

FEN BİLİMLERİ VE MATEMATİK ALANINDA TEORİ VE ARAŞTIRMALAR

EDİTÖRLER:
PROF.DR.E.NİHAL ERCAN
PROF. DR. HASAN AKGÜL

İmtiyaz Sahibi / Publisher • Yaşar Hız
Genel Yayın Yönetmeni / Editor in Chief • Eda Altunel
Editörler / Editors • Prof. Dr. E. Nihal Ercan
Prof. Dr. Hasan Akgül
Kapak & İç Tasarım / Cover & Interior Design • Gece Kitaplığı

Birinci Basım / First Edition • © Eylül 2020
ISBN • 978-625-7243-55-1

© copyright

Bu kitabın yayın hakkı Gece Kitaplığı'na aittir.

Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin
almadan hiçbir yolla çoğaltılamaz.

The right to publish this book belongs to Gece Kitaplığı.
Citation can not be shown without the source, reproduced in any way
without permission.

Gece Kitaplığı / Gece Publishing
Türkiye Adres / Turkey Address: Kızılay Mah. Fevzi Çakmak 1. Sokak
Ümit Apt. No: 22/A Çankaya / Ankara / TR
Telefon / Phone: +90 312 384 80 40
web: www.gecekitapligi.com
e-mail: gecekitapligi@gmail.com



Baskı & Cilt / Printing & Volume
Sertifika / Certificate No: 47083

Fen Bilimleri ve Matematikte Teori ve Araştırmalar

Editörler

Prof. Dr. E. Nihal Ercan
Prof. Dr. Hasan Akgöl

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM 1

GALAKSİ KÜMELERİ:

E.Nihal ERCAN.....1

BÖLÜM 2

BURAZOL BLUE ED BOYASININ ANAEROBİK-AEROBİK
ARDIŞIK SİSTEMLERDE ARITIMI

Cansu FİLİK İŞÇEN & Burcu AKÇAL ÇOMOĞLU & Semra İLHAN .. 15

BÖLÜM 3

GÜÇLÜ BİR ANTİOKSİDAN OLARAK ASTAKSANTİN

H. Turan AKKOYUN31

BÖLÜM 4

REKOMBİNANT DNA TEKNOLOJİSİNİN ÖNEMİ VE
UYGULAMALARI

Aslı GİRAY.....39

BÖLÜM 5

İYOTUN İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ VE HATAY/
ANTAKYA İÇME SULARINDA İYOT DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ

Zeki AYDIN.....61

BÖLÜM 6

BEYİN VE BESLENME

Hacer EFE & Hatice MERTOĞLU77

BÖLÜM 7

YAKIN GALAKSİLERDE SÜPERNOVA KALINTISI
ARAŞTIRMALARI

Ebru AKTEKİN ÇALIŞKAN101

BÖLÜM 8

BÜYÜME EĞRİSİ MODELİNDE SAĞLAM TAHMİN EDİCİLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Meltem EKİZ & Osman Ufuk EKİZ113

BÖLÜM 9

GEN TRANSFER YÖNTEMLERİNDE YENİ YAKLAŞIMLAR: LAZER TEKNOLOJİSİ

Pınar KÜCE ÇEVİK131

BÖLÜM 10

DNA’NIN YAPISI, HASARI, ONARIMI VE HASAR ÜRÜNLERİNİN TAYİNİ

Önder AYBASTIER.....145

BÖLÜM 11

SAĞKALIM ANALİZİ

Hülya SAYGI.....171

BÖLÜM 12

BORLU GÜBRENİN BAZI YAPISAL VE MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN VE DOĞAL RADYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Mehmet YÜKSEL.....207

BÖLÜM 13

ISI YALITIM MALZEMELERİNİN ÜRETİLME METODLARI

Tülay GÜRSOY219

Bölüm 1

GALAKSİ KÜMELERİ:



E.Nihal ERCAN¹

¹ Boğaziçi Üniversitesi, Fizik Bölümü

Evrendeki kapalı sistemlerin en büyük çaplı olan galaksi kümeleri, Büyük Patlama sonrası hiyerarşik olarak oluşmuş en son yapılar olduğu düşünülmektedir. Bu hiyerarşik oluşum Büyük Patlama’da üretilen Hidrojen ve az miktardaki Helyum elementlerinin yer çekimsel olarak birleşip, bulutsu, yıldızlar, yıldız kümeleri, galaksiler, galaksi kümeleri ve nihayetinde galaksi kümelerinin oluşması olarak tanımlanır. Galaksi kümelerinin kapalı sistem olarak tanımlanmasının nedeni, küme içindeki fiziksel süreçler sonucunda oluşan maddelerin yer çekimsel potansiyel nedeniyle, küme dışına çıkmamasıdır. Bu nedenle galaksi kümeleri, Büyük Patlama ve sonrasındaki evrimin anahtarıdır.

Optik tayfta sadece galaksi topluluğu olarak görülen bu sistemler, % 85 karanlık madde, % 12 Küme İçi Ortam (Intra-cluster Medium - ICM), % 3 de galaksi ve yıldızdan oluşmaktadır. ICM, ilk olarak X-ışın uydusu “Uhuru” verileriyle aslında galasiler arasını dolduran bir gaz bulutu olarak keşfedilmiş, ve yaydığı ışınımın termal (Bremsstrahlung) olduğu da Ariel V ve OSO-8 X-ışın uydusu sonuçlarından anlaşılmıştır. Bu uydular Perseus, Coma ve Virgo galaksi kümelerinde, 7 keV civarında saptanan Fe- K kabuğu ışınımını keşfetmişlerdir. Bu buluşta, ICM ‘in aslında ağır metalleri de barındıran, kimyasal evrimin gerçekleştiği bir ortam olduğu anlaşılmıştır. Kümelerin çoğunun potansiyel kuyusunun dibinde yani yer çekimsel potansiyelin en yoğun olduğu bölgede, optik tayfta en yoğun ışınımı yapan bir galaksi bulunur. Bu galaksiler En Parlak Küme Galaksisi (Brightest Cluster Galaxy – BCG) olarak adlandırılır. BCG’ler, gözlemin yapıldığı sırada küme merkezinde BCG olarak saptansa da, bir kümenin evrimi sırasında küme birden fazla ve farklı BCG’lere ev sahipliği yapabilmektedir. Bu değişimin en büyük nedeni galaksi kümelerinin yer çekimsel potansiyel alanı nedeniyle birleşmesidir ki buna (merger) yani” birbirinin içinden geçmek” terimini kullanmaktayız. Burada özellikle bu ilginç çalışma alanını tartışıp, yaptığımız bir çalışmayı sunmayı hedefledik. Bunun için de hali hazırda en verimli çalışan X-ışın uydularından biri olan XMM-Newton adlı uydudan aldığımız verileri kullanarak gerçekleştirdik. Bu çalışmayı, Tübitak desteklemiştir ve Sinancan Kara adlı Yüksek Lisans öğrencime burs sağlayarak , çalışmamızın tamamlanmasına destek olmuştur. Bu vesile ile burada, Tübitak’a teşekkür etmek isterim.

Birbirlerinin içinden geçmekte olan Galaksi Kümelerinin XMM-Newton X-ışın Gözlemleri

Galaksi kümeleri, evrendeki kütle çekimi ile bağlı en büyük objelerdir. Üye galaksiler, milyarlarca yıl boyunca süpernovalardan (SN) gelen metallerle zenginleştirilmiş küme içi ortama (Intra cluster medium ICM) dağılmış durumdadır. Küme içi ortam, galaksi kümelerinin büyük çoğunluğunu kapsamaktadır, öyle ki galaksilerin sayısı yalnızca toplam küme-

nin sadece %2 sini oluşturmaktadır (*Cosmological Simulations of Galaxy Clusters Stefano Borgani, Andrey Kravtsov, 2011*). Galaksilerin yarattığı kütle çekimi, küme içi ortamı milyonlarca dereceye kadar ısıtır (*Norbert Werner, 2010*) ve bu müthiş sıcaklık sebebiyle küme içi ortamdan X-ışınları yayılır. Küme içi ortam, yaydığı X-ışınları vasıtasıyla incelenmeye açıktır.

Burada, birbirinin içinden geçen (merging) 1RXSJ0603.3+4213 (Toothbrush) ve CIZA J2242.8+5301 (Sausage) galaksi kümelerinin XMM-Newton arşiv verisi incelenmiştir. Bahsi geçen galaksi kümelerinin çekirdeğinin kuzeyinde birleşme sırasında oluşmuş şok dalgası bulunmaktadır (G. A. Ogrean et al). Radyo kalıntısı ile tespit edilen bu şok dalgaları, kümelerin birleşme sırasında küme içi ortamın dalgalanması ile oluşmuştur. Amacımız, bu şok dalgalarına yakın bölgelerde metal bolluğunu incelemek ve sıcaklık haritasını çıkartarak şok dalgasının fiziksel değerlere etkilerini araştırmaktır. Ayrıca, şok dalgalarına uzak bölgeleri de inceleyerek, şok dalgasının fiziksel parametreler arasında nasıl bir fark yarattığı araştırılmıştır. Daha önce bu kümelerin metal bolluğu ve sıcaklığı üzerine literatürde bazı çalışmalar yapılmış olsa da, şok dalgaları ile ilgili veriler tam olarak henüz bilinmemektedir ve bu çalışma ile ilk kez detaylı olarak incelenecektir.

XMM-Newton X-ışın uydu verileri gürültüden arındırıldıktan sonra, SPEX analiz programı ile tayflarına ayrılıp incelenmiştir. Metal bolluğu ve sıcaklık bilgileri elde edildikten sonra, kümelerin birbirleri içinden geçişleri ve şok dalgasının fiziksel değerler üzerindeki etkileri detaylı bir biçimde araştırılmıştır.

Birbirinin içinden geçen (merging) kümelerden: 1RXSJ0603.3+4213, diğer bir adıyla diş fırçasına benzediği için (Toothbrush) ve CIZA J2242.8+5301, diğer adıyla sosise benzediği için (Sausage) olarak bilinen galaksi kümeleri ele alınmıştır. XMM-Newton X-ray verileri SPEX programı ile analiz edilmiştir. Bu analiz sonucunda metal bolluğu ve sıcaklık haritası çıkartılmıştır. SPEX, Hollanda'da SRON (Netherlands Institute of Space Research) kurumunda geliştirilmiş X-ışını analiz programıdır. Hollanda'nın Ulusal Uzay Araştırma Kurumu'nun bu yazılım programı; XMM-Newton, Chandra, Suzaku ve Hitomi uydularından gelen veriyi işlemede özelleştirilmiştir ve son günlerde yazılımlarda pozitif yönde ilerlemeler kaydetmiştir ve dolayısıyla bu çerçevede, bu çalışma yapılabilmiştir.

Kümelerin çekirdeğinin kuzeyinde kalan şok dalgası, birleşme sırasında oluşmuştur. Şok dalgalarından dolayı küme içi ortamın metal bolluğu ve sıcaklık dağılımının değişip değişmediği incelenmiştir. Bu inceleme için, iki kümeye de ayrı ayrı bakmak gerekmektedir. Bölgelere ayrılarak şok dalgasına yakın ve uzak olarak bolluk ve sıcaklık haritaları ayrı ayrı

çıkartılmış ve kıyaslanmıştır. Kümelerin ayrı olarak çekirdeğinden başlayarak, şok dalgasına ve en sonundaki en dış katmanına doğru giderek bölge bölge metal bollukları tespit edilerek, sıcaklık haritası elde edilmiştir. Ayrıca değişim haritası çıkartılarak bu iki kümedeki bulguların korelasyonuna bağlı olarak yorum yapılmıştır.

Bu çalışmadaki ana amaç, birleşme kaynaklı oluşan şok dalgasının küme içi ortama etkilerini ortaya koymaktır. İncelenen iki kümede de bulunan şokun etkileri daha önce dünya literatüründe yayınlanmamıştır. Galaksi kümeleri CIZA J2242.8+5301 (Sausage) ve 1RXSJ0603.3+4213 (Toothbrush)'ın bu şekilde analiz edilmesi, birbirinin içinden geçen galaksi kümelerindeki şok dalgası üzerine yapılacak özgün bir çalışmadır ve şok dalgalarının küme içi ortama genel etkileri üzerine literatüre ciddi oranda katkı sağlaması hedeflenmiştir ve bu hedefe de Astronomy and Astrophysics adlı bir uluslararası dergide grup çalışması olarak daha fazla sayıda galaksi kümeleri de ilave edilerek 2019 yılında yayınlanılarak, ulaşılmıştır. Buna dair referans bilgisi yazımızın sonunda verilmiştir.

Üzerinde çalışılabilen bütün plazmalar arasında, galaksi kümelerinin küme içi ortamı en sıcaktır. O kadar büyük bir enerjiye sahiptirler ki, büyük patlamanın hemen ardından ikincidirler. Bu yüksek ısının yanında çok seyreltik de olmaları, X-ışını tayf (spektrum) incelemesi yapmak için mükemmel bir fırsattır. O kadar seyreltikler ki, santimetreküpde sadece 10^{-10} ile 10^{-5} arası parçacık bulunmaktadır. Küme içi ortamdaki elementler sadece Helyum ve Hidrojenden ibaret değildir, ağır metaller de bulunmaktadır. Ağır metaller büyük patlamadan sonra, yıldızlarda oluşmuşlardır (Loewenstein, 2003). Küme içi ortama ise bu metaller süpernovalar ile katılmışlardır (F. Mernier et al 2015). Ağır metalleri yıldızlar yerine küme içi ortamda bulmak, geçmişteki süpernovalar hakkında bize bilgi sağlayacaktır (J.de Plaa, 2013). Yıldızlar, yıldızlar arası ortamın kümelenebilmesi sonucu oluşur. Eğer bir ortamda, diğer yerlere nazaran daha fazla yıldız ile karşılaşır, o bölgede daha fazla kümelenebilir. Kümelenebilir, şok dalgalarının yarattığı basınç ile oluşacağından; yıldızların bol bulundukları yerlerden bir şok dalgasının geçtiği sonucuna varılabilir (M.Couch et al. 2015).

Galaksi kümeleri, galaksiler ve küme içi ortamdan meydana gelmektedir. Küme içi ortam, galaksi kümelerinin neredeyse tamamını oluşturmaktadır, kümelerin sadece % 2 si galaksi materyalinden oluşmaktadır (Borgani, Kravtsov, 2011). Evrendeki en büyük objeler olan galaksi kümeleri, birbirleri ile birleşime girmektedir (Sarazin 2002). Birleşen kümelerdeki küme içi ortam, birleşme nedeniyle sıkışır ve ısınır. Birleşen galaksi kümeleri, çok yüksek oranda enerji açığa çıkartmaktadır. 10^{63} ile 10^{64} erg kadar enerji açığa çıkartan (Hoefl et al, 2008) galaksi kümeleri, küme içi ortamı rahatsız etmeye başlar. Öyle ki ; hareketlenen küme içi ortam ısı-

nır ve X-ışını yaymaya başlar. Bu X-ışınlarını inceleyerek bir galaksi kümesinin birleşen mi (merger) olup olmadığı söylenebilir. Ayrıca birleşen galaksi kümeleri, 4 Mach sayısının altında şok dalgaları da oluştururlar (Brunetti Jones 2014).

Birleşen galaksi kümelerinin oluşturduğu şok dalgaları, radyo dalgaları sayesinde gözlemlenebilir (Ensslin et al. 1998; Miniati et al 2001). Küme içi ortamın sıkışması ile oluşan bu radyo dalgaları, radyo kalıntısı ve radyo halesi olmak üzere iki farklı formda gözlemlenir (Ferettil et al.2012; Brunetti Jones 2014). Radyo kalıntıları, kümenin dış sınırlarında yer alırken; radyo haleleri merkezde yer alır.

Bu çalışma, galaksilerin birbirlerinin içinden geçmesi sonucu oluşan şok dalgalarının küme içi ortam üzerindeki etkilerini incelemektedir. Daha önceki benzer araştırmalarda şok dalgaları galaksi kümelerindeki metal bolluğunu nasıl etkiliyor sorusu hala cevapsız kalmıştır, bu çalışma ile bu soruya bir cevap bulmak için seçilen iki adet kümenin şok dalgasına doğru metal bolluğunun değişimini araştırıldı. Bilahare ,bulguların fiziksel yorumlaması yapıldı.

Burada söz konusu olan galaksi kümelerinin yapılan daha önceki çalışmalarda, X-ışını morfolojik yapılarıyla birbirlerinin içinden geçen galaksi kümeleri olduğu gözlemlenmiştir (Akamatsu Kawahara 2013; Oğrean etal. 2013a,b, 2014). İncelenen iki kümede ise bu birleşmeler şok dalgası yaratacak boyutta sıkıştırma meydana getirmiştir. 1RXSJ0603.3+4213 (Toothbrush) isimli galaksi kümesi, 1.9 Mpc uzunluğunda (G. A. Oğrean et al, 2013), diğer galaksi kümesi CIZA J2242.8+5301 (Sausage) ise 2 Mpc (G. A. Oğrean et al, 2014) uzunluğunda şok dalgasına sahiptir. Her ikisinde de düşük kıvrılma kayma ($z=0.225$) tespit edilmiştir (Andra Stroe et al, 2015). M. Bruggen et al. (2012) tarafından gerçekleştirilen simülasyonlarla, 1RXSJ0603.3+4213 kümesinin 3 farklı galaksi kümesinin birleşiminden meydana geldiği gösterilmiştir. Bu simülasyonda; küme 1 ve küme 2, birbirlerine göre 1500 km/s hızla yaklaşmışlar ve 1.3 Gyr zaman süreci içinde iç içe geçmişlerdir. İç içe geçme esnasında sıkışan ve ısınan küme içi ortam, eliptik bir şok dalgası oluşturmaya başlamıştır. Bu esnada; küme 3, küme 2'ye temas etmiş ve gazının bir kısmını kaptırmıştır. Küme 1 ve 2'nin hareket yönüne dik bir şekilde ilerleyen küme 3, küme 1'in kütle çekimine karşı koyamamış ve birleşmiştir. Hali hazırda birleştiği için ısınmış olan gazı daha da sıkıştırarak ısıtan küme 3, büyük bir şok dalgası meydana getirmiştir. Bu çalışmada incelenen şok dalgası, bu şok dalgasıdır. A. Stroe et al. (2015) tarafından gerçekleştirilen simülasyonda ise, CIZA J2242.8+5301 kümesinin , 2 farklı galaksi kümesinin birleşiminden oluştuğu tespit edilmiştir. Bu simülasyonda, birleşen 2 küme, kuzeyde ve güneyde iki farklı şok dalgası meydana getirmektedir. Bizim incelediğimiz ise , çok daha belirgin ve 2 Mach sayısı kadar daha hızlı olan kuzeydeki şok dalgasıdır.

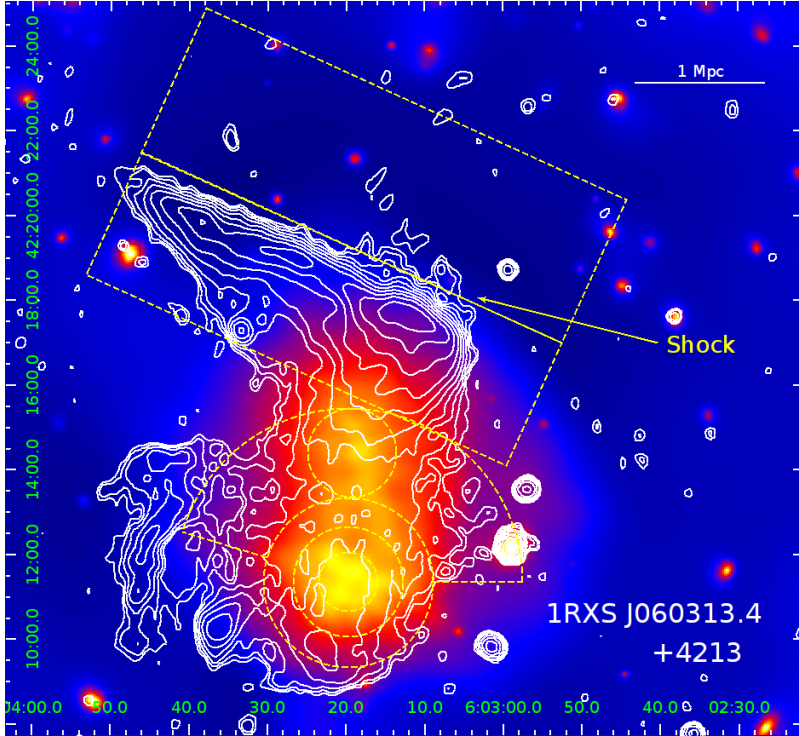
Görüldüğü gibi, kümelerimizde bulunan şok dalgalarının yapısı (Mach sayısının 2 olması gibi şokun yapısına dair özellikler) radyo gözlemi ile daha önce incelenmiştir (G.A. Orgean et al, 2013) fakat şok dalgalarının metal bolluğunu nasıl değiştirdiği daha önce incelenmemiştir. Dolayısıyla, X-ışını bölgesinde de benzer özelliklerin araştırılması çok önemlidir. Küme içi ortamdaki metal bolluğu, süpernovalar ile küme içi ortama katılmaktadır. Bu metaller ilk başta, yıldızlarda oluşmaktadır. Dolayısıyla şok dalgalarının yıldız oluşumuna etkisi, şok dalgasının olduğu bölgelerdeki metal bolluğu incelenerek ortaya konabilir. Galaksi kümeleri içindeki dev şok dalgaları, önüne çıkan her türlü gaz ortamı ile etkileşime girer, buna galaksiler içindeki gaz da dahil olur. Dolayısıyla, galaksi kümelerindeki şok dalgalarının galaksi içinde yıldız oluşumuna etkisi büyüktür. Yıldızlar, öbekleşen gazın sıkışması sonucu oluşurlar. Şok dalgaları, görece statik durumdaki gazı rahatsız edip sıkıştırarak yıldız oluşumuna sebep verirler (A.Stroe et al. 2014). Galaksi kümeleri birleşerek şok dalgalarını oluşturur, bu şok dalgaları da üye galaksilerin içindeki gazı sıkıştırarak galaksilerde yıldız oluşumuna katkıda bulunur. Bundan dolayı, galaksi kümesinde şok dalgalarının olduğu bölgelere bakılırsa daha fazla yıldız oluşumu ve dolayısıyla daha fazla metal bolluğu bulunacağı beklenebilir. Şok dalgaları, belirli bir hızda olduğunda gazı optimum şekilde sıkıştırır ve yıldız oluşumunun önünü açar, fakat 10 ila 100 arasında Mach sayısına sahip hızlardaki şok dalgaları fazla şiddetli olduğu için gazı sıkıştırmak yerine süpürür. Süpürülen bu gaz, sonuçta dağılır (Crockett et al. 2012). İncelenen şok dalgalarının Mach sayıları maksimum 4 olduğu için, bu durum bizim bu çalışmada ele aldığımız galaksi kümelerinde gerçekleşemez. Şok dalgalarının küme içi ortamdaki geçiş sürelerinin ortalama 10 ila 50 Myr arasında olduğu saptanmıştır, bu da görece olarak kısa bir süredir. Roediger et al (2014) tarafından yapılan araştırmada, yıldız oluşum süresinin 10 Myr hata payı ile 100 Myr olduğu söylenmektedir. 1RXSJ0603.3+4213 kümesinde sıcaklığın, en düşük yaklaşık 2 keV ve en yüksek yaklaşık 8 keV olmak üzere batıdan doğuya doğru azaldığı tespit edilmiştir (G.A. Orgean et al, 2013). Bu bilgi, burada kullanacağımız XMM Newton arşiv verileri doğrultusunda bize bu bulguların doğruluğu ile ilgili olarak yardımcı olacaktır. CIZA J2242.8+5301 kümesinde ise sıcaklık, güneyden kuzeye doğru yaklaşık 9 keV'den 3 keV'e düşmektedir. Keza XMM-Newton çalışmalarımızla bu bulguların ne kadar değiştiği ya da değişmediği konusu dikkatle ele alınarak fiziksel özellikler en ince detaya kadar ele alınmaktadır.

Yöntem

Galaksi kümesinin analizi üç ana adımda gerçekleştirilmiştir. Öncelikle veri indirilmesi yapılarak gözlemevinden elde edilen veri temizlenir. Ardından görsel analiz yapılarak X-ışın imajı (resmi) oluşturulur. Son olarak, spektrum (tayf) analizi yapılarak istenilen parametrelere ulaşılır.

Veri indirgemesi SAS v17.0 programı ile yapılmıştır. SAS yazılımının ESAS paketi kullanılarak otomatik temizleme kodlarından faydalanılmıştır. Gerekli kalibrasyon dosyaları kullanılarak veriler filtrelenmiştir. Kullandığımız gözlem, XMM-Newton uydusuna aittir ve bu uydunun üç adet kamerası vardır; MOS1, MOS2 ve PN. Veri indirgeme işlemi her bir kameraya ayrı ayrı uygulanmıştır ve her kamera için ayrı ayrı görsel oluşturulmuştur. SAS yazılımı kullanılarak “Toothbrush” için oluşturulan birleşmiş resim altta Şekil 1’de sunulmuştur. Şekil 1’de ayrıca incelenecek bölgeler de gösterilmektedir.

Şekilden de görüleceği üzere , güneyden kuzeye, şok dalgasına doğru bir hat çekilmiş, ve değişim bu şekilde incelenmiştir. Oluşturulan bölgeler XSPEC yazılımı ile çalışılmıştır. XSPEC, kümelerin spektrumunu modellediğimiz ve böylece parametreleri bulabildiğimiz bir yazılımdır. Spektrum (tayf) modellenirken, küme ışıması (Bremsstrahlung ve metal ışımaları) ile arka plan (background) ışıması hesaba katılmıştır. Küme ışıması için APEC modeli ile PHABS modeli kullanılmıştır. Arka plan modellemeleri için gerekli enerjilerde APEC, PHABS ve POWERLAW modelleri kullanılmıştır. Ayrıca uydunun kendi yapısından dolayı oluşacak gürültülerin önüne geçmek için sekiz adet GAUSSIAN modeli uygun enerjilere yerleştirilmiştir.

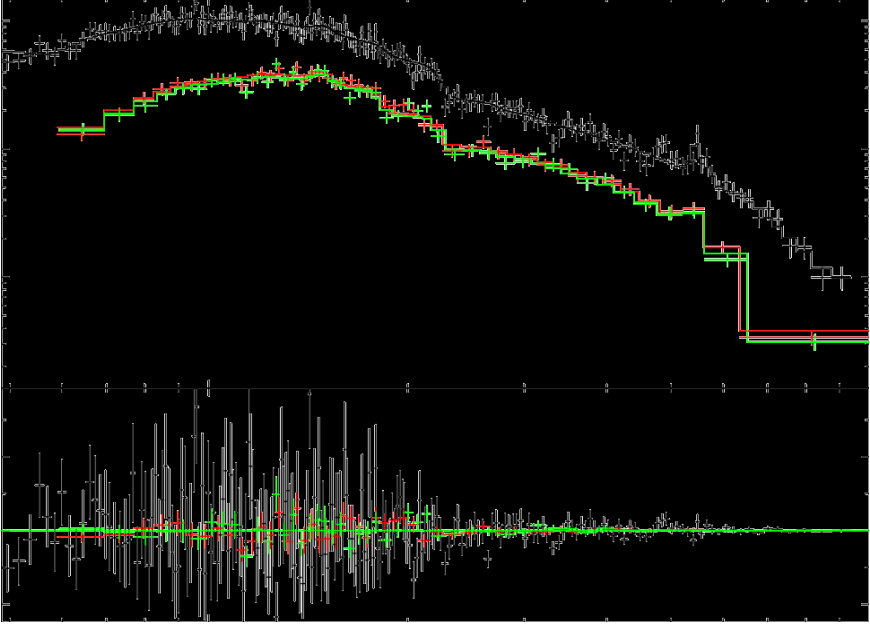


Şekil 1. “Toothbrush” galaksi kümesinin EPIC kamera (imaj) görüntüleri.

Enerji aralığı: 0.2-2 keV. Şok dalgası ise görsel üzerinde gözölmektedir ayrıca üzerinde çalışılmış bölgelerde işaretlenmiştir.

Bulgular

11 bölge, tarif edilen şekilde modellendikten sonra fizik parametreleri çıkartılmıştır. Şekil 2'de 3 numaralı bölgenin modellenmesi yer almaktadır. Şekil 3 ve Şekil 4 ise sırasıyla sıcaklık ve metal bolluğu dağılımının bölgeler bazında gösterimidir. Bu bulgular Toothbrush kümesine aittir.

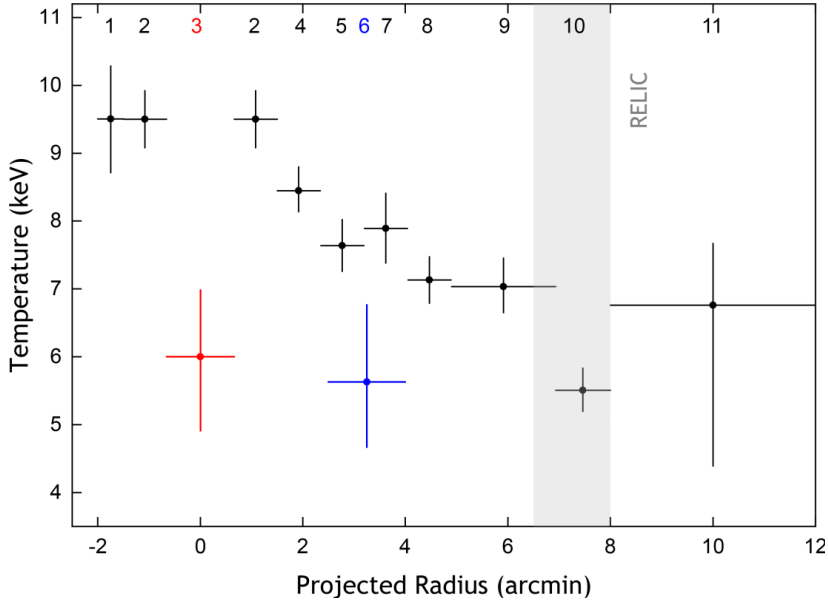


Şekil 2. *Toothbrush galaksi kümesinin güney merkezinin EPIC en iyi fit edilmiş spektrumu (tayfı), burada , X-ekseni : Enerji aralığı logoritmik olup, 0.5 -10 KeV, Y-ekseni : Normalize olmuş foton sayısı/(saniye.keV) yukardan aşağıya 0.1 den en altta 0.0001 arasındadır , spektrum altındaki (- - -) çizgiyle yatay olarak ayrılan bölüm ise rezidiüelleri göstermektedir.*

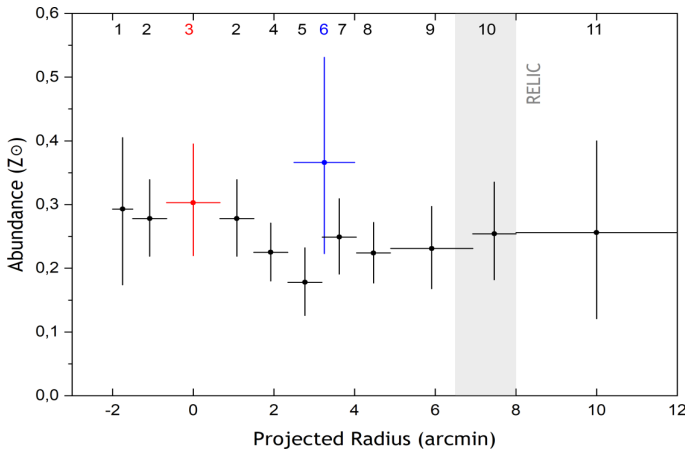
Alttaki Tablo 1 ise, Toothbrush galaksi kümesi 3. Bölgedeki fiziksel parametreleri göstermektedir. kT en iyi spektral fit ile elde edilen sıcaklık değeri ve hata değerleri, metal bolluğu Güneş cinsinden ve hataları , ayrıca $\chi^2 / \text{serbestlik derecesi}$ değerlerini göstermektedir.(1 eV= 11,600 derece Kelvin'e ya da 1 derece Kelvin= 8.621738×10^{-5} eV 'a karşılık gelmektedir).

Tablo1.

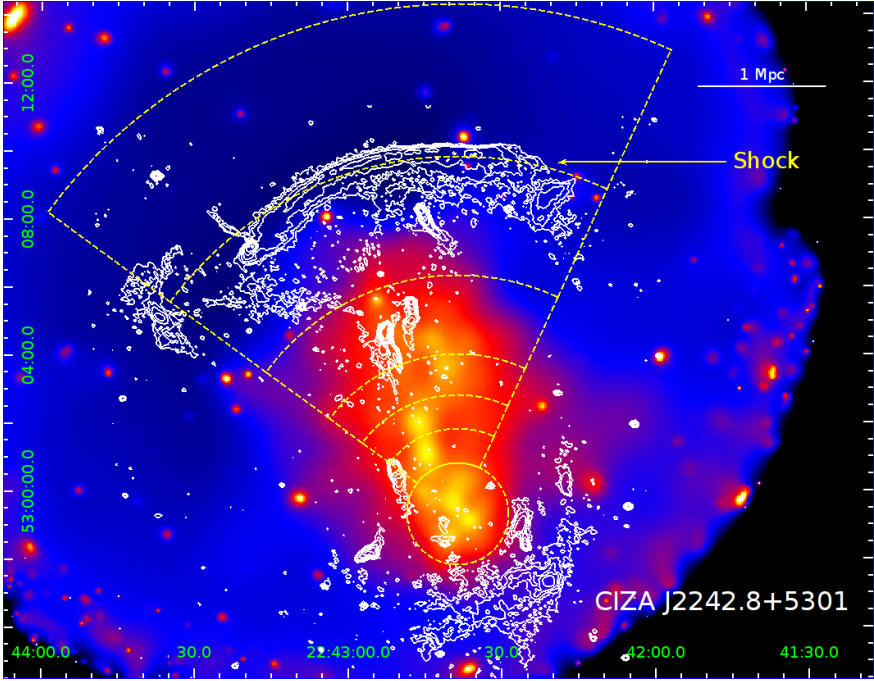
kT (keV)	Metal Bolluğu ($Z_{\odot}$)	Chi ² /dof
6.00	0.303	260/260
(+0.986,	(+0.092,	
-1.089)	-0.083)	



Şekil 3. Toothbrush kümesinin sıcaklık dağılımı. Gri alan şok dalgasını göstermektedir.



Şekil 4. Toothbrush kümesinin metal bolluğu dağılımı. Gri alan şok dalgasını göstermektedir.



Şekil 5: CIZA J2242.8+5301 (Sausage) kümesinin çıkarttığımız EPIC (imaj) görseli. Enerji aralığı: 0.2-2 keV. Şok dalgası görsel üzerinde gözükmektedir, üzerine çalılmış bölgeler işaretlenmiştir.

Sonuç

Sonuç olarak, Toothbrush ve Sausage galaksi kümelerinin metal bolluğu ve sıcaklığı incelenmiştir. 1RXSJ0603.3+4213 (Toothbrush) galaksi kümesinin metal bolluğu birleşme sonucu dağılmış gözükmektedir.

Çarpışmanın yarattığı şok dalgası metalleri çekirdekten alıp ara alanlara süpürmüştür, bu yüzden çıkarttığımız sonuçlarda çekirdeklerdeki yüksek metaller harici neredeyse düz bir dağılım gözükmektedir. Sıcaklığı ise merkezden uzaklaştıkça azalmakta, fakat en az değerler merkezlerde gözükmektedir. Bu da birleşme eyleminin soğuk merkezli kümenin merkezlerinin soğuk olarak kalabildiğini göstermektedir.

CIZA J2242.8+530 (Sausage) galaksi kümesi ise çekirdekte sıcaklık fazla olmasına karşın şok bölgesine gittikçe azalmaktadır. Bu da, CIZA J2242.8+530 kümesinin soğuk çekirdeklerinin 1RXSJ0603.3+4213 kümesi aksine birleşmeden kurtulamadığını göstermektedir. Metal bolluğu şok dalgasına gittikçe biraz artış göstermesine rağmen şok dalgası bölgesinde düşmektedir. Burada yaptığımız çalışmalarla birlikte Hollanda Ulusal Uzay Araştırma Kurumu (SRON) ortaklığında tamamı 7 galaksi küme-

sini içeren çok kapsamlı bir makale yayınladık. Makale , Astronomy & Astrophysics (A&A) dergisinde yayınlanmıştır, Bu makalede,benzer diğer galaksi kümeleri ve benzer özellikteki kümeler topluca yayınlanmıştır.

Bakınız:

Urdampilleta, I., F. Mernier, J. S. Kaastra, A. Simionescu, J. de Plaa, S. Kara ve E. N. Ercan, “Iron abundance distribution in the hot gas of merging galaxy clusters”, *Astronomy and Astrophysics*, 2019.

Öneriler

İki galaksi kümesine ve yayınlanan ortak makalede daha fazla sayıda kümeye XMM-Newton uydusundan gelen veriler çalışılmıştır. Chandra uydusunun görsel alanı daha çözünürlüklü olduğu için bu uydu ile daha küçük bölgelere bölerek de bakılabilir. Chandra uydusundan alınan X-ışın gözlemleri, çalışma grubumuz tarafından ilerletilmektedir.

KAYNAKLAR

- .Stefano Borgani, Andrey Kravtsov, *Cosmological Simulations of Galaxy Clusters*, 2011
- . Bruggen, M., R. van Weeren ve H. Rottgering, “Simulating the toothbrush: evidence for a triple merger of galaxy clusters”, *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, Vol. 425, pp. L76–L80, September 2012.
- . Brunetti, G. ve T. W. Jones, “Cosmic rays in galaxy clusters and their non-thermal emission”, *International Journal of Modern Physics D*, 29 Jan 2014.
- . Couch, M. et al., *The Three Dimensional Evolution to Core Collapse of a Massive Star*, 2015
- . Churazov, E. , A. Vikhlinin, I. Zhuravleva, A. Schekochihin, I. Parrish, R. Sunyaev, W. Forman, H. Böhringer ve S. Randall *MNRAS*, Vol. 421, p. 1603, 2012
- . Dennison, *Rise and Fall of Radio Halos in Simulated Merging Galaxy Clusters*, 1980
- . Ensslin et al., *SHOCK WAVES OF THE LARGE-SCALE STRUCTURE FORMATION IN THE UNIVERSE*, 1998
- . de Plaa, J., “The origin of the chemical elements in cluster cores”, *Astronomical Notes*, Vol. 334, pp. 416–421, 02 May 2013.
- . Feretti, L., Giovannini M. G., Govoni, F., Murgia, M. “Clusters of galaxies: observational properties of the diffuse radio emission”, *The Astronomy and Astrophysics Review* , Vol. 20, May 2012.
- . Francesco Miniati, a. T. W. J., H. Kang ve D. Ryu, “Cosmic-Ray Electrons in Groups and Clusters of Galaxies: Primary and Secondary Populations from a Numerical Cosmological Simulation”, *The Astrophysical Journal The American Astronomical Society*, July 2001.
- . Hoeft, M. Brueggen, G. Yepes, S. Gottloeber ve A. Schwabe, “Diffuse radio emission from clusters in the Mare Nostrum Universe simulation”, *MNRAS*, 8 July 2008.
- .Kaastra et al, *High- and Low-Energy Nonthermal X-Ray Emission from the Abell 2199 Cluster of Galaxies*, 1999
- .Loewenstein, M. *On Iron Enrichment, Star Formation, and Type Ia Supernovae in Galaxy Clusters*, 2000
- . Mernier, F., *From supernovae to galaxy clusters*, 2007.
- . F. Mernier et al., *Abundance and temperature distributions in the hot intra-cluster gas of Abell 4059*, 2015

- . Roediger, E., M. Brüggen, M. Owers, H. Ebeling ve M. Sun, “Star formation in shocked cluster spirals and their tails”, *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, p. 1–6, 25 September 2011
- . Ogrean, G. A., M. Brüggen, R. J. van Weeren, H. Röttgering, J. H. Croston ve M. Hoeft, “Challenges to our understanding of radio relics: X-ray observations of the Toothbrush cluster”, *MNRAS*, 6 March 2013.
- . Sarazin, C. L., “Basic Properties of Clusters of Galaxies and The Physics of the Intracluster Gas” Cambridge University Press, 1988
- . Sarazin, C. L., “X-ray emissions from clusters of galaxies”, *Cambridge Astrophysics Series*, 1988.
- . Stroe, A., D. Sobral, W. Dawson, M. J. Jee, H. Hoekstra, D. Wittman, R. J. van Weeren, M. Brüggen ve H. J. A. Röttgering, “The rise and fall of star formation in z 0.2 merging galaxy clusters”, *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, Vol. 450, pp. 646–665, June 2015.
- . Urdampilleta, I., F. Mernier, J. S. Kaastra, A. Simionescu, J. de Plaa, S. Kara ve E. N. Ercan, “Iron abundance distribution in the hot gas of merging galaxy clusters”, *Astronomy and Astrophysics*, June 2019.
- . Vikhlinin, A., A. Kravtsov, W. Forman, M. M. C. Jones, S. S. Murray ve L. V. Speybroeck, *ApJ*, Vol. 640, p. 691, 2006. 16
- . Voit, G. M., “Reviews of Modern Physics”, *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, Vol. 77, p. 207, 2005.
- . Zwicky, F., *ApJ*, p. 217, 1937

Bölüm 2

BURAZOL BLUE ED BOYASININ ANAEROBİK-AEROBİK ARDIŞIK SİSTEMLERDE ARITIMI

Cansu FİLİK İŞÇEN¹

Burcu AKÇAL ÇOMOĞLU²,

Semra İLHAN³

¹ Prof.Dr.,Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Eskişehir

² Dr, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir

³Prof.Dr.,Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

GİRİŞ

Boyalar, dünyayı renkleriyle daha güzel yapan doğal ve ksenobiyotik maddelerdir. Dünyada 100.000'nin üzerinde ticari boya vardır ve her yıl 10⁹kg üzerinde boyar madde üretilmektedir. Üretilen boyaların %20-25'i atık olarak doğal alıcı ortama verilmektedir. Üretilen yıllık boya miktarının yarısından fazlasını bir veya daha fazla azo bağı (-N=N-) içeren azo boyalardır Bu boyar maddeler, renkleri, biyolojik olarak zor parçalanmaları ve canlılar üzerinde toksik etkileri sebebiyle alıcı ortama karıştıklarında sorun oluşturmaktadırlar. Tekstil ürünlerine günümüzde fazla talep olmasıyla, tekstil endüstrisi ve süreç sonunda oluşan boyar madde içeren atık sulara artmıştır, bu da dünya çapında ciddi kirlilik problemlerinin ana kaynaklarından biridir. Tekstil atık suları, içerdikleri farklı kimyasal maddelerden ve özellikle de boyar maddeler sebebiyle arıtımı güç olan atık sular sınıfına dahil edilmektedir [1]. Tekstil endüstrisinde kullanılan boyar maddelerin yüzey sularına deşarjının ekolojik dengeyi bozması sebebiyle deşark öncesi muhakkak arıtım uygulama gereği ortaya çıkmıştır. Bu alanda yapılan çalışmalar giderek önem kazanmaktadır [2,3].

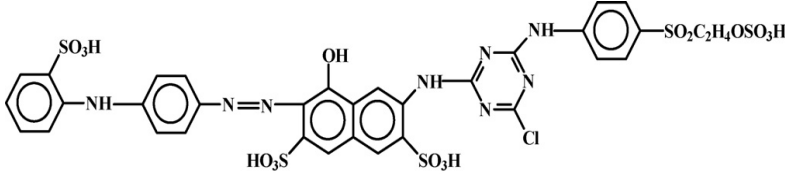
Azo boyar maddesi içeren atık suların arıtımında genellikle kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemlerin dezavantajları nedeniyle uygulama alanı kısıtlanmaktadır. Bu tarz atık sular için biyolojik arıtım yöntemleri planlanmaktadır. Yapılan çalışmalar azo bileşiklerinin biyolojik olarak parçalanması ve renksizleştirilmesinin anaerobik süreçlerle gerçekleştiğini göstermiştir [4,5,6]. Anaerobik koşullar altında oluşan ara ürünler daha ileri bir kademeye ayrışmamakta, ancak aerobik koşullar altında oluşan aromatik bileşikler hidrosil (OH-) grubunun ayrılması ve halka açılması yolu ile parçalanabilmektedir [7]. Bu nedenle azo boyar maddeleri içeren atık suların renklerinin giderilmesi için birinci aşama anaerobik şartlarda azo köprüsünün parçalanması, ikinci aşama ise anaerobik arıtım ile oluşan aromatik aminlerin aerobik koşullarda parçalanmasıdır [8].

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde de yaygın olarak kullanılan Burazol Blue ED (BBED) azo boyasının anaerobik/aerobik ardışık sistemlerde arıtılabilirliğini ortaya koyarak, bu tip atık suları oluşturan işletmelere alternatif arıtım yöntemleri sunmaktır.

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Sentetik atık su ve analitik yöntemler

Bu araştırmada kullanılan Burazol Blue ED ($C_{38}H_{41}N_8O_{16}S_5$ C-1:1061.54g/mol⁻¹) Bursa ilinde faaliyet gösteren tekstil, deri ve kağıt boyar maddelerinin üretildiği fabrikadan sağlanmıştır (Şekil 1). Boyar madde-den hazırlanan çözeltinin absorpsiyon spektrumu taraması yapılmış ve maksimum absorbans verdiği dalga boyu 592.5 olarak belirlenmiştir.



Şekil 1. BBED boyasının moleküler yapısı

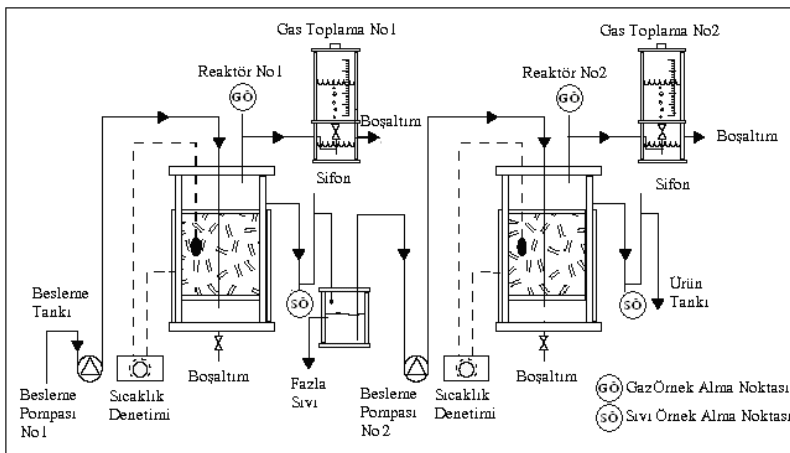
pH, alkalinite, uçucu yağ asitleri, renk, KOİ, Askıda Katı Madde (AKM), Uçucu Askıda Katı Madde (UAKM) analizleri standart yöntemlere göre yapılmıştır [9].

İnokulum çeşitleri

Reaktör çalışmasında kullanılan anaerobik çamur Ankara Merkezi Atık Su Arıtma Tesisi anaerobik arıtım biriminden, aerobik arıtımda kullanılan aktif çamur ise Eskişehir Su ve Kanalizasyon İşletmesi atık su arıtım tesisinin biyolojik arıtım biriminden alınmıştır.

Yukarı akışlı dolgulu yatak reaktör (YADYR)

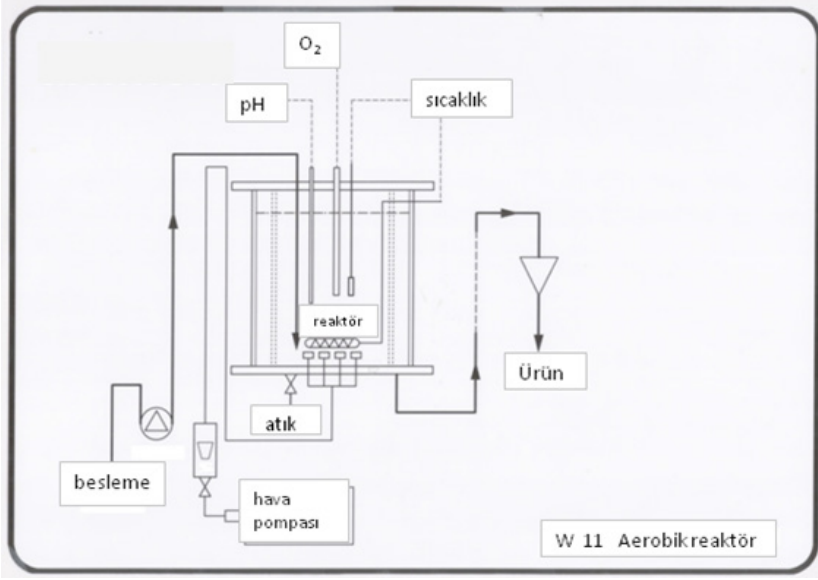
Çalışmada kullanılan dolgulu yatak reaktör Şekil 2’de görülmektedir. Sistem 5 litre sıvı hacmine sahip iki reaktörden oluşmaktadır. Reaktörlerin çalışma hacimleri ise 4.3 litredir. Peristaltik pompa ile değişik hızlarda besleme yapılabilir. Reaktörde plastik dolgu maddesi kullanılmıştır. İlk reaktörden çıkan sıvı toplama kabına gitmektedir. 1 ve 2. reaktörlerde üretilen gaz 5 litre kapasiteli kaplarda toplanmaktadır. Gaz toplama, su yer değişimi esasına göre olmaktadır. Her reaktör elektrikli ısıtma bataniyesi ile ısıtılmaktadır. Metanojenik olarak aktif olan inokulum çamuru reaktöre 2.5 litre eklenerek reaktör bir süre kendi haline bırakılmıştır.



Şekil 2. Yukarı akışlı anaerobik dolgulu yatak reaktör

Sürekli karıştırılmalı tank reaktör (SKTR)

Çalışmada kullanılan sürekli karıştırılmalı tank reaktör Şekil 3’de görülmektedir. Reaktörün çalışma hacmi 5 litredir.. Besleme peristaltik pompa ile değişik hızlarda sağlanmaktadır. Atık su verilmeden önce 3 litre aktif çamur eklenerek havalandırma yapılmıştır.



Şekil 3. Sürekli karıştırılmalı aerobik tank reaktör

Aromatik aminlerin belirlenmesi

Kullanılan azo boyanın kimyasal indirgenmesi ile oluşan toplam aromatik aminler (TAA) ön işlemler sonucunda oluşan rengin 440 nm’de absorbansının ölçümü ile belirlenmiştir [10, 11].

Metan gazının belirlenmesi

Reaktör çalışmalarında gaz üretimleri sıvı yer değiştirme yöntemi ile ölçülmüştür. Reaktördeki gaz toplama bölümüne 20 g l⁻¹ KOH içeren sıvı konulmuştur. Kalan gaz, atık suyun anaerobik parçalanmasının sonucu olarak yaklaşık üretilen metan gazına denk gelmektedir [12,13].

Toksisite çalışmaları

Anaerobik arıtım ve anaerobik/aerobik arıtım sonunda elde edilen arıtılmış suyun deşarj edildiğinde alıcı ortamda toksik etkisinin olup olmadığı Microtox toksisite ölçüm cihazı ile yapılmıştır. Microtox testi üretici firma tarafından belirtilen standart metotlara göre deniz bakterisi *Vibrio fischeri* kültürü kullanılarak, %2 NaCl canlandırma çözeltisi içinde, 15°C’de, 490 nm dalga boyunda, toksik maddelerin varlığında kültürün ışık yayma özelliğinin azalmasıyla belirlenmiştir. Sonuçlar 5 ve 15 dakik-

kada ışık yayılımının %50 sinin kaybolduğu (EC_{50}) konsantrasyon olarak ifade edilmektedir [14].

SONUÇLAR

İnokulum özellikleri

Reaktör çalışmalarında kullanılan anaerobik ve aktif çamurlara ait bazı özellikler Tablo 1’de verilmektedir.

Tablo 1. Anaerobik ve aerobik çamurların özellikleri

Parametre	Anaerobik çamur	Aktif çamur
pH	7.3	7.2
AKM(g l ⁻¹)	60.0	3.2
UAKM (g l ⁻¹)	38.0	1.2

Aktif çamurun ayrıca mikroskopik incelemesi yapılmış bakteri flokları ve siliatların mevcut olduğu gözlenmiştir.

Anaerobik reaktör sonuçları

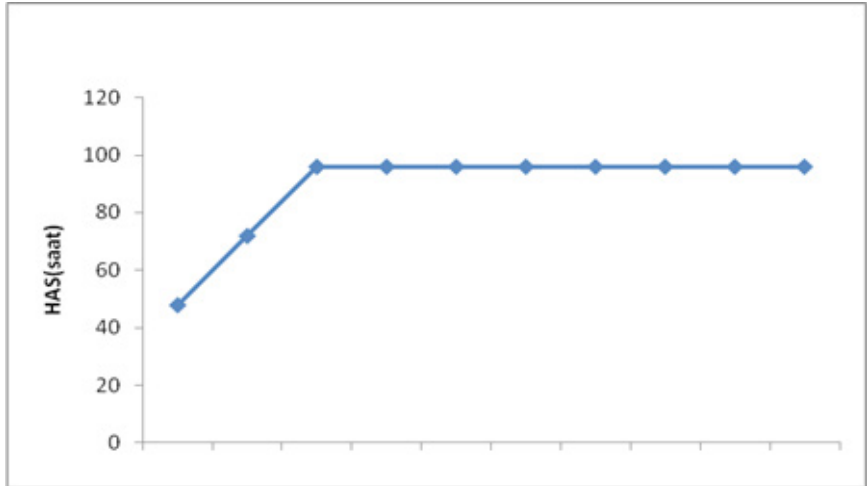
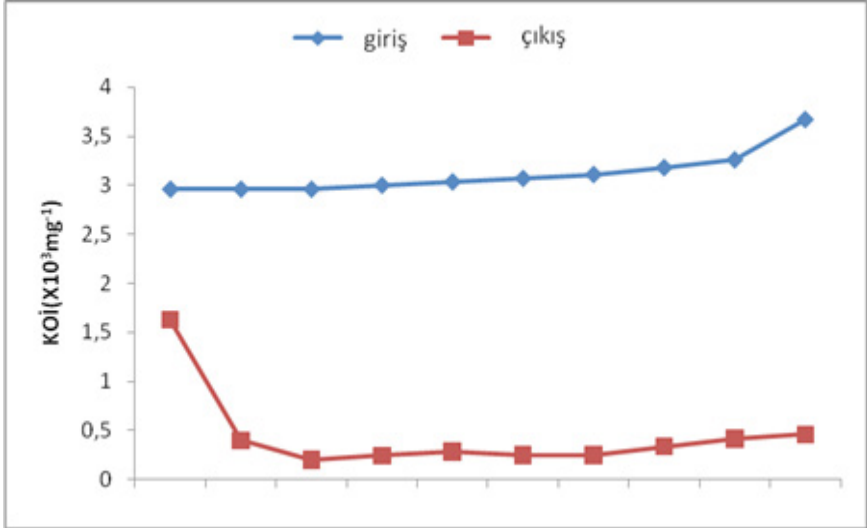
Toplam 266 gün süren BBED boyası ile yapılan çalışmalar boyunca organik yük 0.74-1.48 g KOİ l⁻¹ gün aralığında değiştirilmiştir. Deneme süresince elde edilen veriler Tablo 2’de verilmiştir. Şekil 4 ve 5’de 266 gün boyunca uygulanan hidrolik alıkonma süresi (HAS), giriş ve çıkış KOİ değerleri, absorbans değerleri, organik yükleme oranları (OYO), oluşturulan metan ve toplam aromatik amin (TAA) verilmektedir.

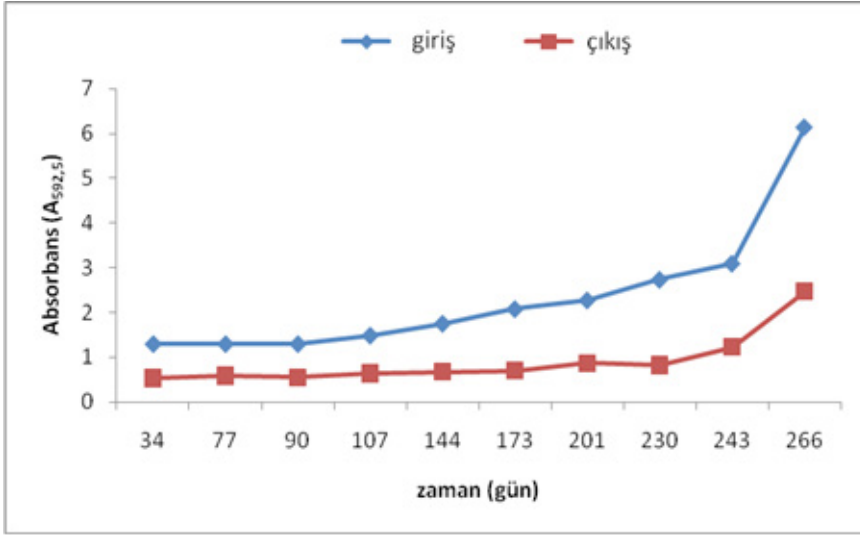
Tablo 2. Anaerobik reaktör sonuçları

Giriş parametreleri							Çıkış parametreleri									
Gün	HAS (saat)	KOİ	Renk(A)/boya kons (ppm)	pH	OYO	Alk	KOİ	Renk (A)	pH	Biyogaz (CH ₄)	Alk	UYA	KOİ Gid. (%)	Renk Gid. %	U/A	TAA
1-34	48	2960	1.306/100	7.1	1.48	4000	1631	0.539	7.7	0.280	1569	704	44.89	58.72	0.448	62
35-77	72	2960	1.306/100	7.1	0.986	4000	400	0.589	7.8	0.557	1351	524	86.48	54.9	0.387	74
78-90	96	2960	1.306/100	7.1	0.74	4000	201	0.549	7.6	1.047	1320	405	93.2	57.96	0.306	80
91-107	96	3000	1.495/125	7.1	0.75	4000	244	0.632	7.8	1.233	1302	490	91.86	57.72	0.376	62
108-144	96	3035	1.760/150	7.1	0.758	4000	281	0.673	7.4	1.319	1428	546	90.74	61.76	0.382	70
145-173	96	3070	2.085/175	7.1	0.767	4000	249	0.7	7.7	1.303	1377	545	91.88	66.42	0.395	82
173-201	96	3110	2.28/200	7.1	0.777	4000	245	0.868	7.5	1.287	1375	491	92.12	61.92	0.357	75

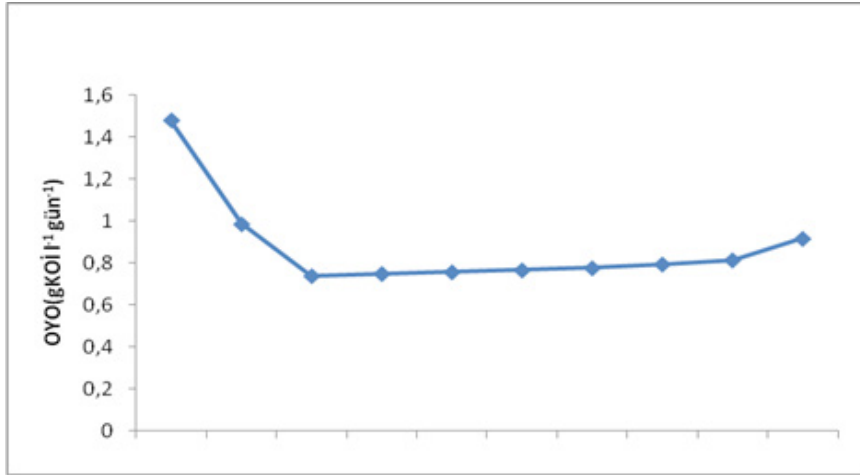
202-230	96	3180	2.74/ 250	7.1	0.795	4000	337	0.82	7.7	1.257	1370	471	89.4	70.07	0.343	79
231-243	96	3260	3.1/ 300	7.1	0.815	4000	415	1.23	7.7	1.145	1655	553	87.26	60.32	0.334	80
244-266	96	3670	6.14/ 600	7.1	0.917	4000	460	2.47	7.6	0.872	1519	820	87.46	59.77	0.539	77

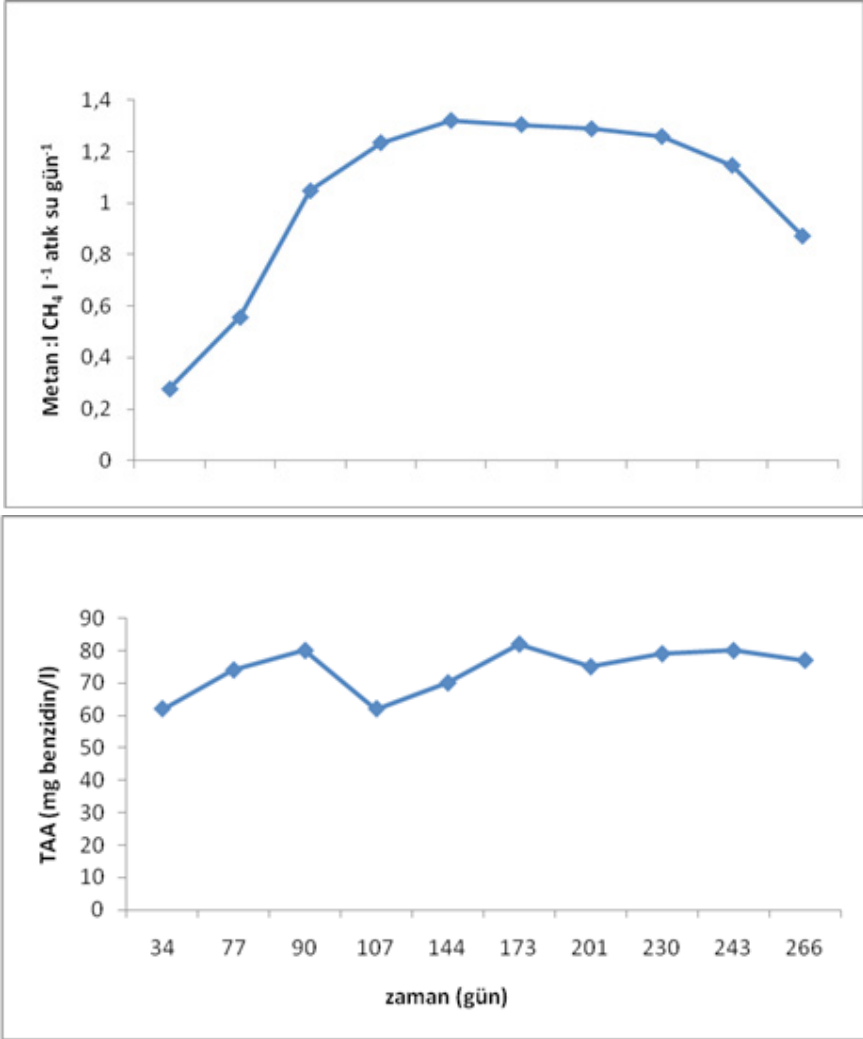
KOI(mg l^{-1}); AKM (mg l^{-1}); OYO ($\text{g KOI l}^{-1} \text{gün}^{-1}$); alk :bikarbonat alkalitesi ($\text{mg CaCO}_3 \text{l}^{-1}$); UYA (mg l^{-1}); metan:l $\text{CH}_4 \text{l}^{-1}$ atık su gün^{-1} ; TAA: (benzidin mg l^{-1}), A: absorbans





Şekil 4. Anaerobik reaktörde arıtım sürecindeki değişimler: giriş ve çıkış KOİ, HAS, giriş ve çıkış renk absorbans değerleri.





Şekil 5. Anaerobik reaktörde arıtım sürecindeki değişimler: OYO, Metan, TAA.

Aerobik reaktör sonuçları

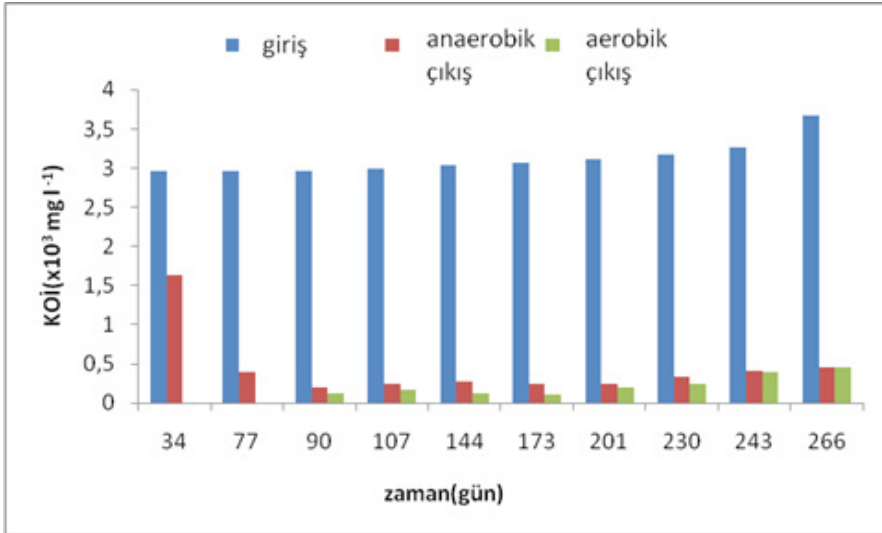
Anaerobik reaktörde 96 saatlik hidrolik alıkonma süresine geçildikten sonra (78. gün) çıkan atık su aerobik reaktöre verilmeye başlanmıştır. Hidrolik alıkonma süresi 24 saat olan aerobik reaktör ilk 77 günde devreye alınmamıştır. Aerobik arıtım çalışmaları 185 gün sürmüştür. Arıtım sonuçları Tablo 3'te verilmiştir. Çalışmada ortalama olarak anaerobik reaktörde KOİ giderim verimi ortalama % 85 iken, anaerobik-aerobik kombine sistemde bu oran %93 olarak elde edilmiştir. Renk giderimi açısından bakıldığında ise anaerobik reaktörde %61 renk giderimi elde

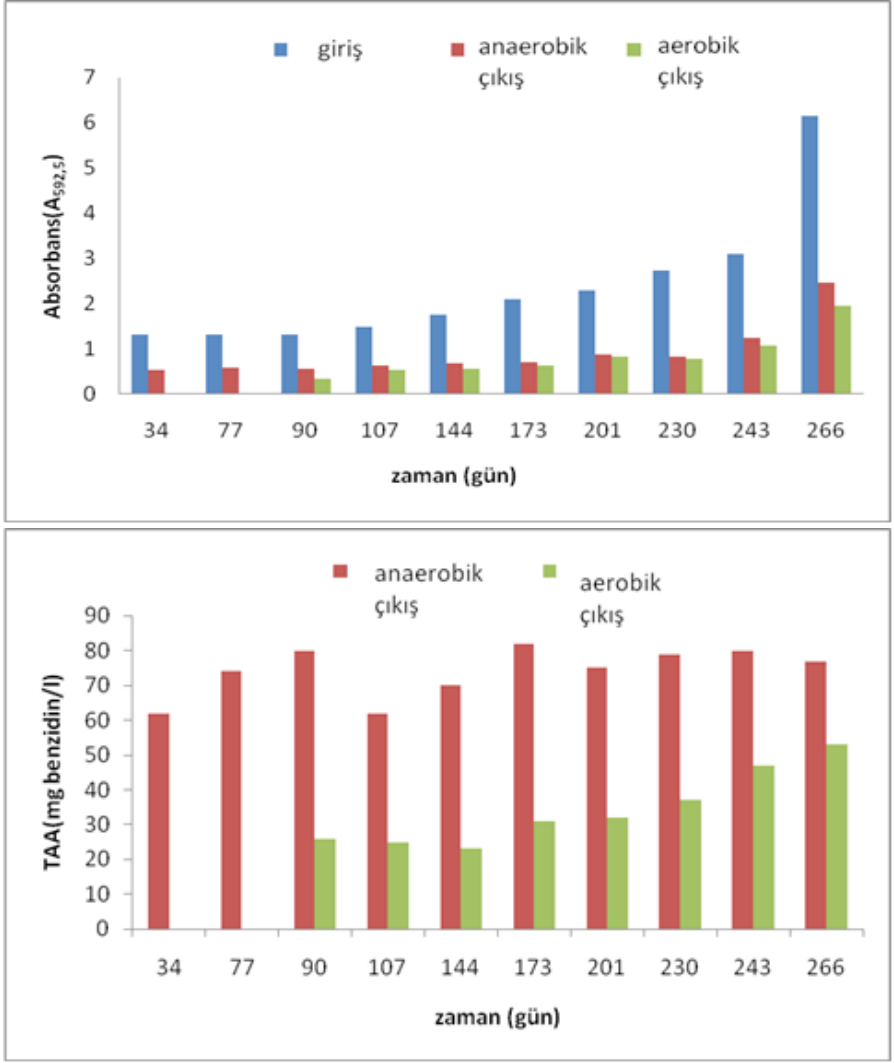
edilirken, anaerobik-aerobik ardışık sistemde % 68 olarak bulunmuştur. Şekil 6'da giriş, anaerobik çıkış ve anaerobik-aerobik ardışık reaktör çıkış boya konsantrasyonu, KOİ miktarı ve TAA değerleri verilmiştir. İlk 77 günde aerobik reaktör devreye alınmadığı için grafikte bu günlerin değerlendirilmesine yer verilmemiştir.

Tablo 3. Anaerobik-Aerobik Ardışık Reaktör Sonuçları

Anaerobik reaktör giriş			Aerobik reaktör çıkış				
Gün	Renk (A) / boya kons (ppm)	KOİ	Renk (A)	Renk giderimi %	KOİ	KOİ giderimi %	TAA
1-42	1.306/ 100	2960	0.339	74.042	127	95.709	26
43-55	1.495/ 125	3000	0.533	64.347	169	94.366	25
56-80	1.76/ 150	3035	0.568	67.727	124	95.914	23
81-109	2.085/ 175	3070	0.635	69.544	110	96.416	31
110-138	2.28/ 200	3110	0.834	63.421	200	93.569	32
139-167	2.74/ 250	3180	0.774	71.751	243	92.358	37
168-180	3.1/ 300	3260	1.061	65.774	400	87.73	47
181-185	6.14/ 600	3670	1.947	68.289	457	87.547	53

KOİ(mg l⁻¹); A: absorbans; TAA:(benzidin mg l⁻¹)





Şekil 6. Ardışık sistemde arıtım sürecindeki değişimler

Toksisite sonuçları

Giriş BBED sentetik atık suyunun toksisitesi ortalama olarak $EC_{50} = 112 \pm 0.2$ ile 114 ± 0.4 mg/l bulunmuştur. Anaerobik arıtım sonrası toksik değerinin ana forma göre arttığı gözlenmiştir (ortalama değerler $EC_{50} = 39 \pm 0.8$ ile 34 ± 0.4 mg/l). Aerobik arıtım sonrası ise çıkış suyunun toksisitesinin ana forma göre azaldığı belirlenmiştir (ortalama değerler $EC_{50} = 148 \pm 0.5$ ile 149 ± 0.4 mg/l).

Tablo 4’de çalışmada elde edilen toksisite değerleri verilmiştir.

Tablo 4. Azo boyanın toksisite değerleri

Anaerobik reaktör (mg l ⁻¹)				Aerobik reaktör (mg l ⁻¹)	
Giriş		Çıkış		Çıkış	
5 dakika	15 dakika	5 dakika	15 dakika	5 dakika	15 dakika
BBED	112±0.2	114±0.4	39±0.8	34±0.6	148±0.5
					149±0.4

TARTIŞMA

Ülkemiz endüstrisinin itici gücü konumundaki tekstil endüstrisi Türkiye’nin ihracat potansiyeli içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu endüstri dalının sağlıklı gelişimini tamamlayabilmesi için çevre faktörünün de göz önünde tutulması gerekmektedir. Tekstil endüstrisi atık sularının deşarjı sonucu alıcı sulara karışan azo boyar maddeler, kanserojen ve mutajenik özellikte olmalarından dolayı atık su arıtımında gün geçtikçe daha fazla önem kazanmaktadır [15].

Çalışma kapsamında bir tekstil fabrikasından temin edilen BBED ile yapılan kesikli reaktör çalışmalarından elde edilen sonuçlar doğrultusunda sürekli reaktör çalışmaları planlanmıştır [16]. Kesikli reaktör çalışmalarında, boya konsantrasyonun 0.3 g/l ve glukoz miktarı 3 g/l olduğunda en yüksek KOİ giderimi elde edildiği için sürekli çalışmalarda bu sonuçlar temel alınarak başlatılmıştır [16]. Anaerobik arıtımın ekonomik ve verimli olabilmesi için başlıca organik yükleme oranı (OYO), hidrolik alıkonma süresi (HAS), giriş KOİ değeri gibi parametrelerin optimizasyonu gerekmektedir ve bu parametreler değiştirilerek 266 gün boyunca renk ve KOİ giderimi başta olmak üzere Tablo 2’de belirtilen parametreler takip edilmiştir. Bu süreç içerisinde; reaktörde optimum koşullara ulaşıncaya kadar HAS 48 saatten 96 saate kadar artırılmıştır. Daha sonra HAS sabit tutularak (96 saat) OYO değiştirilerek KOİ ve renk giderimi takibi yapılmıştır. Buna bağlı olarak organik yükleme günde 0.74-1.48 g KOİ l⁻¹ arasında değişmiş olup, KOİ giderimi %45-93 arasında değişmiştir. Organik yüklemenin günde 1.48 g KOİ l⁻¹ olduğunda KOİ giderimi %45’tir. Atık suyun reaktöre veriliş hızıyla orantılı olarak çıkış KOİ’sindeki yüksek de-

ğer HAS' nin yetersiz olduğunu göstermektedir. Başka bir deyişle, giriş suyunun hızı, atık suyun etkili arıtımı için reaktörde yeterli süre kalmasını engellemektedir. Benzer bir çalışmada, Santos ve diğerleri (2005), sentetik tekstil endüstrisi atık suyunun anaerobik çamur yatak reaktörde arıtımı sırasında HAS'ın 100 saatten 6 saate indirilmesi durumunda KOİ giderim oranının %80'den %59'a düştüğünü bildirmişlerdir [17].

Anaerobik reaktör çalışmalarında HAS 96 saat olarak sabit tutulduktan sonra giriş boya konsantrasyonu 100 mg l^{-1} 'den 600 mg l^{-1} ye kadar yükseltilmiştir. Reaktörde 202-230 günler arasında uygulanan 250 mg l^{-1} 'lik boya konsantrasyonunda en yüksek renk giderimine (%70) ve %89.4'lük KOİ giderim değerine ulaşılmıştır. Bu koşullarda oluşan metan gazı ve aromatik amin miktarları da yüksek seviyededir. Boya konsantrasyonun 250 mg l^{-1} 'den daha yüksek değerlerinde renk giderimi azalmaktadır. Bu azalma, boyanın yüksek konsantrasyonlarında bakteri aktivitesini inhibe etmesinden kaynaklanabilmektedir. Toksisite test sonuçlarına göre, giriş BBED boyasının bulunduğu sentetik atık suyunun toksik değeri ortalama $EC_{50} = 116$ (5 dakikalık sonuç) ile 121 mg l^{-1} (15 dakikalık sonuç) bulunmuştur. 250 mg l^{-1} den yüksek boya konsantrasyonu reaktöre verildiğinde, boya reaktördeki anaerobik çamurla karışarak seyrelmekte ve bakteri inhibisyonunun başladığı derişime ulaştığı düşünülmektedir. Anaerobik artımdan sonra sentetik atık su aerobik reaktöre ardışık olarak verilmiştir. Çalışmada ortalama olarak anaerobik reaktörde KOİ giderim verimi yaklaşık % 85 iken, anaerobik-aerobik kombine sistemde %93 olarak elde edilmiştir. Renk giderimi açısından ise anaerobik reaktörde %61 iken, anaerobik-aerobik kombine sistemde %68 olarak bulunmuştur. O'Neill ve diğerleri (2000) tarafından yapılan bir çalışmada 3343 mg l^{-1} 'lik giriş KOİ'sine sahip tekstil endüstrisi atık suyu, YAÇYR de 1 günlük HAS'de %72,9 giderim oranıyla 906 mg l^{-1} 'ye düşerken, %12 giderim oranıyla aerobik reaktörle 16 saat'lik HAS'de 507 mg l^{-1} 'ye düşürülerek toplamda %84.8'lik bir KOİ giderim verimi elde edilmiştir. Renk giderim verimleri ise anaerobik reaktörde %64 olurken, anaerobik-aerobik ardışık sistemde % 75.1 olarak bulunmuştur [18].

Azo boyar maddeleri anaerobik koşullarda azo çekirdeğinin kırılması sonucunda rengini kaybetmekte ve ara ürün olarak aromatik aminler oluşmaktadır [7]. Oluşan ara ürünler ancak aerobik kademede giderilmektedir. Anaerobik/Aerobik ardışık sistemin toplam aromatik amin giderim sonuçları Şekil 6'da verilmiştir. Azo boyanın kimyasal indirgenmesi sonucunda elde edilen veriler başlangıç değeri kabul edilmiştir. Anaerobik reaktör çıkışında elde edilen TAA değerleri bu kademede TAA'ların biriktiğini gösterirken aerobik kademede %54 olarak elde edilen giderim verimi kısmi olarak oluşan ara ürünlerin giderildiğini göstermektedir. Benzer bir çalışmada, Işık ve Sponza (2004), sentetik pamuklu tekstil atık suyunu HÇYR/aerobik tam karışımli reaktör (TKR) düzeninde arıtımında %92 KOİ giderimi ve tam renk giderimi ile etmilerdir [8].

Çalışma boyunca sürekli izlenen pH, alkalinite ve UYA/Alkalinite değişimi anaerobik arıtım sürecinin kararlılığı hakkında önemli bilgiler sağlar. pH değerleri incelendiğinde reaktörde uygulanan tüm HAS ve OYO denemelerinde pH 7.4 ile 7.8 arasında değişmiştir. Bu kararlılık karbonat/bikarbonat tamponlanmasından kaynaklanmaktadır. 1000 mg l⁻¹ altındaki alkalinite değerlerinde tamponlama yetersizdir. Bu yüzden, düşük alkaliniteye sahip bu atık suya 4 g l⁻¹ NaHCO₃ ilave edilmiştir. Tamponlama işlemi, reaktörde metanojenik bakterilerin en iyi geliştiği pH aralığını korumaktadır. Yüksek pH değerleri ve tamponlama kapasitesi reaktörün asitlenmesine karşı bir garantidir. UYA/Alkalinite oranları süreç kararlılığının takibinde kullanılmaktadır. UYA/ Alkalinite oranının 0.3-0.54 arasında değiştiği görülmektedir (Tablo 2). Arıtım süreci boyunca UYA/Alkalinite oranı 0-34 günler ve 244-266 günler haricinde kararlı değer olan 0.4'den düşük olmuştur. Reaktörün ilk 34 gününde uygulanan HAS'ın 48 saat olması sebebiyle organik yükleme oranı yüksek olmuş ve metanojenlerin aktif olmasına fırsat verilmediği anlaşıldığı için hidrolik alıkonma süresi 72 saate daha sonra da 96 saate yükseltilmiştir. Son 20 günde ise giriş boya konsantrasyonu 600 mg l⁻¹ olduğunda metanojenlerin büyümelerinin inhibe olduğu düşünülmektedir. Her bir organik yükleme çalışmasında anaerobik dolgulu yatak reaktörde elde edilen metan üretim değerleri Tablo 2'de görülmektedir. Reaktörde metan üretimi en düşük 0.280 CH₄ l⁻¹gün⁻¹ den en yüksek 1.319 CH₄ l⁻¹gün⁻¹ arasında değişmiştir. Metan verimi, organik yükleme günde 1.48 g KOİ l⁻¹ olduğunda 0.281 CH₄ l⁻¹ atık su gün⁻¹ olarak göstermiştir. Organik yükleme günde 0.758 g KOİ l⁻¹'e düşürüldüğünde metan veriminde artış gözlenmiştir.

Giriş BBED sentetik atık suyunun toksisite değeri ortalama olarak EC₅₀ = 112±0.2 ile 114±0.4 mg l⁻¹ bulunmuştur. Anaerobik arıtım sonrası toksisite oranının ana forma göre arttığı gözlenmiştir (ortalama değerler EC₅₀ = 39 ile 34 mg l⁻¹). Aerobik arıtım sonrası ise çıkış suyunun toksisitesinin ana forma göre azaldığı belirlenmiştir (ortalama değerler EC₅₀ = 148 ile 149 mg l⁻¹). Boyanın anaerobik arıtımı sırasında oluşan aromatik aminlerin toksisiteyi artırdığı söylenebilir. Aerobik arıtım sonrası ise toksisite, aromatik aminlerin kısmen giderilmesiyle azalmıştır. Benzer bir çalışmada, Gottlieb ve diğerleri (2003) Reactive Black 5 azo boyasının anaerobik arıtım sonrası toksisitesinin arttığını, aerobik arıtım sonrası ise azaldığını bildirmişlerdir [19].

Sonuç olarak çalışmada kullanılan BBED boyası anaerobik kademede, yapılarındaki azot bağlarının kopmasıyla renk giderimi gerçekleşmiş ve aromatik aminler oluşmuştur. Oluşan bu ara ürünler ise aerobik kademede kısmen giderilmiştir. Sonuçlar, karışık mikrobiyal kültürün yüksek renk giderici etkinliği olduğunu göstermektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Projeleri Komisyonu (Proje No:2007/21034) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1]. Dos Santos, A. B.,Cervantes F.J. ve Van Lier J.B., Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology, **Bioresource Technology** 98(12): 2369-2385, (2007).
- [2]. Weisburger, J., Comments on the history and importance of aromatic and heterocyclic amines in public health 1, **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis** 506: 9-20, (2002).
- [3]. Venkatesh Babu, S. ve Raghupathy M.,Anaerobic treatment of textile dye wastewater using mixed culture in batch reactor,**Advanced Chemical Sciences** 2(2):233-236, (2016).
- [4]. Cariell-Marquet, C., Barclay, S.J. ve Naidoo, N., Microbial decolourisation of a reactive azo dye under anaerobic conditions., **Water SA** 21(1): 61-69, (1995).
- [5]. Gingell, R. ve Walker R., Mechanisms of azo reduction by Streptococcus faecalis II. The role of soluble flavins, **Xenobiotica** 1(3): 231-239, (1971).
- [6]. Işık, M. ve Sponza, D., Effect of different oxygen conditions on decolorization of azo dyes by Escherichia coli, Pseudomonas sp. and fate of aromatic amines, **Process Biochemistry**, 38, 1183-1192, (2003).
- [7]. Haug, W., Schmidt, A., Nörtemann, B., Hempel, D., Stolz, A. ve Knackmuss, H., Mineralization of the sulfonated azo dye Mordant Yellow 3 by a 6-aminonaphthalene-2-sulfonate-degrading bacterial consortium, **Applied and Environmental Microbiology** 57(11): 3144, (1991).
- [8]. Işık, M. ve Sponza, D.T., Simüle tekstil atık suyunun anaerobik/aerobik arıtımı, **Ekoloji Dergisi**, 14, 53, 1-8, (2004).
- [9]. APHA-AWWA-WPCF., **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 18th Ed., Washington DC., American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, 10-137 p, (1992)
- [10]. Oren, A., Gurevich, P. ve Henis, Y., Reduction of nitrosubstituted aromatic compounds by the halophilic anaerobic eubacteria Haloanaerobium praevalens and Sporohalobacter marismortui, **Applied and Environmental Microbiology** 57(11): 3367-3370, (1991)
- [11]. Pielesz, A., The process of the reduction of azo dyes used in dyeing textiles on the basis of infrared spectroscopy analysis, **Journal of Molecular Structure** 511: 337-344, (1999)
- [12]. Vidal, G., Carvalho, A., Mendez, R. ve Lema, J., Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters, **Bioresource Technology** 74(3): 231-239, (2000).

- [13]. Demirer, G., Duran M., Erguder T.H., Güven E., Ugurlu Ö ve Tezel U., Anaerobic treatability and biogas production potential studies of different agro-industrial wastewaters in Turkey, **Biodegradation** 11(6): 401-405, (2000).
- [14]. Gottlieb, A., Shaw, C., Smith, A., Wheatley, A. ve Forsythe, S., The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation, **Journal of Biotechnology** 101(1): 49-56, (2003).
- [15]. Kurtoğlu, N. ve Şenol, D., 2004, Tekstil ve Ekolojiye Genel Bakış, Karsinojen ve Allerjik Etki Yapabilen Tekstil Kimyasalları, **KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi** 7: 26-31.
- [16]. Akcal B., İlhan S., Iscen C.F. ve Yavuz A.A., Statistical optimisation for decolourisation of burazol blue ed using anaerobic conditions, **Fresen. Environ. Bull.**, 20 2059-2064, (2011).
- [17]. Santos, A.B., Bisschops, I.A.E. ve Cervantes, F. J., The transformation and toxicity of anthraquinone dyes during thermophilic (55 °C) and mesophilic (30 °C) anaerobic treatments, **Journal of Biotechnology**, 115, 345–353, (2005).
- [18]. O’neill, C., Lopez, A., Esteves, S., Hawkes, F., Hawkes, D. ve Wilcox, S., Azo-dye degradation in an anaerobic-aerobic treatment system operating on simulated textile effluent, **Applied Microbiology and Biotechnology**, 53, 249-254, (2000)
- [19]. Gottlieb, A., Shaw, C., Smith, A., Wheatley, A. ve Forsythe, S., , The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation, **Journal of Biotechnology**, 101(1): 49-56, (2003).

Bölüm 3

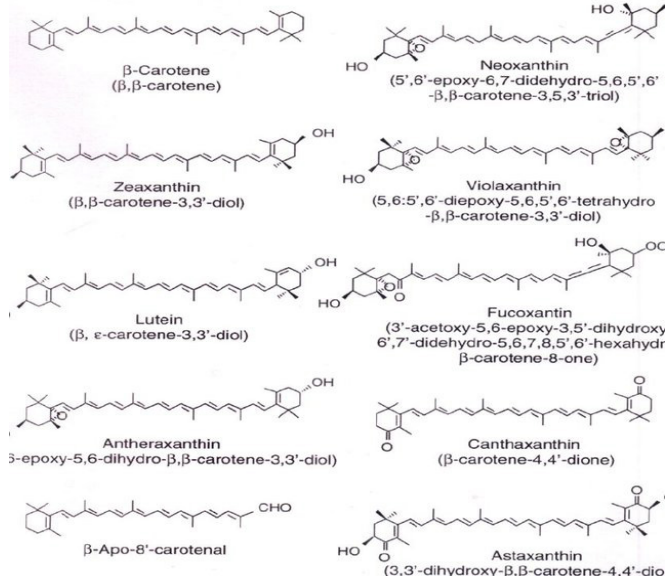
GÜÇLÜ BİR ANTİOKSİDAN OLARAK ASTAKSANTİN

H. Turan AKKOYUN¹

¹ Doç.Dr. Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji ABD/Siirt

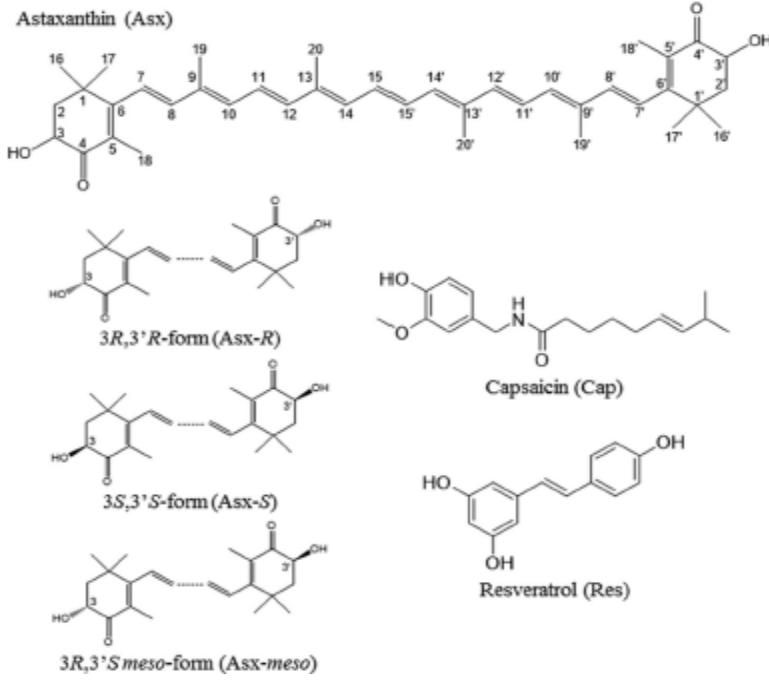
Astaksantin

Astaksantin (3,3'-dihidroksi-y, β '-karoten-4,4'-dion), mikroalg, balık ve bazı kuşlar gibi deniz türlerinde doğal olarak bulunan karotenoiddir (Akkoyun ve ark.,2017 ; Brown ve ark., 2018). Karotenoidler ilk olarak 1907'de Willstätter tarafından kimyasal olarak karakterize edildi (Hammond, 2013). Birbiri ardına dizilmiş izoprenoid birimlerinden oluşan karotenoidler, genel yapısı beş karbonlu sekiz izoprenoid şeklindedir. Molekülün merkezinden itibaren diziliş sırası ters şekilde olup simetrik bir görünüm söz konusudur. Bağların kırık doğru şeklinde gösterimi ile izoprenoid birimlerine formal bölünme gösterirler (Ötleş, 2011). Karotenoidler iki sınıfa ayrılır, sadece karbon ve hidrojen atomları içeren karotenler ve en az bir oksijen atomu β -Karoten, α -karoten ve likopin, karoten grubunun önde gelen üyeleri arasında iken oksokarotenoidler (ksantofiller) ve β -kriptoksantin, kantaksantin ve astaksantin önemli ksantofillerdendir (Bakan ve ark., 2014). Sarı, turuncu ve kırmızı bitki pigmentlerinin temel kaynağı olan karotenoidler, doğada yaygın olarak dağılmıştır. Karotenoidler, çeşitli özel işlemlerde rol oynayan her yerde bulunan fitokimyasalardır. Bu nedenle, esas olarak çeşitli rolleri nedeniyle yaşam için gerekli bileşikler olarak kabul edilirler. Karotenoidler, hem fotosentetik olmayan hem de fotosentetik dokularda bakteri ve alglerden daha yüksek bitkilere kadar tüm canlı organizmalarda bulunur ve en yaygın olarak tüketilen sebze ve meyvelerde bulunur (Prakash, 2014). 600 kadar karotenoidin doğal olarak meydana geldiği bilinmektedir ve yeni karotenoidler tanımlanmaya devam etmektedir (Omayma,2013).



Şekil 1. Bazı Karatoneidlerin Kimyasal Yapısı (Urich,1994).

Karotenoidlerin, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diğer kronik hastalıklar da dahil olmak üzere insan hastalıklarının önlenmesinde meyve ve sebzelerin yararlı özelliklerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. A vitamini önemli besin kaynaklarından olup (Rao, 2007). provitamin A aktivitesi gösteren karotenoidlerin vücuda alınması önemli olmaktadır (Ötleş, 2011). Son yıllarda karotenoidlerin antioksidan özellikleri araştırmaların ana odak noktası olmuştur (Rao, 2007). Yapısındaki konjuge çift bağdan dolayı karatoneidler, antioksidan özellik ve serbest radikal (Baysal, 1999). veya reaktif oksijen türlerini engelleyerek, dokuyu oksidatif ve fotooksidatif hasara karşı koruyucu özellik göstermektedir (Akdoğan ve ark., 2008). Yenilebilen ürünler ve içeceklerde renk maddesi olarak kullanılabilmektedir (Bilek, 2012). Mevcut olan en güçlü karotenoidlerden biri olan astaksantindir (Sztretye ve ark., 2019). Karotenoidlerin keton ailesinden olan astaksantin özellikle deniz canlılarının kabuklarında doğal olarak bulunan kırmızı renkli bir pigment olup, hücre membran yapısının korunmasında etkili bir mekanizmaya sahip olduğu bildirilmiştir (Çolak, 2014). Bazı mikroorganizmalardaki astaksantin kaynakları şunlardır; **Chlorophyceae:** *Haematococcus pluvialis*, *Haematococcus pluvialis* (K-0084), *Haematococcus pluvialis* (Local isolation), *Haematococcus pluvialis* (AQSE002), *Chlorococcum*, **Ulvophyceae:** *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca*, **Florideophyceae:** *Catenella repens*, **Alphaproteobacteria:** *Agrobacterium aurantiacum*, *Paracoccus carotinifaciens* (NITE SD 00017)(Ambati ve ark., 2014). Astaksantin güçlü bir antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı hem in vivo hem de in vitro E vitamini daha fazla koruma gösterdiği bildirilmiştir (Kurashige ve ark., 1990; Beutner ve ark., 2001). Astaksantin, lutein, likopen, a-karoten ve β-karoten gibi çeşitli karotenoidlerle karşılaştırıldığında daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu (Naguib, 2000). ve bunun da yapısı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Hücre zarında lipofilik astaksantin, reaktif oksijen alt türleri (ROS) gibi hücresel serbest radikalleri elektron bağışlama mekanizması ve serbest radikal peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırma yoluyla doğrudan atarak bir antioksidan işlevi görür (Susan, 2019). Astaksantin antioksidan özelliklerinin, UV ışığı fotooksidasyonu, inflamasyon, kanser, ülseri, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, yaşlanma ve yaşa bağlı rahatsızlıklara karşı veya bağışıklık yanıtı, karaciğer fonksiyonunu ve kalp, göz, eklem ve prostat gibi hastalıklara karşı koruyucu özellik göstermektedir (Guerin ve ark., 2003). Özellikle, Astaksantin 'in şu ana kadar önemli bir yan etkisi bildirilmemiştir. Güçlü antioksidan etkilerine ek olarak, kanıtlar Astaksantin 'in mesane kanseri, kolon kanseri, lösemi dahil olmak üzere birçok kanser türünde anti-kanser etkinliğine sahip olduğu çalışmalarda bildirilmektedir (Zhang, 2015).



Şekil 2. Astaksantinin kimyasal yapıları (Fukuta ve ark.,2020).

Ayrıca, fareler üzerine yapılan çalışmada Astaksantin tümör büyümesini baskıladığını gözlemlenmiştir (Jyonouchi ve ark., 2000). Astaksantin, biyolojik sistemlerde inflamasyonun indüksiyonunu sonlandırmak için güçlü bir antioksidandır. Astaksantin iltihaplanmaya karşı etki eder. *Haematococcus* ve *Chlorococcum* 'un alg hücre özleri, *H. pylori* ile enfekte olmuş farelerde bakteriyel yükü ve mide iltihaplanmasını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Ranga Rao ve ark.,2010; Liu, 2003; Bennedsen ve ark.,1999).

KAYNAKLAR

- Akdoğan, A., Dinçer, C., Torun, M., Şahin, H., Topuz, A., Özdemir, F. (2008). Karotenoid Bileşiklerin Sağlık Üzerine Etkileri. *Türkiye*, 10, 21-23.
- Akkoyun, H.T., Bengu, A. S., Akkoyun, M. B., Ulucan, A., Arihan, O. (2017). Protective Effect Of Astaxanthin Against Aluminum Induced Liver Oxidative Damage. *Feb-Fresenius Environmental Bulletin*, 26(10),6159.
- Ambati, R.R., Phang, S. M., Ravi, S., Aswathanarayana, R.G.(2014).Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—a review. *Marine drugs*, 12(1), 128-152.
- Bakan, E., Akbulut, Z. T., İnanç, A. L. (2014). Carotenoids in foods and their effects on human health. *Akademik Gıda*, 12(2), 61-68.
- Baysal, T.,Ersus, S.(1999). Karotenoidler ve insan sağlığı. *Gıda*, 24(3).
- Bennedsen, M.,Wang, X.,Willen, R., Wadstrom, T.,Andersen, L.P.(1999). Treatment of *H. pylori* infected mice with antioxidant astaxanthin reduces gastric inflammation, bacterial load and modulates cytokine release by splenocytes. *Immunol. Lett*,70, 185–189.
- Beutner, S., Bloedorn, B., Frixel, S., Hernández Blanco, I., Hoffmann, T., Martin, H. D., Schülke, I. (2001). Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of β -carotene in antioxidant functions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(6), 559-568.
- Bilek, S.E.,Özkan, G. (2012). Gıda İşleme ve Depolamanın Karotenoidler Üzerine Etkisi. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 10(2).
- Brown, D.R., Gough, L.A., Deb, S.K., Sparks, S. A., McNaughton, L.R. (2018). Astaxanthin in exercise metabolism, performance and recovery: a review. *Frontiers in nutrition*, 4,76.
- Çolak E.(2014). Testiste Oluşturulan İskemi/Reperfüzyon Hasarı Üzerine Astaksantin'in Koruyucu Etkisi. T.C. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı.Mart.
- Fukuta, T., Hirai, S., Yoshida, T., Maoka, T.,Kogure, K. (2020). Enhancement of antioxidative activity of astaxanthin by combination with an antioxidant capable of forming intermolecular interactions. *Free Radical Research*, 1-11.
- Guerin, M., Huntley, M. E.,Olaizola, M. (2003). Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology*, 21(5),210-216.
- Hammond, B. R., Jr, Renzi, L.M. (2013). Carotenoids. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 4(4),474–476. <https://doi.org/10.3945/an.113.004028>
- Jyonouchi, H., Sun, S., Iijima, K., and Gross, M.D.(2000). Antitumor activity of astaxanthin and its mode of action. *Nutrition and Cancer*, 36,59–65.

- Kurashige M, Okimasu E, Inoue M, Utsumi K.(1990). Inhibition of oxidative injury of biological membranes by astaxanthin. *Physiol Chem Phys Med NMR*,22(1),27-38.
- Liu, B.H.,Lee, Y.K.(2003). Effect of total secondary carotenoids extracts from *Chlorococcum* sp. on *Helicobacter pylori* infected BALB/c mice. *Int. Immunopharmacol*, 3,979–986.
- Naguib, Y.M.A.(2000). Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *J. Agric. Food Chem.*48: 1150–1154.
- Omayma A.E., Singab A.N.B.(2013). Carotenoids. *J Pharmacog Phytochem*, 2,225-234.
- Ötleş, S., Yeşim, A. T. L. I. (2011). Karotenoidlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3(1),249-254.
- Prakash D.,Gupta, C. (2014). Carotenoids: Chemistry and health benefits. *Phytochemicals of Nutraceutical Importance*. 181-195.
- Ranga Rao, A.,Harshvardhan Reddy, A., Aradhya, S.M. (2010).Antibacterial properties of *Spirulina platensis*, *Haematococcus pluvialis*, *Botryococcus braunii* micro algal extracts. *Curr. Trends Biotechnol. Pharm*,4,809–819.
- Rao, A.V., Rao, L.G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological research*, 55(3),207-216.
- Susan J Hewlings. (2019).“Human Health Benefits of Astaxanthin Derived from *Haematococcus pluvialis*: A Review”. *EC Nutrition*, 14(10),902-916.
- Sztretye, M., Dienes, B., Gönczi, M., Cziráj, T., Csernoch, L., Dux, L., Keller-Pintér, A. (2019). Astaxanthin: A Potential Mitochondrial-Targeted Antioxidant Treatment in Diseases and with Aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. <https://doi.org/10.1155/2019/3849692>
- Urich, K. 1994. Comparative Animal Biochemistry. Springer Verlag. Germany.
- Zhang, L., Wang, H. (2015). Multiple mechanisms of anti-cancer effects exerted by astaxanthin. *Marine drugs*, 13(7),4310-4330.

Bölüm 4

REKOMBİNANT DNA TEKNOLOJİSİNİN ÖNEMİ VE UYGULAMALARI



Aslı GİRAY¹

¹ Dr. Öğretim Üyesi Aslı Giray, Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

İnsan hayatı, son derece önemli olan üç önemli faktörden büyük ölçüde etkilenmektedir: gıda eksikliği, sağlık ve çevre sorunları. Bilindiği üzere, gıda ve sağlık insanların temel gereksinimleridir. Dünya nüfusunun büyük bir oranda artmasıyla birlikte, insanların gıdaya olan ihtiyacı da buna paralel olarak hızla artış göstermektedir. İnsanlar daha makul bir fiyata ve daha güvenilir gıdalara ihtiyaç duymaktadırlar. Dünyada her yıl yaklaşık 36 milyon kişinin yaşamı kalp-damar, kanser, şeker, AIDS/HIV, tüberküloz, sıtma gibi hastalıklardan dolayı ölümlerle sonuçlanmaktadır. Yapılan yoğun çalışmalar ve çabalara rağmen, dünya genelindeki mevcut gıda üretimi yeterli olmamakla birlikte, insan ihtiyacının çok altındadır ve üçüncü dünya ülkelerinde sağlık tesisleri, malesefki standartların dahi altındadır. Sanayileşmedeki hızlı artış çevre kirliliğini de beraberinde getirirken, buna bağlı olarak insan hayatını da doğrudan ve dolaylı olarak etkilemesine neden olmuştur. Bu sorunlar, modern teknolojiler aracılığıyla ele alınmaya teşvik edilmektedir.

Tarım, sağlık ve çevre sorunlarının üstesinden gelmeye yönelik olarak yapılan geleneksel yaklaşımların aksine, genetik mühendisliği, moleküler klonlama ve transformasyon gibi daha fazla verim sağlayan ve daha az zaman alan modern araçları ve yaklaşımları kullanmaktadır. Geleneksel üreme ile alıcıya hem spesifik hem de spesifik olmayan çok sayıda genin aktarılması söz konusu iken, genetik mühendisliğinde, biyolistik ve Agrobacterium-aracılı transformasyon gibi çeşitli yaklaşımlarla yalnızca istenen küçük bir hedef gen aktarılabilir (Kumar, 2015). Bitki genomlarındaki değişiklik, ya homolog rekombinasyona bağlı gen hedeflemesi ya da nükleaz aracılı bölgeye özgü genom modifikasyonu ile sağlanmaktadır. Aynı zamanda rekombinaz aracılı bölgeye özgü genom entegrasyonu ve oligonükleotid yönlendirmeli mutageniz de kullanılabilir (Cardi ve Stewart Jr, 2016).

Rekombinant DNA teknolojisi, yeni aşıların ve ilaçların geliştirilerek sağlık koşullarının iyileştirilmesinde hayati bir rol oynamaktadır. Ayrıca teşhis kitleri, izleme cihazları ve yeni terapötik yaklaşımlar geliştirilerek tedavi stratejileri de geliştirilmektedir. Sentetik insan insülini ve eritropoietinin, genetiği değiştirilmiş bakteriler tarafından sentezi (Shinde ve ark., 2018) ve araştırma amaçlı yeni tip deneysel mutant farelerin üretilmesi, genetik mühendisliğin sağlık alanındaki önde gelen örneklerindendir. Benzer şekilde, atıkların biyoyakıtlara ve biyoetanole dönüştürülmesi (Ullah ve ark., 2015), petrol sızıntılarının temizlenmesi, karbon ve diğer toksik atıklar ve içme suyundaki arsenik ve diğer kirlenici maddelerin tespitinde genetik mühendisliği stratejileri kullanılmaktadır. Genetiği değiştirilmiş mikroorganizmalar ayrıca biyominasyon ve biyoremediasyonda da etkili bir şekilde kullanılmaktadır.

Rekombinant DNA teknolojisinin ortaya çıkışı, biyoloji alanındaki gelişmelerde devrim yaratmıştır ve bir dizi önemli değişikliği de bera-

berinde getirmiştir. Mikroorganizmaları, hayvanları ve bitkileri tıbbi açıdan yararlı maddelere dönüştürecek şekilde değiştirerek, tıbbi genetik ve biyotıpta ciddi etkiye sahip çok çeşitli terapötik ürünlerin üretimi için yenilikler ve yeni fırsatlar sunmuştur (Galambos ve Sturchio, 1998; Steinberg ve Raso, 1998). Çoğu biyoteknoloji ilacı, doğası gereği rekombinanttır ve insanlarda ölümcül hastalıklara karşı önemli rol oynamaktadırlar. 1997’de ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından, daha önceki birkaç yıla kıyasla anemi, AIDS, kanserler (Kaposi sarkomu, lösemi ve kolorektal, böbrek ve yumurtalık kanserleri), kalıtsal bozukluklar (kistik fibroz, ailesel hiperkolesterolemi, Gaucher hastalığı, hemofili A, şiddetli kombine immün yetmezlik hastalığı ve Turnor sendromu), diyabetik ayak ülserler, difteri, genital siğiller, hepatit B, hepatit C, insan büyüme hormonu eksikliği ve multipl skleroza dair çok daha fazla sayıda rekombinant ilaç onaylandığında, rekombinant DNA teknolojisi ile sentezlenen bu farmasötik ürünler, insan hayatını tamamen değiştirmiştir. Bitkilerin multigen transfer geliştirdiği düşünüldüğünde, bölgeye spesifik entegrasyon ve özel olarak düzenlenmiş gen ekspresyonu çok önemli gelişmiş yaklaşımlardır (Liu, Yuan ve Stewart Jr, 2013). Bitki biyoteknolojisinde, endojen genlerin transkripsiyonel regülasyonu, bunların yeni lokasyonlardaki etkinlikleri ve transgen ekspresyonunun hassas kontrolü, daha fazla geliştirilmeye ihtiyaç duyulan başlıca zorluklardır (Venter, 2007).

İnsan hayatı, yetersiz beslenmeye yol açan gıda kısıtlamaları, farklı türde ölümcül hastalıklar, sanayileşme ve kentleşmenin neden olduğu çevre sorunları ve diğerleri gibi çeşitli faktörler tarafından büyük ölçüde tehdit edilmektedir. Genetik mühendisliği, geleneksel stratejilerin yerini aldı ve bu tür zorlukların üstesinden gelmek için daha büyük bir potansiyele sahiptir.

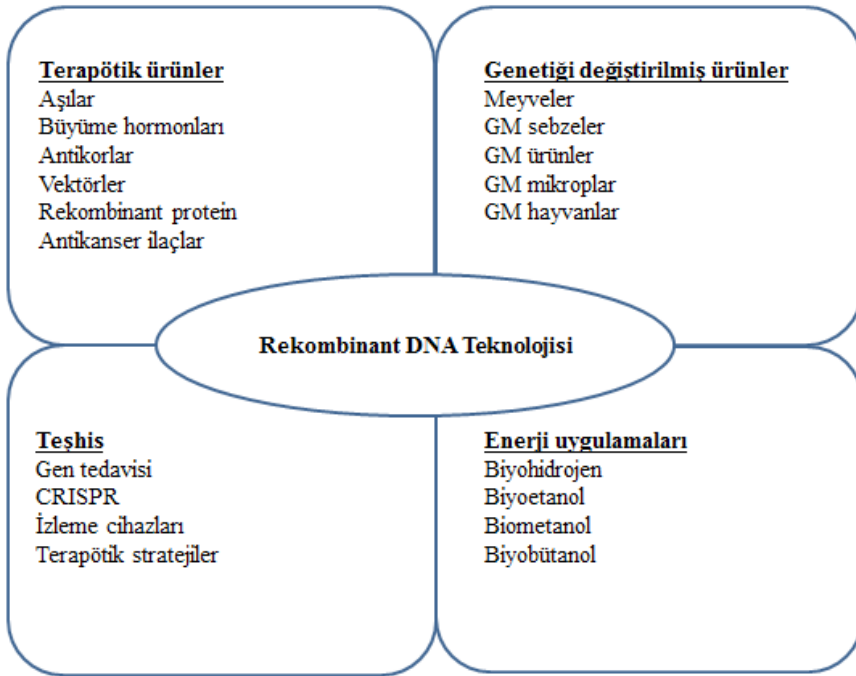
Bu kitap bölümünde, yukarıda bahsedilen sorunların üstesinden gelmek için rekombinant DNA teknolojisinin rolüne değinilmektedir. Buna paralel olarak, genetik mühendisliğinin sınırlamalarını ve araştırmacıların mevcut genetik mühendisliği stratejilerindeki modifikasyonlarla bu tür sınırlamaları aşmaları için gelecekteki olası yönergelere değinilmektedir.

Rekombinant DNA Teknolojisi

Rekombinant DNA teknolojisi, canlı organizmalarda veya bunların ürünleri olarak geliştirilmiş ve istenen özellikleri elde etmek için bir organizmanın dışındaki genetik materyalin değiştirilmesine dayanan bir teknolojidir. Bilim, tıp, tarım ve endüstri için değerli olan, yeni genetik kombinasyonlar üretmek için bir konakçı organizmaya eklenen iki farklı türden DNA moleküllerinin bir araya getirilmesini ifade etmektedir. Bunlar çok sayıda kaynaktan genetik materyali bir araya getirmek ve genomda başka türlü bulunamayacak diziler oluşturmak için laboratuvarında genetik rekombinasyon yöntemleriyle (moleküler klonlama gibi) oluşturulan DNA molekülleridir.

Bu teknoloji, uygun vektör (Berk ve Zipursky, 2000) aracılığıyla istenen bir gen dizisine sahip çeşitli kaynaklardan DNA fragmanlarının eklenmesini mümkün kılmaktadır. Organizmanın genomundaki manipülasyon, ya bir veya birkaç yeni genin ve düzenleyici ögenin eklenmesi yoluyla ya da genlerin ve elementlerin rekombinasyonu yoluyla endojen genlerin ekspresyonunun azaltılması veya bloke edilmesi yoluyla gerçekleştirilir (Bazan-Peregrino ve ark., 2013). Enzimatik bölünme, spesifik hedef sekans DNA bölgeleri için restriksiyon endonükleazlar kullanılarak farklı DNA fragmanları elde etmek için uygulanır ve ardından, istenen geni vektörde sabitlemek için fragmanları birleştirmek için DNA ligaz aktivitesi kullanılır. Vektör daha sonra, kültüre edilmiş ortamda DNA fragmanının çoklu kopyalarını üretmek için büyütülen bir konakçı organizmaya dahil edilir ve son olarak ilgili bir DNA fragmanını içeren klonlar seçilir ve toplanır (Venter, 2007). İlk rekombinant DNA (rDNA) molekülleri 1973'te Stanford Üniversitesi ve California San Francisco Üniversitesi'nden Paul Berg, Herbert Boyer, Annie Chang ve Stanley Cohen tarafından üretildi. 1975'te "Asilomar Konferansı"nda rDNA teknolojisinin güvenli kullanımı ve düzenlenmesi tartışıldı. Asilomar Konferansındaki bilim adamlarının görüşüne paradoksal olarak, tarımın ve ilaç gelişmelerini teşvik etmek için rekombinant DNA yöntemlerinin kullanımı, tatmin edici sonuçlara ulaşmak için beklenmedik zorluklar ve engeller nedeniyle beklenenden uzun sürdü. Bununla birlikte, 1980'lerin ortalarından beri, sağlık alanında hormonlar, aşılar, terapötik ajanlar ve teşhis araçları gibi ürünlerin sayısı sürekli olarak geliştirilmektedir (Bazan-Peregrino ve ark., 2013). Benzer bir şekilde, tümör büyümesi, antianjiyojenik etkiler yoluyla, adenoviral vektör ile inhibe edilmiştir. Antianjiyojenik etki, Ad-Endo replikasyonunu düzelterek, dl1520 ile artırılabilir (Li ve ark., 2013). Hedeflenen gen inhibisyonu, yapısal olarak benzer olan diğer konakçılarda antitümör türevleri üretmek için kullanılmıştır (M'endez, ve Salas, 2003). Ayrıca, rekombinant DNA teknolojileri aracılığıyla daha uzun süre etkili olan terapötik proteinler geliştirilmiştir; örneğin ek glikosilasyon bölgesi içeren diziler, en çok tercih edilen yaklaşımlardan birisidir. Bu teknik sayesinde, FSH β - ve hCG β -alt birimi kodlayan dizilerin C-terminal peptidini içeren yeni bir kimerik gen geliştirilmiştir (Fauser, 2009). Gen tedavisi ve genetik modifikasyon yaklaşımları için vektörler ve kombine vektörler geliştirilmiştir. Halen, viral vektörler, bazıları da ticarileştirilmiş olan klinik ortamlarda büyük ilgi görmektedir. Prensipte virüsler klinik amaçlar için güvenli olacak şekilde değiştirilmiştir. Kanser dahil olmak üzere ciddi hastalıkların in vivo veya gen terapisi (ex vivo), aşılama ve protein transdüksiyon yaklaşımları (Merten ve Gaillet, 2016) dahil olmak üzere çeşitli uygulamaları vardır. Klinik düzeyde viral vektörlerin üretimi, ileri üretim teknolojileri sayesinde mümkün hale gelmiştir (Merten ve ark., 2014). Şu anda, retroviral vektörler, ciddi yan etkileri nedeniyle, genleri hızlı ve doğru bir şekilde birkaç türe aktarmasına rağmen önemlerini yitirmektedir. En basit nonviral gen sağlama sisteminde "çıplak" DNA kullanır,

doğrudan belirli dokulara, özellikle kaslara enjekte edildiğinde, en az yan etki ile önemli seviyelerde gen ekspresyonu üretir (Ginn ve ark., 2013). Son zamanlarda, elektroporasyon prosedürleri yoluyla rekombinant DNA'yı *E. coli*'ye aktarmak için tasarlanan P1 vektörü sistemi tasarlanmıştır. Bu sistem, başlangıçta ortalama olarak 130-150 kb çift boyutundaki 15.000 klon kitaplığı oluşturmak için kullanılmaktadır. PACKlonlama sistemi, karmaşık genom analizi ve haritalamada oldukça yararlıdır (Rivero-Müller, Lajić, ve Huhtaniemi, 2007). PWSK29, pWKS30, pWSK129 ve pWKS130 gibi düşük kopya numaralı vektörlerin yapımı, PCR ve rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu vektörler aynı zamanda eksonükleaz, komplemantasyon analizi, DNA dizileme ve run-off transkripsiyonu ile tek yönlü delesyonlar oluşturmak için de kullanılabilir (Metzger, ve Raetz, 2009). Rekombinant DNA teknolojisinin geniş çaplı uygulama yelpazesi aşağıda Şekil 1'de özetlenmiştir.



Şekil 1. Rekombinant DNA teknolojisinin çeşitli uygulamalarının gösterimi.

Mevcut Araştırma Süreçleri

Rekombinant DNA teknolojisi hızla büyüyen bir alandır ve dünya çapındaki araştırmacılar, tarım, sağlık ve çevre dahil olmak üzere farklı sektörlerde uygulamalar için yeni yaklaşımlar, cihazlar ve tasarlanmış ürünler geliştirmektedir. Örneğin, Lispro (Humalog), normal insan insülinine kıyasla, hızlı ve etkili bir rekombinant insülinidir (Lomedico, 1998).

Benzer şekilde Epoetin alfa, aneminin iyileştirilmesinde etkin bir şekilde kullanılabilen yeni ve iyi bilinen bir rekombinant proteindir (Masson, 2003). Rekombinant hGH, yeterli miktarda hGH üretme yeteneğinden yoksun olan çocukların tedavisinde kullanılmaktadır. 1997’de, sitokin miyeloid progenitör inhibitör faktör-1’in (MPlF-1) rekombinant versiyonu için FDA tarafından klinik test onayının alınması, bu teknolojinin tanınmasını sağlayan önemli bir başarı olmuştur. Bu rekombinant ürünün yardımıyla antikanser ilacın yan etkileri hafifletilebilirken, aynı zamanda immünolojik olarak önemli hücrelerin bölünmesini taklit etme yeteneğine de sahiptir (Patra, 2000; Macallan ve ark., 2008). Aşağıdaki bölüm, rekombinant DNA teknolojisindeki en son gelişmeleri özetlemektedir.

Düzenli aralıklarla bölünmüş palindromik tekrar kümeleri (CRISPR) tekniği, rekombinant DNA teknolojisindeki yakın tarihli bir gelişme olup, birçok soruna çözüm getirmiştir. Bu teknik, genetik kod bölümlerini kaldırarak, ekleyerek veya düzenleyerek genleri manipüle etmek için kullanılan bir genom düzenleme aracıdır. CRISPR teknolojisi sayesinde, hücredeki DNA yapısını değiştirilerek çeşitli genetik hastalıkların tedavi edilme şansı mümkün hale gelmiştir. İnsan hücrelerinde, farelerde, sıçanlarda, zebra balıklarında, bakterilerde, meyve sineklerinde, mayalarda, nematodlarda ve tahıllarda genlerin aktivasyonu, bastırılması, eklenmesi ve silinmesi, tekniğin umut verici olduğunu kanıtladı. CRISPR ile insan hastalıklarını incelemek için fare modelleri oluşturulabilmektedir ve böylece bireysel gen çalışmaları çok daha hızlı hale gelmekte ve hücrelerdeki çoklu genleri değiştirerek gen etkileşimleri çalışmaları kolaylaşmaktadır (Pennisi, 2013). Popüler kullanımda, “CRISPR”, “CRISPR-Cas9” un kısaltmasıdır. CRISPR’ler özel DNA uzantılarıdır. Cas9 proteini (veya “CRISPR ile ilişkili”), DNA ipliklerini kesebilen bir çift moleküler makas gibi davranan bir enzimdir. CRISPR teknolojisi, bakteri ve arkelerin doğal savunma mekanizmalarından uyarlanmıştır. Bu organizmalar, virüslerin ve diğer yabancı cisimlerin saldırılarını engellemek için CRISPR’den türetilmiş RNA ve Cas9 dahil olmak üzere çeşitli Cas proteinlerini kullanmaktadır. Bunu öncelikle yabancı bir istilacının DNA’sını parçalayıp yok ederek yapmaktadırlar. Bu bileşenler daha karmaşık diğer organizmalara aktarıldığında, genlerin manipülasyonuna veya “düzenlenmesine” izin vermektedir. 2017 yılına kadar kimse bu sürecin neye benzediğini gerçekten bilmiyordu. 10 Kasım 2017’de Nature Communications dergisinde yayınlanan bir makalede, Kanazawa Üniversitesi’nden Mikihiro Shibata ve Tokyo Üniversitesi’nden Hiroshi Nishimasu liderliğindeki bir araştırma ekibi, ilk kez bir CRISPR’ın faaliyete geçtiğinde nasıl görüldüğünü gösterdi (Makarova ve Koonin, 2015).

Tek protein etkili Sınıf 2 CRISPRCas sistemi, genom düzenleme süreçleri için kullanılabilir. DeadCas9, histonu modifiye eden enzimin alımı, transkripsiyonel bastırma, floresan protein etiketlerinin lokalizasyonu

ve transkripsiyonel aktivasyon için önemlidir (Mohanraju ve ark., 2016). Homozigot gen knockout izolasyon işleminde yer alan genlerin hedeflenmesi, CRISPR ile indüklenen mutasyonlar tarafından gerçekleştirilir. Bu şekilde, “potansiyel antifungal hedefler” keşfi için kullanılabilir (Vyas ve ark., 2015). Doğal CRISPR-cas bağışıklık sistemi, farklı türde virüse dirençli suşların üretimi için kullanılmaktadır (Makarova ve Koonin, 2015; Alkhnbashi ve ark. 2019). Prokaryotlardaki tek uyarlanabilir bağışıklık sistemi olan CRISPR-Cas, kısa tekrarlayan elementlere ve aralayıcılara (benzersiz diziler) sahip CRISPR olarak bilinen genomik lokusu içermektedir. CRISPR dizisinden önce AT bazları açısından zengin lider sekans gelir ve Cas proteinlerini kodlayan cas genleri tarafından çevrelenmektedir (Makarova ve Koonin, 2015; Hynes ve ark., 2016). *E. coli* cas1 ve cas2 katalazları, komplike bir oluşum mekanizmasıyla yeni aralayıcıları desteklemektedir. Hedef sıra seçimi rastgele olmadığından, girişim ve edinim için foto-ayırıcı bitişik motif (PAM) gereklidir. İstilacı dizisinin ezberlenmesi, CRISPR dizisinin uzun öncü crRNA'ya transkripsiyonundan sonra başlar. Bağışıklık sürecinin son aşamalarında, hedef, istila edilmiş nükleik asitlerle etkileşime girerek bozulur (Koonin ve Makarova, 2017). Spesifik tanıma, sistemin kendi kendini hedeflemesini engeller (Hille ve Charpentier, 2016).

Rekombinant DNA Teknolojisi Uygulamaları

1. Gıda ve Tarım

Rekombinant DNA teknolojisi, belirli gıda işleme koşullarında uygun olan yeni enzimlerin üretimini mümkün kılan önemli kullanımlara sahiptir. Gıda endüstrilerindeki özel rolleri ve uygulamaları nedeniyle, özel üretimler için lipazlar ve amilazlar dahil olmak üzere birçok önemli enzim mevcuttur. Mikrobiyal suş üretimi, rekombinant DNA teknolojisinin yardımıyla mümkün olan bir başka büyük başarıdır. Proteazların üretimi için özel mühendislik yoluyla enzim üreten bir dizi mikrobiyal suş geliştirilmiştir. Bazı mantar türleri, toksik madde üretme yetenekleri azaltılabilir şekilde değiştirilmiştir (Olempska-Beer ve ark., 2006). Lizozimler, gıda endüstrilerinde bakterilerden kurtulmada oldukça etkili ajanlardır. Mikrobiyal organizmaların kolonizasyonunu engellemektedirler. Meyveler, sebzeler, peynirler ve etler gibi gıda maddelerinin raf ömürlerini artırdığı için muhafaza edilmeleri için uygun ajanlardır. Gıdaları bozan mikroorganizmaların inhibisyonu, polivinil alkol filmleri ve selülozda immobilize lizozim aracılığıyla gerçekleştirilebilir. Balık derisi jelatin jellerinin lizozimle emdirilmesi, gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatır ve yiyeceklerin bozulmasına neden olan farklı bakterilerin gelişimini engeller (Lian ve ark., 2012; Bang ve ark., 2011; Thallinger ve ark., 2013). *Staphylococcus* ve *E. coli*'nin ekzopolisakkaritleri, T7'den üretilen DspB'nin kullanılmasıyla hidrolize edilebilir. DspB'nin bu yeteneği, bakteri popülasyonunda bir

azalmaya neden olmaktadır (Thallinger ve ark., 2013). Gıda endüstrileriyle ilgili biyofilmler, serin proteazlar ve amilazların birleştirme aktivitesi ile giderilebilir. Gıdaların bozulmasına neden olan *S. aureus*, *Salmonella infantis*, *Clostridium perfringens*, *B. cereus*, *Campylobacter jejuni*, *L. monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* ve diğer bazı mikroorganizmalar, glikoz oksidaz tarafından inhibe edilebilmektedirler. Bu enzim ayrıca gıda endüstrisindeki çok çeşitli gıda kaynaklı patojenleri öldürmede de kullanılan en önemli enzimlerden biri olarak kabul edilir (Thallinger ve ark., 2013).

Farmasötik olarak kullanılan rekombinant proteinlerin türevlendirilmesi, yakın zamanda uygulamaya geçmiştir ve tıbbi açıdan önemli olan daha fazla miktardaki benzer proteinin üretimi için kullanılmaktadır. Enzim olarak kullanılmak üzere, farklı bitki türlerinden, çok çeşitli rekombinant protein eksprese edilmiştir. Araştırmalarda en çok kullanılan proteinler sütte bulunan ve beslenmede rol oynayan proteinlerdir. Yeni polimerik proteinler endüstri alanında ve tıbbi alanda oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bitkilerde HBV aşısı üretiminin yapılmasıyla birlikte, yenilebilir bitkilerle ağızdan aşılama konsepti bir hayli popülerlik kazanmıştır. Kazein ve lizozim ve doku replasmanı ve ameliyat için protein polimerleri gibi çeşitli terapötik protein ürünleri üretmek için bitkiler yoğun olarak kullanılmaktadır. Ayrıca insan kolajeni üretmek için genetik olarak tasarlanabilen bütün bitkilerini yine rekombinant DNA teknolojisinin önemli bir diğer örneği olarak verebiliriz. Yüksek verimli moleküler proteinler, rekombinant DNA teknolojisi alanında dikkate alınan en önemli görevlerden biridir (Ma ve ark., 2003). Geleneksel ıslah ve kantitatif ticaret lokusu (QTL) analizi, PSTOL1 (fosfor açlığı toleransı) olarak bilinen protein kinazlı bir pirinçe çeşidinin tanımlanmasında yardımcı olmkala beraber, erken aşamalarda kök büyümesini artırmaya yardımcı olur ve fosfor eksikliğini tolere eder (Gamuyao ve ark. 2012). Bu enzimin aşırı ekspresyonu, köklerin, fosfor eksikliği olan topraktan yeterli miktarda besin almasını sağlar ve bu da sonuçta ürün verimini artırır. Kloroplast genom dizileme, bitki evrimi ve filogenide oldukça önemlidir. Rpl22'nin kloroplasttan nükleer genoma aktarıldığı kabul edilir. Bu gen, proteinin sitozolden kloroplasta taşınmasında rol oynayan bir peptit içerir. Fotosentezde ve diğer gerekli işlemlerde aksaklıklardan kaçınmak için, kloroplasttan silinen bir dizi önemli genin (*ycf1* ve *ycf2* genleri dışında) çekirdeğe transfer edildiği gözlenmiştir. Kloroplasta trans-genesis, nükleer transgenik bitkiler, polen yoluyla transgen kaçış problemleri ve daha düşük ekspresyon ile karşı karşıya kaldığı için stabil olarak kabul edilir. Transgenlerin neredeyse on binlerce kopyası, kloroplast genomuna dahil edilmiştir (Henry ve ark. 2016). Transgen ekspresyonu, heterolog düzenleyici dizilere bağımlıdır, ancak hücresel kontrolden bağımsızdır. Kloroplast genomuna γ -tmt geninin eklenmesi, iç kloroplast zarfının çok katmanlı oluşumuyla sonuçlanır.

Domatesin plastid genomuna likopen β -siklaz genlerinin eklenmesi, likopenin provitamin A'ya dönüşümünü artırır (Apel ve Bock, 2009). Patates, fasulye, patlıcan, şeker pancarı, kabak ve diğer birçok bitki, örneğin herbisit glifosat toleransı, kuraklığa dayanıklılık, hastalık ve tuz toleransı, böceklerle direnç gibi arzu edilen karakterlerle geliştirilmektedir.

2. Sağlık ve Hastalık

Rekombinant DNA teknolojisi, hastalıkların tedavisinde ve sağlık koşullarının iyileştirilmesinde geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir. Aşağıdaki bölümler, insan sağlığının iyileştirilmesi için rekombinant DNA teknolojisinin önemli atılımlarını açıklamaktadır:

2.1. Gen tedavisi

Gen terapisi, sağlık hizmetlerinde terapötik potansiyele sahip gelişmiş bir tekniktir. Gen terapisi alanındaki ilk başarılı rapor, en ölümcül genetik hastalıkların iyileştirilmesi hususunda dahi daha güvenli bir yol izlenmesini sağladı. Bu strateji, primer bir immün yetmezlik olan adenoazin deaminaz eksikliğinin (ADA-SCID) tedavisi için iyi bir yanıt göstermiştir. Bu teknolojinin başlangıcında, gen tedavisi sırasında T lenfositlere gen transferinin hedeflenmesi gibi çeşitli zorluklar meydana gelmiştir (Howe ve ark., 2008; Blaese ve ark., 1995). Ancak daha sonra, gelişmiş bir gen transfer protokolü ve bir miyeloablative koşullandırma rejimi kullanılarak hematopoietik kök hücrelerin (HSC'ler) hedeflenmesiyle başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Aiuti ve ark., 2002).

Adrenolökodistrofi (X-ALD) ve X'e bağlı bozukluk, HIV-1'e dayalı olarak lentiviral vektör tarafından transfer edilen spesifik genlerin ekspresyonu yoluyla mümkündür. XALD protein ekspresyonu, gerçek HSC'lerin gen düzeltmesinin başarıyla gerçekleştirildiğini gösterir. Lentiviral vektörün kullanımı ile genetik hastalıkların tedavisi ilk kez başarılı bir şekilde gerçekleştirildi ve önemli bir adım olmuştur (Montini ve ark., 2012). 2006 yılında, spesifik protein ekspresyonu artırılarak immünoterapi yoluyla metastatik melanomaların tedavisi sağlandı. Sağlık bilimleri alanındaki bu başarı, ciddi ölümlere neden olan hastalıkların immünoterapi yoluyla tedavi edilebilmesi için araştırmaları genişletmek adına yeni kapılar açtı. Bu strateji daha sonra metastatik sinoviyal hücre karsinomu olan hastaları tedavi etmede kullanıldı (Robbins ve ark., 2011). Otolog T hücreleri, kronik lenfositik lösemnin tedavisi için B hücresi antijeni CD19'a özgü bir Kimerik Antijen Reseptörlerini (CAR) ifade etmek üzere genetik olarak modifiye edildi. Genetik olarak modifiye edilmiş hücreler, yalnızca çok sayıda progenitörün düzeltilmesine rağmen hastalık patofizyolojisinin sağladığı in vivo seçimin bir sonucu olarak SCID-X1 ve ADASID gibi hastalıklar için seçici genişlemeye maruz kalmaktadır (Adair ve ark., 2012).

Anatomik olarak ayrı bölgelerdeki az sayıdaki hücreye gen transferi, terapötik fayda sağlama potansiyeli olan hedeflenmiş bir stratejidir. Bu hedeflenmiş strateji, konjenital körlük ve Leber konjenital amoroz (LCA) gibi tedavi edilemeyen otozomal resesif distrofiler için etkileyici sonuçlar göstermiştir. Nisan 2006'da başarı ile sonuçlanan İsviçre-Almanya faz I/II gen terapisi klinik çalışması, kronik granülomatöz hastalığı tedavi etmeyi amaçlamıştı (Ott ve ark., 2006). Periferik kandan izole edilen mobilize CD34 + hücreleri, retroviral olarak transdüksiyona tabi tutulmuş ve hastaların üçte ikisinin bu tedaviden net fayda gösterdiği hastaya infüze edilmiştir. Tedaviden sonra, viral promotörün metilasyonunun bir sonucu olarak transgenin susturulması, hastanın ölümüne yol açan ciddi bir enfeksiyona neden olmuştur (Stein ve ark., 2010).

Gen terapisi yoluyla, akciğer, jinekolojik, deri, ürolojik, nörolojik ve gastrointestinal tümörler dahil olmak üzere birçok farklı kanserin yanı sıra hematolojik maligniteler ve pediatrik tümörlerin tedavisi hedeflenmiştir. Tümör baskılayıcı genlerin immünoterapiye, onkolitik viroterapiye ve ilaç öncesi gen hedefli enzim tedavisine entegre edilmesi, farklı kanser türlerini tedavi etmede kullanılan farklı stratejilerdir. Transferde yaygın olarak kullanılan tümör baskılayıcı bir gen olan p53 geni, kanser tedavisi çalışmalarında kilit bir oyuncu olarak rol oynamaktadır. Bazı stratejilerde p53 gen transferi, kemoterapi veya radyoterapi ile birleştirilir. Şimdiye kadar kullanılan en önemli stratejiler, immünostimülatör molekülleri eksprese etmek üzere tasarlanmış tümör hücreleri ile aşılama, tümör antijenlerini kodlayan rekombinant viral vektörlerle aşılama ve tümör antijenlerini eksprese etmek üzere tasarlanmış konakçı hücreler ile aşılama (Ginn ve ark., 2013). Yeni fiber kimerik onkolitik adenovirüs vektörleri (Ad5/35-EGFP), hepatosellüler karsinomun (HCC) daha iyi bir şekilde tedavi edilmesi için etkili ve yeni bir antikanser ajan imkanı sunmaktadır. Bu vektörlerin uygun analizler yoluyla gösterilmesi, transdüksiyon gelişimi açısından önemli olmasıyla birlikte, HCC'de daha fazla miktarda virüsün üretilmesini sağlamıştır. Gelişmiş bir antitümörün, normal hücreleri, sitotoksositeye karşı korurken, in vitro HCC hücreleri üzerinde etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu teknoloji kullanılarak tümör büyümesi de inhibe edilmiştir. Son yıllarda kanser gen tedavisi dahada ilerlemiş ve etkinliği artmıştır (Lam ve ark., 2013).

Kardiyovasküler hastalıkların gen tedavisi ile tedavisi, sağlık biliminde önemli bir stratejidir. Kardiyovasküler alanda gen tedavisi, terapötik anjiyogenez, miyokardiyal koruma, rejenerasyon ve onarım, anjiyoplastiyi takiben restenozun önlenmesi, baypas greft başarısızlığının önlenmesi ve risk faktörü yönetimi açısından yeni bir yol sağlamaktadır. Hücre iskeletini düzenleyen bir protein olan WASP'yi kodlayan gendeki mutasyon, Wiskott-Aldrich Sendromuna (kalıtsal immün yetmezlik) neden olmaktadır. Tedavisi ise, kök hücre nakli gerektirmektedir. Eşleştirilmiş donörlerin mevcut

olmaması durumunda söz konusu tedavi, gen terapisi ile ex vivo modifiye edilmiş otolog HSPC'lerin infüzyonu yoluyla gerçekleştirilmektedir (Aiuti ve ark., 2013). Metastatik kanser, gen mühendisliğine dayalı immünoterapi yoluyla gerileyebilir ve buradaki yöntemde T hücrelerini hedefleyen gen mühendisliğinin başarılı bir şekilde kullanılması esas alınmıştır (Restifo, Dudley, Rosenberg, 2012). Kanser hücreleri genellikle kendilerini bağışıklık sistemi için neredeyse “görünmez” hale getirir ve içinde bulundukları mikro ortam, T hücrelerinin hayatta kalmasını ve göçünü baskılar, ancak T hücrelerinin genetik mühendislik aracılığıyla hedeflenmesi bu zorlukların üstesinden gelmesi için çözüm olarak sunulmaktadır. Kanser hastalarında T hücreleri, kansere özgü antijenlerin tanınmasından, immünosupresyona dirençten ve sağkalımın uzatılmasından ve tümörlere göçün kolaylaştırılmasından sorumlu genlerin yeniden birleştirilmesiyle değiştirilebilir (Kershav ve ark., 2013). 4(EML4) gibi ekinoderm mikrotübül ile ilişkili protein ve anaplastik lenfoma kinaz (ALK) genleri arasındaki füzyon, kromozomun kısa kolundaki bir ters çevirme ile üretilmektedir. Yetişkin hayvanların somatik hücrelerine CRISPR/Cas9 sisteminin flakon aracılığıyla olan iletimi, spesifik kromozomal olarak yeniden düzenlemelerini indüklemektedir (Danimlo ve ark., 2014).

Wnt sinyali yolu, çoklu kanserlerde, anahtar rolü olan onkojenik yollardan biridir. Kanserde Wnt yolunun hedeflenmesi, LGK974'ün Wnt sinyalini güçlü bir şekilde inhibe ettiği, kemirgen tümör modellerinde güçlü etkinliğe sahip olduğu ve iyi bir şekilde tolere edildiği son derece çekici bir terapötik yaklaşımdır (Jun ve ark., 2013). İnfluenza virüsü hemaglutinininin geninin kodlama sekansı temelinde kodon optimizasyonlu gen sentezlenmiştir ve rekombinant modifiye edilmiş aşı virüsü Ankara'ya (MVA) klonlanmıştır. Gelinciklerde MVA-H7-Sh2 viral vektör ile bağışıklamanın immünojenik olduğu kanıtlanmıştır, çünkü sahte aşılardan korumasız hayvanların, interstisyel pnömoni, iştah ve kilo kaybı geliştirdiği, ancak MVAH7-Sh2 ile aşılama hayvanları şiddetli hastalıktan koruduğu ortaya konulmuştur (Kreijtz ve ark., 2015). Viral gen tedavisi, baş ve boyun kanseri için önde gelen ve önemli tedavilerden biridir. Tümörle ilişkili genler virüsler tarafından hedeflenir ve bu tür bir terapi yoluyla ilk başta p53 geninin işlevi hedeflenmiştir. Kanser hücreleri, onkolitik virüsler tarafından viral replikasyon yoluyla ve terapötik transgenlerle silahlandırılarak yok edilebilirler (Hughes ve ark., 2015).

Hücrelerde yüksek yoğunlukta bulunan lipoprotein geni ABCA1'in mutasyonu, hücrelerin makrofajlara farklılaşmasını sağlayabilir. Embriyonik kök hücrelerdeki gen nakavtları, hücrelerin makrofajlara farklılaşma ve özellikle istenen patojenleri hedefleme kapasitesini artırır. Bu durumda alel replasmanları, protein kodlama değişiklikleri ve makrofajlarda mRNA transkripsiyonu ve stabilitesinin değişmesine dahil olan düzenleyici varyantların incelenmesine yardımcı olmaktadır (Smith, 2016).

2.2. Antikor ve Antikor Türevlerinin Üretimi

Son zamanlarda farklı antikorların ve bunların türevlerinin ekspresyonu ve geliştirilmesi için bitki sistemleri kullanılmaktadır. Bu bağlamda, birçok antikor ve antikor türevi, gereksinimleri karşılamada tatmin edici aşamalara ulaşmıştır. Transgenik tütün bitkileri, CaroRx, CaroRx olarak bilinen kimerik salgı IgA/G'nin üretimi için kullanılabilir. *Streptococcus* mutantları olarak bilinen ve dış çürümesinden sorumlu oral patojen, bu antikor tarafından tanımlanmaktadır. T84.66 olarak adlandırılan monoklonal bir antikor, epitel kanserlerinde hala etkin bir şekilde karakterize edilen ve bir belirteç olarak kabul edilen antijen karsinoembriyonik tanımlamada etkili bir şekilde işlev görmüştür (Stoger ve ark., 2000).

Anti-HSV ve anti-RSV olarak da bilinen IgG1, transgenik soya fasulyesi ve Çin Hamster Yumurtalık (CHO) hücrelerinde eksprese edilmiştir. Anti-HSV ve anti-RSV, herpes simpleks virüsü (HSV)-2-glikoprotein B için tanıma ajanı olarak rol oynamaktadır. Her iki kaynaktan gelen antikorların, topikal olarak uygulandıktan sonra farelerde vajinal HSV-2 bulaşmasını önlediği gösterilmiştir (Karrer ve ark., 2012). 38C13, iyi karakterize edilmiş fare lenfoma hücre hattı 38C13'teki kötü huylu B lenfositlerinin idiyotipine dayanan scFv antikorudur. Antikorum farelere uygulanması, farelere enjekte edilen lenfoma hücrelerine karşı korumaya yardımcı olan 38C13 hücrelerini tanıyabilen anti-idiotip antikorların üretilmesiyle sonuçlanmıştır (Bendandi ve ark., 2010). Bu sistem aracılığıyla enzimleri tanıyan benzersiz markırlar üretilebilir. PIPP olarak bilinen bir monoklonal antikor, insan koryonik gonadotropinin tanınmasına özgüdür. Tam uzunlukta monoklonal antikor ve scFv ve diabody türevlerinin üretimi, bitkilerde geçici olarak transforme edilmiş tütünde agroinfiltrasyon ve transgenез yoluyla mümkün kılınmıştır (Kathuria ve ark., 2002). Tümörlerin teşhis ve tedavisi antikorların yardımıyla gerçekleştirilebilir.

2.3. İlaç Metabolizmasının Araştırılması

İlaç metabolizmasında yer alan karmaşık ilaç metabolize edici enzim sistemleri, ilaçların uygun etkinliği ve etkilerinin araştırılması açısından çok önemlidir. Rekombinant DNA yaklaşımları, son zamanlarda enzimin genetik bilgisinin gen transferi yoluyla *in vitro* veya *in vivo* ifade edildiği heterolog ekspresyona katkıda bulunmaktadır.

2.4. Aşılar ve Rekombinant Hormonların Geliştirilmesi

Nispeten geleneksel aşılar, rekombinant aşıdan daha düşük etkinlik ve özgüllüğe sahiptir. Patojen antijenleri kodlayan adenovirüs vektörlerini transfer etmek için güvenli ve ağrısız bir teknik, aynı zamanda mukozal patojenlere karşı hızlı ve korumayı devam ettiren nazal transfer yöntemidir. İnsan folikülü uyarıcı hormonun (FSH) *in vitro* üretimi artık rekombinant DNA teknolojisi ile mümkün olmaktadır. FSH, önemli ölçüde

karmaşık bir heterodimerik proteindir ve ekspresyonu için ökaryotlardan belirli hücre hattı seçilmiştir. Foliküler gelişimin uyarılması yoluyla etkinleştirilmiş üreme tedavisi, rekombinant DNA teknolojisinin önemli bir başarısıdır. Çok sayıda hasta r-FSH ile tedavi edilmektedir. r-FSH ve Lüteinizan Hormon (LH) rekombinasyonu ovulasyon ve gebeliği arttırmada son derece önemli bir başarı sağlamıştır (Fan ve Hendrickson, 2005).

2.5. Çin İlaçları

Alternatif tıbbın önemli bir bileşeni olan geleneksel Çin ilaçları, teşhis ve tedavide önemli bir rol oynamaktadır. Bu ilaçlar, bir dereceye kadar gen tedavisi prensibiyle uyumlu teorilerle ilişkilendirilmiştir. Bu ilaçlar, terapötik genlerin taşınmasında bir kaynak olabilirler. Transgenik kök sistemi, Ri plazmid ile birlikte ilave genlerin girişi için değerli bir potansiyele sahiptir. Spesifik kullanım için karakteristiklerinin geliştirilmesi için çoğunlukla A. rhizogenes vektör sistemlerinde değiştirilmiş genlerle taşınırlar. Kültürler, biyokimyasal özellikleri ve metabolik yolların gen ekspresyon profilini incelemek için değerli bir araç haline geldi. İkincil metabolitlerin biyosentezinde yer alan ara maddeler ve anahtar enzimler, dönüştürülmüş kültürler sayesinde aydınlatılabilir (Ling ve ark., 2014).

2.6. Meyvelerde Tıbbi Açıdan Önem Arz Eden Bileşikler

rolC geni aracılığıyla çileklerin besin değerlerinde iyileşme sağlanmıştır. Bu gen, şeker içeriğini ve antioksidan aktiviteyi artırır. Antosiyaninlerin glikosilasyonu, glikosil-transferaz ve transferaz enzimleri sayesinde gerçekleşir. Proantosiyanidin, l-askorbat, flavonoid, polifenoller ve flavonoid dahil olmak üzere çilekteki farklı bileşenler için beslenme ile ilgili bazı genler, genetik dönüşümde ilgili bileşenin modifiye edilmesi için önemlidirler. Örneğin, ahududu meyvesinde, bHLH ve FRUITE4 genleri antosiyanin bileşenlerini kontrol ederken, ERubLRSQ072H02 flavonol ile ilgilidir. Bu genler, spesifik dönüşümler sayesinde, üretimi ve kaliteyi artırabilir. Bahsedilen tüm bu bileşiklerin tıbbi değerleri oldukça yüksektir (Mazzoni ve ark., 2016).

3. Çevre

Genetik mühendisliği, çevresel sorunların çözümünde geniş uygulama alanlarına sahiptir. Örneğin, genetik olarak tasarlanmış bir mikroorganizma olan ve HK44 olarak adlandırılan *Pseudomonas fluorescens* suşu, ilk kez Tennessee Üniversitesi ve Oak Ridge Ulusal Laboratuvarı tarafından biyoremediasyon çalışmaları için kullanılmıştır (Ripp ve ark., 2000). Tasarlanan suş, naftalin katabolik plazmid pUTK21 ve bir promotör içinde kaynaşmış transpozon bazlı biyoluminesans üreten bir lux geni içermektedir. Bu promotör, naftalin degradasyonunda iyileşme ve tesadüfi bir biyoluminesans yanıtı sağlamıştır. HK44, naftalin biyoyararlanımı ve biyolojik bozunma için bir haberci olarak hizmet ederken, biyoluminesans sinyal

verme yeteneği ise, biyoremediasyon süreçlerinin yerinde izlenmesi için çevrimiçi bir araç olarak kullanılabilmesine imkan tanımıştır. Biyolüminesan sinyal üretimi, fiber optikler ve foton sayma modülleri kullanılarak saptanabilir (Ripp ve ark., 2000).

3.1. Fitoremediasyon ve Bitki Direnci Geliştirme

Genetik mühendisliği, içme suyu ve diğer numunelerdeki kirletici maddelerin tespiti ve emiliminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin, bahçe bitkileri *Torenia*, *Petunia* ve *Verbena*'ya AtPHR1 geninin eklenmesi, Pi emilimi yeteneklerini değiştirmiştir. Arttırılmış Pi absorpsiyon kabiliyetine sahip AtPHR1 transgenik bitkileri, muhtemelen kirli su ortamlarında etkili fitoremediasyonu kolaylaştırabilir. AtPHR1 geninin bir parçası, pBinPLUS vektörü içine yerleştirildi. Bu plazmit pSPB1898 olarak adlandırıldı ve *Agrobacterium tumefaciens* kullanılarak *Petunia* ve *Verbena*'da transformasyon için kullanılmıştır. AtPHR1, *Torenia*, *Petunia* ve *Verbena* gibi diğer bitki türlerinde etkilidir ancak endojen AtPHR1'in posttranskripsiyonel modifikasyonu, AtPHR1'in aşırı ekspresyonu ile inhibe edilebilir (Matsui ve ark., 2013). Bitki metabolizması süreçleri, çevresel kirleticileri iyileştirmek için bunların önemini belirler. Bazı kimyasallar parçalanmaya veya sindirilmeye eğilimli değildir. TNT sadece kısmen sindirilir, burada nitrojen ayrıca oksijenle reaksiyona girerek toksik süperoksit oluşturur. Bu sorunun üstesinden gelmek için, monodehidro-askorbat redüktazdan sorumlu gen devre dışı bırakılır ve bu da TNT'ye karşı bitki toleransını artırır. Enzimatik aktivite ve genin devre dışı bırakılması, bitkinin toksik metallerle verdiği tepkiyi geliştirmiştir (Jez, Lee ve Sherp, 2016). Rekombinant DNA teknolojisinin, toprakta ciddi kirleticiler olarak kabul edilen arsenik parçacıklarından kurtulmada etkili olduğu kanıtlanmıştır. Anahtar bir arsenit [As (III)] antiporter olan PvACR3, *Arabidopsis*'te ekspresse edilmiş ve arseniğe karşı tolerans geliştirmiştir. PvACR3 ile genetik olarak tasarlanmış bitkilerin tohumları, genellikle yabancı tip tohumlar için öldürücü olan, normalden daha yüksek miktardaki arsenat [As(V)] varlığında çimlenebilir ve büyüyebilir. Arsenik (As), *A. thaliana*'da bulunan As redüktaz tarafından indirgenir. Fitoşelatinler, kök hücrelerdeki ve floem eşlik eden hücrelerdeki arsenik hareketini kısıtlar. OsNramp5 ve OsHMA3, kadmiyum (Cd) alımı ve tutulması için taşıyıcıları temsil eder (Clemens ve Ma, 2016). Bitkilerde, brassino-steroid (BR) fizyolojik düzenlemede ve gelişimsel süreçlerde rol oynar. BR aktivitesi, fosforilasyon veya defosforilasyon kaskadının tetiklenmesi ile başlar (Kim ve ark., 2016). Biyoremediasyon için son biyoteknolojik yaklaşımlar arasında biyosorpsiyon, fitostabilizasyon, hiperakümülayon, dendroremediasyon, biyostimülasyon, mikoremediasyon, siyanoremediasyon ve genoremediasyon, büyük ölçüde belirli gen aktivitelerini güçlendirmeye veya önlemeye bağlıdır (Mani ve Kumar, 2014).

3.2. Enerji Uygulamaları

Çeşitli mikroorganizmalar, özellikle siyanobakteriler, çevre dostu enerji kaynağı olan hidrojen üretimine aracılık ederler. Spesifik üretimde, bu enzimler ürün oluşumunda anahtar rol oynadığından, gerekli enzimler uygun şekilde kullanılarak sürdürülür. Ancak genetik mühendisliği, besin ve büyüme koşullarındaki değişiklik, kombine kültür, metabolik mühendislik ve hücresiz teknoloji gibi gelişmiş yaklaşımlar, siyanobakteriler ve diğer biyoyakıtlarda hidrojen üretimini artırmak için olumlu sonuçlar göstermiştir (Ullah ve ark., 2015). Bu enerji kaynağının ticarileştirilmesi, CO₂ ve diğer tehlikeli kimyasalları açığa çıkaran geleneksel enerji kaynaklarının kullanılmasıyla mümkün olmayan durumlarda çevreyi temiz tutacaktır (Ullah ve ark., 2016). Ayrıca siyanobakteriler, CO₂'yi azaltılmış yakıt bileşiklerine dönüştürebilecek şekilde tasarlanabilir. Bu, karbon enerji kaynaklarını çevreye zararsız hale getirecektir. Bu yaklaşım, kısa zincirli ve orta zincirli alkoller gibi çoğunlukla enerji taşıyıcıları olmak üzere çok çeşitli hammadde kimyasalı için başarılı olmuştur (Savakis ve Hellingwerf, 2015).

Sonuç

Rekombinant DNA teknolojisi, bilimde insan yaşamını çok kolaylaştıran önemli bir gelişmedir. Son yıllarda kanser tedavisi, genetik hastalıklar, diyabet ve başta viral ve fungal direnç olmak üzere çeşitli bitki bozuklukları gibi biyomedikal uygulamalara yönelik gelişmiş stratejilere sahiptir. Rekombinant DNA teknolojisinin çevreyi temiz hale getirmedeki rolü (bitki ıslahı ve mikrobiyal iyileştirme) ve bitkilerin farklı olumsuz etki faktörlerine (kuraklık, zararlı böcekler ve tuz) karşı direncin artırılmasına dair çabaları bu teknolojiyi oldukça önemli kılmaktadır. Sadece insanlarda değil, bitkilerde ve mikroorganizmalarda da getirdiği gelişmeler son derece önemlidir. Sağlık sorunları göz önüne alındığında, rekombinant teknoloji, normal koşullarda tedavi edilemeyen birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Diğer taraftan genetik mühendisliği stratejilerinde, organizmanın genomuna göre daha spesifik gen geliştirme ile üstesinden gelinmesi gereken çeşitli zorluklarla (posttranslasyonel modifikasyonlar, hücre stresi, proteolitik aktivitelerin istikrarsızlığı, düşük çözünürlük, yeni genlerin ekspresyonundaki direnç gibi) karşılaşmaktadır. Genetik materyalin bir kaynaktan diğerine geçişi, güvenlik ve biyolojik çeşitlilik açısından bir felaket olabilir. Genetiği değiştirilmiş bitkilerin ve diğer ürünlerin geliştirilmesine ilişkin çeşitli endişeler bulunmaktadır. Örneğin, genetiği değiştirilmiş bitkilerin yabancı bitkilerle melezlenebileceği ve böylece onların “tasarlanmış” genlerini çevreye yayarak biyoçeşitliliği etkileyebileceği kaygısı bulunmaktadır. Dahası, genetik mühendisliğinin sağlık açısından tehlikeli etkileri olduğuna dair endişeler de mevcuttur. Bu nedenle, bu tür sorunların üstesinden gelmek ve olası endişeleri çözmek için bu alanda daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Adair, J. E., Beard, B. C., Trobridge, G. D. ve ark., (2012). Extended survival of glioblastoma patients after chemoprotective HSC gene therapy. *Science Translational Medicine*, 4(133).
- Aiuti, A., Biasco, L., Scaramuzza, S. ve ark., (2013). Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy in patients with Wiskott-Aldrich syndrome. *Science*, 341, 6148.
- Aiuti, A., Vai, S., Mortellaro, A. Ve ark., (2002). Immune reconstitution in ADA-SCID after PBL gene therapy and discontinuation of enzyme replacement. *Nature Medicine*, 8(5),423–425.
- Alkhnbashi, O.S, Meier, T., Mitrofanov, A., Backofen, R. (2019). CRISPR-Cas bioinformatics. *Voß B.Methods*, 172, 3-11.
- Apel, W. ve Bock, R. (2009). Enhancement of carotenoid biosynthesis in transplastomic tomatoes by induced lycopene-to-provitamin A conversion. *Plant Physiology*, 151(1), 59–66.
- Bang, S. H., Jang, A., Yoon J. ve ark., (2011). Evaluation of whole lysosomal enzymes directly immobilized on titanium (IV) oxide used in the development of antimicrobial agents. *Enzyme and Microbial Technology*, 49(3),m260–265.
- Bazan-Peregrino, M. R., Sainson, C. A., Carlisle, R. C. ve ark. (2013). Combining virotherapy and angiotherapy for the treatment of breast cancer. *Cancer GeneTherapy*, 20(8), 461–468.
- Bendandi, M., Marillonnet, S., Kandzia, R. ve ark., (2010). Rapid, highyield production in plants of individualized idiotypic vaccines for non-Hodgkin's lymphoma. *Annals of Oncology*, 21(12), 2420–2427.
- Berk, A. ve Zipursky, S. L. (2000). *Molecular Cell Biology*, 4, WH Freeman, New York, NY, USA.
- Blaese, R. M., Culver, K. W., Miller, A. D. Ve ark., (1995). T lymphocytedirected gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. *Science*, 270(5235), 475–480.
- Cardi, T. ve Stewart Jr, C. N. 2016. Progress of targeted genome modification approaches in higher plants. *Plant Cell Reports*, 35(7), 1401–1416.
- Clemens, S. ve Ma, J. F. (2016). Toxic heavy metal and metalloid accumulation in crop plants and foods. *Annual Review of Plant Biology*, 67(1), 489–512.
- Danilo, M., Eusebio, M., Carla, P. C. ve ark. (2014). In vivo engineering of oncogenic chromosomal rearrangements with the CRISPR/Cas9 system. *Nature*, 516, 7531, 423–427.
- Fan, Q. R. ve Hendrickson, W.A. (2005). Structure of human folliclestimulating hormone in complex with its receptor. *Nature*, 433(7023), 269–277.

- Fausser, B. C. J. M., Mannaerts, B. M. J. L., Devroey, P., Leader, A., Boime, I. ve Baird, D. T. (2009). Advances in recombinant DNA technology: corifollitropin alfa, a hybrid molecule with sustained follicle-stimulating activity and reduced injection frequency. *Human Reproduction Update*, 15(3), 309–321.
- Galambos, L. ve Sturchio, J. L. (1998). Pharmaceutical firms and the transition to biotechnology: a study in strategic innovation. *Business History Review*, 72(2), 250–278.
- Gamuyao, R., Chin, J. H., Pariasca-Tanaka, J. ve ark., (2012). The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature*, 488(7412), 535–539.
- Ginn, S. L., Alexander, I. E., Edelstein, M. L., Abedi, M. R. Ve Wixon, J. (2013). Gene therapy clinical trials worldwide to 2012—an update. *Journal of GeneMedicine*, 15(2), 65–77.
- Henry, D., Choun-Sea, L., Ming, Y. ve Wan-Jung, C. (2016). Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome Biology*, 17, 134.
- Hille, F. ve Charpentier, E. (2016). CRISPR-Cas: biology, mechanisms and relevance. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371, 1707.
- Howe, S. J., Mansour, M. R., Schwarzwaelder, K. ve ark., (2008). Insertional mutagenesis combined with acquired somatic mutations causes leukemogenesis following gene therapy of SCID-X1 patients. *Journal of Clinical Investigation*, 118(9), 3143–3150.
- Hughes, J.P., Alusi, G. ve Wang, Y. (2015). Viral gene therapy for head and neck cancer. *The Journal of Laryngology&Otology*, 129(4), 314–320.
- Hynes, A. P., Labrie, S. J., ve Moineau, S. (2016). Programming native CRISPR arrays for the generation of targeted immunity. *mBio*, 7(3), 00202-16.
- Jez, J.M., Lee, S.G. ve Sherp, A.M. (2016). The next greenmovement: plant biology for the environment and sustainability. *Science*, 353(6305), 1241–1244.
- Jun, L., Shifeng, P., Mindy, H. H., ve Nicholas, N. (2013). Targeting Wnt- Driven Cancer through the Inhibition of Porcupine by LGK974. *MRC Laboratory of Molecular Biology*, Cambridge, UK, 2013.
- Karrer, E., Bass, S. H., Whalen, R. ve Patten, P. A., U.S. Patent No. 8,252,727, 2012.
- Kathuria, S., Sriraman, R., Nath, R. ve ark., (2002). Efficacy of plant produced recombinant antibodies against HCG. *Human Reproduction*, 17(8), 2054–2061.
- Kershaw, M. H., Westwood, J. A. ve Darcy, P. K. (2013). Gene-engineered T cells for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 13(8), 525–541.

- Kim, E.J., Youn, J.H., Park, C.H. ve ark., (2016). Oligomerization between BSU1 family members potentiates brassinosteroid signaling in Arabidopsis. *Molecular Plant*, 9(1), 178–181.
- Kreijtz, J. H. C. M., Wiersma, L. C. M., De Gruyter, H. L. M. Ve ark., (2015). A single immunization with modified vaccinia virus Ankara-based influenza virus H7 vaccine affords protection in the influenza A(H7N9) pneumonia ferret model. *The Journal of Infectious Diseases*, 211(5), 791–800.
- Koonin, E.V., Makarova, K.S. (2017). Mobile Genetic Elements and Evolution of CRISPR-Cas Systems: All the Way There and Back. *Genome Biol Evol.* 9 (10), 2812-2825.
- Kumar, S. ve Kumar A. (2015). Role of genetic engineering in agriculture. *Plant Archives*, 15, 1-6.
- Lam, P., Khan, G., Stripecke, R. ve ark., (2013). The innovative evolution of cancer gene and cellular therapies. *Cancer GeneTherapy*, 20(3),141–149.
- Li, L. X., Zhang, Y.L., Zhou, L. ve ark. (2013). Antitumor efficacy of a recombinant adenovirus encoding endostatin combined with an E1B55KD-deficient adenovirus in gastric cancer cells. *Journal of Translational Medicine*, 11(1), 257.
- Lian, Z.-X., Ma, Z.-S., Wei, J. ve Liu, H. (2012). Preparation and characterization of immobilized lysozyme and evaluation of its application in edible coatings. *Process Biochemistry*, 47(2), 201–208.
- Ling, C.-Q., Wang, L.-N., Wang, Y. ve ark., (2014). The roles of traditional Chinese medicine in gene therapy. *Journal of integrative medicine*, 12(2), 67–75.
- Liu, W., Yuan, J. S. ve Stewart Jr., C. N. (2013). Advanced genetic tools for plant biotechnology. *Nature Reviews Genetics*, 14(11), 781–793.
- Lomedico, P. T. 1982. Use of recombinant DNA technology to program eukaryotic cells to synthesize rat proinsulin: a rapid expression assay for cloned genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(19), 5798–5802.
- Ma, J. K.C., Drake, P. M. W. ve Christou, P. (2003). The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. *Nature Reviews Genetics*, 4(10), 794–805.
- Macallan, D. C., Baldwin, C., Mandalia, S. Ve ark., (2008). Treatment of altered body composition in HIV-associated lipodystrophy: comparison of rosiglitazone, pravastatin, and recombinant human growth hormone. *HIV Clinical Trials*, 9(4), 254–268.
- Makarova, K.S., Koonin, E.V. (2015). Annotation and Classification of CRISPR-Cas Systems. *Methods Mol Biol.* 1311, 47-75.
- Mani, D. ve Kumar, C. (2014). Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: an overview with special

- reference to phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 11(3), 843–872.
- Matsui, K., Togami, J., Mason, J. G., Chandler, S. F. ve Tanaka, Y. (2013). Enhancement of phosphate absorption by garden plants by genetic engineering: a new tool for phytoremediation. *BioMed Research International*, 7.
- Mazzoni, L., Perez-Lopez, P., Giampieri, F. ve ark., (2016). The genetic aspects of berries: from field to health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(2), 365–371.
- Masson, E. A., Patmore, J. E., Brash, P. D. Ve ark.. (2003). Pregnancy outcome in Type 1 diabetes mellitus treated with insulin lispro (Humalog). *Diabetic Medicine*, 20(1), 46–50.
- M'endez, C. ve Salas, J. A. (2003). On the generation of novel anticancer drugs by recombinant DNA technology: the use of combinatorial biosynthesis to produce novel drugs. *Combinatorial Chemistry —HighThroughput Screening*, 68(6), 513–526.
- Merten, O ve Gaillet B. (2016). Viral vectors for gene therapy and gene modification approaches. *Biochemical Engineering Journal*, 108, 98–115.
- Merten, O., Schweizer, M., Chahal, P. ve Kamen, A. A. (2014). Manufacturing of viral vectors for gene therapy: part I. Upstream processing. *Pharmaceutical Bioprocessing*, 2(2), 183–203.
- Metzger IV, L. E. ve Raetz, C. R. H. (2009). Purification and characterization of the lipid A disaccharide synthase (LpxB) from Escherichia coli, a peripheral membrane protein. *Biochemistry*, 48(48), 11559–11571.
- Mohanraju, P., Makarova, K. S., Zetsche, B., Zhang, F. Koonin, E. V. ve Van der Oost, J. (2016). Diverse evolutionary roots and mechanistic variations of theCRISPR-Cas systems. *Science*, 353,6299.
- Montini, E., Biffi, A., Calabria A. ve ark., (2012). Integration site analysis in a clinical trial of lentiviral vector based haematopoietic stem cell gene therapy for meatchromatic leukodystrophy. *Human GeneTherapy*, 23.
- Olempska-Beer, Z. S., Merker, R. I., Ditto, M. D. ve DiNovi, M.J. (2006). Food-processing enzymes from recombinant microorganisms—a review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 45, 2, pp. 144–158, 2006.
- Ott, M. G., Schmidt, M., Schwarzwaelder, K. ve ark., (2006). Correction of X-linked chronic granulomatous disease by gene therapy, augmented by insertional activation of MDS1-EVI1, PRDM16 or SETBP1. *Nature Medicine*, 12(4), 401–409.
- Patra, A. K., Mukhopadhyay, R., Mukhija, R., Krishnan,A., Garg, L. C. ve Panda, A. K. (2000). Optimization of inclusion body solubilization and renaturation of recombinant human growth hormone fromEscherichia coil. *Protein Expression and Purification*, vol. 18, no. 2, pp. 182–192, 2000.

- Pennisi, E. (2013). The CRISPR craze. *Science*, 341(6148), 833–836.
- Restifo, N. P., Dudley, M. E. ve Rosenberg, S. A. (2012). Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nature Reviews Immunology*, 12(4), 269–281.
- Ripp, S., Nivens, D. E., Ahn Y. ve ark., (2000). Controlled field release of a bioluminescent genetically engineered microorganism for bioremediation process monitoring and control. *Environmental Science and Technology*, 34(5), 846–853.
- Rivero-Müller, A., Laji'c, S. ve Huhtaniemi, I. (2007). Assisted large fragment insertion by Red/ET-recombination (ALFIRE)-an alternative and enhanced method for large fragment recombineering. *Nucleic Acids Research*, 35(10), 78.
- Robbins, P. F., Morgan, R. A., Feldman S. A. ve ark. (2011). Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. *Journal of Clinical Oncology*, 29(7), 917–924.
- Savakis P. ve Hellingwerf, K. J. (2015). Engineering cyanobacteria for direct biofuel production from CO₂. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 8–14.
- Shinde, S. A., Chavhan, S. A., Sapkal, S. B., Shrikhande, V. N. (2018). Recombinant DNA Technology and its Applications: A Review. *International Journal of MediPharm Research*, 4(2), 79-88.
- Smith, J. D. (2016). Human Macrophage Genetic Engineering. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 36(1), 2–3.
- Stein, S., Ott, M. G., Schultze-Strasser, S. Ve ark., (2010). Genomic instability and myelodysplasia with monosomy 7 consequent to EVI1 activation after gene therapy for chronic granulomatous disease. *Nature Medicine*, 16(2), 198–204.
- Steinberg, F. M. ve Raso, J. (1998). Biotech pharmaceuticals and biotherapy: an overview. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 1(2), 48–59, 1998.
- Stoger, E., Vaquero, C., Torres E. ve ark., (2000). Cereal crops as viable production and storage systems for pharmaceutical scFv antibodies. *Plant Molecular Biology*, 42(49), 583–590.
- Thallinger, B., Prasetyo, E. N., Nyanhongo, G. S. ve Guebitz, G. M. (2013). Antimicrobial enzymes: an emerging strategy to fight microbes and microbial biofilms. *Biotechnology Journal*, 8(1), 97–109.
- Ullah, M. W., Khattak, W. A., Ul-Islam, M., Khan, S., ve Park, J. K. (2015). Encapsulated yeast cell-free system: a strategy for cost-effective and sustainable production of bio-ethanol in consecutive batches. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 20(3), 561–575.

- Ullah, M.W., Khattak, W.A., Ul-Islam, M., Khan, S. ve. Park, J. K. (2016). Metabolic engineering of synthetic cell-free systems: strategies and applications. *Biochemical Engineering Journal*, 105, 391–405.
- Venter, M. (2007). Synthetic promoters: genetic control through cis-engineering. *Trends in Plant Science*, 12(3), 118–124.
- Vyas, V. K., Barrasa, M. I., ve Fink, G. R. (2015). A *Candida albicans* CRISPR system permits genetic engineering of essential genes and gene families. *Science Advances*, 1, 3..

Bölüm 5

İYOTUN İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ VE HATAY/ANTAKYA İÇME SULARINDA İYOT DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Zeki AYDIN¹

¹ Dr. Öğ. Üyesi Zeki AYDIN Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Antakya/Hatay

1.Giriş

İyot, insan ve hayvanların özellikle bedensel ve zihinsel açıdan normal bir gelişme gösterebilmesi için gerekli temel eser elementlerden biridir (Velasco, Bath, & Rayman, 2018; Wei, Hong-Xia, Bing, Deng-Yun, & Hui-Juan, 2007). Yetişkin bir bireyin vücudunda ortalama 25 mg iyot bulunmaktadır. Bu miktarın % 75'i troid bezinde kalanı ise kan, mide mukozası gibi diğer vücut dokulardadır. İnsan vücudunda troid bezi tarafından salgılanan Triiyodotironin (T_3) ve Tiroksin (T_4) hormonlarının yapısında doğrudan yer alan iyot, büyük bir öneme sahiptir (Haldimann, Zimmerli, Als, & Gerber, 1998). T_3 ve T_4 hormonları; troid bezinde depolanan iyotla aminoasitlerden tirozin birleşmesi ile oluşmakta ve oradan kana geçmektedir (Zbigniew, 2016). Kan dolaşımı ile hücrelere taşınan hormonlar bazal metabolizma hızının denetiminde aktif olarak görev alır. Bu hormonların kandaki düzeyi hipofiz bezinden salgılanan TSH hormonu ile ayarlanmaktadır (Baysal, 2011). Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nın 1996 yılında belirlediği iyot gereksinimlerine göre bir yetişkin ortalama 150 µg/gün iyot almalıdır (Unit & Organization, 1996).

Metabolizmanın ihtiyaç duyduğu iyot miktarının yeteri kadar alınmaması sonucunda tiroit bezinde çalışma düzensizlikleri meydana gelir. Troid bezinin düzenli çalışmaması/çalışmaması durumunda;

- Hamilelik döneminde; erken doğum, düşük ve ölü doğumlar,
- Bebeklik ve çocukluk döneminde; özellikle büyüme ve zekâ geriliği,
- Gençlik döneminde; guatr hastalığı, konsantrasyon bozuklukları, çeşitli gelişim problemleri,
- Yetişkinlik döneminde ise; guatr, hipotiroidi, aşırı yorgunluk, çeşitli metabolik rahatsızlıklar (karaciğer fonksiyonlarının bozulması, hormonal bozukluklar.vb), zihinsel faaliyetlerin bozulması gibi daha bir çok hastalık meydana gelebilir (Bakanlığı, 2008).

Troid hormonu beyin, retina, dalak, testis ve akciğer hariç pek çok hücrenin metabolik faaliyetlerini artırır. Cilt değişiklikleri, dilin büyümesi, sesin kalınlaşması, hareketlerde yavaşlama, kalp yetmezliği, alkoloid ilaçlara karşı aşırı hassasiyet, aşırı kilo kaybı gibi daha pek çok bozukluk ve hastalık iyot eksikliğinden kaynaklanabilir (Urgancıoğlu & Hatemi, 1996).

İyodun vücuda alınımı genellikle su ve besinler yolu ile olmaktadır. Endemik guatr bölgelerinde yapılan araştırmalarda iyodun; su, bölgede yetişen besinler ve toprakta az miktarda olduğu tespit edilmiştir. Özellikle toprağın yağmur suları ile çok fazla yıkandığı ve su baskınlarının olduğu bölgelerde iyot eksikliği tespit edilmiştir. Yapılan incelemelerde de bu bölgede yaşayan insanlarda iyot eksikliğine bağlı endemik guatr ve

iyot eksikliğine bağlı çeşitli hastalıklar olduğu tespit edilmiştir (Ergüler, Çelen, Özçelik, Kepekçi, & Ergüler, 1996; Urgancıoğlu & Hatemi, 1996).

İyot eksikliğinin tespit edilen bölgelerde, iyot eksikliğinden kaynaklanan hastalıkların önüne geçilmesi amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Ülkemizde de iyot eksikliğinin önüne geçilmesi amacıyla Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu (UNICEF)'nin birlikte yürüttüğü “İyot Yetersizliği Hastalıklarının Önlenmesi ve Tuzun İyotlanması Programı” devam ettirilmektedir. Bu çalışma başarı ile 1994 yılından günümüze kadar uygulanarak yürütülmektedir. (Tran, Hetzel, & Fisher, 2016).

İyot çeşitli etkilerle (rüzgar, yağmur, seller.vb) toprak yüzeyinden tatlı su kaynaklarına (yeraltı suları barajlar gibi) ve tuzlu su kaynaklarına (okyanuslar ve denizler) taşınmaktadır. Bundan dolayı özellikle deniz ürünlerinde bol miktarda iyot bulunmaktadır. Ayrıca aşırı yağın yağmur ve tekrarlayan sellerle toprağın sürekli yıkanması ve rüzgar ve sellerle oluşan erozyon topraktaki iyotun azalmasına sebep olmaktadır. Bu şekilde yıkanmış topraklarda yetiştirilen bütün bitkilerde bünyelerinde çok az miktarda iyot içermektedirler. Buna bağlı olarakta bu bitkilerle beslenen insan ve hayvanlarda iyotu yetersiz miktarda almaktadırlar. (Budak, 2000).

Dünya Sağlık Örgütünün belirlediği günlük alınması gereken iyot miktarları aşağıdaki tabloda verilmiştir. Buna göre bebeklerde günlük minimum 50 µg/gün iken emziren annelerde bu 200 µg/gün olarak belirlenmiştir (Unit & Organization, 1996).

Yaş (yıl) ve cinsiyet	Günlük miktar (µg/gün)
0-12 Ay	50
1-6 Yaş	90
7-12 Yaş	120
12 Yaş-Erişkin	150
Gebelik Dönemi	200
Emzirme Dönemi	200

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütünün belirlediği günlük alınması gereken iyot miktarları (Unit & Organization, 1996)

Doğal guatrojenler (endemik guatrdan sorumlu bitkiler) beyaz lahana, beyaz turp, şalgam, karalahana, kırmızı turp, soğan, sarımsak sayılabilir. Alınan iyot miktarının önemli bir kısmının sudan geri kalan kısmının da yiyeceklerden alındığı düşünülürse (bu guatrojenler de dikkate alındığında) içme sularındaki iyot miktarı tayininin önemi daha iyi bir

şekilde anlaşılabilir. Türkiye içerisinde endemik guatr bölgeleri belirlenmesine ilişkin pek çok çalışma yapılmıştır (Ergüler et al., 1996; Özçelik, Solak, Kocaoluk, Ülgen, & Erengül, 2001).

İyodun içme suları ve çeşitli örneklerde (deniz suyu, yiyecekler, yüzey sular ...) analizi için farklı yöntem ve çalışmalar literatür incelenildiğinde görülebilir (Espada-Bellido, Bi, Salaün, & van den Berg, 2017; Judprasong, Jongjaithet, & Chavasit, 2016; Pichel & Vivar, 2017; Ratanawimarnwong et al., 2005).

Hatay bölgesi özellikle kış ve bahar aylarında sürekli yağış almaktadır. Yıllık yağış miktarı Türkiye ortalamasının üzerindedir. Bölgede sebze, meyve ve tahıl olmak üzere pek çok farklı ürün yetiştirilmektedir. İyot ihtiyacının başta içme suyu ve yiyeceklerden karşılandığı düşünülecek olursa Karadeniz bölgesi gibi çok yağış alan bu bölgede de iyot eksikliği olması muhtemeldir. İyot eksikliğinin bebek ve çocuklarda zekâ ve büyüme geriliğine, yetişkinlerde çeşitli metabolizma faaliyeti bozukluklarına yol açtığı bilindiğinden içme sularında iyot miktarının tespiti önemlidir.

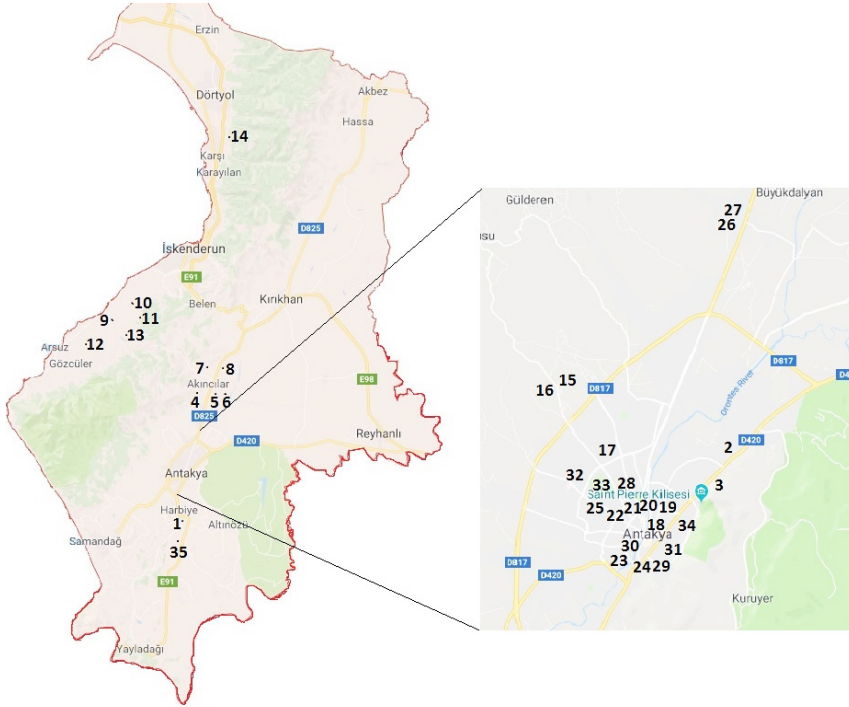
Bu çalışmada; Hatay/Antakya bölgesinde açılmış ve belediyenin şehrin içme suyu ihtiyacını karşıladığı kuyular ile bölgede açılmış ve özellikle içme suyu olarak kullanılan kuyu sularındaki iyot miktarları ile birlikte bazı temel su parametreleri belirlenmiştir.

2. Materyal ve Metot

Materyal

Su Örneklerinin Toplanması

Su örnekleri ağırlıklı olarak Antakya ili ve İskenderun ilçesindeki şebeke suyu olarak kullanılan kuyu sularından alınmıştır. Tespit edilen su kuyuları; belediye tarafından tüm kentin içme suyu ihtiyacının sağladığı kuyulardır. Yani özellikle Antakya ve İskenderun nüfusunun büyük bölümünün içme suyunu sağlayan ana su kuyularıdır. Örnek sayısı ve örneklerin yerleri bu şekilde belirlenmiştir. Toplanan su numunelerinin alındığı yerler harita üzerinde Şekil 1’de gösterilmiştir. Su örnekleri kuyulardan alınırken çözünmüş oksijen miktarı, pH değeri ve iletkenlik değeri ölçülerek kaydedilmiştir Her bir örnek 1L’lik polietilen numune kaplarına alınarak üzerine örneğin alındığı yerleşim yerinin adresi kaydedilip numara verilmiştir. Bu şekilde alınan su örnekleri +4°C’de tutularak laboratuvara getirilmiş ve hemen analizlere başlanmıştır.

Şekil 1. Su numunelerinin toplandığı yerler

Numunenin Saklanması

Kullandığımız analiz yöntemi bir dizi redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Numunenin analiz yapılmadan önce bekletilmesi durumunda havadaki oksijen miktarı, ortamın sıcaklığı, ışık ve numunedeki var olan iyonlar sonuçları önemli derecede etkileyebilmektedir.

Bu sorunları ortadan kaldırmak için numune alındıktan sonra pH'sı seyreltik (2M) HNO_3 çözeltisinden 5mL ilave edilerek 2'ye getirilmiş ve ağzı kapalı bir kaba alındıktan sonra $+4^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. Su numuneleri laboratuvar ortamında çok bekletilmeden analizleri yapılmıştır.

Metot

Alınan içme sularında ki iyot miktarının tespit edilebilmesi için de Araujo Nogueira ve arkadaşlarının (de Araujo NOGUEIRA, Mockiuti, de SOUZA, & PRIMAVESI, 1998) kullanmış olduğu spektrofotometrik metot aynen uygulanmıştır.

Kullanılan çözeltiler

Potasyum Tiyosiyonat (KSCN) Çözeltisi: 0,23 g KSCN tartılır ve son hacim 10 mL olacak şekilde distile su ile çözülmüştür. Hazırlanan bu çözeltiden 1 mL alınır ve 100 mL'lik balon jojeye aktarılmıştır. Distile su

kullanılarak son hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen bu son çözelti % 0,023'lük KSCN çözeltisidir.

Sodyum Nitrit (NaNO_2) Çözeltisi: 0,2 g NaNO_2 tartılır ve son hacim 10 mL olacak şekilde distile su ile çözölmüştür. Hazırlanan bu çözeltiden 1 mL alınır ve 100 mL'lik balon jojeye aktarılmıştır. Destile su kullanılarak son hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen bu son çözelti % 0,02'lik NaNO_2 çözeltisidir.

Amonyum demir(III)sülfat ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$) Çözeltisi: 7,25 g $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ tartılmış ve 2,4 M HNO_3 içerisinde son hacim 100 mL olacak şekilde çözölerek hazırlanmıştır..

Stok İyodür Çözeltisi: 0,1308 g KI tartılır ve son hacim 100 mL olacak şekilde distile su ile çözölmüştür. Elde edilen çözelti 1000 ppm stok iyodür çözeltisidir.

1000 ppb KI Çözeltisi: 1000 ppm'lik stok iyodür çözeltisinden 1 mL alınmış ve son hacmi 10 mL olacak şekilde distile su eklenmiştir. Bu hazırlanan çözelti 100 ppm'lik iyodür çözeltisidir. Hazırlanan bu çözeltiden tekrar 1 mL alınarak 100 mL'lik balon jojeye aktarılmıştır. Bu hazırlanan çözelti 1 ppm yani 1000 ppb iyodür çözeltisidir.

Kalibrasyon Standartlarının Hazırlanması ve Su Örneklerinde İyot Tayini

1000 ppb'lik iyodür çözeltisinden standart tüplerine sırasıyla 0-20-40-60-80-100 μL alınmış ve tüplere 5 mL olacak şekilde saf su ilave edilmiştir. Numune tüplerine ise sadece 5 mL su örneği konmuştur. Tanık deneylerinde örnek yerine 5 mL deiyonize su kullanılmıştır. Bütün tüplere sırasıyla 1 mL KSCN çözeltisi, 2 mL $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ çözeltisi ve 1,25 mL NaNO_2 çözeltisi ilave edilerek 10 mL'ye destile su ile tamamlanmıştır. Tüplerin kapakları kapatılarak vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi tamamlandıktan sonra 1 saat 60 °C'deki su banyosunda bekletilmiştir. Bu 1 saatin sonunda tüpler 10 dakika buzlu suda bekletilmiş, ultra saf suya karşı örnekler ve kör çözeltiler dalga boyu 454 nm'ye ayarlanmış UV- Vis. Spektrofotometrede (Hitachi Marka U 1900 Model) okunmuştur.

Standart Çözelti Derişimi

Standartlardaki iyot derişimi sırasıyla 0-2-4-6-8-10 $\mu\text{g/L}$ 'dir. Elde edilen absorbans değerleri iyot derişimine karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Bu kalibrasyon eğrisinden örneklerin içerdikleri iyot derişimi bulunmuştur. Elde edilen sonuçların ve yöntemin doğruluğunu tespit edilebilmesi için standart ekleme yöntemi uygulanmıştır.

3. Bulgular

Bekleme süresinin analiz sonuçlarına etkisi incelenmiş ve bulgular Tablo 2’de verilmiştir.

	İyot derişimi $\mu\text{g/L}$
Yeni alınmış su numunesi	1,0
24 saat oda sıcaklığında bekletilmiş su numunesi	2,7
24 saat +4 °C’de bekletilmiş su numunesi (pH:2)	1,1

Tablo 2. Bekleme süresinin analiz sonuçlarına etkisi

Yukarıda ki tablodan da görülebileceği gibi örneğin bekleme süresi arttıkça iyot derişimi artmaktadır. İyot derişimi dışardan herhangi bir şekilde iyot ilavesi yapılmadığı sürece artmayacağına göre bekleme süresince meydana gelen redoks reaksiyonları iyot sinyale pozitif yönde yani arttırıcı etki yapmıştır. Bu nedenle yöntemde de önerildiği gibi suyun pH değeri 2M HNO_3 çözeltisinden 5 mL ilave edilmek suretiyle (numune alınır alınmaz sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH değerleri ölçülerek kaydedildikten sonra) pH:2’ye düşürülmüş ve bu redoks reaksiyonlarının önüne geçilmeye çalışılmıştır. Laboratuvara getirilen örnekler yukarıda belirtilen koşullarda muhafaza edilerek spektrofotometrik iyot tayini gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 3’te verilmiştir.

Örnek No.	pH	Sıcaklık (°C)	Elektriksel iletkenlik ($\mu\text{S/cm}$)	Çözünmüş oksijen (mg/L)	İyot Derişimi ($\mu\text{g/L}$)
1	7,40	16,4	402	7,80	6,24
2	7,33	23,0	655	6,06	6,25
3	7,30	19,0	487	7,22	6,00
4	7,98	21,0	420	4,52	0,55
5	7,90	20,0	488	5,69	0,50
6	7,90	21,8	450	4,60	0,20
7	7,82	20,0	521	5,20	0,69
8	7,70	18,7	523	6,20	0,32
9	6,43	16,15	745	6,15	5,98
10	6,43	20,7	750	5,95	1,26
11	6,41	18,7	727	6,95	5,60
12	6,39	23,2	523	7,70	3,24
13	6,41	20,5	766	6,15	1,16
14	6,65	21,0	397	7,90	2,45
15	8,61	20,0	533	7,60	0,20
16	7,09	21,0	613	6,01	1,03
17	7,84	25,1	608	6,30	2,45
18	7,53	19,2	562	5,90	2,00

19	7,96	26,6	668	6,40	0,85
20	7,44	26,8	672	6,50	0,62
21	7,52	20,3	681	5,90	1,94
22	7,42	27,4	620	5,71	1,26
23	7,05	22,0	1430	3,07	1,08
24	7,23	21,2	2750	2,76	2,42
25	7,24	20,0	768	6,37	3,54
26	6,85	22,0	745	6,02	4,42
27	7,23	21,0	698	6,20	3,85
28	6,96	22,0	654	6,10	2,11
29	7,25	22,2	570	5,61	1,07
30	7,16	25,0	1049	3,31	3,84
31	7,33	18,3	446	4,32	1,38
32	7,41	22,2	723	3,77	2,02
33	7,18	24,0	1072	2,86	1,54
34	7,26	22,5	641	2,50	0,77
35	7,72	22,3	578	3,02	0,65

Tablo 3. Su örneklerinin yapılan fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Yöntemin Doğruluğunun Kontrolü

Yöntemin doğruluğunu kontrol etmek amacıyla öncelikle bir su numunesindeki iyot miktara belirlenmiş daha sonra bu su numunesi üzerine belirli derişimde iyodür ilave edilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki gibidir.

	Numunedeki iyot Miktarı $\mu\text{g/L}$	2 $\mu\text{g/L}$ İyodür İlave Edilmiş Numunelerdeki İyot Miktarı $\mu\text{g/L}$	% Geri Kazanım
1	0,624	2,635	102
2	0,625	2,603	96

Tablo 4. Yöntemin doğruluğunun kontrolü

Yukarıdaki tabloda ortama ilave edilen iyot miktarının yüzde geri kazanımları hesaplanmıştır. Bu sonuçlar kullanılan yöntemin doğruluğunun yüksek olduğunu gösterir. % Geri Kazanım değerleri % 96-102 aralığında bulunmuştur. Bu değerler ise yapmış olduğumuz iyot tayininde tespit edilen miktarın doğruluğunun yüksek olduğunu göstermektedir.

Ortamda Bulunması Muhtemel Olan İyonların Analiz Sonuçlarına Etkisi

Alınan kuyu suyu içerisinde bulunması muhtemel katyonlardan Na^+ , K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi iyonların analiz sonuçlarını etkilemediği yapılan deneysel çalışmalarla belirlenmiştir. Ayrıca CO_3^{-2} , HCO_3^- ve SO_4^{-2} anyonla-

rının da absorbands değerlerinde pozitif ya da negatif bir değişime neden olmadığı görülmüştür. Bu yüzden bu iyonlar ile ilgili herhangi bir sonuç tablosu verilmemiştir.

Ancak klorür iyonunun analiz sonuçlarını etkilediği tespit edilmiştir. Klorürün analiz sonuçlarını ne derece etkilediği aşağıdaki deneysel sonuçlarla ortaya konulmuştur.

Numune + Eklenen klorür derişimi mg/L	İyot derişimi ($\mu\text{g/L}$)
Çeşme suyu	0,644
Çeşme suyu + 50	0,962
Çeşme suyu +100	1,350
Çeşme suyu + 200	2,121

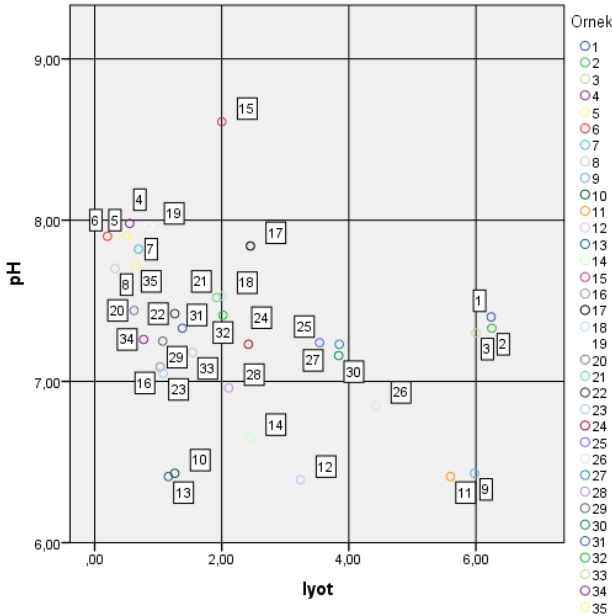
Tablo 5. Klorür konsatrasyonunun iyot analiz sonuçlarına etkisi

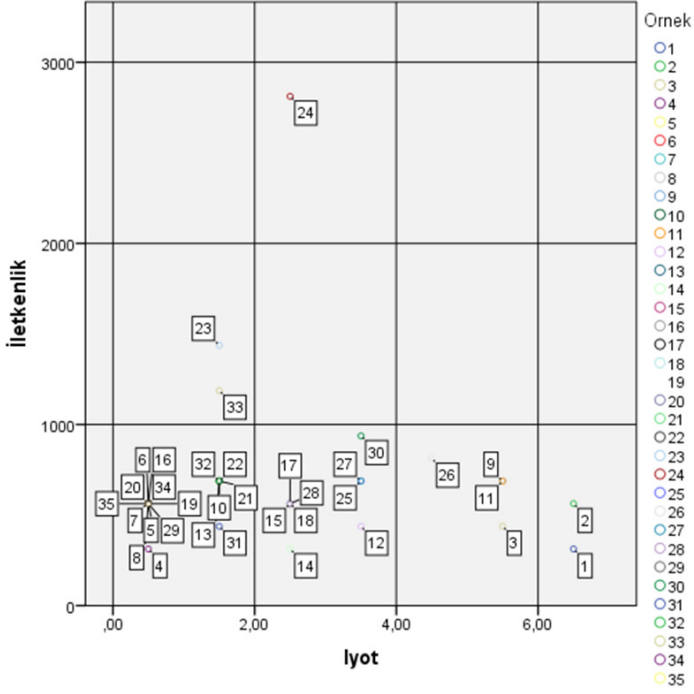
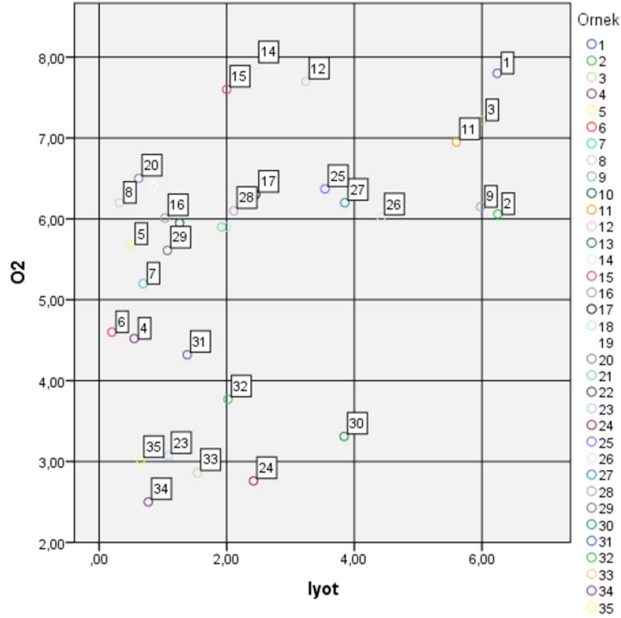
Bu nedenle kuyu sularının klorla dezenfekte edilmesinden sonra yapılacak iyot tayininin doğruluğu çok iyi olmayacaktır. Alınan kuyu sularının klorür derişimi çok çok düşük olduğu için analiz sonuçlarını doğrudan etkilemesi mümkün değildir.

İstatiksel Analiz

Örneklerin içerdiği iyot miktarları pH, iletkenlik ve çözülmüş oksijen miktarları ile olan ilişkilerinin istatiksel olarak analiz edilmesi için SPSS23 programı kullanılmıştır. Örneklerin iyot derişimine karşılık diğer parametrelerin saçılım grafikleri aşağıda verilmiştir.

Şekil 2. Su numunelerinin iyot/pH saçılım grafiği



Şekil 3. Su numunelerinin iyot/iletkenlik saçılım grafiği**Şekil 4.** Su numunelerinin iyot/çözülmüş oksijen saçılım grafiği

4. Tartışma ve Sonuç

İyot; insan sağlığını önemli derecede etkileyen elementlerden birisidir. İyot eksikliği olan insanlarda genellikle çeşitli troid bezi hastalıkları ortaya çıkmaktadır. bunlar arasında troid bezinin büyümesi ile kendini gösteren Guatr Hastalığı en başta sayılabilir.

Türkiye guatr sorununun sık rastlandığı ülkelerden birisidir. Türkiye’de bulunan ilçelerin % 30’unun içme suyunda iyot eksikliği vardır (Ergüler et al., 1996). Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar çalışılan bölgede de böyle bir sorunun olduğunu yani bölgede iyot eksikliğini ortaya koymaktadır. Bu anlamda Ergüler ve arkadaşlarının bulduğu sonuçlarla paralellik arz etmektedir.

Hatay/Antakya içme suyu için kullanılan kuyu sularında iyot miktarları 0,20 ile 6,25 µg/L aralığında bulunmuştur. Çalışılan bu kuyu sularının ortalama iyot derişimi $2,27 \pm 1,87$ µg/L olarak tespit edilmiştir. Yetişkin bir insanın günlük iyot ihtiyacı 150 µg olduğu rapor edildiğine göre ve günlük olarak ortalama yetişkin bir bireyin 2 litre su tükettiği varsayılırsa, bu tür sulardan kazanılacak günlük iyot miktarı ancak bireyin ihtiyacının %3 nü karşılamaktadır. Bu ise çok düşük bir miktardır.

Elde edilen sonuçlara dayanarak Antakya içme sularında iyot miktarının çok düşük olduğunu söyleyebiliriz. Yetişkin bir insanın günlük iyot ihtiyacının sadece içme suyundan karşılayamayacağı da bariz bir şekilde ortadadır. Günlük iyot ihtiyacının karşılanabilmesi için herkes tarafından bilinen ve çok sayıda ülke tarafından da uygulanan tuzlara iyot katılması programı Dünya Sağlık Örgütü tarafından başlatılmış olup başarı ile sürdürülmektedir. Ayrıca fırınlarda üretilen ekmeklere, şişe sularına iyot katılması programları da devam eden programlar arasındadır. Özellikle kırsal kesimde yaşayan nüfusun kent merkezinde yaşayan nüfusa oranla daha fazla iyot eksikliği olması beklenen bir sonuçtur. Ülkemizde tuz kullanımının azaltılmasına yönelik bir politikanın olması veya bireylerde hipertansiyon olması durumunda ise iyotlu tuz yerine, bu bölgedeki bireylerin iyotun esas kaynağı olan deniz ürünlerinden yeterince tüketmeleri tavsiye edilmektedir..

Bu konuda Antakya bölgesinde 6-12 yaş grubu çocuklarda yapılan idrarda iyot miktarını tespitine yönelik çalışmada kırsal kesimde iyot eksikliğini ciddi bir boyutta olduğu, kent merkezinde ise %7 oranında hafif iyot eksikliği saptanmıştır(Çelik et al., 2014). Bu çalışma yapılan çalışma sonuçları ile paralellik arz etmekte ve bölgede ki iyot eksikliğini farklı bir yönden ortaya koymaktadır.

İyot analiz edilmesi en zor olan elementlerden birisidir. Bu nedenle numunenin alınmasında, numunemi muhafazasında ve analizin yapılmasında çok dikkatli olunmalıdır. Numunenin bekletildiği ortam şartlarının

ne derece önemli olduğu yapılan deneysel çalışmalarla ortaya konulmuştur. Ortam şartlarının analiz sonuçlarına etkisi Tablo 2’de verilmiştir.

Bu çalışmada yapılan pH, Sıcaklık (°C), Elektriksel iletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ve Çözünmüş oksijen miktarı (mg/L) Tablo 3’te verilmiştir. Ölçüm sonuçları, Antakya’nın kuyu sularının orta ve iyi derecede içme suyu kalite sınıfına girdiğini göstermiştir (Güler & Çobanoğlu, 1997).

Yöntemin doğruluğunun kontrolü için ortama belirli derişimlerde iyodür ilave edilmiş ve eklenen iyot miktarı yüzde geri kazanımdan hesaplanmıştır. Bu sonuçlar Tablo 4’te verilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak yöntemin güvenilir olduğu söylenebilir. Yöntemde klorür iyonu haricinde başka bir iyonun iyot miktarına bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

İstatiksel olarak elde edilen dağılım grafiklerine bakıldığında harita üzerinden de gösterildiği gibi örneklerin lokasyona bağlı olarak bir grup oluşturdıkları görülmektedir. Bu grup içerisinde 24 nolu örneğin tamamen farklı özellik sergilediği, bunun sebebinin ise alınan kuyu suyu örneğinin yer altında farklı bir su çanağına denk gelen bir yerden alınmış olabileceği söylenebilir. Harbiye bölgesinden alınan su örneklerinin grafiklerde ikisinin de farklı bölgelerde olması da bu iki örneğin beslendiği yeraltı suyunun farklı olmasından kaynaklanabileceği söylenebilir. Diğer örnekler ise kendi aralarında hemen hemen bir küme dağılımı göstermektedir. Bu ise bu örneklerin yeraltı su kaynaklarının az yada çok birbirlerine bağlı olduğu sonucunu göstermektedir.

Sonuç olarak kullandığımız yöntem kolay güvenilir ve ucuz bir yöntemdir. İçme sularındaki iyot miktarını belirlemede kolaylıkla kullanılabilir. Örnek alma ve örneğin muhafazasında gerekli kurallara uyulduğunda çok güvenilir ve doğru sonuçlar alınabilir. Yöntemin tek dezavantajı ortamdaki klorürden etkilenmesidir. İçme sularının genelinin kuyu ve yüzey suları olduğu, ayrıca tuz oranının dolayısıyla klorür oranının düşük olduğu bilindiğinden içme sularında ki iyot tayini için bu çalışılan yöntem kullanılabilir. Ancak aşırı miktarda klorür içeren deniz suyu gibi örneklerde iyot miktarı bu yöntem kullanılarak tayin edilmesi pek mümkün görülmemektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından 1005M0114 No’lu Münferit proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Bakanlığı, S. (2008). *Eğitimciler için eğitim rehberi beslenme modülleri*.
- Baysal, A. (2011). *Beslenme*.
- Budak, N. (2000). *İyot Yetmezliği Hastalıkları ve Kontrolü ve İyotlu Tuz Rehberi*
- Çelik, T., Savaş, N., Kurtoglu, S., Sangün, Ö., Aydın, Z., Didin, M., . . . Öktem, M. (2014). Hatay'da iyot eksikliği olan kırsal bölge ile iyot eksikliği olmayan kent merkezinde 6-12 yaş çocuklarda idrarda iyot, bakır, çinko, selenyum ve molibden düzeyleri.
- de Araujo NOGUEIRA, A. R., Mockiuti, F., de SOUZA, G. B., & PRIMAVESI, O. (1998). Flow injection spectrophotometric catalytic determination of iodine in milk. *Analytical sciences*, 14(3), 559-564.
- Ergüler, E., Çelen, Z., Özçelik, N., Kepekçi, Y., & Ergüler, g. (1996). Gaziantep ve çevresinde endemik guatr taraması ve troid bezi fonksiyonlarının incelenmesi. *Gaziantep Üniversitesi Tıp Dergisi*, 7(20), 20-24.
- Espada-Bellido, E., Bi, Z., Salaün, P., & van den Berg, C. M. (2017). Determination of iodide and total iodine in estuarine waters by cathodic stripping voltammetry using a vibrating silver amalgam microwire electrode. *Talanta*, 174, 165-170.
- Güler, Ç., & Çobanoğlu, Z. (1997). *Su Kalitesi, Çevre Sağlığı, Temel Kaynak Dizisi No: 43*.
- Haldimann, M., Zimmerli, B., Als, C., & Gerber, H. (1998). Direct determination of urinary iodine by inductively coupled plasma mass spectrometry using isotope dilution with iodine-129. *Clinical chemistry*, 44(4), 817-824.
- Judprasong, K., Jongjaitet, N., & Chavasit, V. (2016). Comparison of methods for iodine analysis in foods. *Food Chemistry*, 193, 12-17.
- Özçelik, A., Solak, M., Kocaoluk, A., Ülgen, N., & Erengül, C. (2001). Endemik fuatr bölgesinde opere edilen 789 troid olgusunun retrospektif değerlendirmesi. *Göztepe Tıp Dergisi*, 16(4), 234-236.
- Pichel, N., & Vivar, M. (2017). A critical review on iodine presence in drinking water access at the Saharawi refugee camps (Tindouf, Algeria). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 42, 32-38.
- Ratanawimarnwong, N., Amornthammarong, N., Choengchan, N., Chaisuwan, P., Amatongchai, M., Wilairat, P., . . . Nacapricha, D. (2005). Determination of iodide by detection of iodine using gas-diffusion flow injection and chemiluminescence. *Talanta*, 65(3), 756-761.
- Tran, T. D., Hetzel, B., & Fisher, J. (2016). Access to iodized salt in 11 low- and lower-middle-income countries: 2000 and 2010. *Bulletin of the World Health Organization*, 94(2), 122.

- Unit, N., & Organization, W. H. (1996). *Recommended iodine levels in salt and guidelines for monitoring their adequacy and effectiveness*. Retrieved from
- Urgancıoğlu, İ., & Hatemi, H. (1996). Endemik guatr ve Türkiye’de iyot eksikliği: Türkiye ‘de endemik guatr. 3. Baskı. *Çetin Matbaacılık. İstanbul*, 5, 5.
- Velasco, I., Bath, S. C., & Rayman, M. P. (2018). Iodine as essential nutrient during the first 1000 days of life. *Nutrients*, 10(3), 290.
- Wei, L., Hong-Xia, Y., Bing, L., Deng-Yun, C., & Hui-Juan, Z. (2007). Speciation Stabilities of Iodine in underground Water by High Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 35(4), 571-573.
- Zbigniew, S. (2016). Role of iodine in metabolism. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery*, 10(2), 123-126.

Bölüm 6

BEYİN VE BESLENME



Hacer EFE¹

Hatice MERTOĞLU²

1 Doktora Öğrencisi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi ABD, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, hacerefe94@gmail.com

2 Dr. Öğr. Üyesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi ABD, Marmara Üniversitesi, İstanbul, hatice.mertoglu@marmara.edu.tr

1. Giriş

Beyin milyarlarca nöron ve bağlantıdan oluşan, yaşamsal faaliyetleri yöneten ve kendine ait sinir sistemi olan komplike bir yapıdır. Beyin, uyku / uyanıklık döngüsü, uyarılma / dikkat, algılama, ruh hali, motivasyon, duygu, iştah / doyumluk, ödül, öğrenme / bellek, konuşma, planlama / yürütme süreçleri ve istemli hareketler dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere fizyolojik birçok fonksiyonları kontrol eder (Sizonenko ve diğ., 2013). Beyin gelişimi uzun ve karmaşık bir süreçtir. Bu süreç ilk olarak anne karnında başlar, doğum sonrası gelişmeye devam eder (Wurtman ve Fernstrom, 1974). Yetişkin beyni vücut ağırlığının % 2'sini temsil eder, ancak vücut enerjisinin ~% 20'sini tüketir. Bu durum beyin sağlığını desteklemek için yeterli beslenmeyi önemini göstermektedir (Goyal ve ark., 2015)

Beyin deyince akla ilk kafamızdaki organ gelse de, vücudumuzda milyonlarca nörondan oluşan nöral ağ sistemine sahip bir beynimiz daha var: Bağırsak. Bağırsaklarımız kendine özgü mikrobiyotası, işlevi ve ağ sistemi ile vücudun diğer beynidir (Mayer ve diğ., 2014). Beslenme bu iki beyni birbirine bağlayan ve her ikisinin de sağlıklı gelişimini etkileyen ortak etmendir. Beslenmenin beyin sağlığı ve gelişimindeki etkisine yönelik çalışmalar son yıllarda ivme kazanmıştır, bu ivmelenme “nutritional neuroscience” adlı bilim dalının ortaya çıkmasını sağlamıştır (Dauncey, 2009; Yıldız ve Dönderici, 2016). Son yıllarda besinler ve beslenmenin duygu durumu ve davranışları etkilediği hem fiziksel hem de duygusal iyilik haline katkıda bulunduğu belirtilmektedir. Tüketilen besinler sadece vücudun metabolik enerji gereksinimini sağlamakla kalmaz aynı zamanda zihin ve bilişin de dahil olduğu birçok beyin fonksiyonlarını etkilerler. Duygu durumu bireyin ne tür besinleri tüketeyeceği yönündeki seçimlerini ve kararlarını etkileyen faktörlerden birisidir. Bazı besin öğeleri yetersizliğinin sadece bilişsel fonksiyonlarda zayıflama ve depresif ruh haline yol açmakla kalmayıp, saldırgan davranışların sergilenmesinde de etkili olduğu belirtilmektedir. Tüm bu ilişkiler beslenmenin duygu durumu, davranış ve biliş üzerine etkilerinin ortaya çıkmasında beyin-bağırsak eksenin etkisini göstermektedir (Özenoğlu, 2018).

1. 1. Nutritional Neuroscience: Beslenme Nörobilimi

Beslenme nörobilimi biliş, sinirbilim ve beslenmeyi bir araya getiren ve son yıllarda gelişmekte olan disiplinlerarası bir bilim dalıdır (Zamroziewicz ve Barbey, 2016). Bu bilim dalı beslenme ile beyin ve sinir sisteminin nörokimyası ve fonksiyonları arasındaki bağlantıyı incelemektedir (Ross, 2013). Bu alanda yapılan çalışmalar, iyi bir beslenme ile beyin hücreleri nöronların yenilenmesi (nöroplastisite) ve üretiminin (nörojenez) mümkün olduğu ortaya konulmuştur. Bu durum beyin gelişiminde beslenme nörobiliminin önemini ortaya koymaktadır (Best ve Dye, 2015; Murphy, Dias ve Thuret, 2014).

Beynimiz merkezi sinir sistemini ve karmaşık faaliyetlerini yöneten ve gerek yapısı gerekse fonksiyonları nedeniyle yüksek enerji talebi gerektiren bir organdır. Yetişkin bir beyin, vücut ağırlığının yüzde ikisini oluştururken, vücuda sağlanan enerjinin yaklaşık yüzde yirmisini tek başına tüketir (Clarke ve Sokoloff, 1999; Thomas, 2001). Dinlenme halinde bile, vücuda alınan enerjinin dörtte birini kullanır. Bu yüksek enerji ihtiyacını karşılayabilmek için beslenme gereklidir (Goyal ve diğ., 2015).

Beslenme beyne enerji sağlamasının yanı sıra, beyin ve sinir sisteminin yapı bütünlüğünü korur. Beyin ağırlığı, beyindeki hücrelerin sayısı ve büyüklüğü, diğer kimyasal maddelerin sayısı beslenmeye göre değişebilmektedir (Baysal, 1976; Noğay, 2012). Nörotransmitter sentezi de beslenme ile sağlanmaktadır (Beyhan ve Taş, 2019). Nörotransmitterler, sinirler arası oluşan sinyalleri taşıyan ve bu sayede iletişimi sağlayan biyokimyasal maddelerdir (Özenoğlu, 2018). Nörotransmitterler aynı zamanda bellek, konsantrasyon, ruh hali ve his kontrolünde etkilidir. Yeterli nörotransmitteri olan bir birey öğrenmeye açıktır ve dengeli bir ruh halindedir. Yetersiz beslenmeye bağlı olarak nörotransmitterin üretilmemesi durumunda hafıza, ruh hali, konsantrasyon olma ve stresle baş etme mekanizması olumsuz etkilenir (Strasser, Gostner ve Fuchs, 2016). Serotonin teorisi ve beyin besinleri ile ilgili yapılan araştırmalarda, besinlerin ruh halini değiştirdiği belirlenmiştir (Sperner-Unterweger ve Fuchs, 2015; Prasad, 1998).

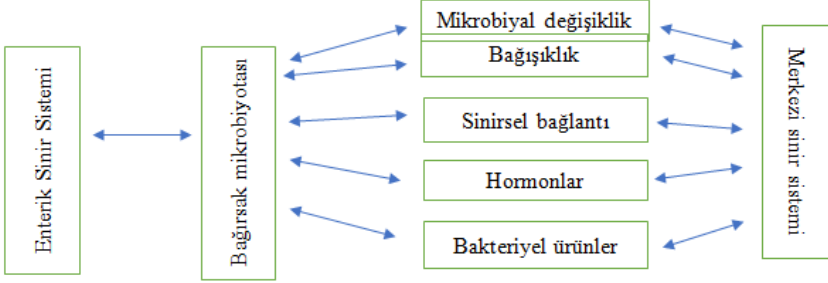
1.2. İkinci Beyin: Bağırsak

Bağırsaklarımızda vücudumuzdaki en geniş mikroorganizma topluluğu bulunmaktadır. Bakteri, mantar gibi birçok mikroorganizmadan oluşan bu topluluk, bağırsak mikrobiyotasını oluşturmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasında vücudumuzdaki toplam hücre sayısından oldukça fazla (yaklaşık 100 trilyon) mikroorganizma bulunmaktadır (de Vos, ve de Vos, 2012; Lozupone ve ark., 2012). Bağırsak mikrobiyotasında bulunan mikroorganizmaların faaliyetleri, bağırsakların merkezi sinir sistemi ile bağlantı kurmasını sağlamaktadır (De Palma, Collins ve Bercik, 2014). Mikroorganizmalar bir araya gelerek nöral ağlar oluştururken; nöral ağlar bir araya gelerek enterik sinir sistemini meydana getirmektedir. Enterik sinir sistemi, bağırsak mikrobiyotasının oluşturduğu nöronları ve bağırsak duvarındaki sinir ağlarını kapsamaktadır. Enterik sinir sisteminde (ESS) tıpkı beyin gibi nörotransmitterler bulunmaktadır, hatta nörotransmitterlerin büyük bir kısmı buradadır (Marchesi ve Ravel, 2015; Rao ve Gershon, 2016). Ayrıca bazı nörotransmitterlerin sentezi de yapılmaktadır (Doğan ve diğ., 2018).

Bağırsaklar hem santral (merkezi) sinir sistemi (SSS) hem de enterik sinir sistemi (ESS) ile çift yönlü etkileşimler oluşturmaktadır ve bu etkileşimler bağırsak beyin eksenini (aksı) olarak tanımlanmaktadır. Ba-

ğırsak-beyin eksenine göre beyin bağırsağı etkilerken, bağırsak da beyni etkilemektedir. Bağırsak mikrobiyotasının kötü etkilenmesi durumunda beyin gelişimi ve işlevi olumsuz etkilenirken, beyinde gerçekleşebilecek herhangi bir bozukluk bağırsak mikrobiyotasını olumsuz etkileyebilir. Şekil 1.'de bağırsak mikrobiyotasının merkezi ve enterik sinir sistemiyle nasıl bir ilişki kurduğu gösterilmektedir (Evrensel ve Ceylan, 2015).

Şekil 1. Enterik sinir sistemi, bağırsak mikrobiyotası ve merkezi sinir sistemi arasındaki bağlantı yolları



Bağırsak ve beyin arasındaki sinirsel bağlantıyı sinirler sağlamaktadır ve bu sinirlerden en önemlisi olarak vagus siniri gösterilebilir. Vagus siniri (nervus vagus) kafamızdan çıkan sinirlerinden birisidir. Bu sinir, beyin ile bağırsak arasındaki direkt iletişimi sağlar. Bağırsaklardaki herhangi bir değişim, vagus siniri ile beyne iletilir (Borovikova ve diğ., 2000, Perez- Burgos ve diğ., 2013). Wang ve diğ. (2002), farelerle yaptıkları çalışmada, midelerine bakteri enfekte edilen farelerdeki vagus sinirinin bağışıklıkla ilgili bilgileri bağırsaktan beyne ilettiğini tespit etmişlerdir. Böylece vagus sinirinin vücudun bağışıklığını korumasında da rolü olduğu söylenebilir. Bağırsak mikrobiyotası organizma için besin öğelerini sinyallere dönüştürürken, besin öğeleri de mikrobiyotanın içeriğini şekillendirmektedir. Besin öğelerinin çeşitliliği bağırsak mikrobiyotası çeşitliliğini etkilemektedir ve buna bağlı olarak organizmanın sağlığı etkilenmektedir. Buna göre, sağlıklı beyin ve bağırsak gelişimi için temel besin öğelerini (karbonhidrat, yağ, protein, vitamin ve mineraller) yeterli miktarda bulunduran beslenme modeli oluşturulmalı ve uygulanmalıdır (Moore ve diğ.,2018).

Hem mikrobiyotamız hem de beyin işlevlerinin gerçekleşmesi için tüketilmesi gerekli temel besin öğeleri bulunmaktadır. Aşağıda Tablo 1.'de temel besin öğelerine yer verilmektedir.

Tablo 1. *Temel besin öğeleri, özellikleri ve bileşenleri*

Temel besin öğeleri	Özellikleri	Bileşenleri
Makrobesinler	Alınması gereken porsiyon büyük Enerji kaynağı	Karbonhidratlar
		Yağlar
		Proteinler
Mikrobesinler	Alınması gereken porsiyon küçük Enerji kaynağı değil	Vitaminler
		Mineraller

Karbonhidratlar

Karbonhidratlar vücudumuzun temel enerji kaynağı besin öğeleridir (Yılmaz ve diğ. 2015). Bununla beraber beynin kullandığı tek nöral yakıt olan glikozu içerir. Bu nedenle karbonhidrat miktarı, beynin enerji mekanizmasını doğrudan etkiler (Blundell, Gumaste ve Handley, 2013). Karbonhidratın az alınması halinde beyin enerji kaynağından yoksun kalır ve beynin işleyişi sekteye uğrayabilir (Beyhan ve Taş, 2019). Jonides ve diğ. (1997) çalışmalarında beynin çalışırken glikoz kullandığına ve çalışma yoğunluğuna bağlı olarak glikoz kullanımının arttığını tespit etmişlerdir.

Karbonhidratın miktarı kadar içeriği de beynin çalışma performansında etkilidir. Beynin verimli ve iyi bir performans gösterebilmesi için beslenmede tam tahıllar, kuru baklagiller, meyve ve sebzeler gibi işlenmemiş ve doğal karbonhidratlar tercih edilmelidir (Guo ve diğ., 2014). Yapılan bir araştırmada karbonhidrat alımında meyve ve sebzeleri tercih eden ve tüketen katılımcıların, tüketmeyenlere göre ruh hallerinin daha iyi olduğu ve daha enerjik hissettiklerine ulaşılmıştır. Bu sonuç, karbonhidrat içeriğinin ruh halini etkileyebildiğini göstermektedir (Baysal ve diğ., 2008).

Manning, Hall ve Gold (1990) çalışmalarında glikozun hafıza üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışmada glikoz takviyesi uyguladıkları katılımcılara, takviyeden önce ve sonra hafıza testleri uygulanmıştır. Hafıza testlerinde katılımcıların glikoz takviyesi sonrası testlerden elde ettiği puanların, glikoz takviyesi öncesi elde ettikleri puanlara göre daha yüksek olduğunu tespit edilmiştir. Bu bulgu, glikozun katılımcıların kısa süreli bellek gücünü artırdığını göstermektedir. Yapılan diğer çalışmalar bu bulguyu destekler niteliktedir (Hall ve diğ., 1989; Benton ve Owens, 1993; Martin ve Benton, 1999). Kandaki glikoz seviyesinin, öğrenme performansı üzerinde etkili olduğu da yine çalışmalarla ortaya konulmuştur (Gold, 1995). Karbonhidratların beynin çalışmasını etkilediği gibi; öğrenme, hafıza ve ruh halini etkilediği görülmektedir. Bu nedenle, bireylerin diyetlerinde karbonhidrat tüketimi önemlidir. Karbonhidratların tüketilmediği diyetler (ketojenik diyet, özel karbonhidrat diyetleri vb.) öğrencilerin okul başarısını etkileyebileceğinden dikkat edilmelidir (Önal ve Uçar, 2017).

Yağlar

Yağlar hem enerji kaynağı hem de enerji deposu olan besin öğeleridir (Yılmaz ve diğ., 2015). Aynı zamanda beyin ağırlığının ve fizyolojik yapısının önemli bir miktarını oluşturur (Richardson, 2003). Beynin yağ asitleri ihtiyacını doymamış yağ asitleri tam bir şekilde karşılar (Khalatbary, 2013; Carey, Poulouse ve Shukitt-Hale, 2012; Bianchi, Herrera ve Laura, 2019). Zamroziewicz ve diğ. (2017) , çalışmalarında 99 katılımcı ile doymamış yağ asitlerinin beyin üzerindeki etkililiğini araştırmıştır. Çalışmada doymamış yağ asitleri ile beslenen katılımcıların günlük biliş fonksiyonlarında gelişme olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Berti ve diğ. (2015) çalışmalarında tekli doymamış yağ asitlerini yüksek düzeyde içeren beslenmenin, beynin dikkat kapasitesini artırdığını belirtmiştir.

Doymamış yağ asitlerinden özellikle Omega 3 (dokosaheksaenoik asit- DHA) ve Omega 6 (araşidonik asit- AA) nöronların temel bileşenleridir. Omega-3 beyin büyümesi, öğrenme ve bellek üzerinde, Omega-6 ise sinirler arası bağlantılar ve görsel algılayıcılar üzerinde etkilidir (Yehuda, Rabinovitz ve Mostofsky, 1999; Uauy ve diğ., 2001). Omega-3 ve omega-6 yağ asitleri birlikte nöronların yenilenmesinde rol oynamaktadır (Crawford, 1993; Innis, 2007). Coşar ve diğ. (2008), çalışmalarında balık yağı tüketiminin farelerin beyinlerindeki nöronların sayısını artırdığına ulaşmışlardır. Haftada en az bir kez balık veya deniz ürünleri tüketiminin beyindeki zihinsel becerilerin zayıflamasına engel olduğu çalışmalarla tespit edilmiştir (Irving, 2003).

Bu bulgular doğrultusunda, sağlıklı yağ asitlerinin yeterli ve düzenli alımı beyin fonksiyonlarını yerine getirmesi için gereklidir (Lim ve diğ., 2016). Bu yağ asitlerinin beyindeki oluşabilecek hasarlara karşı koruyucu olduğu da çalışmalarda kanıtlanmıştır (Whalley ve diğ., 2004; Samieri ve diğ., 2013).

Yukarıdaki araştırmalardan da görüldüğü üzere yağ asitleri beyin yapısını oluştururken, işlevleri üzerinde de oldukça etkilidir. Bu nedenle yağdan yoksun veya az yağ içeren diyetler, beyin sağlığı ve fonksiyonları için bir tehdit oluşturabilir.

Proteinler

Proteinler enerji kaynağı olmalarının yanında vücuttaki yapım ve onarım işlerinde görevli besin öğeleridir (Yılmaz ve diğ.,2015). Aynı zamanda proteinlerin yapıtaşı aminoasitler beyin ve sinir sisteminde görevli besin öğeleridir (Ünver, 1988). Aminoasitler birçok nörotransmitterin sentezini sağlamaktadır. Yeterli protein tüketilmemesi halinde,aminoasit yetersizliğine bağlı olarak nörotransmitter sayısı azalabilir (Çiftçi, Yıldız ve Mercanlıgil, 2008).

Aminoasitler zorunlu (esansiyel) aminoasit ve zorunlu olmayan (esansiyel olmayan) olmak üzere ikiye ayrılır. Esansiyel aminoasitler; histidin, lizin, fenilalanin, metiyonin, treonin, lösin, izolösin, valin olmak üzere 8 tanedir, vücutta üretilemezler ve beslenmeyle alınmaları gereklidir (Applegate, 2011). Bu zorunlu aminoasitlerin yeterli alımı halinde zorunlu olmayan aminoasitler sentezlenebilir. Bu nedenle zorunlu amino asit içeren kırmızı ve beyaz et, yumurta, süt ve süt ürünleri, soya gibi protein kaynaklarına günlük beslenmede yer verilmelidir (Çakırcalı,1998; Yılmaz ve diğ. 2015). Lesne ve diğ. (2006) farelerle yaptıkları çalışmada aminoasit eksikliğine bağlı olarak hafıza sağlığının olumsuz etkilendiğini tespit etmişlerdir. Buna bağlı olarak, nörodejenere hastalıkların oluşabileceğini de belirtmişlerdir.

Yukarıdaki çalışmalardan da görüldüğü üzere proteinlerin beyin ve hafıza sağlığının korunmasında önemli rol oynamaktadır. İyi bir hafıza ve sağlıklı bir beyin için diyetlerde proteinlere yer verilmelidir.

Vitaminler

Vitaminler vücutta düzenleyici olarak çalışan besin öğeleridir. A vitamini, D vitamini, E vitamini, K vitamini, B vitaminleri (B1-tiamin, B2-riboflavin, niasin, B6-pridoksin, B12-kobalamin), C vitamini olmak üzere vitamin çeşitleri bulunmaktadır. A, D, E, K vitaminleri yağda çözünen; B vitaminleri ve C vitamini ise suda çözünen vitaminlerdir. Yağda çözünen vitaminler vücutta depolanabilirken, suda çözünen vitaminler vücutta depolanamaz. Bu yüzden suda çözünen vitaminlerin günlük alınması gerekir (Akşit, 1991; Yılmaz ve diğ., 2015). Ayrıca vitaminler, beyin ve sinir sisteminde de etkili besin öğeleridir. Tablo 2. de vitaminler ve beyindeki işlevlerine yer verilmektedir (McGarel ve diğ., 2015; Black, 2008; Beyhan ve Taş, 2019).

Tablo 2. *Vitaminler, beyindeki işlevleri ve vitamin kaynakları*

Vitaminler	Beyindeki işlevleri	Vitamin kaynakları
A vitamini	Beyin hasarı koruma	Turunçgiller/ Meyve ve sebzeler
B vitaminleri	Nörotransmitter sentezi	Güneş ışığı
C vitamini	Bilişsel performans	Et ve et ürünleri
D vitamini	Ruh halini düzenleme	Süt ve süt ürünleri
E vitamini	Miyelin kılıf oluşumu	Balık/ Deniz ürünleri
	Sağlıklı beyin yaşlanması	Yumurta
	Sinir sistemi sağlığı	Karaciğer
K vitamini	Beyin gelişimi	Kuruyemişler
	Hafıza sağlığı	Yağlı tohumlar

Rota ve diğ. (2005), çalışmalarında fareleri iki gruba ayırmıştır. 290 gün boyunca kontrol grubuna E vitamini içermeyen diyet, deney grubuna ise E vitamini içeren bir diyet uygulanmıştır. Çalışma sonucunda gruplar karşılaştırıldığında, E vitamini içermeyen diyetle beslenen farelerin beyin dokularında Alzheimer hastalığından koruyucu proteinlerin üretiminin olumsuz etkilendiğine ulaşılmıştır. Çalışmalardan görüldüğü üzere; vitaminler ruh hali ve zihinsel performans ve nörotransmitter sentezinde etkilidirler, aynı zamanda beyin ve sinir sistemi sağlığını korurlar. Özellikle günlük alınması gereken vitaminler, her gün alınmaya özen gösterilmelidir.

Mineraller

Mineraller vücuttaki kemik, kas, diş, tırnak gibi yapıları oluşturan besin öğeleridir (Yılmaz ve diğ., 2015). Aynı zamanda beyin gelişiminde etkili besin öğeleridir ve yeterli alınamaması durumunda beyin olumsuz etkilenebilir. Örneğin; vücuttaki iyot eksikliğine bağlı olarak beyin yeterli gelişemeyebilir (Lazarus, 2005). Demir eksikliğine bağlı olarak nörotransmitter sentezi sekteye uğrayabilir (Youdim, Ben-Shachar ve Yehuda, 1989).

Tablo 3'te mineraller ve beyindeki işlevlerine yer verilmektedir (Ünsün, 2003; Jones, Beard ve Jones, 2008; Kambe, Weaver ve Andrews, 2008; Murakami ve Hirano, 2008; Geogieff, 2007).

Tablo 3. *Mineraller; beyindeki işlevleri ve mineral kaynakları*

Mineraller	Beyindeki işlevleri	Mineral kaynakları
Bakır	Hormon sentezi	Kırmızı ve beyaz et
	Nörotransmitter sentezi	Karaciğer
Çinko	Sinir uyarı iletimi	Süt ve süt ürünleri
	Beynin beyaz maddesi	Yumurta
Demir	Hücre koruyucu - Tümöre ve kansere karşı savunma	Deniz ürünleri
	Güçlü antioksidan etkisi	Yağlı tohumlar
Selenyum	Savunma mekanizması	Kuru baklagil
	Miyelin kılıf oluşumu	Tam tahıllar
İyot		Koyu yeşil yapraklı sebzeler

Minerallerle ilgili yapılan araştırmalar incelendiğinde iyot, çinko ve demirin beyin işlevleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Örneğin; O'Donnell ve diğ. (2002) çalışmasında iyot takviyesinin kullanımının beyin gelişimine etkisini incelemiştir. Çalışmada hamilelikte iyot takviyesi alan annelerin çocukları ile iyot takviyesini iki yaşında almaya başlayan

çocuklar psikomotor testlerde karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, annesi hamilelikte iyot takviyesi alan çocukların testlerde daha yüksek puan elde ettikleri gözlemlenmiştir. Castillo-Durán ve diğ. (2001) çalışmasında 150 sağlıklı bebeğe doğumlarından itibaren 1 yıl boyunca çinko takviyesi uygulamıştır. Çalışmada 12. ay sonunda bebeklere ölçümler yapmış ve çinko takviyesinin beyin gelişimi ve motor becerileri üzerinde yararlı olduğu tespit edilmiştir. Azman ve diğ. (2009) farelerle yaptıkları çalışmada hamilelik farelerin bir kısmına çinko takviyeli içme suyu, diğer kısmına çinko takviyesiz içme suyu vermişlerdir. Çalışma sonucunda çinko takviyesi verilen hamile farelerin yavrularında beyin nöronlarının sayıca daha fazla olduğu gözlenmiştir. Yehuda ve diğ. (2008) çalışmalarında 60 farenin bir kısmına demir yönünden eksik ve diğer kısma demir yönünden tam iki diyet uygulamışlardır. Çalışma sonucunda, demir yönünden eksik diyetle beslenen farelerde, diyetinde demiri tam tüketen farelere göre düşük bilişsel performans gözlemlenmiştir. Çalışmalar doğrultusunda mineraller beyin yapısını oluştururken; nöron ve nörotransmitter sentezi, sinir uyarı iletiminde etkilidirler. Aynı zamanda hücreleri dış etkenlere karşı koruyucu rolü üstlenmektedir. Görüldüğü üzere, beslenme beyin ve bağırsak işlevleri ile yakından ilişkilidir. Besin öğelerinin tamamının alındığı yeterli ve dengeli beslenme beyin yapısı ve sağlığının yanı sıra; öğrenme, dikkat, hafıza, ruh hali gibi etmenleri etkilemektedir. Sağlıklı bir bağırsak, sağlıklı bir beyin demektir. Aynı şekilde sağlıklı bir beyin de sağlıklı bir bağırsağı işaret etmektedir. Ancak günümüzde tercih edilen, besin çeşitliliği az ve işlenmiş besinlere dayalı batılı diyet tarzı, bağırsak mikrobiyotasını olumsuz etkilemektedir. Buna bağlı olarak, beyinde ve sinir sisteminde çeşitli rahatsızlıklara davetiye çıkabilmektedir (Oriach ve diğ.,2016; Maslowski ve Mackay, 2011). Bu durum beslenmenin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisini ve dolayısıyla beyin sağlığındaki önemini ortaya koymaktadır (Cani ve Delzenne, 2011; Dinan, Stanton ve Cryan , 2013).

1.3. Nörogelişimsel Bozukluklar ve Beslenme

Son yıllarda bazı nörogelişimsel rahatsızlıklarda artış meydana geldiği bilinmektedir. Bu durum sağlıklı yaşam biçimi ve beslenme ile ilişkilendirilmekte ve yapılan araştırmalar pek çok nörogelişimsel bozukluklarda veya tedavilerinde beslenmenin önemini ortaya koymaktadır. Nitekim Mayer ve diğ., (2014) tarafından yapılan bir araştırmada bağırsak mikrobiyomundaki değişikliklerin, otizm spektrum bozukluğu, anksiyete, depresyon ve kronik ağrı dahil olmak üzere insan beyni hastalıklarında patofizyolojik bir rol oynayabileceği belirtilmektedir. Doenyas (2019) otizmlili bireylerin bağırsak ve mide rahatsızlıkları çektiğini belirtmekte; nörolojik ve psikiyatrik rahatsızlıkların incelenmesinde bağırsaktaki farklılıkların beyni nasıl etkilediğine dikkat çekmektedir.

Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB) ve Beslenme

Günümüzde dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu yaşam boyu devam eden bir rahatsızlıktır, genelde belirtileri yaşamın ilk üç yılında kendini göstermekte, tanısı ise ilkökul çağında konulmaktadır (Polanczyk ve diğ.,2007; Tufan ve Yaluğ, 2009). Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğunun belirtileri olarak,

- Dikkat eksikliği
- Konsantrasyon sıkıntısı
- Kendini denetleme zorluğu
- Aşırı bir hareketlilik hali
- Karşındakini uzun süre dinleyememe
- Uyku sorunları olarak sayılabilir (Ottoboni ve Ottoboni, 2003).

Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu daha çok çocuklarda görülmekle birlikte, toplumda genel görülme oranı %18'i bulmaktadır (Schwing, 2009). Cinsiyete bağlı olarak, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğunun görülme sıklığı ve seyir şekli değişebilmektedir. DEHB, erkeklerde kızlara oranla 2-4 kat daha fazla görülmektedir. Kızlarda daha çok dikkatte, erkeklerde davranışlarda kendini göstermektedir (Goldman, 2010).

Çalışmalarda dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu olan çocuklarda, vitamin,mineral ve yağ asitleri eksikliği görüldüğü tespit edilmiştir. Yağ asitleri sağlıklı beyin gelişimini sağlayarak, DEHB önlenmesi ve tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır (Grayson ve diğ., 2014). Kiddie ve diğ. (2010), çalışmalarında DEHB tanısı konulmuş 6 ila 12 yaş aralığındaki 43 çocukta çinko ve bakır eksikliğinin olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı şekilde, Yorbik ve diğ. (2004) çalışmalarında 2-9 yaş aralığındaki 26 DEHB olan ve 24 DEHB olmayan erkek çocuğun çinko ve bakır düzeylerini karşılaştırmıştır. Çalışma sonucunda DEHB tanılı erkek çocukların bakır ve çinko düzeylerinin olmayan çocuklardan anlamlı olarak düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Sinn ve diğ. (2008) yaptıkları çalışmada DEHB tanısı konulmuş çocukları kontrol ve deney gruplarına ayırmışlardır. Deney grubuna 15 hafta süresince doymamış yağ asitleri takviyesi uygulanırken, kontrol grubuna takviye uygulanmamıştır. 15 hafta sonunda takviye uygulanan çocuklarda, takviye almayan diğer gruba göre dikkatini toplama ve kelime dağarcığında iyi yönde ilerleme olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu doğrultuda besin eksikliklerini gidermek amacıyla, DEHB olan bireylere gıda takviyeleri uygulanmaktadır. Germano ve diğ. (2007) çalışmalarında DEHB tanısı konulmuş çocuk ve ergenlerden oluşan bir gruba 8

hafta boyunca Omega 3 takviyesinde bulunmuşlardır. Çocuklara uyguladıkları bu Omega-3 takviyesinin DEHB semptomlarında olumlu bir etkisi olduğuna ulaşmışlardır.

Ayrıca çalışmalarda DEHB olan bireylerde beslenme alışkanlıkları ve tükettikleri besinlerin glisemik indekslerinin de önemli olduğuna dikkat çekilmektedir (Pelsser ve diğ. 2009; Cantwell, 1996). Çalışmalarda DEHB tanılı bireylerin genelde yüksek glisemik indeksli bir beslenme tarzı olduğuna ulaşılmıştır (Benton, Maconie ve Williams, 2007 ; Azadbakht ve Esmailzadeh, 2012).

Özel (Özgül/Spesifik) Öğrenme Güçlüğü ve Beslenme

Özel öğrenme güçlüğü genel dil becerilerinde ve cebirsel konularda gözlemlenen ve doğuştan gelen bir bozukluk olarak tanımlanmaktadır (Erdem, 2017). Özel öğrenme güçlüğü (bozukluğu), özürlülük durumu değildir, ayrıca beyin geriliği veya hasarı anlamına da gelmemektedir. Öğrenme güçlüğü olan bireyler, sadece yaşının gerektirdiği başarıyı gösteremezler, akranlarından geride kalabilirler (Association, 2013).

Öğrenme güçlüğü birçok alanda yaşanan bir bozukluktur ve belli alanlara yoğunlaşan alt türleri bulunmaktadır. Okuma bozukluğu (disleksi), yazılı anlatım bozukluğu (disgrafi) ve sayısal bozukluk (diskalkuli) bunlara örnek verilebilir (Aslan, 2015).

Özel öğrenme güçlüğü'nün görülme sıklığı yaklaşık %1-30 aralığındadır. Öğrenme güçlüğü'nün görülme sıklığı ve seyir şiddeti, cinsiyete göre farklılaşmaktadır. Erkeklerde görülme oranı, kızlara göre 3 ile 10 kat arasında daha fazladır (DSM-5, 2013). Özat (2010), çalışmasında öğrenme güçlüğü belirtilerinin erkeklerde kızlara göre daha şiddetli görüldüğünü belirtmiştir.

Taşkın ve diğ. (2016) çalışmalarında özel öğrenme güçlüğü olan ve özel öğrenme güçlüğü olmayan çocuk ve ergenlerin çinko seviyelerini karşılaştırmışlardır. Özel öğrenme güçlüğü olan çocuk ve ergenlerin çinko seviyelerinin özel öğrenme güçlüğü olmayanlara göre anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle özel öğrenme güçlüğü olan bireylere çinko takviyesinin yapılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB) ve Beslenme

Otizm spektrum bozukluğu (OSB), sebebi hâlâ bilinmeyen fakat yaygınlığı giderek artan bir gelişim farklılığıdır (Doeniyas, 2018). Bazı araştırmacılara (Pişkin, 1995 ; Al Shirian ve Al Dera, 2015) göre genellikle yaşamın ilk yıllarında belirtilerini gösteren, karmaşık yaşam boyu devam eden bir bozukluktur. Otizmin farkına varılma şekli ve bireylerdeki boyutu değişkenlik gösterebilir (Mukaddes, 2013).

Otizm spektrum bozukluğunun belirtileri olarak,

- Duygusal karışıklık
- Sosyalleşme ve iletişimde zorluk
- Belli kelime ve davranış tekrarı
- Kendi dünyasında yaşama isteği, dış dünyaya karşı ilgisizlik
- Kendini ifade etmede yaşanan zorluk
- Takıntılı davranışlar
- Göz teması kuramama
- Fark edilir derecede sallanma ya da dalma hareketleri
- Hiperaktiflik durumu
- Değişime karşı direnç sayılabilir (Çekici ve Şanlıer, 2017).

Günümüzde her 68 kişiden 1'inde otizm görülmektedir (Wing ve Potter, 2002; Taşyürek, 2017). Bu durumda, otizmin toplumda sık görülen nörogelişimsel bozukluklardan birisi olduğu söylenebilir (Williams, Higgins ve Brayne, 2006). Çalışmalarda otizmin tam bir nedenden dolayı olduğu söylenememektedir (Libbey, Sweeten ve McMahon, 2005).

Otizmli bireylerde genelde bağırsak ve beslenme ile ilgili sorunlarla karşılaşmaktadır (Ornitz ve Ritvo, 1968). Otizmli bireylerde en yaygın bağırsak sorunu, geçirgen bağırsak sendromudur. Geçirgen bağırsak sendromu farklı içerikli bağırsak mikrobiyotası, hasarlı bağırsak duvarı ve oldukça geçirgen bağırsak florasını tanımlayan bir sendromdur (Gürsoy ve Andaç Öztürk, 2019). Diğer beslenme sorunları bağırsakların tam çalışmaması (ishal ve kabız), gıda alerjileri, gıda hassasiyeti, yemek yeme bozuklukları, besin seçicilik veya tutuculuk, yemek yeme isteksizliği olabilmektedir. Bu sorunlar, yetersiz beslenmeye yol açabilir (Golik, 2014; Kodak ve Piazza, 2008). Otizmli bireylerin bağırsak ve ağız mikrofloralarında bazı farklılıklar olduğu ve bu farklılıkların otizm şiddeti ile ilgili olduğu belirtilmektedir. Bu durumun mikrobiyota aktarımı veya probiyotik takviyesiyle düzeltilebileceği ihtimaline dikkat çekilmektedir (Doenyas, 2018). Yetersiz beslenmeye bağlı olarak otizmli bireylerde mineral, vitamin, yağ asitleri ve aminoasit eksiklikleri gözlemlenebilmektedir (Romeo ve diğ., 2011). Besin öğeleri eksiklikleri, bireylerde zihin ve davranış gelişimini olumsuz etkiler (Najdowski ve diğ., 2003). Bat (2012) çalışmasında otizmli çocuklarda vitamin, folat, fosfor ve çinkonun olması gereken miktardan daha az olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca otizmli çocuklarda besin seçiciliğine ek olarak gaz sorunlarının da görüldüğünü belirtmiştir. Bu hususlar doğrultusunda beslenme, otizm tedavisinde öne çıkmaktadır ve son yıllarda beslenme ve otizm tedavisine

yönelik çalışmalar artmaktadır (Aktitiz, Yalçın ve Göktaş, 2019; Ruskin ve diğ. 2017; Pennesi ve Clein, 2012). Çalışmalarda otizmlili bireylere yönelik beslenme tedavisinde gıda takviyeleri, özel beslenme planları ve diyetler kullanılmaktadır (Frye, Sreenivasula ve Adams, 2011; Uçar ve Samur, 2017).

Adams ve Holloway (2004), çalışmalarında otizmlili 20 çocuğa vitamin ve mineral takviyesinde bulunmuşlardır. Çalışma sonucunda multivitamin ve mineral takviyelerinin çocukların otizm semptomlarında iyileşmeyi sağladığını tespit etmişlerdir Benzer şekilde Feng ve diğ. (2016) otizmlili 500 çocuk ile yürüttükleri çalışmada, D vitamini takviyesinin otizmlili çocukların davranışlarında olumlu değişiklik sağladığını tespit etmişlerdir.

Glutensiz ve kazeinsiz (gluten free- casein free) diyet ve ketojenik diyet otizm tedavisinde kullanılan özel diyetlerdir. Glutensiz ve kazeinsiz diyet (gluten free casein free) otizmlili bireylerin gluten ve kazeine duyarlı olduğunu ve bu bireylerde gluten ile kazeinin otizm belirtilerini tetiklediğini öne sürmektedir. Diyetle otizmlili bireyler en az iki ay gluten ve kazein içeren hiçbir besini tüketmemektedir (Weber and Newmark, 2007).

Tablo 4. *GFCF diyetinin otizm tedavisindeki etkililiğini analiz eden çalışmalar*

Referans	Örneklem	Yöntem	Bulgular
Knivsberg (2002)	20 otizmlili katılımcı	12 ay- GFCF	Tekrarlı davranışlarda azalma ve sosyalleşme artışı
Lucarelli ve diğ. (1995)	36 otizmlili katılımcı	2 ay-GFCF	Davranış belirtilerinde iyileşme
Whiteley ve diğ. (2010)	72 otizmlili katılımcı	12 ay -GFCF	Otizm belirtilerinde iyileşme
Hyman ve diğ. (2016)	14 otizmlili katılımcı	4,5 ay- GFCF	Semptomlarda değişiklik yok
Elder ve diğ. (2006)	15 otizmlili katılımcı	3 ay- GFCF	Semptomlarda değişiklik yok
Johnson ve diğ. (2011)	22 otizmlili katılımcı	3 ay- GFCF	Semptomlarda değişiklik yok

Açıklama: GFCF: Gluten Free Casein Free (Glutensiz ve kazeinsiz diyet)

Ketojenik diyet ise yüksek yağ, yeterli protein ve düşük karbonhidrata dayanan bir diyettir. Bu diyetle günlük enerji alımı azaltılmaktadır ve ayrıca bu bireylere vitamin ve mineral takviyesi yapılmaktadır (Kossoff ve Wang, 2013).

Evangelou ve diğ. (2003) çalışmalarında 30 otizmlili katılımcıya 6 ay boyunca ketojenik diyet uygulamışlardır. Ketojenik diyet öncesi ve sonrası çocuklara Çocukluk Otizm Değerlendirme Ölçeği (Childhood Autism Rating Scale- CARS) uygulanmıştır. Diyet sonrası çocukların CARS puanlarında artış gözlenmiştir.

Çalışmalardan da anlaşılacağı üzere, nörogelişimsel bozukluğa sahip bireylerde yetersiz beslenme ve buna bağlı olarak besin öğeleri yönünden eksiklikler görülmektedir. Bu nedenle beslenme nörogelişimsel bozukluklarda önemli bir tedavi yöntemi olarak ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda beslenme tedavisinde birçok yöntem sayısı denenmekte ve etkililiği araştırılmaktadır.

2.Sonuç

Bu derleme araştırmasında beyin-bağırsak ve beslenme ilişkisi üzerine yapılmış çalışmalar incelenmiş olup nörogelişimsel bozukluklarla ilişkisi genel bir çerçevede sunulmuştur.

Beyin ile bağırsak birbiriyle bağlantılı ve birbirini etkileyen iki organdır. Beslenme, bağırsak ve beyin arasında bir köprü görevindedir. Beslenmeyle alınan besin öğeleri ne kadar çeşitli olursa, bağırsak mikrobiyotası da o kadar çeşitli olmaktadır. Çeşitli bağırsak mikrobiyotası sağlıklı bir beyin gelişimi ve büyümesi anlamına gelmektedir. Bu durumda besin öğeleri yönünden çeşitli ve sağlıklı bir beslenme, beyin sağlığı ve gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır. Besin öğeleri beyin yapısını oluşturmalarının yanı sıra öğrenme, hafıza, nöron ve nörotransmitter sentezi, ruh hali, zihinsel performans, uyarı iletimi, savunma mekanizması gibi beyin fonksiyonlarında görevlidirler. Diğer yandan son yıllarda nörogelişimsel bozukluklar ve beslenme üzerine yapılan çalışmalarda, nörogelişimsel bozukluğa sahip bireylerde besin yetersizlikleri, beslenme ve bağırsak sorunları olduğuna ulaşılmıştır. Çalışmalarda beslenmenin nörogelişimsel bozukluklarda iyileşmeyi sağladığı ve belirtilerini hafiflettiğine ulaşılmıştır. Bu halde, beslenme sadece vücut fonksiyonlarının yerine getirilmesinde değil aynı zamanda nörogelişimsel bozuklukların tedavisi için de önemli bir rol üstlenmektedir. Bu hususlar doğrultusunda, beslenme nörobilimi beyin çalışmalarında bir umut ışığı niteliğindedir ve bu bilim dalında yapılan çalışmaların daha da artarak gelişmesi beklenmektedir.

Bu çalışmalardan elde edilen sonuçların eğitimde birçok sorunlar yaşayan sadece normal çocukların değil özel gereksinimli çocukların da gelişimlerine katkıda bulunacağı bilinmeli ve beyin beslenme ilişkisi dikkate alınmalıdır. Eğitim programlarında beslenme eğitimi ile birlikte Beslenme Nörobilimi gibi derslerin öğretmen adaylarına verilmesi bu konuda bilinç oluşturmaları açısından önerilmektedir. Çünkü günümüz sınıfları artık kaynaştırma sınıflarıdır ve özel gereksinimli öğrencilerin sayılarının günden güne arttığı bilinmektedir. Bu nedenle geleceğin sağlıklı bireyleri yetiştirilmesi açısından eğitim ve sağlık alanında yapılan araştırmaların disiplinler arası bir yaklaşımla ele alınması önem taşımaktadır.

KAYNAKÇA

- Adams, J.B., Holloway, C. (2004). Pilot study of a moderate dose multivitamin/mineral supplement for children with autistic spectrum disorder. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 10 (6), 1033-9.
- Akşit, M.A. (1991). *Beslenmeye Giriş*, Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Yayınları, 220, 39-49.
- Aktitiz, S., Yalçın, E., Göktaş, Z. (2019). Otizm Spektrum Bozuklukları Tedavisinde Beslenme Yaklaşımları. *Sağlık Akademisi Kastamonu*, 4 (2), 127-143.
- Al Shirian, S., Al Dera, H. (2015). Descriptive characteristics of children with autism at Autism Treatment Center, KSA. *Physiology & Behavior*, 151, 604-648.
- Applegate, L. (2011). *Sağlık Yaşam ve Yüksek Performans için Beslenme ve Diyet Temel İlkeleri*. (Çev.Editörü: Özpınar, H.), İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul.
- Amerikan Psikiyatri Birliği. (2013). *Mental bozuklukların tanınal ve sayımsal el kitabı*, 5. Baskı (DSM 5). 2013, Çev. Ed., Ertuğrul Köroğlu. Ankara: Hekimler Yayın Birliği.
- Aslan, K. (2015). Özgül öğrenme güçlüğünün erken dönem belirtileri ve erken müdahale uygulamalarına dair derleme. *Hacettepe University Faculty of Healty Sciences Journal*, 1(2), 578-588.
- Azadbakht, L., Esmailzadeh, A. (2012). Dietary patterns and attention deficit hyperactivity disorder among Iranian children. *Nutrition*, 28(3), 242-249.
- Azman, M.S., Saudi, W.S.W., Ilhami, M., Mutalib, M.S.A., Rahman, M.T. (2009). *Nutritional Neuroscience*, 12 (1), 9-12.
- Baysal, A. (1976). Beslenmenin Beyin Gelişimi ve Davranış Üzerine Etkisi. *Gıda*, 1(2), 41-44.
- Baysal, A., Aksoy, M., Bozkurt, N., Merdol, T.K., Pekcan, G., Keçecioğlu, S., Besler, H.T., Mercanlıgil, S. (2008). *Diyet El Kitabı*, 5. Baskı, Hatipoğlu Yayınları, Ankara.
- Bat, Z. (2012). *6-15 yaş arasındaki otizm spektrum bozukluğu olan çocukların beslenme durumunun değerlendirilmesi*. Yüksek lisans tezi, Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Benton, D., Owens, D.S. (1993). Blood glucose and human memory. *Psychopharmacology* 113(1), 83-88.
- Benton D, Maconie A, Williams C. (2007). The influence of the glycaemic load of breakfast on the behaviour of children in school. *Physiol Behav*, 92(4), 717-724.
- Berti, V., Murray, J., Davies, M., Spector, N., Tsui, W.H., Li, Y., Williams, S., Pirraglia, E., Vallabhajosula, S., McHugh, P., Pupi, A., de Leon, M.J.,

- Mosconi, L. (2015) Nutrient patterns and brain biomarkers of Alzheimer's disease in cognitively normal individuals. *The journal of nutrition, health & aging* 19(4), 413-423.
- Best, T., Dye, L. (2015). *Nutrition for Brain Health and Cognitive Performance*. Taylor & Francis Group. CRC Press.
- Beyhan, Y., Taş, V. (2019). Mental Sağlık ve Beslenme, *Zeugma Sağlık Araştırmaları Dergisi*, 1(1), 30-35.
- Bianchi, V.E., Herrera, P.F., Laura, R. (2019). Effect of nutrition on neurodegenerative diseases: A systematic review. *Nutritional Neuroscience*, 1-25. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2019.1681088>.
- Black, M.M. (2008). Effects of vitamin B12 and folate deficiency on brain development in children, *Food and Nutrition Bulletin*, 29, (2), 126-131.
- Blundell, J., Gumaste, D., Handley, R., L. (2013). Diet, behaviour and cognitive functions: a psychobiological view. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 47(2), 85-91.
- Borovikova, L.V., Ivanova, S., Zhang, M., Yang, H., Botchkina, G.I., Watkins, L.R. et al. (2000). Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405, 458-462.
- Cani, P.D., Delzenne, N.M. (2011). The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacol. Ther.*, 130, 202-212.
- Cantwell, D.P. (1996). Attention deficit disorder: A review of the past 10 years. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 35, 978- 986.
- Carey, A.N., Poulos, S.M., Shukitt-Hale, B. (2012). The beneficial effects of tree nuts on the aging brain. *Nutrition and Aging*, 55-67. DOI 10.3233/NUA-2012-0007
- Castillo-Durán, C., Perales, C.G., Hertrampf, E.D., Marín, V.B., Rivera, F.A., ve Icaza, G. (2001). Effect of zinc supplementation on development and growth of Chilean infants. *Journal Pediatric*, 138, 229-35.
- Clarke, D.D., Sokoloff, L. (1999). *Circulation and Energy Metabolism of the brain*. In: Siegel, G., Agranoff, B., Albers, R. (Eds.), *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects*, sixth ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.
- Coşar, M., Songur, A., Şahin, O., Uz, E., Yılmaz, R., Yağmurca, M., Özen, O.A. (2008). The neuroprotective effect of fish n-3 fatty acids in the hippocampus of diabetic rats. *Nutritional Neuroscience*. 11, 161-166.
- Crawford, M.A. (1993). The role of essential fatty acids in neural development: implications for perinatal nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 703-710.
- Çakırcalı, E. (1998). *Hemşirelikte Temel İlke ve Uygulamalar*, II. Baskı, Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir.

- Çekici, H., Şanlıer, N. (2017). Current nutritional approaches in managing autism spectrum disorder: A review. *Nutritional Neuroscience*, 1-11.
- Çiftçi, H., Yıldız, E., Mercanlıgil, S.M. (2008). Depresyon ve Beslenme Tedavisi. *Journal of Medical Sciences*, 28(3), 369-377.
- Dauncey, M. J. (2009). New Insights into Nutrition and Cognitive Neuroscience. *Proceedings of the Nutrition Society*, 68(04), 408-415.
- De Palma, G., Collins, S.M., Bercik, P. (2014). The microbiota-gut-brain axis in functional gastrointestinal disorders. *Gut Microbes*, 5, 419-429.
- De Vos, W.M., de Vos, E.A. (2012). Role of the intestinal microbiome in health and disease: From correlation to causation. *Nutr Rev*, 70, 45-56.
- Dinan, T.G., Stanton, C., Cryan, J.F. (2013). Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry*, 74, 720-726.
- Doenyas, C. (2018). Mikrobiyota ve Otizm. *Türkiye Sağlık Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi*, 1(2), 43-48.
- Doğan, A. Yaşar, S., Kayhan, S., Kırmızıgöz, Ş., Kaplan, A. (2018). Bağırsak-beyin aksı. *Türk Nöroşir Dergisi*, 28(3), 377-379.
- Elder, J.H., Shankar, M., Shuster, J., Theriaque, D., Burns, S., Sherrill, L. (2006). The gluten-free, casein-free diet in autism: results of preliminary double blind clinical trial. *Journal Autism Dev Disord*, 36 (3), 413-20. doi:10.1007/s10803-006-0079-0.
- Erdem, İ. (2017). 5-7 Yaş Arası Çocukların Bilişsel Gelişim Düzeylerinin Dikkat Eksikliği ve Özel Öğrenme Güçlüğü Açısından Değerlendirilmesi (İstanbul İlinde Bir Özel Okul Örnekleme). Yüksek Lisans Tezi, Üsküdar Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul.
- Evangelidou, A., Vlachonikolis, I., Mihailidou, H. et al. (2003). Application of a ketogenic diet in children with autistic behavior: pilot study. *J Child Neurol*, 18, 113-118.
- Evrensel, A., Ceylan, M. (2015). Gut-Brain Axis: The Role of Gut Microbiota in Psychiatric Disorders. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches in Psychiatry*, 7(4), 461-472.
- Feng, J., Shan, L., Du, L., Wang, B., Li, H., Wang, W., Wang, T., Dong, H., Yue, X., Xu, Z., Staal, W.G., Jia, F. (2016). Clinical improvement following vitamin D3 supplementation in Autism Spectrum Disorder. *Nutritional Neuroscience*, 1-7. doi:10.1080/1028415X.2015.1123847
- Frye, R.E., Sreenivasula, S., Adams, J.B. (2011). Traditional and non-traditional treatments for autism spectrum disorder with seizures: an on-line survey. *BMC Pediatr*, 11:37. doi:10.1186/1471-2431-11-37
- Georgieff, M.K. (2007). Nutrition and the developing brain: nutrient priorities and measurement. *Am J Clin Nutr*, 85, 614-620.

- Germano M, Meleleo D, Montorfano G, et al. (2007). Plasma, red blood cells phospholipids and clinical evaluation after long chain omega-3 supplementation in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Nutritional Neuroscience*, 10, 1-9.
- Gold, P.E. (1995). Role of glucose in regulating the brain and cognition, *American Journal of Clinical Nutrition*, 987-995.
- Goldman, R.D. (2010). ADHD stimulants and their effect on height in children. *Canadian Family Physician*, 56(2), 145-146.
- Golik, F. (2014). The effects of excess fructose in a patient with autism spectrum disorder infections. *ACNEM J*, 33(2), 13-7.
- Goyal, M.S., Ventakesh, S., Millbrandt, J., Gordon, J.I., Raichle, M.E. (2015). Feeding the brain and nurturing the mind: Linking nutrition and the gut microbiota to brain development. *Perspective*, 112 (46), 14105-14112 // doi/10.1073/pnas.1511465112.
- Grayson, D.S., Kroenke, C.D., Neuringer, M., Fair, D.A. (2014). Dietary omega-3 fatty acids modulate large-scale systems organization in the rhesus macaque brain. *J Neurosci*, 34, 2065-2074.
- Guo, X., Park, Y., Freedman, N.D. et al. (2014). Sweetened Beverages, Coffee, and Tea and Depression Risk Among Older US Adults. *PLoS One*, 9(4):e94715.
- Gürsoy, G., Andaç Öztürk, S. (2019). Otizm Spektrum Bozukluklarında Beslenme Yaklaşımı. *Aydın Sağlık Dergisi*, 5 (2), 111-119.
- Hall, J.L., Gonder-Frederick, L.A., Chewning, W.W., Silveira, J., Gold, P.E. (1989). Glucose enhancement of memory in young and aged humans. *Neuropsychologia*, 27, 1129- 1138.
- Hyman, S.L., Stewart PA, Foley J, Cain U, Peck R, Morris DD, et al. (2016). The gluten-free/casein-free diet: a double-blind challenge trial in children with autism. *J Autism Dev Disord*, 46(1), 205-20. doi:10.1007/s10803-015-2564-9
- Innis, S.M. (2007). Dietary (n-3) Fatty Acids and Brain Development, *The Journal of Nutrition*, 137, 855-859.
- Irwing, G.F. (2003). Nutrition and cognitive function in the elderly. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 47, 3, 139-142. DOI: 10.1080/11026480310017240
- Johnson, C.R, Handen, B.L, Zimmer, M. et al. (2011). Effects of gluten free-casein free diet in young children with autism: a pilot study. *J Dev Phys Disabil*. 23, 213-325.
- Jones, L.C, Beard, J.L., Jones, B.C. (2008). Genetic analysis reveals polygenic influences on iron, copper, and zinc in mouse hippocampus with neurobiological implications. *Hippocampus*, 18, 398-410.
- Jonides, J., Schumacher, E.H., Smith, E.E., Lauber, E.J., Awh, E., Minoshima, S., Koeppe, R.A. (1997). Verbal working memory load affects regional

- brain activation as measured by PET. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 9, 462–475.
- Kambe, T., Weaver, B.P., Andrews, G.K. (2008) The genetics of essential metal homeostasis during development. *Genesis*, 46, 214–228.
- Khalatbary, A.R.(2013). Olive oil phenols and neuroprotection. *Nutritional Neuroscience*, 16(6), 243-249.
- Kiddie JY, Weiss MD, Kitts DD, Levy- Milne R, Wasdell MB. Nutritional status of children with attention deficit hyperactivity disorder: a pilot study. *Int. J. Pediatr*. 2010, 767318 (2010).
- Knivsberg, A. M., Reichelt, K. L., Høien, T., Nodland, M. (2002). A randomised, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes. *Nutritional Neuroscience*, 5, 251–261.
- Kodak, T., Piazza, C.C. (2008). Assessment and behavioral treatment of feeding and sleeping disorders in children with autism spectrum disorders. *Child and adolescent psychiatric clinics of North America*, 17(4), 887-905.
- Kossoff, E., Wang, H.S. (2013). Dietary Therapies for Epilepsy. *Journal Of Biomedical science*, 1-8.
- Lazarus, J. (2005). Iodine and brain function. Ch 15 In: Kanarek RB, Lieberman H, Prasad C. (eds). *Nutritional Neuroscience*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Lesne, S., Koh. M.T., Kotilinek, L. Kaye, R., Glabe, C.G., Yang, A., Gallagher, M., Ashe, K.H. (2006). A Specific amyloid- β protein assembly in the brain impairs memory. *Nature*, 440, 352-357. doi:10.1038/nature04533
- Libbey, J. E., Sweeten, T. L., McMahon, W. M. (2005). Autistic Disorder and Viral Infections. *Journal of NeuroVirology*, 11, 1-10.
- Lim, S.Y., Kim, E.J., Kim, A, et al. (2016). Nutritional Factors Affecting Mental Health. *Clinical Nutrition Research*, 5(3), 143-152.
- Lozupone, C.A, Stombaugh, J.I, Gordon, J.I, Jansson, J.K, Knight, R.(2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489:220–230.
- Lucarelli, S., Frediani, T., Zingoni, A.M., Ferruzzi, F., Giardini, O., Quintieri, F., Barbato, M., D'Eufemia, P., Cardi, E. (1995). Food allergy and infantile autism. *Panminerva Med*. 37, 137–141.
- Manning, C. A., Hall, J. L., Gold, P.E. (1990). Glucose effects on memory and other neuropsychological tests in elderly humans. *Psychological Science*, 1, 307-311.
- Marchesi, J.R, Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: A proposal. *Microbiome*, 3, 331.
- Martin, P.Y., Benton, D. (1999). The influence of a glucose drink on a demanding working memory task. *Physiology and Behaviour*, 67 (1), 69–74.

- Maslowski, K.M., Mackay, C. R. (2011). Diet, gut microbiota and immune responses. *Nature Immunol.*, 12, 5–9.
- Mayer, E.A., Knight, R., Mazmanian, S.K., Cryan, J.F., Tillisch, K. (2014). Gut microbes and the brain: Paradigm shift in neuroscience. *J Neurosci*, 34 (46), 15490-15496.
- McGarel, C., Pentieva, K., Strain J.J., McNulty, H. (2015). Emerging roles for folate and related B-vitamins in brain health across the lifecycle. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1-10. doi:10.1017/S0029665114001554
- Moore, K., Hughes, C.F., Ward, M., Hoey, L., McNulty, H. (2018). Diet, nutrition and the ageing brain: current evidence and new directions, *Proceedings of the Nutrition Society*, 1-12. doi:10.1017/S0029665117004177
- Mukaddes, N. (2013). *Otizm Spektrum Bozuklukları Tanı ve Takip*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- Murakami, M., Hirano, T. (2008). Intracellular zinc homeostasis and zinc signalling. *Cancer Science*, 99, 1515–1522.
- Murphy, T., Dias, G. P., Thuret, S. (2014). Effects of diet on brain plasticity in animal and human studies: Mind the gap. *Neural Plasticity*, 32.
- Najdowski, A.C., Wallace, M.D., Doney, J.K., Ghezzi, P.M. (2003). Parental Assessment and Treatment of food selectivity in natural settings. *Journal of applied behavior analysis*, 36(3), 383-386.
- Noğay, N. H. (2012). Beslenmenin Beyin Gelişimi Üzerindeki Etkisi. *Electronic Journal of Vocational Colleges*, 2 (2), 42-45.
- O'Donnell, K.J., Rakeman, M.A., Zhi-Hong, D., Xue-Yi, C., Mei, Z.Y., Delong, N., ve ark.(2002). Effects of iodine supplementation during pregnancy on child growth and development at school age. *Dev Med Child Neurol*, 44 (2), 76-81.
- Oriach, C.S, Robertson, R.C, Stanton, C., Cryan, J.F., Dinan, T.G. (2016). Food for thought: The role of nutrition in the microbiota-gut-brain axis. *Clinical Nutrition Experimental*, 6, 25-38.
- Ornitz, E.M., Ritvo, E.R. (1968). Perceptual inconstancy in early infantile autism: The syndrome of early infant autism and its variants including certain cases of childhood schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 18(1), 76- 98.
- Ottoboni F, Ottoboni A. (2003). Can attention deficit- hyperactivity disorder result from nutritional deficiency. *Journal of American Physicians and Surgeons*, 8(2), 58-60.
- Önal, S., Uçar, A. (2017). Otizm Spektrum Bozukluğu Tedavisinde Beslenme Yaklaşımları. *Ankara Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6 (1), 179-194.
- Özat, N.E. (2010). *Öğrenme güçlüğü yaşayan çocuklarda frostig görsel algı eğitim programının etkisi*. (Yayımlanmış yüksek lisans tezi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu.

- Özenoğlu, A. (2018). Duygu durumu, besin ve beslenme ilişkisi. *Beslenme ve Diyetetik, ACU Sağlık Bil Dergisi*, 9(4), 357-365.
- Pelsser, L.M., Frankena, K., Toorman, J., Savelkoul, H.F., Pereira, R.R., Buitelaar, J.K. (2009). A randomised controlled trial into the effects of food on ADHD. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 18(1):12-19.
- Pennesi, C. M, Klein, L.C. (2012). Effectiveness of the gluten-free, casein free diet for children diagnosed with autism spectrum disorder: based on parental report. *Nutritional Neuroscience*, 15(2), 85–91. doi: 10.1179/1476830512Y.0000000003
- Perez-Burgos, A., Wang, B., Mao, Y.K, Mistry, B., Mcvey Neufeld, K.A., Bienenstock J et al. (2013). Psychoactive bacteria *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) elicits rapid frequency facilitation in vagal afferents. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 304. G211-G220.
- Pişkin, Ü. (1995). *5–8 Yaş Grubu Otistik Çocukların Kavram Eğitimlerinde Bilgisayar İle Eğitimci Yönlendirmesinin Etkilerinin İncelenmesi*. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Polanczyk, G., de Lima, M.S., Horta, B.L., Biederman, J., Rohde, L.A. (2007). The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry*, 164(6), 942-948.
- Prasad, C. (1998). Food, mood and health: a neurobiological outlook. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 31, 1517–27.
- Rao, M., Gershon, M.D. (2016). The bowel and beyond: The enteric nervous system in neurological disorders. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 13, 517–528.
- Richardson, A.J. (2003). The importance of omega-3 fatty acids for behaviour, cognition and mood. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 47(2), 92-98.
- Romeo, M.G., Romeo, D.M., Trovato, L., Oliveri, S., Palermo, F., Cota, F. et al. (2011). Role of probiotics in the prevention of the enteric colonization by *Candida* in preterm newborns: incidence of late-onset sepsis and neurological outcome. *Journal of Perinatology*, 31(1), 63-9.
- Ross, S.M. (2013). Nutritional Neuroscience. *Holistic Nursing Practice*, 27(3), 185–188. Rota, C., Rimbach, G., Minihane, A.M., Stoecklin, E., Barella, L. (2005). Dietary vitamin E modulates differential gene expression in the rat hippocampus: potential implications for its neuroprotective properties. *Nutritional Neuroscience*, 8 (1), 21–29.
- Ruskin, D.N., Fortin, J.A., Bisnauth, S.N., Masino, S.A. (2017). Ketogenic diets improve behaviors associated with autism spectrum disorder in a sex-specific manner in the EL mouse. *Physiol Behav*, 168, 138–45. doi:10.1016/j.physbeh.2016.10.023
- Samieri, C., Okereke, O.I., Devore, E.E. et al. (2013). Long-term adherence to the mediterranean diet is associated with overall cognitive status, but not cognitive decline, in women. *J Nutr*, 143, 493–9.

- Schwing, L.J. (2009). Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): has diet therapy taken a place at the table? *J Consum Health Internet*, 13(1), 93-102.
- Sinn, N., Bryan, J., Wilson, C. (2008). Cognitive effects of polyunsaturated fatty acids in children with attention deficit hyperactivity disorder symptoms: a randomised controlled trial. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 78(4-5), 311-326.
- Sizonenko, S.V., Babiloni, C., Bruin, E.A. Isaacs, E.B., Johnsson, L.S., Kennedy, D.O., Latulippe, M.E., Mohajeri, M.H., Moreines, J.,Pietrini, P.,Walhovd, K.B., Winwood, R.J., Sijben, J.W. (2013). Brain imaging and human nutrition: which measures to use in intervention studies?. *British Journal of Nutrition*, 110 (1), 1-30.
- Sperner-Unterweger,B.,Fuchs,D.(2015).Schizophreniaandpsychoneuroimmunology: an integrative view. *Curr Opin Psychiatry*, 28, 201–6.
- Strasser, B., Gostner, J.M., Fuchs, D. (2016). Mood, food, and cognition: Role of tryptophan and serotonin. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 19, 55–61.
- Taşkın, B. D., Karalök, Z. S., Aydoğmuş, Ü., Gürkaş, E., Yoldaş, M., Güven, A., Yılmaz, C. (2016). Özgül Öğrenme Güçlüğü Olan Çocuklarda Çinko ve B12 Vitamini Düzeyleri. *J Pediatr Res*, 187-90.
- Taşyürek, E. (2017). *Otizm Spektrum Bozukluğu Tanısı Konulan Çocuklarda Uyku ve Beslenme Sorunları*. Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara.
- Thomas, B. (2001). *Mental illness*. Manual of Dietetic Practice. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing.
- Tufan, A.E., Yaluğ, İ. (2009). Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğunda tıbbi eş tanılar. *Psikiyatride güncel yaklaşımlar*, 1, 187-200.
- Uauy, R., Hoffman, D.R., Peirano P. et al. (2001). Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids*, 36, 885-895.
- Uçar, K., Samur, G. (2017). Otizmin Tedavisinde Güncel Beslenme Tedavisi Yaklaşımları. *Beslenme Diyetetik Dergisi*, 45(1), 53-60.
- Ünsün, G. (2003). *Kanserde Beslenme*, İnkılap Kitabevi, İstanbul, 33-35.
- Ünver, B. (1988). Diyetin Aminoasit Dengesizliği ve beslenme yönünden önemi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 17, 131-139.
- Wang, X., Wang, B.R., Zhang, X.J., Xu, Z., Ding, Y.Q., Ju, G. (2002). Evidences for vagus nerve in maintenance of immune balance and transmission of immune information from gut to brain in STM-infected rats. *World J Gastroenterol*, 8, 540-545.
- Weber, W., Newmark, S. (2007). Complementary and alternative medical therapies for attention-deficit/hyperactivity disorder and autism. *Pediatr Clin North Am*, 54, 983-1006.

- Whiteley, P., Haracopos, D., Knivsberg, A.M., Reichelt, K.L., Parlar, S., Jacobsen, J. et al. (2010). The ScanBrit randomised, controlled, single-blind study of a gluten- and casein-free dietary intervention for children with autism spectrum disorders. *Nutritional Neuroscience*, 13(2), 87–100. doi:10.1179/147683010×1261146 0763922
- Whalley, L. J., Deary, I. J., Appleton, C. L., Starr, J. M. (2004). Cognitive reserve and the neurobiology of cognitive aging. *Aging Research Reviews*, 3, 369–382.
- Williams, J.G., Higgins, J.P., Brayne, C.E. (2006). Systematic review of prevalence studies of autism spectrum disorders. *Arch Dis Child*, 91(1), 8–15.
- Wing, L., Potter, D. (2002), The Epidemiology of Autistic Spectrum Disorders: is the Prevalence Rising? *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 8, 151–161.
- Wurtman, R. J., Fernstrom, J. D. (1974). Effects of the Diet on Brain Neurotransmitters, *Nutrition Reviews*, 32, 193.
- Yehuda, S., Rabinovitz, S., Mostofsky, D.I. (1999). Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions. *J Neurosci Res*, 56, 565–570.
- Yehuda, S., Rabinovitz, S., Carasso, R.L. Mostofsky, D.I. (2008). Long-lasting cognitive, physiological and hematological effects in rehabilitated, early dietary iron-deficiency adult rats, and improvement by treatment with a mixture of essential fatty acids. *Nutritional Neuroscience*, 11, 167-171.
- Yıldız, P., Dönderici, Ö. (2016). Beyin Sağlığında Beslenmenin Etkisi, *Osmangazi Tıp Dergisi*, 38 (Özel Sayı 1), 8-12.
- Yılmaz, C., Özgürbüz, C., Yıldırım Şimşir, I., Değirmenci, C. (2015). *Sağlıklı Beslenme*, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlıklı Halk Kitapları Serisi, Üçüncü Baskı, İzmir.
- Yorbik Ö, Olgun A, Kırmızıgül P, Akman Ş. (2004). Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu olan erkek çocuklarda plazma çinko ve bakır düzeyleri. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 7(2), 80-84.
- Youdim, M. B., Ben-Shachar, D., & Yehuda, S. (1989). Putative biological mechanisms of the effect of iron deficiency on brain biochemistry and behavior. *The American journal of clinical nutrition*, 50(3), 607-617.
- Zamroziewicz, M. K., & Barbey, A. K. (2016). Nutritional cognitive neuroscience: innovations for healthy brain aging. *Frontiers in neuroscience*, 10, 240, 1–10.
- Zamroziewicz, M.K., Talukdar, M.T., Zwilling, C.E., Barbey, A.K. (2017). Nutritional status, brain network organization, and general intelligence. *NeuroImage*, 161, 241–250.

Bölüm 7

YAKIN GALAKSİLERDE SÜPERNOVA KALINTISI ARAŞTIRMALARI



Ebru AKTEKİN ÇALIŞKAN¹

¹ Dr. PhD:Akdeniz Üniversitesi, Fizik Bölümü

Süpernova Kahlntıları:

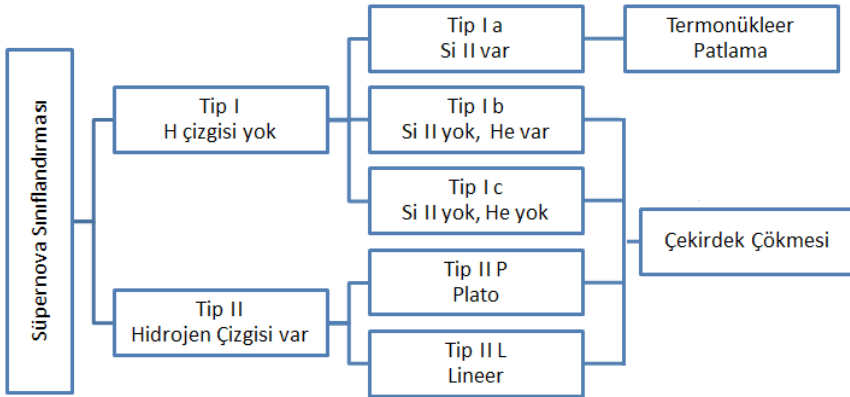
Süpernovalar (SN) en büyük yıldız patlamalarıdır. Tayflarınının doğasına ve ışık eğrisinin şekline göre Tip I ve Tip II olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Tip I SN'ler, biri Chandrasekhar limit kütleline ($1,46 M_{\odot}$) yakın cüce yıldızdır. Diğer yıldızın evrimin devamında cüce yıldız üzerine madde atması ile cüce yıldızın kütleline Chandrasekhar limit kütleline aşması ile çökme oluşur ve bu durum SN patlaması ile sonlanır. Tip I SN'ler patlama parlaklığı ile kısa bir sürede en yüksek değerine ulaşır ancak bu parlaklıkta kısa bir süre kalıp hızla söner.

Tayfında hidrojen çizgisi gözlenmeyen, Si II çizgisini bulunan Tip I SN'ler Tip Ia süpernovalarıdır. Tayfında Hidrojen çizgisi az da olsa görülen, Si II çizgisini bulunmayan, güçlü helyum çizgileri olan SN'ler Tip Ib ve helyum çizgileri görülmeyenler Tip Ic olarak sınıflandırılmıştır.

Tip II SN'ler ise yıldızlardan büyük kütleli yıldızın ana kol evrimi tamamlayıp kırmızı dev evresine geçmesi ile genişleyen gazın diğer yıldızın çekim etkisine girmesi ile ilerleyen patlamalardır. Yıldızların, ömrünün büyük bir kısmını geçirdikleri ve kütle çekim kuvvetinin ve çekirdeklerinde meydana gelen nükleer reaksiyonlar sayesinde dengede oldukları evreye, "Anakol" denir. Anakolda sahip oldukları kütleleri evrimlerini nasıl tamamlayacaklarını belirler. Anakoldaki kütleleri yaklaşık olarak güneşin kütleline 8 katı olan yıldızlar evrimlerini SN patlaması ile tamamlarlar (Woosley ve Weaver 1986, Woosley ve Janka 2005).

Tip I e göre daha düşük olan parlaklıktaki Tip II SN'ler bu parlaklıklarında uzun süre kalırlar. Tip II SN'lerin tayfında Hidrojen çizgisi baskındır. Tip II patlamalarında ışık eğrilerinde maksimum parlaklıktan sonra doğrusal azalan şeklinde olan Tip II-L, düzlük şeklinde olan Tip II-P olarak sınıflandırılır. Süpernova sınıflandırması Şekil 1 de gösterilmiştir.



Şekil 1: Süpernovaların sınıflandırması.

SN ile yıldızlararası ortama atılan ve genişleyen gazın enerjisi 10^{51} erg civarındadır ve bu gaza şok dalgası denir. Şok dalgası, genellikle soğuk ve seyrek olan yıldızlararası ortamda bulunan gazı süpürerek genişler (Sezer 2007). Bu sırada sahip olduğu enerjisinin bir kısmını süpürdüğü gaza vererek ısıtır. Yaklaşık 1 parsek (pc) genişlediği zaman, süpürülen gazın kütlesi yaklaşık 1 Güneş kütlesidir ($M_{\odot}$). Bu genişleyen gaza *süpernova kalıntısı* (SNK) denir (Lyne ve Smith 1998).

Şok dalgasının önündeki bölgede sıcaklık, yaklaşık olarak 10^6 Kelvin civarında olur. Şok dalgasının arkasında bölge ise daha soğuktur ve sıcaklık yaklaşık olarak 10^4 Kelvin civarındadır ve bölge daha yoğundur (Osterbrock 1989).

SNK'lerin gözlemsel ve teorik çalışmaları, patlama ile yıldız içerisindeki gazın yıldızlararası ortama dağılması, ortaya çıkan enerji ile yıldızlararası ortamın etkisinin incelenmesi konusunda önemlidir. Bu sayede içinde bulunduğu galaksinin kimyasal bolluğu hakkında bilgiler verir. Ayrıca SNK'ler de elektron yoğunluğunun az olması nedeniyle elektrik dipol geçiş kurallarına uymayan (elektrik dipol- yasak geçişler) yasak çizgiler için doğal bir laboratuvarıdır (Sezer 2007).

Yıldızlararası gaz ve tozun etkisi ve uzaklığın tam olarak belirlenememesi, galaktik (galaksimiz içindeki) SNK çalışmaları bir miktar etkilemektedir. Galaksimiz dışındaki SNK araştırmalarında ise bu etkiler azalmaktadır. Örneğin SNK'nin uzaklığı içinde bulunduğu galaksinin uzaklığı ile aynı alınmaktadır ve SNK'nin çapı hesaplanabilmektedir.

SNK'lerinin Gözlemsel Araştırmaları:

SNK'ların Radyo bölgede gözlenebilmeleri, ısısal olmayan sinkrotron ışıması yaptıklarından dolayıdır. Bu durum SNK'leri iyi birer radyo kaynak olarak nitelendirmemizi sağlar. Radyo bölgesindeki gözlemlerden açısal boyut, akı yoğunluğu ve uzaklık parametreleri belirlenebilmektedir (Green 2006). SN sırasında oluşan şok dalgası sebebiyle, şok dalgasının süpürdüğü gaz 10^6 K sıcaklığa kadar ulaşır. Bu durum, X-ışını bölgesinde gözlenmelerini sağlar ve sıcaklık, akı yoğunluğu gibi özellikleri belirlenebilmektedir (Osterbrock 1989).

Şok dalgasının arka bölgesi ise 10^4 K sıcaklıklarda kalır ve daha yoğundur. Bu özelliklerinden dolayı SNK'ları, optik ışıma yaparlar ve (Osterbrock 1989), SNK'ların optik gözlemleri; SNK'nın kimyasal bolluğu, SN patlama türü, şok dalgasının hızı, ortamdaki elektron yoğunluğu, şok öncesi bulut yoğunluğu gibi yıldızlararası ortamın ve kalıntının bazı özellikleri hakkında bilgi verir (Mavromatakis vd 2001). Optik gözlemler, ışık ölçümü ve tayf ölçümü ile yapılabilmektedir.

Işık ölçümü ile SNK'nın bulunduğu bölge belirlenebilmektedir. Bu

işlem [SII]/H α (yasak geçişler sonucu oluşan [SII] $\lambda 6716\text{\AA}$, $\lambda 6731\text{\AA}$ çizgilerinin şiddetinin iznizli geçiş sonucu oluşan H α çizgisi şiddetine oranı) oranlarını kullanılmaktadır. Optik gözlemlerle elde ettiğimiz verilerde SNK'ların konumlarının tespit edilmesinde [SII]/H α oranı önemli bir kriterdir (Mathewson ve Clarke 1973, Blair ve Long 1997, Dopita 1997, Sezer 2007).

Ayrıca SN ile evrimini tamamlayacak olan sıcak yıldızlar etraflarındaki Hidrojen gazını iyonlaştırmakta ve böylece çevrelerinde HII bölgeleri oluşmaktadır. Bu nedenle galaksi içerisinde SNK ve HII bölgelerini birbirlerine yakın olan durumdadır. [SII]/H α oranı, bu ayrımın da yapılabilmesini sağlamaktadır. HII bölgelerinde güçlü foto-iyonizasyondan dolayı sülfür çoğunlukla SIII formundadır ve [SII]/H α oranı HII bölgeleri ve gezegenimsi bulutsular için 0,1-0,3, SNK'ları için 0,4'den büyüktür (Smith vd 1993, Osterbrock 1989, Raymond 1979, Shull ve McKee 1979).

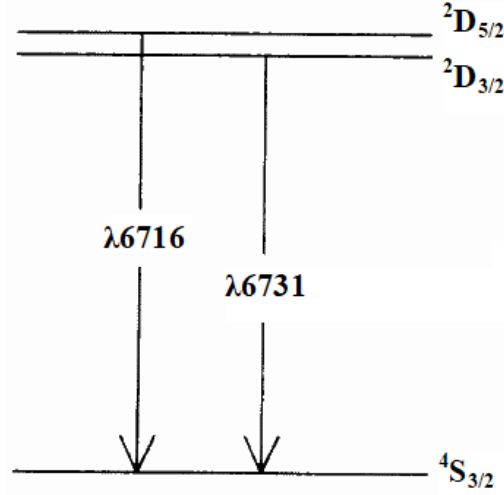
$$\frac{[SII] - \text{Süreklı}[SII]}{H\alpha - \text{Süreklı} H\alpha} > 0,4$$

Tayf ölçümünde ise, alınan tayflarla tayflarda görülen salma çizgilerinden akı değerleri hesaplanmaktadır. Bu hesaplamalar ile teorik bağlantılar kullanılarak SNK'nın ve bulunduğu ortam için bazı parametreleri elde edilir .

Bir SNK tayfında görülen salma çizgileri ve bu çizgiler kullanılarak elde edilebilecek SNK larının fiziksel parametrelerinden bahsedelim. Bir SNK tayfında Balmer H α 6563 Å, H β 4861 Å, ve yasaklı çizgiler [OIII]'ün 4959 Å 5007 Å ve 4363 Å, [N II]'nin 6548 Å ve 6584 Å, ve [S II]'nin 6717 Å ve 6731Å salma çizgisi olarak görülebilir.

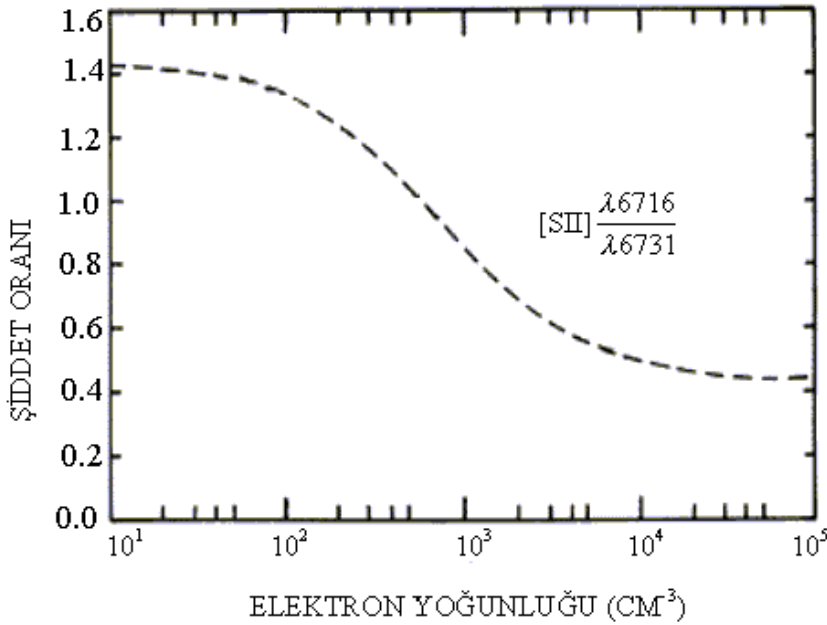
Öncelikle tıpkı ışık ölçüm gözlemlerinde olduğu gibi Balmer H α 6563 Å ve [S II] 6717 Å, 6731Å salma çizgileri bir SNK tayfında görülmektedir. Işık ölçüm için elde edilen [SII]/H α oranı tayftan da elde edilip ışık ölçüm ile mukayese edilebilmektedir.

Bir SNK tayfında yasak geçişler sonucu oluşan [SII]'nin 6716Å ve 6731Å salma çizgileri görülmektedir. Osterbrock (1989) tarafından verilen [SII] 6716 A, $\lambda 6731$ için enerji seviyeleri arasındaki geçişler Şekil 2 de görülmektedir.



Şekil 2: $[SII]\lambda 6716, \lambda 6731$ için enerji seviyeleri arasındaki geçişler (Osterbrock 1989).

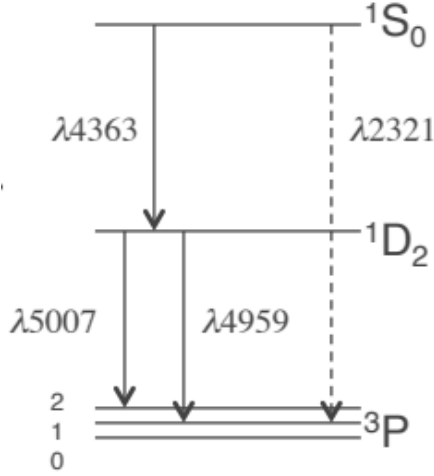
Osterbrock (1989) tarafından $T=10^4$ K için $[SII] \lambda 6716/\lambda 6731$ oranı ile elektron yoğunluğu arasındaki ilişki Şekil 3’de verilmiştir.



Şekil 3. Kuramsal olarak $T=10^4$ için elde edilen $[SII] \lambda 6716/\lambda 6731$ oranı-elektron yoğunluğu arasındaki ilişkisi (Osterbrock 1989)

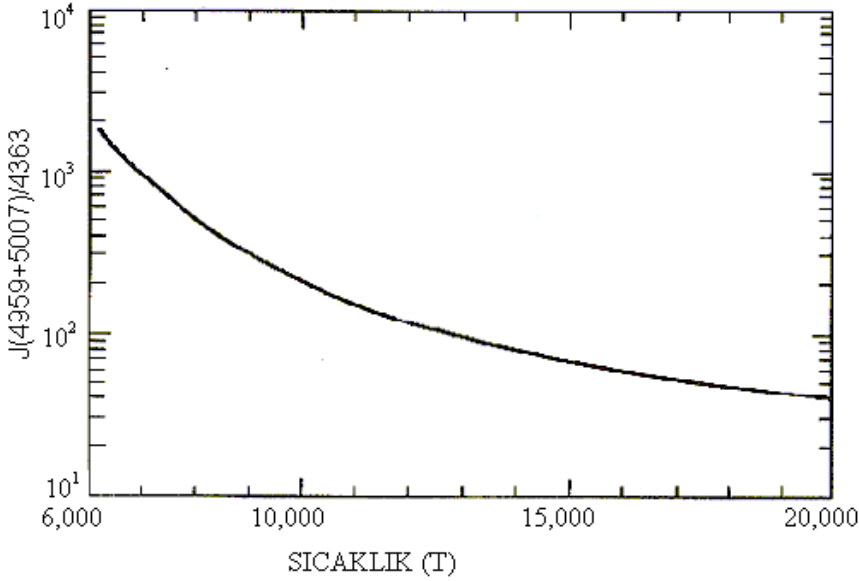
SNK tayfında yasak geçiş sonucu oluşan [OIII]'ün 5007Å ve Balmer H β 4861Å çizgileri görülmektedir. Bu çizgilerin şiddetleri hesaplanarak elde edilen çizgi şiddeti oranından şok dalgasının hızı belirlenmektedir (Cox ve Raymond 1985, Hartigan vd 1987, Raymond vd 1988).

Daha önce de belirttiğimiz gibi SNK tayfında yasak geçişler sonucu oluşan [OIII]'ün 4959 Å 5007 Å ve 4363 Å çizgileri görülebilmektedir. Bu çizgiler için enerji seviyeleri arasındaki geçişler Şekil 4 de verilmiştir.



Şekil 4: [OIII] 4363Å, 4959Å ve 5007Å için enerji seviyeleri arasındaki geçişler.

Ortamın elektron sıcaklığının bulunmasında, tayf ölçümünde [OIII]'ün 4959 Å 5007 Å ve 4363 Å çizgi şiddetleri hesaplanarak [OIII]($\lambda 4959 + \lambda 5007 / \lambda 4363$) oranları kullanılabilir (Osterbrock 1989). Osterbrock (1989) tarafında kuramsal olarak elde edilen $J(\lambda 4959 + \lambda 5007) / \lambda 4363$ - elektron sıcaklığı ilişkisi Şekil 5 de verilmiştir. Grafikten görüldüğü gibi sıcaklığın düşük olması bu oranın büyük olmasını gerektirir. Oranın büyük olması için 4363Å çizgisinin küçük olmasını gerektirmektedir. SNK tayflarında bu çizgi genelde küçüktür (Osterbrock 1989).



Şekil 5. Kuramsal olarak elde edilen $J(\lambda 4959 + \lambda 5007) / \lambda 4363$ - elektron sıcaklığı ilişkisi ($N_e \rightarrow 0$) (Osterbrock 1989)

Tayf ölçümleri kullanılarak verilen doğrultudaki yıldızlararası ortamın soğurması (1) no'lu ifade ile ve ortamın renk artışı (2) no'lu ifade ile belirlenebilir (Relano vd. 2006 and Buat vd. 2002, Ercan vd. 2018).

$$A_{(H_{\alpha})} = 5.25 \log[(H_{\alpha}/H_{\beta})/(2.859 t_e^{-0.07})] \quad (1)$$

$$E(B - V) = 0.44/2.45 A_{H_{\alpha}} \quad (2)$$

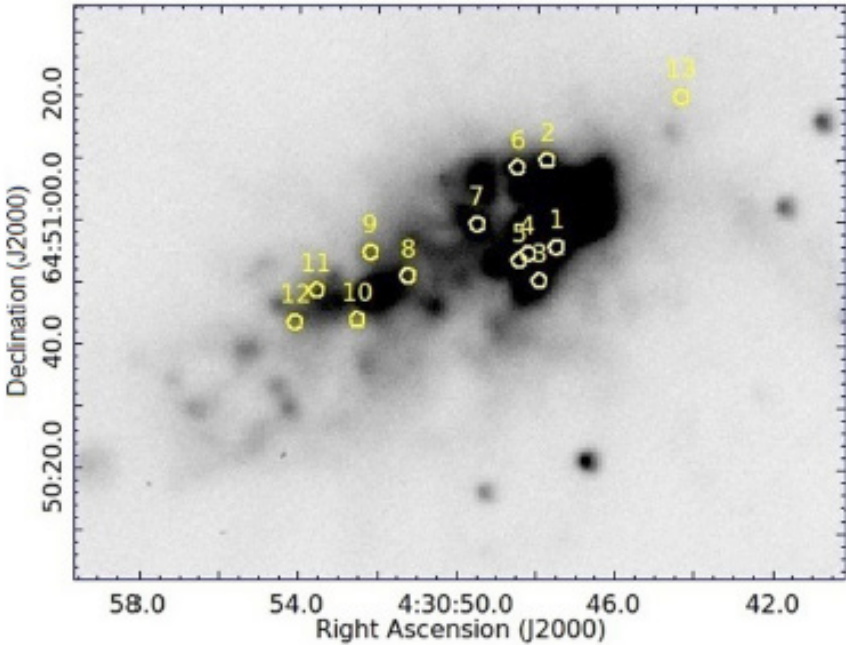
Burada , t_e electron sıcaklığıdır, H_{α} / H_{β} oranı tayf ölçümlerinden elde edilen H_{α} ve H_{β} çizgileri kullanılarak hesaplanır. Nötr Hidrojen kolon yoğunluğu ise (3) no'lu ifade ile bulunabilmektedir (Predehl ve Schmitt 1995 Ercan vd. 2018).

$$N(H_I) = 5.4 \times 10^{21} \times E(B - V) \quad (3)$$

Galaksimiz Dışındaki Yakın Galaksilerde SNK Araştırmasında Optik Bölge Işık Ölçümü ve Tayf için bir çalışma:

Ercan vd. (2018) çalışmasında Tübitak Ulusal Gözlemevi'nde (TUG) 150 cm çaplı RTT150 teleskop ile yapılan gözlemler ışık ölçümü ve tayf ölçümü çalışmaları yapılmıştır. Analizlerde IRAF (Image Reduction and Analysis Facility) yazılımı kullanılmıştır. Hem ışık ölçümü hemde tayf ölçümü verileri için ön indirgemeler yapılmıştır.

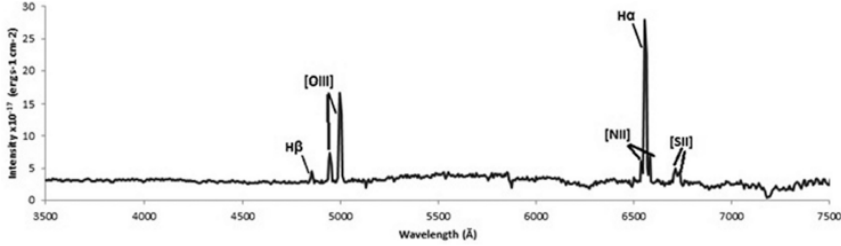
Işık ölçümü çalışmalarında $H\alpha$, Sürekli $H\alpha$, [SII] ve Sürekli [SII] filtreleri kullanılarak [SII]/H elde edilmiştir. $H\alpha$ - $H\alpha$ süreklilik, ve [SII]-[SII] süreklilik görüntüleri IRAF'ta imarith paketi ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 6'da yapılan çalışmada NGC1569 galaksisi içerisinde [SII]/ $H\alpha$ oranı kullanılarak tespit edilen SNK adayları gösterilmiştir.



Şekil 6: NGC1569 ait $H\alpha$ -Sürekli $H\alpha$ görüntüsü üzerinde tespit edilen SNK adayları gösterilmiştir. (Ercan vd 2018)

Yapılan tayf ölçümü çalışmalarında yine TUG'da galaksi içerisinde belirlenen SNR adaylarından ID5 numaralı adayın tayfı alınarak yapılmıştır. Tayf ölçümü gözlemlerinde genişliği $134 \mu\text{m}$ ($3.48''$) olan yarık kullanılmıştır. Grism olarak dalga boyu aralığı $3230\text{\AA}$ - $9120\text{\AA}$ olan 15 no'lu grism kullanılmıştır. Analizler ışık ölçümde olduğu gibi IRAF kullanılmıştır. Ön indirgeme aşaması sonrası dalga boyu ve akı kalibrasyonu ya-

pılmıştır. Elde edilen tayf ölçümünde salma çizgilerinin bulunduğu 3500 Å –7500Å dalga boyu aralığı verilmiştir. Şekil 7 de NGC1569’a ait tayfta Balmer H α 6563 Å, H β 4861 Å, ve yasaklı çizgiler [O III] 4959 Å ve 5007 Å, [N II] 6548 Å ve 6584 Å, ve [S II] 6717 Å ve 6731 Å tayfta görülmektedir (Ercan vd. 2018)



Şekil 7: NGC1569 galaksisi içerisinde tespit edilen ID5 SNK adayına ait $\lambda\lambda 3500\text{--}7500\text{\AA}$ dalgaboyu aralığındaki tayf. Balmer H α 6563 Å, H β 4861 Å, ve yasaklı çizgiler [O III] 4959 Å ve 5007 Å, [N II] 6548 Å ve 6584 Å, ve [S II] 6717 Å ve 6731 Å tayfta görülmektedir (Ercan vd. 2018)

Elde edilen tayftan her bir salma çizgisine ait akı değerleri hesaplanmış ve ilgili parametreler (1, 2 ve 3) nolu ifadeler kullanılarak belirlenmiştir. Analizler ve hesaplamalar sonucu elde edilen akı değerleri, çizgi oranları ve parametre değerleri Tablo 1 de verilmiştir.

Lines (Å)	Flux (S/N) $F(H\alpha = 100)$	Parameters and line ratios	Values
H β ($\lambda 4861$)	14.58 (4)	$I(H\alpha)$ ($\text{erg cm}^{-2} \text{s}^{-1}$)	$(2.57 \pm 0.01) \times 10^{-14}$
[O III] ($\lambda 4959$)	19.68 (7)	[S II] ^a /H α	0.46 ± 0.01
[O III] ($\lambda 5007$)	65.60 (18)	[S II] $\lambda\lambda 6716/6731$	1.30 ± 0.03
[N II] ($\lambda 6548$)	6.39 (6)	[O III] ($\lambda 5007$)/H β ($\lambda 4861$)	4.5 ± 0.07
H α ($\lambda 6563$)	100 (32)	V_s (km s^{-1})	100–150
[N II] ($\lambda 6584$)	6.75 (7)	$E(B - V)$	0.36 ± 0.01
[S II] ($\lambda 6716$)	26.11 (4)	$A(H\alpha)$	1.99 ± 0.03
[S II] ($\lambda 6731$)	20.10 (3)	$N(H\text{ I})$ (cm^{-2})	$(0.19 \pm 0.02) \times 10^{22}$
		N_e (cm^{-3})	121 ± 17

Note. ^a[S II] is the combination of $\lambda 6716$ and $\lambda 6731$ flux values.

Tablo 1: NGC1569 galaksisi içerisinde tespit edilen ID5 SNK adayına ait tayfta elde edilen parametreler ve çizgi oranları (Ercan vd. 2018).

Bu alanda yapılan çalışmalar oldukça ilginç olup, elektromanyetik bölgenin geniş skalası içerisinde (örneğin radio, X-ışınları, vb) her bir gözlemlenen SNK ların optik teleskoplarla elde edilen pozisyonları-konumları bu şekilde teyid edilebilmekte ve bunun dışında fiziksel olarak daha fazla parametrenin elde edilmesine olanak vermektedir.

KAYNAKLAR

- Blair W. P., Long K. S., 1997, ApJS, 108, 261
- Buat V., Boselli A., Gavazzi G., Bonfanti C., 2002, A&A, 383, 801
- Cox, D.P. ve Raymond, J.C. 1985., Astrophysical Journal, 298, 651
- Ercan, N. E., Aktekin, E., Cesur, N., Tumer, A., 2018, MNRAS, 481,2804
- Green, D.A., 2006. A Catalogue of galactic Supernova Remnants (2006 April).
[Http://www.mrao.cam.ac.uk/surveys/snrs](http://www.mrao.cam.ac.uk/surveys/snrs).
- Hartigan, P., Raymond, J., Hartmann, L. 1987. Astrophysical Journal, 316, 323
- Lyne, G.A. ve Smith, G.F.1998., Cambridge University Press, Cambridge, 261 pp.
- Mathewson, D.S. ve Clarke, J.N. 1973. Astrophysical Journal, 180, 725
- Mavromatakis, F., Papamastorakis, J., Ventura, J., Becker, W., Paleologou, E. V. ve Schaudel, D. 2001. A&A, 370, 265
- Osterbrock, D.E. 1989., California University Press, California, 408 pp.
- Predehl, P. ve Schmitt, J.H.M.M. 1995. A&A, 293, 889
- Raymond, J.C., 1979, ApJS, 39, 1.
- Raymond, J.C., Hester, J. J., Cox, D., Blair, W. P., Fesen, R. A., Gull, T. R. 1988. Astrophysical Journal, 324, 869
- Relano M., Lisenfeld U., Vilchez J. M., Battaner E., 2006, A&A, 452, 413
- Sezer, A., 2007, Bazı süpernova kalıntılarının ışıkölçüm ve tayfölcüm analizi, Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 84 P
- Smith, R.C., Kirshner, R.P., Blair, W.P., Long, K.S. ve Winkler, P.F. 1993. Astrophysical Journal, 407, 564
- Woosley, S. ve Weaver, T.A. 1986. Annual Review of Astronomy and Astrophysics, 24, 205
- Woosley, S. ve Janka, T. 2005. Nature Physics, 1, 147

Bölüm 8

BÜYÜME EĞRİSİ MODELİNDE SAĞLAM TAHMİN EDİCİLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Meltem EKİZ¹
Osman Ufuk EKİZ²

1 Doç. Dr., Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, ozmeltem@gazi.edu.tr

2 Dr. Öğr. Üyesi, Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, ufukekiz@gazi.edu.tr

1. Giriş

Potthoff ve Roy (1964) tarafından geliştirilmiş, genelleştirilmiş çok değişkenli bir varyans analizi modeli olan büyüme eğrisi modeli (*BEM*) özellikle ekonomi, biyoloji, medical araştırmalar ve eğitim gibi alanlarda kısa zaman aralığındaki büyümelerin araştırılması için kullanılmaktadır. Yani kısa dönem kestirimler yapmak için kullanılmaktadır. *BEM*,

$$Y_{p \times n} = X_{p \times m} B_{m \times r} Z_{r \times n} + \varepsilon_{p \times n} \quad (1)$$

şeklinde tanımlanmaktadır (Pan ve Fang, 2002). Burada X ve Z rankları sırasıyla $m < p$ ve $r < n$ olan bilinen tasarım matrisleri ve B ise bilinmeyen regresyon katsayılarını ifade etmektedir. p , n gözlemin her birinde gözlem alınan zaman noktalarının sayısını, $m-1$ polinomun derecesini ve r 'de deneme gruplarının sayısını ifade etmektedir. Ayrıca ε sütunları ortalaması sıfır bilinmeyen ortak kovaryans matrisleri $\Sigma > 0$ olan bağımsız p değişkenli normal dağılıma sahip bağımsız rastgele değişkenlerden oluşan hata matrisidir. Yani, $Y \sim N_{p,n}(XBZ, \Sigma, I_n)$ 'dır.

Aykırı gözlemler gibi dağılımın varsayılandan küçük farklılıklar göstermesine sebep olacak durumların, en küçük kareler (EKK)ve en çok olabilirlik (*EÇO*) tahmin edicileri üzerinde olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir (Pan ve Fang, 2002; Pendergast ve Broffitt, 1985). Son yıllarda istatistik literatüründe bu olumsuzluklardan daha az etkileneceği düşünülen sağlam tahmin ediciler önemli yer tutmaktadır. Bu çalışmada bir benzetim çalışması üzerinden *BEM* parametrelerine ilişkin sağlam ve sağlam olmayan bazı tahmin edicilerinin toplam hata kare ortalama (*THKO*) ölçüsü bakımından karşılaştırılmasına yer verilecektir.

Bu amaçla Bölüm 2'de BEM'de yer alan parametrelerin sağlam ve sağlam olmayan bazı tahmin edicileri incelenmiştir. Bu tahmin edicilere ilişkin *THKO*'larının elde edilmesine Bölüm 3'te ve bunlar üzerinden ilgili tahmin edicilerin karşılaştırıldığı bir benzetim çalışmasına da Bölüm 4'te yer verilmiştir. Bölüm 4'te elde edilen sonuçlar üzerinden değerlendirmelerin yapıldığı bir gerçek veri uygulamasına Bölüm 5'te yer verilmiştir.

2. *BEM* parametrelerine ilişkin tahmin ediciler

Eşitlik (1)'deki modelde, B parametresinin *EKK* tahmin edicisi

$$\hat{B}_{EKK} = (X'X)^{-1} X'YZ'(ZZ')^{-1}$$

olarak verilmektedir. Σ parametresinin tahmin edicisi ise,

$$\hat{\Sigma}_{EKK} = \frac{1}{n} (Y - X\hat{B}Z) (Y - X\hat{B}Z)'$$

şeklinde $\hat{B}_{EKK}$ 'ya dayalı olarak tanımlanmaktadır (Pan ve Fang, 2002).

Kovaryans matrisi Σ 'nın, Rao'nun basit kovaryans matrisi $\Sigma = X\Gamma X' + Q\Theta Q'$ olduğu varsayılın. Burada $\Gamma : m \times m$ ve $\Theta : (n-m) \times (n-m)$ bilinmeyen pozitif tanımlı matrislerdir ve $Q \in \varphi$ 'dir. X 'in dik matris uzayı olan φ ,

$$\varphi = \{Q | Q : p \times (p-m), \text{rank}(Q) = p-m, \text{ ve } X'Q = 0\}$$

şeklinde tanımlıdır (Rao, 1967). Bu durumda, B , Γ , Θ ve Σ parametrelerinin EÇO tahmin edicileri sırasıyla

$$\hat{B}_{E\check{C}O} = (X'X)^{-1} X'YZ'(ZZ')^{-1}$$

$$\hat{\Gamma} = \frac{1}{n} (X'X)^{-1} X'SX(X'X)^{-1}$$

$$\hat{\Theta} = \frac{1}{n} (Q'Q)^{-1} QYY'Q(Q'Q)^{-1}$$

$$\hat{\Sigma}_{E\check{C}O} = X\hat{\Gamma}X' + Q\hat{\Theta}Q'$$

şeklinde ifade edilir. Burada, $S \equiv Y(I_n - P_{Z'})Y'$ olmak üzere $P_{Z'} = Z'(ZZ')^{-1}Z$ 'dir (Pan ve Fang, 2002; Pan, 2004).

Eşitlik (1)'de i .inci gözleme ilişkin artık terimlerinin kareleri toplamı,

$$e_i^2(\hat{B}, \hat{\Sigma}) = (y_i - (X\hat{B}Z)_i)' \hat{\Sigma}^{-1} (y_i - (X\hat{B}Z)_i) \quad (2)$$

olmak üzere,

$$\sum_{i=1}^n w_i e_i^2$$

ifadesinin minimizasyonundan B ve Σ parametrelerinin ağırlıklandırılmış en küçük kareler ($AEKK$) tahmin edicileri sırasıyla

$$\hat{\Sigma}_{AEKK} = \frac{YHY'}{iz(H)} \quad (3)$$

ve

$$\hat{B}_{AEKK} = (X'\Sigma^{-1}X)^{-1} X'\Sigma^{-1}YWZ'(WZ')^{-1} \quad (4)$$

olarak elde edilir. Burada W , n tane gözleme ilişkin ağırlıkların yer aldığı köşegen matristir. $H = W - WZ'(WZ')^{-1}WZ$ şeklinde tanımlanmıştır. iz ' de matrisin izini ifade etmektedir (Satoh, Yanagihara ve Kamo, 2010; Pendergast ve Broffitt, 1985).

$h = \lfloor n/2 \rfloor + \lfloor (p+1)/2 \rfloor$ ($\lfloor \cdot \rfloor$ notasyonu bir alt tamsayıya yuvarlamayı ifade etmektedir), (Rousseeuw ve Leroy, 1987), ve t 'de n 'nin h 'lık kombinasyonu ($C(n, h)$) arasında bir sayı olmak üzere, gözlemlerin oluşturulacak tüm mümkün kombinasyonları üzerinden,

$$\min_{\hat{B}_t} \left(\text{medyan}(e_i^2(\hat{B}_j, \hat{\Sigma}_j)) \right), \quad j = 1, \dots, C(n, h), \quad i = 1, \dots, n$$

amaç fonksiyonunu minimize edecek şekilde Eşitlik (3) ve (4)'den en küçük medyan kareler (EMK) tahminleri $\hat{\Sigma}_{EMK} = \hat{\Sigma}_t$ ve $\hat{B}_{EMK} = \hat{B}_t$ sırasıyla elde edilir. Burada Eşitlik (3) ve (4)'de kullanılacak ağırlık matrisi W_t 'nin i .inci köşegen elemanı $w_i(e_i^2)$,

$$w_i(e_i^2) = \begin{cases} 1, & i. \text{ gözlem } t. \text{ kombinasyonda} \\ 0, & i. \text{ gözlem } t. \text{ kombinasyonda değil} \end{cases}$$

şeklinde tanımlanır.

Benzer şekilde, amaç fonksiyonu

$$\min_{\hat{B}_t} \sum_{i=1}^h e_{(i)}^2(\hat{B}_j, \hat{\Sigma}_j), \quad j = 1, \dots, C(n, h), \quad i = 1, \dots, n$$

olmak üzere sırasıyla Eşitlik (3) ve (4)'den elde edilen $\hat{B}_{EBK} = \hat{B}_t$ ve $\hat{\Sigma}_{EBK} = \hat{\Sigma}_t$ en küçük budanmış kareler (EBK) tahminleri olarak isimlendirilir. Burada $e_{(i)}^2$, i . sıra istatistiğini ifade etmektedir.

$\hat{B}_{EMK}$ tahmin başlangıç değeri olarak kullanıldığında, $\min_{\hat{B}_k} \sum_{i=1}^n \rho(e_i^2)$ amaç fonksiyonunun k . iterasyondaki $\hat{B}_k$ değeri $\hat{B}_M$, M -tahmin edici olarak kabul edilir. Burada ρ , tüm e_i^2 değerleri için sıfır noktasında minimuma sahip bir fonksiyondur. Bu çalışmada M -tahmin edici için Tukey'in (bisquare) ρ fonksiyonu kullanılmıştır (Maronna, Martin ve Yohai, 2006). Dolayısıyla Eşitlik (3) ve (4)'de kullanılacak ağırlık matrisi W_k 'nin i . köşegen elemanı $w_i(e_i^2)$,

$$w_i(e_i^2) = \begin{cases} \left(1 - (e_i^2 / c)^2\right)^2, & 0 \leq e_i^2 \leq c \\ 0, & e_i^2 > c \end{cases}$$

şeklinde tanımlanır. Bu fonksiyondaki c sabiti $E_{\chi_{(p)}^2}[\rho(e_i^2)] / \rho(c) = h/n$ eşitliğini sağlayacak şekilde belirlenmiştir ($E_{\chi_{(p)}^2}[\cdot]$, p serbestlik dereceli ki-kare dağılımı üzerinden beklenen değeri ifade etmektedir).

$\hat{B}_M$ 'nin elde edilmesinden farklı olarak amaç fonksiyonunun $\min_{\hat{B}_k} S(e_1^2, e_2^2, \dots, e_n^2)$ şeklinde kullanılması ile elde edilen tahmin edici $\hat{B}_S$, S -tahmin edici olarak isimlendirilir. Burada $S(e_1^2, e_2^2, \dots, e_n^2)$ Eşitlik (2)'deki gözlemlere ilişkin artık terimlerinin kareleri toplamalarının varyansını ifade etmektedir.

3. Tahmin edicilerin *THKO* ölçüsü

Bölüm 2'de tanımlanan tahmin edicilerin karşılaştırılması için kullanılacak ölçüler *THKO*, toplam varyans (*TVAR*), ve toplam sapma (*TSapma*)'nın Monte-Carlo tahminleri,

$$THKO(\hat{B}) = E \|\hat{B} - B\|^2 = iz(\sigma_{\hat{B}}^2) + \|Sapma(\hat{B})\|^2$$

$$E \|\hat{B} - B\|^2 = E \left(\sum_{j=1}^p (\hat{B}_j - B_j)^2 \right)$$

$$TVAR = iz(\sigma_{\hat{B}}^2) = \sum_{j=1}^p \sigma_{\hat{B}_j}^2$$

$$TSapma = \|Sapma(\hat{B})\|^2 = \sum_{j=1}^p (E(\hat{B}_j) - B_j)^2$$

şeklinde tanımlanmaktadır (Guilkey ve Murphy, 1975; McDonald ve Galarneau, 1975). Burada $\hat{B}$, B 'nin tahmin edicisini, $\sigma_{\hat{B}}^2$, $\hat{B}$ 'nin varyansını, E ise beklenen değeri ifade etmektedir.

4. Benzetim ile *BEM* tahmin edicilerini karşılaştırma

Eşitlik (1) 'deki modelde $p=4$, $m=2$, ve $r=3$ için ilgili sabitler aşağıdaki gibi verilmek üzere,

$$X = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 2 \\ 1 & 3 \\ 1 & 4 \end{bmatrix}, Z = \begin{bmatrix} 1_{n \times I} & 0 & 0 \\ 0 & 1_{n \times I} & 0 \\ 0 & 0 & 1_{n \times I} \end{bmatrix}, B = \begin{bmatrix} 1 & 3 & 5 \\ 2 & 4 & 6 \end{bmatrix}, \Sigma = \begin{bmatrix} 10 & 7 & 5 & 3 \\ 7 & 10 & 6 & 4 \\ 5 & 6 & 10 & 8 \\ 3 & 4 & 8 & 10 \end{bmatrix} \quad (5)$$

$p \times n$ boyutlu Y bağımlı değişken matrisine ilişkin gözlenmiş değerler $N_{p,n}(XBZ, \Sigma, I_n)$ dağılımından üretilmiştir. $n=50, 100$ ve $\varepsilon=0, 0.05, 0.10$ değerlerinin her bir kombinasyonu için 5000 defa tekrarlanan bu üretimlerden Σ , B , *THKO*, *TVAR* ve *TSapma* parametrelerinin Bölüm

2'de ifade edilen tahmin edicilere dayalı olarak elde edilen Monte-Carlo tahminlerine sırasıyla Tablo 1, 2 ve 3'te yer verilmiştir (bkz. Ekler).

Eşitlik (1) 'deki modelde $p=4$, $m=3$ ve $r=3$ için Z ve Σ parametreleri $m=2$ iken tanımlananlarla aynı ve X ile B

$$X = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 2 & 4 \\ 1 & 3 & 9 \\ 1 & 4 & 16 \end{bmatrix}, B = \begin{bmatrix} 1 & 4 & 7 \\ 2 & 5 & 8 \\ 3 & 6 & 9 \end{bmatrix}$$

şeklinde olmak üzere B , $THKO$, $TVAR$ ve $TSapma$ parametrelerinin Bölüm 2'de ifade edilen tahmin edicilere dayalı olarak elde edilen Monte-Carlo tahminlerine sırasıyla Tablo 4 ve 5'de yer verilmiştir (bkz. Ekler).

Benzer şekilde $p=4$, $m=4$ ve $r=3$ için Z ve Σ parametreleri $m=2$ iken tanımlananlarla aynı ve X ile B

$$X = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 2 & 4 & 8 \\ 1 & 3 & 9 & 27 \\ 1 & 4 & 16 & 64 \end{bmatrix}, B = \begin{bmatrix} 1 & 5 & 9 \\ 2 & 6 & 10 \\ 3 & 7 & 11 \\ 4 & 9 & 12 \end{bmatrix}$$

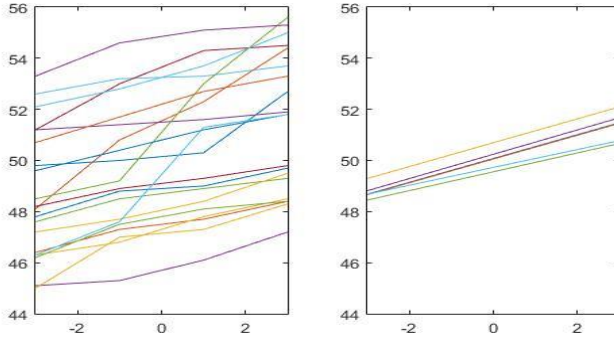
şeklinde olmak üzere B , $THKO$, $TVAR$ ve $TSapma$ parametrelerinin Bölüm 2'de ifade edilen tahmin edicilere dayalı olarak elde edilen Monte-Carlo tahminlerine sırasıyla Tablo 6 ve 7 'de yer verilmiştir (bkz. Ekler). Tablo 2-7'de verilen değerlerden en iyi sonuçların M ve S (özellikle S) tahmin edicilere ait olduğu EMK ve EBK tahmin edicilerin BEM nde çok başarılı sonuçlar vermediği görülmektedir. Örneğin $n=50$, $\varepsilon=0.10$ ve $m=2$ olmak üzere Eşitlik (5)'deki değerler kullanılarak hesaplanan B 'ye ilişkin Monte-Carlo tahminlerin yer aldığı Tablo 2'deki sonuçlardan yalnızca M ve S tahmin edicilerinin sapmasızlık gösterdiği görülmektedir. Tablo 3'de $THKO$, $TVAR$ ve $TSapma$ parametrelerine ilişkin Monte-Carlo tahminleri bakımından M ve S tahmin edicilerin, özellikle S tahmin edicinin, diğer tahmin edicilerden daha iyi sonuç verdiği görülmektedir. m 'nin 3 ve 4 değerleri için oluşturulan Tablo 4-7'de benzer sonuçlarla karşılaşılmıştır. Burada EMK ve EBK gibi regresyon analizinde sapmasız olduğu bilinen tahmin edicilerin sapmalı sonuçlar verdiği görülmüştür.

5. Gerçek veri uygulaması

Uygulamada kullanılmak üzere seçilen *Ramus* verisi Elston ve Grizzle (1962)'de yer almaktadır. Şekil 1.a.'da görülen bu veri setinde 20 adet erkek çocuğunun 8, 8.5, 9, 9.5 yaşlarındaki boy uzunlukları milimetre cinsinden verilmiştir. *Ramus* veri setindeki erkek çocuklarının boy uzunluklarının *BEM* ile modellenmesinde birinci derece model kullanılmıştır. Ölçümler eşit zaman aralıklarında alındığı için açıklayıcı tasarım matrisi X ve Z

$$X = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 \\ -3 & -1 & 1 & 3 \end{bmatrix}, Z = I_{20}$$

olarak tanımlanmıştır.



Şekil 1 a. *Ramus* verisi, b. Beklenen değer eğrileri

Bu veride tek bir grup olduğu için Z matrisi birlerden oluşan $n \times 1$ boyutlu tasarım matrisidir. Model parametreleri B ve Σ 'nın *EKK*, *EÇO*, *EMK*, *EBK*, M ve S tahmin edicileri ve bu tahmin edicilere dayalı Eşitlik (2)'deki $e_i^2(\hat{B}, \hat{\Sigma})$ (p serbestlik dereceli ki-kare dağılımına sahip i . gözleme ilişkin artık kareler toplamı) üzerinden belirlenen aykırı gözlemlerin sıra numaralarına Tablo 8 'de yer verilmiştir. Pan ve Fang (2002)'de yer alan aykırı gözlem değerlendirmesinde 9, 12, 18 ve 20 numaralı gözlemler şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan sağlam tahmin ediciler M ve S üzerinden bu gözlemlerin yanında başka gözlemlerde aykırı olarak tespit edildikleri Tablo 8'den görülmektedir. Şekil 1.b.'de ise *EKK*, *EÇO*, *EMK*, *EBK*, M ve S tahmin edicileri üzerinden elde edilen $X\hat{B}Z$ beklenen değer doğruları yer almaktadır. Bölüm 4'deki benzetim çalışmasında elde edilerek Tablo 3'te verilen sonuçlardan model parametrelerinin tahmininde çeşitli n ve ε değerleri için en iyilerinin M ve S tahmin edicileri oldukları görülmek-

tedir. Dolayısı ile veride aykırı gözlemin olması durumunda bu tahmin ediciler arasında dahi iyi sonuçlar verdiği görülen M ve S (özellikle S) tahmin edicileri üzerinden elde edilen sonuçlar daha güvenilir olacaktır.

Tablo 8. ‘Ramus’ veri için model parametreleri B ve Σ ’nın EKK , $E\check{C}O$, EMK , EBK , M ve S tahmin edicileri ve bu tahmin edicilere dayalı aykırı gözlemlerin sıra numaraları.

	$\hat{B}$	$\hat{\Sigma}$				Aykırı gözlem no					
EKK	50.0775 0.4665	6.0527	5.8972	5.5013	5.2816	9	12	20			
		5.8972	6.1271	5.8461	5.6248						
		5.5013	5.8461	6.5728	6.6106						
		5.2816	5.6248	6.6106	7.1330						
$E\check{C}O$	50.0569 0.4654	6.1990	5.8752	5.5230	5.2370	9	12	20			
		5.8752	5.8804	5.8571	5.9002						
		5.5230	5.8571	6.3334	6.4781						
		5.2370	5.9002	6.4781	7.2549						
EMK	50.6958 0.4675	6.6748	6.6419	6.0428	5.6354	12	20				
		6.6419	7.0651	6.5943	6.2460						
		6.0428	6.5943	7.0221	7.1826						
		5.6354	6.2460	7.1826	8.0452						
EBK	50.2438 0.4763	7.9209	7.4767	7.0990	6.7718	20					
		7.4767	7.5783	7.2592	6.9862						
		7.0990	7.2592	7.8964	8.1246						
		6.7718	6.9862	8.1246	9.0296						
M	49.5573 0.3693	7.0825	7.5095	7.5476	7.2805	8	9	10	11	12	20
		7.5095	8.0958	8.1586	7.7957						
		7.5476	8.1586	8.3326	7.9888						
		7.2805	7.7957	7.9888	7.7585						
S	49.7293 0.3502	6.9862	7.2775	7.2348	6.9312	8	9	10	12	20	
		7.2775	7.7452	7.7454	7.3672						
		7.2348	7.7454	7.8628	7.5122						
		6.9312	7.3672	7.5122	7.2737						

6. Sonuç

Kısa vadeli kestirimler yapmak maksadıyla kullanılan BEM nde aykırı gözlemlerin varlığının model parametrelerinin EKK ve $E\check{C}O$ tahmin edicileri üzerinde çok önemli sapmalara neden olduğu Bölüm 4’te gerçekleştirilen benzetim çalışmasından görülmektedir. Farklı örnek çapı ve aykırı gözlem oranları altında BEM parametrelerine ilişkin sağlam olan ve olmayan tahmin edicilerinin $THKO$, $TVAR$ ve $TSapma$ ölçüleri bakımından karşılaştırılmasının gerçekleştirildiği bu çalışmada sağlam tahmin edicilerin, özellikle M ve S tahminlerinin, çok daha iyi sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. EMK ve EBK gibi regresyon analizinde sapmasız olduğu bilinen tahmin edicilerin sapmalı sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

KAYNAKÇA

- Elston, R. C. ve Grizzle, J. E. (1962). Estimation of time-response curves and their confidence bands. *Biometrics*, 18(2), 148-159.
- Guilkey, D. K. ve Murphy, J. L. (1975). Directed ridge regression techniques in cases of multicollinearity. *Journal of the American Statistical Association*, 70(352), 769-775.
- Maronna, R. A., Martin, D. R. ve Yohai, V. J. (2006). *Robust statistics theory and methods*. New York, USA: John Wiley & Sons.
- McDonald, G. C. ve Galarneau, D. I. (1975). A Monte Carlo evaluation of some ridge-type estimators. *Journal of the American Statistical Association*, 70(350), 407-416.
- Pan, J. X., & Fang, K. T. (2002). *Growth curve models and statistical diagnostics*. New York, USA: Springer-Verlag.
- Pan, J. (2004). Discordant outlier detection in the growth curve model with Rao's simple covariance structure. *Statistics & Probability Letters*, 69(2), 135-142.
- Pendergast, J. F. ve Broffitt, J. D. (1985). Robust estimation in growth curve models. *Communications in Statistics Theory and Methods* 14(8), 1919-1939. doi: 10.1080/03610928508829021.
- Potthoff, R. F. ve Roy, S. N. (1964). A generalized multivariate analysis of variance model useful especially for growth curve problems. *Biometrika* 51(3-4), 313-326. doi: 10.1093/biomet/51.3-4.313.
- Rao, C. R. (1967). Least squares theory using an estimated dispersion matrix and its application to measurement of signals. In *Proceedings of the fifth Berkeley symposium on mathematical statistics and probability* (Vol. 1, pp. 355-372).
- Rousseeuw, P. J. ve Leroy, A. M. (1987). *Robust regression and outlier detection*. New York, USA: Wiley.
- Satoh, K., Yanagihara, H. ve Kamo, K. (2010) A robust estimation method for a growth curve model with balanced design. *Journal of Statistics: Advances in Theory and Applications* 3(2), 113-124.

Ekler

Tablo 1. $n = 50$, $\varepsilon = 0.10$ ve $m = 2$ iken kovaryans matrisinin Monte-Carlo tahminleri.

n	ε	$\hat{\Sigma}_{EKK}$	$\hat{\Sigma}_{ECO}$	$\hat{\Sigma}_{EMK}$	$\hat{\Sigma}_{EBK}$	$\hat{\Sigma}_M$	$\hat{\Sigma}_S$
0	0	10.0254 7.0378 4.9931 3.0259	10.2569 7.2986 5.5862 2.6279	11.0869 7.6910 5.4781 3.3261	10.9764 7.6128 5.4443 3.3458	7.5297 5.3134 3.7462 2.2662	7.5392 5.3197 3.7504 2.2707
		7.0378 10.0222 5.9888 4.0249	7.2986 8.0082 4.9802 5.6899	7.6910 11.0643 6.5592 4.4186	7.6128 10.9927 6.4938 4.3723	5.3134 7.5523 4.4523 2.9645	5.3197 7.5567 4.4492 2.9641
		4.9931 5.9888 9.9732 8.0417	5.5862 4.9802 8.1120 7.5061	5.4781 6.5592 10.9743 8.7978	5.4443 6.4938 10.8736 8.7074	3.7462 4.4523 7.4124 5.9475	3.7504 4.4492 7.4071 5.9472
		3.0259 4.0249 8.0417 10.0607	2.6279 5.6899 7.5061 10.5681	3.3261 4.4186 8.7978 11.1098	3.3458 4.3723 8.7074 11.0055	2.2662 2.9645 5.9475 7.4541	2.2707 2.9641 5.9472 7.4564
50	0.05	67.4367 96.4882 126.4541 156.5684	64.1721 91.3180 119.7148 146.8608	62.4488 87.6373 113.9289 140.4088	49.1121 66.9650 85.9841 105.1048	7.4217 5.1924 3.6781 2.1927	7.4329 5.2023 3.6817 2.1908
		96.4882 149.3830 195.2266 243.2900	91.3180 138.9562 182.8417 230.4799	87.6373 135.6112 175.4675 217.9413	66.9650 103.3844 131.8002 162.7718	5.1924 7.4743 4.4397 2.9438	5.2023 7.4864 4.4430 2.9437
		126.4541 195.2266 266.9313 332.8995	119.7148 182.8417 249.7212 312.8481	113.9289 175.4675 240.3375 298.7193	85.9841 131.8002 181.0110 232.7020	3.6781 4.4397 7.4289 5.9443	3.6817 4.4430 7.4302 5.9358
		156.5684 243.2900 332.8995 420.8482	146.8608 230.4799 312.8481 396.4672	140.4088 217.9413 298.7193 377.7544	105.1048 162.7718 232.7020 282.8070	2.1927 2.9438 5.9443 7.4523	2.1908 2.9437 5.9358 7.4559
100	0.10	105.5607 155.6280 207.1038 258.3538	95.8474 140.8883 187.1852 232.2261	88.0536 127.4372 168.3753 209.0535	53.6688 74.2591 96.2087 118.0085	7.4743 5.2519 3.7184 2.2501	7.4740 5.2528 3.7156 2.2467
		155.6280 241.1949 321.5049 402.6863	140.8883 216.6407 288.6253 364.3776	127.4372 197.7189 260.5146 332.2324	74.2591 118.0085 148.2923 183.5136	5.2519 7.4855 4.5012 3.0199	5.2528 7.4858 4.4977 3.0170
		207.1038 321.5049 402.6863 493.2978	187.1852 288.6253 364.3776 445.8609	168.3753 260.5146 332.2324 402.6863	96.2087 148.2923 204.1683 252.8664	3.7184 4.5012 7.5670 6.0519	3.7156 4.4977 7.5594 6.0463
		258.3538 402.6863 493.2978 590.4974	232.2261 364.3776 445.8609 535.5343	209.0535 332.2324 402.6863 493.2978	118.0085 183.5136 252.8664 319.4891	2.2501 3.0199 6.0519 7.5574	2.2467 3.0170 6.0463 7.5542
100	0	10.0325 7.0102 5.0186 3.0271	10.3391 7.3670 5.0440 2.6270	11.0019 7.6464 5.4940 3.3316	10.9275 7.5902 5.4722 3.3367	7.4331 5.2222 3.7152 2.2261	7.4337 5.2218 3.7139 2.2240
		7.0102 10.0075 6.0105 4.0144	7.3670 8.0080 5.0217 5.7227	7.6464 10.9461 6.5282 4.3609	7.5902 10.9040 6.5195 4.3502	5.2222 7.4184 4.4476 2.9599	5.2218 7.4175 4.4468 2.9587
		5.0186 6.0105 9.9732 8.0417	5.0440 5.0217 8.1120 7.5061	5.4940 6.5282 10.9743 8.7978	5.4722 4.3502 10.8736 8.7074	3.7152 4.4476 7.4124 5.9475	3.7139 4.4468 7.4071 5.9472
		3.0271 4.0144 7.9635 9.9675	2.6270 5.7227 7.5061 10.5681	3.3316 4.3609 8.7978 11.1098	3.3367 4.3502 8.6431 10.8449	2.2261 2.9599 5.9840 7.4564	2.2240 2.9587 5.9837 7.4568
100	0.05	57.6110 81.2797 105.9174 130.5250	55.6003 77.9387 101.5270 123.8653	54.4247 77.9387 101.5270 123.8653	47.8187 65.1536 83.5953 102.0543	7.4783 5.2224 3.7564 2.2226	7.4801 5.2253 3.7565 2.2228
		81.2797 123.8653 156.5684 195.2266	77.9387 101.5270 123.8653 156.5684	77.9387 101.5270 123.8653 156.5684	47.8187 65.1536 83.5953 102.0543	5.2224 7.4783 4.4958 2.9782	5.2253 7.4801 4.4959 2.9783
		105.9174 156.5684 195.2266 243.2900	101.5270 123.8653 156.5684 195.2266	101.5270 123.8653 156.5684 195.2266	83.5953 102.0543 131.8002 162.7718	3.7564 4.4958 7.4541 5.9475	3.7565 4.4959 7.4542 5.9476
		130.5250 203.1359 278.5388 351.9696	123.8653 194.8216 264.5280 335.4843	119.1070 184.9938 255.0209 320.9543	102.0543 156.5684 218.2193 275.8378	2.2226 2.9782 5.9604 7.4564	2.2228 2.9773 5.9582 7.4543
100	0.10	105.3395 155.6646 206.8919 258.3331	96.1709 141.2310 187.5325 232.5925	90.1538 131.0099 172.9965 215.1035	56.7128 79.0510 102.5087 126.1066	7.3918 5.1333 3.7046 2.2318	7.3953 5.1355 3.7049 2.2322
		155.6646 241.1949 321.5049 402.6863	140.8883 216.6407 288.6253 364.3776	131.0099 172.9965 215.1035 260.5146	102.5087 126.1066 162.7718 204.1683	5.1333 7.4541 4.4958 2.9782	5.1355 7.4542 4.4959 2.9783
		206.8919 321.5049 402.6863 493.2978	187.5325 288.6253 364.3776 445.8609	172.9965 215.1035 260.5146 332.2324	126.1066 162.7718 232.7020 282.8070	3.7046 4.4958 7.4541 5.9475	3.7049 4.4959 7.4542 5.9476
		258.3331 402.6863 493.2978 590.4974	232.5925 364.3776 445.8609 535.5343	215.1035 334.7774 457.5285 578.4317	126.1066 195.8812 268.8209 339.8747	2.2318 2.9636 5.9469 7.4188	2.2322 2.9638 5.9471 7.4188

Tablo 2. $m = 2$ için B parametresinin Monte-Carlo tahminleri.

n	ε	$\hat{B}_{EKK}$			$\hat{B}_{E\zeta O}$			$\hat{B}_{EMK}$			$\hat{B}_{EBK}$			$\hat{B}_M$			$\hat{B}_S$		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
50	0	0.9529	3.0196	5.0050	0.9501	3.0172	5.0057	0.9776	3.0410	5.0031	0.9141	2.9794	4.9741	3.0136	4.9952	0.9474	3.0126	4.9945	
		2.0141	3.9869	5.9983	2.0150	3.9882	5.9993	2.0069	3.9854	5.9963	2.0211	4.0010	6.0053	3.9880	6.0029	2.0164	3.9885	6.0033	
		1.2438	3.7215	6.2162	1.2441	3.7202	6.2159	1.2548	3.6964	6.1626	1.1852	3.4585	5.8376	3.0013	5.0200	1.0072	3.0000	5.0227	
	0.05	2.4800	4.9682	7.4351	2.4842	4.9635	7.4422	2.4509	4.9255	7.3646	2.3081	4.6497	6.9617	2.0011	4.0124	5.9943	2.0015	4.0125	5.9931
		1.3692	4.2368	7.0194	1.3652	4.2410	7.0145	1.3568	4.1231	6.8178	1.1686	3.5881	5.9411	3.0933	5.0185	0.9755	3.0958	5.0188	
		2.8027	5.5936	8.4105	2.7982	5.5912	8.4059	2.7271	5.4168	8.1647	2.3761	4.7342	7.1237	2.0004	3.9760	6.0125	1.9997	3.9753	6.0128
100	0	0.9623	2.9989	5.0022	0.9664	2.9980	5.0007	0.9728	2.9813	5.0196	0.9702	3.0118	5.0053	0.9662	3.0097	5.0015	0.9657	3.0094	5.0014
		2.0115	3.9986	6.0010	2.0107	3.9999	6.0013	2.0130	4.0040	5.9958	2.0082	4.0020	5.9981	2.0113	3.9969	6.0072	2.0116	3.9974	6.0072
		1.1976	3.5884	5.9913	1.1982	3.5931	5.9954	1.1986	3.5710	5.9581	1.1647	3.4977	5.8163	0.9824	3.0098	4.9814	0.9834	3.0100	4.9812
	0.05	2.4005	4.8046	7.2041	2.3997	4.8019	7.2040	2.3827	4.7649	7.1508	2.3096	4.6263	6.9466	2.0063	3.9962	6.0082	2.0061	3.9962	6.0082
		1.3769	4.1831	6.9981	1.3790	4.1896	6.9917	1.3436	4.0940	6.8334	1.1893	3.5522	6.0032	0.9523	2.9879	4.9958	0.9526	2.9875	4.9965
		2.8041	5.6047	8.3866	2.8063	5.6042	8.3915	2.7435	5.4751	8.1896	2.3985	4.8083	7.1888	2.0073	3.9995	5.9918	2.0074	3.9996	5.9916

Tablo 3. $m = 2$ için B parametresine ilişkin TMSE, TVAR ve TSapma'nın Monte-Carlo tahminleri.

n	ε	Ölçü	$\hat{B}_{EKK}$			$\hat{B}_{EÇO}$			$\hat{B}_{EMK}$			$\hat{B}_{EBK}$			$\hat{B}_M$			$\hat{B}_S$		
			I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
50	0	THKO	0.391	0.3663	0.3597	0.3278	0.3442	0.3447	0.5347	0.5919	0.5718	0.691	0.7240	0.6719	0.5234	0.5228	0.5172	0.5221	0.5134	0.5228
		TVAR	0.367	0.3657	0.3597	0.3251	0.3438	0.3446	0.5342	0.5900	0.5718	0.6413	0.7235	0.6712	0.5204	0.5224	0.5171	0.5190	0.5131	0.5227
		TS	0.0024	0.0006	0.0000	0.0027	0.0004	0.0000	0.0005	0.0019	0.0000	0.0078	0.0004	0.0007	0.0030	0.0003	0.0000	0.0030	0.0003	0.0000
	0.05	THKO	0.6514	1.8306	3.9215	0.6463	1.8116	3.9408	1.0319	2.1776	4.4345	0.8644	1.4693	2.4597	0.5420	0.5745	0.5913	0.5432	0.5654	0.5920
		TVAR	0.3615	0.3725	0.3827	0.3523	0.3645	0.3826	0.7636	0.8360	1.2209	0.7352	0.8370	0.8332	0.5419	0.5744	0.5908	0.5432	0.5653	0.5914
		TS	0.2899	1.4580	3.5388	0.2941	1.4471	3.5582	0.2682	1.3416	3.2136	0.1292	0.6323	1.6265	0.0001	0.0002	0.0004	0.0001	0.0002	0.0006
	0.10	THKO	1.1182	4.4147	10.2539	1.1147	4.3967	10.2246	1.3515	4.3523	9.7241	0.8738	1.6397	3.1321	0.5516	0.5558	0.6524	0.5493	0.5569	0.6568
		TVAR	0.3377	0.3455	0.3652	0.3442	0.3249	0.3781	0.6955	1.0835	1.7338	0.7039	0.7549	0.9837	0.5509	0.5465	0.6519	0.5487	0.5471	0.6563
		TS	0.7805	4.0691	9.8887	0.7705	4.0717	9.8465	0.6560	3.2688	7.9903	0.1699	0.8848	2.1484	0.0006	0.0093	0.0005	0.0006	0.0098	0.0005
100	0	THKO	0.1946	0.1648	0.1979	0.1836	0.1617	0.1917	0.3292	0.3139	0.3314	0.3439	0.3586	0.3868	0.2577	0.2401	0.3039	0.2580	0.2401	0.3036
		TVAR	0.1930	0.1648	0.1979	0.1824	0.1617	0.1917	0.3283	0.3136	0.3310	0.3429	0.3585	0.3868	0.2564	0.2400	0.3039	0.2567	0.2400	0.3035
		TS	0.0016	0.0000	0.0000	0.0012	0.0000	0.0000	0.0009	0.0004	0.0004	0.0010	0.0001	0.0000	0.0013	0.0001	0.0001	0.0013	0.0001	0.0001
	0.05	THKO	0.3608	1.1759	2.6051	0.3560	1.1717	2.6091	0.5008	1.3189	2.8326	0.4825	1.0252	2.0197	0.2591	0.2681	0.2677	0.2590	0.2680	0.2674
		TVAR	0.1613	0.1823	0.1724	0.1570	0.1769	0.1688	0.3149	0.4077	0.5902	0.3595	0.3853	0.4574	0.2588	0.2680	0.2673	0.2587	0.2679	0.2669
		TS	0.1995	0.9936	2.4327	0.1990	0.9948	2.4403	0.1859	0.9112	2.2423	0.1230	0.6400	1.5624	0.0004	0.0001	0.0004	0.0003	0.0001	0.0004
	0.10	THKO	0.9885	4.1701	9.8814	0.9588	4.1674	9.8755	1.0406	4.0183	9.2423	0.5290	1.4021	2.9746	0.2831	0.2890	0.3030	0.2824	0.2889	0.3026
		TVAR	0.1699	0.1951	0.1932	0.1651	0.1789	0.1894	0.3697	0.6455	1.0866	0.3343	0.4439	0.5548	0.2808	0.2889	0.3030	0.2801	0.2888	0.3025
		TS	0.7886	3.9750	9.6882	0.7937	3.9885	9.6861	0.6709	3.3728	8.1557	0.1946	0.9582	2.4197	0.0023	0.0001	0.0001	0.0023	0.0002	0.0001

Tablo 4. $m = 3$ için B parametresinin Monte-Carlo tahminleri.

n	ε	$\hat{B}_{EKK}$			$\hat{B}_{EQO}$			$\hat{B}_{EMK}$			$\hat{B}_{EBK}$			$\hat{B}_M$			$\hat{B}_S$		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
50	0	1.0492	3.9911	7.0002	1.0533	3.9838	7.0023	1.0664	3.9673	7.0054	1.0153	4.0347	6.9913	1.0668	3.9851	7.0019	1.0630	3.9879	7.0015
		1.9796	5.0032	8.0013	1.9746	5.0113	7.9993	1.9801	5.0155	7.9983	1.9837	4.9944	8.0021	2.0032	4.9809	8.0044	2.0035	4.9764	8.0053
		2.9817	6.0008	9.0008	2.9863	5.9995	9.0010	3.0031	5.9749	9.0060	3.0173	5.9700	9.0052	3.0104	5.9910	9.0017	3.0118	5.9899	9.0016
	0.05	1.2092	4.9712	8.6795	1.2143	4.9693	8.6830	1.2196	4.9401	8.5894	1.0915	4.6228	8.0458	0.9738	4.0312	6.9939	0.9730	4.0307	6.9940
		2.4920	6.2132	9.9167	2.4963	6.2070	9.9140	2.4995	6.1359	9.8211	2.3428	5.7688	9.1931	1.9935	5.0052	7.9989	1.9959	5.0031	7.9993
		3.6792	7.4916	11.1512	3.6775	7.4947	11.1534	3.6129	7.4427	11.0381	3.3575	6.9881	10.3352	2.9678	6.0418	8.9932	2.9697	6.0410	8.9932
	0.10	1.4346	5.5733	9.8035	1.4281	5.5661	9.7891	1.3662	5.2514	9.1955	1.1683	4.6425	8.1377	1.0391	3.9640	7.0051	1.0368	3.9663	7.0047
		2.7655	7.0264	11.1961	2.7683	7.0371	11.2091	2.5380	6.6436	10.5004	2.3233	5.8064	9.3027	1.9577	5.0246	7.9957	1.9599	5.0238	7.9958
		4.1678	8.4124	12.5974	4.1701	8.4141	12.5950	3.9149	7.8670	11.8326	3.4719	6.9917	10.4601	2.9699	6.0079	8.9976	2.9674	6.0088	8.9976
	100	0.9952	4.0030	6.9999	0.9961	4.0007	7.0006	0.9809	3.9981	7.0021	1.0181	3.9847	7.0016	0.9940	3.9992	7.0010	0.9953	3.9971	7.0014
		2.0195	4.9989	7.9994	2.0167	5.0022	7.9986	2.0531	4.9715	8.0053	2.0575	4.9756	8.0023	2.0193	5.0057	7.9965	2.0202	5.0053	7.9965
		3.0098	5.9917	8.9994	3.0130	5.9846	9.0017	3.0236	5.9713	9.0050	2.9455	6.0256	8.9929	3.0246	5.9666	9.0052	3.0243	5.9666	9.0052
100	0	1.1731	4.8065	8.4002	1.1744	4.8066	8.4012	1.1492	4.7209	8.2107	1.0368	4.4065	7.6429	0.9825	3.9922	7.0029	0.9826	3.9923	7.0029
		2.4248	5.9692	9.6084	2.4238	5.9715	9.6043	2.3948	5.8460	9.3925	2.2241	5.4475	8.7456	1.9984	5.0074	8.0004	1.9976	5.0076	8.0004
		3.5970	7.2242	10.7958	3.5958	7.2254	10.7951	3.5226	7.0449	10.5621	3.2790	6.5935	9.8274	2.9983	6.0207	8.9966	2.9982	6.0209	8.9966
	0.05	1.3805	5.6258	9.7955	1.3810	5.6257	9.7965	1.3157	5.3447	9.2816	1.0935	4.6428	8.0031	0.9649	4.0393	6.9926	0.9643	4.0396	6.9926
		2.7779	7.0072	11.1984	2.7805	7.0051	11.2048	2.6435	6.6236	10.6172	2.2781	5.7256	9.1574	1.9899	4.9912	8.0025	1.9894	4.9915	8.0024
		4.2203	8.3742	12.6042	4.2216	8.3695	12.6062	4.0075	7.9024	11.9524	3.4721	6.8296	10.3072	3.0177	5.9752	9.0051	3.0174	5.9750	9.0052
	0.10	1.4346	5.5733	9.8035	1.4281	5.5661	9.7891	1.3662	5.2514	9.1955	1.1683	4.6425	8.1377	1.0391	3.9640	7.0051	1.0368	3.9663	7.0047
		2.7655	7.0264	11.1961	2.7683	7.0371	11.2091	2.5380	6.6436	10.5004	2.3233	5.8064	9.3027	1.9577	5.0246	7.9957	1.9599	5.0238	7.9958
		4.1678	8.4124	12.5974	4.1701	8.4141	12.5950	3.9149	7.8670	11.8326	3.4719	6.9917	10.4601	2.9699	6.0079	8.9976	2.9674	6.0088	8.9976

Tablo 5. $m = 3$ için B parametrelerine ilişkin $TMSE$, $TVAR$ ve $TSapma$ Monte-Carlo tahminleri.

n	ε	Ölçü	$\hat{B}_{EKK}$			$\hat{B}_{ECO}$			$\hat{B}_{EMK}$			$\hat{B}_{EBK}$			$\hat{B}_M$			$\hat{B}_S$		
			I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
50	0	THKO	1.6714	1.0263	0.0382	1.6859	1.0189	0.0361	2.7162	1.6480	0.0606	3.1248	1.8229	0.0675	2.7246	1.5742	0.0544	2.7134	1.5711	0.0543
		TVAR	1.6682	1.0262	0.0382	1.6822	1.0186	0.0361	2.7114	1.6461	0.0605	3.1240	1.8208	0.0674	2.7201	1.5736	0.0544	2.7093	1.5703	0.0542
		TS	0.0032	0.0001	0.0000	0.0037	0.0004	0.0000	0.0048	0.0019	0.0001	0.0008	0.0021	0.0001	0.0046	0.0007	0.0000	0.0041	0.0008	0.0000
	0.05	THKO	2.4347	5.6281	1.11593	2.4640	5.6249	1.11943	3.6287	6.6459	11.8193	3.4736	3.8770	4.4166	2.8704	1.6285	0.0573	2.8785	1.6280	0.0573
		TVAR	1.6875	0.9880	0.0374	1.7128	0.9944	0.0614	2.9553	2.3903	1.8228	3.2199	1.9216	0.1221	2.8687	1.6257	0.0572	2.8768	1.6253	0.0572
		TS	0.7472	4.6401	11.1219	0.7513	4.6506	11.1329	0.6733	4.2556	9.9965	0.2537	1.9554	4.2946	0.0018	0.0027	0.0001	0.0017	0.0026	0.0001
100	0.10	THKO	3.7850	13.4412	31.0542	3.8081	13.4669	31.0818	4.2278	10.5548	22.1659	3.4838	4.0562	5.5954	2.7458	1.7285	0.0608	2.7493	1.7286	0.0607
		TVAR	1.6464	1.0398	0.0383	1.6656	1.0363	0.0803	2.9672	2.8018	3.0697	3.1282	2.0095	0.4721	2.7416	1.7265	0.0607	2.7453	1.7268	0.0607
		TS	2.1386	12.4014	31.0158	2.1425	12.4307	31.0015	1.2606	7.7531	19.0962	0.3556	2.0467	5.1234	0.0042	0.0020	0.0000	0.0040	0.0018	0.0000
	0	THKO	0.8545	0.5111	0.0186	0.8603	0.5024	0.0173	1.4581	0.8720	0.0321	1.5899	0.9884	0.0368	1.2654	0.7480	0.0260	1.2665	0.7482	0.0260
		TVAR	0.8540	0.5110	0.0186	0.8598	0.5021	0.0173	1.4544	0.8704	0.0320	1.5833	0.9869	0.0367	1.2644	0.7468	0.0259	1.2655	0.7471	0.0260
		TS	0.0005	0.0001	0.0000	0.0005	0.0002	0.0000	0.0037	0.0016	0.0001	0.0066	0.0015	0.0001	0.0010	0.0011	0.0000	0.0010	0.0011	0.0000
	0.05	THKO	1.4104	3.6138	7.7921	1.4029	3.6036	7.7824	2.0152	3.6926	6.9209	1.7150	1.7615	1.9197	1.3235	0.7915	0.0278	1.3253	0.7920	0.0278
		TVAR	0.8436	0.5254	0.0196	0.8378	0.5076	0.0228	1.5640	1.3655	1.0762	1.5855	1.0437	0.2659	1.3232	0.7909	0.0278	1.3250	0.7914	0.0278
		TS	0.5668	3.0885	7.7725	0.5651	3.0960	7.7596	0.4512	2.3272	5.8447	0.1294	0.7177	1.6539	0.0003	0.0005	0.0000	0.0003	0.0006	0.0000
100	0.10	THKO	3.0832	12.8110	31.0528	3.0944	12.7721	31.1228	3.1776	9.6817	22.8646	2.0269	2.8855	4.7945	1.3169	0.7969	0.0283	1.3180	0.7971	0.0283
		TVAR	0.8442	0.5021	0.0182	0.8477	0.4947	0.0271	1.6488	1.6181	2.0928	1.7180	1.2305	0.7398	1.3153	0.7947	0.0282	1.3163	0.7949	0.0282
		TS	2.2391	12.3089	31.0346	2.2467	12.2775	31.0957	1.3288	8.0636	20.7718	0.3090	1.6280	4.0546	0.0016	0.0022	0.0001	0.0017	0.0023	0.0001

Tablo 6. $m = 4$ için B parametresinin Monte-Carlo tahminleri.

n	ε	$\hat{B}_{EKK}$			$\hat{B}_{EKO}$			$\hat{B}_{EMK}$			$\hat{B}_{EBK}$			$\hat{B}_M$			$\hat{B}_S$		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
50	0	0.9719	5.0361	8.9526	0.9719	5.0361	8.9526	0.9798	4.9580	9.0183	1.0446	5.0868	8.9566	0.9520	4.9599	8.8688	0.9595	4.9614	8.8822
		2.0432	5.9079	10.1171	2.0432	5.9079	10.1171	2.0810	6.0543	10.0331	1.8801	5.8256	10.1050	2.0789	6.0625	10.2574	2.0662	6.0639	10.2396
		2.9813	7.0439	10.9474	2.9813	7.0439	10.9474	2.9557	6.9732	10.9800	3.0529	7.0819	10.9502	2.9697	6.9654	10.8920	2.9760	6.9653	10.8988
		4.0027	7.9944	12.0069	4.0027	7.9944	12.0069	4.0067	8.0038	12.0032	3.9939	7.9891	12.0066	4.0039	8.0051	12.0134	4.0030	8.0050	12.0126
0.05	0.05	1.2868	6.2431	11.0795	1.2868	6.2431	11.0795	1.4967	6.7478	11.8065	1.4001	6.1426	10.7444	1.0943	4.9992	8.9314	1.0914	4.9912	8.9381
		2.4102	7.4055	12.5341	2.4102	7.4055	12.5341	2.5349	7.7502	13.1815	2.1660	6.9923	12.1220	1.8300	6.0527	10.1217	1.8324	6.0613	10.1127
		3.7524	8.6968	13.5893	3.7524	8.6968	13.5893	4.0409	9.3123	14.5028	3.7294	8.5051	13.1295	3.0844	6.9853	10.9487	3.0835	6.9820	10.9524
		4.9557	9.9178	14.8857	4.9557	9.9178	14.8857	5.2611	10.5417	15.8326	4.7788	9.5820	14.4062	3.9887	8.0011	12.0065	3.9888	8.0015	12.0060
0.10	0.10	1.3682	6.9557	12.6402	1.3682	6.9557	12.6402	1.4473	6.9753	12.5455	1.2793	6.0965	11.1117	0.9992	4.8900	8.9807	0.9990	4.8895	8.9756
		2.8375	8.4608	13.9759	2.8375	8.4608	13.9759	2.8220	8.3816	13.8322	2.4376	7.4889	12.2127	2.0413	6.1518	10.0357	2.0424	6.1499	10.0414
		4.1875	9.7737	15.4018	4.1875	9.7737	15.4018	4.2079	9.7401	15.3363	3.7203	8.5661	13.5583	2.9799	6.9314	10.9828	2.9792	6.9322	10.9803
		5.6014	11.2034	16.8008	5.6014	11.2034	16.8008	5.5599	11.1383	16.7069	4.9122	9.5425	14.7534	4.0025	8.0092	12.0028	4.0026	8.0091	12.0031
100	0	0.8994	4.9645	8.8966	0.8994	4.9645	8.8966	0.9426	4.9311	8.8334	0.8917	4.9693	8.9020	0.9377	4.9743	8.9340	0.9381	4.9756	8.9329
		2.0761	6.0528	10.1611	2.0761	6.0528	10.1611	1.9932	6.1433	10.2499	2.0524	6.0483	10.1975	2.0489	6.0322	10.1051	2.0477	6.0333	10.1059
		2.9706	6.9731	10.9341	2.9706	6.9731	10.9341	3.0155	6.9259	10.8955	2.9878	6.9793	10.9115	2.9782	6.9837	10.9580	2.9788	6.9830	10.9578
		4.0038	8.0041	12.0080	4.0038	8.0041	12.0080	3.9972	8.0107	12.0132	4.0010	8.0028	12.0114	4.0032	8.0029	12.0052	4.0032	8.0030	12.0052
0.05	0.05	1.1942	6.0021	10.8505	1.1942	6.0021	10.8505	1.2356	6.3850	11.4710	1.1291	6.0061	10.5148	0.9447	5.0390	9.0518	0.9449	5.0397	9.0519
		2.4526	7.1909	11.9304	2.4526	7.1909	11.9304	2.7602	7.6492	12.6897	2.4979	6.9067	11.8266	2.1136	5.9245	9.9314	2.1127	5.9223	9.9317
		3.5648	8.4122	13.2295	3.5648	8.4122	13.2295	3.7388	8.9256	14.0253	3.4818	8.3199	12.9289	2.9415	7.0408	11.0315	2.9420	7.0421	11.0313
		4.8054	9.5976	14.3960	4.8054	9.5976	14.3960	5.1057	10.1909	15.2894	4.7137	9.3061	14.1290	4.0081	7.9941	11.9955	4.0080	7.9939	11.9955
0.10	0.10	1.3821	7.1336	12.6091	1.3821	7.1336	12.6091	1.4370	7.0808	12.4597	1.2415	6.2798	11.0736	1.0526	5.0972	9.0036	1.0509	5.0969	9.0018
		2.8725	8.2326	14.0301	2.8725	8.2326	14.0301	2.8513	8.1556	13.9440	2.6202	7.3758	12.5616	1.9631	5.8758	10.0759	1.9626	5.8778	10.0785
		4.1670	9.8667	15.3783	4.1670	9.8667	15.3783	4.1618	9.8172	15.2556	3.6722	8.7064	13.5698	3.0135	7.0487	10.9552	3.0139	7.0476	10.9541
		5.6041	11.1917	16.8036	5.6041	11.1917	16.8036	5.5387	11.1100	16.6892	4.9663	9.9208	14.8961	3.9984	7.9938	12.0064	3.9983	7.9940	12.0065

Tablo 7. $m = 4$ için B parametrelerine ilişkin $TMSE$, $TVAR$ ve $TSapma$ Monte-Carlo tahminleri.

n	ε	Ölçü	$\hat{B}_{EKK}$			$\hat{B}_{ECO}$			$\hat{B}_{EMK}$			$\hat{B}_{EBK}$			$\hat{B}_M$			$\hat{B}_S$		
			I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
0		THKO	12.8657	12.7019	14.7548	12.8667	12.7019	14.7548	21.6663	19.1569	24.0427	22.7820	23.8723	22.3217	19.2860	20.6678	20.6678	19.6426	18.6111	20.5239
		TVAR	12.8657	12.6902	14.7360	12.8657	12.6902	14.7360	19.1515	24.0408	22.7628	22.7628	23.8725	22.3463	19.5706	19.0102	20.5725	19.6360	18.6043	20.4822
		TS	0.0030	0.0117	0.0188	0.0030	0.0117	0.0188	0.0034	0.0018	0.0192	0.0448	0.0448	0.0134	0.0095	0.0067	0.0953	0.0066	0.0068	0.0817
50	0.05	THKO	15.0042	24.2693	41.1965	15.0042	24.2693	41.1965	23.8133	43.1800	71.9413	24.6840	34.4525	46.5431	22.1466	21.5514	21.1081	22.2061	21.4809	21.0663
		TVAR	13.2743	14.1917	15.4186	13.2743	14.1917	15.4186	20.6068	25.2551	26.9842	23.3578	27.3940	28.6730	22.1015	21.5885	21.0859	22.1625	21.4768	21.0475
		TS	1.7299	10.0776	25.7779	1.7299	10.0776	25.7779	3.2065	17.9249	44.9570	1.3262	7.0586	17.8701	0.0451	0.0030	0.0222	0.0436	0.0042	0.0188
100	0.10	THKO	19.6434	40.3294	83.8808	19.6434	40.3294	83.8808	29.7129	51.1801	92.1793	26.8111	33.8498	48.2196	22.1815	21.0522	23.1665	22.1079	21.0301	23.0322
		TVAR	14.8318	12.4936	12.3986	14.8318	12.4936	12.3986	24.9448	24.2493	23.9651	25.1907	24.5830	24.7387	22.1794	21.0123	23.1645	22.1057	20.9907	23.0295
		TS	4.8116	27.8358	71.4822	4.8116	27.8358	71.4822	4.7681	26.9307	68.2142	1.6204	9.2667	23.4808	0.0021	0.0399	0.0019	0.0022	0.0393	0.0027
0		THKO	6.5991	6.9047	6.7901	6.5991	6.9047	6.7901	11.4014	12.0939	12.0913	11.9991	13.6760	10.3489	10.2527	9.5217	10.3303	10.2306	9.4868	9.4868
		TVAR	6.5823	6.9000	6.7490	6.5823	6.9000	6.7490	11.3121	1.3706	11.9926	12.0767	11.9954	13.6194	10.3421	10.2507	9.5045	10.3238	10.2386	9.4693
		TS	0.0168	0.0048	0.0410	0.0168	0.0048	0.0410	0.0036	0.0309	0.1013	0.0146	0.0037	0.0566	0.0068	0.0020	0.0172	0.0066	0.0020	0.0175
0.05		THKO	8.4979	13.9633	24.8920	8.4979	13.9633	24.8920	14.3163	25.7131	47.6903	14.9235	21.4328	28.6212	12.1983	10.3650	11.0220	12.1762	10.3792	11.0342
		TVAR	6.5944	6.9844	7.0297	6.5944	6.9844	7.0297	1.5945	13.9174	15.9794	13.9174	15.9794	14.7389	12.1789	10.3561	11.0136	12.1570	10.3698	11.0138
		TS	1.2103	6.3689	17.8623	1.2103	6.3689	17.8623	2.4018	13.1463	33.3128	1.0661	5.5534	13.8843	0.0195	0.0089	0.0084	0.0192	0.0094	0.0084
0.10		THKO	12.2046	34.5993	78.2961	12.2046	34.5993	78.2961	17.2769	39.0936	81.7765	14.9842	22.8979	40.1236	11.0159	10.9934	11.4415	11.0517	10.9634	11.4703
		TVAR	7.3625	6.6577	6.7844	7.3625	6.6577	6.7844	12.5819	12.8084	14.1328	13.1536	12.7655	14.2709	11.0116	10.9662	11.4337	11.0475	10.9368	11.4619
		TS	4.8421	27.9417	71.5117	4.8421	27.9417	71.5117	4.6950	26.8853	67.6236	1.8286	10.1323	25.8527	0.0043	0.0273	0.0078	0.0042	0.0266	0.0083

Bölüm 9

GEN TRANSFER

YÖNTEMLERİNDE YENİ

YAKLAŞIMLAR:

LAZER TEKNOLOJİSİ

Dr. Pınar KÜCE ÇEVİK¹

¹ Mersin Üniversitesi, pnarkuce@gmail.com

Modern genetiğin temel prensiplerine dair ilk önemli bilimsel kanıtlar Gregor Johann MENDEL tarafından ünlü bezelye deneyleriyle 1800’lü yılların ortalarında bilim dünyasına sunulmuştur. Ancak çeşitli nedenlerden dolayı elde edilen verilerin önemi uzunca bir süre anlaşılamamış ve 1900’lü yılların başlarında Hugo de VRIES ve Carl CORRENS adlı biliminsanlarının yapmış oldukları çalışmalarla MENDEL’in elde ettiği verilerin doğruluğu kanıtlanarak bilim dünyasına tanıtılmıştır. Bu gelişmeyle birlikte genetik bilimine ilgi başlamış ve günümüze kadar artan bir ivmeyle bu ilgi devam etmiştir (Durmaz ve ark., 2015). Geline nokta modern prensiplere dair çok önemli sorular cevaplanmış, artık bir canlıdan diğerine gen aktarımı dâhil, bundan belki de 100 yıl önce hayal etmesi bile zor olan deneyler standardize edilerek birçok laboratuvar da yapılabilir hale gelmiştir. Günümüzde ulaşılmış olan seviyeye gelebilmek için çok önemli kilometre taşları geride bırakılmıştır. Bu bölümde gen transfer sürecinin tarihsel gelişimi anlatılacak ayrıca günümüzde yeni yeni popüler hale gelmeye başlayan lazer teknolojisinin gen transferindeki yeri, avantaj ve dezavantajlarıyla birlikte çok yönlü olarak tartışılacaktır.

Gen Transferinin Tarihsel Gelişimi

Kalıtsal özelliklerin anne-babadan çocuklarına geçişinin gözlemlenmesi M.Ö. 580 tarihine kadar uzanan bir tarihe sahiptir. Dönemin filozofları mevcut imkânlarla bu durumu açıklamaya çalışmışlar ve aslında kalıtım durumuna dair ilk yazılı kayıtları da oluşturmuşlardır. Bilimsel gelişmelerle birlikte kalıtım durumunun deneysel olarak gösterilmesi genetik biliminde yeni ve uzun bir sayfanın başlangıcını oluşturmuştur. Bu gelişim sürecine;

- Walther FLEMMING, Mitoz çalışmaları, 1882
- Theodor BOVERI, Kromozom yapısının açıklanması, 1888
- William BATESON, Kalıtsal çeşitlilik ve ilk kez Genetik teriminin kullanılması, 1894
- Hugo de VRIES ve Carl CORRENS, Mendel yasalarının deneysel gösterimi, 1900
- Walter SUTTON, Mayoz bölünmenin açıklanması, 1902
- Wilhelm JOHANNSEN, Gen, Fenotip, Genotip açıklamaları, 1903-1909 ve daha birçok biliminsanın büyük katkıları olmuştur. Bu kişilerin 1860-1910 yılları arasında gerçekleştirdiği bu çalışmalar hala günümüz modern genetiğinin yapıtaşlarını oluşturmaktadır (Wirth ve ark. 2013).

Danimarkalı eczacı olan Wilhelm Johannsen tarafından yapılan çalışmalar neticesinde “gen” teriminin tanımlanması, fenotipik ve genotipik karakterler arasındaki ilişkinin bağlantılı olduğunun açıklanmasından

sonra genetik bilimcilerin ufku iyice genişlemiştir (Johannsen, 1909). 1928 yılında ise İngiliz bilim insanı Frederick Griffith kendi adını taşıyan deney düzeni ile farelere bakteriler aracılığıyla gen aktarıldığını göstermiş oldu. Griffith yapmış olduğu çalışmada ilk kez transformasyon prensiplerini de açıklamış oldu (Griffith, 1928). Bu prensipler hala günümüzde büyük oranda doğruluğunu korumaktadır. Griffith'in çalışmalarından sonra Avery, MacLeod ve McCarty 1944 yılında genetik materyallerin DNA formunda taşındığını raporlamışlardır (Avery ve ark. 1944). Bu çalışmalarla birlikte Watson ve Crick DNA'nın moleküler özelliklerini tanımlamışlar ve çift zincirli sarmal yapıyı açıklamışlardır (Watson ve Crick, 1953). Bu keşif ile birlikte bu alanda yapılan çalışmalarda çığır açılmıştır, çok kısa süreler içerisinde birbirini izleyen çok sayıda büyük bilimsel çalışmalar yapılmıştır. 1962 yılında ise imkânsız görülen şey deneysel olarak gerçekleştirildi; Waclaw Szybalski ve Elizabeth Szybalska memeli hücrelerine ilk gen transferini gerçekleştirdiler (Szybalski ve Szybalska, 1962). Bu çalışma moleküler biyoloji ve genetik alanları için devrim niteliğinde bir çalışma olarak kayıtlara geçti. Bu çalışmayla birlikte gen terapisinin önü açılmış, belki de genetik bilimi için dönüm noktası aşılmıştır. Stanfield Rogers ve Peter Pfuderer ise 1968 yılında ilk kez virüsleri taşıyıcı olarak kullanarak gen transferini gerçekleştirmişlerdir (Rogers ve Pfuderer, 1968). Bu durum gen transferindeki vektör problemine bambaşka bir boyutta çözüm kazandırmış aynı zamanda ise başka sorunları da beraberinde getirmiştir. Memelilere ilk gen transferinden yaklaşık 17 yıl sonra 1988 yılında Steven Rosenberg insanda ilk gen transferini gerçekleştirmiştir. Bu olay ayrıca kansere karşı geliştirilen ilk etkini gen terapisi olarak kayda geçmiştir (Rosenberg ve ark. 1988).

Gerçekleştirilen bu büyük çalışmalarla birlikte artık günümüzde gen terapisi birçok hastalığın tedavisi için insanlarda kullanılmakta ayrıca birçok biyoteknolojik proste gen transferleri gerçekleştirilebilmektedir.

Gen Transferi

Genetik materyalin bir canlıdan başka bir canlıya ya da bir nükleik asitten başka bir nükleik asite aktarılmasına gen transferi denilmektedir. Temel olarak gen transferi sırasında üç ana hedefe ulaşılması beklenmektedir. Bunlar; hücreler arası transfer sırasında hücrelerin bütünlüğünün korunması, genin istenilen hedef bölgeye yerleşmesi ve yerleştikten sonra herhangi bir zararının olmamasıdır. Gelişen teknoloji ve yöntemlerle birlikte genlerin rollerinin bir bir anlaşılması, gen transferinin önemini de arttırmaktadır. Bununla birlikte bir genin rollerinin anlaşılması için de yine gen transferleri yapılabilmektedir. Günümüzde geliştirilmiş çok sayıda gen transfer metodu bulunmaktadır. Gen transfer yöntemleri temel olarak biyolojik, fiziksel, kimyasal ve elektriksel yöntemler olarak kategorize edilmektedir. Bu yöntemlere ait özet bilgiler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Gen Transfer Yöntemleri		
Biyolojik Yöntemler: Biyolojik yapıların vektör olarak kullanıldığı yöntemlerdir. Daha çok çeşitli bakteriyel ve viral vektörler kullanılmaktadır.		
Yöntem	Çalışma Prensibi	Kaynak
Konjugasyon	Bir bakteri tarafından başka bir bakteriye plazmidin aracısız aktarılmasıdır. Günümüzde pek yaygın olmasa da gen transferi için kullanılabilir.	Wilkins ve Bates (1998)
Bakteriyel transformasyon	DNA'nın bir bakteri tarafından uygun şartlar altında doğrudan içeriye alınmasıdır.	Frederick Griffith (1928)
Faj transdüksiyonu	Bakterilere gen transferinin virüsler aracılığıyla yapılmasıdır. Virüslerin sınıfına göre farklı isimlendirmeler yapılmış metodlar bulunmaktadır.	Zinder ve Lederberg (1952)
Agrobacterium aracılı aktarım	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> bakterisinin aracılığıyla bitkilere gen transferinin yapılmasıdır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan bitki gen aktarım metodlarından birisidir.	Armin Braun (1958)
Kimyasal Yöntemler: Kimyasal bazlı gen sağlama yöntemlerinde, genlerin hücrelere transferini kolaylaştıran partiküller oluşturmak için doğal veya sentetik bileşikler kullanılmaktadır.		
Kalsiyum Fosfat yöntemi	Kalsiyum fosfat çözeltisi ile DNA presipite edilerek hücreler tarafından alınması prensibine dayanmaktadır.	Chen ve Okayama (1988)
Polietilen glikol (PEG) yöntemi	Hücre duvarını kaldırmadan gen transferine olanak sağlayan yöntemdir.	Klebe ve ark. (1983)
DEAE-Dekstran Yöntemi	Bu metotta DNA ile dietilaminoetil dekstran (DEAE) birleşerek hücrelerle karıştırılır ve endositoz yoluyla DNA hücrelere alınır. Memeli hücrelerinin transformasyonunda kullanılan ilk kimyasal yöntemdir	(Vaheri ve Pagano, 1965).
Lipozom aracılı yöntem	Aktarılabilecek olan genetik materyal lipozom dene lipid kürecikler içerisinde hücrelere gönderilir.	Yanagihara ve ark. (1995)
Fiziksel Yöntemler: Hücrelere gen girişini kolaylaştırmak için çeşitli mekanik güç biçimlerini kullanan yöntemlerdir.		
Mikroenjeksiyon	Aktarılabilecek olan DNA'nın oldukça ince bir iğne yardımıyla hedef hücrelere doğrudan enjeksiyonunu kapsamaktadır. Oldukça uğraştırıcı ve uygulaması zor bir metoddur.	Capecchi (1980)
Makroenjeksiyon	Temel prensipleri mikroenjeksiyon metoduyla aynı olup çok daha yüksek hacimlerde aktarıma imkan tanımaktadır.	

Protoplast füzyonu	Farklı hücrelerden elde edilen protoplastların PEG'li ortamda biraraya getirilerek gen transfer ortamının oluşturulduğu yöntemidir.	Keller ve Melcher (1973)
Biolistik yöntem	Çıplak DNA parçalarının hücrelere bombardıman yoluyla püskürtülmesi metodudur.	Klein ve ark (1987)
Elektriksel Yöntemler: Gen transferi için elektrik akımının kullanıldığı yöntemlerdir.		
Elektroporasyon	Elektriksel akım yoluyla hücre membranlarında geçici porların oluşturularak ortamda bulunan nükleik asit parçalarının hücre içerisine alınması prensibine dayalı bir metoddur.	Neuman ve ark. (1982)
Elektrofüzyon	Elektriksel akım ortamında iki hücre arasında genetik materyal değişimine imkân tanıyan metoddur.	Gaertig ve ark. (1988)

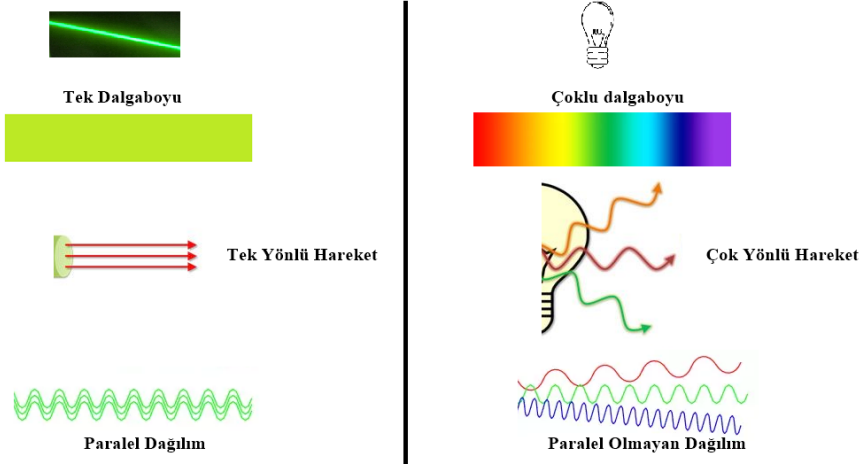
Tablo 1. Yaygın kullanılan gen transfer yöntemleri

Lazer Tabanlı Gen Transferi

Günümüzde gen transferinin bu denli yoğun ilgi görmesi nedeniyle oldukça fazla sayıda gen transfer metodu geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam etmektedir. Bu gelişim içinde lazer teknolojisi de kendine düşen payı almıştır ve yoğun bir şekilde gen transferinde kullanılmaktadır.

Lazer (LASER-light amplification by stimulated emission of radiation), uyarılmış radyasyon emisyonu ile ışık amplifikasyonu olarak tanımlanmaktadır. Lazer birçok farklı alanda geniş kullanım alanı bulmasının sebebi sahip olduğu eşsiz teknik özellikleridir. En önemli özelliklerinden olan yönlendirilebilirlik, uzak mesafede bile lazer ışığının tek bir noktada odaklanmasını sağlamaktadır. Ayrıca odaklanabilir olması, eş evreli ışımaya yapması ve tek renkli olması gibi özellikleri de lazer ışığının hassasiyet ve gücünü belirlemektedir. Bu özellikleri ile lazer ışınının normal ışıklardan farkları ortaya çıkmaktadır; normal ışık dağınıkken lazer ışığı tek yönlüdür, normal ışık farklı dalga boylarından oluşurken, lazer ışığı tek boyutludur, normal ışık düşük enerjiliyken lazer ışığı yüksek enerji barındırır. Bu üç özelliği lazer ışığını moleküler birçok alanda olduğu gibi gen transferi için de uygun bir enstrüman haline getirmektedir (Şekil 1).

Lazer Işığın ile Sıradan Işık Arasındaki Farklar



Şekil 1. Lazer ışığı ile normal ışık arasındaki temel farkların şematik gösterimi

Lazerin ilk kavramsal yapıtaşları 1916 yılında Albert Einstein tarafından ortaya konulmuştur. Ardından 1928 yılında Rudolf Ladenburg uyarılmış emisyon durumunu kanıtladı. 1940 yılında ise Valentin Fabrikant ışığın emisyonla yükseltildiğini gösterirken, 1951 yılında ise Charles Townes mikrodalga frekansı ile uyarılmış tutarlı emisyonu gösterdi. Tüm bu çalışmalar günümüzün lazer teknolojisinin temellerini oluşturmaktadır (Hecht, 2010). 1961 yılında ise Maiman katı-hal ruby lazerini tanıttı ve yeni bir süreci başlatmış oldu (Knappe ve ark. 2004).

Lazer teknolojisi 1960 yıllardan itibaren odak haline gelmiş ve günümüze kadar da bu gelişim süreci devam etmiştir. Bu süreç içerisinde çok çeşitli sayıda lazer geliştirilmiştir. Bu lazerler farklı ölçütler kullanılarak kategorize edilmiştir, ancak temel olarak; Katı hal, Gaz, Sıvı, Kimyasal, Yarı İletken ve Diğer lazerler olarak altı ayrı kategoride toplanmışlardır. Geliştirilen her lazerin kendine özgü özellikleri ve buna bağlı olarak kullanım alan ve potansiyelleri bulunmaktadır.

- **Katı Hal Lazerleri:** Lazer ortamı olarak katı kullanan lazerlerdir, bu tip lazerlerde katı ortam olarak cam ya da kristal yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Örnek: Nd-YAG, Ruby lazerler).
- **Gaz Lazerleri:** Lazer ışığı üretmek için lazer ortamının içindeki bir elektrik akımının gaz yoluyla boşaltıldığı bir lazerdir. Gaz lazerlerinde, lazer ortamı gaz halindedir (Örnek: Helyum-neon, Argon lazerler).
- **Sıvı Lazerler:** Sıvı lazer, sıvıyı lazer ortamı olarak kullanan bir lazerdir. Sıvı lazerlerde ışık, lazer ortamına enerji sağlar. Boya lazerleri bu

tip lazerlere örnektir ve lazer ortamı olarak organik bir boya kullanılır.

- **Kimyasal Lazerler:** Enerjisini kimyasal reaksiyonlardan alan lazerlerdir (Örnek: Hidrojen florid, Dötertum florid lazerler)

- **Yarı İletken Lazerler:** Bu tip lazerler katı hal lazerlerinin farklı bir formudur farklı olarak katı iletken lazerlerdekinin aksine pompa kaynağı olarak ışık yerine elektrik enerjisi kullanılmaktadır (Örnek: GaN, In-GaAsP lazerler).

Lazer bir hücreye verildiği zaman lazerin tipine bağlı olarak hücrede çeşitli değişiklikler meydana gelir. Bu değişimler; fotokimyasal, fototerma, fotoablasyon, fotodisrupsiyon, fotodinamik ve fotoakustik etki olarak sıralanabilir (Tablo 2).

Etki Tipi	Etki Şekli	Kaynak
Fotokimyasal	Hedeflenen bölgedeki hücrelere dışsal olarak eklenmiş moleküllerin lazer ışığı ile etkileşime girerek toksik hale gelmesi durumudur.	Hasan ve Solban, 2004
Fototerma	Lazer ışığının taşıdığı yüksek enerji, hedeflendiği bölgede oldukça yüksek ısı artışına neden olur. Bu duruma fototerma etki denir.	Colomba ve ark. 2019
Fotoablasyon	Yüksek enerji sayesinde kısmi buharlaşmanın olması durumudur.	Müller ve ark. 1991
Fotodisrupsiyon	Yüksek enerjili lazer ışığının oluşturduğu şok dalgası sayesinde yarattığı tahribattır.	Hao ve ark. 2013
Fotodinamik	Lazer ışığını absorblayan moleküllerde emilen enerji kaynaklı radikal oluşum durumudur.	Mustafa ve ark. (2011)
Fotoakustik	Darbeli lazer tiplerinde görülür. Lazer sonrası meydana gelen ısı nedeni ile genleşme kaynaklı doku tahribatı oluşumu meydana gelir.	Nikitichev ve ark. (2016)

Tablo 2. Lazerlerin etki tipleri

1980’li yıllardan itibaren ise geliştirilen onlarca lazer çeşidi, teorik olarak mümkün görülen gen transfer çalışmalarında kullanılmaya başlandı ve ilk olarak 1984 yılında Tsukakoshi ve arkadaşları hemen ardından ise Tao ve arkadaşları (1987) lazer ile gen transferini deneysel olarak gösterdiler. Bu çalışmaların ardından lazerin gen transferinde kullanıldığı çok sayıda çalışma ardı ardına yayınlanmıştır (Weber ve ark., 1988; Shirahata ve ark., 2001; Yano ve ark., 2002; Mohanty ve ark., 2003; Zeira ve ark., 2003; Paterson ve ark., 2005; Stevenson ve ark. 2006a). Tüm bu çalışmalarda farklı tipte lazerler farklı hücrelere, çeşitli koşullarda uygulanarak lazerle gen transferinin olgunlaşması sağlanmıştır. Tüm bu gelişmeler lazerle gen transfer çalışmalarının yaygınlaşmasını kolaylaştırmıştır (Yao ve ark. 2008).

Lazerle Gen Transferinin Mekanizması

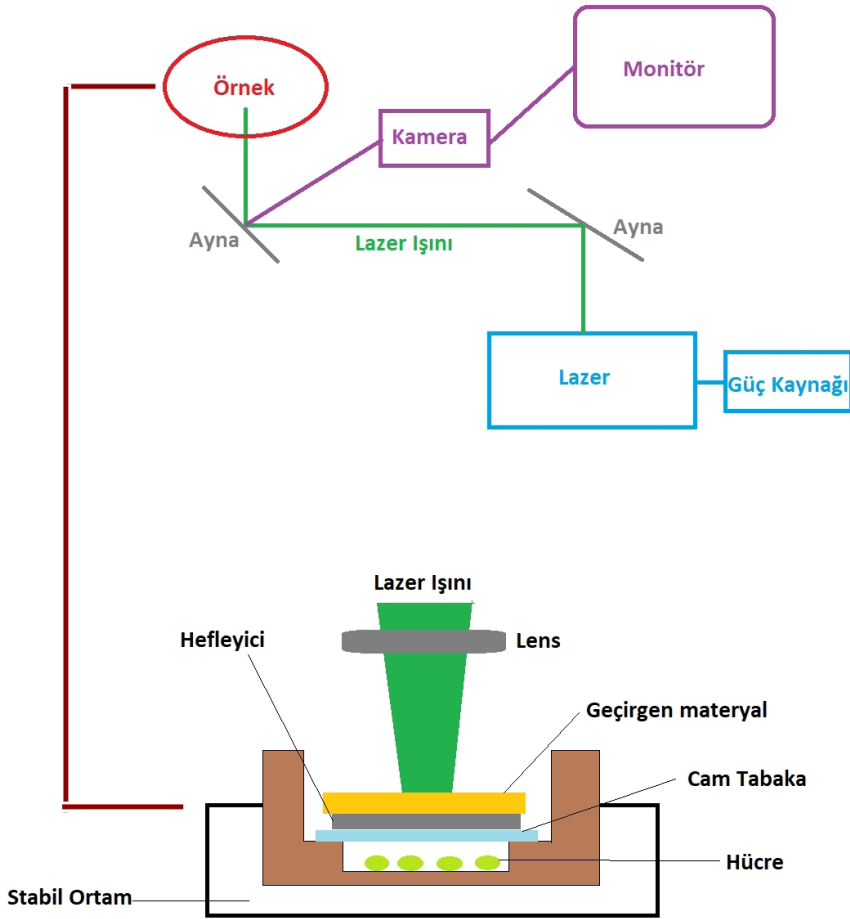
Belirli bir enerji seviyesine sahip olan lazer ışınları hücrelere verildiği zaman hücrelerin membranlarında çok kısa süreli deliklerin açıldığı ve bu deliklerden içeriye gen aktarımının mümkün olabileceği tespit edilmiştir (Shirahata ve ark. 2001). Elde edilen bu bilgi lazer ışınının özellikleri ile bir araya getirildiğinde oldukça yüksek özgünlükte gen transferinin yapılabileceği teorik olarak mümkün hale gelebilmiştir.

Lazer destekli hücre porasyonu (fotoporasyon), hücre özgüllüğüne sahip olmasının yanında yüksek transfeksiyon verimi, transfeksiyon sonrası hücre canlılığının iyi olması ve genel operasyon kolaylığı açısından da avantajlara sahiptir. fotoporasyon tekniği hem sürekli dalga (CW) hem de femtosaniye (Fs), nanosaniye (ns) süreli darbeleri lazer kaynaklarını ve partikül aracılı olarak uygulanabilmektedir (Tablo 3). (Stevenson ve ark., 2006b).

Optik Transfeksiyon Tipi	Tek Hücre Seçiciliği	Maliyet	Kullanım Kolaylığı
Sürekli dalga	Mümkün	Düşük	Hizalaması ve çalışması kolay
Nanosaniye süreli	Bazen mümkün	Orta	Ayarlanması orta zorlukta
Femtosaniye süreli	Mümkün	Yüksek	Uygulama öncesi tecrübe ister
Partikül aracılı	Bazen mümkün	Orta	Hizalanması kolay, ancak partiküllerin hücrelere dağılımı problem yaratabilir

Tablo 3. Optik transfeksiyon tiplerinin karşılaştırılması (Stevenson ve ark. 2006b)

Lazer ışınlaması ile gen transferi için puls üretici tarafından kontrol edilen bir lazer kaynağı gerektirir. Lazer ışını hedef hücreye bir mercekle aracılığıyla odaklanır (Şekil 2.). Işığın odaklandığı hücre membranında yerel bir termal etki oluşturmasıyla beraber çok kısa süre için hücre zarının geçirgenliği artar. Bu kısa süreli membran geçirgenliği, çevreleyen ortamda bulunan bir genin hücreye aktarılmasına izin vermek için yeterlidir. Sonrasında membran kendini eski haline düzeler. Lazerin çeşidine göre oluşan kısa süreli gözeneklerin 2 Am çapındaki büyüklüklere ulaştığı rapor edilmiştir. Bununla beraber saniyenin altındaki sürelerde membran eski haline dönmektedir. (Mehier-Humbert ve Guy, 2005) Lazerin plazma zarını nasıl geçirgenleştirdiğinin mekanizması lazer dalga boyuna, darbeleri olup olmadığına, darbe süresine, odaklanmış ışının çapına ve lazerin hücreye veya hücre popülasyonuna nasıl uygulandığına bağlıdır.



Şekil 2. Hücrelere lazer uygulamasının şematik gösterimi

Lazer ile gen transferinin diğer tekniklere göre bazı üstünlükleri vardır. Bunların başında klinik çalışmalarda çok önemli olan tek hücre transformasyonunu steril ortamda mümkün kılması gelmektedir. Ayrıca, optik olarak transfekte edilmiş hücrelerin verimi ve yaşayabilirliği, diğer viral olmayan teknolojilere kıyasla üstünlük göstermektedir. Son olarak, bir optik enjeksiyon kurulumunu, konfokal lazer tarama mikroskobu, optik cımbız ve mikroakışkan sistemler gibi diğer mikroskobik tekniklerle entegre etmek kolaydır. Lazer ile transformasyonun dezavantajları ise, kurulum maliyetinin yüksek oluşu, transformasyona etki eden ayrıntılı çalışılması gereken birçok parametrenin olması olarak sıralanabilir.

Sonuç

Gen transferinin deneysel olarak gösterildiği 1928 yılından bu yana birçok bilimsel alanda çok önemli problemlerin çözümünde etkin bir şekilde kullanılmıştır. Bu kadar etkili bir yaklaşımın ortaya konulması bununla ilgili çok sayıda metodun da geliştirilmesine yol açmıştır. Gen transferi metodları içerisinde belki de en etkililerinden birisi lazer teknolojisi olmuştur. Bu teknoloji sayesinde oldukça spesifik, steril ve yüksek verimli gen transferi yapılabilir hale gelmiştir ki, sayılan bu üç özellik gen transferi çalışmalarında en çok istenilen üç kriter olarak ön plana çıkmaktadır. Lazer teknolojisi teorik olarak yaklaşık 100 yıllık, deneysel olarak ise yaklaşık 60 yıllık geçmişine rağmen hala gelişime açık bir teknolojisidir. Her geçen gün yeni gelişmeler ile lazer teknolojisi gen transferi çalışmalarında kendine artan bir ivme ile yer bulmaktadır. Bilimsel gelişmeler lazer teknolojisinin yakın gelecekte moleküler biyoloji çalışmaları başta olmak üzere birçok alanda çok daha geniş bir kullanım potansiyeline ulaşacağını göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Avery, O. T., Macleod, C. M., McCarty, M., (1944), Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types : induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* Type Iii. *Journal of Experimental Medicine*. 79, 137–158.
- Braun, A. C., (1958), A Physiological Basis for Autonomous Growth of the Crown-Gall Tumor Cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 44(4), 344-349.
- Capecchi, M. R., (1980), High efficiency transformation by direct microinjection of DNA into cultured mammalian cells. *Cell*. 22, 479–88.
- Chen, C. A., Okayama, H., (1988), Calcium phosphate-mediated gene transfer: a highly efficient transfection system for stably transforming cells with plasmid DNA. *Biotechniques*. 6(7), 632-638.
- Colombo, L. L., Vanzulli, S. I., Blázquez-Castro, A., Terrero, C. S., Stockert, J. C., (2019), Photothermal effect by 808-nm laser irradiation of melanin: a proof-of-concept study of photothermal therapy using B16-F10 melanotic melanoma growing in BALB/c mice, *Biomed. Optics Express* 10, 6.
- Durmaz, A.A. , Karaca, E., Demkow, U., Toruner, G. Schoumans, J., Cogulu, O., (2015) Evolution of genetic techniques: past, present, and beyond *BioMed Research International*, 2015, 461524.
- Gaertig, J., Kiernowska, M., and Iftode F. (1988), Induction of cybrid strains of *Tetrahymena* by electrofusion, *Journal of Cell Science*, 89, 253-261.
- Griffith, F., (1928), The significance of pneumococcal types. *J. Hyg. (Lond.)* 27, 113-159.
- Hao, J., Yan, P., Gong, M., (2013), Effect of mode competition on photodarkening distribution of Yb-doped fiber laser, *Opt. Commun*, 287, 167-175.
- Hasan, T., Solban, N., (2004), Photochemical effects in laser-tissue interactions: photodynamic therapy, an overview. *Proceedings of SPIE -The International Society for Optical Engineering*, 5319, 41-49.
- Hecht, J., (2010) *Appl. Opt* 49, F99.
- Johannsen, W., (1909), *Elemente der exakten Erblchkeitslehre*. Gustav Fischer, Jena.
- Keller, W. A., and Melchers, G. (1973), The effect of high pH and calcium on tobacco leaf protoplast fusion. *Z. Naturforsch.* 28c, 737–741.
- Klebe, R. J., Harriss, J. V., Sharp, Z. D., Douglas, M. G. (1983). A general-method for polyethylene-glycol-induced genetic-transformation of bacteria and yeast. *Gene*, 25(2–3), 333-341.

- Klein, T.M., Wolf, E. D., Wu, R., and Sanford, J. C. (1987), High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells, *Nature*. 327(6117), 70–73.
- Knappe, V., Frank, F., Rohde E., (2004), Principles of lasers and biophotonic effects Photomed. *Laser Surgery*. 22(5), 411-417.
- Mehier-Humbert, S., Guy, R. H., (2005), Physical methods for gene transfer: improving the kinetics of gene delivery into cells. *Advanced drug delivery reviews*, 57(5), 733-753.
- Mohanty, S. K., Sharma, M., Gupta, P. K., (2003), Laser-assisted microinjection into targeted animal cells, *Biotechnology Letters*, 25(11), 895–899.
- Mustafa, F. H., Jaafar, M. S., Ismail, A. H., Houssein, H. A. A., (2011) The effect of laser wavelength in photodynamic therapy and phototherapy for superficial skin diseases, *IEEE International Conference on Imaging Systems and Techniques*, 5962166, 232-236.
- Müller, G., Dörsche, K., Kar, H., (1991), Biophysics of the photoablation process. *Lasers in Medical Science*. 6, 241-254.
- Neumann, E., Schaefer-Ridder, M., Wang, Y., and Hofschneider, P. H. (1982), Gene transfer into mouse lyoma cells by electroporation in high electric fields. *The EMBO Journal*, 1, 841–5.
- Nikitichev, D., Xia, W., Hill, E., Mosse, C., Perkins, T., Konyn, K., Ourselin, S., Desjardins, A., Vercauteren, T., (2016), Music-of-light stethoscope: a demonstration of the photoacoustic effect. *Phys. Educ*. 51, 045015.
- Paterson, L., Afate, B., Comrie, M., Ferguson, R., Lake, T. K., Morris, J. E., Carruthers, A. E., Brown, C. T. A., Sibbett, W., Bryant, P. E., Gunn-Moore, F., Riches, A. C., Dholakia, K., (2005), Photoporation an cell transfection using a violet diode laser, *Optics Express*. 13(2), 595-600.
- Rogers, S., and Pfuderer, P., (1968). Use of viruses as carriers of added genetic information. *Nature* 219, 749–751.
- Rosenberg, S.A., Packard, B.S., Aebersold, P.M., Solomon, D., Topalian, S.L., Toy, S.T., Simon, P., Lotze, M.T., Yang, J.C., Seipp, C.A., (1988), Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *The New England Journal of Medicine*. 319, 1676-1680.
- Shirahata, Y., Ohkohchi, N., Itagak, H., Satomi, S., (2001), New technique for gene transfection using laser irradiation, *The Journal of Investigative Medicine*. 49(2), 184-190.
- Stevenson, D., Agate, B., Paterson, L., Lake, T. K., Comrie, M., Brown C. T. A., Riches, A. C., Bryant, P. E., Sibbett, W., Gunn-Moore, F., Dholakia, K., (2006b), Optical transfection of mammalian cells, SPIE Photonics Europe, Strasbourg, France.

- Stevenson, D., Agate, B., Tsampoula, X., Fischer, P., Brown, C. T. A., Sibbett, W., Riches, A., Gunn-Moore, F., Dholakia, K., (2006a), Femtosecondoptical transfection of cells: Viability and efficiency, *Optics Express*, 14(16), 7125-7133.
- Szybalska, E. H., Szybalski, W., (1962), Genetics of human cell lines, IV. DNA-mediated heritable transformation of a biochemical trait. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 48(12), 2026-2034.
- Vaheri, A., and Pagano, J. S., (1965), Infectious poliovirus RNA: a sensitive method of assay. *Virology* 27, 434-436.
- Watson, J. D., Crick, F. H. C., (1953), A structure for deoxyribose nucleic acid *Nature*, 171(4356), 737-738.
- Weber, G., Monajembashi, S., Greulich, K. O., Wolfrum, J., (1988), Microporation of plant tissue with a UV laser microbeam and injection of DNA into cells. *Naturwissenschaften*, 75, 35-36.
- Wilkins, B. and Bates, S. (1998), Gene Transfer by Bacterial Conjugation: Establishment of the Immigrant Plasmid in the Recipient Cell, *NATO ASI Series. V.H103. Molecular Microbiology*, Bushy, S., Thomas, C., and Brown, N., Eds., Berlin: Springer.
- Wirth, T., Parker, N. and Yla-Herttuala, S. (2013), History of gene therapy. *Gene* 525, 162–169.
- Yanagihara, I., Kaneda, Y., Invi, K., Okada, S., (1995), Liposome-mediated gene transfer G. Dickson (Ed.), *Molecular and cell biology of human gene therapeutics*, Chapman & Hall, London.
- Yano, R., Okada, D., Yap, C. C., Mabuchi, K., Muguruma, H., Saito, T. K., (2002), MALC, A novel microinjection method for loading of macro-molecules into cultured neurons, *Neuroreport*, 13(10), 1263-1266.
- Yao, C. P., Zhang, Z. X., Rahmzadeh, R., Huettmann, G., (2008), *IEEE Trans. Nanobioscience*, 7, 111.
- Zeira, E., Manevitch, A., Khatchatourians, A., Pappo, O., Hyam, E., Darash-Yahana, M., Tavor, E., Honigman, A., Lewis, A., Galum, E., (2003), Femtosecond infrared laser-an efficient and safe in vivo gene delivery system for prolonged expression. *Molecular Therapy*, 8(2), 342–350.
- Zinder, N. D., Lederberg, J., (1952), Genetic exchange in *Salmonella*. *Journal of Bacteriology*. 64, 679–699.

Bölüm 10

**DNA'NIN YAPISI, HASARI,
ONARIMI VE HASAR
ÜRÜNLERİNİN TAYİNİ**



Önder AYBASTIER¹

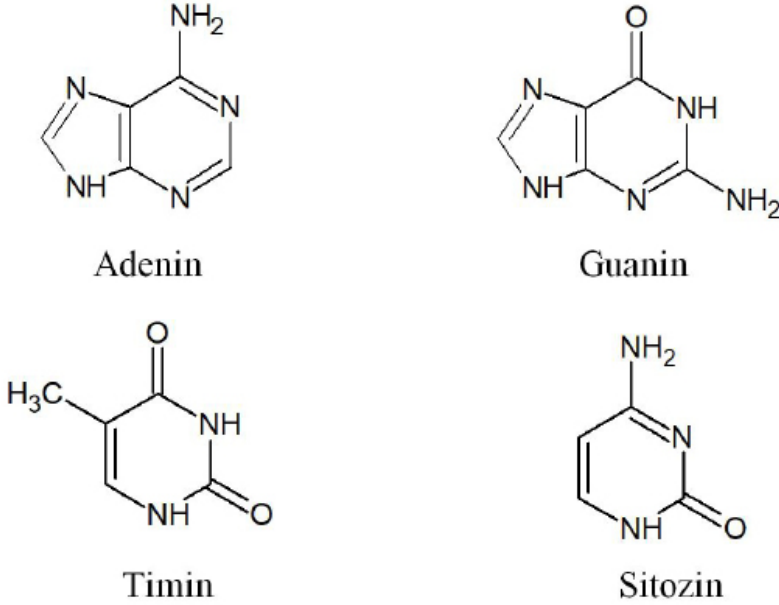
¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

GİRİŞ

Deoksiribonükleik asit (DNA), tüm organizmaların canlılık işlevlerini ve biyolojik gelişmelerini sürdürebilmeleri için gerekli olan, tüm genetik bilgileri taşıyan bir makromoleküldür. Serbest radikaller, vücutta metabolizma sırasında oluşan ve birçok dış etken tarafından meydana getirilebilen, reaktif özellik taşıyan, kararsız yapıdaki kimyasal ürünlerdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen içeren serbest radikallerdir. Hücrelerde oksidanlar ve antioksidanlar arasında korunan bir denge vardır. Oksidan maddelerin oluşumunu ve meydana getireceği hasarı önlemek için canlılarda birçok savunma mekanizması bulunmaktadır. Ancak oksidanların aşırı üretimi veya antioksidan savunmanın azalması sonucu oksidatif stres ortaya çıkar ve hücresel hasar düzeyi artar. DNA'da hasar oluşumu, kanser, kardiyovasküler hastalıklar gibi pek çok hastalığın oluşmasına yol açar. Reaktif oksijen türlerinin DNA'da oluşturduğu hasar ürünlerinin kantitatif tayini için birçok yöntem kullanılmaktadır. Ancak, kütle spektrometri ile entegre kromatografik teknikler aynı anda çok sayıda maddenin analiz edilmesi, yüksek hassasiyet ve düşük tayin limiti gibi önemli avantajlara sahiptir. Özellikle gaz kromatografi/kütle spektrometri (GC/MS) farklı türlerdeki oksidatif DNA hasarının tespitinde kullanılabilme avantajına sahiptir. Oksidatif DNA hasar ürünlerinin miktarının tayini, hem oksidatif DNA hasarı hem de DNA onarım seviyesi hakkında bilgi vermektedir.

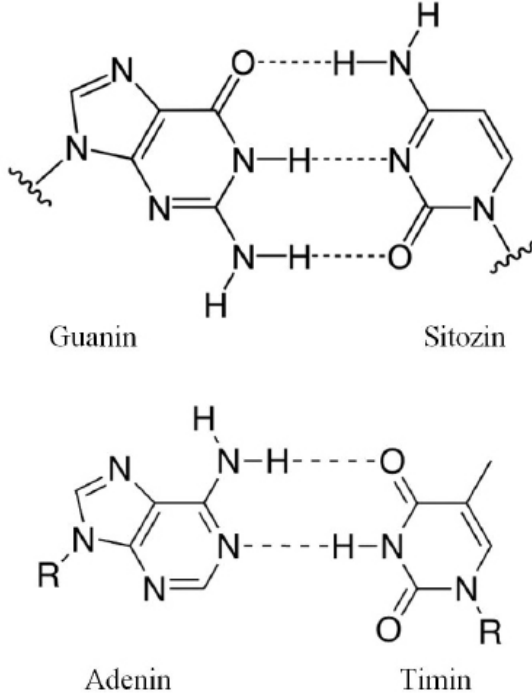
1. DNA'nın Moleküler Yapısı

DNA, tüm organizmaların canlılık işlevleri ve biyolojik gelişmeleri için gerekli olan genetik bilgileri taşıyan bir biyomakromoleküldür. DNA'da tekrarlayan temel birim, deoksiribonükleotiddir. Her bir birim, şeker olarak bir deoksiriboz, bir fosfat ve heretositiklik dört bazdan birini içerir. Pürin yapısında, adenin (6-aminopürin) ve guanin (2-amino-6-hidroksipürin), pirimidin yapısında, timin (5-metilpirimidin-2,4-dion) ve sitozin (4-aminopirimidin-2-on) bazlarını içerir (Şekil 1). Bu bazlardan biri, 2'-deoksiribozun 1' karbonuna β -N-glikozid bağı ile bağlıdır. Bu yapıya nükleozid adı verilir. Bitişik iki şekerden birinin 3 numaralı karbonu ile diğerinin 5 numaralı karbonu arasındaki fosfat grubu, bir fosfodiester bağı oluşturarak şekerleri birbirine bağlar. İkili sarmalda bir zincirdeki nükleotitlerin birbirine bağlanma yönü, diğer zincirdekilerin tersidir. DNA zincirlerinin asimetrik olan uçları 5' ve 3' olarak adlandırılır, 5' uç bir fosfat grubu, 3' uç ise bir hidroksil grubu taşır. Fosfat grubu, şekerin 5' veya 3' karbonuna bağlıdır ve fosforillenmiş nükleozid, nükleotid olarak adlandırılır (Akçay, 2006; Liang ve Wnuk, 2015).



Şekil 1. DNA'nın yapısında bulunan pürin ve pirimidin yapısındaki bazlar

Çift zincirli, sarmal yapıdaki molekülün iki zinciri, pürin ve pirimidin bazları arasındaki hidrojen bağları sayesinde bir arada tutulmaktadır. Şekil 2'de görüldüğü gibi Guanin ve sitozin arasında üç hidrojen bağı ($\text{G}\equiv\text{C}$), adenin ve timin arasında iki hidrojen bağı ($\text{A}=\text{T}$) bulunur. Fosfat ve şeker omurgası çift zincirli sarmalın dış kısmında, bazlar ise iç kısmında yer alır. Bu nedenle, sarmalın dış kısmı hidrofilik, iç kısmı ise hidrofobik özelliktedir (Liang ve Wnuk, 2015).



Şekil 2. *Guanin ile sitozin arasındaki üç, adenin ile timin arasındaki iki hidrojen bağı*

Ökaryot hücrelerde DNA zarla çevrilmiş hücre çekirdeği içinde bulunurken, prokaryot hücrelerde ise hücre sitoplazmasında yer alır. DNA tüm hücrelerin ana bileşenidir ve hücrenin kuru ağırlığının %5-15'ini oluşturur. İnsan hücresi 174 cm uzunluğunda ve 6 pg ağırlığında DNA içerir. Türden türe hücrenin içerdiği DNA miktarı ve uzunluğu değişir (Parimoo ve Parimoo, 2003, Akçay, 2006).

2. Oksidatif Stres Nedir?

Canlılarda doğal metabolik süreçler sonucu oluşan serbest radikaller, radikalleri etkisiz hale getiren antioksidan sistemler sayesinde ortadan kaldırılmaktadır. Ancak, çeşitli nedenlerle antioksidan sistemlerin yetersiz kalması ve reaktif oksijen türlerinin artması sonucu oksidatif stres ortaya çıkmaktadır.

2.1. Reaktif oksijen türleri

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan atom ya da atom gruplarıdır. En önemli özellikleri kararsız, kısa ömürlü ve reaktif olmalarıdır. Bu nedenle DNA'da, hücrelerde

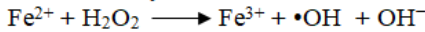
ve proteinlerde hasar oluşturan zincir reaksiyonları başlatırlar. Serbest radikaller; vücutta metabolizma sırasında, virüsler, iyonlaştırıcı radyasyon, UV ışını, sigara, enfeksiyonlar, stres, kimyasalların etkisi altında kalma, ilaç toksikasyonları, bakır, nikel, kadmiyum, demir, civa, krom gibi metal iyonları, ozon, karbon monoksit gibi birçok etken tarafından meydana getirilebilen kimyasal ürünlerdir. Oksijen içeren serbest radikaller biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikallerdir. Reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS), oksijen radikallerini ve oksidan olan fakat radikal yapıda olmayan ve/veya radikalik yapıya kolaylıkla dönüşebilen maddelerin tümünü kapsayan bir terimdir (Buonocore ve ark., 2010). Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri Tablo 1'de görülmektedir. Organizmada reaktif oksijen türlerinin yanı sıra azot içeren reaktif nitrojen türleri (Reactive Nitrogen Species, RNS) de oluşmaktadır.

Tablo 1. Radikalik ve radikalik olmayan reaktif oksijen türleri

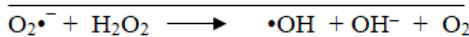
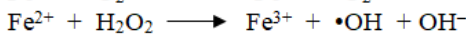
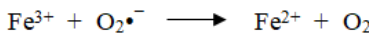
Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil radikali	•OH	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Süperoksit radikali	O ₂ • ⁻	Lipid hidroperoksit	LOOH
Organik radikaller	R•	Hipohalöz asit	HOX
Alkoksil radikali	RO•	Hipokloröz asit	HOCl
Peroksil radikali	ROO•	N-halojenli aminler	R-NH-X
Organik peroksit radikali	RCOO•	Ozon	O ₃
Nitrik oksit	NO•	Singlet oksijen	¹ O ₂
Semikinon radikali	HQ•	Peroksinitrit	ONOO ⁻
		Azot dioksit	NO ₂

Çok reaktif ve kararsız bir yapıya sahip olan serbest radikaller eşleşmemiş elektronunu bir başka moleküle verebilir veya bir başka molekülden elektron alarak da elektron çifti oluşturabilirler. En reaktif ve toksik etkili radikal olan hidroksil radikali (•OH) Haber-Weiss reaksiyonu ve metallerin varlığında Fenton reaksiyonu ile oluşmaktadır (Sözmen, 2006; Kruk ve ark., 2010).

Fenton reaksiyonu:



Haber-Weiss reaksiyonu:



2.2. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu

2.2.1. Elektron taşıma zinciri:

Normal koşullarda mitokondri, oksijen molekülünü suya indirgeyerek etkisizleştirmektedir. Elektron taşıma zincirinde yer alan pek çok bileşik oksijen ile tepkimeye girerek süperoksit radikali ($O_2\bullet^-$) oluşumuna neden olmaktadır. Normal koşullarda hücrenin savunma sistemleri tarafından yok edilebilen $O_2\bullet^-$, oksidatif stres durumunda savunma sistemlerinin yetersiz kalması sonucu mitokondride hasar oluşturmaktadır (Sözmen, 2006).

2.2.2. Enzimatik tepkimeler:

Oksijen kullanılan tepkimeleri katalizleyen enzimler oksidazlar ve oksijenazlar olarak sınıflandırılmaktadır. Bu enzimlerin katalizlediği tepkimelerde serbest radikaller oluşabilmektedir. Vücutta enzimatik tepkimelerle endojen olarak oksijen metabolitleri meydana gelmektedir (Sözmen, 2006). Vücutta, siklooksijenaz, lipoksijenaz, miyeloperoksidaz, sitokrom P-450 ve ksantin oksidaz gibi birçok enzimin aktivitesinin sonucu olarak da reaktif oksijen türleri oluşmaktadır (Meydani, 2001).

2.2.3. Enzimatik olmayan tepkimeler:

Bir serbest radikal zincir reaksiyonu olan otooksidasyon ile, katekolaminler, dehidrokoenzim Q, tetrahidrobiyopterin, indirgenmiş flavin, Fe^{2+} gibi maddelerle oksijen molekülünün reaksiyonu sonucu enzimatik olmayan kaynaklardan da reaktif oksijen türleri oluşmaktadır (Sözmen, 2006). Serbest radikaller ile oksijenin reaksiyonu oldukça hızlıdır. Bu reaksiyonlar birçok farklı mekanizma ile başlayabilir. Özellikle fosfolipidler ve çoklu doymamış yağ asitleri otooksidasyona daha eğilimlidirler (Reis ve Spickett, 2012).

2.2.4. Dış etkenler:

Çevre kirleticileri, radyasyon, metaller, pestisitler, bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlar, alkol ve sigara gibi birçok dış etken çeşitli mekanizmalarla reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açmaktadır (Kaur ve Kapoor, 2001; Sözmen, 2006).

2.3. Oksidatif stresin etkileri

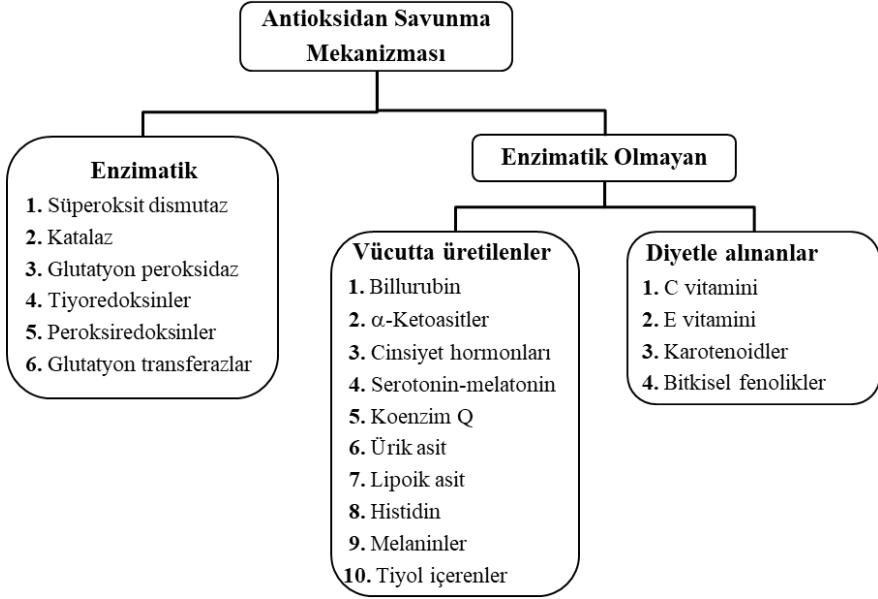
Metabolizmada oluşan serbest radikaller arasında hidroksil radikali ($\bullet OH$) en reaktif olan serbest radikaldır ve vücuttaki serbest radikal hasarının en önemli sorumlusudur. Serbest radikaller yaşam için gereklidir ve vücutta bir denge halinde bulunurlar. Eğer serbest radikal üretimi kont-

rolsüz bir şekilde artarsa, hücrelerde ve DNA'da hasar oluşmasına neden olur (Sözmen, 2006; Salehi ve ark., 2018; Srivinas ve ark., 2019). Reaktif oksijen türleri ve özellikle hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$), nükleik asitler, lipitler, karbonhidratlar ve proteinler gibi tüm biyolojik moleküllerle reaksiyona girerler. Bu reaksiyon sonucu ikinci bir radikal oluşur ve ortamda bulunan diğer moleküller ile reaksiyona girip radikal zincir reaksiyonunu devam ettirerek oksidatif hasar oluşumuna neden olur. Oksidatif hasar oluşumu kanser, yaşlanma, immün sistem hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, dejeneratif hastalıklar gibi hastalıkların başlıca nedeni olarak görülmektedir (Forlenza ve Miller, 2006; Salehi ve ark., 2018).

Proteinlerin yapı taşı olan aminoasitler de radikal hasarına açıktır. Aminoasitlerin oksidasyonu proteinlerin parçalanmasına, çapraz bağ oluşumuna, agregasyona neden olmaktadır. Memeli hücre membranları oksidatif hasara karşı oldukça duyarlı olan büyük miktarda çoklu doymamış yağ asidi içermektedir. Hücresel hasarın en önemli nedenlerinden biri bu yağ asitlerinin oksidasyonudur. Çeşitli nedenlerle oluşan serbest radikaller hücre çekirdeğinde başlıca DNA'da hasara yol açmaktadır. DNA zincir kırılmaları veya nükleik asit yapısındaki baz değişimleri sonucu kromozomal yapıda oluşan değişiklikler sitotoksititeye neden olmaktadır (Forlenza ve Miller, 2006). Oksidatif stres durumunda, baz ve şekerlerde lezyonlar, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanmaları, tek ve çift zincir kırıkları gibi hasarlar oluşmaktadır (Cooke ve ark., 2003; Salehi ve ark., 2018).

3. Oksidatif Stresin Giderilmesi

Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri sönmüleme yeteneğine sahip olan moleküllerdir. İnsanlarda oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Şekil 3'de gösterildiği gibi antioksidan savunma mekanizması, enzimatik olan ve enzimatik olmayan olmak üzere ikiye ayrılır (Birben ve ark., 2012). Enzimler, oksidanları daha etkisiz bir moleküle dönüştürmektedirler. Vitaminler ve fenolik bileşikler, oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirebilmektedir. Ağır metaller, hemoglobinin, seruloplazmin ve E vitamini, oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engellemektedirler (Sözmen, 2006).



Şekil 3. İnsan vücudunun antioksidan savunma mekanizmasının şematik gösterimi

3.1. Enzimatik antioksidan savunma sistemleri

Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan süperoksit dismutaz (SOD), süperoksitin hidrojen peroksit'e dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Ökaryotik hücrelerin sitozol ve mitokondri membranları aralığında bulunan enzim, her bir dimerik protein için birer molekül bakır ve çinko içeren ya da tetramerik Mn içeren izomer yapısındadır. Enzimin fizyolojik fonksiyonu; lipid peroksidasyonunu inhibe etmek ve oksijeni metabolize eden hücrelerde süperoksit düzeyini düşük tutmaktır. SOD seviyesinin düşmesi serbest radikal oluşumunu artırır. Yaşlanma ile birlikte SOD seviyeleri azalır. (Sözmen, 2006; Valko ve ark., 2006, Aslankoç ve ark., 2019).

Katalaz enzimi düşük hızda H_2O_2 oluşan durumlarda veya ortamda yüksek miktarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif olarak davranır. Mitokondride oksijen suya indirgenirken oluşabilen ve sitoplazmaya geçen H_2O_2 'in oluşum hızının arttığı durumlarda ise hidrojen peroksiti su ve oksijene ayırıştırarak ortamdan uzaklaştırır. Böylece hidroksil radikali oluşumunu engeller. Katalaz, kan, karaciğer, böbrekler, kemik iliği ve mukoz membranlarda yüksek miktarda bulunmaktadır (Sözmen, 2006; Valko ve ark., 2006, Aslankoç ve ark., 2019).

Glutasyon peroksidaz enzimi, glutasyon ile hidrojen peroksit veya lipid peroksitlerinin indirgenmesinde; glutasyon redüktaz ise glutasyonda oluşan disülfid bağının tekrar sülfidril yapısına indirgenmesinde görev yapmaktadır (Sözmen, 2006). Tanımlanmış 8 farklı tür glutasyon peroksidaz enzimi vardır ve pek çok farklı dokuda bulunmaktadır. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan glutasyon peroksidazdır (Aslankoç ve ark., 2019).

Tiyoredoksinler tiyol grubu içeren enzimlerdir. İnsan hücrelerinde sitoplazmada ve mitokondride bulunurlar. Bu enzimlerin en önemli fonksiyonu tiyoredoksin proteininin NADPH'a bağımlı olarak indirgenmesini katalizlemektir. Bu reaksiyonda elektronlar NADPH'dan enzimin substratı olan tiyoredoksine geçerek substratı indirger. Tiyoredoksinlerin iki sistein grubu geri dönüşümlü yükseltgenme-indirgenmeye uğrar (Gromer ve ark., 2004; Birben ve ark., 2012).

Peroksiredoksinler, peroksidaz enzim grubuna aittir. Peroksiredoksinlerin en önemli görevi, hidrojen peroksit, organik hidroperoksit (ROOH), peroksinitritlerin toksik etkisini azaltmaktır. İnsan hücrelerinde 6 farklı peroksiredoksin bulunmaktadır. (Dubuisson ve ark., 2004; Birben ve ark., 2012).

Glutasyon transferazlar, dimerik yapıda enzimlerdir. Mutajen, kanserojen ve diğer zararlı kimyasal maddelerin hücre içinde etkisiz hale getirilmesinde rol oynarlar. Ayrıca metabolize edilemeyen hidrofilik-lipofilik pek çok bileşiği ve ksenobiotikleri bağlayarak, hücre içinde bağlayıcı ve taşıyıcı olarak da görev yaptıkları belirlenmiştir. (Aköz ve ark., 2000; Ladner ve ark., 2004).

3.2. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri

Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri, vücutta sentezlenenler ve diyetle alınanlar olmak üzere ikiye ayrılır. Vücutta sentezlenebilen antioksidanlardan billurubin, peroksil radikali ve singlet oksijeni etkisiz hale getirir. α -Ketoasitler, H_2O_2 ile enzimatik olmayan tepkimeye girmektedir. Dişi cinsiyet hormonları, lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedir. Serotonin ve melatonin, antioksidan enzim sentezini uyarmaktadırlar. Koenzim Q, serbest radikal tutucu özelliğe sahiptir. Ürik asit, $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$ radikalleri sönmüler. Lipoik asit, serbest radikaller, özellikle $\bullet OH$ radikalini etkisizleştirir. Histidin, bakır iyonlarını şelatlayan karnozin, homokarnizon ve anserin lipid peroksidasyonunu önlemektedir. Melaninler, yapılarındaki eşleşmemiş elektronlar ile UV ışının absorpsiyonunu sağlarlar. Tiyol içerenler, serbest radikal ve HOCl tutucu özelliğe sahiptir.

Diyetle alınan antioksidanlardan E vitamini ve analogları, lipid peroksidasyon ürünlerini sönmüleyip zincir reaksiyonlarını durdurarak reaktif oksijen türlerini etkisiz hale getirirler. Süperoksit, hidroksit, singlet oksi-

jen, hidroperoksil, lipid peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek onları sönümleyebilen C vitamini, E vitaminini de rejenere eder. C vitamininin antioksidan etkisiyle lipid moleküllerinin oksidasyonu ile oluşan lipid peroksitler oksidan etkilerini kaybederler (Kudlackova ve ark., 2006). Karotenoidler, hidroksil, peroksil ve süperoksit radikalleri sönümleyici olarak görev yapar. Yüksek konsantrasyonlarda, lipidleri peroksidasyondan korurlar. Karotenoidler, serbest radikallere yeni bir radikal ekleyerek, yapısından bir hidrojen kopararak ve yapısından bir elektron transfer edip radikali yüksüzleştirerek serbest radikalleri etkisiz hale getirebilirler. (Lobo ve ark., 2010).

Diyetle alınan bitkisel kaynaklı antioksidanlar, flavanoller ve fenolik asitler olarak iki grupta toplanabilir. Pek çok fenolik bileşik diyetle vücuda alınmaktadır. Flavanollerin ve fenolik asitlerin bitkilerde en önemli işlevi, bitkinin savunma mekanizmasındaki aktif görevleridir. Bitkinin aşırı UV ışığına maruz kalması, zarar görmesi (yaralanma) gibi durumlar fenolik bileşiklerin biyosentezine neden olmaktadır. Bu nedenle çevresel koşullar bitkilerde bulunan flavonoid ve fenolik asitlerin miktarını büyük ölçüde etkilemektedir. Fenolik bileşikler bitkilerdeki hastalık direnç mekanizmasına da katkıda bulunurlar. (Bennet ve Wallsgrove, 1994). Bu nedenle antioksidan özellikte maddeleri içeren gıdaların tüketilmesi sağlık açısından önemlidir. Yetersiz beslenme nedeniyle vücudun savunma mekanizmaları görevini tam yerine getiremediği zaman patolojik koşullar oluşabilmektedir (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

4. DNA Onarım Mekanizmaları

Hücrelerde oksidatif hasar oluşumu engellemek için pek çok antioksidan mekanizma bulunsa da, doğal metabolizma ve çeşitli dış etkiler sonucu DNA'da hasar oluşmaması olanaksızdır. DNA'da bir hasar oluştuğunda DNA onarım mekanizmaları devreye girmektedir. DNA onarım sisteminde rol oynayan 100'den fazla genin kodladığı proteinler farklı tamir mekanizmalarında görev alırlar. DNA hasarı tamir edilmezse mutasyonlara ve genomik kararsızlığa yol açar. DNA onarım mekanizmaları genomik stabilitenin devamını sağlayan çok önemli bir sistemdir. DNA sentezi sırasında sağlamalı okuma ve yanlış yerleşimi onarma olmasına rağmen, bazı yanlış yerleşmiş bazlar kalmaktadır. Ayrıca, hücrelerde oluşan, solunum yoluyla veya çevresel mutajenlerle DNA hasara uğramaktadır. Hücrelerin DNA hasarını onarabilme yetenekleri, hasarın tanınması ve onarılmasını kapsamaktadır. Onarım mekanizması olmadan yaşamın devam etmesi mümkün değildir (Srinivas ve ark., 2019).

Radyasyon ve çeşitli kimyasal maddeler ve etkileşim sonucu DNA hasarı oluşabilmektedir. X-ışını, hücrede DNA ile etkileşen molekülleri harekete geçirmekte, bazların yapısını değiştirmekte ve DNA zincirinde kırılmalara yol açmaktadır. DNA hasarı oluşmasına neden olan en önemli

etkenlerden biri olan sigara dumanında bulunan kanserojenlerden aromatik polisiklik hidrokarbon yapısındaki benzo(a)pirendir. Benzo(a)piren, hücrede enzimler ile okside olarak, DNA yapısındaki guanine bağlanmaktadır. Güneş ışığının UV bileşeni de komşu pirimidin bazları arasında kovalent bağ oluşturarak dimer meydana gelmesine neden olmaktadır (Akçay, 2006). DNA'da meydana gelen hasarların onarılması için prokaryot ve ökaryot hücrelerde, direkt onarım, baz kesip çıkarma ile onarım, nükleotid kesip çıkarma ile onarım, yanlış eşleşme (mismatch) onarımı, ve rekombinasyon/çapraz bağlanma olmak üzere beş farklı onarım sistemi bulunmaktadır (Sancar ve ark., 2015).

4.1. Direkt onarım

Bazı pirimidin dimerleri ve alkillenmiş bazlara ilişkin hasarlar, direkt onarım mekanizması ile zincir kırılmadan onarılmaktadırlar. Fotoreaktivasyonda, DNA üzerinde bulunan timin dimerleri, dalga boyu 300-600 nm olan ışıkla uyarılan fotoliz enzimi tarafından birbirinden ayrılmaktadır. DNA alkilasyonunun onarımında ise guaninin metillenmesi alkilleyici maddelerin en fazla oluşturduğu hasardır. DNA metiltransferaz enzimi guanindeki metil grubunu kendi üzerine aktararak bu hasarı onarmaktadır (Akçay, 2006; Bütüner ve Kantarcı, 2006).

4.2. Baz kesip çıkarma onarımı (BER)

DNA molekülündeki bazlar çeşitli dış etkiler nedeniyle, oksidasyon, alkilleme veya deaminasyon yapan bileşiklerin etkisi ile değişikliğe uğrayabilmektedir. Hücrelerde çeşitli öncül maddelerden oluşan nitröz asit, guanin, sitozin ve adeninden amino grubunu uzaklaştırmaktadır. Hücrede günde yaklaşık 10000 adet pürin yapısındaki baz kendiliğinden kaybolmaktadır. Baz değişimi veya kaybı ile oluşan hasarların düzeltilmesinde öncelikle, hasarlı bazlar spesifik DNA glikozilaz enzimleri tarafından DNA yapısından çıkartılırlar (Akçay, 2006). Enzimin baz ile şeker arasındaki glikozidik bağı koparmasıyla apürinik/apirimidinik (AP) olarak adlandırılan bir bölge oluşur. AP endonükleazlar, apürinik/apirimidinik bölgeyi keserek, bu bölgeyi uzaklaştırırlar. Ortaya çıkan boşluk DNA polimeraz I tarafından doldurulup, DNA ligaz ile bağlanarak hasar onarılmaktadır (Şekil 4) (Tuteja ve ark., 2001; Bütüner ve Kantarcı, 2006). Oksidatif stres, hidroliz, deaminasyon nedeniyle hasar görmüş olan bazları uzaklaştırmak için kullanılan bir onarım mekanizmasıdır (Boiteux ve Robertson, 2013).

4.3. Nükleotid kesip çıkarma onarımı (NER)

Hem prokaryot hem de ökaryot hücrelerde en çok kullanılan tamir mekanizmalarından biridir (Tuteja ve ark., 2001). Pirimidin dimerleri, okside olmuş bazlar ve cisplatin katılma ürünleri onarılır. Özellikle güneş ışığının etkisi ile oluşan komşu pirimidinlerin kovalent bağlanarak dimer

oluşturması, DNA polimerazların çalışmasını ve DNA zincirinin replikasyonunu engellemektedir. Özel bir endonükleaz olan multifonksiyonel enzim Uvr ABC, hasar spesifik endonükleaz tarafından tanınan timin dimerlerinin zincirini iki ucundan kırmaktadır. Hasarlı bölgenin ayrılmasıyla oluşan boşluk DNA polimeraz tarafından doldurulup, DNA ligaz ile bağlanarak hasar onarılmaktadır (Akçay, 2006; Bütünler ve Kantarcı, 2006). DNA onarım mekanizmaları içinde sadece nükleotid kesip çıkarma onarımı doğrudan biyolojik saat ile kontrol edilmektedir (Sancar ve ark., 2015).

4.4. Yanlış eşleşme onarımı

Yanlış eşleşme onarımında normalde DNA molekülünde bulunan ama yanlış eşleşmiş olan bazlar değiştirilmektedir. Yanlış eşleşme, replikasyon, rekombinasyon ve onarım işlemleri sırasında olabilmektedir. Yanlış eşleşmiş olan baz MutS ve MutL gibi çeşitli proteinler yardımıyla tanınıp, kesilerek DNA kıvrımı açılmakta ve yıkıma uğramaktadır. Oluşan boşluk DNA polimeraz ile doldurulduktan sonra zincir bağlanarak hasar onarılmaktadır (Akçay, 2006; Bütünler ve Kantarcı, 2006).

4.5. Rekombinasyon/çapraz bağlanma onarımı

Rekombinasyon onarımı, DNA'nın replikasyonundan sonra aktif olan bir mekanizmadır. Çift sarmal kırıkları ve sarmallar arası çapraz bağlanmalar onarılır. Hasar içeren DNA replike olurken, DNA polimeraz önce bu hasarda duraklar. Hasarlı bölgeyi de içine alacak şekilde bir bölgeyi atlayarak senteze devam eder. RecA proteini, rekombinasyonel bir değiş tokuş ile hasarsız bileşenleri transfer eder. Doğru şekilde tamamlanan DNA zincirinde oluşan boşluk DNA polimeraz-ligaz enzimleri sayesinde doldurularak hasar giderilir (Noll ve ark., 2006).

5. DNA'da Hasar Oluşumu

DNA'nın yapısında iç kaynaklı (endojen) veya dış kaynaklı (ekzojen) faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler DNA hasarı olarak adlandırılır (Watson ve ark., 2008). DNA hasarına neden olan etkenler Tablo 2'de verilmiştir. DNA kararlı bir molekül olmasına rağmen insan vücudundaki her hücre DNA'sı fizyolojik şartlarda günde binlerce kez oksidatif hasara maruz kalmaktadır (Halliwell, 2002). DNA'da meydana gelen oksidatif hasar, hücrenin yaşamı boyunca yaygın bir şekilde görülür. Kanseri, mutasyon, yaşlanma ve sonuçta hücre ölümüne yol açar (Sastre ve ark., 2000).

Tablo 2. DNA hasarına neden olan iç ve dış kaynaklı etkenler

İç kaynaklı etkenler	Dış kaynaklı etkenler
1. Yanlış eşleşmeler: insersiyon/delesyonlar 2. Kimyasal değişiklikler: deaminasyon, metilasyon 3. Baz kayıpları: depürinasyon/depirimidinasyon 4. Oksidatif hasar	1. Kimyasal maddeler: kemoterapi ilaçları, aflotoksin, alkilleyici maddeler, benzopren, vinil klorür v.b. 2. Fiziksel etkenler: UV ışını, iyonize radyasyon v.b.

Reaktif oksijen türleri, DNA'da oksidatif hasar oluşturarak zincir kırıkları, yeniden düzenlenme, baz çifti mutasyonları, baz katılımı, delesyon, dizi amplifikasyonu gibi yapısal hasarlar oluşmasına yol açarlar (Dizdaroğlu, 2002). Reaktif oksijen türleri doğrudan DNA onarım enzimlerini ve DNA polimeraz enzimini de okside edebilirler. Bunun sonucunda DNA onarım mekanizmalarının etkinliği azalır ve replikasyonun doğruluğu korunamaz. Reaktif oksijen türleri, hücreler arası sinyal iletimini aktive/inhibe ederek, hücre çoğalmasının kontrolünde çok önemli olan hücreler arası iletişimin bozulmasına neden olur. Bunun sonucunda hücre farklılaşması, büyümesi ve apoptozis/nekroz ile hücre ölümüne müdahale ederek kanser gibi birçok hastalığın oluşumuna yol açabilir (Srinivas ve ark., 2019). Sonuç olarak, oksidatif stres durumunda DNA'nın replikasyonu, transkripsiyonu ve onarım mekanizması bozulur. Oluşan hasarlar onarılmazsa yaşamın devamı mümkün değildir.

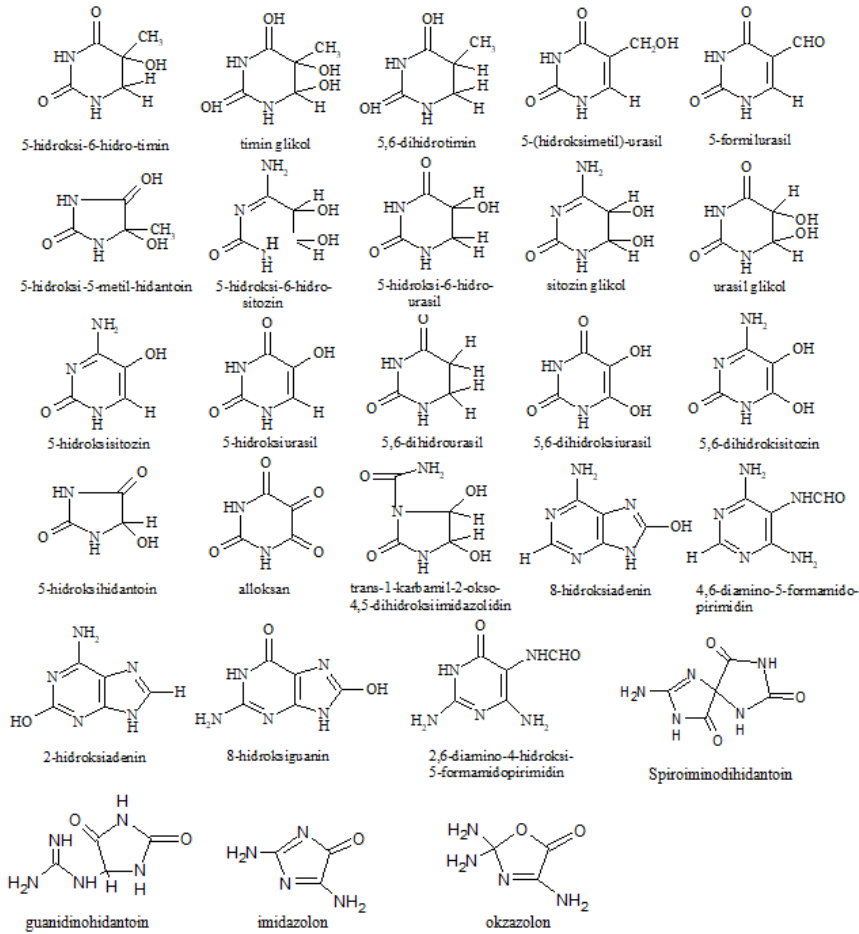
5.1. DNA bazlarında hasar oluşumu

Reaktif oksijen türleri doğrudan DNA'nın yapısındaki bazlara saldırdığında bazlarda değişiklikler meydana gelir. Hidroksil radikali DNA bazlarının çift bağlarına difüzyon kontrollü olarak bağlanır (Dizdaroğlu, 2018a). Hidroksil radikalının saldırıları oksidasyona uğrayacak moleküllerin elektron yoğunluğuna bağlıdır. Hidroksil radikali, elektrofilik yapısı nedeniyle tercihen molekülde elektron yoğunluğu en yüksek olan bölgeye eklenir (Sonntag, 2006). Hidroksil radikali ile DNA'nın reaksiyonu sonucu radikallerin yaklaşık %80'i bazlara eklenir, kalan kısmı da şeker grubundan bir hidrojen atomu alır (Saito ve ark., 2000).

Hücrelerin UV ışına maruz kalmasıyla da DNA hasarı oluşabilir. UV ışın etkisiyle iki şekilde DNA hasarı meydana gelebilir. UV ışın doğrudan pirimidin yapısındaki bazların kovalent çapraz bağlanmasına ve pirimidin dimerlerinin oluşumuna neden olabilir veya H_2O_2 'e etki ederek hidroksil radikali ($\bullet OH$) meydana getirebilir. İyonize radyasyon da suyun homoli-

zine yol açarak, hidroksil radikalleri oluşmasına neden olur ve bu yolla kanserojenik ve mutajenik etki gösterir (Cadet ve Douki, 2018).

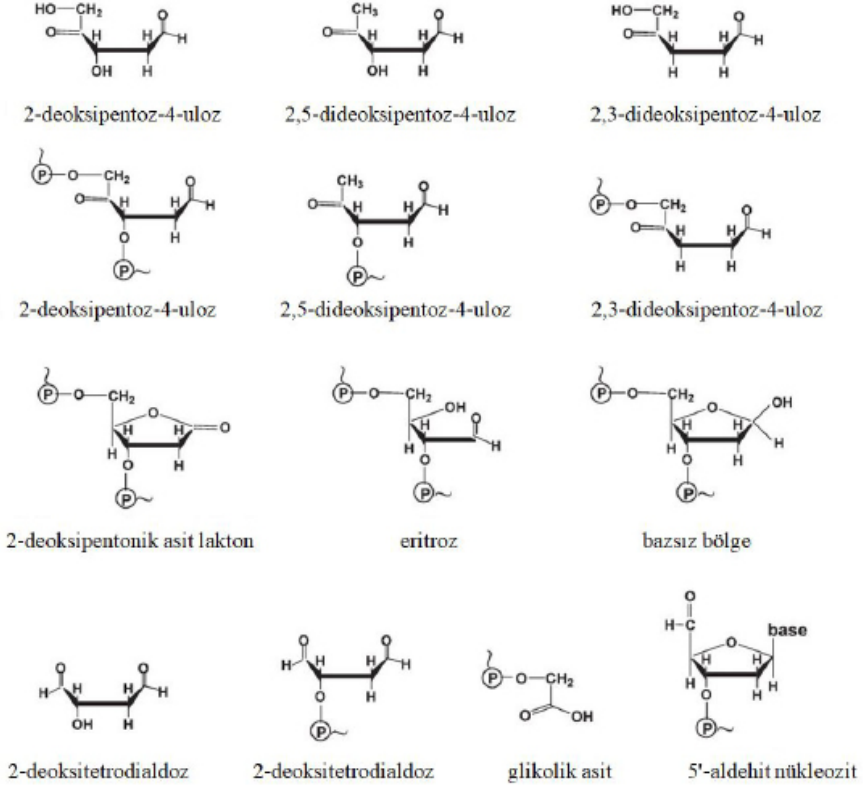
Reaksiyona girme yatkınlığı çok fazla olan hidroksil radikalının hücre içinde difüze olarak çekirdeğe geçme olasılığı azdır. Bu nedenle hidroksil radikalının DNA'ya zarar verebilmesi için DNA'da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Olası mekanizma, membranı kolayca geçebilen H_2O_2 'in hücre çekirdeğinde demir/bakır iyonları ile tepkimeye girerek Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonları nedeniyle hidroksil radikallerini oluşturmasıdır. H_2O_2 'e maruz bırakılan ve DNA baz hasarının arttığı hücrelerde deferoksamin gibi bakır ve/veya demir şelatörlerinin kullanımının DNA'daki oksidatif hasar oluşumunu önlediği gösterilmiştir (Halliwell, 2006). Bazı araştırmacılar DNA'nın oksidatif hasardan korunması için demir şelatörleri ve radikal sönmüleyici maddelerin birlikte kullanılmasının daha faydalı olacağını öne sürmüştür (Rao ve ark., 2009). Hidroksil radikali tüm DNA bazlarına saldırı yapabilirken singlet oksijen (1O_2) daha seçicidir (Cooke ve ark., 2003). Singlet oksijen daha çok guanin türevli ürünler olan 8-hidroksiguanin ve 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamido-pirimidin (FapyGuanin) oluşturmaktadır (Cadet ve ark., 2003). Reaktif oksijen türleri DNA'da Şekil 4'de gösterilen 25'ten fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına yol açar. Hasara uğrayan bazlar arasında 8-hidroksiguanin en sık karşılaşılan ve oldukça duyarlı oksidatif DNA hasarı belirticidir (Dizdaroğlu, 2012).



Şekil 4. Oksidatif DNA baz hasar ürünleri

5.2. Deoksiriboz şekerinde hasar oluşumu

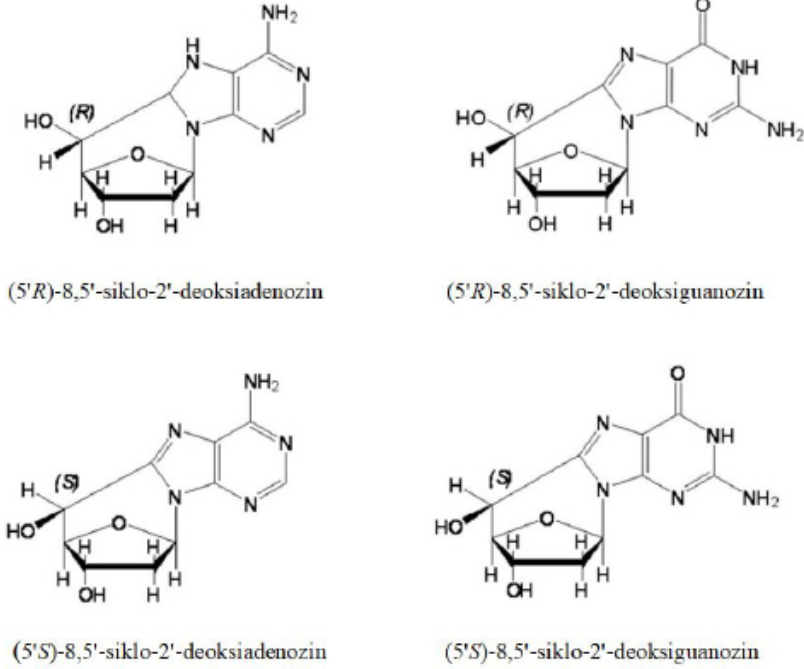
2-deoksiriboz da çoğu karbonhidrat gibi Fe^{2+} bağlama özelliğine sahip olduğundan Fenton reaksiyonu sırasında oluşan $\bullet\text{OH}$ radikalleri özellikle 2-deoksiriboz üzerine etki eder. DNA makromolekülünün yapısında bulunan deoksiriboz şekerlerin serbest radikaller tarafından saldırıya uğraması sonucunda birçok hasar ürünü oluşur. Reaktif oksijen türleri deoksiriboza saldırarak 10'dan fazla oksidatif hasar ürününün oluşmasına yol açarlar (Şekil 5) (Dizdaroglu ve ark., 2002). Baz hasar ürünleri kadar olmasa da, bu ürünler de DNA'nın uğradığı oksidatif hasarın ölçüsünü belirlemek için kullanılabilirler.



Şekil 5. Oksidatif DNA şeker hasar ürünleri (Dizdaroğlu ve ark., 2002)

5.3. Baz-şeker kovalent bağlanması

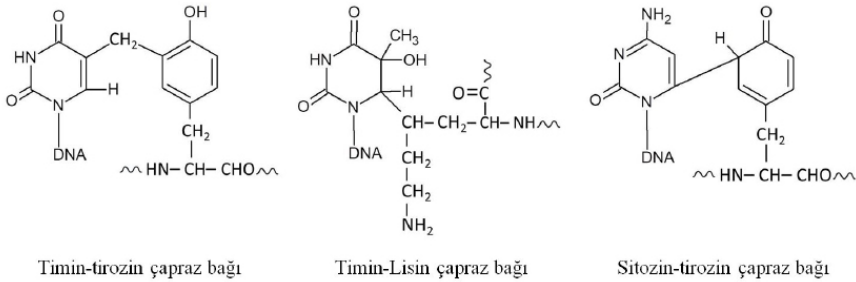
DNA bazı ile deoksiriboz şekerinin kovalent bağlanması sonucu oluşan ürünler 8,5'-siklopürin-2'-deoksinükleozidler olarak adlandırılır. Bu hasar ürünleri, C5'-merkezli şeker radikalinin aynı pürin nükleozidindeki C8 pozisyonuna eklenmesi ile meydana gelir. Oluşan molekül içi halkalanma ve oksidasyon sonucu 8,5'-siklo-2'-deoksiguanozin (siklo-dG) ve 8,5'-siklo-2'-deoksiadenozin (siklo-dA) hasar ürünleri oluşur (Şekil 6). DNA yapısındaki şeker ve baz arasında fazladan bir kovalent bağ oluştuğu için bu durum DNA'da hem baz hem de şeker hasarına neden olur (Jaruga ve Dizdaroğlu, 2010; Zaliznyak ve ark., 2012). Baz-şeker kovalent bağlanması, oksijenin C5'-merkezli radikal ile yaptığı difüzyon kontrollü reaksiyon öncelikli olduğundan, oksijen varlığında gerçekleşmez (Brooks, 2007).



Şekil 6. Baz-şeker kovalent bağlanması ile oluşan başlıca hasar ürünleri

5.4. DNA-protein çapraz bağlanması

Hücre çekirdeğindeki proteinler de serbest radikallerin saldırısına uğrayabilmektedir. Oluşan baz türevli radikal ile protein radikali çapraz bağlanarak DNA-protein çapraz bağı meydana gelmesine yol açar. Hücrelerin serbest radikal üreten kaynaklara maruz kalmaları sonucu kovalent DNA-protein çapraz bağlanmaları oluşabilir (Şekil 7) (Barker ve ark., 2005; Dizdaroğlu ve Jaruga, 2012). Bu oluşum kromatinin bozulmasına neden olur. Reaksiyon ya DNA baz radikali ile bir amino asit radikalinin birleşmesi ya da DNA baz radikalinin proteinin aromatik amino asidine eklenmesi sonucu oluşur (Dizdaroğlu ve Jaruga, 2012; Shoulkamy ve ark., 2012).



Şekil 7. Başlıca DNA-protein çapraz bağlanmaları

5.5. Abazik bölge oluşumu

Hidroksil radikali, DNA'daki şekerlerin her bir karbon atomundan bir H atomunu uzaklaştırarak karbon merkezli radikaller oluşturur. Bu radikaller O_2 varlığında şeker peroksil radikallerine dönüşürler ve yeniden düzenlenme, C-C bağlarının kopması, dehidratasyon gibi reaksiyonlarla karbonil bileşiklerini oluştururlar. Deoksiriboz radyasyona maruz kaldığında da karbonil ve dikarboniller oluşur. Deoksiriboz türevli radikaller DNA'da zincir kırılmalarına ve abazik bölgelerin oluşumuna neden olurlar (Halliwell, 2006; Dexheimer, 2013).

6. Oksidatif DNA Hasarı Tespit Yöntemleri

Son yıllarda DNA'da meydana gelen oksidatif hasarları belirlemek amacıyla çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Bu amaçla, immünokimyasal teknikler, tek hücre jel elektroforezi (comet testi), DNA onarım enzimleri kullanarak alkalın elüsyon, yüksek performanslı sıvı kromatografi-elektrokimyasal dedektör (HPLC/ECD), yüksek performanslı sıvı kromatografi-kütle spektrometri (LC/MS, LC/MS/MS) ve gaz kromatografi-kütle spektrometri (GC/MS, GC/MSMS) gibi teknikler kullanılmaktadır (Dizdaroğlu ve ark., 2002; Aybastır ve ark., 2018). GC/MS ve LC/MS teknikleri kullanılarak tayin edilebilecek oksidatif DNA hasar ürünleri Tablo 3'de görülmektedir (Dizdaroğlu, 2018b).

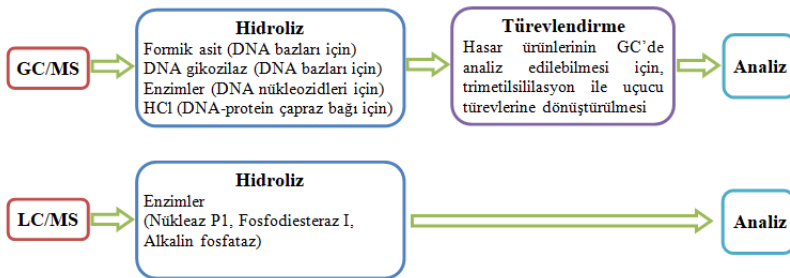
Tablo 3. GC/MS ve LC/MS kullanılarak belirlenebilecek oksidatif DNA hasar ürünleri

GC/MS	LC/MS
➤ Modifiye bazlar ➤ Modifiye nükleozidler ➤ Baz-şeker kovalent bağlanması ➤ Modifiye şekerler ➤ DNA-protein çapraz bağlanması	➤ Modifiye nükleozidler ➤ Baz-şeker kovalent bağlanması

Genellikle kütle spektrometri içermeyen teknikler, farklı DNA hasar ürünleri arasından tek bir tanesinin tayini için kullanılmaktadırlar ve bu tekniklerle molekül hakkında yapısal bir bilgi elde edilemez. En çok kullanılan tekniklerden biri HPLC/ECD'dir. Bu teknikle DNA'nın hidrolizi sonrası 8-hidroksiguanin (8-OH-Gua) veya 8-hidroksideoksiguanozin (8-OH-dG) tayin edilir. Bu yöntem ile 8-OH-dG 20 fmol'e kadar ölçülebilmektedir. Ancak, biyomarkör olarak tek bir molekülün tayini yanıltıcı olabilir. Tek bir hasar ürününün tayini oluşan DNA hasarının genel oranını yansıtmayabilir (Dizdaroğlu ve ark., 2002; Jaruga ve ark., 2008).

Oksidasyon sonucu ortaya çıkan DNA baz hasarlarının ölçümünde yaygın olarak kullanılan kromatografik tekniklerden biri de GC/MS'tir. (Yokuş ve Çakır, 2012). GC/MS, DNA onarım enzimlerinin kinetiğini ve DNA onarım düzeyini ölçmede de kullanılabilir. GC/MS tekniği, oluşan tüm baz ürünlerinin karakterizasyonunda da kullanılmıştır. GC/MS analizinde DNA, bazları elde etmek için asitle hidroliz edilmeli veya nükleozidler elde etmek için endo ve ekzo nükleazlarla muamele edilmelidir. Asidik hidrolizde ısıtma işlemiyle DNA iskeletinin sadece fosfodiester bağları değil, baz-şeker bağları da hidroliz olur ve hasarlı-hasarsız DNA'nın yapısındaki tüm bazlar açığa çıkar. DNA bazlarını elde etmek için asit yerine *Escherichia coli* Fpg proteini (formamidopirimi-din glikozilaz) ve *Escherichia coli* Nth proteini (endonükleaz III) gibi onarım enzimleri de kullanılabilir. DNA'nın hidrolizinde onarım enzimleri kullanıldığında asidik hidrolizde olduğu gibi ortama sağlam DNA bazları salınmaz, sadece hasarlı bazlar salınır. Gaz kromatografisi ile analizde, DNA baz hasar ürünlerinin gaz fazına geçebilmeleri için trimetilsilyasyon ile yüksek sıcaklıkta türevlendirme işlemi yapılır. Elde edilen hidrolizatlar %1 TMCS (trimetilklorosilan) içeren BSTFA (N,O-Bis(trimetilsilil)trifloroasetamid) kullanılarak türevlendirilir. Böylece kaynama noktası düşürülerek uçucu hale dönüştürülen hasar ürünleri gaz kromatografisi ile ayrılır ve kütle spektrometresi ile tayin edilir. Türevlendirme aşamasındaki ısıtma işlemi sırasında bazlarda oksidatif hasar oluşmasını engellemek için türevlendirme işlemi azot gazı ortamında yapılmalıdır (Jenner ve ark., 1998; Dawbaa ve ark., 2018).

GC/MS ile seçilmiş iyon taraması (selected-ion monitoring, SIM) modunda DNA hasar ürünlerini düşük konsantrasyonlarda tayin etmek mümkündür. Bu teknik ile 5 fmol'dan daha düşük miktarlarda 8-OH-dG düzeyi ve 1 fmol civarında FapyAde ile FapyGua miktarları belirlenebilmektedir. 8-OH-dG analizlerinde GC/MS'in LC/MS'den daha hassas olduğu belirtilmiştir (Box ve ark. 2002, Jaruga ve ark. 2008). LC/MS kullanım alanı GC/MS'e göre daha sınırlıdır. LC/MS tekniği ile GC/MS'de ölçülebilen modifiye bazlar, modifiye şekerler ve DNA-protein çapraz bağlanması ölçülememektedir. Örnek hazırlama işleminde türevlendirme basamağına ihtiyaç duyulmaması LC/MS kullanımının en önemli avantajıdır (Dizdaroğlu, 2018b) Şekil 8'de GC/MS ve LC/MS için örnek hazırlama basamakları görülmektedir.



Şekil 8. GC/MS ve LC/MS için örnek hazırlama basamakları

Kantitatif tayin yapmak için, analiz edilmek istenen oksidatif hasar ürünlerinin standartlarından çeşitli konsantrasyonda çözeltiler hazırlanır. Bu çözeltilerin kromatografi cihazlarına enjeksiyonu yapılır. Elde edilen piklerin alanları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek bir kalibrasyon grafiği oluşturulur. Kantitatif tayin yapılmak istenen maddenin kromatogramından elde edilen pik alanı kalibrasyon grafiğinde yerine koyularak, miktar tayini yapılır. Ancak, örnek hazırlama işlemlerinden gelebilecek hataları en aza indirmek ve olası benzer maddeleri tam olarak tanımlayabilmek için, izotop seyreltme yöntemini kullanmak daha uygundur (Dizdaroğlu, 2018b). Bu yöntemde analiz edilmek istenen maddenin yapısındaki azot-14 atomları yerine azot-15 atomlarını içeren stabil izotop işaretli iç standart kullanılır. Stabil izotop işaretli olan ve olmayan her iki molekülün de kimyasal ve fiziksel özellikleri aynı olmasına rağmen, azot-15 içeren molekülün kütlesi içerdiği azot atomu sayısı kadar fazladır. Kimyasal ve fiziksel özellikleri aynı olduğundan kromatogramda aynı alıkonma zamanına sahiptirler. Ancak, kütle spektrumları birbirinden farklıdır. SIM (selective ion monitoring) modda çalışıldığında her moleküle ait pik alanı ayrı ayrı elde edilebilir. İç standart ile bilinmeyen numunenin pik alanları oranlanarak konsantrasyonu bilinmeyen numunenin konsantrasyonu belirlenir. İç standart ortama örnek hazırlama işlemlerinin başında eklendiği için, analizi yapılmak istenen numune ile aynı aşamalardan geçmektedir. Bu sayede örnek hazırlama kısmından gelebilecek hatalar da en aza indirilir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda DNA baz hasar ürünlerin analizi GC-MS/MS ile gerçekleştirilmiştir. Bu teknikte gaz kromatografi ile ayrılan ürünler, daha sonra birinci kütle spektrometresinden geçirilerek istenilen kütledeki iyonlar seçilir. Daha sonra seçilmiş kütleyle sahip iyonlar ikinci kütle dedektöründen geçirilerek tayin edilir. Bu yöntemin avantajı, iki kez kütle dedektöründen geçiş olduğu için girişimin en aza indirilmesi ve tayin sınırlarının daha düşük olmasıdır. Bu yöntemle, eş zamanlı olarak 18 farklı DNA baz hasar ürünü yüksek duyarlılık ve hassasiyetle tayin edilebilmiştir (Aybastır ve ark., 2018).

KAYNAKLAR

- Akçay, T. 2006. Nükleik Asitler: İnsan Biyokimyası, Editörler: Onat, R., Emerk, K., Sözmen, E.Y., Palme, Ankara, s. 395–488.
- Aköz, M., Vatansev, H., Gürbilek, M., Akkuş, İ., Vatansev, C., Kaptanoğlu, B. 2000. Glutasyon S-Transferaz (GST) İzoenzimlerinin Çeşitli Kanser Vakalarında Araştırılması. *Genel Tıp Dergisi*, 10(1):1–6.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E.Ş., Yılmaz, B., 2019. Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü - Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) Ve Glutasyon Peroksidaz (GPx). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3): 362–369.
- Aybastier, Ö., Dawbaa, S., Demir, C., Akgün, O., Ulukaya, E., Arı, F., 2018. Quantification of DNA damage products by gas chromatography tandem mass spectrometry in lung cell lines and prevention effect of thyme antioxidants on oxidative induced DNA damage. *Mutation Research*, 808, 1–9.
- Barker, S., Weinfeld, M., Murray, D. 2005. DNA–protein crosslinks: their induction, repair, and biological consequences. *Mutation Research*, 589: 111–135.
- Bennett, R.N., Wallsgrove, R.M. 1994. Secondary Metabolites in Plant Defence Mechanism. *New phytologist*, 127: 617–623.
- Birben, E., Şahiner, Ü.M., Saçkesen, C., Erzurum, S., Kalaycı, Ö. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 9–19.
- Boiteux, S., Robertson, S.J. 2013. DNA Repair Mechanisms and the Bypass of DNA Damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 93: 1025–1064.
- Box, H.C., Patrzyk, H.B., Dawidzik, J.B., Iijima, H., Freund, H.G., Higbee, A.J., Budzinski, E.E., 2002. Detection and Characterization of Formamido Lesions in DNA by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, *Radiation Research*, 158: 538–542.
- Brooks, P.J. 2007. The case for 8,5'-cyclopurine-2'-deoxynucleosides as endogenous dna lesions that cause neurodegeneration in xeroderma pigmentosum. *Neuroscience*, 145: 1407–1417.
- Buonocore, G., Perrone, S., Tataranno, M.L. 2010. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 15: 186–190.
- Bütüner, B.D., Kantarcı, G. 2006. Mutasyon, DNA Hasarı, Onarım Mekanizmaları ve Kanserle İlişkisi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 35(2): 149–170.
- Cadet, J., Douki, T., 2018. Formation of UV-induced DNA damage contributing to skin cancer development. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 17: 1816–1841.

- Cadet, J., Douki, T., Gasparutto, D., Ravanat, J.L. 2003. Oxidative damage to DNA: Formation, measurement and biochemical features. *Mutation Research*, 531: 5–23.
- Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroğlu, M., Lunec, J. 2003. Oxidative DNA damage: Mechanism, mutation and disease. *FASEB Journal*, 17(10): 1195–1214.
- Dawbaa, S. Aybastier, Ö., Demir, C. 2018. Ultrasensitive determination of DNA oxidation products by gaschromatography–tandem mass spectrometry and the role of antioxidants in the prevention of oxidative damage. *Journal of Chromatography B*, 1051: 84–91.
- Dexheimer, T.S. 2013. DNA Repair Pathways and Mechanisms: DNA Repair of Cancer Stem Cell, Ed.: Mathews, L.A., Cabarcas, S.M., Hurt, E., Springer, USA, pp: 19–32.
- Dizdaroğlu, M., Jaruga, P., Birincioğlu, M., Rodriguez, H. 2002. Free Radical-Induced Damage to DNA: Mechanisms and Measurement. *Free Radical Biology & Medicine*, 32(11): 1102–1115.
- Dizdaroğlu, M. 2012. Oxidatively induced DNA damage: Mechanisms, repair and disease. *Cancer Letters*, 327: 26–47.
- Dizdaroğlu, M. 2018a. Oxidatively Induced DNA Damage. DNA Hasarı, Onarımı ve Tandem Kütle Spektrometrik Değerlendirilmesi Kursu, 5-8 Haziran 2018, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
- Dizdaroğlu, M. 2018b. Measurement of DNA Damage. DNA Hasarı, Onarımı ve Tandem Kütle Spektrometrik Değerlendirilmesi Kursu, 5-8 Haziran 2018, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
- Dizdaroğlu, M., Jaruga, P. 2012. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Research*, 46(4): 382–419.
- Dubuisson, M., Vander, S.D., Clippe, A., Etienne, F., Nauser, T., Kissner, R., Koppenol, W.H., Rees, J.F., Knoop, B. 2004. Human peroxiredoxin 5 is a peroxynitrite reductase. *FEBS Letters*, 571: 161–165.
- Forlenza, M.J., Miller, G.E. 2006. Increased serum levels of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in clinical depression. *Psychosomatic Medicine*, 68: 1–7.
- Fung, H., Kow, Y.W., Van Houten, B., Mossman, B.T. 1997. Patterns of 8-hydroxydeoxyguanosine formation in DNA and indications of oxidative stress in rat and human pleural mesothelial cells after exposure to crocidolite asbestos. *Carcinogenesis*, 18(4): 825–832.
- Gromer, S., Urig, S., Becker, K. 2004. The thioredoxin system from science to clinic. *Med Res Rev*, 24: 40–89.
- Halliwell, B. 2002. Effect of diet on cancer development: Is oxidative DNA damage a biomarker?. *Free Radical Biology & Medicine*, 32: 968–974.
- Halliwell, B., 2006. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiol.* 141(2): 312–322.

- Jaruga, P., Kırkalı, G., Dizdaroğlu, M. 2008. Measurement of formamidopyrimidines in DNA. *Free Radical Biology & Medicine*, 45: 1601–1609.
- Jaruga, P., Dizdaroğlu, M. 2010. Identification and quantification of (5'R)- and (5'S)-8,5'-cyclo-20-deoxyadenosines in human urine as putative biomarkers of oxidatively induced damage to DNA, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 397: 48–52.
- Jenner, A., England, T.G., Aruoma, O.I., Halliwell, B., 1998. Measurement of oxidative DNA damage by gas chromatography–mass spectrometry : ethanethiol prevents artifactual generation of oxidized DNA bases. *Biochemistry Journal*, 331: 365–369.
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R. 2015. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5): 226–234.
- Kaur, C., Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 703–725.
- Kruk, I., Michalska, T., Kladna, A., Aboul-Enein, H.Y. 2010. Prooxidant action of carazolol in the Fenton-like reaction. *Luminescence*, 26: 429–433.
- Kudlackova, M.K., Dusinska, M., Valachovicova, M., Blazicek, P., Paukova, V. 2006. Products of DNA protein and lipid oxidative damage in relation to vitamin C plasma concentration. *Physiol Res*. 552: 227–231.
- Ladner, J.E., Parsons, J.F., Rife, C.L., Gilliland, G.L., Armstrong, R.N. 2004. Parallel evolutionary pathways for glutathione transferases: structure and mechanism of the mitochondrial class kappa enzyme rGSTK1-1. *Biochemistry*, 43: 52–61.
- Liang, Y., Wnuk, S.F. 2015. Modification of Purine and Pyrimidine Nucleosides by Direct C-H Bond Activation. *Molecules*, 20: 4874–4901.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 4(8): 118–126.
- Noll, D.M., Mason, T.M., Miller, P.S. 2006. Formation and Repair of Interstrand Cross-Links in DNA. *Chem Rev.* 106(2): 277–301.
- Parimoo, S., Parimoo, B. 2003. Sample Preparation in DNA Analysis: Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry. Ed.: Mitra, S., John Wiley & Sons Inc., New Jersey, USA, pp: 271–300.
- Rao, V.A., Klein, S.R., Agama, K.K., Toyoda, E., Adachi, N., Pommier, Y., Shacter, E.R., 2009. The Iron Chelator Dp44mT Causes DNA Damage and Selective Inhibition of Topoisomerase II α in Breast Cancer Cells. *Cancer Research*, 69(3): 948–957.
- Reis, A., Spickett, C.M. 2012. Chemistry of phospholipid oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1818: 2374–2387.

- Saito, S., Yamauchi, H., Hasui, Y., Kurashige, J., Ochi, H., Yoshida, K. 2000. Quantitative determination of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dg) by using ELISA. *Research Communicaton Molecular Pathology and Pharmacology*, 107(1-2): 39–44.
- Salehi, F., Behboudi, H., Kavooosi, G., Ardestani, S.K., 2018. Oxidative DNA damage induced by ROS-modulating agents with the ability to target DNA: A comparison of the biological characteristics of citrus pectin and apple pectin. *Scientific Reports*, 8: 13902.
- Sancar, A., Lindsey-Boltz, L.A., Gaddameedhi, S., Selby, C.P., Ye, R., Chiou, Y.Y., Kemp, M.G., Hu, J., Lee, J.H., Ozturk, N. 2015. Circadian Clock, Cancer, and Chemotherapy. *Biochemistry*, 54: 110–123.
- Sastre, J., Pallardo, F.V., Vina, J. 2000. Mitochondrial Oxidative Stress Plays a Key Role in Aging and Apoptosis. *IUBMB Life*, 49: 427–435.
- Shoulkamy, M.I., Nakano, T., Ohshima, M., Hirayama, R., Uzawa, A., Furusawa, Y., Ide, H. 2012. Detection of DNA–protein crosslinks (DPCs) by novel direct fluorescence labeling methods: distinct stabilities of aldehyde and radiation-induced DPCs. *Nucleic Acids Research*, 1–13.
- Sonntag, C.V. 2006. Free radical induced DNA damage and its repair a chemical perspective. Springer, Germany, 523 pp.
- Sözmen, E.Y. 2006. Yaşlanma Biyokimyası: İnsan Biyokimyası, Editörler: Onat, R., Emerk, K., Sözmen, E.Y., Palme, Ankara, s. 743–758.
- Srivinas, U.S., Tan, B.W.Q., Vellayappan, B.A., Jeyasekharan, A.D., 2019. ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology*, 25: 101084.
- Tuteja, N., Singh, M.B., Misra, M.K., Bhalla, P.L., Tuteja, R. 2001. Molecular Mechanisms of DNA Damage and Repair: Progress in Plants. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 36(4): 337–397.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. 2006. Free radicals metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160: 1–40.
- Watson, J.D., Baker, T.A., Bell, S.P., Gann, A., Levine, M., Losick, R. 2008. Molecular Biology of the Gene, CSHL Press, USA, 880 pp.
- Yokuş, B., Çakır, D.Ü. 2012. İn vivo oksidatif DNA hasarı biyomarkeri; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Türkiye Klinik Tıp Bilimleri*, 22: 535–543.
- Zaliznyak, T., Lukin, M., de los Santos, C. 2012. Structure and Stability of Duplex DNA Containing (5'S)-5',8-Cyclo-2'-Deoxyadenosine: An Oxidatively-generated Lesion Repaired by NER. *Chem. Res. Toxicol.*, 25(10): 2103–2111.

Bölüm 11

SAĞKALIM ANALİZİ



*Hülya SAYGI¹**

1 Doç. Dr. Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, İzmir, Türkiye, hulyasaygi70@gmail.com

* Bu kitap bölümü “Su Ürünleri Araştırmalarında Yaşam Modelleri ve Kullanılan İstatistiksel Yöntemler” adlı Doktora tezinin bir bölümünü oluşturmaktadır.

GİRİŞ

Çeşitli bilim alanlarında genellikle sayısal verilere dayanan istatistiksel analizler giderek yoğunluk kazanmaktadır. Bu gelişime koşut, bilgi işlem sistemlerinde ortaya çıkan hızlı değişim ve gelişim süreci içerisinde gerçekleşmektedir. Her bilimsel alanda kullanılan istatistiksel yöntemler, süreç içerisinde yerlerini yenilerine terk etmektedir. Özellikle istatistik dalında çalışmayan bilim adamlarının bu alandaki yeni modelleri izlemesi ve araştırmalarında verileri analiz ederek yorumlamaları oldukça güçlükler taşımaktadır. Bir araştırmacının bu güçlükleri çekmemesi için bazı önemli hususlara dikkat etmesi gerekmektedir.

Bunun için bir araştırmacı analiz aşamasında, toplanan verileri, araştırma sorularına cevap aramak ve araştırma hipotezlerini test etmek amacıyla analiz eder. Bir araştırmanın sonuçları dayandıkları veriler ölçüsünde anlamlıdır. Bu nedenle güvenilir olmayan verilere karmaşık analiz yöntemleri uygulamaktan kaçınılmalıdır. Verilerin analizinde istatistik yöntemlerinden geniş bir biçimde yararlanılması gerekmektedir. Bu nedenle, analizi yapacak kişinin analizlere ve özellikle uygulama biçimine ilişkin yeterli bilgiye sahip olması ya da bu konuda uzman kişilerden yardım alması gerekmektedir. Verilerin analizinde, araştırma öncesinde belirlenen varsayımların geçerli olup olmadığının araştırılması gerekir. Yorumlama aşamasında ise, analiz sonuçlarından hareketle araştırma konusunu oluşturan ilişkilerden sonuç çıkarmak şeklinde tanımlanabilir. Analiz edilmeyen veriler öncelikle analiz edilir, daha sonra analiz sonuçları yorumlanır. Araştırmacı analiz aşamasının sonunda, araştırmanın geçerliliğine ve güvenilirliğine olumsuz etki yapan faktörlerin bulunduğunu da belirleyebilir. Araştırmanın geçerliliği ve güvenilirliği incelenirken, diğer faktörlerin de (örn. çalışma koşulları, finans v.d.) bu unsurlara ne gibi olumsuz etki yaptığı ve böylelikle araştırma bulgularının ne ölçüde gerçeği yansıttığı gözden geçirilmelidir. Bu nedenle yapılan bu çalışmada Sağkalım analizinin incelenmesine karar verilmiştir. Sansürlü gözlemlerin varlığı halinde parametrik ve parametrik olmayan yöntemlerin deneysel olarak bir karşılaştırılmasını yapmak ve Sağkalım zamanını etkileyen birlikte değişen değişkenleri dikkate alarak modele girecek değişkenleri saptamaktır.

Yaşam Modelleri olarak, bu çalışmada kısaca bilgi verilecektir. Bunlardan ilk olarak Sağkalım analizi, Daha sonra, Parametrik analiz yöntemleri, parametrik olmayan analiz yöntemlerinin genel bir tanımlaması yapılacaktır.

Yaşam modeli olarak sağkalım analizi, ilgilenilen herhangi bir olay gerçekleşene kadar geçen zaman içindeki verileri analiz etmek için kullanılır. Örneğin, ilgilenilen olay balığın ölümü ise deneyin başlangıcından itibaren balığın ölümüne kadar geçen süre sağkalım zamanıdır. Fakat

ilgilenilen olay, herhangi bir ağrının başlaması, bir hastalığın meydana gelmesi gibi olaylarla da olabilir.

Yaşam Çizelgeleri en eski istatistiksel yöntemlerden biridir ve sigortacılar, nüfus bilimcileri tarafından yaygın olarak kullanılırlar (Cox, 1972). Bu yöntem yalnızca ölümün değil, ölçülebilir süreçlerin analizi için de uygundur. Çözümleme, çalışmaya konu olan birimlerin ya da birey ömürleriyle ilgilidir. Sağkalım analizleri kimi üretim araç ve gereçleri için endüstriyel yaşam testi (bir üretim aracının bozulma ya da işlevini göremez duruma gelme süresi, farklı sıcaklık dereceleri altında çalışan motorların bozulma süreleri deneylerinde (Nelson and Hahn, 1972; Başar 1993), klinik çalışmalarda, örneğin, bir hastalığa yakalanan hastaların belli bir süre izlenerek yaşam uzunluklarının ölçülmesi (Mac Donald, 1963; Başar'dan, 1993) ya da belli bir hastalığı olan hastaların tedaviden sonra iyileşme sürelerinin incelenmesi (Frei, 1961; Başar'dan, 1993) gibi araştırmalarda kullanılır. Regresyon modelleri sağkalım analizi için kullanıldığında bu modellerin bütün avantajları başarısızlık zamanını analiz ederken ortadan kalkar.

Ayrıca sağkalım analizi çeşitli konularda risk etkenlerini, hastalığın seyrini etkileyen faktörleri, tedavi başarılarını ortaya koyabilmesi açısından önem taşımaktadır ve bu bağlamda, tıbbın çeşitli alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır (Lee and Wang.,2003; Allison, 2010).

1. SAĞKALIM ANALİZİ

Sağkalım zamanı genel olarak verilen bir olayın oluş zamanı gibi tanımlanabilir. Bu yüzden sağkalım zamanı bir makinanın bozulması, balıktaki bir hastalığın tedavi ya da balığın iyileşme süresi, ölüm zamanı olabilir.

Sağkalım zamanını, tedaviye yanıt vermeyi ve hastalığın niteliğiyle ilişkili olan, kurtulmayı veya hastalığın gelişmesini içerir. Sağkalım verileri çalışması, hastalığa cevap verme olasılıklarının tahmini, kurtulma veya ortalama yaşam süresi, sağkalım verisinin deneklerle karşılaştırılması veya insanları denek olarak kullanıp risk analizi yapma, tedaviye yanıt verdiren nedenlerin saptanması ve hastalığın gelişmesine odaklanır. Sağkalım verilerinin yöntemleri tıp alanının yanı sıra, endüstriyel güvenilirlik uygulamaları, sosyal bilimler ve iş dünyasında da uygulanmaktadır. Buna örnek olarak elektronik aletlerin, parçaların ve sistemlerin ömrü, ilk evliliğin süresi, gazete veya dergilerin üye sayısı, işçilerin tazminat talepleri (sigortacılık), şartlı tahliyeyle çıkan hükümlülerin tekrar suç işleme süresi ve onların çeşitli risk etkileri gibi durumlarda da kullanılabilir (Lee and Wang.,2003; Allison, 2010; Austin vd., 2016).

“Gerçekte sağkalımdan anlaşılan belli bir başlangıç noktasından sonra (bir ameliyat, bir tedavinin başlangıcı, bir hastalığın başladığı ka-

bul edilen an, vs) bir izleme süresi içindeki olgunun, araştırmanın ana konusu olan özel bir konuma ulaşması (veya erişmeden eski özelliklerini sürdürmesi) durumudur.” (Şenocak, 1992).

Analizde temel olan, gözlenen başarısızlık zamanlarının ya da ömür sürelerinin incelenmesi olduğundan, bu değişkenlerin duyarlı olarak tanımlamaları konusu ayrı bir önem kazanır. İlgilenilen olaya göre farklı Şekillerde ortaya çıkabilen bu değişkenin duyarlı olarak ölçülmesi için, Başlangıç zamanı her bir birim ya da birey için kuşkuya yer vermeyecek şekilde tanımlanmalıdır. Ölçülen zaman için bir ölçek olmalıdır (gün, ay, ya da yıl ile ölçülen yaştır). Her bir birim ya da birey için ömrün sona ermesi veya başarısızlığın meydana geldiği an tamamen net olmalıdır (Lee and Wang.,2003).

1.1.Sağkalım zamanı fonksiyonları

Sağkalım zamanı; kesin bir olayda ölçülen verilerin zamanıdır. Bu kesin olaylar örneğin, başarısızlık, ölüm, verilen bir hastalığın gelişmesi, durum kötüleşmesi, tepkiler, şartlı tahliye (kriminoloji’de) veya boşanmadır (Aile Hukuku) vb. gibi. Bu zamanlar rasgele değişimlerin konusudur.

Sağkalım verilerinin dağılımı genellikle 3 fonksiyonla tanımlandığı ifade edilmiştir. Sağkalım Fonksiyonu, Olasılık yoğunluk fonksiyonu, Hazard (tehlike) fonksiyonudur. Bu 3 fonksiyon arasında matematiksel bir ilişki vardır. Biri verilirse diğerleri bulunabilir.

Uygulamada bu 3 sağkalım fonksiyonu verilerin farklı görünüşünü göstermek için kullanılır. Sağkalım veri analizinde temel sorun bu 3 fonksiyondan biriyle ya da birden fazlasıyla tahmin yapmak ve kitle hakkında sağkalım verilerinden sonuçlar çıkarmaktır.

T, sağkalım zamanını gösterdiğine göre, T dağılımının 3 temel fonksiyonu aşağıda kısaca açıklanmıştır.

1.1.1. Sağkalım fonksiyonu (survival function)

Sağkalım fonksiyonu $S(t)$ ile gösterilir. Bir kişinin T zamanından daha uzun sürede sağ kalma olasılığını gösterir.

$S(t) = P(\text{bireyin } t \text{ zamandan daha uzun yaşaması}) = P(T > t)$, T’nin birikimli olasılık fonksiyonu olan $F(t)$ ise; $S(t) = 1 - P(\text{bireyin } t \text{ zamanından önce başarısız olması}) = 1 - F(t)$ ve $S(t)$ t zamanında sürekli (gittikçe) artmayan bir fonksiyondur. Bu $T=0$ iken $S(t)=1$, $t = \infty$ iken $S(t) = 0$ olur. En az 0 zamanında sağkalım olasılığı 1’dir ve t sonsuza giderken sağkalım olasılığı’da 0’dır. $S(t)$ fonksiyonu aynı zamanda birikimli sağkalım oranı olarak bilinir. $S(t)$ ’nin grafiğine **sağkalım eğrisi** denir.

Sağkalım fonksiyonu veya sağkalım eğrisi verilerin %50’sini yani meydana ve diğer çeyrek değerleri bulmak için kullanılır ve iki ya da

daha fazla grubun sağkalım dağılımlarını karşılaştırır. Sağkalım dağılımlarında çok küçük ve çok büyük sağkalım sürelerden etkilendiği için median tercih edilmektedir.

Herhangi bir rasgele değişken gibi T yani hayatta kalma zamanı da olasılık yoğunluk fonksiyonudur. Δt genişliğindeki t ve t+ Δt aralığındaki başarısız olan bir kişinin olasılıksal limitidir veya kısa bir aralığa düşen başarısızlık oranıdır; $f(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P(\text{aralıkta ölen}(t, t+\Delta t) \text{ bir birey})}{\Delta t}$

f(t) Grafiği yoğunluk eğrisi olarak adlandırılır. 2 özelliği bulunmaktadır. Birincisi, f(t) Negatif olmayan bir fonksiyondur ve tüm t ≥ 0 için f(t) ≥ 0 olduğunda, t < 0 için f(t) = 0 'dır. İkncisi; Yoğunluk eğrisiyle x eksen arasında kalan alan 1'e eşittir. Eğer sansürlü veri yoksa olasılık yoğunluk fonksiyonu f(t): olarak tahminlenir.

$$\hat{f}(t) = \frac{\text{t zamanıyla başlayan aralıkta ölen birey sayısı}}{\text{bireylerin toplam sayısı} \times \text{aralık genişliği}}$$

Eğer sansürlü veriler varsa S (t)'nin tahminlenmesinde $\hat{f}(t)$ formülü uygulanamaz. Herhangi bir zaman aralığına düşen bireylerin başarısızlık oranı ve başarısızlığın frekansları yoğunluk fonksiyonundan bulunabilir.

1.1.2. Hazard Fonksiyonu

T sağkalım zamanının, hazard fonksiyonu olan h(t) koşullu başarısızlık oranını verir. Bu dar bir zaman aralığında süregelen başarısızlık olarak tanımlanır ki bu kişi aralığın başında sağdır veya bir kişinin başarısızlık limiti (küçük bir zaman aralığında) t'den t + Δt 'ye kadar;

$$h(t) = \frac{P\{t \text{ yaşındaki } (t, t + \Delta t)) \text{ zaman aralığındaki baarisızlığı}\}}{\Delta t}$$

Birikimli dağılım fonksiyonu ve olasılık yoğunluk fonksiyonuyla da tanımlanır. H(t)=f(t)/{1-F(t)}, Hazard fonksiyonu aynı zamanda ani başarısızlık oranı, ölüm oranı gücü, şartlı ölüm oranı ve belirli yaştaki başarısızlık oranı olarak da bilinir. Eğer sansürlü veri yoksa Hazard fonksiyonu;

$$\hat{h}(t) = \frac{\text{t zamanda başlayan aralıkta ölen balık sayısı}}{\text{t'deki sağkalan balık sayısı}} = \frac{\text{aralıkta her birim zamanda ölen balık sayısı}}{\text{t'de sağkalan balık sayısı}}$$

$$\text{veya } \hat{h} = \frac{\text{aralıkta her birim zamanda ölen balık sayısı}}{(\text{t'de sağkalan balık sayısı}) - \frac{1}{2}(\text{aralıkta ölen balıkların sayısı})}$$

Hazard fonksiyonu artabilir, azalabilir, sabit kalabilir veya karışık süreç gösterebilir. Birikimli hazard fonksiyonu;

$$H(t) = \int_0^t h(x)dx \quad t = 0 \text{ iken } S(t) = 1 \text{ ve } H(t) = 0, \quad t = \infty \text{ iken } S(t) = 0$$

ve $H(t) = \infty$. Birikimli risk fonksiyonu 0 ile sonsuz arasında herhangi bir değer alabilir.

1.1.3. Sağkalım Fonksiyonlarında İlişki

Koşullu olasılık tanımından; $h(t) = f(t) / S(t)$ 'dir. Olasılık yoğunluk fonksiyonu birikimli dağılım fonksiyonunun türevidir; .

$$f(t) = \frac{d}{dt} [1 - S(t)] = -S'(t). \quad h(t) = \frac{S'(t)}{S(t)} = -\frac{d}{dt} \log_s S(t) \text{ 'dir. } S(0)=1 \text{ kullanıla-}$$

rak 0 ve t zamanı arasında $-\int_0^t h(x)dx = \log_s S(t) = \exp [-H(t)]$ yazılabilir. $H(t)$,

birikimli hazard fonksiyonu olarak adlandırılır ve şu özellikleri sağlar; $H(t)$ artan bir fonksiyondur, $\lim_t H(t) = \infty$ 'dur, $H(t)$ sağdan sürekli bir fonk-

siyondur (Nelson, 1972; Başar'dan,1993) $S(t) = \exp[-H(t)] = \exp\left[-\int_0^t h(x)dx\right]$

ve $f(t) = h(t)\exp \geq [-H(t)]$ Eğer $f(t)$ biliniyorsa, sağkalım fonksiyonu $S(t)$, $f(t)$, $F(t)$, $1-F(t)$ arasındaki ilişkilerden hesaplanabilir (Lee and Wang.,2003; Kleinbaum and Klein, 2010).

Hazard fonksiyonu, özellikle Sağkalım verisinin modellenmesinde kullanılır. Birçok örnekte, zamanla başarısızlık hızının nasıl değişeceği hakkında bilgi elde edilebilir. Bu bilgi $h(t)$ modelinde kullanılabilir ve Sağkalım fonksiyonuna çevrilebilir, ya da $h(t)$ hakkındaki bu bilgi başarısızlık zamanı T için olasılık modellerinin seçiminde kullanılabilir. Hazard fonksiyonunun incelemenin yararlı olduğu durumlar şöyle sıralanabilir; t yaşına kadar yaşamını sürdürdüğü bilinen bir bireyin var olan başarısızlık riskini dikkate aldığı için aydınlatıcı olabilir, Farklı grupların karşılaştırılması çok daha açık ve kesin olarak Hazard fonksiyonu ile kolaylıkla yapılır, Hazard fonksiyonunu temel alan modeller, durdurma ya da birçok tipte başarısızlık varken daha uygundur, Başarısızlık zamanlarının bir üstel dağılıma sahip olduğu varsayılarak, farklı grupların karşılaştırılması, özellikle Hazard fonksiyonu kullanılarak yapıldığında çok daha kolaydır, Hazard, "tek başarısızlık" içeren sistemler için özel bir form oluşturur (Cox and Oakes, 1984).

1.2. Yaşam Modellerinde Sansürlü Veri

Sağkalım verisinin iki özelliği vardır; bunlardan birincisi, Sağkalım verisi genellikle simetrik dağılıma sahip olmamasıdır. Tipik olarak, benzer bireylerin bir grubunun sağkalım zamanlarıyla kurulan histogramın, pozitif çarpıklığa eğilimi olur. Ancak, histogramın, gözlemlerin büyük sayılarını içeren aralığının, sağ tarafına doğru uzun bir kuyruğa sahip olduğunu varsaymak uygun olmaz. Bu zorluk, daha simetrik dağılım vermesi için veri dönüşümüyle çözülebilir. (Örneğin, logaritması alınarak). Fakat

daha tatmin edici bir yöntem de orijinal veriler için alternatif dağılım modelleri seçmektir.

İkincisi ise, Sağkalım süresinin sıklıkla sansürlü olmasıdır. Sansürlü değişik şekillerde tanımlayabiliriz. İzlenen olgulardan bazılarının izlemenden çıkmaları (kaybolmak), Ana konu dışındaki nedenlerle ölmeleri (balıkların sıcaklığa karşı dirençleri araştırılırken, balıkların sıcaklığın neden olmayacağı başka bir hastalıktan ölmesi). Araştırmacı tarafından izlemenden çıkarılmaları (ikinci bir hastalığın ortaya çıkarak izlenen özelliklerinin maskeleyebilmesi) söz konusu olabilir (Şenocak, 1992; Klein and Moeschberger, 2006; Klein et al, 2016).

Sağkalım verileri, genellikle sürekli, fakat sağkalım analizi bazı bireyler için tam olarak belirlenemeyen sağkalım sürelerinin de kullanılmasına olanak sağlar. Örneğin 1 yıldır devam eden bir sağkalım çalışmasında herhangi bir balık hala hayatta ise, bu balığın veya balıkların sağkalım süresi sansürlüdür ve o balık veya balıkların sağkalım süresi ancak 1 yıldan sonra bulunabilir. Analizde kullanılan sağkalım verisinin değeri de 1+ (veya 12+) diye gösterilir. Aynı zamanda sansürleme, devam eden bir çalışma sırasında balığın veya ilgilenilen birimin kaybolmasıyla da ortaya çıkabilir.

Eğer hiçbir sağkalım verisi sansürlü değilse, standart regresyon modelleri de bu verileri analiz etmek için kullanılabilir. Fakat sağkalım analizlerini kullanarak sağkalım verileri üzerinde çalışmak için bazı önemli nedenler vardır; Başarısızlık zamanı alışılmamış bir dağılıma sahip olabilir ve pozitif olarak sınıflandırılmıştır. Bu yüzden çarpık bir dağılıma sahiptir ve hiçbir zaman normal dağılıma sahip olmayacaktır, Geçmişte elde edilen sağkalım zamanının olasılığı beklenen sağkalım zamanına göre konu ile daha ilgilidir (Eğer sansür sayısı çoksa beklenen sağkalım süresini tahmin etmek zor olabilir), Sağkalım analizinde kullanılan hazard fonksiyonu, başarısızlık mekanizmasını anlamaya yardım eder.

Tüm bu tür verilere **sansürlü veri** denir. Bir başka deyişle ilgilenilen olay herhangi bir birey için gözlenmemişse bireyin sağkalım zamanı sansürlüdür denir. Bu durum gerçekleşebilir; çünkü çalışmadaki veri, bazı bireyler hala hayatta oldukları zaman o zamanki noktada analiz edilir. Alternatif olarak analiz anındaki bireyin sağkalım durumu, izleme sırasında bireyin kaybolmasından dolayı bilinmeyebilir. Örneğin; klinik bir deneye başladıktan sonra bir hasta, ülkenin başka bir yerine ya da başka bir ülkeye taşınırsa o birey artık izlenemeyebilir. Bu hastanın sağkalım deneyindeki bilgisi, son tarihte hayatta olduğudur. Bu tarihte hastanın rapor edilen son tarihidir (Lee and Wang, 2003).

2. SANSÜRLÜ VERİNİN TÜRLERİ

Üç farklı sansürlü veri vardır. Bunlar sırasıyla, sağdan sansür, soldan sansür ve aralık sansürüdür.

2.1. Sağdan Sansür

Gerçek sağkalım süresi, deneme ile ilgisiz olduğu bilinen bir nedenden ötürü ölüm olduğu zaman da sansürlü olarak ele alınabilir. Bazı durumlarda ölümün, deneme ile ilgili olmadığından emin olmak çok zordur. Örneğin, balık hastalığına ilişkin bir çalışmada, balıkların daha az zarar vererek bayılmaları için verilen ilaç denemesinde alternatif ilaçlarla karşılaştırıldığı bir denemede bir balık aniden bayılabilir. Bu bayılma denemenin bir yan etkisi ise, bayılma deneme ile ilgisiz değildir. Bu gibi durumlarda ölüm kadar ki sağkalım süresi ya da ilk durumdan sonraki sebeplerden dolayı ölüm zamanı da sağkalım analizine tabi tutulabilir.

Bu durumların her birinde t_0 anında çalışmaya giren bir hasta $t_0 + t$ zamanında ölür. Fakat t bilinmez, çünkü birey hala hayatta olabilir ya da izlemde kaybolmuş olabilir. Eğer son hayatta kaldığı zaman $t_0 + c$ biliniyorsa, c zamanına **sansürlü sağkalım süresi** adı verilir. Bu sansürleme birey çalışmaya girdikten sonra meydana gelir ve son bilinen sağkalım süresi sağdadır. Bu yüzden bu sansür türüne sağdan sansür olarak ifade edilmektedir.

Sağdan sansürlü sağkalım zamanı gerçek sağkalım süresinden (fakat bilinmeyen) daha azdır. Sağdan sansür üç tiptir;

2.1.1. I. Tip Sansür

Hayvan deneyleri genellikle belirli deneme ya da denemelerde belli bir hayvan sayısı ile başlar. Maliyet kısıtı ya da zaman kısıtı yüzünden araştırmacılar bütün hayvanların ölümünü bekleyemez. Bu nedenle deney süresine deneye başlamadan önce karar verilir; örneğin, 6 ay gibi. Sonra araştırmacı hayatta kalan hayvanları gözden çıkarır ve çalışma süresi içerisinde ölen hayvanların sağkalım (denemenin başlangıcından ölümüne kadar olan süre) süreleri kaydedilir. Bu süreler **tam** ya da **sansürsüz gözlemler** adı verilir. Gözden çıkarılan hayvanların sağkalım süreleri kesin olarak bilinemez. Fakat en azından bu süreler çalışma süresi olarak kaydedilir. Bunlara da **sansürlü gözlemler** denir. Bazı hayvanlar kaybolabilir veya ölebilir; bunların sağkalım süreleri de (denemenin başlangıcından kayboluşlarına ya da ölümüne kadar) sansürlüdür. Eğer kaza sonucu kaybolma yoksa bütün sansürlü gözlemler çalışma süresinin uzunluğuna eşittir.

2.1.2. II. Tip Sansür

Hayvan çalışmalarında diğer bir seçenek, hayvan ölümleri belli bir orana (%80) ulaşmaya kadar beklemek, sonrada hayatta kalan hayvanları gözden çıkarmaktır. Bu durumda eğer kaza sonucu kaybolma yoksa sansürlü gözlemlerin süresi sansürsüz gözlemlerin süresinin en büyüğüne eşit olur.

2.1.3. III. Tip Sansür

Birçok klinik çalışma süresi sabittir ve hastalar bu süre boyunca değişik zamanlarda çalışmaya katılabilirler. Bazıları çalışma bitmeden önce ölebilir; onların kesin sağkalım süreleri bilinir. Bazıları da çalışma bitmeden önce geri çekilebilir ve bunlarda kayıp verilerdir. Hala devam edenler, çalışmanın sonunda hayatta kalabilir. Kayıp hastalar için sağkalım süresi çalışmaya katıldıklarından son ana kadar ki zamanlarıdır. Hala hayatta kalanlar için sağkalım süresi de çalışmaya girdiklerinden çalışmanın sonuna kadar ki süredir. Son iki çeşit gözlem sansürlü gözlemdir. Ayrıca çalışmaya giriş zamanları eş zamanlı değilse sansürlü sürelerde farklı olur.

2.2. Soldan Sansür

Sansürlemenin diğer bir formu soldan sansürdür. Bireyin gerçek sağkalım zamanı gözlemlenenenden daha az olduğu zaman karşılaşılr.

2.3. Aralık Sansür

Sansürlemenin diğer bir formu da aralık sansürlemedir. Bireylerin belli bir zaman aralığındaki başarısızlığa sahip olmaları olarak bilinir.

3. Parametrik Analiz Yöntemi

Sağkalım analizinde, ilgilenilen problemin çözümüne ilişkin farklı yaklaşımlar vardır. Yaklaşımların ilki çeşitli parametrik yaşam dağılımlarını kullanılarak tahminlerde bulunmak ve hipotez testlerini hazırlamaktır. İkinci yaklaşım, herhangi bir dağılım varsayımına dayanmayan parametrik olmayan süreçleri kullanarak tahminlerde bulunmaktır. Son yaklaşım ise, başarısızlık zamanlarının cevap değişkeni olarak kabul edildiği ve bu değişkeni açıkladığı düşünülen diğer değişkenlerin de analizde yer aldığı regresyon modellerinin kullanıldığı yaklaşımdır.

Bu konuda yapılan çalışmalar 2. Dünya Savaşı ile başlar. 1935'lere kadar bu alanda görece olarak çok küçük çalışmaların yapıldığı bilinir. Daha önce yapılan çalışmaların çoğu demografide kullanılan parametrik olmayan yöntemleri içerir. Üstel dağılım ilk Sağkalım modeli olarak çok yaygın bir şekilde kullanıldı ve sansürlü örnekten tahmin elde etme problemi ayrıntılı olarak incelendi.

1940'ların ikinci yarısında, Sağkalım modeli ile ilgili çalışmalarda diğer dağılımlar, özellikle Weibull dağılımı sıkça görülmeye başladı. Weibull (1951), Lieblein ve Zelen (1956) bu dağılımın kullanılmasında ve istatistiksel yöntemlerin sağlanmasında etkili oldular (Lawless, 1983; Başar'dan, 1993).

Üstel dağılım istatistiksel olarak kolaylıkla uygulanabilmesine karşın bu modelin, sabit hazard hızına sahip olması, birçok durum için uygun

model olarak seçilmesini engellemektedir.

1960 ve 1970 yıllarda Weibull dağılımı, çok yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu model daha esnek dağılım sınıfını verir ve özel bir durum olarak üstel dağılımı içine alır. Kao (1958), Lieblein ve Zelen (1956) Weibull dağılımının ölçek (scale) ve şekil (shape) parametrelerinin nokta tahminlerini incelemiştir. İzleyen dönemlerde parametrelere ilişkin aralık tahmin ve hipotez testleriyle ilgili çalışmalar yapılmıştır (Lee and Wang, 2003).

Sağkalım analizinde kullanılan diğer dağılımlarla ilgili çalışmalara da rastlanmaktadır. En çok bilinenleri; gamma (Engelhardt and Bain, 1978; Başar, 1993), genelleştirilmiş gamma (Farewell and Prentice, 1977; Lawless, 1983; Başar, 1993), log-normal (Nelson and Schemee, 1979; Başar'dan, 1993) gibi modeller olarak bilinmektedir.

Sağkalım sürelerinin dağılımının normal olduğu biliniyorsa **parametrik analiz yöntemi** kullanılır.

3.1. Sağkalım Dağılımları

Sağkalım verilerine en uygun ve en çok kullanılan dağılımlar şunlardır; Üstel Dağılım, Weibull Dağılım, Lognormal Dağılım, Gamma Dağılımı, Log-Lojistik Dağılım, Diğer Dağılımlar (Doğrusal üstel Dağılım, Gompertz Dağılımı, Hazard Dağılımı basamak fonksiyonu olan dağılımlar). Sağkalım analizinde, elde edilen veriye hangi dağılımın uygulanacağı konusu ayrı bir önem taşır.

Model seçiminde ilk olarak elde edilen veriye uygunluğu test edilir. İkincisi, parametrik modellerin varsayımların geçerliliği araştırılır. Üçüncüsü, varsayımlar sağlanmadığında parametrik olmayan dağılımlar kullanılır.

Sağkalım dağılımları ve bunlara ilişkin Olasılık Yoğunluk Fonksiyonu, Birikimli Dağılım Fonksiyonu, Sağkalım Fonksiyonu, Hazard Fonksiyonları kısaca açıklanmıştır.

3.1.1. Üstel Dağılım

Sağkalım çalışmalarında en önemli ve en basit dağılım üstel dağılımdır. 1940'ların sonlarında araştırmacılar üstel dağılımı elektronik sistemlerin yaşam şemalarında kullanmaya başlamışlardır. Davis 1952'de üstel dağılımı banka hesap özetlerindeki ve hesap defterlerindeki hataları tanımlamakta kullanmıştır. Epstein ve Sobel 1953'te popüler olan normal dağılım yerine niye üstel dağılım kullandıklarını ve veri 1. tip ve 2. tip sansürlü olduğunda parametreleri nasıl tahmin ettiklerini açıklamışlardır.

Üstel dağılım tamamen rasgele başarısızlık modeli olarak da adlan-

dırılır. Birçok sağkalım verisi üstel dağılım tarafından yeterli derecede tanımlanamasa da, bazı genel durumlarda anlamayı kolaylaştırır (Lee and Wang.,2003).

Üstel dağılım tek parametreye sahiptir. Bu da sabit hazard oranı λ 'dır. Yüksek λ değerleri yüksek risk ve kısa sağkalım içerirken, düşük λ değerleri de düşük risk ve yüksek sağkalım içerir. $\lambda=1$ ise birim üstel fonksiyon adını alır.

Olasılık Yoğunluk Fonksiyonu;	$f(t) = \begin{cases} \lambda e^{-\lambda t} & t \geq 0, \lambda > 0 \\ 0 & t < 0 \end{cases}$
Birikimli Dağılım Fonksiyonu;	$F(t) = 1 - e^{-\lambda t} \quad t \geq 0$
Sağkalım Fonksiyonu;	$S(t) = e^{-\lambda t} \quad t \geq 0$
Hazard Fonksiyon;	$H(t) = \lambda \quad t \geq 0$

3.1.2. Weibull Dağılımı

Weibull dağılımı üstel dağılımın genelleştirilmesi halidir. Üstel dağılımdan farklı olarak sabit hazard oranına sahip değildir. Bu nedenle genelleyici uygulamaları daha fazladır. Bu dağılım Weibull tarafından bulunmuş ve bu adla anılmaktadır. Güvenilirlik çalışmalarında ve hastalık ölümlerinde kullanılır.

Weibull dağılımı hem oransal hazard oranını hemde erken başarısızlık zamanını gösteren tek parametrik regresyon modelidir.

Weibull dağılımı λ ve γ olmak üzere iki parametreye sahiptir. γ dağılımın şeklini belirlerken λ ölçüsünü belirler. Sonuç olarak γ ve λ parametreleri sırasıyla Şekil ve ölçüm parametreleri olarak adlandırılır. Zaman artarken $\gamma > 1$ olduğunda hazard oranı artar ve $\gamma < 1$ olduğunda hazard oranı azalır. Weibull dağılımı artan azalan veya sabit riskli kitle sağkalım dağılım modellerinde kullanılabilir.

Olasılık yoğunluk fonksiyonu;	$f(t) = \lambda \gamma (\lambda t)^{\gamma-1} e^{-(\lambda t)^\gamma} \quad t \geq 0, \lambda, \gamma > 0$
Birikimli dağılım fonksiyonu;	$F(t) = 1 - e^{-(\lambda t)^\gamma}$
Sağkalım fonksiyonu;	$S(t) = e^{-(\lambda t)^\gamma}$
Hazard fonksiyonu;	$h(t) = \lambda \gamma (\lambda t)^{\gamma-1}$

3.1.3. Lognormal Dağılım

Logaritmik normal dağılım bir değişkenin logaritmasının normal dağılımı olarak tanımlanır. Gaddum 1945'te bu dağılım yardımıyla biyoloji de uygulamalar yapmıştır. Boag's (1949) lognormal dağılımı kanser araştırmalarında uygulanmıştır. 1957'de Aitchison ve Brown tarafından ekonomide kullanılmıştır. Horner (1987) Alzheimer hastalığının başlangıç yaşı dağı-

lınının logaritmik normal dağıldığını göstermiştir (Lee and Wang, 2003).

$\log_e T$ (sağkalım zamanı T) μ ortalama, σ^2 varyansla normal dağılır. Sonuç olarak T logaritmik normal dağılır denilebilir ve T 'yi $\Lambda(\mu, \sigma^2)$ olarak yazılabilir. Ancak μ ve σ^2 logaritmik normal dağılımın ortalaması ve varyansı değildir. Parametrelerin farklı değerleri için hazard fonksiyonunun logaritmik normal dağılımıdır. Hazard fonksiyonu başta hızla artar; medyanı geçtikten sonra sonsuza yaklaşırken 0'a doğru azalır. Yani logaritmik normal dağılım, ilk başta artan sonra azalan bir hazard oranına sahip sağkalım hastaları için uygundur.

$$\text{Olasılık yoğunluk fonksiyonu; } f(t) = \frac{1}{t\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{1}{2\sigma^2}(\log_e t - \mu)^2\right] t > 0 \quad \sigma > 0$$

$$\text{Sağkalım fonksiyonu; } S(t) = 1 - G\left(\frac{\log_e at}{\sigma}\right)$$

$$\text{Hazard Fonksiyonu; } h(t) = \frac{(1/t\sigma\sqrt{2\pi}) \exp(-(\log_e at)^2 / 2\sigma^2)}{1 - G(\log_e at / \sigma)}$$

3.1.4. Gamma Dağılımı

Gamma dağılımı ki-kare ve üstel dağılımı içerir. Brown ve Flood (1947) bir kafeterya daki bardak kullanım zamanı için tanımlanmış ve Birnbaum ve Saunders (1958) materyallerin yaşam uzunluğu için bir istatistiksel model olarak tanımlamışlardır. İzleyen dönemde insan sağkalım problemlerinde sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (Miller, 2011).

Başarısızlık ya da ölüm (n) aşamadan veya (n) başarısızlık grubundan oluşur. İlk aşamanın sonunda T_1 zamanından sonra ilk başarısızlık alt grubu meydana gelir. Sonra ikinci aşama başlar ve T_2 zamanından sonra ikinci başarısızlık alt grubu meydana gelir ve böyle devam eder. Toplam başarısızlık veya ölüm n. aşamanın sonunda meydana gelir. Sağkalım zamanı $T_1 + T_2 + \dots + T_n$ olur. $T_1, T_2, \dots, T_n$ zamanlarından $\lambda \exp(-\lambda t_i)$, $i=1, 2, \dots, n$ olasılık yoğunluk fonksiyonuyla bağımsız λ sabit oranıyla meydana gelir. T 'nin dağılımını Erlangian dağılımı olarak adlandırılır.

Erlangian dağılımının genellemesinde γ herhangi bir gerçekte pozitif değer alır. n. ise 1, 2, ..., n tamsayılarınca kısıtlanır. Bu gamma dağılımı olarak adlandırılır. Gamma dağılımı γ ve λ olmak üzere iki parametreyle tanımlanır. $0 < \gamma < 1$ iken, negatif azalma var ve zaman 0'dan sonsuza artarken hazard oranı monoton bir şekilde sonsuzdan λ 'ya doğru azalır. $\gamma > 1$ ise pozitif bir artma söz konusudur ve hazard oranı zaman artarken λ 'ya doğru artar. $\gamma = 1$ ise hazard oranı λ 'ya eşittir. Gamma dağılımı olasılık yoğunluk fonksiyonu;

$$f(t) = \frac{\lambda}{\Gamma(\gamma)} (\lambda t)^{\gamma-1} e^{-\lambda t} \quad t > 0, \quad \gamma > 0, \quad \lambda > 0$$

Burada γ Şekil, λ ölçüm parametresidir. Yani γ 'deki değişim grafiğin şeklini değiştirirken, λ 'daki değişim ölçümü değiştirir. $\gamma > 1$ iken tek bir doruk noktası vardır. Bu doruk noktası $t = (\gamma-1) / \lambda$ 'dır.

$$\text{Birikimli dağılım fonksiyonu; } F(t) = \int_0^t \frac{\lambda}{\Gamma(\gamma)} (\lambda x)^{\gamma-1} e^{-\lambda x} dx =$$

$$F(t) = \frac{1}{\Gamma(\gamma)} \int_0^{\lambda t} u^{\gamma-1} e^{-u} du = I(\lambda t, \gamma)$$

$$I(s, \gamma) = \frac{1}{\Gamma(\gamma)} \int_0^s u^{\gamma-1} e^{-u} du$$

Bu pearson'un tamamlanmamış gamma fonksiyonudur.

$$\text{Erlangın dağılımı; } F(t) = 1 - \sum_{k=0}^{n-1} \frac{e^{-\lambda t} (\lambda t)^k}{k!},$$

$$\text{Sağkalım fonksiyonu } 1-F(t) \text{ ise; } S(t) = \int_t^{\infty} \frac{\lambda}{\Gamma(\gamma)} (\lambda x)^{\gamma-1} e^{-\lambda x} dx$$

$$\text{Gamma Dağılımı için; } S(t) = e^{-t} \sum_{k=0}^{n-1} \frac{(\lambda t)^k}{k!}$$

$$\text{Hazard Fonksiyonu; } h(t) = (n-1)! \sum_{k=0}^{n-1} \frac{1}{k!} (\lambda t)^k$$

3.1.5. Log-lojistik Dağılım

Weibull dağılımının alternatifidir. Eğer $\log(T)$ lojistik dağılıma sahipse T sağkalım zamanı log-lojistik dağılır. 2 parametreye sahiptir. Bunlar α ve γ 'dır. Bu dağılım ilk baştan artan daha azalan yani şekilde tümsek bir görüntü verir. Lognormal dağılımla karşılaştırıldıklarında benzer sağkalım fonksiyonuna ve hazard oranına sahiplerdir.

$$\text{Yoğunluk fonksiyonu; } f(t) = \frac{\alpha \gamma t^{\gamma-1}}{(1 + \alpha t^\gamma)^2}$$

$$\text{Sağkalım fonksiyonu; } S(t) = \frac{1}{1 + \alpha t^\gamma}$$

$$\text{Hazard fonksiyonu; } h(t) = \frac{\alpha \gamma t^{\gamma-1}}{1 + \alpha t^\gamma}$$

3.2. Grafik Yöntemleri ve Uyum İyiliği Testleri

Sağkalım deneylerinde olasılık modellerinin kullanımı, biyomedikal bilimlerde önemli bir rol oynar. Sağkalım dağılımlarının uyumu için iki basit şekil yöntemi ve istatistiksel uyum iyiliği testleri vardır.

3.2.1. Grafik Yöntemleri

Diğer istatistik yöntemlerde olduğu gibi sağkalım analizinde de verileri tanımlamanın ve sınamanın en etkili ve kolay yolu serpmeye diyagramıdır.

Serpme diyagramları basit ve kullanışlı oldukları için uzun zamandır verilerin gösterilmesi ve yorumlanmasında kullanılır. Sağkalım verilerinin analizinde veri setine uyduğu düşünülen dağılımın gerçekten uygun olup olmadığını belirlemek için de serpmeye diyagramına başvurulabilir. Bu bağlamda sağkalım analizi için iki serpmeye diyagramı kullanılmaktadır; Probably Plotting (Olasılık Grafiği), Hazard Ploting (Hazard Grafiği).

Serpme diyagramıyla uygun dağılım seçildiğinde, Olasılık Grafiği veya Hazard grafiği oluşturulursa, sonuç bir düz çizgi şeklinde olacaktır.

Serpme diyagramının doğrusal olmayan farklı bir görüntü varsa bunun iki nedeni olabilir; Yanlış teorik dağılım seçilmiştir, Örneklem dağılımı bir kitleden seçilmiş olabilir.

3.2.1.1. Olasılık Grafiği

Tam (sansürlü) veri setleri için kullanışlı bir yöntemdir. Örneklemenin birikimli dağılım eğrisi çizilerek verilere uyduğunu düşünülen teorik dağılıma karar verilir (normal, lognormal, üstel, Weibull gamma v.b.). Sonra bu dağılım için özel yapılmış hazır olasılık şablonları ya da paket programlar yardımıyla olasılık grafiği çizdirilir. Seçilen dağılım gerçekten uygunsa birikimli veriler çizgi etrafında düzgün şekilde dağılım gösterir. Birikimli dağılım eksenini olasılık ölçeğinde ve gözlemlerin bulunduğu eksen ise doğrusal ya da logaritmik ölçektedir.

3.2.1.2. Hazard Grafiği

Hazard Grafiği (Nelson 1972), Olasılık grafiğine benzerdir; en önemli farkı, gözlem değerlerine karşılık; birikimli olasılık değerleri yerine hazard değerleri ile çizilmesidir. Hazard grafiği sansürlü verileri de kapsamaları için tasarlanmıştır ve hazard oranı grafiği yardımıyla kolayca çıkarılabilir. Standart olasılık ifadeleri hazard şablonundaki bir yardımcı olasılık ölçeğinden ayrıca sağlanabilir. Olasılık grafiğine benzer olarak hazard grafiğinin de bilgisayarda programlanabilir ve parametre tahminleri bu şekilde elde edilebilir.

Hazard şablonları üstel, lognormal, normal ve extreme-değer dağılımları için edinilebilir. Hazard şablonları altta birikimli hazard oranı olan yatay ölçeğe sahiptir. Normal ve üstel hazard şablonları zaman için doğrusal dikey ölçeklere sahipken, Weibull ve lognormal şablonlarda bu ölçekler logaritmiktir. Hazard grafiği, aşağıdaki altı basamaktan oluşur: Birincisi, n gözlemleri –sansürlü olup olmadığını gözetmeksizin- küçükten büyüğe sıralanır. Sansürlüleri (+) ile belirtir. Eğer, bazı tam ve sansürlü göz-

lemeler aynı değere sahipse, bunlar rasgele olarak sıralanmalıdır. İkincisi, Sıralanmış gözlemleri ters olarak (n'den başlayarak) numaralandırılır. Bu numaralar K değeri olarak alınır. Sansürsüz gözlemler için K, o anda hala risk altında olan denek sayısıdır. Üçüncüsü, Sansürsüz değerler için uygun hazard değerleri oluşturulur. Sansürlü veriler hazard oranı içermez. Sansürsüz gözlem için hazard oranı $100(1/K)$ 'ya kadar yaşayıp ondan sonra ölenin yüzdelik dilimi ile hesaplanır. Bu olasılık koşullu başarısızlık olasılığıdır. Dördüncüsü, Her sansürsüz gözlem için birikimli hazard değerleri hesaplanır. Beşincisi, Verilere uygun teorik dağılıma karar verilir. Uygun hazard şablonuna her sansürsüz gözleme karşılık uygun birikimli hazard değeri çizilir. Ve son olarak, Çizilen grafiği doğrusallık açısından incelenir. Eğer şekil doğrusalsa verilere bir düz çizgi uydurulur. Bu çizgiyi kullanarak parametre tahminlemesi yapılabilir. Eğer doğrusal bir görüntü yoksa nedeni araştırılır ve/veya başka bir dağılımın hazard şablonu uyarlanır (Miller, 2011).

3.2.1.3. Uyum İyiliği Testi

Uyum iyiliği testleri, çizilen olasılık ya da hazard grafiğinde verilerin gerçekten de seçilen dağılımlardan gelip gelmediğini kontrol için kullanılır. Her teorik dağılım için yapılmış özel testler vardır. $F(t)$, veri dağılımının temelindeki dağılım ise, genel sıfır hipotezi şu şekildedir; $H_0 : F(t) = F_0(t)$, $F_0(t)$, belirli dağılımı simgeler. Önemli olan 4 uyum iyiliği testi vardır, bunlardan üçü tamamlanmış veriler için, bir de sansürlü veriler için uyum iyiliği testi vardır. Bunlar; Üstel dağılım için WE testi, Lognormal dağılım için W testi, Ki-Kare Uyum İyiliği Testi, Sansürlü Veriler İçin Uyum İyiliği Testidir. Bu çalışmada sadece sansürlü veriler için uyum iyiliği testi yapıldığından dolayı, sadece Sansürlü Veriler İçin Uyum İyiliği Testi incelenecektir. Ki-kare uyum iyiliği testi, sansürlü veriler olduğunda uygun değildir. Bu durumda, sansürlü veriler için uyum iyiliği testi kullanılır. Rasgele sansürlü gözlemler içeren veriler için birkaç uyum iyiliği testi geliştirilmiştir. Gözlemler $t_1 < t_2 < \dots < t_n$ şeklinde sıralanır. Bunlardan bazıları sansürlü olabilir. Eğer sansürlü gözlem sansürlü olmayanla aynı değere sahipse, sansürlü olan öne yazılmalıdır. Sıfır hipotezi; $H_0: S(t) = S_0(t)$ 'dir.

Kaplan-Meier product-limit metodu kullanılarak $S(t)$ aşağıdaki şekilde tahmin edilir.

$$\hat{S}(t) = \prod_{\substack{t_{(i)} \leq t \\ t_i \text{ sansürlü}}} \frac{n - i}{n - i + 1} \quad t_i < t < t_{(i+1)}$$

Hollander ve Porschan'in test istatistiği

$$C = \sum_{\substack{\text{bütün} \\ \text{sansürlü} \\ \text{gözlemler}}} S_0(t_{(i)}) \hat{f}(t_{(i)}), \quad \hat{f}(t_{(i)}) = \frac{1}{n} \prod_{j=1}^{i-1} \left(\frac{n-j+1}{n-j} \right)^{1-\delta_{(j)}}$$

$t_{(j)}$ sansürlüyse $\delta_{(j)}=1$ sansürlüyse $\delta_{(j)}=0$ 'dır. Sıfır hipotezi altında,

$$C^* = \sqrt{n} \left(C - \frac{1}{2} \right) / \hat{\sigma}, \quad \text{Standart normal dağılım izler. } \hat{\sigma} \text{ C'nin stan-}$$

dart sapmasının kestirimi olup şu şekilde hesaplanır:

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{16} \sum_{i=1}^n \frac{n}{n-i+1} \left[S_0^4(t_{(i-1)}) - S_0^4(t_{(i)}) \right], \quad H_0: S = S_0 \text{ hipotezine karşı } H_A: S > S_0$$

hipotezini test ederken eğer $C^* < -Z_{\alpha}$ ise sıfır hipotezini reddederiz. Aynı şekilde, $H_A: S < S_0$ 'ın testinde $C^* > Z_{\alpha}$ ise ve $H_A: S \neq S_0$ hipotezinde $C^* > Z_{\alpha/2}$ ya da $C^* < -Z_{\alpha/2}$ ise sıfır hipotezi reddedilir. Burada Z_{α} , standart normal dağılımın üst α yüzdelik noktasını belirtir.

4. Parametrik Olmayan Analiz Yöntemleri

Sağkalım analizinde, dağılımın fonksiyonel formu için çeşitli tanımlamaların yapıldığı parametrik yöntemlerin yanı sıra, özel bir dağılım varsayımına dayanmayan parametrik olmayan yöntemlerde kullanılabilir. Sansürlü gözlemlerin varlığı, deneysel dağılım fonksiyonları ya da histogram gibi grafiksel süreçlerin ve sıralara dayalı klasik parametrik olmayan yöntemlerin uygulanmasını engeller. Sağkalım sürelerinin dağılımının normal olduğu bilinmiyorsa **parametrik olmayan yöntemler** kullanılır.

Parametrik olmayan yöntemleri, sağkalım analizi ve diğer analizlerde olduğu gibi temelde örneklemin seçildiği kitlenin dağılımı hakkında yeterli bilgi olmadığı zaman tercih edilir. İstatistikte birçok alanda bu testlerden faydalanılır.

Bunun yanında sağkalım verilerinin, özel durumundan dolayı farklı seçilme sebepleri de vardır. Bunlardan birincisi, Sağkalım süresi genelde sola çarpık, yani pozitif çarpıklığa sahip değişkenlerdir. Standart parametrik dağılımlar (normal, log-normal, gamma, vb.) ise simetrik veya sağa çarpık olduklarından sağkalım verilerinin analizinde parametrik olmayan yöntemlerin kullanması daha uygun olmasıdır. İkincisi, bu testlerin sansürü hesaba katmasına karşın kullanışsız olmalarıdır. Çünkü, parametrik olmayan yöntemler parametre olarak konum parametreleri (medyan gibi) kullandığı için, bu parametreler uç değerlerden veya sağkalım verileri için sansürlü gözlemlerden, araştırma sonuçlarını etkileyecek ve hatta yanlış-

malar getirecek şekilde etkilenmez. Üçüncüsü, Parametrik olmayan tahminler sansürü daha kapsamlı hesaba kattıkları için daha uygundur ve daha çok tercih edilir. Son olarak ise veri setlerinin özellikleriyle ilgilidir. Bazı veri setleri dağılım bakımından farklı özelliklere sahip olabilirler.

Bu özelliklerden dolayı verilerin parametrik dağılımlara uyarlanması zorlaşır. Tüm bunların yanında parametrik olmayan modellerin birçok eksiklikleri de vardır, bunlar, Aynı verilere uygulanan farklı parametrik olmayan testler farklı sonuçlar verebilmektedir. Bu da testlerin gücünün zayıf olduğunu gösterirler, Parametrik olmayan veya dağılımsız (distribution-free) yöntemleri anlamak ve uygulamak oldukça basitlerdir, Bu yöntemler sağkalım zamanları teorik bir dağılım izlendiğinde daha az etkili, bu zamanlar bilinen teorik bir dağılıma uygun olmadığı zaman daha fazla etkilidir. Bu yüzden verileri teorik bir dağılıma uydurmaya çalışmadan önce sağkalım verilerinin analizi için parametrik olmayan yöntemler kullanılmalıdır, eğer amaç, veriler için model bulmaksa, yine parametrik olmayan yöntemler kullanılmalıdır.

Bu bağlamda, veriler için bir model bulmak durumunda, parametrik olmayan yöntemlerden ve grafiktekilerden elde edilen tahminler, dağılımın seçilmesine yardımcı olacaktır. En önemli parametrik olmayan analiz yöntemleri; Kaplan-Meier Yöntemi ve Hayat Tablosu Analizleri.

4.1. Kaplan-Meier Yöntemi

Kaplan ve Meier (1958), sağkalım ilişki fonksiyonu tahmini için Product-Limit metodunu geliştirdiler. Bilgisayar kullanılabilirliğinin de artmasıyla bu methodun küçük, orta ve büyük örneklemeler için kullanımı uygunluk kazandı (Lee and Wang.,2003). Bu yöntem şu şekilde açıklanabilir. Özel bir sonuç olay açısından (ölüm, remisyon, organ reddi, vs.) yapılan izleme çalışmalarında, olayın sıklığının (oranının, olasılığının) zamana bağlı değişimini çözümlenmede kullanılan yöntemlerden biridir. Her olay zamanı için yeni bir olasılık tahminlenmektedir, bu da sonuçta basamak görüntülü bir düzen yansıtır. Doğal olarak olay zamanları arası belli bir sıra izlemez. Kayıp veya tamamlanmamış olgular hesaplamalarda paydadan eksilirler (Şenocak, 1999; Harrell'den, 2001). Birçok analizde Kaplan-Meier yönteminin, son basamak olabileceği ya da bu adım, gelişmiş analizlerde başlangıç adım olarak istatistiksel model seçimine yardımcı olabileceği ifade edilmektedir (Harrell,2001).

4.1.1. Kaplan-Meier İçin Sağkalım Fonksiyonun Tahmini

Öncelikle hiçbir gözlemlerde sansür olmadığını, tek bir örnek için sağkalım zamanlarına sahip olunduğu düşünülebilir. Sağkalım fonksiyonu $S(t)$, t 'den büyük ya da ona eşit zamanlar için sağkalan bireylerin sağkalım olasılığıdır. Bu fonksiyon, deneysel (emprical) sağkalım fonksiyonundan tahmin edilir.

Bu da, $\hat{S}(t) = \frac{t' \text{ ye eşit yada } t' \text{ den büyük zamanda sağ kalan birey sayısı}}{\text{Veri setindeki birey sayısı}}$ 'dır.

Dolayısıyla, $\hat{S}(t) = 1 - F(t)$ olur. $F(t)$, t zamanında yaşayan toplam birey sayısının, çalışmadaki toplam birey sayısına oranıdır. $\hat{S}(t)$ 'nin iki ardışık ölüm zamanı arasında sabit olduğu varsayıldığı için $\hat{S}(t)$ 'nin t 'ye karşı grafiği basamak fonksiyonu olarak adlandırılır. Bu fonksiyon gözlenen her sağkalım zamanı da azalır (Harrell, 2001).

Sansürlü sağkalım verisinin örnekleminden sağkalım fonksiyonunun Kaplan-Meier tahminini belirtmek için hayat tablosu gibi zaman aralıkları serisi düzenlenir (Collett, 1994). Hayat Tablosu yöntemine göre temel fark, araştırmacının belirlediği zaman aralıkları çerçevesinde değil, gerçekleşen her ölümden beliren yeni –eşit olmayan- zamanlarda kestirim yapılmasıdır (Şenocak, 1992). Her bir aralık bir ölüm zamanını içerecek şekilde yapılır ve bu ölüm zamanı aralığın başındadır.

Genel olarak, $t_1, t_2, \dots, t_n$ sağkalım zamanlarında gözlenen n tane birey vardır. Bunlardan bazıları sağdan sansürlü olabilir ve aynı sağkalım zamanında gözlenen birden fazla birey olabilir. Bu nedenle $r \leq n$ zamanında bireylerin kendi içinde de r ölüm olduğu düşünülür. Bu ölüm zamanlarını sıraya göre düzenledikten sonra her $i = 1, 2, \dots, r$ 'de r 'nin sırası $t_{(1)} < t_{(2)} < \dots < t_{(r)}$ olarak gösterilir. t_i 'den önce yaşayan ve t_i 'ye gelmeden hemen önce ölen bireylerin sayısı n_i ve t_i anında ölen birey sayısında d_i ile gösterilir. $t_{(i)} - \delta$ 'den $t_{(i)}$ 'ye kadar olan zaman aralığı, δ 'nın, son derece çok küçük bir aralık olduğu yer, bir ölüm zamanı içerir. $t_{(i)}$ 'den önce yaşayan n_i birey ve t_i 'den önce ölen d_i bireyin $t_i - \delta$ 'den t_i 'ye kadar ölüm olasılığı, d_i/n_i 'dir. Bu aralık içinde sağkalma olasılığı da $(n_i - d_i)/n_i$ olarak bulunur. Bazen bir veya daha fazla ölümler aynı zamanda sansürlü sağkalım süreleri olabilir. Bu durumda n_i değerini hesaplarken, sansürlü sağkalım süresi ölüm zamanından hemen sonra gelen zaman olarak düşünülür (Collett, 1994). d_i , t_i anındaki ölüm sayısı, c_i , t_i anındaki sansürlü gözlem sayısı, bunlardan da riske maruz kalan birey sayısı yani, $n_i = n_{i-1} - d_{i-1} - c_{i-1}$ Elde edilir.

$$P[T \geq t_i | T \geq t_{i-1}] = 1 - \frac{d_i}{n_i}, \text{ İzleyen aşamada, sağkalım fonksiyonu}$$

için Kaplan-Meier tahmini hesaplanabilir. ,

$$P[T \geq t_i] = P[T \geq t_i | T > t_{i-1}] \times P[T \geq t_{i-1}], \quad P[T \geq t_i] = \prod_{j=1}^i \left(1 - \frac{d_j}{n_j} \right), \quad \hat{S}(t) = \prod_{j=1}^i \left(\frac{n_j - d_j}{n_j} \right)$$

$$\hat{S}(t) = \prod_{j=1}^i \left(\frac{n_j - d_j}{n_j} \right)$$

$i = 1, 2, \dots, r$ için $t_{(i)} \leq t \leq t_{(i+1)}$, $t < t_{(1)}$ için $\hat{S}(t) = 1$ 'dir. Eğer en büyük gözlem sansürlüyse, t^* , $\hat{S}(t)$, $t > t^*$ 'da tanımlanmaz. Diğer taraftan en büyük gözlem sansürsüz ise, $n_r = d_r$ olur ve bu nedenle $\hat{S}(t)$, $t \geq t_{(r)}$ için sıfır olur. Kaplan-Meier sağkalım fonksiyonu tahmini, tahminin sağkalım olasılıkları bir sonraki ölüm zamanına kadar sabit ve her ölüm zamanında azalan bir basamak fonksiyonudur. Eğer veri setinde sansürlü gözlem yoksa, $j = 1, 2, \dots, i$ için $n_j - d_j = n_{j+1}$ olur. Hesaplama şöyle olur;

$$\hat{S}(t) = \frac{n_2}{n_1} \times \frac{n_3}{n_2} \times \dots \times \frac{n_{i+1}}{n_i} \quad \text{Elde edilir. Bu da } i=1, 2, \dots, r-1 \text{ için } \frac{n_{i+1}}{n_1}$$

olarak sadeleşir. Yine $t < t_{(1)}$ iken $\hat{S}(t) = 1$ ve $t > t_{(r)}$ iken $\hat{S}(t) = 0$ olur. n_1 , ilk zamanından önce risk altındaki bireylerin sağkalım zamanıdır. n_{i+1} , t_{i+1} 'den büyük ya da eşit zamandaki bireylerin sağkalım zamanıdır (Collett, 1994). Bu tahminler genel olarak beş sütundan oluşan bir tablo oluşturularak hesaplanır: 1. sütun tam sağkalım sürelerini içerir. Tüm sansürlü ve sansürsüz gözlemler küçükten büyüğe doğru sıralanır. Sansürlü gözlemlere (+) işareti eklenir. Eğer bir sansürlü gözlem sansürsüzle aynı değere sahipse, sansürsüz öne yazılır. 2. sütun, i ile tanımlanır ve 1. sütundaki her gözlemin uygun sırasını içerir. 3. sütun, r ile tanımlanır, sadece sansürsüz gözlemlere aittir. $r = i$ yapılır. $\frac{n-r}{(n-r+1)}$ veya p_i , her bir sansürsüz gözlem

için, 4. sütun t_i 'ye kadar olan her bir sağkalan birey oranını verir. 5. sütunsa, $\hat{S}(t)$, tüm $(n-r) / (n-r+1)$ değerlerinin çarpımıdır ve t 'yi içerir. Eğer bazı sansürsüz gözlemler eşitse, en küçük $\hat{S}(t)$ değeri kullanılır. Tabloyu oluşturmak için daha farklı yöntemlerde vardır (Şenocak, 1992; Saygı ve Bayhan, 2010).

Kaplan-Meier yöntemi sağkalım dağılımlarının şekil gösteriminde çok kullanışlıdır. Sağkalım veri analizinde en çok kullanılan metottur. Bununla birlikte bazı kritik özelliklerinden sözedilebilir. Bunlar; ilki Kaplan-Meier tahminleri gözlemlerin düştüğü zaman aralıklarını sınırlandırır. Eğer en büyük gözlem sansürsüzse, Product-Limit tahmini'nin 0'a eşit olduğu ifade edilmişti. Fakat bunun olması için örneklemden hiçbir bireyin ayrılması gerekir. Eğer en büyük gözlem sansürlü ise, Product-Limit tahmini asla 0 olmaz. En büyük gözlemden sonra tanımsızdır. İkincisi, Sağkalım analizlerindeki özel istatistiklerde en çok kullanılan medyan sağkalım süresidir. Medyanın basit bir tahmini, zamanın t , $\hat{S}(t) = 0,5$ olduğu Product-Limit metoduyla sağkalım eğrisinden tahminlenebilir. Buna rağmen çözüm tek değildir. Üçüncüsü, Eğer gözlemlerin %50'den fazlası

sansürlüyse ve en büyük gözlem sansürlüyse, medyan sağkalım süreleri tahminlenemez. Bu durumu pratik bir şekilde kullanmak için verilen zaman uzunluğunun sağkalım olasılığını kullanırız. 1, 3, 5 yıl ya da t zamanla sınırlandırılmış sağkalım ortalaması gibidir. Dördüncüsü, Product-Limit methodu, sansürlemenin sağkalım zamanlarından bağımsızlığını varsayar. Diğer bir söylemle bir gözlemin sansürlenme nedeni ölümünün nedeniyle ilişkilendirilemez. Örneğin, eğer çalışma süresi sonunda balık hala yaşamaktaysa doğrudur. Buna karşın, eğer balık kan örneği için alınmışsa yani öldürüldüyse, ya da çalışanlardan biri balığı almışlarsa varsayımına uymamaktadır. Eğer uygunsuz bir sansürleme varsa, Product-Limit metodu uygun değildir. Pratikte problemi azaltmanın bir yolu sansürden kaçınacak önlem almak ve bunu minimuma indirmektir. Ve son olarak, Diğer tahminleyicilere benzer şekilde, $S(t)$ 'nin Kaplan-Meier tahminleyicisinin standart hatası $[SE]$, $\hat{S}(t)$ 'nin potansiyel hatasının belirlisini verir. Güven aralığı $\hat{S}(t)$ nokta tahmininden daha güvenilirdir. $\hat{S}(t)$ için %95 güven aralığı $\hat{S}(t) \pm 1,96SE [\hat{S}(t)]$ 'dir.

4.1.2. Kaplan-Meier Yöntemi İçin Sağkalım Zamanının Yüzdelik Tahmini

Sağkalım zamanının dağılımı çarpıklığa yakınsa konum parametresi olarak medyan tercih edilir. İlk olarak sağkalım fonksiyonu tahminlenmelidir. Bu şekilde medyan tahmininde güvenilir sonuç alınır. Bu zaman, bireylerin %50'sinin sağkalmasının umulduğu zamandır. $T(50)$ veya $S\{t(50)\}=0,5$ şeklinde gösterilir. $S(t)$ 'nin parametrik olmayan tahmini basamak fonksiyonu olduğu için, sağkalım fonksiyonunu 0,5 yapan değeri bulmak her zaman mümkün olmaz. Bunun yerine medyan sağkalım süresi $t(50)$, sağkalım fonksiyonu 0,5'den küçük olarak gözlenen en küçük sağkalım süresidir. Matematiksel gösterimi;

$$t(50) = \min \left\{ t_j \mid \hat{S}(t_j) \leq 0.5 \right\} \text{ şeklinde olup; Burada; } t_j ; \text{ gözlenen sağ-}$$

kalım süresi, j ; birey, $j=1, 2, 3, \dots, r$ 'yi ifade eder. Bazı durumlarda her t değerinin sağkalım fonksiyonu 0.5'ten büyük olabilir. Bu gibi durumlarda medyan sağkalım süresi; $SIQR(\text{semi interquartile range}) = \frac{1}{2} \{t(75) - t(25)\}$

formülünden bulunur. Burada $t(25)$ ve $t(75)$ birinci ve üçüncü çeyrek değerlerdir (Goel, vd., 2010; Guyot vd., 2012).

4.1.3. Kaplan Meier Yöntemi İçin Sağkalım Fonksiyonu İçin Aralık Tahmini

Buraya kadar anlatılanlar sağkalım fonksiyonunun nokta tahminleyicisiydi. Bunun yanında Kaplan-Meier sağkalım fonksiyonunun tahmini için varyans, standart sapma ve ortalama aşağıdaki gibidir. Product Limit tahminin varyansı; $\text{Var}[\hat{S}(t)] \cong [\hat{S}(t)]^2 \sum_r \frac{1}{(n-r)(n-r+1)} r > 0$. Dolay-

sıyla standart sapma bir başka gösterim şekliyle; $se_j = \sqrt{\sum_{k=1}^j \frac{d_k}{n_k(n_k - d_k)}}$ olarak hesaplanır. Product Limit ortalaması ise;

$$\mu = \int_0^{\infty} \hat{S}(t) dt \quad \text{Burada,}$$

$$\mu = 1000t^{(1)} + \hat{S}(t^{(1)})(t^{(2)} - t^{(1)}) + \hat{S}(t^{(2)})(t^{(3)} - t^{(2)}) + \dots + \hat{S}(t^{(m-1)})(t^{(m)} - t^{(m-1)})$$

değerine eşittir.

Bu tahminler için sansürlüz gözlemler kullanılır. Fakat en büyük gözlem sansürlüyse $t^{(m)}$ alınır. Örneğin en son gözlem 15+ ise bir limit olarak μ_L ve $t^{(m)}$ için L kullanılır. Varyans ve ortalama sağkalım süresi, $S(t)$ 'nin güven aralıklarını tahminlemede kullanılır. Sağkalım fonksiyonundaki değerler için güven aralığının, diğer istatistiksel fonksiyonların güven aralığı tahminlerindeki üst ve alt limitleri gibi oluşturulmasının kimi zorlukları vardır. Bu güçlük sağkalım fonksiyonunun kendine özel yapısı, yani normallikten uzaklığıdır. Bu dezavantajı etkisizleştirmek için logaritmik değerleri kullanılır. Böylelikle aralık hem simetrik olur, hem de limit 0 ile 1 değerleri arasında kalır. Yani sonuç olarak $100(1-\alpha) \%$ 'lik güven aralığı; $\hat{S}(t)^{\exp[\pm z_{\alpha/2} se \{\log[-\log S(t)]\}]}$ olarak bulunur.

4.2. Hayat Tablosu Analizleri

Hayat tablosu yöntemi bir kitlenin sağkalım denemelerinin en eski yöntemleridir (Lee and Wang.,2003). Bu yöntem, araştırmacının olgu sonuçlarını, araştırmacı tarafından belirlenen zaman aralıkları çerçevesinde gruplayarak değerlendirilir. Belli aralıklar içinde değerlendirme yapmanın getirdiği bazı varsayım sakıncalarına karşın, diğer yönteme (Kaplan-Meier) göre de getirdiği bazı özel ölçütleri bulunmaktadır. Yaşam tablosu yönteminin toplam olgu sayısının oldukça yüksek olduğu çalışma örnekleri için ($n \geq 100$) kullanılması önerilmektedir. Yöntem başlangıçta %yüz olan yaşama olasılığının belirli bir süreç aralıkları ile eriştiği-düştüğü- yeni yaşama olasılık düzeylerini belirler (Şenocak, 1992; Saygı ve Bayhan, 2010).

Hayat tabloları sigortacılıkta, demografide, hükümet acentelerinde, tıbbi araştırmalarda, medikal çalışma alanlarında (sağkalım, nüfus artışı, göç ve doğum oranı, evli kalma süresi, çalışma sürelerinde) kullanılır.

4.3. İki Sağkalım Dağılımının Karşılaştırılması

Sağkalım dağılımı karşılaştırma problemleri en az iki grubun yaşam sürelerini karşılaştırmak istendiğinde kullanılır. Burada ilgilenilen sorundan kurtulma zamanı ya da sağkalım zamanının grup içi değişimidir. Bu

farklılıklar sağkalım dağılımı serpmeye diyagramı çizilerek gösterilebilir. Ama bu gösterim yüzeysel bir tahmin olacaktır. Farkların önemini açıklamak için Sansürlü veriler için kullanılan istatistiksel testler testlerden yararlanılır. Bu testlerin önemlileri; Gehan'ın Genelleştirilmiş Wilcoxon Testi, Peto and Peto Genelleştirilmiş Wilcoxon testi, Cox-Mantel Testi, Logrank testi, Cox's F testi'dir.

Kullanılan testlerin hepsi skorlamaya dayanmaktadır. Görülen ilk 4 test kendi arasında iki gruba ayrılabilir. Bunlar genelleştirilmiş Wilcoxon testleri (Gehan ve Peto-Peto) ve Wilcoxon olmayan testler (Cox-Mantel ve Logrank). Eğer Logrank testinde 2. gruptaki w skor toplamı S istatistiği ise bu Cox – Mantel testindeki U ile aynı olur.

Hangi testin kullanılacağı seçilirken dikkat edilen nokta hangisinin daha güçlü olduğu yani hangisinin yanlış hipotezi daha yüksek oranda reddettiğidir. Örneklem genişliği küçük olduğunda ($n_1, n_2 \leq 50$), örneklem Weibull ya da üstel dağılımdan geldiğinde ve sansürlü veri yoksa ya da sansürlü veriler 1. ve 2. tipse Gehan ve Thomas Cox F testinin Gehan'ın genelleştirilmiş Wilcoxon testinden daha güçlü olduğunu ifade edilmektedir. Veriler sansürlü olsun olmasın eğer örnekleme dağılımı üstel dağılımdan geliyorsa Cox-Mantel ve Logrank testleri Wilcoxon testlerinden daha güçlüdür. Örneklem sabit hazard oranıyla Weibull dağılımından geliyorsa tüm testler yaklaşık sonuçlar verir. Ama hazard oranı sabit değilse Wilcoxon testleri diğerlerinden daha güçlüdür. Eğer Hazard fonksiyonları paralel değilse, sansürlülük yoksa, sağkalım zamanının logaritması eşit varyanslı ama farklı ortalamaya sahip normal dağılımdansa Wilcoxon testleri daha güçlüdür.

Logrank testi erken ya da geç başarısızlığa eşit derecede önem verirken Wilcoxon testleri erken başarısızlığa daha fazla önem verir. Gehan'ın genelleştirilmiş Wilcoxon testi sağdan sansürlü verilerde daha kritik sonuçlar verir. Eğer yüksek sansürlülük varsa, test istatistiği düşük değerli erken başarısızlıklarda daha üstün olurken güçsüzleşir.

Bazı durumlarda ne Logrank nede Wilcoxon testleri etkilidir. İki dağılım birbirinden farklıyken sağkalım ya da hazard fonksiyonları çakışıyor Logrank ya da Wilcoxon testlerinden daha güçlü testler olarak kullanılır (Başar, 1993).

4.3.1. Gehan'ın Genelleştirilmiş Wilcoxon Testi

1. gruptaki her x_i veya x_i^+ gözlemi 2. gruptaki her y_i veya y_i^+ gözlemiyle karşılaştırılır ve her karşılaştırma sonucuna u_{ij} sonuç değeri verilir. Burada hipotezler;

$$H_0: S_1(t) = S_2(t)$$

$$H_A: S_1(t) > S_2(t)$$

İse;

Test İstatistiği;

$$u_{ij} = \begin{cases} +1 & x_i > y_i \text{ veya } x_i^+ \geq y_i \\ 0 & x_i = y_i \text{ veya } x_i^+ < y_i \text{ veya } y_i^+ < x_i \\ -1 & x_i < y_i \text{ veya } x_i \leq y_i^+ \end{cases}$$

$W = \sum_{i=1}^{n_1} \sum_{j=1}^{n_2} u_{ij}$ olur. Burada; n_1 ve n_2 büyük olduğunda W 'nin hesap-

lanması zorlaşır. Mantel her gözleme ait sıranın işaretlenmesiyle alternatif bir çözüm göstermiştir. Gehan hesaplanmasında 1. örneklemdeki her gözlem 2. örneklemdeki her gözlemle karşılaştırılır. Eğer iki örneklem n_1+n_2 şeklinde havuzlanmışsa n_1+n_2-1 alınarak karşılaştırılır. H_A hipotezi doğruysa W büyük bir pozitif değere sahiptir. Gehan tarafından formüle edilen varyans yerine Mantel tarafından bulunan permütasyonel varyans kullanılır.

$$\text{var}(W) = \frac{n_1 n_2 \sum_{i=1}^{n_1+n_2} u_i^2}{(n_1 + n_2)(n_1 + n_2 - 1)}, \quad H_0 \text{ hipotezinin doğruluğu altında}$$

W sıfır ortalama ve varyansla normale yaklaştığı varsayılır.

4.3.2. Peto ve Peto'nun Genelleştirilmiş Wilcoxon Testi

Logrank testine benzer olarak her gözlem için skor değerleri belirlenir. Sansürlüz t gözlemi için skor değeri $u_i = \hat{S}(t+) + \hat{S}(t-) - 1$ ve sansürlü gözlem T için skor değeri $u_i = \hat{S}(T) - 1$ 'dir. Buradaki $\hat{S}$ Kaplan-Meier sağkalım fonksiyonu tahminidir. Başka bir şekilde sansürlüz gözlem için skor $u_i = \hat{S}(t_i) + \hat{S}(t_{i-1}) - 1$ ve sansürlü gözlem için skor $u_i = \hat{S}(t_i) - 1$ olarak da hesaplanabilir. Skorlar atandıktan sonraki tüm işlemler logrankla aynıdır.

4.3.3. Cox-Mantel Test

$t_1 < \dots < t_k$ her iki grubun başarısızlık zamanı ve m_i başarısızlık zamanı sayısı olsun. $\sum_{i=1}^k m_i = r_1 + r_2$

$R(t)$, t zamanındaki risk olarak adlandırılır n_1 ve n_2 $R(t)$ zamanındaki birey sayısıdır. Toplam gözlem sayısı; $r_1 = n_{1t} + n_{2t}$, $U = r_2 - \sum_{i=1}^k m_i A_i$,

$$I = \sum_{i=1}^k \frac{m_i (r_i - m_i)}{r_i - 1} A_i (1 - A_i) \quad . \text{Burada } r_i \text{ başarısızlık ya da sansürlü göz-}$$

lem sayısı, A_i 2. gruba ait r_i oranıdır. Test istatistiği; $C = \frac{U}{\sqrt{I}}$ 'dır.

4.3.4. Logrank Testi

Gözlemlere atanan w_i skor değerlerinde dayanır. Skorlar sağkalım fonksiyonlarının logaritmik fonksiyonudur. Altshuler'in tahminlediği logaritmik sağkalım fonksiyonu; $-e(t_i) = -\sum_{j \leq t_i} \frac{m_j}{r_j}$ Sansürlü gözlemler için

$w_i = 1 - e(t_i)$ ile skor hesaplarırken sansürlü gözlemler için $-e(T)$ kullanılır. Pratikte t_i^+ sansürlü gözlemi için skoru $w_i = 1 - e(t_i)$ formülüyle de hesaplanabilir. Burada t_i en büyük sansürlü gözlemdir. S iki grubun toplam skor sayısıdır.

$$\text{Var}(S) = \left\{ \sum_{j=1}^k \frac{m_j (r_j - m_j)}{r_j} \right\} \frac{n_1 n_2}{(n_1 + n_2)(n_1 + n_2 - 1)}, \quad \text{Test istatistiği;}$$

$L = \frac{S}{\text{Var}(S)}$, Logrank testinin benzer bir şekli gözlenen değerlerle beklenen değerleri karşılaştıran ki-kare testidir. Test istatistiği;

$$\chi^2 = \frac{(O_1 - E_1)^2}{E_1} + \frac{(O_2 - E_2)^2}{E_2}, \quad E_1 \text{ ve } E_2 \text{ beklenen değerleri hesaplanırken}$$

t zamanında ölenlerin sayısı d_t 'de hesaba katılır.

$$e_{1t} = \frac{n_{1t}}{n_{1t} + n_{2t}} x d_t, \quad e_{2t} = \frac{n_{2t}}{n_{1t} + n_{2t}} x d_t, \quad E_1 \text{ ve } E_2, e_{1t} \text{ ve } e_{2t} \text{ 'nin toplama}$$

mına eşittir.

4.3.5. Cox F Testi

Üstel dağılımdan sıralanan skora dayanır. Bu test 1. ve 2. tip sansürlü örneklem için veya sansürlü gözleme sahip olmayan örneklem için geçerlidir. 3. tip sansürlü örneklere uygun değildir. Uygulama şekli şöyledir. İlk olarak, Örneklemdeki gözlemler sıralanır, Birim üstel dağılımla bulunan $f(t) = e^{-t}$ değerleri ile yeniden sıralama yapılır. r. Gözlemin beklenen değeri; $t_n = \frac{1}{n} + \dots + \frac{1}{n - r + 1}$ $r = 1, \dots, n$. İkinci olarak, Sansüre sahip

olmayan gözlemler için hipotez testleri kurulur. F testi $\bar{t}_1 / \bar{t}_2$ oranı ve $(2n_1, 2n_2)$ serbestlik derecesi uygulanır ve son olarak, 1. ve 2. tip sansürlü veriler için F testi hesaplaması farklıdır. Ortalama hesabı;

$\bar{t}_1 = \frac{r_1 \bar{t}_1' + (n_1 - r_1) t_{(p+1)n}}{r_1}$ olarak yapılır. $\bar{t}_1'$ başarısızlık skor ortalamasıdır. F

testi $\bar{t}_1 / \bar{t}_2$ oranı ve $(2r_1, 2r_2)$ serbestlik derecesiyle hesaplanır.

5. Yarı Parametrik Analiz Yöntemleri

Uygulamada rastlanan pek çok durumda incelenen yığın, heterojen bir yapıya sahiptir ve Sağkalım zamanının başka faktörler tarafından da etkilenebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Konuyla ilgili verinin toplanması sırasında her bir birime ya da bireye ait başka özelliklerde elde edilebilir. Bu özelliklerden bir kısmının ya da hepsinin, başarısızlık zamanının ya da Sağkalım zamanının üzerinde etkili olacağı düşünülebilir. Sağkalım süresini etkilediği varsayılan bu tür değişkenler bağımsız değişkenler olarak isimlendirilir.

Bağımsız değişkenler niteliksel-kesikli (qualative) ve niceliksel-sürekli (quantative) olarak sınıflandırılırlar. Kesikli değişkenler özel olarak gösterge (indicator) değişkenler şeklinde yorumlanabilir.

Sağkalım analizinde bağımsız değişkenlere ilişkin bilgi elde ediliyorsa da bu bilginin nasıl bir modelde ve ne şekilde yer alacağı konusu önem kazanır. Yaşam zamanının birlikte değişen değişkenler e bağlı bir dağılıma sahip olduğu regresyon modelleri, zaman değişkeni ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi açıklamakta önemli bir yere sahip olmaktadır. Modelde, başarısızlık ya da yaşam zamanı bağımlı değişkeni ve bağımsız değişkenler olarak yer almaktadır.

Regresyon modellerinden ilki, bağımsız değişkenlerin hazard fonksiyonu üzerine çarpımsal bir etkiye sahip olduğu oransal hazard (proportional hazards model) modelidir. İkincisi, bağımsız değişkenlerin Sağkalım zamanı üzerinde çarpımsal bir etkiye sahip olduğu log-linear (accelerated failure time model) modellerdir (Prentice veKalbfleish, 1979; Kleinbaum veKlein, 2010; Klein vd., 2016).

Yaşam süresi üzerinde birlikte değişen değişkenlerin etkilerini ölçebilmek için kullanılan “Cox Regresyon Modeli” (Cox, 1972), Yaşam çözümlemesi istatistiklerinin küçük ve büyük örneklem özelliklerini ortaya koyabilmek için birleşik bir yapı sağlayan “Sayma Süreci Martingale Kuramı” (Lee veWang.,2003) ile başlamış ve günümüze kadar gelmiştir (Fleming veLin, 2000).

Yaşam çözümlemesi, herbiri için genellikle başarısızlık olarak adlandırılan bir nokta olayı olan bireyler grubu ya da grupları ile ilgilenmektedir. Başarısızlık belirli bir zaman aralığından sonra oluşur ve buna başarı-

sızlık zamanı (failure time) denir. Yaşayan bir organizmanın ya da cansız bir nesnenin belirli bir başlangıç zamanı ile ölümü (başarısızlığı) arasında geçen zamana “yaşam süresi” ya da “başarısızlık süresi” adı verilmektedir ve genellikle T ile gösterilir. Başarısızlık süresine örnek olarak, makine bileşenlerinin yaşam süreleri, ekonomide işsizlik dönemleri, psikolojik bir deneyde denegın belirlenen görevi tamamlama süresi ve klinik bir deneyde hastaların yaşam süreleri gösterilebilir. Yaşam çözümlemesinde temel olan, gözlenen başarısızlık sürelerinin incelenmesi olduğundan, bu değişkenin iyi tanımlanması gerekmektedir. İlgilenilen olaya göre farklı şekillerde ortaya çıkabilen bu değişkenin duyarlı olarak ölçülmesi için, Başlangıç zamanı her bir birim ya da birey için kuşkuyla yer vermeyecek şekilde tanımlanmalıdır, Geçen süreyi ölçmek için bir zaman ölçeğı kabul edilmelidir, Her bir birim ya da birey için ömrün sona erdiği veya başarısızlığın meydana geldiğı an tamamen net olmalıdır. Diğer bir deyişle, başarısızlığın tam olarak tanımlanması gerekmektedir (Cox ve Oaxes, 1984).

Yaşam çözümlemesinin amaçları; farklı zamanlarda yaşam olasılığı tahminlerinin elde edilmesi, yaşam süresinin dağılımının tahmin edilmesi, farklı hasta gruplarının yaşam süresi dağılımlarının karşılaştırılması olarak sıralanabilir (Collett, 1994). Yaşam verilerinin çözümlenmesinde karşılaşılan temel güçlük, gözlem altına alınan bazı birim ya da bireylerin başarısızlık zamanlarının gözlenememiş olmasıdır. Örneğın, su ürünleri çalışmalarında gözlem altına alınan balıkların bazıları deney sonunda hâlâ yaşamlarını sürdürüyor olabilir. Ayrıca, gözlem altındaki bir birey, bazı nedenlerden dolayı gözleminden çıkabilir. Eğer başarısızlık zamanı, bu gibi nedenlerden dolayı tamamlanamamış ise sansürlü (censored) durum söz konusudur. Birçok durumda incelenen yaşam süresinin başka faktörler tarafından da etkilenebileceğı göz önünde bulundurulduğunda, bağımlı değişken olan yaşam süresi üzerinde birlikte değişen değişkenler in de etkilerinin modellendiğı regresyon modelleri yaşam çözümlemesinde önemli bir yer almaktadır. Örneğın, hormon verilen balıkların yaşam süreleri üzerine yapılan bir çalışmada balığın cinsiyeti, genel fiziksel durumu (boyu, ağırlığı), hormon verildikten sonra geçen süre ve diğer ilgili değişkenler birlikte değişen değişkenler olarak alınabilmektedir. Yaşam çözümlemesinde en çok kullanılan regresyon modeli Cox regresyon modelidir. 1972 yılında Cox tarafından geliştirilen regresyon modeli ile yaşam çözümlemesinde önemli adımlar atılmış, Cox’un önerileri, Kalbfleisch ve Prentice’in (Kleinbaum ve Klein, 2010; Klein vd., 2016) katkıları ile bugünkü önemini kazanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda Cox regresyon modeli sabit birlikte değişen değişkenler in yanı sıra zamana bağılı birlikte değişen değişkenler i de içeren Cox regresyon modeline genişlemiştir. Bu çalışmanın amacı, Cox regresyon modelinde zamandan bağımsız (sabit) ve zamana bağılı birlikte değişen değişkenler in kullanımını incelemek, gerçek bir veri kümesine bu modelleri uygulamak ve elde edilen sonuçları yorumlamaktır.

5.1. Cox regresyon modeli

Yaşam süresine ilişkin etkenlerin hazard fonksiyonu üzerindeki etkilerinin çarpımsal olduğu modeller, yaşam süresi verilerinin çözümlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. T, bir birimin yaşam süresini temsil eden sürekli rastlantı değişkeni ve x bu birimle ilgili bilinen birlikte değişen değişkenler vektörü olmak üzere orantılı hazard varsayımı altında x verildiğinde T'nin hazard fonksiyonu, $h(t, x) = h_0(t)\psi(x)$ biçimindedir. Burada, $\psi(x)$ değişik biçimlerde ifade edilebilmektedir. Cox'un 1972'de incelediği model, $h(t, x) = H_0(t) \exp(\beta'x)$ biçimindedir. Burada, x ortak değişkenler vektörü ($x_1, \dots, x_p$), β regresyon katsayıları vektörü ve $h_0(t)$ ise $x=0$ olan bir birimin temel hazard fonksiyonu olarak tanımlanmaktadır (Cox, 1972).

Cox regresyon modelinde iki temel varsayım vardır. Bunlar; Bağımsız değişkenlerin sağkalım fonksiyonu üzerine etkileri logaritmik olarak doğrusaldır ve Bağımsız değişkenlerin log-linear fonksiyonu ile sağkalım fonksiyonu arasında çarpımsal bir ilişki vardır. Bu varsayımlara göre, farklı bağımsız değişken setlerine sahip olan iki birimin sağkalım fonksiyonları oranı zamana bağlı değildir, ölüm riskleri orantısaldır. Yaşam-sal verilerde neden-sonuç ilişkilerinin ortaya konmasında Cox tarafından önerilen $h(t, x) = H_0(t) \exp(\beta'x)$ regresyon modeli kullanılır.

X ortak değişkenler matrisinin tek ya da çok değişkenli olmasına göre regresyon katsayıları aşağıdaki modellere göre tahmin edilir.

Tek değişkenli Cox regresyon modeli; $h(t) = [h_0(t)] * e^{\beta X_1}$ biçiminde yazılır.

Çoklu Cox regresyon modeli; $h(t) = [h_0(t)] * e^{(\beta X_1 + \beta X_2 + \dots + \beta_p X_p)}$ biçiminde yazılır.

Bu modelde iki bilinmeyen bileşen vardır. Bunlar regresyon parametresi β ve temel hazard fonksiyonu $h_0(t)$ 'dir. Eğer ortak değişkenler setinde kategorik değişkenler varsa bunların orijinal kategorileri göz önüne alınıp, yeni değişken veri setleri varsa oluşturarak dönüştürülmesi gerekir. Kategorik değişkeni ifade eden yeni dönüştürülmüş değişken, kategori sayısı, orijinal kategori sayısından az olması gerekir. Buna eşdeğer olarak temel yaşam fonksiyonu, t

$S_0(t) = \exp\left[-\int_0^t h_0(u)du\right] = [H_0(t)]$ biçiminde yazılabilir. Burada $H_0(t)$ temel birikimli hazard fonksiyonudur. x verildiğinde T'nin yaşam fonksiyonu, t

$$S(t, x) = \exp\left(\int_0^t h'(u, x)du\right) = S_0(t) \exp(\beta'x) \text{ olmaktadır (Özdamar, 1999).}$$

Çoklu Cox Modelinde b Katsayılarının Hesaplanması için, Gözlenen n tane yaşam süresi arasından p tanesi sıralanmış olarak ($t_1 < t_2 < \dots < t_p$) ölüm sonucu olan verileri gösterebilir. Bir R_i setinde, t_i zamanında değerleri sapta-

nan x_i ortakdeğişken vektörü belirlenmiş olsun. Bir Ortakdeğişkenin, yaşam süresi üzerine etkide bulunan tüm değişkenler dikkate alınarak belirlenecek genel risk içindeki oranı riskler oranı biçiminde belirlenir.

$$\frac{\exp(\beta' x_i)}{\sum_{j \in R_i} \exp(\beta' x_j)}$$

p farklı ölüm zamanlarının bu oranlarla çarpımı, kıs-

mi benzerlik fonksiyonunu verir. Regresyon katsayıları bu kısmi benzerlik fonksiyonu yardımı ile tahmin edilirler. Kısmi benzerlik Fonksiyonu $L(\beta)$;

$$L(\beta) = \prod_{i=1}^p \exp(\beta' x_i) / \sum_{j \in R} \exp(\beta' x_j) \text{ biçiminde hesaplanır.}$$

β Katsayılarının en büyük benzerlik tahminleri, logaritmik benzerlik fonksiyonunu en büyükleyerek şu şekilde hesaplanır.

$$h L(\beta) = \sum_{i=1}^p \left\{ \sum_{j \in D_i} h r(\beta_j x_j(t_i)) - m_i h \left[\sum_{l \in R_i} r(\beta x_l(t_i)) \right] \right\}$$

D_i : t_i zamanında ölen kişilerin seti,

m_i : t_i zamanındaki cevapların sayısı,

R_i : t_i zamanında canlı olan bireylerin setini,

$X_i(t_i)$: t_i zamanında i . birey için p ortakdeğişken vektörü,

$r(\beta, x_i(t_i))$: $\exp(\beta, x_i(t_i))$ log-linear riskini, belirtmektedir.

β katsayılarının hesaplanmasında Newton-Raphson algoritması kullanılır ve ardışık tekrarlanan çözümlemeler ile (iterative parameter estimation) β 'nın tahminleri yapılır (Özdamar, 1999).

Veri setinde benzer süre gözlemleri olduğunda $L(\beta)$ 'nın maksimizasyonu Breslow (1974a,b) tarafından ileri sürülen yaklaşım,

$$L(\beta) = \left\{ \prod_{i=1}^p \exp(\beta' x_i) / \left[\sum_{j \in R} \exp(\beta' x_j) \right]^{m_i} \right\} \text{ ile hesaplanır.}$$

β Katsayılarının Önemliliğinin Test Edilmesi için üç test yöntemi ileri sürülmüştür. Bunlar; Wald testi, Benzerlik Oranı (Likelihood, LR) testi, Score testi'dir.

5.1.1. Wald Testi

Wald testi en büyük benzerlik tahminlerinin (MLE) normal dağıldığı varsayımına dayanır. Regresyon katsayısının, standart hatasına oranı $z=(\beta/SH_\beta)$ wald istatistiği olarak adlandırılır. Bu durumda, Wald istatis-

tiği Standart Normal Dağılım(SND) gösterir ve SND'nin kritik değerleri ile karşılaştırılarak önemliliği belirlenir. Aynı zamanda Wald istatistiği $w=z^2=(\beta/SH_\beta)^2$ olarak da kullanılabilir. Bu durumda ise Wald test istatistiği 1 serbestlik dereceli kıkare dağılımı gösterir ve 1 serbestlik dereceli χ^2 dağılımının kritik değerleri ile karşılaştırılarak önemliliği belirlenir.

5.1.2. Benzerlik Oranı Testi(LRATIO)

LRATIO testi Wald testinden daha genel bir testtir. Kategorik değişkenlerin iki ve daha fazla sınıfı bulunduğu ve Cox modeline aynı anda birçok değişkenin alındığı durumlarda tercih edilen bir testtir.

Cox regresyonda regresyon katsayılarının önemliliği $H_0: \beta_i = 0$, $i=1,2,\dots,p$ varsayımı test edilerek belirlenir. Modelin en büyük benzerlik istatistiği I_0 değeri ile modelde v tane birbirinden farklı ve sağkalım süresi üzerine önemli etkide bulunan başka bir modelin enbüyük benzerlik istatistiği I_v belirlenerek LRATIO test istatistiği hesaplanır.

Modelde, v farklı regresyon katsayısı olduğunda bu modelin maksimum benzerliği I_v ile gösterilir. Her bir modelin $\beta=0$ durumuna göre benzerlik oranı(LR) test edilir.

$$LR = -2\log(I_0 / I_v)$$

$$LR = -2(L_0 / L_v)$$

Burada L_v istatistiği v serbestlik dereceli ($sd=v$) χ^2 dağılımını gösterir. Önemliliğinin belirlenmesinde $sd=v$ serbestlik dereceli χ^2 dağılımının kritik değerlerinden yararlanılır (Norusis, 1993; Parmar ve Machin, 1995; Özdamar'dan, 1999).

5.1.3. Score (Skor) Testi

Skor testi S ile gösterilir. Logaritmik benzerlik istatistiklerinden yararlanılarak hesaplanır. İkili değer alabilen (binary) değişkenin p gözlenme oranına göre r kez gözlenme olasılığından yararlanılarak logaritmik benzerlik istatistiği;

$L=\log I = r \log \pi + (n-r)\log(1-\pi)$ Şeklinde hesaplanır. Skor istatistiği, π 'a L 'nin birinci türevinin karesi, payda'ya ise L 'nin ikinci türevi alınarak belirlenir. S istatistiği payın paydaya oranı olarak bulunan bir değerdir. Modeldeki değişkenler sürekli olduğunda ya da birden fazla değişken bulunduğu Skor testi Mantel-Haenszel logrank testinin bir genellemesidir.

Skor test istatistiği, sd tahmin edilen parametre sayısı olmak üzere sd serbestlik dereceli χ^2 dağılımını gösterir. Önemliliği sd serbestlik dereceli dağılımının kritik değerleri ile karşılaştırılarak yapılır.

5.1.4. Zamana bağlı birlikte değişen değişkenler durumunda Cox regresyon modeli

Verilen Cox regresyon modelinde temel hazard fonksiyonu zamanın bir fonksiyonunu içerirken, üstel kısımda yer alan değişkenler zamanın bir fonksiyonu değildir, yani zamandan bağımsızdır. Modelde zamanı içeren değişkenler de olabilir. Bu değişkenler zamana bağlı birlikte değişen değişkenler olarak adlandırılmaktadır. Zamana bağlı değişken, incelenen birey için değeri zamanla değişebilen herhangi bir değişken olarak tanımlanmaktadır. Zamandan bağımsız değişken ise incelenen birey için değeri zaman içinde sabit kalan bir değişkendir. En yaygın tanımlanan zamana bağlı değişken, zamandan bağımsız bir değişken ile zamanın ya da zamanın bir fonksiyonunun çarpımı biçimindedir (Kleinbaum ve Klein, 2010; George vd., 2014; Klein vd., 2016). Zamana bağlı açıklayıcı değişkenin üç türü vardır. Bunlardan biri tanımlanmış (defined) zamana bağlı açıklayıcı değişkendir. Bu, sabit bir açıklayıcı değişken ile zamanın bir fonksiyonunun çarpımı şeklinde elde edilen değişkendir. Zamana bağlı değişkenlerin bir diğeri içsel (internal) değişkendir. İçsel değişkenler için değişkenin değerindeki değişimin nedeni içsel özelliklere, yani bireyin kendi davranışlarına ve özelliklerine dayanmaktadır. Bu gibi değişkenlere örnek olarak, t zamanındaki sigara içme durumu ve t zamanındaki obezite seviyesi verilebilir. İçsel değişkenler için değişkenin değerindeki değişimin nedeni içsel özelliklere, yani bireyin kendi davranışlarına ve özelliklerine dayanmaktadır. Diğer bir zamana bağlı değişken yardımcı (ancillary) değişkendir. Değişkenin değerindeki değişimin nedeni dışsal, çevreye ait özelliklerdir. Özel bir coğrafi alan için t zamanındaki hava kirliliği indeksi dışsal değişkene bir örnek olarak verilebilir (Kleinbaum ve Klein, 2010; Hosmer vd., 2011; Klein vd., 2016). Kısmen içsel, kısmen dışsal olabilecek değişkenler de vardır. Buna örnek olarak ciddi bir kalp rahatsızlığı olan bir hastanın kalp nakli için uygun olup olmaması durumunu düşünebiliriz. Kalp nakli durumuna ilişkin değişken, bireyin ayırt edici özelliklerinden dolayı içsel olarak, tıbbi vericinin elde edilebilirliğinden dolayı yardımcı değişken olarak adlandırılmaktadır (Kleinbaum ve Klein, 2010). Birçok durumda açıklayıcı değişken verisi uzun dönemde elde edilmektedir. Örneğin, cinsiyet, alınan hormon, boyu, ağırlığı periyodik zaman noktalarında elde edilebilir. Bu sayılan faktörler zaman içerisinde değişebilir. Uygun istatistiksel modelde zamanla değişen açıklayıcı değişken bilgisini kullanmak gerekir. Bunu yapmanın yollarından biri de zamana bağlı açıklayıcı değişkenli Cox regresyon modelini kullanmaktır (Kleinbaum ve Klein, 2010; Klein vd., 2016). Zamana bağlı birlikte değişen değişkenler olduğu durumda, Cox regresyon modeli zamandan bağımsız değişkenleri ve zamanın bazı fonksiyonları ile bu değişkenlerin çarpımını içeren bir modele genişletmektedir. $x_1, x_2, \dots, x_p$ zamandan bağımsız değişkenler ve $x_1(t), x_2(t), \dots, x_{p_2}(t)$ zamana bağlı değişkenler olmak üzere birlikte değişen değişkenler $x(t) =$

$(x_1, x_2, \dots, x_{p_1}, x_1(t), x_2(t), \dots, x_{p_2}(t))$ biçiminde gösterilmektedir. Buna göre β ve δ birlikte değişen değişkenler in katsayılar vektörü olmak üzere Cox regresyon modeli, $h(t, x(t)) = h_0(t) \exp[(\beta'x) + \delta'xg(t)]$ biçiminde yazılmaktadır. Burada $g(t)$ zamanın bir fonksiyonu olarak tanımlanmaktadır. $g(t)$ 'nin seçimi kullanılan değişkenlerin durumuna göre ve araştırmacının bilgisine göre değişkenlik göstermektedir. Bu fonksiyon genellikle t , $\log t$ ($\ln t$) ya da adım fonksiyonları biçiminde tanımlanmaktadır (Kleinbaum ve Klein, 2010; George vd., 2014). Cox regresyon modeli, zamanla değişen birlikte değişen değişkenler le de kullanılabilir. Uygulamada kullanımları sabit (zamandan bağımsız) birlikte değişen değişkenler e göre daha karmaşıktır. Ayrıca hatalı çıkarsama ve modelleme için potansiyel gittikçe artmaktadır (Kleinbaum ve Klein, 2010; George vd., 2014; Hosmer vd., 2011; Klein vd., 2016).

KAYNAKÇA

- Allison, P. D. (2010).** Survival analysis. *The reviewer's guide to quantitative methods in the social sciences*, 413-425.
- Austin, P. C., Lee, D. S., & Fine, J. P. (2016).** Introduction to the analysis of survival data in the presence of competing risks. *Circulation*, 133(6), 601-609.
- Başar, E. (1993).** Yaşam tabloları analizinde kullanılan bazı istatistiksel yöntemlerin böbrek nakli verilerine uygulanması. Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, İstatistik anabilim dalı, 132s.
- Breslow, N. (1974) a.** Covariance Analysis of Survival Data under the Proportional Hazards Model. *International Statistics Review*, 43, 43-54.
- Breslow, N.E. (1974) b.** Covariance analysis of censored survival data, *Biometrics*, 30, 89-99.
- Brown, G. W. and Flood, M. M. (1947).** Tumbler Mortality. *Journal of the American Statistical Association*, (42) 562-574.
- Collett, D. (1984).** *Modelling Survival Data in Medical Research*, London: Chapman&Hall.
- Cox, D. R, Oakes D. (1984) b.** *Analysis of Survival Data*, New York: Chapman and Hall.
- Cox, D. R. (1972).** Regression models and life-tables. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*, 1972; 34: 187-220.
- Cox, D. R. (1984) a.** Present Position and Potential Developments:Some Personal Views:Design of Experiments and Regression. *Journal of the Royal Statistical Society.Series A (General)*,147(2), The 150th Anniversary of the Royal Statistical Society,pp.306-315.
- Davis, D.J. (1952).** An Analysis of Some Failure Date. *Journal of the American Statistical Association*, 47: 113-150.
- Engelhardt, M. and Bain, L.J. (1978).** Construction of optimal inference procedures for the parameters of the gamma distribution. *Technometrics*, 16, 49-56.
- Epstein, B. and Sobel, M. (1953).** Life Testing. *Journal of the American Statistical Association*, 48, 486-502.
- Farewell, V. T. and Prentice, P.L. (1977).** A Study of Distributional Shape in Life Testing. *Technometrics*, 19, 69-75.
- Fleming, T.R. Lin D.Y. (2000).** Survival analysis in clinical trials: past developments and future directions. *Biometrics*, 2000; 56(4): 971-983.
- George, B., Seals, S., & Aban, I. (2014).** Survival analysis and regression models. *Journal of Nuclear Cardiology*, 21(4), 686-694.

- Goel, M. K., Khanna, P., & Kishore, J. (2010).** Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. *International journal of Ayurveda research*, 1(4), 274.
- Guyot, P., Ades, A. E., Ouwens, M. J., & Welton, N. J. (2012).** Enhanced secondary analysis of survival data: reconstructing the data from published Kaplan-Meier survival curves. *BMC medical research methodology*, 12(1), 9.
- Harrell, F. (2001).** *Regression Modelling Strategies*, Newyork, Springer, 568p.
- Hollander, M. and Porschan, F. (1979).** Testing to Determine yhe Underlying Distribution Using Randomaly Censored Data. *Biometrics*, 35, 393-401.
- Horner, R. D. (1987).** Age at Onset of Alzheimer's Disease; Clue to the Relative Importance of Etiologic Factors?. *American Journal of Epidemiology*, 126, 409-414.
- Hosmer Jr, D. W., Lemeshow, S., & May, S. (2011).** *Applied survival analysis: regression modeling of time-to-event data* (Vol. 618). John Wiley & Sons.
- Hyde, J. (1977).** Testing Survival Under Right Censoring and Left Truncation. *Biometrika*, 64, 225-230.
- Hülya Sayğı, Su** Ürünleri araştırmalarında yaşam modelleri ve kullanılan İstatistiksel Yöntemler, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yetiştiricilik Bölümü, İzmir (Danışmanlar: Prof. Dr. Atilla Alpbaz, Prof. Dr. Şanslı Şenol).
- Kaplan E.L. Meier P. (1958).** Nonparametric estimation from incomplete observations, *Journal of the American Statistical Association*, 53: 457-481.
- Klein, J. P., & Moeschberger, M. L. (2006).** *Survival analysis: techniques for censored and truncated data*. Springer Science & Business Media.
- Kleinbaum, D. G., & Klein, M. (2010).** *Survival analysis*. Springer, 700p.
- Klein, J. P., Van Houwelingen, H. C., Ibrahim, J. G., & Scheike, T. H. (Eds.). (2016).** *Handbook of survival analysis*. 682p.CRC Press.
- Kleinbaum, D. G., & Klein, M. (2010).** *Survival analysis*. Springer.
- Kozial, J. and Gren, S. (1976).** A Cramer-von Mises Statistic for randomly Censored Data. *Biometrika*, 63, 465-474
- Lawless, J. F. (1983).** Statistical Methods in Relability. *Technometrics*, 25, 305-316
- Lee, E. and Wang. J. (2003).** *Statistical Methods for Survival Data Analysis*, Wiley, 534p.
- Lee, E. T. (1992).** *Statistical methods for Survival Data Analysis*, USA: John-Willey and Sons, 482p.
- Miller Jr, R. G. (2011).** *Survival analysis* (Vol. 66). John Wiley & Sons.

- Nelson, W. (1972).** Theory and Applications of Hazard; Plotting for Censored Failure Data. *Technometrics*, 14, 945-966
- Nelson, W. B., and Hahn, G. J. (1972).** Linear estimation of a regression relationship from censored data. Part I- Simple methods and their applications, *Technometrics*, 14, 247-269
- Özdamar, K. (1999).** SPSS ile Biyoistatistik, Eskişehir, Kaan Kitapevi, 454s.
- Peto, R. and Peto, J. (1972).** Asymptotically Efficient Rank Invariant Procedures. *Journal of the Royal Statistical Society, Series A*, 135, 185-207
- Prentice, R. L. and Kalbfleish, J. D. (1979).** Hazard Rate Models with Covariates. *Biometrics*, 35, 25-39
- Saygi, H., & Bayhan, B., (2010).** *Life Table Analysis and Sustainable Fisheries* . Second International Symposium On Sustainable Development (pp.689-692). Saraybosna, Bosnia And Herzegovina
- Saygi, H., & Şenol, Ş. (2011).** Using cox regression model with time-dependent explanatory variable for survival analysis of common sole, *Solea solea* L. Pakistan J. Zool, 43(3), 497-504.
- Şenocak M. (1992).** *Özel Biyoistatistik Epidemiyolojide Sayısal Çözümleme*, İstanbul, Çağlayan Kitabevi, 221 s.

Bölüm 12

**BORLU GÜBRENİN BAZI
YAPISAL VE MORFOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN VE DOĞAL
RADYOAKTİVİTESİNİN
BELİRLENMESİ**

Mehmet YÜKSEL¹

¹ Doç.Dr., Çukurova Üniversitesi, myuksel@cu.edu.tr

Giriş

Bor, serbest halde bulunmayan metal ya da ametallerin birçoğu ile farklı bileşikler yapan ve her bileşiği farklı özellikler gösterebilen önemli bir element olup sanayide özellikle alkali ve toprak alkali mineralleri çok farklı amaçlar için kullanılmaktadır (Yüksel, 2013; Int Kyn. 1). Ham madde kaynaklarının hızla tüketilmesine bağlı olarak ülke ekonomileri için çok önemli bir yere sahip olan bor minerallerine ait en yüksek rezervler Türkiye, Rusya ve Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunmaktadır. Cam ve seramik sanayi, temizleme ve beyazlatma sanayi, alev geciktiriciler, tarım, metalurji, enerji, sağlık ve çimento sanayi gibi birçok alanda kullanılmakta olan bor minerallerine ait dünya rezervinin %73,4'ü Türkiye'de bulunmaktadır (Int Kyn. 2).

Ülke ekonomileri için çok değerli olan bor mineralleri ile ilgili araştırma-geliştirme faaliyetleri her geçen gün hız kazanmaktadır. Bor bileşiklerinin ham madde olarak kullanıldığı araştırma ve geliştirme faaliyetlerinin alt yapısını elbette ki yoğun şekilde yapılan bilimsel çalışmalar oluşturmaktadır.

Bor tabanlı dozimetrik malzeme üretimi (Yüksel ve Yeğingil, 2015; Kucuk vd., 2015; Furetta vd., 2000; Yeğingil vd., 2018; Topaksu vd., 2015), bor katkılı malzemelerin radyoaktivitelerinin belirlenmesi (Akkurt vd., 2011), deterjan, dezenfektan ve tarımsal gübre üretimi (Int Kyn. 3) gibi birçok çalışma yapılmakta ve yapılan bu çalışmalar sonucunda elde edilen ürünlerle ülke ekonomilerine katkı sunulmaya çalışılmaktadır.

Yapılan bu çalışmada, Eti Maden İşletmeleri tarafından yürütülen araştırma-geliştirme çalışmaları sonucunda üretilen ve tarımsal amaçlı bir gübre olan Etidot-67'nin bazı yapısal ve morfolojik özelliklerinin ve doğal radyoaktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca içeriğinde -doğal radyoaktivite kaynaklarından biri olduğu bilinen- fosfat ihtiva eden klasik gübreler ile ilgili daha önce yapılmış olan çalışmalarda belirlenen doğal radyoaktivite değerlerinin (dünya ortalaması) Etidot-67'ye ait radyoaktivite değerleri ile karşılaştırılmasının faydalı olacağı da düşünülmektedir.

1. Borlu Gübre (ETİDOT-67)

Etidot-67 (CAS#: 12280-03-4), kimyasal formülü $\text{Na}_2\text{B}_8\text{O}_{13} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ olan disodyum oktaborat tetrahidrat olarak bilinen ve Eti Maden İşletmeleri tarafından Ar-Ge çalışmaları sonucunda geliştirilmiş olan bir tür "Borlu gübre"dir (Şekil 1). Düşük derişimli çözeltilerinde hafif alkali iken, yüksek derişimli çözeltilerinde ise nötr duruma gelebilen bu ürün borik asit (H_3BO_3) ve boraks dekahidrat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) kullanılarak üretilmektedir. Toz formunda üretilen Etidot-67, gübre, alev geciktirici ve ahşap koruma gibi farklı amaçlarla kullanılmaktadır (Int Kyn. 3; Eti Maden, 2019).



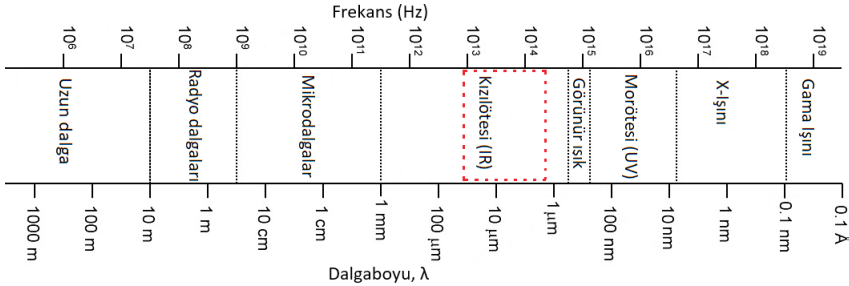
Şekil 1. Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü tarafından üretilen, satışa sunulan ve çalışmaya konu olan Etidot-67'ye ait görseller.

Tablo 1. Etidot-67'nin bileşenleri ve oranları.

Bileşen	İçerik (%)
B ₂ O ₃ (Amorf Bor Oksit)	67
Na ₂ O (Sodyum Oksit)	14
H ₂ O (Su)	19

2. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Analiz Sonuçları

Fourier dönüştümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi Şekil 2'de de görülen 2,5–50 μm dalga boyu aralığına karşılık gelen kızılötesi (IR) bölgesinde yapılmakta olup yapılan analizler, örneklerin yüzeyindeki fonksiyonel grupların dağılımı hakkında önemli bilgiler vermektedir. Yapılan analizler sonucunda çeşitli gruplarla birlikte simetrik-asimetrik gerilme ve eğilme titreşimleri tespit edilebilmektedir.

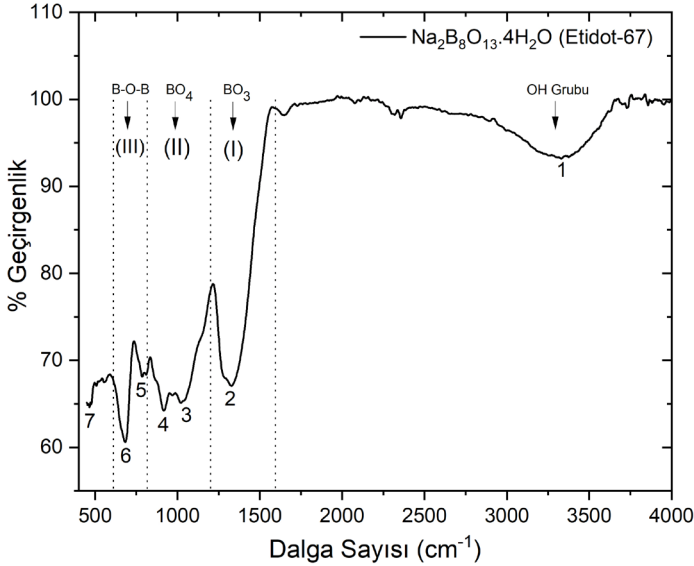


Şekil 2. Elektromanyetik spektrum ve FTIR ölçüm bölgesi.

Etidot-67 ürününe ait bazı yapısal özelliklerin belirlenmesi için 450-4000 cm^{-1} dalga boyu aralığındaki FTIR spektrumu, Çukurova Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda (ÇÜMERLAB) bulunan Jasco

FT/IR-6700 model FTIR cihazı ile kaydedilmiştir. Kaydedilen spektrum Şekil 3'te görülmektedir.

Şekil 3'te görülen Etidot-67'ye ait FTIR spektrumu incelendiğinde, spektrumun 7 farklı tepeden oluştuğu söylenebilir. Şekilde $3336,46 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen 1 numaralı tepenin hidroksil (O-H) gruplarına ait gerilme titreşimlerinden (Gecer vd., 2015; Jun vd., 1995) kaynaklandığı söylenebilir. Literatürde yer alan birçok çalışmada da belirtildiği gibi borat ağlarının titreşim modları genel olarak üç önemli bant bölgesinden oluşmaktadır. Bu bölgeler $1200\text{--}1600 \text{ cm}^{-1}$ (I. bölge), $800\text{--}1200 \text{ cm}^{-1}$ (II. bölge) ve 700 cm^{-1} civarında (III. bölge) yer almaktadır (Sasi kumar vd. 2017; Gautam vd., 2012). Buna bağlı olarak, $1328,71 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen 2 numaralı tepe BO_3 birimlerindeki B-O bağlarının asimetrik gerilme titreşimlerinden, 3 ve 4 numaralı tepeler ($1020,16$ ve $916,99 \text{ cm}^{-1}$) BO_4 birimlerindeki B-O bağlarının gerilme titreşimlerinden, 5 ve 6 numaralı tepeler ($786,81$ ve $863,64 \text{ cm}^{-1}$) ise B-O-B bağlantılarının bükülme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Spektrumda $465,72 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen tepe $\text{B}_{(4)}\text{-O}$ bükülme titreşimlerine (Jun vd., 1995) karşılık gelmektedir.



Şekil 3. Etidot-67'ye ait FTIR spektrumu.

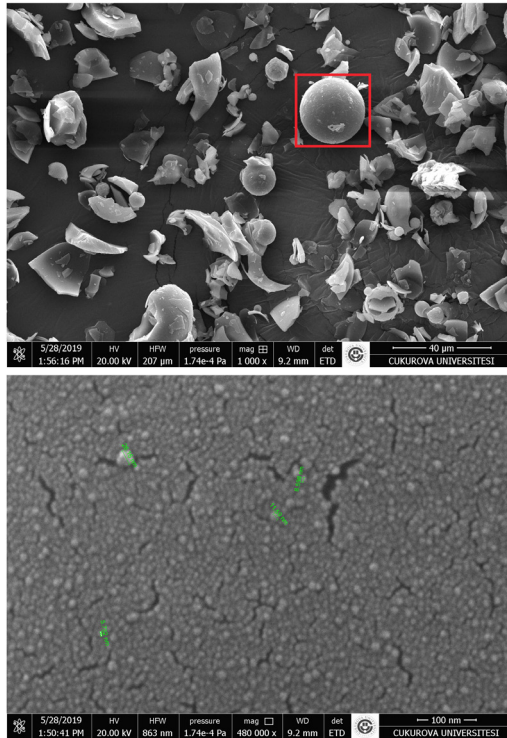
3. Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımlı X-ışını (SEM-EDX) Spektroskopisi ve Analiz Sonuçları

Elektron mikroskobu ile görüntüleme tekniği, topolojik görüntülerin oluşturulması için elektronlar ile numune arasındaki etkileşimlerden faydalanan ve ışık mikroskoplarına göre daha yüksek büyütme sağlayarak numunenin daha ince ayrıntılarla görüntülenmesini sağlayan kullanışlı bir tek-

niktir. EDX spektroskopisi ise taramalı elektron mikroskobu kullanılarak numunenin elementel bileşiminin (% 0,1 ve üzerindeki konsantrasyonlar için) belirlenmesinde fayda sağlayan bir yöntemdir (Abd Mutalib vd., 2017).

Etidot-67'nin parçacık büyüklüklerinin belirlenmesi ve yapısında bulunan elementlerin tayin edilmesi için öncelikle SEM fotoğrafları çekilmiş ve daha sonra belirlenen bir alan için SEM-EDX analizi yapılmıştır. SEM fotoğraflarının çekilmesi ve SEM-EDX analizleri için Çukurova Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda (ÇÜMERLAB) bulunan FEI Quanta 650 Field Emission SEM cihazı kullanılmıştır.

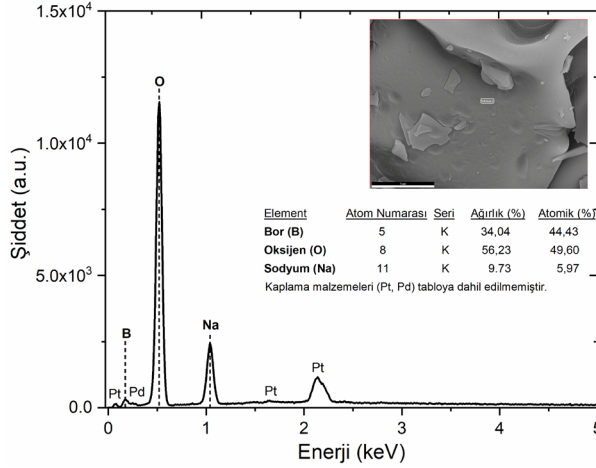
Etidot-67'nin 1 KX ve 480 KX büyütme oranları ile elde edilen SEM görüntüleri Şekil 4'te görülmektedir. 1 KX büyütme oranı ile elde edilen SEM görüntüsü üzerinde işaretlenmiş olan küre şeklindeki yapı 480 KX büyütme oranı ile daha yakından incelenmiştir. Şekilde de görüldüğü üzere parçacıklar nano boyutlarda olup genel topolojiyi oluşturan parçacıkların ortalama olarak 5,7 nm büyüklüğe sahip olduğu ve bunun yanı sıra yapıda yer alan diğer parçacıkların büyüklüklerinin de 8,6 nm ile 26,2 nm arasında değiştiği söylenebilir.



Şekil 4. Etidot-67'nin farklı büyütme oranları ile elde edilen SEM görüntüleri.

Etidot-67'nin SEM-EDX analizinin yapıldığı alanın SEM görüntüsü, EDX spektrumu ve elementel bileşimine ait tablo Şekil 5'te sunulmuştur.

Şekildeki spektrum ve tablo incelendiğinde, Etidot-67'ye ait spektrumun bazı enerji bölgelerinde bor (B), oksijen (O) ve sodyum (Na)'a ait tepelerle birlikte platin (Pt) ve paladyum (Pd)'a ait tepeler de gözlenmiştir. Etidot-67'nin $\text{Na}_2\text{B}_8\text{O}_{13} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ile formüle edildiği düşünüldüğünde elde edilen spektrum beklenen spektrumla örtüşmekle birlikte spektrumda gözlenen platin ve paladyum ise analiz öncesinde örnek üzerine yapılan kaplama malzemelerinden kaynaklanmaktadır.



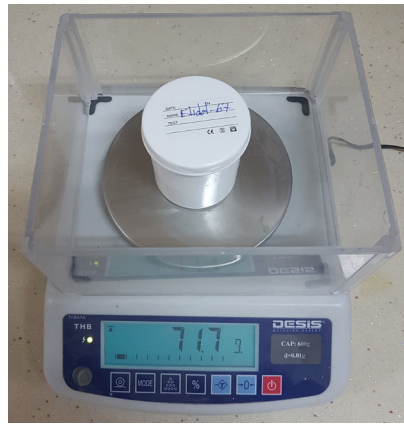
Şekil 5. Etidot-67'ye ait SEM-EDX spektrumu ve elementel analiz sonuçları.

4. Gama Spektroskopisi ve Doğal Radyoaktivite Analiz Sonuçları

Yerkabuğunda (toprakta) doğal olarak bulunan radyum (^{226}Ra), toryum (^{232}Th) ve potasyum (^{40}K) gibi doğal ve sezyum (^{137}Cs) gibi yapay radyonüklitler gama ışın kaynaklarıdır. Doğal radyoaktivite öncelikle jeolojik koşullara bağlı olup her bölgenin toprak yapısına göre farklılıklar gösterebilir (UNSCEAR, 2020; Aleksandra, 2013; Akhtar, 2006). Toprak yapısının dışında toprak kaynaklı radyoaktivitenin ikinci önemli faktörü ise tarım arazilerinde yapılan gübreleme çalışmalarıdır. Gübreleme ile bitkilerin büyümesi için ihtiyaç duyulan bir takım kimyasal bileşikler ve elementler yapay olarak üretilmiş olan farklı içeriklere sahip gübreler kullanılarak toprağa verilir. Daha kaliteli ürün elde etmek için yapılan gübreleme çalışmaları tüm dünyada tarımın vazgeçilmezlerinden biridir (Alam, 1997; Rajacic, 2013). Fosfatlı gübrelerin yapısında uranyum (^{238}U) ve radyum (^{226}Ra) varlığı bilinmekte olup tarım topraklarında yapılan gübreleme faaliyetleri ile işçiler ve halk için ek bir ışınlanma kaynağı oluşmaktadır (Alam, 1997). Toprak kaynaklı doğal radyoaktiviteye ek katkı sunma potansiyeli bulunan gübrelerin radyoaktivitelerinin tespit edilmesi önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğüne bağlı tesislerde üretilen Etidot-67 isimli gübrenin doğal radyoaktivitesi,

yıllık etkin doz eşdeğeri (YEDE) ile birlikte dış tehlike indeksi (H_{ex}) hesaplanarak fosfat içerikli gübrelerin literatürdeki değerleri ile karşılaştırılmıştır.

Şekil 6’da görülen 5x6 cm boyutlu Etidot-67’nin doğal radyoaktivitesinin belirlenmesi için Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi Radyoaktivite Ölçüm Laboratuvarı’nda (MERLAB) bulunan ORTEC GEM50P4-83 model yüksek safılıkta germanyum dedektörlü gama spektrometresi kullanılmıştır. Gama spektrumunun analiz edilmesi sonucunda elde edilen ^{226}Ra (^{238}U), ^{232}Th ve ^{40}K radyoaktif izotoplarına ait aktivite konsantrasyonları, YEDE ve H_{ex} değerleri Tablo 2’de sunulmuştur.



Şekil 6. Radyoaktivite analizi yapılan Etidot-67 ürününe ait görsel.

Tablo 2. Etidot-67 ve klasik gübrelere ait radyoaktivite değerlerinin dünya ortalamaları.

Örnek	^{238}U (Bq/kg)	^{232}Th (Bq/kg)	^{40}K (Bq/kg)	YEDE ($\mu\text{Sv}/$ yıl)	H_{ex}
Etidot-67	0,5±0,2	0,8±0,3	3,7±0,3	1,07	0,005
Gübreler*	220,0±20,0	52,2±4,0	4860,0±250,0	411,86	1,81

* Dünya ortalaması (UNSCEAR, 2000)

Tablo 2’de de görüldüğü gibi Etidot-67 gübresine ait uranyum, toryum ve potasyum radyoaktivite değerleri klasik gübrelere ait olan dünya ortalamasından çok düşüktür. Benzer şekilde Etidot-67’nin yıllık etkin doz eşdeğeri ve dış tehlike indeksi de dünya ortalamalarının altında bir değere sahiptir.

5. Sonuçlar

Bu çalışmada, Etidot-67 tarımsal gübresinin bazı yapısal ve morfolojik özellikleri ile doğal radyoaktivite değerleri belirlenmiştir. Doğal radyonüklit konsantrasyonlarından faydalanılarak Etidot-67'nin yıllık etkin doz eşdeğeri ve dış tehlike indeksi de hesaplanarak dünya ortalamaları ile karşılaştırılmıştır.

Etidot-67'nin FTIR spektrumunun 7 farklı tepeden oluştuğu ve bu tepelerin sırasıyla, 3336,46, 1328,71, 1020,16, 916,99, 786,81, 863,64 465,72 cm^{-1} civarlarında yer aldığı gözlenmiştir. Şekil 3'te de görüldüğü gibi ikinci tepe ile altıncı tepe arasında gözlenen tüm tepeler borat ağlarının titreşim modlarına ait bant bölgelerinde yer almaktadır.

SEM-EDX analizleri sonucunda, Etidot-67'nin bor, oksijen sodyum elementlerini içerdiği gözlenmiştir. Ayrıca, yapıyı oluşturan parçacıkların nano boyutlarda ve ortalama olarak 5,7 nm büyüklüğe sahip olduğu ancak yapıda yer alan bazı parçacıkların büyüklüklerinin de 8,6 nm ile 26,2 nm arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Etidot 67'nin yapılan radyoaktivite analizleri sonucunda, sırasıyla $0,5 \pm 0,2$ Bq/kg, $0,8 \pm 0,3$ Bq/kg ve $3,7 \pm 0,3$ Bq/kg'lık ^{238}U , ^{232}Th ve ^{40}K radyoaktivite değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen bu değerlerin klasik gübreler kullanılarak elde edilen radyoaktivite değerlerinden oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde Etidot-67'nin hesaplanan YEDE ve H_{ex} değerlerinin de dünya ortalamasının altında olduğu görülmüştür.

Teşekkür

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından yürütücüsü bulunduğum FBA-2018-10020 kodlu “Bor Minerallerinin Yapısal ve Morfolojik Özellikleri ile Yıllık Etkin Doz Eşdeğerlerinin Belirlenmesi” başlıklı proje kapsamında finansal olarak desteklenmiştir. Sağlanan bu finansal destek için teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca proje kapsamında çalışılan bor ürünlerini yapılan bir protokol kapsamında gönderen Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü'ne de katkılarından dolayı teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Abd Mutalib, M., Rahman, M.A., Othman, M.H.D., Ismail, A.F., Jaafar, J., (2017). Chapter 9 - Scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-Ray (EDX) spectroscopy, Membrane Characterization, Elsevier, Pages 161-179, ISBN 9780444637765, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00009-7>.
- Akhtar N., (2006). Radionuclide pollution due to fertilizer use in some saline soils of the Punjab and their potential risk assessment on human health. Department of Physics Bahauddin Zakariya University Multan, Pakistan. <https://www.researchgate.net/scientific-contributions/NASIM-AKHTAR-26637002>)
- Akkurt, İ., Çanakcı, H., Mavi, B., Günoğlu, K., (2011). Natural radioactivity of boron added clay samples, AIP Conference Proceedings, 1400, 512 (2011), 512-517, doi: 10.1063/1.3663173.
- Alam, M.N., Chowdhury, M.I., Kamal, M., Ghose, S., Banu, H., Chakraborty, D., (1997). Radioactivity in chemical fertilizers used in Bangladesh, Applied Radiation and Isotopes, Vol. 48, Issue 8, Pages 1165-1168, [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(97\)00019-5](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(97)00019-5).
- Aleksandra, T., Dimitrieska-Stojkovic, E., Hajrulai, Z., Uzunov, R., Stojanovska-Dimzoska, B., (2013). Cs in samples of soil from some areas of republic of Macedonia by using gamma spectrometry. Mac Vet Rev. 2. 73-77.
- Eti Maden, Etidot-67 Ürün Teknik Bilgi Formu (2019), <http://www.etimaden.gov.tr/storage/pages/March2019/7-5-etidot-67.pdf>
- Furetta, C., Prokic, M., Salamon, R., and Kitis, G., (2000). Dosimetric characterisation of a new production of $MgB_4O_7:Dy,Na$ thermoluminescent material. Applied Radiation and Isotopes, 52(2), 243-250.
- Gautam, C., Yadav, A.K., Singh, A.K., (2012). A review on infrared spectroscopy of borate glasses with effects of different additives, International Scholarly Research Network ISRN Ceramics, Vol. 2012, Article ID 428497, 17 pages, <https://doi.org/10.5402/2012/428497>
- Gecer, M., Baysal, E., Toker, H., Turkoglu, T., Vargun, E., Yuksel, M., (2015). The effect of boron compounds impregnation on physical and mechanical properties of wood polymer composites, Wood Research, 60 (5), 723-738.
- Jun, L., Shuping, X., Shiyang, G., (1995). FT-IR and Raman spectroscopic study of hydrated borates, Spectrochimica Acta, Vol. 51A, No.4, pp. 519-532.
- Kucuk, N., Gozel, A. H. , Yüksel, M., Doğan, T., Topaksu, M., (2015). Thermoluminescence kinetic parameters of different amount La-doped ZnB_2O_4 . Applied Radiation and Isotopes, 104, 186-191.
- Rajacic, M.M., Sarap, N.B., Jankovic, M.M., Nikolic, J.D., Todorovic, D.J., Pantelic, G.K., (2013). Radioactivity in chemical fertilizers, https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/44/128/44128586.pdf

- Sasi kumar, M.V., Rajeswara Reddy, B., Babu, S., Balakrishna, A., Ratnakaram, Y.C., (2017). Thermal, structural and spectroscopic properties of Pr³⁺-doped lead zinc borate glasses modified by alkali metal ions, Journal of Tabiah University for Science, 11, 593-604.
- Topaksu, M., Correcher, V., Garcia-Guinea, J., Yüksel, M., (2015). Effect of heating rate on the thermoluminescence and thermal properties of natural ulexite. Applied Radiation and Isotopes, 95, 222-225.
- UNSCEAR, 2000. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. Sources, effects and risks of ionizing radiation. Report to the general assembly, annexes B: Exposure from natural radiation sources. New York. 678-679.
- UNSCEAR, 2000. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation to the General Assembly. Sources and effects of ionising radiation. Report of the United Nations, New York, USA; 2000.
- Yeğingil Z., Yüksel M., Kurt K., Altunal V. , Özdemir A., Serindağ O, Ocakoğlu, K., Doğan, T., Topaksu, M., 2018, Dozimetrik özellik gösteren mangan (Mn) veya neodimyum (Nd) katkılı magnezyum borat (MgB₄O₇:Mn veya MgB₄O₇:Nd) ve üretim yöntemi, Patent, TR 2015 15339 B.
- Yüksel, M. (2013). Doğal ve katkılanmış bor minerallerinin dozimetre geliştirmek amacıyla termolüminesans (TL) yöntemi kullanılarak çalışılması, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana.
- Yüksel, M., Yeğingil, Z., (2015). Doğal ve katkılanmış bor minerallerinin dozimetre geliştirmek amacıyla termolüminesans (TL) yöntemi kullanılarak çalışılması. Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 33, 107-116.

İnternet kaynakları

- 1- <http://www.etimaden.gov.tr/bor-elementi> (15.09.2020)
- 2- <https://www.boren.gov.tr/Sayfa/rezervler/26> (20.09.2020)
- 3- <http://www.etimaden.gov.tr/etidot-67> (15.09.2020)

Bölüm 13

ISI YALITIM MALZEMELERİNİN ÜRETİLME METODLARI

Tülay GÜRSOY¹

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Van Yüzuncu Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 65080 Tuşba/VAN, TURKEY, tulaygursoy@yyu.edu.tr. ORCID ID: 0000-0001-6166-6875

GİRİŞ

1. Dünyada ve Türkiye’de Isı Yalıtımı :

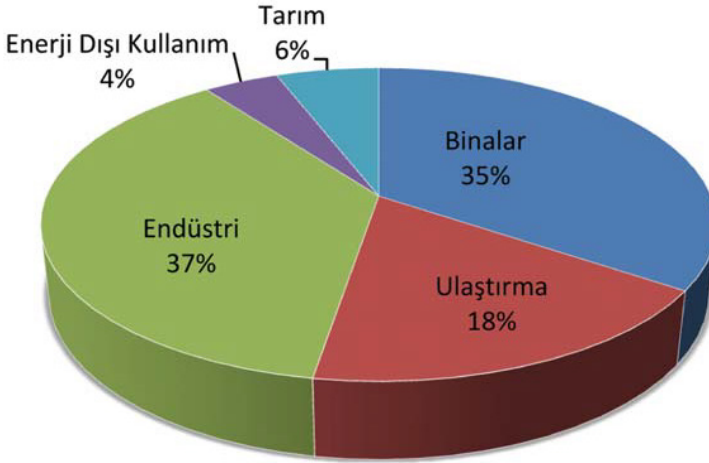
Dünyadaki ülkeler arası ilişkilerin temel belirleyicisi, güçlü ülke olmanın şartı sahip olduğun enerjinin miktarı ve enerji kaynaklarının türüdür. Gelişen sanayi ve teknoloji ile birlikte harcanan enerji miktarı artmaktadır. Bunu takiben enerji kaynağı arama çalışmaları ve enerjiyi verimli kullanma çabaları ise ivme kazanmaktadır. Türkiye’ya paralel olarak Dünya enerji tüketimini en fazla gerçekleştirdiği yer binaların ısıtılması yada soğutulmasıdır.

Türkiye’ye paralel olarak dünya enerji tüketimini en fazla gerçekleştirdiği yer binaların ısıtılması ya da soğutulmasıdır (Akkaya, 2016).

Grafik1’e baktığımızda yapılarda tüketilen enerji, total enerjinin içinde %35’lik bir dilim oluşturmaktadır. Türkiye Enerjide yaklaşık total enerji tüketimini üç çeyreği oranında dışa bağımlıdır. Enerji ithalatı yıllık toplam ithalatımızın çoğunluğu meydana getirmekte ve cari açığı en büyük hisseyi oluşturmaktadır. Türkiye’de yıllık enerji tüketimi 600 milyar türk lirası olarak kabul edersek, bunun %35’i yani 210 milyar türk lirası olan kısmı binalarda ısı konforunu sağlamak amacıyla harcanmaktadır (ETKB, 2010).

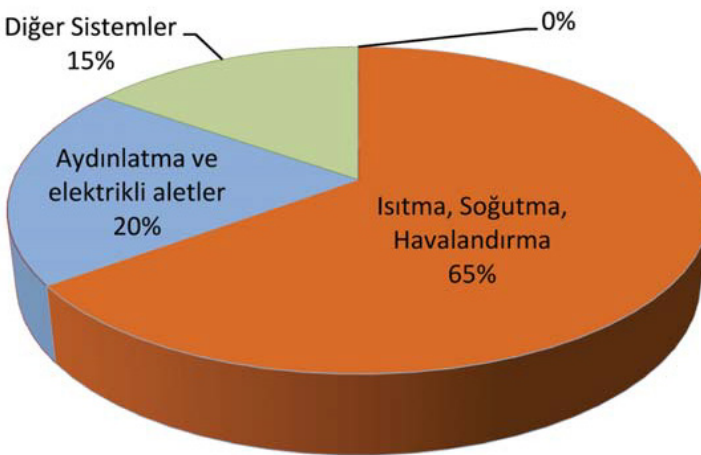
Yalıtım ile ilgili çalışmalar, 20. yüzyılın başından itibaren başlamıştır. Yalıtımın faydaları anlaşıldıkça da yalıtım bilinci gelişmiştir. Yalıtım ile ilgili kritik dönem ve yalıtımsal uygulamaların hızlanması 1970’li yıllarda petrol krizi ile dönüm noktasına ulaşmıştır. Ekonomik krizin en çok hissedildiği bu süreçte dönemde enerji ısı yalıtımının önemi ortaya çıkmış ve ısı yalıtımı sanayisinde büyük çabalar gösterilmiştir. Fosil yakıtların yol açtığı çevre kirliliğinin bir fonksiyonu olan iklim değişikliği ve küresel ısınma, yalıtım sanayisinin durmaksızın gelişmesine, değişmesine ve büyümesine neden olmuştur (Bayülken ve Kütükoğlu, 2009).

Grafik1’e baktığımızda yapılarda tüketilen enerji, total enerjinin içinde %35’lik bir dilim oluşturmaktadır. Türkiye Enerjide yaklaşık total enerji tüketimini üç çeyreği oranında dışa bağımlıdır. Enerji ithalatı yıllık toplam ithalatımızın çoğunluğu meydana getirmekte ve cari açığı en büyük hisseyi oluşturmaktadır. Türkiye’de yıllık enerji tüketimi 600 milyar türk lirası olarak kabul edersek, bunun %35’i yani 210 milyar türk lirası olan kısmı binalarda ısı konforunu sağlamak amacıyla harcanmaktadır (ETKB, 2010).



Grafik1. Türkiye Enerji Tüketim Oranları.

Grafik 2'ye baktığımızda binaların ısıtma ve serinletmeye harcadığı enerji %65'le 136.5 milyar türk lirası dolaylarındadır. Kaliteli malzeme ve başarılı bir ısı yalıtımı uygulaması yapıldığında yarı yarıya enerji verimi elde edilmesiyle yaklaşık 68.25 milyar türk lirası enerji tasarrufu sağlanabilir. Türkiye'de hala total yapıların üç çeyreğe yakını ısı yalıtımsızdır. Başbakanlık 10.Kalkınma Planı çerçevesinde enerji verimliliği üzerinde durulmuş, bu oran arttırılmaya ve dış cephe ısı yalıtımı bulunan binaların buna ek olarak 2018'den sonra mantolama işleminin zorunlu hale getirilmesinde fikir birliğine varılmıştır (ETKB, 2010). Buna karşın yaşanan küresel ekonomik kriz ve pandemi afet durumu nedeniyle yaptırımlar esnetilmek zorunda kalmıştır.



Grafik2. Binalarda Enerji Tüketim Dağılımı.

Isı Yalıtımı

Farklı sıcaklıktaki iki ortam arasındaki ısı enerjisi geçişini azaltmak için yapılan işlemlere “Isı Yalıtımı” denir. Soğuk mevsimlerde binalardaki ısıнын dışarı geçişini azaltmak; sıcak mevsimlerde ise ısıнын içeri girmesini engellemek ve aynı zamanda bina içerisindeki atmosferi serinletmek için harcadığımız enerjiyi en aza düşürmek ve daha rahat yaşamak amacıyla binaların dış cepheleri, çatı katları, pencere cam ve kaplamalarında, çatı katı döşemeleri ve iletim tesisatlarında meydana gelen ısı geçişini azaltan uygulamaların tamamını içine alır (Anonim, 2016a).

Isı Yalıtım Malzemeleri

Tüm yapı malzemelerinin ısı aktarım gücünü artırmak ya da dışarıya geçen ısı miktarının minimuma indirmek için kullanılan TS 825 ve Alman DIN 4108 standartlarına göre ısı iletim katsayısı 0,060 kcal/mh °C değerinin altında olan malzemelere ısı yalıtım malzemesi denir (Anonim, 2016b).

1.1.1.Dış Duvar Yalıtımı

Her türlü binanın dışını çevreleyen ve atmosfer ile temas eden duvar ve kolon, kiriş gibi bina destek elemanlara yapılan yalıtım uygulamasıdır. Bina dış cephe yalıtımı, sadece duvar dışına köpük yerleştirilerek yapılabilirdiği gibi; dıştan mantolama adı verilen daha işlevsel bir uygulama ile duvar arası ve içten de yapılabilmektedir.

1.1.2.Çatı Isı Yalıtımı

Dörtte bire yakın ısı kaybının yaşandığı çatılar; çatının izocam ürünü ile kaplanması, ısı enerjisinin uygulanması ve teras katı inşası şeklinde üç ayrı uygulama ile giderilmektedir.

- a. Çatı Arası İzocam ile kaplanan Çatılar
- b. Çatı Arası Isıtılan Çatılar
- c. Teras Katı İnşa Edilen Çatılar

1.1.3. Pencereelerde Isı Yalıtımı

Son beş yıldan önce inşa edilen ve aralarında alışveriş merkezi, spor salonları ve eğlence merkezlerinin bulunduğu mimari yapılar tasarıma bağlı olarak dış cephe kaplamaları ölçülerinin büyük olması nedeniyle büyük ısı kayıplarının olduğu yapı elemanlarıdır. Yine aralarında iş merkezlerinin bulunduğu bu tür yapılarda çift cam hatta üçlü cam kullanımının yanı sıra plastik kaplamaların ya da odun doğramaların (alüminyum, PVC, ahşap vb.) da ısı yalıtımlı olmaları elzemdir.

Son dönem yapılarda bu amaçla, yalıtım camı, iki veya daha çok sayıda cam plakanın aralarında kuru hava veya argon gazını alacak şekilde bütünleştirilmesi ile yapılmaktadır. Pencere yada dış yapı camlarının yüzeylerine kaplama yapılması olası ısı geçişleri daha da azaltacaktır.

1.1.4.Tesisatlarda Isı Yalıtımı

Bir mimari binanın ısıtılması veya soğutulması için harcanan enerjinin azaltılmasında tesisat yalıtımının önemi, tartışılmaz düzeyde öneme sahiptir. Özellikle binaların ısıtma ve soğutma tesisatlarının, ısıtılmasına ve soğutulmasına gerek olmayan yerlerden geçen bölümleri ve bu bölümlerdeki boru ve tüm yapısal elemanları yalıtıldıkları takdirde geri kazanılacak enerji çok önemli düzeydedir. Bu yüzden tesisatı oluşturan boruların, tankların, depoların, klima kanallarının, vanaların ve armatürlerin, içinden geçen yakıtın yapısına uygun özelliklere sahip ve uygun kalınlıktaki ve etkin bileşimdeki yalıtım malzemeleri ile kaplanmaları gerekmektedir (Anonim, 2016b; Anonim 2018).

2. ISI YALITIM MALZEMELERİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Çizelge 1. Isı yalıtım malzemelerinde aranan özellikler (Kiper Yılmaz, 2009; Kandemir, 2017)

Özellik	Köpük
Isı İletim Katsayısı (kcal/mh°C)	0,025-0,040
Yoğunluk (kg/m ³)	30-150
Mekanik Dayanım (kPa)	100-400
Nem Difüzyon Direnci (μ)	30-100
Su Emme (hacimce)	%3-5
Kimyasal Etkenlere Karşı Dayanım	√
Sıcaklık Dayanımı (°C)	-180<+<200
Yanmama özelliği ve Ateş Geçirmezlik	B1-B2-B3 DIN 41 02
İşlenebilirlik	√
Sıvı Tutuculuk	√
Çürümezlik	√
Parazitlere Dayanıklılık	√
Uzun Ömürlü Olması	√
İnsan Sağlığına ve Çevreye Zararlı Olmaması	√

3. BİNA YALITIMINDA KULLANILAN ISI YALITIM MALZEMELERİ

1. Cam Yünü:

Değişik yoğunluklarda (14-100 kg/m³) farklı kaplama malzemeleri ile silte, levha veya boru formunda üretilebilirler (ÇŞB, 2018). Isıl iletkenlik

hesap değeri 0,040 W/m.K'dir. ve -50 °C ile 250 °C arasında sıcaklık dayanımına sahiptir ve bu özelliği ile yanmazlık özelliği göstermektedir. A1 veya A2 sınıfı yanmaz bir malzemedir (Anonim, 2020).

İnorganik bir hammadde olan silis kumunun (SiO_2), yüksek basınç altında 1200°C-1250°C'de ergitilerek, ince eleklerden geçirilip elyaf haline getirilmesi sonucu oluşturulan açık gözenekli bir malzemedir (Anna ve Hull, 2011).

2. Taş Yünü:

İnorganik bir hammadde olan bazalt ve diabez taşlarının 1400°C -1500°C sıcaklıklarda, ince eleklerden geçirilip elyaf haline getirilmesi sonucu oluşturulan açık gözenekli bir malzemedir. Taş yünü, volkanik kayalardan tedarik edilen minerallerin çok yüksek sıcaklıklarda eritilmesi işleminden sonra elyaf haline getirilir. Yanmazlık özelliği yüksek ve hidrofobik karakterdedir.

Değişik yoğunluklarda farklı kaplama malzemeleri ile kullanılacak olan şilte, levha veya borunun şekline uygun olarak kalıplanırlar. Dış cephe ısı yalıtımında kullanılır(Anonim, 2019; Anna ve Hull, 2011).

3. Ekstrüde Polistren Köpük (XPS):

Homojen hücre yapısına sahip, ısı yalıtımı yapmak amacıyla sentezlenen ve kullanılan köpük yapıda malzemelerdir. Polistren hammaddesinin ekstrüzyon (haddeme) ile üretilen ortak çeperli kapalı hücre yapısındadır. Pürüzsüz ve pürüzlü ile pürüzlü ve kanallı yüzey biçimleri bulunmaktadır. Su alma ve nem difüzyonu özelliklerine sahip olması, XPS ısı yalıtım malzemelerine üstünlük kazandırır. Isıl iletkenlik hesap değeri 0,030-0,040 W/m.K'dir. Yangına tepki sınıfı D veya E'dir (Gürsoy, 2016; ÇŞB, 2018; İzoder, 2018; Anna ve Hull, 2011).

4. Ekspande Polistren Köpük (EPS):

Kelime anlamına uygun olarak genleştirilmiş, termoplastik yapıda ısı yalıtım malzemesidir. Ağartma prosesine bağlı olarak beyaz formu da kullanılmakla beraber; koyu renkli türü de bulunmaktadır. Petrol türevi hammaddeler kaynak olarak kullanılır. EPS levhaların ısı yalıtımı amacıyla kullanılabilmesi için yoğunluğunun 15-30 kg/m³ olması gereklidir. Ekspande Polistren Köpük; %2'si ise polistrendir kalan kısmı ise yerleştirilmiş hava gazıdır. Isıl iletkenlik hesap değeri 0,035-0,040 W/m.K'dir. Yangına tepki sınıfı D veya E'dir (ÇŞB, 2018; ESPDER, 2018; Anna ve Hull, 2011).

5. Fenol Köpüğü (PF):

Fenol-Formaldehit bakalitine anorganik şişirici ve sertleştirici maddeler katılarak elde edilir. Muhtelif yoğunluklarda levha ve boru biçiminde alüminyum folyo, metal partiküller vb. kaplamalar ile sarılmaktadır. Isıl iletkenlik hesap değeri 0,030-0,045 W/m.K'dir. Yangına tepki sınıfı; Kaplamasız B, Alüminyum folyo ve metal sarmalı türleri C sınıfıdır. (ÇŞB, 2018; Anna ve Hull, 2011).

6. Poliüretan Sert Köpük (PUR):

Poliüretan köpükler, poliöl sistem ile izosiyanatın belli oranlarda karışımı ve bu karışımın bir kabartıcı (köpürtücü) yardımıyla genişmesinden oluşur. Poliüretan kullanım yerine uygun olarak yumuşak, kısmi sert yada sert türleri vardır. Isıl iletkenlik hesap değeri 0,025-0,040 W/m.K'dir. Yanmazlık özelliğini geliştirmek amacı ile son dönem forfor ve humik asit katkılı örnekleri patenti alınmak suretiyle üretime katılmıştır (ÇŞB, 2018; İzoder, 2018; Anna ve Hull, 2011; Aydın ve Ekmekçi, 2002).

7. Cam Köpüğü (CG)

Cam köpüğü; hücresel dolgu malzemesi ile birleştirilmiş atık cam kırıklarından oluşur. Cam kırığı yüksek sıcaklıkta eritilerek soğumaya bırakılır, daha sonra toz haline getirilir ve sellüler fırınlardan 1000°C sıcaklıkta karbon bütünleşmesinden geçirilir. Karbon içerikli cam tozu, hücresel dolgu malzemesi ile bir kalıba yerleştirilerek yaklaşık 510°C'ye kadar ısıtılır, malzemenin uzaklaşması neticesinde karışım genişleşip kalıbı doldurur. Isıl iletkenlik hesap değeri 0,045-0,060 W/m.K'dir. A sınıfı yanmaz bir malzemedir (ÇŞB, 2018; Anna ve Hull, 2011).

MATERYAL VE METODLAR

1. ISI YALITIM MALZEMELERİNİ OLUŞTURAN BİLEŞENLER

Çizelge 2. Katkı olarak kullanılan malzemelerin görevleri ve kullanım amaçları (Al-Homoud, 2005).

Katkı maddeleri	Yalıtım malzemesindeki görevi	Kompozit yapıya sağladığı faydalar
Sodyum, potasyum ve lityum silikat	Yapıştırıcı	-Agrega malzemelerini bağlayarak bir arada tutar -Yanmaz inorganik yapıştırıcıdır
Kil- kaolin	Yapıştırıcı	- Yağlama sağlayıcılığı (plastikleştirici) - Yangın direncini artırır - Şekillendirilmiş kompozitlerin nem ve bozulma- büzülme direncini artırır

Sodyum karboksimetil selüloz ve polivinil alkol	Yapıştırıcı	-Suda çözünen bağlayıcılar - Viskozite arttırıcı ajan - Akustik performansın artırılmasını sağlar
Sodyum karbonat ve bikarbonat	Yüzey aktifleştirici	- Jel-zamanı ve son karışımın kalıp ömrünü etkileyerek reaksiyon ürününün stabilizesini olumlu bir şekilde artırır
Sodyum hidroksit	Yapıştırıcı	-Yüksek sıcaklıklarda güçlü bağlayıcılık sağlar - Reaksiyonun oda sıcaklığının altında gerçekleşmesini sağlar
Portland çimentosu	Yapıştırıcı ve sertleştirici	- Daha hızlı sertleştirme sağlar - Dayanımı artırır - Fazla nemin buharlaştırılma ihtiyacını azaltır
Trisodyum fosfat	Yapıştırıcı	- Dayanımı artırır
Genleştirilmiş perlit	Agrega	-Isı ve ses yalıtımı sağlar
Mika	Mineral	-Köpük stabilizesini artırır
Pomza	Agrega	-Isı ve ses yalıtımı sağlar -Soğuma süresini kısaltır
Atık lastik	Agrega	-Isı ve ses yalıtımı sağlar -Kompozit malzemenin sürekliliği ve enerji soğurma kapasitesini artırır
Feldispat	Mineral	- Yüksek sıcaklıktaki yüklemelerde mekanik özellikleri artırır.
Kuvars	Mineral	-Malzeme stabilizesini artırır
Silis dumanı	Mineral	-Dayanımı artırır
Fiberler	Fiber	-Dayanımı artırır -Mekanik özellikleri geliştirir
Sodyum klorür	Kürleyici	-Yüksek sıcaklıklarda erimeyi önler
Çinko oksit	Kürleyici	-Dayanımı ve yüksek sıcaklıklarda su direncini artırır (su itici)
Magnezyum oksit	Kürleyici	-İşimadan kaynaklı ısının belirgin bir şekilde yansıtılmasını sağlar
Asetik asit	Kürleyici	-Viskozite arttırıcı ajan
Borik asit	Kürleyici	-Güçlendirici ajan -Kimyasalların toplam parlama noktasını azaltarak çekirdek kompozitin yanmazlık derecesini artırır
Kalsiyum klorür	Kürleyici	-Suya dirençli ve viskozite arttırıcı ajan
Hidrojen peroksit	Kürleyici	-Son derece uzun jel kıvamına sahip -Silikat bileşimlerinin kürlenmesi için hızlandırıcı ajandır.
Fosforik asit	Kürleyici	-Katalizör
Sodyum tetraborat	Kürleyici	- Paslanma yavaşlatıcı (sodyum silikat ile kombinasyon halinde) - Ani sıcaklık artışlarında ısısal şoklardan kaynaklı bozunma ve dökünmeyi azaltır ve korur
Kolemanit	Kürleyici	-Sodyum silikatin silis içeriğinin stabilizesini artırır

Alüminyum sülfat	Kürleyici	-pH ayarlayıcısı - Koyulaştırıcı ajandır.
Magnezyum karbonat	Kürleyici	- Azaltılmış yüzey gerilimi sağlar - Endotermik etki sağlar - Su itici özelliği sağlar - Yüksek oranda dayanımı artırır - Alev geciktirici etki yapar - Viskoziteyi artırır.
Alüminyum hidroksit	Kürleyici	-Yangın önleyici ajan
Plastikleştirici	Akışkanlaştırıcı	-Ekstra su ilavesi olmadan karışımın akışkanlığını artırır.
CO ₂	Kürleyici	-Sertleştirici ajan
Magnezyum stearat	Su itici ve dağıtıcı	-Su itici ajan -Fiberlerin kolay dağılımını sağlar -Kürlenmemiş yapıştırıcının dayanımını azaltır
Aktif karbon	Katkı	-BET alan artırıcı
Kromyum (III) oksit	Opaklaştırıcı	-Işımadan kanyaklı ısıyı engeller
Silikon	Su itici	-Yerleştirme ve su itici ajan

2. ISI YALITIM MALZEMELERİ ÜRETİM TEKNİKLERİ

Hazırlanacak olan ısı yalıtım malzemesinin öncelikli olarak dış duvar, çatı, pencere veya tesisat ısı yalıtımı malzemelerinden hangisi olduğu belirlenmelidir. Bir sonraki basamak cam yünü, eksrüde taş yünü, genişletilmiş polistiren, eksrüdepolistiren, fenolik köpük, poliüretan, cam köpüğü, agrega esaslı veya diğerlerinden hangi türde ısı yalıtım malzemesi türünden hazırlanacağına karar verilmelidir.

Yalıtım Malzemesinin Karışım Oranlarının Belirlenmesi:

Isı yalıtım malzemelerinin fiziksel, kimyasal ve mekanik ve termal özelliklerini yapısında kullanılacak olan dolgu malzemeleri, yapıştırıcı malzemeler, sertleştiriciler, yüzey aktifleştiriciler, diğer katkılar ve varsa akışkanlaştırıcıların yapısı ve yüzde miktarları belirler. Bu nedenle yalıtım malzemelerinin karışım oranları yoğun araştırma veya literatür incelemesi neticesinde belirlenmelidir (Gürsoy, 2016).

1. Numunelerin üretilmesi:

Yalıtım malzemelerinin üstün yalıtım özelliklerinin yanı sıra yüksek mekanik özelliklere sahip olabilmesi için birçok parametre bulunmaktadır. Bu parametreler sırasıyla şunlardır: genişletilmiş dolgu malzemenin yoğunluğu ve karışımda kullanılacak yüzdesi, kullanılacak bağlayıcının cinsi ve yapıştırıcı/agrega oranı, karışımda kullanılacak su miktarı, kullanılacak fiber/agrega oranı, kullanılacak diğer bağlayıcılar,

mineraller ve uygun sertleştirici seçimi ve kullanım oranı, presleme yaparken kullanılacak basınç veya sıkıştırma oranı, kurutma ve kurlenme süresi ve sıcaklıklarıdır. İlk aşama karışımda kullanılacak agrega dolgu, bağlayıcı, sertleştirici ve diğer katkı malzemelerine karar verilmesinden oluşur. Daha sonra yalıtım malzemesinden istenilen düşük birim ağırlık, ısı ve ses iletkenliği ile yüksek işlenebilirlik, dayanım ve gözeneklilik gibi özelliklerinin kazandırılması amacıyla karışım için en uygun yapıştırıcı/ agrega oranı varsa en uygun katkı malzemelerinin oranına karar verilir. Diğer taraftan eğer karışıma çinko oksit (ZnO), silikon, akışkanlaştırıcı (dispersant) gibi malzemeler katılacaksa bunların bağlayıcı ile karıştırılması tavsiye edilir (Gürsoy ve Alma, 2017).

2. Şekillendirme:

Isı yalıtım malzemeleri kontrollü şekillendirme ve kontrolsüz (serbest) şekillendirme olmak üzere iki farklı türde hazırlanır. Kontrollü şekillendirme işleminde; karışım hazırlandıktan sonra başlangıç malzemeleri ıslak taneli parçacıklar şeklinde gözükecektir. Kalıplardan numunelerin kolay çıkması için birbirine monteli kalıplar kullanılır ve karışımın bu kalıplara yapışmaması için yağ, balmumu veya kâğıt ile kaplanır. Daha sonra önceden hazırlanmış ve yağlanmış belirli ölçüye sahip kalıplara dökülür. Kalıplara düzgün bir şekilde dolmasını sağlamak için sarsma tablasında 3-5 saniye vibrasyona tabii tutulur. Kalıplar 1 ile 2 hacimsel sıkıştırma oranında (Örneğin; 0.14-0.36 MPa) presleme yapılarak istenilen şekle kavuşturulur. Üretilen numunelerde sıkıştırma oranı veya presleme basıncının etkisi çok büyüktür çünkü yalıtım özelliğini belirler (Oktay, 2017).

a) Blok Döküm: Katı üretilen köpük üretiminde en eski uygulama şekli blok dökümdür. Seri üretimin amaçlandığı zamanlarda özellikle tercih edilir. Tesisat yalıtımı, başlıca kullanım yeridir. Bu uygulamada plastik yada ısıya dayanıklı polietilen kap içerisine, bütün bileşenler karıştırılarak dökülür ve köpürtme işlemi gerçekleştirilir. Belli bir süreden şartlanma (kurlenme) süresinden sonra kalıba bağlı olarak köpük, bütünsel olarak kalıptan hassasiyet ile çıkarılır. Blok, kurlenmenin tamamlanması için bir süre daha bekletilir ve istenen şekle ve boyutlara uygun olarak kesilir. Blok döküm sisteminde kremalaşma zamanı 45-60 sn olarak daha fazla uygulanır.

b) Levha Döküm: Fazla miktarda ve hızlı üretim yapılmasına ihtiyaç duyulan durumlarda büyük tabakalar halinde üretime olanak sağlaması açısından tercih edilen üretim tekniğidir. Bu durumda reaksiyon karışımı hareketli bir döküm kafa kısmında yer alan depo kısmına aktarılır ve üzeri köpüğün rahat çıkarılması için ilgili kâğıt kaplanmış konveyör üzerine

dökülür. Köpürme esnasında kenarlar dikey konveyörler vasıtasıyla desteklenir. Döküm işlemi sonunda köpük kesilir, paketlenir ve depolanır.

c) Püskürtme: Yatay veya düşey zemin yalıtımında tercih edilen, üretim ve kaplama tekniğidir. Pratik uygulanma özelliği, yaygın kullanımının başlıca sebebidir. Püskürtme tekniğinde, hızlı bir şekilde reaksiyona giren karışım direk olarak üzerinde köpüreceği bir tabaka üzerine püskürtülür. Karışım yüzeye çok iyi yapışır ve ince tabaka halinde köpük meydana gelir. Bu tip uygulamalar sık sık izolasyon işleminde kullanılır (özellikle tank izolasyonu). Bu uygulamalar için özel püskürtme ekipmanı gereklidir. Yatay yüzeylerde kısmen daha uzun kremalaşma süresi seçilse de dikey yüzeylerde kısa (4-5 s) olarak tercih edilmelidir.

d) Dökme: Bu metoddaki köpürmenin yapılacağı bir boşluğa reaksiyon karışımı sıvı fazda dökülür. Genellikle soğutucuların (buzdolabı, derin dondurucu ve soğutma depoları) içerisinde kullanılır. Oluşan köpük kalıbın yük taşınımına dayanıklı olması gerekir. Köpürme ve kürlenme süresi 0-7 dakika arasında optimum bir süre olarak belirlenir.

e) Çift Bant Haddeden Geçirme: Bu metod tabakalı yalıtım malzemelerinin seri üretimi için kullanılır. Karıştırılmış bileşenler, iki hareketli tabaka arasına boşaltılır, yerleşmesi sağlanır veya püskürtülür. Ölçüsel olarak yeteri kadar uygun akışkanlıkta duruma gelinceye dek alt ve üst konveyörlerden kuvvet uygulanır. Köpük konveyörden çıktıktan sonra istenilen ölçüde kesilir, ve kullanılır (Aydın ve Ekmekçi, 2002).

Kontrolsüz şekillendirme işleminde ise, hazırlanan numuneler üzerine köpükleştirici ajanlar eklendikten sonra uygulanan hızlı karıştırma işleminden sonra serbestçe yükselmesi için bekletilir. Tercih edilen kürlenme süresinin sonunda, istenilen boyutlarda kesme işlemi yapılır (Gürsoy, 2014).

3. Kurutma:

Kontrollü şekillendirme ile hazırlanan ısı yalıtım malzemelerine genel olarak kurutma işlemi uygulanır. Kurutma işlemi tercih edilen kurutma süresi ve kurutma sıcaklığında yapılır. Kurutma süresi 2-24 saat ve kurutma sıcaklığı 50-100 °C derece arasında belirlenir. İşlemin amacı ısı yalıtım malzemelerinin bünyesinde olan uçucu sıvıların uzaklaştırılmasıdır (Oktay, 2017). Zehirli ve kötü kokulu bileşenler bu yolla yapıdan ayrılış olur.

4. Kürlenme:

Kürlenme katkı malzemeleri kullanılarak hazırlanan numunelerin yüksek dayanım ve yüksek stabilizasyona ulaşabilmesi için çok etkin bir işlemdir. Genelde yüksek kürlenme sıcaklığı daha yoğun ve dayanımlı

malzemelerin meydana gelmesine, düşük kürlenme sıcaklığı ise daha hafif ve yalıtımlı malzemelerin oluşmasına imkân sağlamaktadır. Yalıtım malzemelerinin kürlenme süresi, hazırlanan karışımda kullanılan katkıların ve sertleştiricilerin cinsi ve özelliklerine göre değişmektedir. Örnek olarak; bazı köpürtücü ajanlar (sodyum karbonat, bikarbonat) yalnızca belli sıcaklıklar üstünde ayrılmakta ve silikatlar ile reaksiyona girmektedirler. Bu durumda yüksek kürlenme sıcaklığı tercih edilir (Oktay, 2017).

TARTIŞMA

Binalarda ve tesisatlarda ısı giriş ve çıkışlarının sınırlandırılması için yapılan işleme ısı yalıtımı denir. Uygulama olarak ısı yalıtımı, sıcaklık farkının nisbeten fazla olduğu iki ortam arasında ısı transferini minimize etmek için uygulanır. Her tür ve bileşende ısı yalıtım materyalinin kullanım alanı başkadır. Ayrıca, aynı uygulama için kullanabilecek birden fazla farklı içerikte yalıtım materyali de bulunmaktadır. Hazırladığımız araştırma çalışmasının, sektöre ve ilgili alanda çalışma sunabilecek bilim insanlarına katkı sunması amaçlanmıştır.

KAYNAKÇA

- Akkaya, C.İ.,(2016). Fabrication Of Polymer/GlassNanocomposite Fiber As An InsulatingMaterial. (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi) İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Al-Homoud M. (2005). Performancecharacteristicsandpracticalapplications of commonbuildingthermalinsulationmaterials. Buildingand Environment. 40(3).
- Anna A. &Hull, T. (2011). Assessment of the fire toxicity of buildinginsulationmaterials. EnergyandBuildings. 43 (2-3).
- Anonim (2018),http://www.imo.org.tr/resimler/ekutuphane/pdf/17182_44_51.pdf Son erişim tarihi 10.10.2020
- Anonim (2016a), [www.http://gnyapi.com.tr/isi-yalitim/malzemeleri/](http://gnyapi.com.tr/isi-yalitim/malzemeleri/) Son erişim tarihi 10.10.2020
- Anonim (2016b)[www.http://sahatek.com.tr/blog/en-dogru-isi-yalitim-malzemesi-nedir/](http://sahatek.com.tr/blog/en-dogru-isi-yalitim-malzemesi-nedir/) Son erişim tarihi 10.10.2020
- Anonim (2020), [www.http://gnyapi.co.tr/cam-yunu/](http://gnyapi.co.tr/cam-yunu/) Son erişim tarihi 22.09.2020
- Anonim (2019), Son erişim tarihi 22.09.2020
- Aydın, H., Ekmekçi, İ., 2002. Isı yalıtım malzemesi olarak poliüretan köpüğün fiziksel ve kimyasal özellikleri, üretimi ve incelenmesi. SAU Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6(1): 45-50.
- Bayülken, Y.,Kütükoğlu, H.C., 2009. Yalıtım Sektörü Envanter Araştırması Raporu (İZODER). Mayıs 2009. http://www.yapi.com.tr/Araştırmalar/yalitimsektoru-envanter-arastirmasi_393.html. Erişim tarihi: 06.09.2009
- ETKB 2010 Enerji Dengesi.
- ETKB 2010 Genel Enerji Dengesi Raporu
- Gürsoy, T. (2016). Patates (Solonum Tuberosum L.) Artıklarının Polialkollerle Sıvılaştırılarak Poliüretan Esaslı Köpüklerin Sentezi ve Karakterizasyonu. (Yayınlanmış Doktora Tezi). VanYüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Gürsoy, T., Alma M.H., Water Absorption and Biodegradation Properties of Potato Based Polyurethane Foams. Middle East Journal Of Science Vol:3(2):107-114. ISSN:2536-5312
- Gürsoy, T., Karaoğlu, E., Salan, T., Alma, M. H., 2014. Gaziantep Fıstığının Kırmızı ve Sert Kabuğundan Poliüretan Esaslı İzolasyon Köpük Eldesi ve Özelliklerinin Araştırılması. Yeşil Altın Antep Fıstığı Zirvesi Çalıştayı Bildirileri, 17-18 Eylül 2014, Gaziantep.
- Kiper Yılmaz, G.H. (2009) Binalarda Dış Duvarlarda Kullanılan Isı Yalıtım Kaplamalarının Enerji Korunum Performansları Açısından İncelenmesi

(Yüksek Lisans Tezi). Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İZMİR.

Oktay, H. (2017). Yalıtım özelliği yüksek yapı malzemelerinin geliştirilmesi ve ısı performanslarının incelenmesi. (Yayınlanmamış Doktora Tezi). Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Batman.

