

**BAZI BOR BİLEŞİKLERİNİN *İN VİTRO* ŞARTLARDA PERİFERAL İNSAN
KANI ÜZERİNE GENETİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ**

Hasan TÜRKEZ

Doktora Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

2007

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

BAZI BOR BİLEŞİKLERİNİN *İN VİTRO* ŞARTLARDA
PERİFERAL İNSAN KANI ÜZERİNE GENETİK VE
BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

Hasan TÜRKEZ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM
2007

Her hakkı saklıdır

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BAZI BOR BİLEŞİKLERİNİN *İN VİTRO* ŞARTLARDA PERİFERAL İNSAN KANI ÜZERİNE GENETİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

Hasan TÜRKEZ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

Bu çalışmada, farklı bor bileşiklerinin (borik asit = H_3BO_3 , boraks = $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, kolemanit = $Ca_2B_6O_{11} \cdot 5H_2O$ ve üleksit = $NaCaB_5O_9 \cdot 8H_2O$) insan periferik kanı üzerindeki genetik ve biyokimyasal etkilerinin *in vitro* şartlarda saptanması amaçlanmıştır. Araştırmamız bor bileşiklerinin periferik kan üzerindeki *in vitro* etkileri konusunda ilk deneysel çalışmadır. Çevresel ajanların belirgin yan etkili girişlerinin kandan diğer dokular içine doğru olduğu göz önüne alındığında kan dokusunu incelemek, hedef dokular üzerindeki riski değerlendirmek açısından bilhassa önem taşımaktadır. Bu çalışmada, periferik kan kültürleri bor bileşiklerinin farklı dozlarına (5, 10, 15, 20, 40, 50, 80, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mg/L) *in vitro* şartlarda maruz bırakılmıştır. Genetik ve biyokimyasal araştırmalarda kullanılan tüm heparinize kan örnekleri daha önce herhangi bir toksik ajana maruz kalmamış, yaşları 24-30 arasında, sigara ve alkol kullanmayan 10 sağlıklı bireyden alındı. DNA ve kromozom hasarlarını tespit etmek için Kardeş-Kromatid Değişimi (KKD), Mikroçekirdek (MÇ) ve Kromozom Aberasyonları (KA) testleri uygulanmış, Oksidatif stresi belirlemek amacıyla da biyokimyasal parametreler [Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon-S-Transferaz (GST), Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz (G-6-PDH), Total Glutasyon (TGSH), Malondialdehit (MDA) ve Total Antioksidan Kapasitesi (TAC)] incelenmiştir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, *in vitro* insan kan kültürlerinde farklı bor bileşiklerinin düşük dozlarda antioksidan enzim aktivitelerini teşvik etmek suretiyle faydalı oldukları tespit edilmiştir. Diğer test bileşiklerine kıyasla üleksitin en faydalı, kolemanitin de daha az faydalı olduğu gözlenmiştir. Benzer etkiler gösteren borik asit ve boraksın faydalılık düzeyleri ise kolemanitten fazla olmuştur. Yine bu çalışma ile bor bileşiklerinin artan dozlarda oksidatif stres oluşturmalarına rağmen en yüksek konsantrasyonlarda dahi genotoksik etkilerinin bulunmadığı saptanmıştır. Nitekim, genetik hasarların duyarlı ve güvenilir göstergeleri olarak kabul edilen KKD, MÇ ve KA testleri genotoksik etkileri olmadığını göstermiştir. Bulgulara dayanılarak, çalışılan bor bileşiklerinin güvenli bir şekilde kullanılabileceği ancak oksidatif strese bağlı olarak gelişmesi muhtemel olan hücre hasarlarının da dikkate alınmasının gerektiği kanaatine varılmıştır.

2007, 192 sayfa

Anahtar kelimeler: Bor bileşikleri, Genotoksisite, Periferik kan kültürü, *İn vitro*, Oksidatif stres.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

THE GENETIC AND BIOCHEMICAL EFFECTS OF SOME BORON COMPOUNDS ON PERIPHERAL HUMAN BLOOD *IN VITRO*

Hasan TÜRKEZ

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

In this study, it is aimed to determine genetic and biochemical effects of various boron compounds (boric acid = H_3BO_3 , borax = $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, colemanite = $\text{Ca}_2\text{B}_6\text{O}_{11} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ and ulexite = $\text{NaCaB}_5\text{O}_9 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) on human peripheral blood *in vitro*. Our study is the first *in vitro* experimental study on the effects of boron compounds on peripheral blood. Considering that the distinct external entrances with adverse effects of environmental agents are from blood into the other tissues, to examine blood tissue is especially important in terms of evaluating the risk on target tissues. In this study, peripheral blood cultures were exposed to various doses (5, 10, 15, 20, 40, 50, 80, 100, 150, 200, 300, 400 and 500 mg/L) of boron compounds in *in vitro* conditions. All the heparinized blood samples were taken from 10 healthy people between 24-30 who were not exposed to any toxic agents and did not smoke or drink. Sister-Chromatid Exchange (SCE), Micronucleus (MN) and Chromosomal Aberrations (CA) tests were applied to find out DNA and chromosome damages and biochemical parameters [Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GSH-Px), Glutathione-S-Transferase (GST), Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G-6-PDH), Total Glutathion (TGSH), Malondialdehyde (MDA) and Total Antioxidant Capacity (TAC)] were examined to determine oxidative stress.

According to the results of this research, it was determined that various boron compounds of low doses were useful by supporting antioxidant enzyme activities in *in vitro* human blood cultures. Compared to the other test compounds, it was observed that ulexite was the most useful and colemanite was less useful. The levels of usefulness of boric acid and borax that showed similar effects are more than colemanite. Again in this study, it was found out that the boron compounds do not have genotoxic effects even in the highest concentrations though they constitute oxidative stress in increasing doses. As a matter of fact, SCE, MN and CA tests, which were regarded as sensitive and reliable indicators of genetic damages, yielded negative results. Based on the findings, it was concluded that the studied boron compounds can be used safely, but it is necessary to consider the tissue damages which are likely to appear depending on the oxidative stress.

2007, 192 pages

Keywords: Boron compounds, Genotoxicity, Peripheral blood culture, *In vitro*, Oxidative stress

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmanın bir kısmı, Atatürk Üniversitesi 2004/172 nolu araştırma projesi kapsamında, Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvarları ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Aziziye ve Yakutiye Araştırma Hastaneleri Biyokimya ve Genetik laboratuvarlarında yapılmıştır.

Çalışmalarında her türlü desteği sağlayan çok değerli hocam, danışmanım Sayın Doç. Dr. Fatime GEYİKOĞLU'na en içten teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Biyokimya araştırma laboratuvarında her zaman yardım ve desteklerini gördüğüm değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. M. Sait KELEŞ'e ve Sayın Uzm. Dr. Asuman ÖZKAN'a, genetik araştırmalar süresince her konuda fikir ve görüşlerine başvurduğum, karşılaştığım her sorunda yardım ve desteğini gördüğüm değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Abdulgani TATAR'a, yine çalışmalarım sırasında değerli bilgilerine başvurduğum başta Sayın Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR olmak üzere, Sayın Prof. Dr. Sıtkı ÖZTAŞ'a, Sayın Prof. Dr. Muhtar KOCAKERİM'e, Sayın Prof. Dr. Hasan SEÇEN'e, Sayın Prof. Dr. Necati YILDIZ'a, Sayın Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a ve Sayın Prof. Dr. M. Cemal OĞUZ'a, laboratuvar araştırmalarım süresince yardım ve desteklerinin yanı sıra, güler yüzlerini benden esirgemeyen tüm Tıbbi Genetik ve Biyokimya laboratuvarı çalışanlarına ve ayrıca bölümümüz öğretim elemanlarına, deneylerim sırasında periferik kan örneklerini temin ettiğim gönüllü katılımcı 10 fedakar arkadaşıma ve Aziziye Araştırma Hastanesi Kan Merkezi çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında annem, babam ve kardeşlerimden görmüş olduğum destekten dolayı kendilerine ayrıca teşekkür ederim.

Hasan TÜRKEZ

Şubat 2007

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	89
3. MATERYAL ve YÖNTEM	96
3.1. Materyal	96
3.1.1 Kan örneklerinin alınması ve kültürlerin kurulması	96
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler.....	97
3.1.3. Kullanılan aletler ve cihazlar	97
3.1.4. Sitogenetik araştırmalarda kullanılan kültür medyumunun içeriği	98
3.1.5. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması	98
3.2. Yöntemler	101
3.2.1. Genotoksisite testleri	101
3.2.1.a. Kardeş-kromatid değişimi yöntemi	101
3.2.1.b. Kromozom aberasyonları yöntemi	103
3.2.1.c. Mikroçekirdek yöntemi	104
3.2.2. Biyokimyasal analizler	105
3.2.2.a. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin tayini	105
3.2.2.b. Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini	106
3.2.2.c. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin tayini	107
3.2.2.d. Glutatyon-S- Transferaz (GST) aktivitesinin tayini	108
3.2.2.e. Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz (G6PDH) aktivitesinin tayini	109
3.2.3.f. Total Glutatyon (TGSH) tayini	110
3.2.3.g. Malondialdehit (MDA) analizi	110
3.2.3.h. Total Antioksidan Kapasitesi (TAC) tayini	111
3.3. Fotografik İşlemler.....	112

3.4. İstatistiksel Yöntem.....	112
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	113
4.1. Genetik bulgular	113
4.1.1. Bor bileşiklerinin in vitro şartlarda kardeş-kromatid değişimi frekansı üzerine etkileri	113
4.1.2. Bor bileşiklerinin in vitro şartlarda mikroçekirdek sıklığı üzerine etkileri	119
4.1.3. Bor bileşiklerinin in vitro şartlarda kromozomal aberasyon sıklıkları üzerine etkileri	124
4.2. Biyokimyasal bulgular	129
4.2.1. İn vitro şartlarda insan eritrosit SOD aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri	129
4.2.2. İn vitro şartlarda insan eritrosit CAT aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri	133
4.2.3. İn vitro şartlarda insan eritrosit GSH-PX aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri	137
4.2.4. İn vitro şartlarda insan eritrosit GST aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri	141
4.2.5. İn vitro şartlarda insan eritrosit G-6-PDH aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri	145
4.2.6. İn vitro şartlarda insan eritrosit Total Glutasyon miktarı üzerine bor bileşiklerinin etkileri	149
4.2.7. İn vitro şartlarda eritrosit MDA değeri üzerine bor bileşiklerinin etkileri	153
4.2.8. İn vitro şartlarda Total Antioksidan Kapasitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri	157
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	161
KAYNAKLAR.....	170
ÖZGEÇMİŞ.....	193

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

B	Bor
BNCT	Boron neutron capture therapy (Borla nötron yakalama terapisi)
BrdU	5-Bromo-2' deoksiuridin
CA	Chromosomal aberrations
CAT	Katalaz
CHO	Chinese Hamster Ovaryum
dl	Desilitre
DNA	Deoksiribonükleik asit
FPG	Fluorescence plus giemsa
G-6-PDH	Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz
GSH	İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSG	Yükseltgenmiş glutatyon
GST	Glutatyon S – Transferaz
KA	Kromozom aberasyonları
kg	Kilogram
KKD	Kardeş-kromatid değişimi
L	Litre
M	Molarite
MÇ	Mikroçekirdek
MDA	Malondialdehid
mg	Miligram
mM	Milimolar
MPO	Miyeloperoksidaz
nm	Nanometre
ÖD ₁₀₀	Öldürücü doz
ÖD ₅₀	Medyan öldürücü doz
PUFA	Poliansature yağ asiti
RNA	Ribonükleik asit
RNS	Reactive nitrogen species (Reaktif azot türleri)

ROM	Reaktif oksijen metabolitleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SCE	Sister chromatid exchange
SOD	Süperoksit dismutaz
TAC	Total antioxidant capacity (Toplam antioksidan kapasitesi)
TGSH	Toplam glutatyon
WHO	World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)
µg	Mikrogram

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Türkiye’de en fazla üretilen bor cevherlerinden kolemanit, üleksit ve tinkal’in mineral şekilleri	15
Şekil 1.2. Araştırmada test bileşikleri olarak belirlenen bor bileşiklerinin kristal yapıları	15
Şekil 1.3. Hücre döngüsü	36
Şekil 1.4. Memeli hücrelerinde DNA hasarı cevap yolu	41
Şekil 1.5. Mutajenezisin karsinogenezis ile ilişkisi	44
Şekil 1.6. Kanser oluşumu üzerine metallerin muhtemel etki yolları	45
Şekil 1.7. BrdU inkübasyonu sonucunda SCE tayini	48
Şekil 1.8. KKD’de 1’li, 2’li ve 3’lü değişimlerin şematik görünümü	48
Şekil 1.9. Örnek metafaz plağında KKD dağılımı	49
Şekil 1.10. Başlıca kromozomal aberasyon türleri	51
Şekil 1.11. Kromozomal aberasyon türleri	51
Şekil 1.12. Mikroçekirdek oluşum mekanizması ve farklı tiplerde mikroçekirdek oluşumları	53
Şekil 1.13. Mikroçekirdek örnekleri	54
Şekil 1.14. Serbest radikal kaynakları	59
Şekil 1.15. NO [•] bağımlı reaksiyonlar ve RNS’nin oluşumu	63
Şekil 1.16. Oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarları	65
Şekil 1.17. Lipid Peroksidasyonu zincir reaksiyonu	67
Şekil 1.18. Araşidonik asit otooksidasyon mekanizması	68
Şekil 1.19. Oksidatif stres ve mutasyonların oluşumu	71
Şekil 1.20. Guanin bazının hidroksil radikali ile reaksiyonu ve 8-OH-G oluşumu	71
Şekil 1.21. Oksidatif hasar sonucu DNA bazlarından oluşan başlıca ürünleri ...	72
Şekil 1.22. DNA’nın şeker ucundaki oksidatif hasar sonucu oluşan başlıca ürünler	73
Şekil 1.23. Antioksidan gruplar ve etkileri	78
Şekil 1.24. İndirgenmiş (GSH) ve yükseltgenmiş (GSSG) glutatyon yapıları ...	83

Şekil 1.25. GSH-Px ve GR reaksiyonları	83
Şekil 4.1.1. Kontrol grubu (bor bileşikleri ile muamele edilmemiş) insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı	116
Şekil 4.1.2. 500 mg/L borik asit uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı	116
Şekil 4.1.3. 400 mg/L boraks uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı	117
Şekil 4.1.4. 400 mg/L kolemanit uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı	117
Şekil 4.1.5. 500 mg/L üleksit uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı	118
Şekil 4.1.6. Kontrol grubu insan lenfosit hücrelerinde örnek mikroçekirdek fotoğrafı	121
Şekil 4.1.7. 500 mg/L borik asit uygulanmış insan lenfosit hücrelerinde örnek mikroçekirdek fotoğrafı	122
Şekil 4.1.8. 400 mg/L boraks uygulanmış insan lenfosit hücrelerinde örnek mikroçekirdek fotoğrafı	122
Şekil 4.1.9. 400 mg/L kolemanit uygulanmış insan lenfosit hücrelerinde örnek mikroçekirdek fotoğrafı	123
Şekil 4.1.10. 500 mg/L üleksit uygulanmış insan lenfosit hücrelerinde örnek mikroçekirdek fotoğrafı	123
Şekil 4.1.11. Kontrol grubu (bor bileşikleri ile muamele edilmemiş) insan lenfosit hücre kromozomlarında KA dağılımı	126
Şekil 4.1.12. 500 mg/L borik asit uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KA dağılımı	127
Şekil 4.1.13. Kontrol grubu (bor bileşikleri ile muamele edilmemiş) insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı	127
Şekil 4.1.14. 400 mg/L kolemanit uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KA dağılımı	128
Şekil 4.1.15. 500 mg/L üleksit uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KA dağılımı.....	128

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bor elementinin fiziksel ve kimyasal özellikleri	1
Çizelge 1.2. Ticari önemi olan bor bileşikleri, B ₂ O ₃ yüzdeleri ve kimyasal formülleri	4
Çizelge 1.3. Ticari olarak henüz geniş kullanımı bulunmayan bor bileşikleri ve kimyasal formülleri (kristal suyu içeren boratlar).....	4
Çizelge 1.4. Ticari olarak henüz geniş kullanımı bulunmayan bor bileşikleri ve kimyasal formülleri (bileşik boratlar).....	5
Çizelge 1.5. Ticari olarak henüz geniş kullanımı bulunmayan bor bileşikleri ve kimyasal formülleri (susuz boratlar ve borofluoritler)	5
Çizelge 1.6. Ticari olarak henüz geniş kullanımı bulunmayan bor bileşikleri ve kimyasal formülleri (borosilikat mineralleri)	6
Çizelge 1.7. Bor türevleri ve kullanım alanları	11
Çizelge 1.8. Türkiye’de bor cevherlerinin kullanım alanlarına göre dağılımı ...	12
Çizelge 1.9. A.B.D’de bor cevherlerinin kullanım alanlarına göre dağılımı	12
Çizelge 1.10. Dünya bor rezervleri	13
Çizelge 1.11. Türkiye bor tuzu rezervi ve havzalara göre dağılımı	14
Çizelge 1.12. Bor minerallerinin doğadaki dağılımı	17
Çizelge 1.13. Yaygın olarak tüketilen bazı besinlerin bor içerikleri	18
Çizelge 1.14. İnsanda organ veya sıvıların normal bor konsantrasyonu	21
Çizelge 1.15. 9000 ppm borik asit içeren diyet uygulanan F-344 ratlarında bor dağılımı	22
Çizelge 1.16. ÖD ₅₀ değerlerine göre kimyasal maddelerin sınıflandırılması	29
Çizelge 1.17. Bazı bor bileşiklerinin (borik asit ve boraks) ÖD ₅₀ değerleri	29
Çizelge 1.18. Reaktif oksijen türleri ve kimyasal formülleri	59
Çizelge 1.19. Reaktif azot türleri ve kimyasal formülleri	62
Çizelge 1.20. Bazı kanser hastalıklarında rapor edilmiş olan DNA hasarı ölçümleri	75
Çizelge 1.21. Bazı patolojik durumlarda rapor edilmiş olan DNA hasarı ölçümleri	77

Çizelge 1.22. Antioksidanların gruplandırılması	80
Çizelge 1.23. Diğer enzimatik andioksidanların vücuttaki fonksiyonları	85
Çizelge 2.1. Borik asitle muamele edilen CHO hücrelerinde KKD frekansları...	89
Çizelge 2.2. Borik asitin CHO hücrelerinde kromozom anormallikleri üzerine etkisi	90
Çizelge 2.3. Metallerin Artan Miktarlardaki Toksisite Düzeyleri	93
Çizelge 3.1. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar	98
Çizelge 3.2. SOD aktivitesi ölçüm prosedürü	105
Çizelge 3.3. CAT aktivitesi ölçüm prosedürü	106
Çizelge 3.4. GSH-Px aktivitesi ölçüm prosedürü	107
Çizelge 3.5. GST aktivitesi ölçüm prosedürü	108
Çizelge 3.6. G-6-PDH aktivitesi ölçüm prosedürü	109
Çizelge 3.7. MDA analiz prosedürü	111
Çizelge 4.1.1. İn vitro koşullarda borik asitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KKD değerlerinin istatistiksel dağılımı	114
Çizelge 4.1.2. İn vitro koşullarda boraksın konsantrasyonlara göre oluşturduğu KKD değerlerinin istatistiksel dağılımı	114
Çizelge 4.1.3. İn vitro koşullarda kolemanitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KKD değerlerinin istatistiksel dağılımı	115
Çizelge 4.1.4. İn vitro koşullarda üleksitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KKD değerlerinin istatistiksel dağılımı	115
Çizelge 4.1.5. İn vitro koşullarda borik asitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre ve MÇ sayısına göre ÇÇH dağılımı	119
Çizelge 4.1.6. İn vitro koşullarda boraksın konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre ve MÇ sayısına göre ÇÇH dağılımı.....	120
Çizelge 4.1.7. İn Vitro koşullarda kolemanitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre ve MÇ sayısına göre ÇÇH dağılımı	120
Çizelge 4.1.8. İn vitro koşullarda üleksitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre ve MÇ sayısına göre ÇÇH dağılımı	121
Çizelge 4.1.9. İn vitro koşullarda borik asitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KA değerlerinin istatistiksel dağılımı	124

Çizelge 4.1.10. İn vitro koşullarda boraksın konsantrasyonlara göre oluşturduğu KA değerlerinin istatistiksel dağılımı	125
Çizelge 4.1.11. İn vitro koşullarda kolemanitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KA değerlerinin istatistiksel dağılımı	125
Çizelge 4.1.12. İn vitro koşullarda üleksitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KA değerlerinin istatistiksel dağılımı	126
Çizelge 4.2.1. Borik asitin eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi	130
Çizelge 4.2.2. Boraksın eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi	130
Çizelge 4.2.3. Kolemanitin eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi	131
Çizelge 4.2.4. Üleksitin eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi	131
Çizelge 4.2.5. Borik asit ve boraksın eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	132
Çizelge 4.2.6. Kolemanit ve üleksitin eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	132
Çizelge 4.2.7. Borik asitin eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi	133
Çizelge 4.2.8. Boraksın eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi	134
Çizelge 4.2.9. Kolemanitin eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi	134
Çizelge 4.2.10. Üleksitin eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi	135
Çizelge 4.2.11. Borik asit ve boraksın eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	135
Çizelge 4.2.12. Kolemanit ve üleksitin eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	136
Çizelge 4.2.13. Borik asitin eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi	137
Çizelge 4.2.14. Boraksın eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi	138
Çizelge 4.2.15. Kolemanitin eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi	138
Çizelge 4.2.16. Üleksitin eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi	139
Çizelge 4.2.17. Borik asit ve boraksın eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	139
Çizelge 4.2.18. Kolemanit ve üleksitin eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı).....	140
Çizelge 4.2. 19. Borik asitin eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi	141

Çizelge 4.2.20. Boraksın eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi	142
Çizelge 4.2.21. Kolemanitin eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi	142
Çizelge 4.2.22. Üleksitin eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi	143
Çizelge 4.2.23. Borik asit ve boraksın eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	143
Çizelge 4.2.24. Kolemanit ve üleksitin eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	144
Çizelge 4.2.25. Borik asitin eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi	145
Çizelge 4.2.26. Boraksın eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi	146
Çizelge 4.2.27. Kolemanitin eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi	146
Çizelge 4.2.28. Üleksitin eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi	147
Çizelge 4.2.29. Borik asit ve boraksın eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	147
Çizelge 4.2.30. Kolemanit ve üleksitin eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	148
Çizelge 4.2.31. Borik asitin eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi	149
Çizelge 4.2.32. Boraksın eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi	150
Çizelge 4.2.33. Kolemanitin eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi	150
Çizelge 4.2.34. Üleksitin eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi	151
Çizelge 4.2.35. Borik asit ve boraksın eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	151
Çizelge 4.2.36. Kolemanit ve üleksitin eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	152
Çizelge 4.2.37. Borik asitin eritrosit MDA değeri üzerine etkisi	153
Çizelge 4.2.38. Boraksın eritrosit MDA değeri üzerine etkisi	154
Çizelge 4.2.39. Kolemanitin eritrosit MDA değeri üzerine etkisi	154
Çizelge 4.2.40. Üleksitin eritrosit MDA değeri üzerine etkisi	155
Çizelge 4.2.41. Borik asit ve boraksın eritrosit MDA değeri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	155
Çizelge 4.2.42. Kolemanit ve üleksitin eritrosit MDA değeri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	156

Çizelge 4.2.43. Borik asitin total antioksidan kapasite üzerine etkisi	157
Çizelge 4.2.44. Boraksın total antioksidan kapasite üzerine etkisi	158
Çizelge 4.2.45. Kolemanitin total antioksidan kapasite üzerine etkisi	158
Çizelge 4.2.46. Üleksitin total antioksidan kapasite üzerine etkisi	159
Çizelge 4.2.47. Borik asit ve boraksın total antioksidan kapasite üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	159
Çizelge 4.2.48. Kolemanit ve üleksitin total antioksidan kapasite üzerine etkisi (karşılaştırmalı)	160

1. GİRİŞ

1.1. Bor

1.1.1. Bor nedir?

Bor, periyodik tabloda B simgesiyle gösterilen, metalle ametal arası yarı iletken özelliklere sahip bir kimyasal elementtir. Periyodik cetvelin 3A grubunun ilk ve en hafif üyesidir. Bor doğada serbest olarak değil, başka elementlerle bileşikler halinde bulunur. Tabiatta yaklaşık 230 çeşit bor minerali bulunmakta olup teknolojik gelişmelerle birlikte yeni bileşiklerin de keşfedilmesi beklenmektedir. Bor mineralleri bileşimlerinde bulunan kalsiyum, sodyum, magnezyum gibi metallerin oranlarına, içerdikleri su miktarına ve kristal yapılarına göre değişik isimler alırlar (Aklan 1985; Sınırkaya 1999; Çınkır 2001; Yılmaz 2002). Bor elementinin fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Bor Elementinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellik	
Atom numarası	5
Atom Ağırlığı	10.811 ± 0.005 g/mol
Atom çapı	1.78 Å
Yoğunluğu	2.84 gr/cm ³
Ergime noktası	2300°C
Kaynama noktası	3660°C
Buharlaşma ısısı	128 kcal/g atom
Elektronegatifliği	2.0
Oksidasyon sayısı	3
İyonlaşma enerjisi	191 kcal/g atom
Sertliği	9.3 Mohs

1.1.2. Borun Tarihçesi

Bor isim olarak, Arapça ve Farsça'da buraq, baurach ve burah kelimelerinden köken almaktadır. Bor bileşikleri çok eski zamanlardan beri bilinmekte ve kullanılmaktadır (Çalık 2002). Tarihte ilk olarak 4000 yıl öncesinde Babiller'in uzak doğudan ithal ettikleri bor bileşiğini (boraks) altın ergitilmesinde kullandıkları bilinmektedir. Mısır ve Mezopotamya uygarlıkları çeşitli hastalıkların tedavisinde ve mumyalamada bordan yararlanmışlardır. Bor, M.Ö 800 yıllarında Çinliler tarafından porselen cilası olarak kullanılmıştır. Eski Yunanlıların ve Romalıların borlu bileşikleri temizlik maddesi olarak kullandıkları belirtilmiştir. Arap doktorlar tarafından M.S. 875 yılında bor ilk kez ilaç olarak kullanılmıştır.

Bor bileşikleri asırlardır bilindiği halde bor ayrı bir element olarak ilk kez 1808 yılında Fransız kimyager Joseph Gay-Lussac ve Baron Louis Thenard tarafından keşfedilmiştir. Bağımsız olarak, İngiliz kimyager Sir Humphry Davy tarafından aynı zamanda keşfedildiği de belirtilmektedir. Modern bor endüstrisi 13. yüzyılda Marco Polo'nun boru Tibet'ten Avrupa'ya getirmesiyle başlamıştır. 1772 yılında İtalya'da, 1836 yılında ise Şili ve Arjantin'de bor bileşikleri bulunmuş bu yataklar geçtiğimiz yüzyılın sonlarına kadar dünyada bor elde edilen en büyük kaynaklar haline gelmiştir. Ayrıca 1864 yılında Amerikanın Kaliforniya ve Nevada eyaletlerindeki bor yatakları keşfedilmiştir. (Özsoy 1991; Demirhan 1993; Bozkır 1995; Sınırkaya 1999; Ölçen 2001; Ediz ve Özday 2001; Baykal 2003).

Ülkemizde bor'un kullanımı Romalılar dönemine kadar uzanır. Bor madenlerinin işletilmesi Osmanlı devletinin son yılları ile cumhuriyetin ilk yıllarında yabancı firmalar tarafından yapılmıştır. MTA ve Etibank gibi kamu kuruluşlarına 1935 yılında arama ruhsatı verilmiştir. Turk Boraks adı altında faaliyet gösteren İngiliz Boraks Consolited Ltd. Şti'nin imtiyazlarının 1968'de Etibank'a devrettirilmesi sonucu maden işletmeciliği tamamen Türk firmalara geçmiştir (Demirhan 1993; Sınırkaya 1999).

1.1.3. Bor Bileşikleri

Çeşitli metal veya ametal elementlerle yaptığı bileşiklerin gösterdiği değişik özellikler, endüstride pek çok çeşit bor bileşiğinin kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Bor ürünleri pek çok endüstri alanının alternatifi olmayan hammaddesidir. Üstün özellikleri sebebiyle dünyada en çok kullanılan elementlerden olmakla birlikte elementer olarak kullanımı oldukça sınırlıdır. Oksijenle bağ yapmaya yatkın olması sebebiyle çok sayıda değişik bor-oksijen bileşimi bulunmaktadır. Bu tür bileşikler borat olarak adlandırılmaktadır (Yılmaz 2002). Endüstriyel açıdan önemli bor bileşikleri arasında boraks (tinkal, sodyum kökenli bor bileşikleri), kolemanit (kalsiyum kökenli bor bileşikleri), üleksit (sodyum-kalsiyum kökenli bor bileşikleri) ana gruplaması altında kernit, szaybelit, datolit vb. sayılabilmektedir. Bor madenlerinin değeri genellikle içeriğindeki B_2O_3 ile ölçülmekte ve yüksek oranda B_2O_3 bileşiğine sahip olanlar daha değerli olarak kabul edilmektedirler (Yapıcı 1987; DPT 1999; Çinkı 2001).

Bor minerallerinin işlenmesi sonucu borik asit ve boraks ana maddeleri elde edilir. Bu ana maddelerden çıkılarak organik ve inorganik yüzlerce bor bileşiği elde edilmiştir (Taneri 1985; Yapıcı 1987). Kullanım alanlarında tüketiminin hızla artması ve borun kullanım alanlarının günden güne artması boru daha da önemli hale getirmektedir (Yapıcı 1987). Borlu ürünlerin üretiminde kullanılan ve ticari değeri olan başlıca bor bileşikleri, B_2O_3 içerikleri ve kimyasal formülleri Çizelge 1.2’de belirtilmiştir (U.S.G.S. 2004).

Çizelge 1.2. Ticari önemi olan bor bileşikleri, B₂O₃ yüzdeleri ve kimyasal formülleri

Mineral	Kimyasal Formülü	% B ₂ O ₃
Sassolit (Doğal borik asit)	H ₃ BO ₃	56,3
Kolemanit	Ca ₂ B ₆ O ₁₁ ·5H ₂ O	50,8
Üleksite (boronatrokalsit)	NaCaB ₅ O ₉ ·8H ₂ O	43,0
Tinkal (Doğal borax)	Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O	36,5
Hidroborasit	CaMgB ₆ O ₁₁ ·6H ₂ O	50,5
Kernit (razorit)	Na ₂ B ₄ O ₇ ·4H ₂ O	51,0
Preseit (pandermit)	CaB ₁₀ O ₁₉ ·7H ₂ O	49,8
Probertite (kramerit)	NaCaB ₃ O ₉ ·5H ₂ O	49,6
Datolit	CaBSiO ₄ OH	24,9
Szaybelit	MgBO ₂ OH	41,4
Borasit	Mg ₃ B ₇ O ₁₃ Cl	62,2
Tinkalkonit (mohavit)	Na ₂ B ₄ O ₇ ·5H ₂ O	47,8

¹Parantezler yaygın olarak kullanılan adlarını göstermektedir.

Yukarıdaki bileşiklerden başka ticari olarak henüz geniş kullanımı bulunmayan bor bileşikleri ve kimyasal formülleri ise Çizelge 1.3, 1.4, 1.5 ve 1.6'da gösterilmiştir (D.P.T. 1995).

Çizelge 1.3. Ticari olarak henüz geniş kullanımı bulunmayan bor bileşikleri ve kimyasal formülleri (kristal suyu içeren boratlar)

Kristal Suyu İçeren Boratlar			
Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü	Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü
Sborgit	NaB ₅ O ₈ ·5H ₂ O	Probertit	NaCaB ₅ O ₉ ·5H ₂ O
Eakwrit	Na ₄ B ₁₀ O ₁₇ ·7H ₂ O	Gowerit	CaB ₆ O ₁₀ ·5H ₂ O
Nobleit	CaB ₆ O ₁₀ ·4H ₂ O	İnyoit	Ca ₂ B ₆ O ₁₁ ·13H ₂ O
Florovit	CaB ₂ O ₄ ·4H ₂ O	Tercit	Ca ₄ B ₁₀ O ₁₉ ·2H ₂ O
Meyerhofferit	Ca ₂ B ₆ O ₁₁ ·7H ₂ O	Ginorit	Ca ₂ B ₁₄ O ₂₃ ·8H ₂ O
Pinnoit	MgB ₂ O ₄ ·3H ₂ O	Kaliborit	HKMg ₂ B ₁₂ O ₂₁ ·9H ₂ O
Kurnakavit	Mg ₂ B ₆ O ₁₁ ·15H ₂ O	İnderit	Mg ₂ B ₆ O ₁₁ ·15H ₂ O
Pedorazhenskit	Mg ₃ B ₁₀ O ₁₈ ·4 1/2H ₂ O	İnderborit	CaMgB ₆ O ₁₁ ·11H ₂ O
Larderellit	(NH ₄) ₂ B ₁₀ O ₁₆ ·4H ₂ O	Ammonioborit	(NH ₄) ₃ B ₁₅ O ₂₀ ·(OH)8·4H ₂ O
Veatçit	SrB ₆ O ₁₀ ·2H ₂ O	p-Veatçit	(Sr, Ca) B ₆ O ₁₀ ·2H ₂ O

Çizelge 1.4. Ticari olarak henüz geniş kullanımı bulunmayan bor bileşikleri ve kimyasal formülleri [(bileşik boratlar (hidroksil ve/veya diğer tuzlar ile)]

Bileşik Boratlar (Hidroksil ve/veya Diğer Tuzlar ile)			
Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü	Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü
Teepleit	$\text{Na}_2\text{B} \cdot (\text{OH})_4\text{Cl}$	Hilgardit	$\text{Ca}_2\text{BO}_8 \cdot (\text{OH})_4\text{Cl}$
Bandilit	$\text{CuB} \cdot (\text{OH})_4\text{Cl}$	Borasit	$\text{Mg}_3\text{B}_7\text{O}_{13}\text{Cl}$
Fluoborit	$\text{Mg}_3(\text{BO}_3)$	Hambergit	$\text{Be}_2(\text{OH}, \text{F})\text{BO}_3$
Suseksit	MnBO_3H	Roveit	$\text{Ca}_2\text{Mn}_{22}((\text{OH})_4(\text{B}_4\text{O}_7(\text{OH})_2))$
Seamanit	$\text{Mn}_{32}(\text{OH})(\text{B}(\text{OH})_4(\text{PO}_4))$	Viserit	$\text{Mn}_4\text{B}_2\text{O}_5(\text{OH}, \text{Cl})_4$
Lüneburgit	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	Sulfoborit	$\text{Mg}_3\text{SO}_4\text{B}_2\text{O}_4(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Kahnit	Ca_2BAs		

Çizelge 1.5. Ticari olarak henüz geniş kullanımı bulunmayan bor bileşikleri ve kimyasal formülleri (susuz boratlar ve borofluoritler)

Susuz boratlar ve Borofluoritler			
Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü	Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü
Jenemejevit	$\text{Al}_6\text{BO}_{15}(\text{OH})_3$	Nordenskiöldine	CaSnB_2O_6
Kotoit	$\text{Mg}_3\text{B}_2\text{O}_8$	Varvikit	$(\text{Mg}, \text{Fe})_3\text{TiB}_2\text{O}_8$
Rodozoit	$\text{CsB}_{12}\text{Be}_4\text{Al}_4\text{O}_{28}$	Ludvigite	$(\text{Mg}, \text{Fe}^{2+})_2\text{Fe}_2\text{BO}_5$
Paygeit	$(\text{Fe}^{2+}, \text{Mg})_2\text{Fe}_3\text{BO}_5$	Pinakiolit	$\text{Mg}_3\text{Mn}_2\text{Mn}_{23}\text{B}_2\text{O}_{10}$
Hulsit	$(\text{Fe}^{2+}\text{Mg}_2^{2+}, \text{Fe}_3^{3+}, \text{Sn}_4^{4+})_3\text{BO}_3\text{O}_2$		
Borofluoritler			
Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü	Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü
Avagadrit	$(\text{K}, \text{Cs})\text{BF}_4$	Ferruksit	NaBF_4

Çizelge 1.6. Ticari olarak henüz geniş kullanımı bulunmayan bor bileşikleri ve kimyasal formülleri (borosilikat mineralleri)

Borosilikat Mineralleri			
Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü	Bileşiğin Adı	Kimyasal Formülü
Akzinit grubu	(Ca, Mn, Fe, Mg) 3Al ₂ BSi ₄ O ₁₅ (OH)	Bakerit	Ca ₄ B ₄ (BO ₄) (SiO ₄) ₃ (OH) 3H ₂ O
Kapelenit	(Ba,Ca,Ce,Na) ₃ (V, Ce,La) ₆ (BO ₃) ₆ Si ₃ O ₉	Karyoserit	Melanoseritin toryumca zengin türüdür.
Danburit	CaB ₂ Si ₂ O ₈	Dumortiyerit	Al ₇ O ₃ (BO ₃) (SiO ₄) ₃
Grandidiyerit	(Mg, Fe) Al ₃ BSiO ₉	Homilit	(Ca, Fe) ₃ B ₂ Si ₂ O ₁₀
Hovlit	Ca ₂ B ₅ SiO ₉ (OH) ₅	Hyalotekit	(Pb,Ca,Ba) ₄ BSi ₆ O ₁₇ (OH,F)
Kornerupin	Mg ₃ Al ₆ (Sr, Al, B) 5O ₂₁ (OH)	Serendibit	Ca ₄ (Mg, Fe,Al) ₆ (Al, Fe) ₉ (Si,Al) ₆ 3O ₄
Melanoserit	Ce ₄ CaBSiO ₁₂ (OH)	Safirin	Mg ₃ , 5Al ₉ Si, 5O ₂
Searlesit	NaBSi ₂ O ₆ H ₂ O	Manondonit	LiAl ₄ (AlBSi ₂ O ₁₀) (OH) ₈
Tritom	(Ce, La, YTh) ₅ (Si, B) ₃ (O, OH, F) ₁₃	İdokreyz (Vezüvyanit)	Ca ₁₀ Mg ₂ Al ₄ (Si ₄) ₅ (Si ₂ O ₇) ₂ (OH) ₄

1.1.4. Bor Bileşiklerinin Kullanım Alanları

Bor, içinde yaşadığımız bilim ve uzay çağında, nükleer sanayiden ilaç sanayine, gübre sanayinden otomobil sanayine kadar 400 den fazla alanda kullanılmakta olup, kullanım alanları da her geçen gün artmaktadır (Çizelge 1.7). Mevcut kullanım alanları göz önüne alındığında bor dünyanın en stratejik madeni konumundadır. Türkiye dışındaki bor rezervlerinin ömrü son 50 yıllık iken, bor rezervlerinin %72'sine sahip olan ülkemiz tüm dünyanın 450-500 yıllık ihtiyacını karşılayabilecek durumdadır (Çalık 2002).

Bor ürünlerinin başlıca kullanım alanları aşağıdaki gibi sıralanabilir: (Yapıcı 1987; D.P.T. 1995 ve 1999; Murray 1996; Garrett 1998; Kocatürk 1998; Aynur 2001; Yılmaz 2002; Serpek 2003; Baykal 2003; Jensen 2006).

Cam sanayi: Bor, pencere camı, şişe camı v.b. üretiminde nadiren kullanılmaktadır. Özel camların üretiminde borik asit ve kolemanit sıklıkla kullanılmaktadır. Ergimiş haldeki bor cam ara mamulüne katıldığında onun yüzey sertliğini ve dayanıklılığını yükseltmektedir. Bor, camı asite ve çizilmeye karşı korumaktadır.

Seramik sanayi: Emayelerin vizkozitesini ve doyunlaşma ısını azaltan borik asit % 20'ye kadar kullanılabilir. Seramiği çizilmeye karşı koruyan bor %3-24 miktarında kolemanit halinde sırlara katılır.

Kimya sanayi: Kimyasal indirgeme işleminde, elektrolit işlemler, banyo çözeltileri, katalistler, petrol boyları, yanmayan ve erimeyen boylar ile tekstil boylarının yapımında, soğutucu kimyasalların yapımında, korozyon önleyici olarak, pasta ve cilaların yapımında ve kireç önleyici olarak bor kullanılmaktadır.

Nükleer sanayi: Reaktör aksamaları, nötron emiciler, reaktör kontrol çubukları ve atık depolayıcı bölümlerin yapımında bordan faydalanılmaktadır. Ayrıca, atom reaktörlerinin kontrol sistemleri ve reaktörün alarm ile kapatılmasında bor kullanılmaktadır.

Temizleme ve beyazlatma sanayi: Sabun ve deterjanlara (yumuşatıcı ve mikrop öldürücü etkisi nedeni ile) %10 boraks ve beyazlatıcı etkisini artırmak için de toz deterjanlara %10-20 oranında sodyum perborat ilave edilmektedir.

Tarım sektörü: Bor mineralleri bitki örtüsünün gelişmesini artırmak veya önlemek amacıyla kullanılmaktadır. Bor eksikliği görülen bitkiler arasında yumru köklü bitkiler (özellikle şeker pancarı), meyve ağaçları, üzüm, zeytin, pamuk ve tütün sayılmaktadır.

Bu gibi durumlarda susuz boraks ve boraks pentahidrat karışımı gübre olarak kullanılmaktadır. Otların temizlenmesi yada toprağın sterilleştirilmesi gereken durumlarda sodyum klorat ve bromosol gibi bileşiklerle birlikte borda kullanılmaktadır. Ayrıca, bazı bor bileşiklerinin pestisid, insektisid ve fungusid olarak kullanıldığı da bilinmektedir.

Yanmayı önleyici (geciktirici) maddeler: Borik asit ve boratlar selülozik maddelere, ateşe karşı dayanıklılık özelliği sağlamaktadırlar. Tutuşma sıcaklığına gelmeden selülozdaki su moleküllerini uzaklaştırırlar ve oluşan kömürün yüzeyini kaplayarak daha ileri bir yanmayı engellemektedirler. Bor bileşikleri plastiklerde yanmayı önleyici olarak giderek artan oranlarda kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan bileşiklerin başında çinko borat, baryum metaborat, borfosfatlar ve amonyum fluoborat gelmektedir.

Metalurji alanında: Boratlar metal sanayinde koruyucu bir cüruf oluşturu ve ergitmeyi hızlandırıcı madde olarak kullanılmaktadır. Alaşımlarda, özellikle çeliğin sertliğini artırıcı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, lehim ve döküm malzemesinde katkı maddesi olarak ta kullanılmaktadır. Bazı bor bileşikleri yüksek sertlik derecesine sahiptirler (Mohs skalasına göre sertlik derecesi 9 – elmasınki 10). Bu sebeple süper alaşımları kesme, bileme ve cilalamada kullanılır.

Süper iletkenler olarak bor: 2001 yılı şubat ayında magnezyum diboridin geleceğin süper iletkeni olabileceği keşfedilmiştir. Süper iletkenlik, sıcaklığın belli bir noktanın altına düşürülmesiyle her türlü elektriksel direncin kaybolması durumudur. Süper iletkenler, çok yüksek akım yoğunluklarını hiçbir enerji kaybına neden olmadan taşıyabildikleri için santrallerden şehre verimli enerji iletimi, büyük miktarlarda enerjinin manyetik alan depolanması veya mikro elektronikte istenmeyen ısıların engellenmesi gibi pek çok uygulama alanına sahiptir.

İletişim alanında: İletkenlik ve koruyucu özelliğinden dolayı cep telefonları, modemler ve televizyonların üretiminde bor kullanılmaktadır.

Elektronik ve bilgisayar alanında: Diz üstü bilgisayarlar, avuç içi bilgisayarları ve diğer mobil iletişim araçlarında kullanılan akım levhalarının vazgeçilmez hammaddelerinden biri bordur.

Enerji Sektöründe: Güneş enerjisi depolamada ve güneş pilleri koruyucusu olarak da bor kullanılmaktadır.

Uzay ve havacılık sanayi: Uyduların, uçakların, helikopterlerin ve balonların yapımında bor'dan faydalanılmaktadır. Ayrıca, jet motorlarının yapımında ve roket yakıtı olarak yine bor kullanılmaktadır.

İlaç sanayi: Mikrop öldürücü özelliğinden dolayı dezenfektan, diş macunu, göz yıkama solusyonları, ağız gargaraları, irrigan solusyonlar, antiseptiklerin ve antiepileptik ilaçların yapımında bor tercih edilmektedir.

Kozmetik sanayi: Kolonya, şampuan, bebek pudrası ve parfüm imalatında bor kullanılmaktadır.

Tıp alanında: Borla nötron yakalama terapisi (Boron Neutron Capture Therapy: BNCT) olarak bilinen kanser tedavisinde bor kullanılmaktadır. Özellikle beyin kanserinin tedavisinde hasta hücrelerin seçilerek imha edilmesini mümkün kılması ve sağlıklı hücrelere zararının minimum düzeyde olması sebebiyle tercih sebebidir. Bunun yanı sıra, osteoporoz ve menopoz tedavisinde, alerjik hastalıklarda, psikiyatride ve manyetik rezonans (MR) cihazlarında da bor kullanılmaktadır.

Besin olarak: Bor, bitki gelişimi için önemli 16 temel bitki besininden biridir. Bor bitkilerde fotosentez miktarını, köklerin büyümesini ve havadan emilen CO₂ miktarını artırmaktadır. Bor eksikliği hücre duvarını inceltici etki yapmaktadır. Fakat, bor'un çok yüksek konsantrasyonlarda bulunması toksik etkilere de yol açabilmektedir.

Otomobil sanayi: Hava yastıklarında, hidroliklerde, plastik aksamalarda, yağlarda bor kullanılmakta olup ısı ve ses yalıtımı da yine bor sayesinde sağlanmaktadır.

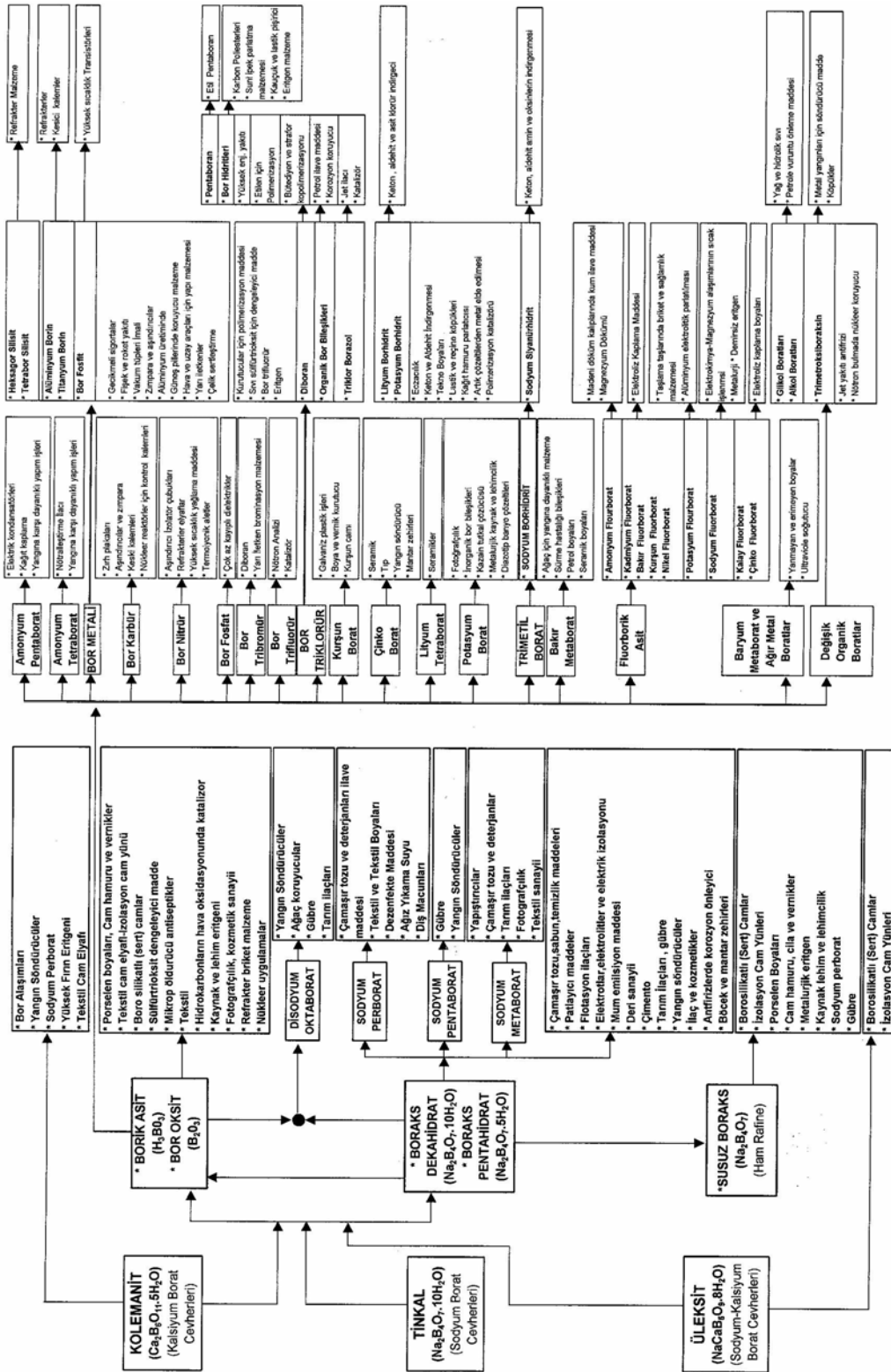
İnşaat sektörü: Bor, mukavemet artırıcı ve izolasyon amaçlı olarak bu sektörde kullanılmaktadır.

Silah sanayi: Piyade tüfeği, tabanca, top, tank ve zırhlı yapımında bor kullanılmaktadır.

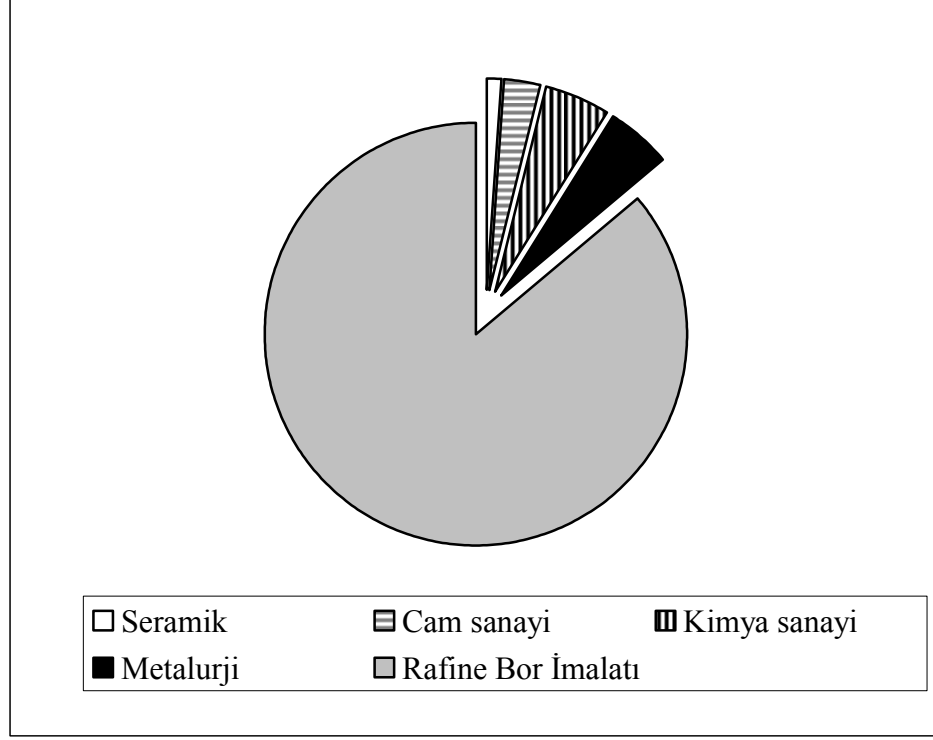
Diğer kullanım alanları: Bor, yukarıda belirtilen alanların haricinde fotoğrafçılık ve görüş sistemleri alanında (kamera, mercek ve dürbün imalatında), kağıt sanayinde (beyazlatıcı olarak), spor malzemelerinin yapımında (kayak aksamalarında, tenis raketlerinde, oltalarda, darbe koruyucularda v.b.), ahşap malzeme koruyucusu ve boya, vernik kurutucusu olarak da kullanılmaktadır. Borun önümüzdeki yıllarda kullanılacağı bir alan da çimento sanayidir.

Ülkemizin yıllık bor cevheri ve rafine bor bileşikleri üretimi, tüketiminin üzerinde olup, toplam bor üretiminin %15-20'si, rafine bor bileşiklerinin %20-40'ı yurt içinde tüketilmektedir. Ancak, bu tüketim çok düşük seviyede olup, dünya tüketiminin %1-2'si kadardır. Türkiye'de bor tüketiminin ve kullanım alanlarının daha da yaygınlaşması mevcut nihai ürün sanayimize ve bu sanayilerin üretim kapasitelerinin gelişme hızına bağlı olduğu bir gerçektir. Amerika dünyanın en büyük bor pazarı olup ülkede büyük ve çok çeşitli bor ürünleri sanayileri mevcuttur. Avrupa'da en büyük bor tüketicisi konumunda olan ülkeler sırasıyla Almanya, Fransa, İngiltere, Belçika, İtalya ve Hollanda'dır. Türkiye'nin bor/rafine bor ürünleri ihracatı yaptığı başlıca ülkeler, Avusturya, Belçika, Çin, Finlandiya, Fransa, Almanya, Hindistan, İtalya, Japonya, Rusya, İspanya, Hollanda, İngiltere ve A.B.D'dir. Ülkemizde ve A.B.D'de bor cevherlerinin kullanım alanlarına göre dağılımları sırasıyla Çizelge 1.8 ve 1.9'da gösterilmiştir (D.P.T. 1995 ve 1999; U.S.G.S. 2004).

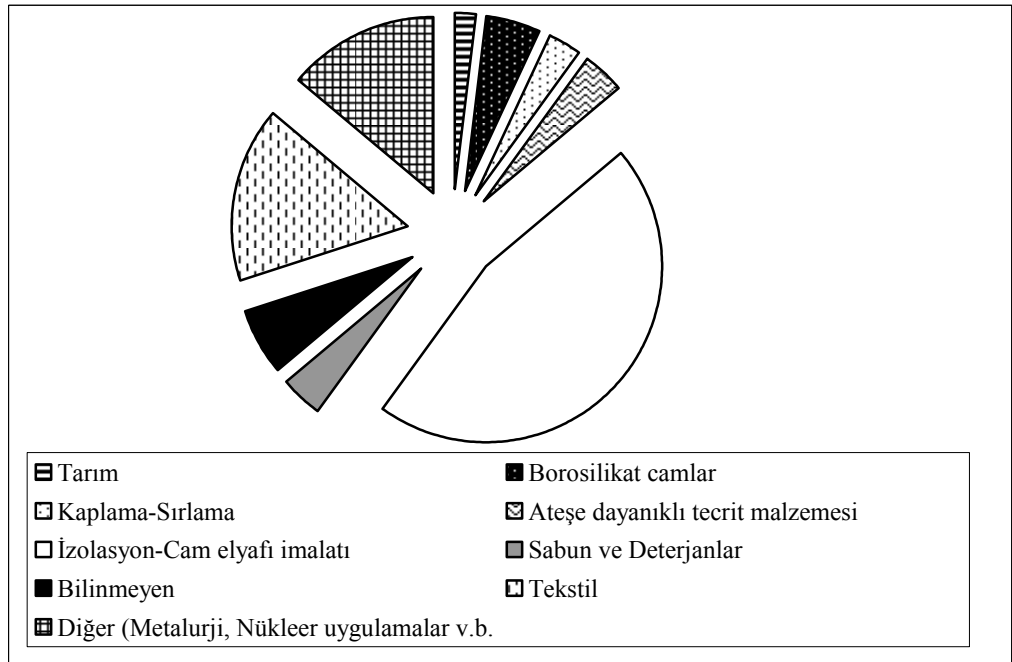
Çizelge 1.7. Bor türevleri ve kullanım alanları



Çizelge 1.8. Türkiye’de bor cevherlerinin kullanım alanlarına göre dağılımı



Çizelge 1.9. A.B.D’de bor cevherlerinin kullanım alanlarına göre dağılımı



1.1.5. Dünyada ve Ülkemizde Bor

Dünya bor mineralleri rezervleri hakkında kesin bir rakam verebilmek güç olmakla birlikte, dünya rezervinin 1 milyar ton olduğu tahmin edilmektedir. Bilinen rezervlerin yaklaşık % 80'lik bir bölümü Türkiye ve A.B.D.'de bulunmaktadır (DPT 1995). U.S Geological Survey (USGS) tarafından hazırlanan 2001 yılı endüstriyel madenler raporuna göre ülkemiz % 72.2'lik bir oranla toplam rezervler sıralamasında 1. sırada yer almaktadır. Ülkemizi sırasıyla Rusya, A. B. D, Şili ve Çin izlemektedir (USGS 2001). Dünya bor rezervlerinin ülkelere göre dağılımları Çizelge 1.10'da verilmiştir.

Çizelge 1.10. Dünya bor rezervleri (bin ton B₂O₃ bazında)

Ülke	G.E.R *	M.M.R**	T.R***	T.R (%)****
Türkiye	227.000	624.000	851.000	72,20
A.B.D.	40.000	40.000	80.000	6,80
Rusya	40.000	60.000	100.000	8,50
Çin	27.000	9.000	36.000	3,10
Arjantin	2.000	7.000	9.000	0,80
Bolivya	4.000	15.000	19.000	1,60
Şili	8.000	33.000	41.000	3,50
Peru	4.000	18.000	22.000	1,90
Kazakistan	14.000	1.000	15.000	1,30
Sırbistan	3.000	0	3.000	0,30
TOPLAM	369.000	807.000	1.176.000	100,00

* Görünür Ekonomik Rezerv, ** Muhtemel Mümkün Rezerv, *** Toplam Rezerv, **** Toplam Rezervdeki Pay (%)

Türkiye'de bilinen bor yatakları Zonguldak-Mersin hattının batısında kalan bölgelerde bulunmaktadır. Etibank'ın son yıllarda yaptığı çalışmalarla ülkemizin bor rezervleri yaklaşık 780 milyon tona, görünür ve muhtemel mümkün rezervlerinin toplamı ise 2.443.142.000 tona ulaşmıştır. Türkiye'de en fazla üretilen bor cevherleri kolemanit, üleksit ve tinkal'dir (Boncukcuoğlu 1993, DPT 1995). Ülkemizde bor tuzu rezervi ve bu rezervlerin B₂O₃ bazında havzalara göre dağılımları Çizelge 1.11'de verilmiştir.

Çizelge 1.11. Türkiye bor tuzu rezervi ve havzalara göre dağılımı (bin ton B₂O₃ bazında)

Yer	Rezerv	Toplam Rezervde % Oranı
Kütahya (Emet)	886.743	38.64
Balıkesir (Bigadiç)	1.029.722	44.86
Bursa (Kestelek)	8.142	0.36
Eskişehir (Kırka)	518.535	16.14
TOPLAM	2.443.142	100.00

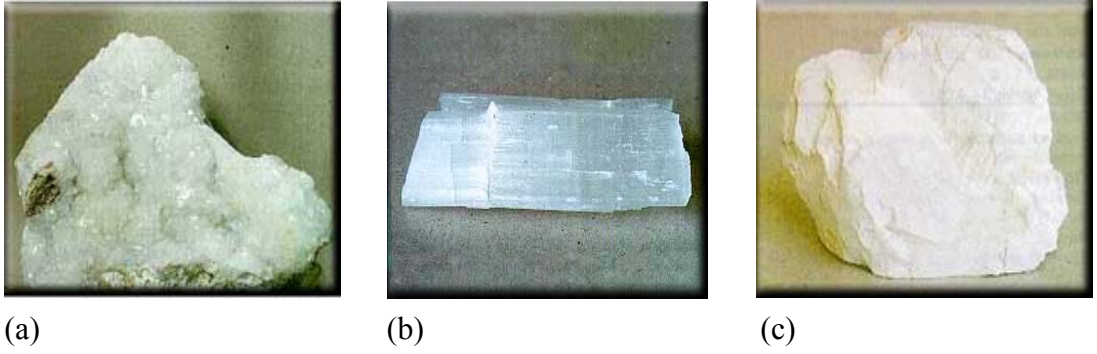
1.1.6. Türkiye’de en fazla üretilen bor cevherleri: Kolemanit, Üleksit ve Tinkal

Kolemanit (Ca₂B₆O₁₁.5H₂O, CAS No. 1318-33-8): Bor bileşikleri içinde en yaygın olanıdır (Şekil 1.1a). Ülkemizde Emet, Bigadiç ve Kestelek yataklarında, dünyada ise A.B.D.’de bulunmaktadır. Kimyasal bileşimi; % 27.28 CaO , % 50.81 B₂O₃, % 21.91 H₂O şeklindedir. Suda yavaş çözünürken HCl asitte hızlı çözünür. Özgül ağırlığı 2.42 gr/cm³, sertliği ise 4.5 Mohs’tur (Boncukcuoğlu 1993; D.P.T. 1995; Aynur 2001; Baykal 2003).

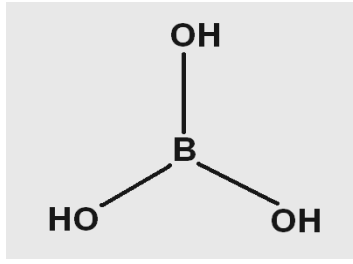
Üleksit (NaCaB₅O₉.8H₂O, CAS No. 1319-33-1): Genelde kolemanit, hidroborasit ve probertit ile birlikte oluşmuştur (Şekil 1.1b). Ülkemizde Kırka, Bigadiç ve Emet yataklarında, dünyada ise Arjantin’de bulunur. Kimyasal bileşimi; % 7,65 Na₂O, % 18,85 CaO ,% 42.95 B₂O₃, % 35.55 H₂O şeklindedir. Özgül ağırlığı 1.955 gr / cm³, sertliği ise 2.5 Mohs’tur (Boncukcuoğlu 1993; D.P.T. 1995; Baykal 2003).

Tinkal (Boraks) (Na₂B₄O₇.10H₂O, CAS No. 1303-96-4): Doğada genellikle renksiz ve saydam olarak bulunmaktadır (Şekil 1.1c). Türkiye’de Eskişehir-Kırka yataklarında üretilmektedir. B₂O₃ içeriği % 36.5’dir. Özgül ağırlığı 1.715 gr / cm³, sertliği ise 2-2.5 Mohs’tur (Boncukcuoğlu 1993; D.P.T. 1995; Aynur 2001; Baykal 2003).

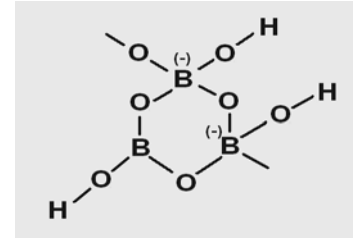
Borik Asit (H_3BO_3 , CAS No. 10043-35-3): Çok zayıf bir asittir ($pK_a=9.15$). Gerçekte üç çeşit borik asit olmasına karşın (ortoborik asit: H_3BO_3 , metaborik asit: HBO_2 ve tetraborik asit $H_2B_4O_7$) borik asit adı ticari değere sahip tek borik asit olan ortoborik asit için kullanılır. Borik asit $100^\circ C$ 'nin üstünde metaborik aside, $160^\circ C$ 'nin üstünde ise metaborik asitten tetraborik aside dönüşür. Özgül ağırlığı 1.435 gr / cm^3 'tür. Suda çözünür. Çözünürlüğü sıcaklıkla artmaktadır (Yapıcı 1987; D.P.T. 1995; Aynur 2001; Baykal 2003). Aşağıdaki şekillerde ülkemizde en fazla üretilen bor cevherlerinin mineral şekilleri (Şekil 1.1) ve kristal yapıları (Şekil 1.2) gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Türkiye’de en fazla üretilen bor cevherlerinden (a) Kolemanit, (b) Üleksit ve (c) Tinkal’in mineral şekilleri (www.mta.gov.tr adresinden alınmıştır).

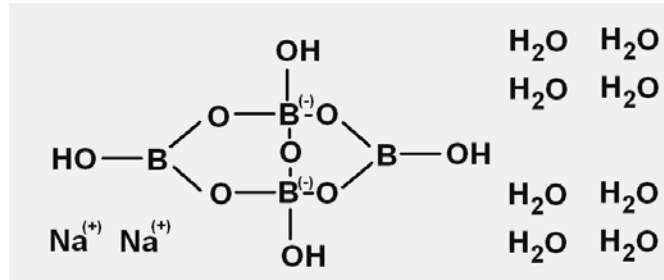


(a)

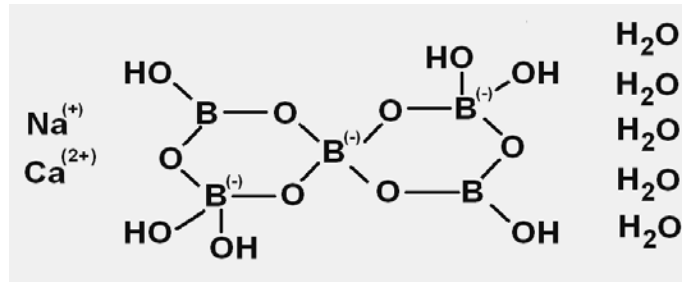


(b)

(c)



(d)



Şekil 1.2. Araştırmada test bileşikleri olarak belirlenen bor bileşiklerinin kristal yapıları; a) Borik asit, b) Kolemanit, c) Tinkal, d) Üleksit (Garrett 1998; lb.chemie.uni-hamburg.de modifiye edilerek alınmıştır)

1.1.7. Bor'un Çevresel Dağılımı

Bor kayaların aşınması, denizlerden borik asitin buharlaşması ve volkanik aktiviteler sonucu çevreye girmektedir. Daha az miktarlarda olmak üzere antropojenik kaynaklar yoluyla da çevreye bor girişi olmaktadır. Tarımsal faaliyetler, borun endüstriyel ve evsel kullanımı, madencilik ve enerji üretim faaliyetleri başlıca antropojenik kaynaklardır (W.H.O. 1998). Yılda 1.3×10^9 kg ile 4.5×10^9 kg arasında bor okyanuslardan atmosfere, 4.3×10^8 kg ile 1.3×10^9 kg arasında bir miktarın ise topraklardan yer altı ve yüzey sularına karıştığı tahmin edilmektedir. Bor minerallerinin doğadaki dağılımı Çizelge 1.12'de gösterilmiştir (Demirhan 1993).

Çizelge 1.12. Bor minerallerinin doğadaki dağılımı

Bulunduğu Yer	% Ağırlık
Yer kabuğu	1.10^{-3}
Kayalar	1.10^{-4}
Topraklar	1.10^{-3}
Deniz suyu	$1,5.10^{-2}$
Denizsel kil	5.10^{-2}
Tuz kaynakları	$3-20.10^{-3}$
Yanardağ atık suyu	$6-400.10^{-2}$
Petrol kaynağı	$1-60.10^{-2}$

1.1.8. Bora Maruziyet

Bor karasal ve sucul bitkilerde bulunmakta olup besin zinciri yoluyla biyolojik birikimi söz konusu değildir. Pek çok populasyon için bor'a en büyük maruziyet besinler yoluyla olmaktadır. İnsanlar tarafından alınan günlük bor miktarları ile beslenmelerinde yer alan çeşitli besin gruplarının miktarları arasında doğru bir orantı mevcuttur (Naghii and Samman 1996; E.G.V.M. 2002 and 2003). Meyveler, yeşil zebzeler, mantarlar, baklagiller ve kabuklu yemişler bor bakımından zengin besinlerdendir. Balık, et ve süt ürünleri ise borca fakir besinler arasında yer almaktadır (Hunt *et al.* 1991; Anderson *et al.* 1994; Meacham and Hunt 1998). Yaygın olarak tüketilen bazı besinlerin bor içerikleri Çizelge 1.13'te gösterilmiştir (Hunt *et al.* 1991; Anderson *et al.* 1994; W.H.O. 1998).

Çizelge 1.13. Yaygın olarak tüketilen bazı besinlerin bor içerikleri

Besin Türü	Bor Konsantrasyonu (µg/g)	
	Hunt et al. (1991)	Anderson et al. (1994)
Meyveler		
Elma	2.73	2.38
Muz		3.72
Kiraz	1.47	0.92
Şeftali	1.87	
Armut	1.22	
Elma suyu	1.88	1.41
Üzüm suyu	2.02	2.06
Portakal suyu	0.41	1.59
Kuru erik	27	21.5
Kuru üzüm	25	19
Sebzeler		
Taze fasulye	0.46	1.56
Brokoli	1.85	
Salatalık	0.015	
Havuç	0.75	
Kuru yemişler		
Fındık	16	
Fıstık	18	13.8
Badem	23	
Et ve Süt Ürünleri		
Sığır eti	≤0.015	<0.05
Tavuk eti	≤0.015	0.09
Hindi eti	≤0.015	
Peynir	≤0.015	0.19
Süt	≤0.015	0.23
Tahıl ürünleri		
Ekmek	0.20	0.48
Mısır	0.31	0.92
Un	0.28	
Şehriye	0.37	
Pirinç	≤0.015	
Makarna	≤0.015	
Diğer		
Ketçap	0.85	1.39
Yumurta	≤0.015	0.12
Bal	7.2	6.07
Şeker	≤0.015	0.29

Sular, özellikle de maden suları borun alındığı önemli kaynaklar arasında sayılabilirler. Almanya’da içme suları üzerinde yapılan bir araştırmada bu suların ortalama 23.1 µg/L konsantrasyonunda bor içerdiği tespit edilmiştir (Becker *et al.* 1997). Benzer şekilde diğer bir çalışmada ise kaynak sularının ortalama bor içeriklerinin 0.75 ile 4.35 mg/L arasında olabileceği rapor edilmiştir (Moore and an Expert Scientific Committee 1997). E.G.V.M (U.K Expert Group on Vitamins and Minerals 2003) tarafından yürütülen araştırmada içme suları (0.2-0.6 mg/gün), besinler (2 mg/gün), kozmetik ve tüketim ürünleri (0.47 mg/gün) yoluyla bir insanın maruz kaldığı bor miktarları tesbit edilmiştir. Raporda günlük alınan bor miktarı maksimum 5.67 mg/gün olarak belirtilmiştir. Vejeteryan bireylerin ise potansiyel olarak daha fazla miktarları alabilecekleri ifade edilmiştir.

Rainey vd (1999), Amerikan popülasyonları üzerinde yapmış oldukları araştırmalarında erkek, bayan ve hamile bayanlar için ortalama günlük alınan bor miktarlarını sırasıyla 1.17, 0.96 ve 1.01 mg/gün olarak hesaplamışlardır. Ayrıca, vejeteryan erkeklerin ortalama 1.47, vejeteryan bayanların ise 1.29 mg/gün oranlarında bor aldıklarını ifade etmişlerdir.

W.H.O. (1998) verilerine göre insanlar hava yoluyla günde ortalama 0.44 µg, içme sularıyla 0.2-0.6 mg ve besinler yoluyla da 1.2 mg bor almaktadırlar. Kahve ve süt düşük miktarlarda bor içermektedir, ancak bunların sıklıkla tüketimi günlük alınan bor miktarının %12’sine kaynak teşkil etmektedir (Rainey *et al.* 1999).

Yukarıdaki bilgilerden de anlaşılacağı üzere bora en büyük maruziyet içme suları ve besinler yoluyla olmaktadır. Bununla birlikte, borlu tüketim ürünlerinin (sabun, deterjan, deri, halı, cilt ve saç bakım ürünleri, deodorantlar, banyo kremleri v.b.) kullanılması sonucu da bora maruz kalınmaktadır. U.S.F.D.A (U.S. Food and Drug Administration, 1981) tüketim ürünlerindeki borik asit konsantrasyonunu % 5 olarak sınırlandırmıştır. Bu sınır göz ile ilgili ürünlerde %3, ağız hijyeni ürünlerinde ise %0.05 olarak belirlenmiştir.

Bor endüstrisinde çalışan işçiler üzerinde yapılan pek çok araştırma mesleki olarak ta bora maruz kalınabileceğini ortaya koymuştur (Stokinger 1981; A.T.S.D.R. 1992; Woski *et al.* 1994; Wegman *et al.* 1994; Whorton *et al.* 1994; Culver *et al.* 1994). Mesleki maruziyette en fazla solunum yoluyla alınan tozlar etkili olmaktadır. Ayrıca çok etkili olmamakla birlikte hasar görmüş cilt bölgelerinden borun absorpsiyon yapabileceği belirtilmiştir (A.T.S.D.R. 1992; Culver *et al.* 1994).

1.1.9. İnsanlarda ve Laboratuvar Hayvanlarında Bor'un Absorpsiyonu, Dağılımı, Metabolizması ve Eliminasyonu

1.1.9.a. Absorpsiyonu

Borun gastrointestinal bölgeden genellikle borik asit olarak, hızlı ve tamamına yakın (>90) emildiği çeşitli farmakokinetik çalışmalarla ortaya konmuştur (Jansen *et al.* 1984a). Job (1973), yapmış olduğu çalışmada gönüllü bireylere 2 hafta boyunca günde 100 mg bor vermiştir. İçme suları ile birlikte verdiği borun % 94 oranında bu bölgeden emildiğini rapor etmiştir. Benzer sonuçlar daha önceleri Kent ve Mc Cance (1941) tarafından da rapor edilmiştir. Oral yolla alınan borun, ratlarda (Ku *et al.* 1991), tavşanlarda (Draize and Kelley 1959), koyunlarda (Brown *et al.* 1989) ve sığırlarda (Weeth *et al.* 1981) da gastrointestinal bölgeden hızla emildiği kaydedilmiştir.

Culver (1994), insanlar üzerinde yapmış olduğu araştırmasında, 3.3 -18 mg/m³ boraksa maruz kalmış bireylerde, borun solunum yoluyla organizma içerisine alındığını ortaya koymuştur. Bu bireylerde yapılan analizler sonucu, bireylerin kan ve idrarlarındaki bor miktarlarının belirgin bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir. Stokinger ve Spiegl (1953), fareler üzerinde yapmış oldukları deneylerinde, hayvanları 72.8 mg/m³ bor içeren ortamda 30 gün süresince bora maruz bırakmışlardır. 30. günün sonunda farelerin böbrek ve karaciğerlerinde bor miktarlarının belirgin bir şekilde yükselmiş olması, borun solunum yoluyla da organizma içerisine alınabildiğini göstermiştir. Benzer sonuçlar Wilding vd (1959), tarafından 77 mg/m³ bor okside maruz bırakılmış ratlar

üzerinde yapılan çalışmalardan da elde edilmiştir. Çocuklar (Friis-Hansen *et al.* 1982), yetişkin insanlar (Stuttgen *et al.* 1982), tavşanlar (Draize and Kelley 1959) ve ratlar (Nielsen 1970) üzerinde yapılan pek çok araştırma ile borun deri (hasar görmemiş) yoluyla emiliminin olmadığı ortaya konmuştur. Ancak, borik asitin yırtılmış veya hasar görmüş deriden kolayca emildiği rapor edilmiştir (Draize and Kelley 1959; Nielsen 1970).

1.1.9.b. Dağılımı

Besinler ve içme suları ile bor alımının normal bir sonucu olarak, insan dokularında ve vücut sıvılarında bor bulunmaktadır. Yumuşak dokularda bulunan bor, kan düzeyine yakın seviyededir. Bor kemiklerde birikim yapabilmektedir. Kas doku, kalp, akciğer ve barsak daha az miktarlarda bor içermektedir. (Naghii and Samman 1996, Kocatürk 1998). Lee vd (1978), ile Treinen ve Chapin (1991) yapmış oldukları araştırmalarla borun testislerde ve epididimide birikim yapmadığını ortaya koymuşlardır. Farklı araştırma sonuçlarına göre insanda dokuların normal bor konsantrasyonu aşağıdaki Çizelgede gösterilmiştir (Shuler *et al.* 1990; Havercroft and Ward 1991; Ward 1993; W.H.O. 1998, modifiye edilerek alınmıştır).

Çizelge 1.14. İnsanda organ veya sıvıların normal bor konsantrasyonu

Doku	Bor konsantrasyonu
Beyin	0.87 µg/g ^a
Kalp	0.59 µg/g ^a
Böbrek	1.27 µg/g ^a
Karaciğer	2.25µg/g ^a
Pankreas	0.51 µg/g ^a
Dalak	3.95 µg/g ^a
Kemik	1.60 µg/g ^b
Saç	1.05 µg/g ^b
Tırnak	15 µg/g ^b
Serebrospinal sıvı	1.15 ng/ml
Sinovyal sıvı	30 ng/ml
Tükrük	4.4 ng/ml
^a Kuru ağırlık, ^b Yaş ağırlık	

Borun hayvansal dokularda dağılımını belirlemek amacıyla yapılmış çok sayıda çalışma olmasına rağmen insanlardaki dağılımı konusunda sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Ku vd (1991), tarafından F-344 ratları üzerinde yapılan çalışma laboratuvar hayvanlarındaki bor dağılımını ortaya koymak üzere yapılan en kapsamlı çalışmalardandır. Bu araştırmada deney hayvanlarına yedi gün boyunca 9000 ppm (1575 ppm bor, yaklaşık 68 mg bor/kg vücut ağırlığı) borik asit içeren diyet uygulanmıştır. 7. günün sonunda hayvanlara ait dokularda tespit edilmiş olan bor seviyeleri Çizelge 1.15’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.15. 9000 ppm borik asit içeren diyet uygulanan F-344 ratlarında bor dağılımı (µg bor/g doku) (Ku *et al.* 1991, modifiye edilerek alınmıştır)

Doku	Kontrol gruplarında bor seviyeleri	7. gün sonunda bor seviyeleri
Plazma	1.94 ± 0.17	16 ± 0.71
Karaciğer	0.66 ± 0.10	13.13 ± 0.54
Böbrek	1.55 ± 0.03	19.80 ± 1.65
Kas	3.69 ± 0.54	14.23 ± 0.19
Kemik	1.17 ± 0.19	47.40 ± 4.14
Yağ	1.71 ± 0.17	3.78 ± 0.13
Barsak	3.08 ± 0.17	14.90 ± 0.7
Beyin	0.76 ± 0.02	13.50 ± 0.86
Testis	0.97 ± 0.10	16.00 ± 1.19
Epididimis	0.81 ± 0.15	16.81 ± 3.7
Değerler ± Standart hata olarak verilmiş olup her biri 3 hayvandan elde edilmiştir.		

Chapin vd (1997), ratlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında, deney hayvanlarına 12 hafta boyunca 200 ile 9000 ppm arasında değişen oranlarda borik asit içeren diyet uygulamışlardır. Çalışmanın sonuçları kemik bor konsantrasyonunun doza bağlı olarak yükseldiğini ortaya koymuştur. Ratlar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise, hayvanlara 2, 12.5 ve 25 mg borik asit içeren içme suları altı hafta boyunca verilmiştir. Araştırma sonunda, deney hayvanlarının kan bor seviyeleri ile yumuşak dokularındaki bor seviyelerinin birbirlerine yakın değerler aldığı görülmüştür (Naghii and Samman 1996; U.S.E.P.A. 2004).

Dünya Sağlık Örgütü 1998 yılında yayınladığı raporda (W.H.O. 1998) insanlar ve ratlarda içme suları, diyet yoluyla ve kaza eseri alınan borun kandaki seviyelerini karşılaştırmıştır. Kan ve doku örneklerindeki bor dağılımının iki canlı türü için de benzer oluşu, bor kinetiğinin insan ve ratlarda aynı olabileceği düşüncesini doğurmuştur. Magour vd (1982), dişi Wistar ratları üzerinde yapmış oldukları deneylerinde tek seferde intraperitoneal olarak enjekte edilen sodyum borat (42 mg/kg bor) bileşiğinin kan ve diğer dokulardaki dağılımlarını araştırmışlardır. Enjeksiyonu takip eden 30 dakika sonunda böbrek, karaciğer, kalp ve kandaki bor miktarlarının yaklaşık %30 oranında yükseldiğini rapor etmişlerdir.

Murray (1998), genel popülasyonda kan bor düzeyinin 0.03 - 0.09 µg bor/ml arasında olduğunu rapor etmiştir. O'sullivan ve Taylor (1983), kazara yüksek dozda boraks (286-429 mg/gün) alan üç çocuğun kan dokularındaki bor seviyelerini tespit etmiştir. Kan doku üzerinde yapılan analizler, bu üç bireyde kan bor seviyelerinin kontrol bireylere kıyasla oldukça yüksek (0.26 ile 0.85 mg bor/100 mL) olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde yapılan bir diğer araştırmada ise yine kaza eseri borik asit etkisine maruz kalan 782 bireyin serumlarında bulunan bor miktarlarının normal değerlerden fazla olduğu rapor edilmiştir (Litovitz *et al.* 1988).

Magour vd (1982), sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında 21 gün süresince içme suları yoluyla verdikleri borun (sodyum borat olarak) (20 mg bor/kg) dokulardaki dağılımını belirlemişlerdir. 21. günün sonunda kandaki borun maksimum seviyesini 0.32 mg/100ml olarak belirlemişlerdir. Sekiz gönüllü yetişkin insanlar üzerinde yapılan araştırmada 562 ve 611 mg borik asit uygulamasından sonra plazma bor konsantrasyonunun 0.10 ve 0.46 mg/l den daha az olduğunu tesbit edilmiştir (Jansen *et al.* 1984b). Yüksek dozda maruz kalma sonucu kan dokuda ve paralelinde diğer dokularda bor seviyesinin hızla yükseldiğinin bilinmesine karşın bor'un kan dokuda biriktiği konusunda henüz ortaya konmuş bir kanıt bulunmamaktadır (Culver *et al.* 1994).

1.1.9.c. Metabolizması

Boratların metabolize edilebilmesi bor-oksijen arasındaki bağların kırılmasını gerektirmektedir. Ancak bu bağların koparılabilmesi için aşırı miktarda enerjiye (523 kJ/mol) ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, başta borik asit olmak üzere pek çok bor bileşiği (özellikle boratlar) biyolojik sistemlerde metabolize edilemezler (Emsley 1989). Düşük konsantrasyonlarda inorganik boratlar, emilimleri esnasında mukozal yüzeylerde ve fizyolojik pH derecesinde borik asite dönüştürülür. İnsanlar ve laboratuvar hayvanları üzerinde yapılmış çok sayıda araştırma, organizmaya alınan boratların %90'dan fazlasının borik asit formunda organizmadan uzaklaştırıldığını ortaya koymuştur (W.H.O. 1998; U.S.E.P.A. 2004). Borik asidin doza bağlı olarak farklı biyolojik moleküller ile kompleksler oluşturabileceği rapor edilmiştir (I.E.H.R. 1997; W.H.O. 1998). Bu konuda gerçekleştirilmiş olan deneysel çalışmalar borik asidin hidroksil, amino ve tiyol gruplarına karşı ilgisini ortaya koymuştur.

1.1.9.d. Eliminasyonu

Bor bileşiklerinin eliminasyonlarının insanlarda ve hayvanlarda benzer oldukları bildirilmektedir. Organizma içerisine alınış yoluna bağlı olmaksızın, borun eliminasyonu başlıca glomerular filtrasyon yoluyla gerçekleştirilmektedir (Murray 1998). Glomerular filtrasyonun ratlarda insanlara oranla 3-4 kat daha hızlı olduğu, ayrıca insanlarda çeşitli yollarla organizma içerisine alınmış olan borun % 90'dan fazlasının ilk 24 saat içerisinde idrar yoluyla uzaklaştırıldığı rapor edilmiştir (Nielsen 1988; Litovitz *et al.* 1988).

Jansen vd (1984a) ile Schou vd (1984), insanlarda borun başlıca idrar yoluyla elimine edildiğini rapor etmişlerdir. Jansen vd (1984b), çeşitli yollarla gönüllü olarak borik asit alan bireyler üzerinde yaptıkları araştırmalarla bor bileşiklerinin eliminasyon kinetiklerini açıklamaya çalışılmışlardır. Jansen vd, yapmış oldukları bu araştırmalarında 7 erkek bireye üç gün boyunca intravenöz yolla borik asit (570-620

mg) uygulamışlardır. Bor uygulamasından 0.42, 0.67, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 ve 120 saat sonra bu bireylerden aldıkları kan ve idrar örneklerinde çeşitli hesaplamalar yaparak aşağıdaki sonuçlara ulaşmışlardır:

- 12 saat sonunda diyet yoluyla alınan bor 1.52 ile 18.1 mg arasında değişen miktarlarda üriner salgılama yoluyla atılmaktadır.
- Bor uygulamasını takip eden 25 dakika sonunda kan bor konsantrasyonu belirgin bir şekilde yükselmiştir (bazal konsantrasyonun yaklaşık 100 katı kadar).
- Alınan borun yaklaşık % 99'luk bir kısmı 120 saat sonunda elimine edilmektedir.
- Ağız yoluyla alınan bor, intravenöz yolla alınan bora oranla % 66 oranında daha iyi elimine edilmektedir.

Usuda vd (1998), erkek ratlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında ağız yoluyla verilen sodyum tetraborat bileşiğinin üriner eliminasyonunu araştırmışlardır. Araştırmanın sonuçları alınan borun ortalama % 99.6'lık bir bölümünün 24 saatin sonunda idrara geçtiğini ortaya koymuştur. Benzer şekilde Vanderpool vd (1994), organizma içerisine alınan borun üç günün sonunda % 95'inin idrar ve % 4'ünün ise dışkılama yoluyla atıldığını rapor etmişlerdir.

1.1.10. Borun insanlar üzerine etkileri

1.1.10.a. İnsanlarda borun fizyolojik etkileri

1980'lerden günümüze yapılmış olan pek çok araştırmanın sonuçları borun insanlarda esansiyel olabileceğini göstermektedir (Devirian and Volpe 2003). Borun insanlarda esansiyel olarak tanımlanmayışı bu elementin biyokimyasal fonksiyonlarının ayrıntılı olarak bilinmemesinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte insanlar üzerinde yapılan sınırlı çalışmalar borun kalsiyum, bakır, magnezyum, azot, glukoz ve trigliseritler gibi yaşam sürecinde önemli olan pek çok bileşenin kullanılması ve metabolizmasında etkin roller üstlendiğini ortaya koymaktadır. Bu rollerinden dolayı çeşitli vücut bölümlerinin

(iskelet, beyin ve kan) yapılarını yada fonksiyonlarını etkileyebilmektedirler (W.H.O. 1998).

Nielsen vd (1987 ve 1991) ile Hunt ve Herbel (1993), yapmış oldukları araştırmalarla bor ve bor bileşiklerinin enerji, azot, makromineral ve reaktif oksijen metabolizmalarını, bazı enzim (oksidoredüktazlar, ksantin oksidaz, aldehid dehidrojenaz, laktat dehidrojenaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve hormon seviyelerini (kalsitonin, 17 β -estradiol), serum glukoz, üre, trigliserit ve kreatin düzeylerini ayrıca eritrosit ve trombosit yapımını da etkileyebildiklerini ortaya koymuşlardır. Ayrıca, borun vitamin D sentezini artırıcı rol oynadığı da bilinmektedir. Borlu bileşiklerin yukarıda sıralanan rolleri nasıl üstlendikleri konusunu açıklamaya yönelik iki farklı hipotez önerilmiştir. Bunlardan birincisi borun hücre membranı fonksiyonu, stabilitesi veya yapısında önemli görevleri olduğunu savunmaktadır. Düzenleyici anyon ve katyonların transmembranal taşınmasını ve membranlar arası haberleşmeyi sağlaması ile hormonal aktivitelere duyarlı olması sonucu bu görevleri gerçekleştirebilmektedir. Buna benzer bir hipotez borun bitkilerdeki fonksiyonel rollerini açıklamak amacıyla da önerilmiştir (Parr and Loughman 1983; Blevins and Lukaszewski 1994). İkinci hipotez ise borun metabolik yollarda bazı anahtar enzim reaksiyonlarını yarışmalı inhibisyon yoluyla etkileyen negatif bir regülator olduğunu savunmaktadır (Hunt 1994).

Fransa'da yetişkin sağlıklı bir insanın günde 7 mg kadar bor aldığı saptanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü insanın günlük aldığı bor miktarını uzun yıllar 1-3 mg ile sınırlamıştı, ama son yıllardaki çalışmalara dayanarak bu miktarı yükseltmiştir (Şaylı 2000). Dünya sağlık örgütünce en son 1996'da yayınlanan insan sağlığı ve beslenmesinde iz elementler başlıklı raporda yetişkin bir bireyin ortalama bazal bor ihtiyacı 0.375 mg/gün ve günlük kabul edilebilir ve güvenilir ortalama alım miktarının da 1-13 mg/gün olduğu kaydedilmiştir.

1.1.10. İnsanlarda bor toksisitesi

İnsanlar için borik asitin öldürücü dozunun ağız yoluyla maruziyette 640 mg/kg, deri yoluyla maruziyette 8600 mg/kg ve intravenöz enjeksiyon yoluyla maruziyette ise 29 mg/kg olduğu kaydedilmiştir (Stokinger 1981). Çocukların yetişkinlere kıyasla bor bileşiklerine daha duyarlı olduğu belirtilmiş, ayrıca potansiyel öldürücü dozun çocuklar için genellikle 3-6 g, yetişkinler için de 15-20 g olduğu rapor edilmiştir (Litovitz *et al.* 1988). Borun toksik etkisinin yetişkinlerde baş ağrısı, kusma, ishal, heyecan veya depresyon çocuklarda ise daha çok havale, koma gibi beyin zarı tahribi etkileri şeklinde görüldüğü kaydedilmiştir (McKee and Wolf 1963).

Borik asit ve boraks daha öncede ifade edildiği gibi yaklaşık yüz yıldan beri çeşitli hastalıkların (epilepsi, enfeksiyonal hastalıklar vb) tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tedavilerinde bor bileşikleri kullanılan 19 hasta üzerinde yapılan bir araştırmada, bu hastalarda tedavi sonrası saç dökülmelerinin meydana geldiği gözlenmiştir. Ishii vd (1993), yaptıkları çalışmada 77 yaşındaki bir kişinin kazara 30 g borik asit alımı sonrası meydana gelen klinik bulguları araştırmışlardır. Belirtilerin hıçkırık, kusma ve diyare ile başladığı ve sonunda ölüm olgusunun meydana geldiğini bildirmişlerdir. Linden vd (1986), Amerika’da bir sağlık merkezine 1983 ve 1984 yılları arasında bor zehirlenmesi ile gelen 364 vakayı değerlendirmiştir. Bor zehirlenmelerinin yaygın belirtilerinin kusma, ishal ve karın ağrısı olduğu ancak bor zehirlenmelerini açıkça ortaya koyacak olan klinik semptomların henüz net olarak belirlenemediğini rapor etmişlerdir.

Şaylı vd (1998) ülkemizde farklı bölgelerde yaşayan insanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında borun üreme sistemi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Toprak ve içme sularının bor muhtevalarının birbirlerinden oldukça farklı olduğu iki bölgede yaşayan toplam 4687 birey üzerinde yürüttükleri araştırmada, bora daha fazla maruz kalan bireylerin verimlilik oranları ile diğer bölge insanların verimlilik oranları arasında herhangi bir farklılık bulunmadığını görmüşlerdir. Buna karşın, Rusya’da yapılan bir çalışma sonucu bor işçilerinde (n=28) seksüel aktivitenin azaldığı saptanmıştır. Ayrıca,

ilginç olarak A.B.D’de bor işçileri üzerinde yapılan çalışmada, kız çocuk doğumunda erkek çocuğa oranla artış olduğu belirlenmiştir (Kocatürk 1998).

Bor minerallerinin kullanıldığı sektörlerde çalışan işçiler üzerinde bu mineralin muhtemel toksik etkilerini belirlemek amacıyla çok sayıda araştırma yapılmış ve işçilerde sıklıkla burun kanaması, göz ve burun bölgelerinde kaşınma, boğaz ağrısı, göğüs ağrısı, öksürük, nefes darlığı ve çeşitli cilt problemlerinin görüldüğü rapor edilmiştir (Birmingham and Key 1963, Garabrant *et al.* 1984 and 1985; Wegman *et al.* 1994). Culver vd (1994), yaptıkları çalışmada işçilerde üriner bor konsantrasyonunu ve kan bor konsantrasyonunu karşılaştırmışlardır. Bora (3.3 mg/ m^3 ve 18 mg/m^3) maruz kalan işçilerin (n=14) kan bor konsantrasyonlarının $0.11\text{-}0.26 \text{ } \mu\text{/ mg}$, üriner bor konsantrasyonlarını ise $3.16\text{-}10.72 \text{ } \mu\text{/ mg}$ arasında olduğu tesbit edilmiştir.

Bor ve bor bileşiklerinin insanlardaki karsinogenik ve mutajenik potansiyelleri hakkında literatürde kayıtlı herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. U.S. Ulusal Toksikoloji Programı (N.T.P. 1987), bu konuda herhangi bir çalışma bulunmadığından dolayı hayvan (fare ve sıçan) deneylerini temel alarak bor bileşiklerinin insanlarda kanserojen olmadığını rapor etmiştir.

1.1.11. Deney hayvanlarında bor toksisitesi

Bir seferde verildiğinde belli bir süre içinde (24 saat ile 2 hafta arasında) ölüme yol açabilen madde miktarı öldürücü doz olarak tanımlanmaktadır. Öldürücü doz da, hayvanları öldüren en küçük öldürücü doz, %50’sini öldüren öldürücü doz (ÖD₅₀ veya medyan öldürücü doz) ve %100’ünü öldüren öldürücü doz (ÖD₁₀₀ veya fatal doz) diye alt gruplara ayrılmaktadır. Toksikoloji çalışmalarında bir maddenin zehirliliğinin ölçüsü olarak genellikle ÖD₅₀’den yararlanılır. ÖD₅₀ değerlerine göre kimyasal maddelerin sınıflandırılması Çizelge 1.16’daki gibi yapılmaktadır (Anonymus 1995).

Çizelge 1. 16. ÖD₅₀ değerlerine göre kimyasal maddelerin sınıflandırılması.

Zehirliliğin Derecesi	Doz (mg/kg)	Örnek Madde
Pratik olarak zehirsiz	>15000	Pamuk tohumu yağı
Az zehirli	5000-15000	Etil alkol
Orta derecede zehirli	500-5000	Tuz
Çok zehirli	50-500	Morfin sulfat
Çok güçlü zehirli	5-50	Pikrotoksin
Son derece zehirli	<5	Nikotin

Ağız yoluyla maruz kalan borik asit ve boraks bileşiklerine ait medyan öldürücü doz (ÖD₅₀) değerleri Çizelge 1.17’de gösterilmiştir (W.H.O. 1998).

Çizelge 1. 17. Bazı bor bileşiklerinin (borik asit ve boraks) ÖD₅₀ değerleri

Maruz kalma biçimi	Bileşik	Organizma grubu	Bileşik ÖD₅₀ değeri
Ağız Yoluyla	Borik asit	Fare	3450
Ağız Yoluyla	Boraks	Sıçan	4980
Ağız Yoluyla	Borik asit	Sıçan	3160
Subkütanoz	Borik asit	Fare	1740
Subkütanoz	Borik asit	Guinea-pigs	1200
İntravenöz	Borik asit	Fare	1780
İntravenöz	Borik asit	Sıçan	1330

Ağız yoluyla yüksek dozda borik asit veya boraks verilen sıçan, fare ve kobaylarda (guinea-pig) görülen başlıca kinlik etkilerin deri ve mukozal membranların viyole kırmızısı rengini alması, depresyon, ataxia ve vücut ısısında düşme olduğu kaydedilmiştir (Weir and Fisher 1972). Pfeiffer vd (1945) köpekler üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında ağız yoluyla verilen borik asitin (0.2-2.0 g/kg) şok benzeri sendromlara yol açtığını rapor etmişlerdir. Draize ve Kelley (1959), yaptıkları araştırmalarında borik asitin tavşanlar üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Dört gün

boyunca 800 mg/kg dozunda borik asit verdikleri tavşanlarda kilo kaybı ve diyare, 850 ve 1000 mg/kg dozunda borik asit verdikleri tavşanlarda ise %100'e varan ölüm oranlarının oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde, 30 gün süresince içme suları yoluyla 150 ve 300 mg bor/L dozunda borik asit verilen sığırlarda diyare ve iştah kaybı gözlenmiştir (Gren and Weeth 1977). Pfeiffer vd (1945) fare, sıçan ve köpeklerde borik asit maruziyetini takiben başta böbrekler (glomerular ve tubular hasar) ve sinir sistemi (beyin korteksinde hasar) olmak üzere çeşitli dokularda mikroskobik değişikliklerin teşekkül ettiğini rapor etmişlerdir.

U.S. Ulusal Toksikoloji Programı tarafından yürütülmüş olan araştırmada diyet yoluyla borik asite (0, 34, 70, 141, 281 ve 563 mg bor/kg) maruz bırakılan B6C3F1 farelerinde bu bileşiğin etkileri araştırılmıştır. Araştırmanın sonuçları, farelerde doza bağlı olarak kilo kaybının arttığını ortaya koymuştur (N.T.P 1987).

Lee vd (1978), 30 ve 60 gün boyunca Sprague-Dawley ratlara diyet yoluyla farklı konsantrasyonlarda (0, 500, 1000 ve 2000 mg bor/kg) boraks vermişlerdir. 1000 ve 2000 mg bor/kg dozunda boraks verdikleri grubun böbrek ağırlıklarının kontrollere oranla daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Yine, Sprague-Dawley ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada deney hayvanlarını 90 gün müddetince günlük diyet yoluyla farklı konsantrasyonlarda (2.6, 8.8, 26.3, 87.5 ve 262.5 mg bor/kg) borik asit ve boraks bileşiklerine maruz bırakmışlardır. Yüksek dozlarda (87.5 ve 262.5 mg bor/kg) bor bileşiğine maruz kalan hayvanlarda %10.1 ile %54.9 arasında değişen oranlarda kilo kayıplarının meydana geldiği tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları ayrıca yüksek dozlarda bu bileşiklere maruz kalma sonucu hayvanların karaciğer, dalak, böbrek, beyin ve ovaryum organ ağırlıklarının da azaldığını ortaya koymuştur (Weir and Fisher 1972). Seffner vd (1990) ile Chapin vd (1997), yapmış oldukları araştırmalarında borik asitin kemikler üzerinde toksik etkilerini ortaya koymuşlardır.

Bor bileşiklerinin toksik etkilerini belirlemeye yönelik çalışmaların çoğu ağız yoluyla alınan bileşiklerin toksisitesini ortaya koymaktadır. Buna karşın liteatürde sınırlı da olsa farklı yollarla alınan (solunum, deri v.b) bor bileşiklerinin toksik etkileride

değerlendirilmiştir. Stokinger ve Spiegl (1953), fareler üzerinde yapmış oldukları araştırmalarında solunum yoluyla maruz kalınan elemental borun etkilerini incelemişlerdir. Altı hafta boyunca (5 gün/hafta ve 7 saat/gün) elemental bora (72 mg/m^3) maruz bıraktıkları hayvanlarda herhangi bir olumsuz etkinin meydana gelmediğini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde, Wilding vd (1959), solunum yoluyla bor oksit ($57\text{-}470 \text{ mg bor/m}^3$) bileşiğine maruz bıraktıkları sıçanlardan ve köpeklerden aldıkları örnekler üzerinde hematolojik, biyokimyasal ve mikroskopik analizler yaparak, bu bileşiğin belirtilen parametreler üzerine toksik etkilerinin bulunmadığını rapor etmişlerdir. Buna karşın, Torkelson vd (1961) ile Rusch vd (1959), bor triflorit bileşiğine solunum yoluyla maruz kalınması halinde akciğer iltihaplanmasının yanı sıra vücut ve organ ağırlıklarında azalmaların görülebileceğini kaydetmişlerdir.

Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar farklı bor bileşiklerinin dermal ve oküler etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Wilding vd (1959), tavşanlar üzerinde yapmış oldukları araştırmaları ile 50 mg/kg bor oksit uygulamasının hayvanların göz bölgesinde kaşıntılara neden olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Roudabush vd (1965), borik asit ve boraksın deriyi tahriş edici özellikte olduğunu kaydetmişlerdir. Benzer şekilde, sıçanlar üzerinde yürütülen diğer bir çalışmada ise borik asit ve boraks bileşiklerinin gözde iltihaplanmalara, pençe ve kuyrukta da dermatolojik problemlere neden olduğu gözlenmiştir (Weir and Fisher 1972).

Laboratuar hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar, bor bileşiklerine ağız yoluyla kronik veya subkronik maruz kalma sonucu genellikle ürogenital sistemin olumsuz etkilediğini ortaya koymaktadır. Besinler veya içme suları yoluyla bor bileşiklerine maruz bırakılan sıçan, fare ve köpeklerde testiküler lezyonların teşekkül ettiği gözlenmiştir (Truhaut *et al.* 1964; Weir and Fisher 1972; Gren *et al.* 1973; Lee *et al.* 1978; N.T.P 1987; Ku *et al.* 1993).

Linder vd (1990), Sprague-Dawley sıçanları üzerinde yapmış oldukları araştırmalarında gavajlama yoluyla hayvanlara verdikleri borik asitin (350 mg bor/kg) sperm salınımını inhibe ettiğini ve sperm morfolojisini olumsuz etkilediğini gözlemlemişlerdir. Treinen

ve Chapin (1991), 28 gün boyunca diyet yoluyla alınan borik asitin (60 mg/kg) sıçan seminifer tübüllerinde hasarlara yol açtığını rapor etmişlerdir. Silaev vd (1977), içme suları yoluyla 15 gün boyunca 175 mg bor/kg borik asit uyguladıkları sıçanlarda seminifer tübüllerinin çaplarında azalmaların görüldüğünü rapor etmişlerdir. F-344 sıçanları üzerinde yapılan bir diğer araştırmada ise 63 gün müddetince besinler yoluyla hayvanlara verilen borik asitin (26 mg bor/kg) sperm salınımını inhibe ettiği ve testiküler atrofilere yol açtığı tespit edilmiştir (Ku et al. 1993). Weir ve Fisher (1972), günlük diyet yoluyla 90 gün boyunca verdikleri borik asit ve boraksın (44 mg/kg) köpeklerde tiroit ve testis ağırlıklarının azalmasının yanı sıra çeşitli testiküler atrofilerde neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Sıçanlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise diyet yoluyla verilen 50 ve 100 mg bor/kg dozundaki boraksın doza bağlı olarak hayvanların karaciğer, testis ve epididimislerinin ağırlıkları ile seminifer tübüllerinin çaplarında azalmalara yol açtığı kaydedilmiştir (Dixon et al.1979).

Borik asitin üreme sistemleri üzerine etkilerini belirlemeye yönelik çalışmalardan biri de Fail vd (1989) tarafından dişi ve erkek fareler üzerinde yapılmıştır. Araştırma sonuçları 27 hafta boyunca 4500 ve 9000 mg/kg dozunda borik asit alan hayvanlarda testiküler atrofilerin ve sperm üretiminde azalmaların oluştuğunu ortaya koymuştur. 4500 mg/kg borik asitle muamele edilen grupta verimlilik (fertilite) azalırken, 9000 mg/kg borik asit uygulanan grupta fertilite tamamen kaybolmuştur. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışma ile borik asit uygulaması sonucu oluşan bazı olumsuz durumların belli bir süre sonra ortadan kalkarak normale döndüğü rapor edilmiştir. Yaptıkları araştırmada Ku vd (1993), besinler yoluyla F-344 sıçanlarına 3000-9000 mg/kg borik asit vermişlerdir. Dokuzuncu haftanın sonunda sperm üretiminin inhibe olduğunu, serum ve testis bor miktarlarının yükseldiğini ancak bu olumsuz durumların muameleden 16 hafta sonra tekrar normale döndüğünü rapor etmişlerdir.

Heindel vd (1992), fareler üzerinde yürüttükleri deneylerinde borik asitin gelişim üzerine toksik etkileri ile teratojenik etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada hayvanlara günlük diyet yoluyla 43, 79 ve 175 mg bor/kg dozlarında borik asit vermişlerdir. Çalışma sonuçları 79 ve 175 mg bor/kg borik asit uygulanan gruplarda yetişkin

farelerin vücut ağırlıklarında belirgin azalmalar olduğunu göstermiştir. Ayrıca yavru farelerde malformasyonların oluşma oranında yükselmelerin olduğu da rapor edilmiştir. Benzer bir çalışma tavşanlar üzerinde de yapılmıştır (Price *et al.* 1996). Gavajlama yoluyla borik asit (43.7 mg bor/kg) verilen tavşanlarda gelişimin normal olarak sürdürülemediği, anormal yapıda fetüslerin ve fetal ölümlerin meydana geldiği kaydedilmiştir.

1.1.12. Borun Diğer Organizmalar Üzerine Etkileri

Bor ve bor bileşiklerinin bakteriler, protozoalar ve algler üzerine etkilerini araştırmak amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Guhl (1996), yaptığı araştırmasında boratların konsantrasyonlara bağlı olarak *Pseudomonas putida*, *Photobacterium phosphoreum*, *Entosiphon sulcatum* ve *Paramecium caudatum* gibi mikroorganizmaların gelişimlerini olumsuz etkilediğini gözlemlemiştir. Buna karşın, Mateo vd (1986), borun azot fiksasyonu yapan çoğu mikroorganizma için esansiyel olduğunu rapor etmişlerdir. Martinez vd (1986), borik asitin mavi-yeşil alglerde gelişimi yavaşlattığını ayrıca protein ve klorofil içeriklerini de azalttığını kaydetmiştir. Lewin (1966), bor-oksijen bileşiklerinin diyatomlar için esansiyel olduğunu kaydetmiştir. Bowen ve Gauch (1966), yapmış oldukları araştırmalarında borun bazı mantar türlerinin (*Saccharomyces cerevisiae*, *Neurospora crassa*, *Aspergillus niger* ve *Penicillium chrysogenum*) gelişimleri üzerine olumsuz etkilerinin bulunduğu ve bu türler için esansiyel bir nitelik taşımadığı sonucuna ulaşmışlardır.

Bitkilerin bor içerdiği ilk olarak 1857 yılında tespit edilmiştir (Kocatürk 1998). Borun bitkiler üzerine etkilerinin bitki türüne ve bor seviyelerine göre değiştiği belirtilmiştir. Başka bir ifadeyle, borun kritik eksiklik ve toksisite değerleri arasında bitki türlerine göre geniş bir aralık bulunmaktadır (Akçam-Oluk ve Demiray 2004). Bor bitkilerin karbonhidrat metabolizmasında, polen çimlenmesinde, hormon aktivasyonunda, apikal meristem fonksiyonlarında, normal büyüme ve gelişmede, nükleik asit sentezinde, hücre zarı yapısında ve fonksiyonunda önemli bir yere sahiptir (Lovatt and Dugger 1984). Bitkilerde bor noksanlığının başlıca belirtileri arasında yaprak primordiyumları,

primer kök uçları ile gövde ve yaprak uçlarında nekroz oluşumları, polen germinasyonunun azalması, enzimatik reaksiyonlarda yavaşlama ve bitki ölümü sayılmaktadır (Wells and Whitton 1977). Hudak (1973), yaptığı araştırmada bor ihtiva etmeyen besin solusyonu ilave edilen fasulye bitkisinin kök uçlarında 72 saat sonunda mitozun inhibe olduğunu gözlemiştir. Ludbrook (1942), bir çam türü (*Pinus radiata*) üzerinde yapmış olduğu çalışmada 0-0.05 mg/L borun besleyici ve düzenleyici olduğunu ancak 20-40 mg/L borun ise bitkilerde toksik etkilere neden olduğunu tespit etmiştir. Shopova vd (1981), yüksek bor (32 mg bor/kg) içeren topraklarda yetişen gelincik bitkisinin gelişiminde gecikmeler, yapraklarında sararmalar, geç çiçeklenme durumları, kök ucu hücrelerinde mitotik frekansın azalması ve mayoz bölünmelerde anormalliklerin oluşması gibi olumsuz durumların gözlemlendiğini kaydetmişlerdir.

Borun hayvanlar üzerine etkilerini incelemek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Yapılan araştırmalar borun hayvanlar üzerindeki etkisinin bor miktarı ve maruz kalınan sürelerle bağlı olduğunu göstermiştir. Borik asit bileşiğinin bir çok böcek türüne zehir etkisi vardır. Ahşap ve benzeri malzemelerin borik asit veya boraksla önceden muamele edilmesi böcek istilalarına karşı korunmalarını sağlamaktadır. Nitekim, borik asite maruz kalmış olan sinek larvalarında %100'e varan ölüm oranları gözlenmiştir. Bor bileşiklerini içeren yemlerin ve aerosollerin kullanılması halinde meyve sinekleri ve termitlerin kontrol edilebileceği belirtilmiştir (Butterwick *et al.* 1989). Ostrovskij (1955), borik asitin (50 mg/L) bal arılarında toksisiteye yol açtığını rapor etmiştir.

Özkurt (2000), yaptığı çalışmada bir yıl boyunca, belirlediği baraj göletlerinden su, dip çamuru, plankton ve balık numuneleri almış ve içerdikleri bor miktarlarını belirlemiştir. Çalışma sonuçlarına göre Çatören ve Kunduzlar baraj göletlerinde bor, su, dip çamuru ve planktonda artarak birikmekte; baraj göletlerine besin zinciri yoluyla taşınarak, balık (*Cyprinus carpio*) dokularında yığılmaktadır. Çatören barajında balık dokularında bor kas-beyin-karaciğer yönünde, Kunduzlar barajında ise kas-karaciğer-beyin yönünde artarak birikmektedir. Ayrıca, Çatören barajında bor kirliliğinin Kunduzlar'a göre daha fazla olduğu ve balık büyümesini engellediği tespit edilmiştir. Borun akut toksisitesini belirlemek üzere iki farklı som balığı türünün (*Oncorhynchus tshawytscha* ve

Oncorhynchus kisutch) üzerinde yapılan çalışmada borun 100 mg/L hatta daha yüksek konsantrasyonlarda bile toksik etkilere yol açmadığı görülmüştür (Hamilton and Buhl 1990). Bununla birlikte, Gökkuşluğu Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde yapılan bir araştırmada düşük bor konsantrasyonlarının embriyo gelişimini uyardığı ve borun bu organizma üzerinde teratojenik etkilerinin bulunmadığı rapor edilmiştir (Loewengart 2001). Balıklar üzerinde yapılan çalışmalarda borik asitin fazla toksisiteye neden olmadığı görülmüştür. Nitekim, balıkların daha yüksek konsantrasyonları tolera edebileceği, örneğin 500 mg/L borun alabalıkta sadece derinin koyulaşmasına neden olduğu ve küçük tatlısu balıklarında hiçbir etki yapmadığı gözlenmiştir (Topal 2006).

Fort vd (2002), kurbağalar üzerinde (*Xenopus laevis*) yapmış oldukları araştırmalarında bor eksikliğine bağlı olarak gamet olgunlaşma, embriyo gelişimi ve larval olgunlaşma süreçlerinin olumsuz etkilendiklerini kaydetmişlerdir. Buna karşın Laposata ve Dunson (1998), farklı kurbağa türleri (*Rana sylvatica*, *Ambystoma jeffersonianum*, *Ambystoma maculatum* ve *Bufo americanus*) üzerinde yaptıkları çalışmalarında 50 ve 100 mg/L borun embriyo gelişimlerini olumsuz etkilediğini rapor etmişlerdir.

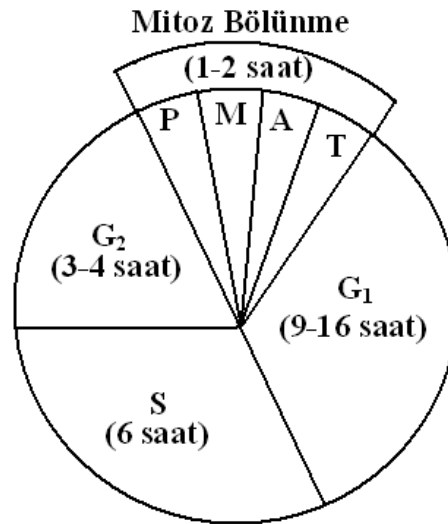
Rossi vd (1993), yaptıkları çalışmada yumurta tavuklarında yeme 240 mg/kg'a kadar bor ilavesinin canlı ağırlık üzerinde olumlu etkileri olduğunu belirtmiştir. Bununla birlikte, Eren vd (2002), yumurta tavuklarında yeme 400 mg/kg'a kadar bor ilavesinin canlı ağırlığını etkilemediğini belirtmişlerdir. Kurtoğlu vd (2005), broiler piliçleri üzerinde yaptıkları araştırmaları ile borun hematolojik ve biyokimyasal parametreleri etkilediği bu nedenle de mineral metabolizmasında önemli rolünün olduğunu tespit etmişlerdir. Broiler piliçlerinde yapılan bir diğer çalışmada Sander vd (1991), 21 gün boyunca 2500 ve 5000 ppm borik asit uyguladıkları hayvanların beyin, böbrek, karaciğer ve kaslarında borun birikim yaptığını, ancak daha düşük dozlarda (500 veya 1250 ppm) ise birikiminin olmadığını rapor etmişlerdir. Yeşilbaş ördekler (*Anas platyrhynchos*) üzerinde yürütülen bir çalışmada diyet yoluyla dört hafta boyunca bor verilmiş ve muamelenin sonunda hayvanlardan kan ve doku örnekleri alınarak

biyokimyasal ve histolojik bulgular elde edilmiştir. Çalışma sonuçları 1000 ppm borun embriyo gelişimini olumsuz etkilediğini ortaya koymuştur (Hoffman *et al.* 1991).

1.2.1. Hücre Döngüsü ve Mitoz Bölünme

Çok hücreli organizmalarda hücre çoğalması hücre bölünmeleriyle sağlanır. Her ökaryot hücre bölünerek genetik materyalinden bir kopya yavru hücrelere aktarır. Mitoz bölünme ile hücrelerin sayıca artışı sağlanır, dokular meydana gelir, eskiyen hücreler yenilenir, yaralar tamir edilir. Ökaryotik canlıların vücut (somatik) hücrelerinde ve eşey hücrelerinin oluşumunun ilk döneminde görülen mitoz bölünme hücre döngüsünün küçük bir bölümünde gerçekleşmektedir. Mitoz'dan önce hücre interfaz adı verilen uzun bir hazırlık evresi geçirir. Bu nedenle, hücre döngüsü interfaz ve mitoz olmak üzere iki bölüm halinde incelenmektedir.

İnterfaz evresi; G_1 , S ve G_2 olmak üzere üç evrede tamamlanmaktadır. G_1 en uzun evre olup bu evrede hücre protein ve RNA sentezler. Hücre bu evrede DNA sentezlemez ancak sentezi için hazırlık yapar. S evresinde RNA ve protein sentezi devam eder. DNA sentezi başlar. G_2 en kısa süren evredir. Bu evrede DNA sentezi tamamlanmış olur, fakat RNA ve protein sentezi devam eder (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Hücre döngüsü (P: profaz, M: metafaz, A: anafaz, T: telofaz)

İnterfaz evresinin tamamlanmasından sonra mitoz evresi başlamaktadır. Mitotik evredeki en önemli olay, interfazın S safhasında sentezlenen yani replike olan DNA'nın kromozomlar şeklinde birer kopya olarak yavru hücelere geçmesidir. Mitoz bölünme karyokinez denilen bir çekirdek bölünmesi ile sitokinez denilen bir sitoplazma bölünmesi evrelerini kapsamaktadır. Karyokinez dört safhada tamamlanmaktadır. Profaz safhasında çekirdek zarı ve çekirdekçik kaybolur, kromatin ağı kıvrılıp sarılarak şekil değiştirir, kalınlaşır ve kromozomları oluşturur. Metafaz safhasında sentromerlerinden birbirine bağlı kromatidler şeklinde oluşan kromozomlar merkezde ekvatoriyel olarak iğ iplikleri arasında sıralanırlar. Kromozomların kutuplara doğru çekilmesiyle anafaz safhası başlar. Telofaz safhasında ise kromozomlar kutuplara ulaşmışlardır. Çekirdek zarı ve çekirdekçik yeniden meydana getirilir. Telofazın sonuna doğru sitokinez olayının gerçekleşmesi ile iki yavru hücre meydana getirilmiş olur.

1.2.2. Periferik Kan kültürü

İnsan yada diğer canlıların kromozomlarını inceleyebilmek için ilk koşul, hücrelerin bölünme döneminde olmasıdır. Bu özellikteki hücreler, yani bölünme durumundaki hücreler *in vivo* ve *in vitro* olmak üzere başlıca iki yoldan elde edilebilir. *In vitro* yöntemlerle kromozom elde etmek için mitozu uyarıcı bir maddenin (mitojen) ortama eklenmesiyle hücrelerin mitozu girmesi uyarılır. İnsan kanında farklı hücre tipleri bulunmaktadır. Normal bir yetişkin kanında bulunan eritrositler ve trombositlerde çekirdek bulunmadığından dolayı kromozom veya DNA ile ilgili çalışmalar ancak çekirdek içeren lökositlerle yapılabilir. Lenfositler, periferik kan ile yapılan kromozom çalışmalarında incelenen hücrelerdir. Çünkü sağlıklı bir bireyde lökositlerin tam diferansiye formları hiçbir zaman aktif üreme göstermez iken, sadece lenfositler uygun koşullar sağlandığında bölünebilirler. Bu nedenle, periferik kandaki lenfositler insan kromozomlarını incelemek için en çok kullanılan materyallerden biri olmuştur. Ayrıca, kısa sürede istenilen sayıda hücrenin incelenebilmesi (1ml periferik kan yaklaşık $4-10 \cdot 10^6$ lenfosit içerir), kültür süresinin kısa olması ve elde edilen kromozom preparatlarının diğer yöntemlerle elde edilenlerden daha kaliteli olması periferik kan

kültür yöntemi ile çalışmanın sunduğu üstünlüklerdir (Şaylı 1984; Rooney and Czepulkowski 1986; Tanrıverdi 1991; Başaran 1999; Öztaş 2000; Başaran 2003).

Periferik kan kültür yöntemi bugün başta tıbbi genetik (Chu *et al.* 2006) olmak üzere onkoloji (Eisenthal *et al.* 2006), genetik toksikoloji (Rodeiro 2006), biyokimya (Bukowska 2004), hematoloji (Saigo *et al.* 1999), immünoloji ve parazitoloji (Hu *et al.* 2006; Franca-Botelho *et al.* 2006) gibi pek çok tıp ve biyoloji alanında yaygın olarak kullanılmaktadır.

1.2.3. Genetik Toksisite

Tıp, endüstri ve ziraat alanlarında kullanılan kimyasal maddeler organizmalar üzerinde genetik hasarlara sebep olabilmektedir. Bir organizmada genetik farklılaşma oluşturan maddelere genetik zehirler (genotoksik maddeler) denir. Genotoksik maddeler hücrenin kromozomlarında veya genlerinde değişmeye (mutasyona) yol açmaktadır (Paralı 1994, Tokyay 1999). Mutasyon başlığı altında genellikle kromozom sayısı ve kromozom yapısı değişimleri, tek gen bozuklukları ve gen mutasyonları incelenmektedir.

1.2.3.a. Kromozomlardaki Sayısal Düzensizlikler

İnsan eşey hücrelerinde 23 adet kromozom bulunmaktadır ve bu sayı insan için haploid (n) sayıdır. Somatik hücrelerde ise diploid sayıda ($2n$) kromozom bulunur. Kromozom sayısındaki artış yada azalışlar temel kromozom sayısının ($n = 23$) tam katları kadar oluyorsa buna öploid denir. Hücrede temel kromozom sayısının üç katı kromozom bulunması ($3n = 69$) olarak bilinen triploid, ve dört katı kromozom bulunması ($4n = 92$) olarak bilinen tetraploid durumları başlıca öploid tiplerindendir. Kuramsal olarak temel kromozom sayısını daha fazla artırmak olasıdır, ancak bu –ploidler insanlarda henüz gösterilememiştir.

Temel kromozom sayısının katları kadar olmayan artma yada azalmalara ise anöploidi denmektedir. Anoplidi durumları öploidi durumlarına oranla daha sık görülmektedir. Anöploidi durumlarının oluşmasına neden olan iki temel olay, kromozom ayrılmaması (non-disjunction) ve kromozomların anafazda geri kalması (anaphase lagging)'dır. Anöploidi, kromozomlardaki artma yada azalma durumuna göre hiperploidi ve hipoploidi olmak üzere ikiye ayrılır. Diploid sayıdan bir yada daha fazla sayıda kromozom bulunması durumuna hiperploidi adı verilir. Trizomi ($2n+1$) ve tetrazomi ($2n+2$) en sık rastlanan hiperploidi durumlarıdır. Hipoploidi ise diploid kromozom sayısından 1 yada daha çok kromozom eksilmesidir. Monozomi ($2n-1$) ve nullizomi ($2n-2$) bilinen hipoploidi türleridir.

1.2.3.b. Kromozomlardaki Yapısal Düzensizlikler

Kromozom yapısındaki değişimler kromozomların kırılması ve anormal şekilde tekrar kaynaşması sonucu ortaya çıkar. Kromozomlardaki bu yapısal anormalliklere kimyasal maddeler, radyasyon ve X ışınları gibi farklı etmenler neden olabilirler. Bu anormalliklere hem somatik hücrelerde hem de üreme hücrelerinde rastlanabilir. Herhangi bir nedenle hasar gören DNA'ların tekrar düzenlenmesi esnasında yanlış bağlanmalar meydana gelebilir ve gen kaybı olmaksızın kromozom yapısında görülen değişimler etkisini fenotipte ortaya koyabilir. Kromozomlarda görülen başlıca yapısal anormallikler aşağıda sıralanmıştır.

Translokasyon: İki kromozom arasında parça değişimidir.

Delesyon: Kırılan kromozomdan kopan parçanın kaybolması yani eksilmesidir.

Duplikasyon: Bir DNA diziliminde olması gerekenden fazla sayıda kopyasının parçasının mevcut olması durumudur.

İnversiyon: Bir kromozomda kırılan herhangi bir parçanın 180 °C dönerek aynı bölgeye yapışması sonucu meydana gelir.

İzokromozom: Bir kromozomal aberasyon tipi olup kromozomda kollardan birinin dublikasyonu, diğer kolun ise kaybolması sonucu meydana gelir.

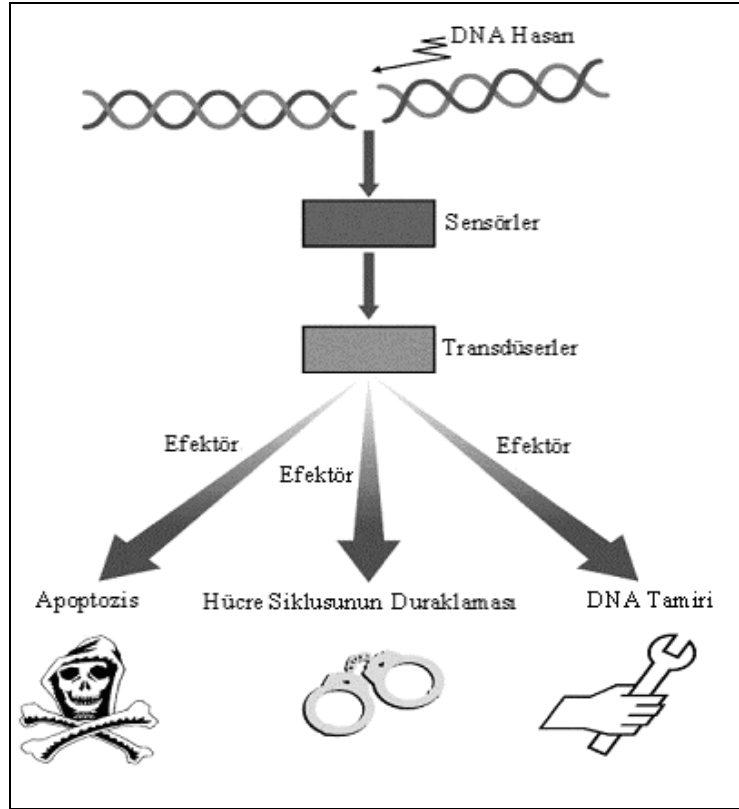
Yukarıda verilen kromozom düzensizliklerinin haricinde kromozomları oluşturan DNA molekülü üzerindeki baz değişimleri ise nokta mutasyonlar olarak incelenmektedir. Kimyasal mutajenlerin neden olduğu başlıca nokta mutasyonları DNA bazlarında kimyasal değişimler, baz analoglarının DNA'ya inkorporasyonu, DNA alkilasyonu sonucu gerçekleşen mutasyonlar ile çerçeve kayması (frameshift) mutasyonlarıdır (Şaylı 1975, Rooney and Czepulkowski 1986, Tanrıverdi 1991, Başaran 1999, Öztaş 2000, Bahçeci 2002, Eken 2003, Başaran 2003).

1.2.3.c. DNA Tamir Mekanizmaları

DNA molekülü, kromozomlar içerisinde sıkı bir şekilde paketlenmiş ve protein kılıflarla sarılmış olarak korunuyor olsa da bazı iç ve dış etkenlerin bozucu ve yıkıcı etkileri sonucu hasar görmektedir. Canlı organizmalarda bu tür DNA hasarlarını onaran mekanizmalar mevcuttur (Tokyay 1999, Bahçeci 2002). Bu mekanizmaların yeterli bir koruma sağlayamadığı durumlarda genotoksik maddeler zararlı mutasyonlara hatta hücre ölümlerine yol açmaktadırlar (Mahmoudi *et al.* 2006).

DNA'da herhangi bir nedenden dolayı bir hasar meydana geldiği zaman bu durum DNA hasarı cevap yolu (DDRP) denilen ve kompleks bir haberleşme ağına sahip olan sistem tarafından çok hızlı bir şekilde tespit edilir. Bu sistemde rol alan üç grup protein DNA'dan gelen hasar sinyallerine karşı spesifik hücresel yanıtın oluşturulmasını sağlar. Bu protein grupları ve fonksiyonları aşağıda sıralanmıştır (Şekil 1.4).

1. Sensörler: Hasar sonucu DNA'da meydana gelen lezyonları tanırlar. MRN and 9–1–1 kompleks proteinleri bu grupta yer almaktadır.
2. Transdüserler: Bu proteinler sensörlerden gelen sinyallerin iletilmesinden ve güçlendirilmesinden sorumludurlar. ATM ve ATR proteinleri bu grubun içerisinde yer almaktadır.
3. Efektörler: Hücresel yanıtın oluşturulmasında görev almaktadırlar. ChK1 ve ChK2 proteinleri bu protein grup içerisinde yer almaktadır (Mahmoudi *et al.* 2006).



Şekil 1. 4. Memeli hücrelerinde DNA hasarı cevap yolu

Yukarıdaki şekilde görüldüğü üzere hücre DNA hasarlarına farklı metabolik yollarla cevap vermektedir. Çok ağır DNA hasarları hücrenin apoptoz yolunu aktif hale getirerek hücreyi ölüme götürür. Hücre DNA hasarlarını tamir mekanizmaları ile tamir edebilir. DNA'daki hasar eğer replikasyon esnasında tamir edilemez ise hücrede genomik kararsızlık meydana gelir. Bu durum hem kanserin hem de yaşlanmanın temel nedeni olarak kabul edilmektedir. Memeli hücrelerinde farklı DNA hasarları farklı tamir mekanizmaları ile onarılmaktadır (Şaylı 1975, Seeberg *et al.* 1995, Chu 1997, Prakash and Prakash 2002, Bahçeci 2002, Schärer 2003, Müftüoğlu 2003, Kunkel *et al.* 2003; Schofield and Hsieh 2003, Christmann *et al.* 2003; Larsen *et al.* 2005);

Hasarı Doğrudan Geriye Çevirme: Her zaman olmamakla birlikte DNA'da meydana gelen mutasyonlar doğrudan doğruya uzaklaştırılabilmektedir. Ultraviyole (UV) ışığı tarafından meydana getirilen fotohasarın (fotodimerler) fotoreaktivasyon yoluyla giderilmesi bu mekanizma ile gerçekleştirilmektedir.

Eksizyon tamir mekanizmaları ile kimyasal olarak değişmiş veya yanlış eşleşmiş bazlar genomdan kesilerek yerlerine doğru bazlar konur. Eksizyon tamiri, BER ve NER olmak üzere ikiye ayrılır.

Nükleotid Eksizyon Tamir Mekanizması (NER): Ekzojen kaynaklı mutajenlere karşı en önemli savunma NER tarafından yapılmaktadır. Bu tamir sisteminde hasarlı bazlar oligonükleotid fragmanları olarak kesilir. Benzo[a]pyrene gibi büyük hidrokarbon DNA adüktlerinin ve pirimidin dimerlerinin tamiri bu yolla yapılır.

Baz Eksizyon Tamir Mekanizması (BER): Endojen kaynaklı mutasyonların düzeltilmesinde etkili olan bu tamir sisteminde ise hasarlı bazlar serbest bazlar halinde kesilerek çıkarılır. BER oksidasyon, metilasyon, deaminasyon ve depürinasyon gibi tek baz hasarlarının tamirinde görev alır.

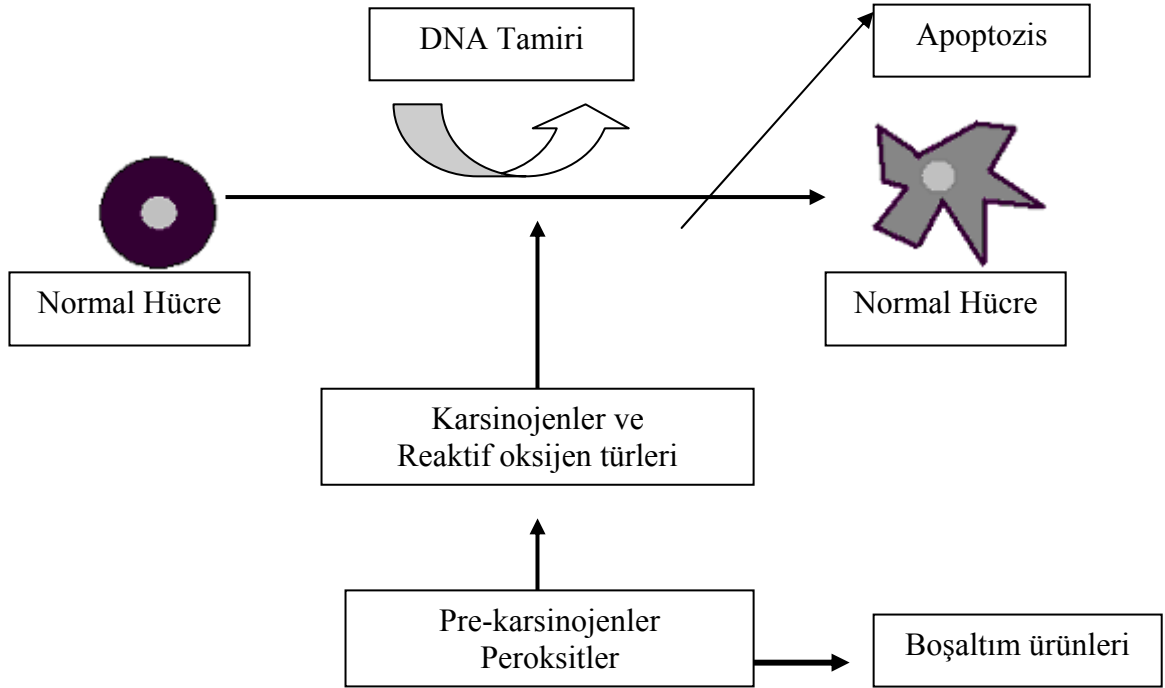
Mismatch Tamir Sistemi (MMR): DNA replikasyonundan sonra görev yapan bu sistem hatalı baz eşleşmelerini gidermektedir.

Translezyon Sentez (TLS) Tamir Sistemi: Bu sistemde görev alan enzimlerin apürinik veya apirimidinik (AP-yerleri) bölgeler ile oksidatif DNA lezyonların by pass işleminde ayrıca UV ışığın neden olduğu pirimidin dimerlerinin giderilmesinde rol oynadıkları bilinmektedir.

Rekombinasyon Tamir sistemi (RER): DNA'daki çift zincir kırılmaları DNA da dönüşümsüz hasarlara, kromozom kırıklarına hatta hücre ölümüne yol açmaktadır. Çift zincir kırılmaları tamir edilemediği durumlarda kanser vakaları ortaya çıkmaktadır. Hata eğilimli onarım sistemi olarak ta bilinen bu tamir sisteminde hasar çok ağırsa replikasyon hasar giderilmeden tamamlanmaktadır.

1.2.5. Mutajenezis İle Karsinogenezis Arasındaki İlişki

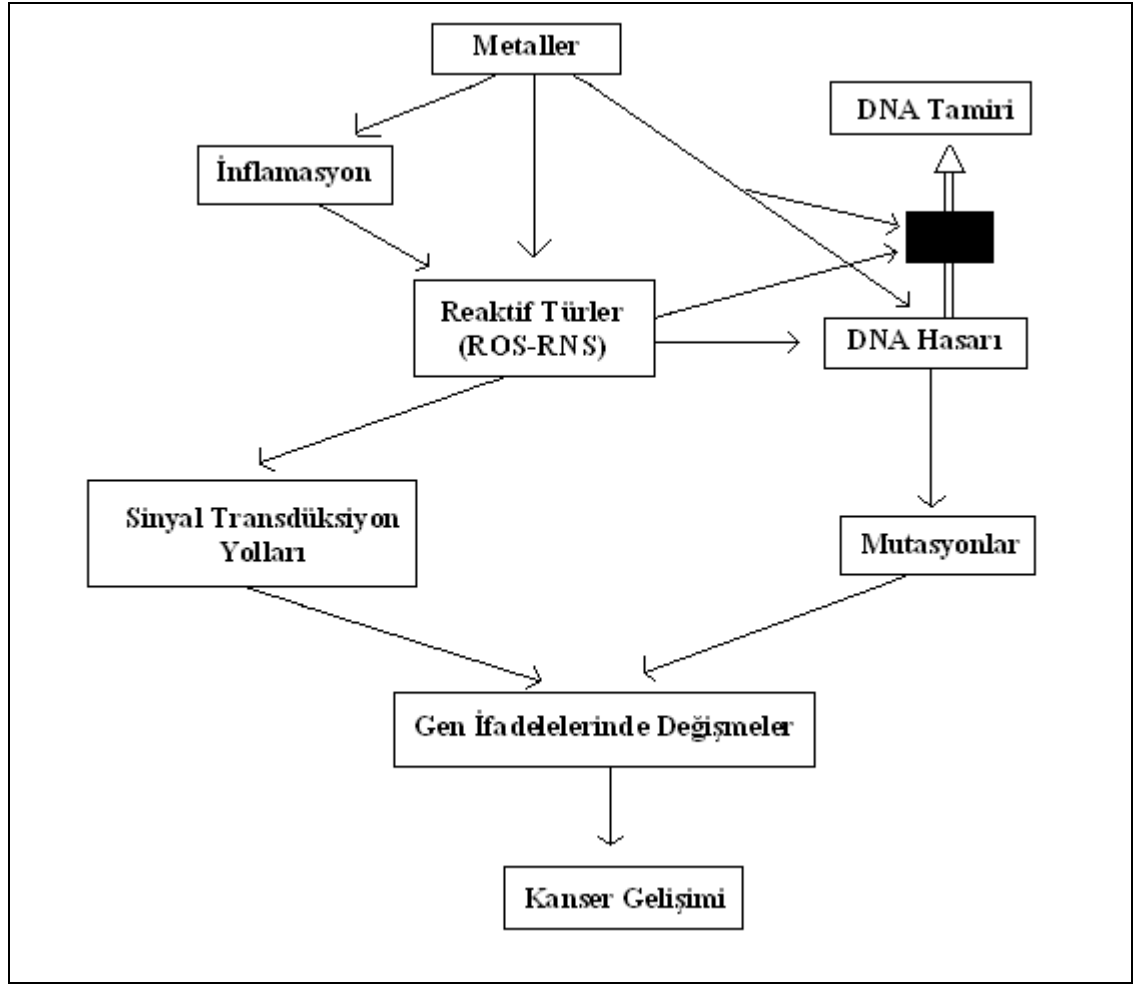
Son yıllarda mutasyon çalışmalarının yeni bir yönü gözlenmektedir. Genetik alanında çalışan araştırmacılar önceleri insanlarda kalıtsal hastalıkları artıran eşeyssel mutasyonları ortaya çıkaran çevresel mutajenlerle ilgili kaygıya kapılırlarken bugün artık somatik mutasyonlarında en azından diğerine eşdeğer nitelikte sayılabilecek derecede korkunç sonuçlarının ortaya çıkabileceğini ortaya koymaktadırlar. Çünkü; artık X ışınları, ultraviyole radyasyon ve çeşitli kimyasal maddeler gibi mutajenik etkenlerin kanserojen nitelikte olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda pek çok kanserojen nitelikli unsurların aynı zamanda mutajenik oldukları ve ortaya çıkardıkları somatik mutasyonlarla kansere neden oldukları gösterilmiştir (Şekil 1.5). Kanser hastalıklarının pek çok türünde DNA tamir sistemlerinin görev yapamadığı bilinmektedir. Nitekim, barsak kanseri vakalarında Mismatch tamir sisteminin ve deri kanserlerinde nükleotid eksizyon ve rekombinasyonel tamir mekanizmalarının görev yapmadığı ayrıca DNA'daki çift zincir kırılmaları sonucu kan, göğüs ve ovaryum kanser türlerinin görüldüğü rapor edilmektedir (Erensayın 2000; Kawanishi *et al.* 2001; Dixon and Koprass 2004; Ferguson *et al.* 2004).



Şekil 1.5. Mutajenezisin karsinojenезis ile ilişkisi

Metaller diğer çevresel karsinojenler gibi somatik insan hücrelerinde mutasyonlara neden olmaktadır. Yukarıda bahsedildiği üzere kanser oluşumu ile mutasyonlar arasındaki ilişki dikkate alındığında metallerin DNA’da neden olduğu değişimlerin moleküler mekanizmaları hakkında ortaya konan bilgiler daha da önem kazanmaktadır.

Metallerin hücrelerde hangi mekanizmalar yoluyla karsinojen etkilere neden olduğu net olarak bilinmemektedir. Ancak bu metallerin serbest radikaller oluşturmak suretiyle karsinojenez sürecinde etkili olabildikleri düşünülmektedir (Şekil 1.6) (Galaris and Evangelou 2002). Demirin kanser oluşumundaki rolü kesin olarak anlaşılmış olmamakla birlikte, bu metalin serbest radikal oluşumunu kolaylaştırarak kanser oluşumunu teşvik ettiği kaydedilmiştir (Toyokuni 1996). Demirin yanı sıra krom (De Flora 2000), bakır (Lee *et al.* 2002), kadmiyum (Koizumi and Li 1992), arsenik (Snow *et al.* 2005), nikel (Lu *et al.* 2005), kurşun (Valverde *et al.* 2001), antimon (Cavallo *et al.* 2002), bismuth (Türkez *et al.* 2006), civa ve vanadyum (Stohs and Bagchi 1995) gibi çok sayıda metal bileşiklerinin de oksidatif DNA hasarı yoluyla çeşitli kanser oluşumlarına neden oldukları farklı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.



Şekil 1.6. Kanser oluşumu üzerine metallerin muhtemel etki yolları

1.2.6. Genotoksisite Testleri

Mutajen ve kanserojen maddelerin önemli özelliklerinden biri, çok düşük konsantrasyonlarda bile etkili olabilmeleridir. Mevcut kimyasal yöntemlerle dokularda bulunan bu tür maddelerin kimyasal yapılarının analitik şekilde tespiti mümkün değildir. Kimyasal yöntemlerle bu maddelerin tespit edilmesi mümkün olmadığı için, biyolojik yöntem ve indikatör canlı dokularında kanserojen ve mutajen madde taraması esasına dayanan yöntemler önem kazanmıştır.

Son yıllarda yapılan pek çok araştırma ile mutajenik olan maddelerin genellikle kanserojen, aynı zamanda kanserojen olan pek çok madenin de mutajenik olduğu

gösterilmiştir. Çevremizde bulunan ve biyolojik etkileri henüz bilinmeyen pek çok sentetik ve doğal maddenin mutajenik veya kanserojenik potansiyel açısından test edilmesi sağlık açısından gereklidir. Ancak laboratuvar hayvanları ile yapılan deneyler hem çok pahalı hem de çok zaman almaktadır. Bu nedenle, *in vivo* hayvan deneyleri yerine kimyasal maddelerin kanserojenik ve mutajenik potansiyellerini ölçebilmek için son yıllarda birçok *in vitro* test sistemleri geliştirilmiştir. Kısa zaman içinde sonuçlanan bu testlerle, kimyasal maddelerin belirli genetik özelliklerde oluşturduğu sonuçlar ölçülmekte ve elde edilen sonuçlarla maddelerin mutajenik veya kanserojenik potansiyelleri arasında ilişkiler kurulmaktadır (Boyacıoğlu 2004).

Genetik toksikoloji alanında kullanılan başlıca testler,
Kardeş-Kromatid Değişimi testi (KKD)
Kromozom Aberasyonları testi (KA)
Mikroçekirdek testi (MÇ)
Diğer testler (Ames, SCG ve FISH)

1.2.6.a. Kardeş-Kromatid Değişimi testi (KKD)

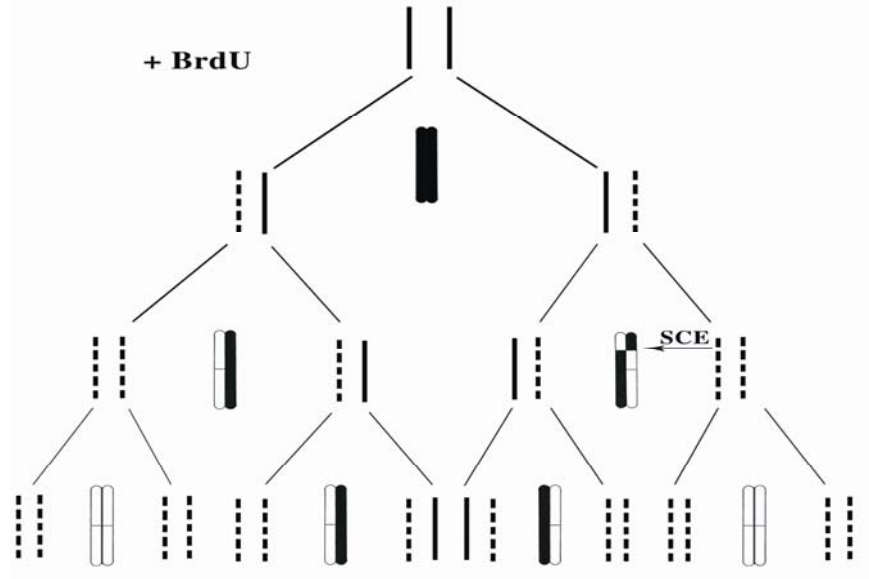
Genetik hasarın tespitinde doğru ve hızlı sonuçların alınabilmesi gerekmektedir. Sister Chromatid Exchange [SCE = Kardeş-Kromatid Değişimi (KKD)] genetik hasarlar hakkında bilgi verebilen ve sitogenetikte oldukça yaygın bir kullanıma sahip olan hassas bir testtir. Bu sitogenetik test ile analizler güvenilir, hızlı, duyarlı ve kantitatifdir (Özkinay 1982; Öztürk 1995; Tatar *et al.*, 2005).

Gerek *in vivo* gerekse *in vitro* şartlarda mutajen veya karsinojenlerin DNA'da oluşturacağı harabiyetin analizinde KKD metodu çok yaygın olarak kullanılmaktadır. KKD yönteminde tek bir kromozomun yalnızca bir kromatidi boyandığından DNA'daki hasarın boyutunu daha kesin bir şekilde inceleme olanağı vardır (Tanrıverdi 1991). KKD yöntemi kültürde replikasyon yapabilen, filogenetik spektrumu *Drosophila*'dan insana kadar uzanan tüm organizma hücrelerinde uygulanabilmektedir. Ayrıca Çin

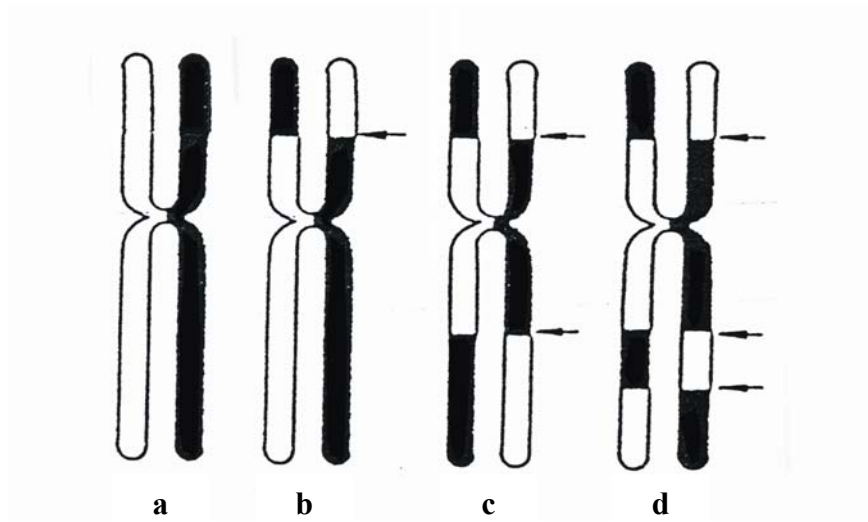
hamsterinin fibroblast hücreleri, deri veya akciğerden alınmış insan hücreleri, laboratuvar hayvanlarının ve insanların lenfosit kültürleri yaygın olarak çalışılan hücre hatlarıdır (Paralı 1994).

KKD, bir kromozomun iki kromatidi arasında özdeş segmentlerin simetrik değişimidir (Rooney ve Czepulkowski 1986). Başka bir ifade ile KKD, kromozomlarda yapısal değişimle sonuçlanmayan, replike olan kromozomlarda kromatidler arasında homolog bölgelerin karşılıklı değişimidir (Carrona and Natarajan 1988; Tucker *et al.* 1993; Paralı 1994).

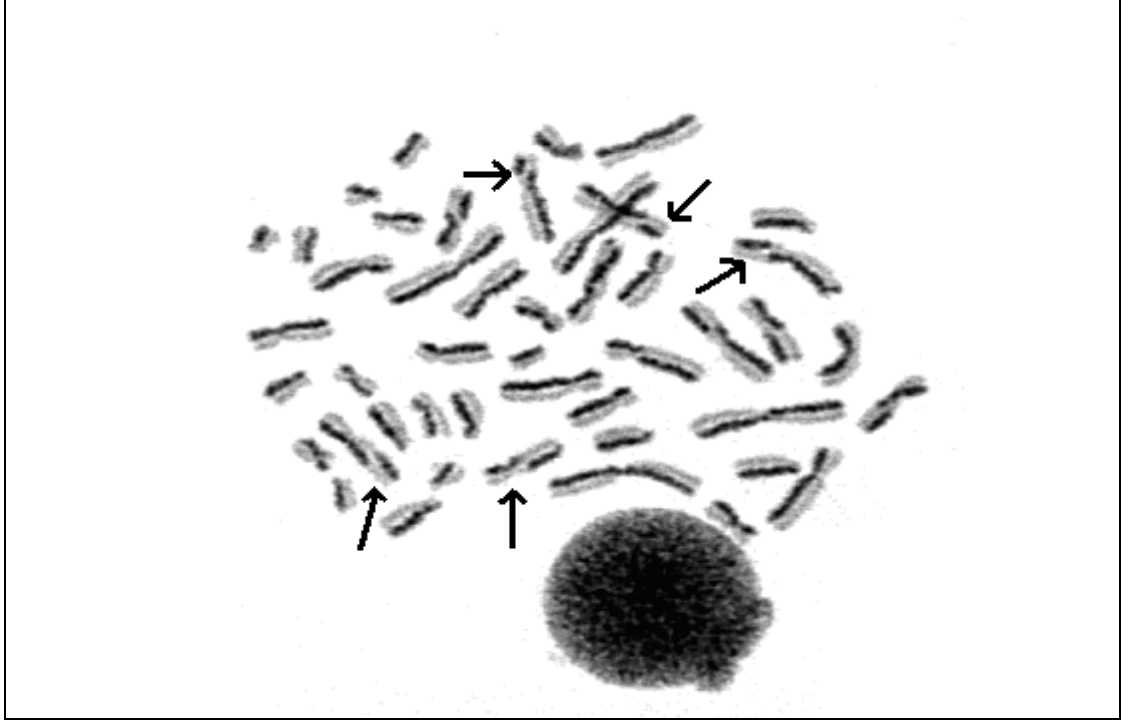
Bölünen hücrelerin bulunduğu ortama BrdU (5-Bromo-2'deoksiüridin) eklendiğinde, replikasyon sırasında yeni oluşan DNA ipliğine Timin yerine BrdU girer. BrdU DNA'da timin bazının bir analogu olup DNA'ya Adenin-Timin baz çifti düzeyinde bağlanır. BrdU, hücre döngüsünün birinci sentez evresinde DNA yapısına katılmaktadır (Şekil 1.7). Bu aşamadan sonra hücreler ikinci döngüye girerler. İkinci sentez döneminde kardeş kromatidlerden biri DNA çift sarmalının her iki iplikçisinde BrdU'yu bulundurmakta, diğer kardeş kromatidin DNA çift sarmalının sadece bir iplikçisi BrdU içermektedir. Hücreler üçüncü döngüye girdiklerinde ise, DNA iplikçiklerinin hemen hemen tamamı BrdU'yu yapısına almıştır. Bu aşamalardan geçen kromozomlar Floresan+Giemsa (FPG) tekniği ile boyanır. BrdU Hoechst 33258 floroçrom floresans boyası ile baskılanmaktadır. Bunun neticesinde her iki DNA iplikçisinde BrdU bulunan kromatidin boya almadığı, sadece tek iplikçisinde BrdU bulunan kromatidlerde parça değişimi olmuşsa bu kromatidlerin açık koyu boyandığı görülür. Kromatidlerdeki parça değişiminin sayılması ile SCE frekansı hesaplanır (Jansson *et al.* 1986; Paralı 1994) (Şekil 1.8 ve 1.9).



Şekil 1.7. BrdU inkübasyonu sonucunda SCE tayini. Kesintili (...) görünen çizgiler yeni sentezlenen ipliği, düz (-) çizgiler atasal ipliği göstermektedir (Mertens *et al.* 1993, Paralı 1994).



Şekil 1.8. KKD'de 1'li, 2'li ve 3'lü değişimlerin şematik görünümü a) 0 değişim, b) 1 değişim, c) 2 değişim, d) 2 değişim



Şekil 1.9. Örnek metafaz plağında KKD dağılımı

In vitro veya *in vivo* şartlarda KKD oluşumu üzerinde etkili olabilen pek çok faktör mevcuttur. Bunlar, kültürlere eklenen BrdU miktarı (Rodriquez and Morales 2003) ve antikoagülant türü (Tucker *et al.* 1993), inkübasyon sıcaklığı (Carrona and Natarajan 1988), ortamın pH'sı (Tanrıverdi 1991) gibi kültür faktörleri ve viral enfeksiyonlar (Kurvink *et al.* 1988), sigara-alkol kullanımı (Lazutka *et al.* 1992; Tang *et al.* 1999), yaş (Ganguly 1995), cinsiyet (Anderson *et al.* 1986) ve kalıtsal hastalıklar (Sönmez 1992; Aledo *et al.* 1989) gibi biyolojik faktörler olmak üzere başlıca iki grup altında toplanabilirler.

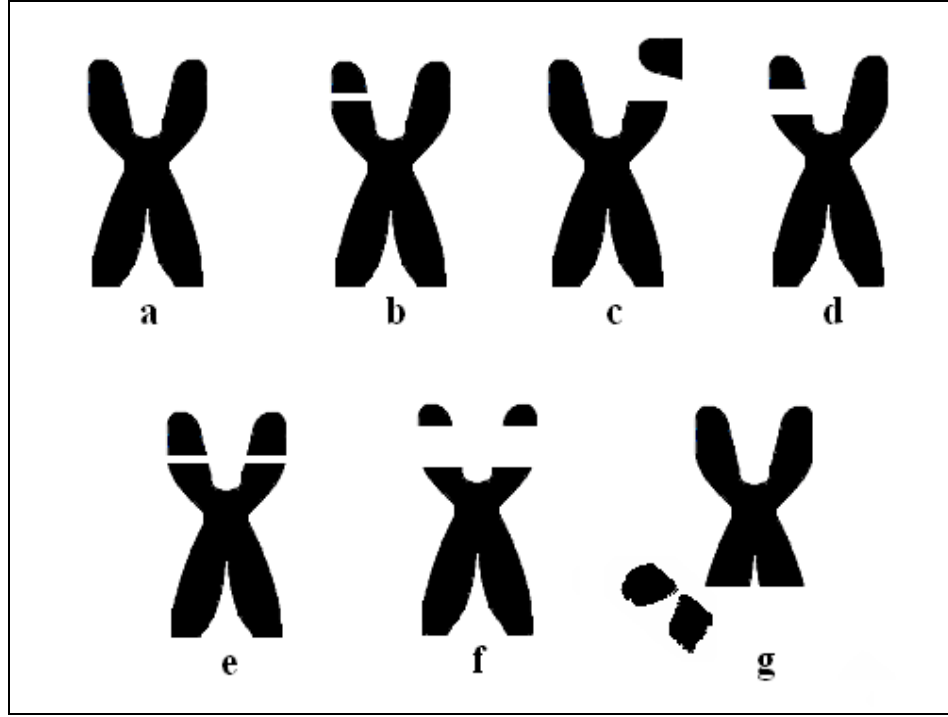
Ayrıca ilaç kullanımı, beslenme şekli, fiziksel veya kimyasal ajanlara maruziyet gibi faktörlerin de KKD frekansını etkileyebildiği belirtilmiştir (Kelsey *et al.* 1990; Paralı 1994).

1.2.6.b. Kromozom Aberasyonları testi (KA)

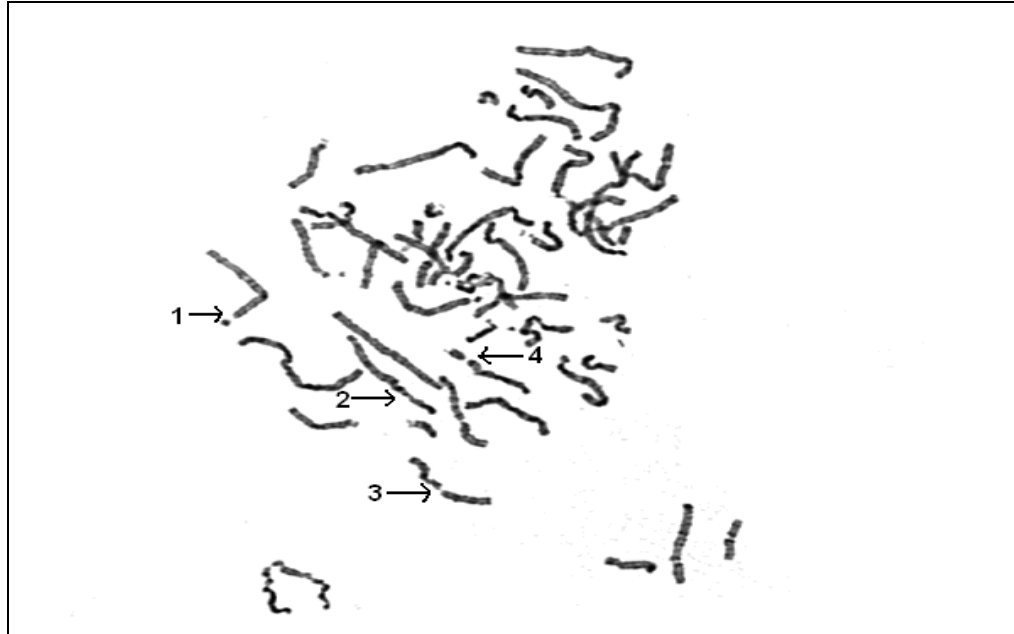
Memeli sistemlerinde kromozom aberasyonları incelenebilen hemen her hücre ve doku tipinde tespit edilebilmiştir. Kromozom aberasyonlarının çeşitli etkenlere (kimyasallara, iyonize ve iyonize olmayan radyasyona v.b) maruz kalma sonucunda oluştuğu pek çok *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla ortaya konmuştur. Nitekim, tümör hücreleri üzerinde yapılan detaylı araştırmalar bu hücrelerin yapısal ve sayısal kromozom değişiklikleri içerdiğini göstermiştir. (Lando *et al.* 1998; Emri *et al.* 2000; Demiroğlu 2003; Sugai *et al.* 2005; Pasha *et al.* 2006).

Bu test genellikle insan periferik lenfositleri kullanılarak yapılmaktadır. İndüklenmiş kromozomal aberasyonlar kromozom-tipi aberasyonlar (simetrik aberasyonlar) ve kromatid-tipi aberasyonlar (asimetrik aberasyonlar) olmak üzere iki ana grupta değerlendirilmektedir. Kimyasal mutajenler kromozom-tipi aberasyonlara yol açmakla birlikte daha çok kromatid-tipi aberasyonlara neden olmaktadır. Bu durum, kimyasal mutajenlerin daha çok hücre siklusunun S safhasında etkili olduklarını düşündürmektedir (Adler 1984). Mitoz bölünmenin metafaz aşaması, kromozomlardaki kırılmaların ve yeniden birleşmelerin olduğu safhasıdır. KA tekniğinde hücreler iğ ipliklerinin inhibisyonuna neden olan bir madde (kolşisin) ilave edilmesiyle metafaz safhasında tutulmaktadır. Bu da kromozomların kolayca gözlenebilmesine olanak sağlamaktadır. KA testi ile kimyasal maddelerin genotoksik etkilerinin belirlenmesinde daha çok kromatid gap, kromatid kırığı, kromozom gap ve kromozom kırığı denilen aberasyon çeşitlerinin oranları araştırılmıştır (Şekil 1.10 ve 1.11).

Kromatid gapları yada kromatid açıklıkları kromatid kolunda boyanmamış kısımlar olarak görülürler. Bu açıklıklar kromatid koluyla aynı uzantıdadır ve kromatid koluyla arasındaki uzaklık kol kalınlığına eşit yada küçüktür. Bazı araştırmacıların kromatid açıklıklarını kromozomal aberasyon olarak değerlendirilmesi yönündeki görüşlerine rağmen genellikle aksi kabul görmüştür. Kromatid kırıkları ise kromatid kolundaki kopmalardan oluşmaktadır. Kromatid kırıklarında aradaki boşluk kromatid kol kalınlığından daha geniştir ve doğrultusu da çoğunlukla farklıdır (Demiroğlu 2003).



Şekil 1.10. Başlıca kromozomal aberasyon türleri: a) normal kromozom, b) kromatid gap, c-d) kromatid kırığı, e) kromozom gap, f-g) kromozom kırığı



Şekil 1.11. Kromozomal aberasyon türleri 1. kromozom gap, 2. kromatid kırığı, 3-4. kromozom kırığı

KKD metodunda olduğu gibi *in vitro* veya *in vivo* şartlarda kromozom aberasyonları üzerinde viral enfeksiyonlar (Chieco-Bianchi *et al.* 1988), sigara ve alkol kullanımı (Sunil Kumar *et al.* 1993; Albrecht *et al.* 2004), kalıtsal hastalıklar (Margiotta *et al.* 1981) ile yaş ve cinsiyet (Das *et al.* 1981; Richard *et al.* 1993) gibi faktörlerin de etkili olduğu kaydedilmiştir.

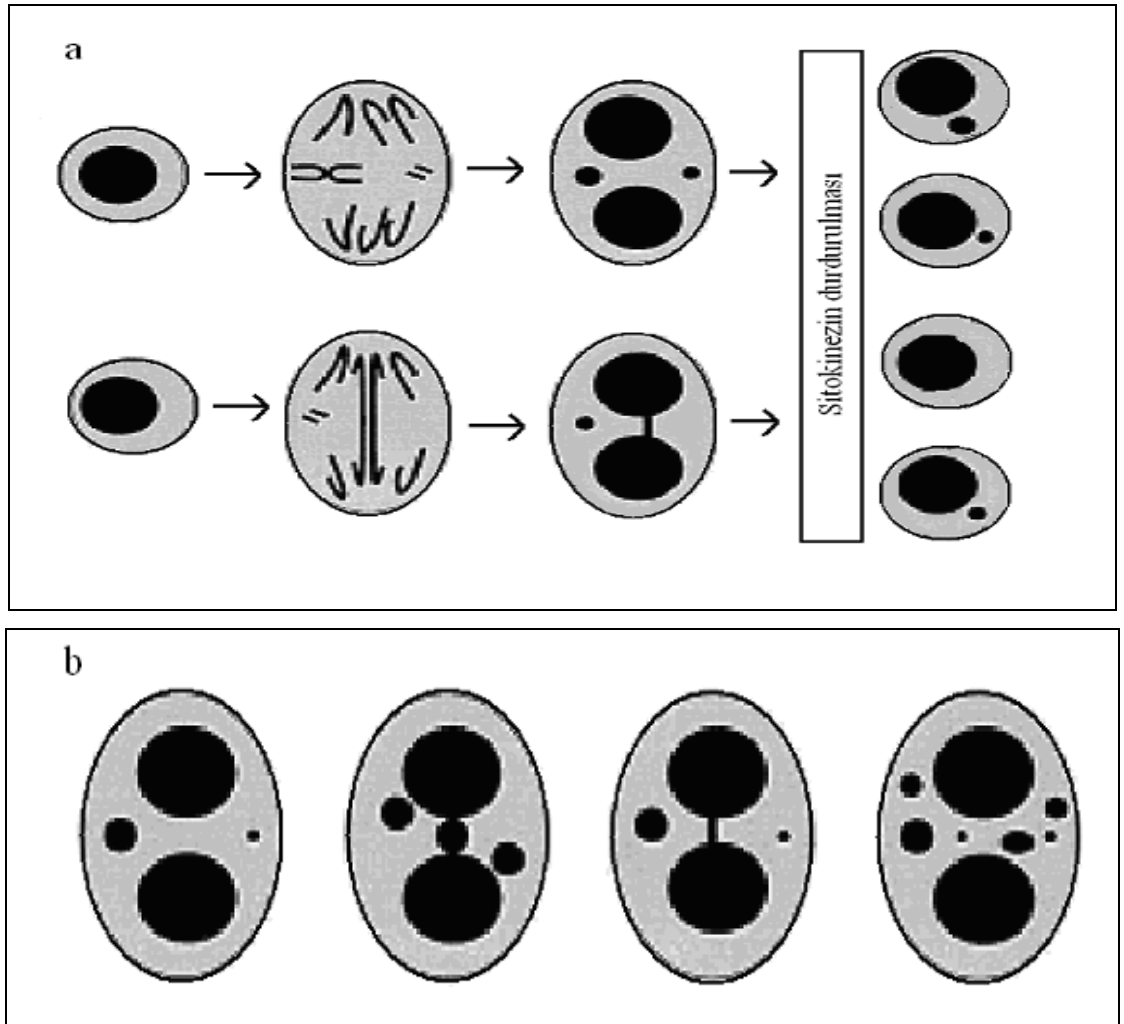
1.2.6.c. Mikroçekirdek testi (MÇ)

Sitologlar tarafından mikroçekirdeğin yapısı ve orijini yüzyılın başından beri bilinmesine karşın mutajenite potansiyellerinin ölçülmesinde kullanımı yenidir (İlbars 1997). İnsan periferik kan lenfositlerinde mikroçekirdek sıklığının kromozom hasarlarının bir göstergesi olarak kullanılması ilk kez 1976 yılında Courtyman ve Heddle tarafından önerilmiştir. Ancak daha sonra bu yöntem Fenech ve Morley (1985 a, b) tarafından geliştirilmiş ve Cytokinesis Block Micronucleus (CBMN) ismi verilmiştir.

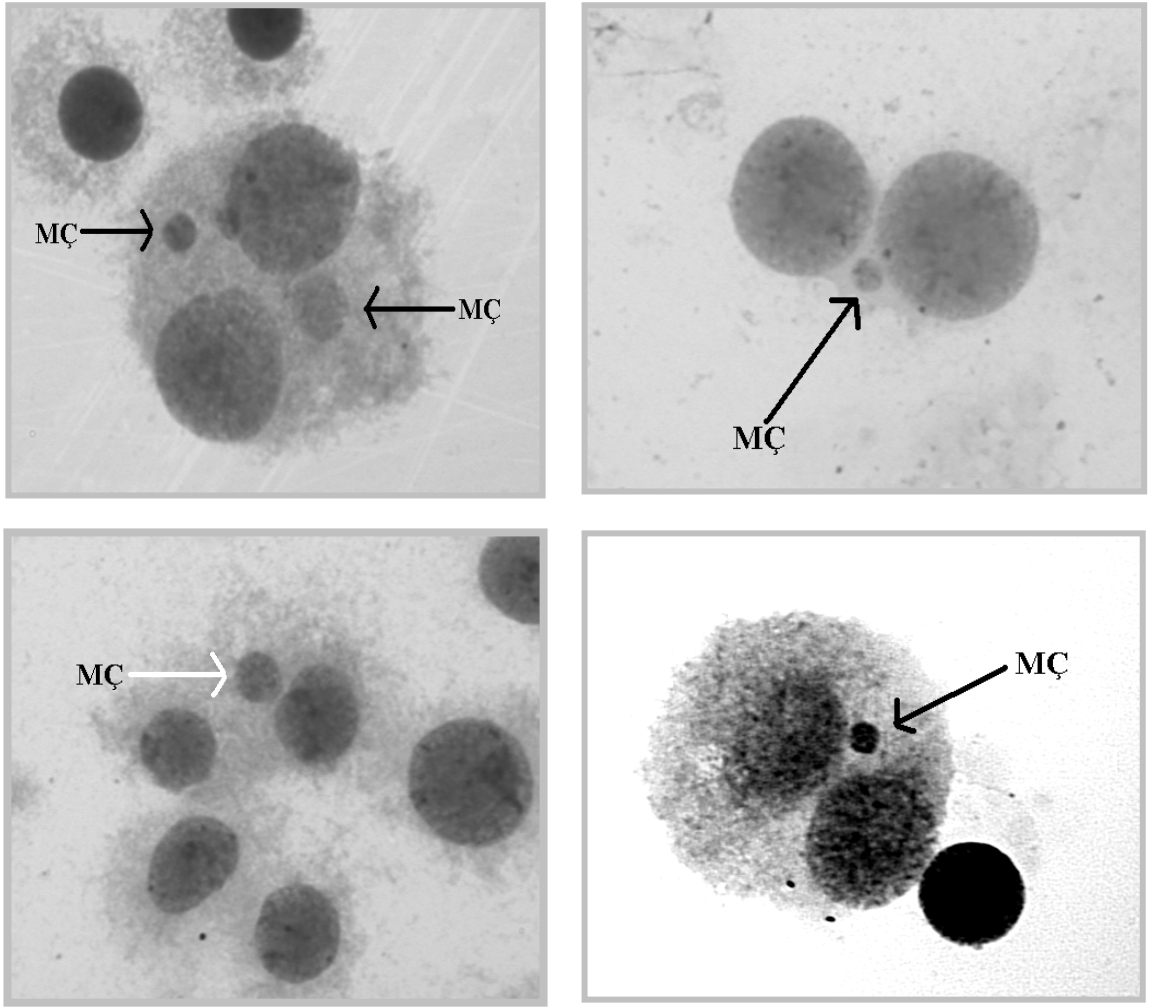
Mikroçekirdekler hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. İnsan hücrelerinde DNA hasarlarının kromozom seviyesinde güvenilir olarak değerlendirilmesini sağlayan mikroçekirdek yöntemi genetik toksikoloji alanında çok yoğun olarak kullanılmaktadır (Fenech 1993; Lando *et al.* 1998). MN sayısındaki artış çeşitli kimyasalların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak, klastojenler ise kromozom kırıkları oluşturarak MÇ oluşumuna yol açarlar (Demirel ve Zamani 2002). Bu nedenle MÇ testi hücrelerde hem klastojenik hemde anöjenik etkilerin bir arada değerlendirilmesine olanak veren tek biyomarkırdır (Fenech 1993).

CBMN metodu küf mantarlarının bir metaboliti olan Cythochalasin-B ($C_{29}H_{37}NO_5$, Cyt-B) ile mitoz geçiren hücrelerde sitokinezi durdurma esasına dayanır. Plazma

membranında yüksek moleküler ağırlığa sahip bazı kompleksler mevcuttur. Bunlar aktin polimerizasyonu ve dolayısıyla da mikrofilamentlerin bir araya geliş sürecini indüklemektedir. Mikrofilamentlerin bir araya gelmesi plazmadaki yarıklanma başlangıcı için gereklidir. Cyt-B mikrofilament aktivitesini inhibe ederek sitokinezi durdurur. Standart lenfosit kültürlerine uygun konsantrasyonda (1-6 $\mu\text{g/ml}$) Cyt-B metabolitinin ilavesiyle, karyokinezi tamamlamış, ancak sitokinezi gerçekleştirmemiş çift çekirdekli hücreler oluşturulmakta ve MÇ bulunduran hücrelerin oranı tespit edilebilmektedir (Fenech 2000; Kutbay 2001; Demirel ve Zamani 2002) (Şekil 1.12 a, b ve 1.13).



Şekil 1.12. Mikroçekirdek oluşum mekanizması (a) ve farklı tiplerde mikroçekirdek oluşumları (b).



Şekil 1.13. Farklı Mikroçekirdek oluşumu örnekleri

MÇ sayımı Courtyman ve Heddle (1976) tarafından ortaya konan kriterlere göre yapılmaktadır. Bu kriterler:

- MN çapının esas çekirdeğin 1/3'ünden küçük olması,
- Boya alma yoğunluğunun esas çekirdek ile aynı olması,
- MN'lerin asıl çekirdeğe bağlı veya bitişik olmaması,
- Sadece sitokinezi bloke edilmiş çift çekirdekli hücrelerdeki MN'lerin sayılması esaslarını kapsamaktadır (Fenech 2000; Demirel ve Zamani 2002).

Daha önce bahsedilen testlerde olduğu gibi *in vitro* veya *in vivo* şartlarda sigara ve alkol kullanımı (Maffei *et al.* 2002), yaş (Thierens *et al.* 1996), cinsiyet (Barale *et al.* 1998),

çeşitli kronik ve enfeksiyonel hastalıklar, yaşam tarzı, ilaçlar ile fiziksel ve kimyasal ajanlara maruziyet (Neri *et al.* 2003; Pelevina *et al.* 2005) gibi faktörler MÇ'lerin oluşmasında etkili olmaktadır.

1.2.6.d. Diğer genotoksisite testleri

Genetik toksikolojide kimyasalların mutajenite veya karsinojenite potansiyellerinin belirlenmesinde KKD, KA ve MÇ testlerinin dışında farklı testlerde kullanılmaktadır. Bunlardan biri olan Ames testi etkinliği, ucuz olması ve hızlı uygulanabilirliği nedeniyle yaygın olarak kullanılan ve iyi şekilde karakterize edilmiş bir testtir. Bruce Ames ve arkadaşları tarafında geliştirilmiş olan bu testin kanserojenik maddeleri tespit etme konusundaki hassasiyeti oldukça yüksektir. Bu testin esası, etkinliği araştırılan kimyasal maddenin varlığında veya yokluğunda, histidine gereksinim duyan mutant bakterili (*Salmonella thphimurium* mutant suşları) ortamda geri mutasyon (revertants) sonucu oluşan histidine bağımsız bakteri çoğalmasına dayanmaktadır (Eken 2003; Boyacıoğlu 2004).

SCG (single cell gel) elektroforezi veya komet testi hücresel seviyede DNA hasarını ve tamirini değerlendirmede kullanılan oldukça hızlı ve duyarlı bir testtir. Bu testle az sayıda hücre (<10.000) kullanılarak çok düşük seviyelerdeki DNA hasarları bile tespit edilebilmektedir (Tice *et al.* 2000; Lee and Steinert 2003). Floresans in situ hibridizasyon (FISH) tekniği de genetik toksikoloji alanında yaygın olarak kullanılmakta olup DNA hasarının sadece mitoz safhasında değil interfaz safhasında da tespitini mümkün kılmaktadır (Maluszynska *et al.* 2003).

1.3. Oksidatif Stres

Oksijen kullanımının doğal bir sonucu olarak aerobik organizmalarda %1-2 oranında reaktif oksijen metabolitleri (ROM) meydana gelmektedir. Başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez

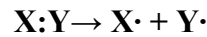
ve degradasyon reaksiyonlarında ROM oluşmakta ve prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllere hasar vermektedir (Cooke *et al.* 2003; Burçak ve Andican 2004). Oksidatif stres, basit bir şekilde vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stres toksisitenin muhtemel bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir (Mercan 2004).

1.3.1. Serbest Radikaller

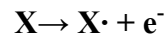
Serbest radikaller, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar, kanser, alerji, diabet, katarakt gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadıklarından dolayı son zamanlarda üzerinde en çok çalışılan konular arasında yer almaktadır. Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküller olup bu elektronlarını paylaşabilmek için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girmektedirler. Radikallerle reaksiyona giren moleküllerin bir elektronu azaldığı için onlar da reaktif hale gelmektedirler. Bir radikalın diğer moleküllerle etkileşmesi araya bir antioksidan sistem girene kadar, zincirleme reaksiyon şeklinde devam etmektedir (Akkus 1995, Aydılek ve Aksakal 2003).

Serbest radikaller başlıca üç yolla oluşabilmektedir:

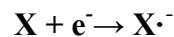
Kovalent bağın homolitik yarılması: Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik yarılması sonucu eşlenmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması ile serbest radikaller meydana gelmektedir.



Bir molekülün elektron kaybetmesi: Molekülün yapısındaki atomların birisinden elektron uzaklaştırılması sonucu oluşmaktadır.



Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi: Bir molekül yapısına elektron eklenmesi sonucu reaktif özellikler taşıyan yapılar oluşmaktadır.



1.3.2. Serbest Radikal Kaynakları

1.3.2.a. Elektron Transport Zinciri

Normal koşullarda mitokondri, sitokrom oksidaz sistemi ile oksijeni suya indirgeyerek detoksifiye etmektedir. Elektron transport zincirinde yer alan pek çok bileşik (NAD, FAD, Koenzim Q gibi) oksijen ile tepkimeye girerek O_2 salınımına neden olmaktadır. Bu tek değerli oksijen kaçağı olarak tanımlanmaktadır. Bu kaçağa neden olan faktörler bilinmemektedir. Normal koşullarda bu kaçak hücrenin savunma sistemleri ile yok edilebilmektedir. Ancak oksidatif stres durumunda savunma sistemleri yetersiz kalmakta ve mitokondriada hasar oluşmaktadır. Bu hasar sonucu hücrenin enerji sisteminin etkilenmesi ile ATP kullanımındaki artışa ve ATP sentezindeki azalmaya bağlı olarak hücrede ATP düzeyi hızla düşmektedir.

1.3.2.b. Redoks Döngüsü

Kimyasallardan serbest radikal oluşumu için diğer bir mekanizma da redoks döngüsüdür. Bazı kimyasallar (parakuat, bleomisin ve furasemid gibi) alternatif bir redoks döngüsüne girerler. Çiftlenmemiş elektron kazanma eğiliminde olan bu kimyasal bileşiklerden oluşan radikal tekrar ana bileşiğe dönüşmek için kolayca oksijenle oksitlenir ve sonuçta O_2^- oluşur. Oluşan ksenobiyotik radikali ile O_2^- intrasellüler ferritin depolarından demiri serbest hale getirebilme özelliğine sahiptirler. Sitozole salınan demir ise serbest radikallerden daha aktif ve yıkıcı olan HO gibi ikincil radikallerin oluşumunda katalitik rol oynamaktadırlar (Onat vd., 2002).

1.3.2.c. Endoplazmik retikulum

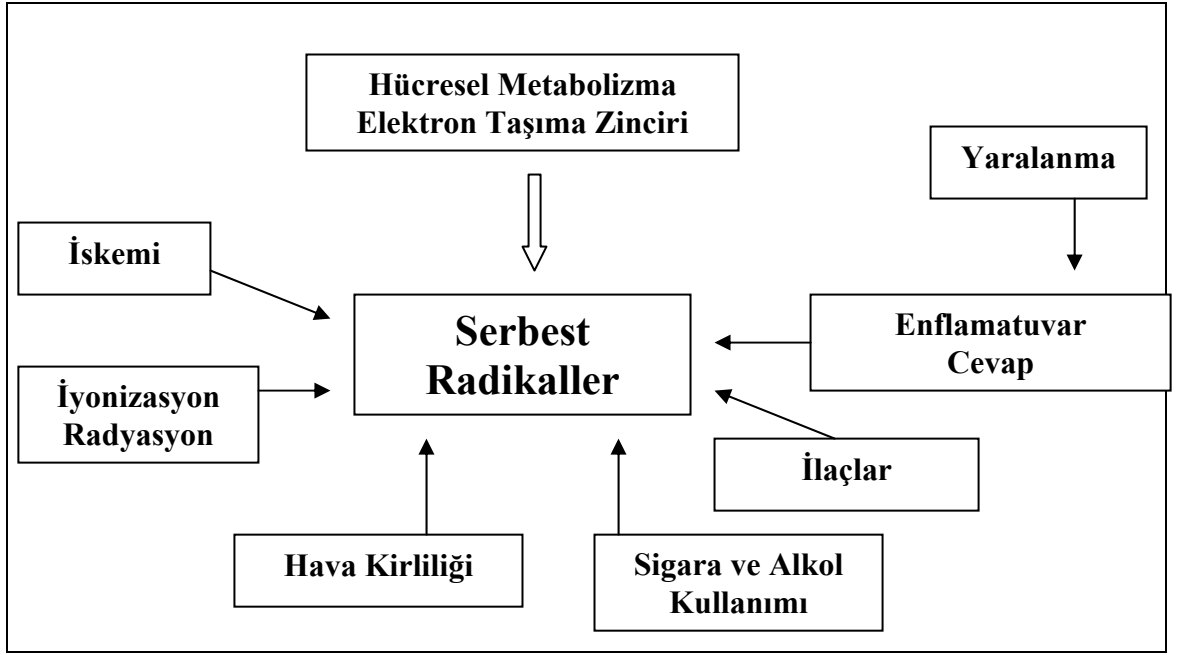
Bir çok hayvan ve bazı bitki dokularında endoplazmik retikulum başlıca sitokrom P-450 denilen sitokromları içerir. Bunlara P-450 denmesinin nedeni indirgenmiş sitokromların karbon monoksit ile bir kompleks oluşturması ve bu kompleksin 450 nm dalga

boyundaki ışığı absorbe etmesinden dolayıdır. Kimyasal ajanlardan serbest radikal oluşmasında en önemli mekanizma, ksenobiyotiklerin mikrozomal sitokrom P-450 sistemi ile aktivasyonudur. Bu sistem moleküllere bir elektron ilavesi ile veya molekülden bir atom çıkararak serbest radikal oluşturur. Son durumda elektrofilik bir bileşik meydana gelir. Oluşan bu elektrofilik ürün pek çok endojen makro molekülle (DNA, RNA ve enzimler v.b) kovalent bağlanarak toksisiteye yol açmaktadır (Eken 2003).

1.3.2.d. Araşidonik Asit Metabolizması

Poli-doymamış yağ asitlerinin, doymuş yağ asitlerine göre, hidrojen koparılmasıyla oluşan radikalın çift bağın konjugasyonu ile kararlı hale getirilmesi ve böylece de hidrojenin daha kolay koparılmasına sebep olmaları nedeniyle, otooksidasyona daha yatkın oldukları belirtilmektedir. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinaz aktivasyonuna ve plazma membranında araşidonik asit salınımına yol açar. Membran lipidlerinin yağ asitlerinden biri olan araşidonik asitin enzimatik oksidasyonu sonucu farklı serbest radikal ara ürünleri meydana gelmektedir (Halliwell and Gutteridge 1989; Eken 2003; Mavi 2005).

Serbest radikal kaynakları yukarıda belirtilenler kadar değildir. İskemi, hemoraji, travma ve radyoaktivite gibi durumlar, alışkanlık yapan maddelerin ve ilaçların kullanılması, uzun süreli metabolik hastalıklar, sıcak şoku, sigara ve alkol kullanımı, güneş ışınına maruz kalma ve yaşlanma sonucunda organizmada serbest radikaller oluşabilmektedir (Çavdar vd 1997). Serbest radikallerin kaynakları Şekil 1.14'te özetlenmiştir (Lachance *et al.* 2001; Willcox *et al.* 2004).



Şekil 1.14. Serbest Radikal Kaynakları (Özet)

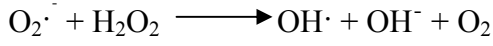
1.3.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Metabolitleri

Oksijenin iki eşleşmiş elektron bulundurması, onun serbest radikallerle, radikal olmayan diğer maddelere göre daha kolay reaksiyona girmesini sağlar. Bu sebeple biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Moleküler O_2 en son H_2O 'ya indirgenir ve bu reaksiyonlar esnasında kısmi redüksiyonla çok sayıda reaktif ürünler oluşabilir (Onat vd 2002; Alp 2005). Reaktif oksijen türleri ve kimyasal formülasyonları Çizelge 1.18'de verilmiştir (Halliwell 1996).

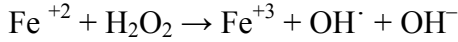
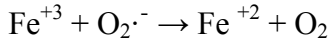
Çizelge 1.18. Reaktif oksijen türleri ve kimyasal formülleri

Reaktif Oksijen Türleri			
Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Süperoksit	$O_2^{\bullet -}$	Hidrojen Peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$OH^{\bullet}$	Singlet Oksijen	$\Delta_g^1O_2, \Sigma^1O_2$
Peroksil	$RO_2^{\bullet}$	Hipoklorik Asit	$HOCl$
Alkoksil	$RO^{\bullet}$	Hipobromik Asit	$HOBr$
Perhidroksi	$HO_2^{\bullet}$	Ozon	O_3

Oksijen molekülü, orbitalinde çiftlenmemiş elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır (Çavdar vd 1997). Bu radikal, H₂O₂ kaynağı olma ve geçiş metalleri iyonlarını indirgeme özelliklerinden dolayı oldukça önemlidir (Weiss and LoBuglio 1982). Süperoksit, 7.2'lik pH'da yaklaşık 3.8x10⁵ M/s sabitesinde süperoksit dismutaz enzimi ile daha stabil bir metabolit olan hidrojen peroksit'e dönüşmektedir. Süperoksit radikali bakır gibi geçiş metalleriyle reaksiyonlara kolaylıkla girmekte ve H₂O₂ ile Haber-Weiss tepkimesini vererek oldukça toksik olan hidroksil radikalının meydana getirmektedir.

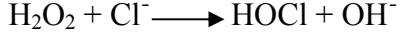


Demir iyonları varlığında ise Fenton tepkimesi gerçekleşmektedir.



Hem oksitleyici hem de redükleyici özelliğe sahip olan süperoksit radikali hidroksil radikaline göre daha az reaktiftir ancak teşekkül ettiği hücre bölümünden daha uzak yerlere kolaylıkla geçerek farklı radikallerin oluşmasına ve doku hasarına neden olabilmektedir (Haber and Weiss 1934; Del Maestro *et al.* 1980; Akkus 1995; Dünder ve Arslan 1999; Yıldırım 2003). Süperoksit radikali ayrıca hidroksil radikali ile de reaksiyona girerek singlet oksijeni meydana getirebilmektedir. Doğal biyolojik reaksiyonların bir sonucu olarak teşekkül eden singlet oksijen bir radikal olmamasına rağmen reaktif bir metabolittir (Cristophersen *et al.* 1991; Robinson 1998). Singlet oksijenin nasıl meydana geldiği konusunda farklı görüşler ortaya konmuştur. Long ve Bielski (1980), bu metabolitin HOCl ve O₂⁻ etkileşiminden oluştuğunu belirtirken, Harrison ve Schultz (1976), aşırı H₂O₂ varlığında kloridin oksidasyonu sonucu oluştuğunu rapor etmiştir.

Hipoklorik asitte radikal olmamasına karşın ROM içerisinde yer almaktadır. Nötrofiller sahip oldukları enzim (miyeloperoksidaz, MPO) aracılığıyla H₂O₂ molekülünü klorür iyonu ile birleştirerek antibakteriyel bir ajan olan HOCl'e dönüştürürler.



Bu metabolit tiyol gruplarını, amino asitleri ve nükleotidleri kolaylıkla oksitleyebilmektedir (Eken 2003).

ROM içerisinde yer alan perhidroksi ve peroksil radikallerinin lipidlerde çözünerek lipid peroksidasyonunu hızlandırdığı, alkoksil radikallerinin ise organik peroksitlerin yıkılması sonucu meydana geldiği kaydedilmiştir (Breimer 1991; Cheesman and Slater 1993; Thomas 1995; Arslan ve Dünder 2000). Ozon (O₃) bir radikal olmamasına rağmen çok sayıda organik molekülle reaksiyona girerek yeni radikal türlerinin oluşumuna ve lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedir. İnsan eritrositleri ozona maruz kaldığında membran enzimleri inaktif hale gelmiş ve protein agregatları teşekkül etmiştir. Ancak ozon tarafından ortaya konan lipid peroksidasyonunun mekanizması henüz aydınlatılamamıştır (Halliwell and Gutteridge 1989).

1.3.4. Reaktif Azot Türleri (Reactive Nitrogen Species, RNS)

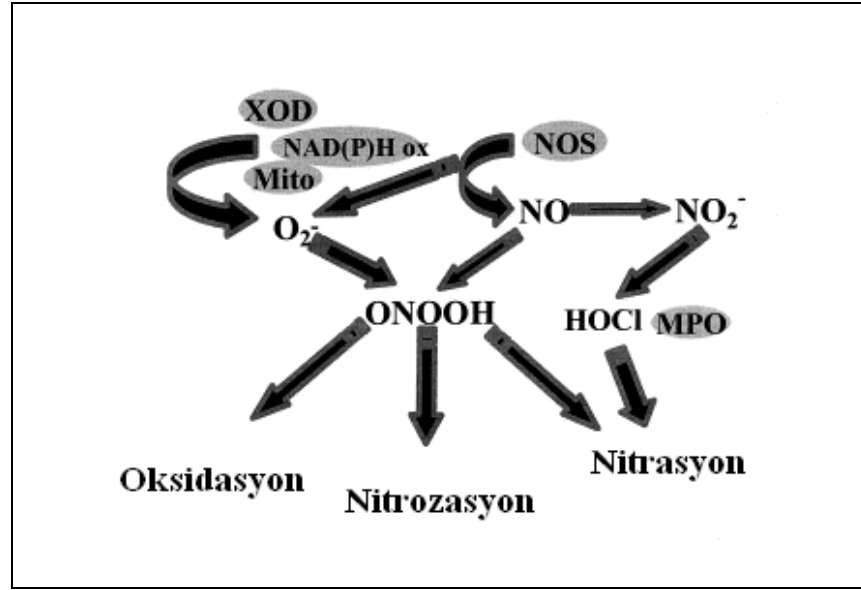
Serbest radikal biyokimyası üzerine son on yıldır yürütülen çok sayıda araştırma sonucunda reaktif azot türleri terimi biyoloji literatürüne kazandırılmıştır. Daha önce bahsedilen reaktif oksijen türlerinin yanı sıra vücudumuz içerisinde reaktif azot türleri de teşekkül etmektedir. Başlıca RNS türleri aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir (Halliwell 1996).

Çizelge 1.19. Reaktif azot türleri ve kimyasal formülleri

Reaktif Azot Türleri			
Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Nitrik oksit	$\text{NO}\cdot$	Nitröz asit	HNO_2
Azot dioksit	$\text{NO}_2\cdot$	Peroksi nitrit	ONOO^-
		Nitrozil katyonu	NO^+
		Nitrozil anyonu	NO^-
		Diazot trioksit	N_2O_3
		Diazot tetraoksit	N_2O_4
		Peroksinitröz asit	ONOOH
		Alkilperoksi nitrit	ROONO

$\text{NO}\cdot$, vasküler endotelde, fagositlerde ve beyin dokusunda üretilen “relaxin factor” olarak bilinen ve önemli fizyolojik fonksiyonları olan bir serbest radikaldir. Fakat bu radikalın fazlası toksik etkiler göstermektedir. Biyolojik sistemlerde bütün reaktif azot türlerinin temel kaynağı $\text{NO}\cdot$ ’tir (Patel *et al.* 1999; Alp 2005).

$\text{NO}\cdot$ ile $\text{O}_2\cdot^-$ radikali birleşerek reaktif bir tür olan peroksinitriti oluşturur. Bu oluşumdan sonra $\text{NO}\cdot$ ’in normal fizyolojik etkisi inhibe olur. Oluşan peroksinitrit NO veya NO_2 ilave ederek (nitrozasyon veya nitrasyon) biyolojik moleküllerin oksidasyonlarına yol açmaktadır. Ayrıca miyeloperoksidaz enziminin nitrasyon reaksiyonlarının oluşmasına neden olabileceği kaydedilmiştir. Nitrik oksit sentez (NOS) enziminin aktivasyonu sonucu $\text{NO}\cdot$ ile birlikte $\text{O}_2\cdot^-$ de oluşabilmektedir. Hücrelerde $\text{O}_2\cdot^-$ radikalının ksantin oksidaz (XOD) ve NAD(P)H oksidaz (mitokondrilerde) gibi başka potansiyel kaynakları da mevcuttur (Beckman *et al.* 1990; Huie and Padmaja 1993; Patel *et al.* 1999; Valko *et al.* 2006). Hücre haberleşme sistemlerini etkilemeleri ve NO vericilerini oluşturmaları nedenleriyle nitrasyon (örneğin nitrotirozin oluşumu) veya nitrozasyon (örneğin S-nitrozoglutatyon oluşumu) reaksiyonları biyolojik olarak oldukça önemli olan reaksiyonlar arasında yer almaktadır. RNS oluşumuna yol açan $\text{NO}\cdot$ bağımlı reaksiyonlar şekil 1.15’te gösterilmiştir (Patel *et al.* 1999).



Şekil 1.15. NO[•] bağımlı reaksiyonlar ve RNS'nin oluşumu

Peroksinitrit (ONOO⁻) düşük moleküler ağırlıklı ve tiyol bağlı proteinlerle reaksiyona girerek tiyol oksidasyonuna yol açmaktadır (Gatti *et al.* 1994). ONOO⁻ nedenli oksidatif hasarlara karşı asıl koruyucu rolü glutasyon üstlenmektedir (Karoui *et al.* 1996). Hidrofobik ortamda NO[•] ile oksijenin reaksiyon hızı 300 kat daha fazladır (Liu *et al.* 1998). Bunun doğal bir sonucu olarak ta lipid membranlarında diazot trioksit, diazot tetraoksit türleri ile azot dioksit radikali meydana gelmektedir (Wink *et al.* 1993). Nitrik oksitin yalnız başına lipid peroksidasyonuna yol açmadığı ancak azot dioksit radikalinin lipid oksidasyonunun başlamasına neden olduğu kaydedilmiştir (Rubbo *et al.* 1994). Bununla birlikte RNS'nin biyolojik etkileri konusunda bilinenlerin fazla olmadığı ve biyokimyasal açıdan daha çok ele alınması gerektiği vurgulanmıştır (Patel *et al.* 1999).

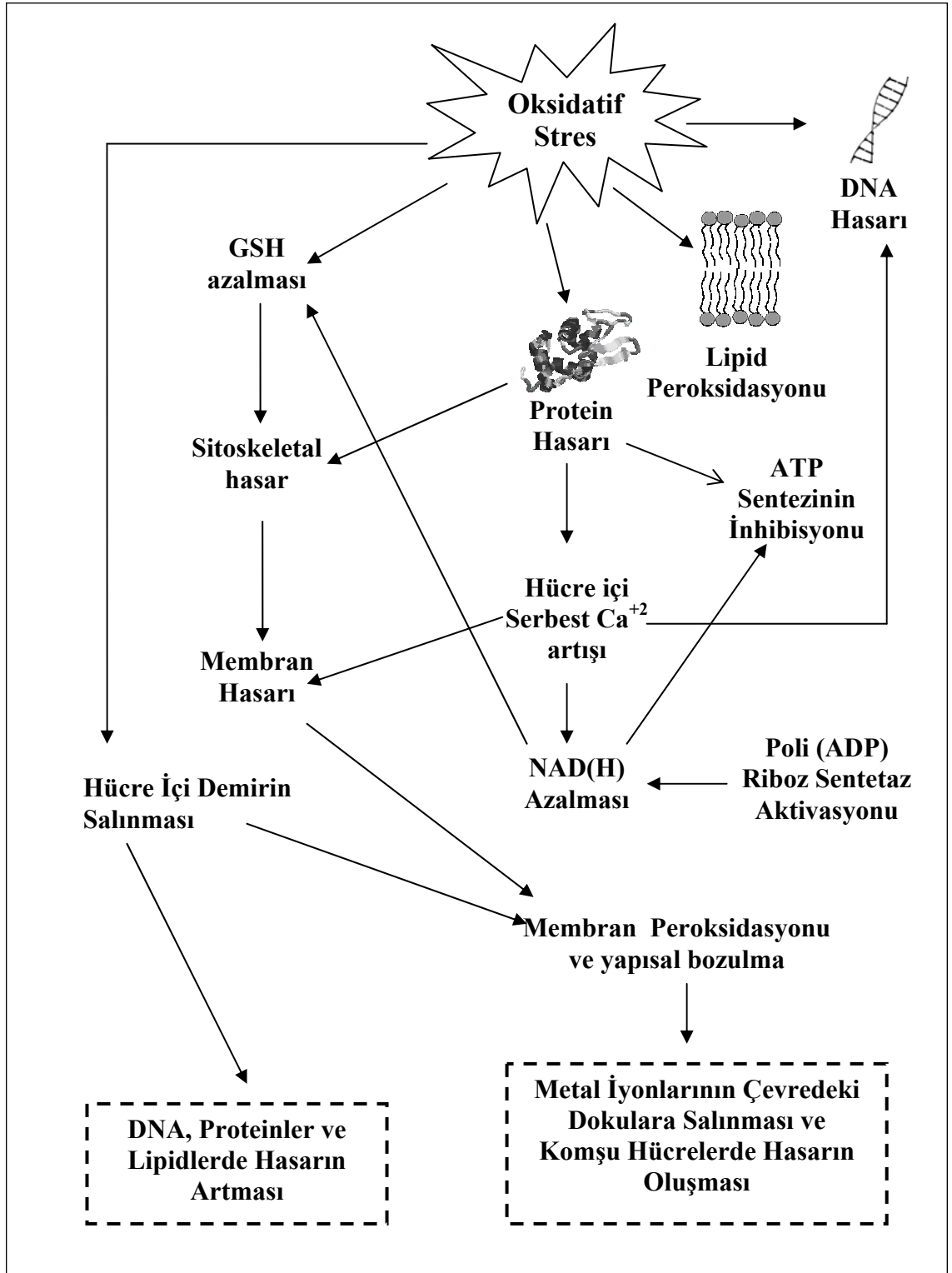
1.3.5. Metal-Oksidatif Stres İlişkisi

Metallerin biyolojik sistemlerde toksik etkilerini ortaya koyarken reaktif oksijen ve azot türlerini meydana getirdiği çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur. Metallerin varlığında meydana gelen serbest radikaller DNA bazlarında modifikasyonlara, lipid

peroksidasyonunun hızlanmasına ve kalsiyum ile sülfidril homeostasilerinde değişimlere neden olabilmektedir (Chen *et al.* 2001; Leonard *et al.* 2004). İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar organizmada yüksek demir varlığının kanserin yanı sıra bazı vasküler ve nörolojik hastalıkların oluşma riskini artırdığını ortaya koymuştur (Siah *et al.* 2005). Demir (Fe) metalinin varlığında oluşan serbest radikallerin DNA hasarına yol açtığı ve bunun sonucunda da kanserin geliştiği rapor edilmiştir (Ullen *et al.* 1997). Demire benzer şekilde bakırında pro-oksidan özellikte olduğu ve lipid peroksidasyonu reaksiyonlarına katılabildiği kaydedilmiştir (Wu *et al.* 2004). Krom'un (Cr) farklı değerlikli (III ve V) bileşiklerinin hücre membranlarından kolayca geçerek serbest radikalleri meydana getirebileceği rapor edilmiştir (Liu and Shi 2001). Kasprazk (2002), Cr (V) bileşiklerinin fenton reaksiyonları yoluyla DNA hasarına yol açan bir hidroksil radikali oluşturabileceğini ortaya koymuştur. Hanna vd (1992), *in vitro* şartlarda kobalt (Co) bileşiklerinin de serbest radikal oluşumuna neden olduklarını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Nackerdien vd (1991) *in vivo* şartlarda Co (II)'ın Fenton reaksiyonu yoluyla radikaller oluşturarak oksidatif DNA hasarına yol açtığını gözlemlemişlerdir. Fe, Cu, Cr ve Co metallerinin yanı sıra vanadyum (V) (Evangelou 2002, Crans *et al.* 2004), kadmiyum (Cd) (Casalino *et al.* 1997; Galan *et al.* 2001), arsenik (As) (Yamanaka *et al.* 2001; Kamat *et al.* 2005) ve nikel (Ni) (Candan 2002) bileşiklerinin de serbest radikal oluşumunda etkili olarak oksidatif strese yol açtıkları kaydedilmiştir.

1.3.6. Serbest Radikallerin Hasar Verici Reaksiyonları

Reaktif oksijen ve azot türleri pek çok hücresel yapıyı etkileyerek hücre hasarlarına yol açmaktadırlar. Serbest radikallerin hücresel hedefleri Şekil 1.16'da özetlenmiştir (Aruoma 1998; Mavi 2006).



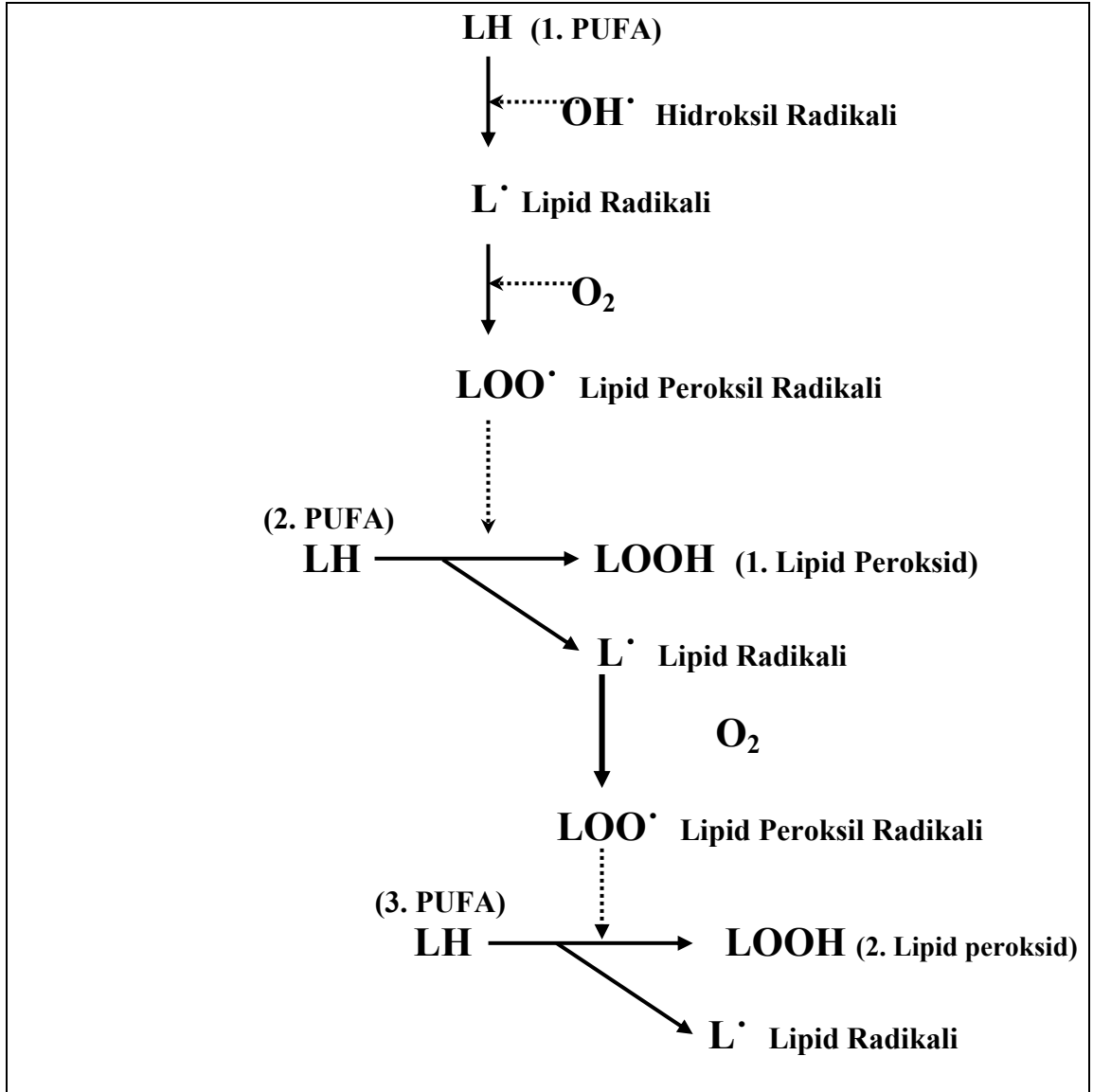
Şekil 1. 16. Oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarları

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak seviyede meydana geldikleri zaman organizmada farklı hasarlara yol açmaktadırlar. Biyomoleküllerin hemen tamamı (lipidler, proteinler, karbohidratlar, nükleik asitler, enzimler v.b) bu radikallerden etkilenmektedir. Fakat biyomoleküller arasında en kolay etkilenen bileşikler lipidlerdir.

1.3.6.a. Membran Lipidlerine Etkileri

Hücre membranları radikaller tarafından kolaylıkla etkilenen poliansature yağ asitleri (PUFAs) bakımından zengindir. Lipid peroksidasyonu olarak bilinen PUFAs'nin oksidatif yolla yıkımı kendi kendini devam ettiren zincir şeklinde ilerlediği için oldukça hasar vericidir. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Candan 2002; Lambeth 2004; Mavi 2006).

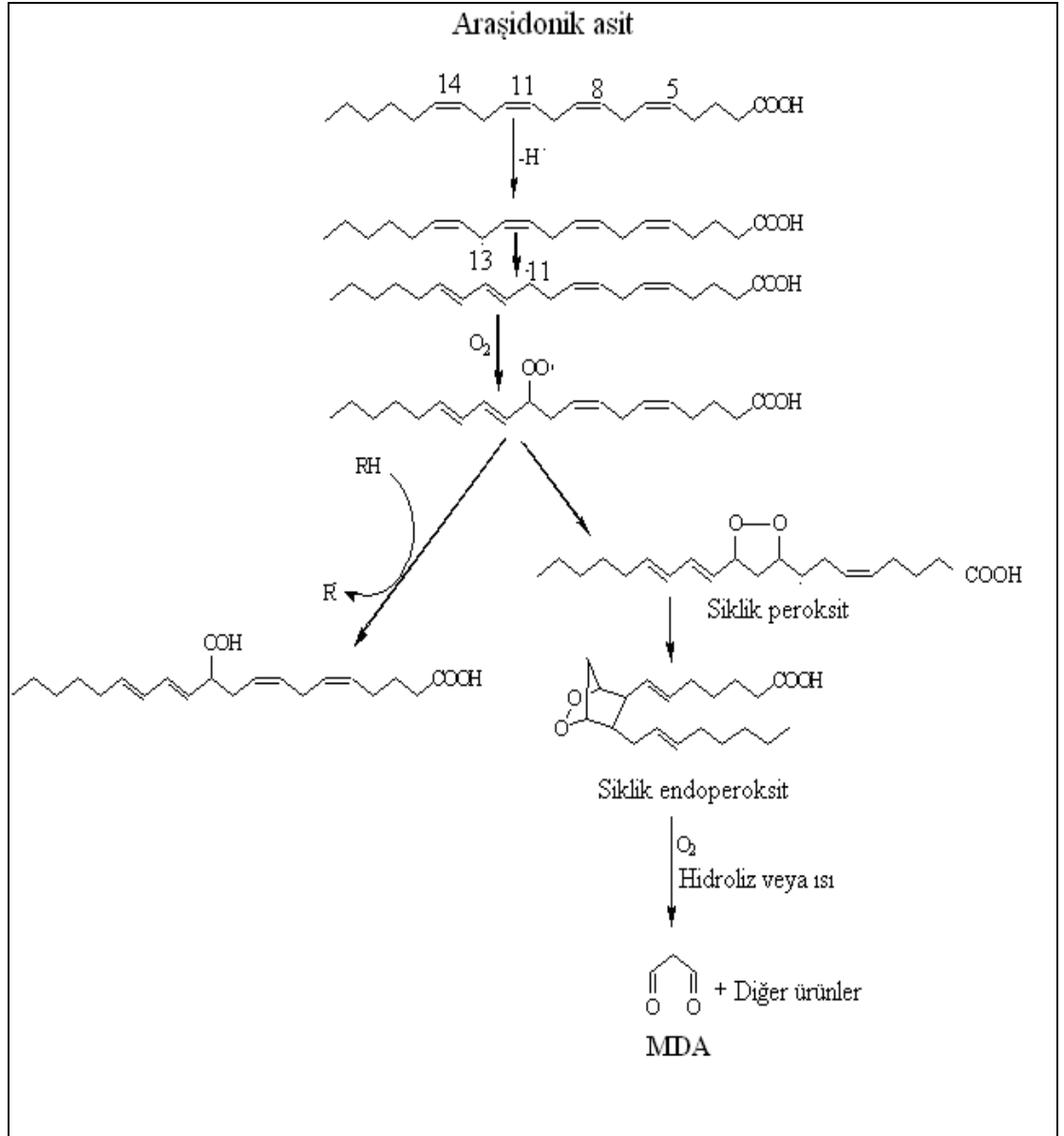
Membran lipidlerinin yapısını oluşturan başlıca yağ asitleri palmitik asit, stearik asit, linoleik asit, araşidonik asit, gliserol, sfingozin ve inozitol'dur (Halliwell and Gutteridge 1989). Yağ asitleri ile birleşen radikal öncelikle bir dizi reaksiyonun başlamasına neden olmaktadır. İlk olarak yağ asidi radikalının oksijenle birleşmesi sonucu lipid peroksid radikali ($ROO\cdot$) meydana gelmektedir. Lipid peroksid radikalleri yağ asitleriyle reaksiyona girerek hidroperoksitleri oluşturmaktadır. Bu peroksit ürünlerinden ortamdaki metal iyonlarının (Fe ve Cu gibi) katalizörlüğünde **malondialdehid (MDA)**'lerin de içinde bulunduğu aldehytler ile etan ve pentan gibi hidrokarbon yapıda yıkım ürünleri elde edilmektedir (Onat *et al.* 2002; Eken 2003). Lipid peroksidasyonunun aşamaları Şekil 1.17'de gösterilmektedir (Alessio 2000; Willcox *et al.* 2004).



Şekil 1.17. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu

Lipid peroksidasyonu sonucu membran geçirgenliğinin artması ile membran enzimlerinin aktivitesi azalmakta ve hücreye Ca^{+2} girişi artmaktadır. Buna bağlı olarak fosfolipaz aktivitesi artarak fosfolipid kaybına neden olmaktadır. Membran geçirgenliğindeki bu değişikliğe ve potansiyel kaybına bağlı olarak toksik etkilerde artış, proteolitik etkide şiddetlenme, katabolik enzim aktivitesinde artış ve DNA hasarları gibi olumsuz durumlar ortaya çıkmaktadır. Lipidlerden araşidonik asit metabolizması neticesinde serbest radikal üretimine enzimatik lipid peroksidasyonu,

diğer radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna ise enzimatik olmayan (non-enzimatik) lipid peroksidasyonu denmektedir. Araşidonik asitin oksidasyonu (otooksidasyonu) için önerilen model mekanizma Şekil 1.18’de gösterilmiştir (Halliwell and Gutteridge 1989).



Şekil 1.18. Araşidonik asit otooksidasyon mekanizması (Halliwell and Gutteridge 1989).

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA ve aldehid yapıdaki diğer ürünlerin (formaldehid ve asetaldehid gibi) mutajenik ve karsinojenik etkileri olduğu rapor

edilmiştir (Esterbauer *et al.* 1991, Chaudhary *et al.* 1994). Peroksidasyonla oluşan MDA membran bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olarak deformasyonlara neden olmaktadır. Ayrıca bu ürün iyon taşınması, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyi bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirdiği bilinmektedir. Bu etkileri sebebiyle MDA'nın mutajenik ve karsinojenik olduğu düşünülmektedir. MDA seviyelerinin ölçülmesi lipid peroksidasyonlarının tesbitinde sıklıkla kullanılmakta ve peroksidasyon derecesiyle iyi korelasyon göstermektedir (Candan 2002).

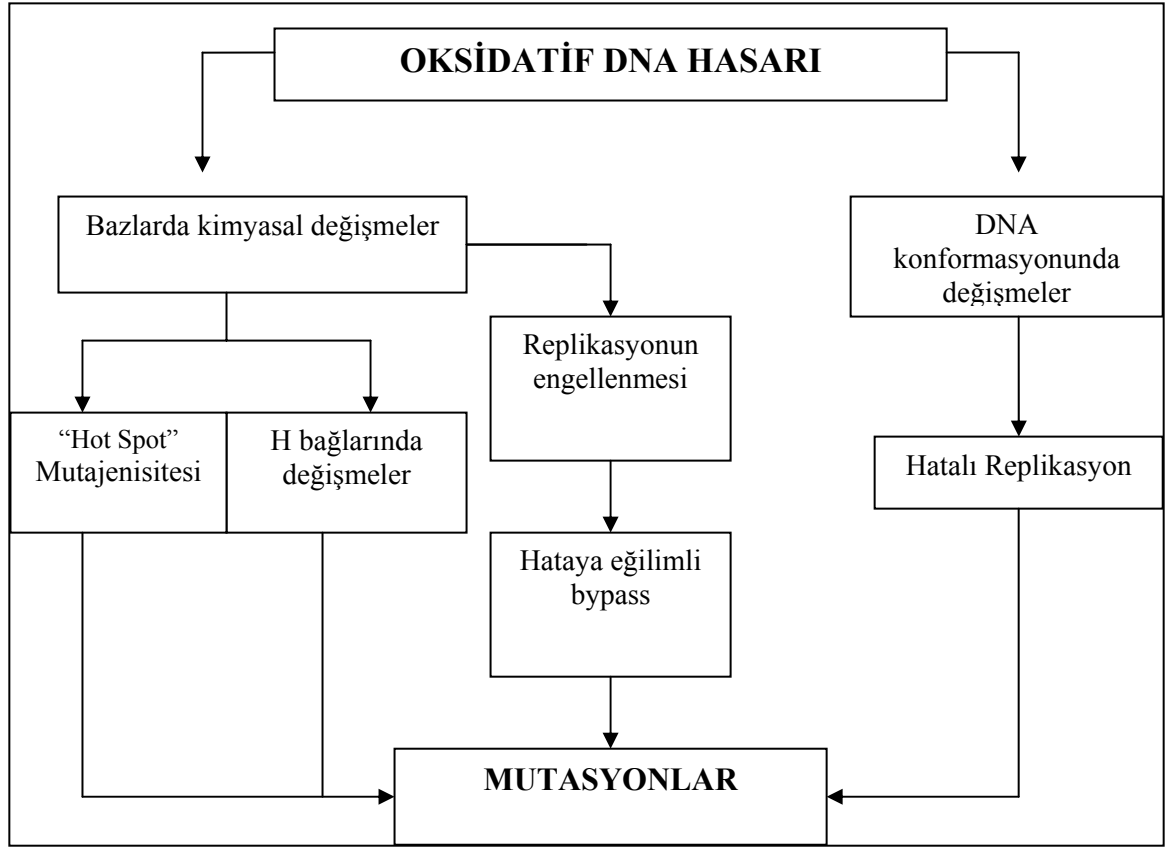
1.3.6.b. Proteinlere ve Karbonhidratlara Etkileri

Proteinlerde serbest radikallere, aldehidlere ve diğer peroksidasyon ürünlerine karşı oldukça duyarlıdır. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme derecesi amino asit içeriklerine, amino asitlerin yapılarındaki kompozisyonlarına ve oluşan hasarın onarılabilişliğine göre değişmektedir. Sülfür içeren moleküllerin bu radikallerle reaktivitelerinin yüksek olması nedeniyle triptofan, sistein, tirozin, fenil alanin, metiyonin ve histidin amino asitlerini bulunduran proteinler daha kolay etkilenmektedir. Sonuçta sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelerek IgG ve albumin gibi pek çok disülfür bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapısını bozarlar ve bu proteinler artık normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hemo proteinlerde serbest radikallerden olumsuz etkilenirler. H₂O₂ hemoglobinin degradasyonuna neden olarak serbest demir iyonunun oluşmasına ve sonuçta OH teşekkülüne neden olmaktadır.

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H₂O₂, peroksitler ve okzoaldehidler meydana gelmektedir. Bunların pek çok kronik hastalığın patojenezinde etkin rol aldıkları düşünülmektedir. Okzoaldehidler nükleik asitlere ve proteinlere bağlanarak kanser gelişimi ve yaşlanma sürecinde önemli rol oynamaktadır (Halliwell and Gutteridge 1989; Yıldırım 2003).

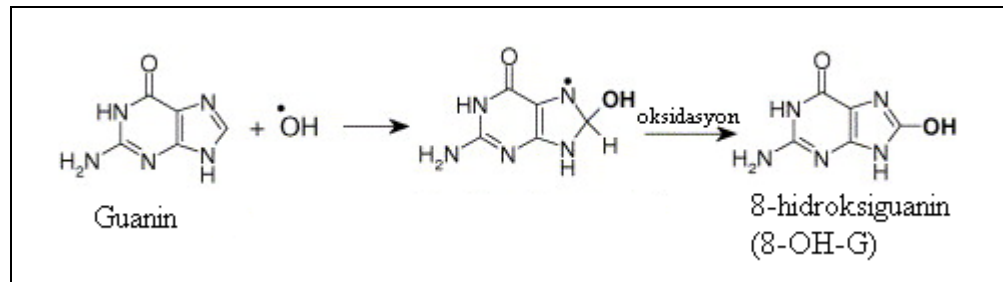
1.3.6.c. DNA Üzerine Etkileri

Bir insan hücresinin günde yaklaşık 1.5×10^{15} defa serbest radikallerce düzenlenen oksidatif saldırıya maruz kaldığı tahmin edilmektedir (Beckman and Ames 1997). Hidroksil radikalının DNA molekülünün tüm bileşenleriyle reaksiyona girdiği ve hem pürin hemde pirimidin bazları ile deoksiriboz iskeletinde hasarlara neden olduğu bilinmektedir (Dizdaroğlu *et al.* 2002). Oksidatif stres sonucu genetik materyalde oluşan bu kalıcı değişimlerin mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmada ilk basamaklar olduğu rapor edilmiştir. Çeşitli kanser dokularında serbest radikal maruziyeti sonucu oluşmuş DNA hasarları gözlenmiştir. DNA'nın oksidasyonu sonucu oluşmuş olan 100'den fazla ürün tespit edilmiştir. Reaktif oksijen metabolitleri DNA'da tek veya çift zincir kırıklarına, pürin, pirimidin bazlarında ve deoksiriboz şekerde modifikasyonlara ve zincirler arasında çapraz bağlanmalara neden olarak genetik hasar oluşturmaktadır. Genetik hasar sonucu, genomik kararsızlık, replikasyon hataları, transkripsiyon ve haberleşme mekanizmalarında aksamalar gibi kanser oluşumu ile ilgili olan pek çok durum ortaya çıkabilmektedir (Marnett 2000; Cooke *et al.* 2003). DNA'daki yapısal değişimlerin hangi yollarla mutasyonlara neden olduğu aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Willcox *et al.* 2004).



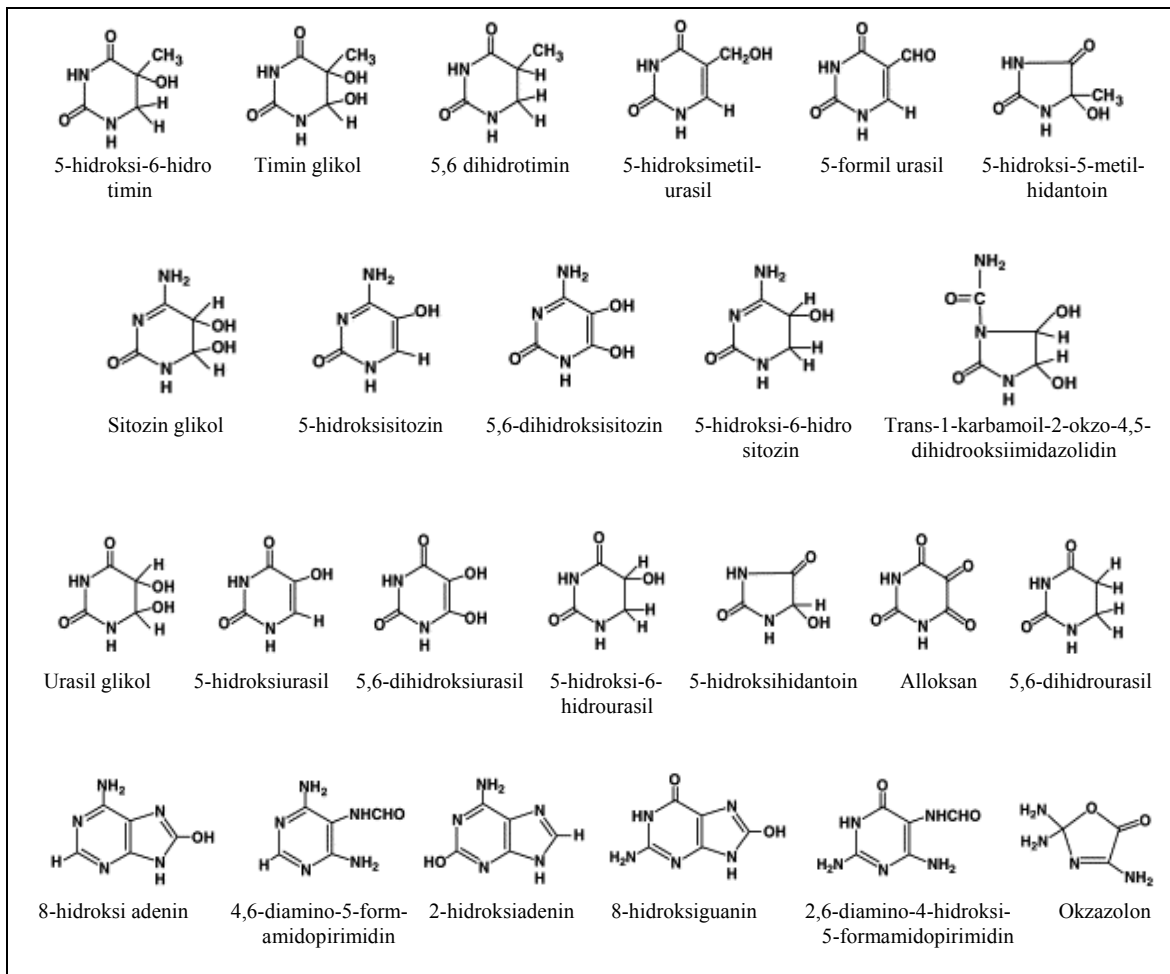
Şekil 1.19. Oksidatif stres ve mutasyonların oluşumu

Bir oksidize DNA ürünü olan 8-hidroksiguanin (8-OH-G) mutajenez ve karsinogenez ile ilgili olması bakımından oldukça önemlidir. İnsan idrarında 8-OH-G varlığı ilk kez Ames vd (1989) tarafından ortaya konmuştur (Shigenaga *et al.* 1989). 8-OH-G karsinogenezin potansiyel bir biyomarkırı olmasının yanısıra organizmadaki oksidatif stresin iyi bir göstergesidir. 8-OH-G'in oluşumu Şekil 1.20'de gösterilmiştir (Valko *et al.* 2006).

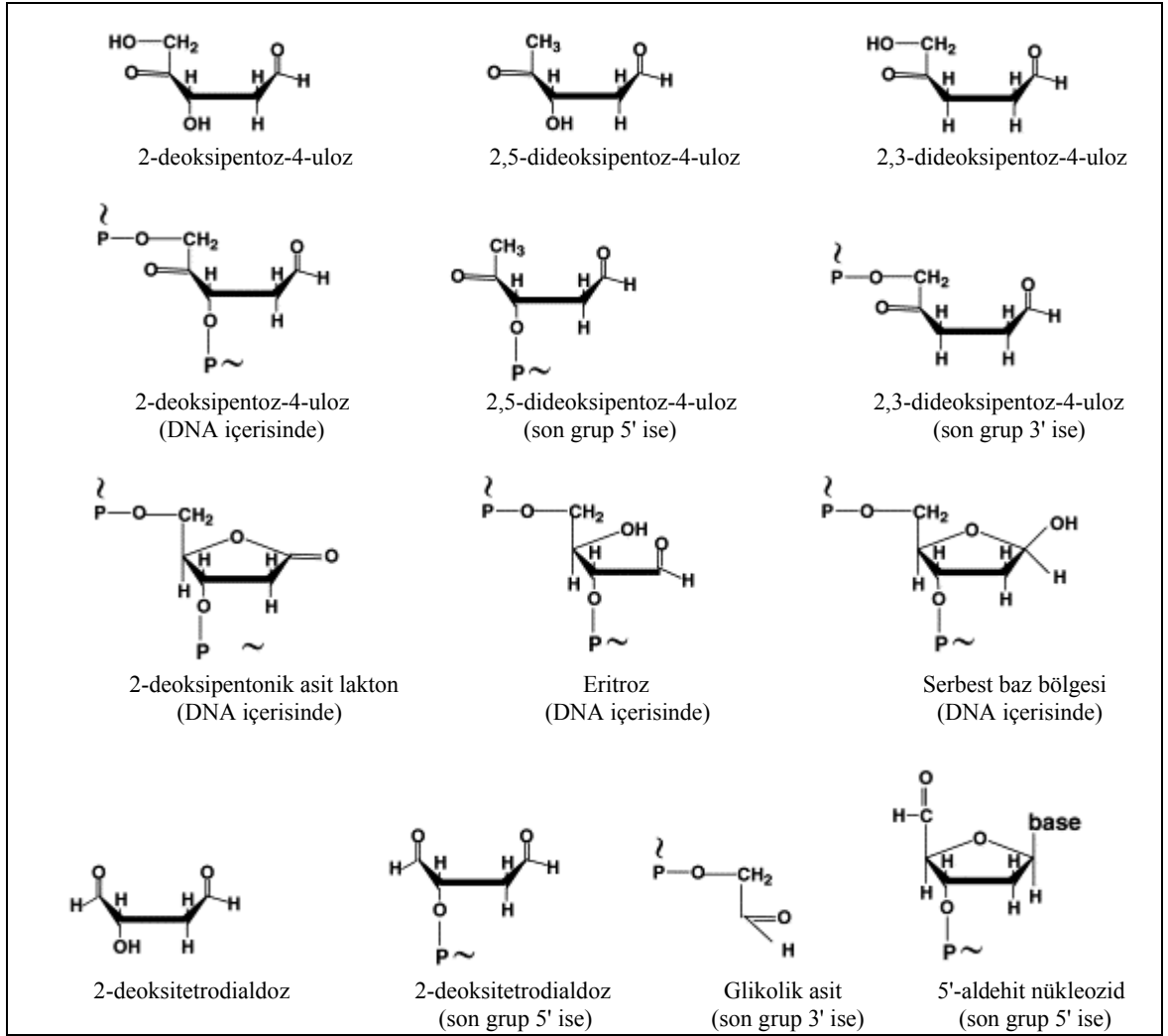


Şekil 1. 20. Guanin bazının hidroksil radikali ile reaksiyonu ve 8-OH-G oluşumu

ROM'nin yanı sıra peroksinitrit, azot dioksit, diazot trioksit ve diazot tetraoksit gibi RNS'de DNA hasarına neden olmaktadır (Brown and Borutaite 2001, Xu *et al.* 2002). Yukarıdaki reaksiyonun bir benzeri olarak, guanin ile peroksinitrit etkileşimi sonucu 8-nitroguanin oluşmakta ve bu reaksiyon sonucunda G : C → T : A transversiyonları meydana gelmektedir. Ancak 8-nitroguanin ile kanser oluşumu arasındaki muhtemel ilişki henüz anlaşılamamıştır. Oksidatif DNA hasarı sonucu oluşan önemli oksidasyon ürünleri şekil 1.21 ve 1.22'de gösterilmiştir (Wallace 2002; Evans *et al.* 2004).



Şekil 1.21. Oksidatif hasar sonucu DNA bazlarından oluşan başlıca ürünler



Şekil 1.22. DNA'nın şeker ucundaki oksidatif hasar sonucu oluşan başlıca ürünler

Serbest radikaller ile nükleer DNA hasarı arasındaki ilişki yoğun olarak çalışılmış olmakla birlikte bu radikallerin mitokondriyal DNA'da da hasara yol açtığı rapor edilmiştir (Inoue *et al.* 2003).

İnsanlardaki pek çok kanser vakalarında mitokondriyal genlerin ekspresyonlarında farklılıklar ve mutasyonlar tespit edilmiştir. Inoue ve arkadaşları (2003) mitokondriyal DNA'nın nükleer DNA'ya kıyasla oksidasyona daha duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. Bu durumun nedenlerini; fizyolojik şartlar doğrultusunda mitokondrilerin

tüketilen oksijenin % 5'ini süperoksit anyonuna sonra hidrojen peroksit'e dönüştürmesi, mitokondriyal DNA tamir kapasitesinin sınırlı olması ve mitokondriyal DNA'nın histon proteinleri tarafından korunuyor olmaması ile açıklamışlardır.

1.3.7. Oksidatif DNA Hasarının Hastalıklardaki Rolü

Mutasyonlar ile ilişkisi dikkate alındığında etiyolojisinde oksidatif DNA hasarının rol aldığı en önemli hastalık kanserdir. Kanser oluşumu oldukça kompleks ve çok basamaklı bir süreç olup en basit halde başlama, ilerleme ve tümör konversiyonu (progresyon) olmak üzere üç safhada açıklanmaktadır. Bu süreçte DNA mutasyonlarının, proto-onkogen aktivasyonlarının ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonlarının da rol oynadığı ancak oksidatif mekanizmaların bu sürecin her adımında etkin roller üstlendiği açıkça ortaya konmuştur (Guyton and Kensler 1993).

Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar kanser oluşumunda serbest radikallerin ve diğer reaktif metabolitlerin çok etkili olduğu görüşünü desteklemektedir. Nitekim, DNA'nın özellikle de guanin bazı içeren bölgelerinin bu reaktif metabolitlerin hedefleri olduğu ve bu bölgelerde yer alan ras ve p53 tümör baskılayıcı genlerde mutasyonlara yol açtıkları rapor edilmiştir. Akciğer ve böbrek kanser vakalarında p53 ve ras tümör baskılayıcı genlerinde G : C → T : A transversiyonları gözlenmiştir (Bos 1998; Giese 2000; Kawanishi *et al.* 2001). Buna karşın, Feig vd. (1994), reaktif metabolitlerin neden olduğu mutasyonların CC → TT transversiyonları olduğunu rapor etmişlerdir. Yine yapılan araştırmalar ile genomdaki 8-OH-G düzeyi ile kanser oluşumu arasında tam bir korelasyonun bulunmadığı ancak tümörlerdeki seviyelerinin yüksek olduğunu ortaya konmuştur. Oksidasyon sonucu DNA'da gözlenen modifikasyonlar sadece baz ve şeker seviyesinde kalmayıp, kromozomlar seviyesinde de meydana gelebilmektedir.

Bu konuda yapılmış olan araştırmalar özetle kanser oluşumu sürecinin başlama safhasında oksidatif DNA hasarının en önemli etken olduğunu ortaya koymaktadır. Bazı kanser türlerinde rapor edilmiş olan oksidatif DNA hasarı ölçümleri Çizelge 1.20’de verilmiştir (Evans *et al.* 2004).

Çizelge 1.20. Bazı kanser hastalıklarında rapor edilmiş olan DNA hasarı ölçümleri

Kanser durumları	Gözlemler (Tüm çalışmalar insanlarda yapılmıştır)
Akut lenfoblastik lösemi	Lenfosit DNA’larında 8-OH-G, 8-OH-Ade, 5-OH-Cyt, 5-OH-5-MeHyd ve 5-OH-Hyd miktarlarında yükselme
Beyin, akciğer, kolon ve ovaryum kanserleri	Kanserli hastaların üriner 8-OH-G ve diğer lezyonların seviyelerinde önemli yükselmeler
Göğüs kanseri	8-OH-G seviyesinin konrollere oranla yüksek olması
Bağırsak kanseri	Lenfosit 8-OH-G seviyesi ile hastaların ölüm oranları arasında yüksek korelasyonun ($r=0,91$) bulunması
Mide kanseri	Atrofik gastrit ve <i>Helicobacter pylori</i> ile enfekte olmuş dokuların DNA’larında 8-OH-G seviyelerinin yüksek olması
Jinekolojik kanserler	Kanserli hastaların üriner 8-OH-G seviyelerinin konrollere göre yüksek olması
Laringeal kanser	DNA’daki 8-OH-G ve 8-OH-Ade seviyelerinin tümörler ve normal dokularda farklı olmaması
Akciğer kanseri	Hastaların DNA’larındaki 8-OH-G seviyelerinin kontrol bireylerine oranla yüksek olması
Böbrek kanseri	Kanserli ve kanserli olmayan dokulardaki 8-OH-G seviyelerinin önemli derecede farklı olması

1.3.8. Kanser Dışındaki Patolojik Durumlarda Oksidatif Stresin ve Oksidatif DNA Hasarlarının Önemi

Alzheimer, Huntington ve Parkinson hastalıkları nörodejeneratif vakalar olup çevresel nörotoksinlere kronik maruziyet sonucu meydana gelmektedir. Bu hastalıkların patojenezinde tamamen oksidatif stres etkili olmaktadır. Lovell vd (1998), belirtilen bu nörodejeneratif hastalıklarda oksidatif DNA hasarı seviyelerinin yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Buna karşın Koppele vd (1996) ile Alam vd (2000), bu hastalıklarda oksidatif DNA hasarının etkili olmadığını kaydetmişlerdir. Kardiyovasküler hastalıklar ile oksidatif stres arasındaki ilişki kesin olmamakla birlikte ateroskleroz, koroner kalp hastalıkları, hipertansiyon, kalp yetmezliği, kardiyomiyopati ve kalp krizi gibi hastalıklarda oksidatif stresin etkili olduğu rapor edilmiştir (Holvoet *et al.* 1995). Yine deneysel ve klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre hem Tip 1 hem de Tip 2 diyabet hastalıklarının patojenezinde oksidatif stres önemli roller üstlenmektedir (Maritim *et al.* 2003). Hughes (1999), serbest radikallerin fizyolojik seviyelerde hücrel bağışıklıkta esansiyel bileşenler olduğunu ancak yüksek seviyelerde immun fonksiyonu olumsuz etkileyebileceğini kaydetmiştir. Benzer şekilde, Douziech vd (2002), oksidatif stres altında lenfositlerin immünolojik değişimlere karşı duyarlılığının azaldığını rapor etmişlerdir. Roberford ve Calderon (1995), AIDS hastalarının lenfositlerinde glutatyon seviyesinin düşük olduğunu, bunun da hastaları oksidatif strese daha duyarlı kıldığını rapor etmişlerdir. Prematüre bebeklerde ROM'nin yükselmesi sonucu körlüğe yol açabilen retinopatinin olduğu gözlenmiştir. Yine katarakt hastalığının oluşumunda da bu metabolitlerin etkili olduğu kaydedilmiştir (Halliwell and Gutteridge 1989). Yaşlanma süreci ile yükselmiş oksidatif stres arasında yakın bir ilişkinin olduğu bilinmektedir. Harman (1956), önerdiği teorisinde (Free radical theory of ageing) yaşlanmanın biyomoleküllerde serbest radikal hasarlarının birikerek artması sonucunda meydana geldiğini ve yaşlanma ile antioksidan savunmanın da azaldığını öne sürmüştür. Bu teoriyi destekler nitelikte, Hamilton vd (2001), nükleer ve mitokondriyal DNA'da 8-OH-G seviyelerinde yaşa bağlı artışların olduğunu kaydetmişlerdir. Kanseri dışındaki bazı hastalıklarda rapor edilmiş olan DNA hasarı ölçümleri Çizelge 1.21'de gösterilmiştir (Evans *et al.* 2004).

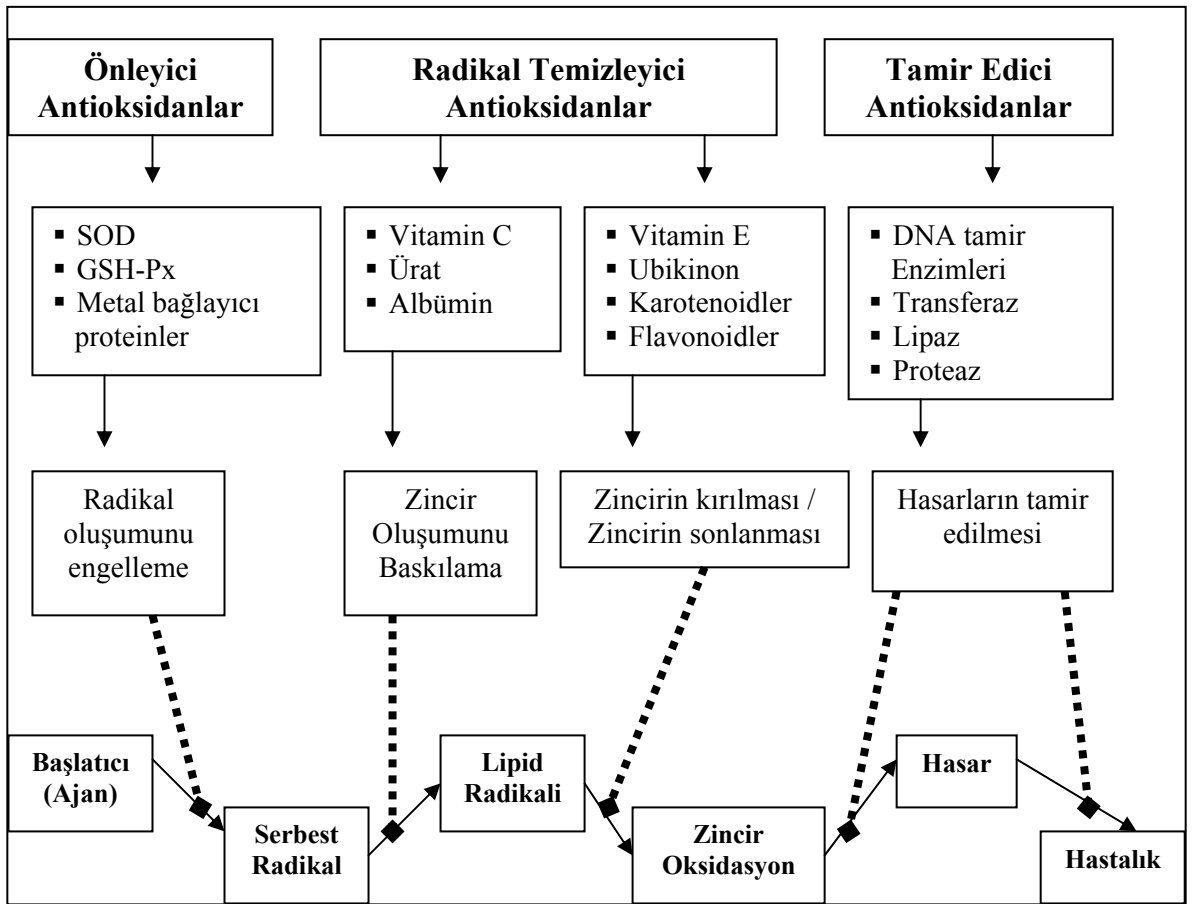
Çizelge 1.21. Bazı patolojik durumlarda rapor edilmiş olan DNA hasarı ölçümleri

Patolojik Durumlar		Gözlemler (Tüm çalışmalar insanlarda yapılmıştır)
Sinir sistemi		
	Parkinson hastalığı	Hastaların beyin 8-OH-G seviyesinin yükselmesi
	Alzheimer hastalığı	Hasta bireylerin korteks ve serebellumlarındaki 8-OH-G seviyelerinin yüksek olması
	Huntington hastalığı	Hasta bireylerin beyin 8-OH-Gua, 8-OH-Ade ve 2-OH-Ade seviyeleri ile kontrol grupları arasında farklılıkların bulunması
Kardiyovasküler hastalıklar	Koroner kalp hastalıkları, ateroskleroz	Prematüre koroner kalp hastalıkları ile lenfosit 8-OH-G seviyesi arasında yüksek korelasyonun ($r=0,95$) olması, ayrıca ateroskleroz hastalarının lenfosit DNA'larında 8-OH-G seviyesinde yükselme
Karaciğer	Wilson hastalığı	8-OH-G seviyesinin kontrol bireylere kıyasla hastalarda yüksek olmaması
Akciğer	Sistik fibrozis	Kontrollere oranla hasta bireylerde üriner 8-OH-G seviyelerinin yüksek olması
Kas	Kas distrofisi	Hasta bireylerde üriner 8-OH-G seviyelerinin yüksek olması
Deri	Atopik dermatit	Kontrol bireylere kıyasla atopik dermatitli hastaların üriner 8-OH-G düzeyinin yüksek olması
Mide	<i>H. pylori</i> enfeksiyonu Kronik atrofik gastrit Metaplazia	İlgili dokularda 8-OH-G seviyelerinin yükselmiş olması
Genetik hastalıklar	Down sendromu	Nükleer DNA 8-OH-G düzeyinin kontrollerden yüksek olması
	Fankoni anemisi	Homozigot anemi hastalarında lökosit 8-OH-G seviyelerinin kontrol bireyelerine oranla yüksek olması

1.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarları sınırlandırmak için biyolojik sistemlerde çeşitli antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir (Yıldırım 2003). Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir (Çavdar vd 1997). Antioksidan

etki farklı şekillerde olabilmektedir (Şekil 1.23). Oluşmuş serbest radikalleri tutma yada çok daha zayıf olan yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki”, serbest radikallerle etkileşip onlara bir H^+ aktararak etkilerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme işlemine “baskılayıcı etki”, serbest radikalleri kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kıran etkiye “zincir kırıcı etki” ve diğer bir antioksidan savunma sistemi olan tamir işlemine de “onarıcı etki” denmektedir (Akkuş 1995; Yıldırım 2003).



Şekil 1.23. Antioksidan gruplar ve etkileri (Willcox *et al.* 2004) (kesikli çizgiler baskılanmayı göstermektedir)

İyi bir antioksidanda bulunması gereken özellikler;

- ortamdaki serbest radikalleri gidermeli,
- redoks metallerinin şelatörü olarak görev yapabilmeli,
- antioksidan sistemdeki diğer antioksidanlarla etkileşimler yapabilmeli,

gen ekspresyonu üzerinde olumlu etkileri olmalı,
emilimi oldukça hızlı olmalı,
dokulardaki ve biyolojik sıvılardaki konsantrasyonları fizyolojik açıdan uygun
seviyelerde olmalı
hem membranlarda hem de su içeren ortamlarda fonksiyonel olmalıdır (Valko *et al.*
2006).

Antioksidanlar endojen kaynaklı ve ekzojen kaynaklı olanlar şeklinde
gruplandırılabilirler (Çizelge 1.22) (Halliwell and Gutteridge 1989; Candan 2002; Eken
2003; Devasagayam *et al.* 2004; Willcox *et al.* 2004; Alp 2005; Mavi 2006; Valko *et al.*
2006).

Çizelge 1.22. Antioksidanların gruplandırılması

Endojen Antioksidanlar			Ekzojen Antioksidanlar	
Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar		Doğal Antioksidanlar	Doğal Olmayan (Sentetik) Antioksidanlar
Süperoksit dismutaz (SOD)	Lipid fazda bulunanlar		Vitamin A	Bütil hidroksi tolüen (BHT)
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	α - tokoferol	β -karoten	β -karoten	Bütil hidroksi anizol (BHA)
Katalaz (CAT)			Vitamin C	Tert-bütil hidrokinon (TBHQ)
Glutasyon-S-transferaz (GST)			Vitamin E	Propil galat
Glutasyon redüktaz (GR)			Flavonoidler	Oktil galat
Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G-6-PDH)	Sıvı fazda bulunanlar		Diğer fenolik bileşikler	Dodesil galat
Mitokondrial sitokrom oksidaz	Glutasyon	albumin		Sodyum benzoat
Hidroperoksidaz	Askorbik asit	hemoglobin		Etoksikin
Epoksit hidrolaz	Melatonin	miyoglobin		Troloks
NADPH-kinon oksidoredüktaz	sistein	ferritin		3-oksi piridin
UDP-glukuronil transferaz	metiyonin	seruloplazmin		Antabuse
Sülfonil transferaz	transferrin	ürat		Diğer sentetik antioksidanlar
İzositrat dehidrojenaz	laktoferrin	bilirubin		

1.4.1. Endojen Antioksidanlar

1.4.1.a. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD, E.C. 1.15.1.1)

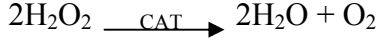
İlk defa 1968 yılında McCord ve Fridovic adlı araştırmacılar tarafından eritrositlerden izole edilen ve bütün aerobik hücrelerde bulunan bu metallo-enzim süperoksit radikalini katalitik olarak ortadan kaldırdığı için fonksiyonuna uygun olarak süperoksit dismutaz olarak adlandırılmıştır (Halliwell and Gutteridge 1989). SOD süperoksit radikallerine karşı hücrenin enzimatik antioksidan savunmasında en önemli rolü oynamaktadır (Powers and Lennon 1999). Hücrelerin sitozollerinde, mitokondrilerinde ve plazmalarında bulunur. Bakır-çinko, mangan ve demir içeren 3 tipi vardır. İnsanda Cu-Zn SOD ve Mn-SOD izomerleri bulunur. Demir içeren SOD ökaryotik hücrelerde bulunmaz (Candan 2003). Bu enzimler $O_2^{\cdot-}$ detoksifikasyonunda anahtar bir enzimdir ve $O_2^{\cdot-}$ ni H_2O_2 'e dönüştürür. Bu detoksifikasyon iki kenarı keskin kılıç gibidir, bir taraftan $O_2^{\cdot-}$ ni yıkarak detoksifiye etmekte öbür taraftan yine güçlü bir oksidan olan H_2O_2 üretmektedir. Vücuttaki sistemler uyum içerisinde fonksiyonlarını gerçekleştirdiği zaman oluşan H_2O_2 ' de daha sonra bahsedilecek olan katalaz isimli enzimin varlığında detoksifiye edilecektir (Eken 2003).



Katalaz (CAT, E.C. 1.11.1.6)

Katalaz enzimi hayvan ve bitki hücreleri ile aerobik bakterilerde bulunmaktadır (Mates *et al.* 1999). Katalaz enzimi hücre içinde yayılmış olarak bulunmakla birlikte çoğunlukla aktivitesini mitokondrilerde ve peroksizomlarda ortaya koymaktadır (Powers and Lennon 1999). Katalaz tüm enzimler içerisinde en hızlı dönüştürme oranına sahip olanlardan biridir. Bir molekül katalaz bir dakikalık sürede altı milyon

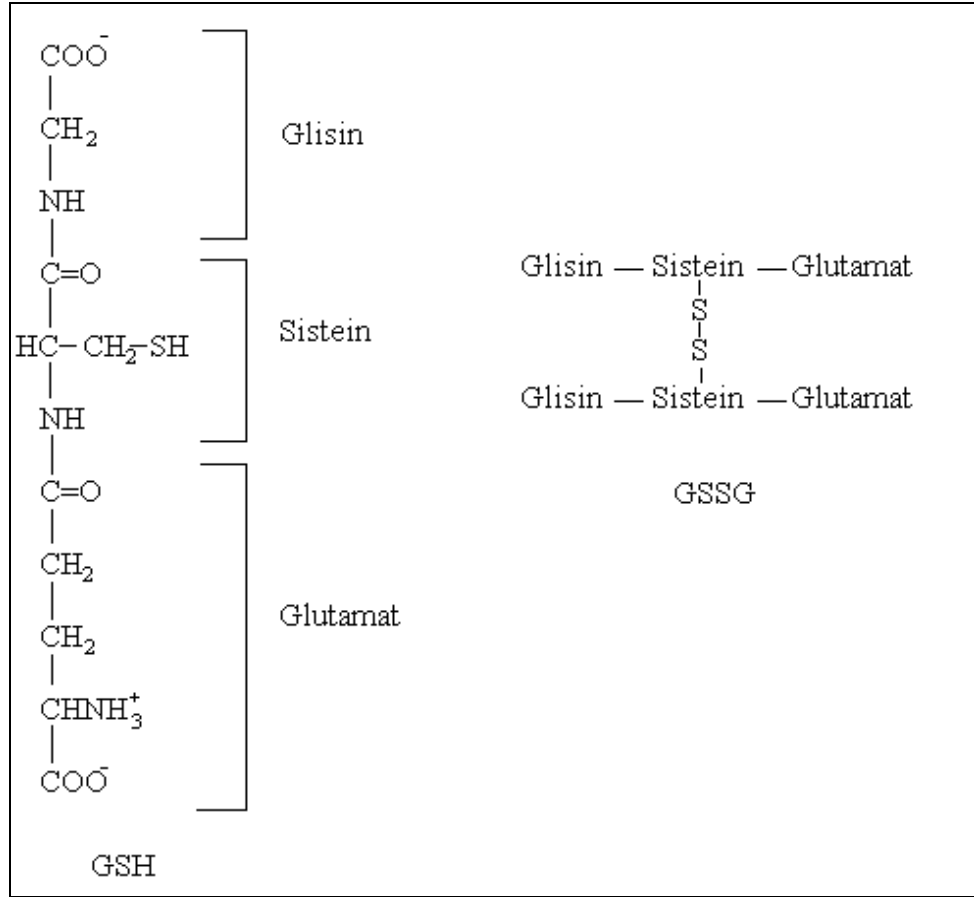
molekül H_2O_2 'i su ve moleküler oksijene dönüştürebilmektedir (Fridovich 1986).



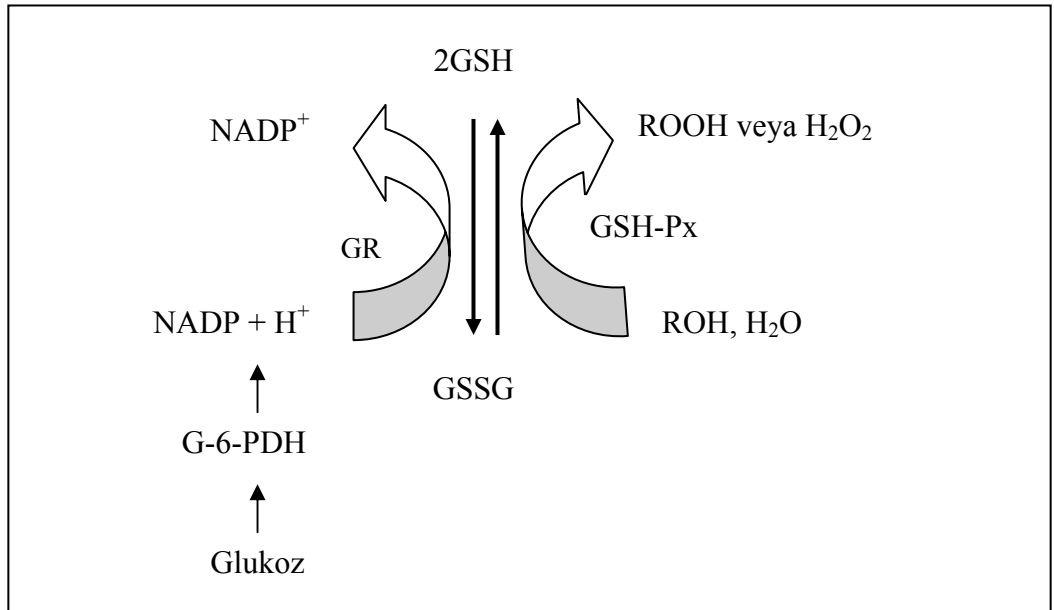
H_2O_2 her an için hidroksil radikaline dönüşebilme potansiyeline sahip olduğundan dolayı biyolojik sistemlere zararlı olabilmektedir. Bu nedenle H_2O_2 'in hücreden uzaklaştırılması oldukça önemlidir (Mavi 2006). Hücre içindeki H_2O_2 'i uzaklaştırmak için katalazdan farklı olarak selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz enzimi vardır. Bu enzimin H_2O_2 'e olan ilgisi katalaza göre daha fazladır (Tiidus *et al.* 1996).

Selenyum Bağımlı Glutatyon Peroksidaz (Se GSH-Px, E.C. 1.11.1.19) ve Glutatyon Redüktaz (GR, E.C. 1.6.4.2)

GSH-Px ilk kez 1957 yılında G.C. Mills tarafından keşfedilmiştir. GSH-Px hayvansal dokularda bulunur ancak yüksek bitkilerde ve bakterilerde bulunmaz. GSH-Px aktif bölgesinde selenosistein aminoasiti ihtiva eden, H_2O_2 , steroid ve lipid hidroperoksidler üzerine etkili olan bir antioksidan enzimdir. Bu enzim dört selenyum atomu ihtiva eder. Ciddi selenyum eksikliği durumunda GSH-Px eksikliği ortaya çıkabilmektedir (Eken 2003). GSH-Px'in substratı glutatyon (GSH, γ -glutamilsisteinglisin)'dur. GSH glutamik asit sistein ve glisin amino asitlerinden sentezlenen bir tripeptiddir (Şekil 1.24). GSH serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek, eritrosit, lökosit ve göz lensi hücrelerini oksidatif strese karşı korur. Eritrosit membranını H_2O_2 'ten, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasardan korur (Onat vd 2002; Yıldırım 2003). GSH-Px glutatyon ile H_2O_2 veya lipid peroksidlerin indirgenmesinde, GR ise glutatyonda oluşan disülfid bağının tekrar sülfidril yapısına indirgenmesinde görev yapmaktadır. GR aktif bölgesinde FAD bulunan bir enzimdir. GSSG'ı indirgemek için NADPH kullanılır. NADPH'ta glukoz-6-fosfat dehidrojenaz ile katalizlenen reaksiyonla sağlanmaktadır (Şekil 1.25) (Candan 2002; Onat vd 2002).



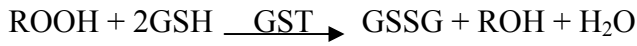
Şekil 1.24. İndirgenmiş (GSH) ve yükseltgenmiş (GSSG) glutatyon yapıları



Şekil 1.25. GSH-Px ve GR reaksiyonları

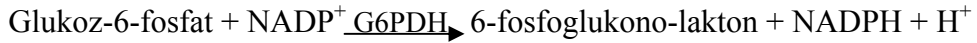
Glutasyon S – Transferaz (GST, E.C. 2.5.1.18)

GST en fazla karaciğerde bulunmaktadır. Hem detoksifikasyon hemde hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı görevleri vardır. Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluştururlar (Akkuş 1995; Candan 2002).



Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz (G-6-PDH, E. C. 1.1.1.49)

GSH-Px enziminin yukarıda açıklanan fonksiyonları yerine getirebilmesi için ihtiyaç duyduğu NADPH temel olarak oksidatif pentoz fosfat yoluyla sağlanır. G-6-PDH pentoz fosfat yolunun ilk reaksiyonunu katalizleyen kilit bir enzimdir. Bu fonksiyonundan dolayı G-6-PDH’da antioksidan sistemin bir parçası olarak kabul edilmektedir. G-6-PDH aşağıdaki reaksiyonu katalizlemektedir (Gülçin 2002; Mavi 2006).



Diğer enzimatik antioksidanlar

Yukarıda verilenlerin dışında sitokrom oksidaz, hidroperoksidaz, epoksit hidrolaz, NADPH-kinon oksidoreduktaz, UDP-glukonil transferaz, sülfonil transferaz ve izositrat dehidrojenaz gibi enzimatik endojen antioksidanlar da vardır (Çizelge 1.22). Bu antioksidanların vücuttaki fonksiyonları aşağıdaki çizelgede (Çizelge 1.23) gösterilmiştir (Anonymus 1993; Bairoch 2000).

Çizelge 1.23. Diğer enzimatik antioksidanların vücuttaki fonksiyonları

Enzimatik antioksidan	Fonksiyonu
Sitokrom oksidaz	Dehidrojenazlar tarafından oksidasyon sonucu ortaya çıkarılan elektronların son akseptörleri olan oksijene transfer edilmesi
Hidroperoksidaz	Zararlı peroksitlere (hidrojen peroksit veya organik peroksidler) karşı vücudun korunması
NADPH-kinon oksidoreduktaz	$\text{NADPH} + \text{kinon} \rightleftharpoons \text{NADP}(+) + \text{semikinon}$ reaksiyonunu yoluyla oksidasyon ve redüksiyon tepkimelerini gerçekleştirmesi
UDP-glukuronil transferaz	$\text{UDP-glukuronat} + \text{akseptor} \rightleftharpoons \text{UDP} + \text{akseptor}$ beta-D-glukuronosit reaksiyonu yoluyla pek çok substratı (fenol, alkol, amin, yağ asidi vb) kullanması
Sülfonil transferaz	Tiyol, ditiyolleri, alkolleri kapsayan çok sayıda grubu substrat olarak kullanabilmesi
İzositrat dehidrojenaz	Mitokondri ve sitoplazmada izositrat + $\text{NAD}(+) \rightleftharpoons 2\text{-oxoglutarat} + \text{CO}(2) + \text{NADH}$ reaksiyonunu katalizler

1.4.1.b. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar α -tokoferol ve β -karoten gibi lipid fazda bulunanlar ve glutatyon, askorbik asit, melatonin, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, albumin, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, metiyonin, ürat ve bilirubin gibi hücre sitozolü yada kan plazmasında sıvı fazda bulunanlar olmak üzere iki grup halinde incelenmektedir (Çizelge 1.22).

Yağda eriyebilen bir vitamin olan α -tokoferol, membranların lipid tabakaları arasında bulunmaktadır. Vücuttaki önemli antioksidanlardan olan α -tokoferol, otooksidasyonun başlatıcısı olan peroksit ve hidroperoksit radikallerini inhibe etmektedir (Burlakova *et al.* 1998; Ünalacak *et al.* 2005). Yine lipidlerde çözünebilen ve A vitamini prekürsörü olan β -karoten, güçlü bir singlet oksijen tutucusu ve serbest radikal reaksiyonları için önemli bir substrattır. DNA'yı oksidatif hasara karşı korumaktadır. Serbest radikallerle reaksiyona girerek okside olan β -karotenler, E vitamini tarafından tekrar redükte edilmektedir (Aydilek ve Aksakal 2003; Astley *et al.* 2002).

Glutasyon yada indirgenmiş glutasyon (GSH) daha öncede belirtildiği gibi içerdiği tiyol grubu aracılığı ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, hücreyi oksidatif hasarlara karşı korumaktadır (Meister 1994; Ulakoğlu 1998). Askorbik asitin antioksidan özellik taşımasının yanı sıra peroksidasyon reaksiyonlarına karşı diğer antioksidanların da aktifleşmesinde etkinlik gösterdiği bilinmektedir (Halliwell and Gutteridge 1986; Çolakoğlu 2005). Melatonin karanlıkta epifizden salgılanan antioksidan özellikte bir nörohormon olup çeşitli organların fonksiyonlarını düzenlemektedir (Özbakış-Dengiz ve Banoğlu 2001). Sistein ve metiyonin gibi tiyol (sülfür) içeren aminoasitler çeşitli oksidanları indirgeyerek biyolojik sistemleri oksidatif strese karşı korumaktadır (Atmaca 2003). Yine %7-8 oranında karbonhidrat içeren seruloplazmin proteininin lipid peroksidasyonuna karşı antioksidatif etki gösterdiği rapor edilmektedir (Gökmen vd 2004). Ayrıca ürat, albumin, bilirubin, miyogloblin, hemoglobin, ferritin transferin ve laktoferrin gibi pek çok bileşiğinde antioksidatif özelliklerinin bulunduğu kaydedilmiştir (Çavdar vd 1997; Candan 2002; Eken 2003; Flogel *et al.* 2004; Artym and Zimecki 2005; Rahman *et al.* 2006).

1.4.2. Ekzojen Antioksidanlar

1.4.2.a Doğal antioksidanlar

Ekzojen antioksidanlar doğal olanlar ve sentetik olanlar olmak üzere iki farklı grupta incelenmektedir. A, C ve E vitaminleri güçlü antioksidatif özellikler sahip olan doğal antioksidanlardandır. (Janisch *et al.* 2005; Serbecic and Beutelspacher 2005). Bu vitaminlerin immün sistemin uyarılması, radikal oluşumunun inhibe edilmesi (radikal zincirlerini kırarak) ve oksidatif DNA hasarının önlenmesi ile karsinojenlerin metabolik aktivasyonlarının değiştirilmesi gibi pek çok önemli biyolojik olayda etkin roller aldığı bilinmektedir (Azzi *et al.* 2002; Ray and Husain 2002; Catani *et al.* 2005). Ayrıca D vitamininde çeşitli kanser türlerinin oluşumunu engelleyebildiği belirtilmiştir (Ravid and Koren 2003). β -karoten ekzojen antioksidanlar içerisinde de yer almaktadır. Düşük oksijen konsantrasyonlarında etkili olmakta fakat yüksek oksijen konsantrasyonlarında vitamin E'nin antioksidan etkilerini tamamlamaktadır. İnsanlarda besinler yoluyla

alınan β -karoten'in oksidatif DNA hasarını ve kanser oluşumunu önleyebileceği rapor edilmiştir (Anonymus 1993; Krajcovicova-Kudlackova and Dusinska 2004). β -karoten'in yanı sıra α -karoten, lutein, zeaksantin, likopen, fukoksantin, kapsantin ve fitoenin gibi karoten bileşiklerinin de kanser oluşumunu engellediği belirtilmiştir (Nishino *et al.* 2004).

Bitkilerde yer alan fenolik bileşiklerin ve flavonoidler (flavanol, flavanone, flavonol, flavone ve antosiyanidinler)'inde süperoksit, nitrik oksid, lipid alkoksil ve peroksil radikallerini temizleyerek oksidatif stres oluşumunu engelledikleri rapor edilmiştir (Burak ve Çimen 1999).

1.4.2.b. Sentetik antioksidanlar

Son yıllarda giderek artan bir şekilde gıda içeriklerine sentetik antioksidanlar eklenmeye başlanmıştır. BHT, BHA, TBHQ ve propil galat başta olmak üzere bu amaçla kullanılan çok sayıda bileşik sentezlenmiştir (Çizelge 1.22) (Kahl 1984; Rossing *et al.* 1985; Kling *et al.* 1987; Weinke *et al.* 1987; Braginskaia *et al.* 1992; Shahidi 2000). Doğal antioksidanların yanı sıra sentetik antioksidanlarında oksidatif stresi engelleyebildiği ve yaşlanmayı geciktirdiği rapor edilmiştir (Zinoveva and Spasov 2004).

1.5. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAC, Total Antioxidant Capacity)

TAC oksidatif stresin bir indikatörü olarak kullanılmakta olup *in vitro* veya *in vivo* şartlarda oksidanların kan veya diğer dokular üzerine olan direncini ortaya koymaktadır (Urso and Clarkson 2003; Maxwell *et al.* 2006). Son zamanlarda *in vitro* şartlarda yapılan pek çok araştırmada oksidatif strese karşı antioksidan sistemlerce oluşturulan toplam cevabı belirlemek için çeşitli TAC tespit yöntemleri kullanılmıştır (Lotito and Frei 2004; Grzelak and Bartosz 2005; Bedaiwy *et al.*, 2006).

Yukarıda sunulmuş olan literatür bilgilerinden anlaşılaacağı üzere, borik asitin insan ve

hayvan dokuları üzerine olumlu ve olumsuz etkileri söz konusudur. Doğada 200'den fazla bor bileşiği olduğu bilinmektedir. Bor etkilerinin bilinmesinin Türkiye açısından ayrı bir önemi vardır. Çünkü, zengin bor yataklarına sahip olması bakımından ülkemiz dünya sıralamasında en ön sırada yer almaktadır. Bor bileşiklerinin toksikokinetik esaslarının belirlenebilmesi borik asit dışındaki diğer borlu bileşiklerin de araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Çünkü, bor bileşiklerine maruziyetin boyutları endüstriyel üretim ve tıbbi uygulamanın yanı sıra, hava ve su kaynaklarının çevresel kontaminasyonu da eklendiği zaman daha geniş kitleleri içine alarak büyümektedir. İnsan organizması üzerinde bor ve bileşiklerinin etkileri bugün hala tartışmalıdır. Aynı zamanda, denek olarak insanın doku düzeyinde incelenmesinin getirdiği güçlükler bor etkileri konusunda henüz yeterli bilgiye ulaşılmasını engellemektedir. Dolayısıyla, elde edilen bilgiler hayvan deneyleri ile sınırlı kalmaktadır. Bu araştırmada, borik asitle birlikte ülkemizde ve dünyada oldukça yaygın kullanıma sahip olan boraks, üleksit ve kolemanit bileşiklerinin in vitro şartlarda insan periferik kan kültürleri üzerine etkileri genetik ve biyokimyasal yönlerden araştırılacaktır. Geniş doz aralıklarında kültürlerle uygulanan temel bor bileşiklerinin lenfositlerde genetik hasarlara yol açıp açmadığı farklı genotoksiste testleri (KKD, KA ve MÇ) ile tespit edilecek; biyokimyasal değerlendirmeleri yapabilmek amacıyla da tam kan kültürlerinden (1 saatlik) izole edilen eritrositlerde antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GSH-Px, GST, G-6-PDH) ile Total Glutasyon, MDA seviyeleri ve Total Antioksidan Kapasite (TAK) ölçülecektir.

Araştırmamız bor bileşiklerinin kan doku üzerindeki etkileri konusunda, ilk deneysel çalışma olacaktır. Bor bileşiklerinin kan dokusu üzerindeki etkilerinin araştırılması risk altındaki hedef dokuların değerlendirilebilmesi için son derece önemli görülmektedir. Çünkü, doku hasarlarının erken tanısı öncelikle kan dokusu üzerinde yapılabildiğinden bu araştırmanın sonuçları bilhassa önem taşımaktadır. Bu çalışmanın ardından gelecek farklı ve çok yönlü araştırmalar için bir başlangıç teşkil edebileceği umudu taşınmaktadır. Kanaatimizce, genotoksiste parametrelerin ve antioksidan cevapların çalışılması, bor bileşiklerinin güvenilir kullanımı hakkında oldukça değerli bilgiler sunacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ulusal toksikoloji Programı (NTP, USA) (1987), Chinese Hamster ovaryum (CHO) hücrelerinde borik asitin (BA) genotoksik etkilerini araştırmıştır. Araştırma sonucunda farklı dozlarda CHO hücrelerine uygulanan borik asitin S9'lu ve S9'suz (S9 karaciğer mikrozomal enzimi) ortamlarda kardeş-kromatid değişimi ve kromozom anormallikleri frekanslarında kontrollere kıyasla herhangi bir artışa neden olmadığı rapor edilmiştir (Çizelge 2.1 ve 2.2).

Çizelge 2.1. Borik asitle muamele edilen CHO hücrelerinde KKD frekansları

-S9		+S9	
Group	KKD/hücre	Group	KKD/hücre
Medyum	8.4	Medyum	8.6
DMSO	9.2	DMSO	10.3
200 (µg/ml) BA	7.7	250 (µg/ml) BA	9.7
300 (µg/ml) BA	9.6	500 (µg/ml) BA	9.7
400 (µg/ml) BA	9.7	1600 (µg/ml) BA	9.8
500 (µg/ml) BA	10.1	2000 (µg/ml) BA	9.8
0.001 (µg/ml) MC	25.6	0.300 (µg/ml) S	12.7
0.010 (µg/ml) MC	76.7	2.000 (µg/ml) S	31.2

Çizelge 2.2. Borik asitin CHO hücrelerinde kromozom anormallikleri üzerine etkisi

-S9		+S9	
Group	Anormallik/100 hücre	Group	Anormallik/100 hücre
Medyum	3	Medyum	2
DMSO	3	DMSO	0
200 (µg/ml) BA	1	1000 (µg/ml) BA	2
300 (µg/ml) BA	5	1600 (µg/ml) BA	3
400 (µg/ml) BA	2	2000 (µg/ml) BA	1
500 (µg/ml) BA	3	2500 (µg/ml) BA	5
0.001 (µg/ml) MC	38	0.300 (µg/ml) S	22
0.010 (µg/ml) MC	60	2.000 (µg/ml) S	72

-S9: S9'suz ortam; +S9: S9'lu ortam; MC: Mitomisin C; S: Siklofosfamid

Restuccio vd (1992), sunmuş oldukları vaka takdimi çalışmalarında suda çözünmüş iki bardak borik asit kristali alarak intihara teşebbüs eden 45 yaşında bir erkek bireyi incelemişlerdir. Otopsi raporuna göre ölüm nedeni bor zehirlenmesi olarak açıklanan bireyin borik asit kristallerini aldıktan 52 saat sonra idrar ve kanındaki borik asit konsantrasyonlarının sırasıyla 160 ve 42 mg/dL olduğu rapor edilmiştir.

Elhajouji vd (1994), tam kandan izole edilmiş lenfositlerle yapılacak olan kültürlerin, mutajenik etkilerin değerlendirilmesinde duyarlı bir test sistemi olduğunu, ancak ortamda eritrositlerinde bulunduğu tam kan kültürlerinin gerçek yaşam durumunu aynen yansıtabildiğini ve bu nedenle mutajenite potansiyellerinin değerlendirilmesinde daha uygun bir sistem olduğunu rapor etmişlerdir.

Bor ve bor bileşiklerinin insanlardaki karsinojenik ve mutajenik potansiyelleri hakkında literatürde kayıtlı herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. U.S. Ulusal Toksikoloji Programı (1987) bu konuda herhangi bir çalışma bulunmadığından dolayı hayvan (fare ve sıçan) deneylerini temel alarak bor bileşiklerinin insanlarda kanserojen olmadığını rapor etmiştir.

Stohs ve Bagghi (1995), demir, bakır, krom, vanadyum, kadmiyum, kurşun, civa ve nikel gibi metallerin glutatyonu ve sülfidril bağlı proteinleri tüketmek suretiyle süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerini oluşturduğunu, bunun neticesinde de lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve kalsiyum-sülfidril homeostasilerinde değişimlerin meydana geldiğini kaydetmişlerdir.

Dünya Sağlık Örgütü (W.H.O.) tarafından 1998 yılında yayınlanan raporda borun kayaların aşınması, denizlerden borik asitin buharlaşması ve volkanik aktiviteler sonucu çevreye girdiği ayrıca tarımsal faaliyetler, borun endüstriyel ve evsel kullanımı, madencilik ve enerji üretim faaliyetlerinin de başlıca antropojenik kaynaklar olduğu kaydedilmiştir.

Şaylı vd (1998), ülkemizde farklı bölgelerde yaşayan insanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında borun üreme sistemi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Toprak ve içme sularının bor muhtevalarının birbirlerinden oldukça farklı olduğu iki bölgede yaşayan toplam 4687 birey üzerinde yürüttükleri araştırmada, bora daha fazla maruz kalan bireylerin verimlilik oranları ile diğer bölge insanların verimlilik oranları arasında herhangi bir farklılık bulunmadığını görmüşlerdir.

Michiels vd (1998), ökaryotik hücrelerin sürekli olarak serbest radikal saldırılarına maruz kaldıklarını rapor etmişlerdir. Araştırmacılara göre, selenyum bağımlı GSH-Px, Cu/Zn-SOD ve katalaz enzimleri hücre içerisinde oksidatif strese karşı eşsiz bir koruma sağlamaktadır. Hücrelerin normal koşullarda bile canlı kalabilmesi için bu üç enzimin fonksiyonel olması gerektiğini rapor etmişlerdir.

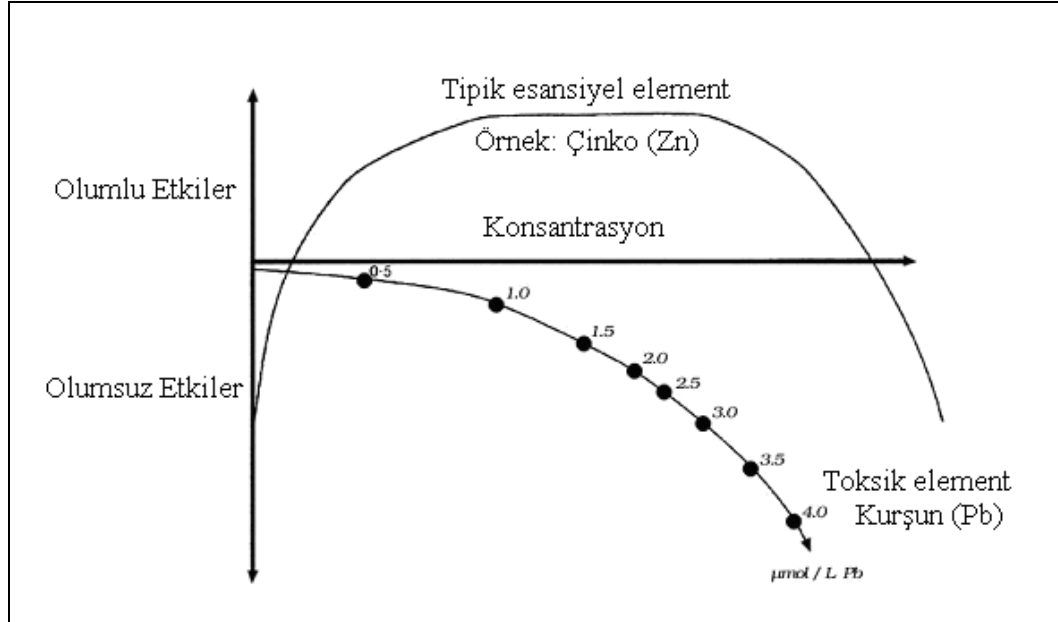
Hubbard (1998), inorganik boratların (sodyum, amonyum, potasyum ve çinko içeren boratlar ve borik asit) solunum, deri yada ağız yoluyla düşük seviyede akut toksisite nedeni olabileceklerini kaydetmiştir. Uzun süreli toksikolojik çalışmaları sonucunda borik asit ve boraksın benzer özellikler gösterdiğini ancak, diğer bileşiklerinin toksikolojik profillerinin borik asitten farklı olabileceğini rapor etmişlerdir.

Murray (1998) yapmış olduğu araştırmasında borat madenlerinde çalışan ve bora yoğun şekilde maruz kalmış işçilerin kanlarındaki ortalama bor düzeyini 0.24 µg B/mL olarak saptamıştır. Yine işçilerin bir günde yaklaşık 160 mg borik asite maruz kaldıklarını rapor etmiştir. Murray, bu araştırmasında ayrıca, genel insan popülasyonlarında kan bor düzeyinin 0.03 ile 0.09 µg B/mL arasında olduğunu ve bu değerlerin insanlar için en geniş güvenilir sınırlar olduğunu kaydetmiştir.

Hayes ve McLellan (1999), bütün organizmaların oksidanları temizleyen veya neden oldukları hasarları gideren enzimatik ve enzimatik olmayan savunma mekanizmalarına sahip olduklarını rapor etmişlerdir. Hasar verici oksijen ürünlerine karşı başlıca enzimatik savunmaların SOD, CAT ve glutatyon peroksidazlar yoluyla yapıldığını belirtmişlerdir. SOD dismutasyon reaksiyonları yoluyla süperoksit anyonlarını ortadan kaldırarak, H₂O₂ ve moleküler oksijeni üretmektedirler. H₂O₂'lerin uzaklaştırılması ise CAT veya GSH-Px enzimleri aracılığıyla sağlanmaktadır. Ayrıca GST enzimi biyolojik membranların ile makromoleküllerin oksidatif hasarı sonucu oluşan çeşitli oksidasyon ürünlerinin GSH'a bağlanmasını katalizlemektedir.

Baldwin ve Marshall (1999), metallerin vücuttan atılmalarının oldukça zor olduğunu belirterek bu özellikleri nedeniyle bir metalin esansiyel yani fizyolojik yaşam için gerekli olsa bile belirli birikim değerlerinin üzerinde toksik etki gösterebileceğini rapor etmişlerdir. Bu ifade Bertrand prensibinin temelini teşkil etmektedir. Bertrand prensibine göre kurşunun (toksik element) ve çinkonun (tipik esansiyel element) artan miktarlardaki toksisite düzeyleri aşağıda gösterilmiştir (Baldwin ve Marshall 1999).

Çizelge 2.3. Metallerin Artan Miktarlardaki Toksisite Düzeyleri.



Cadenas ve Davies (2000), hücrenin enerji ocakları olarak bilinen mitokondrilerde gerçekleşen elektron taşıma ve oksidatif fosforilasyon işlemlerinin tamamen tehlikesiz olmadıklarını belirterek bu işlemler esnasında gerçekleşen reaksiyonlar aracılığıyla elektron taşıma sistemlerinin moleküler oksijenle birlikte süperoksit anyonlarını meydana getirdiğini kaydetmişlerdir. Mitokondrilerin iç membranlarında meydana gelen bu olayın yanı sıra dış zarlarında da zararlı metabolitler üretilmektedir. Mitokondri dış zarında yer alan monoamin oksidaz enzimi biyogenik aminlerin oksidatif deaminasyonunu katalizleyerek suretiyle mitokondriyal matriks ve sitozolde sabit konsantrasyonlarda bulunan H_2O_2 'in konsantrasyonunu yükseltmektedir. Mitokondrilerde meydana gelen bu serbest radikaller mitokondriyal bileşenlerde oksidatif hasarlara yol açmaktadır. Oksidatif stres altında mitokondriyal DNA, RNA ve proteinlerde meydana gelen değişimler yaşlanmaya ve hücre ölümüne yol açmaktadır.

Benderdour vd (2001), borik asit solusyonunun (%3'lük) *in vitro* şartlarda ekstra sellüler matriks üzerinde etkili olarak yara iyileşmesini hızlandığını rapor etmişlerdir. İnsan fibroblast kültürleri üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında borik asitin

yanı sıra, dört farklı bor bileşiğinin (trietanolamin borat, N-dietil-fosforamidat-propilboronik asit, 2,2 dimetilkekzil-1,3-propandiol-aminopropilboronat ve 1,2 propandiol-aminopropilboronat) de *in vitro* şartlarda potansiyel toksik etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, bu dört farklı bor bileşiğinin borik asit ile aynı etkileri ortaya koyduğunu ayrıca borun intra ve ekstra sellüler proteazların aktivitelerini uyarak yara iyileşmesinde faydalı olabileceği rapor edilmiştir.

Hadnagy vd (2003), izole edilmiş eritrosit kültürlerinin aksine tam kan kültürlerinin oksidatif stres nedenli hücre hasarlarının ve hücrelerin oksidatif strese karşı savunma ve düzenleme fonksiyonlarının değerlendirilmesinde iyi bir bağımsız fizyolojik birim olduğunu kaydetmişlerdir.

Burçak ve Andican (2004), aerobik organizmaların mutasyonlardan korunabilmeleri ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için DNA onarım enzimlerinin doğru fonksiyon yapmaları gerektiğini kaydetmişlerdir. Düşük düzeylerde oksidatif DNA hasarı minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılmaktadır. Ancak, DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Onarım işlemi tamamlanıncaya kadar, hücreler bölünmelerini genellikle durdurarak kendilerini korumaktadırlar. DNA'daki oksidatif hasar yaşam ile bağdaşmayan yüksek düzeylere ulaştığında apoptoz meydana gelmektedir. DNA'da zincir kırıklarının oluşumundan sonra DNA onarım mekanizmasının bir bileşeni olan NAD⁺ bağımlı poli ADP-riboz polimeraz enzimi (PARP) aktive olmakta ve DNA hasarı belirli bir düzeyi aştığında aşırı NAD⁺ ve ATP tüketimi sonucunda hücre ölüme gitmektedir. Hücrenin NAD⁺-bağımlı programlı ölümü olarak adlandırılan bu olayın, yaygın hasarlı DNA'ya sahip hücrelerde, somatik mutasyonların oluşumunu engellemeye yönelik intihar yanıt olabileceği düşünülmektedir. Orta düzeydeki oksidatif DNA hasarının maligniteye yol açma olasılığı çok yüksektir.

Huel vd (2004), yapılan deneyler sonucunda bor alımını takiben hayvanlarda çok yönlü etkilerin görüldüğünü rapor etmişlerdir. Borun insanlar üzerindeki etkileri konusunda bilgilerin bulunmadığını ve fetal dokularda borun birikim yapabildiğine dair bir verinin

de mevcut olmadığını kaydetmişlerdir. Çeşitli hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalardan alınan sonuçlar doğrultusunda borun insanlarda da gelişimi olumsuz etkileyebileceğini rapor etmişlerdir. Huel vd. bilimsel bulgular neticesinde borun çok yönlü etkilerini nasıl ortaya koyduğunu açıklamak üzere iki hipotez öne sürmüşlerdir. Birinci hipotez borun pek çok metabolik süreçte rol alan bazı anahtar enzim reaksiyonlarını yarışmalı inhibisyon yoluyla etkileyebilen bir negatif regülatör olduğunu savunmaktadır. Diğer hipotez ise borun, hücre zarından iyonların taşınması üzerinde etkili olduğunu savunmaktadır.

Valko vd (2006), reaktif oksijen ve azot türlerinin organizmada hem faydalı hem de yıkıcı türlerin oluşumunda rol aldıklarını rapor etmişlerdir. Valko ve ark'a göre reaktif türler (ROS ve RNS) bu iki yönlü rollerinden dolayı farklı fonksiyonlara sahiptirler. Hücre içi haberleşme ağında sekonder haberci görevi yaparak kanser hücrelerinin onkojenik fenotiplerinin oluşmasına ve devam ettirilmesine neden olurlar. Buna karşın anti-tümörojenik maddeler gibi hücrel senesense ve apoptozise de neden olabilirler. Endojen veya ekzojen yollarla kümülatif olarak ROS ve RNS üretilmesi oksidatif strese sebep olmaktadır. Oksidatif stres bir hücrel redoks dengesizliğidir. Ancak bu dengesizliğe normal hücrelerde değil çeşitli kanser hücrelerinde rastlanmaktadır. Bu sonuca göre redoks dengesizliği onkojenik stimülasyonla ilişkili gözükmektedir. Kanser hücrelerinde 8-OH-G gibi oksidatif DNA lezyonlarının yükselmiş seviyeleri mutasyonların karsinogenezin önemli ve kritik bir safhası olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Kanser başlangıç aşamasında DNA hasarının çok etkili olduğu şüphesiz bir gerçektir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEMLER

3.1 Materyal

3.1.1 Kan Örneklerinin Alınması ve Kùltürlerin Kurulması

Bu çalışmaya 24-30 (26.5 ± 2.4) yaşlarında erkek, sigara ve alkol kullanmayan, belirli bir hastalığı saptanmayan ve mesleği dolayısıyla fiziksel veya kimyasal ajanlara maruz kalmamış gönüllü 10 birey dahil edildi. Heparinize enjektörlere alınan periferik kan örnekleri, Atatürk Üniversitesi Fen Fakùltesi Biyoloji Bölümü Araştırma laboratuvarları ile Aziziye ve Yakutiye Araştırma Hastanelerinin Biyokimya ve Tıbbi Genetik laboratuvarlarında eş zamanlı olarak yürütölen genetik ve biyokimyasal araştırmalarda kullanıldı.

Yapılan ön denemelerden elde edilen sonuçlar ve mevcut literatür bilgileri (bor maruziyeti neticesinde insan kanında tespit edilmiş olan referans aralıkları) (Tietz 1983; Moseman 1994; Murray 1998) doğrultusunda test bileşiklerinin kùltürlere uygulanacak olan dozları tespit edildi. Bileşikler belirli konsantrasyon aralıklarında (5, 10, 20, 40, 50, 80, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mg/L) kùltürlere uygulandı. Genotoksisite araştırmaları 72 saatlik tam kan kùltürleri üzerinde yapıldı. Bu sürenin sonunda kùltürler sonlandırılarak uygulanacak olan genotoksisite test tekniklerine uygun prosedürler izlenerek preparatlar elde edildi. Elde edilen preparatlar daha sonra analiz edilmek üzere uygun koşullarda saklandı. Biyokimya araştırmalarının yapılacağı tam kan kùltürleri ise 1 saatin sonunda sonlandırılarak santrifüj (3500 rpm) edildi. Plazma örnekleri ayrıldıktan sonra eritrositler serum fizyolojik ile 3 defa yıkandı ve analizlerin yapılacağı güne kadar -80°C 'de muhafaza edildi.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kromozom medium B Biochrom® firmasından, 5-bromodeoksiüridin (BrdU), Hoechst 33258 flouresan boyası, colcemid, cytochalsin-B, L-glutamine, sodyum sitrat, giemsa, NADPH, 5,5'-dithio-Bis 2-nitrobenzoik asit (DTNB), glutatyon redüktaz solusyonu (GR Sol), glutatyon (GSH), xantine, etilen diamin tetraasetik asit (EDTA), fosforik asit, bovin serum albumin, butillenmiş hidroksitoluen (BHT), xantine oksidaz (XO), nitroblue tetrazolium (NBT), triton-X, 1-chloro 2-4 dinitrobenzen (CDNB) ve N-morfinopropanosülfonik (MOPS) asit Sigma® firmasından, potasyum klorür (KCl), sodyum klorür (NaCl), glasiyal asetik asit, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) Riedel-de Haent® firmasından, metanol, etanol, amonyum sülfat ($(NH_4)_2SO_4$) ve potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) Fluka® firmasından, trikloroasetik asit (TCA), tiyobarbitürik asit (TBA), sodyum karbonat (Na_2CO_3), sodyum hidroksit (NaOH), potasyum hidroksit (KOH), çinko sülfat ($Zn(SO_4)$), sülfanil amid, entellan ve perklorik asit ($HClO_4$) Merck® firmasından, sodyum heparin Roche firmasından temin edilmiştir. Ayrıca çalışmada test bileşikleri olarak kullanılan borik asit Sigma®'dan, kolemanit (Bursa, Kestelek işletmesinden), üleksit (Bigadiç işletmesinden) ve tinkal (Eskişehir, Kırka işletmesinden) Eti Maden Genel Müdürlüğü'nden temin edilmiştir.

3.1.3. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Araştırmalar esnasında kullanılan aletlere ve cihazlara ait bilgiler Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar

Alet ve Cihazlar	Temin Edildiği Firma
Derin dondurucu	Sanyo Ultra Low, Japan
Distile su cihazı	Easypure RF compact ultarpure ws, USA
ELISA okuyucu	Bio-Tek, PW XS, USA
Etüv	Heraeus FB 420, Germany
Hassas terazi	Sartorius AG, Germany
Mikroskop	Prior T-100 mA, England
Otomatik pipet	Finpipette Labsystems, Finland
Otomatik analizör (Biyokimya)	Olympus AU 2700, Japan
Otomatik analizör (Hematoloji)	Coulter Gen-S, Hialeah, FL
pH metre	Handylab - 2BNC
Santrifüj	Heraeus 4600, Germany
Spektrofotometre	Beckman DU 500, USA
Su banyosu	Nüve BM 101, Nüve M.S.L.T.A, Ankara
Ultraviyole lamba (366 nm)	

3.1.4. Sitogenetik araştırmalarda kullanılan kültür medyumunun içeriği

Her 100 mililitre için; minimal esansiyal medium 85 ml, fetal bovine serum 15 ml, heparin 25.00 E, penisilin, sodyum tuzu 75.00 E, streptomisin 5 mg, fitohemaglutinin 0,25 mg, askorbik asit 0,50 mg ve glutathione 0,50 mg.

3.1.5. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

BrdU çözeltisi'nin hazırlanışı

30,7 mg toz BrdU 10 ml distile suda çözülerek stok BrdU hazırlandı (10^{-2} M). Stok çözelti alüminyum folyo ile sarılarak -20°C 'de saklandı.

Hipotonik çözeltinin hazırlanışı

0,5592 gr KCl tartılarak 100 ml distile suda çözöldü. Konsantrasyonu 0,075 M olan KCl çözeltisi kullanılmadan önce etüvde 37°C'ye kadar ısıtıldı.

Tespit (fiksatif) çözeltisi'nin hazırlanışı

1 kısım Glasial asetik asit'in üzerine 3 kısım metanol eklenerek iyice karıştırıldı. Solusyon her kullanım için taze olarak hazırlandı. Kullanmadan önce buzdolabında (+4°C de) soğutuldu.

Fosfat tamponlu salin'in (pbs) hazırlanışı (pH : 7)

8,0 gr NaCl, 0,2 gr KCl, 0,2 gr KH₂PO₄ ve 2,32 gr Na₂HPO₄ alındı ve 1 litre distile suda çözöldü. Çözelti oda ısısında muhafaza edildi.

Fluoresan boyanın hazırlanışı

Stok hoechst 33258 boyası distile su ile son konsantrasyonu 2,5 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Şişe alüminyum folyo ile sarılarak +4°C'de saklandı.

Mc Ilvaine tamponu'nun hazırlanışı

Mc Ilvaine tamponu 2 tampondan oluşmaktadır:

Tampon A : 0,1 M anhidroz sitrik asit solusyonu (19,2 gr/L)

Tampon B : 0,2 M anhidroz Na₂HPO₄ solusyonu (28,4 gr/L)

Tampon A'dan 8 ml, tampon B'den 92 ml alındı. Karışımın pH'sı sitrik asit ile 7,1'e ayarlandı. Stok +4°C'de saklandı.

2xSSC çözeltisi'nin hazırlanışı

1,74 gr NaCl (Riedel-de Haent) 100 ml distile suda çözüldü. Ayrıca 0,882 gram Sodyum sitrat (Sigma) 100 ml distile suda çözüldü. Her iki solusyondan eşit hacimlerde alındı ve karıştırıldı. Solusyonun pH'sı sitrik asitle 7,2 olacak şekilde ayarlandı.

Giemsa boya çözeltisi'nin hazırlanışı

A Çözeltisi: Na_2HPO_4 'ten 11,88 gr tartılarak 1 litre distile suda çözüldü.

B Çözeltisi : KH_2PO_4 'ten 9,08 gr tartılarak 1 litre distile suda çözüldü.

A çözeltisinden 30 ml şaleye konuldu. Üzerine; pH: 6,8'e gelinceye kadar B çözeltisinden eklendi. Sonra üzerine 5 ml Giemsa boyası ilave edildi. Pipetajla karıştırıldı. Üzerinin yağı kurutma kağıdı ile alındı. Çözelti oda ısısında muhafaza edildi.

Fosfat tamponunun hazırlanışı (EDTA lı) (pH : 7)

Bu amaçla A ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 8.85 gr/l) ve B (KH_2PO_4 : 6.8 gr/l) solusyonları hazırlanır. A solusyonundan 600 ml ve B solusyonundan 400 ml alınarak üzerine 20.8 gr EDTA ilave edilir.

Griess reaktifi'nin hazırlanışı

0.5 gr sülfanilamid, 12.5 gr fosforik asit ve 0.05 gr naphthylethylendiamin alındı ve 500 ml distile sı içinde çözüldü.

Diğer çözeltilerin hazırlanışı

Çalışma süresince kullanılan NADPH, GSH, H_2O_2 , triton-X, xantine, EDTA, sodyum

karbonat, bovin serum albumin, sodyum hidroksit, çinko sülfat, TCA, TBA, NBT ve BHT gibi çözeltilerin hazırlanışı ilgili yöntemlerde verilmiştir.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Genotoksisite Testleri

Genotoksisite araştırmaları, güvenilir ve oldukça yaygın olarak kullanılan Kardeş-kromatid değişimi (KKD), Kromozom aberasyonları (KA) ve Mikroçekirdek (MÇ) test teknikleri kullanılarak yürütüldü.

Tüm kromozom çalışmalarında olduğu gibi bu araştırmada da özellikle hücre kültürlerindeki kontaminasyon ihtimalini azaltmak ve çalışma esnasında optimum miktarda hücre elde edebilmek için sterilite, pH ve sıcaklık koşullarına dikkat edildi.

3.2.1.a. Kardeş-Kromatid Değişimi Yöntemi

Periferik kan kültürleri üzerinde uygulamış olduğumuz KKD yönteminde Moorhead tarafından geliştirilen protokol kullanılmıştır (Rooney ve Czepulkowski 1986). Bu amaçla;

- a) Kültürün ekimi ve kromozomların eldesi
- b) Floresan+Giemsa Boyama (FPG Boyama).
- c) KKD'lerin değerlendirilmesi yapılmış, ayrıca bu konuda farklı araştırmacıların yapmış oldukları çalışmalardan da faydalanılmıştır (Venitt ve Parry 1984, Rooney ve Czepulkowski 1986, Tanrıverdi 1991, Sönmez 1992, Paralı 1994, Öztürk 1995, Gülten 1999, Tokyay 1999).

a) Kùltürlerin ekimi ve kromozomların eldesi

- 1) Protokol numarası verilmiş steril hücre kùltür tüplerine (cellstar) önceden hazırlanmış ve 37°C'e getirilmiş besiyerinden (Chromosome Medium B) 6 ml konuldu.
- 2) Besiyerlerinin üzerine 0,5 ml tam kan eklendi.
- 3) Tüplere son konsantrasyonu 10 µg/ml olacak şekilde BrdU çözeltisi eklendi.
- 4) Tüplerdeki kùltürlere son konsantrasyonları 5, 10, 20, 40, 50, 80, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mg/L olacak şekilde borik asit, kolemanit, üleksit ve tinkal çözeltileri eklendi.
- 5) Tüpler alt üst edilerek karıştırıldı.
- 6) Tüplerin üzeri alüminyum folyo ile kaplanarak 37°C'lik etüve bırakıldı.
- 7) İnkübasyonun başlangıcından 70 saat 15 dk sonra, colcemid çözeltisinden (+4 derecede muhafaza edilmiş, 10 µm/ml konsantrasyonunda) 0,1 cc tüm kùltürlere eklendi.
- 8) Tüpler tekrar etüve konarak (37°C'de) 1 saat 45 dk daha beklendi.
- 9) 72 saatin sonunda etüvden çıkarılan tüpler santrifüj işlemine alındı.
- 10) Kùltürler 900 rpm'de veya 150 g'de 10 dk santrifüj edildi.
- 11) Santrifüj süresinin sonunda süpernatant pastör pipeti ile atıldı.
- 12) Tüpte kalan çökeltinin (pellet) üzerine 8 ml Hipotonik çözelti yavaş yavaş eklendi.
- 13) Hipotonik çözelti eklenen tüpler 37°C'ilk etüvde 15-20 dk bekletildi.
- 14) Daha sonra tüpler 900 rpm'de veya 150 g'de 10 dk daha santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
- 15) Tüpte kalan pellet üzerine taze hazırlanmış soğuk tespit çözeltisinden 7ml eklenerek santrifüj edildi ve süpernatant pastör pipeti ile atıldı.
- 16) Bir önceki basamak iki kez daha tekrarlandı.
- 17) Son süpernatant da atıldı ve pellet pastör pipeti ile yavaş yavaş karıştırıldı.
- 18) Pipetle çekilen pellet önceden üzerine protokol numarası yazılmış, temizlenmiş ve soğutulmuş (+4°C) lamlara 45°'lik açı ile yayılarak lamlar oda ısısında karanlık bir ortamda 3 gün kurumaya bırakıldı.

b) KKD Boyama Tekniği (FPG)

- 1) 3. günün sonunda preparatlar 10 dakika süreyle PBS   zeltisi içerisinde bekletildi.
- 2) 100 ml PBS   zeltisi içerisine son konsantrasyonu 0,5  m/ml olacak şekilde hoechst 33258 (Ek 6) fluoresan boyasından konuldu. Preparatlar bu çözelti içinde 20 dakika karanlık bir ortamda bekletildi.
- 3) Preparatlar daha önceden pH ayarı yapılmış Mc Ilvaine tamponundan geçirildi.
- 4) Preparatlar Mc Ilvaine solusyonu ile ıslatılmış petri kaplarına yerleştirildi ve üzerleri lameller ile kapatıldı.
- 5) Petriler ultraviyole lamba altında (366 nm) 60 dakika bekletildi ve distile su ile yıkandı.
- 6)  alkalama işleminin ardından preparatlar 65 C'ye ayarlanmış su banyosu içerisindeki 2xSSC çözeltisinde 60 dakika bekletildi.
- 7) Preparatlar tekrar distile su ile yıkandı ve 15 dk. Giemsa boyasında bekletildi.
- 8) Preparatlar tekrar distile sudan geçirilerek oda sıcaklığında ve karanlık ortamda kurumaya bırakıldı. Kuruyan lamalar entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı ve incelemeye hazır hale getirildi.

c) KKD'nin Değerlendirilmesi

Preparatlar ışık mikroskopunda (Prior) immersiyon (x100) objektifi ile incelendi. Her bir bireyin ortalama 30 metafaz plağı değerlendirildi. Metafaz plaklarında gözlenen değişimlerin ortalaması alınarak hücre başına ortalama KKD değeri elde edildi.

3.2.1.b. Kromozom Aberasyonları (KA) Yöntemi

KKD yönteminde olduğu gibi kültür ortamı hazırlandı. Ancak bu yöntemde kültürlere BrdU ilavesi yapılmadı. İnkübasyonun başlangıcından 70 saat 15 dk sonra, colcemid çözeltisinden 0,1 ml tüm kültürlere eklendi. 72 saatin sonunda etüvden çıkarılan tüpler santrifüj işlemine alındı. Santrifüj işlemleri, hipotonik ve tespit çözeltilerinin ilave

edilmesi ile yaymaların yapılmasında KKD yöntemi için verilen protokol uygulandı.

Yayma işlemini takip eden 3. günün sonunda preparatlar 15 dk. Giemsa boyasında bekletildi. Boyama işleminden sonra preparatlar tekrar distile sudan geçirilerek oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan lamalar entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı ve incelemeye hazır hale getirildi.

Preparatlar ışık mikroskopunda immersiyon (x100) objektifi ile incelendi. Her bir bireyden 30 metafaz plağı incelendi. Bu metafazlarda kromatid ve kromozom gap'leri ile kromatid ve kromozom kırıkları değerlendirmeye alınarak hücre başına ortalama KA değeri elde edildi.

3.2.1.c. Mikroçekirdek (MÇ) Yöntemi

KKD ve KA yöntemlerinde olduğu gibi kültür ortamı hazırlandı. İnkübasyonun başlangıcından 44 saat sonra, sitokalazin-B'den son konsantrasyonu 3 µg/ml olacak şekilde tüm kültürlerle eklendi. 72 saatin sonunda etüvden çıkarılan tüpler santrifüj işlemine alındı. Santrifüj işlemleri, hipotonik ve tespit çözeltilerinin ilave edilmesi ile yaymaların yapılmasında daha önce diğer yöntemler için verilmiş olan protokol uygulandı. Yayma işlemini takip eden 3. günün sonunda preparatlar 15 dk. Giemsa boyasında bekletildi. Boyama işleminden sonra preparatlar tekrar distile sudan geçirilerek oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan lamalar entellan kullanılarak kapatıldı ve incelemeye hazır hale getirildi. Preparatlar ışık mikroskopunda immersiyon (x100) objektifi ile incelendi. Mikroçekirdek oluşumunu değerlendirmek için hazırladığımız sitokalazin-B'li kültürlerde elde edilen binükleuslu hücrelerde MÇ değerlendirme kriterleri dikkate alındı. Mononükleuslu, trinükleuslu veya daha fazla çekirdekli hücreler değerlendirme dışı bırakıldı. Her bir kültürde en az 1000 binükleuslu hücre incelendi ve MÇ frekansına bakıldı.

3.2.2. Biyokimyasal Analizler

Bor bileşiklerinin doza bağlı olarak *in vitro* kan kültürleri üzerine biyokimyasal etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla eritrositlerde SOD, CAT, GSH-Px, GST, G-6-PDH antioksidan enzim aktiviteleri, toplam glutatyon ve MDA seviyeleri ile toplam antioksidan kapasitesi (TAK) ölçüldü. Bu parametreler analiz edilirken uygulanmış olan yöntemler aşağıda belirtilmiştir (Yıldırım 2003; Alp 2005).

3.2.2.a. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin tayini

Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin tayininde Misra ve Fridovich (1972) tarafından ortaya konan yöntemin uygulanması esnasında aşağıdaki aşamalar izlendi.

- Xantine (0.3mM) 9.13 gramı 200 ml distile suda çözüldü.
- 25 mg EDTA 100 ml distile suda çözüldü.
- 12.3 gr Nitroblue tetrazolium (NBT) 100 ml distile suda çözüldü.
- Na₂CO₃ (0.4M) 2.54 gramı 60 ml distile suda çözüldü.
- 30 mg bovin serum albumin 30 ml distile suda çözüldü.
- Hazırlanan bu 5 çözelti (deney reaktifi) +4 °C’de saklandı.
- 30 µl Xantine oksidaz 1 ml 2M (NH₄)₂SO₄ ile dilue edildi.

Kültürlerden elde edilen örneklerde SOD aktiviteleri Çizelge 3.2.’de belirtildiği şekilde ölçüldü.

Çizelge 3.2. SOD aktivitesi ölçüm prosedürü

	Kör tüpü	Numune tüpü
Deney reaktifi	2.45 ml	2.45 ml
Numune	--	0.5 ml
Bidistile su	0.5 ml	--
Xantine oksidaz	50 µl	50 µl
Karıştırıldı ve 25°C’de 20 dk su banyosunda inkübe edildi		

İnkübasyon esnasına NBT'nin redüksiyon hızındaki %50'lik inhibisyon 1 SOD ünitesi olarak ifade edildi. Numunede bulunan SOD enziminin meydana getirdiği % inhibisyon ve enzim aktiviteleri aşağıda verilen formüllere göre hesaplandı.

Hesaplama:

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{\text{Kör absorbans} - \text{Numune absorbans}}{\text{Kör absorbans}} \times 100$$

$$\text{SOD (U/ml)} = \frac{\% \text{ inhibisyon}}{50 \times 0.5 \text{ ml}}$$

3.2.2.b. Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini

Katalaz aktivitesi Aebi (1984) tarafından kaydedilmiş olan metot esas alınarak tespit edildi. Bu yöntemle CAT aktivitesini tayin etmek için aşağıdaki basamaklar izlendi.

- Fosfat tamponu hazırlandı.
- 2.8 gr EDTA eklenerek tamponun pH'sı 7'ye ayarlandı.
- %30'luk H₂O₂ 200 ml fosfat tamponu üzerine (240 nm dalga boyunda quartz küvette 0.5 olana kadar) ilave edildi.

Kültürlerden elde edilen numunelerde CAT aktiviteleri Çizelge 3.3.'te belirtildiği şekilde ölçüldü.

Çizelge 3.3. CAT aktivitesi ölçüm prosedürü

	Kör Tüp	Numune Tüpü
Fosfat tamponu + H ₂ O ₂	2.99 ml + 0.01 ml	2.99 ml
Numune	--	0.01 ml
Quartz küvette karıştırılan numuneler oda sıcaklığında 240 nm dalga boyunda 15 saniye aralıkla 2 kez okutuldu. 30 sn boyunca absorbans azalışı izlendi.		

Hesaplama:

$$\text{CAT (U/g Hb)} = 0.153 \times \frac{\log A1}{\log A2}$$

3.2.2.c. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin tayini

Bu parametrenin analizinde Carlberg ve Mannervik (1972) tarafından uygulanan yöntem esas alındı. Bu yöntemle GSH-px aktivitesini tayin etmek için aşağıdaki basamaklar izlendi.

- Fosfat tamponu hazırlandı.
- GSH (150 mM) 50 mg 1 ml tamponda çözüldü.
- NADPH (10mM) 50.4 mg 6 ml tamponda çözüldü.
- GSH redüktaz (10µl) alınıp deney ortamına katıldı.
- H₂O₂ (2 mM) : %30'luk H₂O₂ 25µl alınıp 5 ml tamponda çözülerek hazırlandı.

Kültürlerden elde edilen numunelerde GSH-Px aktiviteleri Çizelge 3.4.'te belirtildiği şekilde ölçüldü.

Çizelge 3.4. GSH-Px aktivitesi ölçüm prosedürü

	Kör Tüp	Numune Tüpü
Fosfat tamponu	2.65 ml	2.65 ml
GSH	100µl	100µl
NADPH	100µl	100µl
Numune	--	20µl
Distile Su	20µl	--
GR	10µl	10µl
H ₂ O ₂	100µl	100µl
Karıştırıldı ve 37°C'de 30 dk su banyosunda inkübe edildi		

Okuma esnasında sıkışıklığa yol açmamak için enzim tüplere 3 dk arayla ilave edildi. 30 dk sonra ilk kör tüpten itibaren H₂O₂ katılıp spektrofotometre köre karşı sıfırlandı ve 2 dk'lık absorbans 1 dk arayla kinetik olarak okutuldu. İnkübasyon bitiminde okutulacak küvetin içine H₂O₂ ve üzerine inkübasyona bırakılan karışım ilave edilerek küvet alt üst edildi.

Hesaplama:

$$\text{GSH-Px (U/L)} = \frac{\Delta A/t \times 10^6}{\epsilon} \times SK$$

$\Delta A/t$: Dakikadaki absorbans değişimi

ϵ : NADPH'ın 340 nm'deki molar absorbtivite katsayısı (6.22×10^3)

SK : Seyreltme katsayısı

10^6 : Molü, mikromole çevirme katsayısı

3.2.2.d. Glutasyon-S- Transferaz (GST) aktivitesinin tayini

Bu parametrenin analizinde Habig vd (1974) tarafından uygulanan yöntem esas alındı. Bu yöntemle GST aktivitesini tayin etmek için 0.66 % Triton-X 100 ml suda çözöldü ve 0.1 M 1000 ml fosfat tamponu hazırlandı. 1-chloro 2-4 dinitrobenzenin (5mg / ml etanolde) alüminyum folyo ile ışıktan korunması sağlandı. Redükte glutasyon (46 mg/ml) K-fosfat tamponu (pH: 7.4) içinde hazırlandı. Numunelerde GST aktiviteleri Çizelge 3.5.'te belirtildiğı şekilde ölçöldü.

Çizelge 3.5. GST aktivitesi ölçüm prosedürü

Ölçüm Küveti	Referans Küvet
905µl fosfat tamponu pH 6.5	905µl fosfat tamponu pH 6.5
25µl GSH solusyonu	25µl GSH solusyonu
25µl Triton-X	25µl Triton-X
20µl CDNB	20µl CDNB
Oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi. Sonra 25 µl numune katıldı ve hemen karıştırıldı. Spektrofotometrede 3 dk boyunca 1 dk aralıkla kinetik okutma yapıldı.	

Hesaplama:

$$\text{GST } (\mu\text{mol/g Hb}) = \frac{\text{Absorbans/dk}}{9.6} \times \frac{\text{Küvetteki toplam hacim}}{\text{Örneğin hacmi}} \times \text{Dilisyon faktörü}$$

3.2.2.e. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G-6-PDH)

G6PDH aktivitesi Sigma'nın 345-UV nolu protokolüne göre tespit edildi. Bu protokole göre G-6-PDH aktivitesini tayin etmek için önce otomatik kan sayım cihazı kullanılarak kan örneklerindeki eritrosit sayıları (eritrosit/ml) belirlendi. Numunelerde G-6-PDH aktiviteleri Çizelge 3.6.'da belirtildiği şekilde ölçüldü.

Çizelge 3.6. G-6-PDH aktivitesi ölçüm prosedürü

Solusyon 1 (Randox)	3.00 ml
Solusyon 2 (Randox)	0.10 ml
Hemolizat	0.05 ml
Karıştırıldı ve 37°C'de 5 dk su banyosunda inkübe edildi	
Solusyon 3 (Randox)	0.05 ml
Karıştırıldı. 1'er dk arayla spektrofotometrede (340 nm) 3 kez okutuldu.	

Hesaplama:

$$\text{mU/eritrosit/ml kan} = 30.476 \times \Delta A \text{ 340 nm/dk}$$

$$\text{G-6-PDH (mU/g Hb)} = \frac{\text{mU/eritrosit/ml kan} \times 100}{\text{Hb (g/dl)}}$$

100 = ml'yi dl'ye çevirme katsayısı

Hb (g/dl) = Her bir isim için belirlenen hemoglobin konsntrasyonu

3.2.2.f. Toplam Glutasyon (TGSH)

Toplam glutasyon miktarını tespit etmek amacıyla ilk olarak Akerboom ve Sies (1981) tarafından uygulanan tayin metodu kullanıldı. Bu metodla glutasyon miktarının tespit edilmesinde glutasyon redüktazın katalitik aktivitesi esas alınmaktadır.

Bu amaçla önce 2 M HClO₄ içeren eritrosit solusyonuna 4 mM EDTA eklendi. Örnek çabucak karıştırılarak santrifüj edildi (600 g'de 10 dk) ve süpernatantı alındı. Örneğin nötrale edilmesi için 0.3 M N-morfinopropanosülfonik asit eklendi ve 2M KOH solusyonunda dilüe edildi. Çöken potasyum hipoklorit santrifüj edilerek alındı. Spektrofotometrik küvete şu reaktifler eklendi; 1000 µl 0.1 M fosfat tamponu içeren 1 mM EDTA, 0.5-2 mM glutasyon içeren 100 µl süpernatant, 50 µl NADPH solusyonu, 20 µl 5,5'-dithio-Bis 2-nitrobenzoik asit, 20 µl glutasyon redüktaz solusyonu (6U/ml), Karıştırma işlemi sonunda 3 dk, 412 nm dalga boyunda absorbands ölçüldü.

Hesaplama:

$$\text{Toplam glutasyon (mM/gr Hb)} = \frac{\Delta\text{abs/dk (numune)}}{\Delta\text{abs/dk (standart)}} \times \text{Cst} \times \text{Toplam dilisyon}$$

$\Delta\text{abs/dk}$: Dakikadaki absorbands değişimi

Cst : Standartın konsantrasyonu = 29.2

3.2.2.g. Malondialdehit (MDA) Analizi

Bu parametrenin analizinde Stock ve Dormandy (1971) tarafından uygulanan yöntem esas alındı. Bu yöntem 95°C'de TBA'in MDA ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin spektrofotometrik ölçümüne dayanmaktadır. Bu yöntemle MDA aktivitesini tayin etmek için aşağıdaki reaktifler hazırlandı.

Fosfat tamponu ile tamponlanmış serum fizyolojik hazırlandı.

30 gr TCA bir miktar suda çözülerek hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

37.224 gr EDTA bir miktar distile suda çözüldü ve hacmi 1litreye tamamlandı.

1 gr TBA 0.5 N NaOH'te çözüldü.

%0.088 lik BHT 10 ml etanol içinde çözüldü.

Numunelerde MDA analizleri Çizelge 3.7.'de belirtildiği şekilde yapıldı.

Çizelge 3.7. MDA analiz prosedürü

	Numune tüpü	Kör tüpü
Fosfat tamponu	800 µl	800 µl
Numune	200 µl	--
BHT	25 µl	25 µl
TCA	50 µl	50 µl
Vortexlenerek 20°C'de bekletildi.		
Kullanım esnasında erimesi beklendi ve daha sonra 2000 rpm de 15 dk santrifüj edilerek süpernatant alındı		
Süpernatant	1 ml	1 ml
EDTA	75 µl	75 µl
TBA	250 µl	250 µl
Tüpler karıştırıldı. Kaynar su banyosunda (95°C'de) 15 dk bekletildi		

İnkübasyon süresinin sonunda numuneler oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi. 532 ve 600 nm dalga boyunda köre karşı okutma yapıldı. Farklı dalga boylarında okutulan değerlerarasındaki fark dikkate alınarak hesaplamalar yapıldı.

Hesaplama:

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/L}) = \frac{\text{Absorbans} \times 10^6}{1.52 \times 10^5} \times \text{DF}$$

1.52×10^5 : Molar absorbtivite katsayısı

DF : Dilüsyon faktörü

10^6 : Molü, mikromole çevirme katsayısı

3.2.3.h. Total Antioksidan Kapasitesi (TAC)

TAC tesbitinde, ilk olarak Tomasch vd. (2001) tarafından uygulanan fotometrik yöntem

kullanıldı. Bu yöntem 2-2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sülfonat = ABTS⁺) radikal katyonunun oluşumunu inhibe edecek antioksidan kapasitenin tespitini temel almaktadır. Tespit işleminde Randox firması tarafından üretilen TAS (total antioxidant status) ticari kitleri kullanıldı (Erel 2004).

3.3. Fotoğrafik İşlemler

KKD, KA ve MN preparatlarından Olympus marka fotoğraf makinesi ile (100x) fotoğraflar çekildi. Fotoğraf çekimi için 125 ASA'lık ilforda PANF filmi kullanıldı.

3.4. İstatistiksel Yöntem

Çalışmadan elde edilen bulguların istatistiksel yönden değerlendirilmesinde S.P.S.S 11.5 programı kullanıldı. Ortalama SCE değerleri arasındaki değişimlerin değerlendirilmesinde One-way Anova ve Student's *t* testleri kullanıldı (Gonzales *et al.* 2006). Mikroçekirdek testi için elde edilen veriler χ^2 testi kullanılarak analiz edildi (Djelic *et al.* 2006). Kromozomal aberasyonlara ait tespit edilen ortalamaların gruplar arasındaki farklılıklarının belirlenmesi için Mann-Whitney U testi kullanıldı (Demiroğlu 2003).

SOD, CAT, GSH-Px, GST, GR, G-6-PDH enzim aktiviteleri ile toplam glutatyon, MDA ve TAK düzeylerinin kontrol ve muamele grupları arasında değişiklik gösterip göstermediği varyans analizi kullanılarak tespit edildi (Seymen *et al.* 2000; Bukowska and Kowalska 2004). Varyans analizi için one way Anova testlerinden Duncan ve Fisher's Least Significant Difference (LSD) testleri kullanıldı. Anlamlılık saptanan grup ve parametreleri için Student's *t* testi uygulandı. Elde edilen sonuçlar 0.1, 0,05, 0.01 ve 0.001 anlam seviyeleri göz önünde bulundurularak yorumlandı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Genetik Bulgular

Çalışmada *in vitro* koşullarda insan tam kan kültürleri test bileşikleri olarak belirlenen borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit için ortamdaki son konsantrasyonları 5, 10, 15, 20, 40, 50, 80, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mg/L olacak şekilde hazırlanan solusyonları ile muamele edilmiştir. Genetik araştırmalar kardeş-kromatid değişimi, mikroçekirdek ve kromozom aberasyonları testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kültürlerden elde edilen KKD/hücre, MÇ/1000 hücre ve KA/hücre değerleri üzerinden istatistiki hesaplamalar yapılarak sonuçlar tartışılmıştır.

4.1.1. Bor bileşiklerinin *in vitro* şartlarda kardeş-kromatid değişimi frekansı üzerine etkileri

Metafaz alanlarındaki KKD görünümleri şekil 4.1.1, 4.1.2, 4.1.3, 4.1.4 ve 4.1.5'te verilmiştir. *In vitro* koşullarda KKD değerleri, bütün konsantrasyonlar için 6.18 ± 1.16 - 6.87 ± 1.02 değerleri arasında bulunmuştur. Kontrol grupları için tespit edilen KKD/hücre değeri (6.30 ± 1.03) ile deney gruplarından elde edilen KKD/hücre değerleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. 400 mg/L konsantrasyonlarında boraks ve kolemanit ile 500 mg/L borik asit ve üleksit muamelesi yapılan kültürlerde üreme sağlanamamıştır. Diğer konsantrasyon aralıklarında kültürlerle uygulanan borik asit, boraks, kolemanit ve üleksitin hiçbir dozu kontrol grubuna kıyasla KKD frekansında belirgin değişikliğe yol açmamıştır. Test bileşiklerinin tam kan kültürlerinde konsantrasyonlara bağlı olarak ortaya koyduğu KKD değerleri borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit için sırasıyla Çizelge 4.1.1, 4.1.2, 4.1.3 ve 4.1.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.1.1. *İn vitro* koşullarda borik asitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KKD değerlerinin istatistiksel dağılımı

Kültür Tipleri	İncelenen toplam metafaz	Gözlenen toplam KKD	SCE/hücre $\pm$ S.S
Kontrol	340	2142	6.30 ± 1.03
5 mg/L	315	1970	6.25 ± 0.72
10 mg/L	319	1968	6.18 ± 1.16
20 mg/L	308	2007	6.52 ± 1.36
40 mg/L	320	2066	6.46 ± 0.96
50 mg/L	303	2024	6.68 ± 0.81
80 mg/L	315	2071	6.57 ± 1.50
100 mg/L	336	2225	6.62 ± 1.15
150 mg/L	310	1984	6.40 ± 1.14
200 mg/L	307	2036	6.63 ± 1.15
300 mg/L	322	2115	6.57 ± 1.02
400 mg/L	318	2052	6.45 ± 1.13
500 mg/L	-	-	-

$\pm$ S.S: Standart Sapma

Çizelge 4.1.2. *İn vitro* koşullarda boraksın konsantrasyonlara göre oluşturduğu KKD değerlerinin istatistiksel dağılımı

Kültür Tipleri	İncelenen toplam metafaz	Gözlenen toplam KKD	SCE/hücre $\pm$ S.S
Kontrol	340	2142	6.30 ± 1.03
5 mg/L	316	1966	6.22 ± 0.66
10 mg/L	322	2009	6.24 ± 1.11
20 mg/L	307	2026	6.60 ± 1.02
40 mg/L	332	2211	6.66 ± 0.93
50 mg/L	304	2070	6.81 ± 0.79
80 mg/L	321	2157	6.72 ± 1.37
100 mg/L	311	2074	6.67 ± 1.02
150 mg/L	305	2056	6.74 ± 0.71
200 mg/L	320	2119	6.62 ± 1.08
300 mg/L	308	2067	6.71 ± 0.92
400 mg/L	-	-	-

$\pm$ S.S: Standart Sapma

Çizelge 4.1.3. *İn vitro* koşullarda kolemanitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KKD değerlerinin istatistiksel dağılımı

Kültür Tipleri	İncelenen toplam metafaz	Gözlenen toplam KKD	SCE/hücre $\pm$ S.S
Kontrol	340	2142	6.30 ± 1.03
5 mg/L	326	2080	6.38 ± 0.67
10 mg/L	302	1921	6.36 ± 1.12
20 mg/L	324	2181	6.73 ± 0.99
40 mg/L	313	2088	6.67 ± 0.98
50 mg/L	304	2067	6.80 ± 0.86
80 mg/L	309	2112	6.83 ± 1.03
100 mg/L	306	2103	6.87 ± 1.02
150 mg/L	310	2084	6.72 ± 0.78
200 mg/L	323	2190	6.78 ± 0.98
300 mg/L	318	2164	6.80 ± 0.96
400 mg/L	-	-	-

$\pm$ S.S: Standart Sapma

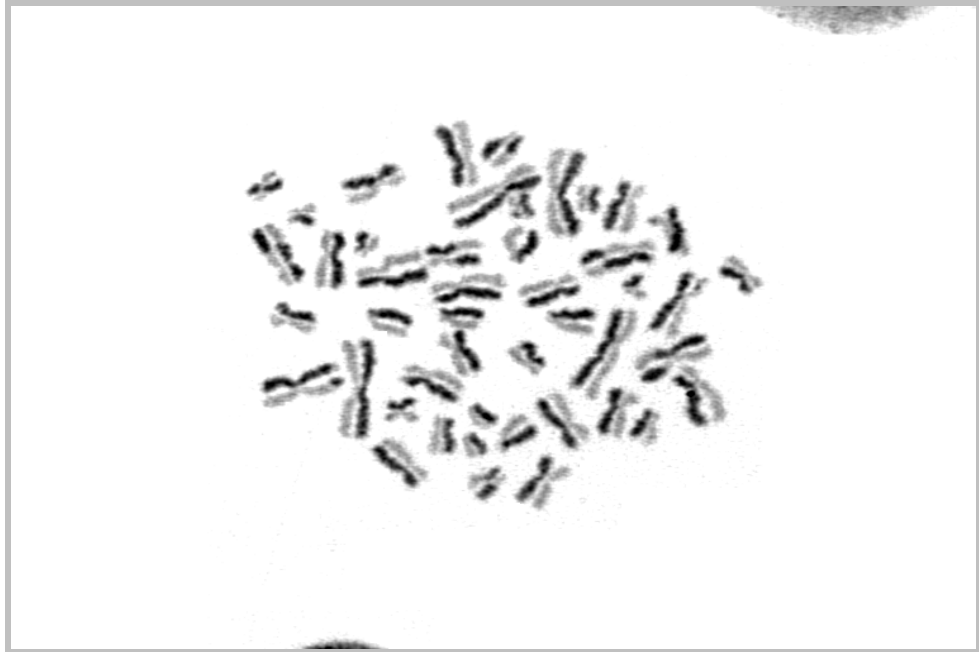
Çizelge 4.1.4. *İn vitro* koşullarda üleksitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KKD değerlerinin istatistiksel dağılımı

Kültür Tipleri	İncelenen toplam metafaz	Gözlenen toplam KKD	SCE/hücre $\pm$ S.S
Kontrol	340	2142	6.30 ± 1.03
5 mg/L	326	1995	6.12 ± 0.82
10 mg/L	338	2096	6.20 ± 1.25
20 mg/L	329	2145	6.52 ± 1.16
40 mg/L	310	2006	6.47 ± 0.86
50 mg/L	337	2191	6.50 ± 0.70
80 mg/L	325	2162	6.65 ± 1.22
100 mg/L	313	2056	6.57 ± 1.08
150 mg/L	334	2120	6.35 ± 1.20
200 mg/L	326	2139	6.56 ± 0.98
300 mg/L	309	1953	6.32 ± 1.00
400 mg/L	320	2062	6.44 ± 0.96
500 mg/L	-	-	-

$\pm$ S.S: Standart Sapma



Şekil 4.1.1. Kontrol grubu (bor bileşikleri ile muamele edilmemiş) insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı (1000x)



Şekil 4.1.2. 500 mg/L konsantrasyonda borik asit uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı (1000x)



Şekil 4.1.3. 400 mg/L konsantrasyonda boraks uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı (1000x)



Şekil 4.1.4. 400 mg/L konsantrasyonda kolemanit Uygulanmış İnsan Lenfosit Hücre Kromozomlarında KKD dağılımı (1000x)



Şekil 4.1.5. 500 mg/L konsantrasyonda üleksit uygulanmış insan lenfosit hücre kromozomlarında KKD dağılımı (1000x)

4.1.2. Bor bileşiklerinin *in vitro* şartlarda mikroçekirdek sıklığı üzerine etkileri

In vitro koşullarda MÇ/1000 hücre değerleri, bütün konsantrasyonlar için 1.56 ve 1.95 değerleri arasında bulunmuştur. Kontrol grupları için tespit edilen MÇ/1000 hücre değeri (1.82) ile deney gruplarından elde edilen MÇ/1000 değerleri arasında istatistiki açıdan herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Farklı konsantrasyonlarda kültürlerle uygulanan borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit hiçbir dozda kontrol grubuna kıyasla MÇ sıklığında belirgin değişikliğe yol açmamıştır. KKD test tekniğine uygun olarak hazırlanan kültürlerde olduğu gibi 400 mg/L konsantrasyonlarında boraks ve kolemanit muamelesi ile 500 mg/L borik asit ve üleksit muamelesi yapılan kültürlerde üreme sağlanamamıştır. Bor bileşiklerinin tam kan kültürlerinde konsantrasyonlara bağlı olarak ortaya koyduğu MÇ/1000 hücre değerleri borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit için sırasıyla Çizelge 4.1.5, 4.1.6, 4.1.7 ve 4.1.8’de gösterilmiştir. Mikroçekirdek test tekniğine uygun olarak hazırlanmış preparatlardan elde edilen örnek MÇ fotoğrafları şekil 4.1.6, 4.1.7, 4.1.8, 4.1.9 ve 4.1.10’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.1.5. *In vitro* koşullarda borik asitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre ve MÇ sayısına göre ÇÇH (çift çekirdekli hücre) dağılımı

Kültür tipleri	Sayılan toplam ÇÇH	MÇ sayısına göre ÇÇH dağılımı				MÇ/1000 hücre
		0	1	2	3	
Kontrol	11920	11899	21	0	0	1.82
5 mg/L	11347	11327	20	0	0	1.76
10 mg/L	10911	10891	20	0	0	1.83
20 mg/L	10230	10211	19	0	0	1.85
40 mg/L	10096	10077	19	0	0	1.88
50 mg/L	11025	11004	21	0	0	1.90
80 mg/L	11286	11265	20	1	0	1.86
100 mg/L	10713	10693	19	1	0	1.87
150 mg/L	10263	10244	19	0	0	1.85
200 mg/L	10835	10814	21	0	0	1.94
300 mg/L	10442	10422	20	0	0	1.91
400 mg/L	10736	10716	20	0	0	1.86
500 mg/L	--	--	--	--	--	--

Çizelge 4.1.6. *İn vitro* koşullarda boraksın konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre ve MÇ sayısına göre ÇÇH (çift çekirdekli hücre) dağılımı

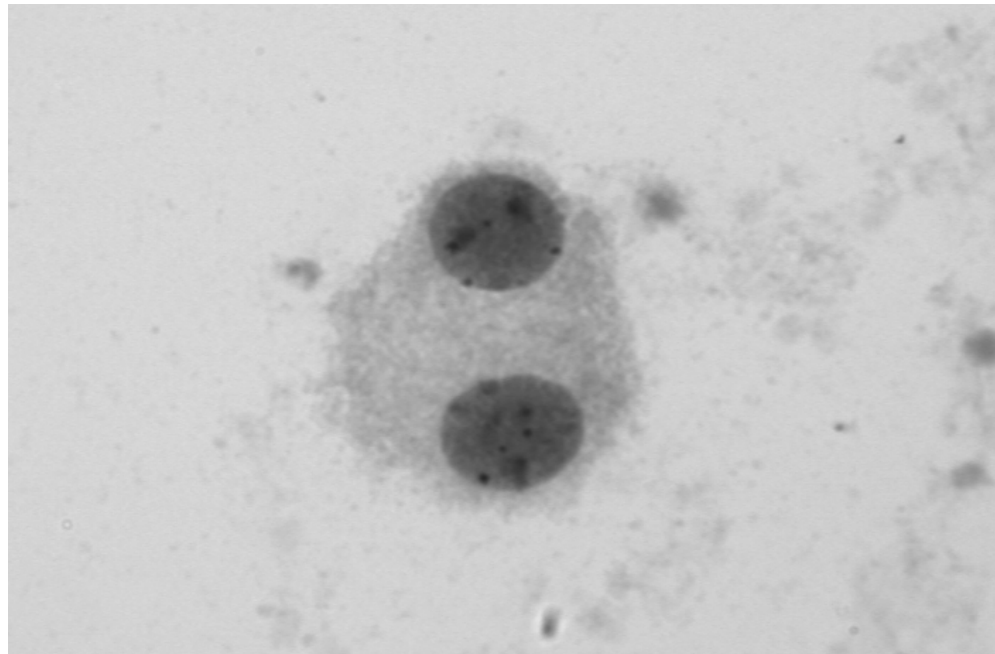
Kültür tipleri	Sayılan toplam ÇÇH	MÇ sayısına göre ÇÇH dağılımı				MÇ/1000 hücre
		0	1	2	3	
Kontrol	11920	11899	21	0	0	1.82
5 mg/L	11322	11302	20	0	0	1.77
10 mg/L	10845	10826	19	0	0	1.75
20 mg/L	10204	10185	19	0	0	1.86
40 mg/L	10860	10840	20	0	0	1.84
50 mg/L	11455	11434	20	1	0	1.83
80 mg/L	10443	10424	19	0	0	1.82
100 mg/L	10621	10601	19	1	0	1.88
150 mg/L	10178	10159	19	0	0	1.87
200 mg/L	10989	10968	19	2	0	1.91
300 mg/L	10136	10117	18	1	0	1.87
400 mg/L	--	--	--	--	--	--

Çizelge 4.1.7. *İn vitro* koşullarda kolemanitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre ve MÇ sayısına göre ÇÇH (çift çekirdekli hücre) dağılımı

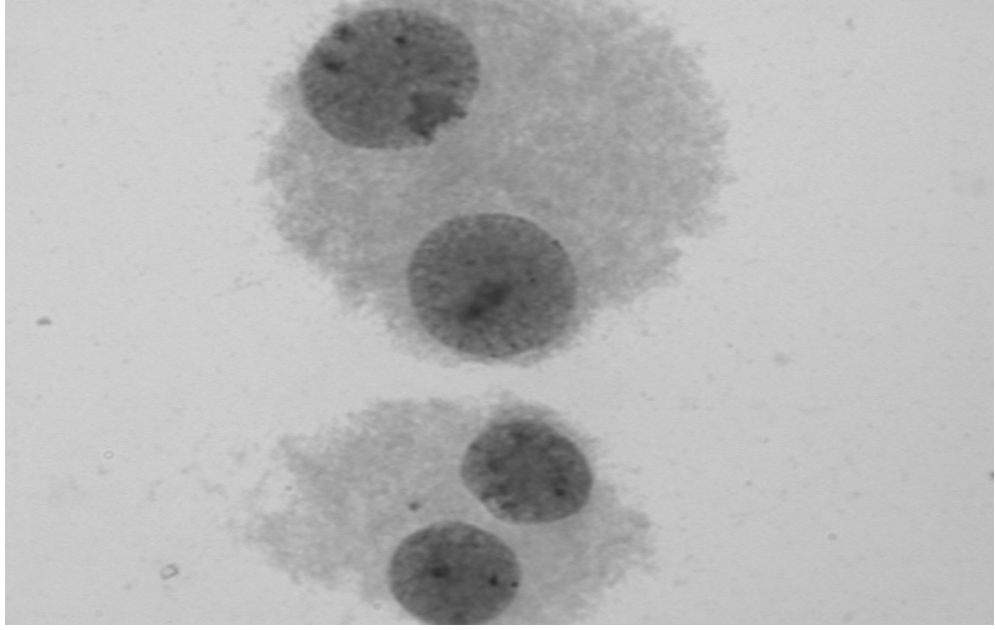
Kültür tipleri	Sayılan toplam ÇÇH	MÇ sayısına göre ÇÇH dağılımı				MÇ/1000 hücre
		0	1	2	3	
Kontrol	11920	11899	21	0	0	1.82
5 mg/L	10518	10499	19	0	0	1.80
10 mg/L	11423	11402	21	0	0	1.84
20 mg/L	10117	10099	18	0	0	1.78
40 mg/L	11238	11219	19	1	0	1.78
50 mg/L	10566	10546	20	0	0	1.89
80 mg/L	11755	11733	22	0	0	1.87
100 mg/L	10344	10324	19	1	0	1.93
150 mg/L	10866	10845	20	1	0	1.93
200 mg/L	11288	11266	22	0	0	1.95
300 mg/L	10712	10692	19	1	0	1.87
400 mg/L	--	--	--	--	--	--

Çizelge 4.1.8. *İn vitro* koşullarda üleksitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre ve MÇ sayısına göre ÇÇH (çift çekirdekli hücre) dağılımı

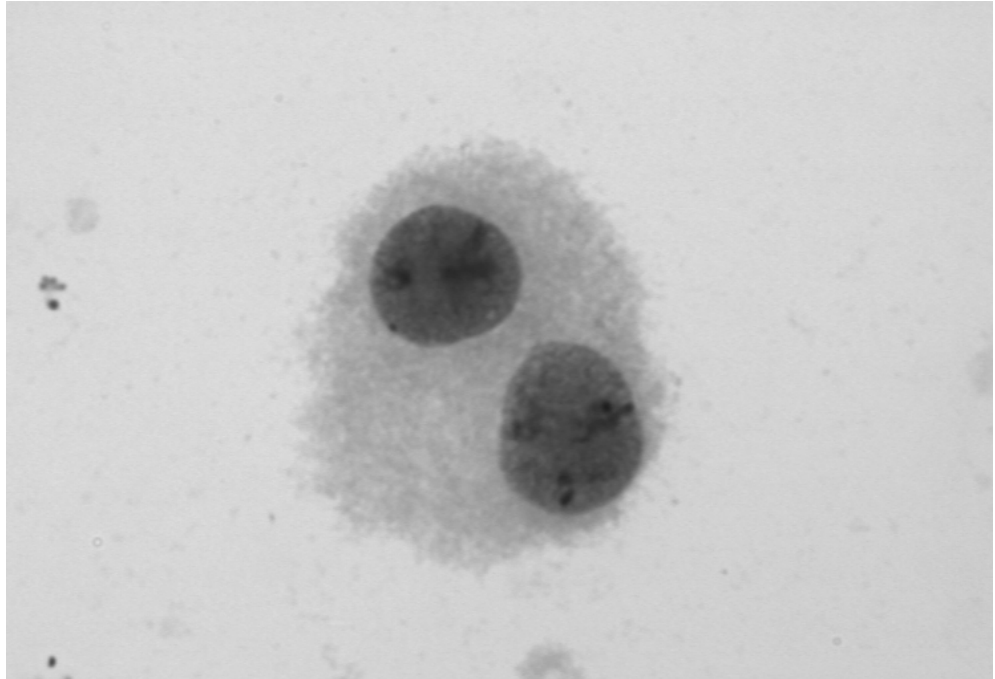
Kültür tipleri	Sayılan toplam ÇÇH	MÇ sayısına göre ÇÇH dağılımı				MÇ/1000 hücre
		0	1	2	3	
Kontrol	11920	11899	21	0	0	1.82
5 mg/L	10542	10525	17	0	0	1.61
10 mg/L	10454	10436	18	0	0	1.72
20 mg/L	10690	10670	20	0	0	1.87
40 mg/L	10385	10362	18	0	0	1.73
50 mg/L	10426	10408	20	1	0	1.91
80 mg/L	11035	11014	21	0	0	1.90
100 mg/L	10860	10843	16	1	0	1.56
150 mg/L	11108	11086	21	0	0	1.89
200 mg/L	10325	10308	17	0	0	1.64
300 mg/L	10780	10763	16	1	0	1.57
400 mg/L	10254	10236	18	0	0	1.75
500 mg/L	--	--	--	--	--	--



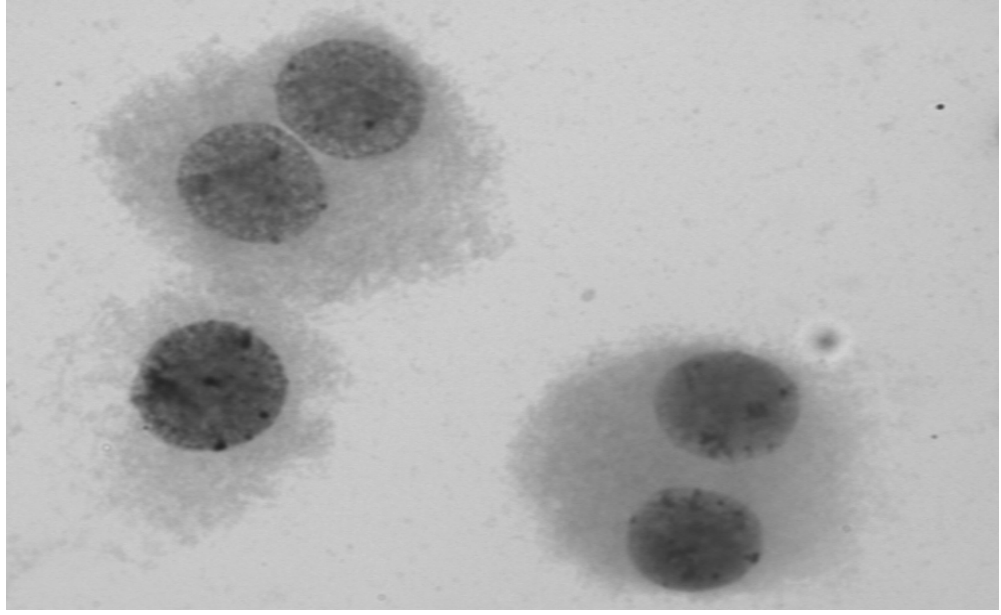
Şekil 4.1.6. Kontrol grubu (bor bileşikleri ile muamele edilmemiş) insan lenfosit hücrelerinde örnek binükleotid hücre fotoğrafı (1000x)



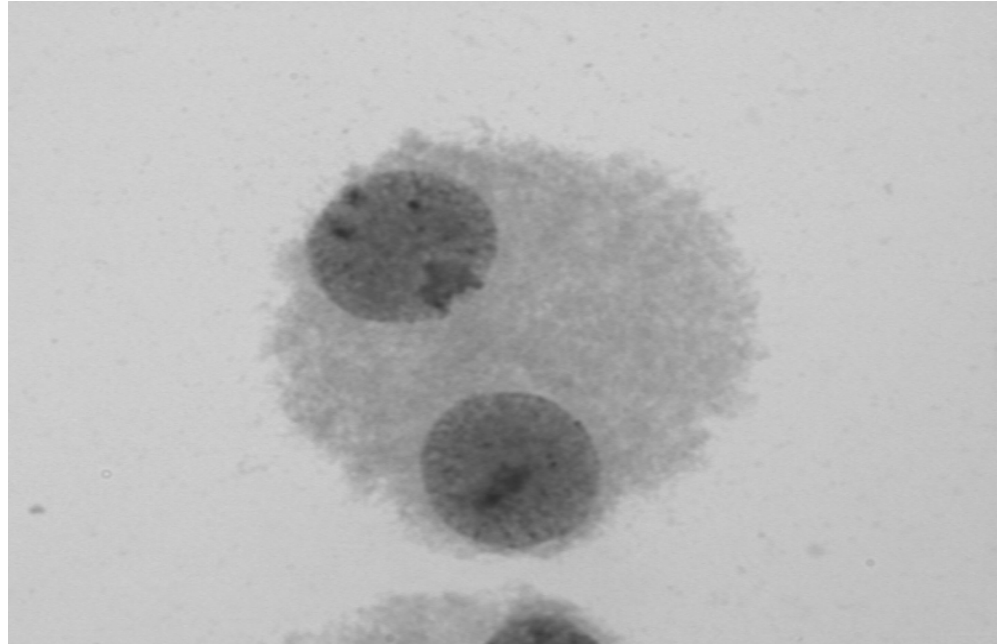
Şekil 4.1.7. 500 mg/L borik asit uygulanmış insan lenfosit hücrelerinde örnek binükleotid hücre fotoğrafı (1000x)



Şekil 4.1.8. 400 mg/L boraks uygulanmış insan lenfosit hücrelerinde örnek binükleotid hücre fotoğrafı (1000x)



Şekil 4.1.9. 400 mg/L kolemanit uygulanmış insan lenfosit hücrelerinde örnek binükleotid hücre fotoğrafı (1000x)



Şekil 4.1.10. 500 mg/L üleksit uygulanmış insan lenfosit hücrelerinde örnek binükleotid hücre fotoğrafı (1000x)

4.1.3. Bor bileşiklerinin *in vitro* şartlarda kromozomal aberasyon sıklıkları üzerine etkileri

İn vitro koşullarda kromatid ve kromozom tipi aberasyonların (gap ve kırık) araştırıldığı KA testi sonuçları KA/hücre değerlerinin tüm uygulama dozları için 0.13 ± 0.02 ve 0.20 ± 0.04 değerleri arasında olduğunu göstermiştir. Geniş konsantrasyon aralıklarında kültürle uygulanan borik asit, boraks, kolemanit ve üleksitin hiçbir dozu kontrol grubuna (0.18 ± 0.03) kıyasla KA sıklığında belirgin artışa yol açmamıştır. Ancak 400 mg/L konsantrasyonlarında boraks ve kolemanit muamelesi ile 500 mg/L borik asit ve üleksit muamelesi yapılan kültürlerde metafaz plağı veya kromozom elde edilememiştir.

Test edilen bor bileşiklerinin tam kan kültürlerinde konsantrasyonlara bağlı olarak ortaya koyduğu KA/hücre değerleri borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit için sırasıyla Çizelge 4.1.9, 4.1.10, 4.1.11 ve 4.1.12’de gösterilmiştir. Ayrıca, metafaz alanlarındaki KA görünümleri şekil 4.1.11, 4.1.12, 4.1.13, 4.1.14 ve 4.1.15’te verilmiştir.

Çizelge 4.1.9. *In vitro* koşullarda borik asitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KA değerlerinin istatistiksel dağılımı

Kültür tipleri	Kromatid tipi		Kromozom tipi		KA/hücre $\pm$ S.S
	Gap	Kırık	Gap	Kırık	
Kontrol	0.40	0.20	0.10	0	0.18 ± 0.03
5 mg/L	0.40	0.30	0.	0	0.18 ± 0.03
10 mg/L	0.20	0.30	0.10	0	0.15 ± 0.02
20 mg/L	0.10	0.30	0	0.10	0.13 ± 0.02
40 mg/L	0.40	0.10	0.20	0	0.18 ± 0.03
50 mg/L	0.40	0.10	0.	0.10	0.15 ± 0.02
80 mg/L	0.20	0.40	0.10	0	0.18 ± 0.03
100 mg/L	0.20	0.40	0.10	0	0.18 ± 0.03
150 mg/L	0.30	0.30	0.10	0.10	0.20 ± 0.04
200 mg/L	0.50	0.20	0	0	0.18 ± 0.03
300 mg/L	0.40	0.30	0.10	0	0.20 ± 0.04
400 mg/L	0.30	0.20	0.10	0.10	0.18 ± 0.03
500 mg/L	--	--	--	--	--

$\pm$ S.S: Standart Sapma

Çizelge 4.1.10. *İn vitro* koşullarda boraksın konsantrasyonlara göre oluşturduğu KA değerlerinin istatistiksel dağılımı

Kültür tipleri	Kromatid tipi		Kromozom tipi		KA/hücre $\pm$ S.S
	Gap	Kırık	Gap	Kırık	
Kontrol	0.40	0.20	0.10	0	0.18 ± 0.03
5 mg/L	0.20	0.30	0.10	0	0.15 ± 0.02
10 mg/L	0.20	0.30	0	0	0.13 ± 0.02
20 mg/L	0.40	0.20	0	0.10	0.18 ± 0.03
40 mg/L	0.40	0.10	0.20	0	0.18 ± 0.03
50 mg/L	0.40	0.30	0.10	0	0.20 ± 0.04
80 mg/L	0.40	0.40	0	0	0.20 ± 0.04
100 mg/L	0.30	0.10	0.20	0	0.15 ± 0.02
150 mg/L	0.20	0.40	0.10	0	0.18 ± 0.03
200 mg/L	0.20	0.30	0.10	0.10	0.18 ± 0.03
300 mg/L	0.30	0.30	0.10	0.10	0.20 ± 0.04
400 mg/L	--	--	--	--	--

$\pm$ S.S: Standart Sapma

Çizelge 4.1.11. *İn vitro* koşullarda kolemanitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KA değerlerinin istatistiksel dağılımı

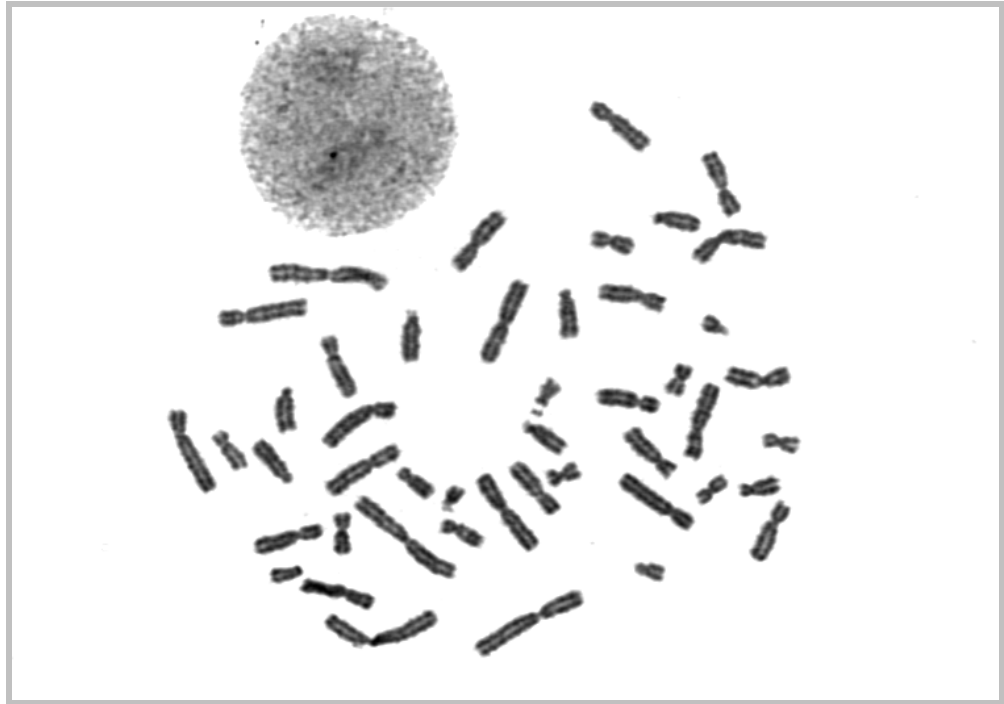
Kültür tipleri	Kromatid tipi		Kromozom tipi		KA/hücre $\pm$ S.S
	Gap	Kırık	Gap	Kırık	
Kontrol	0.40	0.20	0.10	0	0.18 ± 0.03
5 mg/L	0.30	0.20	0.10	0	0.15 ± 0.02
10 mg/L	0.50	0.10	0	0	0.15 ± 0.02
20 mg/L	0.20	0.40	0.10	0	0.18 ± 0.03
40 mg/L	0.10	0.30	0.20	0	0.15 ± 0.02
50 mg/L	0.40	0.30	0.10	0	0.20 ± 0.04
80 mg/L	0.30	0.30	0	0	0.15 ± 0.02
100 mg/L	0.30	0.20	0.10	0.10	0.18 ± 0.03
150 mg/L	0.50	0.10	0.10	0.10	0.20 ± 0.04
200 mg/L	0.40	0.30	0	0	0.18 ± 0.03
300 mg/L	0.40	0.40	0	0	0.20 ± 0.04
400 mg/L	--	--	--	--	--

$\pm$ S.S: Standart Sapma

Çizelge 4.1.12. *İn vitro* koşullarda üleksitin konsantrasyonlara göre oluşturduğu KA değerlerinin istatistiksel dağılımı

Kültür tipleri	Kromatid tipi		Kromozom tipi		KA/hücre $\pm$ S.S
	Gap	Kırık	Gap	Kırık	
Kontrol	0.40	0.20	0.10	0	0.18 ± 0.03
5 mg/L	0.30	0.30	0.20	0	0.20 ± 0.04
10 mg/L	0.30	0.10	0.20	0	0.15 ± 0.02
20 mg/L	0.40	0.10	0.20	0	0.18 ± 0.03
40 mg/L	0.30	0.20	0.10	0	0.15 ± 0.02
50 mg/L	0.30	0.10	0.10	0.10	0.15 ± 0.02
80 mg/L	0.20	0.30	0.10	0	0.15 ± 0.02
100 mg/L	0.40	0.20	0.10	0	0.18 ± 0.03
150 mg/L	0.20	0.40	0.10	0	0.18 ± 0.03
200 mg/L	0.20	0.50	0	0	0.18 ± 0.03
300 mg/L	0.30	0.30	0	0	0.15 ± 0.02
400 mg/L	0.30	0.20	0.10	0.10	0.18 ± 0.03
500 mg/L	--	--	--	--	--

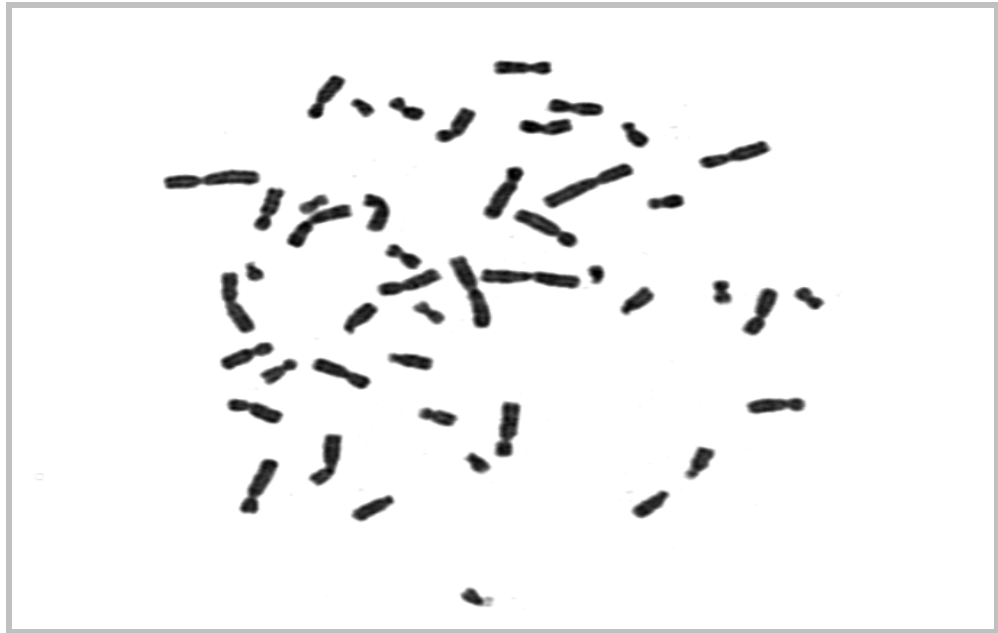
$\pm$ S.S: Standart Sapma



Şekil 4.1.11. Kontrol grubu (bor bileşikleri ile muamele edilmemiş) insan lenfosit hücre metafaz plağı örneği (1000x)



Şekil 4.1.12. 500 mg/L borik asit uygulanmış insan lenfosit hücre metafaz plağı örneği (1000x)



Şekil 4.1.13. 400 mg/L boraks uygulanmış insan lenfosit hücre metafaz plağı örneği (1000x)



Şekil 4.1.14. 400 mg/L kolemanit uygulanmış insan lenfosit hücre metafaz plağı örneği (1000x)



Şekil 4.1.15. 500 mg/L üleksit uygulanmış insan lenfosit hücre metafaz plağı örneği (1000x)

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Test bileşiklerinin doza bağılı olarak *in vitro* kan kültürleri üzerine biyokimyasal etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla eritrositlerde SOD, CAT, GSH-Px, GST, G-6-PDH antioksidan enzim aktiviteleri, toplam glutatyon ve MDA seviyeleri ile toplam antioksidan kapasitesi (TAK) ölçüldü.

4.2.1. *İn vitro* şartlarda insan eritrosit SOD aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında borik asit, boraks, kolemanit ve üleksitin 5, 10 ve 15 mg/L konsantrasyonlarının eritrosit SOD aktivitesini belirgin bir şekilde artırdığı saptanmıştır. Bunun yanı sıra 20 mg/L borik asitin ($P<0.05$) ve üleksitin ($P<0.01$) SOD aktivitesini artırdığı, aynı konsantrasyonda boraks ($P>0.1$) ve kolemanitin ($P>0.1$) ise enzim aktivitesini etkilemediği tespit edilmiştir. 50 mg/L dozlarında kültürle uygulanan borik asit ($P<0.05$) boraks ($P<0.05$) ve kolemanit ($P<0.001$) SOD aktivitesinde belirgin azalmalara neden olmuştur. Buna karşın 50 mg/L üleksit uygulanan gruplarda SOD aktivitesinin etkilenmediği ancak 80 mg/L ($P<0.05$) ve üzerindeki dozlarda üleksitin SOD aktivitesini olumsuz etkilediği gözlenmiştir. Çalışılan bor bileşiklerinin eritrosit SOD aktivitesi üzerine etkileri Çizelge 4.2.1, 4.2.2, 4.2.3, 4.2.4, 4.2.5 ve 4.2.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.1. Borik asitin eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	SOD Aktivitesi (U/ml)	% aktivite
Kontrol	98.10 ± 6.75 ^d	100
5 mg/L	108.74 ± 9.07 ^{b,****}	110.84
10 mg/L	116.10 ± 8.49 ^{a,****}	118.34
15 mg/L	105.50 ± 6.77 ^{bc,**}	107.54
20 mg/L	104.80 ± 8.03 ^{bc,**}	106.82
40 mg/L	99.70 ± 4.93 ^{cd}	101.63
50 mg/L	91.90 ± 5.80 ^{e,**}	93.67
80 mg/L	90.60 ± 7.08 ^{e,**}	92.35
100 mg/L	82.60 ± 7.55 ^{f,****}	84.20
150 mg/L	78.20 ± 4.56 ^{fg,****}	79.71
200 mg/L	75.70 ± 4.83 ^{g,****}	77.16
300 mg/L	74.60 ± 5.50 ^{g,****}	76.04
400 mg/L	71.90 ± 5.32 ^{g,****}	73.29
500 mg/L	72.90 ± 6.48 ^{g,****}	74.32

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.2. Boraksın eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	SOD Aktivitesi (U/ml)	% aktivite
Kontrol	98.10 ± 6.75 ^c	100
5 mg/L	107.40 ± 7.82 ^{ab,***}	109.48
10 mg/L	112.20 ± 8.16 ^{a,****}	114.37
15 mg/L	104.50 ± 6.68 ^{b,**}	106.52
20 mg/L	97.60 ± 4.92 ^{cd}	99.49
40 mg/L	95.70 ± 4.96 ^{cd}	97.55
50 mg/L	92.60 ± 3.95 ^{cd,**}	94.39
80 mg/L	92.10 ± 6.38 ^{d,**}	93.88
100 mg/L	81.70 ± 6.34 ^{e,****}	83.28
150 mg/L	76.10 ± 5.35 ^{f,****}	77.57
200 mg/L	69.40 ± 4.85 ^{g,****}	70.74
300 mg/L	68.40 ± 5.91 ^{gh,****}	69.72
400 mg/L	63.50 ± 4.03 ^{ghi,****}	64.73
500 mg/L	61.78 ± 4.14 ^{i,****}	62.98

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.3. Kolemanitin eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	SOD Aktivitesi (U/ml)	% aktivite
Kontrol	98.10 ± 6.75 ^b	100
5 mg/L	107.70 ± 7.27 ^{a,****}	109.78
10 mg/L	103.90 ± 6.32 ^{a,**}	105.91
15 mg/L	104.10 ± 5.19 ^{a,**}	106.11
20 mg/L	96.10 ± 5.51 ^b	97.96
40 mg/L	93.80 ± 4.49 ^b	95.61
50 mg/L	87.50 ± 5.21 ^{c,****}	89.19
80 mg/L	85.60 ± 5.76 ^{c,****}	87.25
100 mg/L	79.10 ± 7.03 ^{d,****}	80.63
150 mg/L	72.38 ± 4.22 ^{e,****}	73.79
200 mg/L	66.80 ± 5.69 ^{f,****}	68.09
300 mg/L	63.40 ± 4.81 ^{fg,****}	64.62
400 mg/L	61.90 ± 4.85 ^{fg,****}	63.09
500 mg/L	59.70 ± 6.43 ^{g,****}	60.85

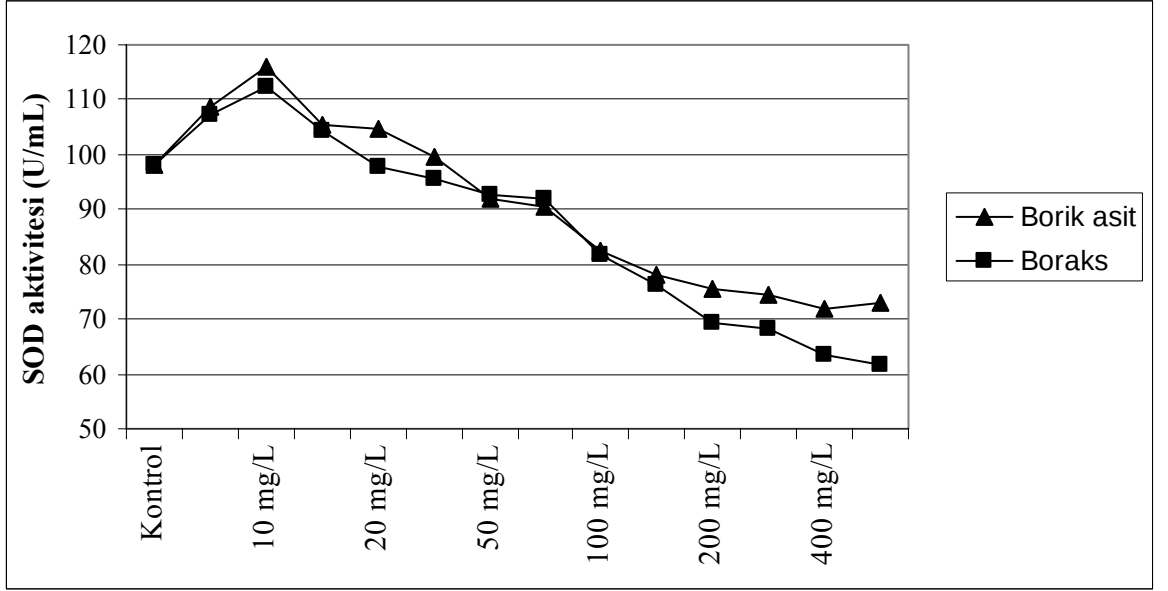
Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.4. Üleksitin eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi

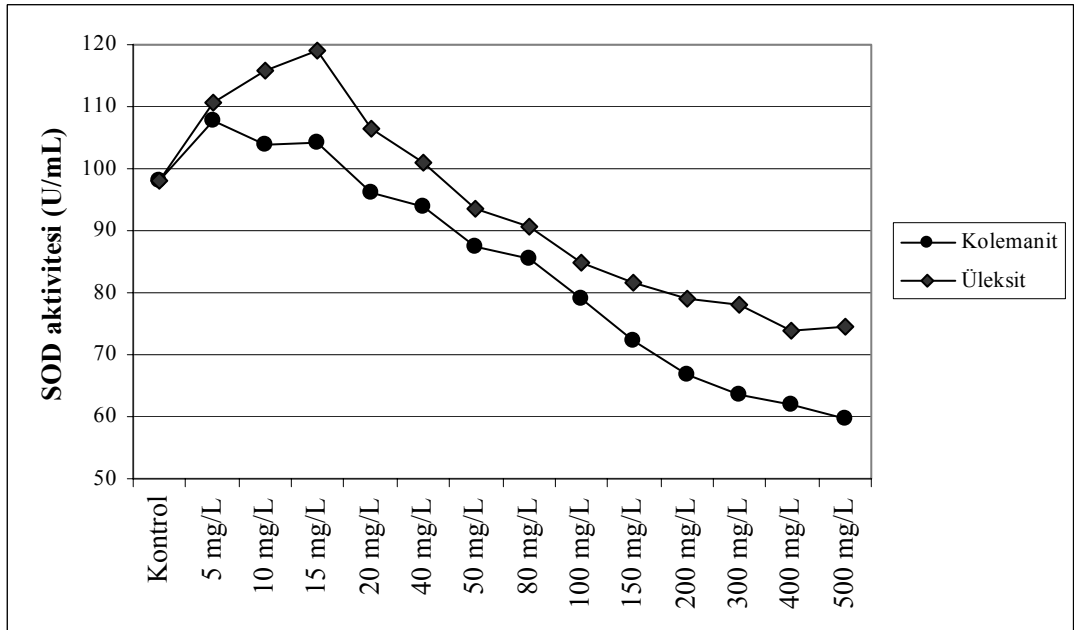
Gruplar	SOD Aktivitesi (U/ml)	% aktivite
Kontrol	98.10 ± 6.75 ^{ef}	100
5 mg/L	110.60 ± 6.85 ^{bc,****}	112.74
10 mg/L	115.80 ± 9.00 ^{ab,****}	118.04
15 mg/L	119.10 ± 7.99 ^{a,****}	121.40
20 mg/L	106.30 ± 8.02 ^{cd,***}	108.36
40 mg/L	101.10 ± 5.25 ^{de}	103.05
50 mg/L	93.60 ± 4.47 ^{fg}	95.41
80 mg/L	90.50 ± 5.08 ^{gh,**}	92.25
100 mg/L	84.80 ± 7.81 ^{hi,****}	86.44
150 mg/L	81.60 ± 5.91 ^{ij,****}	83.18
200 mg/L	79.00 ± 5.33 ^{ijk,****}	80.53
300 mg/L	78.20 ± 5.47 ^{jk,****}	79.71
400 mg/L	73.80 ± 5.45 ^{k,****}	75.23
500 mg/L	74.60 ± 5.94 ^{k,****}	76.04

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.5. Borik asit ve boraksın eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



Çizelge 4.2.6. Kolemanit ve üleksitin eritrosit SOD aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



4.2.2. *İn vitro* şartlarda insan eritrosit CAT aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri

Çalışılan bor bileşiklerinin eritrosit CAT aktivitesi üzerine etki düzeylerinin birbirlerinden farklı olduğu tespit edilmiştir. Kolemanit ve boraksın 15 mg/L'ye, borik asitin 20 mg/L'ye ve üleksitin de 40 mg/L'ye kadar olan dozlarının CAT enzim aktivitesi üzerinde olumlu etkileri olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte belirli dozlarda borik asit (40, 50 ve 80 mg/L), boraks (20, 40 ve 50 mg/L), kolemanit (20 ve 40 mg/L) ve üleksitin (50 ve 80 mg/L) enzim aktivitesi üzerinde etkili olmadıkları görülmüştür. CAT aktivitesi üzerinde olumsuz etkilerin görülmeye başladığı dozlar borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit için sırasıyla 100 mg/L ($P<0.1$), 80 mg/L ($P<0.1$), 50 mg/L ($P<0.1$) ve 100 mg/L ($P<0.1$) olarak tespit edilmiştir.

Araştırmada kullanılan bor bileşiklerinin eritrosit CAT aktivitesi üzerine etkileri Çizelge 4.2.7, 4.2.8, 4.2.9, 4.2.10, 4.2.11 ve 4.2.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.7. Borik asitin eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	CAT Aktivitesi (U/g Hb)	% aktivite
Kontrol	278.90 ± 17.16 ^{bcd}	100
5 mg/L	298.60 ± 21.94 ^{ab,**}	107.06
10 mg/L	304.40 ± 22.38 ^{a,***}	109.14
15 mg/L	299.70 ± 21.76 ^{ab,**}	107.46
20 mg/L	296.10 ± 22.16 ^{ab,*}	106.17
40 mg/L	281.80 ± 22.43 ^{bc}	101.03
50 mg/L	286.80 ± 21.58 ^{abc}	102.82
80 mg/L	269.40 ± 20.57 ^{cde}	96.59
100 mg/L	260.80 ± 21.19 ^{cde,*}	94.69
150 mg/L	258.40 ± 21.56 ^{e,**}	92.65
200 mg/L	257.70 ± 20.96 ^{e,**}	92.39
300 mg/L	253.50 ± 20.72 ^{e,***}	90.89
400 mg/L	249.40 ± 21.59 ^{e,***}	89.42
500 mg/L	248.90 ± 21.65 ^{e,***}	89.24

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol grubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.8. Boraksın eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	CAT Aktivitesi (U/g Hb)	% aktivite
Kontrol	278.90 ± 17.16 ^{bc}	100
5 mg/L	296.90 ± 20.88 ^{ab,*}	106.45
10 mg/L	302.80 ± 22.36 ^{a,**}	108.56
15 mg/L	301.20 ± 22.30 ^{a,**}	107.99
20 mg/L	284.80 ± 21.07 ^{ab}	102.11
40 mg/L	277.60 ± 22.67 ^{bc}	99.53
50 mg/L	274.80 ± 20.95 ^{bcd}	98.52
80 mg/L	261.20 ± 21.33 ^{cde,*}	93.65
100 mg/L	259.50 ± 21.64 ^{cde,*}	93.04
150 mg/L	257.20 ± 20.75 ^{cde,**}	92.22
200 mg/L	252.90 ± 20.18 ^{de,**}	90.68
300 mg/L	249.80 ± 19.21 ^{e,***}	89.57
400 mg/L	246.50 ± 20.10 ^{e,***}	88.38
500 mg/L	241.70 ± 20.36 ^{e,****}	86.66

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.9. Kolemanitin eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	CAT Aktivitesi (U/g Hb)	% aktivite
Kontrol	278.90 ± 17.16 ^{bc}	100
5 mg/L	297.70 ± 18.90 ^{ab,*}	106.74
10 mg/L	306.40 ± 20.48 ^{a,***}	109.86
15 mg/L	298.40 ± 22.23 ^{ab,**}	106.94
20 mg/L	279.80 ± 21.65 ^{bc}	100.32
40 mg/L	276.60 ± 21.45 ^c	99.18
50 mg/L	260.70 ± 20.90 ^{cd,*}	93.47
80 mg/L	260.20 ± 19.84 ^{cd,*}	93.29
100 mg/L	254.20 ± 20.30 ^{d,**}	91.14
150 mg/L	252.80 ± 20.44 ^{d,***}	90.68
200 mg/L	248.30 ± 21.32 ^{d,***}	89.03
300 mg/L	245.50 ± 17.92 ^{d,***}	88.02
400 mg/L	243.50 ± 21.18 ^{d,****}	87.30
500 mg/L	238.80 ± 20.75 ^{d,****}	85.62

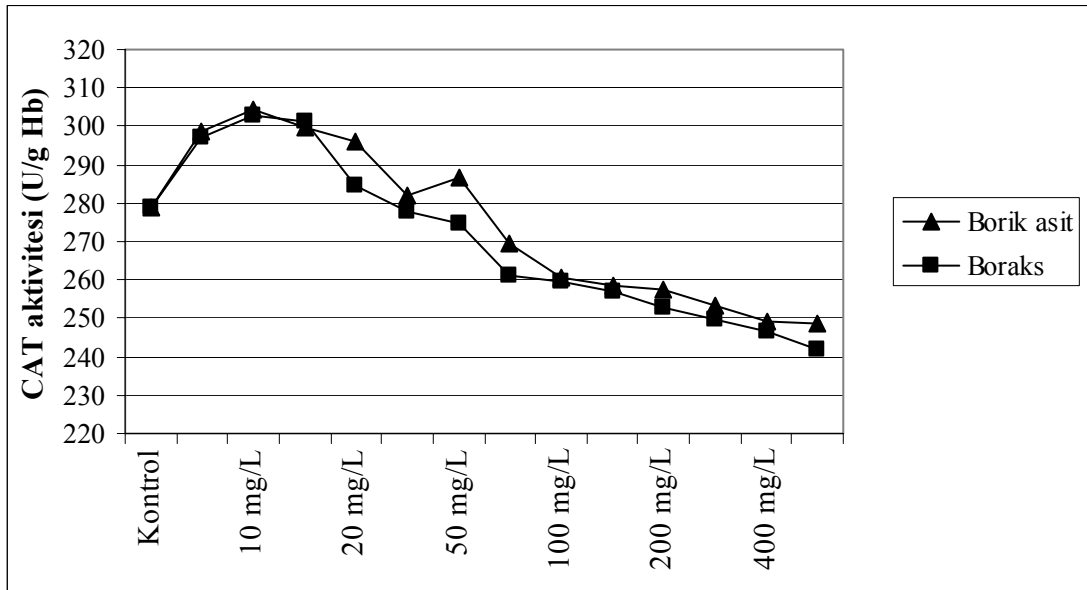
Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.10. Üleksitin eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi

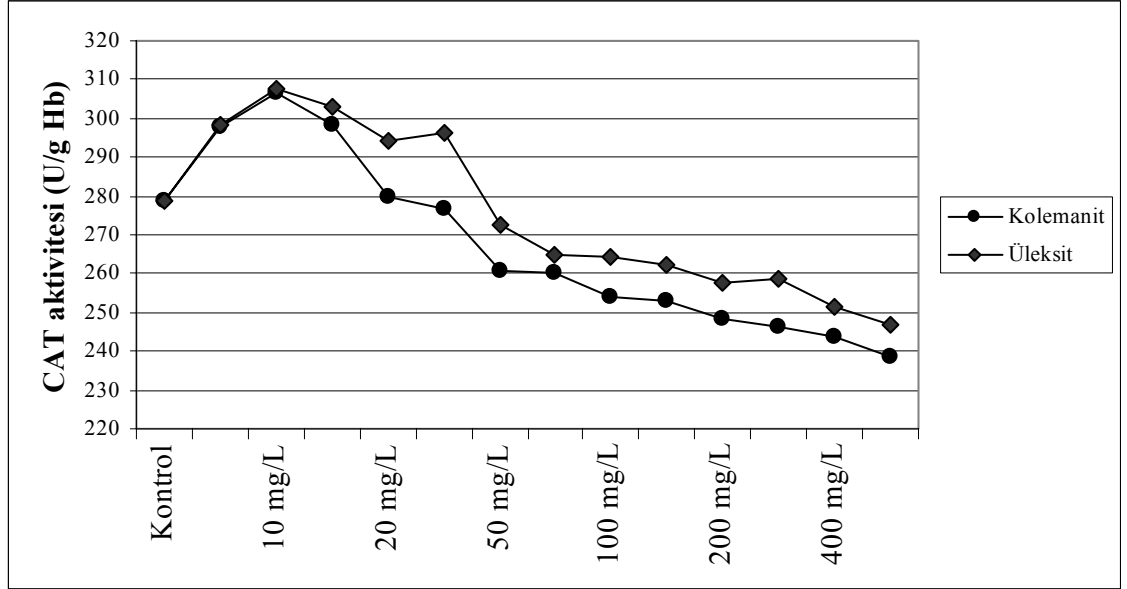
Gruplar	CAT Aktivitesi (U/g Hb)	% aktivite
Kontrol	278.90 ± 17.16 ^{bc}	100
5 mg/L	298.50 ± 21.27 ^{ab,**}	107.02
10 mg/L	307.40 ± 23.12 ^{a,***}	110.21
15 mg/L	303.20 ± 22.38 ^{a,***}	108.71
20 mg/L	294.30 ± 22.61 ^{ab,*}	105.52
40 mg/L	296.10 ± 21.71 ^{ab,*}	106.16
50 mg/L	272.70 ± 20.07 ^{cd}	97.77
80 mg/L	264.70 ± 19.24 ^{cde}	94.91
100 mg/L	264.10 ± 18.71 ^{cde,*}	94.69
150 mg/L	262.20 ± 18.06 ^{cde,*}	94.01
200 mg/L	257.80 ± 18.87 ^{de,**}	92.43
300 mg/L	258.60 ± 19.04 ^{de,**}	92.72
400 mg/L	251.70 ± 20.14 ^{e,***}	90.25
500 mg/L	246.60 ± 20.57 ^{e,****}	88.41

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.11. Borik asit ve boraksın eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



Çizelge 4.2.12. Kolemanit ve üleksitin eritrosit CAT aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



4.2.3. *İn vitro* şartlarda insan eritrosit GSH-Px aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri

Çalışılan tüm bor bileşiklerinin düşük dozlarda (5, 10 ve 15 mg/L) eritrosit GSH-Px aktivitesini artırdığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, 20 mg/L borik asit, boraks ve kolemanit muamelesi *in vitro* şartlarda GSH-Px aktivitesinde değişikliğe yol açmamıştır. Ancak 20 mg/L üleksit muamelesi enzim aktivitesinde belirgin bir artışa ($P<0.05$) neden olmuştur. Eritrosit GSH-Px aktivitesinin düşmeye başladığı konsantrasyonlar borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit için sırasıyla 50 mg/L ($P<0.1$), 40 mg/L ($P<0.05$), 40 mg/L ($P<0.1$) ve 50 mg/L ($P<0.05$) olarak tespit edilmiştir.

Bor bileşiklerinin eritrosit GSH-Px aktivitesi üzerine etkileri Çizelge 4.2.13, 4.2.14, 4.2.15, 4.2.16, 4.2.17 ve 4.2.18’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.13. Borik asitin eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	GSH-Px Aktivitesi (U/L)	% aktivite
Kontrol	9866.40 ± 558.98 ^c	100
5 mg/L	10434.50 ± 562.01 ^{b,**}	105.76
10 mg/L	11461.50 ± 596.62 ^{a,****}	116.17
15 mg/L	10475.60 ± 598.54 ^{b,**}	106.17
20 mg/L	9808.50 ± 555.86 ^c	99.41
40 mg/L	9749.40 ± 538.99 ^{cd}	98.81
50 mg/L	9397.20 ± 519.21 ^{cde,*}	95.24
80 mg/L	9271.60 ± 504.15 ^{de,**}	93.97
100 mg/L	9280.00 ± 497.46 ^{de,**}	94.05
150 mg/L	9084.80 ± 478.98 ^{e,***}	92.08
200 mg/L	8887.90 ± 460.37 ^{e,****}	90.08
300 mg/L	8330.80 ± 461.89 ^{f,****}	84.43
400 mg/L	8054.30 ± 481.43 ^{f,****}	81.63
500 mg/L	7925.40 ± 463.74 ^{f,****}	80.32

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.14. Boraksın eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	GSH-Px Aktivitesi (U/L)	% aktivite
Kontrol	9866.40 ± 558.98 ^b	100
5 mg/L	10288.40 ± 588.13 ^{ab,*}	104.28
10 mg/L	10326.80 ± 591.72 ^{ab,**}	104.66
15 mg/L	10487.60 ± 584.56 ^{a,***}	106.29
20 mg/L	9923.60 ± 544.20 ^b	100.58
40 mg/L	9416.60 ± 535.77 ^{c,**}	95.44
50 mg/L	9253.10 ± 512.18 ^{c,***}	93.78
80 mg/L	9110.50 ± 497.46 ^{cd,***}	92.34
100 mg/L	9047.20 ± 489.95 ^{cd,****}	91.70
150 mg/L	8932.10 ± 472.68 ^{cd,****}	90.53
200 mg/L	8716.70 ± 481.42 ^{d,****}	88.35
300 mg/L	8142.50 ± 472.51 ^{e,****}	82.53
400 mg/L	7888.10 ± 469.92 ^{ef,****}	79.95
500 mg/L	7476.30 ± 466.35 ^{f,****}	75.77

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.15. Kolemanitin eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	GSH-Px Aktivitesi (U/L)	% aktivite
Kontrol	9866.40 ± 558.98 ^b	100
5 mg/L	10389.20 ± 574.25 ^{a,**}	105.29
10 mg/L	10428.60 ± 577.28 ^{a,**}	105.70
15 mg/L	10370.60 ± 587.20 ^{a,**}	105.11
20 mg/L	9653.10 ± 510.47 ^{bc}	97.84
40 mg/L	9475.90 ± 522.18 ^{bcd,*}	96.04
50 mg/L	9277.60 ± 519.71 ^{cde,*}	94.03
80 mg/L	9069.10 ± 515.54 ^{de,***}	91.92
100 mg/L	8857.50 ± 481.14 ^{ef,****}	89.97
150 mg/L	8530.80 ± 473.70 ^{fg,****}	86.46
200 mg/L	8224.60 ± 464.67 ^{gh,****}	83.35
300 mg/L	7867.60 ± 464.99 ^{hi,****}	79.74
400 mg/L	7684.40 ± 475.27 ^{ij,****}	77.88
500 mg/L	7390.50 ± 469.71 ^{j,****}	74.91

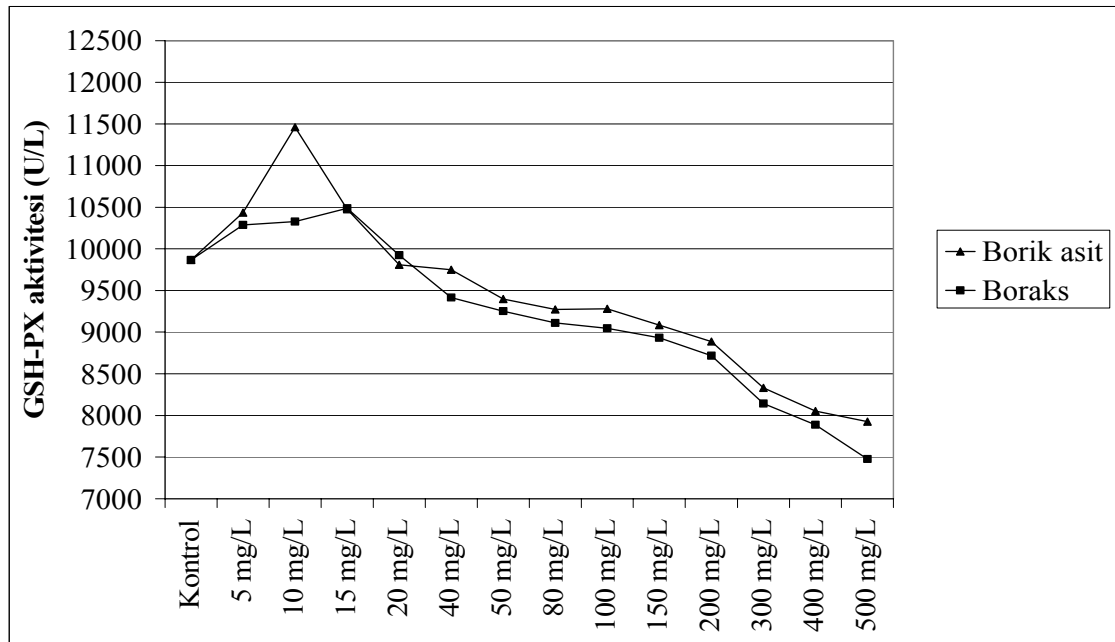
Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.16. Üleksitin eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi

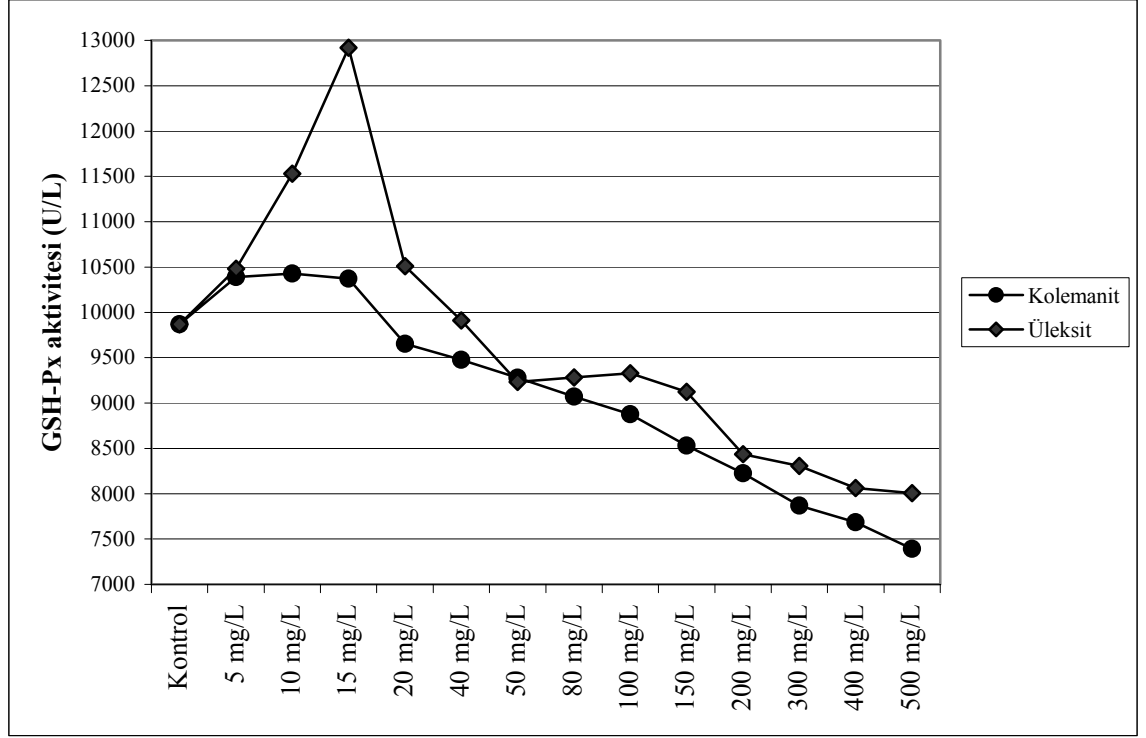
Gruplar	GSH-Px Aktivitesi (U/L)	% aktivite
Kontrol	9866.40 ± 558.98 ^d	100
5 mg/L	10483.10 ± 581.05 ^{c,**}	106.25
10 mg/L	11530.80 ± 605.26 ^{b,****}	116.87
15 mg/L	12920.50 ± 642.76 ^{a,****}	130.95
20 mg/L	10511.40 ± 557.88 ^{c,**}	106.54
40 mg/L	9908.60 ± 537.48 ^d	100.43
50 mg/L	9231.90 ± 525.94 ^{e,**}	93.57
80 mg/L	9283.80 ± 518.11 ^{e,**}	94.09
100 mg/L	9327.40 ± 520.38 ^{e,**}	94.54
150 mg/L	9123.40 ± 509.09 ^{e,****}	92.47
200 mg/L	8437.30 ± 471.45 ^{f,****}	85.51
300 mg/L	8306.30 ± 475.08 ^{f,****}	84.19
400 mg/L	8061.60 ± 460.28 ^{f,****}	81.70
500 mg/L	8004.80 ± 458.47 ^{f,****}	81.13

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.17. Borik asit ve boraksın eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



Çizelge 4.2.18. Kolemanit ve üleksitin eritrosit GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



4.2.4. *İn vitro* şartlarda insan eritrosit GST aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri

Kültürlere uygulanan dört farklı bor bileşiği de 5, 10 ve 15 mg/L konsantrasyonlarında eritrosit GST aktivitesini artırmıştır. Bu olumlu etkinin 20 mg/L borik asit ($P<0.05$) ile 20 ($P<0.05$) ve 40 mg/L ($P<0.1$) üleksit uygulamaları sonrasında da devam ettiği görülmüştür. Ancak bazı dozlarda borik asit (40, 50 ve 80 mg/L), boraks (20 ve 40 mg/L), kolemanit (20, 40 ve 50 mg/L) ve üleksit (50, 80 ve 100 mg/L) muameleleri GST enzim aktivitesi üzerinde etkili olmamıştır. Buna karşın, GST enzim aktivitesinin olumsuz olarak etkilenmeye başladığı konsantrasyonlar borik asit için 100 mg/L ($P<0.05$), boraks için 50 mg/L ($P<0.1$), kolemanit için 80 mg/L ($P<0.05$) ve üleksit için 150 mg/L ($P<0.1$) olarak tespit edilmiştir. Bor bileşiklerinin eritrosit GST aktivitesi üzerine etkileri Çizelge 4.2.19, 4.2.20, 4.2.21, 4.2.22, 4.2.23 ve 4.2.24'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.19. Borik asitin eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	GST Aktivitesi ($\mu\text{mol/g Hb}$)	% aktivite
Kontrol	$29.13 \pm 3.29^{\text{de}}$	100
5 mg/L	$32.63 \pm 4.45^{\text{cd},**}$	112.01
10 mg/L	$36.62 \pm 4.73^{\text{b},****}$	125.71
15 mg/L	$40.03 \pm 4.25^{\text{a},****}$	137.42
20 mg/L	$32.79 \pm 3.90^{\text{c},**}$	112.56
40 mg/L	$30.76 \pm 3.14^{\text{cd}}$	105.59
50 mg/L	$27.39 \pm 4.07^{\text{ef}}$	94.02
80 mg/L	$26.24 \pm 4.13^{\text{ef}}$	90.08
100 mg/L	$25.30 \pm 3.29^{\text{fg},**}$	86.85
150 mg/L	$25.03 \pm 3.17^{\text{fg},**}$	85.93
200 mg/L	$24.93 \pm 3.81^{\text{fgh},**}$	85.58
300 mg/L	$22.33 \pm 3.75^{\text{gh},****}$	76.65
400 mg/L	$21.31 \pm 3.97^{\text{h},****}$	73.15
500 mg/L	$21.70 \pm 3.56^{\text{gh},****}$	74.49

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.20. Boraksın eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	GST Aktivitesi ($\mu\text{mol/g Hb}$)	% aktivite
Kontrol	$29.13 \pm 3.29^{\text{cde}}$	100
5 mg/L	$33.27 \pm 4.12^{\text{b,**}}$	114.21
10 mg/L	$32.81 \pm 4.40^{\text{bc,**}}$	112.63
15 mg/L	$37.86 \pm 3.71^{\text{a,****}}$	129.96
20 mg/L	$30.05 \pm 3.40^{\text{bcd}}$	103.16
40 mg/L	$27.88 \pm 4.57^{\text{def}}$	95.71
50 mg/L	$25.62 \pm 4.68^{\text{ef,*}}$	87.95
80 mg/L	$26.91 \pm 4.37^{\text{ef,*}}$	88.98
100 mg/L	$25.74 \pm 4.32^{\text{ef,*}}$	88.36
150 mg/L	$23.79 \pm 4.24^{\text{fg,***}}$	81.67
200 mg/L	$23.47 \pm 4.18^{\text{fg,***}}$	80.56
300 mg/L	$20.54 \pm 3.53^{\text{g,****}}$	70.51
400 mg/L	$20.15 \pm 3.52^{\text{g,****}}$	69.17
500 mg/L	$19.76 \pm 3.89^{\text{g,****}}$	67.83

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.21. Kolemanitin eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	GST Aktivitesi ($\mu\text{mol/g Hb}$)	% aktivite
Kontrol	$29.13 \pm 3.29^{\text{cd}}$	100
5 mg/L	$33.60 \pm 4.25^{\text{b,**}}$	115.34
10 mg/L	$38.12 \pm 3.37^{\text{a,***}}$	130.86
15 mg/L	$32.40 \pm 3.57^{\text{bc,*}}$	111.23
20 mg/L	$29.82 \pm 3.74^{\text{cd}}$	102.37
40 mg/L	$27.59 \pm 4.36^{\text{de}}$	94.71
50 mg/L	$26.82 \pm 4.48^{\text{def}}$	92.08
80 mg/L	$24.58 \pm 4.01^{\text{efg,**}}$	84.38
100 mg/L	$24.63 \pm 3.52^{\text{efg,**}}$	84.55
150 mg/L	$23.67 \pm 3.65^{\text{fgh,***}}$	81.26
200 mg/L	$21.28 \pm 3.15^{\text{ghi,****}}$	73.05
300 mg/L	$20.62 \pm 3.19^{\text{hi,****}}$	70.79
400 mg/L	$18.28 \pm 3.53^{\text{ij,****}}$	62.75
500 mg/L	$16.89 \pm 3.45^{\text{j,****}}$	57.98

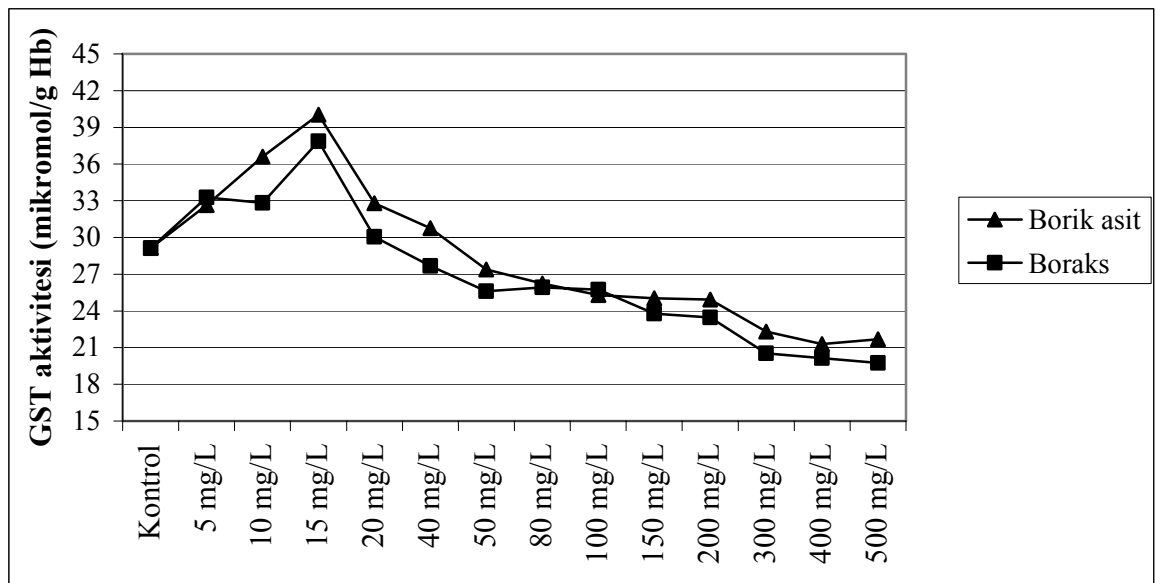
Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.22. Üleksitin eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi

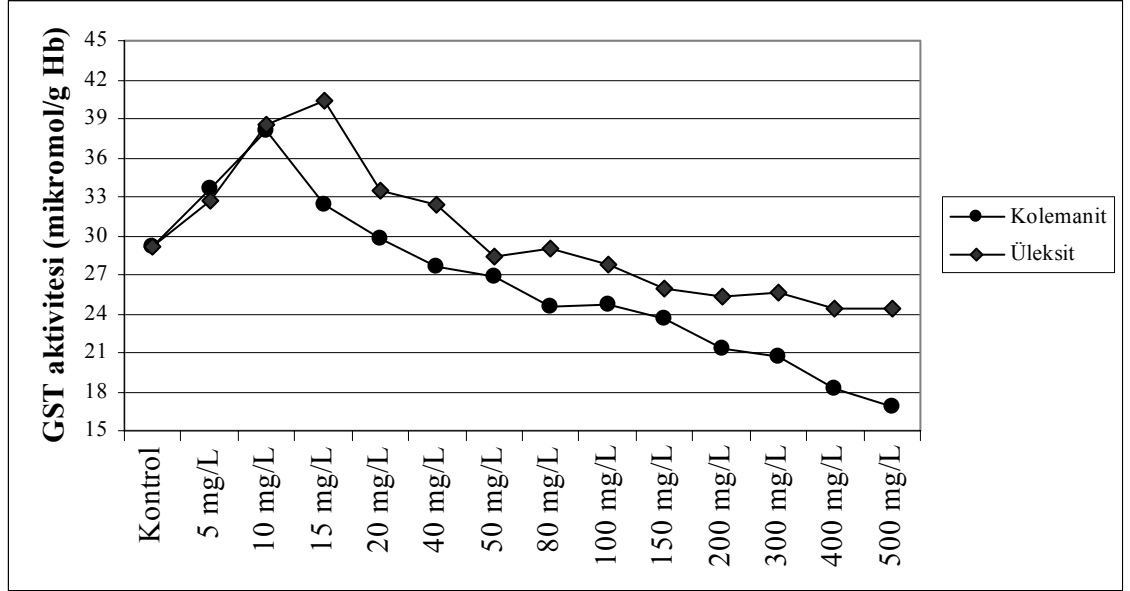
Gruplar	GST Aktivitesi ($\mu\text{mol/g Hb}$)	% aktivite
Kontrol	$29.13 \pm 3.29^{\text{de}}$	100
5 mg/L	$32.62 \pm 4.18^{\text{cd,**}}$	111.98
10 mg/L	$38.47 \pm 3.93^{\text{b,****}}$	132.06
15 mg/L	$40.41 \pm 4.69^{\text{a,****}}$	138.72
20 mg/L	$33.45 \pm 3.16^{\text{c,**}}$	114.83
40 mg/L	$32.39 \pm 3.11^{\text{cd,*}}$	111.19
50 mg/L	$28.36 \pm 3.58^{\text{e}}$	97.36
80 mg/L	$28.95 \pm 3.71^{\text{de}}$	99.38
100 mg/L	$27.79 \pm 3.74^{\text{ef}}$	95.40
150 mg/L	$25.91 \pm 3.63^{\text{ef,*}}$	88.94
200 mg/L	$25.30 \pm 3.52^{\text{ef,**}}$	86.85
300 mg/L	$25.65 \pm 3.61^{\text{ef,**}}$	88.05
400 mg/L	$24.34 \pm 3.39^{\text{f,***}}$	83.56
500 mg/L	$24.41 \pm 3.47^{\text{f,***}}$	83.79

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P < 0.05$). * = $P < 0.1$, ** = $P < 0.05$, *** = $P < 0.01$, **** = $P < 0.001$ anlam seviyelerinde kontrol grubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.23. Borik asit ve boraksın eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



Çizelge 4.2.24. Kolemanit ve üleksitin eritrosit GST aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



4.2.5. *In vitro* şartlarda insan eritrosit G-6-PDH aktivitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri

15 mg/L ve daha düşük dozlarda (5 ve 10 mg/L) borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit muameleleri *in vitro* koşullarda eritrosit G-6-PDH aktivitesinde istatistiki açıdan önemli kabul edilen artışlara neden olmuştur. Bununla birlikte, 20 mg/L boraksın ($p>0.1$) ve kolemanitin ($p>0.1$) enzim aktivitesinde belirgin değişikliklere yol açmadığı, aynı konsantrasyonlarda borik asit ($P<0.05$) ve üleksitin ($P<0.001$) ise enzim aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir. Kültür ortamlarına 40 ve 50 mg/L borik asit, 40 mg/L boraks ile 40, 50 ve 80 mg/L konsantrasyonlarında üleksit ilaveleri neticesinde G-6-PDH enzim aktivitesinde önemli değişiklikler gözlenmemiştir. Buna karşın G-6-PDH enzim aktivitesinin azaldığı konsantrasyonların borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit bileşikleri için sırasıyla 80 mg/L ($P<0.05$), 50 mg/L ($P<0.05$), 40 mg/L ($P<0.1$) ve 100 mg/L ($P<0.05$) olarak tespit edilmiştir. Bor bileşiklerinin eritrosit G-6-PDH aktivitesi üzerine etkileri Çizelge 4.2.25, 4.2.26, 4.2.27, 4.2.28, 4.2.29 ve 4.2.30'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.25. Borik asitin eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	G-6-PDH Aktivitesi (mU/g Hb)	% aktivite
Kontrol	15.11 ± 0.76 ^b	100
5 mg/L	15.92 ± 0.85 ^{a,**}	105.36
10 mg/L	16.62 ± 0.77 ^{a,****}	109.99
15 mg/L	15.93 ± 0.72 ^{a,**}	105.43
20 mg/L	15.96 ± 0.81 ^{a,**}	105.62
40 mg/L	15.30 ± 0.65 ^b	101.25
50 mg/L	15.19 ± 0.67 ^b	100.52
80 mg/L	14.28 ± 0.63 ^{c,**}	94.50
100 mg/L	12.01 ± 0.66 ^{d,****}	79.48
150 mg/L	11.92 ± 0.71 ^{d,****}	78.88
200 mg/L	10.57 ± 0.59 ^{e,****}	69.95
300 mg/L	9.64 ± 0.69 ^{f,****}	63.80
400 mg/L	9.23 ± 0.53 ^{f,****}	61.09
500 mg/L	9.30 ± 0.62 ^{f,****}	61.54

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol grubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.26. Boraksın eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	G-6-PDH Aktivitesi (mU/g Hb)	% aktivite
Kontrol	15.11 ± 0.76 ^{bc}	100
5 mg/L	15.76 ± 0.81 ^{ab,*}	104.30
10 mg/L	15.87 ± 0.82 ^{a,**}	105.03
15 mg/L	15.90 ± 0.79 ^{a,**}	105.22
20 mg/L	15.27 ± 0.68 ^{bc}	101.06
40 mg/L	15.16 ± 0.57 ^{bc}	100.33
50 mg/L	14.34 ± 0.61 ^{d,**}	94.90
80 mg/L	12.18 ± 0.47 ^{e,****}	80.61
100 mg/L	11.57 ± 0.45 ^{e,****}	76.57
150 mg/L	10.36 ± 0.57 ^{f,****}	68.56
200 mg/L	9.94 ± 0.71 ^{f,****}	65.78
300 mg/L	9.22 ± 0.70 ^{g,****}	61.02
400 mg/L	9.12 ± 0.56 ^{g,****}	60.36
500 mg/L	9.05 ± 0.61 ^{g,****}	59.89

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.27. Kolemanitin eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi

Gruplar	G-6-PDH Aktivitesi (mU/g Hb)	% aktivite
Kontrol	15.11 ± 0.76 ^{bc}	100
5 mg/L	15.71 ± 0.79 ^{ab,*}	103.97
10 mg/L	15.84 ± 0.75 ^{a,**}	104.83
15 mg/L	15.81 ± 0.72 ^{a,**}	104.63
20 mg/L	14.94 ± 0.64 ^c	98.87
40 mg/L	14.58 ± 0.49 ^{cd,*}	96.49
50 mg/L	14.01 ± 0.74 ^{d,***}	92.72
80 mg/L	11.47 ± 0.56 ^{e,****}	75.91
100 mg/L	10.99 ± 0.56 ^{e,****}	72.73
150 mg/L	10.27 ± 0.65 ^{f,****}	67.97
200 mg/L	9.07 ± 0.59 ^{g,****}	60.02
300 mg/L	8.75 ± 0.70 ^{gh,****}	57.91
400 mg/L	8.36 ± 0.57 ^{h,****}	55.25
500 mg/L	8.21 ± 0.62 ^{h,****}	54.33

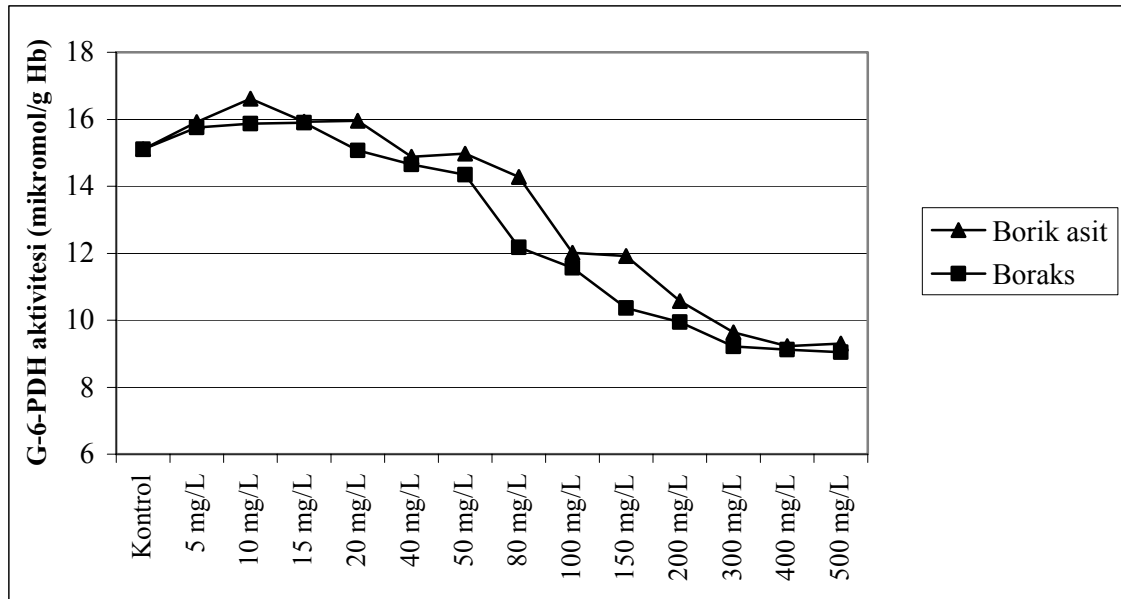
Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.28. Üleksitin eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi

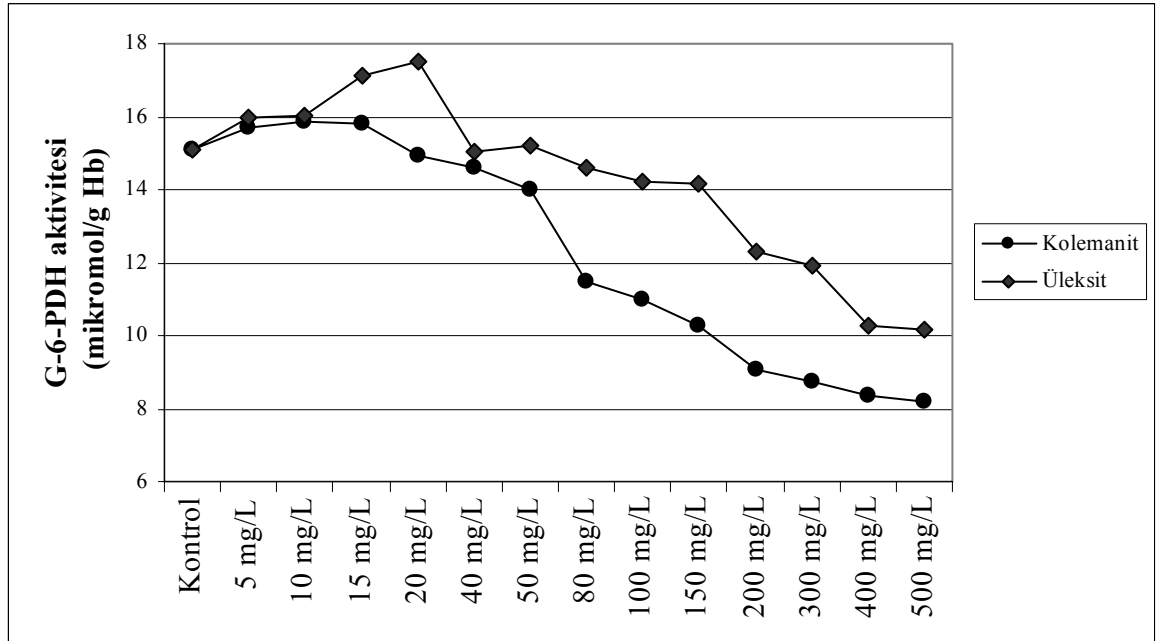
Gruplar	G-6-PDH Aktivitesi (mU/g Hb)	% aktivite
Kontrol	15.11 ± 0.76 ^d	100
5 mg/L	15.96 ± 0.83 ^{bc,**}	105.62
10 mg/L	16.05 ± 0.84 ^{b,**}	106.22
15 mg/L	17.13 ± 0.91 ^{a,****}	113.37
20 mg/L	17.52 ± 0.97 ^{a,****}	115.94
40 mg/L	15.03 ± 0.64 ^{de}	99.47
50 mg/L	15.18 ± 0.47 ^{cd}	100.46
80 mg/L	14.60 ± 0.54 ^{def}	96.62
100 mg/L	14.23 ± 0.52 ^{ef,**}	94.18
150 mg/L	14.16 ± 0.68 ^{f,**}	93.71
200 mg/L	12.29 ± 0.55 ^{g,****}	81.34
300 mg/L	11.93 ± 0.68 ^{g,****}	78.95
400 mg/L	10.25 ± 0.61 ^{h,****}	67.83
500 mg/L	10.14 ± 0.63 ^{h,****}	67.11

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.29. Borik asit ve boraksın eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



Çizelge 4.2.30. Kolemanit ve üleksitin eritrosit G-6-PDH aktiviteleri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



4.2.6. *İn vitro* şartlarda insan eritrosit total glutasyon miktarı üzerine bor bileşiklerinin etkileri

Farklı bor bileşiklerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen eritrosit hemolizatları üzerinde yapılan analiz sonuçları bütün bileşiklerin 5, 10 ve 15 mg/L konsantrasyonlarında total glutasyon miktarında artışlara neden olduğunu ortaya koymuştur. 20 ve 40 mg/L konsantrasyonlarında borik asit ve kolemanit muameleleri kültürlerdeki total glutasyon miktarı üzerinde etkili olmamıştır. Bununla birlikte, 20, 40 ve 50 mg/L boraks ve 40, 50 ve 80 mg/L üleksit uygulamalarının da benzer sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Buna karşılık, 80 mg/L borik asit ve boraks, 50 mg/L kolemanit ve 100 mg/L üleksit muameleleri total glutasyon miktarında istatistiki bakımdan önemli görülen ($P<0.05$) azalmalara neden olmuştur. Bu bileşiklerinin total glutasyon miktarı üzerine etkileri Çizelge 4.2.31, 4.2.32, 4.2.33, 4.2.34, 4.2.35 ve 4.2.36’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.31. Borik asitin eritrosit total glutasyon miktarı üzerine etkisi

Gruplar	Total Glutasyon Miktarı (mM/g Hb)	% miktar
Kontrol	56148.20 ± 3818.58 ^{de}	100
5 mg/L	61998.60 ± 3913.50 ^{bc,***}	110.41
10 mg/L	66149.20 ± 4566.25 ^{a,****}	117.81
15 mg/L	62708.60 ± 4642.51 ^{b,****}	111.68
20 mg/L	58632.80 ± 4296.54 ^{cd}	104.42
40 mg/L	54710.20 ± 3499.78 ^{ef}	97.44
50 mg/L	54198.80 ± 3926.09 ^{ef}	96.52
80 mg/L	52059.40 ± 3113.88 ^{fg,**}	92.71
100 mg/L	50323.60 ± 3349.68 ^{g,***}	89.62
150 mg/L	46494.80 ± 3272.01 ^{h,****}	82.80
200 mg/L	46688.30 ± 3075.79 ^{h,****}	83.15
300 mg/L	45931.40 ± 3270.55 ^{h,****}	81.80
400 mg/L	45749.70 ± 4022.90 ^{h,****}	81.47
500 mg/L	43224.50 ± 3507.77 ^{h,****}	76.98

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.32. Boraksın eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi

Gruplar	Total Glutatyon Miktarı (mM/g Hb)	% miktar
Kontrol	56148.20 ± 3818.58 ^b	100
5 mg/L	60057.40 ± 4408.69 ^{a,**}	106.96
10 mg/L	62919.50 ± 4667.33 ^{a,****}	112.05
15 mg/L	60395.10 ± 4561.57 ^{a,**}	107.56
20 mg/L	56349.70 ± 4190.69 ^b	100.03
40 mg/L	53790.30 ± 3464.07 ^{bc}	95.80
50 mg/L	53719.20 ± 3518.62 ^{bc}	95.67
80 mg/L	52081.10 ± 3147.08 ^{c,**}	92.75
100 mg/L	51969.90 ± 3311.77 ^{c,**}	92.55
150 mg/L	48442.60 ± 3488.82 ^{d,****}	86.27
200 mg/L	47908.10 ± 4101.34 ^{d,****}	85.32
300 mg/L	47513.50 ± 3550.68 ^{d,****}	84.62
400 mg/L	46151.70 ± 3881.92 ^{d,****}	82.19
500 mg/L	45609.10 ± 3975.66 ^{d,****}	81.23

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.33. Kolemanitin eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi

Gruplar	Total Glutatyon Miktarı (mM/g Hb)	% miktar
Kontrol	56148.20 ± 3818.58 ^{bc}	100
5 mg/L	59892.20 ± 4694.60 ^{a,**}	106.66
10 mg/L	61778.40 ± 4475.94 ^{a,****}	110.02
15 mg/L	59035.90 ± 3058.69 ^{ab,*}	105.14
20 mg/L	54445.70 ± 3412.44 ^{cd}	96.96
40 mg/L	53712.30 ± 3435.93 ^{cde}	95.66
50 mg/L	51888.50 ± 3229.96 ^{de,**}	92.41
80 mg/L	50398.10 ± 3251.14 ^{e,***}	89.75
100 mg/L	50289.20 ± 3273.41 ^{e,***}	89.56
150 mg/L	46010.60 ± 3671.99 ^{f,****}	81.94
200 mg/L	45617.70 ± 4239.14 ^{f,****}	81.24
300 mg/L	44830.60 ± 3937.32 ^{f,****}	79.84
400 mg/L	43359.50 ± 3399.34 ^{fg,****}	77.22
500 mg/L	41045.70 ± 3147.68 ^{g,****}	73.10

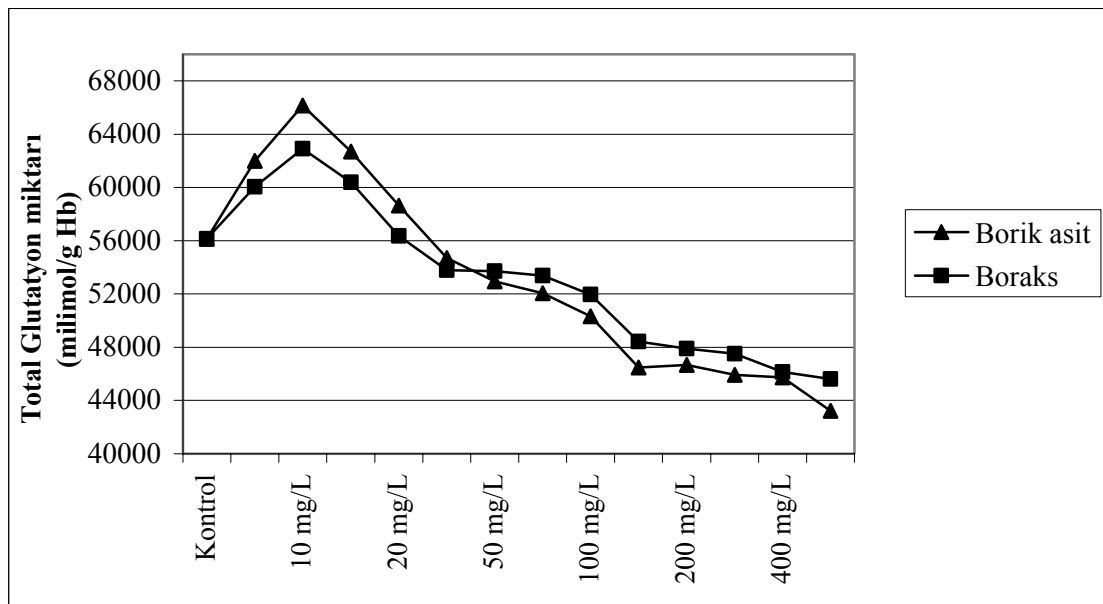
Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.34. Üleksitin eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi

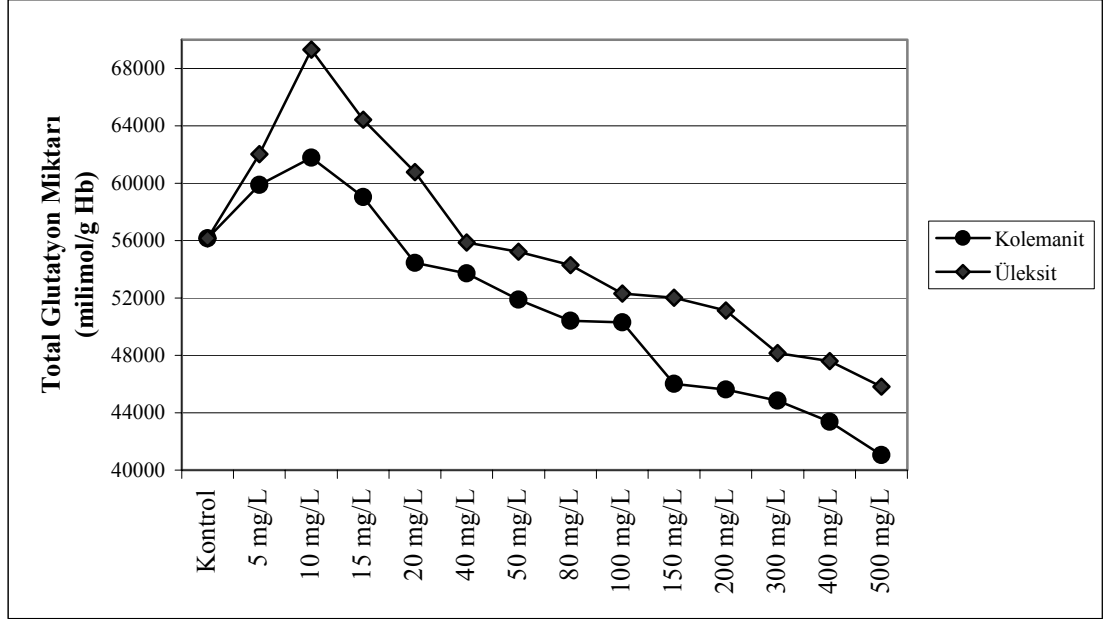
Gruplar	Total Glutasyon Miktarı (mM/g Hb)	% miktar
Kontrol	56148.20 ± 3818.58 ^c	100
5 mg/L	62014.10 ± 3806.37 ^{b,***}	110.44
10 mg/L	69315.60 ± 4347.51 ^{a,****}	123.45
15 mg/L	64435.70 ± 4324.27 ^{b,****}	114.75
20 mg/L	60764.60 ± 3158.19 ^{b,**}	108.22
40 mg/L	55860.40 ± 4595.97 ^{cd}	99.48
50 mg/L	55223.30 ± 4357.81 ^{cd}	98.35
80 mg/L	54290.30 ± 4329.36 ^{cde}	96.69
100 mg/L	52312.80 ± 3421.76 ^{cde,**}	93.16
150 mg/L	52015.50 ± 3778.54 ^{de,**}	92.64
200 mg/L	51131.20 ± 4615.39 ^{ef,***}	91.06
300 mg/L	48159.90 ± 3869.27 ^{fg,****}	85.77
400 mg/L	47594.20 ± 4250.65 ^{fg,****}	84.76
500 mg/L	45827.50 ± 3669.60 ^{h,****}	81.62

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.35. Borik asit ve boraksın eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



Çizelge 4.2.36. Kolemanit ve üleksitin eritrosit total glutatyon miktarı üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



4.2.7. *İn vitro* şartlarda eirtrosit MDA değeri üzerine bor bileşiklerinin etkileri

Tam kan kültürlerinden elde edilen eritrosit hemolizatları üzerinde yapılan ölçümler test edilen bor bileşiklerinin MDA düzeyleri üzerine etkilerinin birbirlerinden farklı olduğunu ortaya koymuştur. Borik asitin 50 mg/L'lik konsantrasyonlarına kadar MDA düzeyini etkilemediği ancak 80 mg/L ve üzeri konsantrasyonlarda MDA düzeyini artırdığı gözlenmiştir. Yine, boraks ve kolemanitin 20 mg/L'ye kadar olan dozları kültürlerde MDA düzeylerini değiştirmemiştir. Ancak boraksın 40 mg/L'den, kolemanitin ise 20 mg/L'den yüksek konsantrasyonları MDA düzeyini önemli derecede yükseltmiştir. Üleksit ise 100 mg/L ve üzeri konsantrasyonlarda MDA düzeyini belirgin olarak artırmıştır. Bor bileşikleri ile muamele edilen periferik kan kültürlerinde tespit edilen MDA düzeyleri Çizelge 4.2.37, 4.2.38, 4.2.39, 4.2.40, 4.2.41 ve 4.2.42'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.37. Borik asitin eritrosit MDA değeri üzerine etkisi

Gruplar	Eritrosit MDA düzeyi ($\mu\text{mol/L}$)	% değeri
Kontrol	355.30 $\pm$ 21.32 ^e	100
5 mg/L	351.20 $\pm$ 22.35 ^e	98.84
10 mg/L	350.40 $\pm$ 21.15 ^e	98.62
15 mg/L	354.10 $\pm$ 21.91 ^e	99.66
20 mg/L	355.90 $\pm$ 23.50 ^e	100.17
40 mg/L	361.50 $\pm$ 22.09 ^{de}	101.75
50 mg/L	365.30 $\pm$ 23.42 ^{de}	102.81
80 mg/L	370.30 $\pm$ 24.17 ^{cde,*}	104.22
100 mg/L	376.50 $\pm$ 22.81 ^{bcd,**}	105.97
150 mg/L	384.40 $\pm$ 23.47 ^{abc,***}	108.19
200 mg/L	388.40 $\pm$ 23.96 ^{abc,****}	109.32
300 mg/L	393.70 $\pm$ 24.76 ^{ab,****}	110.81
400 mg/L	394.10 $\pm$ 24.67 ^{ab,****}	110.92
500 mg/L	396.90 $\pm$ 25.18 ^{a,****}	111.70

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P < 0.05$). * = $P < 0.1$, ** = $P < 0.05$, *** = $P < 0.01$, **** = $P < 0.001$ anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.38. Boraksın eritrosit MDA değeri üzerine etkisi

Gruplar	Eritrosit MDA düzeyi ($\mu\text{mol/L}$)	% değeri
Kontrol	355.30 $\pm$ 21.32 ^{ef}	100
5 mg/L	353.40 $\pm$ 17.87 ^f	99.47
10 mg/L	353.90 $\pm$ 21.48 ^f	99.61
15 mg/L	358.80 $\pm$ 24.30 ^{def}	100.98
20 mg/L	360.70 $\pm$ 21.77 ^{def}	101.52
40 mg/L	371.30 $\pm$ 22.57 ^{cdef,*}	104.50
50 mg/L	372.90 $\pm$ 24.05 ^{cdef,*}	104.95
80 mg/L	376.20 $\pm$ 21.60 ^{bcde,**}	105.88
100 mg/L	378.10 $\pm$ 22.06 ^{bcd,**}	106.42
150 mg/L	386.20 $\pm$ 21.93 ^{abc,***}	108.70
200 mg/L	390.10 $\pm$ 24.35 ^{abc,****}	109.79
300 mg/L	395.30 $\pm$ 25.87 ^{ab,****}	111.26
400 mg/L	398.90 $\pm$ 23.93 ^{a,****}	112.27
500 mg/L	399.50 $\pm$ 25.66 ^{a,****}	112.44

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.39. Kolemanitin eritrosit MDA değeri üzerine etkisi

Gruplar	Eritrosit MDA düzeyi ($\mu\text{mol/L}$)	% değeri
Kontrol	355.30 $\pm$ 21.32 ^d	100
5 mg/L	357.80 $\pm$ 23.30 ^{cd}	100.70
10 mg/L	361.10 $\pm$ 24.15 ^{cd}	101.63
15 mg/L	362.70 $\pm$ 24.92 ^{cd}	102.08
20 mg/L	374.80 $\pm$ 25.37 ^{cd,*}	105.48
40 mg/L	375.50 $\pm$ 23.98 ^{cd,*}	105.69
50 mg/L	382.40 $\pm$ 25.29 ^{bc,**}	107.63
80 mg/L	382.10 $\pm$ 25.41 ^{bc,**}	107.54
100 mg/L	391.60 $\pm$ 24.05 ^{ab,***}	110.21
150 mg/L	394.60 $\pm$ 23.79 ^{ab,****}	111.06
200 mg/L	395.40 $\pm$ 23.70 ^{ab,****}	111.29
300 mg/L	401.20 $\pm$ 22.11 ^{a,****}	112.91
400 mg/L	403.70 $\pm$ 21.64 ^{a,****}	113.62
500 mg/L	406.30 $\pm$ 23.65 ^{a,****}	114.35

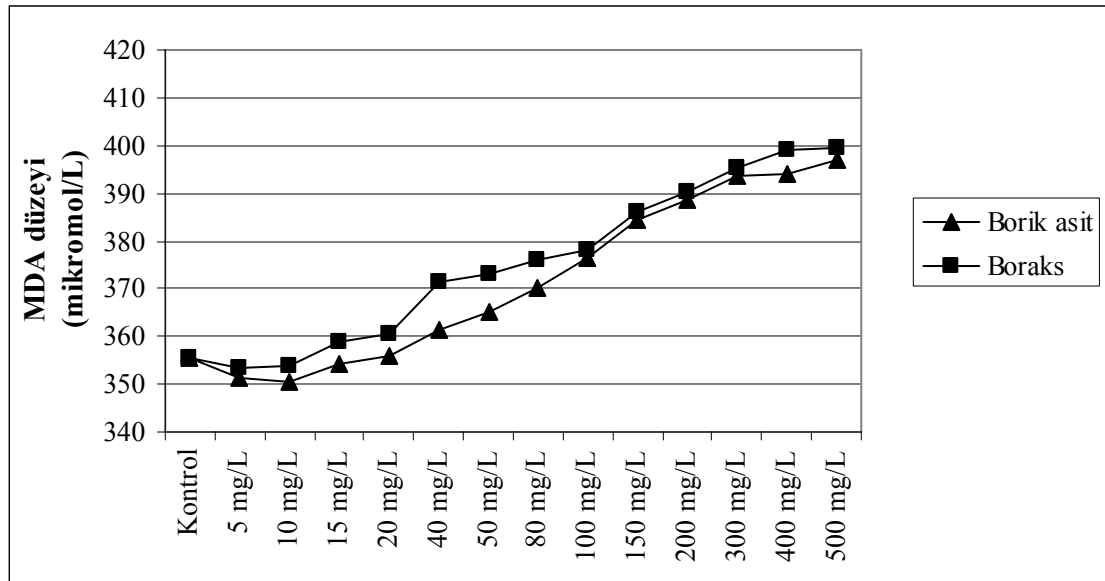
Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.40. Üleksitin eritrosit MDA değeri üzerine etkisi

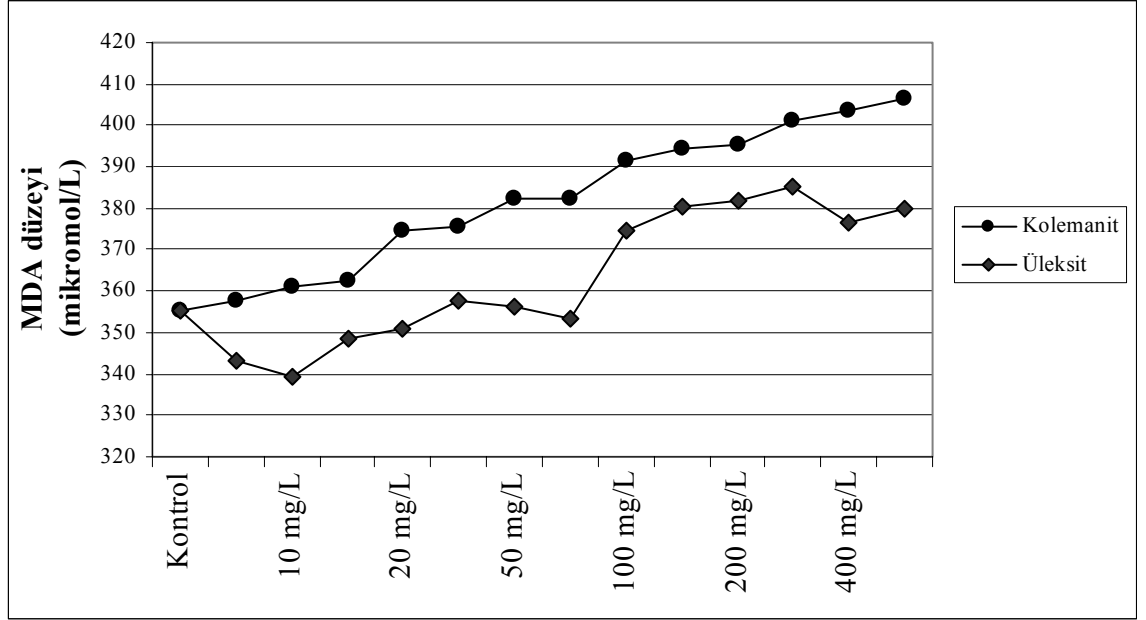
Gruplar	Eritrosit MDA düzeyi ($\mu\text{mol/L}$)	% değeri
Kontrol	$355.30 \pm 21.32^{\text{cde}}$	100
5 mg/L	$343.40 \pm 22.40^{\text{e}}$	96.65
10 mg/L	$339.10 \pm 22.85^{\text{e}}$	95.44
15 mg/L	$348.30 \pm 26.07^{\text{e}}$	98.02
20 mg/L	$350.90 \pm 25.74^{\text{de}}$	98.76
40 mg/L	$357.60 \pm 25.18^{\text{bcde}}$	100.64
50 mg/L	$356.20 \pm 26.04^{\text{cde}}$	100.25
80 mg/L	$353.30 \pm 23.47^{\text{cde}}$	99.44
100 mg/L	$374.40 \pm 26.69^{\text{abcd,*}}$	105.38
150 mg/L	$380.30 \pm 27.32^{\text{a,**}}$	107.04
200 mg/L	$381.70 \pm 27.56^{\text{a,**}}$	107.43
300 mg/L	$385.10 \pm 28.49^{\text{a,***}}$	108.39
400 mg/L	$376.70 \pm 26.54^{\text{abc,**}}$	106.02
500 mg/L	$379.80 \pm 27.56^{\text{ab,**}}$	106.89

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P < 0.05$). * = $P < 0.1$, ** = $P < 0.05$, *** = $P < 0.01$, **** = $P < 0.001$ anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.41. Borik asit ve boraksın eritrosit MDA değeri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



Çizelge 4.2.42. Kolemanit ve üleksitin eritrosit MDA değeri üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



4.2.8. *İn vitro* şartlarda Total Antioksidan Kapasitesi üzerine bor bileşiklerinin etkileri

Tam kandan hazırlanan kültürlerden izole edilen eritrosit yapılan total antioksidan kapasitesi ölçümlerinde borik asitin, boraksın ve üleksitin düşük dozlarda (5, 10 ve 15 mg/L) olumlu etkilere sahip oldukları görülmüştür. Kolemanitin ise olumlu etkilerini daha düşük dozlarda (5 ve 10 mg/L) ortaya koyduğu tespit edilmiştir. 20 mg/L borik asit ve boraks, 15 mg/L kolemanit ile 20 ve 40 mg/L üleksit uygulamaları kültürlerin total antioksidan kapasitelerinde önemli değişikliklere neden olmamıştır. Ancak, borik asit ($P<0.05$) ve boraksın 40 mg/L ($P<0.05$), kolemanitin 20 mg/L ($P<0.05$) ve üleksitin 50 mg/L ($P<0.1$) konsantrasyonları eritrositlerin total antioksidan kapasitelerinde istatistiki bakımdan önemli kabul edilen azalmalara sebep olduğu gözlenmiştir.

Farklı bor bileşikleri ile muamele edilen periferik tam kan kültürlerinde tespit edilen total antioksidan kapasitesi değerleri Çizelge 4.2.43, 4.2.44, 4.2.45, 4.2.46, 4.2.47 ve 4.2.48'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.43. Borik asitin total antioksidan kapasite üzerine etkisi

Gruplar	Total antioksidan kapasitesi ($\mu\text{mol/L}$)	% kapasite
Kontrol	7.86 ± 0.39^b	100
5 mg/L	$8.37 \pm 0.51^{a,***}$	106.49
10 mg/L	$8.29 \pm 0.33^{a,***}$	105.47
15 mg/L	$8.19 \pm 0.26^{a,**}$	104.19
20 mg/L	7.80 ± 0.23^{bc}	99.24
40 mg/L	$7.54 \pm 0.30^{cd,**}$	95.92
50 mg/L	$7.32 \pm 0.35^{d,****}$	93.12
80 mg/L	$6.94 \pm 0.37^{e,****}$	88.29
100 mg/L	$6.53 \pm 0.30^{f,****}$	83.07
150 mg/L	$6.40 \pm 0.33^{fg,****}$	81.42
200 mg/L	$6.21 \pm 0.29^{fgh,****}$	79.07
300 mg/L	$6.10 \pm 0.24^{fgh,****}$	77.60
400 mg/L	$6.15 \pm 0.26^{fgh,****}$	78.24
500 mg/L	$6.06 \pm 0.28^{h,****}$	77.09

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; $P<0.05$). * = $P<0.1$, ** = $P<0.05$, *** = $P<0.01$, **** = $P<0.001$ anlam seviyelerinde kontrol grubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.44. Boraksın total antioksidan kapasite üzerine etkisi

Gruplar	Total antioksidan kapasitesi (μmol/L)	% kapasite
Kontrol	7.86 ± 0.39 ^b	100
5 mg/L	8.28 ± 0.30 ^{a,***}	105.34
10 mg/L	8.19 ± 0.32 ^{a,**}	104.19
15 mg/L	8.22 ± 0.45 ^{a,**}	104.58
20 mg/L	7.78 ± 0.25 ^b	98.98
40 mg/L	7.55 ± 0.29 ^{b,**}	96.05
50 mg/L	7.21 ± 0.34 ^{c,****}	91.73
80 mg/L	6.87 ± 0.30 ^{d,****}	87.40
100 mg/L	6.36 ± 0.29 ^{e,****}	80.91
150 mg/L	6.23 ± 0.34 ^{ef,****}	79.26
200 mg/L	6.05 ± 0.37 ^{efg,****}	76.97
300 mg/L	6.06 ± 0.28 ^{efg,****}	77.09
400 mg/L	5.97 ± 0.32 ^{fg,****}	75.95
500 mg/L	5.86 ± 0.41 ^{g,****}	74.55

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.45. Kolemanitin total antioksidan kapasite üzerine etkisi

Gruplar	Total antioksidan kapasitesi (μmol/L)	% kapasite
Kontrol	7.86 ± 0.39 ^b	100
5 mg/L	8.32 ± 0.30 ^{a,***}	105.85
10 mg/L	8.27 ± 0.33 ^{a,**}	105.21
15 mg/L	7.73 ± 0.46 ^{bc}	98.34
20 mg/L	7.51 ± 0.26 ^{cd,**}	95.54
40 mg/L	7.32 ± 0.29 ^{de,***}	93.12
50 mg/L	7.07 ± 0.36 ^{e,****}	89.94
80 mg/L	6.65 ± 0.33 ^{f,****}	84.60
100 mg/L	6.09 ± 0.29 ^{g,****}	77.48
150 mg/L	6.19 ± 0.39 ^{g,****}	78.75
200 mg/L	5.67 ± 0.30 ^{ih,****}	72.13
300 mg/L	5.94 ± 0.27 ^{gh,****}	75.57
400 mg/L	5.73 ± 0.34 ^{h,****}	72.90
500 mg/L	5.60 ± 0.38 ^{i,****}	71.24

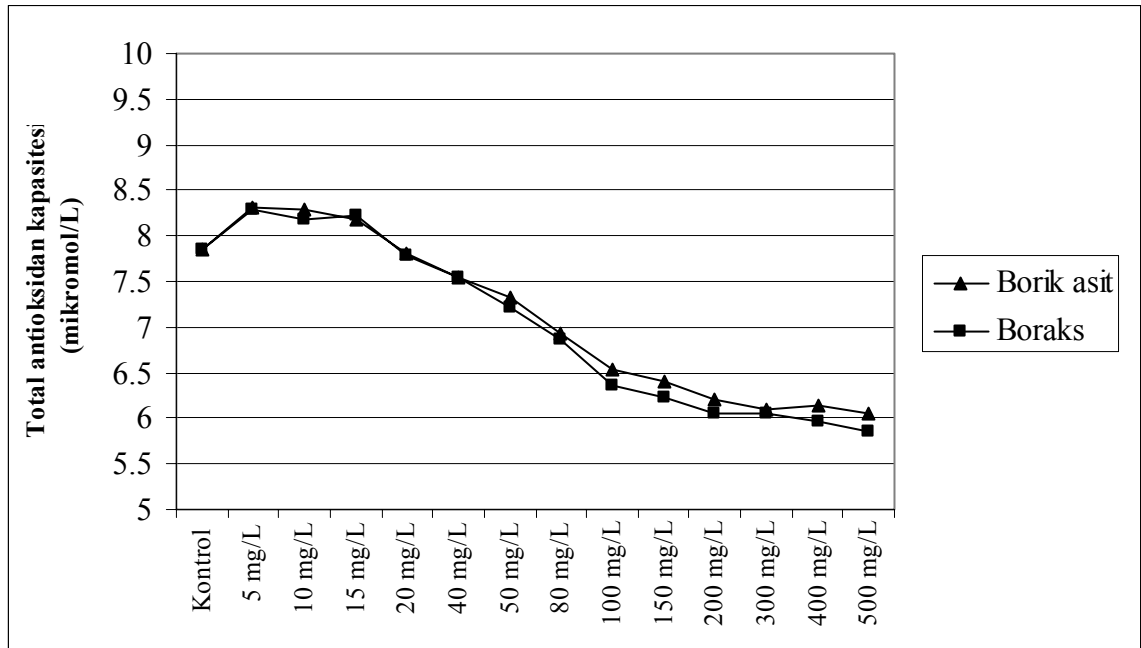
Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.46. Üleksitin total antioksidan kapasite üzerine etkisi

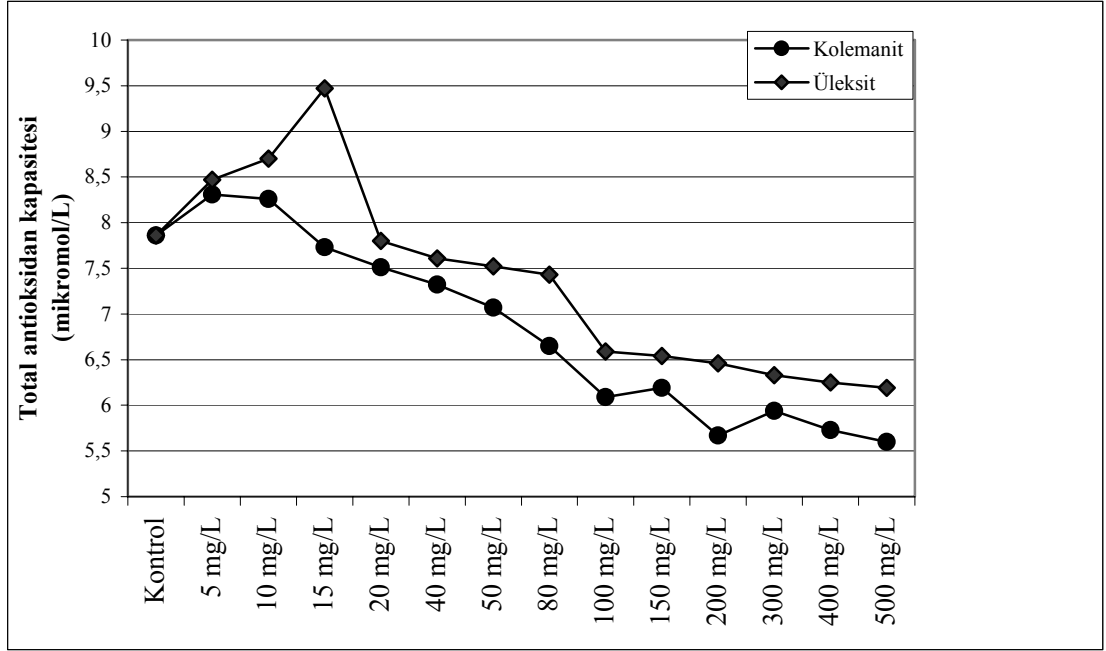
Gruplar	Total antioksidan kapasitesi (μmol/L)	% kapasite
Kontrol	7.86 ± 0.39 ^c	100
5 mg/L	8.47 ± 0.50 ^{b,***}	107.76
10 mg/L	8.70 ± 0.53 ^{b,****}	110.68
15 mg/L	9.47 ± 0.60 ^{a,****}	120.48
20 mg/L	7.80 ± 0.34 ^{cd}	99.23
40 mg/L	7.61 ± 0.30 ^{cd}	96.81
50 mg/L	7.52 ± 0.37 ^{cd,*}	95.67
80 mg/L	7.43 ± 0.29 ^{d,**}	94.53
100 mg/L	6.59 ± 0.33 ^{e,****}	83.84
150 mg/L	6.54 ± 0.29 ^{e,****}	83.20
200 mg/L	6.46 ± 0.25 ^{e,****}	82.18
300 mg/L	6.33 ± 0.29 ^{e,****}	80.53
400 mg/L	6.25 ± 0.35 ^{e,****}	79.51
500 mg/L	6.19 ± 0.26 ^{e,****}	78.75

Aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamaktadır (Duncan; P<0.05). * =P<0.1, ** =P<0.05, *** =P<0.01, **** =P<0.001 anlam seviyelerinde kontrol gurubundan farklılığı göstermektedir (LSD).

Çizelge 4.2.47. Borik asit ve boraksın total antioksidan kapasite üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



Çizelge 4.2.48. Kolemanit ve üleksitin total antioksidan kapasite üzerine etkisi (karşılaştırmalı)



4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Toksik potansiyel yargılar değişik dokular üzerinde bir kimyasal maddenin doza bağlı etkilerinin dikkate alındığı çalışmalarla değer kazanmaktadır (Moore and an Expert Scientific Committee 1997). Borik asitin akut ve kronik dozlarının dokular üzerindeki etkileri araştırılmış ve yüksek dozda borla (borik asit olarak) beslenen sıçanlarda histopatolojik bulguların yanı sıra kansızlık gözlenmiştir (Draize and Kelley 1959; Weir and Fischer 1972; N.T.P 1987). Ayrıca insanlarda kan ve üredeki bor konsantrasyonlarının tespit edilmesi bor maruziyetinin derecesini belirlemek açısından önemli görülmüştür (Jansen *et al.* 1984a). Bu çalışma ile ilk defa farklı bor bileşiklerinin *in vitro* insan periferik kan kültürleri üzerinde doza bağlı etkileri genetik ve biyokimyasal testlerle değerlendirilmektedir. Araştırma sonuçları borik asit, boraks, üleksit ve kolemanitin genetik hasara yol açmadığını ve bazı anahtar enzimlerin reaksiyonlarını dozla ilişkili bir şekilde kontrol eden metabolik indükleyiciler ve represörler gibi görev yapabildiklerini ortaya koymuştur.

Çalışmalar, reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılmasında görev alan antioksidan enzimlerin memeli hücre savunmasında önemli bir role sahip olduğunu ve farklı toksik ajanlara maruz kalmış kan hücrelerinde bu enzimlerin indüklendiğini veya inhibe olduğunu göstermiştir (Afaq *et al.* 1998; Prasad *et al.* 2006). Bu araştırma insan kanında bor bileşiklerinin düşük dozlarının (5, 10, 15 ve 20 mg/L) genellikle artan enzim seviyelerine bağlı olarak antioksidan enzimlerin aktivitesinde indükleyici bir role sahip olduğunu ortaya koymuştur. Benzer bir şekilde düşük dozlardaki bor girişi yüksek seviyelerdeki bor girişi ile karşılaştırıldığında insanlarda beyin fonksiyonları için faydalı bulunmuştur (Penland 1994). Yine uygun miktarlardaki bor beslenmeleri akciğerlerde lökositlerin ROS oluşturmaya engel olmuş ve iltihaplanma bölgelerinde faydalı etkilere sahip olmuştur. Söz konusu çalışmada sentetik bor bileşiği (2'-deoksiribonükleozid siyanoboron) lökosit 5'-lipoksijenaz aktivitesini inhibe etmiş ve Fenton reaksiyonunda serbest radikal oluşumunu engellemiştir (Hunt and Idso 1999). İnsan ve hayvanlardaki metabolik işleyişin diyetteki borun (borik asit ve boraks olarak)

fizyolojik miktarları ile ilişkisi borik asit ve boraksın karaciğer nekrozuna karşı farklı derecelerdeki koruyucu rolleri ve aynı zamanda borun normal karaciğer metabolizması üzerindeki olumlu etkileri ile de tespit edilmiştir (Hunt and Herbel 1992; Pawa and Ali 2006).

Hayvan organizmalarında bor oksidatif metabolizmayı değiştirerek henüz tanımlanmamış bir mekanizma ile doku antioksidan savunma sistemini güçlendirebilmiştir (Kelly 1997). Ancak oksidatif metabolizmanın değişmesi serbest radikal formasyonunun teşvik edilmesiyle mi yoksa antioksidan kapasitenin desteklenmesiyle mi sağlanmaktadır sorusu hala cevap bulamamıştır (Hunt and Idso 1999). Bu araştırma bor bileşiklerinin belirli seviyelerde (borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit bileşikleri için sırasıyla 80 mg/L, 40 mg/L, 20 mg/L ve 100 mg/L'ye kadar olan dozları) MDA değerlerini etkilemediğini ($P < 0.05$) aksine düşük dozlarda antioksidan enzim aktivitelerinde belirgin artışlara sebep olduklarını göstermiştir. Bilindiği gibi ROS artışı lipid peroksidasyonunda artışa ve bu da MDA değerinde artışlara neden olmuştur. MDA artışı ise oksidatif stresin fizyolojik bakımdan önemli bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Kim *et al.* 2006; Siu *et al.* 2004). Böylece çalışmamız insan kanında farklı bor bileşiklerinin düşük seviyelerdeki desteğinin oksidatif strese yol açmadan antioksidan kapasiteyi yükselttiğini açık bir şekilde ortaya koymuştur. Oysa pek çok kimyasal maddenin nispeten düşük dozlarının spesifik bir enzimin inhibisyonu ile metabolizmayı bozabildiği rapor edilmiştir (Hochster *et al.* 1973).

Borun biyokimyasal fonksiyonu tam bilinmese de hücre zarının yapısı ve fonksiyonu üzerinde özel bir etki oluşturan dolaylı bir protein vericisi olarak görev yapabileceği kaydedilmiştir (Barr *et al.* 1996). Buna bağlı olarak bor bileşiklerinin (borik asit ve boraks olarak) cAMP seviyelerini yükselterek mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon metabolizmasına karışabilecekleri ve hidrolitik enzim aktivitelerini inhibe edebilecekleri belirtilmiştir (Hall *et al.* 1980). Bu çalışmada ise bor bileşikleri düşük dozlarda cAMP birikimini teşvik etmek suretiyle antioksidan enzimlerin aktivitesini destekliyor olabilirler. Nitekim cAMP'deki artışın antioksidan enzim faaliyetlerini

artırabildiği bildirilmiştir (Sugino *et al.* 2002).

Oksidatif stres antioksidanların seviyeleri düştüğü zaman geliştiği için (Bukowska and Kowalska 2004) hücrel antioksidan enzimlerin aktiviteleri (SOD, CAT, GSH-Px, GST, GR ve G-6-PDH) hücre savunmasında bilhassa önemli görülmüştür (Cohen-Kerem and Koren 2003, Tapiero *et al.* 2004). Bu enzimlerden SOD'ın oksidatif strese karşı savunmada esas rolü oynadığı belirtilmiştir. SOD'ın süperoksidin hidrojen peroksit ve oksijene dönüşmesini katalizlediği kaydedilmiştir (Kakarla *et al.* 2005). Endojen H₂O₂ ise katalaz ile suya dönüştürülmektedir (Svistunenko 2005). Aksi takdirde oksidatif hasara cevap olarak Fenton reaksiyonları yoluyla reaktif hidroksil radikalleri fazlasıyla üretilebilmiştir (Elman 1959). Bor (borik asit olarak) desteğinin insanlarda eritrosit SOD aktivitesini artırdığı kaydedilmiştir (Nielsen 1989). İnsan kanında farklı bor bileşiklerinin antioksidan etkilerini karşılaştırdığımız bu çalışmada sadece borik asitin değil (20 mg/L, P<0.05) aynı zamanda boraks (15 mg/L, P<0.05), üleksit (20 mg/L, P<0.01) ve kolemanitin (15 mg/L, P<0.05) SOD aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir. Üstelik borik asit (20 mg/L, p<0.1) ve çalışılan bor bileşiklerinin [15 mg/L boraks (P<0.05), 40 mg/L üleksit (P<0.1) ve 15 mg/L kolemanit (P<0.05)] CAT aktivitesini de artırdığı bu çalışma ile ilk defa belirlenmiştir. Daha önce Hunt ve Idso'nun (1999) belirttiği gibi araştırmamızda CAT aktivitesi eritrosit membran lipid ve proteinlerini peroksit radikallerine karşı korumak amacıyla artırılmış olabilir. Diğer taraftan diyetle eklenen borun (borik asit olarak) CAT enzimi üzerindeki etkileri hayvanların farklı dokularında bile farklılık göstermiştir. Nitekim, sıçan ve tavşanların eritrositlerinde CAT aktivitesi azalmış (Verbitskaya 1975; Hunt *et al.* 1993), karaciğerlerinde ise artmıştır (Pawa and Ali 2006).

İnsan ve hayvanlarla yapılan deneyler borik asit ve boraksın absorpsiyon, dokulardaki dağılım ve idrarla atılma miktarlarında benzerlikler olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle de bor toksisitesi ile ilgili bilgiler daha çok hayvan deneylerinden elde edilen bilgilere dayanmıştır (Moore and an Expert Scientific Committee 1997). Oysa, eritrositlerde kaydettiğimiz artan CAT aktivitesi hayvansal çalışmalardan elde edilen bilgilerin her zaman insanlar için de aynen geçerliliklerini ileri sürmenin doğru

olamayacağını ortaya koymuştur. Aynı zamanda, bu çalışmada 20 mg/L borik asit, 15 mg/L boraks ve kolemanit ile 20 mg/L üleksit dozları GSH-Px, GST ve G-6-PDH gibi enzimlerin aktivitelerinde belirgin artışlara sebep olmuştur. Katalaz gibi peroksitleri metabolize eden GSH-Px'in aktivitesi ile reaktif oksijen türlerinin elimine edildiği kaydedilmiştir (Bukowska 2004). GST enziminin hücre DNA ve lipidlerinin peroksidasyon ürünlerine karşı korunmasında rol oynadığı tespit edilmiştir (Ketterer and Coles 1991). Bu enzimin başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluşturduğu da rapor edilmiştir (Akkuş 1995, Candan 2002). G-6-PDH'in ise kırmızı kan hücrelerinde NADPH'in tek kaynağı olan pentoz fosfat yolunun ilk basamağını katalizlediği belirtilmiştir (Altıkat *et al.* 2002). Üretilen NADPH'in da eritrosit zarlarındaki sülfidril gruplarının bütünlüğünü koruyan, hemoglobin denatürasyonunu önleyen ve kırmızı kan hücrelerinde serbest oksijen radikalleri ile peroksitleri detoksifiye eden azalan glutatyonun rejenerasyonunu sağladığı kaydedilmiştir (Weksler *et al.* 1990).

Yine bu araştırma, bor bileşiklerinin düşük dozlarda total antioksidan kapasiteyi artırdığını ortaya koymuştur. Total antioksidan kapasitedeki artışın (borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit için sırasıyla, % 6.49 ($P<0.01$), % 5.34 ($P<0.01$), % 5.85 ($P<0.01$) ve % 20.48 ($P<0.001$) oranlarında antioksidan enzim aktivitelerindeki artışla paralellik göstermesi hücre savunmasında bu bileşiklerin bilhassa faydalı olabileceklerini göstermiştir. Hatta, glutatyon miktarlarındaki artışların, GSH-Px ve G-6-PDH gibi enzimlerin aktivitelerindeki artışla uygunluk sağlaması bu bulgumuzu destekler mahiyette olmuştur. Çünkü, glutatyonun alyuvarların önemli bir bileşeni olduğu (Roy 1984) ve hücrelerin antioksidan savunmalarında esas rolü oynadığı kaydedilmiştir (Meister 1983).

Öte yandan bu çalışmada artan doza bağlı olarak total glutatyon miktarı kolemanitin 50 mg/L ($P<0.05$) dozunda, üleksitin ise 100 mg/L ($P<0.05$) dozunda azalma göstermiştir. G-6-PDH aktivitesindeki düşüşle glutatyon miktarı arasındaki ilişki kolemanitte, GSH-Px aktivitesindeki azalma ile glutatyon miktarı arasındaki ilişki de üleksitte tespit

edilmiştir. Buna karşılık, borik asitin 50 mg/L ($P<0.1$) ve boraksın 40 mg/L ($P<0.05$) dozunda GSH-Px aktivitesi düşerken, borik asitin ve tinkalin 80 mg/L dozlarına kadar glutasyon miktarı olumsuz yönde etkilenmemiştir. G-6-PDH enzim aktivitesi ise borik asit için 80 mg/L ($P<0.05$), boraks için 50 mg/L ($P<0.05$) ve üzeri dozlarında düşmeye başlamıştır. Glutasyonun GSH-Px'in kofaktörü olduğu ve tüketilmesinin G-6-PDH enziminin aktivitesindeki düşüşe bağlı olarak oksidatif strese yol açabileceği rapor edilmiştir (Efferth *et al.* 2006). Araştırma bulgularımız bor bileşiklerinin artan dozlarda GSH-Px ve G-6-PDH enzimlerinin aktiviteleri üzerinde benzer etkilere sahip olduklarını, düşük dozlarda ise glutasyon miktarı ile G-6-PDH enzimi ve GSH-Px aktivitesi arasındaki ilişkinin kullanılan bileşiğe göre farklı olduğunu göstermiştir. Ancak total antioksidan kapasitenin GSH-Px aktivitesindeki düşüşe bağlı olarak düşmesi, hücre savunmasının G-6-PDH'dan ziyade GSH-Px ile sağlanabileceğini düşündürmüştür. Borun selenyum ile etkileşimi sonucunda yaban ördeklerinin plazmasında glutasyon redüktaz enziminin aktivitesinde artışlar gözlenmiştir (Hoffman *et al.* 1992). Bu çalışmada bor bileşiklerinin düşük dozlarda selenyum-bağımlı olarak çalışan GSH-Px aktivitesini artırırken yüksek dozlarda düşürmesi borun GSH-Px üzerindeki belirleyici rolünün selenyuma bağlı olabileceğini bir kez daha ortaya koymuştur. Aynı zamanda bu durum borun etkisiyle total antioksidan kapasitenin neden GSH-Px'a bağlı olarak düştüğünü de açıklayabilmiştir. Çünkü, GSH-Px ile benzer fonksiyon yapan ancak selenyumdan bağımsız olarak çalışan GST'in aktivitesi GSH-Px'a kıyasla üleksit (150 mg/L, $P<0.1$), tinkal (50 mg/L, $P<0.1$), borik asit (100 mg/L, $P<0.05$) ve kolemanitin (80 mg/L, $P<0.05$) daha yüksek dozlarında düşmüştür. Böylece, bor ve selenyum arasındaki ilişkinin antioksidan enzimlerin aktivitelerinin belirlenmesinde önemli bir faktör olabileceği anlaşılmıştır. Ancak bor bileşiklerinin artan dozlarda diğer enzimlerin aktivitelerini de inhibe etmeleri borun sadece selenyumla etkileşerek değil aynı zamanda başka yollarla da etkili olabileceğini göstermiştir.

Yine bu çalışma ile CAT enziminin borik asitin 100 mg/L ($P<0.1$), boraksın 80 mg/L ($P<0.1$) ve kolemanitin 50 mg/L ($P<0.1$) konsantrasyonlarında, SOD enziminin ise borik asit, boraks ve kolemanitin 50 mg/L ($P<0.05$) konsantrasyonlarında doza bağlı

olarak negatif aktivite gösterdikleri saptanmıştır. Üleksit de her iki enzimin aktivitesini daha yüksek dozlarda [100 mg/L ($P<0.1$) ve 80 mg/L ($P<0.05$)] etkilemiştir. Bor bileşiklerinde (bor trifluorit, sodyum borohidrit ve karboboranlar) gözlenen toksisite sonuçlarının onların bor muhtevaları ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (Moore and an Expert Scientific Committee 1997). Öte yandan bakır, çinko ve selenyumun antioksidan enzimlerin kofaktörleri oldukları ve bu iyonların artan miktarlarının hücrelerde CAT, SOD ve GSH-Px aktivitelerinde inhibisyona yol açabileceği rapor edilmiştir (Afaq *et al.* 1998; Tate and Newsome 2006). Bor ise sadece selenyumla değil aynı zamanda bakır ve çinko gibi diğer iz elementlerle de etkileşimler yapabilmektedir (Moore and an Expert Scientific Committee 1997; Kurtoğlu *et al.* 2005). Yine, borun etkisiyle serumda artan sodyum ve klorid seviyelerine bağlı olarak metabolik asidozis gelişebilmektedir (Moore and an Expert Scientific Committee 1997). Kanaatimizce bor bileşiklerinin artan dozları *in vitro* şartlarda hücrelerdeki iyon miktarlarını etkileyerek de antioksidan enzim aktivitelerini inhibe etmiş olabilirler.

Borik asitin üç-beş kat artan dozları sperm kültürlerinde ATP miktarını azaltmakta ve enerji metabolizmasının düşmesine sebep olmuştur (Ku *et al.* 1993). cAMP oluşumu ATP miktarına bağlı olduğundan bu çalışmada da bor bileşiklerinin artan dozlarda azalan cAMP miktarına bağlı olarak antioksidan enzim aktivitelerini inhibe edebilecekleri düşünülebilir. Diğer taraftan, piridin nükleotidler, adenzin 5-fosfat, riboflavin, pridoksin ve dehidroaskorbik asit gibi pek çok biyolojik maddenin bor ile kompleks oluşturabildiği tespit edilmiştir (Ku and Chapin 1994; Pawa and Ali 2006). Bu kompleksler sis-hidroksil ihtiva eden piridin veya flavin nükleotidler gibi kofaktörlere ihtiyaç duyan oksido-redüktaz enzimlerinin yarışmalı inhibisyonuna sebep olabilmış ve bu nedenle de *in vitro* şartlarda biyolojik bakımdan önemli roller gösterebilmişlerdir. Fizyolojik konsantrasyonlarda ve pH'da bor piridin (yani; NAD^+ veya NADP^+) veya flavin (FAD) nükleotidler ve serin proteazlar gibi özel biyolojik bağlar üzerinde dört hidroksil grubundan biri veya bir N ile reaksiyona girebilmiştir (Hunt 1998). Bu şekilde, bor piridin nükleotide ihtiyaç duyan oksidoredüktazları inhibe etmiş ve ROM oluşumuna engel olmuştur (Blevins and Lukaszewski 1994). Antioksidan enzimlerin de piridin nükleotidlerine ihtiyaç duydukları rapor edilmiştir

(Nordman *et al.* 2003; Cenas *et al.* 2004). Bu araştırmada belki de bor bileşikleri artan doza bağlı olarak oksidoredüktazlar için kaydedilene benzer bir şekilde antioksidan enzimlerin aktivitesini önlemiş olabilirler. Nitekim kontrollere kıyasla MDA değerleri borik asitin 80 mg/L, boraksın 40 mg/L, kolemanitin 20 mg/L ve üleksitin 100 mg/L dozlarında artmıştır ($P<0.1$). Bu durumda bor bileşiklerinin artan dozlarda serbest radikal formasyonunu teşvik etmeleri söz konusudur. Ancak artan oksidatif stres DNA'ya hasar vermemiştir. Çünkü, mevcut çalışmanın bulguları aynı zamanda farklı bor bileşiklerinin *in vitro* insan kan lenfositlerinde KKD, M ve kromozomal aberasyonların indüksiyonlarına sebep olmadıklarını göstermiştir. Daha önce borik asit ve boraks Amerika Ulusal Toksikoloji Programı (N.T.P 1987) tarafından test edilmiş ve ne bakteri ne de kültüre alınmış Chinese Hamster Ovaryum (CHO) hücrelerinde mutajen olmadıkları sonucuna varılmıştır. Genotoksisite, kromozom aberasyonları ve gen mutasyonlarını değerlendiren bakteri ve CHO hücrelerinde borik asit ve boraksın mutajenik etkilerinin yokluğu araştırılmış, fakat borlu bileşiklerin insanlar üzerindeki etkileri yeterince araştırılmamıştır. Literatürde Landolph (1985) isimli araştırmacının insan fibroblastlarında boraks genotoksitesi ile ilgili *in vitro* bir çalışması dışında çalışma rapor edilmemiştir. Biz bu çalışma ile sadece borik asit ve boraksın değil aynı zamanda kolemanit ve üleksitin insan kan dokusu üzerinde herhangi bir genotoksik etkiye sahip olmadığını ilk kez ortaya koyduk. Böylece çalışılan bor bileşiklerinin artan dozlarına rağmen güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini önermekteyiz. Ancak oksidatif stresin hücrede DNA'dan başka yapılara da zarar verebileceği göz önüne alınmalıdır. Nitekim oksidatif strese yol açan serbest radikallerin hücre zarının yanı sıra protein, enzim, lipid ve karbonhidratlar üzerine zararlı etkilerinin bulunduğu rapor edilmiştir (Gülbayzar 2006).

Biyomembranlarda oklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu, sıklıkla reaktif oksijen türevlerine maruz kalma ile oluşmuştur ve hücresel fonksiyon değişimi veya hücre ölümüne yol aabilmiştir (Sevenian and McLeod 1997; Armutçu *et al.* 2004). Benzer şekilde, oksidatif stres altında proteinlerin primer, sekonder ve tersiyer yapılarının değişebileceği rapor edilmiştir. Oksidatif saldırıya maruz kalan proteinlerde amino asit modifikasyonları, peptid zincirinde kırılmalar ve çökelmeler (agregasyon)

gözlenmiştir. Benzer şekilde serbest radikallerin protein ve lipidlerle kovalent bağlar yaparak, enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasında değişiklikler yaptığı bildirilmiştir (Gülbayzar 2006). Özellikle sülfür içeren amino asitlerin ve tiyol gruplarının daha çok etkilendikleri kaydedilmiştir (Farr and Kogama 1991). Ayrıca, okside olan proteinlerde meydana gelen değişimlerin geri dönüşümsüz olduğu da rapor edilmiştir (Gardner and Fridovich 1991).

Son zamanlarda, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu *in vitro*, *in vivo* ve insan çalışmalarında oksidatif hasarın işaretçileri olarak incelenmiş ve ilgi odağı haline gelmişlerdir (Diplock 2000; Salonen 2000; Orhan *et al.* 2004). Beckman ve Ames (1997) ile Wu vd (2006) yayınlamış oldukları çalışmalarında, oksidatif stresin artan genetik hasarlara yol açabileceğini rapor etmişlerdir. Artan lipid peroksidasyonu ve azalan antioksidan korumanın sitotoksikite, alerji, mutajenite ve karsinojeniteye sebep olabileceği kaydedilmiş bulgular arasındadır (Mates *et al.* 1999). Ancak, mevcut çalışmada gelişen oksidatif strese rağmen (antioksidan enzim aktivitelerinde değişiklikler, artan MDA düzeyleri, total antioksidan kapasitede azalmalar) DNA hasarlarının gözlenmeyişi lipid peroksidasyonu ile genetik hasarların her zaman ilişkili olmadığını ortaya koymuştur. Nitekim, Kim vd (2006), DNA hasarı ile lipid peroksidasyonu arasındaki ilişkinin her zaman kurulmaması gerektiğini rapor etmiştir.

İnsan vücudunda borun fonksiyonu kesin olarak bilinmemekle birlikte, bu elementin glukoz, trigliserit, hormonlar ve reaktif oksijen metabolizmalarında görev yapabileceği düşünülmüştür (E.G.V.M 2003). Mevcut çalışmada aşırı bor maruziyetinin DNA'da hasar oluşturmaksızın lipid peroksidasyonuna neden olduğu açıkça ortaya konmuş ancak proteinler ve karbonhidratlar gibi diğer temel organik bileşikler üzerine oksidatif etkilerinin olup olmadığı konusunda delil sunulmamıştır. Borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit gibi temel bor bileşiklerinin bilhassa protein yada lipidler üzerine oksidatif etkilerinin tamamen bilinebilmesi *in vivo* veya *in vitro* biyokimyasal çalışmaların yapılmasını gerekli kılmaktadır. Çünkü oluşan MDA'ler aynı zamanda protein moleküllerini okside etmektedir (Stadman and Berlett 1998). Yine son zamanlarda yapılan bir çalışma ile daha önce bilinen serbest radikallerden oldukça farklı yapılarda

olan ve bor içeren serbest radikallerin (HBX; X=F, Cl, Br) varlığı ortaya konmuştur (He *et al.* 2005). Keşfedilen bu yeni radikal grubun etki mekanizmasının bilinen radikallerden farklı olup olmadığı konusu henüz aydınlatılmış değildir.

Sonuç olarak, *in vitro* insan kan kültürlerinde farklı bor bileşiklerinin (borik asit, boraks, üleksit ve kolemanit) düşük dozlarda antioksidan enzim aktivitelerini teşvik etmek suretiyle faydalı oldukları (sırasıyla üleksit > borik asit > boraks > kolemanit) belirlenmiştir. Yine bu çalışma ile artan dozlarda oksidatif stres oluşturmalarına rağmen borik asit, boraks, üleksit ve kolemanitin genotoksik etkilerinin olmadığı da tespit edilmiştir. Bulgularımıza dayanarak çalışılan bor bileşiklerinin güvenli bir şekilde kullanılabileceği ancak oksidatif strese bağlı olarak gelişmesi muhtemel olan hücre hasarlarının da dikkate alınmasının gerekli olabileceği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- A.T.S.D.R., 1992. Toxicological profile for boron. Atlanta, Georgia, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Adler, I. D., 1984. Cytogenetic tests in mammals. Mutagenicity testing (Eds). Venitt, S. and Parry, J. M., IRL Press, Washington.
- Aebi, H., 1984, Catalase *in vitro*. In: Packer L. (Ed.), Methods in Enzymology, Vol. 105. Academic Press, Orlando, pp. 121–126.
- Afaq, F., Abidi, P., Matin, R. and Rahman, Q., 1998. Activation of alveolar macrophages and peripheral red blood cells in rats exposed to fibers/particles. Toxicol Lett., 99 (3), 175-182.
- Akçam-Oluk, E. ve Demiray, H., 2004. Bor Elementinin Sambro No.3 Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Çeşidinin Büyümesi Üzerine Etkileri. Ege Üniv Ziraat Fak Derg., 41 (1), 181-190.
- Akerboom, T. P. M. and Sies, H., 1981. Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. Met Enzymol., 77, 373–382.
- Akkus, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. baskı. Mimoza Yayınları, Konya.
- Alkan, M., 1985. Bazı Bor Minerallerinin Kükürt Dioksitli Sulardaki Çözünürlükleri. Atatürk Üniversitesi, Kâzım Karabekir Eğitim Fakültesi, Doktora Tezi, Erzurum.
- Alam, Z. I., Halliwell, B. and Jenner, P., 2000. No evidence for increased oxidative damage to lipids, proteins, or DNA in Huntington's disease. J. Neurochem., 75, 840–846.
- Albrecht, T., Deng, C. Z., Abdel-Rahman, S. Z., Fons, M., Cinciripini, P. and El-Zein, R. A., 2004. Differential mutagen sensitivity of peripheral blood lymphocytes from smokers and nonsmokers: effect of human cytomegalovirus infection. Environ Mol Mutagen., 43 (3), 169-178.
- Aledo, R., Renault, G., Prieur, M., Avril, M. F., Chretien, B., Dutrillaux, B. and Aurias, A., 1989. Increase of sister chromatid exchanges in excision repair deficient xeroderma pigmentosum. Hum Genet., 81 (3), 221-5.
- Alessio, H. M., 2000. Handbook of oxidants and antioxidants in exercise. In: Hannien, O., Packer, L. and Sen, C. K. (eds). 115-128 pp, Elsevier, Amsterdam.
- Alp, H. H., 2005. Hiper ve Hipotroidili Hastalarda Homosistein S-Adenozilmetiyonin ve Antioksidan Düzeyleri. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Altikat, S., Çiftçi, M. and Büyükokuroğlu, M. E., 2002. *In vitro* effects of some anesthetic on enzymatic activity of human red blood cell glucose 6-phosphate dehydrogenase. Polish Journal of Pharmacology, 54, 67-71.
- and Seiwert, M., 1997. Umwelt-Survey 1990/92 Band V: Trinkwasser. Deskription der
- Anderson, D. L., Cunningham, W. C. and Lindstrom, T. R., 1994. Concentrations and intake of H, B, S, K, Na, Cl and NaCl in foods. J Food Compos Anal., 7, 59-82.
- Anderson, D., Dewdney R. S., Jenkinson P. C., Lovell D. P., Butherworth R. and Connign D. M., 1986. SCE analysis in 106 control individuals. Prog. Clin Biol

- Res., 207, 39-58.
- Anonymus, 1993. Harper'in Biyokimyası. Murray, K. R., Granner, K. D., Mayes, P. A. and Rodwell, V. W. Çevirenler Menteş, G. ve Ersöz, B. Barış Kitabevi, İstanbul.
- Anonymus, 1995. Veteriner Klinik Toksikoloji. Editör: Kaya, S., Medisan Yayınevi, Ankara.
- Armutcu, F., Gürel, A., Söğüt, S., Aksu, N. and Ünalacak, M., 2004. Alkol Alışkanlığı Olanlarda Eritrosit Oksidan ve Antioksidan Parametre Düzeyleri. Fırat Tıp Dergisi, 9 (2), 50-53.
- Arslan, R. and Dünder, Y., 2000. Kan vizkozitesi ve oksidan stres. İnsizyon., 3 (3), 135-141.
- Artym, J. and Zimecki, M., 2005. The role of lactoferrin in the proper development of newborns. Postepy Hig Med Dosw., 59, 421-432.
- Aruoma, O. I., 1998. Free Radicals, Oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. J American Oil Chem Soc., 75 (2), 199-212.
- Astley, S. B., Elliott, R. M., Archer, D. B. and Southon, S., 2002. Increased cellular carotenoid levels reduce the persistence of DNA single-strand breaks after oxidative challenge. Nutr Cancer., 43 (2), 202-213.
- Atmaca, G., 2003. Sarımsağın ve bazı tiol içeren bazı bileşiklerin antioksidatif etkileri. Trakya Üniv Tıp Fak Derg., 20 (1-3), 54-60.
- Aydilek, N. and Aksakal M., 2003. Testosteronun Tavşanlarda Karaciğer Antioksidan Sistemi Üzerine Etkisi. YYU Vet Fak Derg., 14 (2), 22-25.
- Aynur, H., 2001. Menopoz Tedavisinin Bor Elementi İle İlişkisi. Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya A.B.D., Uzmanlık Tezi, Kayseri.
- Azzi, A., Ricciarelli, R. and Zingg, J. M., 2002. Non-antioxidant molecular functions of alpha-tocopherol (vitamin E). FEBS Lett., 519, 8-10.
- Bahçeci, Z., 2002. Moleküler Biyoloji. Öğrenci Kitabevi, Kırşehir.
- Bairoch, A., 2000. The ENZYME database in 2000. Nucleic Acids Res, 28, 304-305.
- Baldwin, D. R. and Marshall, W. J., 1999. Heavy metal poisoning and its laboratory investigation. Ann. Clin. Biochem., 36, 267-300.
- Barale, R., Chelotti, L., Davini, T., Del Ry, S., Andreassi, M. G., Ballardin, M., Bulleri, M., He, J., Baldacci, S., Di Pede, F., Gemignani, F. and Landi, S., 1998. Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1,650 subjects in an Italian population: II. Contribution of sex, age, and lifestyle. Environ Mol Mutagen., 31 (3), 228-242.
- Barr, R. D., Barton, S. A. and Schull, W. J., 1996. Boron levels in man: preliminary evidence of genetic regulation and some implications for human biology. Med. Hypotheses., 46, 286-289.
- Başaran, A., 1999. Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı, Bursa Nobel&Güneş Tıp Kitap Evi, Bursa.
- Başaran, N., 2003. Tıbbi Genetik Ders Kitabı, Nobel&Güneş Tıp Kitap Evi, Bursa.
- Baykal, E. D., 2003. Hidrotermal ve Mikrodalga Enerjiyle, Lityum İçeren Boratlı Fosfatlı Bileşiklerin Sentezlenmesi, Kristal Yapı ve Termokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir.
- Becker, K., Müssig-Zufika, M., Hoffmann, K., Krause, C., Meyer, E., Nöllke, P., Schulz, C. and Seiwert, M., 1997. Umwelt-Survey 1990/92 Band V: Trinkwasser. Deskription der Spurenelementgehalte im Haushaltsund Wasserwerks-

- Trinkwasser der Bevölkerung in der Bundesrepublik Deutschland.
- Beckman, J. S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A. and Freeman, B. A., 1990. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87, 1620–1624.
- Beckman, K. B. and Ames, B. N., 1997. Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem.*, 272, 19633-19636.
- Bedaiwy, M., Agarwal, A., Said, T. M., Goldberg, J. M., Sharma, R. K., Worley, S. and Falcone, T., 2006. Role of total antioxidant capacity in the differential growth of human embryos *in vitro*. *Fertility and Sterility*, 86 (2), 304-309.
- Benderdour, M., Van Bui, T., Hess, K., Dicko, A., Belleville, F., Dousset, B., 2000. Effects of boron derivatives on extracellular matrix formation. *J Trace Elem Med Biol.*, 14 (3), 168-173.
- Birmingham, D. J. and Key, M. M., 1963. Preliminary survey: U.S. Borax plant, Cincinnati, Ohio, Occupational Health Research and training Facility, Division of Occupational Health.
- Blevins, D. G. and Lukaszewski, K. M., 1994. Proposed physiologic functions of boron in plants pertinent to animal and human metabolism. *Environ Health Perspect*, 102 (7), 31-33.
- Boncukcuoğlu, R., 1993. Bor Endüstrisi Atıkların Değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği A. B. D, Doktora Tezi, Erzurum.
- Bos, J. L., 1988. The ras gene family and human carcinogenesis. *Mutat Res.*, 195, 255–271.
- Bowen, J. E. and Gauch, H. G., 1966. Nonessentiality of boron in fungi and the nature of its toxicity. *Plant Physiol.*, 41, 319-324.
- Boyacıoğlu, M., 2004. İzmir körfezi sedimentlerinde direkt mutajenlerin belirlenmesi. *E.Ü. Su Ürünleri Derg.*, 21 (1-2), 23-27.
- Bozkır, S. M., Çeviri 1995. Bor Ekonomisi. Raskill Information Services LTD. 2 Clampham Road London SW9 Oja – England, 145.
- Braginskaia, F. I., Zorina, O. M., Molochkina, E. M., Nikiforov, G. A. and Burlakova, E. B., 1992. Synthetic bioantioxidants--inhibitors of acetylcholinesterase activity. *Izv Akad Nauk SSSR Biol.*, 5, 690-698.
- Breimer, L., 1991. Repair of DNA damage induced by reactive oxygen species. *Free Rad Res Commun.*, 14, 159.
- Brown, G. C. and Borutaite, V., 2001. Nitric oxide, mitochondria, and cell death, *IUBMB Life*, 52, 189–195.
- Brown, T. F., McCormick, M. E., Morris, D. R. and Zeringue, L. K., 1989. Effects of dietary boron on mineral balance in sheep. *Nutr Res.*, 9, 503-512.
- Bukowska, B. and Kowalska, S., 2004. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. *Toxicol Lett.*, 152 (1), 73-84.
- Bukowska, B., 2004a. Damage to erythrocytes caused by 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin (*in vitro*). *Cell Mol Biol Lett.*, 9 (2), 261-270.
- Bukowska, B., 2004b. Effects of 2,4-D and its metabolite 2,4-dichlorophenol on antioxidant enzymes and level of glutathione in human erythrocytes. *Comp Biochem Physiol Part C: Toxicol Pharmacol.*, 135 (4), 435-441.
- Burak, M. and Çimen, Y., 1999. Flavonoids And Their Antioxidant Properties. *J Med*

- Sci., 19 (5), 296-304.
- Burçak, G. ve Andican, G., 2004. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. Cerrahpaşa J Med., 35, 159-169.
- Burlakova, E. B., Krashakov, S. A. and Khrapova, N. G., 1998. The role of tocopherol in biomembrane lipid peroxidation. Membr Cell Biol., 12, 173-211.
- Butterwick, L., De Oude, N. and Raymond, K., 1989. Safety assessment of boron in aquatic and terrestrial environments. Ecotoxicol Environ Saf., 17, 339-371.
- Cadenas, E. and Davies, K. J. A., 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Rad Biol Med., 29, 222-230.
- Candan, S., 2002. Nikel ve oksidatif stres. Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara.
- Carlberg, I. and Mannervik, B., 1972. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. J Biol Chem., 250, 5475-80.
- Carrona A. V. and Natarajan A. T., 1988. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. Mutation Research, 204, 379-406.
- Casalino, E., Sblano, C. and Landriscina, C., 1997. Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: the possibility of iron involvement in lipid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys., 346, 171-179.
- Catani, M. V., Savini, I., Rossi, A., Melino, G. and Avigliano, L., 2005. Biological role of vitamin C in keratinocytes. Nutr Rev., 63 (3), 81-90.
- Cavallo, D., Iavicoli, I., Setini, A., Marinaccio, A., Perniconi, B., Carelli, G. and Iavicoli, S., 2002. Genotoxic risk and oxidative DNA damage in workers exposed to antimony trioxide. Environ Mol Mutagen., 40 (3), 184-189.
- Cenas, N., Nivinskas, H., Anusevicius, Z., Sarlauskas, J., Lederer, F., Arner, E. S., 2004. Interactions of quinones with thioredoxin reductase: a challenge to the antioxidant role of the mammalian selenoprotein. J Biol Chem., 279 (4), 2583-92.
- Chapin, R. E., Ku, W. W., Kenney, M. A., McCoy, H., Gladen, B., Wine, R. N, Wilson, R. and Elwell, M. R., 1997. The effects of dietary boron on bone strength in rats. Fundam Appl Toxicol., 35, 205-215.
- Chaudhary, A. K., Nokubo, M., Reddy, G. R., Yeola, S. N., Morrow, J. D., Blair, I. A., 1994. Detection of endogenous malonaldehyde-deoxyguanosine adducts in human liver. Science, 265, 1580-1582.
- Cheesman, K. H. and Slater, T. F., 1993. An introduction to free radical biochemistry. British Med Bull., 49 (3), 481.
- Chen, F., Ding, M., Castranova, V. and Shi, X. L., 2001. Carcinogenic metals and NF-kappa B activation. Mol. Cell. Biochem., 222, 159-171.
- Chieco-Bianchi, L., Saggioro, D., Del Mistro, A., Montaldo, A., Majone, F. and Levis, A. G., 1988. Chromosome damage induced in cord blood T-lymphocytes infected *in vitro* by HTLV-I. Leukemia, 2 (12), 223-232.
- Christmann, M., Tomicic, M. T., Ross, W. P. and Kaina, B., 2003. Mechanisms of human DNA repair: an update. Toxicol., 193, 3-34.
- Christophersen, A. G., Jun, H., Jorgensen, K. and Skibsted, L. H., 1991. Photobleaching of astaxanthin and canthaxanthin: quantum-yields dependence of solvent, temperature, and wavelength of irradiation in relation to packaging and storage of carotenoid pigmented salmonoids. Z Lebensm Unters Forsch., 192, 433-439.
- Chu, G., 1997. Double strand break repair. J. Biol. Chem., 272, 24097-24100.
- Chu, K., Snyder, R. and Econs, M. J., 2006. Disease status in autosomal dominant

- osteopetrosis type 2 is determined by osteoclastic properties. J Bone Miner Res., 21 (7), 1089-1097.
- Cohen-Kerem, R. and Koren, G., 2003. Antioxidants and fetal protection against ethanol teratogenicity. I. Review of the experimental data and implications to humans. Neurotoxicol Teratol., 25, 1-9.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroğlu, M., Lunec, J., 2003. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. FASEB J, 17, 1195-1214.
- Cortyman, R. I., Heddle J. A., 1976. The production of micronuclei from chromosome aberration in irradiated cultures of human lymphocytes. Mutat. Res., 41, 321-332.
- Crans, D. C., Smee, J. J., Gaidamauskas, E. and Yang, L. Q., 2004. The chemistry and biochemistry of vanadium and the biological activities exerted by vanadium compounds. Chem. Rev., 104, 849-902.
- Criteria (EHC), 204, 1-192. WHO, Geneva, Switzerland.
- Culver, B. D., Shen, P. T., Taylor, T. H., Lee-Feldstein, A., Anton-Culver, H. and Strong, P. L., 1994. The relationship of blood- and urine-boron to boron exposure in borax-workers and the usefulness of urine-boron as an exposure marker. Environ Health Perspect, 102 (7), 133-137.
- Çalık, A., 2002, Türkiye'nin bor madenleri ve özellikleri. Mühendis ve Makine., s.508.
- Çavdar, C., Sifil, A. and Çamsarı, T., 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. J Turk Nephrol., 3-4, 92-95.
- Çinkı, M., 2001. Ulusal Maden Varlığımız ve Bor Gerçeği, Ankara Ticaret Odası, Ankara.
- Çolakoğlu, N., Ozan, E., Sönmez, M. F., Yılmaz, S. and Ozan, G., 2005. Sigaranın karaciğerde oluşturduğu yapısal değişiklikler üzerine melatonin ve C vitamininin etkileri. Fırat Tıp Derg., 10 (3), 108-112.
- Das, B. C. and Sharman, T., 1981. Enhanced frequency of chromosome aberrations in lymphocytes of male compared with female muntjacs after X-ray irradiation *in vitro*. Nature, 290, 604-607.
- De Flora, S., 2000. Threshold mechanisms and site specificity in chromium(VI) carcinogenesis. Carcinogenesis, 21, 533-541.
- Del Maestro, R., Thaw, H., Bjork, J., Planker, M. and Arfors, K., 1980. Free radicals as mediators of tissue injury. Acta Physiol Scand Suppl., 492, 43-57.
- Demirel, S. ve Zamani, A. G., 2002. Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. Genel Tıp Derg., 12 (3), 123-127.
- Demirhan, M. H., 1993. Kolemanitin Borik Asit Çözeltilerindeki Çözünürlüğü. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Demiroğlu, C., 2003. Ereğli demir-çelik fabrikası kok fırını işçilerinde genotoksik hasarın mikroçekirdek ve kromozomal aberasyon teknikleri ile araştırılması. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- der Bundesrepublik Deutschland.
- Devasagayam, T. P., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S. and Lele, R. D., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. J Assoc Physicians India., 52, 794-804.
- Devirian, T. A. and Volpe, S. L., 2003. The physiological effects of dietary boron. Crit Rew Food Sci Nutr., 43(2), 219-231.
- Diplock, A. T., 2000. Introduction: markers of oxidative damage and antioxidant modulation. Free Radic. Res., 33, 21-26.

- Dixon, K. and Kopras, E., 2004. Genetic alterations and DNA repair in human carcinogenesis. *Semin Cancer Biol.*, 14 (6), 441-448.
- Dixon, R. L, Sherins, R. J. and Lee, I. P., 1979. Assessment of environmental factors affecting male fertility. *Environ Health Perspect*, 30, 53-68.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M. and Rodriguez, H., 2002. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Rad. Biol. Med.*, 32, 1102–1115.
- Djelic, N., Spremo-Potparevic, B., Bajic, V. and Djelic, D., 2006. Sister chromatid exchange and micronuclei in human peripheral blood lymphocytes treated with thyroxine *in vitro*. *Mutat Res.*, 604 (1-2), 1-7.
- Douziech, N., Seres, I., Larbi, A., Szikszay, E., Roy, P., Arcand, M., Dupuis, G. and Fulop, T., 2002. Modulation of lumen lymphocyte proliferative response with aging. *Experimental Gerontology*, 37, 369–387.
- Draize, J. H. and Kelley, E. A., 1959 The urinary excretion of boric acid preparations following oral administration and topical applications to intact and damaged skin of rabbits. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1, 267-276.
- Dündar, Y. ve Arslan, R., 1999. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önemi açısından radikaller- antioksidanlar. *İnsizyon.*, 2 (2), 134-142.
- Ediz, N. ve Özday, H., 2001. Bor Mineralleri ve Ekonomisi. *D.P.Ü. FBE Dergisi*, Sayı 2, Kütahya.
- Efferth, T., Osieka, R. and Beutler, E., 2000. Molecular characterization of a German variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood Cell Mol. Dis.*, 26, 101-104.
- EGVM, Expert Group on Vitamins and Minerals, 2003. Report on safe upper levels for vitamins and minerals. London. May 2003.
- EGVM, Expert Group on Vitamins and Minerals., 2002. Revised Review of Boron. *EVM*, 99/23, P.Revised U2002.
- Eisenthal, A., Barbarsteyn, E., Gitstein, G. and Lifschitz-Mercer, B., 2006. Inhibition of lymphokine-activated killer cells generation *in vitro* by soluble factors released from mixed human tumor and peripheral blood mononuclear adherent cells culture. *Cancer Invest.*, 24 (1), 8-34.
- Eken, A., 2003. Hiberbarik oksijen tedavisi, oksidatif stres ve genetik toksisite arasındaki ilişkinin araştırılması. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi*, Ankara.
- Elhajouji, A., Santos, A. P., Van Hummelen, P. and Kirsch-Volders, M., 1994. Metabolic differences between whole blood and isolated lymphocyte cultures for micronucleus (MN) induction by cyclophosphamide and benzo[a]pyrene. *Mutagenesis.*, 9 (4), 307-313.
- Ellman, G. K., 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 8, 70–77.
- Emri, G., Wenczl, E., Van Erp, P., Jans, J., Roza, L., Horkay, I., Schothorst, A. A., 2000. Low doses of UVB or UVA induce chromosomal aberrations in cultured human skin cells. *J Invest Dermatol.*, 115 (3), 435-440.
- Emsley, J., 1989. The elements. Oxford, Clarendon Press, pp 32.
- Erel, O., 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.*, 37 (4), 277-285.
- Eren, M., Uyanık, F., Küçükarsan, S., 2002. Yumurta tavuğu yemlerine bor ilavesinin

- yumurta kalitesi ile serum Ca,P ve Mg düzeylerine etkisi. 1.Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi. Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi-Ankara, 21-22 Haziran., P16.
- Erensayın, C., 2000. Genetik. Nobel Yayın Dağıtım, 157, Ankara.
- Esterbauer, H., Schaur, R. J., Zollner, H., 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biol. Med.*, 11, 81-128.
- Evangelou, A. M., 2002. Vanadium in cancer treatment. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 42, 249-265.
- Evans, M. D., Dizdaroğlu, M. and Cooke, M. S., 2004. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res.*, 567, 1-61.
- Fail, P. A., George, J. D., Sauls, S. W., Dennis, S. W. and Seely, J. C., 1989. Effect of boric acid on reproduction and fertility of rodents. *Adv Contracept Deliv Syst.*, 5, 323-333.
- Farr, S. B. and Kogoma, T., 1991. Oxidative stress responses in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Microbiol. Rev.*, 55, 561-585.
- Feig, D. I., Reid, T. M. and Loeb, L. A., 1994. Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Res.* 54, 1890-1894.
- Fenech, M. and Morley, A. A., 1985a. Measurement of micronuclei in human lymphocytes. *Mutat. Res.*, 148, 29-36.
- Fenech, M. and Morley, A. A., 1985b. The effect of donor age on spontaneous and induced micronuclei. *Mutat. Res.*, 148, 99-105.
- Fenech, M., 1993. The cytokinesis blocks micronucleus technique. A detailed description on the method and its application to genotoxicity studies in human Population. *Mutat. Res.*, 285, 35-44.
- Fenech, M., 2000. The *in vitro* micronucleus technique. *Mutat Res.*, 455 (1-2), 81-95.
- Ferguson, L. R., Philpott, M. and Karunasinghe, N., 2004. Dietary cancer and prevention using antimutagens. *Toxicology*, 198 (1-3), 147-159.
- Flogel, U., Godecke, A., Klotz, L. O., Schrader, J., 2004. Role of myoglobin in the antioxidant defense of the heart. *FASEB J.*, 18 (10), 1156-1158.
- Fort, D. J., Rogers, R. L., McLaughlin, D. W., Sellers, C. M. and Schlekat, C. L., 2002. Impact of boron deficiency on *Xenopus laevis*: a summary of biological effects and potential biochemical roles. *Biol Trace Elem Res.*, 90 (1-3), 117-142.
- Franca-Botelho, A. C., Honorio-Franca, A. C., Franca, E. L., Gomes, M. A. and Costa-Cruz, J. M., 2006. Phagocytosis of *Giardia lamblia* trophozoites by human colostrual leukocytes. *Acta Paediatr.*, 95 (4), 438-443.
- Fridovich, I., 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys.*, 247, 1-11.
- Friis-Hansen, B., Aggerbeck, B. and Jansen, J. A., 1982. Unaffected blood boron levels in newborn infants treated with a boric acid ointment. *Food Chem Toxicol.*, 20, 451-454.
- Galan, A., Garcia-Bermejo, L., Troyano, A., Vilaboa, N. E., Fernandez, C., de Blas, E. and Aller, P., 2001. The role of intracellular oxidation in death induction (apoptosis and necrosis) in human promonocytic cells treated with stress inducers (cadmium, heat, X-rays). *Eur. J. Cell. Biol.*, 80, 312-320.
- Galaris, D. and Evangelou, A., 2002. The role of oxidative stress in mechanisms of metal-induced carcinogenesis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 42 (1),

93-103.

- Ganguly, B. B., 1995. Age-related variation in sister chromatid exchanges and cell cycle kinetics in peripheral blood lymphocytes of healthy individuals. *Mutat Res.*, 316 (4), 147-56.
- Garabrant, D. H., Bernstein, L., Peters, J. M. and Smith, T. J., 1984. Respiratory and eye irritation from boron oxide and boric acid dusts. *J Occup Med.*, 26, 584-586.
- Garabrant, D. H., Bernstein, L., Peters, J. M., Smith, T. J. and Wright, W. E., 1985. Respiratory effects of borax dust. *Br J Ind Med.*, 42, 831-837.
- Gardner, P.R. and Fridovich, I., 1991. Superoxide sensitivity of *Escherichia coli* 6-phosphogluconate dehydratase. *J. Biol. Chem.*, 266, 1478-1483.
- Garrett, D., 1998. Borates: Handbook of Deposits, Processing and Use. San Diego Academic Press.
- Gatti, R. M., Radi, R. and Augusto, O., 1994. Peroxynitrite-mediated oxidation of albumin to the protein-thiyl free radical. *FEBS Lett.*, 348, 287-290.
- Giese, B., 2000. Hop to it. *Chem Britain.*, 4, 44-46.
- Gonzalez, N.V., Soloneski, S. and Larramendy, M. L., 2006. Genotoxicity analysis of the phenoxy herbicide dicamba in mammalian cells *in vitro*. *Toxicol in Vitro.*, baskıda.
- Gökmen, S. S., Sunar, B., Kazezoğlu, C., Özçelik, F., Yorulmaz, F. and Gülen, Ş., 2004. Akut myokard infarktüsünde inflamasyona duyarlı protein düzeyleri. *Turk J Biochem.*, 29 (4), 256-261.
- Gren, G. H., Lott, M. D. and Weeth, H. J., 1973. Effects of boron water on rats. *Proc West Sect Am Soc Anim Sci.*, 24, 254-258.
- Gren, G. H. and Weeth, H. J., 1977. Responses of heifers ingesting boron in water. *J Anim Sci.*, 46, 812-818.
- Grzelak, A. and Bartosz, G., 2005. Melatonin does not affect total antioxidant capacity of blood plasma *in vitro*. *Scand J Clin Lab Invest.*, 65 (1), 77-81.
- Guhl, W., 1996. Ecological aspects of boron. *SÖFW-Journal*, 118 (18/92), 1159-1168.
- Guyton, K. Z. and Kensler, T. W., 1993. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *Br Med Bull.*, 49, 523-544.
- Gülbayzar, S., 2006. Yenidoğan bebeklerde kord kanında malondialdehit. T. C. Sağlık Bakanlığı, İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- Gülçin, İ., 2002. Isırgan otunun antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerin karakterizasyonu ve bazı *in vivo* etkilerinin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
- Gülten, T. E., 1999. Guatrlı Olgularda Kromozom Aberasyonlarının İncelenmesi. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Bursa.
- Haber, F. and Weiss, J. J., 1934. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc R Soc Lond Ser.*, 147, 332-351.
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B., 1974. Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249, 7130-7139.
- Hadnagy, W., Marsetz, B. and Idel, H., 2003. Hemolytic activity of crystalline silica-separated erythrocytes versus whole blood. *Int J Hyg Environ Health.*, 206 (2), 103-107.
- Hall, I. H., Starnes, C. O., McPhail, A. T., Wisian-Neilson, P., Das, M. K., Harchelroad,

- F. and Spielvogel, B. F., 1980. Anti-inflammatory activity of amine cyanoboranes, amine carboxyboranes, and related compounds. *J. Pharm. Sci.*, 69, 1025–1029.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C., 1986. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: Some problem and concepts. *Arch Biochem Biophys.*, 246, 501-514.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C., 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2.ed. Clarendon Pres, Oxford.
- Halliwell, B., 1996. Antioxidant in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, 16, 33-50.
- Hamilton, M. L., Van Remmen, H., Drake, J. A., Yang, H., Guo, Z. M., Kewitt, K., Walter, C. A. and Richardson, A., 2001. Does oxidative damage to DNA increase with age?. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 98, 10469–10474.
- Hamilton, S. J. and Buhl, K. J., 1990. Acute toxicity of boron, molybdenum and selenium to fry of chinook salmon and coho salmon. *Arch Environ Contam Toxicol.*, 19 (3), 366-373.
- Hanna, P. M., Kadiiska, M. B. and Mason, R. P., 1992. Oxygen-derived free radical and active oxygen complex-formation from cobalt(II) chelates *in vitro*. *Chem. Res. Toxicol.*, 5, 109–115.
- Harman, D., 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 11, 298–300.
- Harrison, J. E. and Schultz, J., 1976. Studies on the chlorinating activity of myeloperoxidase. *J Biol Chem.*, 251, 1371-1374.
- Havercroft, J. M. and Ward, N. I., 1991. Boron and other elements in relation to rheumatoid arthritis. In: Momeilovic B ed. *Trace elements in man and animals*. Zagreb, Croatia, IMI, pp 8/2-8/3.
- Hayes, J. D. and McLellan, L. I., 1999. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Rad. Res.*, 31, 273–300.
- He, S. G., Sunahori, F. X. and Clouthier, D. J., 2005. A new family of new boron-containing free radicals. *J Am Chem Soc.*, 127 (31), 10814-10815.
- Heindel, J. J., Price, C. J., Field, E. A., Marr, M. C., Myers, C. B., Morrissey, R. E. and Schwetz, B. A., 1992. Developmental toxicity of boric acid in mice and rats. *Fundam Appl Toxicol.*, 18, 266-277.
- Hochster, R.M., Kates, M. and Quastel, J.H., 1973. *Metabolic inhibitors*. Vol. 3-4, Academic Press, New York, 66-82.
- Hoffman, D. J., Sanderson, C. J., LeCaptain L. J., Cromartie, E. and Pendleton, G. W., 1991. Interactive effects of boron, selenium, and dietary protein on survival, growth, and physiology in mallard ducklings. *Arch Environ Contam Toxicol.*, 20 (2), 288-294.
- Hoffman, D. J., Sanderson, C. J., LeCaptain, L. J., Cromartie, E. and Pendleton, G. W., 1992. Interactive effects of selenium, methionine, and dietary protein on survival, growth, and physiology in mallard ducklings. *Arch Environ Contam Toxicol.*, 23 (2), 163-171.
- Holvoet P., Perez, G., Zhao, Z., 1995. Malonaldehyde-modified low density lipoprotein in patients with atherosclerotic disease. *J. Clin. Invest.*, 95, 2611–2619.
- Hu, D. M., Cao, Y. Q., Chen, Z. Q. and Wang, N., 2006. Effect of exogenous cytokine-stimulated decidual cells of early pregnancy on IgG secretion of B lymphocytes.

- Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao., 26 (7), 1050-1052.
- Hubbard, S. A., 1998. Comparative toxicology of borates. *Biol Trace Elem Res.*, 66 (1-3), 343-357.
- Hudak, J., 1973. Effect of boric acid on the division and elongation of cells in root tip of *Vicia faba* (L.) cv. Povazsky Acta Fac Rerum Nat Univ Comenianae *Physiol Plant.*, 6, 119-126.
- Huel, G., Yazbeck, C., Burnel, D., Missy, P., Kloppmann, W., 2004. Environmental boron exposure and activity of delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) in a newborn population. *Toxicol Sci.*, 80 (2), 304-309.
- Hughes, D. A., 1999. Effects of dietary antioxidants on the immune function of middle-aged adults. *Proc. Nutr. Soc.*, 58, 79-84.
- Huie, R. E. and Padmaja, S., 1993. The reaction of NO with superoxide. *Free Rad Res Commun.*, 18, 195-199.
- Hunt, C. D. and Herbal, J. L., 1992. Boron affects energy metabolism in the streptozotocin-injected, vitamin D3-deprived rat. *Magnes Trace Elem.*, 10 (5-6), 374-386.
- Hunt, C. D. and Herbel, J. L., 1993. Trace elements in man and animals--TEMA 8. Proceedings of the Eighth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals, Gersdorf, Germany, Verlag Media Touristik, pp 714-718.
- Hunt, C. D. and Idso, J. P., 1999. Dietary boron as a physiological regulator of the normal inflammatory response: a review and current research progress. *J Trace Elem Exp Med.*, 12, 221-233.
- Hunt, C. D., 1994. The biochemical effects of physiologic amount of dietary boron in animal nutrition models. *Environ Health Perspect.*, 102 (7), 35-43.
- Hunt, C. D., 1998. Regulation of enzymatic activity: one possible role of dietary boron in higher animals and humans. *Biol. Trace Elem. Res.*, 66, 205-225.
- Hunt, C. D., Herbel, J. L. and Idso, J. P., 1993. Dietary boron modifies the effects of exercise training on bone and energy substrate metabolism in the rat. *FASEB J.*, 7, A204.
- Hunt, C. D., Shuler, T. R. and Mullen, L. M., 1991. Concentration of boron and other elements in human foods and personal-care products. *J Am Diet Assoc.*, 91, 558-568.
- I.E.H.R., 1997. Institute for Evaluating Health Risks, An assessment of boric acid and borax using the IEHR evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents. *Reprod Toxicol.*, 11, 123-160.
- Inoue, M., Sato, E. F., Nishikawa, M., Park, A. M., Kira, Y., Imada, I. and Utsumi, K., 2003. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Curr. Med. Chem.*, 10, 2495-2505.
- Ishii, Y., Fujizuka, N., Takahashi, T., Shimizu, K., Tuchida, A., Yano, S., Noruse, T., Chishiro, T., 1993. A fatal case of acute boric acid poisoning. *Clinical Toxicology*, 31, 345-352.
- İlbars, H., 1997. Kuaförlerde ve kozmetik üretim yerinde çalışan bireylerde olası genotoksik etkilerin mikroçekirdek testi ile araştırılması. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Janisch, K. M., Milde, J., Schempp, H. and Elstner, E. F., 2005. Vitamin C, vitamin E and flavonoids. *Dev Ophthalmol.*, 38, 59-69.
- Jansen, J. A., Schou, J. S. and Aggerback, A., 1984b. Boric acid single dose

- pharmacokinetics after intravenous administration to man. *Arch Toxicol.*, 55, 64-67.
- Jansen, J. A., Schou, J. S. and Aggerbeck, A., 1984a. Gastrointestinal absorption and *in vitro* release of boric acid from water-emulsifying ointments. *Food Chem Toxicol.*, 22, 49-53.
- Jansson, T., Curvall M., Hedin A. and Enzel C. R., 1986. *In vitro* studies of biological effects of cigarette smoke condensate. *Mutation Research*, 169 (3), 129-139.
- Jensen, J. P., 2006. The rise and fall of borax as an antiepileptic drug. *Arch Neurol.*, 63 (4), 621-662.
- Job, C., 1973. Resorption and excretion of orally administered boron. *Z Angew Bader-Klimahelik.*, 20, 137-142.
- Kahl, R., 1984. Synthetic antioxidants: biochemical actions and interference with radiation, toxic compounds, chemical mutagens and chemical carcinogens. *Toxicol.*, 33 (3-4), 185-228.
- Kakarla, P., Vadluri, G. and Reddy, K. S., 2005. Response of hepatic antioxidant system to exercise training in aging female rat. *J Exp Zoolog A Comp Exp Biol.*, 303 (3), 203-208.
- Kamat, C. D., Green, D. E., Curilla, S., Warnke, L., Hamilton, J. W., Sturup, S., Clark, C. and Ihnat, M. A., 2005. Role of HIF signaling on tumorigenesis in response to chronic low-dose arsenic administration. *Toxicol. Sci.*, 86, 248-257.
- Karoui, H., Hogg, N., Frejaville, C., Tordo, P. and Kalyanaraman, B., 1996. Characterization of sulfur-centered radical intermediates formed during the oxidation of thiols and sulfite by peroxynitrite. ESR-spin trapping and oxygen uptake studies. *J. Biol. Chem.*, 271, 6000-6009.
- Kasprzak, K. S., 2002. Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis. *Free Rad. Biol. Med.*, 32, 958-967.
- Kawanishi, S., Hiraku, Y. and Oikawa, S., 2001. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutat Res.*, 488 (1), 65-76.
- Kelly, G. S., 1997. Boron: a review of its nutritional interactions and therapeutic uses. *Altern. Med. Rev.*, 2, 48-56.
- Kelsey, K. T., Smith, T. J., Hammond, S. K., Letz, R. and Little, J. B., 1990. SCE in lymphocytes from styrene-exposed boat builders. *Mutation Research*, 241, 215-221.
- Kent, N. L. and McCance, R. A., 1941. The absorption and excretion of "minor" elements by man: I. Silver, gold, lithium, boron and vanadium. *Biochem J.*, 35, 837-844.
- Ketterer, B. and Coles, B., 1991. Glutathione transferases and products of reactive oxygen. In: H. Sies, Editor, *Oxidative Stress, Oxidants and Antioxidants*, Academic Press, pp. 171-194, London.
- Kim, H., Oh, E., Im, H., Mun, J., Yang, M., Khim, J. Y., Lee, E., Lim, S. H., Kong, M. H., Lee, M. and Sul, D., 2006. Oxidative damages in the DNA, lipids, and proteins of rats exposed to isofluranes and alcohols. , 220 (2-3), 169-178.
- Kling, L. J., Soares, J. H. and Haltman, W.A., 1987. Effect of vitamin E and synthetic antioxidants on the survival rate of mercury-poisoned Japanese quail. *Poult Sci.*, 66 (2), 325-331.
- Kocatürk, P. A., 1998. Rat Testis Dokusu Üzerine Akut Borik Asit Uygulamasının

- Fizyopatolojik ve Histopatolojik Etkileri. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Koizumi, T. and Li, Z., 1992. Role of oxidative stress in single-dose cadmium-induced testicular cancer. *J. Toxicol. Environ. Health.*, 37, 25–36.
- Koppele, J., Lucassen, P. J., Sakkee, A. N., van Asten, J. G., Ravid, R., Swaab, D. F. and van Bezooijen, C. F. A., 1996. 8-OHdG levels in brain do not indicate oxidative DNA damage in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*, 17, 819–826.
- Krajcovicova-Kudlackova, M. and Dusinska, M., 2004. Oxidative DNA damage in relation to nutrition. *Neoplasia*, 51 (1), 30-33.
- Ku, W. W. and Chapin, R. E., 1994. Mechanism of the testicular toxicity of boric acid in rats: *in vivo* and *in vitro* studies. *Environ Health Perspect.*, 102 (7), 99-105.
- Ku, W. W., Chapin, R. E., Moseman, R. F., Brink, R. E., Pierce, K. D. and Adams, K. Y., 1991. Tissue disposition of boron in Fischer rats. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 111, 145-151.
- Ku, W. W., Chapin, R. E., Wine, R. N. and Gladen, B. C., 1993. Testicular toxicity of boric acid (BA): Relationship of dose to lesion development and recovery in the F344 rat. *Reprod Toxicol.*, 7, 305-319.
- Ku, W. W., Shih, L. M. and Chapin, R. E., 1993. The effects of boric acid (BA) on testicular cells in culture. *Reprod Toxicol.*, 7, 321-331.
- Kunkel, T. A., Pavlov, Y. I. and Bebenek, K., 2003. Functions of human DNA polymerases eta, kappa and iota suggested by their properties, including fidelity with undamaged DNA templates. *DNA Repair*, 2 (2), 135-149.
- Kurtoglu, F., Kurtoglu, V., Celik, I., Kececi, T. and Nizamlioglu, M., 2005. Effects of dietary boron supplementation on some biochemical parameters, peripheral blood lymphocytes, splenic plasma cells and bone characteristics of broiler chicks given diets with adequate or inadequate cholecalciferol (vitamin D3) content. *Br Poult Sci.*, 46 (1), 87-96.
- Kurvink, K., Bloomfield C. D. and Cervenka J., 1978. Sister chromatid exchange in patients with viral disease. *Exp Cell Res.*, 113 (2), 450-3.
- Kutbay, Y. B., 2001. Sitokalazin-B ile bloklanan hücrelerde yaşa bağlı mikronükleus oranları. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Samsun.
- Lachance, P. A., Nakat, Z. and Jeong, W. S., 2001. Antioxidants: an integrative approach. *Nutr.*, 17, 835-838.
- Lambeth, J.D., 2004. Nox enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nature Reviews Immunology*, 4 (3), 181-189.
- Lando, C., Hagmar, L., Bonnassi, S., 1998. Biomarkers of cytogenetic damage in human and risk of cancer. The European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Med. Lav.*, 89, 124-131.
- Landolph, J. R., 1985. Cytotoxicity and negligible genotoxicity of borax and borax ores to cultured mammalian cells. *Am J Ind Med.*, 7, 31-43.
- Laposata, M. M. and Dunson, W. A., 1998. Effects of boron and nitrate on hatching success of amphibian eggs. *Arch Environ Contam Toxicol.*, 35 (4), 615-619.
- Larsen, N. B., Rasmussen, M. and Rasmussen, L. J., 2005. Nuclear and mitochondrial DNA repair: similar pathways? *Mitochondrion.*, 5 (2), 89-108.
- Lazutka, J. R., Dedon V. and Lekevicius R. K., 1992. SCE in lymphocytes of normal and alcoholic subjects. *Experientia*, 48 (5), 508-12.

- Lee, D. H, O'Connor, T. R. and Pfeifer, G. P., 2002. Oxidative DNA damage induced by copper and hydrogen peroxide promotes CG-->TT tandem mutations at methylated CpG dinucleotides in nucleotide excision repair-deficient cells. *Nucleic Acids Res.*, 30 (16), 3566-3573.
- Lee, I. P., Sherins, R. J. and Dixon, R. L., 1978. Evidence for induction of germinal aplasia in male rats by environmental exposure to boron. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 45, 577-590.
- Lee, R. F. and Steinert, S., 2003. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. *Mutat Res.*, 544 (1), 43-64.
- Leonard, S. S., Haris, G. K. and Shi, X. L., 2004. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Rad. Biol. Med.*, 37, 1921-1942.
- Lewin, J. C., 1966. Boron as a growth requirement for diatoms. *J Phycol.*, 2, 160-163.
- Linden, C. H., Hall, A. H., Kulig, K. W. and Rumack, B. H., 1986. Acute ingestion of boric acid. *J Toxicol Clin Toxicol.*, 24, 269-279.
- Linder, R. E., Strader, L. F. and Rehnberg, G. L., 1990. Effect of acute exposure to boric acid on the male reproductive system of the rat. *J Toxicol Environ Health.*, 31, 133-146.
- Litovitz, T. L., Klein-Schwartz, W., Oderda, G. M. and Schmitz, B. F., 1988. Clinical manifestation of toxicity in a series of 784 boric acid ingestions. *Am J Emerg Med.*, 6, 209-213.
- Liu, J. and Shi, X. L., 2001. *In vivo* reduction of chromium(VI) and its related free radical generation. *Mol. Cell. Biochem.*, 222, 41-47.
- Liu, X., Miller, M. S., Joshi, M. S., Thomas, D. D. and Lancaster, J. R., 1998. Accelerated reaction of nitric oxide with O₂ within the hydrophobic interior of biological membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95, 2175-2179.
- Loewengart, G., 2001. Toxicity of boron to rainbow trout: a weight-of-the-evidence assessment. *Environ Toxicol Chem.*, 20 (4), 796-803.
- Long, C. A. and Bielski, B. H. J., 1980. Rate of reaction of superoxide radical with chloride-containing species. *J Phys Chem.*, 84, 555-557.
- Lotito, S. B. and Frei, F., 2004. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting *in vitro* and *in vivo* effects. *Free Rad Biol Med*, 36 (2), 201-211.
- Lovatt, C. J. and Dugger, W. M., 1984. Boron. In: Frieden E ed. *Biochemistry of the essential ultratrace elements*. New York, London, Plenum Press, pp 389-421.
- Lovell, M. A., Gabbita, S. P. and Markesbery, W. R., 1999. Increased DNA oxidation and decreased levels of repair products in Alzheimer's disease ventricular CSF. *J. Neurochem.*, 72, 771-776.
- Lu, H., Shi, X., Costa, M. and Huang, C., 2005. Carcinogenic effect of nickel compounds. *Mol Cell Biochem.*, 279 (1-2), 45-67.
- Ludbrook, W. V., 1942. The effects of various concentrations of boron on the growth of pine seedlings in water culture. *J Aust Inst Agric Sci.*, 8, 112-114.
- Maffei, F., Forti, G. C., Castelli, E., Stefanini, G. F., Mattioli, S., Hrelia, P., 2002. Biomarkers to assess the genetic damage induced by alcohol abuse in human lymphocytes. *Mutat Res.*, 514 (1-2), 49-58.
- Magour, S., Schramel, P. and Ovcara, J., 1982. Uptake and distribution of boron in rats: interaction with ethanol and hexobarbital in the brain. *Arch Environ contam*

- Toxicol, 11, 521-525.
- Mahmoudi, M., Mercer, J. and Bennett, M., 2006. DNA damage and repair in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.*, 71 (2), 259-268.
- Maluszynska, J., Juchimiuk, J. and Wolny, E., 2003. Chromosomal aberrations in *Crepis capillaris* cells detected by FISH. *Folia Histochem Cytobiol.*, 41 (2), 101-104.
- Margiotta, G., Barbata, G., Carbone, P., Granata, G. and Caronia, F., 1981. Chromosome abnormalities in bone marrow cells and peripheral lymphocytes in a patient with Fanconi's anemia. *Minerva Med.*, 72 (35), 2361-2365.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A., Watkins, J. B., 2003. Diabetes, oxidative stress and antioxidants. *J. Biochem. Molecular Toxicology*, 17 (1), 24-37.
- Marnett, L. J., 2000. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis.*, 21, 361-370.
- Martinez, F., Mateo, P., Bonilla, I. and Fernandez-Valiente, E., 1986. Cellular changes due to boron toxicity in the blue-green alga *Anacystis nidulans*. *Int J Exp Bot.*, 46, 145-152.
- Mateo, P., Bonilla, I., Fernandez-Valiente, E. and Sanchez-Maeso, E., 1986. Essentiality of boron for dinitrogen fixation in *Anabaena* sp. PCC 7119. *Plant Physiol.*, 81, 17-21.
- Mates, J. M., Perez-Gomez, C. and De Castro, I. N., 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.*, 32, 595-603.
- Mavi, A., 2005. İnsan Eritrosit ve Lökositlerinden Süperoksit Dismutaz Enziminin Saflaştırılması ve Bazı İlaçların Enzim Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
- Maxwell, S. R., Dietrich, T. and Chapple, I. L. C., 2006. Prediction of serum total antioxidant activity from the concentration of individual serum antioxidants. *Clinica Chimica Acta*, Baskıda.
- Mc Kee, J.E., and H.W, Wolf.1963. Water Quality Criteria. The Resource Agency of California, 2nd ed. State Water Quality Control Board,Publication No.3A. pp 548.
- Meacham, S. L. and Hunt, C. D., 1998. Dietary boron intakes of selected populations in the United States. *Biol Trace Elem Res*, 66, 65-78.
- Meister, A., 1983. Selective modification of glutathione metabolism. *Science (Wash. DC)*, 220, 472-477.
- Meister, A., 1994. Glutathione, ascorbate and cellular protection. *Cancer Res Suppl.*, 954, 1969-1975.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYU Vet Fak Derg.*, 15 (1-2), 91-96.
- Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O. and Remacle, J., 1998. Importance of Se-Glutathione Peroxidase, Catalase and Cu/Zn-SOD for Cell Survival Against Oxidative Stress. *Free Rad Biol Med.*, 17, 235-248.
- Misra, H.P. and Fridovich, K., 1972. The generation of superoxide radical during the autooxidation of hemoglobin. *J Biol Chem.*, 247, 6960-62.
- Moore, J. A. and an Expert Scientific Committee., 1997. An assessment of boric acid and borax using the IEHR Evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents. *Reproductive Toxicology*, 11 (1), 123-160.
- Moore, J. A., 1997. An assessment of boric acid and borax using the IEHR evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents. *Expert Scientific Committee. Reprod Toxicol.*, 11, 123-160.

- Moseman, R. F., 1994. Chemical disposition of boron in animals and humans. *Environ Health Perspect.*, 102 (7), 113-117.
- Murray, F. J., 1998. A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans. *Biol Trace Elem Res.*, 66, 331-341.
- Murray, F.J., 1996. Issues in boron risk assesment; pivotal study, uncertainly factors, and ADIS. *J Trace Element Exp Med.*, 9, 231-43.
- Müftüoğlu, M., 2003. DNA Tamiri ve Erken Yaşlanma Sendromları. *Turk J Biochem.*, 28 (1), 20-24.
- N.T.P., 1987. Toxicology and carcinogenesis studies of boric acid (CAS No. 10043-35-3) in B6C3F₁ mice (feed studies). Research Triangle Park, North Carolina, US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program (NTP TR No. 324).
- Nackerdien, Z., Kasprzak, K. S., Rao, G., Halliwell, B. and Dizdaroglu, M., Nickel(II)-dependent and cobalt(II)-dependent damage by hydrogen-peroxide to the DNA bases in isolated human chromatin. *Cancer Res.*, 51, 5837-5842.
- Naghii, M.R. and Saman, S., 1996. The effect of boron supplementation on the distribution of boron in selected tissues and on testosterone synthesis in rats. *J Nutritional Biochemistry*, 7, 507-512.
- Neri, M., Fucic, A., Knudsen, L. E., Lando, C., Merlo, F., Bonassi, S., 2003. Micronuclei frequency in children exposed to environmental mutagens: a review. *Mutat Res.*, 544 (2-3), 243-254.
- Nielsen, F. H., 1988. Boron, an overlooked element of potential nutritional importance. *Nutr Today.*, 23, 4-7.
- Nielsen, F. H., 1989. Dietary boron affects variables associated with copper metabolism in humans. In: Anke, M., Baumann, W., Braunlich, H., Brückner, C., Groppel, B. and Grün, M. (eds.). 6th International Trace element Symposium. pp. 1106-1111.
- Nielsen, F. H., Hunt, C. D., Mullen, L. M. and Hunt, J. R., 1987. Effect of dietary boron on mineral, estrogen and testosterone metabolism in postmenopausal women. *FASEB J*, 1: 394-397.
- Nielsen, F. H., Mullen, L. M. and Nielsen, E. J., 1991. Dietary boron affects blood cell counts and hemoglobin concentrations in humans. *J Trace Elem Exp Med.*, 4, 211-223.
- Nielsen, G. H., 1970. Percutaneous absorption of boric acid from boron-containing preparations in rats. *Acta Pharmacol Toxicol.*, 20, 413-424.
- Nishino, H., Murakosh, M., Ii, T., Takemura, M., Kuchide, M., Kanazawa, M., Mou, X. Y., Wada, S., Masuda, M., Ohsaka, Y., Yogosawa, S., Satomi, Y. and Jinno, K., 2002. Carotenoids in cancer chemoprevention. *Cancer Metastasis Rev.*, 21 (3-4), 257-264.
- Nordman, T., Xia, L., Bjorkhem-Bergman, L., Damdimopoulos, A., Nalvarte, I., Arner, E. S., Spyrou, G., Eriksson, L. C., Bjornstedt, M., Olsson, J. M., 2003. Regeneration of the antioxidant ubiquinol by lipoamide dehydrogenase, thioredoxin reductase and glutathione reductase. *Biofactors*, 18 (1-4), 45-50.
- Onat, T., Emerk, K. and Sözmen E. T., 2002. İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Orhan, H., Holland, B. V., Krab, B., Moeken, J., Vermeulen, N. P. E., Hollander, P. and Meerman, J. H. N., 2004. Evaluation of a multi-parameter biomarker set for oxidative damage in man: increase urinary excretion of lipid, protein and DNA

- oxidation products after one hour of exercise. Free Radic. Res., 38, 1269–1279.
- Ostrovskij, N. I., 1955. Toxic effect on honey bees by contact with herbicides and foliar fertilizer. Dokl Vses Akad Skh Nauk im V I Lenina., 20, 32-34.
- O'Sullivan, K. and Taylor, M., 1983. Chronic boric acid poisoning in infants. Arch Dis Child., 58, 737-739.
- Ölçen, N., 2001. Bor Madeninin Enerji Alanındaki Önemi. Uludağ Üniversitesi, Makine Mühendisliği, Tez, Bursa.
- Özbakış-Dengiz, G. and Banoğlu, Z. N., 2001. Sıçanlarda feniletilaminin neden olduğu lokomotor aktivite artışına melatoninin etkisi. Bull Clin Psychopharmacol., 11 (4), 225-229.
- Özkınay, C., 1982. Kromozomlarda kardeş kromatid değişimi. E. Ü. Tıp Fak. Dergisi, 21, 1-14.
- Özkurt, Ş., 2000. Çatören ve Kunduzlar Baraj Göletlerindeki Sazanların Dokularında Bor Birikimi. Turk.J.Biol. Tübitak., 24, 663-676.
- Özsoy, A., 1991. Çeliklerin Borlanması Bőrür Tabakası, Geçiş Zonu ve Anamatriksin Özelliklerinin İyileştirilmesi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Eskişehir.
- Öztaş, H., 2000. Hücre Biyolojisi (Sitoloji), Bakanlar Media, Erzurum.
- Öztürk, A., 1995. Meme kanserli olguların lenfosit hücrelerinde kardeş kromatid değişimi sıklığı. Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Antalya.
- Paralı, F., 1994. Etidyum Bromidin (EtBr) *in vitro* insan lenfositlerine etkisinin SCE yöntemiyle gösterilmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Parr, A. J. and Loughman, P. C., 1983. Boron and membrane function in plants. Annu Proc Phytochem Soc Eur., 21, 87-107.
- Pasha Shaik, A., Sankar, S., Reddy, S. C., Das, P. G. and Jamil, K., 2006. Lead-induced genotoxicity in lymphocytes from peripheral blood samples of humans: *in vitro* studies. Drug Chem Toxicol., 29 (1), 111-124.
- Patel, R. P., McAndrew, J., Sellak, H., White, C. R., Jo, H., Freeman, B. A., Darley-Usmar, V. M., 1999. Biological aspects of reactive nitrogen species. Biochim Biophys Acta., 1411 (2-3), 385-400.
- Pawa, S. and Ali, S., 2006. Boron ameliorates fulminant hepatic failure by counteracting the changes associated with the oxidative stress. Chemico-Biological Interactions, 160 (2), 89-98.
- Pelevina, II., Aleshchenko, A. V., Gotlib, VIa., Kudriashova, O. V., Semenova, L. P., Serebrianyi, A. M., 2005. Effect of low dose irradiation on the reaction of blood lymphocytes of individuals with the somatic diseases. Radiats Biol Radioecol., 45 (4), 412-415.
- Penland, J. G., 1994. Dietary boron, brain function, and cognitive performance. Environ. Health Perspect., 102 (7), 65–72.
- Pfeiffer, C. C., Hallman, L. F. and Gersh, I., 1945. Boric acid ointment: A study of possible intoxication in the treatment of burns. J Am Med Assoc., 128, 266-274.
- Powers, S. K. and Lennon, S. L., 1999. Analysis of cellular response to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. Proc Nutr Soc., 58, 1025-1033.
- Prakash, S. and Prakash, L., 2002. Translesion DNA synthesis in eukaryotes: a one- or two-polymerase affair. Genes Dev., 16 (15), 1872-1873.

- Prasad, N. R., Srinivasan, M., Pugalendi, K. V., Menon, V. P., 2006. Protective effect of ferulic acid on gamma-radiation-induced micronuclei, dicentric aberration and lipid peroxidation in human lymphocytes. *Mutat Res.*, 603 (2), 129-134.
- Price, C. J., Marr, M. C., Myeos, C. B., Seely, J. C., Heindel, J. J. and Schwetz, B. A., 1996. The developmental toxicity of boric acid in rabbits. *Fundam Appl Toxicol.*, 34, 176-187.
- Rahman, I., Biswas, S. K. and Kode, A., 2006. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *Eur J Pharmacol.*, 533 (1-3), 222-239.
- Rainey, C. J., Nyquist, L. A., Christensen, R. E., Strong, P. L. and Culver, B. D., 1999. Daily boron intake from the American diet. *J Am Diet Assoc.*, 99, 335-340.
- Ravid, A. and Koren, R., 2003. The role of reactive oxygen species in the anticancer activity of vitamin D. *Recent Results Cancer Res.*, 164, 357-367.
- Ray, G. and Husain, S. A., 2002. Oxidants, antioxidants and carcinogenesis. *Indian J Exp Biol.*, 40 (11), 1213-1232.
- Restuccio, A., Mortensen, M. E., Kelley, M. T., 1992. Fatal ingestion of boric acid in an adult. *Am J Emerg Med.*, 10 (6), 45-47.
- Richard, F., Aurias, A., Couturier, J., Dutrillaux, A. M. and Flury-Herard, A., Gerbault Seureau, M., Hoffschir, F., Lamoliatte, E., Lefrancois, D. and Lombard, M., 1993. Aneuploidy in human lymphocytes: an extensive study of eight individuals of various ages. *Mutat Res.*, 295 (2), 71-80.
- Roberford, M. B. and Calderon, P. B., 1995. Free radicals and oxidation phenomena in biological system. Marcel Decker Inc., 270, 193-203, Madison Avenue, New York.
- Robinson, J. P., 1998. Oxygen and nitrogen reactive metabolites and phagocytic cells. In *Phagocyte Function. A guide for research and clinical evaluation.* (eds.) Robinson, J. P. and Babcock, G. F. Wiley Liss Inc.
- Rodeiro, I., Cancino, L., Gonzalez, J. E., Morffi, J., Garrido, G., Gonzalez, R. M., Nunez, A. and Delgado, R., 2006. Evaluation of the genotoxic potential of *Mangifera indica* L. extract (Vimang), a new natural product with antioxidant activity. *Food Chem Toxicol.*, 26, baskıda.
- Rodriguez-Reyes, R. and Morales R. P., 2003. Sister chromatid exchange induction and the course of DNA duplication, two mechanisms of SCE induction by ENU and the role of BrdU. *Mutagenesis*, 18 (1), 65-72.
- Rooney, D. E. and Czepulkowski B. H., 1986. Human cytogenetics: a practical approach. Oxford-IRL Press-W, 1-224.
- Rossi, A. F., Miles, R. D., Damron, B. L. and Flunker, L. K., 1993. Effects of dietary boron supplementation on broilers. *Poultry Sci.*, 72 (11), 2124-2130.
- Rossing, D., Kahl, R. and Hildebrandt, A. G., 1985. Effect of synthetic antioxidants on hydrogen peroxide formation, oxyferro cytochrome P-450 concentration and oxygen consumption in liver microsomes. *Toxicol.*, 34 (1), 67-77.
- Roudabush, R. L., Terhaar, C. J., Fassett, D. W. and Dziuba, S. P., 1965. Comparative acute effects of some chemicals on the skin of rabbits and guinea pigs. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 7, 559-565.
- Roy, J. H., 1984. Sister-chromatid exchange induction by sodium selenite: reduced glutathione converts Na_2SeO_3 to its SCE-inducing form. *Mutation Research*, 141 (1), 49-53.
- Rubbo, R., Radi, R., Trujillo, M., Telleri, R., Kalyanaraman, B., Barnes, S., Kirk, M.

- and Freeman, B. A., 1994. Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J. Biol. Chem.*, 269, 26066–26075.
- Rusch, G. M., Hoffman, G. M., McConnell, R. F. and Rinehart, W. E., 1986. Inhalation toxicity studies with boron trifluoride. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 83, 69-78.
- Saigo, K., Hashimoto, M., Kumagai, S. and Sugimoto, T., 1999. Detection of hematopoietic stem cells by flow cytometry, hematology analyzer or *in vitro* culture method. *Rinsho Byori.*, 110, 124-130.
- Salonen, J. T., 2000. Markers of oxidative damage and antioxidant protection: assessment of LDL oxidation. *Free Radic. Res.*, 33, 41–46.
- Sander, J. E., Dufour, L., Wyatt, R. D., Bush, P.B. and Page, R. K., 1991. Acute toxicity of boric acid and boron tissue residues after chronic exposure in broiler chickens., 35(4), 745-749.
- Schärer, O. D., 2003. Chemistry and biology of DNA repair. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 42, 2946–2974.
- Schofield, M.J. and Hsieh, P., 2003. DNA mismatch repair: molecular mechanisms and biological function. *Annu Rev Microbiol.*, 57, 579-608.
- Schou, J. S., Jansen, J. A. and Aggerbeck, B., 1984. Human pharmacokinetics and safety of boric acid. *Arch Toxicol.*, 7, 232-235.
- Seeberg, E., Eide, L. and Bjørås, M., 1995. The base excision repair pathway. *Trends Biochem. Sci.*, 20, 391–397.
- Seffner, W., Teubener, W., Runde, H., Wiedner, H., Vogt, J., Otto, G., Zschau, E., Geinitz, D. and Franke, J., 1990. Boron as an antidote to fluorosis? II. Studies on various organs of pigs. *Fluoride*, 23 (2), 68-79.
- Serbecic, N. and Beutelspacher, S. C., 2005. Vitamins inhibit oxidant-induced apoptosis of corneal endothelial cells. *Jpn J Ophthalmol.*, 49 (5), 355-362.
- Serpek, E., 2003. Bor mucizesi II: Kullanım alanları. *Pivolka*, 2(4), 8-9.
- Sevanian, A. and McLeod, L., 1997. Formation of Biological Reactivity of Lipid Peroxidation Products. Taylor and Francis, Washington: DC, pp. 47-70.
- Seymen, P., Seymen, H. O., Özdemir, A., Belce, A., Gümüştas, K., Türkmen, F ve Barut, Y. Ö., 2000. Cuprophane ve polisülfon dializörlerinin oksidan /antioksidan dengesi üzerine etkileri. *Cerrahpaşa J Med.*, 31 (2), 74-81.
- Shahidi, F., 2000. Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung*, 44 (3), 158-163.
- Shigenaga, M. K., Gimeno, C. J. and Ames, B. N., 1989. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of *in vivo* oxidative DNA damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 86, 9697–9701.
- Shopova, M., Petrovska, D., Musalevski, A., Najcevska, C. and Sekovski, Z., 1981. Cytogenetical and morphological effect of general toxicity caused with different concentrations of boron. *Mutat Res.*, 85, 229.
- Shuler, T. R., Pootrakul, P., Yarnsukon, P. and Nielsen, F. H., 1990. Effect of thalassaemia/immunoglobulin E disease on macro, trace and ultratrace element concentrations in human tissues. *J Trace Elem Exp Med.*, 3, 31-43.
- Sınırkaya M., 1999. Boraks atıklarından borun geri kazanılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Siah, C. W., Trinder, D. and Olynyk, J. K., 2005. Iron overload. *Clin. Chim. Acta.*, 358, 24–36.

- Silaev, A. A., Kasparov, A. A., Korolev, V. V. and Nebstrueva, V. V., 1977. Electron-microscopic investigation of the effect of boric acid on the seminiferous tubules of albino rats. *Bull Exp Biol Med (USSR)*, 83, 588-591.
- Siu, F. K., Lo, S. C. and Leung, M. C., 2004. Effectiveness of multiple pre-ischemia electro-acupuncture on attenuating lipid peroxidation induced by cerebral ischemia in adult rats. *Life Sci.*, 75 (11), 1323-1332.
- Snow, E. T., Sykora, P., Durham, T. R. and Klein, C. B., 2005. Arsenic, mode of action at biologically plausible low doses: What are the implications for low dose cancer risk?. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 207 (2S), 557-564.
- Sönmez, S., 1992. Yenidoğan Hiperbilirubinemisinde uygulanan fototerapinin kromozomlar üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum.
- Stadtman, E. R. and Berlett, B. S., 1998. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Drug Metab Rev.*, 30, 225-243.
- Stock, J. and Dormandy, T.L., 1971. The oxidation of human red cell lipids induced hydrogen peroxide. *Br J Haemat.*, 20, 95-111.
- Stohs, S. J. and Bagghi, D., 1995. Oxidative and mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic Biol Med.*, 18, 321-336.
- Stokinger, H. E. and Spiegl, C. J., 1953. Special materials, Part A: Inhalation-toxicity studies of boron halides and certain fluorinated hydrocarbons. In: Voegtlin C & Hodge HC ed. *Pharmacology and toxicology of uranium compounds: Chronic inhalation and other studies*. New York, McGraw-Hill, pp 2291-2321.
- Stokinger, H. E., 1981. Boron. In: Clayton GD & Clayton FE ed. *Patty's industrial hygiene and toxicology--Volume 2B: Toxicology*, 3rd ed. New York, John Wiley and Sons, pp 2978-3005.
- Stuttgen, G., Siebel, T. H. and Aggerbeck, B., 1982. Absorption of boric acid through human skin depending on the type of vehicle. *Arch Dermatol Res.*, 272, 21-29.
- Sugai, T., Habano, W., Jiao, Y. F., Suzuki, M., Takagane, A. and Nakamura, S., 2005. Analysis of genetic alterations associated with DNA diploidy, aneuploidy and multiploidy in gastric cancers. *Oncology*, 68 (4-6), 548-557.
- Sugino, N., Karube-Harada, A., Sakata, A., Takiguchi, S. and Kato, H., 2002. Different mechanisms for the induction of copper-zinc superoxide dismutase and manganase superoxide dismutase by progesterone in human endometrial stromal cells. *Hum Reprod.*, 17, 1709-1714.
- Sunil Kumar, K. B., Ankathil, R. and Devi, K. S., 1993. Chromosomal aberrations induced by methyl parathion in human peripheral lymphocytes of alcoholics and smokers. *Hum Exp Toxicol.*, 12 (4), 285-288.
- Svistunenko, D. A., 2005. Reaction of haem containing proteins and enzymes with hydroperoxides: The radical view. *Biochim Biophys Acta.*, 1707 (1), 127-155.
- Şaylı, B. S., 1975. Teorik ve Klinik Sitogenetik. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi yayınları, 223, Ankara.
- Şaylı, B.S, 2000. İnsan Sağlığı ve Bor Minareleri, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Eti Holding Araştırma Projeleri.
- Şayli, B. S., Tuccar, E. and Elhan, A. H., 1998. An assessment of fertility in boron-exposed Turkish subpopulations. *Reprod Toxicol.* 12 (3), 297-304.
- T. C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Müsteşarlığı, Madencilik Özel İhtisas

- Komisyonu, Endüstriyel Hammaddeler Alt Komisyonu, Kimya Sanayi Hammaddeleri Alt Komisyonu Çalışma Grubu Raporu 1995, Bor mineralleri, DPT: 2414-ÖİK: 474.
- T. C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Müsteşarlığı, Madencilik Özel İhtisas Komisyonu Raporu, 1999, Ankara.
- Taneri, A., 1985. Organik ve anorganik bor bileşikleri. Etibank Bülteni, 74, 20-28.
- Tang, D., Warburton D., Tannenbaum S. R., Skipper P.I, Santella R. M., Cereijido G. S., Crawford F. G. and Perera F. B., 1999. Molecular and genetic damage from environmental tobacco smoke in young children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 8 (5), 427-31.
- Tanrıverdi, N., 1991. Kardeş Kromatid Değişimi (SCE). Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bilim Uzmanlığı Tezi, Adana.
- Tapiero, H., Townsend, D. M. and Tew, K. D., 2004. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmacother.*, 58, 100-110.
- Tatar A., Ozkurt Z., Kiki I.: Genotoxic Effect of Ribavirin in Patients with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, *Japanese Journal of Infectious Diseases.* 2005; 58(5):313-315 .
- Tate, D. J. and Newsome, D. A., 2006. A novel zinc compound (zinc monocyteine) enhances the antioxidant capacity of human retinal pigment epithelial cells. *Curr Eye Res.*, 31 (7-8), 675-683.
- Thierens, H., Vral, A., De Ridder, L., 1996. A cytogenetic study of radiological workers: effect of age, smoking and radiation burden on the micronucleus frequency. *Mutat Res.*, 360 (2), 75-82.
- Thomas, M. J., 1995. The role of free radicals and antioxidants. How do we know that they are working. *Crit Rev Food Sci and Nutr.*, 35 (1-2), 21.
- Tice, R. R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J. C., Sasaki, Y. F., 2000. Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen.*, 35 (3), 206-221.
- Tietz, N. W., 1983. Clinical guide to laboratory tests. W.B. Saunders Co., 1-80, Philadelphia.
- Tiitus, P. M., Pushkarenko, J. and Houston, M. E., 1996. Lack of antioxidant adaptation to short-term aerobic training in human muscle. *Am J Physiol.*, 271, 832-836.
- Tokyay, N., 1999. "Helicobacter Pylori" Enfeksiyonu ve uygulanan eradikasyon tedavisinin genotoksikite üzerine etkileri. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasotik Toksikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Tomasch, R., Wagner, K.-H. and Elmadfa, I., 2001. Antioxidative power of plant oils in humans: the influence of α - and γ -tocopherol. *Annals Nutrition Metabolism*, 45, 110-115.
- Topal, A., 2006. Sıçan Pankreas Dokusu Üzerine Borik Asit Uygulamasının Histolojik Ve Biyokimyasal Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Torkelson, T.R., Sadek, S.E. and Rowe, V. K., 1961. The toxicity of boron trifluoride when inhaled by laboratory animals. *Am Ind Hyg Assoc J.*, 22, 263-270.
- Toyokuni, S., 1996. Iron-induced carcinogenesis: the role of redox regulation. *Free Radic. Biol. Med.*, 20, 553-566.
- Treinen, K. A. and Chapin, R. E., 1991. Development of testicular lesions in F344 rats

- after treatment with boric acid. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 107, 325-335.
- Truhaut, R., Phu-Lich, N. and Loisillier, F., 1964. Effects of the repeated ingestion of small doses of boron derivatives on the reproductive functions of the rat. *C R Acad Sci (Paris).*, 258, 5099-5102.
- Tucker, J. D., Auletta A., Micheal C. C., Kerry L. D., Kram D. J., Tice R. R., Carrona A. V., 1993. Sister Chromatid exchange: Second Report of the gene-tox program. *Mutation Research*, 101-180.
- Türkez, H., Tatar, A. and Geyikoglu, F., 2006. Investigation of bismuth genotoxicity in human lymphocyte cultures by sce method *in vitro*. *Medical Journal of Atatürk University*, 38,
- U.S.E.P.A., 2004. Toxicological review of boron and compounds. Environmental Protection Agency, EPA 635/04/52, Washington, D.C.
- Ulakoğlu, E. Z., Gümüştas, M. K., Belce, A., Altuğ, T. Ve Kökoğlu, E., 1998. Stresle ilgili mide mukozası hasarında endojen glutatyon tükenişinin enerji metabolizması ile ilişkisi. *Cerrahpaşa J Med.*, 29 (3), 115-160.
- Ullen, H., Augustsson, K., Gustavsson, C. and Steineck, G., 1997. Supplementary iron intake and risk of cancer: reversed causality?, *Cancer Lett.*, 114, 215-216.
- Urso, M. L. and Clarkson, P. M., 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicol.*, 189, 41-54.
- US EPA., 1994. Integrated risk informationsystem- on line. Cincinnati, Ohio, US Environmental Protection Agency, Environmental Criteria and Assessment Office.
- US FDA., 1981. Product formulation data. Computer printout. Washington, DC, US Food and Drug Administration.
- US Geological Survey, 2001. Mineral Commodity Summaries, Industrial Minerals, March. (<http://minerals.usgs.gov>).
- US Geological Survey, 2004. Mineral Commodity Summaries Annual, Industrial Minerals, January.
- Usuda, K., Kono, K. and Orita, Y., 1998. Serum and urinary boron levels in rats after single administration of sodium tetraborate. *Arch Toxicol.*, 72, 468-474.
- Ünalacak, M., Atmaca, H., Gürel, A., Armutcu, F., Demircan, N. ve Aktunç, E., 2005. Hiperglisemik Glukoz Metabolizma Bozukluğu Olan Hastalarda Serum Malondialdehit, α -Tokoferol ve - β - Karoten Düzeyleri. *Fırat Tıp Derg.*, 10 (3), 113-116.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Mancol, J., Izakovic, M. and Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.*, 160, 1-40.
- Valverde, M., Trejo, C. and Rojas, E., 2001. Is the capacity of lead acetate and cadmium chloride to induce genotoxic damage due to direct DNA-metal interaction? *Mutagenesis*, 16 (3), 265-270.
- Van der Lubbe, J. L., Rosdorff, H. J., van der Eb, A. J., 1989. Homologous recombination is not enhanced in UV-irradiated normal and repair-deficient human fibroblasts. *Mutat Res.*, 217 (2), 153-161.
- Vanderpool, R. A., Hof, D. and Johnson, P. E., 1994. Use of ICPMS in boron-10 stable isotope experiments with plants, rats and humans. *Environ Health Perspect*, 102 (7), 13-20.
- Venitt, S. and Parry J. M., 1984. Mutagenicity testing: a practical approach. IRL Press,

- Oxford. Washington D. C, 187-232.
- Verbitskaya, G. V., 1975. Experimental and field investigations concerning the hygienic evaluation of boron-containing drinking water. *Gig i Sanit.*, 7, 49-53.
- Wallace, S. S., 2002. Biological consequences of free radical-damaged DNA bases. *Free Rad Biol Med.*, 33 (1), 1-14.
- Ward, N. I., 1993. Boron levels in human tissues and fluids. In: Meissner MAD & Mills C-F ed. Trace elements in man and animals--TEMA 8. Proceedings of the Eighth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals. Gersford, Germany, Verlag Media Touristik, pp 724-728.
- Weeth, H. J., Speth, C. F. and Hanks, D. R., 1981. Boron content of plasma and urine as indicators of boron intake in cattle. *Am J Vet Res.*, 42, 474-477.
- Wegman, D. H., Eisen, E. A., Hu, X., Woskie, S. R., Smith, R. G. and Garabrant, D. H., 1994. Acute and chronic respiratory effects of sodium borate particulate exposures. *Environ Health Perspect.*, 102 (7), 119-128.
- Weinke, S., Kahl, R. and Kappus, H., 1987. Effect of four synthetic antioxidants on the formation of ethylene from methional in rat liver microsomes. *Toxicol Lett.*, 35 (2-3), 247-251.
- Weir, R. J. and Fisher, R. S., 1972. Toxicologic studies on borax and boric acid. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 23, 351-364.
- Weiss, S. J. and LoBuglio, A. F., 1982. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest.*, 47 (1), 5-18.
- Weksler, B. B., Moore, A. and Tepler, J., 1990. Hematology. In: Andreoli, T. E., Carpenter, C. C. J., Plum, F., Smith, L. H. (Eds.) *Cecil Essentials of Medicine*. 2nd Edition., W.B Saunders Company, Philadelphia, 341-363.
- Wells, N. and Whitton, J. S., 1977. A pedochemical survey: 3. Boron. *NZ J Sci.*, 20, 317-332.
- Whorton, M. D., Haas, J. L., Trent, L. And Wong, O., 1994. Reproductive effects of sodium borates on male employees: Birth rate assessment. *Occup Environ Med*, 51, 761-767.
- Wilding, J. L., Smith, W. J., Yevich, P., Sicks, M. E., Ryan, S. G. and Punte, C. L., 1959. The toxicity of boron oxide. *Am Ind Hyg Assoc J.*, 20, 284-289.
- Willcox, J. K., Sarah, L. A. and George, L. C., 2004. Antioxidants and Prevention of Chronic Disease. *Crit Rev In Food Sci Nutr.*, 44 (4), 275-295.
- Wink, D. A., Darbyshire, J. F., Nims, R. W., Saavedra, J. E. and Ford, P. C., 1993. Reactions of the bioregulatory agent nitric oxide in oxygenated aqueous media: determination of the kinetics for oxidation and nitrosation by intermediates generated in the NO/O₂ reaction. *Chem Res. Toxicol.*, 6, 23-27.
- World Health Organisation., 1998. International Programme On Chemical Safety (I.P.C.S), Environmental Health Criteria, Boron, 204.
- Woskie, S. R., Shen, P., Eisen, E. A., Finkel, M. H., Smith, T. J., Smith, R. and Wegman, D. H., 1994. The real-time dust exposures of sodium borate workers: Examination of exposure variability. *Am Ind Hyg Assoc J.*, 55, 207-217.
- Wu, D., Zhai, Q. and Shi, X., 2006. Alcohol-induced oxidative stress and cell responses. *J Gastroenterol Hepatol.*, 21 (3), 26-29.
- Wu, T. J., Sempos, C. T., Freudenheim, J. L., Muti, P. and Smith, E., 2004. Serum iron, copper and zinc concentrations and risk of cancer mortality in US adults, *Ann. Epidemiol.*, 14, 195-201.

- Xu, W., Liu, L. Z., Louzidou, M., Ahmed, M. and Charles, I. G., 2002. The role of nitric oxide in cancer. *Cell Res.*, 12 (5-6), 311-320.
- Yamanaka, K., Takabayashi, F., Mizoi, M., An, Y., Hasegawa, A. and Okada, S., 2001. Oral exposure of dimethylarsinic acid, a main metabolite of inorganic arsenics, in mice leads to an increase in 8-oxo-2'-deoxyguanosine level, specifically in the target organs for arsenic carcinogenesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 287, 66-70.
- Yapıcı, S., 1987. Uleksitten Borik Asit Üretimini Optimizasyonu. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Yıldırım, A., 2003. İntakt ve Adrenalektomili Sıçanların Eritrosit ve Mide Dokularında Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum.
- Yılmaz, A., 2002. Her derde deva hazinemiz bor. *Tübitak-Bilim ve Teknik Dergisi*, Ankara, Mayıs sayısı.
- Zinoveva, V. N. and Spasov, A. A., 2004. DNA protective activity of natural and synthetic antioxidants. *Biomed Khim.*, 50 (3), 231-242.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Erzurum’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum’da tamamladı. 1997 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Kâzım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2001’de mezun oldu. Eylül 2001-Haziran 2003 tarihleri arasında sırasıyla Tekman, Ziya Gökalp ve Mecidiye Anadolu Liselerinde biyoloji öğretmenliği yaptı. Haziran 2003’te Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde araştırma görevlisi olarak göreve başladı. 2001-2004 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zooloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı. 2004-2007 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora öğrenimini tamamladı.