

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**



**RATLARDA DOKSORUBUSİN İLE
TEŞVİK EDİLMİŞ KARDİYOTOKSİSİTE
ÜZERİNE BORAKS'IN KORUYUCU
ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burçin ÇELİKEZEN

2016

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Gürdal DAĞOĞLU

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sadettin TANYILDIZI



Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof.Dr. Sadettin TANYILDIZI (Başkan)



Prof.Dr. Gürdal DAĞOĞLU (Üye)



Doç.Dr. Osman ÇİFTÇİ (Üye)



TEŐEKKÖR

Tez çalıőmam sırasında benden yardımını esirgemeyen baőta Fırat Őniversitesi Veteriner Fakóltesi Farmakoloji ve Toksikoloji Ana Bilim Dalı Baőkanı Prof. Dr. Gűrdal DAĐOĐLU olmak űzere tűm űđretim űyelerine, araőtırma gűrevlisi Dr. Burcu Gűl BAYKALIR'a ve danıőman hocam Prof. Dr. Sadettin TANYILDIZI'na, Bitlis Eren Őniversitesi Fen Edebiyat Fakóltesi űđretim űyeleri Yrd.Doç.Dr. Fahrettin ŐZBEY ve Yrd.Doç.Dr. Kubilay TOYRAN'a ve tez çalıőmamda bana destek olan eőime teőekkűrű bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. ÖZET	xiii
2. ABSTRACT	ix
3. GİRİŞ	1
3.1. Doksorubisin	2
3.2. Bor.....	7
3.2.1. İnsanlar ve Laboratuvar Hayvanlarında Bor Metabolizması	9
3.3. Serbest Radikaller	10
3.4. Antioksidanlar	12
3.5. Glutasyon.....	14
3.6. Süper Oksit Dismutaz (SOD).....	15
3.7. Katalaz (CAT).....	15

4. GEREÇ ve YÖNTEM	16
4.1. Gereç	16
4.1.1. Kullanılan Cihazlar	17
4.1.2. Kullanılan Kitler	17
4.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	17
4.2. Yöntem	18
4.2.1. Redükte Glutasyon (GSH) tayini	18
4.2.2. Malondialdehit tayini (MDA tayini)	19
4.2.3. SOD ve CAT Tayini	20
4.2.4. CK Tayini	20
4.2.5. İstatistiksel Analiz	20
5. BULGULAR	21
6. TARTIŞMA	24
7. KAYNAKLAR	29
8. ÖZGEÇMİŞ	38

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Ticari olarak önemli olan bazı bor bileşiklerinin kimyasal formülleri ve B ₂ O ₃ yüzdeleri	8
Tablo 2. Yaygın olarak tüketilen bazı gıda maddelerinin bor içerikleri	9
Tablo 3. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar	13



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Doksorubisinin yapısı	3
Şekil 2. Boraks'ın kristal yapısı ve kimyasal formülü	8
Şekil 3. Glutasyon'un biyokimyasal döngüsü	14
Şekil 4. Kontrol, boraks, doksorubusin ve doksorubusin + boraks uygulanan grupların MDA düzeyleri	21
Şekil 5. Kontrol, boraks, doksorubusin ve doksorubusin +boraks uygulanan grupların SOD düzeyleri	21
Şekil 6. Kontrol, boraks, doksorubusin ve doksorubusin +boraks uygulanan grupların CAT düzeyleri	22
Şekil 7. Kontrol, boraks, doksorubusin ve doksorubusin + boraks uygulanan grupların CK düzeyleri	22
Şekil 8. Kontrol, boraks, doksorubusin ve doksorubusin +boraks uygulanan grupların GSH düzeyleri	23

KISALTMALAR LİSTESİ

Dokсорubusin	: DXR
Adenozintrifosfat	: ATP
Deoksiribonükleikasit	: DNA
Ribonükleikasit	: RNA
İntravenöz	: İV
Lipit peroksidasyonu	: LPO
Malondialdehit	: MDA
Glutasyon	: GSH
Süperoksit dismutaz	: SOD
Katalaz	: CAT
Kreatin Kinaz	: CK
Boraks	: BX
Bor	: B

1. ÖZET

Sunulan bu çalışma dokdorubusin kullanımına bağı olarak gelişen kardiyotoksisite üzerine boraksın koruyucu etkisini irdelemek amacıyla planlandı. Araştırmada toplam 20 adet Wistar Albino ırkı erkek rat kullanıldı. Ratlar her grupta 5'er adet olmak üzere: Kontrol (standart pelet yem + su+ serum fizyolojik), Doksorubisin, (3,75 mg/kg/ip), Doksorubisin + Boraks, (3,75 mg/kg/ip + 25 mg/kg/oral sırasıyla) ve Boraks (25 mg/kg/oral, haftada bir kez) olmak üzere, 4 gruba ayrıldı. Deney sonunda alınan kan numunelerinde MDA, GSH, CAT, SOD ve CK düzeyleri ölçüldü. Elde edilen sonuçlara göre, yalnızca boraks uygulanan grubun MDA seviyelerinde, kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak ($p < 0,05$) anlamlı düşüşler olduğu gözlemlendi. Bunun yanında, CK seviyelerinin başta DXR uygulanan ratlar olmak üzere, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli ($p < 0,05$) seviyede yükseldiği; diğer gruptaki yükselmelerin ise önemli olmadığı tespit edildi. Sonuç olarak, elde edilen veriler boraksın dokdorubusin kökenli kardiyotoksisitenin önlenmesinde koruyucu olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Boraks, Bor Bileşikleri, Doksorubusin, Kardiyotoksisite, Rat

2. ABSTRACT

THE PROTECTIVE EFFECTS OF BORAX ON DOXORUBUCINE INDUCED CARDIOTOXICITY IN RATS

This study planned to determine protective effect of borax in doxorubicine induced cardiotoxicity in rats. In this study, 20 Wistar-Albino male rats were used. Rats were divided in to four groups each of which includes 5 rats. Control group (standart pellet food + water +serum physiological), Doxorubicine (3,75 mg/kg/ip, one dose in a week), Doxorubicine + borax (3,75 mg/kg/ip + 25 mg/kg/oral/ respectively), borax (25 mg/kg/oral, one dose in a week). At the end of the experiment MDA, GSH, CAT, SOD and CK levels were investigated in blood samples. According to the obtain results MDA levels of borax induced groups were decreased significantly when compared with control group. Besides, CK levels in all group were increased according to the control. Of the increases only in DXR induced group importance as $p < 0,05$ has been determined. As a result, these data indicates that borax may use to prevent cardiotoxic effect of doxorubicine.

Keywords: Borax, Boron Compounds, Doxorubicine, Cardiotoxicity, Rat

3. GİRİŞ

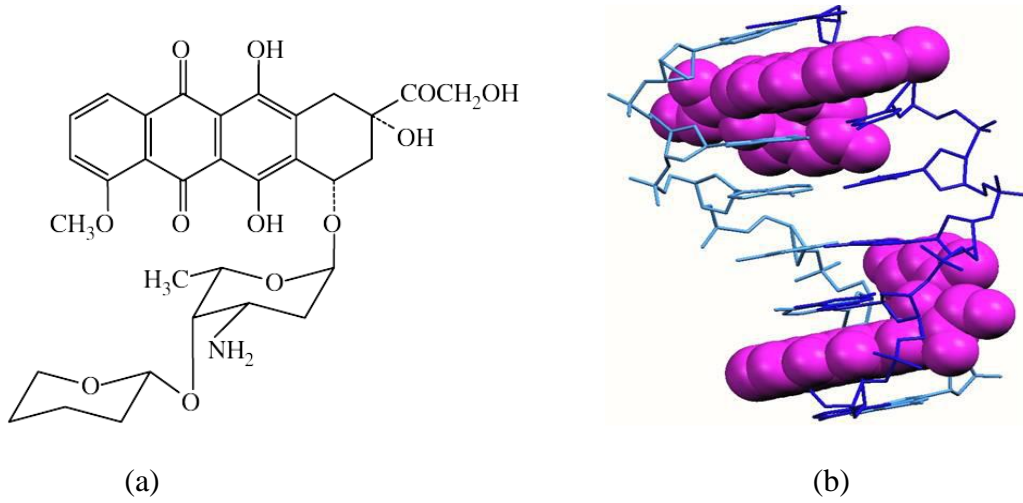
Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar, metabolizmada patolojik olarak artmakta olan kanserli hücreleri yok etmelerinin yanında sağlıklı hücrelerin de yok olmasına sebep olurlar (1). Doksorubisin (DXR) kanser hücrelerinin DNA yapısında bulunan ve sonuçta birbirine yakın olan baz çiftlerinin arasına girip çapraz bağ oluşturarak, DNA'ya bağlanır. Sonuçta, DNA yapısında kırılmalara sebep olarak, DNA'nın yapısında ve dolayısıyla RNA sentezinde bozukluklara neden olur (2).

İnsan ve hayvan dokularında düşük konsantrasyonlarda bulunan borun (3), insanlar için besleyici bir element olduğu (4) ve proton verici rol oynayarak, hücre zarı yapısı ile fonksiyonlarında etkili olduğu tespit edilmiştir. Oral yol ile alınan bor, gastrointestinal sistemden hızlı bir şekilde tamamen emilir (5). Bor bileşiklerinin alınmasından sonra, beyin omurilik sıvısı derişiminin arttığı ve en fazla kemik dokuda biriktiği tespit edilmiştir. Genellikle idrar, dışkı, süt ve ter yoluyla atılan (6) bor bileşikleri vücutta akut toksiteye neden olacak düzeyde bulunmaz (7). Yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtlar; borun mineral metabolizması (8) vitamin D, (9) bazı enzimler (10) ve hormonlar (11) gibi çeşitli yaşamsal fonksiyonları etkilediğini göstermiştir (12,13). Bu bilgilere paralel olarak, bor ve bor bileşiklerinin antioksidan savunma sistemlerini güçlendirdiğini bildirilmiştir (14, 15, 16).

Sunulan bu çalışma; boraksın (BX), DXR tarafından teşvik edilen kardiyotoksositeye karşı koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla planlandı.

3.1. Dokсорubisin

Adriamisin adıyla da bilinen Dokсорubisin (DXR), *Streptomyces peucetius variete caesiu* kültüründen elde edilmiş antrasiklin türevi bir ilaçtır (1, 17, 18). Antraksilin grubunun üyesi olan bu bileşik 1967-1969 yıllarında ilk tedaviye giren ve en yaygın kullanılan ilaçtır (19, 20). DXR günümüzde klinik olarak lösemi, lenfoma, yumuşak doku ve kemik sarkomları, Wilms tümörü, nöroblastom ve hepatoblastom tedavilerinde kullanılmaktadır (21, 22). Antrasiklin molekülü, bir tetrasiklik çekirdek ve amino şekerden (daunosamin) oluşur (Şekil 1). İlacın kırmızı rengi tetrasiklik çekirdekte kaynaklanmaktadır. Gruptaki bütün üyelerinin tetrasiklik halkaya komşu kinon ve hidrokinon grupları mevcuttur (23). Daunorubisin molekülündeki 14. karbonun, hidroksil grubuna glikozidik bağ ile bağlanmasıyla dokсорubisin oluşur.



Şekil 1. Doxorubisinin kimyasal (a) ve uzaysal düzlemdeki (b) yapısı (24)

Mutajenik ve kanserojenik etkilere sahip olan DXR, kromozomlarda şiddetli hasar oluşturmakta olup bu etkilerini dört farklı şekilde gerçekleştirmektedir (25, 26).

1) DNA'ya bağlanma; DXR' nin hücre içinde konsantrasyonunun en fazla olduğu yer hücre çekirdeğidir. Çekirdekte DNA çift zincir yapısındaki guanin-sitozin bazları arasına girerek nükleik asite bağlanır (27).

2) DNA ve RNA polimerazların inhibisyonu: DNA ve RNA polimeraz enzimlerinin biyolojik fonksiyonlarını bozarak DNA replikasyonu ve RNA transkripsiyonunu engeller (24).

3) Hücre membranı üzerine etkileri: DXR, kardiyak hücrelerin lipit sentezini bozabilir. Bu da membran yapısında ve fonksiyonunda değişikliklere neden olur (28). Bunu hücre membranında dejenerasyona sebep olarak, membran sinyal iletimini ve hücre içi iyonların dengesini bozarak yaptığı bildirilmiştir (29).

4) Serbest radikal oluşturma: Sitokrom P-450 redüktaz enzimi ile reaksiyona girerek serbest oksijen radikallerinin oluşmasına sebep olur (30, 31).

DXR, insanlarda damar içi yolla kullanılır ve geniş bir spektruma sahiptir (32). DXR'nin dozu 60-75 mg/kg olup damar içi yolla üç hafta boyunca kullanılır (1,32). Damar içi uygulamadan hemen sonra karaciğerde doksorubisinol ve daunorubisinol'e dönüşür (33). Bu bileşikler ana bileşikten daha az aktiftir. Damar içi uygulamadan sonra kalp, karaciğer, dalak, miyokard ve gibi dokularda birikir plazmadan 5-10 kat daha yüksek konsantrasyona ulaşmakla birlikte en yüksek konsantrasyonuna tümör dokusunda ulaşır (34). DXR başlıca karaciğer ve böbrek ile doksorubisinol ve daunorubisinol olarak atılmaktadır. Karaciğerde önce indirgenme tepkimeleri gerçekleşir karbonil kökü ana yapıdan ayrılır. Böbreklerde

ise tam tersi gerçekleşir (35). Karaciğer hastalıklarında eliminasyonu yavaşlar ve doz azaltılmazsa vücutta birikir (36). DXR kan beyin bariyerini geçemez (37).

Çok geniş spektrumlu ve kuvvetli bir etkiye sahip olmasına rağmen, toksisitesinin fazla olması önemli riskler meydana getirmektedir. Doz 60-75 mg/m² ya da 0,6 mg/kg olarak uygulanmaktadır. Belirtilen dozun üzerine çıkıldığında gittikçe artan düzeyde semptomatik ve hayati tehlike arzedecek kalp yetersizlikleri görülebilmektedir. İlacın saptanan toksik etkisi olarak bulantı ve kusma, ateş, alopesi, stomatitis (ülserasyon gibi) semptomlar görülebilmektedir (38). Kardiyotoksisite belirtilen en önemli toksik etkidir ve ilacın yaygın olarak kullanımını kısıtlayan en önemli faktördür. DXR kullanımına bağlı olarak gelişen kardiyotoksisitenin mekanizması henüz anlaşılmamış olup bu konuda birçok teori ileri sürülmüştür (39). Bu teorilere örnek olarak, nükleik asit ve protein sentezinin baskılanması, vazoaaktif amin salınımı, mitokondriyal anormallik, lizozomlarda meydana gelen değişiklikler, sarkolemmal kalsiyum (Ca⁺⁺) transportunda değişiklik, Na-K ATPaz (sodyum potasyum adenzin trifosfat) ve Ca-ATPaz adenilat siklazda değişiklik, miyokardiyal elektrolit değişikliği, serbest oksijen radikalleri oluşumu, miyokardiyal antioksidan enzim düzeyinde azalma, lipid peroksidasyonunda artış, protein olmayan doku sülfidril bileşiklerinde azalma ve apoptozis sayılabilir (26,40). Görüldüğü gibi kardiyotoksisitenin birçok sebebi olduğu ileri sürülmektedir. Bu hipotezlerin ortak etkisi serbest oksijen radikallerinin oluşması ve lipid peroksidasyonudur (41). En önemli ve olası gibi görünen mekanizma; kardiyomiyositlerde apoptozisin uyarılması ve kalp kasında DXR tarafından oksidatif stresin oluşturulması üzerine kurulmuştur (42). Bunun sebebi ise kardiyak miyositlerdeki antioksidan kapasitenin, mitokondriyal

harabiyet ve lipid peroksidasyonuna neden olan reaktif oksijen türlerinden korunmak için yetersiz olmasıdır (43).

DXR'nin kardiyotoksik etkisi ile ilgili önemli bir diğer görüş ise , kinon halkasının enzimatik olarak indirgenmesi üzerine kurulmuştur. Kinon halkasının indirgenmesi ile beraber moleküler oksijen de redükte olur, semikinon, hidrokinon ve serbest oksijen radikalleri meydana gelir yine farklı bir teoride ise doksorubisin-metal kompleksinin oluşması ve redoks siklusu ile kuvvetli bir oksidan meydana gelir. DXR etkisi ile oluşan hasar serbest oksijen radikalleri ve mitokondriyal kökenlidir. DXR demiri ferritinden alır. Ferritin ise antrasiklin kaynaklı mikrozomal lipid peroksidasyonunun önemli bir katalizörüdür (44,45). Demir (Fe) doğrudan ve dolaylı olarak iki şekilde etkisini gösterir. Direkt etkide meydana gelen kompleks fosfolipid ve kardiyolipin için toksiktir. Bunun yanında NADH (nikotinamid adenin dinükleotit), sitokrom-c redüktaz ve sitokrom oksidazı baskılar (45). Dolaylı etkide ise tiyol içeren yapılardan moleküler oksijene elektron transferi katalizlenir ya da internal oksido redüksiyon siklusu içinde radikal Fe^{+3} -(antrasiklin)₃ kompleksi oluşur. Bu kompleks de süperoksit radikallerinin oluşmasına sebep olur (19).

Doksorubisinin sebep olduğu kardiyotoksisite dört farklı klinik tipte gelişebilmektedir:

1. Akut kardiyotoksisite: İlacın uygulandığı anda veya ilaç verildikten bir kaç saat sonra görülür. Genellikle semptomsuzdur. Fakat nadiren de olsa miyokardiyal infarkt gelişir (46).

2. Subakut kardiyotoksisite: Nadiren görülür. Doksorubisinin son uygulanan dozundan birkaç gün veya hafta sonra toksik perikardit ve miyokardit şeklinde gözlenir (47).
3. Kronik kardiyotoksisite: Kardiyak hasarın daha sık görülen şeklidir. Kümülatif doza bağlıdır. Kemoterapiden birkaç hafta ya da birkaç ay sonra kalp yetersizliği veya kardiyak şok kliniği ve laboratuvar tablosu ile kendini gösterir. Tedavi kesildikten 1-3 ay sonra kalp yetersizliği pik yapar. Genellikle sol ventrikül, nadiren her iki ventrikül etkilenir (46).
4. Geç Kardiyotoksisite: DXR tedavisi bittikten en az bir yıl sonra ortaya çıkan kalp yetersizliği bulguları ile ortaya çıkar (48).

3.2. Bor

Bor periyodik cetvelin 3A grubunda bulunan, B simgesiyle gösterilen, hem metal hem de ametal özelliğe sahip yarı iletken bir elementtir. Bor, beyaz renkli, oldukça sert ve ısıya dayanıklıdır. Bor, doğada 2.33g/cm^3 yoğunluklu, kristal ve 2.3 g/cm^3 yoğunluğa sahip amorf yapıda olmak üzere iki şekilde bulunur (49). Amorf bor toz halinde, kristal bor ise sert ve kırılğan bir yapıya sahiptir. Doğadaki bor, kütle numaraları 10 (%19,8) ve 11 (%80,2) olan iki izotopun karışımı halinde bulunur (50).

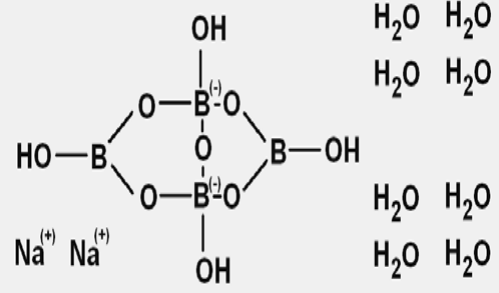
Bor mineralleri, yapılarında bulunan kalsiyum, magnezyum ve sodyum gibi metallerin oranlarına, içerdikleri su miktarına ve kristal yapılarına göre değişik isimler alırlar (51). Bor bileşikleri; birçok sanayi alanının alternatifsiz hammaddesidir. Spesifik özellikleri sebebiyle dünyada en çok kullanılan elementlerden biri olmasına rağmen elementer olarak kullanımı sınırlıdır.

Oksijenle bileşik oluşturmaya yatkın olması sebebiyle birçok farklı bor-oksijen bileşiği bulunmaktadır. Bu bileşikler boratlar olarak adlandırılmaktadır (51). Endüstriyel olarak önemli olan bor bileşikleri olarak boraks (tinkal), kolemanit, üleksit ana sınıflandırması altında kernit, szaybelit, datolit vb. sayılabilir. Bor bileşiklerinin değeri içeriğindeki B₂O₃ ile saptanmakta ve yüksek oranda B₂O₃ içeren bileşikler daha değerli kabul edilmektedirler (52). Ticari değeri olan başlıca bor bileşikleri, B₂O₃ içerikleri ve kimyasal formülleri Tablo 1’de belirtilmiştir (53).

Tablo 1. Ticari olarak önemli olan bazı borbileşiklerinin kimyasal formülleri ve B₂O₃ yüzdeleri

Mineral	Kimyasal Formülü	% B₂O₃
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 boraks)	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

Boraks, doğada genellikle renksiz ve saydam olarak bulunmaktadır (Şekil 2). Ülkemizde Eskişehir-Kırka yataklarında üretilmekte olup B₂O₃ içeriği %36.5’dir. Özgül ağırlığı 1.715 gr/cm³, sertliği ise 2-2.5 Mohs’tur (54).



Şekil 2. Boraks'ın kristal yapısı ve kimyasal formülü (55, 56)

Birçok popülasyonda, bora en büyük maruziyet besin kaynaklıdır. Diyetle alınan gıda maddeleri ile insanlarda alınan günlük bor miktarları doğru orantılı olarak değişmektedir (57). Yeşil sebzeler, meyveler, mantarlar, kabuklu yemişler ve baklagiller bor yönünden zengin besin gruplarıdır. Et, balık ve süt ürünleri ise daha az bor içeren besinlerdir (58, 59). Bazı gıdaların içerdikleri bor miktarları Tablo 2'de verilmiştir (58, 60).

Tablo 2. Yaygın olarak tüketilen bazı gıda maddelerinin bor miktarları.

Besin Türü	Bor Konsantrasyonu (µg/g)
Elma	2,73
Kiraz	1,47
Şeftali	1,87
Taze Fasulye	0,46
Brokoli	1,85
Salatalık	0,015
Fındık	16
Fıstık	18
Badem	23
Sığır eti	≤0.015
Tavuk Eti	≤0.015
Peynir	≤0.015
Süt	≤0.015

3.2. İnsanlar ve Laboratuvar Hayvanlarında Bor Metabolizması

Bor'un düşük konsantrasyonlarda insanlar için besleyici olduğu bildirilmiştir (3,4). Çevresel kaynaklardan alınan bor miktarlarının, insanlarda ve hayvanlarda akut toksiteye neden olacak miktarda olmadığı rapor edilmiştir (7). İnsanlar diyet, içme suları, sabun, deterjan, pestisitler, kozmetik, çeşitli hijyen maddeleri ve deodorant gibi ürünler yoluyla bor'a maruz kalmaktadır (61). Bor, ağız ve gastrointestinal sistemin epitel hücrelerinden emilebilmektedir. İnsanlar ve hayvanlar dışardan alınan borun neredeyse tamamını absorbe edebilirler (62). Bor hemostazisi temel olarak üriner atılım yolu ile sağlanmaktadır (63). Yumuşak dokuların içerdikleri bor miktarları kan düzeyine yakın düzeydedir. Bor kemik dokuda birikebilir. Kas, kalp, akciğer ve barsaklardaki bor miktarları ise diğer dokulara göre daha azdır (64,65). Yapılan bazı çalışmalarda (66,67) borun testislerde ve epididimide de bor birikiminin olmadığı rapor edilmiştir. Bor bileşiklerinin organizmaya alınıp yolundan bağımsız olarak başlıca atılımının glomerular filtrasyonla gerçekleştiği ve insanlarda ve hayvanlarda benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (68). Bunun yanında, ratlardaki glomerular filtrasyonun, insanlara oranla 3-4 kat daha hızlı olduğu, ayrıca metabolizmaya giren borun %90'dan daha fazlasının ilk yirmi dört saatte atıldığı bildirilmiştir (69, 70).

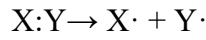
3.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir ya da birden fazla sayıda ortaklanmamış elektron bulunduran atom veya moleküller olarak bilinirler. Radikallerin yapısındaki eşlenmemiş bu elektronlar serbest radikallere kararlı bileşikler oluşturmak için farklı moleküllerle reaksiyona girme aktivitesi

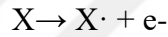
kazandırır. Metabolizmadaki başlıca serbest radikaller oksijen kaynaklıdır. Serbest radikallerin oluşumunda, toksinler, infeksiyon etkenleri, çevre kirleticiler, ozon ve gün ışığına (UV) maruziyet başlıca etkenlerdir (71).

Serbest radikaller, üç farklı yol ile meydana gelebilirler (56):

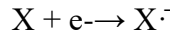
1. Kovalent bağın homolitik yıkımı: Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik yıkılması sonucunda eşlenmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması ile serbest radikaller oluşabilmektedir.



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



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



Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinmektedir ve son derece zararlıdır (72,73). Serbest radikallerin savunma sisteminin koruyucu etkisini aşacak şekilde artmaları sonucu, metabolizmada zararlı etkiler oluşabilir. Serbest radikallerden en çok etkilenen bileşikler lipidlerdir. Membran yapısında bulunan fosfolipidlerin içerdiği doymamış yağlar ile kolesterol, serbest radikaller ile rahatça reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna sebep olur.

LPO, kendi kendini katalizleyen zincir reaksiyonları şeklinde ilerler. LPO sonucu hücrede oluşan hasar geri dönüşümsüzdür. LPO, metabolizmada meydana

gelen bir serbest radikal etkisi ile hücre membranında yer alan doymamış yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile meydana gelir. Sonuçta yağ asidi zinciri bir lipid radikali özelliği kazanır. Oluşan bu radikal dayanıksız bir yapıdadır ve bir dizi değişikliğe maruz kalır. Molekül yapısındaki çift bağların pozisyonlarının değişmesi dien konjugatları oluşturur. Sonrasında ise lipid radikallerinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucunda lipid peroksil radikali meydana gelir. Oluşan bu peroksit radikalleri hücre zarı yapısındaki öteki doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına yol açar, kendileri ise açığa çıkan hidrojenlerin atomlarını alarak lipid hidroperoksitlere dönüşürler. (72,73). LPO, alkoksil radikallerinin Fe^{2+} ve Cu^+ formlarının varlığında kırılır. Zincir kırıcı antioksidanlar LPO'nu engeller. Bunlar genellikle fenoller tarafından üretilmiştir (74). LPO'nun en önemli ürünü malondialdehidtir (MDA). MDA hücre zarlarından iyon geçişlerini etkiler ve membran yapısındaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına sebep olur ve iyon geçirgenliği ile enzim aktivitesinin bozulması gibi olumsuz sonuçlar meydana getirir. MDA, bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojeniktir (75,76).

3.4. Antioksidanlar

Serbest radikalleri ve radikal reaksiyonlarını engellemeye çalışan maddelere antioksidanlar denir. Serbest radikaller, mutasyon, yaşlanma ve doku hücre yıkımına neden olurlar. En çok bilinen serbest radikaller; hidrojen (H^+), süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH^+), peroksit radikali (H_2O_2), nitrojenoksit (NO), nitrojendioksit (NO_2)'dir (77). Antioksidanlar yukarıda sayılan radikalleri ve

reaksiyonlarını engelleyen maddelerdir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz GSH-Px, tokoferoller, askorbat, glutatyon, ürik asit, glukoz gibi maddeler antioksidan maddelere örnek olarak verilebilir (77).

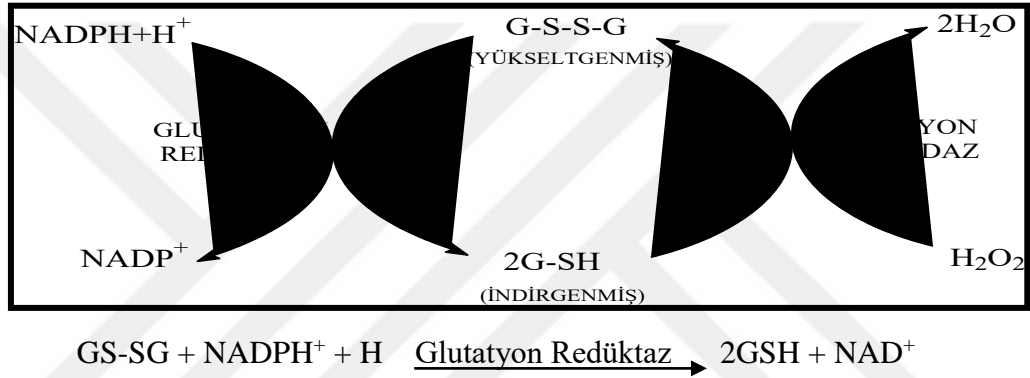
Antioksidanları endojen ve ekzojen kaynaklı olarak iki farklı gruba ayrılabilir (Tablo 3) (78, 79).

Tablo 3. Endojen ve ekzojen antioksidanlar

Endojen (doğal) antioksidanlar	Ekzojen antioksidanlar
<p>1) Enzimatik olanlar</p> <p>Süperoksit dismutaz</p> <p>Katalaz</p> <p>Glutatyon peroksidaz</p> <p>2) Enzimatik olmayanlar</p> <p>a) Lipit fazda bulunanlar</p> <p>α-tokoferol</p> <p>β-karoten</p> <p>b) Sıvı fazda (yani hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar</p> <p>Askorbik asit</p> <p>Ürat</p> <p>Sistein</p> <p>Seruloplazmin</p> <p>Transferin</p> <p>Laktoferrin</p> <p>Miyogloblin</p> <p>Ferritin</p> <p>Albümin</p> <p>Bilirubin</p> <p>Glutatyon</p>	<p>1) Ksantin oksidaz inhibitörleri</p> <p>Allopürinol</p> <p>Oksipürinol</p> <p>Folik asit</p> <p>Pterin aldehit,</p> <p>Tungsten</p> <p>2) Soya fasulyesi inhibitörleri (ksantin dehidrojenezin proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe eder)</p> <p>3) NADPH oksidaz inhibitörleri</p> <p>Adenozin</p> <p>Lokal anestetikler</p> <p>Kalsiyum kanal blokörleri</p> <p>Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar</p> <p>Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar, mannitol, albumin, DMSO</p> <p>4) Demir redoks döngüsünün inhibitörleri</p> <p>Desferroksamin</p> <p>Seruloplazmin</p> <p>Nötrofil adezyon inhibitörleri</p>

3.5. Glutasyon

Glutasyon (GSH) kimyasal yapısı 1929 yılında aydınlatılmış olan bir tripeptiddir (80). Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşmuştur (81, 82). Glutasyon, hücreleri, serbest radikallere ve toksik bileşiklere karşı korur (83, 84). İki glutasyon disülfid bağı ile birleşerek okside glutasyonu (GS-SG) oluşturur ve bu molekül $\text{NADPH} + \text{H}^+$ ile etkileşerek indirgen hale gelir (Şekil 4) (80).



Şekil 3. Glutasyon'un biyokimyasal döngüsü

Bu indirgenmiş form, H_2O_2 ve organik peroksitlerden kaynaklanan detoksifikasyon reaksiyonlarında önemli bir yere sahiptir (82,84).

GSH, hücrede serbest halde ya da proteinlere bağlı olarak bulunabilir. Serbest GSH'ın önemli bir miktarı indirgenmiş haldedir ve oksidatif stres ile okside forma dönüşür. Antioksidan savunma için yeniden indirgenmelidir ve bu olay glutasyon redüktaz tarafından gerçekleştirilir (85).

GSH'ın görevleri; hücreleri serbet radikallerden korumak bunun yanında hücre içi redoks dengesini korumaktır. Bunun yanında hücre zarı stabilizasyonu,

DNA, protein sentezi, aminoasitlerin taşınması ve ksenobiyotiklerin uzaklaştırılması gibi görevleri de üstlenmektedir (86).

3.6. Süper Oksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler ve hücre içinde süperoksit radikal seviyesini azaltır. Radikallere karşı organizmada ilk savunma bu enzim sayesinde gerçekleşir (87,88). Antioksidan enzimler arasında en önemlisi olan SOD kararlı bir yapıya sahiptir (89).

3.7. Katalaz (CAT)

Glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Enzimin molekül ağırlığı 240.000 daltondur. Dört adet *hem* grubu içeren bir hemoprotein yapısında olan katalazın (CAT) doku aktiviteleri farklılıklar gösterir. En yüksek aktivite karaciğer ve böbrekte saptanırken, en düşük aktivite destek dokusunda izlenmektedir. Dokularda esas olarak mitokondriyum ve peroksizom partiküllerine bağlı olarak bulunurken, sitoplazma ve endoplazmik retikulumda da aktivitesi mevcuttur (90).

H_2O_2 , biyolojik sistemler için zararlıdır ve $HO\cdot$ oluşumunu arttırmaktadır. Bu yüzden H_2O_2 ' nin uzaklaştırılması hücreler için avantajlıdır. Bu amaçla hücre içinde H_2O_2 ' yi yıkan enzimlerden birisi de katalazdır (90,91).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Gereç

Bu çalışmada 180–200 g canlı ağırlığa sahip, 8 haftalık 20 adet Wistar Albino ırkı, erkek ratlar kullanıldı. Ratlar Yüzüncü Yıl Üniversitesi rat üretim ünitesinden temin edildi ve denemeye alınmadan önce ortama adaptasyonlarının sağlanması amacıyla bir hafta süreyle bekletildiler. Ratlara adaptasyon süresince pelet yem ve su adibitum olarak verildi.

Denemeye alınacak hayvanlar her grupta 5 adet olmak üzere toplam 4 gruba ayrıldı.

- 1. Grup:** Kontrol grubu (standart pelet yem + su+ serum fizyolojik), 4 hafta boyunca uygulandı.
- 2. Grup:** Doksorubisin (3,75 mg/kg/ıp, haftada bir kez, toplam doz 15 mg/kg olacak şekilde 4 hafta boyunca uygulandı) (92).
- 3. Grup:** Doksorubisin + Boraks (3,75 mg/kg/ıp, haftada bir kez, toplam doz 15 mg/kg olacak şekilde, 4 hafta süreyle; boraks ise 25 mg/ kg/hafta toplam doz 100 mg/ kg olacak şekilde 4 hafta boyunca oral yolla verildi).
- 4. Grup:** Boraks 25 mg/ kg/hafta olarak, toplam doz 100 mg/kg olacak şekilde 4 hafta boyunca oral yolla verildi (93).

Araştırmada kullanılan tüm hayvanlar 4 hafta sonunda ketamin ile anestezi edilerek kalpten kan alındı ve daha sonra dekapite edildi. Alınan kan numunelerinde MDA, GSH, SOD ve CAT, CK düzeyleri aşağıda belirtilen yöntemlerle araştırıldı. Malondialdehit tayini (MDA), Gutteridge (94) ve Sushil ve ark. 1989 (95) metotlarına göre yapıldı. Redükte Glutasyon (GSH) tayini ise

Beutler (96) ve Rizzi ve ark. (97) metotlarına göre spektrofotometrik olarak analiz edildi. Bununla birlikte süperoksitdismutaz (SOD), katalaz (CAT) ELISA (Micro Elisa Plate Okuyucu, Biyotek) ile CK düzeyleri ise biyokimya otoanalizöründe, ticari kitler kullanılarak gerçekleştirildi.

4.1.1. Kullanılan Cihazlar

Spektrofotometre, (Perkin Elmer UV/Vis), Santrifuj (Sigma), ELISA (Micro Elisa Plate Okuyucu, Biyotek), Vorteks, isolab, Hassas Terazi (Mettler Toledo), Sıcak Su Banyosu (Memmert WNE 10), Micro Elisa Plate Okuyucu (Biyotek), Derin Dondurucu (Beko), Watman Süzgeç Kâğıdı No.42.

4.1.2. Kullanılan Kitler

CAT Kiti-Cayman Catalase Assay Kit (Item No: 707002), SOD Kiti-Cayman SOD Assay Kit (Item No: 706002).

4.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Redükte glutatyon (GSH) (Sigma), Metafosforik asit (Sigma), Tiyobarbitürik asit (TBA) (Sigma), 5-5'-Ditiobis (2-nitrobenzoik asit)(DTNB) (Sigma), 2,6-ditert-butyl-4-methylophenol (BHT) (Sigma), Triklor asetik asit (TCA) (Sigma), Sodyum klorür (Sigma), Sodyum hidroksit (NaOH) (Sigma), Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) (Sigma), Hidroklorik asit (%37) (Sigma).

4.2. Yöntem

4.2.1. Redükte Glutasyon (GSH) tayini

EDTA'lı kan örnekleri distile su ile karıştırıldı. Presipitasyon çözeltisi kullanılarak sülfidril (SH) taşımayan tüm proteinler çöktürüldü. Numunelerdeki glutasyon seviyesi 24 saat içerisinde, Perkin Elmer UV/Vis Spektrofotometre kullanılarak 412 nm dalga boyunda, absorbansları okunarak gerçekleştirildi (96, 97).

Kullanılan Çözeltiler:

1. Presipitasyon (Çöktürücü) Çözeltisi: 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTA, 30 g NaCl 100 ml distile suda çözünerek hazırlandı.
2. Fosfat çözeltisi: 0.3 molar disodyum fosfat çözeltisi çözücü olarak distile su kullanarak hazırlandı.
3. DTNB (Ellman's ayırıcı): 40 mg DTNB ve % 1 sodyum sitrat, 100 ml distile su kullanılarak çözelti hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Kan numunelerinden (EDTA'lı) 200 µl alınarak, üzerine 1.8 ml distile su eklendi ve hemoliz oluşturuldu. Presipitasyon ayırıcından 3 ml hemolizata eklendi. 5 dakika beklendikten sonra, karışım süzgeç kâğıdı kullanılarak süzüldü ve oluşan süpernatanttan 2 ml alınarak farklı deney tüplerine aktarıldı. Üzerine 8 ml fosfat çözeltisi ile 1 ml DTNB çözeltisi eklendi. Blank solusyonu için 2 ml presipitasyon çözeltisi (3 hacim presipitasyon ayırıcı+ 2 hacim distile su), 8 ml fosfat çözeltisi ve 1 ml DTNB solüsyonu kullanıldı. Standart olarak, 40 mg GSH standardı distile su ile hazırlandı. 412 nm'de (Perkin Elmer UV/Vis) blanka karşı standart numunelerin absorbansları saptandı ve sonuçlar mg/dl tüm kan cinsinden hesaplandı.

4.2.2. Malondialdehit tayini (MDA tayini)

Lipit peroksidasyonunun en önemli ürünlerinden olan malondialdehit, TBA ile renkli ürünler oluşması esasına göre spektrofotometrik olarak ölçülür (94,95).

Kullanılan Ayıraçlar:

1. EDTA çözeltisi (0.1 M): 37.224 gr EDTA-Na₂H₂O 1 litre distile suda çözünerek hazırlandı.
2. BHT çözeltisi (%88): 0.220 gr BHT e 25 ml saf alkol kullanılarak hazırlandı.
3. NaOH çözeltisi (0.05 N): 2 gr NaOH 1 lt distile suda çözüldürüldü.
4. TBA çözeltisi (% 1): 1 gr TBA 100 ml'ye 0.05 N NaOH ile tamamlandı
5. TCA (% 30): 30 gr TCA 100 ml distile suda çözünerek hazırlandı.
6. Fosfat Tamponu: 8,1 gr NaCl, 2.302 gr Na₂HPO₄, 0.194 gr NaH₂PO₄ 1 lt ye tamamlandı ve pH'sı 4,7'ye ayarlandı.

Deneyin yapılışı: Deney tüpüne tüm kandan 200 µl alınarak üzerine 800 µl fosfat tamponu ve 25 µl BHT çözeltisi ve 500 µl % 30' luk TCA eklendi. Tüpler 2000 rpm'de karıştırıldı ve 2 saat boyunca -20 C°de buzda soğutuldu. Alınan numuneler 15 dk 2000 rpm'de santrifüj edildikten sonra süpernatantın 1 ml'si farklı tüplere alındı ve üzerine 75 µl EDTA ile, 250 µl TBA çözeltisi eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra ve 15 dk sıcak su banyosunda (90 C°de) tutuldu. Sonra oda ısısına getirilerek 532 ve 600 nm'de (Perkin Elmer UV/Vis) absorbansları okundu. Eritrositteki çalışmada 600 nm' de elde edilen optik dansiteler 532 nm'de okunanlardan çıkartılarak hemoglobin MDA değeri hesaplandı. Eritrosit MDA düzeyi; MDA-TBA karışımının ekstinksiyon katsayısından (64,7636) faydalanılarak hesaplandı.

Hesaplama → $A = a.b.c$

A= absorbans, a= ekstinksiyon katsayısı, b= ışık yolu, c= konsantrasyon $(Abs.532 - Abs 600) \times 64.7636 = MDA \text{ nmol/ml}$.

4.2.3. SOD ve CAT Tayini

SOD ve CAT tayinleri Cayman Catalase Assay Kit (CAT seri No: 707002) ve SOD Assay Kit (Seri No: 706002) ticari kitleri kullanılarak ELİZA (mikro eliza plate okuyucu, Biyotek) cihazında yapıldı.

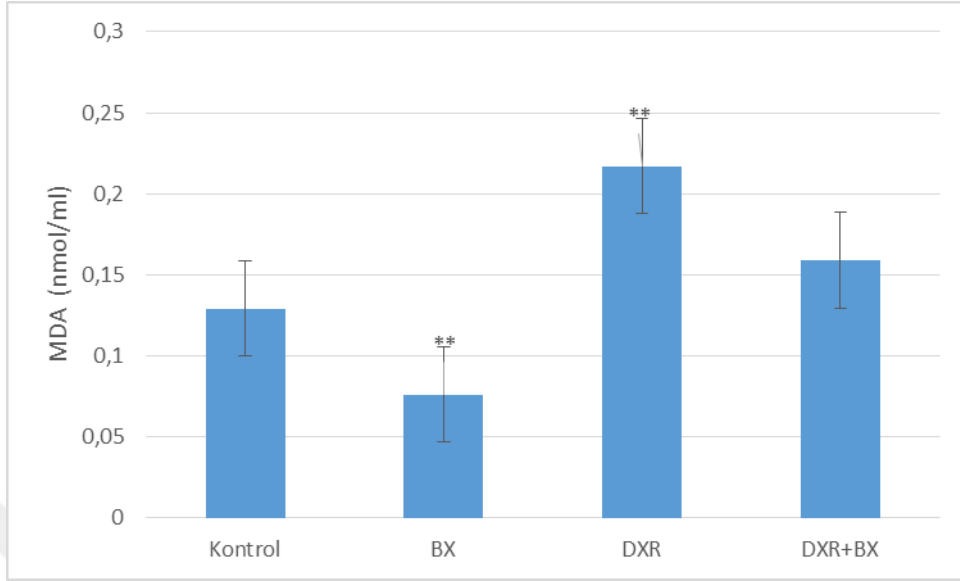
4.2.4. CK Tayini

CK tayini ticari kitler kullanılarak biyokimya otoanalizöründe gerçekleştirildi.

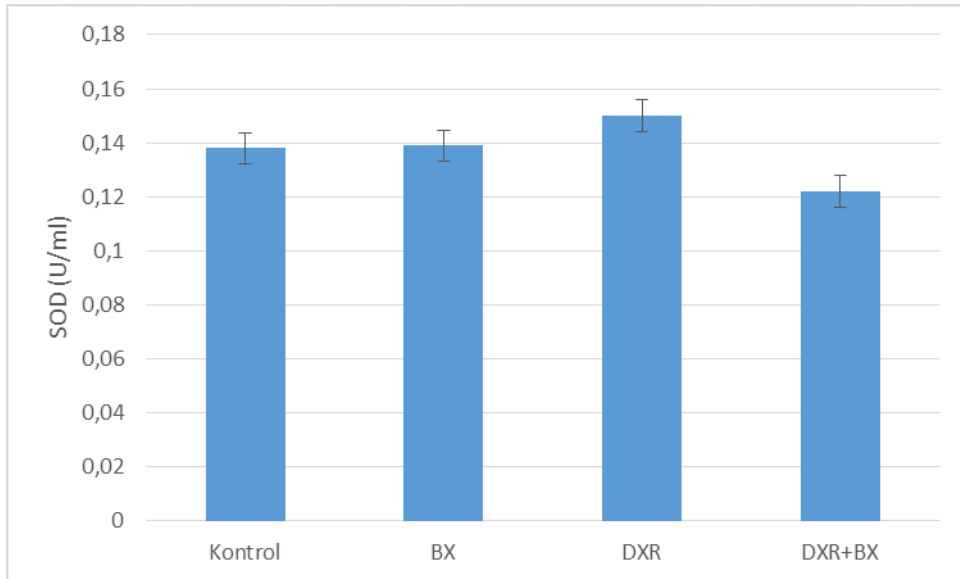
4.2.5. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmanın istatistiki analizleri IBM SPSS Statistics Version 20 paket programı kullanılarak ANOVA testi ile gerçekleştirildi.

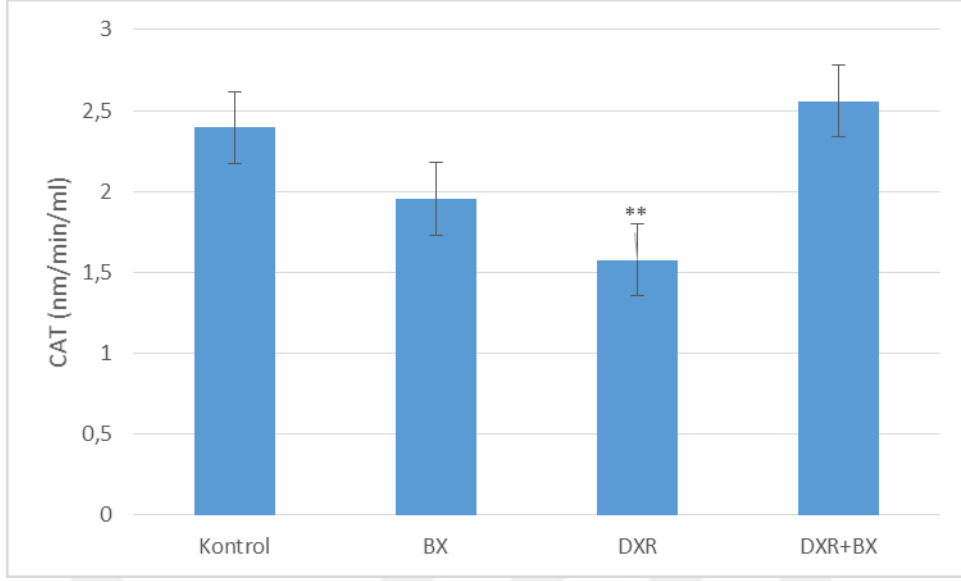
5. BULGULAR



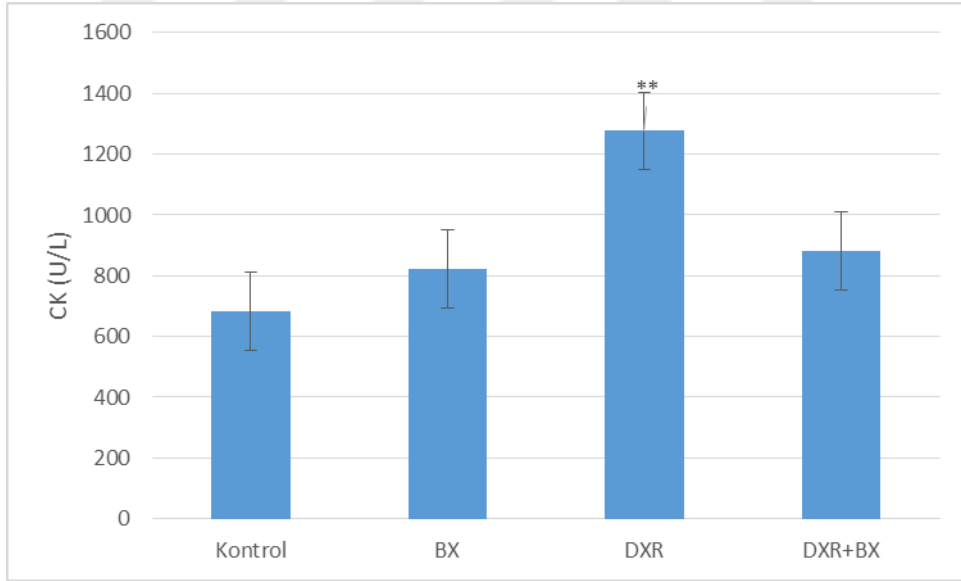
Şekil 4. Kontrol, boraks, dokсорubusin ve dokсорubusin+boraks uygulanan grupların MDA düzeyleri (** p<0,05).



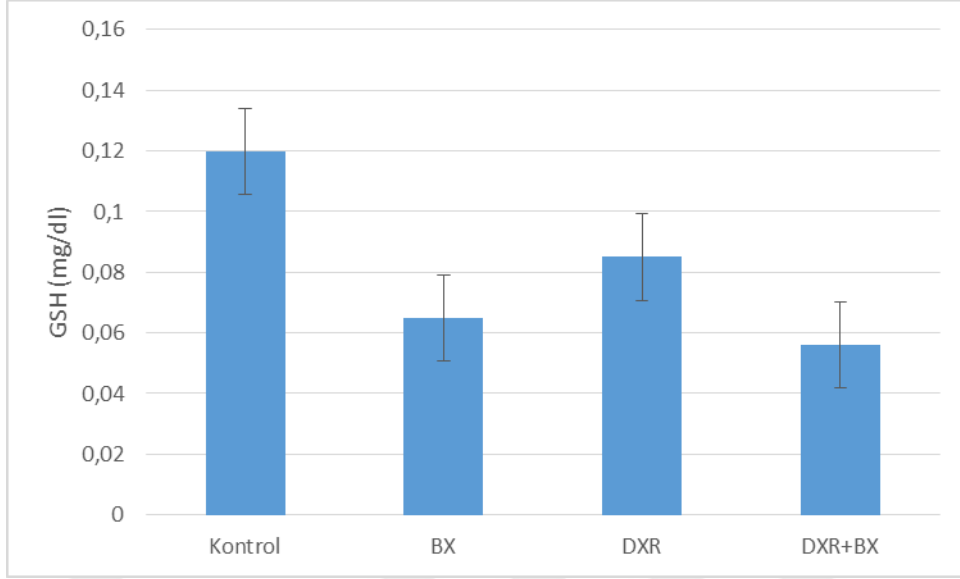
Şekil 5. Kontrol, boraks, dokсорubusin ve dokсорubusin+boraks uygulanan grupların SOD düzeyleri



Şekil 6. Kontrol, boraks, dokсорubusin ve dokсорubusin+boraks uygulanan grupların CAT düzeyleri (** p<0,05).



Şekil 7. Kontrol, boraks, dokсорubusin ve dokсорubusin+boraks uygulanan grupların CK düzeyleri (** p<0,05).



Şekil 8. Kontrol, boraks, doksorubusin ve doksorubusin+boraks uygulanan grupların GSH düzeyleri

Sunulan çalışmada, MDA değerlerinin DXR uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış gösterdiği ($p<0,05$), BX uygulanan grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı ($p<0,05$) tespit edildi. Bunun yanında DXR+BX uygulanan grupta ki MDA düzeylerinin, yalnız DXR uygulanan gruba göre daha az artış gösterdiği saptandı. Fakat bu farklılık istatistiki olarak önemli bulunmadı (Şekil 4).

SOD seviyelerinde hem yalnız BX hem de yalnız DXR uygulanan grupta kontrol grubuna göre artışlar saptanmasına rağmen bu artışlar istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 5).

CAT düzeylerinde ise hem yalnız BX hem de sadece DXR uygulanan gruplarda düşüşler saptanırken yalnız; DXR uygulanan gruba ait düşüşlerin kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli olduğu görüldü ($p<0,05$). DXR+BX uygulanan grupta ise kontrol grubuna göre CAT seviyelerinde artış gözlenmesine rağmen istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 6).

Tüm gruplara ait CK değerlerinde kontrol grubuna göre artışlar tespit edildi. Yalnız DXR uygulanan gruptaki artışlar istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunurken; diğerlerine ait istatistiki olarak önemli olmadığı belirlendi (Şekil 7).

GSH düzeylerinin tüm gruplarda kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi. Fakat bu azalmalar istatistiki olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 8).



6. TARTIŞMA

DXR, antrasiklin türevi bir ilaç olup yaygın kullanıma sahip antikanser ilaçtır (1, 98). Kemoterapide kullanılan ve serbest radikal üreticisi olan DXR, LPO'nu yükselterek kromozomal hasarlara da sebep olabilmektedir (99, 100). Antioksidan maddelerin, oksidatif ürün veren DXR gibi antikanser ilaçlarına karşı koruyucu etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma literatürde mevcuttur (101-104).

Bor bileşikleri artrit, plazma lipit profilleri ve beyin fonksiyonlarının gelişiminde önemli biyolojik role sahiptir (103, 104). Bunun yanında boratların kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığa karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (105, 106). Buna ek olarak, hayvan organizmalarında borun, oksidatif metabolizmayı etkileyerek henüz bilinmeyen bir mekanizma ile doku antioksidan savunma sistemini desteklediği bildirilmiştir (107). Benzer bir çalışmada ise çinko boratın antioksidan kapasiteyi desteklediği ve oksidatif strese sebep olmadığı bildirilmiştir (108). Bir başka çalışmada ise oral yolla BX uygulanan ratlarda antioksidan savunma sistemin güçlendiği rapor edilmiştir (109). DXR' nin yukarıda bahsedilen olumsuz etkilerinin engellenebilmesi amacıyla, BX' in koruyucu etkisinin araştırıldığı bu çalışmadan pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

Bilindiği üzere reaktif oksijen türleri artışı lipid peroksidasyonunda artışa ve bu da MDA değerinde artışlara neden olmaktadır. Serbest radikaller hücre yapısındaki lipit, protein, karbonhidrat vb önemli hücre yapılarını etkilerler. Lipit peroksitler süratle bozularak reaktif karbon bileşiklerini oluştururlar. Meydana

gelen önemli yapılarından biride MDA'dır ve MDA artışı ise oksidatif stresin fizyolojik bakımdan önemli bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (110-113).

Yapılan bir çalışmada 100 mg /kg boraks uygulanan ratlarda MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalma tespit edilmiştir (93). Bir diğer çalışmada ise farklı düzeylerde borik asit uygulanan ratlarda, 40 mg borik asit içeren diyetle beslenen grupta MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre azalma saptanmıştır (114). In vitro olarak yapılan bir çalışmada ise 15 µmol uleksit uygulanan insan kan kültürlerinde MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre azaldığı fakat istatistiki olarak önem arz etmediği belirlenmiştir (115). Sunulan çalışmadan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; yalnız DXR uygulanan grupta MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde artış gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$). Yalnız BX uygulanan grupta ise MDA seviyesinde istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Ayrıca, DXR ve BX'ın birlikte uygulandığı grupta ise MDA seviyesinin yalnız DXR uygulanan gruba göre daha düşük seviyede olduğu tespit edilerek daha önce yapılan çalışmalar ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

GSH dokuların oksidan/antioksidan dengenin korunmasında hayati bir rolü olan hücresel bir tripeptittir ve normal hücresel faaliyetler için gereklidir. Bu tripeptit oksidatif stres sonucu meydana gelen peroksit ve hidroperoksitlerin etkilerini yok eder (109). Daha önce yapılan bir araştırmada 40, 80 ve 160 mg/L dozlarda borik asit uygulanan ratlarda GSH-Px seviyelerinde sırasıyla %12, %13.3 ve %16.4 oranlarında azalmalar saptanmıştır (114). Bir başka çalışmada ise 50 ve 500 mg/L dozlarda uygulanan boraks, borik asit ve uleksitin insan kan

kültürlerinde GSH-Px düzeylerinde anlamlı düzeyde azalmalar saptanmış, total GSH seviyesinde meydana gelen azalmalar 500 mg /L dozlarda istatistiki olarak anlamlı bulunmuş, 50 mg /L dozlarda istatistiki bir anlam saptanmamıştır (115). Sunulan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar incelendiğinde; GSH seviyelerinin tüm gruplarda kontrol grubuna göre düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Kaydedilen düşüşler istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Elde edilen verilerin önceki çalışmalarla uyumlu olduğu saptanmıştır. Diğer taraftan, sunulan çalışmadan elde edilen sonuçlardan farklı olarak, yapılan bir çalışmada borik asit ve boraks uygulanan ratların eritrosit GSH seviyelerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiği saptanmıştır (93). Bu farklılığın sebebinin kullanılan deney hayvanlarının farklı ırk ve ölçüm yöntemlerinin farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Oksidatif stres antioksidanların seviyelerinin azalmasından kaynaklandığı için (116) hücrel antioksidan enzim düzeylerinin (SOD, CAT, GSH-Px, GST, GR ve G-6-PDH) hücre savunmasında önemli olduğu rapor edilmiştir (117). Bu enzimlerden SOD'un oksidatif strese karşı savunmada esas rolü oynadığı ve süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve oksijene dönüşmesi reaksiyonunu katalizlediği bildirilmiştir (118). Yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği hasarın önlenmesinde antioksidan enzimlerin önemli bir role sahip olduğu ve çeşitli toksik etkenlere maruz kalmış kan hücrelerinde bu enzimlerin indüklendiği ya da inhibe olduğu rapor edilmiştir (119,120). Yapılan bir araştırmada uygun miktarlardaki bor alımlarında akciğerlerde lökositlerin ROS oluşturmasını engellediği saptanmış ve sentetik bir bor bileşiği olan 2'-deoksiribonükleozid siyanoboron'un, lökosit 5'-lipoksijenaz aktivitesini inhibe

ettiği ve Fenton reaksiyonunda serbest radikal oluşmasını engellediği bildirilmiştir (121). Yakın zamanda yapılan bir araştırmada ise farklı düzeylerde borik asit uygulanan (40, 160, 320 ve 640 mg/L) ratlarda SOD düzeylerinde artışlar belirlenmiştir (114). Bir başka araştırmada ise arsenik uygulanarak teşvik edilmiş lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu olarak 100 mg/kg bor uygulanan ratların eritrosit SOD düzeylerinin kontrol grubuna göre artış kaydettiği bildirilmiştir (122). Sunulan araştırmada yalnız BX ve yalnız DXR uygulanan gruplarda SOD seviyelerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiği saptanmıştır. Bu artışlar istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. DXR ve BX'in birlikte uygulandığı grupta ise SOD seviyelerinin yalnız DXR uygulanan gruba göre azalma gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar incelendiğinde önceki çalışmalarla paralellik gösterdiği saptanmış ve BX'in artan SOD aktivitesine bağlı olarak antioksidan aktiviteyi desteklediği kanaatine varılmıştır. Bor'un biyokimyasal fonksiyonu henüz tam olarak bilinmese de hücre membran yapısı ve fonksiyonu üzerinde spesifik bir etki oluşturan, dolaylı bir proton vericisi olarak görev yapabileceği rapor edilmiştir (123). Buna bağlı olarak bor bileşiklerinin (borik asit ve boraks) cAMP düzeylerini artırarak mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon metabolizmasını etkileyebilecekleri ve hidrolitik enzim aktivitelerini inhibe edebilecekleri bildirilmiştir (124). Bunun yanında, cAMP seviyelerindeki artışların antioksidan enzim faaliyetlerini artırabildiği belirtilmiştir (125). Bu çalışmada da, boraks cAMP birikimini destekleyerek SOD aktivitesini artırmış olabilir. Diğer taraftan elde edilen sonuçlardan farklı olarak boraks ve borik asit uygulanan ratlarda SOD seviyelerinin kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı olmayan azalmalar gösterdiği bildirilmiştir (93). Bu farklılığın kullanılan

deney hayvanlarının farklı ırk olması yanında SOD düzeylerinin belirlendiği ölçüm yöntemlerinin farklı olmasından ileri geldiği düşünülmektedir.

Katalaz (CAT) peroksizomlarda lokalize olmuş bir enzimdir (126). CAT önemli bir oksidoredüktaz enzim olup hidrojen peroksit moleküllerini su ve oksijene dönüştürür (127, 128). Memeli katalazları tipik olarak 4 Fe-protoporfirin IX (heme) ya da 4 NADPH molekülü bağlayan homotetramerlerdir (129-132). Yapılan bir araştırmada 100 mg boraks uygulanan ratların karaciğer, böbrek ve kalp dokuları ile eritrositlerinde CAT seviyelerinin kontrol grubuna göre azalma gösterdiği bildirilmiştir (93). Diğer taraftan diyeteye eklenen borik asitin CAT üzerindeki etkileri hayvanların dokularına göre de farklılık göstermiştir. Sıçan ve tavşanların eritrositlerinde CAT aktivitesi düşmüşken (132, 133), karaciğerlerinde artış göstermiştir (109). Farklı bir çalışmada ise CAT seviyelerinde borik asitin 100 mg/L, boraksın 80 mg/L uygulandığı dozlarda negatif etki gösterdikleri bildirilmiştir ($P < 0.1$) (56). Sunulan araştırmada, CAT seviyelerinin yalnız boraks ve yalnız doksorubusin uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre azalma gösterdiği saptanmıştır. BX uygulanan gruptaki düşüşler istatistiki olarak önemli bulunmazken, yalnız DXR uygulanan grupta gözlenen düşüşler istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). DXR ve BX'in birlikte uygulandığı grupta ise CAT seviyelerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiği fakat istatistiki olarak bir anlam ifade etmediği belirlenmiş sonuçların önceki çalışmalarla uyum gösterdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan, selenyumun, bakır ve çinkonun antioksidan enzimlerin kofaktörleri oldukları bu elementlerin miktarlarındaki artışın hücrelerde CAT, SOD ve GSH-Px aktivitelerinde inhibisyona neden olabileceği bildirilmiştir (123, 135). Bor bu elementlerle olduğu gibi diğer iz elementlerle de

etkileşimler yapabilmektedir (136). Bu bağlamda, CAT ve GSH düzeylerindeki azalmaların uygulanan bor bileşiği ile söz konusu enzimlerin kofaktörleri arasında meydana gelen etkileşimlerden kaynaklanmış olabileceği kanaatine varılmıştır. Diğer taraftan, elde edilen sonuçlardan farklı olarak yakın zamanda ratlar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise serbest oksijen radikallerinin oluşumuna sebep olan ve kemoterapi tedavilerinde kullanılan siklofosfamid uygulanan ratlara koruyucu olarak sırasıyla 5, 10 ve 20 mg/kg dozlarda bor uygulanmış ve yapılan ölçümlerde eritrosit CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre tüm dozlarda artış gösterdiği belirlenmiştir (134). Bu farklılığın sebebinin çalışmada elementel bor kullanılması ve uygulanan dozların daha düşük olmasından meydana gelmiş olabileceği düşünülmektedir.

Kreatin kinaz (CK) kas hücrelerinde (özellikle iskelet kası ve miyokardium) bulunan önemli bir intraselüler enzimdir (137,138). Genellikle CK akut miyokard enfarktüsünün biyobelirtecidir ve modern klinik teşhislerde CK aktivitesi ya da konsantrasyonu bazı diğer hastalıkların doğrulanmasında da kullanılır. CK seviyesi akut miyokard infarktüsünden hemen sonra kanda süratle yükselir ve 4-6 saat içinde anormal seviyelerde bulunabilir. İnsanlarda maksimum CK seviyesi akut miyokard infarktüsünden 18-24 saat sonra görülmektedir (139). Broilerler üzerinde yapılan bir çalışmada günlük diyetlerine 500-750-1000 mg/kg miktarlarında borik asit ilave edilmiş ve CK değerlerinin tüm dozlarda kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiştir (140). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise 1500 µg/ml sodyum borat intravenöz olarak uygulanmış ve CK değerlerinde artış gözlenmiştir (141). Sunulan araştırmadan elde edilen sonuçlar incelendiğinde; CK değerlerinin tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış

gösterdiği gözlenmiş ve elde edilen sonuçların önceki çalışmalarla paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Yalnız DXR uygulanan gruptaki yükselişler istatistiki olarak anlamlı bulunmasına rağmen ($p<0.05$) DXR ve BX'in birlikte uygulandığı gruptaki artışın yalnız DXR uygulanan gruba göre daha az olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, DXR ile teşvik edilmiş kardiyotoksisitede BX' in uygulanan dozda (100 mg/kg) SOD seviyesini artırarak ve MDA düzeylerini düşürerek antioksidan kapasiteyi artırdığı belirlenmiştir. Bunun yanında, CAT seviyelerinde azalmalar gözlenirken, CK seviyelerinin ise tüm gruplarda arttığı tespit edilmiştir. Saptanan sonuçlara dayanarak BX'in DXR' nin yan etkisi olarak gelişen kardiyotoksisiteyi önlemede faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 7. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 1994.
2. Coşan D. Sıçanlarda Benzo(a)piran Toksikitesine Doksorubisin ve Taksolün Etkileri. Doktora Tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1999.
3. Gregory S, Kelly ND. Boron: A review of its nutritional interactions and therapeutic uses. *Alt Med Rev* 1997; 2: 48-56.
4. WHO, (World Health Organisation). Trace Elements in Human Nutrition and Health. Boron. 1996; 175-179.
5. Usuda K, Kono K, Dote T, et al. Serum and urinary boron levels in rats after single administration of sodium tetraborate. *Arch Toxicol* 1998; 72: 468-474.
6. Baykut F, Aydın A, Baykut S. Çevre Sorunları ve Korunma. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, No:3449, Güray Matbaacılık, 1987
7. Uygan D, Çetin Ö. Borun Tarımsal ve Çevresel Etkileri: Seydisuyu toplama havzası. II. Uluslararası Bor Sempozyumu. Eskişehir, 2004.
8. Meacham, SL, Taper LJ, Volpe SL. Effects of boron supplementation on bone mineral density and dietary, blood, and urinary calcium, phosphorus, magnesium, and boron in female athletes. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 79-82
9. Hunt CD. Biochemical effects of physiological amounts of dietary boron. *J Trace Elem Exp Med* 1996; 9: 185-221
10. Devirian TA, Volpe SL. The physiological effect of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2003; 43: 219-231.
11. Armstrong TA, Spears JW, Lloyd KE. Inflammatory response, growth, and thyroid hormone concentrations are affected by long-term boron supplementation in gilts. *J Anim Sci* 2001; 79: 1549-1556.
12. Nielsen F. The emergence of boron as nutritionally important throughout the lifecycle. *Nutrition* 2000;16: 512-514.
13. Nielsen F. Biochemical and physiological consequences of boron deprivation in humans. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 59-63
14. Çelikezen FÇ, Türkez H, Aydın E. The antioxidant and genotoxic activities of Na₂B₄O₇.10H₂O in vitro. *Fres Env Bull*. 2015; 24: 947-953.
15. Çelikezen FÇ, Toğar B, Özgeriş FB, İzgi MS, Türkez H. Cytogenetic and oxidative alterations after exposure of cultured human whole blood cells to lithium metaborate dehydrate. *Cytotechnology*. DOI 10.1007/s10616-014-9833-x

16. Çelikezen FÇ, Türkez H, Toğar B, İzgi MS. DNA damaging and biochemical effects of potassium tetraborate. *Excli J* 2014; 13: 446–450
17. Codde JP, Burtan MA, Kelleher DK, Archer SG, Gray BN. Reduced toxicity of adriamycin by incorporation ion exchange microspheres: A Therapeutic study using a rat liver tumour model. *Anticancer Res* 1990; 10: 1715-1718.
18. Baker SD, Pharm D. Drug interaction with the taxanes. *Pharmacotherapy* 1997; 17: 126-132.
19. Cottin Y, Ribuot C, Maupoil V, et al. Early incidence of adriamycin treatment on cardiac parameters in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1994;72: 140-145
20. Chabner BA, Myers CE, Coleman N, Johns DG. The clinical pharmacology of antineoplastic agents (second of two parts). *New Eng J Med* 1975; 292:1159- 1168.
21. Muggia FM, Green MD. New anthracycline antitumor antibiotics. *Crit Rev Oncol Hematol* 1991; 11: 43-64.
22. Hideg K, Kálai T. Novel antioxidants in anthracycline cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol* 2007; 7: 160-164.
23. Aubel-Sadron G, Londos-Gagliardi D. Daunorubicin and doxorubicin, anthracycline antibiotics, a physicochemical and biological review. *Biochimie* 1984; 66: 333-352.
24. Tola HT. Dokсорubisin İle Oluşturulan Deneysel Kardiyotoksisite Üzerine N-Asetilsisteinin Biyokimyasal ve Histopatolojik Düzeylerdeki Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008
25. Au WW, Hsu TC. The genotoxic effects of adriamycin in somatic and germinal cells of the mouse, *Mutation Res* 1980; 79: 351-361.
26. Lipshultz SE, Alvarez JA, Scully RE. Anthracycline associated cardiotoxicity insurvivors of childhood cancer. *Heart* 2008; 94: 525-533.
27. Del Bino G, Skierski JS, Darzynkiewicz Z. Diverse effects of camptothecin, an inhibitör of topoisomerase I, on the cell cycle of lymphocytic and myelogenous leukemic cells. *Cancer Res* 1990; 50: 5746-5750.
28. Chachoua A, Hoschster H, Muggia FM. Doxorubicin. In Droz JP, Cvitkovic E, Armand JP, and Khoury S. (Editors), *Handbook of Chemotherapy in Clinical Oncology*. Rhône-Poulenc, Houston, 1988;125–127
29. Singal PK, Iliskovic N, Li T, Kumar D. Adriamycin cardiomyopathy: Pathophysiology and prevention. *FASEB J* 1997; 11: 931–936
30. Çetinkaya Y, Kabakçı MG, Aydemir K ve ark. Antrasiklinler ve kalp. *İlaç ve Tedavi Dergisi*. 1995; 8: 214-218
31. Karagöz B, Süleymanoğlu S, Uzun G, et al. Hyperbaric oxygen therapy does not potentiate doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008;102:287-292
32. Yazıcı Z. *Farmakoloji*. 1. Baskı, İzmir: Saray Medikal Yayıncılık, 1996.

33. Lipshultz SE, Cohen H, Colan SD, Herman EH. The relevance of information generated by in vitro experimental models to clinical doxorubicin cardiotoxicity. *Leuk Lymphoma* 2006; 47: 1454-1458.
34. Robert J, Gianni L. Pharmacokinetics and metabolism of anthracyclines. *Canc Surv* 1993;17:219-252.
35. Woo MH, Evans WE, Relling MV. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. In: Pui C-H (Editor). *Childhood Leukemias*. Cambridge University 1999:275-276.
36. Türker A, Kayaalp O. *Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar*. İçinde: Kayaalp O (Editör). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 10. baskı, Ankara: 2002: 380-415.
37. Chabner BA, Ryan DP, Paz-Ares L, Garcia-Carbonero R, Calabresi P. Chemotherapy of Neoplastic Diseases. In: Hardman JG, Limbird LE, Goodman LS, Gilman A, (Editors). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th ed, McGraw-Hill: 2001:1426-1428.
38. Akpınar G. *Sıçanlarda Doxorubicin ile İndüklenmiş Kromozomal Hasarlarda Vitamin A'nın Koruyucu Etkisinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli: Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2001.
39. Ferrans VJ. Anthracycline cardiotoxicity. *Adv Exp Med Biol* 1983;161:519-532
40. Takemura G, Fujiwara H. Doxorubicin-induced cardiomyopathy from the cardiotoxic mechanisms to management. *Prog Cardiovasc Dis* 2007; 49: 330-352.
41. Biner B. *Çocukluk Çağı Akut Lösemilerinde Erken ve Geç Dönem Antrasiklin Kardiyotoksitesinin Tanısında Kardiyak Troponin T ve Ekokardiyografi*. Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2000.
42. Childs AC, Phaneuf SL, Dirks AJ, Phillips T, Leeuweburgh C. Doxorubicin treatment in vivo causes cytochrome C release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity and Bcl2. Bax ratio *Cancer Res* 2002; 62: 4592-4598.
43. Menna P, Salvatorelli E, Minotti G. Cardiotoxicity of antitumor drugs. *Chem Res Toxicol* 2008; 21: 978-989.
44. Basser RL, Green MD. Strategies for prevention of anthracycline cardiotoxicity. *Cancer Treat Rev* 1993; 19: 57-77.
45. Corna G, Santambrogio P, Minotti M, Cairo G. Doxorubicin paradoxically protects cardiomyocytes against iron-mediated toxicity: role of reactive oxygen species and ferritin. *J Biol Chem* 2004;279:13738-13745.
46. Marklund SL. Analysis of extracellular superoxide dismutase in tissue homogenates and extracellular fluids. *Methods Enzymol* 1990;186:260-265.
47. Prout MN, Richards MJ, Chung KJ, Joo P, Davis HL Jr. Adriamycin cardiotoxicity in children: case reports, literature review, and risk factors. *Cancer* 1977; 39: 62-65.

48. De Bleecker J, Lison D, Van Den Abeele KV, Willems J, De Reuck J. Acute and subacute organophosphate poisoning in the rat. *Neurotoxicology* 1994; 15: 341-348.
49. Taşçı A. Borlanmış Çeliklerin Aşınma ve Korozyon Dayanımları. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 1993.
50. Sarıöz K, Nuhoglu İ. Endüstriyel Hammadde Yatakları ve Madenciliği. Anadolu Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi yayınları No: 62, 1992.
51. Yılmaz A. Her derde deva hazinemiz bor. *Tübitak-Bilim ve Teknik Dergisi*, 2002.
52. Çınkır M. Ulusal Maden Varlığımız ve Bor Gerçeği. Ankara: Ankara Ticaret Odası, 2001.
53. US Geological Survey. Mineral Commodity Summaries Annual. Industrial Minerals, 2004.
54. Baykal ED. Hidrotermal ve Mikrodalga Enerjiyle, Lityum İçeren Boratlı Fosfatlı Bileşiklerin Sentezlenmesi, Kristal Yapı ve Termokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2003.
55. <http://www.mta.gov.tr>. 28.8.2015
56. Türkez H. Bazı Bor Bileşiklerinin İn Vitro Şartlarda Periferik İnsan Kanı Üzerine Genetik Ve Biyokimyasal Etkileri. Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
57. EGVM (Expert Group on Vitamins and Minerals). Report on safe upper levels for vitamins and minerals. London, 2003.
58. Hunt CD, Shuler TR, Mullen LM. Concentration of boron and other elements in human foods and personal-care products. *J Am Diet Assoc* 1991; 91: 558-568.
59. Meacham SL, Hunt CD. Dietary boron intakes of selected populations in the United States. *Biol Trace Elem Res* 1998; 66: 65-78
60. WHO (World Health Organisation). International Programme On Chemical Safety Environmental Health Criteria. Boron 1998:204.
61. Rainey CJ, Nyquist LA, Christensen RE, et al. Daily boron intake from the American diet. *J of the Am Diet Asso* 1999; 99: 335-340.
62. Hunt CD. Regulation of enzymatic activity - One possible role of dietary boron in higher animals and humans. *Biol Trace Elem Res* 1998; 66: 205-225
63. Sutherland B, Woodhouse LR, Strong P, King JC. Boron balance in humans. *J of Trace Elem in Exp Med* 1999; 12: 271-284.
64. Naghii MR, Saman S. The effect of boron supplementation on the distribution of boron in selected tissues and on testosterone synthesis in rats. *J Nutr Biochem* 1996;7: 507-512.
65. Kocatürk PA. Rat Testis Dokusu Üzerine Akut Borik Asit Uygulamasının Fizyopatolojik ve Histopatolojik Etkileri. Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1998.
66. Lee IP, Sherins RJ, Dixon RL. Evidence for induction of germinal aplasia in male rats by environmental exposure to boron. *Toxicol Appl Pharmacol* 1978; 45: 577-590.
67. Treinen KA, Chapin RE. Development of testicular lesions in F344 rats after treatment with boric acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991;107: 325-335.

68. Murray FJ. A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans. *Biol Trace Elem Res* 1998; 66: 331-341.
69. Nielsn FH. Boron, an overlooked element of potential nutritional importance. *Nutr Today* 1988; 23: 4-7.
70. Litovitz TL, Klein-Schwartz W, Oderda GM, Schmitz BF. Clinical manifestation of toxicity in a series of 784 boric acid ingestions. *Am J Emerg Med* 1988;6: 209-213
71. Sencer E, Orhan Y. *Klinik Beslenme, İçinde, Sencer E ve Orhan Y (editör). İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005:166-170, 176-187, 208- 212, 435-447.*
72. Moslen MT. Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell injury and Phatogocytosis, Free Radicals in Diagnostic Medicine. In D Armstrong (Editor), New York: Plenum Press, 1994: 1-15.
73. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya, Mimoza Yayınları, 1995.
74. Vengerovski AT, Baturina NO, Saratikov AS. Role of lipid peroxidation in the mechanism of proliferation of hepatic fibrous tissue in experimental chronic hepatitis, *Patol Physiol Eksp* 1996; 2: 37-39
75. Niki E. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem Phy Lipids* 1987; 44: 227- 253
76. Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Meth in Enzym* 1984;105: 273-83.
77. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte Antioksidant Stres ve Antioksidantlar. Afyon Kocatepe Üniversitesi yayınları, 2000.
78. İşbir T. Antioksidan sistemler. Endotel. TTB İzmir Tabib Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu, İzmir, 1994.
79. Freeman BA, Cropo JD. Free radicals in human disease process, *Surgery* 1982; 94: 407
80. Gözükara EM. Biyokimya. Malatya, İnönü Üniversitesi Yayınları, 1989.
81. Tucker EM. Genetic variation in the sheep red blood cell. *Biol Rev* 1971; 46: 341-386.
82. Stryer L. Biochemistry. New York, WH Freeman and Company, 1994.
83. Rose WC. New aspects of glutathione biochemistry and transport-selective alteration of glutathione metabolism. *Nut Rev* 1984; 42: 397-410.
84. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. Harper'ın Biyokimyası. İstanbul, Barış Kitapevi, 1993.
85. Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta* 2003; 333: 19-39.
86. Çavdar Z, Eğrilmez MY, Bülbül M, Güner G, Koçtürk S. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile eritrositlerde toplam ve indirgenmiş glutatyon miktarının tayini, *Turk J Biochem* 2006; 3: 187–193
87. Kehrer JP. Free Radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23:21-28
88. Southorn PA, Powis G. Free radicals in Medicine. I.Chemical Nature and Biologic Reactions. *Mayo Clin Proc*1988; 63: 381-89

89. Mc Intyre M, Bohr DF, Dominiczak AF. Endothelial function in hypertension: The role of superoxide anion. *Hypertension* 1999; 34: 539-545
90. Kara A. Yeni Doğan Ratlarda Amikasinine Bağlı Deneysel Böbrek Hastalıkları ve Antioksidanların Rolü. Uzmanlık Tezi, Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
91. Schaeffer F, Stainer RY. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, kinetics and molecular properties. *Arc Microbiol* 1978;116:9-19.
92. Demirkaya E, Avcı A, Kesik V, et al. Cardioprotective roles of aged garlic extract, grape seed proanthocyanidin, and hazelnut on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Can J Physiol Pharmacol* 2009;87: 633-40.
93. Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, FatihFidan A, Eryavuz A. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *J Trace Elem Med Biol* 2010; 24: 161–164
94. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819–1828
95. Sushil JK, Mcuie R, Duett J, Herbest JJ. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes* 1989;38: 1539–1543
96. Beutler E, Dubon O, And Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-888.
97. Rizzi R, Caroli A, Bolla P, Acciaioi A, Pagnacco G. Variability of reduced glutathione levels in Massese ewes and its effect on daily milk production. *J of Dairy Resear* 1998; 55: 345–353.
98. Weiss RB. The anthracyclines: will we ever find a better doxorubicin?, *Semin. Oncol* 1992;19: 670–686.
99. Antunes LMG, Takahashi CS. Effects of high doses of vitamins C and E against doxorubicine-induced chromosomal damage in wistar rat bone marrow cells. *Mutation Res* 1998; 419:137-143.
100. Antunes LMG, Arajuo MC, Dias FL, Takahashi CS. Modulatory effects of curcium on the chromosomal damage induced by DXR in Chinese hamster ovary cells. *Treat Carcinog Mutagen* 1999; 19: 1-8.
101. Antunes LMG, Arajuo MC, Darin JDC, Bianchi MLP. Effects of antioxidants curcium and vitamin C on cisplatin-induced clastogenesis in wistar rat bone marrow cells. *Mutation Res* 2000; 464: 131-137.
102. Nefic H. Anticlastogenic effect of Vitamin C on cisplatin induced chromosome aberrations in human lymphocyte cultures. *Mutation Res* 2001; 498: 89-98.
103. Çolak S, Geyikoglu F, Keles ON, Turkez H, Topal A, Unal B. The neuroprotective role of boric acid on aluminum chloride-induced neurotoxicity. *Toxicol Ind Health* 2011; 27: 700–710

104. Devirian TA, Volpe SL. The physiological effects of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2003; 43: 219–231
105. Gallardo-Williams MT, Chapin RE, King PE, et al. Supplementation Inhibits the Growth and Local Expression of IGF-1 in Human Prostate Adenocarcinoma (LNCaP) Tumours in Nude Mice. *Toxicologic Pathology* 2004; 32: 73-78
106. Barranco WT, Eckhert CD. Cellular Changes in Boric Acid Treated DU-145 Prostate Cancer Cells. *Brit J of Canc* 2006; 94: 884-890.
107. Kelly GS. Boron: a review of its nutritional interactions and therapeutic uses. *Altern Med Rev* 1997; 2: 48–56
108. Çelikezen FÇ, Türkez H, Togar B. In vitro assessment of genotoxic and oxidative effects of zinc borate. *Tox and Env Chem* 2014;96: 777-782.
109. Pawa S, Ali S. Boron Ameliorates Fulminant Hepatic Failure by Counteracting the Changes Associated with the Oxidative Stress. *Chemico-Biological Interactions* 2006; 160: 89- 98.
110. Jacop RA, Burri BJ. Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 985-990
111. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: Reference interval and effects of life style factors. *Clin Chem* 1997; 43: 1209-1214.
112. Kim H, Oh E, Im H, et al. Oxidative damages in the DNA, lipids, and proteins of rats exposed to isofluranes and alcohols. *Toxicology* 2006, 220: 169-178.
113. Siu FK, Lo SC, Leung MC. Effectiveness of multiple pre-ischemia electro-acupuncture on attenuating lipid peroxidation induced by cerebral ischemia in adult rats. *Life Sci* 2004; 75: 1323-1332
114. Quianqian H, Shenge L, Enmei Q, et al. Effects of boron on structure and antioksidative activities of spleen in rats. *Biol Trace Elem Res* 2014; 158: 73-80.
115. Türkez H, Geyikoglu F, Tatar A, Keles, S, Özkan A. Effects of some boron compounds on peripheral human blood. *Z Naturforsch* 2007; 62: 889–896.
116. Bukowska B, Kowalska S. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. *Toxicol Lett* 2004; 152: 73-84.
117. Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmacother* 2004;58: 100-110.
118. Kakarla P, Vadluri G, Reddy KS. Response of hepatic antioxidant system to exercise training in aging female rat. *J Exp Zool A Comp Exp Biol* 2005; 303, 203-208
119. Afaq F, Abidi P, Matin R, Rahman Q. Activation of alveolar macrophages and peripheral red blood cells in rats exposed to fibers/particles. *Toxicol Lett* 1998; 99: 175-182.
120. Prasad NR, Srinivasan M, Pugalendi KV, Menon VP. Protective effect of ferulic acid on gamma-radiation-induced micronuclei, dicentric aberration and lipid peroxidation in human lymphocytes. *Mutat Res* 2006; 603:129-134.
121. Hunt CD, Idso JP. Dietary boron as a physiological regulator of the normal inflammatory response: a review and current research progress. *J Trace Elem Exp Med* 1999; 12: 221-233

122. Kucukkurt İ, Ince S, Demirel HH et al. The Effects of Boron on Arsenic-Induced Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Male and Female Rats. *J Biochem Mol Tox* 2015; DOI: 10.1002/jbt.21729.
123. Barr RD, Barton SA, Schull WJ. 1996. Boron levels in man: preliminary evidence of genetic regulation and some implications for human biology. *Med. Hypotheses* 1996; 46: 286–289.
124. Hall IH, Starnes CO, McPhail AT et al. Anti-inflammatory activity of amine cyanoboranes, amine carboxyboranes, and related compounds. *J Pharm Sci* 1980; 69: 1025–1029
125. Sugino N, Karube-Harada A, Sakata A, Takiguchi S, Kato H. Different mechanisms for the induction of copper-zinc superoxide dismutase and manganese superoxide dismutase by progesterone in human endometrial stromal cells. *Hum Reprod* 2002; 17: 1709-1714.
126. Tung BT, Rodriguez-Bies E, Thanh HN, et al. Organ and tissue-dependent effect of resveratrol and exercise on antioxidant defenses of old mice. *Aging Clin Exp Res* 2015; DOI: 10.1007/s40520-40015-40366-40528.
127. Kashiwagi A, Kashiwagi K, Takase M, Hanada H, Nakamura M. Comparison of catalase in diploid and haploid *Rana rugosa* using heat and chemical inactivation techniques. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1997; 118: 499-503.
128. Goyal MM, Basak A. Human catalase: looking for complete identity. *Protein Cell* 2010; 1: 888–897.
129. Nicholls P. Classical catalase: ancient and modern. *Arch Biochem Biophys* 2012; 525: 95–101.
130. Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proc Natl Acad Sci* 1984; 81: 4343–4347.
131. Diaz A, Loewen PC, Fita I, Carpena, X. Thirty years of heme catalases structural biology. *Arch Biochem Biophys* 2012; 525:102–110.
132. Verbitskaya GV. Experimental and field investigations concerning the hygienicevaluation of boron-containing drinking water. *Gig i Sanit* 1975; 7: 49-53.
133. Hunt CD, Herbel JL, Idso JP. Dietary boron modifies the effects of exercise training on bone and energy substrate metabolism in the rat. *FASEB J* 1993; 7: A204
134. Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Acaroz DA, Akbel E, Cigerci IH. Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. *Chemosphere* 2014; 108: 197–204
135. Tate DJ, Newsome DA. A novel zinc compound (zinc monocysteine) enhances the antioxidant capacity of human retinal pigment epithelial cells. *Curr Eye Res* 2006;31: 675-683.
136. Kurtoglu F, Kurtoglu V, Celik I, Kececi T, Nizamlioglu M. 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* 2005;46: 87-96.

137. Liu CX, Jiang LY, Wang H, Guo ZH, Cai XX. A novel disposable amperometric biosensor based on trienzyme electrode for the determination of total creatinine kinase, *Sens. Actuators B* 2007; 122: 295–300
138. Davis G, Green MJ, Hill HAO. Detection of ATP and creatine kinase using an enzyme electrode. *Enzyme Microb Technol* 1986; 8: 349–352.
139. Moreira FTC, Dutra RAF, Noronha JP, Sales MGF. Novel sensory surface for Creatine Kinase electrochemical detection. *Biosens Bioelectron* 2014; 56: 217–222
140. Eren M, Uyanık F, Güçlü BK, Atasever A. The influence of dietary boron supplementation on performance some biochemical parameters and organs in broilers. *Asian J of Vet Adv* 2012; 7: 1079-1089
141. Tagawa T, Kono K, Usuda TDK et al. Pharmacokinetics and effects after intravenous administration of high-dose boron to rat. *Int Arch Occup Environ Health* 2000; 73: 98-100.



8. ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Edirne ilinde doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Hatay'da tamamladım. 2011 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesini bitirdim. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladım. 2011 yılından beri Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Bitlis İl Müdürlüğü'nde çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.