RATLARDA AKRİLAMİD KAYNAKLI BÖBREK HASARINDA BOR'UN KORUYUCU ETKİSİ: ANTİOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMASI ÜZERİNE MEKANİK YAKLAŞIM

Osman SARIÇİÇEK
Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Fatma GÜR

Yüksek Lisans Tezi-2023

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA AKRİLAMİD KAYNAKLI BÖBREK HASARINDA BOR'UN KORUYUCU ETKİSİ: ANTİOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMASI ÜZERİNE MEKANİK YAKLAŞIM

Osman SARIÇİÇEK

BiyokimyaAnabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Fatma GÜR

ERZURUM
2023

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER ..... **I**

TEŞEKKÜR ..... **V**

ÖZET ..... **VI**

ABSTRACT ..... **VII**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **VIII**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **X**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **XI**

1. GİRİŞ **1**

2.GENEL BİLGİLER **4**

2.1. Akrilamid 4

2.1.1. Kimyasal Özelikleri 4

2.1.1.1. Kimyasal olarak akrilamid oluşumu 4

2.1.2. Toksik Etkileri 7

2.1.2.1. Nörotoksisitesi 7

2.1.2.2. Genotoksisitesi 8

2.1.2.3 Kanserojenik Etkisi ve Risk Değerlendirmeleri 9

2.1.3. Akrilamidin Emilimi 10

2.1.3.1. Akrilamidin Sindirim Sisteminden Emilimi 10

2.1.3.2. Akrilamidin Deriden Emilimi 11

2.1.4. Akrilamidin Vücutta Metabolize Edilmesi 11

2.1.5. Akrilamidin Vücutta Dağılımı 13

2.1.6. Akrilamidin Vücuttan Atılımı 14

2.1.7. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler 16

2.1.8. Akrilamidin Gıdalardaki Sınır Değerleri 16

2.1.8.1. Gıda Kaynaklı Akrilamide Maruz Kalan İnsanlarda Yapılan Çalışmalar 18
2.1.8.2. Akrilamide Mesleki Açıdan Maruz Kalan İnsanlar Üzerindeki Çalışmalar 19
2.2. Bor 19
2.2.1. Genel Özellikleri 20
2.2.2. Borun Kullanım Alanları 20
2.2.2.1. Bor Maruziyet Yolları 22
2.2.2.2. Bor Metabolizması 22
2.2.2.3. Farmakokinetik 23
2.2.3. Borun Absorbsiyonu 23
2.2.3.1. Gastrointestinal Yolla Absorbsiyon 23
2.2.3.2. Solunum yolu ile absorbsiyon 23
2.2.3.3. Dermal yol ile absorbsiyon 24
2.2.4. Borun Vücuttaki Dağılımı 24
2.2.5. Borun Vücuttan Atılımı 24
2.2.6. İnsan Beslenmesi Açısından Bor 26
2.2.6.1. Organizmadaki Bor Düzeyleri 27
2.2.7. Borun İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi 27
2.2.7.1. Kanser Üzerine Etkileri 28
2.2.7.2. Oksidatif Stress Üzerine Etkileri 29
2.2.8.Borun Toksisitesi 29
2.3. Antioksidanlar 30
2.3.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar 31
2.3.1.1. Primer Antioksidantlar 32
2.3.1.1.1. Süperoksit Dismutaz 32
2.3.1.1.2. Katalaz 33

2.3.1.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx) 33
2.3.1.1.4. Glutatyon S-Transferaz (GST) 33
2.3.1.1.5. Glutatyon Redüktaz (GR) 33
2.3.1.2. Sekonder Antioksidanlar 34
2.3.1.2.1. Glutatyon (GSH) 34
3. MATERYAL VE METOD 36
3.1. Çalışmada Kullanılan Hayvanlara İlişkin Bilgiler 36
3.2. Deney Grupları ve Sayıları 36
3.3. Böbrek Doku Homojenatlarının Hazırlanması 37
3.4. Biyokimyasal Çalışmalar 38
3.4.1. SOD Aktivitesinin Tayini 38
3.4.1.1. SOD Deney Prensibi 38
3.4.1.2. SOD Tayini İçin Kullanılan Reaktifler 38
3.4.1.3. SOD Standart Solüsyonlarının Hazırlanması 39
3.4.1.4. SOD Ölçümü 39
3.4.1.5. SOD Aktivitesinin Hesaplanması 40
3.4.2. GSH Tayini 40
3.4.2.1. GSH Deney Prensibi 40
3.4.2.2. GSH Tayini İçin Kullanılan Reaktifler 41
3.4.2.3. GSH Standart Solüsyonlarının Hazırlanması 41
3.4.2.4. GSH Ölçümü 42
3.4.2.5. GSH Aktivitesinin Hesaplanması 42
3.4.3. MDA Tayini 43
3.4.3.1. MDA Deney Prensibi 43
3.4.3.2. MDA Tayini İçin Kullanılan Reaktifler 43

3.4.3.3. MDA Standart Solüsyonlarının Hazırlanması 44
3.4.3.4. MDA Ölçümü 44
3.4.3.5 MDA Aktivitesinin Hesaplanması 44
3.5. Protein Tayini 45
3.5.1. Protein Deney Prensibi 45
3.5.1.2. Protein Tayini İçin Kullanılan Reaktifler 45
3.5.1.3. Protein Ölçümü İçin Standart Solüsyonun Hazırlanması 46
3.5.1.4. Protein Ölçümü 46
3.6. Histolojik Çalışmalar 46
3.7. Deneyde Kullanılan Cihazlar 47
3.7. İstatistiksel Analiz 47
4. BULGULAR 49
4.1. Deney Gruplarının SOD Aktivite Değerleri, GSH ve MDA Seviyeleri 49
4.2. Deney Gruplarının Histolojik Bulguları 52
5. TARTIŞMA 56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 61
KAYNAKLAR 62
EKLER 86
EK-1. ÖZGEÇMİŞ 86
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU 87
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU 88

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı bünyesinde gerçekleştirilmiştir. Bu tezin gerçekleştirilmesinde, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fatma Gür'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Deneysel çalışmalarda böbrek dokularının histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemelerinde ve kimyasal malzeme temininde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Adnan Ayhancı, Doç. Dr. Mustafa Cengiz ve Uzm. Dr. Betül Peker Cengiz'e, yüksek lisans çalışmalarımda desteklerinden dolayı Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mine Gülaboğlu'na ve Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine, bu çalışmayı **TYL-2022-9618 BAP** proje kodu ile destekleyen Atatürk Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen eşime ve aileme teşekkür ederim.

Osman SARİÇİÇEK

ÖZET

Ratlarda Akrilamid Kaynaklı Böbrek Hasarında Bor'un Koruyucu Etkisi: Antioksidan Savunma Mekanizması Üzerine Mekanik Yaklaşım

Amaç: Günümüzde insanların beslenme şekilleri ile sağlıkları arasındaki ilişki üzerine yapılan araştırmaların sayısında önemli artışlar olmuştur. Gıdaların hazırlanma şekillerine göre ortamda farklı reaksiyonlar gerçekleşmekte ve besin içeriğinde yeni bileşikler oluşmaktadır. Bu bileşiklerin bir kısmının gıdalarda varlığı istenilen bir durum iken olumsuz etkilerinden dolayı bir kısım bileşiklerin ise gıdanın içeriğinde olması istenmemektedir. Gıdaların 120 C° nin üzerindeki sıcaklıklarda ısıl işlem görmesi sonucu meydana gelen Akrilamid (AA) kanserojenik bir madde olarak kabul edilmektedir. Sağlık açısından risk grubunda değerlendirilen AA gibi maddeler üzerine yapılacak toksik etkiyi azaltma ile ilgili çalışmaların sağlık açısından standardize edilmesi gerekmektedir. Yine ülkemiz için zengin doğal kaynaklarından ve antioksidan özelliğe sahip olan borun (B) ilaç sektöründe kullanımının yaygınlaştırılırak ekonomiye katkı sağlanması hedeflenmektedir. Bu çalışma kapsamında, Bor mineralinin AA kaynaklı meydana gelecek böbrek hasarına karşı koruyucu etkisinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak analizi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Toplamda 30 adet Wistar albino cinsi erkek rat 5 eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubuna salin verildi. Serum fizyolojik içerisinde hazırlanmış Bor ve AA'nın çözelti formları uygulama için hazır hale getirildi. Bor grubuna 14 gün boyunca 20 mg/kg B ip, AA grubuna ise deneyin son 10 günü boyunca 38,27 mg/kg AA oral gavaj olarak verildi. 4. ve 5. Gruba sırasıyla 10 mg/kg Bor + Akrilamid ve 20 mg/kg Bor + Akrilamid verildi. Son Bor ve AA uygulamasından 24 saat sonra, ratlar anestezi altında sakrifiye edildi. Ratların böbrek dokuları alınarak malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyeleri, (süperoksitdismutaz) SOD enzim aktivitesi tespit edildi. Ayrıca, böbrek dokusundaki toplam Nrf2 ve Keap1 protein ekspresyon seviyeleri immünohistokimyasal olarak incelendi.

Bulgular: Tek başına AA alan ratlarda böbrek dokularında renal MDA seviyelerinde önemli artış gözlenirken antioksidan belirteçlerde (SOD ve GSH) belirgin azalmalar gözlenmiştir. Ayrıca doku analizi AA verilen grupta, rat böbreklerinde ciddi interstisyel kanama, tübüler nekroz, tübüler atrofi, lökosit infiltrasyonu ve genişlemiş Bowman boşluğuna sahip glomerüler yapılar gibi diğer gruplara göre daha geniş ve daha görünür olan hasarlar ortaya konmuştur. AA ile birlikte her iki doz Bor uygulaması AA kaynaklı doku antioksidan parametrelerindeki değişiklikleri iyileştirdi ve MDA'yı azalttı. Sonuçlarımız gösteriyor ki Bor, AA kaynaklı toksisite sonucu ratlarda böbrek antioksidan mekanizma ve immünohistokimyasal parametreler üzerinde güçlü bir koruyucu etkiye sahiptir.

Sonuç: Bulgular Bor antioksidan ve antikanser özelliğinden dolayı hücreleri koruduğunu ve sıklıkla maruz kaldığımız AA toksisitesinde toksik etkiyi azaltma yönünde takviye gıdalarla alınabilecek ve kullanılabilecek potansiyel bir ajan olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, bor, böbrek hasarı, lipit peroksidasyonu, rat

ABSTRACT

Protective Effect of Boron in Acrylamide-Induced Kidney Damage in Rats: A Mechanical Approach on the Antioxidant Defense Mechanism

Aim: Today, there has been a significant increase in the number of studies on the relationship between people's diet and their health. Different reactions occur in the environment according to how the foods are prepared and new compounds are formed in the nutrient content. While the presence of some of these compounds in foods is desirable, some compounds are undesirable due to their negative effects. Acrylamide (AA), which is formed as a result of heat treatment of foods at temperatures above 120 °C, is considered a carcinogenic substance. Studies on reducing the toxic effect of substances such as AA, which are considered in the risk group for health, should be standardized in terms of health. Again, it is aimed to contribute to the economy by expanding the use of boron (B), which has rich natural resources and antioxidant properties, in the pharmaceutical industry of our country. This study, it was aimed to analyze the protective effect of boron minerals against kidney damage caused by AA biochemically and histopathologically.

Materials and Methods: A total of 30 Wistar albino male rats were divided into 5 equal groups. The control group was given saline. Solution forms of B and AA prepared in physiological saline were made ready for application. Group B was given 20 mg/kg B ip for 14 days, and group AA was given 38.27 mg/kg AA as oral gavage during the last 10 days of the experiment. Groups 4 and 5 were given 10 mg/kg Boron + Acrylamide and 20 mg/kg Boron + Acrylamide, respectively. The rats were sacrificed under anesthesia 24 hours after the last B and AA administration. Kidney tissues of rats were taken and malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels and (superoxide dismutase) SOD enzyme activity were determined. In addition, total Nrf2 and Keap1 protein expression levels in kidney tissue were examined immunohistochemically.

Results: Significant increases were observed in renal MDA levels in kidney tissues in rats receiving AA alone, while significant decreases were observed in antioxidant markers (SOD and GSH). In addition, in the AA group with tissue analysis, larger and more visible damage was revealed in the rat kidneys, such as severe interstitial hemorrhage, tubular necrosis, tubular atrophy, leukocyte infiltration, and glomerular structures with an enlarged Bowman's space. Both doses of B together with AA improved the changes in AA-induced tissue antioxidant parameters and decreased MDA. Our results show that B has a strong protective effect on kidney antioxidant mechanisms and immunohistochemical parameters in rats due to AA-induced toxicity.

Conclusion: The findings showed that B protects cells due to its antioxidant and anticancer properties. It is a potential agent that can be taken and used with supplements to reduce the toxic effect of AA toxicity, which we are frequently exposed to.

Keywords: Acrylamide, boron, kidney damage, lipid peroxidation, rat

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA	**:**	Akrilamid
ATADEM	**:**	Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
B	**:**	Bor
B(OH) -	**:**	Tetrahidroksiborat anyonu
$B(OH)_3$	**:**	Monomerik borik asit
B_2O_3	**:**	Bor oksit
CAT	**:**	Katalaz
EH	**:**	Epoksihidrolaz
FAD	**:**	Fenilalanin Adenin Dinükleotid
FDA	**:**	(Food and Drug Administration) ABD Gıda ve İlaç İdaresi
GPx	**:**	Glutatyon peroksidaz
GR	**:**	Gulutatyon Redüktaz
GSH	**:**	Glutatyon
GSH-Px	**:**	Glutatyon peroksidaz
GSSG	**:**	Oksitlenmiş glutatyon
GST	**:**	Gulutatyon S- Transferaz
H_2O_2	**:**	Hidrojen peroksit
HO.	**:**	Hidroksil radikalleri
HRP	**:**	Horseradish Peroxidase
IARC	**:**	(The International Agency for Research on Cancer) Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
LPO	**:**	Lipit peroksidasyonu
MDA	**:**	Malondialdehit

M-U	**:**	Mann Whitney-U
NACL	**:**	Sodyum Klorür
NADPH	**:**	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
O	**:**	Oksijen
O_2.-	**:**	Süperoksit radikalleri
PBS	**:**	Fosfat tamponu
PSA	**:**	Prostat Spesifik Antijeni
ROS	**:**	Reaktif oksijen türleri
SOD	**:**	Süperoksitdismutaz
SP	**:**	Spirulina platensis
SPSS	**:**	Statistical Package for the Social Sciences
TAC	**:**	Total antioksidan kapasitesi
TÜBİTAK	**:**	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UV	**:**	Ultraviyole
VİT.B_2	**:**	Riboflavin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No **Sayfa No**

Şekil 2.1. Akrilamidin kimyasal yapısı 4

Şekil 2.2. Maillard Reaksiyonu ve Akrilamid Oluşumu 5

Şekil 2.3. Farklı moleküllerden akrilamid sentezi 6

Şekil 2.4. Asparajin ve şekerin karbonil grubunun etkileşimi ve akrilamid oluşumu. 7

Şekil 2.5. Akrilamidin temel metabolik yolları 12

Şekil 2.6. Borun kullanım alanları 22

Şekil 2.7. Bor metabolizması ve atılımı 25

Şekil 3.1. SOD aktivitesini hesaplamak için kullanılan kalibrasyon eğirisi 40

Şekil 3.2. GSH aktivitesini hesaplamak için kullanılan kalibrasyon eğrisi 42

Şekil 3.3. MDA aktivitesini hesaplamak için kullanılan kalibrasyon eğrisi 45

Şekil 4.1. Deney gruplarına ait böbrek kesitleri için H-E boyama sonuçları 54

Şekil 4.2. Deney gruplarına ait böbrek kesitleri için H-E boyama sonuçları 54

Şekil 4.3. Deney gruplarına ait böbrek kesitleri için H-E boyama sonuçları 55

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 2.1. Bazı Gıdaların Akrilamid İçerikleri 17

Tablo 2.2. Ölmez ve Ark.'nın Gıda Kaynaklı Akrilamid Analiz Sonuçları 18

Tablo 2.3. Bor ve Bazı Bor Bileşiklerinin Özellikleri 20

Tablo 2.4. Yaygın Olarak Tüketilen Bazı Besinlerin Bor İçerikleri 27

Tablo 2.5. İnsanlarda ve Sıçanlarda İnorganik Borat Bileşiklerin Toksikokinetik Özellikleri 30

Tablo 3.1. Deney Grupları ve Sayıları 37

Tablo 3.2. SOD Standart Solüsyonlarının Hazırlanması 39

Tablo 3.3. SOD Deney Şeması 39

Tablo 3.4. GSH Standart Solüsyonlarının Hazırlanması 41

Tablo 3.5. GSH Deney Şeması 42

Tablo 3.6. MDA Standart Solüsyonlarının Hazırlanması 44

Tablo 3.7. MDA Deney Şeması 44

Tablo 3.8. Protein Deney Şeması 46

Tablo 3.9. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Ekipman ve Modelleri 47

Tablo 4.1. AA Verilen Ratlarda Düşük Doz Bor (10 mg/kg) Uygulamasının Böbrek Hasarını Önleme Düzeyleri 49

Tablo 4.2. AA Verilen Ratlarda Yüksek Doz Bor (20 Mg/Kg) Uygulamasının Böbrek Hasarını Önleme Düzeyleri 49

Tablo 4.3. Borun Kontrol Grubuna Göre Antioksidan Mekanizma Üzerine Etki Düzeyleri 50

Tablo 4.4. Sadece AA Verilen grupta AA'nın Antioksidan Mekanizma Üzerine Etki Düzeyleri 50

Tablo 4.5. Sadece AA Verilen Grupla Düşük Doz Bor Verilen (10 Mg/Kg) Gruplarda Antioksidan Mekanizma Düzeyleri 51

Tablo 4.6. Sadece AA Verilen Grupla Yüksek Doz Bor Verilen (20 Mg/Kg) Gruplarda Antioksidan Mekanizma Düzeyleri 51

Tablo 4.7. Sadece B Verilen Grupla Düşük Doz Bor Verilen (10 Mg/Kg) Gruplarda Antioksidan Mekanizma Düzeyleri 51

Tablo 4.8. Sadece B Verilen Grupla Yüksek Doz Bor Verilen (20 Mg/Kg) Gruplarda Antioksidan Mekanizma Düzeyleri 52

Tablo 4.9. AA Kaynaklı Oluşacak Böbrek Hasarına Karşı Bor'un Uygulama Dozunun Koruyuculuk Etkisinin Anlamlılık Düzeyleri 52

Tablo 4.10. Histolojik ve İmmünolojik Bulgular 53

1. GİRİŞ

Günümüzde akrilamidin insan sağlığı ve beslenmesi arasındaki ilişkiye yönelik araştırmalar artmakta ve anlam kazanmaktadır. Özellikle besinlerin hazırlanma şekline göre ortamda oluşan farklı reaksiyonlar ile besin içeriğinde yeni bileşikler-kimyasallar oluşmaktadır. Oluşan bu kimyasalların bazı aroma bileşiklerinde olması gıdaya güzel tat ya da aroma katması istenen bir durum iken bazılarının hoş olmayan tat veya sağlığı olumsuz etkisinden dolayı istenmeyen bir durumdur.[1] Akrilamid gıdalarda sonradan ortaya çıkan bir maddedir ve sağlık üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle hoş olmayan bir gıda katkı maddesidir. Akrilamid, moleküler ağırlığı 71.09 $gmol^{-1}$ olan, suda, alkolde, dietil eterde ve asetonda çözünen bir maddedir.[2,3] Aynı zamanda poliakrilamid sentez reaksiyonunda kullanılan beyaz kristalli bir monomerdir. Oda sıcaklığında katı olan akrilamid, UV ışığı altında kolayca polimerleşir ve 125°C'lik bir kaynama noktasına sahiptir.[4] Akrilamid birçok alanda kullanılmaktadır. Bu alanlar içme suyu arıtma, [5] endüstriyel atık su, kuyu inşaatı, içme suyu depoları ve kanalizasyon, [6] plastik üretimi, [7] jel elektroforezi, [8] kâğıt üretimi, boya sanayi, kozmetik sanayi ve madencilik sektörüdür.[9] Gıdalarda bulunan akrilamid gıdaların hazırlanması sırasında oluşur. Bu durum iki şekilde gerçekleşir. İlk olarak lipid, karbonhidrat veya serbest amino asitlerin parçalanması sonucu akrolein veya akrilik asitten akrilamid sentezi, ikinci olarak, bazı organik asitlerin (malik, laktik ve sitrik gibi) suyu veya karboksil grubunu parçalayarak doğrudan amino asitlerden üretilebileceğini buldu. Gıdalar çeşitli yöntemlerle pişirilmektedir. Özellikle kızartma, kavurma ve ızgara gibi gıdaların hazırlanması sırasında oluşan akrilamid insan sağlığına olumsuz etkileri olduğundan, bu pişirme işlemleri sırasında gıda işleme süresi ve sıcaklığına ilişkin önlemler alınarak akrilamid oluşumunun azaltılması gerekmektedir.[10] Yöntemlerle elde edilen sonuçlara göre akrilamid cips ve patates kızartması gibi kızartılmış, kavrulmuş gıdalarda, ekmek ve

türevlerinde, kurabiye, bisküvi ve kahvaltılık gevreklerde bol miktarda bulunurken, pişirilerek hazırlanan gıdalarda bulunmaz.[11,12]

Bor (B) periyodik tablonun 3A grubunda yer alan yarı iletken bir elementtir. Yerkabuğunda, atmosferde, okyanuslarda, toprakta, kömürde, yer altı ve yerüstü sularında ve tortullarda bol miktarda bulunmaktadır [13,14] ve önemi her geçen gün artmaktadır. Gıdalardan yeşil yapraklı sebze ve meyveler, ceviz, fasulye, avokado ve mantar gibi kuruyemişler ve şarap, elma şarabı, bira gibi içeceklerin hepsi bor açısından zengindir.[15] Ayrıca et, balık, süt ve süt ürünleri gibi gıdalarda da az miktarda Bor bulunmaktadır.[16] Türkiye dünyanın en büyük bor yataklarına sahiptir.

Antioksidanlar, bor yatakları ve cevherleri yüksek kalitede olduğunda, hücreleri serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasara karşı koruyarak vücut üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir. [17]. Antioksidanlar hücreleri serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasara karşı koruyarak vücut üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir. [17] Endojen (vücutta üretilebilir) veya eksojen (diyetle tüketilebilir) kaynaklı olabilen antioksidanlar [18] ya enzimatik ya da nonenzimatik etkiye sahiptirler. Nonenzimatik antioksidanlar, serbest oksijen radikallerini etkileyerek oksidan miktarını azaltırken, antioksidan enzimlerin aktivitesini artırırlar bunu sonucunda dolaylı olarak serbest radikallerin ve oksijen kimyasallarının parçalanmasına sağlamış olurlar.[19] Bor, antioksidan glutatyon ve türevlerini artırarak veya reaktif oksijen bileşiklerini nötralize eden diğer maddeleri etkinleştirerek oksidatif strese karşı korur. [20]

Akrilamid (AA), gıdaların 120°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ısıl işlemi sırasında ortaya çıkan kansere neden olan bir maddedir. AA gibi risk grupları üzerindeki ilaçların sağlık üzerindeki etkilerini azaltmaya yönelik araştırmalar standardize edilmelidir. Bu çalışma bor mineralinin AA'nın neden olduğu böbrek hasarı üzerindeki biyokimyasal ve histopatolojik etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır. Ülkemizin değerli bir doğal kaynağı

olan borun ekonomi ve farmakoloji alanlarında da kullanımının yaygınlaştırılması hedeflenmektedir.

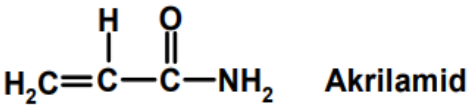
2.GENEL BİLGİLER

2.1. Akrilamid

2.1.1. Kimyasal Özelikleri

Akrilamid (ACR), doymamış çift bağa sahip bir amiddir.[21] Erime ve kaynama noktası sırasıyla 8,56 °C ve 125 °C (25 mm Hg) (atmosfer basıncında 192,66 °C) olan AA, sıvı formda beyaz kristal görünümünde, kokusuz ve suda iyi çözünme özelliğine sahiptir. [22] Etilen karboksamid, akrilik asit amid, vinil amid ve propenoik asit amid olarak da bilinmektedir.

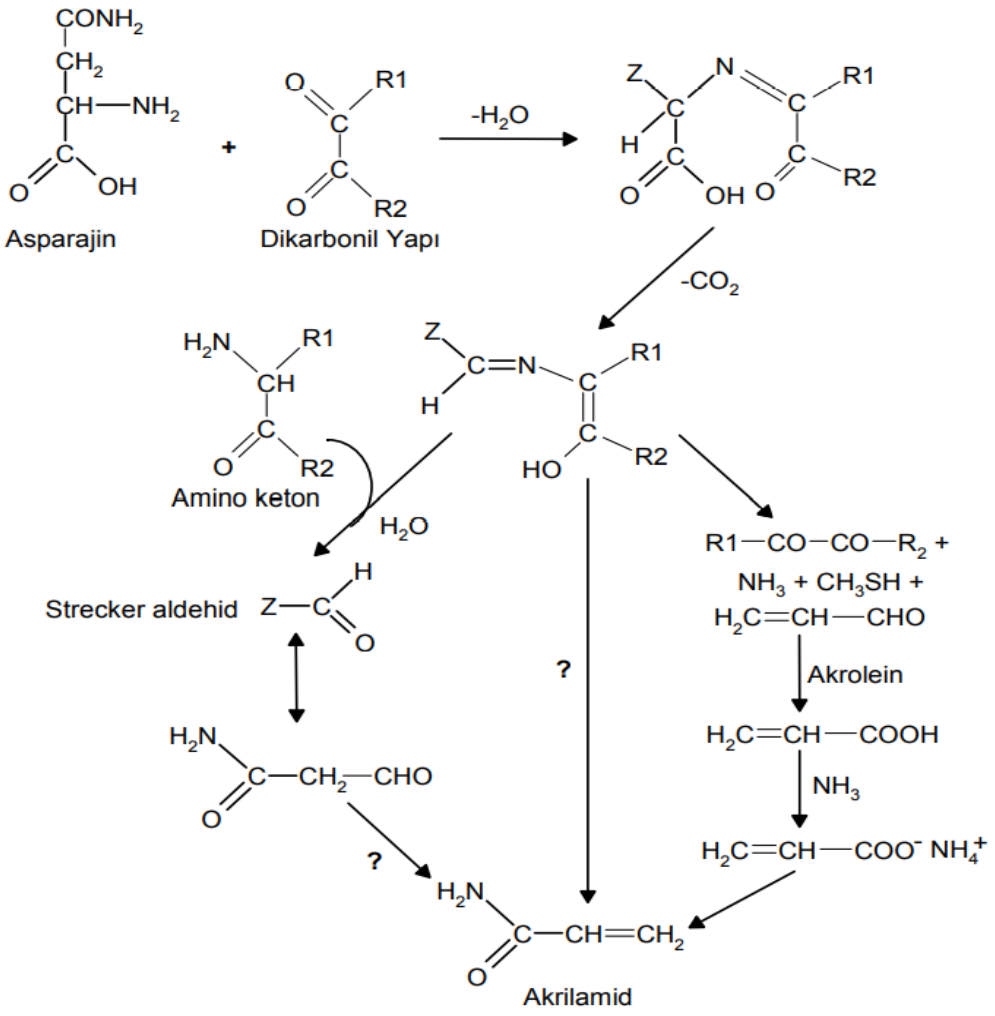
Akrilamidin kimyasal yapısı Şekil 2.1.'de verilmiştir.



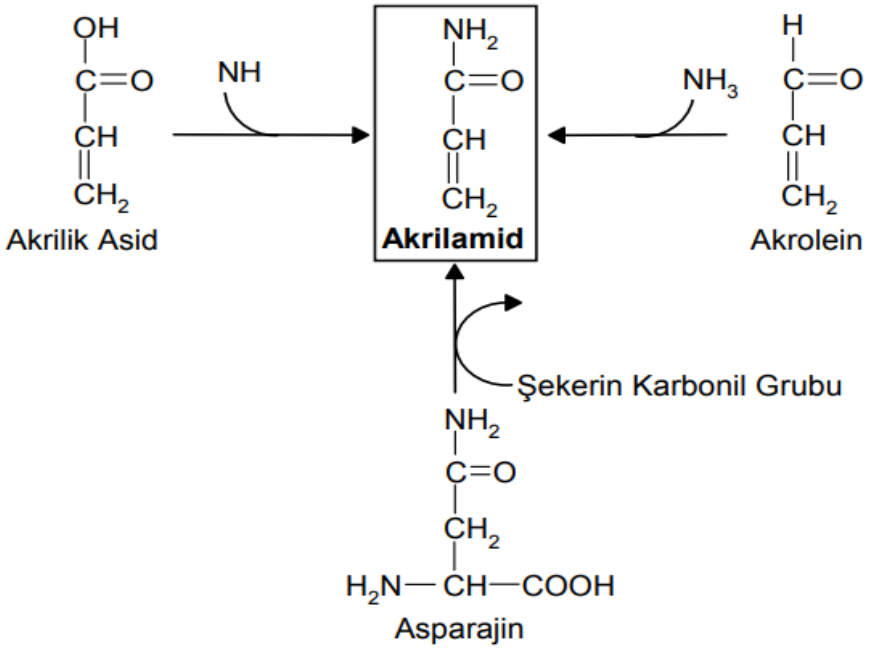
Şekil 2.1. Akrilamidin kimyasal yapısı

2.1.1.1. Kimyasal olarak akrilamid oluşumu

Akrilamid, gıdalarda 120 °C'nin üzerindeki bir sıcaklıkta monosakkaritler (örn. propenal, CH_2 =CH -CHO), akrilamit ile karşılaştırılabilir bir yapıya sahip üç karbonlu bir aldehittir (CH_2=CH-C(O)-NH_2). Akrilamid oluşumu için bir başlangıç molekülü olarak genellikle akrolein kullanılmaktadır (Şekil 2.2). Akrolein, temel kimyasal reaksiyonlarla akrilamide dönüştürülebilir, ancak akrilamidin alternatif sentezi için akrolein gerekli değildir (Şekil 2.2).[23] Örneğin, proteinlerin ve/veya amino asitlerin hidrolizi, dekarboksilasyonu akrilamid oluşumuna yol açabilir.[24]



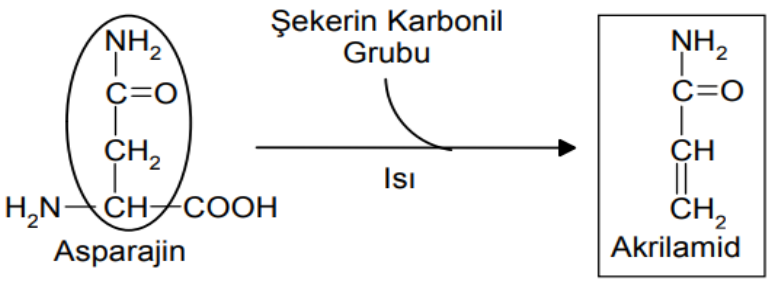
Şekil 2.2. Maillard reaksiyonu ve akrilamid oluşumu



Şekil 2.3. Farklı moleküllerden akrilamid sentezi

Düşük nemde asparajin ile çeşitli şeker molekülleri (glikoz, fruktoz, galaktoz vb.) arasındaki en önemli reaksiyon, akrilamid oluşumuna yol açabilen Schiff hareketidir.[25] Akrilamidin bazı durumlarda asparajinin dekarboksilasyonu veya amonyağın akroleinden salınması ile oluştuğu rapor edilmiştir. Akrolein ile bu akrilamid oluşturma yöntemi, patates kızartmasındaki akrilamid oluşturma yönteminden farklıdır. [26] Bazı araştırmalara göre fruktoz, akrilamidi glikoz veya galaktozdan daha verimli oluşturur. Düşük nemde fruktoz daha sıvı hale gelir ve buna göre tepki verir. [27] Amino asit asparajin ve şekerin ısı etkisi altında birleşmesi, yüksek sıcaklıkta pişirme sırasında akrilamid oluşumuna neden olur (Şekil 2.3). Gıda hazırlama sırasında üretilen akrilamid miktarı, gıdadaki indirgen şeker miktarına, kullanılan sıcaklığa ve kullanım süresine göre değişir. Örneğin, 180°C'de pişirilen patateslerde, 120°C'de kızartılan patateslere kıyasla 30 kat daha fazla akrilamid oluşur. Bu, farklı gıdaları pişirmenin, fırınlamanın veya kızartmanın yanı sıra sıcaklık ve maruz kalma süresinin akrilamid üretimini etkilediğini göstermektedir. Surdyk tarafından yapılan araştırma, pişirmeden önce hamurdaki asparagin içeriğinin artırılmasının, ekmek

pişirme sırasında üretilen akrilamid miktarını önemli ölçüde artırdığını göstermiştir.[28] Böylece asparagin içeriği yüksek olan patatesler kızartılmadan önce asparaginaz enzimi ile muamele edilip daha sonra kaynatıldığında akrilamid oluşumu azaltılmıştır. İndirgeyici şekerler ve amino asitler açısından yüksek gıdaları seçmek, pişirme sırasında akrilamid oluşumunu en aza indirmeye yardımcı olabilir.



Şekil 2.4. Asparajin ve şekerin karbonil grubunun etkileşimi ve akrilamid oluşumu.

2.1.2. Toksik Etkileri

Belirli dozların üzerinde akrilamid hayvanlarda kansere, insan ve hayvanların nörolojik sistemlerinde nörotoksisiteye neden olur. Gıda kaynaklı kanserojenlerin insanlar üzerindeki etkileri bilinmemektedir. Akrilamidin gıdalarda diğer gıda tehlikelerinden daha yüksek miktarlarda bulunması, kanserojen olabileceği yönünde büyük endişelere neden olmuştur. İnsan epidemiyolojik çalışmalarında kanser riskinde artış gözlemlenmemiş olsa da, diyet akrilamidine ciddi şekilde maruz kalan bir popülasyonda nörotoksisite önemli ölçüde artmıştır.[29,30,31,]

2.1.2.1. Nörotoksisitesi

Akut ve subakut dozlarda akrilamid verilen fareleri inceleyen Fullerton ve Barnes, akrilamidin nörotoksik etkilerinin arka bacaklarda zayıflığa, sürüklenmeye ve kısmi felce neden olduğunu bildirmiştir.[32,33,34] Üç dişi sıçana 10 mg/kg'lık bir dozda 116 doz akrilamit verildikten sonra hiçbir nörotoksisite belirtisi gözlenmedi. Akrilamidin son 30 yıldaki nörotoksik etkilerinin morfolojik bulguları, akrilamidin erken başlayan ve sinir uçlarının

harabiyetine yol açan patolojik süreç üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir.[35] Goldsitein ve ark.[36] elektrofizyolojik çalışmalarında, kedilerde akrilamidin neden olduğu sorunların ilk belirtisinin nöronal iletimde bir bozukluk olduğunu ve bunu sinaptik bozuklukların izlediğini bulmuşlardır.[36,37]Akrilamidin nörotoksik etkisinin esas olarak sinir uçlarına yönelik olduğu bulunmuştur. Farelerde gümüş boyama tekniği kullanan araştırmacılar, günlük 50 mg/kg akrilamid enjeksiyonunun ciddi nörotoksisite semptomlarına neden olduğunu ve omurilik, beyincik ve beyindeki sinir uçlarında önemli ölçüde hasara yol açtığını Gold ve ark.[38] sıçanlarda akut ve subakut dozlarda akrilamid ile aksonal modifikasyon üzerinde çalışmışlardır. Bu çalışmada 3 haftalık sıçanlar kullanıldı çünkü önemli sinir iletim bozuklukları genç hayvanlarda daha hızlı ortaya çıktı.[39] İnsanların büyük bir kısmını sağlık yönünden etkilemesi beklenen gıda kaynaklı akrilamid sorununa çare bulmak amacıyla 20. Uluslararası Nörotoksikoloji Konferansında bu konu derinliğine tartışılmıştır.[40,41] Bu kongrede akrilamidin nörotoksik etkileri ve neden olduğu nöropati mekanizması üzerinde durulmuştur. Ek olarak, akrilamidin sinir hücresi işlevini etkilediği ve bunun sonucunda sinir uçlarına zarar vererek hasara neden olduğu bulunmuştur. Bir çalışmada 3 aylık dişi sıçanlara çeşitli aralıklarla 100 mg/kg dozunda akrilamid verilmiş ve hayvanların arka ayaklarında gevşeklik ve hareketsizlik gibi semptomlar erken dönemde ortaya çıkmıştır. Hasimoto ve ark.[42] akrilamide maruz kalan sıçanlarda nörotoksisiteyi incelediler ve nörotoksisite semptomlarının 2 ila 3 hafta sonra ortaya çıktığını buldular.[43] Akrilamid, aynı dozlarda ve benzer sürelerle çalışıldığında insanlarda benzer nörotoksik sorunlara neden olduğu bulunmuştur. [44-47]

2.1.2.2. Genotoksisitesi

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), kemirgenlerin üreme ve somatik hücrelerinde akrilamidin neden olduğu kromozomal anormallikler ve gen değişikliklerine

dayalı olarak akrilamidi bir grup 2A insan kanserojeni olarak sınıflandırmıştır.[48,49] Son zamanlarda yapılan birçok araştırma akrilamidin canlı organizmalar için genotoksik olduğunu ve genotoksisitesinin akrilamidden çok glisidamitten kaynaklandığını göstermiştir.[50,51] Bir çalışmada, glisidamit veya akrilamid ile tedavi edilen hücreler, otomutant kontrol hücrelerine göre daha fazla nükleotitler arası (AG ve GC) transversiyonu olduğunu gösterdi.[52,53]

2.1.2.3 Kanserojenik Etkisi ve Risk Değerlendirmeleri

Kapsamlı kanser çalışmaları, akrilamid ile hemoglobin amino asit valin içeriği arasındaki doz-yanıt korelasyonu ve akrilamid ile glisidamidin bağlanması ve karsinojenik risklerin değerlendirilmesi hakkında bilgi sağlamıştır.[54-57] Çalışmalar, akrilamidin glisidamite metabolik dönüşümünün kanserojen süreçte önemli bir adım olduğunu ve bu dönüşümün akrilamidin genotoksik etkileri için gerekli olduğunu göstermektedir.[58,59,60,] ABD Ulusal Toksikoloji Programı'nın akrilamidi insanlar için "muhtemelen kanserojen" olarak sınıflandırması [61,62,63], Norveç Gıda Denetleme Dairesi [64] ve Dybing'in kanser riski değerlendirmesi ile Sanner ve Konings'in sonuçları [65,66] birbiriyle uyumluluk göstermiştir. Birçok uluslararası düzenleyici kuruluş, akrilamidin kanserojen olduğu konusunda ortak görüş bildirse de, FAO ve WHO, insanlar için riskleri hesaplamak için teorik modellerin olmaması ve en önemlisi pozitif epidemiyolojik bulgular nedeniyle akrilamidin kanserojen olduğu sonucuna varmanın mümkün olmadığı konusunda hemfikirdir.[67] Akrilamid fare ve sıçanlarda kansere neden olmaktadır. Akrilamide içme suyu veya diğer yollarla uzun süreli maruz kalma, her iki türde birden çok organda kanser gelişimine yol açar.[68-70] Akrilamidin farelerde alveolar akciğer kanseri gelişimini hızlandırdığı gösterilmiştir. Cilde uygulandıktan sonra cilt tümörlerinin büyümesi de hızlanmıştır. Sıçanlarda akrilamid kullanımı testis, tiroid ve meme kanserlerinin büyümesine neden olmuştur. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada hipofiz ve

klitoral adenom, oral papillom, uterin adenokarsinom ve adrenal tümör bulundu.[62,63,71] Laboratuar hayvanlarında, büyük miktarlarda oral olarak uygulanan akrilamid, kimyasal olarak reaktif ve genotoksik olan glisidamit'e dönüştürülür. AA ve Glisidamidin yüksek doza maruziyeti sonucu kanserojen potansiyeli olan genleri indüklediği bildirilmiştir.[72]

2.1.3. Akrilamidin Emilimi

2.1.3.1. Akrilamidin Sindirim Sisteminden Emilimi

Araştırma sonuçlarına göre akrilamid mide ve bağırsaklarda hızlı ve verimli bir şekilde emilmektedir. Akrilamid emilim hızı, enjeksiyon tekniğine (intravenöz, kateter ve besleme), süresine ve hayvan türüne bağlı olarak önemli ölçüde değişir. Sıçanlarda akrilamid emilimi, gavaj yoluyla ve gıda ile birlikte uygulandığında %32-50 idi. Sıçanlarda akrilamidin absorpsiyon hızı sonda ile verildiğinde%60-90, yemekle birlikte verildiğinde %28-47 olarak belirlenmiştir.[73]Twaddle ve ark.[74] ve Doerge ve ark.[75], fare ve sıçanlara oral olarak 50 mg/kg akrilamid vermiştir. Sıçanlarda akrilamid konsantrasyonunun maksimum emilimi uygulama yoluna göre değişmektedir. Glisidamit/akrilamid oranı intravenöz uygulamada en düşük, oral uygulamada en yüksek bulunmuştur. Fare ve sıçanlarda yapılan çalışmalara göre, akrilamid oral uygulamadan sonra geniş ölçüde emilir ve tüm vücut dokularına hızla dağılır. İnsanlarda akrilamid alımından 2 saat sonra yapılan idrar tahlili, uygulanan dozların idrarla atıldığını göstermiştir. Birkaç gün boyunca yapılan serum ve idrar testleri, bazı akrilamidlerin hemoglobin veya serum proteinlerine de bağlandığını gösterdi.[54] Führ ve ark.[76] insanlarla yapılan bir çalışmada gönüllülere 0,9 mg akrilamid verdiler. 72 saat sonra toplanan idrar numuneleri, diyet akrilamidinin idrarla atıldığını ortaya çıkardı. Mevcut tüm kanıtları gözden geçirdikten sonra akrilamidin gıda ile birlikte tüketildiğinde en iyi şekilde emildiği sonucuna varmıştır. Akrilamid ve glisidamidin üriner metabolitleri insan

çalışmalarında araştırılmıştır. Sonuçlara göre insanların farelere kıyasla 2-4 kat daha az glisidamit ürettiği söylenebilir.

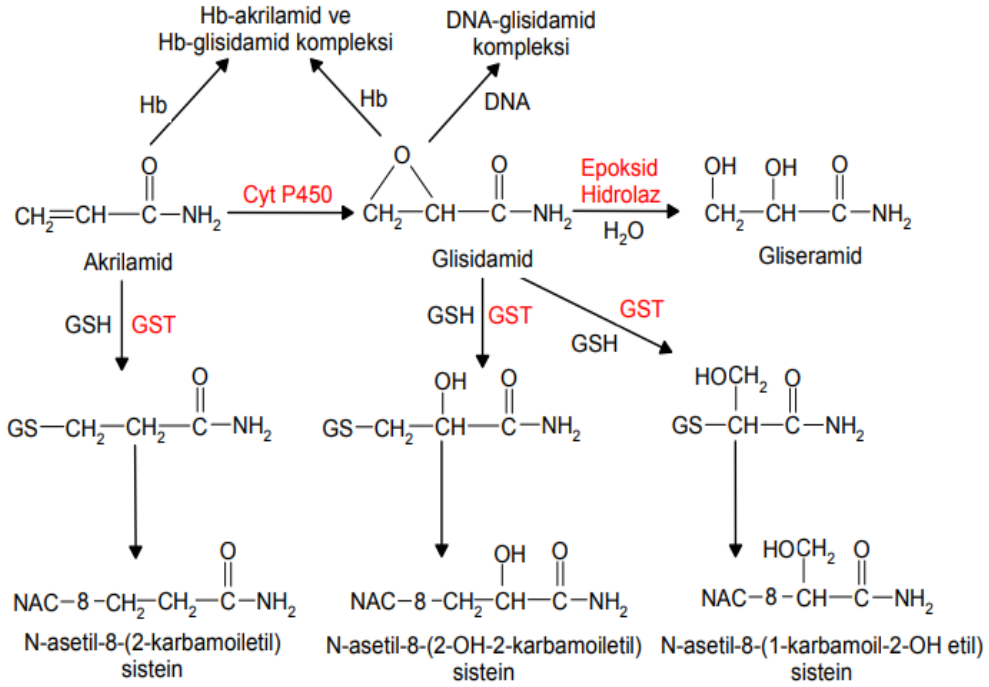
2.1.3.2. Akrilamidin Deriden Emilimi

Sumner, [77,78] Frantz [79] ve Ramsey, [80] sıçanlarda akrilamidin cilt emme özelliklerini kapsamlı bir şekilde inceledi. Fennel, insan gönüllülerde akrilamidin cilt emilimini inceledi. Fennell, çalışması için iki grup gönüllü topladı. Bir grup kontrol grubundan (0 mg/kg) ve diğer grup 3 mg/kg dozunda β-akrilamid (1,2,3-13C) solüsyonu verilen beş gönüllüden oluşur. Üç gün boyunca bu grup temiz, kuru cilde uygulandı. Absorpsiyon derecesini değerlendirmek için her tedaviden sonra her 2 saatte bir kan örnekleri alındı. Uygulama alanı her kullanımdan önce iyice temizlendi. Kullanılan toplam akrilamidin e-q miktarının yıkama sıvısında ve uygulama yerinde kaldığı görülmüştür. Uygulanan akrilamidin %1-1 oranında (ortalama 3 gün) deri tarafından emildiği saptanmıştır. Bu, her gün 0.73-0.86 mg/kg akrilamidin üç gün boyunca toplam 2.35 mg/kg uygulandığı anlamına geliyordu. Farmakokinetik çalışmalara dayalı olarak, akrilamidin plazmadaki ortalama radyoaktivite yarı ömrü 15 saattir. Akrilamidin ve akrilamidin diğer tüm formlarının (örn. poliakrilamid) hızlı ve kapsamlı deri absorpsiyonu iyi belgelenmiştir.[81] Akrilamidin cilt tarafından emilme hızı, uygulandığı vücut bölgesine bağlı olarak büyük ölçüde değişir. Sıçanlarda dermal absorpsiyon oranı, akrilamid uygulanan cilt bölgesine göre ortalama olarak değişirken, insanlarda yaklaşık olarak %25'dir.

2.1.4. Akrilamidin Vücutta Metabolize Edilmesi

Akrilamid metabolizması farelerde, sıçanlarda ve insanlarda incelenmiştir. Akrilamid, nükleofillerle, özellikle tiyolat anyonları, doymamış amidler, imidler ve nitriller (örneğin, akrilonitril, N-etilmaleimid) ile reaksiyona girme yeteneğine sahiptir.[82] Birçok biyolojik proteinin çalışması için tiyol grupları gerekir. GSH, hücrelerdeki en önemli tiyol reaktifidir. Akrilamidin birincil metabolik yollarını gösteren Şekil 2.5'de

verilmiştir.[84] Glutatyon içeren bir enzimatik mekanizma, akrilamidi glisidamit'e çevirerek her iki molekülü de ayırır ve idrarla dışarı atar. N-asetil-S-(3-amino-3-oksopropil)-sistein'in yapısı, akrilamidin temel salgı metabolitidir. Akrilamidin glutatyon bileşiklerine oranı veya oksidasyon üzerine oluşan glisidamit miktarı hayvan türleri arasında önemli ölçüde değişir. Genel olarak, oksijenli glisidamit grubu hemoglobin ile akrilamid çift bağından daha fazla etkileşime girer.[83]



Şekil 2.5. Akrilamidin temel metabolik yolları

Akrilamid, glutatyon S-transferaz tarafından indirgenmiş glutatyona konjuge edilebilir veya Sit P450 enzim sistemi tarafından oksitlenebilir.[85,86] Akrilamid substrat olarak kullanıldığında bu iki enzimatik süreç birbiriyle rekabet eder. Sadece Sit P450 2E1, farelerde bu yanıtı ortaya çıkarır.[87] Gastrointestinal sistemden emildikten sonra, akrilamid kandaki hemoglobin molü başına mol akrilamid oranında karaciğere taşınır ve burada iki metabolik yoldan biri tarafından emilir. Ya glutatyon ile konjuge edilerek N-asetil-S-(2-karbamoiletil)sistein, zararsız bir şekilde idrarla atılan toksik olmayan bir glutatyon

molekülü oluşturur ya da sitokrom P450 enzimi CYP 2E1 tarafından oksitlenir. Enzim sistemi karaciğerde ve daha toksik glisidamitlere dönüştürülür. Bu glisidamit, dolaşımdaki hemoglobin tarafından dokulara taşınabilir ve doku DNA'sına bağlanarak mutasyonlara neden olabilir. Akrilamid, glisidamide dönüştürüldükten sonra indirgenmiş glutatyon (GSH) ile etkileşime girer ve idrarda glutatyon metabolitleri N-asetil-S-(2-hidroksi-2-karbamoiletil)-sistein ve N-asetil-S-(1) olarak atılır.).)-). karbamoil-37-2-hidroksietil)sistein. Epoksihidrolaz (EH) ayrıca glisidamidi daha kararlı bir metabolit olan 2,3-dihidroksipropionamide (gliseramid) dönüştürür ve atılır. Akrilamid ve glisidamit metabolizması karaciğerde gerçekleşir. Kirman ve ark. AA metabolizmasının karaciğerde geliştirdiği modele göre iki ana yol önermişlerdir.[88] Birinci yol AA sitokrom P 450 enzimi ile glisidamit'e oksidasyonu (Michealis-Menten kinetiğine göre). Diğeri indirgenmiş glutatyonun (GSH) akrilamid ile konjugasyonu yoluyla glutatyon-S-transferazın (GST) N-asetil-S-(3-amino-3-oksopropil)-sisteine dönüştürülmesidir. Akrilamidin glisidamide dönüşüm hızı türler arasında değişir. Farelerin, diğer türlere kıyasla akrilamidin glisidamide en yüksek dönüşüm yüzdesine sahip olduğu bulundu. Akrilamidin insanlarda glisidamide dönüşüm oranı oldukça düşüktür. N-asetil-S-(3-amino-3-oksopropil)sistein'in sıçanlarda, farelerde ve insanlarda akrilamidin oksidasyonu sırasında oluşan majör metabolit olduğu bulundu. [89]

2.1.5. Akrilamidin Vücutta Dağılımı

Miller ve ark.[89] akrilamid ve glisidamit düzeylerini değerlendirmek için toksikokinetik bir çalışma gerçekleştirdi. Çalışma, akrilamidin 1,7 saatlik bir yarı ömre sahip olduğunu, ancak glisidamidin önemli ölçüde daha uzun bir yarı ömre sahip olduğunu buldu. Hashimoto ve Aldridge, erkek albino farelere intravenöz olarak 100 mg/kg radyoaktif işaretli akrilamid verdi.[90] Kan, plazma ve dokulardaki (beyin, omurilik, siyatik sinirler, karaciğer ve böbrekler) radyoaktiviteyi ölçtüler. Ölçüm sonuçlarına göre

en büyük radyoaktiviteyi kanda bulmuşlar. Akrilamidin hemoglobin ile kompleksleşmesi, en güçlü şekilde kan dokusundaki radyoaktivite konsantrasyonuyla ilişkiliydi. Sumner ve ark.[85] Başka bir deneysel çalışmada, iki grup sıçan ve fareye 6 saat boyunca 3 ppm akrilamid (2,3-1 C) ve akrilamid (1,2,3-13C) uygulamışlardır. Sıçan dokularında gözlenen radyasyon seviyeleri aşağıda sıralanmıştır:

Kan > testis > deri > karaciğer > böbrek > beyin > dalak > akciğer > epididim > yağ

Fare dokularında gözlenen radyoaktivite düzeyleri ise:

Testis > deri > karaciğer > böbrek > adrenal bez > beyin > akciğer > kan > yağ olarak sıralanmıştır.

Bu bulgular, akrilamidin sıçan ve fare dokusundaki lokalizasyonunun farklı olduğunu açıkça göstermektedir.[78]

2.1.6. Akrilamidin Vücuttan Atılımı

Hayvan deneyleri, akrilamidin vücuttan en güçlü ve hızlı şekilde idrar yoluyla atıldığını göstermiştir. Akrilamid hayvanlara çeşitli şekillerde verildiğinde akrilamid ve akrilamid bileşiklerinin %40-70'i idrarla, %5-6'sı dışkıyla, %6'sı solunum yolu ile ve %5'i safrayla atılır.[80] Sumner ve ark.[83] Erkek fare ve sıçanlara 3 ppm akrilamid 6 saat boyunca nazal inhalasyon veya dermal olarak 162 mg/kg akrilamid dozunda verdi. İdrar, dışkı ve nefes örnekleri 2 saatlik bir süre boyunca bir tüpte toplandı. Toplam akrilamid değerlendirildiğinde, sıçanlarda seviyeler farelere göre 2.8 kat daha düşüktü. Farelere enjekte edilen akrilamidin 2 saat sonra yapılan radyoaktivite ölçümleri, en yüksek miktarların vücut dokularında ve idrarda bulunduğunu göstermiştir. Araştırmalara göre, bir kişinin günde 500 gr cips veya tost yemesi durumunda idrarla akrilamid atılımı 5 mg olarak tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada 500 gram cips veya tostta ne kadar akrilamid bulunduğunu belirtilmemiştir.[91] Miller ve ark.[89] akrilamidin sıçanların idrar ve dışkısı ile

idrarla atılımının oral veya intravenöz enjeksiyondan sonra 2 saat sonra olduğunu bildirmiştir.[89] İdrar verilerine göre oral ve intravenöz tedavi sırasında gözlenen parametreler birbirine oldukça yakındı. Akrilamid (1 C) uygulamasından birkaç saat sonra alınan dışkı örneklerinde tespit edilen akrilamid miktarı çok azdır; 1-2 saatte % 0,8 ve 7 gün sonra %6 oldu. Akrilamidin %2'sinden daha azının idrarla bozulmadan atıldığı bulundu. Uygulamadan sonraki ilk 6 saat boyunca nefeste hiçbir radyoaktivite tespit edilmemiştir. Erkek sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, Kadry ve ark. [92] vücuttan akrilamid atılımını hesaplamaya çalıştı. Akrilamidin doruk plazma seviyeleri, enjeksiyondan 28 dakika sonra gözlendi. Akrilamidin plazma yarı ömrü 15.6 saat olarak belirlendi. Kan salgısı, bir dağıtım fazı (t12 = 7.93 saat) ve bir saflaştırma fazından (t12 = 37 saat) oluşan iki fazlı bir süreç olarak modellenmiştir. Akrilamidin kanda uzun süreli varlığı, hemoglobin molekülündeki sülfhidroksil partikülleri ile etkileşiminden kaynaklanmaktadır. İlk 12 saat boyunca alınan idrar örneklerinin analizi, akrilamidin çoğunlukla idrarla atıldığını gösterdi. Sumner ve ark.[81] akrilamid, sıçanlara ve farelere intravenöz olarak uygulandı ve akrilamid 2 saat sonra idrarla atıldı. Bu miktarın %7'si glisidamit ve glisidamit metabolitlerinden kaynaklanmaktadır. Aynı çalışmaya göre akrilamidin dermal uygulamasından sonraki ilk 2 saatte idrar örneklerinde %1,5 oranında atılım gözlenmiştir. Glusidamit elimine edilmiş metabolitlerden oluşur. Başka bir çalışmada oral olarak farklı dozlarda akrilamid verilmiş ve 72 saat sonra idrar örnekleri alınmıştır. Çalışma, uygulanan akrilamidin yaklaşık 1'inin idrarla atıldığını göstermiştir. Aynı çalışmada akrilamid hem intravenöz hem de perkütan olarak enjekte edilmiş ve radyoaktivitenin kandaki yarılanma ömrü 2 saat, toplam eliminasyon süresi ise 10 saat olarak belirlenmiştir.[80]

2.1.7. Gıdalarda Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler

120°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda pişirilmiş veya işlenmiş bazı gıdalarda doğal olarak bulunur. Sıcaklık, maruz kalma süresi ve çevresel pH gıdalarda akrilamid sentezini etkileyen faktörlerdir. Artan işlem sıcaklıkları ve depolama süresi ile üretilen akrilamid miktarının arttığı gözlenmiştir.[93] Patates sabit sürede farklı sıcaklıklarda sırasıyla 160°C, 170°C ve 180° pişirildiğinde artan sıcaklık değerlerinde göre 27, 70 ve 326 ppb akrilamid oluştuğu tespit edilmiştir. Ayrıca 180 °C'de 3,5- 4-4,5 ve 5 dakika pişirilen patateslerde 12, 6, 227 ve 973 ppb akrilamid bulunmuştur. Akrilamid miktarı artan sıcaklık ve süreye baglı olarak arttıgı gözlenmiştir. Akrilamid en cok patates ve tahıllar, cips, tost, bisküvi, kraker gibi nişastalı gıdalarda oluşmaktadır. [93]

2.1.8. Akrilamidin Gıdalardaki Sınır Değerleri

Akrilamid, başlangıçtaki tehlikeli dozlarının bilinmediği bir bileşik grubunun parçası olarak incelenmektedir. Akrilamid içeren bu bileşik sınıfı, küçük miktarlarda bile tehlikelidir ve tamamen güvenli kabul edilemez. Vücuda ne kadar çok akrilamid girerse ve maruz kalma süresi uzadıkça hastalık riski de o kadar artar. İsveç Gıda Ajansı ve Stockholm Koleji 2 Nisan 2002'de 120 °C'nin üzerinde kızartılan veya fırınlanan gıdalarda büyük miktarlarda akrilamid oluştuğunu dünyaya duyurdu. Bunun üzerine birçok kuruluş gıdalardaki akrilamid seviyelerini ve limitlerini belirlemek için araştırmalara başladı. 2002'den beri ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), akrilamidi gıdalarda test etti ve sonuçlarını web sitesinde yayınladı (Tablo 2.1).[94-97]

Tablo 2.1. Bazı Gıdaların Akrilamid İçerikleri

Besin/Ürünler	Akrilamid Düzeyi (pg/kg)			
	Ortalama	Ortanca	Alt-üst	Örnek sayısı
Patates cipsi	1312	1343	170-2287	38
Patates kızartması	537	330	<50-3500	39
Hamur ürünleri	36	36	<30-42	2
Fırınlanmış ürünler	112	<50	<50-450	19
Bisküvi, kraker, tost	423	142	<30-3200	58
Kahvaltılık tahıllar	298	150	<30-1346	29
Mısır cipsi	218	167	34-416	7
Sütlü ekmek	50	30	<30-162	41
Balık ve deniz ürünleri	35	35	30-39	4
Kümes hayvanları	52	52	39-64	2
Çözünür (instant) malt	50	50	<50-70	3
Çikolata tozu	75	75	<50-100	2
Kahve tozu	200	200	170-230	3
Bira	<30	<30	<30	1
Adana kebap	127	-	49-250	4
Kuşbaşı	57	-	52-63	3
Et döner	65	-	-	3
Türk kahvesi	25		29-75, 266	2
Kahve	49	-	88-186, 204, 237, 816	2

Benzer bir çalışma, ancak çok daha küçük ölçekte Türkiye'de yapılmıştır. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) Marmara Araştırma Merkezi bilim insanlarından Hülya Ölmez ve ekibi tarafından yürütülen çalışmada, ev yemekleri, kızarmış kurabiye, ekmek ve hamur işleri, patates kızartması, kahve, kurabiyeler incelenmiştir. Ayrıca hamur işleri, pekmez, mangal, kebap ve köfte gibi geleneksel tatlar denenmiştir. Dokuz aylık deney sonunda bu yemeklerin akrilamid içeriği test edildi ve bazı şaşırtıcı bulgular elde edilmiş ve Tablo 2.2'de gösterilmiştir.[98] Akrilamid'in cips, kraker, kahvaltılık tahıllar, kraker ve bebek krakerlerinin yanı sıra patates kızartması ve tostlarda yüksek olduğu bulunmuştur. Akrilamid tulumba tatlısı ve hamur işlerinde yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. Ancak akrilamid konsantrasyonu ekmek, ızgara ekmek, kebap, tahin helvası, çavdar ekmeği, baklava ve pirinçte tespit edilenden daha düşük bulunmuştur. Bu çalışma sonuçlarında akrilamid içeriği yüksek olan ürünlerin

insan sağlığına zararlı olduğu için yasaklanması veya bu gıdaların ambalajlarına "insan sağlığına zararlı akrilamid içerir" uyarısının eklenmesi önerilmiştir.

Tablo 2.2. Ölmez ve Ark.'nın Gıda Kaynaklı Akrilamid Analiz Sonuçları

GIDA MADDESİ	AKRİLAMİD (ng/kg)
Pirinç pilavı	Ölçülebilir değerin altında
Tahin helvası	Ölçülebilir değerin altında
Kebap,döner,ızgara	Ölçülebilir değerin altında
Çavdar Ekmeği	Ölçülebilir değerin altında
Beyaz ekmek (kabukta)	40-160
Kızarmış ekmek (hazır)	200
Hazır çorbalar	40-60
Tulumba tatlısı	40-45
Bebe bisküvisi	400-600
Bisküvi	70-130
Kraker	70-200
Kahvaltılık gevrekler	80-350
Ekmek	40-160
Kızarmış ekmek	90-1430
Sade kek	150-400
Zencefilli kek	1070-1410
Bisküviler	260-1450
Krakerler	180-420
Çeşitli fırıncılık ürünleri	230-3200
Kahvaltılık tahıllar	30-1400
Bebek bisküvileri	150-610
Patetes kızartması	330-3700
Kahve (bir bardakta)	25

2.1.8.1. Gıda Kaynaklı Akrilamide Maruz Kalan İnsanlarda Yapılan Çalışmalar

Akrilamid üzerinde yapılan bir araştırma, gıdalardaki akrilamid miktarının 30 ile 3100 mg/kg arasında olduğunu ortaya koydu. Çeşitli yiyecek ve içeceklerle bağlantılı

olarak günlük tüketilen akrilamid miktarını ve çeşitli organlarda kanser riskini inceleyen çok sayıda çalışma yayınlanmıştır.[99,100] Böbrek, kolon, mesane, ağız boşluğu, farinks, yemek borusu, gırtlak, meme ve yumurtalıklar gibi doku ve organların akrilamid nedeniyle kanser riski altında olduğu tespit edilmiştir. Vaka kontrol çalışması, kızartılmış gıdalardaki kolorektal ve idrar yolu maligniteleri ile heterosiklik aminler arasındaki olası ilişkiyi araştırmak için yapılmıştır.[101] 1991 ve 2000 yılları arasında patates kızartması ve kanser riski arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için İtalya ve İsviçre'de bir çalışma yürüttü. Kontrole göre göğüs ve yumurtalıklar, AA kaynaklı kanser olma olasılığı en yüksek olan dokulardı.[102,103] Pelucci ve Ark.[103,104] Mevcut verilere dayanarak, kızarmış veya haşlanmış patates tüketimi ile kanser riski arasında önceki bulguları destekleyen anlamlı bir ilişki bulamadılar.

2.1.8.2. Akrilamide Mesleki Açıdan Maruz Kalan İnsanlar Üzerindeki Çalışmalar

Akrilamid, 1950'lerin ortalarından beri ticari olarak yaygın olarak kullanılan önemli bir endüstriyel monomerdir. Akrilamid 1990'ların başında Japonya, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da yılda 50.000–77.000 ton aralığında yaygın olarak üretilmektedir. 1970'lerin başında başka bir monomere, vinil klorüre mesleki olarak maruz kalan imalat işçilerinde atipik tümörler rapor edildi. 1980'lerde, akrilamide maruz kalan işçilerde kanser risklerinin epidemiyolojik analizlerinin sonuçları yayınlandı. Monomer üretimi ve polimerizasyon endüstrisinde akrilamide maruz kalan iki büyük işçi grubu oluşturuldu ve kanser riskleri değerlendirildi. Bu işçilerde kanser insidansı ile akrilamide maruz kalma arasında bir ilişki bulunmadı.[105,106]

2.2. Bor

Kimyasal sembol B ile gösterilen bor, periyodik tablonun III. elementidir. Grubun ilk elementi ve metalik olmayan tek elementtir. Atom numarası 5 ve atom kütlesi 10.81

olan bor aslında kütle numaraları 10 (10B %19.8) ve 11 (11B %80.2) olan iki kararlı izotoptan oluşur.[107]

2.2.1. Genel Özellikleri

Doğada serbest element olarak bulunmayan bor, oksijene kalıcı olarak bağlıdır ve bu oksijen bağlı bileşiğe borat adı verilir.[108] Bor oksit (B_2O_3) ve borik asit en temel bor bileşikleridir (H_3BO_3). Tablo 2.3 borun ve çeşitli bor bileşiklerinin özelliklerini göstermektedir.[109] Doğada yaklaşık 230 farklı bor minerali bulunmaktadır ve bunların en önemlileri yapısında Na, Ca ve Na-Ca bulunanlardır. Na içeren bor minerallerine bor (çinko), Ca içeren bor minerallerine kolemanit ve Na-Ca'yı birleştiren bor minerallerine üleksit denir.

Tablo 2.3. Bor ve Bazı Bor Bileşiklerinin Özellikleri

Bileşik	Moleküler formül	Moleküler ağırlık	Bor içeriği (%)	Fiziksel özellikleri
Bor	B	10,81	100	Siyah kristal veya sarı - kahve-rengi amorf toz
Bor oksit	B_2O_3	69,62	31,06	Beyaz veya renksiz camsı kristal
Borik asit	H_3BO_3	61,83	17,48	Beyaz veya renksiz kristal granüller veya toz
Kolemanit	$CaB_6Oi!.5H_2O$	411,1	15,78	Beyaz veya renksiz camsı kristal
Üleksit	$NaCaB_5O_9.8H_2O$	810,6	13,33	Beyaz veya renksiz camsı kristal
Boraks (tinkal)	$Na_2B_4O_7.10H_2O$	381,43	11,34	Beyaz veya renksiz kristal granüller veya toz
Boraks pentahidrat	$Na_2B_4O_7.5H_2O$	291,35	14,85	Beyaz veya renksiz kristal granüller veya toz
Susuz boraks	$Na_2B_4O_7$	201,27	21,49	Beyaz veya renksiz camsı kristal

2.2.2. Borun Kullanım Alanları

Bor mineralleri ve bileşikleri, çeşitli endüstrilerde çeşitli malzeme ve ürünlerin yapımında kullanılmaktadır. Cam üretimi: borosilikat camlar yalıtkan cam elyafları,

tekstil cam elyafları, optik elyaflar, cam seramikler, şişeler ve diğer konut camlarıdır. Emaye, sır, cam ve porselen seramik endüstrisinin ürünleridir. Nükleer endüstri: nükleer kaza güvenliği ve nükleer atık depolama (reaktör kontrol çubukları), havacılık (sürtünme ve aşınmaya dayanıklı malzemeler, roket ataşmanları). Kompozit zırh plakaları askeriyede ve zırhlarda kullanılmaktadır. Elektronik, elektrik ve bilgisayar endüstrisinde mikroçipler, CD diskleri, bilgisayar ağları, ısıya dayanıklı fiber optik kablolar, yarı iletkenler, vakum tüpleri, elektrik kondansatörleri ve referans sigortalarda kullanılmaktadır. Ayrıca cep telefonu, modem ve televizyon gibi iletişim sektörlerinde de kullanılmaktadır. Güçlendirme ve izolasyon malzemeleri inşaat ve çimento sanayinde kullanılmaktadır. Metalurji sektöründe paslanmaz ve alaşımlı çelik katkı maddesi, sürtünmeye ve aşınmaya dayanıklı malzemeler, briket malzemeler, lehimlenmiş, eriyen malzemeler örnek verilebilir. Enerji sektöründe: hidrojen taşıyıcı, güneş pillerinin korunması için güneş enerjisi depolama sektörü, otomotiv sanayinde antifriz olarak, hava yastıklarında, hidroliklerde, ısı ve ses izolasyonunda kullanılır. Tekstil sanayinde ısıya dayanıklı tekstiller, ateşe dayanıklı ve ateşe dayanıklı selüloz malzemeler, izolasyon malzemeleri, tekstil boyaları, deri boyaları, viskon vernikleri kullanılmaktadır. Kimya endüstrisinde bazı kimyasallar elektrolitik işlemler, banyo çözeltileri, yağlı boyalar, yanmaz çözünmez boyalar ve tekstil boyaları ile indirgenir. Tıpta osteoporoz, alerjik hastalıklar, psikoz, kemik oluşumu ve artrit, menopoz, beyin tümörleri (BNCT), dezenfektanlar ve antiseptikler için kullanılırlar. Tarımda gübre (bitki büyümesini desteklemek için) ve böcek ilacı (pestisit) olarak kullanılır. Manyetik cihazlar, korozyon önleyici maddeler, fotokimyasallar ve mıknatıslar Koruyucu olarak: ahşap ve ahşap koruyucu, boya ve vernik kurutma maddesi. Kâğıt endüstrisinde ağartma maddesi olarak. Çamaşır tozu, ağartma tozu, ağartma maddesi gibi temizlik ve ağartma ürünlerinde kullanılır.[125]

Şekil 2.6. Borun kullanım alanları

2.2.2.1. Bor Maruziyet Yolları

Bor'a çevresel maruz kalma yolları arasında okyanuslar, volkanlar, kaplıcalar, toprak ve yeraltı suları vardır. Bor kayalarda, denizlerde ve yeraltı sularında bulunur. Bor, topraktan ve sudan bitkilere, özellikle meyve ve sebzelere emilerek hayvanlara ve insanlara geçer.

Canlılar bor açısından zengin alanlarda yeraltı ve yüzey sularının tüketimi ve kullanımı, bor yönünden zengin yiyecek ve içecekleri tüketerek, taş ocaklarında ve sanayide istihdamı, sabun, deterjan, kozmetik vb. temizlik ve ağartıcı kimyasal yolları ile bora maruz kalırlar.

2.2.2.2. Bor Metabolizması

Bor, oksijen (B-O) ile çok güçlü bir bağa sahiptir. Bu bağın kırılması çok yüksek bir enerji (523 kJ/mol) gerektirdiğinden ancak laboratuvar koşullarında gerçekleşebilir. Borat bileşiklerinin insanlarda ve hayvanlarda metabolizması son derece düşüktür.[107,108,109] Düşük konsantrasyonlarda ve fizyolojik pH'da idrarda modifiye edilmemiş borik asit bulunması ve inorganik boratların mukozal sulu tabakalarda

absorpsiyondan önce borik aside dönüşmesi borik asidin metabolize olmadığını gösterir.[110,111] Şeker, polisakkarit, adenozin-5-fosfat, pridoksin, riboflavin, dehidroaskorbik asit ve piridin nükleotidleri içeren organik bileşiklerle kompleks oluşturabilen bor kompleks oluşumunu konsantrasyonuna bağlı olarak geri dönüşümlü oluşturur.[112,113]

2.2.2.3. Farmakokinetik

İnorganik boratlar, düşük konsantrasyonlarda ve fizyolojik pH'da emilmeden önce mukozal sulu tabakalarda borik aside dönüştürülür. Bor, vücut sıvılarında pasif difüzyonla borik asit olarak taşınır. Bor bileşiği kanda ve idrarda borik asit olarak saptanır. İnsanlarda ve sıçanlarda borik asidin farmakokinetiği emilim, dağılım ve metabolizma açısından benzerdir.[114]

2.2.3. Borun Absorbsiyonu

Borun absorbsiyonu üç yolla olur. Bunlar gastrointestinal, inhalasyon ve deri absorpsiyonu olarak bilinmektedir. Bunlardan en yüksek yol gastrointestinal yoldur.

2.2.3.1. Gastrointestinal Yolla Absorbsiyon

İnsanlar tarafından tüketilen borun yaklaşık yarısı, gastrointestinal kanaldan hızla emilir. Chou ve ark.[115] tek doz olarak suda çözünür borik asidin 96 saat sonra idrarla atıldığını bulmuştur.[116] Naghi ve Samman'ın bulgularına göre tüketilen dozun yarısı idrarla atılır. Job, üriner atılım verilerini hesaba katarak, alınan dozların %50'den fazlasının gastrointestinal sistem yoluyla emildiğini bulmuştur.[116] Yapılan bu çalışmalar ile oral yolla alınan borun insanlarda ve hayvanlarda gastrointestinal yoldan kolay bir şekilde absorde edildiği sonucuna varılmaktadır. [117,118,119]

2.2.3.2. Solunum yolu ile absorbsiyon

Solunum sırasında borun havadan emilmesine dayanır. Culver ve ark.[129] yaptıkları çalışmada, bor üreten bir fabrikada borat tozlarına (boraks, boraks pentahidrat ve susuz

boraks) maruz kalan erkek işçilerin, maruziyetle orantılı olarak kan ve idrarda artışlar olduğunu bulmuşlardır.

2.2.3.3. Dermal yol ile absorbsiyon

Tavşanlar, sıçanlar, yenidoğanlar ve insan yetişkinleri üzerinde yapılan tüm deneyler, özellikle açık bir cilt insizyonu olmadan borun sınırlı dermal absorpsiyonunu göstermiştir.[117-119]

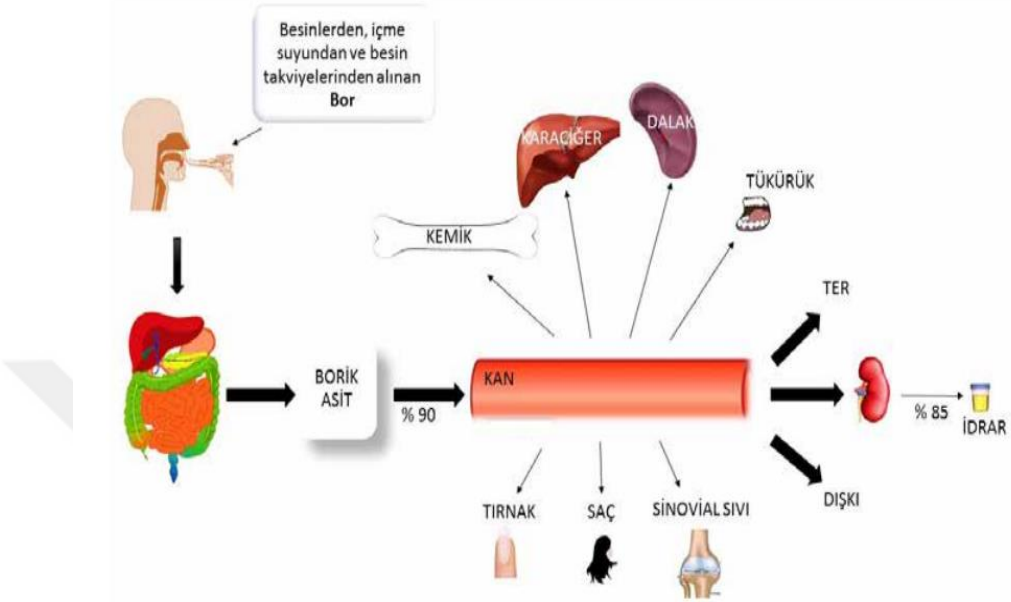
2.2.4. Borun Vücuttaki Dağılımı

Vücut tarafından emilen bor, vücut sıvısında pasif difüzyonla hızla yayılır. Bor, insan ve hayvan doku ve organlarında 0,05-0,6 mg/kg (yaş ağırlık) konsantrasyonunda dağılır, kemiklerde değeri daha yüksektir. Bor rutin olarak vücut sıvılarında dağılmakla birlikte kemik, tırnak, saç ve karaciğer, dalak gibi organlarda çok küçük miktarlarda (4,3-17,9 ppm) birikebilir.[120,121] İnsan vücudundaki bor konsantrasyonu 3 ila 20 mg arasında değişmektedir. Normal memeli doku ve sıvılarında az miktarda (0,02-0,5 mg/g) bulunan bor, biyomoleküller ile etkileşime girmez.[122] Monomerik borik asit ($B(OH)_3$) ve tetrahidroksiborat anyonu (B(OH) -) en yaygın formlardır. Borik asit zayıf bir asit olduğundan (pKa 9.2) insan kanında serbest borik asit ve borat anyonu olarak bulunur.[110,111,122] Bor bileşikleri insan ve hayvan plasentasını da geçebilir.

2.2.5. Borun Vücuttan Atılımı

İnorganik borat bileşikleri metabolize edilmeden vücuttan borik asit olarak atılır. Sonuç olarak, borik asit idrarda bulunan tek bor bileşenidir ve alınan borat dozunun yarısından fazlası idrarda bulunur. Bor en çok idrar, ter, nefes, tükürük ve dışkı ile atılır.[123,124,125] İdrardaki bor, ağızdan verilen bor miktarını belirlemek için kullanılır. Vücuda nasıl girdiğine bakılmaksızın, %92-96-bor alındıktan 96 saat sonra değişmeden idrarla atılır ve 3-7 gün içinde vucuttan tamamen atılır.[126] Eliminasyon yolu ve yarı ömür de dâhil olmak üzere insan ve sıçan atılım kinetikleri karşılaştırılabilir. Bununla birlikte,

fareler insanlardan daha yüksek glomerüler filtrasyon hızına sahip olduğundan, borun böbreklerden uzaklaştırılması 3-4 kat daha hızlıdır. Sonuç olarak, sıçanlarda borun yarı ömrü insanlardan daha kısadır.[127]



Şekil 2.7. Bor metabolizması ve atılımı

Çeşitli farmakokinetik çalışmalar, borun, genellikle borik asit olarak, gastrointestinal sistemden hızla ve tamamına yakını emildiğini göstermiştir.[128] Culver ve ark. insan deneylerinde 3.3 - 18 mg/m^3 boraksa maruz kalan deneklerde borun soluma yoluyla emildiğini bulmuştur. Çocuklarda, yetişkinlerde, tavşanlarda ve sıçanlarda yapılan çeşitli testlerde borun dermal (bozulmamış) yoluyla emiliminin olmadığı rapor edilmiştir.[129,130]

Borun hayvan dokularındaki dağılımı kapsamlı bir şekilde çalışılmış olmasına rağmen, borun insanlardaki dağılımı çok az çalışılmıştır.[131] Bor, doğal olarak insan dokularında ve vücut sıvılarında diyet ve içme suyu yoluyla bor alımı sonucunda oluşur. Bor kemiklerde birikebilir. Bor seviyeleri kaslarda, dokularda, kalpte, akciğerlerde ve bağırsaklarda daha düşüktür.

Boratlar, fizyolojik pH'da ve mukozal yüzeyde absorbe edildiklerinde küçük miktarlarda borik asit haline gelirler. Borik asidin çeşitli biyolojik maddelerle kendiliğinden kompleksler oluşturduğu gösterilmiştir. Borik asidin hidroksil, amino ve tiyol gruplarına olan afinitesi deneysel olarak kanıtlanmıştır.[132]

Bor bileşiklerinin eliminasyonlarının insanlarda ve hayvanlarda benzer oldukları bildirilmektedir[143]. Organizma içerisine alınış yoluna bağlı olmaksızın, borun eliminasyonu başlıca glomerular filtrasyonun farelerde insanlara oranla 3-4 kat daha hızlı, organizma içerisinde alınmış olan borun %90'dan fazlasının ilk 24 saat içerisinde idrar yoluyla uzaklaştırıldığı rapor edilmiştir. [133]

2.2.6. İnsan Beslenmesi Açısından Bor

Bor hem bitkiler hem de insanlar için önemli bir eser elementtir. Bitkiler onu topraktan emer ve besin zinciri yoluyla insanlara aktarır. Bor açısından zengin besinler arasında fındık, baklagiller, meyve ve sebzeler bulunur. Elma, kiraz, üzüm, fındık, ceviz, fasulye, pancar, biber ve baklagiller bol miktarda bulunur. Tahıllar, patatesler ve çiçeklerde az miktarda bulunur. Önemli bir bor kaynağı olan erik kurusunun (Prunus domestica) 100 gramı, vücudun günlük ihtiyacı olan 2-3 mg boru karşılar.[134] Düşük bor içeriğine rağmen, süt ve ondan yapılan ürünler, esas olarak beslenme ile ilgili olduğundan, bor alımına önemli ölçüde katkıda bulunur. Tablet şeklinde bor alındığında küçük çocuklarda öğrenme ve skolastik yeteneklerinin yanı sıra atletik ve fiziki performanslarını artırdığı bulunmuştur. Borun faydalı etkileri Ca, Mg ve riboflavin (B2 vitamini) gibi vitamin ve minerallerle birleştiğinde artar. Yaygın olarak tüketilen bazı besinlerin bor içerikleri Tablo 2.4'te verilmiştir.

Tablo 2.4. Yaygın Olarak Tüketilen Bazı Besinlerin Bor İçerikleri

	Bor Konsantrasyonu (jıg/g)	
Besin Turu	**Huntelal..(1991)**	**Anderson et al.. (1994)**
Meyveler		
Elma	2.73	2.38
Muz		3.72
Kiraz	1.47	0.92
Şeftali	1.87	
Armut	1.22	
Elma Suyu	1.88	1.41
Üzüm Suyu	2.02	2.06
Portakal Suyu	0.41	1.5
Kuru Erik	27	21.5
Kuru Üzüm	25	19
Sebzeler		
Taze Fasulye	0.46	1.56
Brokoli	1.85	
Salatalık	0.015	
Havuç	0.75	
Kuru Yemişler		
Fındık	16	
Fıstık	18	13.8

2.2.6.1. Organizmadaki Bor Düzeyleri

Kan ve idrar örnekleri ile bor düzeyleri belirlenebilir. Besinlerle vücuda alınan maddelerin tamamına yakını 1-2 gün içinde idrarla atıldığı için bor düzeylerinin tespiti anlamsızdır. Tespit edilen kan bor değerleri 0.00 ile 0.7 g/ml arasında ve idrar bor değerleri 0.38 ile 7.80 g/ml arasında değiştiği bildirilmiştir.[135] Bor alımı çocuklar için 1.5 mg, 11-18 yaş arası erkekler için 2 mg, kadınlar için 2 mg, premenopozal kadınlar için 3 mg, hamileler için 2,5 mg ve emziren anneler için 2.5 mg olmalıdır.[137]

2.2.7. Borun İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi

Bor doğal olarak ağızdan yemek ve içeceklerle, solunum sistemine tozlarla, deriden losyonlar ve ilaçlarla insan vücuduna alınır. Sadece kemikler, tırnaklar ve saç ile karaciğer ve dalak gibi organlarda birikmektedir.[135] Kanser gibi hastalıklara neden olmamasının birincil nedeni budur. Sınırlı insan araştırmasına göre bor, kalsiyum, bakır, magnezyum, nitrojen, glikoz ve lipidler dâhil olmak üzere çok sayıda temel bileşenin

kullanımında ve metabolizmasında aktif bir role sahip gibi görünmektedir. Sorumlulukları nedeniyle vücudun birçok bölümünün (iskelet, beyin ve kan) yapısını veya işlevini etkileyebilirler. Yapılan araştırmalara göre borun zararlı etkileri çok azdır. Bor toksisitesi yetişkinlerde baş ağrısı, kusma, ishal, ajitasyon veya üzüntü gibi meningeal bozukluklar ve bebeklerde konvülsiyonlar ve koma şeklinde kendini gösterir. Parmaklardaki pembe renk bor doz aşımının bir işaretidir.[137] İçme sularında bol miktarda bulunan bor minerali mide problemlerine neden olabilir. Bu, karaciğerin büyümesine ve şişmesine ve diğer sinir sistemi sorunlarına neden olur. 1980'li yıllara kadar öncelikle bitkilere faydalı olduğu düşünülen bor, günümüzde birçok alanda önemli olduğu yapılan araştırmalarla tespit edilmiştir. Borun insan vücudu üzerinde çok olumlu bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Borun vücudun kalsiyum ve D vitamini gibi minerallerini düzenlemede ve kalsiyum ve magnezyum kaybını azaltarak kemik bütünlüğünü korumada rol oynadığı bulunmuştur. Artrit, osteoartrit ve osteoporozdan korunmaya yardımcı olur. Günlük 3.25 mg bor almanın motor aktiviteyi, tepki hızını, kısa ve uzun süreli hafızayı ve hatırlamayı iyileştirdiği keşfedilmiştir. Daha düşük dozlara sahip bireyler daha kötü psikomotor ve zihinsel performansa sahiptirler. Bu bulgulara göre beyin fonksiyonu ve zihinsel verimlilik için bor gereklidir. [136,138] Borun özellikle belirli kanser türlerine karşı koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir.[139]

2.2.7.1. Kanser Üzerine Etkileri

Borun son zamanlarda gösterilen en yararlı etkilerinden biri de kanser türleri için riski azaltmasıdır. Bu etki ilk kez, diyet boru ve prostat kanseri arasında ters ilişki bulan bir epidemiyolojik çalışma tarafından gösterilmiştir.[140] Bor, bazı prostat[141] ve göğüs kanseri hücrelerinin [142] büyümesini ve farelerde insan prostat adenokarsinom tümörlerinin büyümesini engellediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.[143] Deneysel çalışmalar, borun prostat kanserine karşı koruyucu özelliklere sahip olduğunu

göstermektedir.[140] Düşük konsantrasyonlarda borik asit kısmen prostat spesifik antijenlerin (PSA) proteolitik aktivitesini baskılamaktadır. Bu nedenle bor bileşikleri, PSA aktivitelerinin düzenlenmesi için kullanılabilir. Ayrıca, bor kaynaklı PSA aktivitelerinin bastırılması prostat karsinomasının artışını ve gelişimini önlemeye yardımcı olabilir.[144] 60-100 μM arasında değişen borik asit konsantrasyonları, prostat kanseri hücre hattındaki hücrelerin çoğalmasını baskılamaktadır.[141]

2.2.7.2. Oksidatif Stress Üzerine Etkileri

Oksidatif stres, hücreler süperoksit radikalleri (O2.-), hidroksil radikalleri (HO.) ve hidrojen peroksit (H2O2) gibi reaktif oksijen radikallerini detoksifikasyon için çok yüksek seviyelerde ürettiğinde ortaya çıkar. Hücrelerdeki reaktif oksijen radikallerini uzaklaştırabilen antioksidanlardan biri olan indirgenmiş glutatyon (GSH), oksidatif stres altında hızla oksitlenir ve konsantrasyonu düşer.[145,146] Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH), oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) ters indirgenmesi için gereklidir. Bor, NADPH seviyelerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. NADPH, hücrelerde indirgenmiş glutatyon (GSH) miktarını artırarak oksidatif stresi ve dolayısıyla oksidatif hasarı azaltabilir.

2.2.8.Borun Toksisitesi

İnsanlar ve hayvanlar idrarda borun yüksek miktarda atılması nedeni ile günlük alınan bor dozunun toksi borun ölümcül olması pek olası değildir.[147,148] Dolaşım bozuklukları ve böbrek yetmezliği olan kişilerde, yüksek dozlarda tüketildikten birkaç gün sonra ölüm meydana gelir. Akut bor maruziyetinin semptomları arasında kusma, mide bulantısı, ishal ve mide rahatsızlığı, özellikle konvülsiyonlar, yüksek ateş, merkezi sinir sistemi hasarı, renal tübül hasarı, cilt kızarması, testis küçülmesi, sarılık ve karaciğer fonksiyon bozukluğu yer alır. Yaygın semptomlar anoreksi, kilo kaybı, halsizlik, anemi, kellik, sperm kaybı, dermatit, nöbetler ve gastrointestinal problemleri içerir.[149] Hayvan

çalışmaları, borun aşırı veya yetersiz kullanımının gelişme ve üreme üzerinde olumsuz etkileri olduğunu göstermiştir.

İnsanlarda ve sıçanlarda inorganik borat bileşiklerin toksikokinetik özellikleri Tablo 2.5'de gösterilmiştir.

Tablo 2.5. İnsanlarda ve Sıçanlarda İnorganik Borat Bileşiklerin Toksikokinetik Özellikleri

Absorbsiyon	• Oral ve (solunuma uygun partiküllerin) inhalasyon yolu ile kolay bir şekilde absorbe edilirler. • Deride açık yara yoksa dermal absorbsiyon olmaz.
Dağılım	• Vücut sıvısı boyunca hızlı bir şekilde dağılırlar. • Dokularda birikmezler.
Metabolizma	• Metabolize olmazlar • Tüm kanda başlıca borik asit olarak bulunurlar.
Atılım	• Yarılanma ömrü < 24 saat • (Vücut ağdıkları karşılaştırılarak) sıçanlardaki renal klerans insanlara göre yaklaşık olarak 3 kat daha hızlı bir şekilde olmaktadır. • İdrarla hemen hemen tamamı atılır.

2.3. Antioksidanlar

Serbest radikallerin zararlı etkileriyle mücadele etmek için canlı organizmalar, hem hücre içinde hem de hücre zarı üzerinde çalışan birçok savunma sistemine sahiptir. Bu yöntemlerin amacı hem radikal oluşumunu engellemek hem de radikal oluşumunun olumsuz etkilerini ortadan kaldırmaktır. Antioksidan savunma sistemi veya kısaca antioksidanlar, canlı organizmalar tarafından üretilen bir mekanizmadır.[150] Canlı vücudu, düzenli oksijen alışverişi sırasında üretilen toksinlere ve serbest radikallere karşı kendini korumalıdır. Bu nedenle antioksidan mekanizma içerir. Antioksidanlar vücudumuzda serbest radikaller gibi davranarak lipid peroksidasyonunu ve serbest radikallerin neden

olduğu diğer süreçleri azaltır. Bu sayede serbest radikallerin neden olduğu çeşitli hastalıklara karşı koruma sağlar.[151] Antioksidanlar biyolojik sistemlerde aşağıdaki gibi hareket ederler:[152,153]

1. Tuzak aktivitesi; Serbest oksijen radikallerinin yakalandığı veya reaktif olmayan yeni bir moleküle dönüştürüldüğü bir süreçtir.
2. Baskıcı faaliyet; Aktivitelerini azaltan veya değiştiren hidrojen üretmek için serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girme sürecidir.
3. Onarıcı etki; Bu etki, özellikle DNA onarımında her zaman doğrudur.
4. Zincir yok edici etki; Bu onların serbest oksijen radikallerine bağlanmaları, zincirlerini kırmaları ve fonksiyonlarını durdurmaları üzerindeki etkisidir. Canlı organizmalar iki tip antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücutta üretilen ve gıda ile (eksojen olarak) tüketilen endojen antioksidanlardır.

2.3.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar

Endojen antioksidan enzimler, proteazlar ve fosfolipazlar gibi hasarlı molekülleri uzaklaştıran enzimler, yeni bileşikler oluşturan sistemler, glutatyon, ürik asit ve çeşitli metal bağlayıcılar endojen antioksidan sistemi oluşturur. Enzim yapısındaki endojen antioksidanlar, radikalleri ve reaktifleri temizleyerek oksidatif hasarı önler.

Bu mekanizmalar ayrı ayrı veya birlikte çalışabilir.

1. Oksijenle etkileşime girerek veya oksijeni değiştirerek yerel oksijen konsantrasyonunu düşürme yeteneğine sahiptirler.
2. Hidroksil radikalinin yapısındaki hidrojen atomları bağ oluşturabilen ürünleri uzaklaştırarak peroksidasyonu önleyebilir.
3. Peroksit oluşturmak için membran lipitleri ile doğrudan reaksiyona girebilen singlet oksijen. Oksidasyonla savaşan antioksidan mekanizmada bulunan glutatyon peroksidaz (GSH-Px) glutatyon redüktaz, GST, SOD, CAT

enzimleri, A, C ve E vitaminleri peroksiredoksinler, proteinler (ferritin, albümin, bilirubin, transferrin, albümin, bilirubin), hormonlar (serotonin, melatonin), fenolik maddeler (polifenoller, flavonoidler), lipoik asit, ürik asit ve glutatyon oksidatif stresi baskılayabilir ya da etkisiz hale getirirler. [154]

4. Antioksidan mekanizma metal iyonlarını bağlayarak, lipit peroksitlerin reaktif gruplarının, peroksil ve alkoksil radikallerinin büyümesini önleyebilirler. Geçiş metal iyonları üretilen lipid peroksitlerin hem başlatılması hem de bozunması için genellikle gereklidir. Ancak hangi reaktif bileşiklerin lipit peroksidasyonunu LPO) başlattığı tartışmalıdır. [155]
5. Antioksidan mekanizmada özellikle GSH-Px, peroksitleri radikal olmayan bileşiklere (alkol gibi) dönüştürme yeteneğine sahiptirler.[155]
6. Antioksidan mekanizma yağ asidi zincirlerinden hidrojen iyonlarının sürekli salınımını önleme yeteneğine sahiptirler.[155]

2.3.1.1. Primer Antioksidantlar

2.3.1.1.1. Süperoksit Dismutaz

SOD aktivitesi süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştüren bir enzimdir. Tümü metalloenzim olan SOD için üç tür karakterizasyon bildirilmiştir. SOD karakterizasyonunda aktif bölge metal iyon içeriği dikakte alınmıştır. Bunlardan birincisi Cu- ve Zn- içeren SOD'lar (CuZnSOD'ler), ikincisi Fe, Mn veya ikisinden birini içeren SOD'lar (FeSOD'ler, MnSOD'ler veya Fe/MnSOD'ler) ve son olarak Ni-bağımlı enzimlerdir (NiSOD'ler). SOD'lar arasında, tüm ökaryotlarda ve birçok prokaryotta bulunan bakır ve çinko içeren enzimler muhtemelen en bol olanlardır.[156] Süperoksit dismutasyonu herhangi bir SOD türü tarafından katalize edilebilir.[157] Çeşitli test sistemlerinde çalışılan bu enzim, ksantin oksidaz ile birlikte sitokrom c'nin indirgenmesini engellemektedir.

2.3.1.1.2. Katalaz

Katalaz enzimi hemen hemen tüm canlı organizmalarda bulunan, hidrojen peroksitin oksijen ve suya parçalanmasını katalize eden yaygın bir enzimdir.[158,159] Katalaz genellikle peroksizom adı verilen hücresel, iki kutuplu bir çevre organelinde bulunur. Kanda, kemik iliğinde, müköz membranlarda, karaciğerde ve böbreklerde bol miktarda bulunur.[160,161,162] Bu enzim yüksek moleküler ağırlıklı lipid hidroperoksitlere karşı etkisiz olup sadece küçük molekül ağırlıklı moleküller için indirgeyici etkiye sahiptir (hidrojen peroksit ve metil ve etil hidroperoksitler).

2.3.1.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Glutatyon peroksidaz (GPx), keşfedilen ilk memeli selenoproteinidir. GPx'ler, hidroperoksitlerin farklı tiyoller tarafından indirgenmesini katalize eder. [163] GPx, lipitlerin peroksidasyondan hücre içi uzaklaştırılmasında en önemli enzimdir. Sonuç olarak, hücrenin daha çok sitosolik kısmında bulunan bu enzim, hücrenin yapısını ve işlevini sürdürür.[164,165]

2.3.1.1.4. Glutatyon S-Transferaz (GST)

GST'ler Se'den bağımsız GSH peroksidaz aktivitesini LPO'a, özellikle araşidon ve lineolat hidroperoksitlere karşı korur. Antioksidan aktiviteye ek olarak, GST'ler metabolizmada da önemli bir rol oynar. Toksinleri temizlerler ve hücre içi bağlayıcılar ve taşıyıcılar olarak işlev görürler. Sonuç olarak, üretilen GSH konjugatları vücuttan atılabilir ve başka bir ürüne metabolize edilebilir. [166]

2.3.1.1.5. Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon redüktaz, oksitlenmiş glutatyonu (GSSG) indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüştürür. NADPH'den gelen elektronlar, bu indirgeme işlemi sırasında doğrudan oksitlenmiş glutatyonun disülfid bağına taşınamaz. Genellikle NADPH'den önce yakından ilişkili fenilendiendifosfata (FAD) taşınırlar. Daha sonraki alt birimlerde,

iki sistein arasındaki bir disülfit bağı ile oksitlenmiş glutatyona dönüştürülürler. Her alt birimin üç yapısal alanı vardır: bir FAD bağlama alanı, bir NADPH bağlama alanı ve bir arayüz alanı. FAD ve NADP alanları karşılaştırılabilir ve diğer dehidrojenazlarda bulunan nükleotid bağlama alanlarına benzer.

2.3.1.2. Sekonder Antioksidanlar

2.3.1.2.1. Glutatyon (GSH)

GSH, diğer moleküllerin, proteinlerin ve enzimlerin indirgenmiş sülfhidril gruplarının oluşumu ve korunması için gerekli olan transhidrojenasyon reaksiyonlarına katılır. GSH, çeşitli reaksiyonlarda, örneğin deoksiribonükleotidlerin oluşumunda ve dehidroaskorbatın askorbata indirgenmesinde indirgeyici bir ajan olarak görev yapar.[167] GSH, hemoglobin ve diğer kırmızı sistein kalıntılarını azaltan bir sülfhidril tampon görevi görür. İndirgenmiş glutatyon veya GSH, H_2O_2 ve organik peroksitlerle, antioksidan aktiviteye sahip bir enzim olan GPx ve H_2O_2'yi kırmızıdan uzaklaştıran aktif bölgesi eser elementi selenyum aracılığıyla birleşir. Kan hücreleri için bu süreç kritiktir, çünkü H_2O_2 birikimi hemoglobinin methemoglobine oksidasyonunu hızlandırabilir, bu da kırmızı kan hücrelerinin ömrünü kısaltır. Süperoksit, kırmızı kan hücrelerinde hemoglobinin methemoglobine otooksidasyonuyla üretilmesine rağmen, diğer organlarda sitokrom P-450 redüktaz ve ksantin oksidaz gibi enzimlerle üretilir.[168,169,170] GSH, hidrojen peroksit ve organik oksitleri kimyasal olarak detoksifiye etme yeteneğine sahiptir. Peptid bağı nedeniyle GSH, düşük enerjili bir molekül olarak sınıflandırılır. GSH, hücresel proteinlerin indirgenmesine neden olan disülfid-sülfhidril değişim süreçlerinde yer alır. Spesifik oksidaz işlemleriyle üretilen hidrojen peroksidi uzaklaştırmanın yanı sıra enzim, protein sülfhidril gruplarını koruyarak GPx için bir substrat oluşturur. GSH yokluğunda hidrojen peroksit oluşur. GR sürekli olarak GSSG'yi GSH'ye düşürür ve GSH miktarı kontrol edilir.[173] Bu iki işlem, moleküler oksijenden oluşan oksidatif radikalleri ortadan

kaldırır. İlk yöntem enzimatik radikal deaktivasyondur. Örneğin GPx ve CAT, reaktif oksijen ara maddelerini suya dönüştürür. Diğer bir yöntem, glutamilsistein sentetaz-glutatyon sentetazı inaktive eden oksijen radikalleri gibi davranan askorbik asit,-tokoferol ve -karoten gibi diyet antioksidanlarına dayanır.[172]Sisteinin tiyol grubu (-SH) oksitlendiğinde birçok enzim devre dışı bırakılır veya inhibe edilir. GSH veya -glutamilsisteinilglisin, hassas ve gerekli -SH grupları ile doğal olarak oluşan bir enzim aktivatörüdür. Glutatyon, bir koenzim yerine hücrede bulunan amino asit öncülerinden kolayca üretilebilen, doğal olarak oluşan bir antioksidandır. Fenilalanin ve tirozinin oksidatif bozunmasında yer alan maleil asetoasetat izomeraz, spesifik bir glutatyon kofaktörüdür. Hücre içi glutatyon konsantrasyonu, birkaç enzimin aktivitesini etkileyebilir.[17]

3. MATERYAL VE METOD

Bu tez çalışması kapsamında deneysel çalışmalar, Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında ve Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi Patoloji Bölümünde gerçekleştirilmiştir. Hayvan deneyleri çalışmaları için Atatürk Üniversitesi, Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi Etik Kurulundan (No. 45, 09.03.2021) izin alınmıştır. Tüm deneysel çalışmalar süresince Etik Kurul gerekliliklerinin sağlanmasına özen gösterilmiştir (Ek-3).

Bor (B) ve akrilamid (AA) Sigma firmasından (%99 saflıkta) temin edildi. Serum fizyolojik içerisinde hazırlanmış B ve AA'nın çözelti formları uygulama için hazır hale getirilmiştir. Taze hazırlanmış olan çözelti formları steril ve oral olarak uygulanmıştır. B'un 20 mg/kg doz içeren çözelti formu 14 gün boyunca oral olarak ratlara uygulanmıştır. İlk uygulama öncesi tüm gruplardaki ratlar ağırlıklarına göre uygulanacak ilaç dozları belirlendi. Akrilamid ise oral olarak 38.27 mg/kg dozu 10 gün boyunca uygulandı ve son uygulama sonrası hayvanlar anestezi edilerek sakrifiye edildi. Daha sonra böbrek dokuları alındı.

3.1. Çalışmada Kullanılan Hayvanlara İlişkin Bilgiler

Hayvan deneylerinde 30 adet Wistar Albino cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar 6 aylık olarak teslim alındı ve ağırlıkları 180-250 gr aralığındaydı. Tüm hayvanlar deney öncesi ortama adaptasyon sağlamaları için aynı bakım koşullarında standart olarak beslendi. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsüne uygun standart şartlar sağlandı.

3.2. Deney Grupları ve Sayıları

30 adet Wistar albino cinsi erkek ratlar rastgele seçimle her grupta n=6' şer adet olmak üzere toplam 5 grup oluşturuldu. Bunlar; Kontrol grubu: 0.5 mL salin 14 gün boyunca Bor grubu: 20 mg/kg i.p. 14 gün boyunca Akrilamid grubu: 38,27 mg/kg gavaj

(Deneyin son 10 günü boyunca) Bor + Akrilamid grubu: 10 mg/kg Bor + Akrilamid Bor + Akrilamid grubu: 20 mg/kg Bor + Akrilamid grubudur.

Tablo 3.1. Deney Grupları ve Sayıları

Deney Grupları	Hayvan Sayısı/Grup	Tekrar Sayısı	Kullanılan Toplam Hayvan Sayısı
1.Grup: Kontrol Grubu	6	0	5
2.Grup: Bor Uygulanan Grup	6	0	6
3.Grup: Akrilamid Uygulanan Grup	6	0	5
4.Grup: Düşük doz Bor+ Akrilamid Grubu:(10mg/kg Bor+Akrilamid	6	0	6
5.Grup: Yüksek doz Bor+ Akrilamid Grubu: 20 mg/kg Bor+Akrilamid	6	0	6

3.3. Böbrek Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Deneyin sonunda, 13 mg/kg Xylazin Hydrochlorid (Rompun, 50 ml fl. 23,32 mg/ml, Bayer-Germany) ve 87 mg/kg dozundaki Ketamin Hidroklorur (Alfamine % 10, Ata-Fen, İzmir, TÜRKİYE) kombinasyonu ile genel anestezi (Ketamin/Ksilazin) ile anestezi edilmiş hayvanlardan böbrek dokusu alımı yapıldı. Alınan böbrek dokuları sodyum klorür (NaCl, %0.9'luk) çözeltisinde yıkandı ve daha sonra petri kaplarına koyuldu. Her bir doku örneği için ayrı bir petri kabı kullanıldı. Böbrek doku örnekleri -20 °C'de 24 saat bekletildikten sonra gerekli biyokimyasal çalışmalara kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Biyokimyasal çalışma öncesinde böbrek dokuları sıvı azot ortamında öğütülerek toz haline getirildi.

Biyokimyasal analizler için (SOD, GSH ve MDA), böbrek doku örnekleri pH 7.4 fosfat tamponunda (PBS) buzlu ortamda homojenize edildi. Homojenatlar 4 °C' de 10 dk 3000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatanlar çalışma numunesi olarak kullanıldı. Tüm deneysel çalışmalar uygun sterilizasyon ortamda gerçekleştirildi.

3.4. Biyokimyasal Çalışmalar

Superoksit Dismutaz (SOD), Malondialhehit (MDA) ve Glutatyon (GSH) ölçümleri için temin edilen ticari kitler spektrofotometrik yöntem ile değerlendirildi. MDA (Item No. SL0475Ra), SOD (Item No. SL0664Ra) ve GSH (ItemNo. SL0998Ra) Sunlong Biotech'den temin edilen elisa kitleriyle ölçümler yapılıp değerlendirildi.

3.4.1. SOD Aktivitesinin Tayini

3.4.1.1. SOD Deney Prensibi

Sunlong Biotech SOD (Item No. SL0664Ra) ölçüm kiti referans alınarak yapıldı. Deneyin prensibi Sandviç-ELISAyöntemine göre yapılmaktadır. Deneyde kit içerisinde bulunan SOD'ye spesifik antikor ile önceden kaplanmış olan Microelisa stripplate kullanılmaktadır. SOD'ye özgü Horseradish Peroxidase (HRP)- konjuge antikor eklenildiğinde antikor-antikor bağlanma prensibine göre bilinen standart konsantrasyonlarına karşılık ölçülen absorbans değerlerinden elde edilen grafiğin denkleminden ölçülen numune absorbanslarına karşılık numune konsantrasyonları hesap edilmektedir. Spektrofotometrik ölçümler 450 nm dalga boyunda yapılmaktadır.

3.4.1.2. SOD Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

- Stok Standart Çözeltisi: 7200 pg/mL
- Standart Dilüent
- HRP-Konjugat reaktif
- Kromojen Çözeltisi A
- Kromojen Çözelti B
- Stop Solüsyon
- Yıkama Solüsyonu
- Sample Dilüent

3.4.1.3. SOD Standart Solüsyonlarının Hazırlanması

Tablo 3.2. SOD Standart Solüsyonlarının Hazırlanması

Konsantrasyon	**Standart tüpleri**	**Standart**	**Standart seyreltici çözelti hacmi**
4800pg/mL	Standart No.1	300 µl OrijinalStandart	150 µl
3200pg/mL	Standart No.2	300 µl Standart No.1	150µl
1600pg/mL	Standart No.3	150 µl Standart No.2	150µl
800pg/mL	Standart No.4	150 µl Standart No.3	150 µl
400pg/mL	Standart No.5	150 µl Standart No.4	150 µl

3.4.1.4. SOD Ölçümü

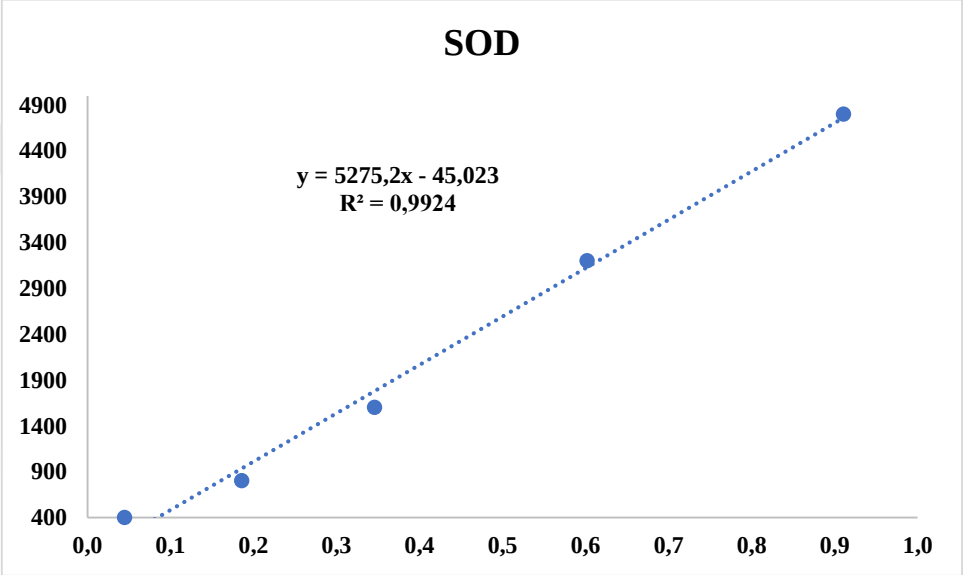
Tablo 3.3. SOD Deney Şeması

	Kör	Numune	Standart
Standart	---------	----------	50 µl
Süpernatant (Numune)	----------	10 µl	----------
Sample diluent	----------	40 µl	----------
37 °C de 30 dakika inkübasyon			
Yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama işlemi yapıldı.			
HRP-konjugate	----------	50 µl	50 µl
37 °C de 30 dakika inkübasyon			
Yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama işlemi yapıldı.			
Chromojen A	50 µl	50 µl	50 µl
Chromojen B	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
ELISA cihazı kullanılarak 450 nm'de okuma yapıldı			

3.4.1.5. SOD Aktivitesinin Hesaplanması

Bilinen Rat SOD Standart konsantrasyonlarının ELİSA reader da ölçülen absorbans değerlerine göre x-y grafiği çizilir. Çizilen grafiğin denkleminden elde edilen formüle göre bilinmeyen numune konsantrasyonları hesaplanır. Bulunan değerler total protein değerlerine bölündükten sonra doku SOD konsantrasyonları belirlenir.

SOD aktivitesinin hesaplanması için aşağıda verilen Şekil 3.1'deki eşitlik kullanılmıştır



Şekil 3.1. SOD aktivitesini hesaplamak için kullanılan kalibrasyon eğirisi

3.4.2. GSH Tayini

3.4.2.1. GSH Deney Prensibi

Sunlong Biotech GSH (Item No. SL0998Ra) ölçüm kiti referans alınarak yapıldı. Deneyin prensibi Sandviç-ELISAyöntemine göre yapılmaktadır. Deneyde kit içerisinde bulunan GSH'a spesifik antikor ile önceden kaplanmış olan Microelisa stripplate kullanılmaktadır. GSH'a özgü Horseradish Peroxidase (HRP)- konjuge antikor eklenildiğinde antikor-antikor bağlanma prensibine göre bilinen standart konsantrasyonlarına karşılık ölçülen absorbans değerlerinden elde edilen grafiğin

denkleminden ölçülen numune absorbanslarına karşılık numune konsantrasyonları hesap edilmektedir. Spektrofotometrik ölçümler 450 nm dalga boyunda yapılmaktadır.

3.4.2.2. GSH Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

- Stok Standart Çözeltisi: 720 ng/L
- Standart Dilüent
- HRP-Konjugat reaktif
- Kromojen Çözeltisi A
- Kromojen Çözelti B
- Stop Solüsyon
- Yıkama Solüsyonu
- Sample Dilüent

4.4.2.3. GSH Standart Solüsyonlarının Hazırlanması

Tablo 3.4. GSH Standart Solüsyonlarının Hazırlanması

Konsantrasyon	Standart tüpleri	Standart	Standart seyreltici çözelti hacmi
480 ng/L	Standart No.1	300 µl Orijinal Standart	150 µl
320 ng/L	Standart No.2	300 µl Standart No.1	150 µl
160 ng/L	Standart No.3	150 µl Standart No.2	150 µl
80 ng/L	Standart No.4	150 µl Standart No.3	150 µl
40 ng/L	Standart No.5	150 µl Standart No.4	150 µl

3.4.2.4. GSH Ölçümü

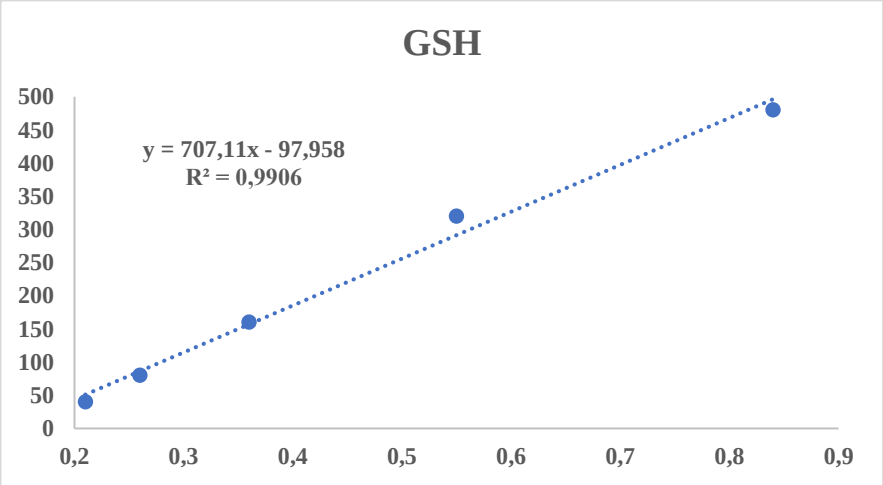
Tablo 3.5. GSH Deney Şeması

	Kör	Numune	Standart
Standart	---------	----------	50 µl
Süpernatant (Numune)	----------	10 µl	----------
Sample diluent	----------	40 µl	----------
37 °C de 30 dakika inkübasyon			
Yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama işlemi yapıldı.			
HRP-konjugate	----------	50 µl	50 µl
37 °C de 30 dakika inkübasyon			
Yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama işlemi yapıldı.			
Chromojen A	50 µl	50 µl	50 µl
Chromojen B	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
ELISA cihazı kullanılarak 450 nm'de okuma yapıldı			

3.4.2.5. GSH Aktivitesinin Hesaplanması

Bilinen Rat GSH Standart konsantrasyonlarının ELİSA reader da ölçülen absorbans değerlerine göre x-y grafiği çizilir. Çizilen grafiğin denkleminden elde edilen edilen formüle göre bilinmeyen numune konsantrasyonları hesaplanır. Bulunan değerler total protein değerlerine bölündükten sonra doku sod konsantrasyonları belirlenir.

GSH aktivitesinin hesaplanması için aşağıda verilen Şekil 3.2'deki eşitlik kullanılmıştır



Şekil 3.2. GSH aktivitesini hesaplamak için kullanılan kalibrasyon eğrisi

3.4.3. MDA Tayini

3.4.3.1. MDA Deney Prensibi

Sunlong Biotech MDA (Item No. SL0475Ra) ölçüm kiti referans alınarak yapıldı. Deneyin prensibi Sandviç-ELISAyöntemine göre yapılmaktadır. Deneyde kit içerisinde bulunan MDA'ya spesifik antikor ile önceden kaplanmış olan Microelisa stripplate kullanılmaktadır. MDA'ya özgü Horseradish Peroxidase (HRP)- konjuge antikor eklenildiğinde antikor-antikor bağlanma prensibine göre bilinen standart konsantrasyonlarına karşılık ölçülen absorbans değerlerinden elde edilen grafiğin denkleminden ölçülen numune absorbanslarına karşılık numune konsantrasyonları hesap edilmektedir. Spektrofotometrik ölçümler 450 nm dalga boyunda yapılmaktadır.

3.4.3.2. MDA Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

- Stok Standart Çözeltisi: 450 ng/mL
- Standart Dilüent
- HRP-Konjugat reaktif
- Kromojen Çözeltisi A
- Kromojen Çözelti B
- Stop Solüsyon
- Yıkama Solüsyonu
- Sample Dilüent

3.4.3.3. MDA Standart Solüsyonlarının Hazırlanması

Tablo 3.6. MDA Standart Solüsyonlarının Hazırlanması

Konsantrasyon	Standart tüpleri	Standart	Standart seyreltici çözelti hacmi
300 ng/ml	Standart No.1	300 µl Orijinal Standart	150 µl
200 ng/ml	Standart No.2	300 µl Standart No.1	150 µl
100 ng/ml	Standart No.3	150 µl Standart No.2	150 µl
50 ng/ml	Standart No.4	150 µl Standart No.3	150 µl
25 ng/ml	Standart No.5	150 µl Standart No.4	150 µl

3.4.3.4. MDA Ölçümü

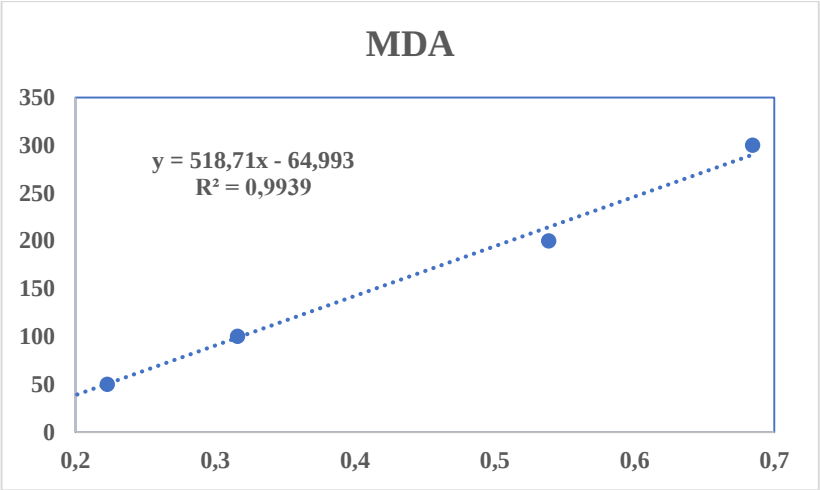
Tablo 3.7. MDA Deney Şeması

	Kör	Numune	Standart
Standart	---------	----------	50µl
Süpernatant (Numune)	----------	10 µl	----------
Sample diluent	----------	40 µl	----------
	37 °C de 30 dakika inkübasyon		
	Yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama işlemi yapıldı.		
HRP-konjugate	----------	50 µl	50 µl
	37 °C de 30 dakika inkübasyon		
	Yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama işlemi yapıldı.		
Chromojen A	50 µl	50 µl	50 µl
Chromojen B	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
	ELISA cihazı kullanılarak 450 nm'de okuma yapıldı		

3.4.3.5 MDA Aktivitesinin Hesaplanması

Bilinen Rat MDA Standart konsantrasyonlarının ELİSA reader da ölçülen absorbans değerlerine göre x-y grafiği çizilir. Çizilen grafiğin denkleminden elde edilen edilen formüle göre bilinmeyen numune konsantrasyonları hesaplanır. Bulunan değerler total protein değerlerine bölündükten sonra doku sod konsantrasyonları belirlenir.

MDA aktivitesinin hesaplanması için aşağıda Şekil 3.3 verilen eşitlik kullanılmıştır.



Şekil 3.3. MDA aktivitesini hesaplamak için kullanılan kalibrasyon eğrisi

3.5. Protein Tayini

Protein tayini için ticari olarak temin edilen kit kullanılmıştır (Item no: 704002), Cayman.

3.5.1. Protein Deney Prensibi

Total protein miktarını ölçmek için mikroplate tabanlı kolorimetrik bir yöntem kullanıldı. Bu amaçla Cayman Protein Ölçüm Kitine (704002) ait katalogda verilen prosedürler uygulandı. Seyreltilmiş protein numunelerinden 100 µL alınarak üzerine 100 µL ölçüm reaktifi eklendi. İnkübasyon sonrası (5 dk) 595 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirildi.[119]

3.5.1.2. Protein Tayini İçin Kullanılan Reaktifler

Protein tayini yapmak için ölçüm reaktifi hazırlamak amacıyla reaktiften 7.5 mL alındı ve 50 mL saf su ile seyreltildi.

BSA standardı sodyum azit (%0.05'lik) ve NaCl (%0.9'luk) çözeltisi içerisinde 10 mg/mL olan bir stok konsatrasyonuna sahiptir. Bu stoktan 4 µL alındı ve 996 mL saf su ile seyreltilerek 40 µg/mL konsantrasyonda çözelti elde edilidi.

3.5.1.3. Protein Ölçümü İçin Standart Solüsyonun Hazırlanması

Standart solüsyon hazırlamak amacıyla 8 farklı deney tüpü alınarak etiketlendi. 8 numaralı tüpe 200 µL saf su eklenirken kalan 7 tüpe ise 250 µL saf su eklenir. Standart stok çözeltiden 800 µL alınarak 8 numaralı tüpe ilave edilir ve iyice karıştırılır. Daha sonra bu tüpten 750 µL çözelti alınarak 7 numaralı tüpe aktarılırak standart seyreltmesi yapılır. Karıştırma sonrası 7 numaralı tüpten 750 µL alınarak 6 numaralı tüpe aktarılır ve iyice karıştırılır. Aynı işlemler 6 numaralı tüpten 2 numaralı tüpe kadar tekrarlanır. 1 numaralı tüp standart eğri için kör numunesi olarak kullanılır.

3.5.1.4. Protein Ölçümü

Protein ölçümleri Tablo 3.5'de verilen deney şeması dikkate alınarak yapılmıştır.

Tablo 3.8. Protein Deney Şeması

Kuyu	BSA Standardı	Numune	Reaktif
Standart	100 µL	-	100 µL
Numune	-	100 µL	100 µL
Oda sıcaklığında inkübasyon (5 dk)			
ELISA cihazı ile 595 nm dalga boyunda ölçüm yapılır			

3.6. Histolojik Çalışmalar

Tüm rat gruplarından doku örnekleri yüksek doz anestezi uygulaması sonrası alındı. Doku örnekleri histopatolojik araştırmalar için %10'luk formaldehit içerisine koyularak fikse edilid. Rutin histolojik doku takibinden sonra parafin bloklara gömülen dokulardan 5-6 mikronluk seri kesitler alınarak Hematoksilin-Eosin (H-E) boyası ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi. Daha sonra doku örneklerinin fotoğrafları Olympus marka DP70 kamera kullanılarak çekildi. Ayrıca, böbrek dokusundaki toplam Nrf2 ve Keap1 protein ekspresyon seviyeleri immünohistokimyasal olarak incelendi.

3.7. Deneyde Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.9. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Ekipman ve Modelleri

Cihazlar	Modeli
Derin dondurucu (-80)	Nuaire NU-9483E, USA
Elisa Okuyucu	Epoch Microplate Spect., BioTek, USA
Derin dondurucu (-20)	Beko D 7240 SMF, Türkiye
Buzdolabı (+4)	Beko, Türkiye
Etüv	Memmert WNB 7-45, Germany
Hassas Terazi	Scaltec SPB 31
Homojenizatör	OMNI TH İnternational, Qiagen Germany
Kamera	Olympus DP70
Magnetik karıştırıcı	Boeco MSH 300
Santrifüj	Hettich zentrıfugen D 78532,Germany
Oto. Multikanal Pipet	Eppendorf Research Pro (20-300 µl)
pH metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Pipet seti	Eppendorf Research Plus
Ultra Saf Su Cihazı	Ultrapure (TYPE1) Water
Vortex	Vortex Genie-Model K-550-GE; IKA®-Werke GmbH&Co., Almanya

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonuçalrının istatistiksel analizleri SPSS programı (Statistical Package for the Social Sciences) SPSS ver. 20.0 programı kullanılarak yapıldı. Çalışma sürecinde hayvan oryantasyonunda iki deney hayvanı öldüğü için 28 deney hayvanı üzerinden alınan veriler MDA, SOD ve GSH parametrelerine göre istatistiki olarak hesaplandı. Gruplar arası karşılaştırmalarda bağımsız gruplarda non-parametrik veri olduğu için Mann Whitney-U (M-U) testi uygulanmıştır. M-U testi iki kategorili değişkenler arasında anlamlı farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Sonuçlar,

gruplardaki ölçümün ortalaması (ortalama±SD) olarak gösterildi ve istatistiki değerlendirme $p<0.05$ düzeyinde önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Deney Gruplarının SOD Aktivite Değerleri, GSH ve MDA Seviyeleri

Deney hayvanlarında antioksidan mekanizma üzerine Bor'un koruyucu etkisini araştırmak amacıyla gruplarda Bor ve AA uygulamaları sonucu değerlendirme yapılmıştır. Bu amaçla Kontrol grubu, Bor grubu, AA grubu, düşük doz B+ AA grubu (10 mg/kg Bor + Akrilamid) ve yüksek doz B+ AA grubu (20 mg/kg Bor + Akrilamid) için ilaç uygulanmaları ile tedavi edilen grupların SOD aktivitelerini, GSH ve MDA seviyeleri belirlenmiştir. Gruplar arası farklılıklar Tablo 4.1-9 aralığında gösterilmiştir.

AA verilen ratlarda düşük doz ve yüksek doz bor uygulamasının böbrek hasarını önleme düzeyleri non-parametrik metotla değerlendirildi, M-U testi ile gruplar arasında anlamlılık düzeyine bakıldı. Sonuçlar Tablo 4.1 ve 4.2'de verildi.

Tablo 4.1. AA Verilen Ratlarda Düşük Doz B (10 mg/kg) Uygulamasının Böbrek Hasarını Önleme Düzeyleri

Parametreler	Grup	$\bar{x}$ ± SD	Test (M-U)	P
SOD	AA	696,2081±7,8345	.000	.006
	B + AA (10 mg/kg B)	738,5966±8,4538		
MDA	AA	25,7264±2,9329	4.000	.045
	B + AA (10 mg/kg B)	21,9015±1,7010		
GSH	AA	24,8650±2,8335	2.000	.018
	B + AA (10 mg/kg B)	29,0389±2,2408		

p<0.05 kontrol grubuna göre anlamlı fark

Tablo 4.2. AA Verilen Ratlarda Yüksek Doz Bor (20 Mg/Kg) Uygulamasının Böbrek Hasarını Önleme Düzeyleri

Parametreler	Grup	$\bar{x}$ ± SD	Test (M-U)	P
SOD	AA	825,8754±30,6827	.000	.006
	B + AA (20 mg/kg B)	785,8934±20,2888		
MDA	AA	18,9888±2,0579	.000	.006
	B + AA (20 mg/kg B)	19,5851±0,9234		
GSH	AA	34,9661±3,7933	.000	.006
	B + AA (20 mg/kg B)	33,0763±1,5559		

p<0.05 kontrol grubuna göre anlamlı fark

Bor verilen ratlarda antioksidan mekanizma üzerine etkileri non-parametrik metotla değerlendirildi, M-U testi ile Kontrol ile sadece Bor verilen gruplar arasında anlamlılık düzeyine bakıldı. Sonuçlar Tablo 4.3'de verildi.

Tablo 4.3. Borun Kontrol Grubuna Göre Antioksidan Mekanizma Üzerine Etki Düzeyleri

Parametreler	Grup	$\bar{x}$ ± SD	Test (M-U)	P
SOD	Kontrol	825,8754±30,6827	9.000	.273
	B	849,4869±28,6628		
MDA	Kontrol	18,9888±2,0579	12.000	.584
	B	19,7840±1,3335		
GSH	Kontrol	34,9661±3,7933	.000	.006
	B	60,7362±4,0856		

p<0.05 kontrol grubuna göre anlamlı fark

Sadece AA verilen grupta AA'nın böbrek hasarına sebep olup olmadığı istatistiki olarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.4'te gösterildi.

Tablo 4.4. Sadece AA Verilen grupta AA'nın Antioksidan Mekanizma Üzerine Etki Düzeyleri

Parametreler	Grup	$\bar{x}$ ± SD	Test (M-U)	P
SOD	Kontrol	825,8754±30,6827	.000	.009
	AA	696,2081±7,8345		
MDA	Kontrol	18,9888±2,0579	.000	.009
	AA	25,7264±2,9329		
GSH	Kontrol	34,9661±3,7933	.000	.009
	AA	24,8650±2,8335		

p<0.05 kontrol grubuna göre anlamlı fark

AA'ya bağlı olarak böbrek hasarı gelişen rat grupları ile borun koruyucu etkisini araştırmak amacıyla düşük ve yüksek doz bor ile birlikte AA uygulanan gruplar istatistiki olarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.5 ve 4.6'de gösterildi.

Tablo 4.5. Sadece AA Verilen Grupla Düşük Doz Bor Verilen (10 Mg/Kg) Gruplarda Antioksidan Mekanizma Düzeyleri

Parametreler	Grup	$\bar{X}$ ± SD	Test (M-U)	P
SOD	Kontrol	825,8754±30,6827	.000	.006
	B + AA (10 mg/kg B)	738,5966±8,4538		
MDA	Kontrol	18,9888±2,0579	3.000	.0028
	B + AA (10 mg/kg B)	21,9015±1,7010		
GSH	Kontrol	34,9661±3,7933	3.000	.0028
	B + AA (10 mg/kg B)	29,0389±2,2408		

p<0.05 kontrol grubuna göre anlamlı fark

Tablo 4.6. Sadece AA Verilen Grupla Yüksek Doz Bor Verilen (20 Mg/Kg) Gruplarda Antioksidan Mekanizma Düzeyleri

Parametreler	Grup	x̄ ± SD	Test (M-U)	P
SOD	Kontrol	825,8754±30,6827	4.000	.045
	B + AA (20 mg/kg B)	785,8934±20,2888		
MDA	Kontrol	18,9888±2,0579	13.000	.715
	B + AA (20 mg/kg B)	19,5851±0,9234		
GSH	Kontrol	34,9661±3,7933	8.000	.201
	B + AA (20 mg/kg B)	33,0763±1,5559		

p<0.05 kontrol grubuna göre anlamlı fark

Sadece B verilen grupla düşük ve yüksek doz bor verilen rat gruplarındaki borun doz düzeyinin koruyuculuğunun anlamlılık düzeyi istatistiki olarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4.7 ve 4.8'de gösterildi.

Tablo 4.7. Sadece Bor Verilen Grupla Düşük Doz Bor Verilen (10 Mg/Kg) Gruplarda Antioksidan Mekanizma Düzeyleri

Parametreler	Grup	x̄ ± SD	Test (M-U)	P
SOD	B	849,4869±28,6628	.000	.004
	B + AA (10 mg/kg B)	738,5966±8,4538		
MDA	B	19,7840±1,3335	5.000	.037
	B + AA (10 mg/kg B)	21,9015±1,7010		
GSH	B	60,7362±4,0856	.000	.004
	B + AA (10 mg/kg B)	29,0389±2,2408		

p<0.05 kontrol grubuna göre anlamlı fark

Tablo 4.8. Sadece Bor Verilen Grupla Yüksek Doz Bor Verilen (20 Mg/Kg) Gruplarda Antioksidan Mekanizma Düzeyleri

Parametreler	Grup	x̄ ± SD	Test (M-U)	P
SOD	B	849,4869±28,6628	.000	.004
	B + AA (20 mg/kg B)	785,8934±20,2888		
MDA	B	19,7840±1,3335	16.000	.749
	B + AA (20 mg/kg B)	19,5851±0,9234		
GSH	B	60,7362±4,0856	.000	.004
	B + AA (20 mg/kg B)	33,0763±1,5559		

p<0.05 kontrol grubuna göre anlamlı fark

AA kaynaklı oluşacak böbrek hasarına karşı Bor'un uygulama dozunun koruyuculuk etkisinin anlamılık düzeyleri istatistiki olarak değerlendirildi ve Tablo 4.9'da gösterildi.

Tablo 4.9. AA Kaynaklı Oluşacak Böbrek Hasarına Karşı Bor'un Uygulama Dozunun Koruyuculuk Etkisinin Anlamlılık Düzeyleri

Parametreler	Grup	x̄ ± SD	Test (M-U)	P
SOD	B + AA (10 mg/kg B)	738,5966±8,4538	1.00	.006
	B + AA (20 mg/kg B)	785,8934±20,2888		
MDA	B + AA (10 mg/kg B)	21,9015±1,7010	1.00	.037
	B + AA (20 mg/kg B)	19,5851±0,9234		
GSH	B + AA (10 mg/kg B)	29,0389±2,2408	5.00	.006
	B + AA (20 mg/kg B)	33,0763±1,5559		

p<0.05 kontrol grubuna göre anlamlı fark

4.2. Deney Gruplarının Histolojik Bulguları

Histolojik inceleme sonuçları uygulanan AA'nın böbrek dokularına verdiği hasar düzeylerinin belirlenmesi ve farklı iki dozda uygulanan Bor'un AA'nın vereceği doku hasarına karşı koruyucu etkinin ortaya çıkarılmasını amaçlamıştır. Böbrek hasarı incelenirken konjesyon, inflamasyon, tübüllerde şişme, piknotik nüve ve nekroz değerlendirmeleri yapılmıştır. Ayrıca AA kaynaklı inflamasyon ile tetiklenen oksidatif hasarın iyileştirilmesi için önemli olan antioksidan tepkinin ana düzenleyicisi olan Nrf-2

ve bu protein ile etkileşime giren Keap1'in değerlendirilmesi yapılmıştır. Tüm deney grupları için elde edilen parametre değerleri Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Histolojik ve İmmünolojik Bulgular

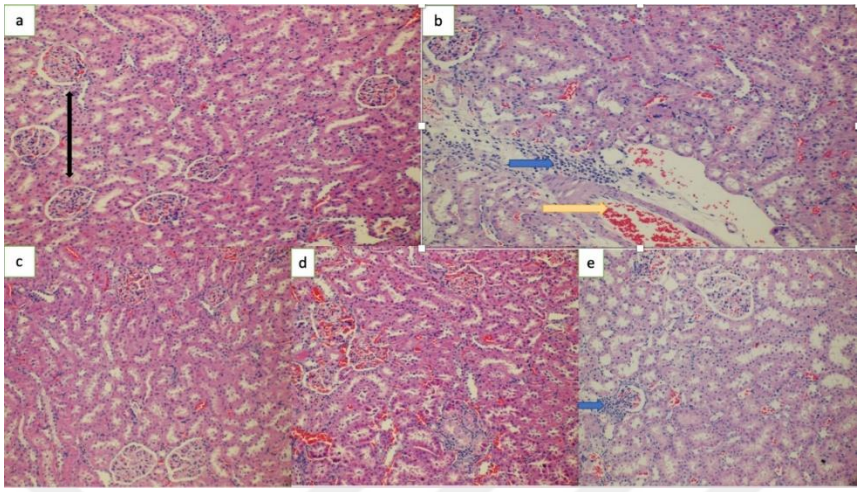
	Kontrol Grubu						B Grubu						AA Grubu					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Konjesyon	0	1	0	0	0	-	1	1	2	3	1	1	1	1	1	1	0	1
İnflamasyon	0	0	0	0	0	-	1	2	2	2	1	1	1	1	0	0	0	1
Tübüllerde şişme	0	0	0	0	1	-	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
Piknotik nüve	0	0	0	0	0	-	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Nekroz	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Keap1	2	3	2	2	3	-	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	2
Nrf-2	0	1	1	0	0	-	1	2	2	2	3	2	1	2	1	1	0	1

	B + AA Grubu (10 mg/kg B)						B + AA Grubu (20 mg/kg B)					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Konjesyon	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
İnflamasyon	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0
Tübüllerde şişme	1	2	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1
Piknotik nüve	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nekroz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Keap1	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1
Nrf-2	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	0

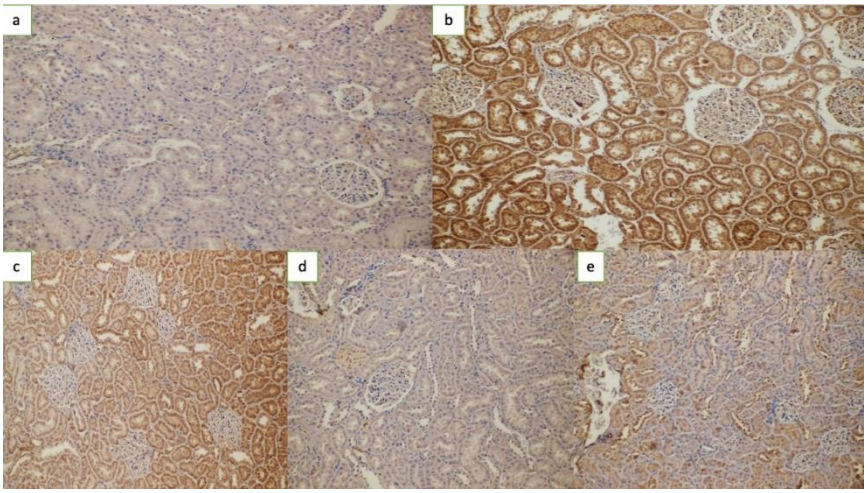
Hasar derecesi	Boyanma derecesi
0---Değişiklik yok	**0----Boyanma yok**
1---Minimal derecede	**1----Minimal yoğunlukta**
2---Orta derecede	**2----Orta yoğunlukta**
3---Şiddetli derecede	**3----Şidettli yoğunlukta boyanma**

Tüm deney gruplarının histolojik inceleme sonuçlarına göre kontrol grubunda böbrek parankimi glomerül yapıları gösterildi. Sadece Bor verilen grupta böbrek parankiminde konjesyon ve inflamasyon ile parankimde düzensizlik gözlenmiştir. AA uygulanan grupta bobrek parankiminde glomerül yapıları ile arada hafif inflamasyon ve konjesyon gözlenmiştir. Düşük doz Bor verilen grupta (10 mg/kg B) bobrek parankiminde glomerül yapıları ile arada hafif inflamasyon ve konjesyon izlenmiştir. Son

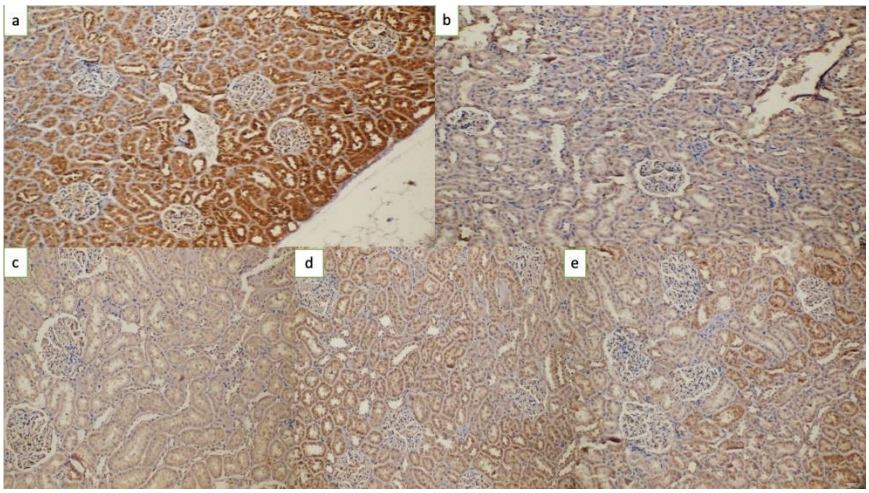
olarak yükek doz Bor verilen grupta ise (20 mg/kg) böbrek parankiminde glomerül yapıları ile arada hafif inflamasyon ve konjesyon tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Deney gruplarına ait böbrek kesitleri için H-E boyama sonuçları: (**a)** Kontrol grubundaki böbrek parankimi, siyah çift yönlü ok ile glomerül yapıları, **b)** AA grubundaki böbrek parankiminde konjesyon (sarı ok) ve inflamasyon (mavi ok) ile parankimde düzensizlik, **c)** B grubundaki bobrek parankiminde glomerül yapıları ile arada hafif inflamasyon ve konjesyon, **d)** B + AA (10 mg/kg B) grubu için böbrek parankiminde glomerül yapıları ile arada hafif inflamasyon ve konjesyon, **e)** B + AA (20 mg/kg B) grupta bobrek parankiminde glomerül yapıları ile arada hafif inflamasyon (mavi ok) ve konjesyon gözlenmiştir (H&E; X200).)



Şekil 4.2. Deney gruplarına ait böbrek kesitleri için H-E boyama sonuçları **(a)** Kontrol grubu, **b)** B grubu, **c)** AA grubu, **d)** B + AA (10 mg/kg B) grubu, **e)** B + AA (20 mg/kg B) grubu (Nrf-2, X200)



Şekil 4.3. Deney gruplarına ait böbrek kesitleri için H-E boyama sonuçları (**a)** Kontrol grubu, **b)** B grubu, **c)** AA grubu, **d)** B + AA (10 mg/kg B) grubu, **e)** B + AA (20 mg/kg B) grubu (Keap1, X200)

5. TARTIŞMA

Akrilamid (AA), mesleki maruziyete ek olarak diyet maruziyeti sonucu vücuda alınan, insanlar üzerinde çeşitli sistemik toksik etkilere sebep olduğu bilinen bir toksik kimyasal ajandır. AA suda yüksek çözünürlüğe sahip olduğu için karaciğer ve böbrek dahil olmak üzere canlı doku ve organlarına kolayca dağılabilir. AA maruziyetinin karaciğer ve böbrek dokularında sebep olduğu histopatolojik değişikliklere ek olarak bazı biyokimyasal parametrelerde değişikliğe yol açtığı bildirilmiştir.[178-180] Akrilamid alımı ile ilişkili sağlık riskleri göz önüne alındığında, gıdalardaki AA içeriğinin azaltılması ile birlikte AA'nın zararlı etkilerine karşı proaktif yaklaşımlarla koruyucu etkilere sahip tedbirlerin alınması gıda güvenliğinde en önemli konular arasında değerlendirilmektedir.[181]

Kanserleşme genetik ve çevresel birçok faktörün etkide bulunduğu çok aşamalı bir süreçtir. Tümör tedavisi üzerine yapılan birçok çalışmanın sonucu mikro besinlerin, vitaminlerin ve minerallerin tedavi üzerine etkin rolünü göstermiştir. Bor takviyeleri kanser tedavisi üzerine etkinliği Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanan önemli mikro besinlerdendir.[182]

AA'nın böbrek dokuları üzerine toksik etkisine karşılık farklı iki dozda uygulanan Bor'un koruyucu etkisine bağlı olarak ortaya çıkan değişiklikleri oksidatif stresin belirteçlerinden olan MDA düzeyleri, oksidatif hasara karşı dokuyu koruyan GSH düzeyleri ve SOD enzim aktivitesi ile birlikte böbrek dokusu histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Bu tez, BA'nin AA'nın neden olduğu oksidatif stress, böbrek hasarı ve apoptosis üzerindeki koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladı. AA, protein ve karbonhidrat bakımından zengin gıdalar 120 ° C'nin üzerinde pişirildiğinde oluşur. AA, suda hızla çözünen ve alımdan sonra dokulara kolayca

yayılabilen son derece toksik bir moleküldür.[183] AA sindirim sisteminde emildikten sonra, her 4 mol AA için karaciğere 1 mol hemoglobin aktarılır, bu da vücutta iki farklı şekilde metabolize edilir ve bozulur.[184] İlk yolda AA, CYP2E1 enzim sistemi tarafından karaciğerde mutajenik ve genotoksik bir aktif madde olan glisidamide dönüştürülür.[185] İkinci yol, AA'nin toksik olmayan N-Asetil-S- (2-karbamoylethyl) sisteinine dönüşümünü katalize eden bir enzim olan GST ile azaltılmış GSH ile AA'nin konjugasyonudur.[184] AA'nin serbest radikaller oluşturduğu, antioksidan durumu bozduğu ve sonuçta karsinogenez ve oksidatif strese yol açtığı bildirilmiştir.[186] Ayrıca, vinil, NH_2 ve SH moieties arasındaki etkileşim yoluyla biyomoleküllerle (esas olarak hemoglobin) reaksiyona girer. Antioksidan kapasite ile reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi arasındaki dengesizlik, AA'ye bağlı toksisitede önemli bir role sahip oksidatif hasarı arttırır. AA'nin karaciğer ve böbrek gibi dokular üzerindeki zararlı etkileri kemirgen modellerinde incelenmiştir.[187-189]

Hücre içerisinde artan süperoksit radikallerinin miktarı oksidatif strese neden olmaktadır. Oluşan bu radikallere karşı hücre içi antioksidanlar arasında her zaman bir denge vardır. Gerek metabolik süreçle oluşan gerekse çevresel nedenli oluşan süperoksit radikalleri antioksidan savunma sistemi tarafından yok edilmediği sürece bu hücre içi serbest radikaller hücre hasarına sebep olmaktadır. Hücre içi antioksidan mekanizmada birinci savunma superoksit radikallerinin oluşumunu baskılayan SOD ve GSH tarafından yapılmaktadır. Ayrıca oluşan serbest radikaller hücre membranındaki lipitlerle kolayca reaksiyona girerek lipit peroksidayonuna sebep olurlar. MDA bu ipit peroksidasyonunun iyi bilinen bir son ürünüdür. MDA üretimi, artan serbest radikal miktarına yanıt olarak yukarı yönlü düzenlenir. Bu nedenle, MDA konsantrasyonu oksidatif stresin kantitatif bir belirtecidir. [190,191]

In vivo çalışmalarımızda, AA verilen grupta kontrol grubuna kıyasla SOD ve GSH seviyelerinin düştüğü ve MDA düzeylerinin de en yüksek seviyede olduğu gözlendi. Bu durum AA'nın hücre içi oksidatif radikallerini artırdığını, hücresel antioksidan depolarını tükettiğini ve dolayısıyla oksidatif stresi indüklediğini göstermektedir. SOD aktivitesindeki ve GSH düzeyindeki azalma, MDA seviyesindeki artış sadece AA verilen gruplarda kontrol grubuna kıyasla istatistiki olarak önemli derecede anlamlı bulundu ($p<0.009$) (Tablo 4.4). Çalışmamızla uyumlu olarak, Güneş (2012) antikanser tedavide siklofosfamid nedenli renal hasarda karvakrol'ün koruyucu etkileri başlıklı yapmış olduğu çalışmada siklofosfamidin nefrototksisiteye bağlı olarak böbrek antioksidan enzim aktiviteleri üzerine (GSH, SOD ve CAT) azaltma ve lipit peroksidasyon belirteci olan MDA düzeyleri üzerine artma etkisini göstermiştir.[192] Jiang ve ark. [193] çalışmalarında AA'nın oksijen radikalleri ürettiğini ve enzimatik antioksidanları da (CAT ve SOD) azaltarak oksidatif hasara yol açtığını bildirmiştir. Dönmez ve ark. [194]AA'nın, CAT düzeylerini düşürdüğünü, ancak MDA seviyesini artırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da benzer şekilde AA'nın SOD aktivitesini ve GSH seviyesini azalttığı ve MDA seviyesini artırdığını buna karşılık Bor'un AA'nın toksisitesi üzerine koruyucu etkisini gösterdik. Gebe ratlara uygulanan AA'nın plasenta dokusu üzerine olası etkilerinin araştırıldığı çalışmada AA'nın antioksidan mekanizması üzerine etkisine total antioksidan kapasite (TAC), MDA ve total oksidatif stres düzeyleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçları TAC'ın azaldığını, MDA ve TOS'un arttığını göstermiştir.[195] Bir başka çalışmada AA'nın hücre içi oksidatif hasara yol açma mekanizması enzimatik antioksidanlardan SOD'un seviyesini düşürdüğünü göstermiştir. Awad yapmış oldukları çalışmada AA'nın hepatosit hücreleri üzerine toksik etkisilerini araştırmışlardır.

Bu çalışmada AA'nın doz ve uygulama süresine bağlı olarak sıçan hepatositlerinde GSH seviyelerinde azalma olduğu bildirilmiştir.[196] AA'nın

nefrotoksisitesi üzerine etkileri ile ilgili elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olarak Bin-Jumah et al. yapmış oldukları çalışmada AA'nın renal oksidatif stres ve antioksidan durumunu değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada MDA ve NO içeriğinde önemli artışlar olduğu (sırasıyla %205.15 ve %171.06) ve GSH, GSH-Px, SOD ve CAT için önemli ölçüde azalma olduğu (sırasıyla %52.01, %40.90, %7.7 ve %26.03) bildirilimiştir. [197]

AA'nın böbrek hasarına karşı düşük doz ve yüksek dozda uygulanan Bor'un koruyucu etkisinin araştırıldığı bu çalışmamızda SOD, MDA ve GSH değerleri dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır. Düşük doz Bor (10 mg/kg) verilen grup için Bor'un AA'nın zararlı etkilerine karşı koruyuculuk göstergesi istatistiki olarak oldukça anlamlı bulunmuştur (Tablo 4.1). p değerleri SOD, MDA ve GSH için sırasıyla 0.006, 0.045 ve 0.018 olarak belirlenmiştir. Yüksek doz Bor (20 mg/kg) verilen grup için SOD, MDA ve GSH değerlerindeki değişim istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) ve Tablo 4.2'de gösterildi. İnce tarafından yapılan "Sıçanlarda siklofosfamid kaynaklı lipid peroksidasyonu ve genotoksisite üzerine borun koruyucu etkileri" başlıklı çalışmada Bor'un üç farklı dozunu kullanarak (5, 10 ve 20 mg/kg) siklofosfamid ile indüklenen sıçanlarda oksidatif stres üzerindeki olası koruyucu etkisini istatistiki olarak anlamlı bulmuşlardır.[198] Öte yandan Spirulina platensis'in sıçanlarda böbrek AA toksisitesi üzerindeki potansiyel koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada AA'nın SOD, GSH ve MDA üzerine zararlı etkilerine karşı Spirulina platensis'in koruyucu etkisinin istatistiki olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. İki farklı Spirulina platensis (SP) doz uygulamasının yapıldığı çalışmada AA-SP500 ile tedavi edilen grupta, MDA seviyesinin belirgin şekilde azaldı (%68,34), ancak GSH ve SOD seviyelerinin önemli ölçüde yükseldiği (%128,48 ve %132,75) belirlenmiştir. AA-SP1000 grubunda ise renal MDA önemli ölçüde azalırken (%51,28), GSH ve SOD belirgin şekilde yükselmiştir (%173,64 ve %227,24)[197]. Ayhanci ve ark. [199], Cengiz ve ark.[200] ve Gür ve ark. [201] da borik asidin antioksidan

kapasiteyi desteklediğini öne sürdü. Ayrıca, düşük doz Bor ve AA ile yüksek doz Bor ve AA gruplarında tek başına AA grubuna göre daha düşük MDA seviyeleri, borik asidin oksidatif stresi ve serbest oksijen radikallerini azaltma potansiyeline sahip olduğunu gösterir. Benzer bir şekilde, Ayhanci ve diğerleri [199] yaptıkları çalışmada ayrıca borik asidin serbest radikal üretimini inhibisyonu ve antiinflamatuar etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Öte yandan düşük doz ve yüksek doz Bor ile tedavi edilen gruplarda, AA'ya kıyasla renal oksidatif stres ve antioksidan biyobelirteçlerde istatistiki olarak önemli değişiklik gözlendi (Tablo 4.9). İstatistiki değerlendirmelerimiz 20 mg/kg Bor dozunun daha iyi tedavi edici doz olduğunu göstermiştir.

AA uygulanan gruba ait böbreklerin mikroskobik incelemesinde, böbrek parankiminde konjesyon ve inflamasyon ile parankimde düzensizlik belirgindi. AA verilen grupta, rat böbreklerinde ciddi interstisyel kanama, tübüler nekroz, tübüler atrofi, lökosit infiltrasyonu ve genişlemiş Bowman boşluğuna sahip glomerüler yapılar gibi diğer gruplara göre daha geniş ve daha görünür olan hasarlar ortaya konmuştur. AA'nın albino sıçanların böbrekleri üzerindeki biyokimyasal ve morfolojik etkilerini araştıran bir çalışmada, renal tübüler epitelinde ciddi hidropik dejenerasyon, koagülasyon nekrozu ve interstisyel damarlar da ciddi hiperemi gibi çeşitli değişiklikler gözlenmiştir.[202] AA'nın albino sıçanların böbrek üzerindeki etkileri üzerine yapılan bir başka çalışmada[203], böbrek hücrelerinde tübüler epitelde ciddi dejenerasyon, nekroz ve interstisyel damarlarda hiperemi gözlenmiştir. AA Grubunda gözlenen histolojik dejenerasyonun düşük ve yüksek doz Bor uygulanan gruplarda azalmış olması, Bor'un böbrek histolojisini de iyileştirdiğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar literatürle uyumludur .[200,204,205]

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, AA maruziyeti rat böbrek dokularında oksidatif strese ve nefrotoksisteye sebep olmuştur. Düşük doz ve yüksek doz Bor takviyesi, böbrek dokusu antioksidan parametrelerinde AA kaynaklı değişiklikleri iyileştirdi ve böbrek dokusunu Bor dozuna bağlı olarak AA toksisitesine karşı korudu. Çalışma sonuçlarımız Bor'un sıçanlarda AA kaynaklı oksidatif stres ve böbrek hasarının önlenmesinde etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca elde edilen bulgular Bor'un koruyucu etkilerinin hem antioksidan savunma sisteminin aktivitesindeki artışa hem de lipid peroksidasyonunu inhibe etmesine bağlı olabileceğini göstermektedir. Sonuçlarımız Bor'un hücreleri koruduğunu ve sıklıkla maruz kaldığımız AA toksisitesinde toksik etkiyi azaltma yönünde takviye gıdalarla alınabilecek ve kullanılabilecek potansiyel bir ajan olduğunu, bundan sonraki çalışmalarda daha fazla çalışmalar yapılması gerektiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Arusoğlu G. Akrilamid oluşumu ve insan sağlığına etkileri, .https://dergipark.org.tr/en/pub/akademik-gida/issue/55787/763665 03 Ocak 2023.
2. Sharp, D. Acrylamid in food. The Lancet. *a London, U.K.*,2003: 361. 361p.
3. Svenson, K., Abramsson, L., Becker, W., Glynn, A., Hellenas, K.E., Lind, Y., Rosen, J., Dietary intake of acrylamid in Sweden. *Food e and Chemical Technology*. 2003,41: 1581-1586.
4. Anonymous, Food Standards Agency Study of Acrylamide in Food Backround *Information & Research Findings, Pres Briefing*, http://www.foodstandards. gov.uk .03 Ocak 2023.
5. Sharp, D. Acrylamide in food. The Lancet, LoPachin, R.M., Canady, R.A. Acrylamide Toxicities and Food Safety: Session IV Summa r y a n d Re s e a r c h Ne e d s. *NeuroToxicology (in pres)*2003:361
6. Ruden, C. Acrylamide and cancer risk—expert risk assessments and the public debate. *Food and Chemical Toxicology,* 2004,42: 335-349.,
7. Shaw,I., Thomson, B., Acrylamide food risk. *The Lancet*, 2003, 361:434.
8. Barber, D.S., Hunt, J.R., Ehrich, M.F., Lehning, E.J., LoPachin, R.M., Metabolism, Toxicokinetics and Hemoglobin Adduct Formation, in Rats Following Subacute and Subcroni c A c r y l ami d e D o si n g . *NeuroToxicology,* 2001a, 22: 341-353.
9. WHO, World Health Organization, Press R e l e a s e W H O / 5 1 2 7 http://www.who.int/fsf/Acrylamide/Sum maryreportFinal.pdf. 03 Ocak 2023.
10. Anonymous, Health implications of acrylamide in food. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. *World Health Organization*, http://www.who.int/fsf/acrylamide/ SummaryReportFinal.pdf. 03 Ocak 2023.

11. Erdreich, L.S., Friedman, M.A., Epidemiologic evidence for assessing the carcinogenicity of acrylamide. *Regulatory Toxicology and Pharmacology (in pres).*2004.

12. Konings, E.J.M., Baars, A.J., van Klaveren, J.D., Spanjer, M.C. Rensen, P.M. Hiemstra, M., van Kooij, J.A., Peters, P.W.J., Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks. *Food and Chemical Toxicology*. 2003,41: 1569–1579.

13. Nıelsen, F. H., Hunt, C. D., Mullen, L. M., & Hunt, J. R. Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *The Faseb Journal, 1(5)*, Sarıtaġ, T.B., Sarıtaġ, H., Korkmaz, M., Bozkurt, M.F., Bulbul, A., Sarıtaġ, Z.K., . Renal Ġskemi / Reperfüzyon Hasarı Modelinde Bor‟ un Etkilerinin AraĢtırılması, Afyon Kocatepe Üniversesi. Bilimsel AraĢtırma Projesi Sonuç Raporu..Proje No:16.Kariyer.187.s:1-33.2017:394-397.

14. Acarkan, N, 'Bor Ürün Çeşitleri ve Kullanım Alanları', İTÜ. Maden Fakültesi, Cevher ve Kömür Hazırlama Anabilim Dalı, Istanbul.

15. Yılmaz, A., Her Derde Deva Hazinemiz Bor, *TUBİTAKBilim ve Teknik Derg*.2002

16. Naghıı, M. R., Mofıld, M., Asgarı, A. R., Hedayatı, M., & Daneshpour, M. S. Comparative effects of daily and weekly boron supplementation on plasma steroid hormones and proinflammatory cytokines. *Journal of trace elements in medicine and biology,* 2011, 25, 54-58.

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

18. Cook Nr, Albert Cm, Gazıano Jm. A randomized facıoriaı triaı of vitamins C and E and beta carotene İn the secondary prevention of cardiovascular evcnts in womcn:

rcsults from the Womcn's Antioxidant Cardiovascular Study, *Archiveş Medİcİne,* 2007:167.

19. Mura Cv, Gong X, Taylor A, Villalobos-Molına R, Scrofano M. Effects of calorİe restrİctİon ve agİng on the expression of antioxidant cnzvmes ve ubiquitin in thc livcr of Emory micc. *Mechanisms of Ageing ve Developmen*t,1996, 91: 1 15-129.
20. Nıelsen, F. H., Stoecker, B. J., & Penland, J. G. Boron as a dietary factor for bone microarchitecture and central nervous system function. In Advances in plant and animal boron nutrition Springer, *Dordrecht*.2007: 277-290.
21. Blasıak J., Gloc, E., Woznıak, K., Czechowska, A. Genetoxicity of acrylamide in human lymphocytes. *Chemico-Biological Interac*, 2004,149: 137-149
22. Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Skog, K., Törnqvist, M., Aman, P. Acrylamide in food: mechanism of formation and influencing factors during heating of foods. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 2002,46(4): 159-172.
23. Stadler, R.H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P.A., Robert,M.C., Riedikr, S. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*,2002, 419: 449-450
24. Margaretha, J., Skog,B . Genotoxicity of heatprocessed foods. *Mutat Res*,2005, 574: 156-172.
25. Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M. Shibamoto Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. *T J Agric Food Chem*, 2003,51: 3999-4003.
26. Becalski, A., Lau, BP., Lewis, D., Seaman, SW. Acrylamide in French fries: influence of free amino acids and sugars. *J Agric Food Chem*, 2003,51: 802-8

27. Biederman, M., Grob, K. Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch: ways to reduce acrylamide contents in bakery ware. *Mitteilungen fu'' r Lebensmittel Hygiene,*2003, 94: 406-422.

28. Surdyk, N., Rosén, J., Andersson, R., Aman, P. Effects of asparagine, fructose, and baking conditions on acrylamide content in yeast leavened wheat bread. *J Agric Food Chem,* 2004,52: 2047-51.

29. Sörgel, F., Wiessenbacher, R., Knizig-Schippers, M., Hofmann, A., Illauer, M., Skott, A., Landersdorfer, C. Acrylamide: increased concentrations in homemade food and first evidence of its variable absorption from food, variable metabolism and placental and breast milk transfer in humans. *Chemoteraphy,*2002, 48: 267–274.

30. Yang, H.J., Lee, S.H., Jın, Y., Choı, J.H., Han, D.U., Chae, C., Lee, M.H., and Han, H.C. Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile. *Reproductive Toxicol,* 2005,19: 527- 534.

31. Collins, J.J., Swaen, G.M., Marsh, G.M., Utidjian, H.M., Caporossi, J.C., Lucas, L.J. Mortality patterns among workers exposed to acrylamide. *J Occup Med,*1989,31: 614–617.

32. Olesen, P.T., Olsen, A., Frandsen, H., Frederiksen, K., Overvad, K., Tjonneland, A. Acrylamide exposure and incidence of breast cancer amon postmenopausal women in the Danish Diet, Cancer and Health Study. *Int J Cancer,* 2008,122: 2094–2100

33. Spencer, P.S., Sabri, M.I., Schaumburg, H.H., Moore, C.L. *Does a defect of energy metabolism in the nerve fiber underlie axonal degeneration in polyneuropathies Ann Neurol,*1978, 5: 501–507.

34. Clements, R.S. Diabetic neuropathy new concepts in its etiology. *Diabetes*,1979, 28: 604–611.

35. Fullerton, P., and Barnes, J. Peripheral neuropathy in rats produced by acrylamide. *Br J Ind Med,* 1996,23: 210–221.

36. Yoshimura, S., Imai, K., Saitoh, Y., Yamaguchi, H., and Ohtaki, S. The same chemicals induce different neurotoxicity when administered in high doses for short term or low doses for long term to rats and dogs. *Mol Chem Neuropathol*,1992, 16: 59–84.

37. Goldstein, BD. Acrylamide neurotoxicity: altered spinal monosynaptic response to quipazine, a serotonin agonist in cats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1985,78: 436–44.

38. LoPachin, RM., Ross, JF., Lehning, EJ. Nerve terminals as the primary site of acrylamide action. *NeuroToxicology*, 2002a,23: 43–59.

39. Gold, B., Griffin, J., and Price, D. Slow axonal transport in acrylamide neuropathy, different abnormalities produced by single dose and continuous administration. *J Neuorosci*,1985, 5: 1755–1768.

40. Tanii, H., and Hashimoto, K. Neurotoxicity of acrylamide and related compounds in rats: Effects on rotarod performance, morphology of nerves and neurotubulin. *Arch Toxicol,* 1983,54: 203– 213.

41. Tilson, HA., Cabe, PA. The effects of acrylamide given acutely or in repeated doses on fore- and hindlimb function of rats. *Toxicol Appl Pharmacol,* 1979,47: 253–60.

42. Cranmer, JM., Atchison, WD., Canday, RA., Lawler, CP., LoPachin, RM., O'Shaughnessy, DC., Rice, DC., Slikker,W. International Neurotoxicology Conference, Little Rock, AR. *NeuroToxicology*, 2003,24: 269-317.

43. . Hashimoto, K., Sakamoto, J., and Tanii, H. Neurotoxicity of acrylamide and related compounds and their effects on male gonads in mice. *Arch Toxicol*,1981, 47: 179–189.

44. Schotman, P., Gipon, L., Jennekens, F., and Gispen, W. Polyneuropathies and CNS protein metabolism. III. Changes in protein synthesis rate induced by acrylamide intoxication. *J Neuropathol Exp Neurol,* 1978,37: 820–837.

45. LoPachin, RM., Ross, JF., Reid, ML., Dasgupta, S., Mansukhani, S., Lehning, EJ. Neurological evaluation of toxic axonopathies in rats: acrylamide and 2,5-hexanedione. *NeuroToxicology*,2002b, 23: 95–110.

46. He, F., Zhang, S., Wang, H. Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers. *Scand J Work Environ Health,* 1989,15: 125–9.

47. Lehning, E., Persaud, A.,Dyer, K., Jortner, B. and Lopachin, R. Biochemical and morphologic characterization of acrylamide peripheral neuropathy. *Toxicol Appl Pharmacol,* 1998,151: 211–221.

48. Deng, H., He, S., Zhang, S. Quantitative measurements of vibration threshold in healthy adults and acrylamide workers. *Int Arch Occup Environ Health,* 1993,65: 53–6.

49. Dearfield, K.L., Douglas, G.R., Ehling, U.H., Moore, M.M., G.A., Brusick, D.J. Acrylamide: a review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk. *Mutat. Res*,1995, 330: 71-99.

50. Favor, J., Shelby, MD. Transmitted mutational events induced in mouse germ cells following acrylamide or glycidamide exposure. *Mutat Res,* 2005,580: 21–30.

51. Internatıonal Agency for Research on Cancer (IARC). Acrylamide, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Industrial Chemicals. International Agency for Research on Cancer, Lyon,1994; 60: 389-433

52. Besaratinia, A., Pfeifer, GP. Weak yet distinct mutagenicity of acrylamide in mammalian cells. *J Natl Cancer Inst*, 2003,95: 889–896.

53. 53.Gamboa da Costa, G., Churchwell, MI., Hamilton, LP., Beland, FA., Marques, MM., Doerge, DR. DNA adduct formation from acrylamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice. *Chem Res Toxicol*,2003,16: 1328–1337.

54. Besaratinia, A., Pfeifer, GP. Genotoxicity of acrylamide and glycidamide. *J NatlCancer Inst*, 2004,96: 1023–1029.

55. Fennell, T., Sumner, S., Snyder, R., Burgess, J., Spicer, R., Bridson, W., and Friedman, M. Metabolism and hemoglobin adduct formation of acrylamide in humans. *Toxicol Sci*, 2005,85: 447–459.

56. Granath, F.N., Vaca, C.E., Ehrenberg, L.G., Tornqvist, M.A. Cancer risk estimation of genotoxic chemicals based on target dose and a multiplicative model. *Risk Anal*, 1999,19: 309-320.

57. Calleman, J., Stern, L.G., Bergmark, E., Costa, L.G. Linear versus nonlinear models for hemoglobin adduct formation by acrylamide and its metabolite glycidamide: implications for risk estimation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*,1992, 1: 361-36.

58. Paulsson, B., Granath, F., Grawe, J., Ehrenberg, L., Tornqvist, M. The multipli cativemodel for cancer risk assessment: applicability to acrylamide. *Carcinogenesis*,2001, 22: 817-819.

59. International Agency for Research on Cancer (IARC). Acrylamide, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Chemicals

Used in Plastics and Elastomers. International Agency for Research on Cancer, Lyon,1986, 39: 41-6.

60. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices for 1988-1989. Cincinnati, OH, 14: sixth ed,1991: 23-25.
61. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. Cincinnati, OH, 7th Ed.2001.
62. Swedish National Chemicals Inspectorate. Utvardering av cancerframkallande amnen *I. KEMI rapport* 1989:11/89.
63. Molak, V. NIOH (National Institute of Occupational Health, Solna, Sweden) and NIOSH Basis for an Occupational Health Standard. Acrylamide: A Review of the Literature (DHHS (NIOSH). *Cincinnati, OH, National Institute for Occupational Safety and Health*, Publ. No.1991: 91-115.
64. US Environmental Protection Agency. Integrated Risk Information System (IRIS), Acrylamide. Available at http://www.epa.gov/iris. 04 Ocak 2023.
65. US National Toxicology Program. 10th Report on Carcinogens, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program, Research Triangle Park, North Carolina,2002
66. Norwegian Food Control Authority. Risk Assessment of Acrylamide Intake from Foods with Special Emphasis on Cancer Risk, Report from the Scientific Committee of the Norwegian Food Control Authority, Oslo. Available at http://www.snt.no. 04 Ocak 2023.
67. Dybing, E., Sanner, T. Risk assessment of acrylamide in foods. *Toxicol Sci*, 2003,75: 7-15.

68. Konings, E.J.M., Baars, A.J., van Klaveren, J.D., Spanjer, M.C., Rensen, P.M., Hiemstra, M., van Kooij, J.A., Peters, P.W.J. Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks. *Food Chem Toxicol,* 2003,41: 1569-1579.

69. Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization. Health Implications of Acrylamide in Food, Report of a Joint FAO/WHO Consultation. Health Organization, Geneva. Available at http://www.who.int/fsf/acrylamide/SummaryReportFinal.pdt. 04 Ocak 2023.

70. Bull, R.J., Robinson, M., Laurie, R.D., Stoner, G.D., Greisiger, E., Meier, J.R., Stober, J. Carcinogenic effects of acrylamide in SENCAR and A/J mice. *Cancer Res*, 1984,44: 107–111

71. Friedman, M.A., Dulak, L.H., Stedham, M. A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam Appl Toxicol*, 1995,27: 95–105

72. Ehlers, A., Lenze, D., Broll, H., Zagon, J., Hummel, M., & Lampen, A. Dose dependent molecular effects of acrylamide and glycidamide in human cancer cell lines and human primary hepatocytes. *Toxicology Letters,* 2013:217(2), 111-120.

73. Barber, D., Hunt, J., Ehrich,M., Lehning, E., and LoPachin, R. Metabolism, toxicokinetics and hemoglobin adduct formation in rats followingsubacute and subchronic acrylamide dosing. *Neurotoxicol*;2001, 22: 341–353.

74. Twaddle, N., McDaniel, L., Costa, G., Churchwell, M., Beland, F., and Doerge, D. Determination of acrylamide and glycidamide serumtoxicokinetics in B6C3F mice using LC-ES/MS/MS. *Cancer Lett*,2004, 207: 9–17.

75. Doerge, D., Young, J.,McDaniel, L., Twaddle, N., and Churchwell, M. Toxicokinetics of acrylamide and glycide in B6C3F mice. *ToxicolAppl Pharmacol,* 2005b,202: 258-267.

76. Fuhr, U., Doettcher, M., Kinzig-Schippers, M., Weyer, A., Jetter, A., Lazar,A., Taubert, D., Tomalik-Scharte, D., Paurnara, P., Jakob, V., Harlfinger, S.,Klaassen, T., Berkessel, A., Angerer, J., Sorgel, F., and Schomig, E. Toxicokinetics of acrylamide in humans after ingestion of a defined dose in atest meal to improve risk assessment for acrylamide carcinogenicity. *CancerEpidemiol Biomarkers Prev*,2006,15: 266–271.

77. Sumner, S.C., Selvaraj, L., Nauhaus, S.K., Fennell, T.R. Urinary metabolites from F344 rats and B6C3F1 mice coadministered acrylamide and acrylonitrile for 1 or 5 days. Chem *Res Toxicol,* 1997,10: 1152–1160.

78. Sumner, S., Williams, C., Snyder, R., Krol, W., Asgharian, B., and Fennell, T. Acrylamide: A comparison of metabolism and hemoglobin adducts in rodents following dermal, intraperitoneal, oral, or inhalation exposure. *Toxicol Sci,* 2003,75: 260–270.

79. Frantz, S., Dryzga, M., Freshour, N., and Watanabe, P. In vitro/in vivo determination of cutaneous penetration by residual acrylamide monomer from polyacrylamide water solutions. *Toxicologist,* 1985,5: 39.

80. Ramsey, J., Young, J., and Gorzinski, S. Acrylamide: Toxicodynamics in the Rat. Dow Chemical Company. *Midland, Michigan,USA* 1984;48640,

81. Diembeck, W., Dusing, H., and Akhiani, M. Dermal absorption and penetration of acrylamide ([C14]-acrylamide as tracer) in different cosmetic formulations and polyacrylamide-solution after topical application to excised pig skin. Beiersdorf: Report,1998: 7061/PEN.203.

82. Tong, G.C., Cornwell, W.K., Means, G.E. Reactions of acrylamide with glutathione and serum albumin. *Toxicol Letters*, 2004,147: 127-131.

83. Paulsson, B.,Grawe, J., Tornqvist, M. Hemoglobin adducts and micronucleus frequencies in mouse and rat after acrylamide or /Vmethylolacrylamide treatment. *Mutat Res,* 2002,516: 101-111.

84. Dybing, E., Farmer, PB., Andersen, M., Fennell, TR., Lalljie, SP., Müler,DJ., Olin, S., Petersen, BJ., Schlatter, J., Scholz, G., Scimeca, JA., Slimani, 106N., Törnqvist, M., *Tuijtelaars, S., Verger, P. Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food. Food Chem Toxicol*, 2005,43:365-410.

85. Sumner, S.C., MacNeela, J.P., and Fennell, T.R. Characterization and quantitation of urinary metabolites of [1,2,3–13C]-acrylamide in rats and mice using 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem Res Toxicol*, 1992,5: 81–89.

86. Calleman, C.J., Bergmark, E., Costa, L.G. Acrylamide is metabolized to glycidamide in the rat: evidence from hemoglobin adduct formation.*Chem Res Toxicol*,1990, 3: 406-412.

87. Sumner, S., Fennell, T., Moore, T., Chanas, B., Gonzalez, F., and Ghanayem, B. Role of cytochrome P450 2E1 in the metabolism of acrylamide and acrylonitrile in mice. *Chem Res Toxicol*,1999b, 12: 1110–1116.

88. Kirman, C., Gargas,M., Deskin, R., Tonner-Navarro, L. and Andersen, M. A physiologically based pharmacokinetic model for acrylamide and its metabolite, glycidamide, in the rat. *J Toxicol Environ Health*, 2003,66: 253–274.

89. Miller, M.J., Carter, D.E., and Sipes, I.G. Pharmacokinetics of acrylamide in Fisher-334 rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1982,63: 36–44.

90. Hashimoto, K., and Aldridge, W. Biochemical studies on acrylamide, a neurotoxic agent. *Biochem Pharmacol*, 1970,19(9): 2591–2604 effect. Mutat Res, 578: 284–297.

91. Sörgel, F., Wiessenbacher, R., Knizig-Schippers, M., Hofmann, A., Illauer, M., Skott, A., Landersdorfer, C. Acrylamide: increased concentrations in homemade food and first evidence of its variable absorption from food, variable metabolism and placental and breast milk transfer in humans. *Chemoteraphy*, 2002,48: 267–274.

92. Kadry, A., Friedman, M., and Abdel-Rahman, M. Pharmacokinetics of acrylamide after oral administration in male rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, 1999,7: 127–133.

93. Troxell T, and Posnick L. U.S. Action Plan for Acrylamide Activities and Progress. FAO/WHO Seminar on Acrylamide in Food. U.S. FDA, March 16, http://www.fao.org/ag/agn/jecfa/acrylamide/troxell/Troxell.ppt .03 Ocak 2023.

94. U.S. Food and Drug Administration. The Action Plans for Acrylamide in Food. 2002-2005 from: http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/pestadd.html#acrylamide 04.Ocak 2023

95. Kaplan, O., Kaya, G., Ozcan, C, Ince, M., Yaman, M., Acrylamide concentrations in grilled foodstuffs of Turkish kitchen by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Microchemical Journal* 2009,93: 173–179.

96. FAO/WHO, Joint FAO/WHO Consultation on Health Implications of Acrylamide in Food 2002: Geneva, Switzerland) Health implications of acrylamide in food: Report of a joint FAO/WHO consultation, WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, 25-27 June 2002.

97. Totani, N., Yawata, M., Takada, M., Moriya, M.,. Acrylamide content of commercial frying oil. *Journal of Oleo Science*, 2007,56: 303-306

98. Ölmez, H., Tuncay, F., Özcan, N., Demirel, S. A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008:21, 564-568.

99. Svensson, K., Abramsson, L., Becker, W., Glynn, A., Hellenas K.E., Lind,Y., Rosen, J. Dietary intake of acrylamide in Sweden. *Food ChemToxicol*,2003, 41: 1581-1586

100. Pelucchi, C., Galeone, C., Levi, F., ve diğerleri. Dietary acrylamide and human cancer. *Int J Cancer*,2006, 118: 467 – 71

101. Mucci, L.A., Dickman, P.W., Steineck, G., Adami, H.-O., Au-gustsson,K. Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney, and bladder. Absence of an association in a population-based study in Sweden. *Br J Cancer*,2003, 88: 84-89

102. Hagmar, L., Tornqvist, M. Letter to the editor: inconclusive results from an epidemiological study on dietary acrylamide and cancer. *Br JCancer*,2003, 89: 774-776

103. Pelucchi, C., Franceschi, S., Levi, F., Trichopoulos, D., Bosetti, C.,Negri, E., La Vecchia, C. Fried potatoes and human cancer. *Int J Cancer*, 2003,105: 558-560

104. Beer, M.U., Schlatter, J., Dudler, V., Zoller, O. Letter to the editor: fried potatoes and human cancer. *Int J Cancer*, 2004,108: 634-635

105. Heath, Jr. CW., Falk, H., Creech, Jr. JL. Characteristics of cases of angiosarcoma of the liver among vinyl chloride workers in the United States. *Ann NY Acad Sci*, 1975,246: 231–236.

106. Sobel, W., Bond, G.G., Parsons, T.W., Brenner, F.E. Acrylamide cohort mortality study. *Br J Ind Med*,1986, 43: 785-788

107. IPCS (International Programme on Chemical Safety). Boron, Environmental Health Criteria (EHC), WHO, Geneva, Switzerland,1998, 204: 1 -192.

108. Murray, F.J. A human health risk assessment of boron (boric acid and borax) in drinking water. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*.1995, 22: 221 -230.

109. U.S. EPA. Toxicology review of boron and compounds in support of summary information on integrated risk information (IRIS). National Center for Environmental Assessment, Washington,DC. .http://www.epa.gov/iris.04 Ocak 2023.

110. Epert Group on Vitamins and Minerals) Revised review of boron. Evgm/99/23/.http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/ boron.pdf.04 Ocak 2023.

111. FSA (European Food Safety Authority). Opinition of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the tolerable upper intake level of boron (sodium borate and boric acid). (Request No EFSA -Q -2003 - 018). (2004). The Efsa Journal. 80: 1 -22./Panel on dietetic products, nutrition and allergies http://www.efsa.eu.int/science/nda/nda_opinions/529/ opinion_nda08_ej80_boron_v2_en1.pdf. 04 Ocak 2023

112. ATSDR (Agency for Toxic Substance and Disease Registy). Toxicological profile for boron and compounds; *Available from ATSDR,* Atlanta, GA,1992,TP-91/05.

113. Gregory, S, Kelly, G.S. Boron: A review of its nutritional internations and therapeatic uses. *Alternative Medicine* Review.1997, 2(1): 48 -56. http://www. thorne.com/pdf/journal/2-1/boron.pdf04.01.2023

114. Dourson, M., Maıer, A., Meek, B., Renwıck, A., Ohanıan, E., Poırıer, K. Boron tolerable intake: re -evaluation of toxicokinetics for data -derived uncertainty factors. *Biological Trace Elememny Research.* 1998,66: 453 -463.

115. Murray, F.J. A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and human. *Biological Trace Element Research*.1998, 66(1-3): 331 -341.

116. W.W., Chapın, R.E., Moseman, R.F., Brınk, R.E., Pıerce, K.D., Adams, K.Y. Tissue disposition o boron in male Fischer rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*.1991, 111: 145 -151

117. Draıze, J.H., Kelley, E.A. The urinary excretion of boric acid preparations following oral administration and topical applications to intact and damaged skin of rabbits. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1959,1: 267 -276.

118. Brown, T.F., Mccormıck, M.E., Morrıs, D.R., Zarıngue, L.K. Effects of dietary boron on mineral balance in sheep. *Nutrition Research.* 1989,9: 503 -512.

119. Wen, E.C. The excretion of borate by the dairy cow. *The Journal of Dairy Research*. 1944,13(3): 243 – 248.

120. Moseman, R.F. Chemical disposition of boron in animals and humans. *Environmental Health Perpectives.*1994, 102(Suppl 7): 113 -117.

121. Devırıan, T.A., Volpe, S.L. The physiological effects of dietary boron. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2003,43: 219 -231.

122. Cherrıngton, J.W., Chernoff, N. Periods of vertebral column sensitivity to boric acid treament in CD-1 mice in utero. *Reproductive Toxicology*. 200216: 237 -243.

123. Jansen, J.A., Andersen, J., Schou, J.S. Boric acid single dose pharmacokinetics after intravenous administration to man. *Archives Toxicology*. 1984, 55: 64- 67.

124. Schou, J.S., Jansen, J.A., Aggerbeck, B. Human pharnacokinetics and safety of boric acid. *Archives Toxicology*.1984, 7: 232 -235.

125. Boron Monograph. Alternative Medicine Review.2004, 9: 434 -437.

126. Çöl, M., Çöl, C. Environmental boron contamination in waters of Hisarcık area in the Kütahya province of Turkey. *Food and Chemical Toxicology*. 2003,41: 1417 - 1420.

127. Yazbeck, C., Kloppmann, W., Cottıer, R., Sahuquıllo, J., Debotte, G., Huel, G. Health impact evaluation of boron in drinking water: a geographical risk assessment in Northern France. *Environmental Geochemistry and Health*. 2005,27: 419 – 427.

128. Jensen, J. A., Schou, J. S. And Aggerbeck, A., Gastrointestinal absorption and in vitro releuse of boric acid from water – emulsifying ointments, *Food Chem Toxicol*,1984: 49-53.

129. Culver, B.D., Shen, P.T., Taylor, T.H., Lee – Feldstein, A., Anton – Culver, H. and Strong, P.L., The relationship of blood – and urine – boron to boron exposure in borax – workers and the use fulness of urine – boron as an exposure marker, *Environ Health Perspect*,1994: 102, 133-137

130. Friis – Hansen, B., Aggerbeck, B. and Jansen, J. A.,. Unaffected blood boron levels in newborn in fants treated with a boric acid ointment, *Food Chem Toxicol*.,1982: 20, 451- 454.

131. World Health Organisation., İnternational Programme On Chemical Safety (I.P.C. S), Environmental Health Criteria, Boron, 1998:204

132. Nielsen, F.H., Boron, an overlooked element of potential nutritional importance, *Nutr Today*.,1988: 23, 4-7.

133. Muray, F.J, A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans, *Biol Trace Elem Res*., 1988:66, 331-341

134. Crit Rev Food Science Nutrient, 41 (4); 251- 86 http://www.hcilpflanzen-weltde/science/2001/11401245.htm.04 Ocak 2023.

135. Şaylı, B. S., 2000. İnsan Sağlığı ve Bor Mineralleri, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi ve A.Ü.Tıp Fakültesi - Eti Holding Projeleri Yürütücüsü, Ankara, http://www.bıgadıc.gov.tr. 04 Ocak 2023.

136. http//www.Luminet.net/wenonah/hydro/b.htm. 04 Ocak 2023

137. Mc Kee and Wolf, 1963,http:// www.springerlink.com/İndex/JAMUJ8D1RLQ19A4M.pdf. 04 Ocak 2023
138. Penland, J.G., Diatary boron, brain function and congnitice performance, *Environ Helath Perspect*,1994.
139. Korkmaz, M. Borun İnsan Sağlığına Etkisi, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı, Manisa,2007.
140. Cui Y, Winton MI, Zhang ZF, Rainey C, Marshall J, De Kernion JB, et al. Dietary boron intake and prostate cancer risk. *Oncol Rep* 2004; 11: 887-92
141. Barranco W, & Eckhert C. Boric acid inhibits prostate cancer cell proliferation. *Cancer Lett* 2004; 216: 21-29.
142. Carper S, Elegbede A, Hall C, Shen S, & Meacham S. Boric acid induces apoptosis in both prostate and breast cancer cell lines. *Cancer Res* 2007; 67.
143. Gallardo-Williams MT, Chapin RE, King PE, Moser GJ, Goldsworthy TL, Morrison JP, et al. Boron supplementation inhibits the growth and local expression of IGF-l in human prostate adenocarcinoma (LNCP) tumors in nude mice. *Toxicol Pathol* 2004; 32: 73–8.
144. Gallardo-Williams MT, Maronpot RR, Wine RN, Brunssen SH, Chapin RE. Inhibition of the enzymatic activity of prostate-specific antigen by boric acid and 3 nitrophenyl boronic acid. *The Prostate* 2003; 54: 44-49.
145. Ercal, N., Gurer-Orhan, H., Aykın-Burns, N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry.* 2001,1: 529 -539.
146. Shan, X., Aw, T.Y., Jones, D.P. Glutathione -dependent protection against oxidative injury. *Pharmacology & Therapeutics*.1990, 47: 61 -71.

147. 147 Eren M . Borun biyolojik önemi ve metabolizma üzerine *etkileri.* Erciyes Üniv *Vet Fak Dergisi.*,2004: 55-59.
148. Hunt CD, Shuler TL, Mullen LM . Concentration of boron and other elements in human foods and personal care products. *J. Am. Diet. Assoc*., 1991: 558-568
149. Ku WW, Chapin RE, Moseman RF, Brink RE, Pierce KD, Adams KY . Tissue disposition of boron in male Fischer rats. *Toxicol Appl Pharmacol.,* 1991:111, 145-151.
150. Fridovich I. In free radical in biology. New York: Academic; 1976.
151. Gençaslan G. Türkiye'de Tıbbi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Antioksidan Etkilerinin Taranması Ankara Üniversitesi, Ankara, 2007.
152. Özmen İ, Bayır A, Cengiz M, Sirkecioğlu AN, Atamanalp M. Effects of water resue system on antioxidant enzymes of rainbow trout *Vet Med-Czech* 2004;49:373-8.
153. Akkuş T. Serbest Radikaller ve Fizyopatoljik Etkileri. Konya: Mimoza Yayınları; 1995.
154. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987;107(4):526-45..
155. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys,*1990;280:1-8.
156. 156 Pelmenschikov, V., & Siegbahn, P. E. Copper− Zinc superoxide dismutase: theoretical insights into the catalytic mechanism. *Inorganic chemistry*, 2005:44, 3311-3320.
157. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem* 1991;37:1932-7.
158. Palmer T. Understanding Enzymes: Prentice Hall; 1995.

159. Tudhope GR. Red cell catalase in health and in disease, with reference to the enzyme activity in anaemia. *Clin Sci* 1967;33:165-82.

160. İmik H, Fidancı UR, T. S. Ankara Keçisi oğlaklarında C ve E vitaminlerinin metabolik strese karşı etkisi. *Vet Bil Derg* 1999;15.

161. Hirata F, Hayaishi O. Possible participation of superoxide anion in the intestinal tryptophan 2,3-dioxygenase reaction. *J Biol Chem* 1971;246:7825-6.

162. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312:159-63.

163. Flohé, L., Toppo, S., & Orian, L. The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002:187, 113-122.

164. Jana AK, Agarwal S, Chatterjee SN. The induction of lipid peroxidation in liposomal membrane by ultrasound and the role of hydroxyl radicals. *Radiat Res* 1990;124(1):7-14.

165. Li JM, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(8 Suppl 3):S221-6.

166. Thomas CE, Aust SD. Free radicals and environmental toxins. *Ann Emerg Med* 1986;15(9):1075-83.

167. Marí, M., de Gregorio, E., de Dios, C., Roca-Agujetas, V., Cucarull, B., Tutusaus, A., ... & Colell, A. Mitochondrial glutathione: Recent insights and role in disease. *Antioxidants*, 2020:9, 909.

168. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res* 1999;424:83-95

169. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993;57(5 Suppl):715S-24S; discussion 24S-25S.

170. Long CA, Bislskl HJ. Rate of Reaction of Superoxide Radical with ChlorideContaining Species. *J Phys Chem* 1980;84:555-7

171. Çakatay U, Kayalı R. Protein oksidasyonunun klinik önemi. *Cerrah Paşa Tıp Derg* 2004;35:140-9.

172. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003;329(1-2):23-38.

173. Odabaşoğlu F. Antioksidan Vitaminler. Erzurum1999.

174. Sunlog Biotech Co.,Ltd: Sod(Sl0664ra) http://www.sunlongbiotech.com. 04 Ocak 2023

175. Sunlog Biotech Co.,Ltd: Gsh(Sl0998ra) http://www.sunlongbiotech.com. 04 Ocak 2023.

176. Sunlog Biotech Co.,Ltd: Mda(Sl0475ra) http://www.sunlongbiotech.com. 04 Ocak 2023.

177. Cayman Chemical Company. Protein Determination Kit. https://www.caymanchem. com/pdfs/704002.pdf. 04 Ocak 2023

178. Semla, M., Goc, Z., Martiniaková, M., Omelka, R., & Formicki, G. Acrylamide: a common food toxin related to physiological functions and health. *Physiological Research*, 2017:*66*, 205.

179. Sun, R., Chen, W., Cao, X., Guo, J., & Wang, J. Protective effect of curcumin on acrylamide-induced hepatic and renal impairment in rats: Involvement of CYP2E1. *Natural Product Communications*, 2020:15,

180. Wang, S.-Y., Yu, C.-P., Pan, Y.-L., Zhou, X.-R., Xin, R., Wang, Y., Ma, W.-W., Gao, R., Wang, C., & Wu, Y.-H. Metabolomics analysis of serum from subjects after occupational exposure to acrylamide using UPLC-MS. *Molecular and cellular endocrinology*, 2017:444, 67-75.

181. Li, D., Xian, F. F., Ou, J. Y., Jiang, K. Y., Zheng, J., Ou, S. Y., Liu, F., Rao, Q. C., & Huang, C. H. Formation and Identification of Six Amino Acid-Acrylamide Adducts and Their Cytotoxicity Toward Gastrointestinal Cell Lines. *Frontiers in Nutrition*, 902040. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.902040. 04 Ocak 2023

182. Nikkhah, S., & Naghii, M. R. Using boron supplementation in cancer prevention and treatment: a review article. *The Cancer Press*, 2003:3, 113-119.

183. Besaratinia, A., & Pfeifer, G. P. A review of mechanisms of acrylamide carcinogenicity. *Carcinogenesis*,2007: 28(3), 519-528.

184. Gedik, S., Erdemli, M. E., Gul, M., Yigitcan, B., Gozukara Bag, H., Aksungur, Z., & Altinoz, E. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*,2017: *95*, 764-770. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha. 04 Ocak 2023

185. Watzek, N., Scherbl, D., Feld, J., Berger, F., Doroshyenko, O., Fuhr, U., Tomalik-Scharte, D., Baum, M., Eisenbrand, G., & Richling, E. Profiling of mercapturic acids of acrolein and acrylamide in human urine after consumption of potato crisps* 2012.https://doi.org/10.1002/mnfr.04 Ocak 2023 *Molecular Nutrition & Food Research*, 56, 1825-1837.https://doi.org/https://doi.org/10.1002/mnfr.04 Ocak 2023.

186. Uthra, C., Shrivastava, S., Jaswal, A., Sinha, N., Reshi, M. S., & Shukla, S. Therapeutic potential of quercetin against acrylamide induced toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017:86, 705-714.

187. Cengiz, M., Ayhanci, A., Akkemik, E., Şahin, İ. K., Gür, F., Bayrakdar, A., Cengiz, B. P., Musmul, A., & Gür, B. The role of Bax/Bcl-2 and Nrf2-Keap-1 signaling

pathways in mediating the protective effect of boric acid on acrylamide-induced acute liver injury in rats. *Life sciences*,2022:307, 120864.

188. Sun, J., Li, M., Zou, F., Bai, S., Jiang, X., Tian, L., Ou, S., Jiao, R., & Bai, W. Protection of cyanidin-3-O-glucoside against acrylamide- and glycidamide-induced reproductive toxicity in leydig cells. *Food and Chemical Toxicology*, 2018:119, 268-274. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.04 Ocak 2023.
189. Zhang, L., Zhang, H., Miao, Y., Wu, S., Ye, H., & Yuan, Y. Protective effect of allicin against acrylamide-induced hepatocyte damage in vitro and in vivo. *Food and Chemical Toxicology*, 2012:*50*, 3306-3312. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.04 Ocak 2023
190. Alizadeh, M., & Kheirouri, S. Curcumin reduces malondialdehyde and improves antioxidants in humans with diseased conditions: a comprehensive meta-analysis of randomized controlled trials. *BioMedicine*, 2019:*9*(4).
191. Oğul, Y., Gür, F., Cengiz, M., Gür, B., Sarı, R. A., & Kızıltunç, A. Evaluation of oxidant and intracellular anti-oxidant activity in rheumatoid arthritis patients: In vivo and in silico studies. *International Immunopharmacology*, 2021:97, 107654.
192. Güneş S. Antikanser tedavide siklofosfamid nedenli renal hasarda karvakrol'ün koruyucu etkileri, Doktora tezi,2012.
193. Jiang, G., Lei, A., Chen, Y., Yu, Q., Xie, J., Yang, Y., Yuan, T., & Su, D. (2021a). The protective effects of the Ganoderma atrum polysaccharide against acrylamide-induced inflammation and oxidative damage in rats. *Food Function*, *12*, 397-407.
194. Donmez, D. B., Kacar, S., Bagci, R., & Sahinturk, V. Protective effect of carnosic acid on acrylamide-induced liver toxicity in rats: Mechanistic approach over Nrf2-Keap1 pathway. *Journal of Biochemical Molecular Toxicology*, 2020:34(9), e22524.

195. Erdemli, M. E., Altınöz, E., Aksungur, Z., Doğan, Z., Gözükara, H. B., & Türköz, Y. Gebe Ratlara uygulanan Akrilamid ve E Vitaminin Plasenta Dokusu Üzerine Olası Etkilerinin Araştırılması.2017.

196. Awad, M. E., Abdel-Rahman, M. S., & Hassan, S. A. Acrylamide toxicity in isolated rat hepatocytes. *Toxicology in Vitro, 1998:12,* 699-704. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0887-2333(98)00051-4 04 Ocak 2023.

197. Bin-Jumah, M. N., Al-Huqail, A. A., Abdelnaeim, N., Kamel, M., Fouda, M., Abulmeaty, M., Saadeldin, I. M., & Abdel-Daim, M. M. Potential protective effects of Spirulina platensis on liver, kidney, and brain acrylamide toxicity in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021:28, 26653-26663.

198. Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H. H., Acaroz, D. A., Akbel, E., & Cigerci, I. H. (2014). Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. *Chemosphere, 108*, 197-204. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.038.

199. Ayhanci, A., Tanriverdi, D. T., Sahinturk, V., Cengiz, M., Appak-Baskoy, S., & Sahin, I. K. Protective effects of boron on cyclophosphamide-induced bladder damage and oxidative stress in rats. *Biological trace element research*, 2019:1-8.

200. Cengiz, M. Boric acid protects against cyclophosphamide-induced oxidative stress and renal damage in rats. *Cellular and Molecular Biology*,2018: *64*, 11-14.

201. Gür, F., Cengiz, M., Kutlu, H. M., Cengiz, B. P., & Ayhancı, A. Molecular docking analyses of Escin as regards cyclophosphamide-induced cardiotoxicity: In vivo and in Silico studies. *Toxicology Applied Pharmacology*,2021 :411, 115386.

202. Kandemir, F. M., Yildirim, S., Caglayan, C., Kucukler, S., & Eser, G. 2. Protective effects of zingerone on cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Environmental Science and Pollution Research*,2019: 26, 22562-22574.

203. Jiang, G., Lei, A., Chen, Y., Yu, Q., Xie, J., Yang, Y., Yuan, T., & Su, D. The protective effects of the Ganoderma atrum polysaccharide against acrylamide-induced inflammation and oxidative damage in rats [10.1039/D0FO01873B]. *Food & function*,2021b *12*, 397-407.

204. Ayhanci, A., Tanriverdi, D. T., Sahinturk, V., Cengiz, M., Appak-Baskoy, S., & Sahin, I. K. Protective effects of boron on cyclophosphamide-induced bladder damage and oxidative stress in rats. *Biological trace element research*,2020: 197, 184-191.

205. Cengiz, M., Ayhanci, A., Akkemik, E., Şahin, İ. K., Gür, F., Bayrakdar, A., Cengiz, B. P., Musmul, A., & Gür, B. The role of Bax/Bcl-2 and Nrf2-Keap-1 signaling pathways in mediating the protective effect of boric acid on acrylamide-induced acute liver injury in rats. *Life sciences*, 2022:307, 120864.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Medeni Hali:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
Faks:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	
Yüksek lisans:	
Doktora:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	-
Almanca:	-
Rusça:	-
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU[1]

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Osman SARİÇİÇEK
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	**Biyokimya**
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	**Benzerlik Oranı**	**Maksimum Benzerlik Oranları**
I. Giriş	% 11	% 15
II. Genel Bilgiler	% 17	% 35
III. Materyal ve Metod	% 28	% 35
IV. Bulgular	% 7	% 15
V. Tartışma	% 2	% 20

Not: *Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.*

Tez Yazarı (Öğrenci)	**Tez Danışmanı**

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük

Sayı : 75296309-050.01.04-E.2100073424 09.03.2021
Konu : HADYEK Kararı.

SAĞLIK HİZMETLERİ MESLEK YÜKSEKOKULU MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi : 19.02.2021 tarihli ve 54826478-000-E.2100050637 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 26.02.2021 tarihli ve 2 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 45 no'lu kararı ile sözkonusu tez çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 26.02.2021

TOPLANTI SAYISI : 2

KARAR N0 45: Atatürk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Müdürlüğü, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü öğretim üyesi Dr.Öğr.Üyesi Fatma GÜR'ün yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuarlarında yürütülecek olan "Ratlarda Akrilamid Kaynaklı Böbrek Hasarında Bor'un Koruyucu Etkisi: Antioksidan Savunma Mekanizması Üzerine Mekanik Yaklaşım" isimli tez çalışması ile ilgili Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Müdürlüğünün 19.02.2021 tarihli ve 54826478-000-E.2100050637 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen tez çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.