

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**YÜKSEK YAĞLI DİYETLE BESLENEN RATLARDA BORİK ASİTİN TOTAL
OKSİDAN KAPASİTE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE DÜZEYLERİ ve
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

Destan KALAÇAY
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Onur ATAKİŞİ

EYLÜL - 2013

KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**YÜKSEK YAĞLI DİYETLE BESLENEN RATLARDA BORİK ASİTİN TOTAL
OKSİDAN KAPASİTE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE DÜZEYLERİ ve
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

Destan KALAÇAY
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Onur ATAKİŞİ

EYLÜL - 2013

KARS

Bu tez çalışması 2013-FEF-77 numaralı proje ile Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Destan KALAÇAY' ın Doç. Dr. Onur ATAĞIŞI 'nin danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "*Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Ratlarda Borik Asit'in Total Oksidan Kapasite, Total Antioksidan Kapasite Düzeyleri ve Paraoksonaz aktivitesine Etkisi*" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy **BİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

20 /09 /2013

Adı ve Soyadı

Baskan : Doç. Dr. Onur ATAĞIŞI

Üye : Yrd. Doç. Dr. Oğuz MERHAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ

imza


Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../2013 gün ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Muzaffer ALKAN

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bor seramikten, cam, metal, yağlar, ilaçlar vs. gibi birçok sektörde kullanılmaktadır. Türkiye’de kaliteli bor yatakları bulunmaktadır ve bu rezerv dünya üzerindeki toplam rezervinin yaklaşık % 72’sini oluşturmaktadır. Bor bileşikleri canlılar tarafından yiyecekler, içecekler ve solunum yoluyla girerler. Son yıllarda bor ve bor bileşikleri hakkında çalışmalar artmış ve her geçen gün artarak devam etmektedir.

Dünya üzerindeki bor kaynaklarının büyük çoğunluğu ülkemizde bulunmaktadır. Bu sebeple bor teknolojilerinin ve ürünlerinin, kullanım alanlarının ve kullanım miktarının artması, ülkemizin özellikle ekonomik ve teknolojik açıdan hızlıca kalkınmasında etkili olacaktır. Bor bileşiklerinin canlılar üzerine yaptığı etkiler net olarak ortaya konulduğunda bor içeren yeni ürünlerin üretilmesi kaçınılmaz olacaktır.

Bor ile yapılan her çalışma ülkemizin ve bilim önemli katkılar sağlayacaktır. Hızla yaygınlaşan obezitenin canlı metabolizmasında sebep olduğu zararların ortaya konulması ayrıca borik asidin obezite sorunlu bireylerde tedavi amaçlı kullanılabilirliğinin araştırılması açısından çalışmamız ayrıca önemlidir.

Yapılan çalışmada yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlara borik asit ilavesinin total oksidan kapasite (TOK), total antioksidan kapasite (TAK), HDL düzeyleri ve paraoksonaz (PON) aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir.

Tez çalışmamda en büyük emeği geçen, yoğun çalışmalarından bana zaman ayırarak derin bilgilerinden faydalanma fırsatı veren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum, değerli bilim adamı, Sayın Doç. Dr. Onur ATAKIŞI’ye en içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım esnasında ve tezin hazırlanması sürecinde yine katkılarını esirgemeyen yüksek lisans öğrencisi ve laboratuvar arkadaşım Rüya KAYA’ya, laboratuvarımızın Ablası Kezban YILDIZ DALGINLI’ya, Uzm. Mustafa SERTÇELİK’e, Sayın Arş. Gör. Dr. Ahmet HARMANKAYA’ya, desteğini eksik etmeyen aileme ve CPS Quality şirketine de teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET	vii
SUMMARY	viii
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ	x
GRAFİKLER	xi
GİRİŞ	1
1. BOR	3
1.1. Borun Tarihçesi	4
1.2. Borik Asit	5
1.3. Borun Organizmaya Alınması ve Etkileri	6
2. OBEZİTE	8
3. SERBEST RADİKALLER	10
3.1. Serbest Radikal Oluşumunda Eksojen Faktörler	10
3.2. Serbest Radikal Oluşumunda Endojen Faktörler	11
3.3. Oksidatif Stress	11
3.4. Serbest Radikallerin Etkileri	12
3.4.1. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri	12
3.4.2. Proteinlere Etkileri	13
3.4.3. Karbohidratlara Etkileri	13
3.4.4. Lipitlere Etkileri	13
4. ANTİOKSİDANLAR	15
5. OBEZİTE ve OKSİDATİF STRES	15
6. PARAOKSONAZ	16
7. MATERYAL ve METOT	21
7.1. Materyal	21
7.2. Metod	21
7.2.1. Kullanılan Aletler ve Malzemeler	21
7.2.2. Analizler İçin Kullanılan Kimyasallar	22
7.3. Total Antioksidan Kapasite Ölçümü	22
7.3.1. Deneyin Prensibi	22

7.3.2. Kullanılan Reaktif ve Standartlar	23
7.3.3. Deneyin Yapılışı	23
7.3.4. Sonuçların Hesaplanması	24
7.4. Total Oksidan Kapasite Ölçümü	24
7.4.1. Deneyin Prensibi	24
7.4.2. Kullanılan Reaktif ve Standartlar	24
7.4.3. Deneyin Yapılışı	25
7.4.4. Sonuçların Hesaplanması	26
7.5. Serum Paraoksonaz Aktivite Ölçümü	26
7.5.1. Deneyin Prensibi	26
7.5.2. Deneyde Kullanılan Çözeltiler	26
7.5.3. Deneyin Yapılışı	27
8. BULGULAR	28
9. TARTIŞMA ve SONUÇ	34
10. KAYNAKÇA	38
11. ÖZGEÇMİŞ	46

ÖZET

Dünya üzerindeki bor kaynaklarının büyük çoğunluğu ülkemizde bulunmaktadır. Bor teklonjilerinin ve ürünlerinin, kullanım alanlarının ve kullanım miktarının artması, ülkemizin kalkınması için önemli olacaktır.

Araştırmada materyal olarak canlı ağırlık ortalaması $226,95 \pm 5,75$ g, yaklaşık 4-5 aylık 40 adet Sprague Dawley cinsi Rat oluşturdu. Hayvanlar Grup I (Kontrol), Grup II (Yağlı Diyet), Grup III (Yağlı Diyet + Borik Asit) ve Grup IV (Borik Asit) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Denemeden 6 hafta sonra hayvanlardan kan numuneleri alındı ve numunelerde TAK, TOK, HDL düzeyleri ile PON aktivitesi ölçüldü. Ayrıca hayvanların canlı ağırlık değişimleri kaydedildi.

Çalışmanın sonunda içme sularıyla ilave olarak verilen borik asidin vücut ağırlığını, TAK düzeyi ve PON aktivitesini azalttığı, TOK ve HDL düzeyini arttırdığı saptandı.

Sonuç olarak, borik asidin antioksidatif sistem üzerine herhangi bir pozitif etkisinin olmadığı, HDL düzeyinde artışa, PON aktivitesinde ve canlı ağırlıklarda azalmaya neden olduğu, konuyla ilgili olarak farklı bor bileşikleri kullanmak suretiyle daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Borik asit, Obezite, TAK, TOK, PON, HDL.

SUMMARY

The vast majority of boron resources on Earth are in our country. To increase the amount of use and areas of the boron technologies and products will be important for the development of our country.

The average of live weight for the material in this study 226.95 ± 5.95 g, consisted of 40 male Sprague Dawley Rat approximately 4-5 months. Animals divided into 4 groups: Animals in Group I (control), Group II (Fat Diet), Group III (Fat Diet + Boric Acid) and Group IV (Boric Acid). After 6 weeks of the experiment, blood samples were taken from animals. TAC, TOC, PON activity and HDL levels were measured in the samples. In addition, animals live changes in weight were recorded.

At the end of the study, it was determined that boric acid supplied with drinking water, reduces the body weight, TAC levels and the activity of PON, increases TOC and HDL levels.

As a result, there isn't any positive effect of boric acid on the antioxidative system, it causes to increase in the level of HDL, reduce the PON activity and weight. On the subject concluded that by using the different boron compounds needed further more studies.

Keywords: Boric acid, obesity, TAC, TOC, PON, HDL

KISALTMALAR ve ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekiller

°C : Derece

mM: Milimolar

µ: Mikron

gr: Gram

L: Litre

ml: Mililitre

kg: Kilo gram

Kısaltmalar

BA: Borik Asit

CAT: Katalaz

GSH: Redükte Glutasyon

GSH-Px: Glutasyon peroksidaz

HDL: Yüksek Dansiteli Lipoprotein

LDL: Düşük Dansiteli Lipoprotein

MDA: Malondialdehit

MTA: Maden Tetkik Arama

SOD: Süperoksit Dismutaz

PON: Paraoksanaz

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

TAK: Toplam Antioksidan Kapasite

TOK: Toplam Oksidan Kapasite

VKİ: Vücut Kütle İndeksi

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ

Şekiller		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.2.1.	Kolemanitin Açık Yapısı	4
Şekil 1 2.2.	Borik asit Açık Yapısı	4
Şekil 3.3.	Oksidatif Stres Oluşumu	11
Şekil 4.2.	Oksidatif Stres Oluşumu	13
Şekil 6.1	Paraoksonaz ın Etki Mekanizması	17
Şekil 6.2.	Paraoksonaz ın Etki Mekanizması	18
Şekil 6.3.	HDL'nin Hücre Memranına Bağlanması	19

Tablolar		<u>Sayfa</u>
Tablo 1.	Borun Kimyasal Özellikleri	2
Tablo 2.	Vücut Kitle İndeksine Göre Kiloların Sınıflandırması	7
Tablo 7.3.3.	Total Antioksidan Kapasite Analizi	23
Tablo 7.4.3.	Total Oksidan Kapasite Analizi	25
Tablo 8.1.	Çalışmada ölçülen parametrelerin istatistiksel değerleri	31
Tablo 8.2.	Grupların Haftalık Ortalama Ağırlıkları (gr)	32

GRAFİKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Grafik 8.1. Gruplarda Saptanan Total Antioksidan Kapasite seviyeleri	28
Grafik 8.2. Gruplarda Saptanan Total Oksidan Kapasite seviyeleri	29
Grafik 8.3. Gruplarda Saptanan Paraoksonaz Enzimin Aktivitesi	29
Grafik 8.4. Gruplarda Saptanan Gruplarda Saptanan HDL miktarı	30
Grafik 8.5. Grupların Haftalık Ağırlık Değişimleri	32

GİRİŞ

Bor (B) ile sembolize edilen, 3A grubuna ait, metallere a metal, a metallere metal gibi tepkime veren bir yarı metal elementtir [1].

Bor seramikten, cam, metal, yağlar, ilaçlar vs. gibi birçok sektörde kullanılmaktadır. Türkiye’de Eskişehir, Kütahya, Balıkesir ve Bursa’da kaliteli bor yatakları bulunmaktadır ve bu rezerv dünya üzerindeki toplam rezervinin yaklaşık % 72’sini oluşturmaktadır [2]. Bor, tarihte Mısırlılar ve Romalılar ve Arap doktorlar tarafından ilaç olarak kullanılmıştır.

Bor bileşikleri canlılar tarafından yiyecekler, içecekler ve solunum yoluyla girerler. Bu bileşikler vücuda alındıktan sonra fizyolojik pH’da borik aside dönüşür. Vücuda giren borun yaklaşık %90’nı organizmada hiç değişikliğe uğramadan atılır [1].

Son yıllarda bor ve bor bileşikleri hakkında çalışmalar artmış ve bor bileşiklerinin organizmadaki lipid, karbonhidrat, protein hormon gibi biyomoleküller üzerine etkileri olabileceği ileri sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda borik asidin antioksidan etkisinin olabileceği bunu da antioksidan etki gösteren enzimlerin aktivitelerinde artışa neden olarak gerçekleştirebileceği bildirilmiştir [3-5, 27].

Organizmada antioksidan ve oksidanlar moleküller denge halindedir. Bu denge antioksidanlar aleyhine değişmeye başlaması durumunda oksidatif stres gözlenir ve serbest radikal hasarı gözlenir [6].

Obezite, Dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından en yaygın olarak rastlanan 10 hastalıktan biridir. Obezitenin en kısa tanımı vücuda alınan enerjinin kullanılan enerjiden fazla olması ve bunun sonucu vücudun yağ oranının aşırı miktarda artmasıdır [8].

Bu bilgiler ışığında yapılan çalışmada; bor bileşiklerinden borik asidin yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda toplam oksidan kapasite, toplam antioksidan kapasite ve paraoksonaz aktivitesine etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

1. BOR

Bor periyodik tabloda 3A grubuna bulunan ve B ile sembolize edilen yarı metaldir. Bor, yarı metal özelliğe sahip olması nedeniyle metallere daha az fakat ametallerden daha yüksek iletkenliğe sahiptir [10]. Doğada yaklaşık 230 çeşit bor minerali bulunmaktadır. Bor oksijen ile bağ yapmaya yatkın olmasından dolayı çoğunlukla bor-oksijen bileşikleri şeklinde bulunmakta ve bu bileşime borat adı verilmektedir. Bor aynı zamanda sodyum, magnezyum, kalsiyum ile de çeşitli bileşikler oluşturmakta, birleşme oranlarına ve içerdikleri su miktarına göre çeşitli isimlendirmeler almaktadır. Kolemanit (2CaO , $3\text{B}_2\text{O}_3$, $5\text{H}_2\text{O}$), Uleksit (Na_2O , 2CaO , $5\text{B}_2\text{O}_3$, $16\text{H}_2\text{O}$), Tinkal (Na_2O , B_2O_3 , $10\text{H}_2\text{O}$) gibi kalsiyum veya sodyum boratlar en önemlileridir [11]. Bor'un hayvanlarda ve insanlarda en yaygın olarak bulunan formu olan borik asit (H_3BO_3), renksiz, kokusuz ve suda kolayca çözünebilen şeffaf kristal yapıda ya da beyaz granülü toz halinde bulunmaktadır [12].

Tablo 1. Borun Kimyasal Özellikleri

ÖZELLİKLER	DEĞERLER
Atom Numarası	5
Atom Ağırlığı	10.811 ± 0.005 g/mol
Atom Çapı	1.78 \AA
Yoğunluğu	2.84 gr/cm ³
Ergime Noktası	2300°C
Kaynama Noktası	3660°C
Buharlaştırma Isısı	128 kcal/g atom
Elektronegatifliği	2.0
Oksidasyon Sayısı	3
İyonlaşma Enerjisi	191 kcal/g atom
Sertliği	9.3 Mohs

1.1. Borun Tarihçesi

Bor adını, Arapça ve Farsça'da *buraq*, *baurach* ve *burah* kelimelerinden köken almaktadır [13]. Tarihte ilk M.Ö 2000 yılında, Babiller'in Hindistan ve Çin'den boraks olarak getirdikleri bileşiği altının eritilmesinde kullandıkları bilinmektedir. Bor Mezopotamya'da birçok hastalığın tedavisinde, Mısır'da hem tedavi hem de mumyalama amaçlı, M.S. 875 yılında Arap doktorlar tarafından ilaç ham maddesi olarak kullanılmış ayrıca, Eski Yunanlıların ve Romalıların borlu bileşikleri temizlik maddesi olarak Çinlilerin ise M.Ö. 800 yıllarında porselen cilası olarak kullandıkları belirtilmiştir [14].

Boraksın kimyasal yapısı 1732'de aydınlatıldıktan sonra borakstan borik asit elde edilmiş ancak bor element olarak ilk defa 1808'de Fransız bilim adamı *Joseph Gay-Lussac* ve *Baron Louis Thenard* tarafından keşfedilmiştir. Ayrıca, İngiliz *kimyager Sir Humphry Davy* tarafından da aynı zamanda diğer kimyacılar tarafından bağımsız olarak keşfedildiği kaydedilmiştir. Endüstrinin gelişmesiyle birlikte, bor endüstrisi 13. yüzyılda Marco Polo'nun boru Tibet'ten Avrupa'ya getirmesiyle başlamıştır. 1772 yılında İtalya'da, 1836 yılında ise Şili ve Arjantin'de bor bileşikleri bulunmuş, bu yataklar geçtiğimiz yüzyılın sonlarına kadar dünyada bor elde edilen en büyük kaynaklar haline gelmiştir. Ayrıca 1864 yılında Amerika'nın Kaliforniya ve Nevada eyaletlerindeki bor yatakları keşfedilmiştir [14-16].

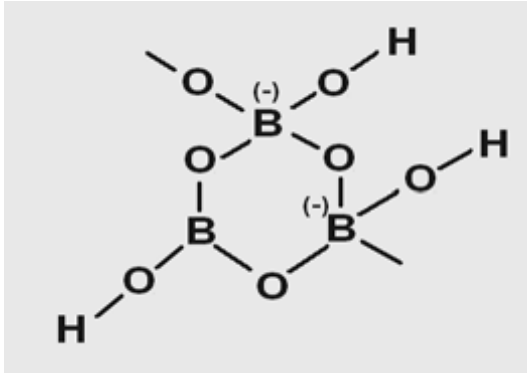
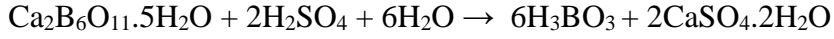
Türkiye'de bor kullanımı ilk kez Romalıların döneminde başlamış fakat ülkede bor yatakları bu dönemlerde tam olarak belirlenmemiştir. Bor madenlerinin işletilmesi Osmanlı Devleti'nin son yılları ile cumhuriyetin ilk yıllarında yabancı firmalar tarafından yapılmıştır [14,16]. Maden Tetkik Arama (MTA) ve Etibank gibi kamu kuruluşlarına 1935 yılında arama ruhsatı verilmiştir. Türk Boraks adı altında faaliyet gösteren İngiliz Boraks Consolited Ltd. Şti'i haklarını 1968'de Etibank'a devrettirilmesi sonucu maden işletmeciliği tamamen Türk firmalara geçmiştir [14,16].

1.2. Borik Asit

Borik asit ($pK_a=9.15$) Özgül ağırlığı 1.435 gr/cm^3 olan bir lewis asididir. Suda çözünebilir olup, çözünürlüğü sıcaklıkla birlikte artmaktadır [17].

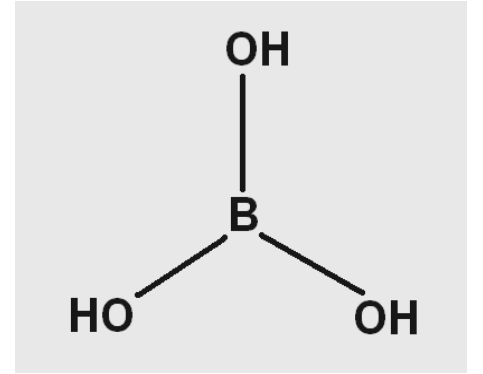
Borik asit olarak bilinen, orto borik asit (H_3BO_3), meta borik asit (HBO_2) ve tetraborik asit ($H_2B_4O_7$) olmak üzere 3 çeşit borik asitten ticari alanda en fazla kullanılan ortoborik asittir. Borik asit olarak bilinen asit de aslında orto borik asittir. Borik asit 100°C 'nin üstünde meta borik aside, 160°C 'nin üstünde ise meta borik asitten tetraborik aside dönüşmektedir [18].

Ülkemizde borik asit üretimi, kolemanitin ($Ca_2B_6O_{11}.5H_2O$) sülfürik asit (H_2SO_4) ile reaksiyonu sonucu olmaktadır. Bu heterojen (katı-sıvı) reaksiyon aşağıda gösterildiği gibi gerçekleşmektedir [19].



Kolemanitin

Şekil 1.2.1. Kolemanitin Açık Yapısı



Borik asit

Şekil 1.2.2. Borik Asit Açık Yapısı

1.3. Borun Organizmaya Alınması ve Etkileri

Bor insan vücuduna eksojen olarak solunum, deri, yiyecek ve içecekler vasıtasıyla girmektedir. Vücuda alınan borun büyük kısmı (%90-95) hiç değişikliğe uğramadan idrarla atılırken, diğer kalan kısmı ise vücudun çeşitli bölgelerinde (kıllar, tırnaklar, dişler, karaciğer, dalak v.b.) ve dokularda birikmektedir. İnsanlarda yüksek dozda alınması halinde ishal, kusma, baş dönmesi, deride dökülme gibi etkilerinin olduğu bildirilmiştir [1]. Boratlar, bor ile oksijen arasındaki bağların koparılması esnasında yüksek enerjiye ihtiyaç (523 kJ/mol) olması nedeniyle metabolize olamazlar. Düşük konsantrasyonlarda mukozal yüzeyden emilimleri sırasında, uygun pH'da borik aside dönüştürülür ve vücuttan borik asit şeklinde idrarlar atılırlar [20].

Bor ilavesinin plazma glikoz, insülin ve pirüvat düzeylerinde değişimlere neden olduğu plazma glikoz düzeyinde meydana gelen azalmanın, borik asidin glikozun hidroksil grubu ile kompleks oluşturması sonucu olduğu ileri sürülmüştür [4,21]. Kan serumunda düşük miktarda bulunan bor karaciğerde, β -karoteni, vitamin A' ya çevirmektedir. Borik asit ile beslenen ratlardaki vitamin A seviyesinin, boraks ile beslenen ratlara göre daha fazla olması, gastrotestinal bölgede boraksda bulunan borun, borik asitteki göre daha az absorbe edilmesi şeklinde açıklanmıştır [22].

Kemik metabolizmasında bor, kalsiyum, magnezyum, vitamin D ile ilişkilidir [23]. Diyetle bor alımında kan serumunda östrojen, testosteron hormonu seviyesinin ve iyonize kalsiyum miktarının arttığı, vitamin D oranının azaldığı ve magnezyum eksikliği gözlenmiştir [22]. Bor bileşiklerinin lipid metabolizması ile ilgili olduğu, yapılan bir çalışmada 14 gün boyunca bor ile verilen ratların kanında LDL, trigliserid ve kolesterol miktarlarında önemli ölçüde düşüş, HDL oluşum miktarında ise artış olduğu gözlenmiştir [24].

Borun düşük miktarlarda kullanımının redükte glutatyon (GSH) miktarını artırdığı, lipid peroksidasyonunu engellediği kaydedilmiştir [25].

Yapılan başka bir çalışmada, borik asit eksikliğinde, eritrositlerde süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitelerinde artma olduğunu gözlemiştir [26].

Turkez ve arkadaşları (2007) yaptıkları çalışmada, düşük konsantrasyondaki (15 mg/L) borik asidin eritrositlerde süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesini arttırdığını, yüksek konsantrasyonda (500 mg/L) borik asit kullanıldığında ise süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesini azaldığını bildirmişlerdir [27].

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise 100 mg/kg borik asit verilen ve 100 mg/kg boraks verilen gruplar kontrol grubu ile kıyaslandığında borik asit ilave edilen gruplarda bulunan ratların total antioksidan kapasitesinde değişme olmadığı bildirilmiştir [5].

2. OBEZİTE

Gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerin en büyük sorunlarından biri obezitedir. Dünya sağlık örgütü tarafından adipoz dokuda sağlığı bozabilecek düzeyde anormal veya aşırı yağ birikimi olarak tanımlanan obezite, vücut yağ oranının artması, davranış, endokrin ve metabolik değişikliklerle karakterize karmaşık, çok etkenli bir hastalıktır. Ayrıca en riskli 10 hastalık arasında gösterilmiş ve aynı örgüt tarafından yürütülen çalışmalarda önemli bir kanser sebebi olarak bildirilmiştir. Aşırı kilo kavramı, boy ve yaşa göre standarttan daha kilolu olanları belirtmekte kullanılırken, obezite aşırı vücut yağını belirtmektedir [8]. Vücutta yağ ve kas dokunun tanımlanması bu konuda önemlidir, çünkü vücudun hangi endekslere göre normal olduğunun bilinmesi ile ancak obez insanlar belirlenebilir. Bunun içinde birçok laboratuvar yöntemleri ile vücut bileşenlerinin oranları bildirilmiştir [28]. Dünya sağlık örgütü tarafından kullanılan vücut kitle indeksine (VKİ) göre, VKİ; 25-29,9 kg/m² arası olanlar fazla kilolu, 30-39,9 kg/m² arası olanlar obez, 40 kg/m² ve daha üstü olanlar ise morbid obezite olarak sınıflandırılmaktadır. Vücut kitle indeksi >25 kg/ m² nin üzerindeki bireylerde komplikasyon gelişme riski artmaktadır [8].

Tablo 2. Vücut Kitle İndeksine Göre Kiloların Sınıflandırması

Sınıflandırma	VKİ (kg/m ²)
Düşük kilo	<18.5
Normal aralık	18.5 – 24.9
Aşırı kilo	≥25
Pre-obez	25.0-29.9
Obez sınıf I	30.0-34.9
Obez sınıf II	35.0-39.9
Obez sınıf III	≥40

Obezitenin oluşumunun sebepleri arasında alınan enerjinin harcanan enerjiden fazla olması veya yağ metabolizmasında bozukluk, stres, genetik yatkınlık, düşük aktivite, sosyal faktörler gibi etkenler sayılabilir. Genetik yatkınlık, genetik olarak bazal metabolizmadaki sorunlar sebebiyle yağ oksidasyonun yavaş olması veya obez ailenin çocuklarının da obez olma olasılığının daha yüksek olması olarak açıklanabilir. Ayrıca stres durumunda bireylerin kontrolsüz yiyecek almaları obeziteye neden olabilir [29].

Normalde yemek yeme sıklığı, vücuttaki yağ ve karbonhidrat depolarıyla orantılı olarak düzenlenmektedir. Normal bir insanda bu depolar uygun düzeyini aştığı zaman aşırı depolanmayı önlemek amacıyla beslenme sıklığı azaltılmaktadır. Ancak obez kişilerde bu durum gerçekleşmemektedir. Bu kişilerde besin alımı vücut ağırlığının çok üzerine çıkmadığı sürece azaltılamaz. Bu durum, düzenlenmeyi etkileyen psikolojik faktörlerden kaynaklanabileceği gibi düzenleyici sistemin kendisinde bulunan sorundan veya anormalliklerden kaynaklanabilmektedir [30,24].

Nadir görülen durumlarda ise, örneğin Doğu Avrupa'da, bazı Pasifik adalarında, Avustralya yerlilerinde ve Amerika'daki bazı Kızılderili kabilelerinde obezite genel bir sorundur. İnsanlığı etkileyen hastalıklardan hiçbiri obezite kadar yaygın olmamıştır. Obezite, veba, tüberküloz ve AIDS gibi enfeksiyöz bir etkenden kaynaklanan

hastalıklardan farklı olarak yeme alışkanlığı, toksik kimyasallar, yaşam tarzı gibi birçok faktöre bağılı olan bir mekanizma ile gelişmektedir [31].

İştah, doyma, enerji ve besin alınımını düzenleyen merkez hipotalamus olup, medial bölgesi tokluk merkezidir. Bu nedenle bu bölgede olabilecek bir hasar tokluk hissinin oluşmasını engelleyebilir ve buna paralel olarak doymazlık, aşırı besin alımı ve şişmanlık göstergeleri başlayabilir. Ayrıca son yıllarda adipoz dokulardan üretilen leptin adındaki polipeptidin, hipotalamusu ve dolayısıyla besin alınımını doğrudan etkilediğı belirtilmektedir [32].

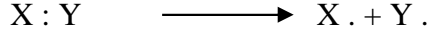
Borun canlı ağırlık değışimi üzerine etkileri tam olarak açıklanamamıştır. Yapılan bir çalışmada bor kullanımının ve vücut ağırlığını önemli ölçüde azalttığı kaydedilmiştir [9].

3. SERBEST RADİKALLER

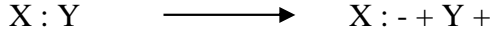
Serbest radikaller; dış orbitallerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron içeren moleküllerdir [33]. Dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron bulunması serbest radikallerin reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için, kimyasal aktifliğı yüksek moleküllerdir [5,34].

Serbest radikaller üç temel mekanizmayla oluşmaktadır [34].

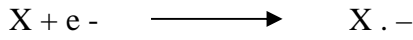
a) Kovalent bağların homolitik kırılması ile:



b) Normal bir molekülün elektron kaybetmesi veya heterolitik bölünmesi ile:



c) Normal bir moleküle elektron transferi ile:



3.1. Serbest Radikal Oluşumunda Eksojen Faktörler

- 1. Diyetsetel faktörler:** Çoklu doymamış yağ asitlerince zengin gıdalarla beslenme, alkol, fazla kalorili beslenme (obezite), hayvansal proteinlerce zengin beslenme, az sebze ve meyve yenmesi, yiyeceklerin uygun olmayan ortam ve koşullarda hazırlanması.
- 2. Çevresel faktörler:** Sigara dumanı, hava kirliliği (O₃, NO₂, SO₂, Hidrokarbonlar), radyasyon asbest ve pestisitler gibi kirleticiler.
- 3. İlaçlar:** Antikanser ilaçlar, glutatyon tüketen ilaçlar.

3.2. Serbest Radikal Oluşumunda Endojen Faktörler

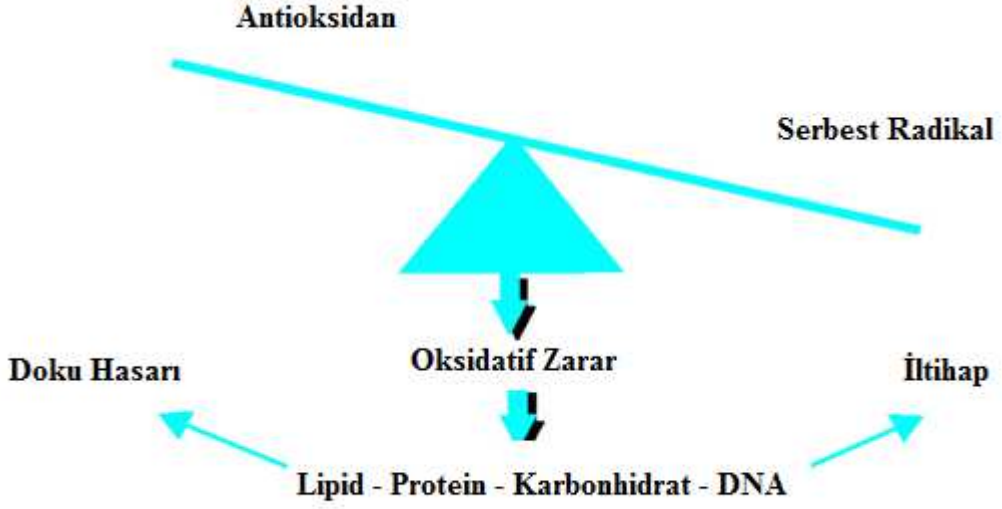
1. Fiziksel egzersiz / sedanter (hareketsiz) yaşam
2. Stres
3. Yaşlılık
4. Doku hasarı ve kronik hastalıklar (Ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon, iskemi-reperfüzyon hasarı gibi)
5. Diyetsetel antioksidan alınımını etkileyen koşullar (istahsızlık, malabsorbsiyon) [35].

3.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres; herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunma mekanizmasında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin antioksidan aktivite aleyhine bozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlanmaktadır [6]. Oksidatif stresin organizmada birçok lokal ve sistemik hastalığın meydana gelmesinde, ilerlemesinde ve komplikasyonlarının ortaya çıkmasında neden olduğu gösterilmiştir. Oksijen, serbest radikallerin ana kaynaklarından birisi olup serbest radikallerin oksidan özelliğinin yapısındaki oksijenden kaynaklanmaktadır [36].

Oksidatif stres; serbest radikallerin üretim hızlarına, aktivitelerine ve savunma sistemine bağlı olarak oluşur. Serbest radikallerin fazla üretilmesi, oksidazlar, hem içeren proteinazlar, metaloproteinazlar gibi enzimlerin hücre dışına çıkması, serbest radikallerle kompleks demir bakır bileşikleri ve savunma sistemindeki bozukluklar oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır. Günümüzde oksidatif stresin, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, kanser ve yaşlanma gibi birçok önemli hastalığın patogeneğinde etkili olduğu düşünülmektedir. [37].

Oksidatif stres, tüm hücrelerde yapısal ve fonksiyonel hasara neden olabilmektedir. Bilinen hedefleri çoklu doymamış yağlar, şekerler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Oksidatif stres, hücre redoks sistemini, hücre içi haberleşmeyi ve gen transkripsiyonunu etkileyerek, hücre döngüsünün bozulmasına ve sonuçta hücrenin ölümüne neden olmaktadır [38,39].



Şekil 3.3. Oksidatif Stres Oluşumu

3.4. Serbest Radikallerin Etkileri

3.4.1. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri

İyonize edici radyasyona maruz kalınması ile oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona sebep olmaktadır. Sitotoksik etki, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından kaynaklanan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir [40,41].

3.4.2. Proteinlere Etkileri

Proteinler, radikallerin etkilerine, lipitlere oranla daha az hassastır ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmungulobin G ve albumin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin ise üç boyutlu yapıları bozulmaktadır [40,42,43].

3.4.3. Karbohidratlara Etkileri

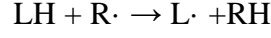
Monosokkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanmaya neden olabilirler. Serbest oksijen radikalleri bağ dokunun önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit gibi karbonhidratların parçalanmalarına da yol açabilirler [40,44].

4.2.4. Lipitlere Etkileri

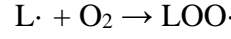
Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etkileri lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Biyolojik zarların yapısı lipit ve proteinden oluşmaktadır, lipit peroksidasyonu lipitlere olduğu kadar zar proteinlerine de zarar verir [45]. Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin reaktif oksijen türleri tarafından peroksitler, alkoller, malondialdehit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılma tepkimelerine denilmektedir. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olan kopma ve kırılmalara yol açmaktadırlar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen hücresel hasar geri dönüşümsüzdür [43,44].

Zincir reaksiyonu şeklinde olan lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan radikal etkisiyle çoklu doymamış yağ asitleri üzerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bu reaksiyon başlangıç reaksiyonu olarak isimlendirilir.

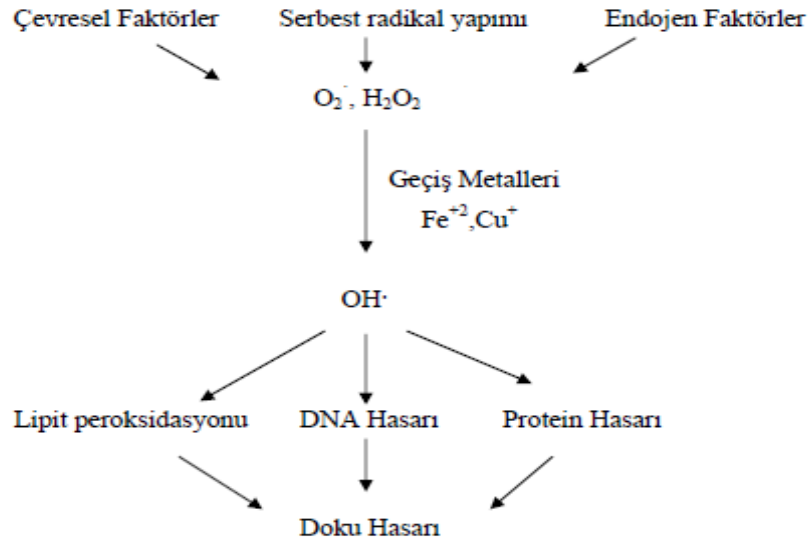
Hidrojen atomu uzaklaşması ile karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali (**L•**) niteliği kazanır.



Oluşan lipit radikalının molekül içi çift bağlarının pozisyonunun değişmesiyle konjuge dienler oluşur. Bir alkenin iki çift bağı arasında bir tane tekli bağ varsa bu yapı konjuge dien olarak isimlendirilir. Bu şekilde moleküler düzenleme sağlanmış olur. Lipit radikalının moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali (**LOO•**) oluşur.



Peroksil radikali diğer komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasına neden olurken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksitlerine (**LOOH**) dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine dönüşebilmektedir. Bu tepkime ilerleme reaksiyonu olarak isimlendirilir [41,43-47].



Şekil 4.2. Oksidatif Stres Oluşumu

4. ANTIOKSİDANLAR

Serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarları azaltmak için etki gösteren moleküllere antioksidanlar denir. Biyolojik sistemlerde çeşitli antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar, bu olaya da antioksidan savunma denir. Bütün hücreler güçlü savunma sistemlerinin varlığı ile oksidatif strese karşı savaşmaktadırlar, savunma sistemlerini serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır ve savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi etkili olmaktadır. Ömürleri çok kısa olmasına rağmen içerdikleri paylaşılmamış elektronlar nedeniyle serbest radikaller; lipid, karbonhidrat, protein ve nükleik asitler gibi makromoleküllerle etkileşmekte, hücre yapı ve organellerinde, bunların fonksiyonlarında önemli hasarlara yol açabilmektedir.

Antioksidanlar oksidan molekülleri 4 farklı mekanizma ile etkisizleştirirler;

- **Temizleme Etkisi:** Enzimler tarafından yapılır. Oksidanları zayıf bir moleküle çevirir.
- **Baskılama Etkisi:** Vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır. Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisizleştirir.
- **Onarıcı Etki:** Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu guruba örnek olarak verilebilir. Ancak Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir.
- **Zincir Koparma Etkisi:** Hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini gibi moleküller tarafından yapılır. Ağır metaller şeklindedir ve oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engeller [42,48-52].

5. OBEZİTE ve OKSİDATİF STRES

Obezite barındırdığı kardiyovasküler risk faktörlerinden bağımsız olarak “artmış kronik oksidatif stres durumu” olarak tanımlanmış bir hastalıktır. Obezite ile ilgili oksidatif stres artışının mekanizması için ileri sürülen nedenlerinden biri obezitenin miyokardın metabolik ve mekanik iş yükünün artırmasıdır. Miyokartta artmış oksijen tüketimi daha fazla ROS üretimine neden olmaktadır [53].

Obezite de oksidatif stresi artıran etkenler arasında hiperglisemi, doku lipit düzeyinin artması, yetersiz antioksidan alımı, reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu artırmaktadır [54]. Metabolik sendrom bileşenlerini taşıyan birçok insanda, insülin kaynaklı glukoz metabolizması bozuklukları olduğu epidemiyolojik çalışmalarla desteklenmiştir. İnsülin direnci ve yağ dokusunda ki artışın, Tip-II diyabetin patogeneze katkı sağladığı görülmektedir. İnsülin, yakıtların dokular tarafından kullanımını düzenleyen en önemli hormonlardan biridir. İnsülin direnci, hedef dokuların (kas, karaciğer ve yağ dokusu) insüline olan cevabının azalmasıdır. İnsülin direncinde; bir yandan plazma lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesi azalır, plazma trigliseridleri artarken, bir yandan da karaciğerde LDL aktivitesinin artması nedeniyle HDL'nin yıkımı hızlanır [55].

Son yıllarda borun canlılar üzerinde etkileri ile ilgili araştırmalar ilgi artmıştır. Borik asidin vücut ağırlığı üzerinde etkili olduğu, hatta maruz bırakılan doz miktarı ile azalan vücut ağırlığının doğru orantılı olabileceği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir [9,80]. Bor ve bor ürünleri canlı organizmada bulunan biyokimyasal parametreler üzerinde de oldukça etkilidir. Yapılan çalışmalar borun katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz enzimlerinin aktivitesinde azalmalara sebep olduğu bildirilmiştir [26].

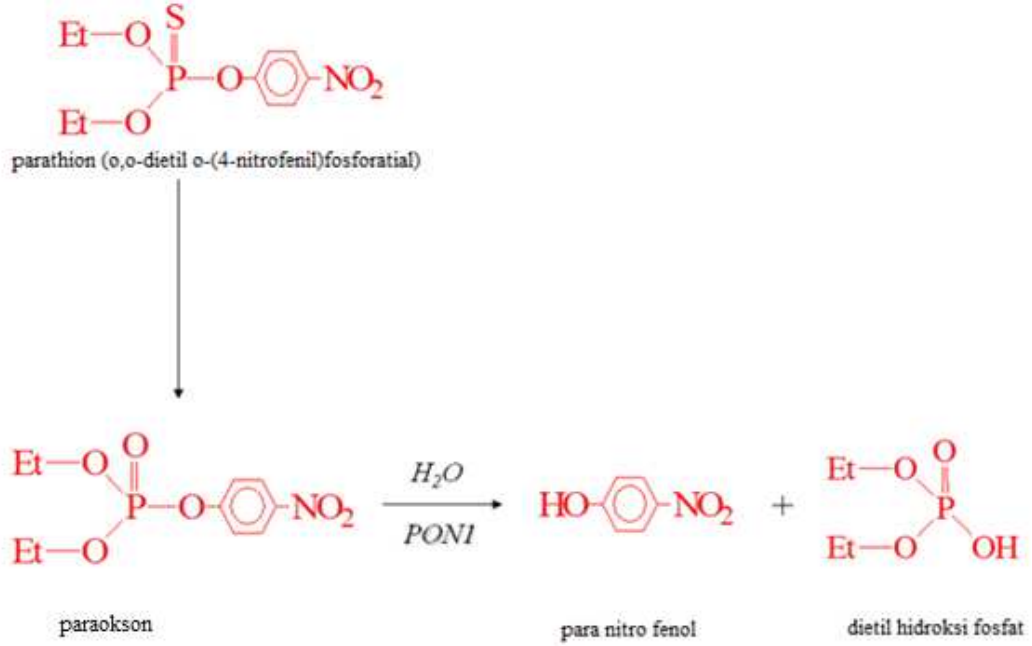
Birçok araştırmacı borik asidin antioksidan özelliğinin araştırılması konusunda çalışmalarda bulunmuştur. Elde edilen sonuçlarda borik asidin lipid peroksidasyonunu arttırdığını ve HDL seviyesinde azalmalara sebep olduğu, ayrıca dışında antioksidan etki gösteren enzimler üzerinde inhibe edici etkisini olduğu kaydedilmiştir. Borik asit varlığında, oksidatif stresin ve lipid peroksidasyonun göstergesi kabul edilen MDA

oluşumunda artış olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir [26,77,78]. Fakat borik asit ile yapılan bazı çalışmalar ise bu durumun tersini işaret etmektedir. Borik asidin katalaz ve SOD aktivitelerinde artmaya sebep olduğu ve belirli dozlarının ise lipid peroksidasyonunu engellediği bildirilmiştir [5,27].

6. PARAOKSONAZ

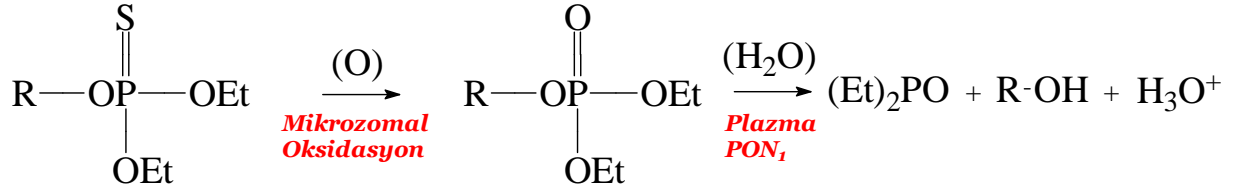
Paraoksonaz (PON1: E.C: 3.1.8.1), hem arilesteraz (E.C: 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip, kolinesterazların güçlü inhibitörü olan paraoksonu hidroliz edebilen [56], glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır [57].

İlk kez 1946'da Abraham Mazur tarafından hayvan dokusunda organofosfat bileşiklerini hidroliz edebilen bir enzim olarak bildirilmiş [58]. 1953 yılında Aldridge W.N. tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak teşhis edilmiştir [59,60]. PON enziminin yaklaşık %15,8'ini karbonhidratların oluşturduğu bir glikoprotein olup bu karbonhidratlar 4 ayrı protein birimine bağlıdır. Protein içeriğinde en fazla bulunan amino asit lösendir. Fakat içinde yüksek oranda sistein de bulunmaktadır. Protein yapısında bulunan disülfid bağları sebebiyle siklik bir yapıdadır [61,62].



Şekil 6.1. Paraoksonazın Etki Mekanizması

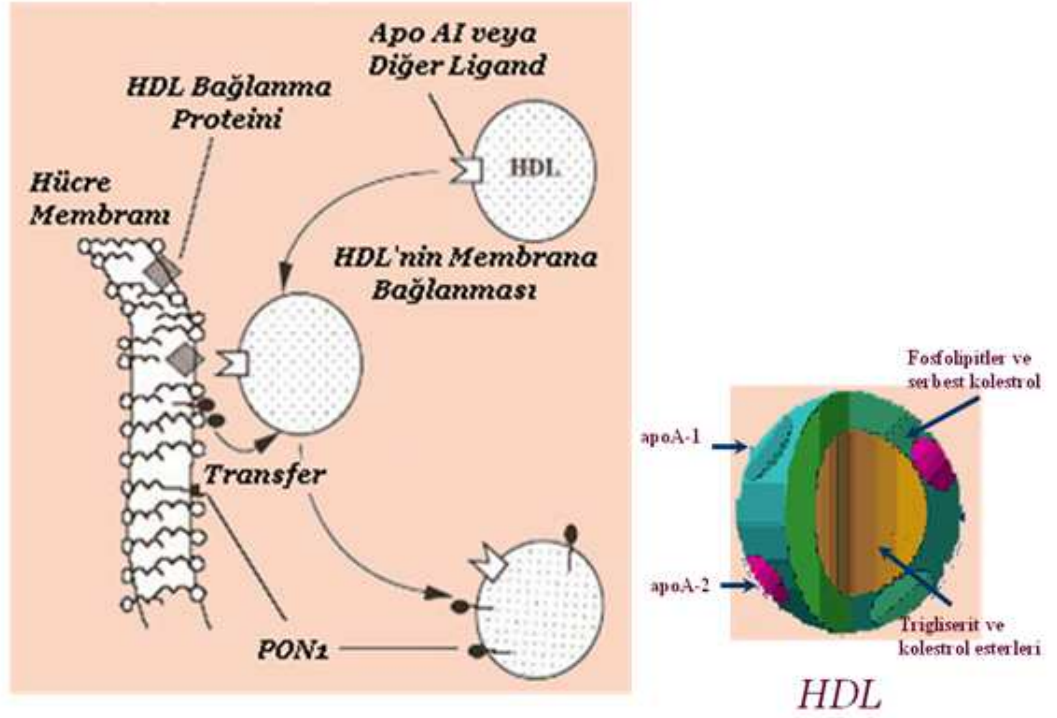
Parationun toksik metaboliti olan paraoksonu (organofosfat substratı) hidroliz edebilmesinden dolayı bu ismi almıştır. [63]. Paraoksonaz ekspresyonundan sorumlu insan geni HUMPONA'dır. İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 şeklinde 3 üyesi bulunmaktadır. Memeliler arasında PON1, PON2 ve PON3 genleri %60 sekans benzerliği göstermektedir. PON ailesi enzimleri substrata spesifik hidrolazlardır. PON1 bu ailenin ilk bulunan ve üstünde en çok çalışma yapılanıdır [64]. PON1 ve PON3 plazmada bulunmasına karşılık PON2 bulunmaz. PON1 eksprese eden mRNA'nın karaciğerin yanı sıra böbrek, kalp, beyin, ince bağırsak ve akciğer dokularının endotelial tabakasında lokalize olduğu, immuno-histokimyasal yöntemlerle belirlenmiştir. Hemen hemen tüm dokularda görülen ve PON1 mRNA'ya göre, dokular arasında daha geniş bir dağılım gösteren PON2 geninin protein ürünleri henüz bilinmemektedir. Son yıllarda tavşan karaciğeri ve serumundan saflaştırılan ve bir laktonaz olduğu tanımlanan PON3 gen ürününün; en çok plazmada HDL'nin yapısında bulunduğu, insektisit ve sinir gazı yapımında yaygın olarak kullanılan organofosfat bileşiklerinin hidrolizini katalizlediği, bu nedenle de in vivo ksenobiyotik metabolizması ve toksikolojik çalışmalar için büyük önem taşıdığı bilinmektedir [65,66].



Şekil 6.2. Paraoksonazın Etki Mekanizması

PON enzimi, HDL₂ ve HDL₃ içersinde lokalize durumdadır ve HDL₃ içersinde HDL₂ içindeki yoğunluğundan 25 kat daha fazladır. PON N-terminal bölgesinin hidrofobik özelliği sebebiyle, HDL'nin rahatça lipidlere bağlanmasını sağlamaktadır [67].

Ferreti ve ark. (2005) sağlıklı ve obez kişilerde lipoprotein, oksidatif stres ve HDL-PON aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında; obezlerde HDL-PON aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu, HDL içeriğindeki değişimlerin HDL yüzeyine paraoksonaz bağlanmasını etkileyerek enzim aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir [68].



Şekil 6.3. HDL'nin Hücre Yüzeyine Bağlanması

PON1 355 aminoasitten oluşan, izoelektrik noktası 5.1 olan ve yüksek oranda lösin içeren, kalsiyum bağımlı bir esterazdır [61]. Bazı yayınlarda PON1 proteininin metiyonin amino asidi sayılmayarak 354 amino asitten oluştuğu belirtilmektedir [69].

HDL, PON1'in serumdaki konsantrasyonu için önemli bir gösterge olup, HDL eksikliği olan durumlarda PON1 konsantrasyonu da düşmektedir [64]. PON1' in iyi bilinen özelliklerinden biri organofosfatları, aril ve alkil halojenurleri hidroliz etme yeteneğidir [70]. PON1, hidrolize ettiği organofosfat substratlarına geri dönüşümlü olarak bağlanmakta ve bu maddelerin nörotoksik etkisinden sinir sistemini korumaktadır [62,66,71]. PON1 enzimi LDL'yi oksidasyondan koruyucu özelliği ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere diğer radikalleri nötralize etme kapasitesi nedeniyle antioksidan islevi de bulunmaktadır. PON1; HDL'nin lipid peroksidlerini metabolize etmesinde ve LDL'ler üzerinde birikmelerine engel olma yeteneğindeki en önemli faktördür [61]. PON1 antiaterojen olan HDL'nin ana yapısında bulunan bir antioksidan olduğu için PON1 aktivitesindeki azalma; MS için önemli bir risk faktörü sayılmaktadır [56].

Metabolik sendromda; oksidatif stresin insülin direncinden sorumlu olduğu ve bu durumun antioksidan kapasitenin aşılması sonucu PON1 aktivitesinde azalmaya neden olduğu ileri sürülmektedir [72]. Buna paralel olarak Senti ve arkadaşlarının metabolik sendromlu hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada PON1 aktivitesinde azalama olduğunu bildirmişlerdi [73].

PON1 enziminin aynı şartlarda (sıcaklık, pH vs.) farklı araştırmacılar tarafından farklı Km değerleri verdiği gözlenmiştir. PON1'in organofosfat substratlarına hidrolitik etki gösterebilmesi için kalsiyuma ihtiyaç duyarken, lipidperoksitlerin birikimini engellemek için gösterdiği aktivasyonlarda kalsiyuma ihtiyaç yoktur [74]. PON1 laboratuvar ortamında Cu⁺²' in indüklediği lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği, nonkompetitif PON1 inhibitörleri serbest radikal oluşumunu ve Cu⁺²' in indüklediği okside HDL miktarını arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca PON1 kolestrollerin makrofajlardan çıkışına etkili olduğu bildirilmiştir [62,66,71].

Bu bilgiler ışığında yapılan çalışmada borik asitin yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda borik asitin total oksidan kapasite total antioksidan kapasite, HDL düzeyleri ve paraoksonaz aktivitesine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

7. MATERYAL ve METOT

7.1. Materyal

Araştırma materyalini Kafkas Üniversitesi deney hayvanları ünitesinde yetiştirilen ve canlı ağırlık ortalaması 226.95 ± 5.75 g, yaklaşık 4-5 aylık 40 adet Sprague Dawley cinsi Rat oluşturdu. Araştırma için Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Karar no: KAÜ-HADEK: 2012-67) onay alındı. Her bir grupta 10 adet rat olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Gruplar bir haftalık adaptasyon süresi boyunca yem ve su *ad libitum* olarak verildi. Deney süreci boyunca hayvanların haftalık ağırlıkları kaydedildi. Yağlı diyetle beslenen grubun yemlerine %40 oranında tereyağı ilave edilerek günlük olarak hazırlandı.

Grup I (Kontrol Grubu) : Bu gruba normal yem ve içme suyu *ad libitum* verildi. Ağırlıkları haftalık olarak kaydedildi.

Grup II (Yağlı Diyet Grubu): Bu gruptaki hayvanların yemlerine %40 oranında tereyağı ilave edildi. Suları ise normal olarak verilmeye devam edildi.

Grup III (Yağlı Diyet + Borik Asit Grubu): Bu gruptaki hayvanların yemlerine %40 oranında tereyağı ilave edilen yem ve içme sularına 1 mg/L oranında borik asit eklendi.

Grup IV (Borik Asit Grubu): Bu gruba normal yem verildi ve içme sularına ise 1 mg/L oranında borik asit eklendi.

Denemeden 6 hafta sonra hayvanlardan kan numuneleri eter anestezisi altında kalplerine girilerek boş tüplere kan numuneleri alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı. Örnekler analizler yapılincaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Numunelerde TAK ve TOK düzeyleri ticari kit ile (Rel Assay, Gaziantep- Türkiye), PON aktivitesi Gülcü ve Gürsu tarafından (2003) modifiye edilen yöntemle göre kolorimetrik olarak ölçüldü [79]. Serum HDL düzeyleri ticari kit (Roche 657621) ile otoanalizörde (Cobas C-501, Belgium) ölçüldü.

7.2. METOD

7.2.1. Kullanılan Aletler ve Malzemeler

1. Mikrolak okuyucu (Biotek, Powerwave XS)
2. Santrifüj (Hettich, Mikro 200)
3. Etüv (Labart)
4. Vorteks (Velp Scientifica, Zx classic)
5. Mikrolak Çalkalayıcı (Biosan, PSU-2T)
6. Distile su cihazı (GFL, Water stills 2004)
7. Hassas terazi (Denver Instrument, TP-214)
8. Manyetik Karıştırıcı (Wisestir, MSH-20A)
9. pH metre (Orion 3 Star)
10. Otomatik pipet (Eppendorf)
11. Stepper pipet (Socorex)

7.2.2. Analizler İçin Kullanılan Kimyasallar

1. Hidroklorik Asit (Merck)
2. Trisma (Merck)
3. Kalsiyum Klorür Dihidrat (Sigma-Aldrich)
4. Aseton
5. Paraokson (Supelco)

7.3. Total Antioksidan Kapasite Ölçümü

7.3.1. Deneyin Prensibi

Numunede bulunan antioksidan maddelerin mavi-yeşil renkli ABTS (2,2'-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radikali ile reaksiyona girerek bileşiğin renginde azalmaya ya da rengin kaybolmasına neden olması prensibine dayanmaktadır.

Renk değişimi ile numune içindeki antioksidan miktarı arasında ters ilişki bulunmaktadır. Standart olarak E vitamini analogu olan trolox kullanılmakta ve sonuç mmol Trolox equiv./L olarak ifade edilmektedir.

7.3.2. Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif	1:	Test tamponu
Reaktif	2:	Renklendirilmiş ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6 sulphonic acid)] radikal solüsyonu
Standart	1:	Kör solüsyonu (deiyonize su)
Standart	2:	1.0 mmol Trolox Equiv./L) solüsyonu

7.3.3. Deneyin Yapılışı

Mikroplağın kuyucukları kör, standart ve test olmak üzere işaretlendi. Bütün kuyucuklara 250 µl reaktif 1 konulduktan sonra kör kuyucuğuna 15 µl standart 1, standart kuyucuğuna 15 µl standart 2 ve test kuyucuğuna 15 µl serumeklenerek, 660 nm'de ilk okuma yapıldı. Kuyucuklara reaktif 2'den 37,5 µl pipetlenerek 37 °C'deki 5 dakikalık inkübasyonu takiben 660 nm'de ikinci okuma yapıldı.

Tablo 7.3.3. Total Antioksidan Kapasite Analizi

	Kör	Standart	Test
Standart 1	15 µl	-	-
Standart 2	-	15 µl	-
Numune	-	-	15 µl
Reaktif 1	250 µl	250 µl	250 µl
660 nm ilk okuma			
Reaktif 2	37,5 µl	37,5 µl	37,5 µl
37 °C’de 5 dakika inkübasyon			
660 nm ikinci okuma			

7.3.4. Sonuçların Hesaplanması

$$\text{Sonuç} = [(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Örnekte})] / [(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Std2})]$$

$$\Delta \text{ Standart 1'in absorbanansı} = (\text{Std 1'in ikinci absorbanansı} - \text{Std 1'in ilk absorbanansı})$$

$$\Delta \text{ Standart 2'nin absorbanansı} = (\text{Std 2'in ikinci absorbanansı} - \text{Std 2'in ilk absorbanansı})$$

$$\Delta \text{ Örneğin absorbanansı} = (\text{Testin ikinci absorbanansı} - \text{Testin ilk absorbanansı})$$

7.4. Total Oksidan Kapasite Analizi

7.4.1. Deneyin Prensipleri

Örnekte bulunan oksidanlar Fe^{+2} -o-dianisidin kompleksini ferri (Fe^{+3}) iyonuna oksitlerler. Fe^{+3} asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak

ölçülmektedir. Standart olarak hidrojen peroksit kullanılmakta ve sonuç $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak ifade edilmektedir.

7.4.2. Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif	1:	Test tamponu (50 ml x1)
Reaktif	2:	Prokromojen solüsyonu (10 ml x 1)
Standart	1:	Kör solüsyonu (deiyonize su)
Standart	2:	Stabilize edilmiş standart stok solüsyonu (SSSS) (800 mM H_2O_2 Equiv./L, 10 ml x1)

Teste başlamadan önce standart solüsyonunu hazırlamak için, SSSS 40000 kat sulandırıldı. Bu işlem için SSSS stok solüsyonundan 50 μl alınarak 10 ml deiyonize su içerisine katıldı ve vortekslendi (birinci basamak dilüsyonu). Daha sonra hazırlanan bu solüsyondan tekrar 50 μl alınarak 10 ml deiyonize suya katıldı ve vortekslendi (ikinci basamak dilüsyonu). Böylelikle final konsantrasyonu 20 mikromolar olan H_2O_2 standart solüsyonu hazırlandı.

7.4.3. Deneyin Yapılışı

Serum oksidan kapasiteleri analizi için hacimler yarı yarıya azaltılarak kullanıldı. Mikroplağın kuyucukları kör, standart ve test olmak üzere işaretlendi. Bütün kuyucuklara 250 μl reaktif 1 konulduktan sonra kör kuyucuğuna 37,5 μl standart 1, standart kuyucuğuna 37,5 μl standart 2 ve test kuyucuklarına 37,5 μl serumeklenerek, 530 nm'de ilk okuma yapıldı. Kuyucuklara reaktif 2'den 12,5 μl pipetlenerek 37 °C'deki 5 dakikalık inkübasyonu takiben 530 nm'de ikinci okuma yapıldı.

Tablo 7.4.3. Total Oksidan Kapasite Analizi

	Kör	Standart	Test
Standart 1	37,5µl	-	-
Standart 2	-	37,5µl	-
Numune	-	-	37,5 µl
Reaktif 1	250 µl	250 µl	250 µl
530 nm ilk okuma			
Reaktif 2	12,5 µl	12,5 µl	12,5 µl
37 °C’de 5 dakika inkübasyon			
530 nm ikinci okuma			

7.4.4. Sonuçların Hesaplanması

Sonuç = $[(\Delta\text{Abs Örne}) / (\Delta\text{Abs Std2})] \times 20$ (Std 2 değeri)

$\Delta\text{Abs Örne}$ = Testin ikinci absorbansı – Testin ilk absorbansı

$\Delta\text{Abs Std2}$ = Standart 2’nin ikinci absorbansı – Standart 2’nin ilk absorbansı

Std 2 değeri = 20 µmol H₂O₂Equiv./L

7.5. Paraoksonaz Aktivitesi Analizi

7.5.1. Deneyin Prensibi

Substrat olarak kullanılan paraoksonun (o,o-dietil-o-p-nitrofenilfosfat), PON1 tarafından hidrolizi sonucu açığa çıkan p-nitrofenolün 25’C’de spektrofotometrik olarak 412 nm’de absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır. PON1 aktivitesi, p-nitrofenol için belirlenmiş olan molar absorpsiyon katsayısı ve deneyde yapılan dilüsyonlar göz önüne alınarak U/L olarak hesaplandı. Paraoksonaz aktivitesi için 1 µmol paraoksonu 1 dakikada p-nitrofenol’e dönüştüren enzim aktivitesi Ünite (U) olarak tanımlanmıştır.

7.5.2. Deneyde Kullanılan Çözeltiler

- a- **HCl çözeltisi (0.1 M) (a):** 10 ml'lik 1 M HCl çözeltisinin hacmi, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- b- **Tris Çözeltisi (0.1 M) (b):** 1.21 g tris, distile suda çözüldü ve hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- c- **Tris-HCl Tamponu (20 mM, pH: 8):** 29 mL a çözeltisi ile 50 ml b çözeltisi karıştırılarak, pH'sı 8'e ayarlandı. pH'sı 8 ayarlanan karışımın hacmi, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- d- **Çalışma Ayıracı [kalsiyum klorür (2 mM)-paraokson (2 mM)]:** 29.4 mg kalsiyum klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), bir miktar tris-HCl tamponunda çözüldü. Üzerine 1.5 ml asetonla çözülen, 44 µl paraokson eklenerek tris-HCl tamponu ile hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- e- **Aseton:** Normal saflıktaki aseton kullanıldı

7.5.3. Deneyin Yapılışı:

Numune ve kör kuyucuklarına 280 µl çalışma ayıracı konulur. Daha sonra kör kuyucuğuna 8 µl distile su, numune kuyucuğuna ise 8 µl serumilave edilir. 25°C' de, 2 dk boyunca köre karşı numunenin 412 nm'deki absorbans artışı ölçülür.

$$U/L (\mu\text{mol/dk/L}) = \frac{\Delta A/dk \times SF \times 10^6}{\epsilon \times 1/0.6}$$

$\Delta A/dk$: Bir dakikadaki absorbans değişimi

ϵ : p-nitrofenolün molar absorpsiyon katsayısı (mevcut deney şartları için 18290).

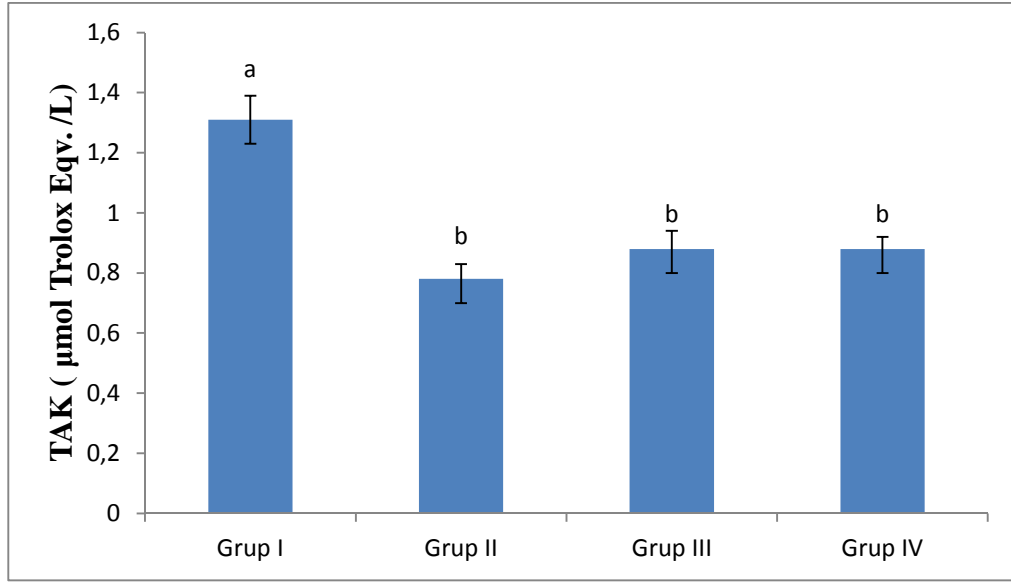
SF : Seyreltme faktörü (Total hacim/Numune hacmi)

10^6 : µmole çevirme faktörü

1/0.6 : Plate ışık yolunun uzunluğu

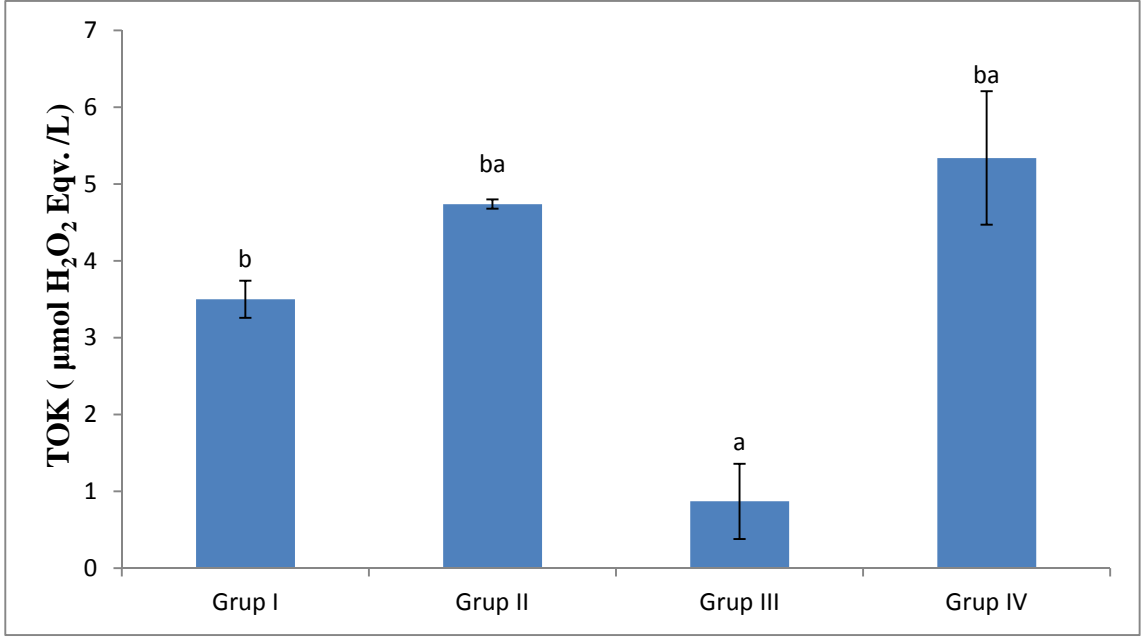
8. BULGULAR

Numunelerde saptanan TAK değerleri, kontrol grubu ile mukayese edildiğinde diğer gruplara göre istatistiksel olarak ($P < 0.001$) yüksek olduğu saptandı.



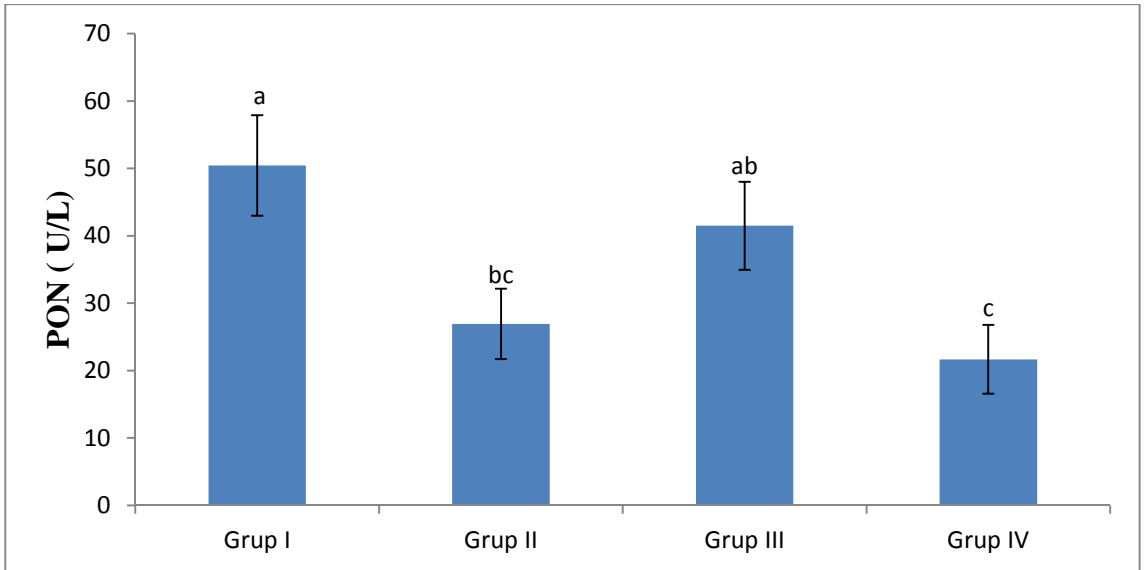
Grafik 8.1. Gruplarda Saptanan Total Antioksidan Kapasite Seviyeleri

TOK düzeyleri kontrol ve diğer deneme gruplarına göre mukayese edildiğinde; kontrol grubunda saptanan değerlerin Grup III'e göre düşük olduğu, diğer deneme ile (Grup II ve Grup IV) benzerlik ($p=0,063$) gösterdiği saptandı.



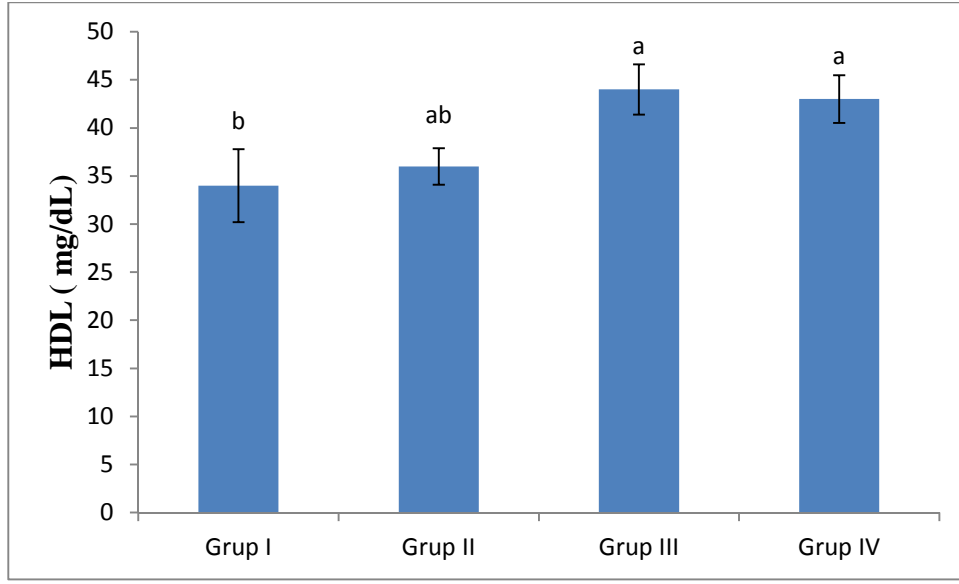
Grafik 8.2. Gruplarda Saptanan Total Oksidan Kapasite Seviyeleri

Numunelerde saptanan PON aktivitesi kontrol grubu ile mukayese edildiğinde Grup II ve Grup IV’de istatistiksel olarak (P=0,05) düşük olduğu saptandı.



Grafik 8.3. Gruplarda Saptanan Paraoksonaz Enzimin Aktivitesi

Numunelerde saptanan HDL seviyeleri kontrol grubu ile mukayese edildiğinde; kontrol grubunda saptanan HDL değerleri ile Grup II’de saptanan değerler benzerlik gösterirken, Grup III ve Grup IV’de ölçülen HDL değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek saptandı (P=0,036).



Grafik 8.4. Graplarda Saptanan HDL miktarı

Tablo 8.1. Numunelerde Saptan TAK, TOK HDL Düzeyleri ve PON Aktivitesi

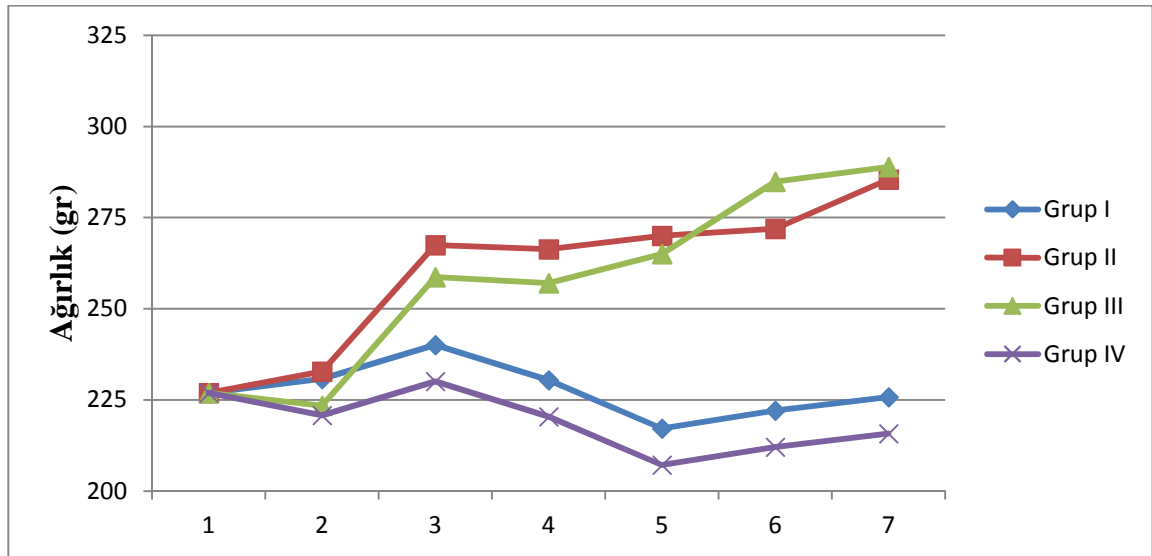
Parametreler	Grup I (Kontrol)	Grup II (Yüksek Yağlı Diyet)	Grup III (Borik Asit + Y. Yağlı Diyet)	Grup IV (Borik Asit)	P
TAK ($\mu\text{mol Trolox Eqv. /L}$)	1,31 \pm 0,08 ^a	0,78 \pm 0,05 ^b	0,88 \pm 0,06 ^b	0,88 \pm 0,04 ^b	0,001
TOK ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv. /L)	3,5 \pm 0,24 ^b	4,74 \pm 0,60 ^{ba}	5,94 \pm 0,49 ^a	5,34 \pm 0,87 ^{ba}	0,063
PON (U/L)	50,43 \pm 7,45 ^a	26,93 \pm 5,21 ^{bc}	41,49 \pm 6,54 ^{ab}	21,66 \pm 5,17 ^c	0,009
HDL (mg/dl)	34 \pm 3,8 ^b	36 \pm 1,9 ^{ab}	44, \pm 2,61 ^a	43 \pm 2,48 ^a	0,036

Çalışmada ağırlıkları ortalama $226,95 \pm 5,75$ gr olan 40 adet rat kullanıldı. 6 hafta sonunda; Grup I 225,8 gr, Grup II 285,44 gr, Grup IV 215,8 gr ve Grup III 288,87 gr olarak tartıldı.

Tablo 8.2. Grupların Haftalık Ortalama Ağırlıkları (gr)

Haftalar	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Deneme Öncesi	226,95	226,95	226,95	226,95
1. hafta	230,8	232,8	223,4	220,8
2. hafta	240,1	267,5	258,7	230,1
3. hafta	230,4	266,3	257	220,4
4. hafta	217,2	270	265	207,2
5. hafta	222,1	272	284,87	212,1
6. hafta	225,8	285,44	288,875	215,8

Ağırlık ortalamaları ortalama $226,95 \pm 5,75$ gr olan Grup I ve Grup II deneklerine ait grafikte, deneme süresince Grup II deneklerin Grup I'e kıyasla, ağırlığında artış olduğu gözlemlendi. 1. Haftadan itibaren Grup III deneklerin Grup I'e kıyasla, ağırlığında artış olduğu gözlemlendi. Grup IV deneklerin Grup I'e kıyasla, ağırlığında azalış olduğu gözlemlendi.



Grafik 8.5. Grupların Haftalık Ağırlık Değişimleri

9. TARTIŞMA ve SONUÇ

Obezite çağımızın en önemli sorunlarından biridir ve WHO günümüzün en riskli 10 hastalığı arasında göstermiştir. Teknolojinin ilerlemesi ile yaşam standartlarının yükselmesi, erişim rahatlığının sağlanması, hızlı yaşama ayak uydurma amacıyla, insanların sağlıksız ve dengesiz beslenme alışkanlığı kazanması, stresli yaşam ve bunun yanında genetik yatkınlık obezitenin başlıca oluşum sebeplerindedir. Obezite sorunu bulunan bireylerde vücuda alınan besinlerden elde edilen enerji ile vücut için kullanılan enerji miktarında dengesizlik bulunur ve bu dengesizlik sebebiyle vücutta bulunan fazla enerji çeşitli dokularda yağ olarak depo edilir ve vücut ağırlığı hızla artar [8].

Obezite ile artan oksidatif stres, serbest radikallerin miktarının artmasına ve serbest radikallerle, antioksidanlar arasındaki vücut homeostasisinde antioksidanların aleyhine doğru bozulmaya sebep olmaktadır [42]. Miyokardlara düşen metabolik ve mekanik iş miktarının artması ile miyokardlarda daha fazla oksijen tüketimi gözlenir. Artan oksijen tüketiminin sonucunda ROS miktarında ve dolayısıyla serbest radikal miktarında artışa neden olur [53].

Özata ve ark., (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, obez kişilerde eritrosit glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve bakır-çinko süperoksit (Cu-Zn SOD) aktivesinde önemli bir azalış olduğu ve obez kişilerde eritrosit TBARS düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli derecede arttığını saptamışlardır [75]. Yapılan çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen gruplarda TOK miktarında bir artışın saptanması, obezitenin antioksidan sistemi bozduğunu açıkça göstermektedir.

Farshad ve ark. (2012) tarafından, abdominal obeziteli kadınlarda yaptıkları çalışmalarında, abdominal obezli kadınlardaki Cu-Zn SOD, GSH-Px ve katalaz aktivitelerinin normal vücut ağırlığında olan kadınlarla kıyaslandığında Cu-Zn SOD, GSH-Px ve katalaz (CAT) aktivitelerinde azalışların olduğunu bildirmişlerdir. Organizmada ROS'ne karşı vücudun ilk koruma hattı olarak Cu-Zn SOD, GSH-Px ve CAT enzimleri görev almaktadır. Bu enzimlerin aktivitelerinde azalış prooksidan veya oksidan miktarındaki artışın sonucu olarak kabul edilir. Yapılan çalışmamızda TAK miktarında azalma olması, obezite aracılığı ile artan prooksidan veya oksidan

moleküllerin oluşturduğu oksidatif stres sonucu TOK düzeyinde artışa neden olması şeklinde düşünülebilir [76].

Son yıllarda bor ve bor ürünlerinin antioksidatif sistem üzerine etkileri yönünde araştırmalar hız kazanmıştır [5,27,84]. Ağır metallere maruz bırakılmış kan numuneleri üzerinde borik asit ve bor minarelerinin etkisini incelediği çalışmada, 5 ppm borik asit ilavesinden sonra, ağır metaller ile artan MDA seviyesinin inhibe edildiği bulmuşlardır. Ayrıca ağır metallerin etkisiyle azalan SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde yükseliş olduğunu ve borik asidin antioksidan etkili olabileceğini bildirmişlerdir [27]. Borik asit ve boraksın ratların antioksidatif sistem üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, bor bileşiklerinin, lipid peroksidasyonu ürünlerinden biri olan malondialdehit düzeyini azatlığını, GSH miktarını, CAT ve SOD aktivitelerini artırdığını bildirmişlerdir [5].

Turkez (2007) ve İnce (2013) tarafından yapılan çalışmaların sonucu aksine, Mert (2013), tarafından boraks dekahidratın antioksidan sistem üzerine akut etkisin araştırdığı bir çalışmada, farklı dozlarda (100mg/kg ve 200mg/kg) verilen boraksdekahidratın, antioksidan sistem üzerinde herhangi bir etkisinin olmağı kaydedilmiştir [84].

Gonzalez ve ark. (1991) anabaena sp. PCC 7119¹ türü üzerinde yaptıkları çalışmalarda borik asit eksikliğinde süperoksit dismutaz ve katalaz enziminin eritrositlerdeki miktarında artma gözlemişlerdir [26]. Süperoksit dismutaz süperoksit oluşunu radikalini etkisiz hale getiren, katalaz ise hidrojen peroksit'i suya ve oksijene ayıran reaksiyonu katalizler [77]. Ebru K. ve ark. (2002) Anadolu ve Hamidiye Arpaları üzerine yaptıkları çalışmalarında 3 gruba ayırdıkları arpaların, deney grubunun sularına 5 mM ve 10 mM borik asit ilave ederek 2 gruba ayırmışlar ve yapılan ölçümlerde, kontrol grubana mukayese edildiğinde MDA miktarının deneme gruplarında daha yüksek çıktığını ve borik asit miktarının arttıkça MDA miktarında arttığını bildirmişlerdir [78]. Çalışmamızdan elde edilen bulgular, yukarıda ifade edilen çalışmalardan farklı olarak borik asit ilavesi ile antioksidan kapasite düzeyinde azalma ve oksidan kapasitenin değişmediğini göstermektedir. Bu durumun verilen doz ve deneyin süresi gibi faktörlere bağlı değişkenlik gösterebileceğini düşünmekteyiz.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda vücut ağırlığını azaltmak için borik asidin etkili olabileceği ileri sürülmüştür [9, 80]. Borik asidin farklı dozlarının (1200, 2500, 5000, 10000, 20000 ppm) içme sularına eklenmeliye yapılan bir çalışmada, borik asit verilmesi ile vücut ağırlığında azalmaların olduğu ve bu azalmaların doz ile doğru orantılı olduğu kaydedilmiştir [80]. Yukarıda sonuçları ifade edilen çalışmanın sonuçları, yapılan çalışmanın sonuçları ile paralellik göstermektedir. Nitekim altı hafta boyunca içme suyuna 1 mg/L borik asit ilave edilen grubun canlı ağırlık değişimi deneme süresinde azalma göstermiştir. Fakat yüksek yağlı diyetle birlikte borik asit verilmesi vücut ağırlığını değiştirmemiştir. Elde edilen bu sonuçlar borik asidin yalnız kullanıldığında vücut ağırlığını azaltabileceği yönündeki bilgileri desteklemektedir.

Borik asidin vücut canlı ağırlı üzerine etkisinin olduğu çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur. Bu durum borik asidin yağ metabolizması direkt veya dolaylı olarak bir etkisinin olabileceğini akla getirmektedir. Konuyla ilgili olarak ratlar üzerine yapılan bir çalışmada içme suyuna iki mg bor ilave ederek toplamda 0,45 gr/litre yoğunluklu borik asit çözeltisi hayvanlara verilmiştir. 2 hafta sonunda HDL ve triaçilgliserol' ün kan serum düzeyinde miktarında azalma meydana geldiğini bildirmiştir [3]. Yaptığımız çalışmada, yukarıdaki çalışmadan farklı olarak, borik asit verilmesinin HDL düzeyinde bir artışa neden olduğu saptanmıştır.

Avirman A. ve ark. (1998) tarafından in vitro olarak yapılan bir çalışmada, PON enziminin CuSO_4 ile inhibe edilmesi sonucunda HDL'nin oksidasyonunda artma, MDA seviyesinde yükseliş olduğu bildirmişlerdir. Ayrıca HDL seviyesi ile PON aktivitesin doğru orantılı olduğu gözlenmiştir [74]. Bu bilgiler bize PON enziminin antioksidan bir molekül gibi koruyucu etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Aşırı kilo alımı ile vücut homeostasisinde görevli lipoproteinlerin seviyelerinde değişimler gözlemlenebilir. Nitekim Olusi ve ark. (2002), 250 denek üzerinde yaptıkları çalışmalarında 50 kişilik kontrol grubuna ($\text{VKİ}:18-24,9 \text{ kg/m}^2$) kıyasla daha yüksek VKİ'ne sahip 200 bireyin Cu-Zn SOD aktivitelerinin ve HDL miktarlarının daha düşük bulunduğunu ($P<0.005$) bildirmişlerdir [81]. Benzer şekilde 148 gönüllü üzerinde yapılan bir çalışmada VKİ arttıkça HDL seviyesinde azalış olduğu bildirilmiştir [82]. Huang ve ark. (2013) tarafından ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, kontrol grubunu (290 kcal/100g) normal yem, deney gruplarını ise yüksek yağlı diyet ile (430

kcal/100g), (%10 protein, %15 domuz yağı, % 10 sükröz) 176 gün besleyerek yaptıkları araştırmalarında, HDL seviyesinin kontrol ve deney grupları arasında önemli bir değişme olmadığını ($P>0.05$) bildirmişlerdir [83]. Yapılan çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen grupta saptanan HDL düzeyi kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir. Obezite ile HDL düzeyinde azalma olduğunu ifade eden bazı araştırma sonuçlarının aksine elde ettiğimiz bu sonuç, yüksek yağ kaynağı olarak tereyağı kullanmamızla alakalı olabilir.

Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyet ile beslenmenin sonucunda [74], borik asidin organizmaya verilmesi durumunda [3], hem de PON aktivitesinin azalması durumunda HDL seviyesinde azalma gözlenmiştir [67]. Çalışmamız neticesinde elde ettiğimiz HDL değerleri kontrol grubu kıyasla daha yüksek gözlenmiştir ($P<0.05$). Bu durumun kullanılan tereyağı ile ilgili olabileceği düşünülebilir. Yapılan çalışma sonunda borik asidin normal rasyonla beslenen ratlar üzerinde zayıflatıcı etkisinin bulunduğu, fakat yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlarda kilo kaybına neden olmadığı gözlendi.

Sonuç olarak, borik asidin antioksidatif sistem üzerine herhangi bir pozitif etkisinin olmadığı, HDL düzeyinde artışa, PON aktivitesinde ve canlı ağırlıklarda azalmaya neden olduğu, konuyla ilgili olarak farklı bor bileşikleri ve dozları kullanmak suretiyle daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısına varıldı.

10. KAYNAKÇA

1. **Demirtaş, A.**, "İnsan Bor'un İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi" *Journal of Agricultural Faculty of Atatürk University*, 41 (1), 75-80, (2010).
2. **O'Driscoll, M.**, Borates: The Turk of the town, *Industrial Miner.* 30-45, (2001)
3. **Naghii, M.R. ve Samman, S.**, The effect of boron on plasma testosterone and plasma lipids in rats, *Nutrition Research* Vol. 17. No. 3. pp. 523-531, (1997).
4. **Hunt, C.D. ve Idso, J.P.**, "Dietary boron as a physiological regulator of normal inflammatory response: a review and current research progress. " *J Trace Elem Exp Med*, 12:221-33, (1999).
5. **İnce, S., Kücük Kurt, İ., vd.**"The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. " *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 24 161-164. (2010).
6. **Sies, H.**, "Oxidants and antioxidants. " *Exp Physiol* 82:291-295 (1997).
7. **Whorton, D., Haas, J., et al.** "Reproductive effects of inorganic borates on male employees: Birth rate assessment, " *Environmental Health Perspectives*, 102 (supplement 7), 129-132. (1994)
8. Prevention and management of the global epidemic of obesity. "Report of the WHO Consultation on Obesity. " WHO. (Geneva,) June, 3-5, (1997).
9. **Koksal, B.H., Yıldız, G., vd.** "Effects of dietary boric acid addition on growth performance, cholesterolemia, some carcass and tibia characteristics in different rearing periods in broiler chickens. " *Revue Méd. Vét.*, 164, 4, 219-224. (2013).

10. **Alkan, M.**, "Bazı Bor Minerallerinin Kükürt Dioksitli Sulardaki Çözünürlükleri." Atatürk Üniversitesi, Kâzım Karabekir Eğitim Fakültesi, Doktora Tezi, Erzurum 1985.
11. **Boncukoğlu, R., Kocakerim, M.M., vd.** 2003. "Bor elementinin çevresel açıdan değerlendirilmesi," Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü, 25240, Erzurum.
12. **N.R.C.**, "Mineral Tolerance of Animals." 2nd ed. National Academy Press, Washington, D.C. 2005.
13. **Çalık, A.**, 2002. "Türkiye'nin Bor Madenleri ve Özellikleri." Mühendis ve Makine Dergisi. Sayı, 508, 36-41, Ankara.
14. **Demirhan, M. H.**, "Kolemanitin Borik Asit Çözeltilerindeki Çözünürlüğü." Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 1993.
15. **Özsoy, A.**, "Çeliklerin Borlanması ve Borlanmasında Bor Tabakası, Geçiş Zonu ve Anamatriksin Özelliklerinin İyileştirilmesi." Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü , Doktora Tezi, Eskişehir (1991).
16. **Sınırkaya, M.**, " Boraks atıklarından borun geri kazanılması" Yüksek Lisans Tezi. Erzurum, 1999
17. **Yapıcı, S.**, "Uleksitten Borik Asit Üretiminin Optimizasyonu." Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum (1987).
18. **B. Kuskay, A.N.**, "Bulutcu. Design parameters of boric acid production process from colemanite ore in the presence of propionic acid." Chemical Engineering and Processing 50 377–383, (2011).

19. **Amram, K., Ganor, J.,** "The combined effect of pH and temperature on smectite dissolution rate under acidic conditions. " *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69, 2535-2546, (2005)
20. **U.S.E.P.A.,** 2004. Toxicological review of boron and compounds. Environmental Protection Agency, EPA 635/04/52, Washington, D.C.
21. **Başoğlu, A., Sevinç, M., vd.** " Short communication: Effect of borox on serum lipid profile in dog. " *Online J Vet Res.*, 4:153-156. (2000)
22. **Nielsen, F.H., Hunt, C.D., et al.** "Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. " *FASEB. J.* 87, 394-397 (1987).
23. **Chapin, R.E., Ku, W.W., et al,** "The effects of dietary boric acid on bone strength in rats. " *Biol. Tr. Elem. Res.* 66, 395-399 (1998).
24. **Hall, I.H., Spielvogal, B.F., et al,** "The effects of boron hyperlipidemic agents on LDL and HDL receptor binding and related enzyme activities of rat hepatocytes, aorta cells and human fibroblasts. " *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* 65, 297-317 (1989).
25. **Hunt, C.D.,** "The biochemical effects of physiologic amount of dietary boron in animal nutrition models." *Environ Health Perspect* 102:35–43 (1994).
26. **Garcia, G.M ve P. Mateo, I.B.,** "Boron requirement for envelope structure and function in *Anabaena PCC 7119* heterocysts. " *J Exp Bot*, 42, pp. 925–929, (1991)
27. **Turkez, H.F., Geyikoglu, A., vd.** "Effects of some boron compounds on peripheral human blood. " *Z Naturforsch*, 62, pp. 889–896, (2007).
28. **Bilim ve Teknik dergisi Mart-2007 (Ek) , Tübitak yayınları.**

- 29. Eker, E., Şahin, M.,** " Birinci Basamakta Obeziteye Yaklaşım. sted cilt 11 sayı 7 249. (2002).
- 30. Guyton, A.C., Hall, J.E.,** "Textbook of Medical Physiology." Nobel Kitapevi, 797-800. İstanbul, (2001).
- 31. Berrin, Z. A.,** "Elvan Özbek, Obezite: Nedenleri ve Tedavi Seçenekleri, " Van Tıp Dergisi: 13 (4):138-142, (2006)
- 32. Sema, A.,** "Kadın Sağlığı ve Şişmanlık, " Hacettepe Üniversitesi Yayınları (2003).
- 33. Ustundağ, B., Bahcecioğlu, D.H., vd.** F.U. Sağlık Bil. Dergisi, 19(4), 263-271, (2005).
- 34. Mc Gee, S.A., Wiggins, S.A., et al.** "What advanced practise nurses to know about free radicals. " The internet journal of advanced nursing practice, 6:1-10 (2003).
- 35. Uysal, M.,** "Serbest radikaller, lipit peroksidleri organizmada prooksidanantioksidan dengeyi etkileyen koşullar. " Klinik gelişim. 11: 336-341. (1998).
- 36. Ronco, C., La Greca, G.,** "Vitamin E bonded membrane, a further step in dialysis optimization. " Contrib Nephrol 127:1-31 (1999).
- 37. Kavas, G.,** 1989, "Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. " Türkiye Klinikleri Fizyoloji, 9: 1-8.
- 38. Rice-Evans, C.A., Diplock, A.T.,** "Current status of antioxidant therapy." Free Radic Biol Med 15:77-96 (. 1993).
- 39. Dybukt, J.M., Ankarcrona, M., et al,** "Different prooxidant levels stimulate growth, trigger apoptosis or produce necrosis of insulin secreting RINm5F cells. " J Biol Chem.; 269:30553-60 (1994).

- 40. Meram, İ., Aktaran, Ş.,** "Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. " *Arşiv.* 11:299 (2002).
- 41. Özkan, A., Fışkın, K.,** "Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. " *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi.* 14:52-60. (2004).
- 42. Akkus, I.,** "Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. " 1.Baskı, Mimoza Yayınları, , 13-19, Konya 1995.
- 43. Gutteridge, J.M.C.,** "Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage". *Clin Chemistry*; 41:1819-1828 (1995).
- 44. Kurutaş, B. E., İnanç, G. F., vd,** 2004, "Serbest Radikaller. " *Arşiv*;; 13:120-13
- 45. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.,** "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. " *Biochem J*, 219;1-14 (1984).
- 46. Abuja, P.M, Albertini, R.,** "Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins." *Clinica Chimica Acta.*; 306:1-17 (2001).
- 47. Sodergen, E.,** "Lipid Peroxidation İnvivo Evolution and Application of Methods for Measurements. " Sweeden, Tryck&Medier, 2000.
- 48. Aydilek, N., Aksakal, M.,** "Testosteronun Tavşanlarda Karaciğer Antioksidan Sistemi Üzerine Etkisi. " *YYU Vet Fak Derg.* 14(2): 22-25, 2003.
- 49. Beşkaya, A.,** "Broylerlerde doğal ve sentetik antioksidanların bazı iz elementler üzerine etkisi. " Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2004.
- 50. Moseman, R.F.,** "Chemical disposition of boron in animals and humans. " *Environmental Healt Perspectives.* 102 (supplement): 113-117 (1994).

- 51. Scheibmeir, H.D., Christensen, K., et al,** "Review of free radicals and antioxidants for critical care nurses." *Intensive and Critical Care Nursing*. 21: 24-28, (2005).
- 52. Yıldırım, A.,** "İntakt ve Adrenalektomili Sıçanların Eritrosit ve Mide Dokularında Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Araştırılması. " Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 2003
- 53. Teoman, K.,** "Obezite ile ilişkili oksidatif stresin altında yatan mekanizmalar: Leptin ve adiponektinin rolü." *Kardiyoloji Anabilim Dalı-Kocaeli* (2010).
- 54. Avşaroğlu, A.B.,** "Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı :”Obez hastalarda diyet egzersiz antiobezite ilaç uygulamalarının oksidan stres ve antioksidan savunma mekanizmaları üzerine etkileri” Ankara-2009
- 55. Shulman, G.I.,** "Cellular mechanisms of insulin resistance. " *J Clin Invest*. 106: 171-176 (2000).
- 56. Özdin, M., Gürsu, M.F.,** "Koroner kalp hastaları ile çeşitli risk faktörlerini taşıyan bireylerde paraoksonaz 1 ve arilesteraz aktiviteleri ile fenotiplerinin araştırılması." Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, 2003.
- 57. Durrington, P.N., Mackness, B., et al,** "Paraoxonase and Atherosclerosis Arterioscler" *Thromb Vasc Biol*. ;21:473-480 (2001)
- 58. Mazur, A.,** "An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorinebond of alkyl fluorophospates. " *J Biol Chem*.164:271-89 (1946).
- 59. Aldridge, W.N.,** "Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl pnitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. " *Biochem J*;53:11 7-24 (1953).

- 60. Aldridge, W.N.,** "Serum esterases. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. " *Biochem J*;53:110-7 (1953).
- 61. Gan, K.N., Smolen, A., et al,** "Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities." *Drug Metab Dispos.* 19(1):100-106 (1991).
- 62. La Du, B.N., Aviram M, Billecke S, et al.** "On the physiological role(s) of the paraoxonases. " *Chem Biol Interact*, 119-120: 379-388 (1999).
- 63. Van Himbergen, T.M., Van Tits, L.J.H., et al.,** "The story of PON1: how an organophosphate hydrolyzing enzyme is becoming a player in cardiovascular medicine. " *Neth J Med* 64(2):34-8 (2006).
- 64. Deakin, S., James, R. W.,** "Genetic and Environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-I." *Clinical Science* 107, 435-447 (2004).
- 65. Primo-Parmo, S.L., Sorenson, R.C., et al.** "The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON 1) is one member of a multigene family. " *Genomics* 33:498- 507 (1996).
- 66. La Du, B.N.,** "Human serum paraoxonase/arylesterase. In: Kalow W. *Genetic Factors Influencing the Metabolism of Foreign Compounds* " *International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics*. Pergamon Press ; p.51-91. New York, (1992).
- 67. Sorenson, R.C., Primo-Parmo, S.L., et al.** "Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase." *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 7187-7191 (1995)

- 68. Ferretti, G., Bacchetti, T., et al**, "Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females." *J Clin Endocrinol Metabol*; 90(3):1728-33, (2005).
- 69. Furlong, C.E., Costa, L.G., et al**, "Human and rabbit paraoxonases: purification, cloning, sequencing, mapping and role of polymorphism in organophosphate detoxification." *Chemi Biol. Interact.* 87:35-48, (1993).
- 70. James, R.W., Leviev, I., et al**, "Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease." *Circulation.* 101(19):2252-2257, (2000).
- 71. La Du, B.N.**, " Structural and functional diversity of paraoxonases, " *Nat Med*, 2: 1186-1187, (1996).
- 72. Paolisso, G., Tagliamonta, M.R., et al**, "Advancing age and insulin resistance: new facts for an ancient history. " *Eur J Clin Invest* 29(9):758-69, (1999).
- 73. Senti, M., Tomas, M., et al**, "Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. " *J Clin Endocrinol Metab* 88(11):5422-5426 (2003).
- 74. Aviram, M., Rosenblat, M., et al**, "Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. " *J Clin Invest*; 101: 1581-1590, (1998).
- 75. Özata, M., Mergen, M., vd.** "Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. " *Clinical Biochemistry* 35 627–631, (2002)
- 76. Farshad, A., Fereydoun, S., et al**, "Impaired enzymatic antioxidant defense in erythrocytes of women with general and abdominal obesity" *Obesity Research & Clinical Practice.* ORCP-267; No. of Pages 9, (2012).

- 77. Mates, J.M., Sanchez-Jimenez, F.,** " Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological processes." *Front Bio sci.* 4: 339–345, (1999).
- 78. Karabal, E., Yücel M., vd.** " Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity" *Plant Science* 164 925-933, (2003).
- 79. Gülcü. F., Gürsu, M. F.,** " Paraoksonaz ve Aril Esteraz Aktivite Ölçümlerinin Standardizasyonu" *Türk Biyokimya Dergisi*; 28 (2); 45-49, (2003).
- 80. Patricia, A.F., Robert, E.C., vd.** "General, Reproductive, Developmental, and Endocrine Toxicity of Boronated Compounds" *Reproductive Toxicology*. Vol. 12. No. I, pp. L-18, (1998)
- 81. Olusi, S.O.,** "Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytotectic enzymes in human" *International Journal of obesity* 26, 1159-1164, (2002).
- 82. Silvia J. P., Marta M.M.F.D., et al,** "Ischemia-modified albumin as an oxidative stress biomarker in obesity" *Clinical Biochemistry* 44 345–347, (2011).
- 83. Huang, W.M.D., Rui L.P.D., et al,** "Octreotide promotes weight loss via suppression of intestinal MTP and apoB48 expression in diet-induced obesity rats." *Nutrition* 29 1259-1265, (2013).
- 84. Mert, B.,** "Boraksdekahidratın antioksidan sistem ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine akut etkisinin araştırılması" *Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Kars, (2013).*

11. ÖZGEÇMİŞ

26 Temmuz 1989'da Ardahan'ın ıldır ilçesinde doğdu. İlkokula Diyarbakır'da Öğretmen Mehmet Sabri Güzel İlkokulunda, ortaöğretimini İstanbul'da Güneş İlköğretim Okulu ve Orhan Cemal Fersoy Lisesinde tamamladı. Lisans eğitimini 2007-2011 yılları arasında Kars Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde tamamlayarak, 2011 yılında yine aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalında yüksek lisansa başladı ve halen devam etmektedir.