



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**SIÇAN BEYİN SİNAPTOZOMLARINDA FARKLI
KONSANTRASYONLARDAKİ CİVANIN İN VİTRO
ETKİLERİ VE BORİK ASİDİN KONSANTRASYON
BAĞIMLI NÖROPROTEKTİF ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALPER ULUBAŞ

**DANIŞMAN
PROF. DR. GÜNGÖR KANBAK**

2018





**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**SIÇAN BEYİN SİNAPTOZOMLARINDA FARKLI
KONSANTRASYONLARDAKİ CİVANIN İN VİTRO
ETKİLERİ VE BORİK ASİDİN KONSANTRASYON
BAĞIMLI NÖROPROTEKTİF ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALPER ULUBAŞ

**DANIŞMAN
PROF. DR. GÜNGÖR KANBAK**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Alper ULUBAŞ'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "SIÇAN BEYİN SİNAPTOZOMLARINDA FARKLI KONSANTRASYONLARDAKİ CİVANIN İN VİTRO ETKİLERİ VE BORİK ASİDİN KONSANTRASYON BAĞIMLI NÖROPROTEKTİF ETKİSİNİN İNCELENMESİ" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih
03.09.2018

Üye : Prof.Dr.Güngör KANBAK



Üye : Prof.Dr.Sema USLU



Üye : DoçDr.Filiz ÖZDEMİR



Üye :

Üye :

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03.09./2018 tarih ve 1186./5888. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
Enstitü Müdürü



Özet

Cıvanın tüm formları zehirli olmakla birlikte, cıva toksisitesi çoğunlukla gastrointestinal sistemi, sinir sistemini ve üriner sistemi etkilemektedir. Bu zehirlenme cıva buharının solunması, cıva yutulması, cıva enjeksiyonu veya deri emilimi yoluyla gerçekleşebilmektedir.

Bu çalışmamızın amacı, sıçan beyin sinaptozomlarında farklı konsantrasyonlarda uygulanan cıvanın ($1,052\mu\text{M}$ HgCl_2 , $5,262\mu\text{M}$ HgCl_2 ve $10,524\mu\text{M}$ HgCl_2) toksik etkilerini görmek ve en toksik konsantrasyonu belirlendikten sonra, farklı konsantrasyonlarda borik asit ($5\mu\text{M}$ H_3BO_3 , $10\mu\text{M}$ H_3BO_3 ve $50\mu\text{M}$ H_3BO_3) uygulamasıyla, borik asidin cıva toksisitesi üzerindeki nöroprotektif etkilerini incelemektir. Bu amaçla 24 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Frontal korteksleri alınarak 4 parçaya bölündü. Bu örneklerden her bir grupta 8 adet ön beyin parçası olacak şekilde 8 grup oluşturuldu. Çeşitli işlemler sonucu elde edilen sinaptozom örnekleri cıva varlığında inkübe edilerek, en toksik konsantrasyonu belirlemek amacıyla malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri ölçüldü.

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan cıvanın, sıçan beyin sinaptozomlarında nörotoksik bir etki yarattığı görülmüştür. 3 farklı grupta da, kontrol grubuna karşı anlamlı sonuçlar görülmesine rağmen, istatistiksel olarak $10,524\mu\text{M}$ HgCl_2 olan grupta ileri derecede anlamlı ($p<0,001$) bir fark gözlemlenmiştir. Deneyin devamı bu konsantrasyon üzerinden devam ederek farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulaması yapılmıştır. Borik asit uygulamasıyla, lipid peroksidasyonu göstergesi olan MDA düzeyinin tüm borik asit gruplarında azaldığı, CAT ve GPx aktivitelerinde ki en iyi iyileşmenin $10\mu\text{M}$ borik asit grubunda gerçekleştiği ve SOD aktivitesinin ise en iyi iyileşmenin $50\mu\text{M}$ 'lık borik asit grubunda gerçekleştiği görülmüştür.

Sonuç olarak bu yapılan çalışma da cıva maruziyetinin neden olduğu nörotoksik etkilere karşı, borik asidin nöroprotektif etkisinin olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Cıva toksisitesi, cıva klorür, borik asit, oksidatif stres

Summary

Mercury in any form is poisonous, with mercury toxicity most commonly affecting the neurologic, gastrointestinal (GI) and renal organ systems. Poisoning can result from mercury vapor inhalation, mercury ingestion, mercury injection, and absorption of mercury through the skin.

The purpose of this study is to examine the toxic effects of mercury chloride at different concentrations in rat brain synaptosomes and determine the most toxic concentration. Then, boric acid in different concentrations was examined for neuroprotective effects on mercury toxicity. For this purpose, 24 male Wistar Albino rats were used. The frontal cortices were taken out and divided into 4 pieces. From these samples, 8 groups were formed in each group including 8 forebrain pieces. Synaptosomal samples obtained after various treatments were assayed for malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) activities to determine the most toxic concentration by incubating with the mercury chloride.

It has been shown that the mercury chloride used at different concentrations has a neurotoxic effect on rat brain synaptosomes. Significant results were also seen against the control group in 3 different groups. However, the most toxic concentration was statistically observed as the group with 10,524 μ M HgCl₂. The experiment continued with this concentration and incubated with boric acid at different concentrations. With boric acid application, it was observed that the amount of MDA which is indicative of lipid peroxidation decreased in all boric acid groups, the best healing in CAT and GPx activities occurred in 10 μ M boric acid group, and the SOD activity was the best healing in 50 μ M boric acid group.

In conclusion, this study also found that the neuroprotective effect of boric acid against the neurotoxic effects caused by mercury exposure.

Key words: Mercury toxicity, mercury chloride, boric acid, oxidative stress

İçindekiler

İÇ KAPAK	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
ÖZET	iii
SUMMARY	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO DİZİNİ	vii
ŞEKİL DİZİNİ	viii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Cıva	6
2.1.1 Elementel Cıva	9
2.1.2 İnorganik Cıva	9
2.1.3 Organik Cıva	10
2.1.4 Sinir Sistemi Etkileri	10
2.1.5 Böbrek Etkileri	11
2.1.6 Cıva Zehirlenmesinin Kaynakları	11
2.1.7 Cıva Toksikite Mekanizması	14
2.1.8 Cıva Tedavi Yöntemleri	15
2.2 Serbest Radikaller	16
2.2.1 Süperoksit Radikali	18
2.2.2 Hidrojen Peroksit	18
2.2.3 Singlet Oksijen	19
2.2.4 Hidroksil Radikali	19
2.2.5 Lipit Peroksidasyonu	19
2.3 Antioksidanlar	20
2.4 Bor	21
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
3.1 Gereç	23
3.1.1 Deney Hayvanları	23

3.1.2 Deney Grupları.....	23
3.1.3 Deney Hayvanlarından Örneklerin Alınması.....	24
3.1.4 Sinaptozom Eldesi	26
3.1.5 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	26
3.1.6 Kullanılan Aygıt Ve Gereçler.....	27
3.2 Yöntemler	27
3.2.1 Glutasyon Peroksidaz(GPx) Ölçümü.....	27
3.2.2 Süperoksit Dismutaz(SOD) Ölçümü	28
3.2.3 Malondialdehit(MDA) Ölçümü	28
3.2.4 Katalaz(CAT) Ölçümü.....	30
3.2.5 Doku Protein Ölçümü	31
3.2.6 İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	62

Tablo Dizini

Tablo 2.1 Reaktif oksijen ve reaktif azot molekülleri	16
Tablo 2.2 Serbest radikal kaynakları	17
Tablo 2.3 Serbest radikallerin etkileşime girdiği moleküller	17
Tablo 2.4 Antioksidan savunma sistemi enzimlerinin kataliz ettiği tepkimeler ve eksiklikleri durumunda oluşan oksidatif stres.....	18
Tablo 2.5 Endojen ve Eksojen Antioksidanlar	20
Tablo 3.1 I. aşama deney grupları.....	23
Tablo 3.2 II. aşama deney grupları	24
Tablo 3.3 MDA ölçümü hacimsel değerler	30
Tablo 3.4 CAT ölçümü hacimsel değerler.....	31
Tablo 3.5 Doku proteini ölçümü hacimsel değerler	32
Tablo 4.1 Sinaptozom MDA düzeyleri.....	34
Tablo 4.2 Sinaptozom MDA düzeyleri.....	35
Tablo 4.3 Sinaptozom CAT aktiviteleri	36
Tablo 4.4 Sinaptozom CAT aktiviteleri	37
Tablo 4.5 Sinaptozom SOD aktiviteleri.....	38
Tablo 4.6 Sinaptozom SOD aktiviteleri.....	39
Tablo 4.7 Sinaptozom GPx aktiviteleri.....	40
Tablo 4.8 Sinaptozom GPx aktiviteleri.....	41

Şekil Dizini

Şekil 1.1 Çevre sorunları.....	3
Şekil 1.2 Ağır metallerin doğaya yayılımları	5
Şekil 2.1 Cıva bileşiklerinin yapıları, fiziksel ve kimyasal özellikleri	7
Şekil 2.2 Cıva sülfür	8
Şekil 3.1 Anestezi işlemi	24
Şekil 3.2 Beyinlerin alınması.....	25
Şekil 3.3 Ön beynin parçalara bölünmesi.....	25
Şekil 3.4 GPx kataliz ettiği reaksiyon	28
Şekil 3.5 MDA ve TBA tepkimesi	29
Şekil 3.6 Bradford ölçüm prensibi	32
Şekil 3.7 Total Protein Eğrisi.....	33
Şekil 4.1 Sinaptozom MDA Düzeyleri	34
Şekil 4.2 Sinaptozom MDA Düzeyleri	35
Şekil 4.3 Sinaptozom Katalaz Aktiviteleri	36
Şekil 4.4 Sinaptozom Katalaz Aktiviteleri	37
Şekil 4.5 Sinaptozom SOD Aktiviteleri	38
Şekil 4.6 Sinaptozom SOD Aktiviteleri	39
Şekil 4.7 Sinaptozom GPxAktiviteleri	40
Şekil 4.8 Sinaptozom GPx Aktiviteleri	41

Simge ve Kısaltmalar Dizini

MDA	Malondialdehit
CAT	Katalaz
GPx	Glutatyon Peroksidaz
SOD	Süperoksit Dismutaz
Hg	Cıva
HgCl ₂	Cıva (II) Klorür
C1	1,052 µM HgCl ₂
C5	5,262 µM HgCl ₂
C10	10,524 µM HgCl ₂
MeHg	Metil Cıva
H ₃ BO ₃	Borik Asit
B5	5 µM H ₃ BO ₃
B10	10 µM H ₃ BO ₃
B50	50 µM H ₃ BO ₃
TBA	Tiyobarbütirik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
GI	Gastrointestinal
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
Na ⁺ / K ⁺ - ATPase	Sodyum Potasyum Pompası
GSH	Redükte Glutatyon
GSSG	Okside Glutatyon
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
BAL	British anti-Lewisite-Dimerkaprol
DMSA	2,3-dimerkaptosüksinik asit
DMPS	2,3-dimerkapto-1-propan sülfonik asit
Tiron	Disodyum 4,5-dihidroksibenzen1,3-disülfonat
ATSDR	Toksik Maddeler ve Hastalık Sicili Ajansı
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Cıva ve cıvalı bileşikler insanların sıkça maruz kaldığı ağır metallere aittir. Termometreler, boyalar, amalgam diş dolguları, antiseptikler gibi kaynaklarla insanlara bulaşabilir ve toksik etkiye maruz bırakabilir. Cıvanın farklı türleri bulunmasına karşın hepsi toksik etki etmektedir (Amler S., 2002). Cıvanın toksik özellikleri bilinmesine rağmen, mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Cıvaya maruz kalan bireylerde sinir sistemi, immün sistem, solunum sistemi sorunları gibi çeşitli hastalıklara sebep verdiği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (ATSDR, 2000). Cıva, çeşitli mekanizmalarla sinir sistemine zarar verir. Cıva, sülfhidril gruplarına bağlanır ve hücresel stres cevabı, protein onarımı ve oksidatif hasar önleme ile ilgili kilit enzimleri engeller (Carvalho CM, Chew EH, Hashemy SI, Lu J, Holmgren A., 2008).

Normal koşullarda sağlıklı bir bireyde serbest radikaller ve antioksidan sistem denge halindedir. Lakin bu denge bozulduğunda, oksidatif stres denin serbest radikallerin neden olduğu ve hücresel hasarlara sebep veren bir süreç başlar. Bu denge bozulması ekzojen (çevresel kirleticiler, ilaçlar, diyet) veya endojen (doku hasarları, kronik hastalıklar, stres, yaşlılık) faktörlerle olabilmektedir (Uysal, 1998). Bu dengenin bozulması membran depolarizasyonuna, kalsiyum girişine ve nihai hücre ölümüne yol açan sodyum-potasyum adenozin trifosfatazını (Na⁺ / K⁺ -ATPase) inaktive etmesine neden olur (Huang CF, Hsu CJ, Liu SH, Lin-Shiau SY, 2008). Bir başka çalışma da cıva zehirlenmesinin, beyin hücrelerinde inorganik cıvanın birikerek demetilasyona neden olduğu bildirilmiştir (Vahter ME, Mottet NK, Friberg LT, Lind SB, Charleston JS, Burbacher TM., 1995). Cıva klorid, tiyol grupları ile etkileşime girerek glutasyonu ve hücre içi diğer tiyol gruplarını azaltarak, oksidatif stresle serbest radikallerin oluşumuna neden olur (Gutierrez ve ark., 2006). Oksidatif stres, amiyotrofik lateral skleroz, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların etyolojisi ile de ilişkilidir. Ancak bu mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir (C. C. Bridges and R. K. Zalups, 2010 & M. Roulet, M. Lucotte, R. Canuel ve ark., 1998).

Sinir sistemi vücudumuzun karar ve iletişim merkezidir. Merkezi sinir sistemi (MSS) beyin ve omurilikten, sinir sistemi (PSS) sinirlerden oluşur. Sinirler beyinden, yüze, kulaklara, göze, burna, omuriliğe ve omurilikten vücudun geri kalanına kadar uzanır. Duyusal sinirler çevreden bilgi toplar, o bilgiyi omuriliğe gönderir ve bu da mesajı beyne iletir. Beyin daha sonra bu mesajı algılar ve bir yanıt oluşturur. Motor nöronlar, beyinden gelen talimatları vücudun geri kalanına iletir. Beyin canlıların mental ve motor fonksiyonlarının oluşmasında temel ve fonksiyonel önemi olan, aynı zamanda hasarlanmaya karşı da çok hassas olan bir organdır.

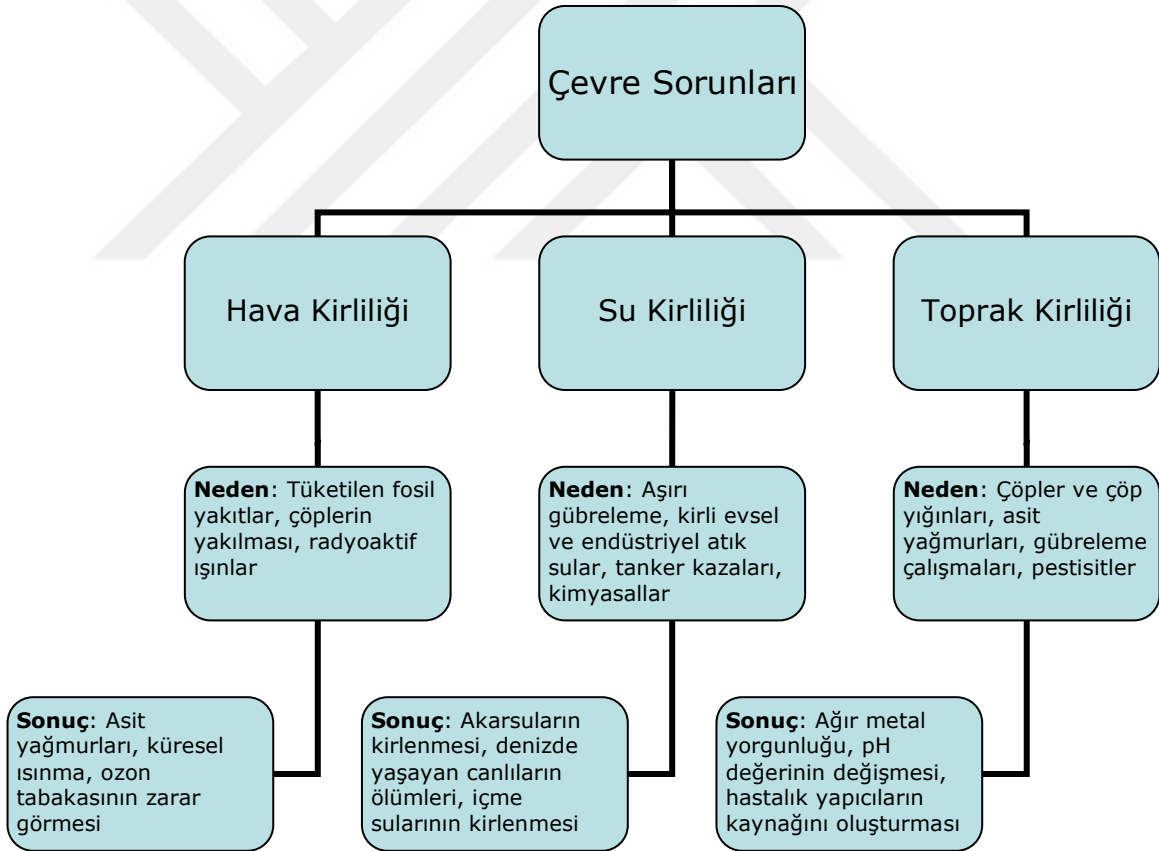
Sinaptozomlar; nöronların sinapslarından, sinir dokusunun homojenizasyonu ve fraksiyonlarına ayrılmasına elde edilir. Sinir fosfolipid tabakası, sinaptik proteinler ve reseptörlerden meydana gelmektedirler (Martines-Martos, J.M., Ramirez-Exposito, M.J., Mayas-Torres, M.D., Garcia-Lopez, M.J., Ramirez-Sanchez, M., 2000). Sinaptik iletimde görev alırlar. Sinaptozomlar, hücre membranlarında reseptör olarak sinaptik protein içeren mitokondri bakımından oldukça zengin bir fosfolipid olarak bilinmektedir (Kanbak, G., Arslan, O.C., Dokumacıoğlu, A., Kartkaya, K., İnal, M.E., 2008). Mitokondrileri olmasına rağmen protein sentezi yapmak için gerekli sistemlerden yoksundurlar (Whittaker, V.P., 1993).

Çalışmamızda, *in vitro* rat beyin sinaptozomlarında farklı konsantrasyonlarda cıva klorür ($1,052\mu\text{M HgCl}_2$, $5,262\mu\text{M HgCl}_2$ ve $10,524\mu\text{M HgCl}_2$) uygulaması yapılarak, en toksik etki gösteren konsantrasyonun bulunması, daha sonra en toksik cıva klorür konsantrasyonu ile beraber farklı konsantrasyonlarda borik asidin ($5\mu\text{M H}_3\text{BO}_3$, $10\mu\text{M H}_3\text{BO}_3$ ve $50\mu\text{M H}_3\text{BO}_3$) birlikte uygulanmasıyla, borik asidin sinaptozomlarda oluşmuş nörodejeneratif hasarın önlenmesindeki nöroprotektif etkisinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

2- GENEL BİLGİLER

Günümüzde doğayı ve canlı sağlığını tehdit eden sıkıntıların başında çevresel faktörler gelmektedir. Artan dünya popülasyonunun temel ihtiyaçlarını sürdürebilmesi amacıyla endüstrinin gelişimi ve buna bağlı olarak istenmeyen etkenler gelişimi söz konusudur (Baş ve Demet, 1992).

Ağır metaller gibi kirleticiler farklı kaynaklardan oluşarak, kirlilik meydana getirmektedir. Çevresel şartlara dayanıklı olmaları, canlı sistemlere etki göstermeleri, basit bir şekilde besin zincirine karışarak, canlıdan canlıya geçiş süresinde artan yoğunlukta birikmeleri sebebiyle diğer kirleticilere göre önem arz etmektedir (Baş ve Demet, 1992). Besin zinciri haricinde su ve havayla da taşınım ve dağılım göstermektedir (WHO, 2003).



Şekil 1.1 Çevre sorunları (Erten,2004)

Canlılar için hayati önem taşıyan metaller endüstrinin temelini oluşturmaktadır (Vural,2005). Eski zamanlarda metallerin yaşama dahil olmasından ve böylelikle işlenmeye başlamasından itibaren kullanılan

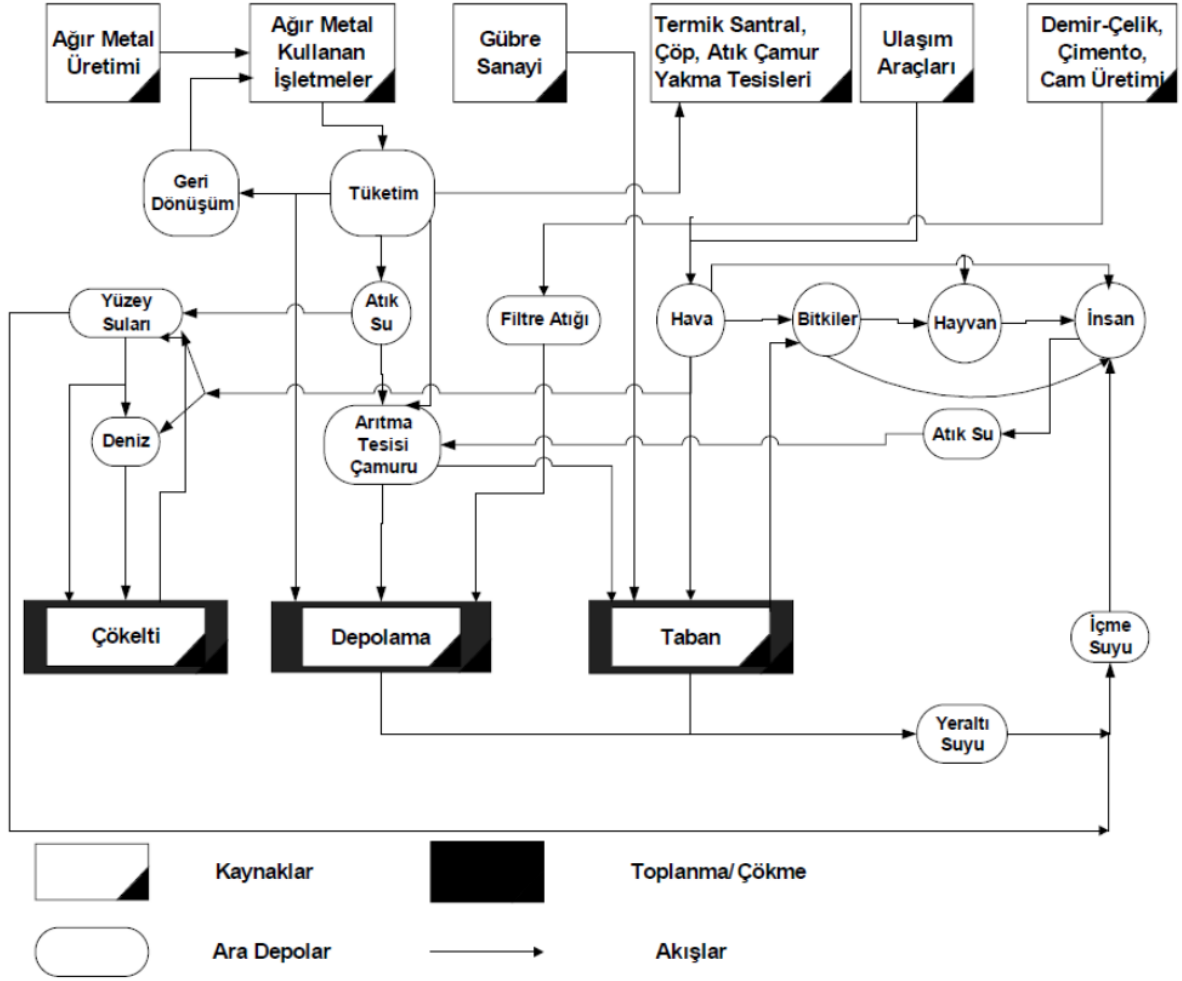
metaller, doğal döngüler dışında doğaya fazladan yayılmaya başlamıştır (Kahvecioğlu ve ark., 2003). Böylelikle insanların hem kendileri bunlara maruz kalmış hem de çevresini kirletmeye sebep olmaya başlamıştır (Vural,2005).

Çevresel kirleticiler ele alındığında ağır metal "çok düşük miktarlarda bile etki toksik ya da zehirleyici etki gösteren metal" olarak tanımlanabilir. Metaller zaman içerisinde jeolojik veya biyolojik etkenlerle dağılım gösterirler. Bu taşınım veya dağılım sonucu metaller, emilime uğradığı yerden daha uzaklarda da birikerek, o bölgedeki konsantrasyonu artırır (Örn; Grönland kurşun miktarının, önceki senelere göre 200 kez artış göstermesi, dağılımı, taşınımı göstermektedir) (Boutron ve arkadaşları,1986-1989). Aynı zamanda mineral yataklarındaki sular, ortamdaki metalleri çözerek, suyun zehirli hale gelmesine neden olmaktadır. Endüstri atıkları da akarsu ve nehirleri gibi su kaynaklarını kirletmektedir. Bu kirlenme sonucu, bu suyun kullanıldığı tarım alanlarında pirinç gibi besin maddelerinin yetişemediği gözlemlenmiştir. Metaller parçalanmaya dayanıklı oldukları için, doğa da bitki ve hayvanlarda birikme eğilimindedir. Böylelikle besin zincirinin en uç noktasına kadar varabilmektedirler (Örn; Japonya Minemata'da cıvaya maruz kalan balık tüketimiyle insanlarda zehirlenme meydana gelmesi).

Günümüzde katı ve sıvı yakıtların içerdikleri metaller (arsenik, kurşun, vanadyum...), egzoz gazı kaynaklı kurşunlar ve kurşun bileşikleri, kalabalık şehirlerdeki havayı kirletmektedir. Bu bölgelerde ise inhalasyon yoluyla ağır metallere maruz kalınmaktadır. Ağır metal kirliliği giderek artmakta lakin bu kirliliğin azaltılması için bir yol izlenmemesi sorun teşkil etmektedir (Al-Attar, 2011a).

Ağır metal kirliliği 2 kaynaklı olabilir. İlk olarak doğal yolla olabilir. Bunlar, kayalar ve metal içerikli minerallerdir. İnsan olarak ise (antropojenik) tarım, madencilik, ulaşım, metalürji gibi işlemlerden kaynaklanmaktadır (Al-Attar, 2011). Ağır metal taşınımı ve yayılımı doğal döngüden insan bazlı olarak daha çok etkilidir (Bakar ve Baba, 2009).

Metaller insan vücuduna (solunma, yutma, deri) girdiklerinde, vücuda nüfuz etme şekline göre görülen etkilerde değişmektedir. Ağır metal toksisitesi, fizyolojik olaylarda rol alan reaktif gruplarla etkileşime geçerek gösterirler (Kahvecioğlu ve ark., 2003; Güven ve ark., 2004).



Şekil 1.2 Ağır metallerin doğaya yayılımları

Ağır metal toksisitesinin insanlardaki etkileri;

- Fizyolojik sistemleri ve kimyasal reaksiyonları etkileyenler,
- Kanserojen olarak etkileyenler,
- Allerjen olanlar,
- Mutajen olanlar,
- Spesifik etkileyenler olarak gösterilebilir (Kahvecioğlu ve ark., 2003; Bakar ve Baba, 2009).

Ağır metaller canlı sistemlerde çeşitli biyokimyasal, fizyolojik, genetik ve sitolojik zararlara neden olmaktadır (Yalçın ve ark., 2007). Ağır metallerin bir başka özelliği vücuttan atılmamaları ve kemik, yağ gibi dokularda birikim yapmalarıdır (Bakar ve Baba, 2009). Ağır metaller biriktikleri yere göre 2'ye ayrılmaktadır. Birincisi yumuşak doku olup, arsenik(As), cıva(Hg),

kadmium(Cd) gibi ağır metallerdir. İkincisi ise sert doku olup, kurşun(Pb), berilyum(Be), baryum(Ba), florür(F) dür (Güley ve Vural, 1978).

Metal toksisitesinin 2 mekanizması bulunmaktadır. Birincisi enzimin aktif bölgesinde bulunan metalin, ağır metal ile yer değiştirmesidir. İkincisi ise ağır metalin moleküle bağlanarak enzim aktivitesini etkilemesidir (Taylan ve Özkoç, 2007).

Ağır metaller oksidasyona bağlı olarak reaktif olabilirler ve toksik etki gösterebilirler. Bu etki sonucu serbest radikallerin üretimi gerçekleşir ve bu da hücrenin bütünlüğünü ve redoks dengesini bozmaktadır (Pinto ve ark., 2003).

2.1 – Cıva

Toksik etki gösteren ağır metallerden olan cıva insanlarda farklı sağlık sorunlarına yol açtığından önem kazanmaktadır. Canlıların cıvaya maruziyeti asırlardır bilinmesine karşın son 10-15 yıldır, insanların cıvanın sebep olduğu sağlık sorunlarına karşı olan ilgisi yükselmektedir. Cıvanın farklı türleri bulunmasına karşın hepsi toksik etki göstermektedir (Amler S., 2002).

Cıva toksisitesi sinir sistemini, solunum sistemini, immün sistemi, böbrekleri ve insan cildini etkileyen bir toksisitedir (ATSDR, 2000). Cıva formu sıvı olmasına karşın oda sıcaklığında buharlaşabilen tek ağır metaldir (Güven ve ark., 2004). Normal şartlarda (25 °C) sıvı olarak bulunabilen bir ağır metaldir.

Cıvanın 3 formu bulunmaktadır;

1-Elementel(metalik) cıva

2-Organik cıva

3-İnorganik cıva (Greim ve Snyder, 2008).

Cıva doğada özellikle elementel ve inorganik formda bulunur. Organik cıva ise biyolojik prosesler sonucu mikrobiyal yollarla oluşur. Organik cıva (metil cıva) farklı yollarla toprak ve suya geçmektedir. Cıva doğada genellikle kırmızı renkli cıva sülfür (HgS) olarak bulunur.

	Mercury	Mercuric (II) Chloride	Mercuric (II) Sulfide	Mercurous (I) Chloride
	Hg	Hg^{2+} $\text{Cl}^- \quad \text{Cl}^-$	Hg=S	Cl—Hg—Hg—Cl
Synonym:	Hydrargyrum Liquid silver	Bichloride of mercury Mercury chloride	Vermilion Mercury sulfide	Calomel Mercury monochloride
	Metallic mercury	Mercury perchloride	Red mercury sulfide	Mercury protochloride
Formula:	Hg	HgCl ₂	HgS	Hg ₂ Cl ₂
Valence:	0	+2	+2	+1
Molecular Weight:	200.59	271.50	232.66	472.09
Chemical State:	Elemental	Inorganic	Inorganic	Inorganic
Physical State:	Heavy Liquid	Solid	Solid	Solid
Toxicity:	High	High to Moderate	High to Moderate	Moderate to Low
	Mercurite Nitrate	Mercuric (II) Acetate*	Methylmercuric Chloride	Methyl Mercury
Synonym:	Mercury pernitrate	Mercury (2+) salt Mercury diacetate	Chloromethylmercury Monomethyl mercury chloride	Monomethylmercury
		Diacetyocymmercury	Methylmercury chloride	
Formula:	HgN ₂ O ₆	HgC ₄ H ₆ O ₄	CH ₃ HgCl	CH ₃ Hg
Valence:	+2	+2	+2	+2
Molecular Weight:	324.60	318.68	251.10	215.66
Chemical State:	Inorganic	Organic	Organic	Organic
Physical State:	Solid	Solid	Solid	Solid
Toxicity:	High to Moderate	Moderate	Moderate	High to Moderate
	Dimethylmercury	Thimerosal	Phenylmercuric acetate	
Synonym:	Mercury Methyl mercury	Thiomersalate Mercuriothiolate Merthiolate	Phenylmercury acetate Acetoxphenylmercury Mercury (II) acetate	
Formula:	C ₂ H ₆ Hg	C ₉ H ₉ HgNaO ₂ S	C ₈ H ₈ HgO ₂	
Valence:	+2	+1	+2	
Molecular Weight:	230.66	404.82	336.74	
Chemical State:	Organic	Organic	Organic	
Physical State:	Liquid	Solid	Solid	
Toxicity:	High	Moderate to Low	Moderate	

Şekil 2.1 Cıva bileşiklerinin yapıları, fiziksel ve kimyasal özellikleri (ATSDR, 1995 & Budavari S, O'Neil MJ, Smith A ve ark., 1996)



Şekil 2.2 Cıva sülfür

Elementel cıva likit halde bulunur, parlak gümüş renktedir. Termometrelerde, barometrelerde, altın ve gümüş üretiminde kullanılmaktadır. Organik cıva karbonlu bileşiklerle etkileşerek, cıvanın en toksik formunu oluşturur. Mikroorganizmalar elementel cıvayı biyotransformasyon ile metil ve etil cıvaya dönüştürmektedir. Cıva, tiyol gruplarını ve glutasyonu azaltıp, oksidatif strese neden olarak serbest oksijen reaktifleri oluşumuna neden olmaktadır (Yalçın ve ark., 2007). İnorganik cıva ise antiseptik kremlerde ve güneş kremlerinde kullanılmaktadır (Vaidya ve Mehendale, 2005). 19.yy da şapka yapımında çalışan işçilerde "Çılgın Şapkacı Hastalığı (Mad Hatter)" olarak adlandırılan, merkezi sinir sistemini etkileyen hastalığın sebebidir, inorganik cıva formu olan merkürük nitrara uzun süreli maruz kalmalarıdır. En sık maruz kalınan inorganik cıva formu ise cıva klorid ($HgCl_2$) dir.

Organik metil cıva toksisitesi ve inorganik cıva toksisitesi farklı patolojik etkiler göstermektedir. Organik metil cıva toksisitesi klasik Minamata hastalarında görüldüğü gibi, kalkanin ve parietal kortekslerde ve serebellar foliada belirgin nöronal kayıp ve gliozise neden olur (Wu X, Cobbina SJ, Mao G, Xu H, Zhang Z, Yang L., 2016).

İnorganik cıva serebral infarktlara ve pnömoni, renal kortikal nekroz ve dissemine intravasküler koagülopati gibi sistemik sorunlara neden olur. Organik metil cıva, minamata hastalığı klasik örneğinde olduğu gibi, beyinde

nöron kaybı ve gliozise neden olur (Takeuchi T, Eto K, Kinjo Y, Tokunaga H., 1996). Bununla birlikte, her iki maruz kalma türü de sorunlara yol açmaktadır. Metil cıva zehirlenmesinin maymun modellerinde, beyin hücrelerinde inorganik cıva birikmesinin demetilasyona neden olduğu bildirilmiştir (Vahter ME, Mottet NK, Friberg LT, Lind SB, Charleston JS, Burbacher TM., 1995).

Cıva klorid, tiyol grupları ile etkileşime girer glutasyonu ve hücre içi diğer tiyol gruplarını azaltarak, oksidatif stresle serbest radikallerin oluşumuna neden olur (Gutierrez ve ark., 2006).

2.1.1 Elementel cıva(Hg)

Sıvı halde bulunur, oda sıcaklığında kolayca buharlaşır ve inhalasyon yoluyla iyi absorbe edilir (%80). Lipit çözünür özelliği, alveollerden kan dolaşımına ve kırmızı kan hücrelerine (RBC) geçişi kolaylaştırır. Solunduğunda, elementel cıva, eritrositlerde çoğunlukla katalaz tarafından inorganik divalent veya merkür formuna dönüştürülür. Bu inorganik form, inorganik cıva (örn. Zayıf lipid çözünürlüğü, kan-beyin bariyerine sınırlı geçirgenlik ve dışkıda atılım) ile benzer özelliklere sahiptir. Küçük miktarlarda okside edilmemiş elementel cıva merkezi sinir sistemi toksisitesine sebep olur. Elementel cıva buharı, önemli toksik etkilerine bağlı olarak, iyonize olduğu merkezi sinir sistemine (MSS) nüfuz etme yeteneğine sahiptir. Elementel cıva, GI yolu tarafından iyi emilmez. Bu nedenle, yutulduğunda (örneğin, termometreler), sadece hafifçe bir toksik etki gösterir.

2.1.2 İnorganik cıva

Toksisitesi çeşitli şekillerde oluşur: metalik cıva (Hg), merküröz cıva (Hg^{+1}) veya merkürük cıva (Hg^{+2}). Daha çok merkürük tuz formunda (örneğin piller) bulunan inorganik cıva, oldukça zehirli ve aşındırıcıdır. Vücuda oral veya dermal olarak erişir ve yutulanın %10'u oranında emilir. Zayıf lipid çözünürlüğü ve böbrekte birikim göstermesi sebebiyle önemli renal hastalıklara yol açar. Zayıf lipid çözünürlük özellikleri merkezi sinir sistemi (MSS) penetrasyonunu sınırlandırmasına rağmen, yavaş eliminasyon ve kronik maruz kalma, MSS'nin cıva iyonları birikimine ve sonrasında ise toksisiteye neden olur. İnorganik cıvaya uzun süreli dermal maruziyet de toksisiteye yol açabilir. Organik cıva gibi, inorganik cıva atılımı çoğunlukla dışkı ile olur. Merkürün renal atılımı yetersiz olmakla beraber, beyin içindeki kronik maruziyetine ve birikmesine sebep olur ve MSS'ni etkiler.

2.1.3 Organik cıva

3 formda bulunabilir: aril ve kısa ve uzun zincirli alkil bileşikleri. Organik cıva formları, GI yolundan inorganik cıva tuz formlarına nazaran daha fazla emilir. Bu, lipitteki çözünürlük özelliği ve hafif korozivite gibi organik özelliklerden kaynaklanır (organik cıva, inorganik cıvadan çok daha az korozif olmasına rağmen). Emildikten sonra, aril ve uzun zincirli alkil bileşikleri inorganik formlarına dönüştürülür ve inorganik cıvaya benzer toksik özelliklere sahiptir. Kısa zincirli alkil merkürialler (metil cıva) GI yolda (%90-95) kolayca emilir ve başlangıç formlarında stabil kalır. Alkil organik cıva, yüksek lipid çözünürlüğüne sahiptir ve beyin, böbrek, karaciğer, saç ve cildin içinde birikerek, vücut boyunca homojen olarak dağılır. Organik merkürialler ayrıca kan-beyin bariyerini ve plasentayı geçerek eritrositlere nüfuz eder, nörolojik semptomlar, teratojenik etkiler ve yüksek plazma oranına ulaşırlar.

2.1.4 Sinir Sistemi Etkileri

Metil cıva, MSS üzerindeki en toksik etkiye sahip olmakla birlikte, psikiyatrik rahatsızlıklara, ataksiye, görme kaybına, işitme kaybına ve nöropatiye neden olur. Uteroya maruz kalan hastalarda en şiddetlidir ve nöronal atrofi şeklinde nörolojik hasara sebep olur. Alkil cıva atılımı, önemli enterohepatik sirkülasyona bağlı olarak çoğunlukla dışkı (%90) şeklinde gerçekleşir. Metil cıva biyolojik yarı ömrü yaklaşık 65 gündür.

Cıva, çeşitli potansiyel mekanizmalarla sinir sistemine zarar verir. Cıva, sülfhidril gruplarına bağlanır ve hücrel stres cevabı, protein onarımı ve oksidatif hasar önleme ile ilgili kilit enzimleri engeller (Carvalho CM, Chew EH, Hashemy SI, Lu J, Holmgren A., 2008). Metil cıva, beyin sapı ve oksipital kortekslerdeki muskarinik kolinerjik sistemlerini de bozar (Basu N, Scheuhammer AM, Rouvinen-Watt K, Evans RD, Grochowina N, Chan LH., 2008). Metil cıva ayrıca, membran depolarizasyonuna, kalsiyum girişine ve nihai hücre ölümüne yol açan sodyum-potasyum adenozin trifosfatını ($Na^+ / K^+ -ATPase$) inaktive eder (Huang CF, Hsu CJ, Liu SH, Lin-Shiau SY, 2008). Apoptozda birkaç yol eş zamanlı olarak aktive olabilir (Ceccatelli S, Daré E, Moors M., 2010). Araştırmacılar ayrıca, metil cıvaya maruz kalan kemirgenlerde aşırı eksitotoksin ve nitrik oksit sisteminin düzensizliğini tespit etmişlerdir (Yamashita T, Ando Y, Sakashita N, ve ark., 1997). Metil cıva da beyin ödemi indükleyebilir, kalkarin ve parietal hücre kaybına ve gliozise yol açabilir ve sonuç olarak sulkal arter kompresyonu ve iskemiye neden olabilir.

Ayrıca metil cıva, element olan selenyum tutabilir ve böylece selenyumun bir enzimatik kofaktör olarak kullanıldığı hücrel biyokimyasal yolları bozabilir. Yapılan çalışmalarda, selenyumun takviyesinin laboratuvar

hayvanlarında cıva toksisitesini iyileştirdiğini ve hatta tersine çevirdiğini düşündürmektedir (Ralston NV, Raymond LJ., 2010).

Son olarak, cıvanın etkileri bir kişinin genetik yapısı tarafından değiştirilebilir. Örneğin hem biyosentezinde cıva maruziyeti ile genetik poliformizm arasındaki etkileşim, diş sektöründe çalışanlarda görsel- motor becerileri testinde bozukluklar ortaya çıkarmıştır (Echeverria D, Woods JS, Heyer NJ, Rohlman D, Farin FM, Li T ve ark. ,2006) ve daha yakın zamanda benzer bir popülasyonda, motor kontrol becerileri üzerindeki üriner cıva seviyeleri ve serotonin taşıyıcı polimorfizmleri arasındaki bozukluklara neden olduğu belgelenmiştir (Echeverria D, Woods JS, Heyer NJ, Martin MD, Rohlman DS, Farin FM ve ark., 2010). Ayrıca, bazı ısı şok protein polimorfizmleri, semptomsuz, ancak benzer şekilde maruz bırakılan kontrollere kıyasla semptomatik cıva toksisitesi ile ilişkilendirilmiştir (Chernyak YI, Itskovich VB, Baduev BK, Borovskii GB, 2012). Özellikle metalotiyoninin (bir ağır metal bağlayıcı protein grubu) tek nükleotit polimorfizmleri, diş hekimleri arasında azalan saç cıva seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir (Wang Y, Goodrich JM, Gillespie B, Werner R, Basu N, Franzblau A., 2012).

2.1.5 Böbrek etkileri

Proksimal tübüllerin nekrozu yaygın bir doğrudan renal toksik etkidir. Açıklanamayan nöropsikiyatrik rahatsızlıklara sahip olan renal anormallikler, doktorun cıva toksisitesini dikkate almasını sağlamalıdır.

2.1.6 Cıva zehirlenmesinin kaynakları

1-Elementel cıva toksisitesinin nedenleri şunlardır:

Termometreler
Barometreler
Piller
Bronzlaştırıcı
Kalibrasyon aletleri
Klor alkali üretimi
Diş amalgamları
Elektroliz
Etnomedikal uygulamalar
Parmak izi ürünleri
Floresan ve cıva lambaları
Kızılötesi dedektörler
Mücevher endüstrisi
Manometreler

Neon lambalar
Boyalar
Kağıt hamuru üretimi
Fotoğrafçılık
Gümüş ve altın üretimi
Yarı iletken hücreler

2-Organik cıva toksisitesinin nedenleri de şunları içerir:

Antiseptikler
Bakterisitler
İmha maddeleri
Tarım endüstrisi
Mantar ilaçları
Antiseptik ajanlar
Böcek öldürücü ürünler
Çamaşır ürünleri
Bebek bezi ürünleri
Kağıt üretimi
Patoloji ürünleri
Histoloji ürünleri
Tohum koruma
Ahşap koruyucu maddeler

3-İnorganik cıva toksisitesinin nedenleri arasında şunlar vardır:

Antisyofilik ajanlar
Asetaldehit üretimi
Kimyasal laboratuvar çalışması
Makyaj malzemeleri
Dezenfektanlar
Patlayıcılar
Kürk-şapka işleme
Mürekkep üretimi
Cıva buharlı lambalar
Ayna gümüş
Parfüm endüstrisi
Fotoğrafçılık
Spermisitler
Dövme mürekkepleri
Vinil klorür üretimi
Ahşap koruma maddeleri

Yeni kompakt, enerji tasarruflu floresan lambalar, önemli miktarda cıva konsantrasyonu içerir ve buda daha sonra lambaların kırılmasına bağlı olarak ortaya çıkacak bir maruz kalma kaynağıyla birlikte toksisiteye neden olur (Bose-O'Reilly S, McCarty KM, Steckling N, Lettmeier B, 2010). Yüksek fruktozlu mısır şurubunun üretiminde kullanılan klor-alkali kaynaklı cıva içeren bitkilerden elde edilen ürünlerin, ölçülebilir cıva seviyeleri içerdiği gösterilmiştir (Dufault R, LeBlanc B, Schnoll R ve ark., 2009). Cıva içeren piller, GI mukozasının aşınmasına ve ülserasyonuna neden olduklarından dolayı endişe duyulmaktadır. Pilin yutulmasıyla, organik cıva zehirlenmesi belirtileri yerine, hipersalivasyon ve kusma gibi inorganik cıva zehirlenmesi belirtileri beklenir.

Cıva toksisitesi için başlıca risk faktörü, endüstriyel kontaminasyondur. Altın madenciliğinin yanı sıra aynalar, termometreler, floresan lambalar ve radyografi makinelerinin üretiminde çalışan işçiler inorganik cıva zehirlenmesi riski altındadır. Kağıt ve hamur endüstrilerinde maruz kalan işçiler arasında organik cıva zehirlenmesi meydana gelebilir. Yapılan çalışmalarda cilt aydınlatıcı kremlerin idrar cıva düzeylerini arttırdığı gözlemlenmiştir (Washam C. Beastly, 2011). Yine başka çalışmalarda bu tür kozmetik ürünlerin renal sorunlara yol açtığı bildirilmiştir (Tang HL, Chu KH, Mak YF, Lee W, Cheuk A, Yim KF, 2006). Geleneksel dini ve iyileştirici uygulamalar, cıva maruziyeti için risk faktörleridir. Cıva, Çin bitkisel çaylarında kirletici olarak tanımlanmıştır (Espinoza EO, Mann MJ, Bleasdel B., 1995) ve Santeria dininde ve Tibet tıbbında kullanılmaktadırlar (Sallon S, Namdul T, Dolma S ve ark., 2006). Gerçektende, kültürel farklılıklar ele alındığında, bir kontrol topluluğuna kıyasla, Latin toplumunun çoğunlukta bulunduğu çevrelerde cıva buharı konsantrasyonlarının spektrofotometrik ölçümleri yüksek bulunmuştur (Garetano G, Stern AH, Robson M, Gochfeld M., 2008). Ayrıca, bitkisel "Ayurvedik" preparatların %20'sinin yüksek seviyelerde cıva içerdiği bulunmuştur (Saper RB, Kales SN, Paquin J ve ark., 2004). Amalgamdan gelen cıva buharları bile, diş çalışanları ve genel nüfus arasında tartışmalı olmakla birlikte, endişe kaynağı olmuştur. 1663 veteran üzerine yapılan bir araştırmada, amalgam maruziyetiyle ilişkili, bilişsel olmayan test uygulamasında klinik olarak belirgin bir eksiklik bulunamadı. Ancak, otomatik cihaz tarafından ölçülen, titreşimdeki subklinik bir azalma, amalgam maruziyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiş ve çoklu regresyon modelindeki varyansın %15'ini oluşturduğu bildirilmiştir (Kingman A, Albers JW, Arezzo JC, Garabrant DH, Michalek JE, 2005 & Public Health Service, 1993). Ayrıca, diş hekimleri arasındaki üriner cıva seviyeleri ve sinir iletim parametreleri arasında tutarlı bir ilişki kurulamadı. Diş çürükleri amalgam dolgularla tedavi edilen 6-10 yaşları arasındaki toplam 1041 çocuktan oluşan iki randomize çalışma, 5-7 yıllık takipten sonra geniş kapsamlı nöropsikolojik testlerde hiçbir farklılık göstermemiştir (Bellinger DC, Trachtenberg F, Barregard L ve ark., 2006 & DeRouen TA, Martin MD, Leroux BG ve ark., 2006).

Söz konusu cıva formunu, maruz kalma yolunu ve dozu da içeren kanıtların ayrıntılı bir araştırması ve gözden geçirilmesinden sonra, "Public Health Service", diş amalgamlarının ciddi bir sağlık riski oluşturmadığı sonucuna varmıştır (Public Health Service,1993 & FDA Issues Final Regulation on Dental Amalgam, 2009).

Organik cıva kaynaklarından biri, bakteri kontaminasyonunu önlemek için aşılarda kullanılan bir koruyucu olan tiyomersaldir. Tiyomersal içeren en yaygın kullanılan aşilar difteri, tetanoz, boğmaca öksürüğü, Haemophilus influenzae (HIB) ve Hepatit B'dir. Bununla birlikte, küçük miktardaki cıva ve bilinen herhangi bir hastalık arasında kesin bir bağlantı bulunmamıştır. Bununla birlikte, aşidaki cıva içeriği ile ilgili duyulan endişeler, cıva içermeyen aşiların daha fazla kullanılabilirliğine yol açmıştır (Bigham M, Copes R., 2005 & Kirby D, 2005 & Heron J, Golding J., 2004).

2.1.7 Cıva toksisite mekanizması

Cıva iyonları protein çökmesi, enzim inhibisyonu ve genelleştirilmiş korozif etki ile toksik etkiler oluşturur. Merkür sadece sülfhidril gruplarına değil aynı zamanda fosforil, karboksil, amid ve amin gruplarına da bağlanır (National Research Council, 2000). Bununla birlikte, hedef proteinler ve cıva reaksiyonunun neden olduğu etkiler gibi, cıva toksisitesinin moleküler mekanizmalarının bazı yönleri açıklığa kavuşturulmaya devam etmektedir (ATSDR, 1999; Bridges & Zalpus, 2005; Carvalho ve diğ., 2008; Hirooka ve diğ., 2010; Newland ve diğ., 2009; Rooney, 2007; Zalups, 2000). Bu tür gruplara sahip proteinler (enzimler dahil) cıva ile kolaylıkla reaksiyona girmeye oldukça hassastır. Cıvaya bağlandığında, çoğu protein inaktif hale getirilir. Toksikite kısmen oksidatif durumla ve kimyasal formu (organik veya inorganik) ilişkilidir. Bahsedildiği gibi, elementer cıva buharı yüksek oranda lipid çözüdür ve bu da hücre zarları kolayca geçmesine izin verir. Ayrıca merkürük formuna oksitlenebilir. Cıva tuzları daha fazla çözünür çift değerli bileşikler oluşturduğundan, bu formlar, tek değerlikli cıva bileşikleri oluşturan cıva tuzlarından daha zehirlidir. Böylece, yutulduğunda daha hızlı emilecek ve daha fazla toksisiteye neden olacaklardır. Organik formun %90 emilimine karşın, inorganik tuz formunun sadece %10'u (oksidatif duruma bakılmaksızın) GI yol ile emilir. Bu, inorganik formların gastrointestinal mukoza üzerinde aşındırıcı etkiler uyguladığı GI yolun mevcut olduğu anlamına gelir.

Bazı durumlarda, cıvalı bileşikler, taşıyıcı aracılı bir mekanizma tarafından absorbe edilen fizyolojik substratları taklit edebilir (Bridges ve Zalpus, 2005 & Heggland ve ark., 2009; Yin ve ark., 2008).

Böylelikle, membran taşıma sistemlerinin cıva bileşikleri ile etkileşiminin incelenmesi, cıva toksikolojisinde önemli bir amaçtır.

Organomerkürial bileşikleri ayrıca kimyasal yapıya ve göreceli toksisiteye göre gruplandırılmaktadır. Bu gruplar uzun zincirli aril-cıva bileşikleri ve kısa zincirli alkil-cıva bileşikleridir. Toksikite boyutu daha büyük olan grup, metil cıva gibi kısa zincirli alkil bileşikleridir. Bunlar aynı zamanda beyin, karaciğer ve böbreğe yayılan GI sistemde neredeyse tamamen emilirler. Ekskresyon esas olarak dışkıyla gerçekleşir. Aril cıva bileşikleri, cıva iyonları olarak atılır (Larry A. Broussard ve ark., 2002).

2.1.8 Tedavi Yöntemleri

Tedavi yöntemi, maruz kalınan cıva formuna bağlıdır. Örneğin, toksisite kaynağının ortadan kaldırılması, nispeten düşük bir cıva buharı dozuna maruz kaldıktan sonra yeterli olabilir. Herhangi bir toksinde olduğu gibi, cıva kaynağına, ulaştığı zamana, cıva türüne ve zehirlenme türüne dair mümkün olduğunca fazla bilgi elde etmek kritik öneme sahiptir.

Hasta cıvaya ciltten maruz kaldığında, dekontaminasyona maruz kalan alanın bol suyla yıkanması gerekebilir. Yakıcı özellikleri nedeniyle akut inorganik cıva yutulması durumunda şiddetli hidrasyon gerekebilir ve aynı nedenden dolayı kusmayı indüklememelidir.

Gastrik lavaj, özellikle abdominal röntgende organik alımlarda bir bileşik gözlemlendiğinde önerilir. Protein içeren çözeltilerle (örneğin süt, yumurta akı) veya %5 sodyum formaldehit sülfoksilat çözeltisi ile yapılan gastrik lavajda, bu çözeltiler cıvayı bağlayabilir ve emilimini sınırlandırır (Larry A. Broussard ve ark., 2002).

Aktif kömür, GI dekontaminasyonu için tutucudur, çünkü bir dereceye kadar inorganik ve organik cıva bileşiklerini bağlar.

Dimerkaprol (BAL -British anti Lewisite-), 2,3-dimerkaptosüksinik asit (DMSA, suksimer), 2,3-dimerkapto-1-propan sülfonik asit (DMPS), sodyum 4,5-dihidroksibenzen1,3-disülfonat (Tiron) ve penisilamin gibi endojen sülhidril gruplarıyla yarışarak cıva zehirlenmesinin tedavisinde kullanılmaktadır. Genel olarak şelasyon tedavisi, metil cıva eliminasyonundan ziyade elemental cıva için daha etkilidir. Oral olarak verilebilen DMSA ve DMPS gibi daha yeni ajanlar intramüsküler enjeksiyonla verilen BAL gibi ajanların yerini almaktadır (Ozuah PO., 2000). Umut verici yeni bir şelatlayıcı madde N-asetilsisteindir (Ballatori N, Lieberman NMW, Wang W., 1998).

Tipik olarak şelasyon terapisi, büyük hacimdeki dağılım, uzun yarı ömür ve dokulardan cıvanın aşamalı olarak salınması nedeniyle günlerce süren tedavi süreleri gerektirir.

Böbrek fonksiyonunu etkileyen ciddi toksisite vakalarında hemodiyaliz kullanılır. Normal hemodiyalizin cıvayı süzgeçten geçirme yeteneği, cıvanın eritrositler ve plazma arasındaki dağılım özelliği nedeniyle sınırlıdır. Bununla birlikte, hemodiyaliz, bir şelatör olarak L-sistein bileşiği ile birlikte başarılı sonuçlar vermektedir (Larry A. Broussard ve ark., 2002).

Neostigmin, metil cıva toksisitesinde motor fonksiyonuna yardımcı olabilir. Bu toksisite genellikle asetilkolin eksikliğine yol açar. Poliol, enterohepatik dolaşımdan sonra safrada atılan metil cıva (kısa zincirli alkil organik cıva) 'nın atılmasını kolaylaştırabilen emilemeyen bir reçinedir (Larry A. Broussard ve ark., 2002).

2.2 Serbest Radikaller

En dıştaki orbitalde 1 veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan atom veya moleküllere serbest radikal denir. Bu atom veya moleküller reaktif etki gösterdiklerinden, başka moleküller ile etkileşime girme yönelimindedir (Akkuş İ, 1995). Biyolojik sistemde en çok önem arz eden serbest radikaller, oksijen radikalleridir. En önemli serbest oksijen radikalleri süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları son olarakta hidroksil radikalleridir (Akkuş İ, 1995).

Tablo 2.1 Reaktif oksijen ve reaktif azot molekülleri (Bal & Kasprzak 2002)

Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil (HO^{\cdot})	Singlet oksijen ($*O_2$)
Peroksi (ROO^{\cdot})	Ozon (O_3)
Alkoksil (RO^{\cdot})	Hipokloröz asit($HOCl$)
Nitrik oksit (NO^{\cdot})	Lipid hidroperoksit($LOOH$)
Semikinon radikali (HQ)	Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	Azot dioksit (NO_2)

Tablo 2.2 Serbest radikal kaynakları

Biyolojik kaynaklar	İntraselüler kaynaklar
<ul style="list-style-type: none"> • Aktive olmuş fagositler • Antineoplastik ajanlar • Radyasyon • Alkol ve uyuşturucular • Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisitler, Sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar) • Stres 	<ul style="list-style-type: none"> • Küçük moleküllerin otooksidasyonu • Enzimler ve proteinler • Mitokondrial elektron transportu • Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri • Peroksizomlar • Plazma membranı (Lipit peroksidasyonu) • Oksidatif stres yapıcı durumlar: İskemi, travma, intoksikasyon

Tablo 2.3 Serbest radikallerin etkileşime girdiği moleküller (Akpoyraz & Durak, 1995)

Etkilenen Bileşikler	Sonuçlar
Doymamış amino asitler ve kükürt içeren amino asitler	Protein denatürasyonu Çapraz bağlanma Enzim inhibisyonu Organ ve hücre geçirgenliğinde değişimler
Nükleik asit bazları	Hücre gelişiminde değişmeler Mutasyon
Karbohidratlar	Hücre ve yüzey reseptörlerinde değişim
Doymamış lipitler	Kolestrol ve yağ asitlerinin oksidasyonu
Kofaktörler	Nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin aktifliğinde azalma Askorbat ve porfirin oksidasyonu
Antioksidanlar	α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidanların aktifliğinin azalması
Proteinler	Denatürasyon Peptid zincirlerinde kırılmalar
DNA	Baz modifikasyonları Zincirde kırılmalar
Hyaluronik asit	Sinovial sıvının viskozitesinde değişim

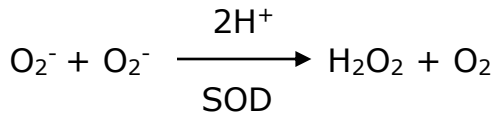
Tablo 2.4 Antioksidan savunma sistemi enzimlerinin kataliz ettiği tepkimeler ve eksiklikleri durumunda oluşan oksidatif stres (Casteilla L, Rigoulet M, Penicaud L, 2001)

Antioksidan Savunma Sistemi Tepkimeleri	Antioksidan Sistemi Kapasitesi Aşılması Durumunda Tepkimeler
Süperoksit anyon oluşumu $O_2 + e^-$	
Solunum zinciri O_2^-	
<u>ROT'ların enzimatik metabolizmaları</u>	
<i>Süperoksit dismutaz</i> $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$ (mitokondri, sitozol)	$O_2^- + H^+ \rightarrow HO_2^-$
<i>Katalaz</i> $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ (peroksizom)	$O_2^- + HO_2^- + H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$
<i>Glutatyon peroksidaz</i> $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$ (mitokondri, sitozol)	$O_2^- + Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$
<i>Glutatyon redüktaz</i> $GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2GSH + NADP^+$	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^- + HO^+$
<i>Glukoz6P dehidrojenaz</i> $NADP^+ + G6-P \rightarrow 6-P\text{-glukonolakton} + NADPH + H^+$ (sitozol)	$H_2O_2 + O_2^- \rightarrow O_2 + HO^- + HO^+$
<i>Transhidrojenaz</i> $NADH + NADP^+ \rightarrow NAD^+ + NADPH$ (mitokondri)	

Reaktif oksijen türleri; süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (1O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$) dir. Lipid peroksidasyonu ürünleri olan peroksil ve alkoksil ($ROO\cdot$ & $RO\cdot$) radikalleri de reaktif oksijen türleri arasında gösterilmektedir (Halliwell B., 2006 & Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2006).

2.2.1 Süperoksit Radikali

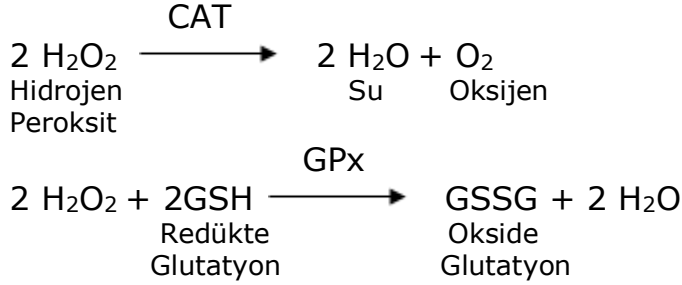
Süperoksit anyonu moleküler haldeki oksijen atomunun mitokondri iç zarında gerçekleşen elektron transport zincirinden 1 elektron ile etkileşime geçerek indirgenmesi sonucu oluşmaktadır. Ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz tarafından oluşturulmaktadır. Süperoksit anyonu, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşür (Zhang Y, Micheal G, Irwin M, Tak MW, 2000). Uzun süreli maruziyet DNA mutasyonuna ve hastalıklara yol açar.



2.2.2 Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit serbest bir radikal değildir. Ancak hücresel membrana kolaylıkla girebilmesinden dolayı ve hidroksil oluşumuna yol açarak hücre hasarı oluşturmaları nedeniyle önemlidir. Hidrojen peroksit metabolik

yolakları ve hücre içi sinyal kaskadında da rol almaktadır. Hidrojen peroksit, katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve peroksiredoksinler ile uzaklaştırılır (Limon-Pacheco J, Gonshebbatt ME, 2009).



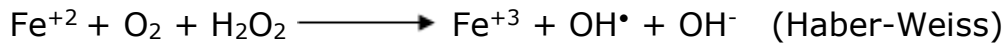
2.2.3 Singlet Oksijen

Oksijenin dış orbitaldeki ortaklanmamış elektronunun farklı orbitale zıt spine yerleşmesiyle oluşur. Uyarılmış bu moleküle singlet oksijen denir. DNA, RNA, protein, lipid gibi yapılarla etkileşerek hücreye zarar vermektedir (Kukreja R, Hess ML, 1992).

Single oksijen formülü: "O-O:"

2.2.4 Hidroksil Radikali

Hidrojen peroksitin demir, bakır, mangan gibi metallerle verdiği tepkime ile oluşan serbest radikallerdir (Mc Cord, 1993 & Riley, 1994 & Gutteridge, 1994). Güçlü bir aktivite gösterdiğinden, diğer radikallere oranla, daha fazla zarar vermektedir. DNA da ve proteinlerin yapısında hasar meydana getirmektedir (Deaton ve Marlin, 2003). Fenton ve Haber-weiss reaksiyonlarıyla oluşmaktadır.



2.2.5 Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu ürünleri olan peroksil ve alkoksil (ROO• & RO•) radikalleri de reaktif oksijen türleri arasında gösterilmektedir (Halliwell B., 2006 & Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2006). Bu reaktiflerden en çok etkilenen yapı zar lipidleridir. Bu hücre

zarındaki lipid türleri (kolestrol ve doymamış yağ asitleri) serbest radikallerle etkileşerek peroksidasyona neden olmaktadır (Kayış T., 2010).

Lipid peroksidasyonu, radikallerin lipitlerdeki doymamış yağ asitlerinin C=C çift bağlarına saldırması sonucu oluşmaktadır. Glikolipidler, fosfolipidler ve kolesterol potansiyel peroksidasyon modifikasyonlarının ve oluşacak zararların en iyi bilinen hedefleridir (Ayala, A., Muñoz, M. F., ve Argüelles, S., 2014).

Lipid peroksidasyonu veya doymamış yağ asitlerinin oksijen ile etkileşimi sonucu çeşitli oksidasyon ürünleri oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonunun birincil ürünü lipit hidroperoksitlerdir (LOOH). İkincil ürünler ise lipid peroksidasyonu esnasında oluşan malondialdehit (MDA), propanal, heksanal ve 4-hidroksinonenal gibi çeşitli aldehit ürünleridir (Ayala, A., Muñoz, M. F., ve Argüelles, S., 2014). Oluşan MDA bilimde oksidatif stres göstergesi olarak ölçülen parametrelerden biridir.

2.3 Antioksidanlar

Reaktif oksijenleri ve bunların oluşturduğu zararları engellemek için vücutta bulunan savunma moleküllerine "antioksidan savunma sistemleri" ya da "antioksidanlar" denmektedir (Şener G, Yeğen Berrak Ç, 2009). Antioksidanlar ikiye ayrılır; endojen ve eksojen antioksidanlar olmak üzere (Sen S, Chakraborty R, 2011).

Antioksidanlar hızlı gerçekleşen reaksiyonlarla oksidasyonu önleyen moleküllerdir (Dündar Y, Aslan R, 1999). Antioksidanların görevleri radikallerle reaksiyona girerler ve daha zararlı formlar oluşmasını engelleyerek yeni serbest radikal oluşumunu önler ve toksik etkilerine karşı hücreyi koruyarak, sağlık sorunlarını engeller (Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C, 2008).

Tablo 2.5 Endojen ve Eksojen Antioksidanlar

Endojen Antioksidanlar		
Enzimatik antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar	
<ul style="list-style-type: none">• Süperoksit dismutaz (SOD)• Katalaz (CAT)• Glutasyon peroksidaz (GPx)• Glutasyon redüktaz (GR)	<ul style="list-style-type: none">• Glutasyon• Melatonin• Ürik Asit• Bilirubin• Albumin	<ul style="list-style-type: none">• Koenzim Q10• Selenyum• α-lipoik asit• Transferrin• Seruloplazmin
Eksojen Antioksidanlar		
Vitamin eksojen antioksidanlar	İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar	
<ul style="list-style-type: none">• α-tokoferol (Vitamin E)	<ul style="list-style-type: none">• Ksantin oksidaz	<ul style="list-style-type: none">• inhibitörleri

<ul style="list-style-type: none"> • β-karoten (Vitamin A) • Askorbik asit (Vitamin C) • Folik asit (Vitamin B9) 	<ul style="list-style-type: none"> • (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten) • NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar) • Rekombinant süperoksit dismutaz • Trolox-C (Vitamin E analogu) • Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetil sistein) • Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin) • Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin) • Nötrofil adezyon inhibitörleri • Sitokinler (TNF ve Il-1) • Barbütiratlar • Demir Şelatörleri
--	---

2.4 Bor

Borik asit doğada mineral olarak bulunan bir Lewis asididir. Bu özelliği nedeniyle borik asit; peptitler, aldehit dehidrojenaz, proteaz, ksantin oksidaz gibi enzimler üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir.

Sağlık sisteminde geleneksel kullanımının yanı sıra borik asit, endüstriyel, tarımsal ve kozmetik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Borik asit, uygulandıktan sonra hızla emilir ve pasif difüzyon yoluyla vücut boyunca hızla dağıldığı bilinmektedir. Borik asit uygulamasından sonra, kandaki ve dokudaki borik asit konsantrasyonunun, sıçanlar ve insanlarda 1: 1 oranında olduğu bildirilmiştir (Murray, 1998). Borik asidin kalsiyum ve potasyum metabolizması üzerinde (Meacham ve ark., 1994), D vitamini (Hunt, 1996), aldehit dehidrojenaz, ksantin oksidaz, sitokrom b5 redüktaz (Hunt, 1996 & Devirian ve Volpe, 2003), insülin, östrojen, testosteron, T3, T4 (Nielsen ve ark., 1987; Armstrong ve ark., 2001), trigliseritler, glikoz (Eren ve ark. 2006) ve reaktif oksijen türleri (Turkez ve ark., 2007; Ince ve ark., 2010) üzerinde etkisi olduğu yapılan çalışmalarda bulunmuştur.

Bor, *in vivo* olarak antioksidan savunmayı geliştirme yeteneğine sahiptir (Devirian ve Volpe, 2003 & Pawa ve Ali, 2006). Bor, bitki kaynaklı gıdalarda ve içme suyunda bulunur ve ayrıca gıda takviyesi olarak da mevcuttur (WHO 2009).

Bor bileşiklerinin (borik asit veya boraks gibi), insan lenfositlerinde hücrelerin antioksidan kapasitesini arttırarak, genotoksik ajanlar olan vanadyum tetraoksit, titanyum dioksit, aflatoksin B1 ve paklitakselin neden olduğu hasara karşı bir miktar koruma sağlayabilir (Geyikoğlu ve Türkez 2007 & Türkez ve Geyikoğlu 2010). Önceki yapılan çalışmalarda borun suprafizyolojik konsantrasyonlarda (80–322µM borik aside karşılık gelen 5-20ppm) *in vitro* yapılan çalışmada kadmiyum ve kurşunun neden olduğu genotoksisiteye karşı kısmi koruma gösterdiği bulunmuştur (Turkez ve ark. 2012). İlginç bir şekilde, aynı yazarların diğer çalışmalarında, en düşük bor konsantrasyonları, metal kaynaklı genotoksisiteyi suprafizyolojik seviyelere göre daha verimli bir şekilde azaltmıştır.

Borik asidin en önemli kullanımı nötron yakalama terapisi. Borik asit, çeşitli kanserlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır (Primus ve ark., 1996).

Borik asit, kalsiyum, magnezyum ve potasyum, D vitamini, insülin, östrojen, testosteron ve glukoz metabolizması gibi iyonların seviyelerini etkiler. Aynı zamanda S-adenozil metiyonin (SAM) güçlü bir afiniteye sahiptir. Glikolipitler ve glikoproteinler gibi moleküller içeren hidroksil grubu, membran bütünlüğünü etkileyen borik asit ile bir kompleks oluşturabilir (Hunter, 2005 & Nielsen, 2008).

Borik asit, kanser ve inflamatuvar hastalık tedavilerinde, yara iyileşmelerinde, oksidatif stresin önlenmesinde, ağır metallerin toksik etkilerinin azaltılmasında ve mitokondriyal membran potansiyelinin düzenlenmesinde antioksidan ve antiinflamatuvar ajan olarak kullanılır (Henderson ve ark., 2009 & Sogut ve ark., 2015 & Ustundag ve ark., 2014).

Ayrıca borik asit, pestisitler tarafından inhibe edilen asetilkolinesteraz aktivitesini geri kazandığı (Coban ve ark., 2015) ve ayrıca siklofosfamid kaynaklı ve karbon tetraklorür ile indüklenmiş oksidatif stresi önlediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Ince ve ark., 2012 & Ince ve ark. 2014).

3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Gereçler

3.1.1 Deney Hayvanları

Tüm deney hayvanları KOBAY DENEY HAYVANLARI LABORATUVARI SAN. VE TİC. A. Ş. den temin edilmiştir. Çalışma için gerekli olan etik kurul raporu alındı. Deneysel aşamamızda 250-300 gr Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Deney hayvanları deney süresince Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (TICAM) uluslararası deney hayvanları bakım kılavuzlarına göre standart laboratuvar koşullarında (12/12 saat aydınlık/karanlık periyodunda, $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$, %45-50 nem) barındırıldı. Hayvanlar çeşme suyu ve standart yem ile ad libitum beslendi. Çalışmamız 2 aşamadan oluşmaktadır. Çalışmada cıvaya bağlı toksik etkiler incelemek amacıyla farklı konsantrasyonlarda uygulaması yapıldı, en toksik cıva konsantrasyonu belirlendikten sonra borik aside bağlı doz çalışması yapılarak, kontrol grubuyla istatistiksel olarak kıyaslanmıştır. Her grup 8 adet ön beyin parçası içerecek şekilde ayrılmıştır. Çalışma n:8 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Aşama başı 8 sıçan, toplamda 16 sıçan kullanılmıştır.

3.1.2 Deney Grupları

Çalışmamız 2 aşamalı gerçekleştirilmiştir. İlk aşama cıvanın sağlıklı sıçan beyin sinaptozomları üzerine toksik etkilerini incelemek için farklı cıva konsantrasyonlarında ki değerleri ölçülmüştür.

Tablo 3.1 I. Aşama deney grupları

I. AŞAMA
Kontrol(Sağlıklı)
1,052 μM HgCl_2
5,262 μM HgCl_2
10,524 μM HgCl_2

İkinci aşama da ise en toksik cıva dozu(x) belirlendikten sonra, en toksik cıva konsantrasyonunu her grup için sabit tutarak, her gruba farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulaması yapıp, borik asidin nöroprotektif etkileri incelenmiştir.

Tablo 3.2 II. Aşama deney grupları

II. Aşama
Kontrol(x HgCl ₂)
x µM HgCl ₂ +5 µM Borik Asit (H ₃ BO ₃)
x µM HgCl ₂ +10 µM Borik Asit (H ₃ BO ₃)
x µM HgCl ₂ +50 µM Borik Asit (H ₃ BO ₃)

3.1.3 Deney Hayvanlarından Örneklerin Alınması

Deney hayvanlarına intramuskuler olarak ketamin(60mg/kg) ve ksilazin (12mg/kg) uygulamasıyla anestezi işlemi yapılarak beyinleri alınmıştır. Alınan beyin dokusundan sinaptozom elde edilerek glutasyon peroksidaz(GPx), malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve total protein düzeylerinin ölçümleri yapıldı.



Şekil 3.1 Anestezi işlemi



Şekil 3.2 Beyinlerin alınması



Şekil 3.3 Ön beynin parçalara bölünmesi

3.1.4 Sinaptozom Eldesi

Sinaptozom fraksiyon eldesi için Whittaker ve arkadaşlarının uyguladığı yöntem tarafımızdan modifiye edilerek kullanıldı. 24 adet sağlıklı Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar dekapite edilip öldürüldükten sonra ön beyinleri alındı. Büyük hemisferler sinir sisteminin diğer elemanlarından ayrıldı, üstlerinde kalan kan parçacıklarını gidermek için serum fizyolojikle yıkandı. Ön beyinlerin her biri dört parçaya bölünüp tartıldı. 8 grup oluşturuldu, her bir gruba 8 adet ön beyin parçası konuldu (n=8). Grupları oluşturan ön beyin parçaları hızlıca buz soğukluğunda HEPES (10 mmol/L) + Sükroz (0,32 mmol/L) solüsyonuna konuldu ve aynı ortamda homojenize edildi. Homojenizat 3000xg'de 10 dakika santrifüj edilip, supernatant kısmı alındı. Bu kısım 15000xg'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra supernatant kısmı atıldı. Geride kalan sinaptozomca zengin pellet kısmı 2ml'lik yapay serebrospinal sıvı (aCSF; 116mM/L NaCl, 5,4mM/L KCl, 0,9mM/L MgCl₂, 0,9mM/L NaH₂PO₄, 25mM/L NaHCO₃, 1,8mM/L CaCl₂ ve 10mM/L Glukoz, pH 7.2) içinde resüspanse edildi. Sinaptozomlar deney gruplarının içeriğine göre cıva klorürün farklı konsantrasyonlarında 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası glutatyon peroksidaz(GPx), malondialdehit(MDA), katalaz(CAT), süperoksit dismutaz(SOD) ve total protein düzeylerinin ölçümleri yapıldı. Daha sonra en toksik cıva klorür konsantrasyonu seçilerek farklı konsantrasyonlarda borik asit ile 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tekrar glutatyon peroksidaz(GPx), malondialdehit(MDA), katalaz(CAT), süperoksit dismutaz(SOD) ölçümleri yapılarak borik asidin nöroprotektif etkisi incelendi.

3.1.5 Kullanılan Kimyasal Maddeler

HgCl₂
H₃BO₃
Ketamin
Ksilazin
Hepes
Sukroz
CSF
NaCl
KCl
MgCl₂
NaH₂PO₄
NaHCO₃
CaCl₂
Glukoz
NADPH
TBA

SDS
CH₃COOH
NaOH
HCl
tetraetoksipropan
Tris
EDTA
H₂O₂
Distile su
Coomassie Brilliant Blue G-250
C₂H₅OH
H₃PO₄
BSA

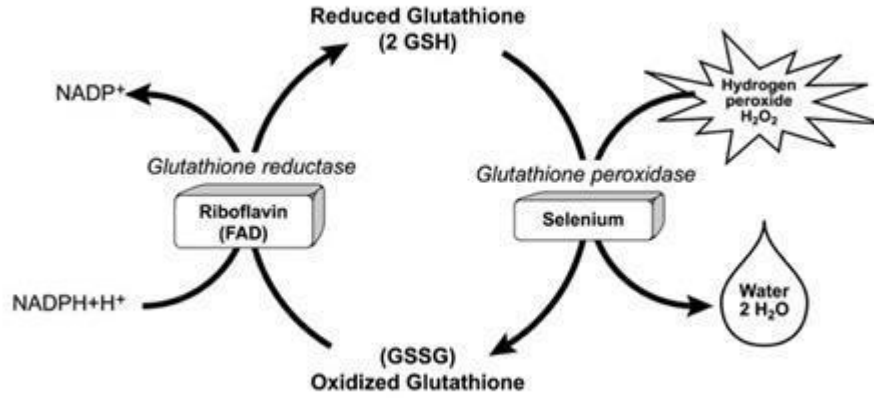
3.1.6 Kullanılan Aygıt ve Gereçler

Hassas Tartı
Santrifüj
Spektrofotometre
Buzdolabı
Derin Dondurucu
pH metre
Vorteks
Manyetik Karıştırıcı
Homojenizatör
Cam Malzemeler
Pipet/Mikropipet
Su Banyosu

3.2 Yöntemler

3.2.1 Sinaptozomda Glutasyon Peroksidaz(GPx) Ölçümü

GPx ölçümü Paglia ve Valentine (1987) tarafından bildirilen metoda göre ölçüldü. Bu yöntem okside glutasyon (GS-SG) ve NADPH'ı substrat olarak kullanan glutasyon redüktazın 340 nm'de Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADPH)'ı okside etmesi ile meydana gelen azalan absorbansın ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

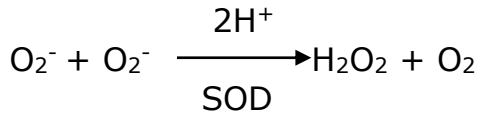


Şekil 3.4 GPx kataliz ettiği reaksiyon

NADPH'ın, Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP)'a yükseltgenmesi 340 nm'de absorbansın azalmasına sebep olur. Böylece dolaylı olarak GPx'in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. Bu karışımın üzerine hidrojen peroksit eklenerek enzimatik reaksiyon başlatıldı ve 3 dakika boyunca 340 nm'de azalan absorbanslar okundu. GPx aktivitesi (ϵ_{340} : 6220 M/cm) 1 dakikada 1 mg protein tarafından harcanan NADPH miktarı olarak hesaplandı ve enziminin spesifik aktivitesi U/mg protein/dk olarak verilmiştir.

3.2.2 Sinaptozomda Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçümü

SOD ölçümünde Marklund ve Marklund (1974) metodu kullanılmıştır. Pirogallol'un 440 nm'de alkali ortamda oksidasyona uğraması sonucu ile artan absorbans ölçüldü. Bir ünite toplam SOD aktivitesi pyrogallol'un otooksidasyonun %50 inhibisyonuna sebep olan protein miktarı olarak hesaplandı. Daha sonra homojenattaki 1mg protein başına toplam SOD aktivitesi U/mg protein olarak verilmiştir.

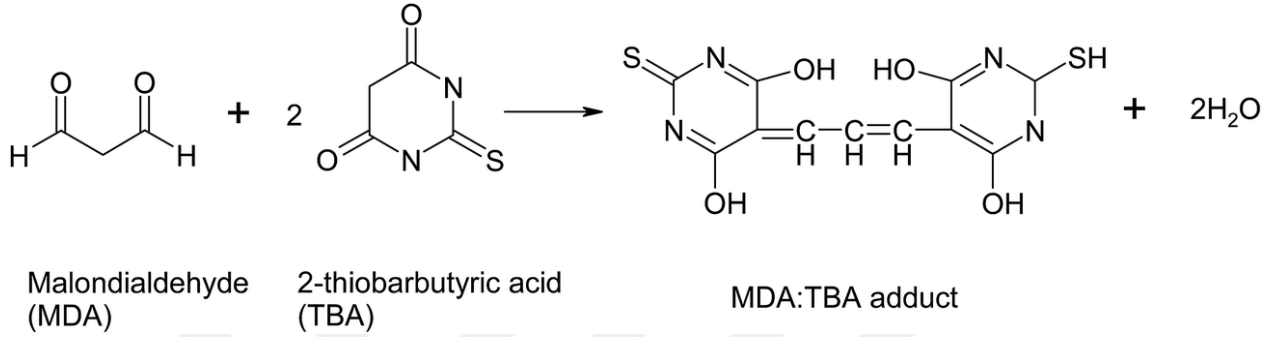


3.2.3 Sinaptozomda Malondialdehit (MDA) Ölçümü

Beyindeki oksidatif hasarın kantitatif olarak gösterilebilmesi için lipid peroksidasyonunun ürünü olan malondialdehit(MDA) ölçümü yapılmıştır. MDA lipid peroksidasyon düzeyinin belirlenmesinde oldukça yaygın kullanılan bir parametredir.

Sinaptozomdaki MDA düzeyinin ölçümü Ohkawa ve ark. yöntemine göre

yapılmıştır (Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K, 1979). Bu yöntemin prensibi MDA ve tiyobarbütirik asit(TBA) arasında gerçekleşen tepkime sonucunda meydana gelen pembe renkli kompleksin spektrofotometrede 532 nm deki absorpsiyonunun ölçülmesine dayanmaktadır.



Şekil 3.5 MDA ve TBA tepkimesi

Kullanılan Çözeltiler

Sodyum dodesil sülfat (SDS) %8.1'lik: 8,1g SDS tartılıp son hacim 100 ml olacak şekilde distile suda çözülür.

Asetat tamponu %20'lik (pH:3.5): 20ml asetik asite (CH₃COOH) bir miktar distile su ilave edilir, daha sonra sodyum hidroksit(NaOH) ile pH 3.5'a ayarlanarak son hacim 100ml'ye tamamlanır.

Tiyobarbütirik asit (TBA) %0.8'lik (pH:5.5-7): 0,8g TBA tartılarak bir miktar distile suda çözülür, NaOH ile pH ayarı yapılarak son hacim 100ml'ye tamamlanır.

MDA standartının hazırlanması: 1,1,3,3 tetraetoksipropan 100nmol/ml stok çözeltisi hazırlanarak, 1:2 oranında seri dilüsyonlar ile 50nmol/ml - 25nmol/ml - 12,5nmol/ml - 6,25nmol/ml - 3,125nmol/ml - 1,562nmol/ml - 0nmol/ml konsantrasyonlarındaki absorpsiyon değerleriyle standart grafiği oluşturulur. Örneklerin konsantrasyonları standart grafiği yardımıyla hesaplanır. MDA konsantrasyonları aynı homojenatların total protein konsantrasyonlarına oranlanmasıyla nmol/mg protein olarak sonuçları verildi.

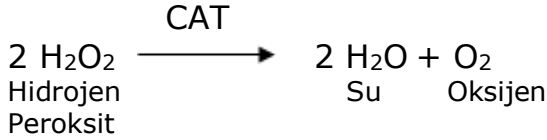
Deney prosedürü

Tablo 3.3 MDA ölçümü hacimsel değerler

	Numune	Kör	Standart
Standart	-	-	200µl
Homojenat	200µl	-	-
%8.1'lik SDS	200µl	200µl	200µl
%20'lik asetat tamponu	1500µl	1500µl	1500µl
%0.8'lik TBA	1500µl	1500µl	1500µl
Distile Su	600µl	800µl	600µl
Hazırlanan deney tüpleri 95 °C de 60 dakika inkübasyona (pembe renk oluşumu) bırakılır.			
Çeşme suyunda soğutulduktan sonra 4000rpm de 10 dk santrifüj edilir.			
532 nm'de köre karşı absorbans değerleri okunur.			

3.2.3 Sinaptozomda Katalaz (CAT) Ölçümü

Katalaz enzimi; serbest radikallere karşı vücudun savunma sisteminde bulunan antioksidan bir enzim olup hidrojen peroksitin (H₂O₂), suya (H₂O) dönüşüm reaksiyonunu katalizler.



Sinaptozom katalaz(CAT) aktivitesinin ölçümü Aebi'nin yöntemine göre yapılmıştır (Aebi, 1984). Bu yöntemde göre 230nm'deki absorbansı ölçülür, zamana bağlı olarak absorbans değerinde azalma gerçekleşir. Bu azalma, CAT'ın aktivite göstermesiyle ilişkilidir. Absorbans değerindeki bu düşüş kullanılarak, formül yardımıyla CAT aktivitesi hesaplanır.

Kullanılan Çözeltiler

Tris-EDTA Solüsyonu (pH:8): 12,1g tris tartılır. 0,168g Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) tartılır. 80ml distile suda çözülür. 2M hidroklorik asit (HCl) ile pH 8'e ayarlanır. (2M HCl 100ml hazırlanması için 16,7ml HCl, 100ml distile suya tamamlanır.) Tris-EDTA solüsyonu pH:8 olacak şekilde 2M HCl ile ayarlanır. Son olarak çözelti pH'ı ayarlandıktan sonra son hacim 100ml'ye tamamlanır.

H₂O₂ çözeltisi (10mM): 172 µl H₂O₂ alınır, distile su ile 200 ml'ye tamamlanır.

Deney Prosedürü

Tablo 3.4 CAT ölçüm hacimsel değerler

	Kör	Numune
Tris-HCl+ EDTA	100 µl	100 µl
H ₂ O ₂		1800 µl
Distile Su	1900 µl	60 µl
Su banyosunda 37 °C de 10 dk inkübasyon		
Örnek	-	40 µl
230nm'de 2dk süreyle absorbans ölçülür.		

4.adımdaki 37 °C de 10 dk inkübasyondan sonra, quartz küvetlerde bekletilen 40 µl örneklerin üzerine, inkübe edilen tüplerdeki çözelti eklenir. CAT aktivitesinden dolayı ortamda H₂O₂ azalacağından absorbansta zamana bağlı düşüş gözlenir. Formül yardımıyla CAT aktivitesi hesaplanır.

$$CAT \text{ Aktivitesi} = \frac{\Delta Abs \times Vt}{\epsilon \times Vn} \times SF$$

$\Delta Abs = Abs_2 - Abs_1$; Zamana bağlı absorbans değişimindeki fark

Vt = Toplam hacim

Vn = Numune hacmi

ϵ = Ekstinksiyon katsayısı (Hidrojen peroksitin 230nm'de $0,071 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

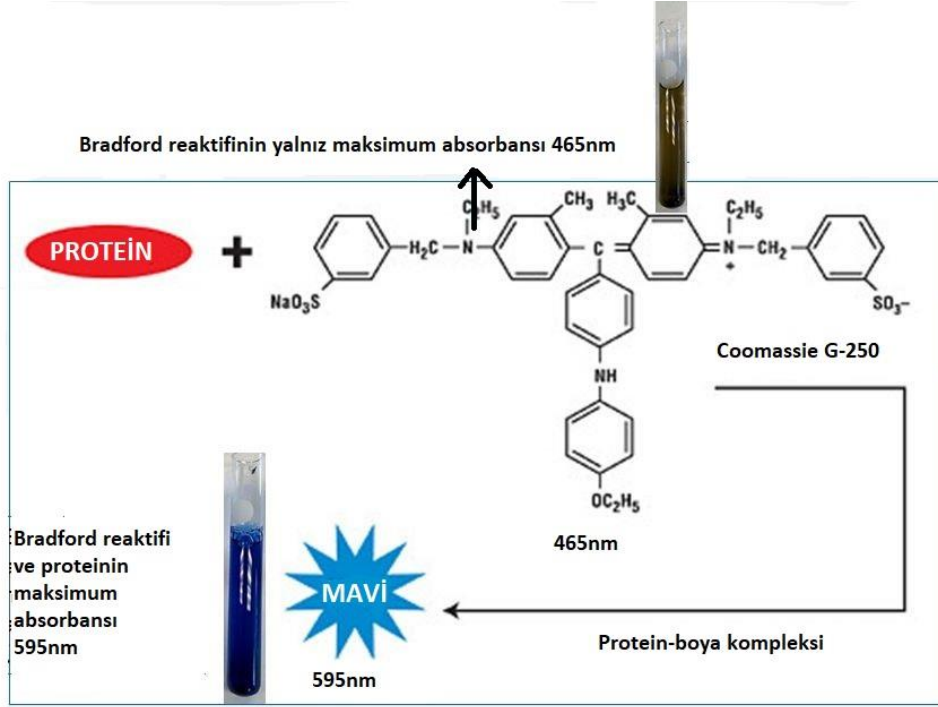
SF = Seyreltme Faktörü

CAT aktivitesinin, aynı homojenattaki total protein miktarına oranı spesifik aktiviteyi verir.

$$Spesifik \text{ CAT Aktivitesi} (U/mg \text{ protein}) = \frac{CAT \text{ Aktivitesi}}{Total \text{ Protein Miktarı}}$$

3.2.5 Sinaptozomda Doku Protein Ölçümü

Proteinlerin tayininde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Organik bir boya olan Coomassie brilliant blue G-250 boyası proteinlerle etkileşerek mavi renkli bir kompleks oluşturur. Boya 465 nm'de maksimum absorbans verirken, proteine bağlandığı zaman 595nm'de maksimum absorbans vermektedir. Farklı konsantrasyonlardaki proteinlerle etkileşimi sonucu, değişik şiddetlerde mavi renkli bileşik oluşturur. Bu nedenle proteinin primer yapısı önemlidir.



Şekil 3.6 Bradford ölçüm prensibi

Bradford Çözeltisi: 40 mg G-250, 50 ml etanolde (%95'lik) çözündürülüp, üzerine 55 ml fosforik asit (H_3PO_4) (%85) eklenir. Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Whatman no.1 filtreden geçirilir ve bir cam şişede, güneşten korunarak 40C'de saklanır.

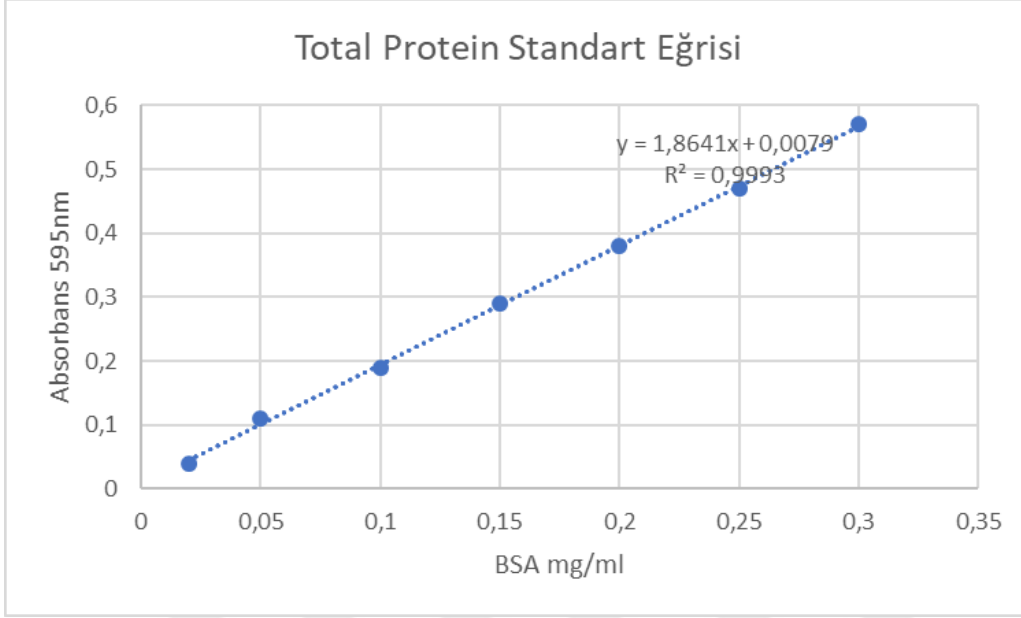
Bradford Standartı: Standart eğrini oluşturmak için 4mg/ml konsantrasyonunda (8mg BSA, 2ml distile su) stok çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan stok dilüe edilerek 0,02 - 0,05 - 0,1 - 0,15 - 0,2 - 0,25 - 0,3 mg/ml konsantrasyonlarında BSA örnekleri hazırlanmıştır. Elde edilen absorbanlarla grafik çizilip, eğiminden total protein miktarları hesaplanmıştır.

Deney Prosedürü

Tablo 3.5 Doku proteini ölçümü hacimsel değerler

	Standart(ml)	Kör(ml)	Örnek(ml)
Distile Su	-	1	-
Standart Çözelti	1	-	-
Örnek Çözelti	-	-	1
Bradford Reaktifi	2	2	2

Tüpler karıştırılıp 10dk oda sıcaklığında bekletilir
595 nm'de absorbanlar okunur



Şekil 3.7 Total protein eğrisi

3.2.6 İstatistiksel Analiz

Sürekli nicel veriler; n , ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir. Bağımsız ölçümlerden oluşan ve normal dağılım gösteren değişkenlere **One Way Analysis of Variance** testi ile analiz edilmiştir. $p < 0,05$ olasılık değerleri önemli olarak kabul edilmiştir. Tüm veri analizleri SPSS 21.0 paket programları ile yapılmıştır.

4- BULGULAR

4.1 Sinaptozom MDA Bulguları

4.1.1 Cıva Konsantrasyonuna Bağlı MDA Bulguları

Sinaptozom MDA düzeylerinin istatistiksel değerleri tablo 4.1 ve şekil 4.1 de verilmiştir. Verilerin karşılaştırmaları One Way ANOVA testi ile yapılmıştır.

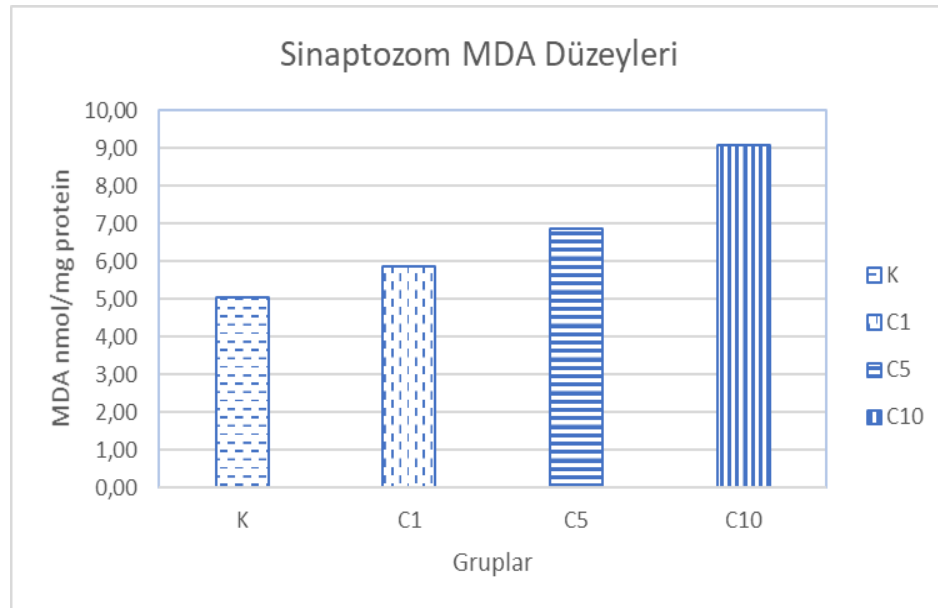
C1 grubu sinaptozom MDA düzeylerinde, kontrol grubuna göre önemli düzeyde artış görülmüştür ($p < 0,05$).

C5 ve C10 grubu sinaptozom MDA düzeylerinde ise kontrol grubuna göre ileri düzeyde önemli artış bulunmuştur ($p < 0,001$).

C10 grubu sinaptozom MDA seviyesinde ise C1 ve C5 grubuna göre ileri düzeyde önemli artış bulunmuştur ($p < 0,001$) (Şekil 4.1).

Tablo 4.1 Sinaptozom MDA Düzeyleri

Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	P
KONTROL	8	5,04	$\pm 0,30$	<0,001
C1	8	5,89	$\pm 0,67$	
C5	8	6,88	$\pm 0,88$	
C10	8	9,07	$\pm 1,34$	



Şekil 4.1 Sinaptozom MDA Düzeyleri

4.1.2 Cıva + Borik Asit Konsantrasyonuna Bağlı MDA Bulguları

Sinaptozom MDA düzeylerinin istatistiksel değerleri tablo 4.2 ve şekil 4.2 de verilmiştir. Verilerin karşılaştırmaları One Way ANOVA testi ile yapılmıştır.

C10+B50 grubu sinaptozom MDA düzeylerinde, kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşüş görülmüştür($p<0,05$).

C10+B50 grubu sinaptozom MDA düzeylerinde, C10+B5 grubuna göre önemli düzeyde düşüş bulunmuştur ($p<0,05$).

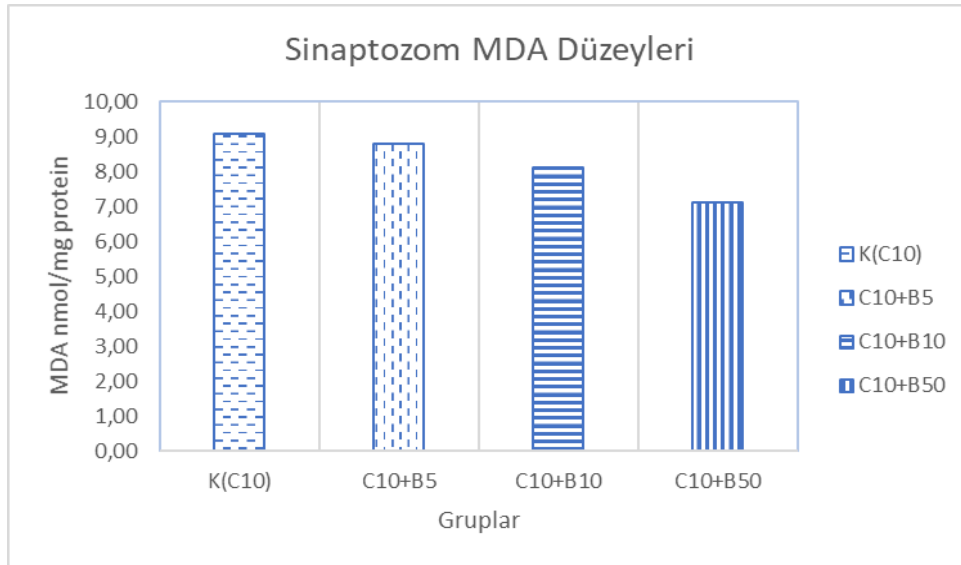
C10+B5 grubunda sinaptozom MDA seviyesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

C10+B10 grubunda sinaptozom MDA seviyesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 4.2).

Tablo 4.2 Sinaptozom MDA Düzeyleri

Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	P
KONTROL(C10)	8	9,07	$\pm 1,34$	0,008*
C10+B5	8	8,79	$\pm 1,39$	
C10+B10	8	8,11	$\pm 0,72$	
C10+B50	8	7,13	$\pm 0,84$	

* $p<0,05$



Şekil 4.2 Sinaptozom MDA Düzeyleri

4.2 Sinaptozom CAT Aktivitesi Bulguları

4.2.1 Cıva Konsantrasyonuna Bağlı CAT Aktiviteleri

Sinaptozom CAT aktivitelerinin istatistiksel değerleri tablo 4.3 ve şekil 4.3 de verilmiştir. Verilerin karşılaştırmaları One Way ANOVA testi ile yapılmıştır.

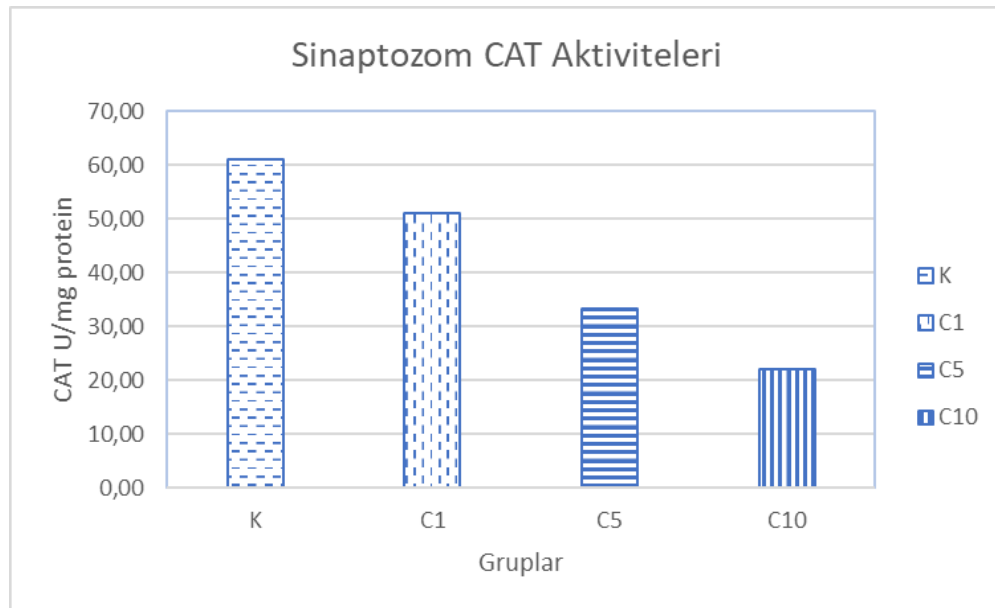
C1, C5 ve C10 grupları sinaptozom CAT aktivitelerinde, kontrol grubuna göre ileri düzeyde önemli düşüş görülmüştür ($p < 0,001$).

C5 ve C10 grupları sinaptozom CAT aktivitelerinde, C1 grubuna göre ileri düzeyde önemli düşüş bulunmuştur ($p < 0,001$).

C10 grubu sinaptozom CAT aktivitesinde ise C1 ve C5 grubuna göre ileri düzeyde önemli düşüş bulunmuştur ($p < 0,001$) (Şekil 4.3).

Tablo 4.3 Sinaptozom CAT Aktiviteleri

Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	P
KONTROL	8	61,07	±7,62	<0,001
C1	8	51,21	±5,11	
C5	8	33,41	±3,88	
C10	8	22,08	±4,71	



Şekil 4.3 Sinaptozom Katalaz Aktiviteleri

4.2.2 Cıva + Borik Asit Konsantrasyonuna Bağlı CAT Aktiviteleri

Sinaptozom CAT aktivitelerinin istatistiksel değerleri tablo 4.4 ve şekil 4.4 de verilmiştir. Verilerin karşılaştırmaları One Way ANOVA testi ile yapılmıştır.

C10+B10 grubu sinaptozom CAT aktivitesinde, kontrol grubuna göre ileri düzeyde önemli artış görülmüştür($p<0,001$).

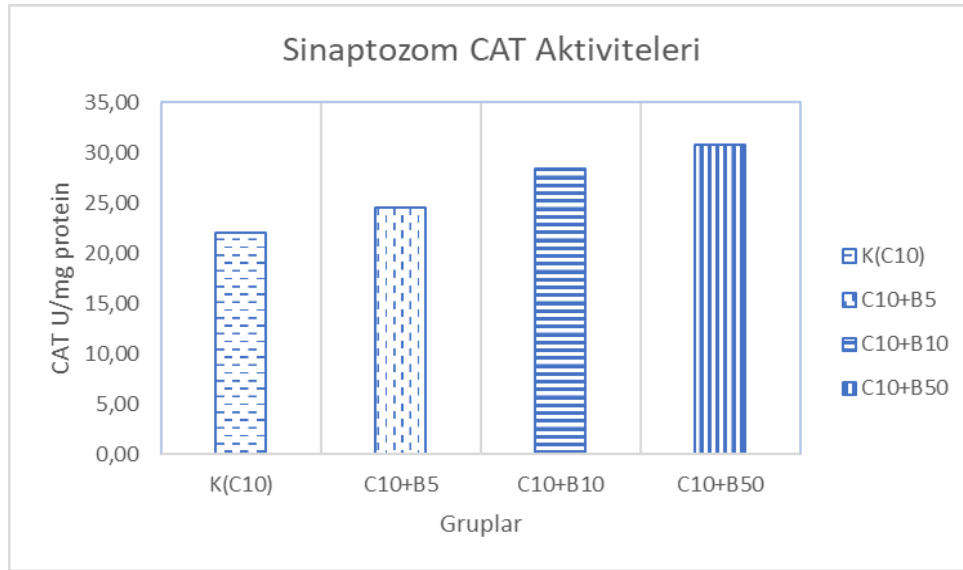
C10+B50 grubu sinaptozom CAT aktivitesinde, kontrol grubuna göre ileri düzeyde önemli artış bulunmuştur ($p<0,001$).

C10+B50 grubu sinaptozom CAT aktivitesinde ise C10+B5 grubuna göre ileri düzeyde önemli artış bulunmuştur ($p<0,001$).

C10+B5 grubunda sinaptozom CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 4.4).

Tablo 4.4 Sinaptozom CAT Aktiviteleri

Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	P
KONTROL(C10)	8	22,08	$\pm 4,71$	<0,001
C10+B5	8	24,59	$\pm 4,10$	
C10+B10	8	28,40	$\pm 2,73$	
C10+B50	8	30,81	$\pm 2,32$	



Şekil 4.4 Sinaptozom CAT Aktiviteleri

4.3 Sinaptozom SOD Aktivitesi Bulguları

4.3.1 Cıva Konsantrasyonuna Bağlı SOD Aktiviteleri

Sinaptozom SOD aktivitelerinin istatistiksel değerleri tablo 4.5 ve şekil 4.5 de verilmiştir. Verilerin karşılaştırmaları One Way ANOVA testi ile yapılmıştır.

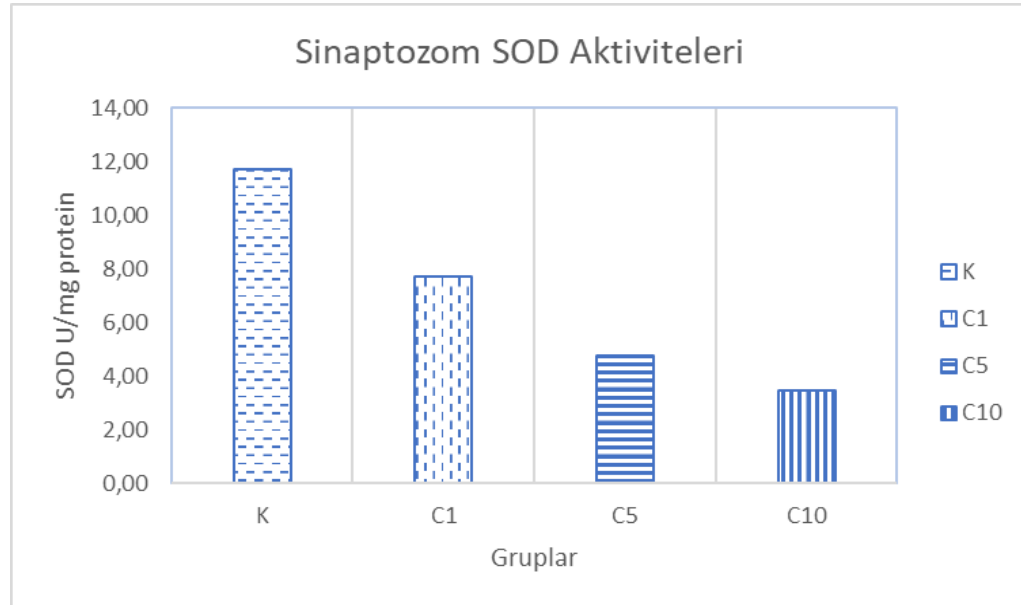
C1, C5 ve C10 grupları sinaptozom SOD aktivitelerinde, kontrol grubuna göre ileri düzeyde önemli düşüş görülmüştür ($p < 0,001$).

C5 ve C10 grupları sinaptozom SOD aktivitelerinde, C1 grubuna göre ileri düzeyde önemli düşüş bulunmuştur ($p < 0,001$).

C10 grubu sinaptozom SOD aktivitesinde ise C1 grubuna göre ileri düzeyde önemli düşüş bulunmuştur ($p < 0,001$), C5 grubuna göre ise anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 4.5).

Tablo 4.5 Sinaptozom SOD Aktiviteleri

Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	P
KONTROL	8	11,71	$\pm 1,62$	<0,001
C1	8	7,70	$\pm 1,23$	
C5	8	4,78	$\pm 0,92$	
C10	8	3,47	$\pm 0,52$	



Şekil 4.5 Sinaptozom SOD Aktiviteleri

4.3.2 Cıva + Borik Asit Konsantrasyonuna Bağlı SOD Aktiviteleri

Sinaptozom SOD aktivitelerinin istatistiksel değerleri tablo 4.6 ve şekil 4.6 da verilmiştir. Verilerin karşılaştırmaları One Way ANOVA testi ile yapılmıştır.

C10+B10 grubu sinaptozom SOD aktivitesinde, kontrol grubuna göre önemli düzeyde anlamlı fark görülmüştür($p<0,05$).

C10+B10 grubu sinaptozom SOD aktivitesinde, C10+B5 grubuna göre önemli düzeyde anlamlı fark görülmüştür($p<0,05$).

C10+B10 grubu sinaptozom SOD aktivitesinde, C10+B50 grubuna göre önemli düzeyde anlamlı fark görülmüştür($p<0,05$).

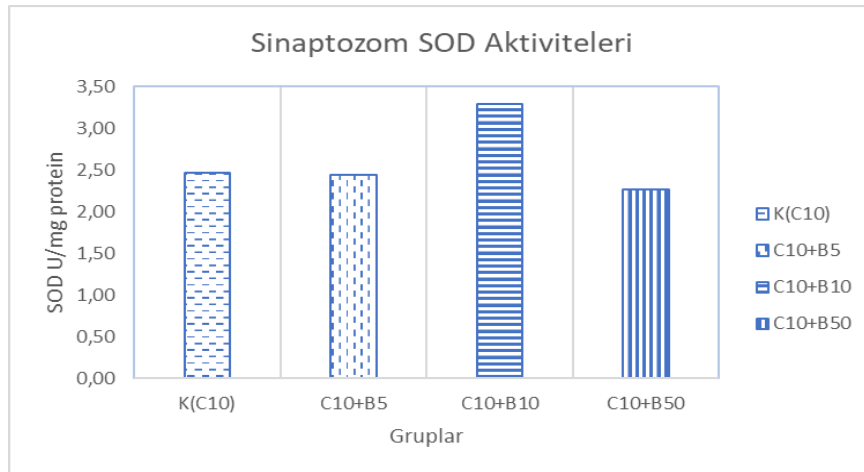
C10+B5 ve C10+B50 gruplarında sinaptozom SOD aktivitelerinde, kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmamıştır($p>0,05$).

C10+B10 grubunda sinaptozom SOD aktivitesinde, C10+B5 grubuna göre anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.6).

Tablo 4.6 Sinaptozom SOD Aktiviteleri

Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	P
KONTROL(C10)	8	2,47	$\pm 0,52$	0,007*
C10+B5	8	2,44	$\pm 0,52$	
C10+B10	8	3,29	$\pm 0,52$	
C10+B50	8	2,27	$\pm 0,73$	

* $p<0,05$



Şekil 4.6 Sinaptozom SOD Aktiviteleri

4.4 Sinaptozom GPx Aktivitesi Bulguları

4.4.1 Cıva Konsantrasyonuna Bağlı GPx Aktiviteleri

Sinaptozom GPx aktivitelerinin istatistiksel değerleri tablo 4.7 ve şekil 4.7 de verilmiştir. Verilerin karşılaştırmaları One Way ANOVA testi ile yapılmıştır.

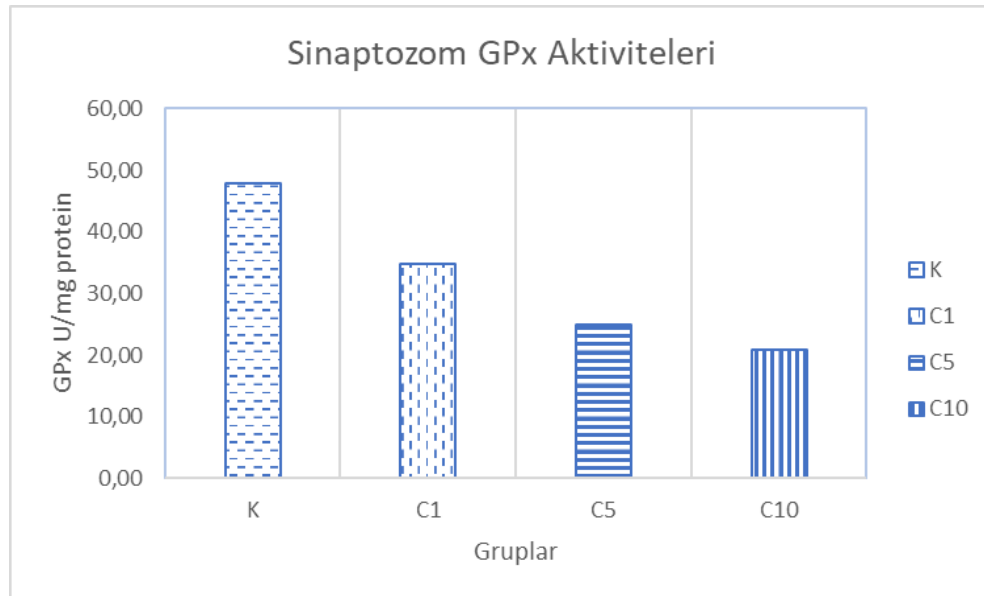
C1, C5 ve C10 grupları sinaptozom GPx aktivitelerinde, kontrol grubuna göre ileri düzeyde önemli düşüş görülmüştür ($p < 0,001$).

C5 ve C10 grupları sinaptozom GPx aktivitelerinde, C1 grubuna göre ileri düzeyde önemli düşüş bulunmuştur ($p < 0,001$).

C10 grubu sinaptozom GPx aktivitesinde ise C1 ve C5 grubuna göre istatistiksel olarak ileri düzeyde önemli düşüş bulunmuştur ($p < 0,001$) (Şekil 4.7).

Tablo 4.7 Sinaptozom GPx Aktiviteleri

Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	P
KONTROL	8	47,77	$\pm 4,74$	<0,001
C1	8	34,80	$\pm 4,68$	
C5	8	24,89	$\pm 2,77$	
C10	8	20,86	$\pm 2,50$	



Şekil 4.7 Sinaptozom GPx Aktiviteleri

4.4.2 Cıva + Borik Asit Konsantrasyonuna Bağlı GPx Aktiviteleri

Sinaptozom GPx aktivitelerinin istatistiksel değerleri tablo 4.8 ve şekil 4.8 de verilmiştir. Verilerin karşılaştırmaları One Way ANOVA testi ile yapılmıştır.

C10+B10 grubu sinaptozom GPx aktivitesinde, kontrol grubuna göre anlamlı fark görülmüştür($p<0,001$).

C10+B10 grubu sinaptozom GPx aktivitesinde, C10+B5 grubuna göre ileri düzeyde anlamlı fark görülmüştür($p<0,001$).

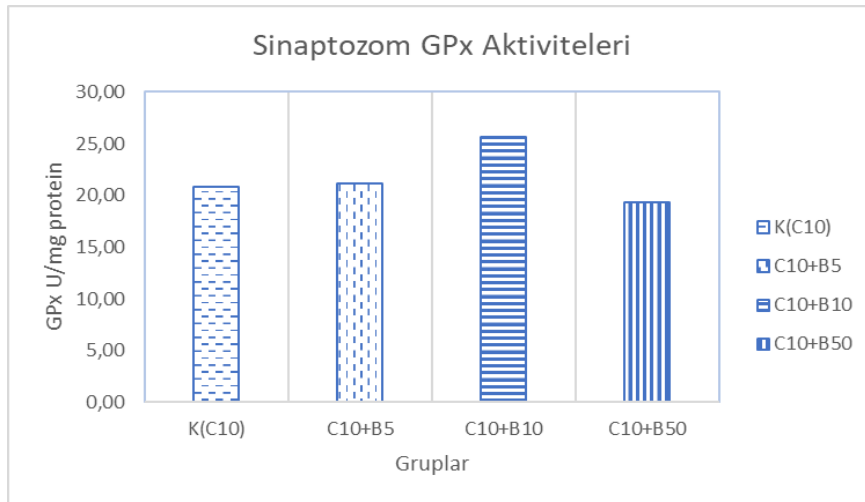
C10+B10 grubu sinaptozom GPx aktivitesinde, C10+B50 grubuna göre ileri düzeyde önemli fark görülmüştür($p<0,001$).

C10+B5 ve C10+B50 gruplarında sinaptozom GPx aktivitelerinde, kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmamıştır($p>0,05$).

C10+B50 grubunda sinaptozom GPx aktivitesinde, C10+B5 grubuna göre anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.8).

Tablo 4.8 Sinaptozom GPx Aktiviteleri

Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	P
KONTROL(C10)	8	20,86	$\pm 2,50$	<0,001
C10+B5	8	21,19	$\pm 1,73$	
C10+B10	8	25,68	$\pm 1,22$	
C10+B50	8	19,35	$\pm 1,03$	



Şekil 4.8 Sinaptozom GPx Aktiviteleri

5- TARTIŞMA

Son zamanlarda, "ağır metal" terimi, "nispeten yüksek yoğunluğa sahip ve düşük konsantrasyonlarda bile toksik veya zehirleyici olan metal" olarak tanımlanmaktadır. Gerçekte ağır metal tanımı fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm³ ten daha yüksek olan metaller için kullanılır. Bu gruba kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, cıva ve çinko olmak üzere 60 tan fazla metal dahildir (Saunders JE, Jastrzemski BG, Buckey JC, Enriquez D, MacKenzie TA, Karagas MR., 2013 & Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ., 2012). Bakır, çinko, demir, kobalt gibi bazı ağır metaller, canlıların fizyolojik proseslerinde (redoks reaksiyonlarında kofaktör olarak, ligand etkileşimleri, yük perdelemesi ve biyokataliz sırasında su iyonizasyonu gibi) ihtiyaç duyulan esansiyel mikronutrientlerdir (Vatamaniuk vd., 1999). Ancak esansiyel olan bu metallerin hücre içerisindeki konsantrasyonunun artışı büyüme ve gelişmeyi önleyici etkilere yol açmaktadır. Bunun yanında kadmiyum, kurşun, cıva gibi esansiyel olmayan diğer ağır metallerin ise reaktiviteleri yüksek olduğundan düşük konsantrasyonlarda bile hücreler için toksiktir (Cobbett ve Goldsbrough, 2002). Organizmalar da ağır metallerden kaynaklanan bu zararların üstesinden gelebilmek için ağır metallerin ligandlarla tutulması veya şelatasyonu gibi farklı detoksifikasyon mekanizmaları geliştirmişlerdir (Chekmeneva vd., 2008).

Nasıl olursa olsun ağır metal toksisitesi nadir görülen bir tanıdır. Tanımlanmayan ya da uygun şekilde tedavi edilmeyen, ağır metal maruziyeti ciddi morbidite ve mortalite ile sonuçlanabilir. Ağır metallerin toksisitesi bazı faktörlere bağlıdır. Spesifik klinik belirtiler, söz konusu metale, absorbe edilen toplam doza ve maruz kalmanın akut mu yoksa kronik mi olduğuna göre değişir. Kişinin yaşı da toksisiteyi etkileyebilir. Örneğin, küçük çocuklar kurşun maruziyetinin etkilerine karşı daha hassastır. Çünkü çocuklar, yetişkinlere göre kurşunu (gıdalar vs. yolu ile) çok daha yüksek bir oranda absorblarlar. Maruz kalma yolu da önemlidir. Dünya'da endişe verici metaller arasında ilk 4 sırayı sırasıyla; arsenik, kurşun, cıva ve kadmiyum oluşturmaktadır. Elemental cıva, gastrointestinal sistemde göreceli olarak etkisizdir ve aynı zamanda deriden zayıf bir şekilde emilir, ancak inhale edilen veya enjekte edilen elemental cıva çok kötü sonuçlar doğurabilir. İnorganik cıva, elemental cıvadan farklı olarak genelde yutulduğunda zehirlidir. Organik cıva ise uzun süre solunduğunda, yenildiğinde hastalığa neden olabilir. Genellikle hemen değil yıllar sonra problemlere neden olur. Bu, yıllar boyunca her gün az miktarda organik cıvaya maruz kalmayla birlikte, sonraki senelerde etkisini göstereceği anlamına gelir (Sue, 2015).

Çoğunlukla, ağır metaller, proteinlerdeki oksijen, nitrojen ve sülfhidril gruplarına bağlanır ve bu da enzimatik aktivite değişikliklerine yol açar. Metal

türlerinin sülfhidril grupları için bu afinitesi de ağır metal homeostazisinde koruyucu bir rol oynar. Bir dizi metalin yüksek seviyelerine karşılık olarak metal bağlayıcı proteinlerin artan sentezi, vücudun zehirlenmeye karşı birincil savunmasıdır. Örneğin, metaloproteinler birçok metal tarafından indüklenir. Bu moleküller, diğer elementler arasında kadmiyum, bakır, gümüş ve çinko ile yüksek afiniteli bağlanmaya izin veren tiol ligandları açısından zengindir. Ağır metallerin taşınmasına ve ligandların oluşumu yoluyla atılımına katılan diğer proteinler ferritin, transferrin, albümin ve hemoglobindir. Neredeyse tüm organ sistemleri ağır metal toksisitesinde yer alır; Bununla birlikte, en yaygın olarak kullanılan organ sistemleri merkezi sinir sistemi (MSS), çevresel sinir sistemi, gastrointestinal sistem, hematopoetik, renal ve kardiyovasküler (CV) sistemleri içerir. Etkilenen organ sistemleri ve toksisitenin ciddiyeti, söz konusu ağır metal ile, maruziyetin kronikliği ve kapsamı ile bireyin yaşına göre değişir (Adefris Adal, MD, MS, 2018).

Oksidatif stres, hücrel metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin artışı (ROS) ile onları detoksifiye eden, antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanır. Cıva bileşiklerinin insanlarda ve deney hayvanlarında nörolojik değişiklikler yarattığı görülmüştür. Mekanizmaların reaktif oksijen türlerindeki (ROS) toksik artışla ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Oksidatif stres, amiyotrofik lateral skleroz, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların etiyolojisi ile ilişkilidir ancak bu mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir (M. Roulet, M. Lucotte, R. Canuel ve ark., 1998 & C. C. Bridges, R. K. Zalups, 2010).

Süperoksit dismutaz reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını oluşturur. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyen enzimatik bir antioksidandır. Hidrojen peroksit daha sonra, CAT ya da GPx ile ortamdan uzaklaştırılır (Young ve ark. 2001).

Yapılan pek çok çalışmada bazı ağır metallerin SOD aktivitesinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Aydemir ve Özcan, 2003; Su ve ark., 2008; Jihen ve ark., 2009). Yapılan bir çalışmada kadmiyum uygulamasının ratlarda karaciğer ve beyinde SOD aktivitesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Nemmiche ve ark., 2007). Rao ve Chhunchha, cıva klorid ile muamele ettikleri ratların tiroid dokusunda SOD aktivitesinin önemli derecede azaldığını belirtmişlerdir (Rao ve Chhunchha, 2010). Cıva klorürün sıçan beyininin bazı bölgelerinde serbest radikal ürettiği görülmüş, sıçanlara oral verilen cıva klorürün beyinde serebral yarım küre, serebellum ve medulla oblongata da SOD aktivitesini azalttığını, organ ve vücut ağırlığında azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir (Rao ve ark., 2010). Rao ve Gangadharan

çalışmalarında erkek sıçanlara üç değişik konsantrasyon miktarlarında cıva klorid uygulanmasının, doza bağımlı olarak sperm hareketliliğini azalttığı, sperm canlılığında önemli bir azalma olmadığını gözlemişlerdir. Cıva klorid uygulanan sıçanlarda süperoksit dismutaz (SOD), aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlemişlerdir (Rao ve Gangadharan, 2008).

Cıvaya maruz kalmanın, cıvanın Fenton tepkimesindeki potansiyel rolünden dolayı serbest radikalleri arttırdığı ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesinde azalma meydana getirdiği gösterilmektedir (S. Ehara, M. Ueda, T. Naruko. ve ark., 2001 & M. Mackness and B. Mackness, 2004).

Alam ve ark. yaptıkları çalışma da ratları 4mg/kg HgCl₂ ile muamele ederek böbrekte ödem ve nekroz gibi değişiklikler görmüşlerdir. Ayrıca renal dokularda CAT, GPx, SOD ve GR gibi antioksidan enzimlerinin aktivitesinde ve redükte glutatyonunda azalma, lipid peroksidasyonunda ise önemli yükselme meydana geldiğini gözlemişlerdir (Alam ve ark., 2007).

Bu tez çalışmasında yapılan incelemeler sonucunda cıva klorid ile muamele edilen gruplar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında SOD aktivitesinde kontrol grubuna göre ileri düzeyde anlamlı bir azalmanın meydana geldiği gözlenmiştir. Çalışmamızda SOD aktivitelerinde, kontrol grubuna oranla, tüm cıva gruplarında ileri düzeyde anlamlı düşüş görülmüştür. En yüksek konsantrasyon grubu olan C10 grubunda, diğer gruplar olan C1 ve C5 gruplarına göre enzim aktivitesinde ileri düzeyde anlamlı düşüş görülmüştür. Artan konsantrasyonlarda bu düşüşün daha fazla görülmesi sunulan çalışmada cıvanın etkisinde ki dokuda SOD enzim aktivitesinde ortam derişimine bağılı olarak önemli değişikliklerin olduğu belirlenmiş olup, enzim aktivitesindeki bu değişikliğin, oksidatif strese yol açan reaktif oksijen türlerinin üretiminde rol oynayan cıvanın toksik etkileri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Katalaz, dört protein alt birimden meydana gelir. Her bir alt birim, bir hem grubu ve bir NADPH molekülü içerir. Hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşümünü katalizlemektedir. Çoğu organizmada vardır ve büyük ölçüde peroksizomlar gibi hücre içi organellerde bulunmaktadır (Kirkman HN, Galiano S, Gaetani GF, 1987 & Limon-Pacheco J, Gonsebatt ME, 2009).

SOD süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu, CAT ise hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüşümünü katalizleyerek doğrudan veya dolaylı olarak radikal oluşumunu ve/veya bu radikallerden oksidatif strese gidecek reaksiyonları engelleyerek hücrel savunmada beraber rol almaktadırlar (Bainy vd. 1996). Rao ve Chhunchha, cıva klorid ile muamele ettikleri ratların tiroid dokusunda CAT aktivitesinin önemli derecede azaldığını belirtmişlerdir

(Rao ve Chhunchha, 2010). Fırat ve Kargin (2010) da yaptıkları çalışma da CAT enzim aktivitesinin metallerin toksik etkilerinin sonucunda arttığını ve artan enzim aktivitesinin yüksek H₂O₂ üretimiyle ilişkili olduğunu ve metallerin indüklediği oksidatif strese karşı bu enzimin biyolojik önemini gösterdiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar CAT aktivitesindeki artışın H₂O₂'ye bir yanıt olarak oluştuğunu belirtirken; yüksek konsantrasyonlarda enzim aktivitesindeki azalışların CAT aktivitesini inhibe ettiği rapor edilen (Ballesteros vd. 2009) süperoksit radikallerinin artan düzeyleriyle ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir. SOD ve CAT aktivitesinde eş etkiler gözlenmektedir (Dimitrova vd. 1994).

Çalışmamızda da böyle bir ilişki gözlenmiştir. CAT aktivitelerinde, kontrol grubuna oranla, tüm cıva gruplarında ileri düzeyde anlamlı düşüş görülmüştür. En yüksek konsantrasyon grubu olan C10 grubunda, diğer gruplar olan C1 ve C5 gruplarına göre enzim aktivitesinde ileri düzeyde anlamlı düşüş görülmüştür. Çalışmamızda hücre sel yapıları H₂O₂'nin zararlı etkilerine karşı korumak için C1 grubunda CAT aktivitesinin artması diğer gruplar olan C5 ve C10 gruplarında düşüş göstermesi beklenmiştir. Ancak muhtemelen en düşük konsantrasyon olan C1 grubunun bile konsantrasyonu yüksek geldiği düşünülmektedir. Sonuç olarak enzim aktivitesini inhibe ettiği belirlenen süperoksit anyon radikale bağlı olarak CAT aktivitesinin azaldığı düşünülmektedir.

Glutasyon peroksidaz, hücrelerin sitoplazmasında bulunup H₂O₂'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Böylece H₂O₂'den OH⁻ 'nin oluşmasını engeller. Glutasyon peroksidaz, dört protein alt biriminden oluşur. Her bir alt birim bir selenyum atomu içerir. Glutasyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutasyonu (GSH) kullanarak H₂O₂'yi ve organik hidroperoksitleri (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) metabolize eden bir enzimdir (Sen S, Chakraborty R., 2011). Jihen ve ark., ratlara kadmiyum uygulamışlar ve karaciğer dokusunda GPx aktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığını gözlemişlerdir (Jihen ve ark., 2009). Aleo ve ark., cıva klorid uyguladıkları ratların böbrek dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GPx aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir (Aleo ve ark., 2002).

Yaptığımız tez çalışmasında GPx aktivitesinin de literatüre paralel olarak CAT ve SOD aktiviteleriyle korale sonuç gösterdiği gözlenmiştir. Tüm cıva gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlenmekle beraber, en çok düşüş C10 grubunda gözlenmiştir.

Lipid peroksidasyonu, radikallerin lipitlerdeki doymamış yağ asitlerinin C=C çift bağlarına saldırması sonucu oluşmaktadır. Glikolipidler, fosfolipidler ve kolesterol potansiyel peroksidasyon modifikasyonlarının ve oluşacak

zararların en iyi bilinen hedefleridir (Ayala, A., Muñoz, M. F., ve Argüelles, S., 2014). Lipid peroksidasyonu veya doymamış yağ asitlerinin oksijen ile etkileşimi sonucu çeşitli oksidasyon ürünleri oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonunun birincil ürünü lipit hidroperoksitlerdir (LOOH). İkincil ürünler ise lipid peroksidasyonu esnasında oluşan malondialdehit (MDA), propanal, heksanal ve 4-hidroksinonenal gibi çeşitli aldehit ürünleridir (Ayala, A., Muñoz, M. F., ve Argüelles, S., 2014). Oluşan MDA bilimde oksidatif stres göstergesi olarak ölçülen parametrelerden biridir. Beyindeki oksidatif hasarın kantitatif olarak gösterilebilmesi için lipid peroksidasyonunun ürünü olan malondialdehit(MDA) ölçümü yapılmıştır. MDA lipit peroksidasyon düzeyinin belirlenmesinde oldukça yaygın kullanılan bir parametredir. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan MDA, hücre membranlarındaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar. Bu durum iyon geçirgenliğinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Mercan, 2004). Su ve ark., cıva klorid ile muamele ettikleri ratların böbrek dokusunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA seviyesinin arttığını belirtmişlerdir (Su ve ark., 2008). Yapılan başka bir çalışmada yine cıva klorid ile muamele edilen ratların karaciğer, akciğer, böbrek ve beyin dokularında kontrol grubuna göre MDA seviyesinde anlamlı bir artışın olduğu belirtilmiştir (Şener ve ark., 2007).

Yaptığımız çalışmamızda literatüre uygun olarak C1, C5 ve C10 gruplarında MDA düzeylerinin, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür. En yüksek MDA düzeyi C10 grubunda görülmekle birlikte, MDA düzeyindeki bu artışın doğrudan cıvanın etkisinden kaynaklandığı ve beyin dokusunda lipid peroksidasyonuna yol açtığına göstermektedir. Talas vd. (2008) yaptıkları çalışmalarında ağır metallerin etkisinde balık dokularında SOD ve CAT aktivitesinin azaldığını ve metallerin antioksidan enzim aktivitelerini baskılanmasının bir sonucu olarak da MDA düzeylerinin arttığını belirtmişlerdir.

Bor doğada serbest halde değil bileşikler halinde bulunmaktadır. Nükleer sanayi, ilaç sanayi, otomobil sanayi gibi 400'den fazla kullanım alanına sahiptir. İlaç sanayi de mikrop öldürücü özelliğinden dolayı dezenfektan, diş macunu, gargara, göz yıkama solüsyonları gibi antiseptiklerin yapımında, kozmetik sanayi de kolonya, parfüm, şampuan imalatında, tıp alanında borla nötron yakalama terapisi (Boron Neutron Capture Therapy: BNCT) olarak bilinen kanser tedavisinde, alerjik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. (Yılmaz, A., 2002 & Çalık, A., 2002).

Bor insanda beyin fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol alır. Hafızanın güçlendirilmesi ve psikomotor becerilerin artışı sağlar. Günlük 3.25 mg bor alımının motor aktivitelerde, tepki süresinde, kısa ve uzun süreli hafıza ve dikkat yeteneklerinde gelişme sağladığı belirlenmiştir. Daha düşük dozda

alımda ise bireylerin daha zayıf psikomotor ve zihinsel performans sergiledikleri gözlenmiştir. Bu çalışmalar borun, beyin fonksiyonları ve zihinsel performans için temel elementlerden biri olduğunu göstermektedir (Penland, 1994).

2007 yılında Türkez ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; sigara içmeyen 24-30 yaş aralığında, daha önce herhangi bir toksik maddeye maruz kalmadığı bilinen 10 sağlıklı erkek donörden alınan heparinize kanlar kullanılmıştır. Hücreler bor bileşenlerine (borik asit, boraks, kolemanit ve üleksit) 0.5-500 mg/L aralığında kan konsantrasyonu oluşturacak şekilde maruz bırakılmıştır. Belirli konsantrasyonlarda (0.5-20 mg/L) eritrositlerdeki antioksidan enzim aktivitelerinde (SOD, CAT, GPx) belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda (500 mg/L) ise bu enzimlerin aktivitelerinin düştüğü görülmüştür.

Yapılan önceki çalışmalarda borun vücuttaki glutatyon ve türevlerinin depolarını ve antioksidan ajanları artırarak oksidatif hasarı sınırladığını göstermiştir (Meacham, S. L. and Hunt, C. D., 1998). Sıçanlarda borat kompleksinin GSH miktarını artırdığı bildirilmiştir. Bunu GSH'ın metabolize edilmesini inhibe ederek gerçekleştirdiği gösterilmiştir (Bellis SL, Kass-Simon G, Rhoads DE, 1992). Borun özellikle; antioksidan aktivitesi, D vitamini (Hunt, 1996), kalsiyum, potasyum ve kemik metabolizması (Meacham ve ark., 1994), aldehit dehidrogenaz, ksantin oksidaz, sitokrom-b5 redüktaz (Hunt, 1996; Devirian ve Volpe, 2003), insülin, östrojen, testosteron, T3, T4 (Armstrong ve ark., 2001), trigliserit, glukoz (Eren ve ark., 2006), beyin fonksiyonları (Penland, 1994), immün sistem (Hunt ve Idso, 1999), üreme sistemi ve prostat kanseri (Gallardo-Williams ve ark., 2003), vajinal kandidiyazis (Iavazzo ve ark., 2011) üzerine etkileri bugüne kadar yapılmış olan pek çok araştırmada gösterilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, borik asit takviyesinin (100mg/kg) antioksidan savunma düzeylerini artırırken lipit peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (Sogut ve ark.,2015).

Bor, *in vivo* olarak antioksidan savunmayı geliştirme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (Devirian ve Volpe, 2003 & Pawa ve Ali, 2006). Tang ve ark yaptıkları çalışmada, borik asidin (160 mg / L en fazla) uygun dozlarının, devekuşu yavrularında, beyinlerindeki apoptoz mekanizmasını önlediği ve beyin gelişimini de iyi yönde etkilediğini göstermiştir (Tang ve ark., 2016).

Yapılan çalışmalarda bor bileşiklerinin (borik asit veya boraks gibi), insan lenfositlerinde, hücrelerin antioksidan kapasitesini arttırarak, genotoksik ajanlar olan vanadyum tetraoksit, titanyum dioksit, aflatoksin B1 ve

paklitaxselin neden olduğu hasara karşı bir miktar koruma sağladığı gsterilmiştir (Geyikođlu ve Törkez, 2007 & Törkez ve Geyikođlu, 2010). Önceki yapılan çalışmalarda borun suprafizyolojik konsantrasyonlarda (80–322 µM borik aside karşılık gelen 5-20 ppm) in vitro yapılan çalışmada kadmiyum ve kurşunun neden olduğu genotoksisiteye karşı kısmi koruma gsterdiği bulunmuştur (Törkez ve ark., 2012). İlginç bir şekilde, aynı yazarların diğer çalışmalarında, en dűřük bor konsantrasyonları (2.5 ve 10 µM), metal kaynaklı genotoksisiteyi suprafizyolojik seviyelere göre daha verimli bir şekilde azaltmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda ratlarda gentamisine yaratılan oksidatif hasara karşı, borun antioksidan enzim aktivitelerini iyileştirdiği gözlenmiştir (Küçükkurt ve ark., 2017).

Mevcut veriler, farelerde ve sıçanlarda borik asit için oral letal doz (LD50) değerlerinin, vücut ağırlığının kilogramı başına yaklaşık 400-700 mg boron aralığında olduğunu gstermiştir. Kemirgenlerde kısa süreli (bir aydan az) kronik borik asit (100 mg / kg borik asit) takviyesinde toksik etki görölmemiştir (Weir ve Fisher, 1972). Bir Lewis asidi olarak, borik asit, çeşitli biyolojik bileşikleri olan hidroksil grupları aracılığıyla kompleksler oluşturabilir.

Çalışmamızın ikinci kısmı olan, cıva klorürle beraber muamele edilen borik asidin, literatüre paralel sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Cıva klorür gruplarında CAT aktivitesinde meydana gelen azalmayı, artan miktarlardaki bor uygulamasının, beyin dokusundaki bu antioksidan enzimin aktivitesini kontrol grubunda elde edilen verilere doğru yaklaştırdığı gözlenmiştir. SOD ve GPx enzimlerinde ise en yüksek bor konsantrasyonu olan B50 grubundaki aktivitelerinde, kontrol grubuna göre dűřüş gerçekleştiği gözlenmiştir.

CAT aktivitesinin B10 ve B50 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gsterdiği bulunmuş, B5 grubunda ise kontrol grubuna göre bir artış bulunduğu fakat bu artışın anlamlı olmadığı bulunmuştur. En yüksek aktivite artışı ise B50 grubunda görölmüştür. SOD aktivitesinde B5 grubunda beklenen iyileşme görölmemiştir. B50 grubunda ise iyileşmeden ziyade negatif etki görölmüştür. Bunun nedeni B50 konsantrasyonunu SOD enzimi için toksik etki gsterdiği ve inhibe edici bir konsantrasyon olduğu söylenebilir. SOD enzimi için en iyi iyileşme düzeyi B10 grubunda gözlenmiştir.

GPx enzim aktivitesinde B5 grubunda ise kontrol grubuna göre bir artış görölmüş lakin anlamlı bir artış gözlenmemiştir. B50 grubunda ise GPx aktivitesinin kontrol grubuna göre dűřüş gsterdiği gözlenmiştir. GPx enzimi için en iyi iyileşme düzeyi, SOD enzimi gibi B10 grubunda gözlenmiştir.

Genel olarak bakıldığında bor uygulamasının, cıva klorürün neden olduğu doku hasarını azalttığı bununda borun antioksidan etkisinden kaynaklı olduğu söylenebilir (Ince ve Arslan-Acaroz, 2014).

İnce ve arkadaşları (2010) ise rat yemine 100 mg/kg borik asit ekleyip bu maddenin lipid peroksidasyonu, antioksidan aktivite ve DNA hasarı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre 100 mg/kg dozda yeme eklenen borik asit, lipid peroksidasyon seviyesini azaltıp (MDA düzeyi anlamlı düzeyde düşmüştür) antioksidan savunma sistemini güçlendirmektedir.

Borun etkisini lipid peroksidasyonu açısından incelediğimizde ise yine literatüre uygun bir sonuç elde edilmiştir. B5 ve B10 grubunun MDA düzeyleri kontrol grubuna yakın bulunmuş, anlamlı bir fark gözlenmemiştir. B50 grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Bu sonuçlar metotlar farklı olmasına karşın İnce ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumlu bir sonuç gözlenmiştir. İnce ve arkadaşlarının çalışmasında borik asidi standart pelet yeme katmışlardır. Biz ise *in vitro* şartlarda sinaptozomal fraksiyonlara farklı konsantrasyonlarda borik asit ekleyerek bu sonuca ulaştık.

ROS enflamasyon sürecine katkıda bulunur. GSH, ROS'a bağlı oksidatif strese karşı hücrel redoks dengesinin korunması için önemli bir ajandır. Artan ROS üretimine bağlı hücrel hasar ile baş etmek için çeşitli savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Hücre içi antioksidanlar SOD, CAT ve GPx bu savunma sisteminin bir parçasıdır.

Yaptığımız çalışmada cıva klorürün, literatüre paralel olarak, sinaptozom üzerinde oksidatif hasar yarattığı, konsantrasyonun arttıkça görülen oksidatif hasarın arttığı artan MDA düzeyleriyle görülmüştür. Aynı zamanda proteinlerle etkileşiminden dolayı enzimleri inhibe ederek antioksidan enzimler olan GPx, CAT, SOD aktivitelerini de düşürmüştür.

Cıva klorür + borik asit tedavisinde çalışmamızda, lipid peroksidasyonunu ve membran hasarını azaltarak MDA düzeyinde düşüş gözlemlenmiş ayrıca antioksidan enzimlerde, ilk baştaki kadar artmasa da, aktivitelerinde iyileşme görülmüştür. Borik asit, antioksidan mekanizmalarının henüz net bir şekilde tanımlanmamasına rağmen hücrel membran fonksiyonlarında rol oynamaktadır (Nielsen, 2008).

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda farklı konsantrasyonlardaki cıva klorürün nörotoksik etkisinin incelenmesi, ve bununla birlikte farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulamasıyla da, borik asidin cıva toksisitesi üzerindeki nöroprotektif etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultu da sağlıklı erkek sıçanlardan aldığımız ön beyin dokuları kullanılarak sinaptozom fraksiyonu elde edilmiş ve toksik etkilerini incelemek amacıyla CAT, GPx, SOD ve MDA ölçümleri yapılmıştır.

Elde edilen biyokimyasal sonuçlara göre cıva klorürün tüm konsantrasyonlarının toksik etki gösterdiği görülmüştür. Cıva klorüre maruziyetin oksidatif stresi yarattığı ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA miktarında artma gözlemlenmiştir. Antioksidan savunma sistemi içerisinde yer alan CAT, GPx ve SOD antioksidan enzimlerinin aktivitelerinde azalma gözlemlenmiştir. Aynı zamanda cıva klorürün artan konsantrasyonlarında bu oksidatif hasarın daha da fazla gözlemlendiği görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda C1 grubuna nazaran, C5 ve C10 gruplarındaki MDA miktarının, kontrol grubuna ileri düzeyde anlamlı bir fark yarattığı görülmüştür ($p < 0,001$). CAT aktivitesi ölçümündede, tüm gruplarda ileri düzeyde anlamlı bir fark ($p < 0,001$) görülmesine karşın en toksik etki C10 grubunda görülmüştür. Tüm gruplardaki SOD ve GPx aktivitelerinde de ileri düzeyde anlamlı bir fark görülmesine karşın yine en toksik etki C10 grubunda gözlemlenmiştir ($p < 0,001$). Bu sonuçların elde edilmesiyle, çalışmanın 2.aşaması en toksik konsantrasyon olan C10 grubu belirlenmiştir.

C10 grubu ile oluşturulan C10+B5, C10+B10, C10+B50 gruplarında da aynı ölçümler (MDA, CAT, GPx, SOD) yapılarak borik asidin cıva klorür üzerindeki nöroprotektif etkileri incelenmiştir. MDA düzeylerinde C10+B5 ve C10+B10 gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark bulunmazken, C10+B50 grubunda neredeyse kontrol grubuna yaklaştıracak şekilde anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). CAT aktivitelerinde ise C10+B5 grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Lakin C10+B10 ve C10+B50 gruplarında ileri düzeyde anlamlı bir fark görülmüştür ($p < 0,001$). İleri düzeyde anlamlı bir fark bulunmasına karşın, sağlıklı kontrol grubundaki değerlere nazaran düşük kalmıştır. SOD aktivitelerinde C10+B5 ve C10+B50 gruplarında, kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$), fakat C10+B10 grubunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p < 0,05$). SOD aktivitesi de sağlıklı kontrol grubunun ilk değerlerine ulaşamamıştır. GPx aktivitesinde C10+B5 ve C10+B50 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmamasına karşın C10+B10 grubunda anlamlı bir fark gözlemlenmiştir. C10+B5 grubunda

kontrol grubuna göre yükselen bir değer bulunmuştur fakat bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu fark sağlıklı kontrol grubunun değerlerine uzak kalmıştır. SOD ve GPx enzimlerindeki bu durum, düşük borik asit konsantrasyonu nöroprotektif etki göstermezken, borik asidin yüksek konsantrasyonu da nörotoksik etki edebileceğini göstermektedir.

Yapılan çalışmada hem cıva klorürün hem de borik asit konsantrasyonlarının toksik etkiler üzerinde etkin olduğu görülmüştür. Deney grubumuzda bulunmayan, sadece borik asit grubunun ileriki deneylerde gruplara dahil edilip dikkate alınarak, borik asidinde neden olduğu toksik etkiyi görerek, sonuçlar arasında karşılaştırma yapmak daha faydalı olacaktır. Yapılan çalışma in vitro koşullarda gerçekleştirilmiştir fakat in vivo koşullarda ve moleküler çalışmalarla desteklenmesinin, DNA hasar seviyelerinin tespitlerinin yapılmasının, farklı yöntemlerle karşılaştırılmasının daha güvenilir ve kesin yargılara ulaşabilmemizi sağlayacağını öngörmekteyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

A. F. Castoldi, S. Barni, I. Turin, C. Gandini, and L. Manzo (2000), Early acute necrosis, delayed apoptosis and cytoskeletal breakdown in cultured cerebellar granule neurons exposed to methylmercury, *Journal of Neuroscience Research*, vol. 59,no. 6, pp. 775–787

Adefris Adal, MD, MS Heavy Metal Toxicity Update 2018
<https://emedicine.medscape.com/article/814960-overview>

Agency for Toxic Substrate and Disease Registry (ATSDR). (1999) Toxicological profile for mercury. U.S. Department of Health and Humans Services, Public Health Services, Center for Disease Control, Atlanta, GA.

Akkuş, İ. (1995) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınevi. Konya. 1-77.

Akpoyraz, M., Durak, İ. (1995). Serbest radikallerin biyolojik etkileri. *Ankara Univ Tıp Fak Mecm*, 48: 253-262.

Alam, M.S., Kaur, G., Jabbar, Z., Javed, K., Athar, M. (2007) *Eruca sativa* seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicity, *Food and Chemical Toxicology*, 45: 910-920

Al-Attar, A.M. (2011a), "Vitamin E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice", *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18: 395-401.

Aleo, M.F., Morandini, F., Bettoni, F., Tanganelli, S., Vezzola, A., Giulina, R., Steimberg, N., Aposyoli, P., Mazzoleni, G., (2002) "Antioxidant potential and gap junctionmediated intracellular communication as early biological markers of mercuric chloride toxicity in the MDCK cell line", *Toxicology in Vitro*, 16: 457-465

Amler, S. (2012) Liquid mercury: a poisonous plaything. *Comtemp Pediatr* ;19(8): 37-56

Armstrong, T. A., Spears, J. W., Lloyd, K. E. (2001). Inflammatory response, growth, and thyroid hormone concentrations are affected by longterm boron supplementation in gilts. *J Anim Sci* 79:1549–1556.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

ATSDR, (2000) Toxicologic Profile for mercury. Agency for toxic Substances and Disease Registry, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.

Ayala, A., Muñoz, M. F., ve Argüelles, S. (2014, March). Lipid Peroxidation: Production , Metabolism , and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4- Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1-31.

Aydemir, S., Özcan, M., (2003) "Sıçanlarda yüksek bakır ve çinkonun bazı hematolojik parametreler üzerine etkileri", *Journal of Veterinary & Animal Science*, 27: 165-172

Bainy, A. C. D., Saito, E., Carvalho, P. S. M., Junqueira, V. B. C., (1996). Oxidative stress in gill , erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquatic Toxicol.*, 34: 151-162

Ballatori, N., Lieberman, NMW., Wang, W. (1998) Nacetylcysteine as an antidote in methylmercury poisoning. *Environ Health Perspect.*106:267- 271

Bakar, C., Baba, A. (2009) "Metaller ve insan sağlığı: Yirminci yüzyıldan bugüne ve geleceğe miras kalan çevre sağlığı sorunu", I.Tıbbi Jeoloji Çalıştayı, Ürgüp Bld., Kültür Merkezi, Nevşehir, 163-185

Bal, W., Kasprzak, KS. (2002). Induction of oxidative DNA damage by carcinogenic metals. *Toxicol Lett*, 127: 55-62.

Ballesteros, M.L., Wunderlin, D.A. and Bistoni, M.A., (2009). Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan, *Ecotoxicology Environmental Safety*, 72: 199-205

Basu, N., Scheuhammer, AM., Rouvinen-Watt, K., Evans, RD., Grochowina, N., Chan, LH. (2008) The effects of mercury on muscarinic cholinergic receptor subtypes (M1 and M2) in captive mink. *Neurotoxicology*. Mar. 29(2):328-34.

Baş, L., Demet, Ö. (1992) "Çevresel Toksikoloji Yönünden Bazı Ağır Metaller", *Ekoloji Dergisi*, 5: 42-46

Bellinger, DC., Trachtenberg, F., Barregard, L., et al (2006). Neuropsychological and renal effects of dental amalgam in children: a randomized clinical trial. *JAMA*. Apr 19. 295(15):1775-83.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Bellis, S. L., Kass-Simon, G. and Rhoads, D. E. (1992) Partial characterization and detergent solubilization of the putative glutathione chemoreceptor from hydra *Biochem. 31*, 9838-9843

Bigham, M., Copes, R. (2005). Thiomersal in vaccines: balancing the risk of adverse effects with the risk of vaccine-preventable disease. *Drug Saf. 28(2)*:89-101.

Bose-O'Reilly, S., McCarty, KM., Steckling, N., Lettmeier, B. (2010). Mercury exposure and children's health. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care. Sep. 40(8)*:186-215

Bridges, CC., Zalups, RK. (2005). Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Toxicol Appl Pharmacol 204*:274–308

Broussard, L. A., Hammett-Stabler, C. A., Winecker, R. E., & Roper-Miller, J. D. (2002). The toxicology of mercury. *Laboratory Medicine, 33(8)*, 614-625.

C. C. Bridges and R. K. Zalups, (2010) "Transport of inorganic mercury and methylmercury in target tissues and organs," *Journal of Toxicology and Environmental Health—Part B*, vol. 13, no. 5, pp. 385–410.

Carvalho, CM., Chew, EH., Hashemy, SI., Lu, J., Holmgren, A. (2008). Inhibition of the human thioredoxin system. A molecular mechanism of mercury toxicity. *J Biol Chem 283*:11913–11923

Casteilla, L., Rigoulet, M., Penicaud, L. (2001) Mitochondrial ROS metabolism: modulation by uncoupling proteins. *IUBMB Life.;52(35)*:181-188

Ceccatelli, S., Daré E, Moors M. (2010) Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis. *Chem Biol Interact. Nov 5. 188(2)*:301-8.

Chekmeneva, E., Prohens, R., Díaz-Cruz, JM., Ariño, C., Esteban, M. (2008) Thermodynamics of Cd²⁺ and Zn²⁺ binding by the phytochelatin (γ -Glu-Cys)₄-Gly and its precursor glutathione. *Anal Biochem 375*: 82-9

Chernyak, YI., Itskovich, VB., Baduev, BK., Borovskii, GB. (2012) Dependence of blood levels of HSP70 and HSP90 on genotypes of HSP70, GSTT1, and GSTM1 gene polymorphism in individuals chronically exposed to mercury. *Bull Exp Biol Med. Nov. 154(1)*:68-72.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Coban, F.K., Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H.H., and Hazman, O. (2015). Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Drug Chem Toxicol* 38(4): 391-399.

C. Cobbett, P. Goldsbrough (2002) Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis *Annual Review of Plant Biology*, 53 , pp. 159-182

Çalık A., 2002. "Türkiye'nin Bor Madenleri ve Özellikleri" *Makine ve Mühendis Dergisi*, Sayı 508,36-41

Deaton, C.M., Marlin, D.J., (2003). Exercise-Associated Oxidative Stress, *Clin. Tech. Equine Pract*, Vol 2, No 3, 278-29

DeRouen, TA., Martin, MD., Leroux, BG., et al. (2006) Neurobehavioral effects of dental amalgam in children: a randomized clinical trial. *JAMA*. Apr 19. 295(15):1784-92.

Devirian, T. A., Volpe, S. L. (2003). The physiological effects of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr* 43:219-231.

Dimitrova, MST., Tsnova, V., Velcheva, V. (1994) Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp (*Cyprinus carpio*) *Comp Biochem Physiol*. 108C:43-46.

Dufault, R., LeBlanc, B., Schnoll, R., et al. (2009) Mercury from chlor-alkali plants: measured concentrations in food product sugar. *Environ Health*. Jan 26. 8:2.

Dündar, Y., Aslan, R. Hücre (1999) Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*. 2(2): 134-142

E. Guallar, M. I. Sanz-Gallardo, P. Van'T Veer et al.,(2002) "Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction," *The New England Journal of Medicine*, vol. 347, no. 22, pp. 1747-1754.

Echeverria, D., Woods, JS., Heyer, NJ., Martin, MD., Rohlman, DS., Farin, FM., et al. (2010) The association between serotonin transporter gene promotor polymorphism (5-HTTLPR) and elemental mercury exposure on mood and behavior in humans. *J Toxicol Environ Health A*. 73(15):1003-20.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Echeverria, D., Woods, JS., Heyer, NJ., Rohlman, D., Farin, FM., Li, T., et al. (2006) The association between a genetic polymorphism of coproporphyrinogen oxidase, dental mercury exposure and neurobehavioral response in humans. *Neurotoxicol Teratol.* Jan-Feb. 28(1):39-48.

Eren, M., B. Kocaoğlu, F. Uyanık, N. Karabulut, (2006). The effects of boron supplementation on performance, carcass composition and serum lipids in japanese quails. *J. of Animal and Vet. Advances*, 5(12):1105-1108.

Espinoza, EO., Mann, MJ., Bleasdel, B. (1995). Arsenic and mercury in traditional Chinese herbal balls. *N Engl J Med.* Sep 21. 333(12):803-4.

FDA Issues Final Regulation on Dental Amalgam. July 28, 2009. FDA News Release. Available at <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm173992.htm>.

Firat, O., Kargin, F., (2010). Response of *Cyprinus carpio* to copper exposure: alterations in reduced glutathione, catalase and proteins electrophoretic patterns. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 1021-1028

Gallardo-Williams MT., Maronpot, RR., Wine, RN., Brunssen, SH., Chapin, RE. (2003) Inhibition of the enzymatic activity of prostate-specific antigen by boric acid and 3-nitrophenyl boronic acid. *Prostate*, 54:44-49

Garetano G, Stern AH, Robson M, Gochfeld M. (2008) Mercury vapor in residential building common areas in communities where mercury is used for cultural purposes versus a reference community. *Sci Total Environ.* Jul 1. 397(1-3):131-9.

Greim, H., Snyder, R., (2008) "Toxicology and risk assesment: A comprehensive introduction", John Wiley & Sons, Ltd., England, 544-549

Gutierrez, L.L.P., Mazzotti, N.G., Araujo, A.S.R., Klipel, R.B., Fernandes, T.R.G., Llesuy, S.F., Bello-Klein, A., (2006). "Peripheral markers of oxidative stress in chronic mercuric chloride intoxication", *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39: 767-772

Gutteridge, JM. (1994). Biological origin of free radicals and mechanism of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interaction*;91 (2-3) : 133-40.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Güley, M., Vural, N., (1978) "Toksikoloji", Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 48.

Güven, A., Kahvecioğlu Ö., Kartal G., Timur S., (2004) "Metallerin Çevresel Etkileri-III", Metalurji Dergisi, 138: 64-71

Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life, *Plant Physiol*, 141(2):312-22.

Hegglund, I., Kaur, P., Syversen, T. (2009) Uptake and efflux of methylmercury in vitro: Comparison of transport mechanisms in C6, B35 and RBE4 cells. *Toxicol In Vitro* 23:1020–1027

Henderson, K., Stella, S.L., Kobylewski, S., and Eckhert, C.D. (2009) Receptor activated Ca(2+) release is inhibited by boric acid in prostate cancer cells. *PLoS One* 4(6): e6009.

Heron, J., Golding, J. (2004) Thimerosal exposure in infants and developmental disorders: a prospective cohort study in the United kingdom does not support a causal association. *Pediatrics*. Sep. 114(3):577-83.

Hirooka, T., Fujiwara, Y., Minami, Y., Ishii, A., Ishigooka, M., Shinkai, Y., Yamamoto, C., Satoh, M., Yasutake, A., Eto, K., Kaji, T.(2010) Cell-densitydependent methylmercury susceptibility of cultured human brain microvascular pericytes. *Toxicol In Vitro* 24:835–841.

Huang, CF., Hsu, CJ., Liu, SH., Lin-Shiau, SY.(2008) Neurotoxicological mechanism of methylmercury induced by low-dose and long-term exposure in mice: oxidative stress and down-regulated Na⁺/K⁺-ATPase involved. *Toxicol Lett*. Feb 15. 176(3):188-97.

Hunt, C. D. (1996). Biochemical effects of physiological amounts of dietary boron. *J Trace Elem Exp Med* 9:185–213.

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.

Hunter, C. (2005) Boron. In *In Encyclopedia of Dietary Supplements*. Edited by B.M. Coates PM, Cragg GM, Levine M, Moss J and White JD. Marcel Dekker, New York. pp. 55-65.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Iavazzo, C., Gkegkes, ID., Zarkada, IM., Falagas, ME. (2011) Boric acid for recurrent vulvovaginal candidiasis: the clinical evidence J Womens Health Aug;20(8):1245-55

Ince, S., Kucukkurt, I., Cigerci, I. H., Fidan, A. F., Eryavuz, A. (2010). The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. J Trace Elem Med Biol 24:161-164.

Ince, S., Keles, H., Erdogan, M., Hazman, O., and Kucukkurt, I. (2012) Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. Drug Chem Toxicol 35(3): 285-292.

Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H.H., Acaroz, D.A., Akbel, E., and Cigerci, I.H. (2014) Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. Chemosphere 108: 197-204.

Jihen, E.H., Imed, M., Fatima, H., Abdelhamid, K., "Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver of the rat: Effects on the oxidative stres", Ecotoxicology and Environmental Safety, 72: 1559-1564 (2009)

K. A. Graeme and C. V. Pollack, (1998) "Heavy metal toxicity, part I: arsenic and mercury," Journal of Emergency Medicine, vol. 16, no. 1, pp. 45-56.

K. S. Montgomery, J. Mackey, K. Thuett, S. Ginestra, J. L. Bizon, and L. C. Abbott, (2008) "Chronic, low-dose prenatal exposure to methylmercury impairs motor and mnemonic function in adult C57/B6 mice," Behavioural Brain Research, vol. 191, no.1, pp. 55-61

K. Yoshizawa, E. B. Rimm, J. S. Morris et al., (2002) "Mercury and the risk of coronary heart disease in men," The New England Journal of Medicine, vol. 347, no. 22, pp. 1755-1760.

Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S., (2003) "Metallerin Çevresel Etkileri-I", Metalurji Dergisi, 136: 47-53

Kanbak, G., Arslan, O.C., Dokumacioglu, A., Kartkaya, K., İnal, M.E., (2008) Effects of chronic ethanol consumption on brain synaptosomes and protective role of betaine, Neurochem. Res., 33 (3), 539-544, p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Kayış, T. (2010). Diazinon'un Subletal Konsantrasyonlarının Pimpla turionellae L.'nin EĞey Oranı ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 8,9.

Kingman, A., Albers, JW., Arezzo, JC., Garabrant, DH., Michalek, JE. (2005) Amalgam exposure and neurological function. *Neurotoxicology*. Mar. 26(2):241-55.

Kirby D. (2005) Evidence of Harm. Mercury in Vaccine and the Autism Epidemic: A Medical Controversy. New York: Saint Martin's Press.

Kirkman HN, Galiano S, Gaetani GF. The function of catalase-bound NADPH. *J Biol Chem*. 1987; 262(2): 660-666

Kukreja, R., Hess, ML. (1992): The oxygen free radical system: from equations through embraneprotein interactions to car diovascular injury and protection. *Cardiovasc Res*; 26:641-55.

Kucukkurt, I., Arslan-Acaroz, D., Demirel, H.H., Ince, S., Eryavuz, A. (2017) Ratlarda Gentamisin İle İndüklenmiş Oksidatif Streste Borun Muhtemel Koruyucu Etkisinin Dokularda Araştırılması

Lee, Y.W., Ha, M.S., Kim. Y.K., (2002) "Role of reactive oxygen species and glutathione in inorganic mercury-induced injury in human glioma cells", *Neurochemical Research*, 26 (11): 1187-1193.

Limon-Pacheco, J., Gonsebatt, ME. (2009) The role of antioxidants and antioxidantrelated enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res*. 674(1-2): 137-147.

M. C. Houston, (2007) "The role of mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction," *Alternative Therapies in Health and Medicine*, vol. 13, no. 2, pp. S128-S133

M. Mackness and B. Mackness, (2004) "Paraoxonase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important?" *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 37, no. 9, pp. 1317- 1323

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

M. Roulet, M. Lucotte, R. Canuel et al. (1998) "Distribution and partition of total mercury in waters of the Tapajos River Basin, Brazilian Amazon," *Science of the Total Environment*, vol. 213, no. 1-3, pp. 203-211.

Martines-Martos, J.M., Raminez-Exposito, M.J., Mayas-Torres, M.D., Garcia- Lopez, M.J., Ramirez-Sanchez, M., (2000), Utility of the MTT assay to measure mitochondrial activity in K⁺- and ATP- stimulated rodent cortex synaptosomes, *Neurosci. Res. Commun.*, 2, 103-107, p.

Mc Cord, Jm. (1993). Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem*; 26 (5) : 351-7.

Meacham, S. L., Taper, L. J., Volpe, S. L. (1994). Effects of boron supplementation on bone mineral density and dietary, blood, and urinary calcium, phosphorus, magnesium, and boron in female athletes. *Environ Health Perspect* 102:79-82.

Murray, F. J. (1998). A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans. *Biol Trace Elem Res*66:331-341.

N. K. Mottet, M. E. Vahter, J. S. Charleston, and L. T.Friberg,(1997) "Metabolism of methylmercury in the brain and itstoxicological significance," *Metal Ions in Biological Systems*,vol. 34, pp. 371-403

National Research Council. *Toxicological Effects of Methylmercury*. Washington (2000), DC: National Academy Press:55-56.

Nemmiche, S., Chabane-Sari, D., Guiraud, P., (2007) "Role of α -tocopherol in cadmiuminduced oxidative stres in Wistar rat's blood, liver and brain", *Chemico-Biological Interactions*, 170: 221-230.

Newland, MC., Paletz, EM., Reed, MN. (2009) Lactational exposure to mercury in experimental models. *Neurotoxicol* 30:161-163.

Nielsen, F. H., Hunt, C. D., Mullen, L. M., 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. (2008). Is boron nutritionally relevant *Nutr Rev* 66(4): 183-191.

Ozuah, PO. (2000) Mercury poisoning. *Curr Probl Pediatr*.30:91-99

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

P. Grandjean, E. Budtz-Jørgensen, R. F. White et al., (1999) "Methylmercury exposure biomarkers as indicators of neurotoxicity in children aged 7 years," *American Journal of Epidemiology*, vol. 150, no. 3, pp. 301–305.

P. Grandjean, P. Weihe, R. F. White et al., (1997) "Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury," *Neurotoxicology and Teratology*, vol. 19, no. 6, pp. 417–428.

P. R. Sager, M. Aschner, and P. M. Rodier, (1984) "Persistent, differential alterations in developing cerebellar cortex of male and female mice after methylmercury exposure," *BrainResearch*, vol. 314, no. 1, pp. 1–11.

P. Zhang, Y. Xu, J. Sun, X. Li, L. Wang, and L. Jin, (2009) "Protection of pyrroloquinoline quinone against methylmercury-induced neurotoxicity via reducing oxidative stress," *Free Radical Research*, vol. 43, no. 3, pp. 224–233

Pawa, S., Ali, S. (2006) Boron ameliorates fulminant hepatic failure by counteracting the changes associated with the oxidative stress. *Chem Biol Interact* 160:89–98

Penland, J.G., (1994) Dietary boron, brain function and cognitive performance, *Environ Health Perspect.* 102(Suppl, 7):65-72

Pham-Huy, LA., He, H., Pham-Huy, C. (2008) Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.*4(2): 89-96.

Pinto, E., Sigaud-Kutner, T.S.C., Leitão, M.A.S., Okamoto, O.K., Morse, D., Colepicolo, P., (2003) "Heavy Metal-Induced Oxidative Stress In Algae", *Journal of Phycology*, 39: 1008-1018

Primus, F. J., Pak, R. H., Richard-Dickson, K. J., Szalai, G., Bolen, J. L., Jr., Kane, R. R., et al. (1996). Bispecific antibody mediated targeting of nido-carboranes to human colon carcinoma cells. *Bioconjug Chem* 7:532–535.

Public Health Service. (1993) Dental amalgam: a scientific review and recommended Public Health Service strategy for research, education, and regulation. Public Health Service.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

R. A. Ponce, T. J. Kavanagh, N. K. Mottet, S. G. Whittaker, and E. M. Faustman, (1994) "Effects of methyl mercury on the cell cycle of primary rat CNS cells in vitro," *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 127, no. 1, pp. 83–90.

Ralston, NV., Raymond, LJ. (2010) Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. *Toxicology*. Nov 28. 278(1):112-23

Rao, M.V., Chhunchha, B., (2010) "Protective role of melatonin against the mercury induced oxidative stress in the rat thyroid", *Food and Chemical Toxicology*, 48: 7-10

Rao, M.V., Gangadharan, B. (2008) "Antioxidative potential of melatonin against mercury induced intoxication in spermatozoa in vitro", *Toxicology in Vitro*, 22: 935-942

Rao, M.V., Purohit, A., Patel, T., (2010) "Melatonin protection on mercury-exerted brain toxicity in the rat", *Drug and Chemical Toxicology*, 33 (2): 209-216

Riley, PA. (1994) Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Rad Bio*; 65 (1) ; 27-33.

Rooney, JPK. (2007) The role of thiols, dithiols, nutritional factors and interacting ligands in the toxicology of mercury. *Toxicology* 238:216–216.

S. Ehara, M. Ueda, T. Naruko et al., (2001) "Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes," *Circulation*, vol. 103, no. 15, pp. 1955–1960.

S. Halbach, (1990) "Mercury compounds: lipophilicity and toxic effects on isolated myocardial tissue," *Archives of Toxicology*, vol. 64, no. 4, pp. 315–319.

S. Hussain, D. A. Rodgers, H. M. Duhart, and S. F. Ali, (1997) "Mercuric chloride-induced reactive oxygen species and its effect on antioxidant enzymes in different regions of rat brain," *Journal of Environmental Science and Health—Part B*, vol. 32, no. 3, pp. 395–409.

S. Yee and B. H. Choi, (1994) "Methylmercury poisoning induces oxidative stress in the mouse brain," *Experimental and Molecular Pathology*, vol. 60, no. 3, pp. 188–196

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Sallon, S., Namdul, T., Dolma, S., et al. (2006) Mercury in traditional Tibetan medicine - panacea or problem?. *Hum Exp Toxicol.* Jul. 25(7):405-12.

Saper, RB., Kales, SN., Paquin, J., et al. (2004) Heavy metal content of ayurvedic herbal medicine products. *JAMA.* Dec 15. 292(23):2868-73.

Saunders, JE., Jastrzembski, BG., Buckey, JC., Enriquez, D., MacKenzie, TA., Karagas, MR. (2013) Hearing loss and heavy metal toxicity in a nicaraguan mining community: audiological results and case reports. *Audiol Neurootol.* 18(2):101-13.

Sen, S., Chakraborty, R. (2011) The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy.* Chapter 1: 1-37.

Sogut, I., Oglakci, A., Kartkaya, K., Ol, K.K., Sogut, M.S., Kanbak, G., and Inal, M.E. (2015) Effect of boric acid on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome. *Exp Ther Med* 9(3): 1023-1027.

Su, L., Wang, M., Yin, S.T., Wang, H.L., Chen, L., Sun, L.G., Ruan, D.Y., (2008) "The interaction of selenium and mercury in the accumulations and oxidative stress of rat tissues", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70 :483-489

Sue, YJ. Mercury. In: Hoffman RS, Howland MA, Lewin NA, Nelson LS, Goldfrank LR, eds. (2015) *Goldfrank's Toxicologic Emergencies.* 10th ed. New York, NY: McGraw-Hill Education. 1334-1344.

Şener, G., Sehirli, Ö., Tozan, A., Velioğlu-Övünç, A., Gedik, N., Omurtag, G. Z., (2007) "Ginkgo biloba extract protects against mercury (II)-induced oxidative tissue damage in rats", *Food and Chemical Toxicology*, 45: 543-550

Şener, G., Yeğen Berrak, Ç. (2009) İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi.* 22: 5-13.

Takeuchi, T., Eto, K., Kinjo, Y., Tokunaga, H. (1996) Human brain disturbance by methylmercury poisoning, focusing on the long-term effect on brain weight. *Neurotoxicology.* Spring. 17(1):187-90

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Talas, Z.S., Orun, I., Ozdemir, I., Erdogan, K., Alkan, A. and Yılmaz, I., (2008) Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd+2 , Cr+3) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). *Fish Physiol. Biochem.*, 34: 217-222

Tang, HL., Chu, KH., Mak, YF., Lee, W., Cheuk, A., Yim, KF. (2006) Minimal change disease following exposure to mercury-containing skin lightening cream. *Hong Kong Med J.* Aug. 12(4):316-8

Tang, J., Zheng, X.T., Xiao, K., Wang, K.L., Wang, J., Wang, Y.X., Wang, K., Wang, W., Lu, S., Yang, K.L., Sun, P.P., Khaliq, H., Zhong, J., and Peng, K.M. (2016) Effect of Boric Acid Supplementation on the Expression of BDNF in African Ostrich Chick Brain. *Biol Trace Elem Res* 170(1): 208-215.

Taylan, Z.S., Özkoç, B.H.,(2007) "Potansiyel ağır metal kirliliğinin belirlenmesinde akuatik organizmaların biokullanılabilirliği", *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (2): 17-33

Tchounwou, PB., Yedjou, CG., Patlolla, AK., Sutton, DJ. (2012) Heavy metal toxicity and the environment. *EXS.* 101:133-64.

Tepedelen, B.E., Soya, E., and Korkmaz, M. (2016) Boric Acid Reduces the Formation of DNA Double Strand Breaks and Accelerates Wound Healing Process. *Biol Trace Elem Res* 174(2): 309-318.

Turkez, H., Geyikoglu, F., Tatar, A., Keles, MS., Kaplan, I. (2012) The effects of some boron compounds against heavy metal toxicity in human blood. *Exp Toxicol Pathol* 64:93-101

Turkez, H., Geyikoglu, F., Tatar, A., Keles, S., Özkanc, A. (2007). Effects of some boron compounds on peripheral human blood. *Z Naturforsch* 62:889-896

Turkez, H., Geyikoglu, F. (2010) Boric acid: a potential chemoprotective agent against aflatoxin B1 toxicity in human blood. *Cytotechnology* 6:157-165

Ustundag, A., Behm, C., Follmann, W., Duydu, Y., and Degen, G.H. (2014) Protective effect of boric acid on lead- and cadmium-induced genotoxicity in V79 cells. *Arch Toxicol* 88(6): 1281-1289

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Uysal, M. (1998). Serbest radikaller, lipit peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*, 11: 336-340.

Vahter, ME., Mottet, NK., Friberg, LT., Lind, SB., Charleston, JS., Burbacher, TM. (1995) Demethylation of methyl mercury in different brain sites of *Macaca fascicularis* monkeys during long-term subclinical methyl mercury exposure. *Toxicol Appl Pharmacol*. Oct. 134(2):273-84.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J. (2006). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *J Biocel*, 39:44-84.

Vatamaniuk, O. K., Mari, S., Lu, Y.P., & Rea, P. A., (1999), AtPCS1, a phytochelatin synthase from *Arabidopsis*: Isolation and in vitro reconstitution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 7110-7115.

Vural, N., (2005) "Toksikoloji", Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 504-512, 521-532

Wang, Y., Goodrich, JM., Gillespie, B., Werner, R., Basu, N., Franzblau, A. (2012) An investigation of modifying effects of metallothionein single-nucleotide polymorphisms on the association between mercury exposure and biomarker levels. *Environ Health Perspect*. Apr. 120(4):530-4.

Washam, C. (2011) Beastly beauty products: exposure to inorganic mercury in skin-lightening creams. *Environ Health Perspect*. Feb. 119(2):A80.

Weir, R.J., Jr., and Fisher, R.S. (1972). Toxicologic studies on borax and boric acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 23(3): 351-364.

Whittaker, V.P. (1993). Thirty years of synaptosome research, *J Neurocytol*, 22(9):735-42.

WHO (2009) Boron in drinking-water, background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. World Health Organization, Geneva. WHO/SDE/WSH/09.01/2
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/boron/en/.
Accessed 4 Feb 2014

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

WHO (World Health Organization), (2003) "Elemental mercury and Inorganic mercury compounds:Human Health Aspects", Geneva, <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad50.pdf> .

Wu, X., Cobbina, S.J., Mao, G., Xu, H., Zhang, Z., Yang, L. (2016) A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environ Sci Pollut Res Int.* May. 23 (9):8244-59

Yalçın, E., Maraş, M., Çavuşoğlu, K., (2007) "Kurşun ve civa ağır metal iyonlarının albino farelerde canlı ağırlık ve serum alkale fosfataz düzeyi üzerine etkisi", *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (1): 61-67

Yamashita, T., Ando, Y., Sakashita, N., et al. (1997) Role of nitric oxide in the cerebellar degeneration during methylmercury intoxication. *Biochim Biophys Acta.* Mar 15. 1334(2-3):303-11.

Yılmaz, A., (2002) *Her Derde Deva Hazinemiz Bor*,TUBİTAK-Bilim ve Teknik Dergisi, Ankara

Yin, Z., Jiang, H., Syversen, T., Rocha, J.B., Farina, M., Aschner, M. (2008) The methylmercury-L-cysteine conjugate is a substrate for the L-type large neutral amino acid transporter. *J Neurochem* 107:1083–1090.

Young IS, Woodside JV. Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.* 2001; 54(3): 176-186

Zhang, Y., Micheal, G., Irwin, M., Tak, MW. (2000) Remifentanyl preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. *Anaesthesiology* 101:918-23.

Özgeçmiş

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Alper ULUBAŞ
Doğum tarihi ve yeri : 1988 / İZMİR
Uyruğu : TC
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : biyokimya1@gmail.com

Eğitim Durumu

(Tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru ilköğretim, lise, üniversite, yabancı dil / diller) : Meliha ve Doğan Akad İlkokulu / İzmir
Vali Kutlu Aktaş İlköğretim Okulu / İzmir
Balçova Anadolu Lisesi / İzmir
Ege Üniversitesi – Fen Fakültesi – Biyokimya
Bölümü / İzmir
İngilizce

Mesleki Deneyim : ESOGÜ 2015-2018 Öğrenci Laboratuvarları
Görevi

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar: Biyokimyagerler Derneği

Kurslar ve Eğitim Programları :

İTÜ IV. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Genetik Öğrenci Kongresi 27-31
Ağustos 2010

ESOGÜ TICAM Deney Hayvanları Kursu Şubat 2015

Alzheimer Hastalığının Moleküler Temeli Ve Yeni Tedavi Stratejileri
Sempozyumu 17 - 18 Mayıs 2016

