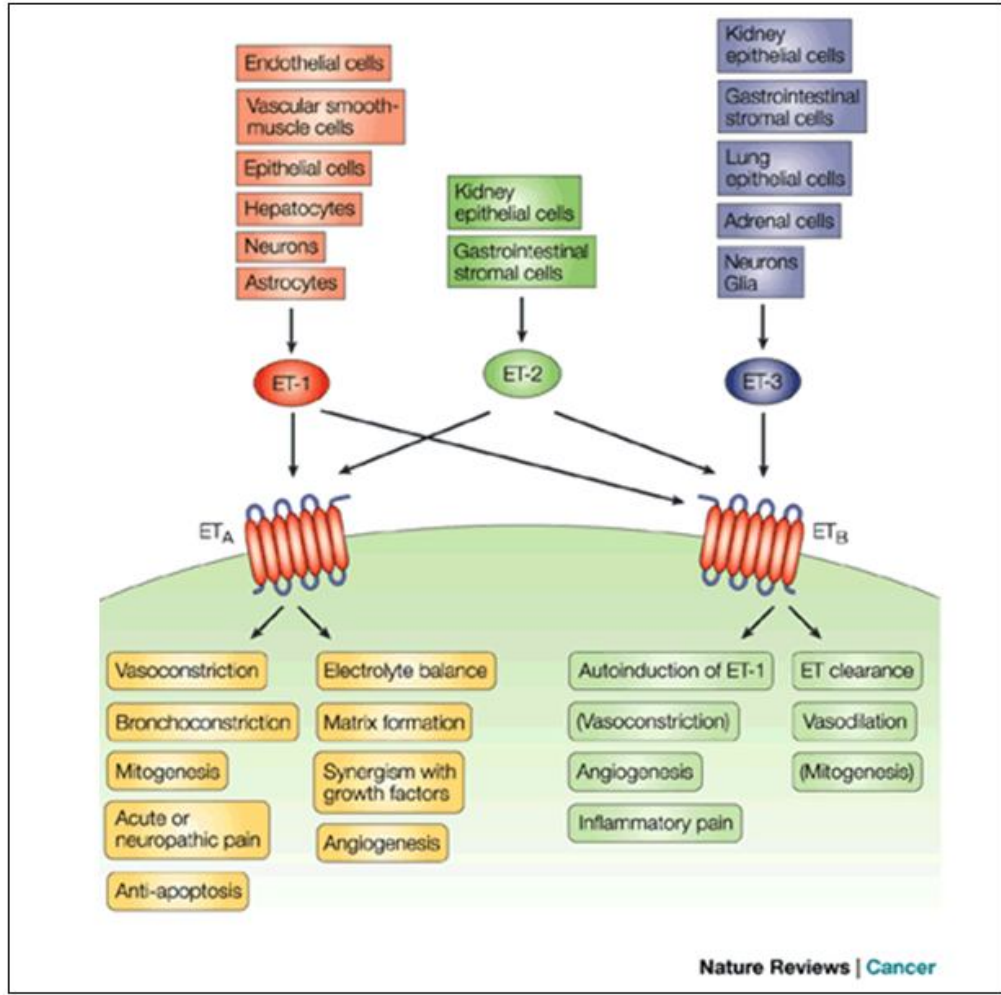
düzenler (82). Beynin çeşitli bölgelerinde düşük dozda vazodilatasyon, yüksek dozda ise vazokonstriksiyon yapar (83) .

Endotelinler sadece mikrovasküler endotelial hücrelerden sentezlenmez bunun yanında astrositlerden de sentezlenir. Astrositler SSSnin majör glial hücre tipidir. Nöronal destek hücreleri olması yanında nörotransmisyonun ve beyinde mikrovasküler kan akımının regülasyonunu kapsayan kritik fonksiyonları vardır. Endotelin sistemi glial hücrelerin fizyolojisi ve patolojisinde önemli rol oynar. Çünkü proliferasyon, diferansiyasyon ve iskemi, nörodejenerasyon sonrası astrositlerde endotelin sentezi artar (84). İstirahat döneminde astrositlerden düşük düzeyde endotelin komponentleri salınırken nörotravma, iskemi gibi patolojik durumlarda endotelin ve onların reseptörlerin salınımı büyük oranda artar. Geçici global iskemide 1-2 hafta içinde rat hipokampusunda astrosit proliferasyonu ve endotelin immunoreaktivitesinde artışa neden olur. İskemiye takiben beyinde endotelin upregulasyonu gösterilmesine rağmen altta yatan mekanizmanın etkileri tam anlaşılammıştır. Hipoksi, ET-1 salınımını hipoksi inducible faktör-1(HIF-1) aracılığı ile teşvik eder (85).

Astrositlerin anormal aktivasyonu ve veya proliferasyonu astrogliozisle sonuçlanır. Astroglioziste astrositlerin fonksiyon ve morfolojilerinde önemli değişiklikler vardır. Yaralanma bölgesinde astrositlerde hipertofi ve proliferasyon gelişir. Reaktif astrositler çeşitli intermediated filament proteinlerinin upregulasyonuna neden olurlar. Oluşan skar hasarı sınırlar. Reaktif gliozis, astrositlerden glutamat sızıntısı ile karakterizedir ve nöronların ekzotoksik hücre ölümünü güçlendirir. Endotelinler gibi birkaç endojen ajan astrogliozisin muhtemel mediatörleridir (86).

Diğer taraftan da peritümoral reaktif astrositlerde artmış endotelin immunoreaktivitesi gösterilmiştir (87).

Endotelinler, reseptörleri ve etkileri genel olarak aşağıdaki gösterilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. Endotelinler , Reseptörleri ve Etkileri

1.2.3. Endotelin ve Kanser

Endotelin-1 gelişim, hücresel proliferasyon, apoptozis ve kanser gibi biyolojik fonksiyonlarda önemli bir peptiddir (7).

Kanser dokusu çeşitli tiplerde hücreler içerir. Bunlar kanser hücreleri ve kanserle ilişkili hücrelerdir (fibroblast, makrofaj ve endotel hücreleri). Kanser hücreleri ve diğer hücrelerin aşırı miktarda ET-1 ekspres ettikleri gösterilmiştir. ET-1'in kanserle ilişkili otokrin ve parakrin etkileri; proliferasyon, apoptoza direnç, göç ve invazyondur. ET-1 aynı zamanda anjiyogenez, hücre dışı matriks yıkımı ve makrofajların bölgeye çağırılmasına da katkıda bulunur (88). ETRA aktivasyonu, hücre büyümesi, anjiyogenez ve invazyonu artırırken apoptozu azaltır. ETRB ise apoptozu artırarak tümör büyümesini azaltır (89).

1.2.3.1. Endotelin ve Tümör Hücre Proliferasyonu

Endotelin-1, vasküler düz kas, osteoblastlar, glomerular mesangial hücreler, fibroblastlar ve melanositler de dahil, birkaç hücrede DNA sentezi ve hücre proliferasyonu uyarır. ET-1 prostat, servikal, ovariyen kanser hücreleri de dahil farklı hücre türleri için bir mitojendir (90).

Endotelin-1 invitro olarak birkaç epitelial tümörde mitojenik etkilerini ETRA aracılığı ile yaptığı gösterilmiştir (91). Non epitelial tümörlerde mitojenik etkiler ETRA bağlı olmadığı ortaya çıkmıştır. İnsan melanoma hücre çalışmalarında ET-1'in mitojenik etkilerinin ETRB'ye bağlı olduğu gösterilmiştir (92).

Endotelin-1'in mitojenik etkisi, epidermal büyüme faktörler (EGF), temel fibroblast büyüme faktör (bFGF), insulin, insulin-benzer büyüme faktörler (IGF), platelet-türenmiş büyüme faktörler (PDGF), transformasyon büyüme faktörler (TGF) ve interlökin-6 (IL-6) da dahil, başka büyüme faktörlerle sinerjik etkileşme tarafından güçlendirebilir (93).

1.2.3.2. Endotelin ve Tümör Neovaskularizasyonu

Neoplazinin büyümesi ve metastaz geliştirmesi uygun damar kaynağının varlığına bağlıdır, buna anjiyogenez denir. Proçes, kapilleri çevreleyen bazal membran bölgesel hasarlanmasıyla başlar. Anjiyogenik uyarıcı sonucu endotel hücrelerini yayılmaya başlayan hücreler arası stroma çevreler. Endotel hücre göçü sonrası proliferasyona uğrayarak, perisitler, damar düz kas hücreleri gibi destek yapılarla üç boyutlu yeni damar ağı oluşumuna katkıda bulunurlar (94).

Anjiyogenik mediyatörler bir denge halindedir. Anjiyogenez, doku mikroçevresindeki proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörlerin dengesindeki değişimle aktive olur. Buna "anjiyogenik dönüşüm" denir. Tümör çapı 0.5 mm'den küçükse ya da hacmi 1-2 mm³'den azsa, oksijen ve besin maddelerini difüzyon yoluyla sağlayabilir. Ancak tümör çapı 0.5 mm ya da hacmi 1-2 mm³ üzerine çıktığında, damar endotel hücrelerinin proliferasyonuna ihtiyaç duyulur (94).

Endotelial hücreler için mitojen olan endotelinler, vasküler düz kaslar, fibroblastlar ve perisitlerde anjiyogenik faktörlerdir. Endotelial hücre mitogenez endotelin B reseptörleri tarafından yönlendirilir fakat vasküler düz kas hücreler ve

perisitlerde mitogenez çoğunlukla ya da sadece endotelin A reseptörleri tarafından yönetilir (95).

Endotelin-1, endotelial hücre proliferasyon, migrasyon, invazyon, proteaz üretimi, tüp formasyon ve in vivo uyarılmış neovaskülerizasyon de dahil, farklı nörovaskülerizasyonu module eder (95).

Endotelin, over karsinomunda mikrodamar yoğunluğu ve vasküler endotelial growth faktor (VEGF) ile ilişkili olarak endotelin ve reseptörlerini artırır. VEGF'nin upregülasyonu hipoksi ile indüklenebilir faktor 1 alfa (HIF-1 α) ile ilişkili olabilir. ET-1, HIF-1 α aracılıyla VEGF üretimini destekler ve bu mekanizma artan tümör angiogenezisinden sorumlu olabilir (8).

1.2.3.3. ET-1 ve apoptoz

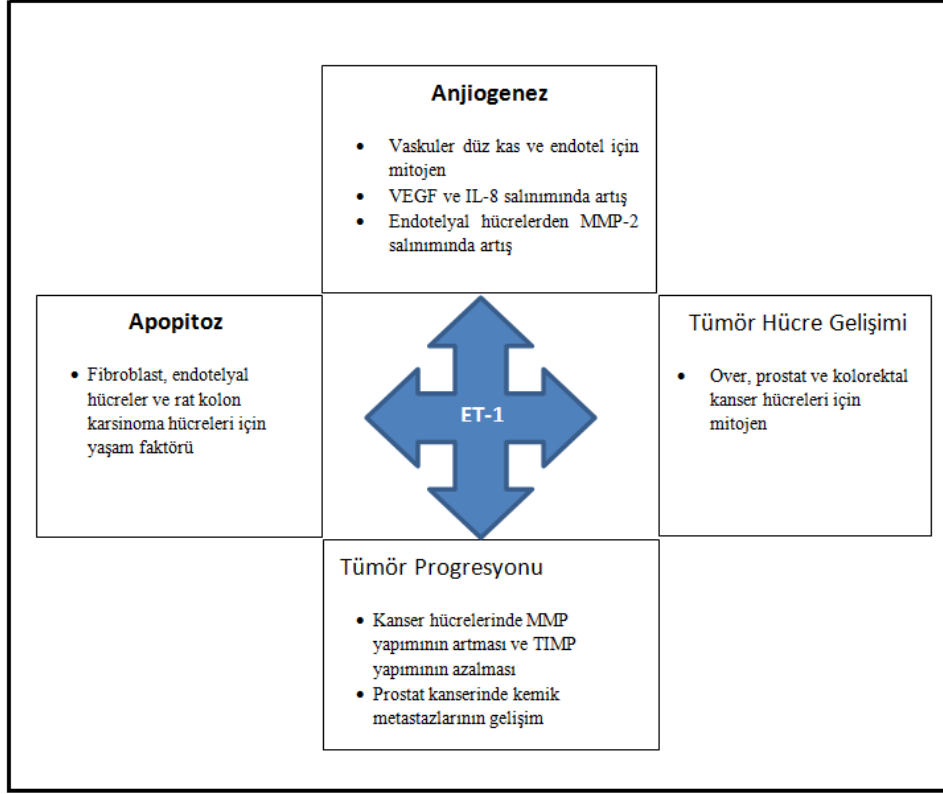
Endotelin-1 farklı hücre türlerinde antiapoptotik bir faktördür ve hücre yaşam yollarını modüle eder. Invitro olarak ET-1 insan endotel ve rat fibroblast hücrelerini apoptozdan koruduğu gösterilmiştir (96). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ET-1'in rat kolon kanseri hücreleri için yaşam faktörü olduğu ve FasL ilişkili apoptozu önlediği gösterilmiştir (97). Over kanser hücrelerinde, ET-1 eklenmesi, paklitaksel-endüklenmiş apoptozu konsantrasyona bağlı bir tarzda önemli derecede engeller (7).

1.2.3.4. ET-1 ve tümör progresyonu/metastaz

Endotelin-1 'in tümör invazyon ve metastazı da etkilediği hakkında artan kanıtlar vardır. Over kanserli hastaların asit sıvılarında yüksek seviyede ET-1 bulunmuştur. Bu yükseklik asit sıvısındaki VEGF yüksekliği ile koreledir (7). Son çalışmalarda insan over karsinoma hücre çizgilerinde ET-1'in birkaç matriks metalloproteinaz (MMP), özellikle MMP-2 ve MMP-9 düzenleyebildiğini ve matriks metalloproteinazın doku inhibitörlerini (TIMP1- ve 2) downregülasyon edebildiği gösterilmiştir (6).

Endotelin-1 prostat kanserinden kemik metastazlarının gelişimini düzenler. İnsan prostat kanser hücrelerinin kemikle teması ET-1de artışa neden olur (98). Ayrıca kolorektal karaciğer metastazların içindeki endotelial hücreler metastaz

etrafındaki damarlarla karşılaştırıldığında immunoreaktif olarak ET-1 yüksekliği gösterilmiştir (99).



Şekil 10. Kanserde ET-1 Etkileri

Yapılan çalışmalarda ET-1'in tümörgenezisi, tümör progresyonu ve metastazlarda önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür. Tümörgenezis, vasküler desteğe bağımlıdır. Vasküler destek konak sirkülasyonundan sağlanır ve tümörün metastatik potansiyeli ile pozitif korelasyon gösterir. İyonize radyasyon muhtemelen en yoğun çalışılan karsinojendir. İn vitro çalışmalarda, iyonize radyasyona maruz kalan insan endotel hücrelerinde endotelin-1 gibi vazoaktif aminlerin üretiminin arttığı gösterilmiştir. Radyasyonunda primer tümör oluşturmasına ilaveten düşük dereceli glial tümörün daha yüksek dereceli glial tümörlere dönüşümünde etkisi bilinmektedir. Bu deneysel çalışmada radyasyonun ratlarda erken ve geç dönemde beyin dokusunda Endotelin-1 düzeyi üzerine etkisini araştırdık ve tümör gelişiminde ve progresyonunda etkisini tartıştık. Elde edeceğimiz sonuçlar radyasyonun bu dönüşümdeki rolünün fizyopatolojisinin anlaşılmasında ve ET-1 düzeyi ile ilişkili olup olmadığı tartışmalarına önemli katkı sağlayacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ile birlikte yapıldı ve çalışmanın etik onayı, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan alındı.

2.1. Deneysel Hayvanları

Deneysel hayvanlarda kullanılan en az 4-6 haftalık 28 adet erişkin Sprague Dawley ratlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Hayvanlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi (FÜDAM) Hayvan Laboratuvarı'nda buldukları ortamın sıcaklığı 22-25 °C arasında sabit tutularak ve hayvanlar 12 saat ışık altında ve 12 saat karanlıkta takip edildi. Ratlar havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler özel çelik kaplarda, su da paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deneysel hayvanları Elazığ Yem Fabrikası'nda özel olarak hazırlanan pelletler halindeki fare yemleriyle beslendi. Farelere verilen yemin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 3'de belirtilmiştir. Farelerin deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Tablo 3. Deneysel hayvanlarına verilen fare yeminin içeriği

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%) *	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6

*1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0.006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0.32 mg Folic acid, 0.02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0.06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.

**% 18 fosfor, %25 kalsiyum, %0,2 flor'dan oluşur.

Bütün deneyler kurumsal inceleme kurulu tarafından onaylanmış ve hayvan rahatsızlığı en aza indirmek için yerel yönetmeliklere uygun olarak gerçekleştirildi.

2.2.Radyasyonun Verilmesi

Ratlara, Malatya İnönü Üniversitesi Radyasyon Onkolojisi Bölümünde Electa- Precise Lineer akselatör cihazı kullanılarak Kranial bölgeye 7 Gy radyasyon verildi.

2.3.Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneysel çalışmalar, toplam 28 adet rat üzerinde gerçekleştirildi. Ratlar kontrol grup, 1.gün (1.grup), 7.gün (2.grup) ve 30.gün (3.grup) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (n=7): Deney süresince radyasyon verilmedi. Deney süresi sonunda dekapitize edildi.

1. Grup (n=7) 1.gün grubu: Radyasyon verilmesini takiben 1.günde dekapitize edilip beyin dokuları alındı

2. Grup (n=7) 7.gün grubu: Radyasyon verilmesini takiben 7.günde dekapitize edilip beyin dokuları alındı.

3. Grup (n=7) 30.gün grubu: Radyasyon verilmesini takiben 30.günde dekapitize edilip beyin dokuları alındı

2.4. Örneklerin Alınması

Tüm gruplardaki ratlar deney sonunda tartıldıktan sonra, ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p. uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından ratların beyin dokuları hızla çıkarıldı. Çıkarılan beyin dokuları biyokimyasal çalışma için -80C^o’de saklandı.

2.5. Biyokimyasal Yöntem

Alınan doku örnekleri %0.9’luk NaCl ile yıkanıp spanç üzerinde kurutulduktan sonra antiproteaz içeren (5 µg/ml aprotinin) PBS’de homojenize edildi (1:9; w/v). Buz üzerinde gerçekleştirilen homojenizasyonu takiben doku örnekleri santrifuj (10 dakika, 4000 rpm de 4°C) edilerek elde edilen süpernatantlarda Rat Endothelin-1 (Endothelin-1 EIA kit, ENZO, Lorrach Germany, Lot: 02011160A) ticari kitleri kullanılarak kit içeriğine uygun olarak Endotelin-1 düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçüldü.

Elde edilen doku ET-1 değerleri, ”pg/gr doku” cinsinden değerlendirildi.

2.6.Verilerin İstatistiksel Analizi

İstatiksel incelemede SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmada varyans analizi ve Tukey HSD testi uygulandı. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Bu çalışma 4 grup 28 rat üzerinde yapılmış ve elde edilen beyin doku endotelin düzeyleri Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Beyin doku endotelin düzeyleri

	Doku Endoteli (pg/gr doku)		Doku Endotelin (pg/gr doku)
Kontrol 1	309,2593	2. Grup 1	226,2494
2	212,3958	2	282,3308
3	254,5194	3	263,4241
4	894,5106	4	312,9596
5	227,3363	5	271,4408
6	498,3238	6	172,4282
7	249,0569	7	202,5017
1. Grup 1	275,2247	3. Grup 1	219,7616
2	235,3527	2	194,6772
3	273,6863	3	296,6531
4	203,9712	4	247,283
5	362,5609	5	304,1107
6	243,14	6	189,9819
7	168,2352	7	465,3098

Tablo 5. Kontrol grubu ile 1.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları

	Kontrol (N=7) (Ortalama±SD)	1.gün deneysel (N=7) (Ortalama±SD ¹)	P
Doku	377.915±247,650	251,738±61,795	0,215 ^{ns}

^{ns}p>0.05; ¹SD: Standart Sapma

Tablo 5'de yapılan t testi sonuçlarında kontrol grubu ile 1.gün deneysel grup arasında Doku Endotelin (pg/gr doku) düzeyleri bakımından p değeri 0,05den büyük olduğu için istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 6. Kontrol grubu ile 7.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları

	Kontrol (N=7) (Ortalama±SD)	7.gün deneysel (N=7) (Ortalama±SD ¹)	P
Doku	377.915±247,650	247,334±49,052	0,196 ^{ns}

^{ns}p>0.05; ¹SD: Standart Sapma

Tablo 6'da yapılan t testi sonuçlarında kontrol grubu ile 7.gün deneysel grup arasında Doku Endotelin (pg/gr doku) düzeyleri bakımından p değeri 0,05den büyük olduğu için istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 7. Kontrol grubu ile 30.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları

	Kontrol (N=7) (Ortalama±SD)	30.gün deneysel (N=7) (Ortalama±SD)¹	P
Doku	377.915±247,650	273,968±95,765	0,321 ^{ns}

^{ns}p>0.05; ¹SD: Standart Sapma

Tablo 7’de yapılan t testi sonuçlarında kontrol grubu ile 30.gün deneysel grup arasında Doku Endotelin (pg/gr doku) düzeyleri bakımından p değeri 0,05den büyük olduğu için istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 8. 1.gün ile 7.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları

	1.gün (N=7) (Ortalama±SD)	7.gün deneysel (N=7) (Ortalama±SD)¹	P
Doku	251,738±61,795	247,334±49,052	0,885 ^{ns}

^{ns}p>0.05; ¹SD: Standart Sapma

Tablo 8 ‘de yapılan t testi sonuçlarında 1.gün ile 7.gün deneysel grup arasında Doku Endotelin (pg/gr doku) düzeyleri bakımından p değeri 0,05den büyük olduğu için istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır

Tablo 9. 1.gün ile 30.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları

	1.gün (N=7) (Ortalama±SD)	30.gün deneysel (N=7) (Ortalama±SD)¹	P
Doku	251,738±61,795	273,968±95,765	0,615 ^{ns}

^{ns}p>0.05; ¹SD: Standart Sapma

Tablo 9’da yapılan t testi sonuçlarında 1.gün ile 30.gün deneysel grup arasında Doku Endotelin (pg/gr doku) düzeyleri bakımından p değeri 0,05den büyük olduğu için istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 10. 7.gün ile 30.gün deneysel gruplar için t Testi sonuçları

	7.gün (N=7) (Ortalama±SD)	30.gün deneysel (N=7) (Ortalama±SD)¹	P
Doku	247,334±49,052	273,968±95,765	0,525 ^{ns}

^{ns}p>0.05; ¹SD: Standart Sapma

Tablo 10’da yapılan t testi sonuçlarında 7.gün ile 30.gün deneysel grup arasında Doku Endotelin (pg/gr doku) düzeyleri bakımından p değeri 0,05den büyük olduğu için istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 11. Varyans Analizi

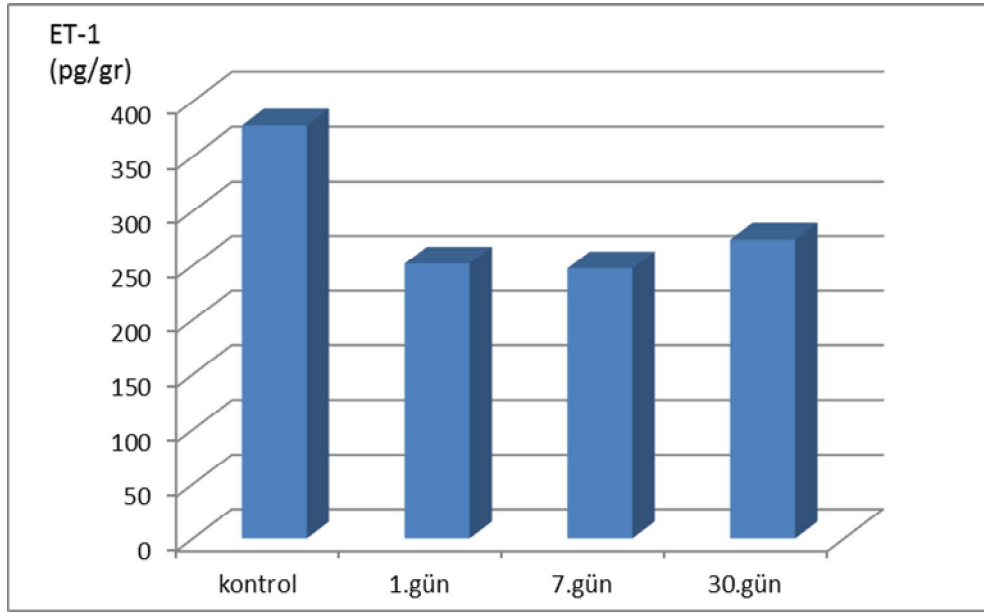
	Kareler Toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplara arası	78749,268	3	26249,756	1,368	0,276
Gruplar içi	460359,088	24	19181,629		
Genel	539108,356	27			

Yapılan varyans analiz sonucunda gruplar arası (günler) arasında farklılık $p>0,05$ 'e göre önemsizdir.

Tablo 12. Tukey Testi

	KONTROL (N=7) (Ortalama±SD)	1.gün (N=7) (Ortalama±SD)	7.gün (N=7) (Ortalama±SD)	30.gün (N=7) (Ortalama±SD)
Doku	377,915±247,65 ^{ns}	251,739±61,795 ^{ns}	247,334±49,052 ^{ns}	273,739±95,765 ^{ns}

Yapılan varyans analiz sonucunda gruplar arası (günler) arasında farklılık $p>0,05$ 'e göre önemsizdir.



Şekil 11. Beyin Dokusu ET-1 Düzeyleri Gruplara Göre Dağılımı

4. TARTIŞMA

Radyasyon, hedef hücre ve organ tipine bağlı olarak moleküler ve hücrenel hasarlar oluşturarak dokuların fonksiyonlarını bozar ve çeşitli sitokinler ortaya çıkar. Bu etkiler radyasyonun dozuna, sıklığına, süresine, maruz kalan alanın hacmine bağlıdır.

İyonize edici radyasyona en hassas hücreler hızlı bölünen ve mitotik fazdaki hücrelerdir. Hücre çoğalması, hücre göçü ve hücre farklılaşmasının yoğun olduğu embriyo ve fetüsteki hücreler en hassas hücrelerdir (99).

Normal ve neoplastik dokulardaki kan damarları da radyasyon için önemli bir hedefdir. Erken ve geç radyasyon etkileri ile vasküler yaralanma olur. Endotelial hücreler damar duvarının anahtar hücreleridir ve vasküler ağacın bütün düzeylerinde bulunur ve vasküler fonksiyonlar için esastır. İnsan umbilical ven endotelial hücre (HUVEC), kapiller endotelial hücre ve bovin aortik hücreler gibi çeşitli endotelial hücreler üzerinde radyasyonun etkilerini araştıran çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda dozlar 1 Gy'dan küçük olduğu gibi 60 Gy'a kadar dozlar uygulanmıştır. İn vitro çalışmalarda 100-200 cGy üzerinde radyasyon endotelial hücreler için öldürücü olmaya başlarken bu etki in vivo çalışmalarda daha yüksek dozlarda oluşmaktadır (100).

Radyasyon vasküler hücreler yanında parankimal hücreleri de etkiler. Santral sinir sistemindeki nöronlar ve çizgili kas hücreleri gibi bölünemeyen hücreler radyasyona dirençlidirler ve hasar akut dönemde vasküler kompartmanda ortaya çıkar. Kronik dönemde parankimal hücre kaybı oluşur.

Kranial radyasyon, beynin benign ve malign tümörlerinin tedavisinde bir standarttır. Bununla birlikte hastaların yaşam süresini uzatırlar ancak radyasyona bağlı hasarlar da kaçınılmazdır. Beyin tümörü nedeni ile radyasyon almış hastaların %40'ında ciddi komplikasyonlara rastlanmıştır. Vasküler hasar, inflamasyon, otoimmün hastalık, hücre membran permeabilite değişiklikleri ve artmış kollajen yapımı radyasyon yaralanmasının patofizyolojisini oluşturmaktadır. Diğer bir yandan da radyasyon serbest oksijen radikallerinin artışına neden olmaktadır. Erol FS ve arkadaşlarının vitamin E ve melatoninin, gama radyasyon verilen rat beyin

dokularındaki koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada ratlara 720 cGy radyasyon verilmiş ardından beyin dokusunda MDA (malondialdehyde) düzeylerine bakılmıştır. Sonuçta kontrol grubuna göre radyasyon verilen gruplarda MDA düzeyleri yüksek bulunmuştur. Yine aynı çalışmada dokular histopatolojik olarak değerlendirilmiş ödem, vazodilatasyon, nekroz ve nöronal dejenerasyon kontrol grubuna göre radyasyon verilen gruplarda daha fazla görülmüştür (101). Biz de çalışmamızda radyasyon dozunu bu çalışmayı referans alarak belirledik.

Radyasyon inflamatuvar reaksiyonları güçlü şekilde uyarır. Radyasyon sonrası çeşitli prositokinler ve kemokinlerin salınımı artar. Sitokinler çözünebilir sinyal proteinlerdir ve çeşitli hücre tiplerinde üretilirler. Normal ve patolojik durumlarda hedef hücrelerin fonksiyonlarını düzenlerler. Beyinde sitokinler normal ve malign glial hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşmasını düzenler.

Beyin ve akciğer radyasyonlanmasını takiben interlökin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekrozis faktör α (TNF- α) gen ekspresyonu hızlı şekilde indüklenir (102). Aynı zamanda total ve lokal radyasyon uygulanan ratların serum Interlökin-6 (IL-6) düzeyleri yüksek bulunmuştur (103).

Endotelin-1, vasküler duvarda oluşturulan başlıca endotelin izopeptididir. Çoğu hastalık durumlarında ET-1, TNF- α ve gama interferon (IFN- γ) gibi pro inflamatuvar sitokinlerin yüksekliği ile birlikte (104).

Endotelinler 1988 yılında keşfinden bugüne kadar 22.000 yakın yayın basılmıştır. Radyasyon ve endotelinler arasındaki ilişkiyi araştıran yayınlar ise sınırlı sayıdadır.

Tsuboi R (105) 1995 yılında yaptığı çalışmada insan keratonosit kültürlerine kontrol grubu hariç değişik dozlarda (2,5-5-7,5-10-20-40 mJ/cm²) UVB radyasyon verilmiş ve 48 saatlik inkubasyon sonrası radioimmunoassay olarak ET-like immuno reaktiviteler ölçülmüştür. Bu çalışmada doza bağımlı olarak ET-1 sekresyonun arttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte bu çalışmada çok yüksek radyasyon dozlarında (20-40 mJ/cm²) keratinositlerin tahrip olmasına bağlı ET-1 düzeylerinde azalma görülmüştür. Bu çalışma sonucunda UVB radyasyonun

keratinositlerde ETRA ve ETRB her ikisinin ekspresyonunu artırarak ET-1 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (105).

Qi ve ark. (106) 190 rat üzerinde çalışmada kontrol ve radyasyon grubu oluşturulmuş ve radyasyon grubuna her bir rat için 15 Gy radyasyon verilmiş ardından 5., 15., 30 ve 60.günlerde her bir gruptan rastgele seçilen 5'er rattan kardioponksiyon ya da dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinde ET-1 düzeylerine bakılmıştır. Bu çalışma da ET-1 düzeylerinin, 5.günden itibaren artmaya başladığı ve 60.günde maksimum seviyeye ulaştığı gösterilmiştir.

Merlin ve ark. (3) tarafından radyasyona bağlı empotansda ET-1'in rolünün araştırıldığı çalışmada 3 deneysel grup (kontrol, 1000cGy ve 2000 cGy) oluşturulmuş. Ardından 1., 10., 20. ve 30.günlerde prostat ve penil dokuda ET-1 like immunoreaktiviteler radioimmunoassay ile değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda 20.günden itibaren hem penil hem de prostat dokusunda ET-1 düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir.

AnWen ve ark.(107) non small cell akciğer kanserli 48 hastada radyasyonun indüklediği akciğer yaralanmasında ET-1'in rolünün araştırıldığı çalışmada radyoterapi öncesi, radyoterapi süresince ve sonrasında plazma ET-1 düzeylerine bakılmış sonuçta radyoterapi süresince ve sonrasında ET-1 düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir.

Sinir sisteminde ise radyasyon sonrası ET-1 düzeyindeki değişiklikleri içeren bir çalışma literatürde yoktur. Bizim çalışmamız bu konuda örneklik teşkil etmektedir.

Beyinde normalde mikrovasküler endotelial hücreler ve astrositlerden endotelinler salgılanmaktadır. Bu endotelinleri ET-1 ve ET-3 oluşturmaktadır.

Biz çalışmamızda süre olarak 1., 7. ve 30. günlerde ET-1 düzeylerini ölçtük. ET-1 düzeyleri, kontrol grubu için $377,915 \pm 247,65$ pg/gr doku, 1.gün deneysel grup için $251,739 \pm 61,795$ pg/gr doku, 7.gün deneysel grup için $247,334 \pm 49,052$ pg/gr doku ve 30.gün deneysel grup için $273,739 \pm 95,765$ pg/gr doku değerlerini elde ettik. Qi ve ark. (106) yaptığı çalışmada 5.günden itibaren kontrol grubuna göre ET-1 düzeylerinde artış rapor edilmesine rağmen bizim çalışmamızda kontrol grubuna

göre artış saptanmadı aksine azalma gözlemlendi. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Tsuboi ark. (105) yaptığı çalışmada yüksek radyasyon dozlarında, hücre harabiyetine bağlı ET-1 düzeylerinin baskılandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız radyasyon dozu daha düşük olmasına rağmen ET-1 düzeyinde azalma görüldü. Ayrıca radyasyon verilen gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında 1.gün deneysel grup ile 7.gün deneysel grup, 1.gün deneysel grup ile 30.gün deneysel grup, 7.gün deneysel grup ile 30.gün deneysel grup arasında $p>0,05$ olduğu için istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı. Çalışmamızda radyasyon sonrası ratlarda beyin dokusu ET-1 düzeyinde belirgin değişikliğin olmaması dokuların histolojik farklılığından ve uyguladığımız radyasyon dozundan kaynaklanmış da olabilir.

Radyasyonun kanser yapıcı etkisi radyasyonun fiziksel özelliklerine bağlı olduğu gibi, hedef doku ve hücrenin özelliklerine de bağlıdır. Sonuçta radyasyona maruz kalan hücrelerde DNA yapısında mutasyonlar, zincir kırılmaları olmakta ve genetik kararsızlık gelişmektedir. Genetik kararsızlık gösteren hücreler genelde apoptozis ile yok edilirler. Apoptozis mekanizmasının bozulması mutasyonlu hücrelerin çoğalmasına ve kanser oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca radyasyona maruz kalan hücrelerde çeşitli sitokinler ve ET-1 gibi vazoaktif aminler salgılanmaktadır. ET-1 normal fizyolojik durumlarda vasküler endotelden salgılandığı gibi kanser gibi çeşitli patolojik durumlarda da salgılanmaktadır. Kanserli dokularda ET-1, tümör hücre proliferasyonunu, tümör vaskularitesini artırmakta, apoptozu engellemekte ve ayrıca tümör progresyonuna neden olmaktadır.

Çalışmamızda radyasyonun beyinde ET-1 düzeyini artırmadığı görüldü. Bu bulgumuz radyasyona bağlı beyin tümörü oluşumunda ya da malignite derecesinin artışında radyasyonun etkisinin ET-1 düzeyi üzerinden olmadığını göstermektedir. Ayrıca klinik olarak radyasyon verilen olgularda ET-1 düzeyi üzerinden antagonist medikal tedavinin gerekmediği görülmektedir. Sonuçlarımız başka çalışmalarla desteklenmelidir.

5. KAYNAKLAR

1. Inskip PD. Second cancers following radiotherapy. Neugut AI, Meadows AT, Robinson E (eds). Multiple primary cancers. 1st ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1999: 91-135.
2. Sowa M, Arthurs BJ, Estes BJ, Morgan WF. Effects of ionizing radiation on cellular structures, induced instability and carcinogenesis. *EXS* 2006; 96, 293-301.
3. Merlin SL, Brock GB, Begin LR, Hiou Tim FF, Macramalla AN, Seyam RM, et al. New insights into the role of endothelin-1 in radiation-associated impotence. *Int J Impot Res* 2001; 13: 104-109.
4. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-415
5. Mu-En Lee, Suzanne M, De la Monte, Shi-Chung NG, Expression of the potent vasoconstrictor endothelin in the human central nervous system. *J Clin Invest* 1990; 86: 141-147.
6. Grant K, Loizidou M, Taylor I. Endothelin-1, a multifunctional molecule in cancer. *Brit J Can* 2003; 88: 163-166.
7. Bagnato A, Spinella F, Rosano L. Emerging role of the endothelin axis in ovarian tumor progression. *Endocrine-Related Cancer* 2005; 12: 761-772.
8. Bagnato A, Natali PG. Endothelin receptors as novel targets in tumor therapy. *J Transl Med* 2004; 27: 16.
9. Hossein Mozdarani. Biological Complexities in Radiation Carcinogenesis and Cancer. *Genes* 2012; 3: 90-114.
10. Monje ML, Palmer T. Radiation injury and neurogenesis. *Curr Opin Neurol* 2003; 16: 129-134.
11. Radyasyon, <http://www.taek.gov.tr/ogrenci/index.html> Erişim Tarihi: 08.08.2011.
12. Eğilmez E. Tıpta Radyasyon ve Korunma. 10. Baskı, Ankara: Feryal Matbaa, 2009: 7-8.

13. Eğilmez E. Tıpta Radyasyon ve Korunma. 10. Baskı, Ankara: Feryal Matbaa, 2009: 80-81.
14. Atakan Y. İyonlayıcı Radyasyon. Bilim ve Teknik Dergisi, 2006; 4: 8-9.
15. Hoffmann W, Schmitz-Feuerhake I. How radiation-specific is the dicentric assay. J Expo Anal Environ Epidemiol 1999; 9: 113-133.
16. IARC Working Group. Ionizing radiation, some internally deposited radionuclides. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2001; 78: 1-559.
17. IARC Working Group. Ionizing radiation, X- and gamma- radiation and neutrons. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2000; 75: 1-492.
18. IARC Working Group. Radiation. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2001; 100: 1-445.
19. Cornforth MN, Bailey SM, Goodwin EH. Dose responses for chromosome aberrations produced in noncycling primary human fibroblasts by alpha particles, and by gamma rays delivered at sublimiting low dose rates. Radiat 2002;158: 43-53.
20. George KA, Hada M, Jackson LJ, Elliott T, Kawata T, Pluth JM, et al. Dose response of gamma rays and iron nuclei for induction of chromosomal aberrations in normal and repair-deficient cell lines. Radiat Res 2009; 171: 752-763.
21. Magae J, Hoshi Y, Furukawa C, Kawakami Y, Ogata H. Quantitative analysis of biological responses to ionizing radiation, including dose, irradiation time and dose rate. Radiat Res 2003; 160: 543-548.
22. Edgar DB, Carol DB, Mary LB, Susan JE, John RF, Eric MG, et al. Second Cancers and Cardiovascular Effects after Radiotherapy. NCRP Draft SC 1-17 Report 2010: 24-25.
23. Zirkle RE. The radiobiological importance of the energy distribution among ionization tracks. J Cell Physiol 1940; 16: 221.
24. Sinclair WK. Relative biological effectiveness (RBE), quality factor (Q) and radiation weighting factor (Wr.) Ann ICRP. 2003; 92: 9-25.

25. Gueulette J, Gahbauer R, Jones TL, Slabbert J, Wambersie A. Relative Biological Effectiveness in Ion Beam Therapy. Technical Reports Series 461. 2008; 14-17.
26. Pouget JP, Mather SJ. General aspects of the cellular response to low and high-LET radiation. *Eur J Nucl Med* 2001; 28: 541-561.
27. Eric J. Hall, Amato JG. *Radiobiology for the Radiologist*, Sixth Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 135.
28. Little JB. Radiation carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 397-404.
29. Cem U, Murat Ç. Kanser Etiyolojisinde İyonizan Radyasyonun Yeri. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2002; 177-182.
30. Huang L, Grim S. Ionizing Radiation Induces Delayed Hyperrecombination in Mammalian Cells. *Mol Cell Biol* 2004; 5060-5068.
31. Athar M, Abdula M, Sultana S, Favier A. Free radicals and trace elements. *The journal of trace elements in experimental medicine* 1993;6: 65-73.
32. Oikawa S. Sequence-Specific DNA Damage by Reactive Oxygen Species. *Environ Health Prev Med* 2005; 65–71.
33. Kronenberg A. Radiation induced genomic instability. *Int J Radiat Biol* 1994; 66: 603-609.
34. Hong WK, Bast RC, Hait WN, Holland JF, Frei E. Holland Frei. *Cancer Medicine*. Andreeff M, Goodrich DW, Koeffler P (Eds), *Cell Proliferation and Differentiation*. USA: Eighth Edition, AACR 2009: 26-27.
35. Garte SJ, Burns FJ. Oncogenes and radiation carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 1991; 93: 45–49.
36. Baskar R. Emerging role of radiation induced bystander effects Cell communications and carcinogenesis. *Genome Integr* 2010; 1: 13.
37. Nagasawa H, Cremesti A, Kolesnick R, Fuks Z, Little JB. Involvement of membrane signaling in the bystander effect in irradiated cells. *Cancer Res* 2002; 62: 2531-2534.

38. Hollowell JG, Littlefield LG. Chromosome damage induced by plasma of x-rayed patients: an indirect effect of x-ray. *Proc Soc Exp Biol Med* 1968; 129: 240-244.
39. Snyder AR. Review of radiation-induced bystander effects. *Hum Exp Toxicol* 2004; 23: 87-89.
40. Giglio P, Gilbert MR. Cerebral Radiation, Necrosis. *The Neurologist* 2003; 9: 180-188.
41. Tofilon PJ, Fike JR. The radioresponse of the Central Nervous System: a dynamic process. *Radiat Res* 2000; 153: 357-379.
42. Hong JH, Chiang CS, Tsao CY, Lin PY, McBride WH, Wu CJ. Rapid induction of cytokine gene expression in the lung after single and fractionated doses of radiation. *Int J Radiat Biol* 1999; 75: 1421-1427.
43. Chiang CS, McBride WH. Radiation enhances tumor necrosis factor alpha production by murine brain cells. *Brain Res* 1991; 566: 265-269.
44. Baron W, de Jonge JC, de Vries H, Hoekstra D. Regulation of oligodendrocyte differentiation: protein kinase C activation prevents differentiation of O-2A progenitor cells toward oligodendrocytes. *Glia* 1998, 22: 121-129.
45. Slungaard A, Vercellotti GM, Walker G, Nelson RD, Jacob HS. Tumor necrosis factor-alpha/cachectin stimulates eosinophil oxidant production and toxicity towards human endothelium. *J Exp Med* 1990; 171: 2025-2041.
46. Sawaya R. The fibrinolytic enzymes in the biology of brain tumors. Sawaya MD (ed). *Fibrinolysis and the Central Nervous System*, Philadelphia: Pa: Hanley & Belfus, 1990:106-126.
47. Keime-Guibert F, Napolitano M, Delattre JY. Neurological complications of radiotherapy and chemotherapy. *J Neurol* 1998; 245: 695-708.
48. Schultheiss TE, Stephens LC. Invited review: permanent radiation myelopathy. *Br J Radiol* 1992; 65: 737-753.

49. Van der Maazen RW, Kleiboer BJ, Verhagen I, van der Kogel AJ. Repair capacity of adult rat glial progenitor cells determined by an in vitro clonogenic assay after in vitro or in vivo fractionated irradiation. *Int J Radiat Biol* 1993; 63: 661-666.
50. Dana GS, Robbins ME, Peiffer AM, Shaw EG, Wheeler KT, Chan MD. Radiation-induced brain injury: a review. *Front Oncol* 2012; 2: 73.
51. Reinhold HS, Calvo W, Hopewell JW, Van Der Berg AP. Development of blood vessel-related radiation damage in the fimbria of the central nervous system. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990; 18: 37-42.
52. Pober JS, Cotran RS. Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol Rev* 1990; 70: 427-451.
53. Kloog Y, Ambar I, Sokolovsky M, Kochva E, Wollberg Z, Bdolah A. Sarafatoxin a novel vasoconstrictor peptide: phosphoinositide hydrolysis in rat heart and brain. *Science* 1988; 242: 268-272.
54. Tamirisa P, Frishman WH, Kumar A. Endothelin and endothelin antagonism: Roles in cardiovascular health and disease. *Am Heart J* 1995; 130: 601-610.
55. Bagnato A, Rosana L, The endothelin axis in cancer. *Int J Bio Cell Bio* 2008, 40: 1443–1451.
56. Jeng AY, Mulder P, Kwan AL, Battistini B. Nonpeptidic endothelin-converting enzyme inhibitors and their potential therapeutic applications. *Can J Physiol Pharmacol* 2002; 80: 440–449.
57. Inoue A, Yanagisawa M, Takawa Y, Mitsui Y, Kobayashi M, Masaki T. The human preproendothelin-1 gene. *J Biol Chem* 1989; 264: 14954–14959.
58. Sorokin A, Kohan DE, Physiology and pathology of endothelin-1 in renal mesangium. *Am J Physiol Renal Physiol* October 2003; 285: 579-589.
59. Hosoda K, Nakao K, Tamura N, Arai H, Ogawa Y, Suga S, et al. Organization, structure, chromosomal assignment, and expression of the gene encoding the human endothelin-A receptor. *J Biol Chem* 1992; 267: 18797–18804.

60. Egidy G, Eberl LP, Valdenaire O, Irmeler M, Majdi R, Diserens AC, et al. The endothelin system in human glioblastoma. *Laboratory Investigation* 2000; 11: 1681.
61. Gandhi CR, Berkowitz DE, Watkins WD. Endothelins. *Anesthesiology* 1994; 80: 892-905
62. Mateo O, Artinano A. Highlighst on endothelins: A review. *Pharmacol Res* 1997; 36: 48-56.
63. Rubin SA, Levir ER. The endocrinology of vasoactive peptides: Synthesis to function. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 6-10.
64. Pernow J, Hensen A, Lundberg JM. Tissue specific distribution, clearance and vascular effects of endothelin in the pig. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161: 647-653.
65. Zellers TM, McCormick J, Wu Y. Interaction among ET-1, endothelium-derived nitric oxide and prostacyclin in pulmonary arteries and veins. *Am J Physiol* 1994; 267: 139-147.
66. Hahn AW, Resink TJ, Scott-Burden T, Powell J, Dohi Y, Bühler FR. Stimulation of endothelin mRNA and secretion in rat vascular smooth muscle cells: a novel autocrine function. *Cell Regul* 1990; 1: 649–659.
67. Lüscher TF, Barton M. Endothelins and Endothelin Receptor Antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation* 2000; 102: 2434-2440.
68. Brenner BM, Troy JL, Ballermann BJ. Endothelium-dependent vascular responses. Mediators and mechanisms. *J Clin Invest* 1989; 84: 1373–1378.
69. Clavell AL, Burnett JC. Physiologic and pathophysiologic roles of endothelin in the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1994; 3: 66-72.
70. Gomez-Garre D, Ruiz-Ortega M, Ortego M, Largo R, Lopez-Armada MJ, Plaza JJ, et al. Effects and interactions of endothelin-1 and angiotensin II on matrix protein expression and synthesis and mesangial cell growth. *Hypertension* 1996; 27: 885–892.

71. Herman WH, Emancipator SN, Rhoten RL, Simonson MS. Vascular and glomerular expression of endothelin-1 in normal human kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 1998; 275: 8–17.
72. Araki S, Haneda M, Togawa M, and Kikkawa R. Endothelin-1 activates c-Jun NH₂-terminal kinase in mesangial cells. *Kidney Int* 1997; 51: 631–639.
73. Wang Y, Simonson MS, Pouyssegur J, Dunn MJ. Endothelin rapidly stimulates mitogen-activated protein kinase activity in rat mesangial cells. *Biochem J* 1992; 287: 589–594.
74. Lev S, Moreno H, Martinez R, Canoll P, Peles E, Musacchio J, et al. Protein tyrosine kinase PYK2 involved in Ca²⁺-induced regulation of ion channel and MAP kinase functions. *Nature* 1995; 376: 737–745.
75. Kuwaki T, Kurihara H, Cao WH, Kurihara Y, Unekawa M, Yazaki Y, et al. Physiological role of brain endothelin in the central autonomic control: from neuron to knockout mouse. *Prog Neurobiol* 1997; 51: 545–579.
76. Giaid A, Gibson SJ, Herrero MT, Gentleman S, Legon S, Yanagisawa M, et al. Topographical localisation of endothelin mRNA and peptide immunoreactivity in neurones of the human brain. *Histochemistry* 1991; 95: 303–314.
77. Naidoo V, Naidoo S, Raidoo DM. Immunolocalisation of endothelin-1 in human brain. *J Chem Neuroanat* 2004; 27: 193–200.
78. Matsumoto H, Suzuki N, Onda H, Fujino M. Abundance of endothelin-3 in rat intestine, pituitary gland and brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 164: 74–80.
79. Tsaor ML, Wan YC, Lai FP, Cheng HF. Expression of B-type endothelin receptor gene during neural development. *FEBS Lett* 1997; 417: 208–212.
80. Brennan A, Dean CH, Zhang AL, Cass DT, Mirsky R, Jessen KR. Endothelins control the timing of Schwann cell generation in vitro and in vivo. *Dev Biol* 2000; 227: 545–557.
81. Koyama Y, Ishibashi T, Hayata K, Baba A. Endothelins modulate dibutyryl cAMP-induced stellation of cultured astrocytes. *Brain Res* 1993; 600: 81–88.

82. Lahav R, Ziller C, Dupin E, Le Douarin. Endothelin 3 promotes neural crest cell proliferation and mediates a vast increase in melanocyte number in culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 95: 3892–3897.
83. Giaid A, Gibson SJ, Ibrahim BN, Legon S, Bloom SR, Yanagisawa M. Endothelin 1, an endothelium-derived peptide, is expressed in neurons of the human spinal cord and dorsal root ganglia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7634-7638.
84. Nie XJ, Olsson Y. Endothelin peptides in brain diseases. *Rev Neurosci* 1996; 7: 177–186.
85. Yamashita K, Dirscher DJ, Hu J, Bishopric NH, Webster KA. Molecular regulation of the endothelin -1 gene by hypoxia contributions of hypoxia – inducible factor-1, activated protein-1, GATA-2, and p300/CBP. *J Biol Chem* 2001; 276: 12645–12653.
86. Yorio T, Krishnamoorthy R, Prasanna G. Endothelin: is it a contributor to glaucoma pathophysiology? *J Glaucoma* 2002; 11: 259–270.
87. Zhang M, Olsson Y. Hematogenous metastases of the human brain-characteristics of peritumoral brain changes: a review. *J Neurooncol* 1997; 35: 81–89.
88. Bhalla A, Haque S, Taylor I, Winslet M, Loizidou M. Endothelin receptor antagonism and cancer. *Eur J Clin Invest* 2009; 39: 74-77.
89. Knight LJ, Burrage J, Bujac SR. Epigenetic silencing of the endothelin-B receptor gene in non-small cell lung cancer. *Int J Oncol* 2009; 34: 465-471.
90. Bagnato A, Salani D, Di Castro V, Wu-Wong JR, Tecce R, Nicotra MR, et al. Expression of Endothelin 1 and Endothelin A Receptor in Ovarian Carcinoma: Evidence for an Autocrine Role in Tumor Growth. *Cancer Res* 1999; 59: 720-727.
91. Ali H, Loizidou M, Dashwood M, Savage F, Sheard C, Taylor I. Stimulation of colorectal cancer cell line growth by ET-1 and its inhibition by ET(A) antagonists. *Gut* 2000; 47: 685–688.
92. Kikuchi K, Nakagawa H, Kaduno T, Etoh T, Byers HR, Mihm MC, et al. Decreased ETB receptor expression in human metastatic melanoma cells. *Biochem Biophys Res Comm* 1996; 219: 734–739.

93. Battistini B, Chailier P, D'Orleans-Juste P, Briere N, Sirois P. Growth regulatory properties of endothelins. *Peptides* 1993; 14: 385–399.
94. Kerbel RS. Tumor Angiogenesis. *N Engl J Med* 2008; 358: 2039-2049.
95. Salani D, Taraboletti G, Rosanò L, Di Castro V, Borsotti P, Giavazzi R, et al. Endothelin-1 induces an angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo. *Am J Pathol* 2000; 157: 1703–1711.
96. Shichiri M, Kato H, Marumo F, Hirata Y. Endothelin-1 as an autocrine/paracrine apoptosis survival factor for endothelial cells. *Hypertension* 1997; 30: 1198–1203.
97. Peduto-Eberl L, Valdenaire O, Saintgiorgio V, Jeannin J, Juillerat-Jeanneret L. Endothelin receptor blockade potentiates FasL-induced apoptosis in rat colon carcinoma cells. *Int J Cancer* 2000; 86: 182–187.
98. Chiao W, Moonga BS, Yang Y, Kancherla R, Mittelman A, Wu-Wong JR, et al. Endothelin-1 from prostate cancer cells is enhanced by bone contact which blocks osteoclastic bone reabsorption. *Br J Cancer* 2000; 83: 360–365.
99. Bıçakçı CB. Radyasyonun fetus üzerine etkileri. *Turk Onkoloji Dergisi* 2009; 24: 185-190.
100. Philip Rubin MD, Louis S. Constine MD, Lawrence B. Marks MD, Paul Okunieff MD. Late Effects of Cancer Treatment on Normal Tissues. Luis Felipe LG, Fajardo MD (ed), Chapter 2, Newyork: Medical Radiology, Springer, 2008; 19-22.
101. Erol FS, Topsakal C, Ozveren MF, Kaplan M, Ilhan N, Ozercan IH, et al. Protective effects of melatonin and vitamin E in brain damage due to gamma radiation: an experimental study. *Neurosurg Rev* 2004; 27: 65-69
102. Hong JH, Chiang CS, Campbell IL, Sun JR, Withers HR, McBride WH. Induction of acute phase gene expression by brain irradiation. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics* 1995; 33: 619–626.
103. Haveman J, Geerdink AG, Rodermond HM. TNF, IL-1 and IL-6 in circulating blood after total-body and localized irradiation in rats. *Oncology Reports* 1998; 5: 679–683.

- 104.** Woods M, Mitchell JA, Wood EG, Barker S, Walcot NR, Rees GM, et al. Endothelin-1 is induced by cytokines in human vascular smooth muscle cells: evidence for intracellular endothelin-converting enzyme. *Mol Pharmacol* 1999; 55: 902-909.
- 105.** Tsuboi R, Sato C, Oshita Y, Hama H, Sakurai T, Goto K, et al. Ultraviolet B irradiation increases endothelin-1 and endothelin receptor expression in cultured human keratinocytes. *FEBS Letters* 1995; 371: 188-190.
- 106.** Qi HW, Ye JF, Song LQ, Chen WQ, Liang J, Mu DG. Exploration of serum endothelin-1 as a marker of early radiation lung injury. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2005; 21: 356-358.
- 107.** AnWen L, HaiYan T, LiMing T, Cai Jing. Relationship between plasma endothelin-1 level and radiation-induced lung injury. *Journal Cancer Research on Prevention and Treatment* 2009; 36: 493-496. <http://www.zlfzyj.com> Erişim Tarihi: 15.10.2012

6. ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Aydın'da doğdum. İlkokulu Çiftlik Köyü İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimi Aydın Köşk Lisesi'nde tamamladıktan sonra 1987 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başladım. 1993 yılında mezun olduktan sonra Kütahya Simav Öreylar Ocağı'nda pratisyen hekim olarak göreve atandım. 2006 yılında Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda ihtisasa başladım. Evli ve 2 çocuk babasıyım.