

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BORONUN KAN BAKIR VE SERULOPLAZMİN
DÜZEYLERİNE ETKİLERİ**

Pınar BULUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Nuri BAŞPINAR

KONYA -2008

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BORONUN KAN BAKIR VE SERULOPLAZMİN
DÜZEYLERİNE ETKİLERİ**

Pınar BULUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Nuri BAŞPINAR

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 07 202 030 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA -2008

i. ONAY SAYFASI

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Pınar BULUZ tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans olarak oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Erdoğan ŞEKER

İmza

Selçuk Üniversitesi

Danışman: Prof. Dr. Nuri BAŞPINAR

İmza

Selçuk Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Seyfullah HALİLOĞLU

İmza

Selçuk Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Orhan ÇETİN

Enstitü Müdürü

ii. ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim için beni yönlendiren ve yüreklendiren Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nden değerli hocam Doç. Dr. Renan ŞEKER'e,

Tezimin hazırlanmasında ve eğitimim süresince yetişmemde, büyük emeği geçen danışman hocam sayın Prof. Dr. Nuri BAŞPINAR'a,

Çalışmanın projelendirilmesi ve yürütülmesi aşamalarında yardımını esirgemeyen Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Çalışmanın yürütülmesinde her türlü olanağı hazırlayan, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım sayın Dr.Pınar Peker AKALIN'a,

Manevi desteklerini benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan kardeşim Hamza BULUZ, babam İbrahim BULUZ ve annem Türkan BULUZ'a

Teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Pınar BULUZ

iii. İÇİNDEKİLER

| | |
|---|----|
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | iv |
| 1.GİRİŞ..... | 7 |
| 1.1.Bakır..... | 8 |
| 1.1.1.Bakır Metabolizması ve Etkileri..... | 8 |
| 1.1.2.Bakır Yetersizliği..... | 10 |
| 1.1.3.Bakır Toksisitesi..... | 11 |
| 1.2.Seruloplazmin (Cp)..... | 13 |
| 1.2.1.Yapısı ve Biyosentezi..... | 13 |
| 1.2.2.Metabolizması ve Fonksiyonları..... | 13 |
| 1.2.3. Seruloplazmin Noksanlığı..... | 14 |
| 1.2.4. Seruloplazminin Toksik Etkileri..... | 15 |
| 1.2.5. Türlerle Göre Cp düzeyleri..... | 16 |
| 1.3. Boron..... | 17 |
| 1.3.1. Metabolizması ve Fonksiyonları | 17 |
| 1.3.2. Boron Toksisitesi..... | 19 |
| 2. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 20 |
| 3. BULGULAR..... | 23 |
| 4. TARTIŞMA..... | 26 |
| 5. SONUÇ ve ÖNERİLER..... | 30 |
| 6.ÖZET..... | 31 |
| 7.SUMMARY..... | 32 |
| 8.KAYNAKLAR..... | 33 |
| 9.ÖZGEÇMİŞ..... | 39 |

iv. SİMGELER VE KISALTMALAR

ALA-D: δ - Aminolevülinik Asit Dehidrataz

AtX1: Arabidopsis Trithorax-Like Protein 1

ATP7A: ATPase, Cu^{++} taşıyıcı, alpha polypeptide (Menkes syndrome)

CAT: Katalaz

Cp: Seruloplazmin

Cu: Bakır

EDTA: Etilendiamin tetraasetikasit

GPx: Glutasyon peroksidaz

HAH1: Human Antioxidant protein 1

MAO: Mono Amin Oksidaz

MNK: Menkes hastalığı proteini

NADPH: Nikotinamid dinükleotid fosfataz

Ppm: Milyonda bir

PPD: P-fenilen diamin diklorid

SOD: Süperoksit Dismutaz

1.GİRİŞ

Önemli iz elementlerden biri olan bakır, karaciğerde sentezlenen bir glikoprotein olan seruloplazminin (Cp) yapısına katılarak kana salınır. Seruloplazmin antioksidan savunma, Fe metabolizması, bakır taşınması, koagülasyon ve anjiogenesisizde etkilidir.

Son yıllarda hayvan ve insan beslenmesinde boronun esansiyel olduğu; mineral metabolizması, beyin fonksiyonları, hormon regülasyonu, osteoporoz ve osteoartritiste önemli olduğu ileri sürülmektedir. Boron yetersizliğinde mineral metabolizması, algılama fonksiyonları ve kemik yoğunluğu bozulmakta, steroid hormon ve vitamin düzeyleri değişmektedir. Boron, cis- hidroksil grubu taşıyan organik bileşiklerle, şekerler, polisakkaritler, adenozin 5 fosfat, pridoksin, riboflavin, dehidroaskorbik asit, piridin nükleotidleri, fosfoinozidler, glikoproteinler ve glikolipidler ile kompleks oluşturmaktadır.

Boron, seruloplazmin düzeylerinin arttığı inflamasyonda, immün sistem hücrelerince salınan serin proteazlarını baskılayarak, lökotrien sentezini inhibe eder ve reaktif oksijen türlerini azaltır. İnsanlarda oral boron uygulaması sonrasında, yapısında bakır bulunan δ - Amino Levülinik Asit Dehidrataz (ALA-D) ve eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) enzimlerinin plazma düzeyleri azalmakta, ayrıca boron, menopoz sonrası kadınlarda bakır, Cp ve östradiol düzeylerini de etkilemektedir. Ratlarda östrojen uygulamasını takiben plazma Cp düzeylerinin yükseldiği, seruloplazmin aktivitesinin kadmiyum, molibden, gümüş ve çinko gibi mineral maddelerden etkilendiği ileri sürülmektedir. Buna karşın ratlarda rasyonla alınan boron ile plazma bakır, Cp düzeyleri arasındaki ilişkiyi gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada farklı dozlarda rasyona katılan boronun, plazma bakır ve seruloplazmin düzeylerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

1.1.Bakır

Bakır organizma için gerekli olan ve birçok enzim sisteminde rol oynayan bir eser elementtir. Atom ağırlığı 63 546, atom numarası 29 olan bakır periyodik tabloda 1 B grubunun ilk elementidir. Ülkeden ülkeye değişmekle birlikte normal bir diyetle ortalama 0,6- 3 mg/gün bakır alınmaktadır (Danks 1991).

Bakırın dört oksidasyon hali vardır; Cu(O),Cu(I), Cu(II), ve Cu(III). Bakır, gümüş ve altın gibi soy metallere olup elemental halde bulunur. Yüksek ısı ve elektrik iletkenliği, yumuşaklığı, aşınmasının az oluşu, alaşım yapabilmesi özelliklerinden bazılarıdır. Bakır elektrik iletkenliği güç sıralamasında hidrojenin sonra gelir. Yoğun sülfirik asit ve nitrik asitte çözünürken, seyreltik hidroklorik asit ve sülfirik asitte çözünmez (Hawley 1981).

1.1.1. Bakır Metabolizması ve Etkileri

Bakır oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarında görev alan bazı metalloenzimlerin fonksiyonları için gerekli olan bir eser elementtir. Bu enzimlerin en önemlileri seruloplazmin (Cp), sitokrom C oksidaz, süperoksit dismutaz (SOD), askorbat oksidaz, lizil oksidaz, tirozinaz (Milne ve ark. 1999, Chan ve ark. 1998), katalaz, ürikaz, delta amino levülünik asit dehidrataz (ALA-D), bağ dokusunda amino oksidaz, dopamin beta hidroksilaz ve Mono Amin Oksidaz (MAO) 'dır (Bremmer 1979, Yorbik 1999).

En önemli bakır kaynakları, karaciğer, böbrek, kabuklu deniz ürünleri, çikolata ve işlenmemiş buğdaydır. Diyetle alınan bakırın % 40-70'i absorbe olur. Bakır alımından sonraki 1,5- 2,5 saatlik dönemde plazmada en yüksek düzeye ulaşır (Gunshin ve ark 1997). Bakır diyetle alındıktan sonra duodenumdan aminoasitler ya da küçük peptidlerle birleşerek absorbe olur. Bağırsak epitel hücrelerinden alınan bakır hücre içinde bakır içeren proteinlere bağlanır. Bunların en yenileri Arabıdopsis Trithorax-Like Protein 1 (AtX1) ve Human Antioksidant protein 1 (HAH1)'dir. Bunlar bakırı golgi aparatına taşır. Bunların yanı sıra Lys7 ve Cox7 proteinleri de bakırın taşınmasında rol oynar. Bakırın bağırsak epitel hücrelerinin bazolateral membranından geçişi P tip ATPaz olan ATP7A (MNK)'nın katılımını gerektirir. Menkes hastalığı proteini (MNK) düşük bakır konsantrasyonlarında golgi cisimciğinde lokalizedir. Bakır konsantrasyonu arttığında bu protein hücre yüzeyine hareket eder ve bakır geçişi sağlanır (Harris ve ark. 1995, Danks 1996).

Bakır emilimi esas olarak proksimal ince barsaklarda meydana gelir. Yüksek proteinli diyet ve anyonlar emilimini artırır. Lifli diyet, safra, askorbik asit ve çinko

emilimini azaltır. Bakır bağırsağın fırçamsı kenarından geçer geçmez metallothioneine bağlanır. Çinko, bakır, kadmiyum, glukagon, glikokortikoidler ve bakteriyel infeksiyonlar intestinal metallothionein sentezini artırır (Cousins 1985).

Bakır bağırsakta emilirken iki değerlikli katyonlarla yarışmalıdır. Diyete eklenen kadmiyum (Evans ve ark. 1970), ferrik demir (Wapnir ve ark. 1993, Yu ve ark. 1994), kalay (Wapnir ve ark. 1993, Pekelharing ve ark. 1994), bakır emilimini düşürür.

Diyetle yüksek oranda alınan çinko bakır eksikliğine yol açar. Kadınlarda 10 hafta boyunca günde 50 mg çinko alımı (Yadrick ve ark. 1989), erkeklerde 6 hafta boyunca günde 59 mg çinko alımı; eritrosit süper oksit dismutazı azaltmıştır (Fischer ve ark. 1984). Çinko bakır ile yarışmaya girerek bakır emilimini önlediği gibi bağırsak hücrelerindeki bakıra yüksek afinite gösteren metallothioneini indükleyerek bakırın bağırsak epitel hücrelerinde kalmasını ve epitelin dökülmesiyle atılmasını sağlar. Wilson hastalığı tedavisinde tek başına veya diğer tedavi seçenekleri ile bir arada kullanılabilir (Chitkara ve ark. 2000, Brewer ve ark. 2001).

Absorbe olan bakır (Cu^{++}), kanda reversibl olarak taşıyıcı proteinlere bağlanarak taşınır. Bu proteinlerin en önemlileri; transkuprein, albumin ve seruloplazmindir. Taşınan bakırın çoğu karaciğerde depolanır. Çok az miktarda bakır (<40 $\mu g/dl$) hepatik alımdan kaçır ve idrarla atılır. Karaciğerde depolanan bakırın seruloplazminle birleşik olan kısmı kana sekrete edilir. Diğer kısım sülfidriden zengin karaciğer proteini olan L-6-D, sitokrom oksidaz ve diğer proteinlerle birleşerek sonuçta bir kısmı safra yoluyla bir kısmı da idrar ve terle atılır (Harris ve ark. 1995, Eisenger 1996). Safra ile günlük bakır atılımı yaklaşık 0,5- 1,3 mg'dır (Kalaycıoğlu ve ark. 2000). Sağlıklı bireylerde idrarla bakır atılımı 40 $\mu g/gün$ 'den daha azdır. Wilson hastalarında ise 100 $\mu g/gün$ 'den daha fazladır ve fulminan seyirli hastalarda 5000 $\mu g/gün$ 'den daha yüksek olabilir (McCullough ve ark 1983, Tissieres ve ark 2003). İdrar bakır düzeyi wilson hastalığı yanısıra kronik aktif hepatit ve kolestatik karaciğer hastalıklarında da artar (Walshe ve Briggs 1962, Perman ve ark 1977).

Tablo 1.1. İdrarla bakır atılımını artıran hastalıklar.

- Primer biliyer siroz
- Kronik aktif hepatit
- Fulminan karaciğer yetersizliği
- Kolestatik sendromlar
- Biliyer atrezi
- İntrahepatik safra kanal azlığı
- Sklerozan kolanjit

Yetişkin bir insanda yaklaşık 70- 100 mg bakır bulunur. Karaciğer, beyin, kalp ve böbrekte yüksek konsantrasyonlarda bakır bulunurken, kaslar total vücut bakırının %50'sini içerir. İnsan eritrositlerindeki 100- 140 µg/dl bakırın % 60'ı süproksit dismutaz enzimi yapısındadır (Grand ve Plaskow 1996). İnsanlarda serum bakır düzeyi (10- 25µmol/L) 100- 200 µg /dl iken (Grand ve Plaskow 1996), hayvanlarda 50- 150 µg/dl (Keen ve Graham 1989) olarak bildirilmiştir.

Bakır iyonları serbest radikal hasarının ortaya çıkmasında katalizör rolü oynayabilirler. Redoks aktive edici bir metal olduğu için oksidatif stres üzerine etkisi söz konusudur (Hochstein ve ark. 1980, Halliwell ve Gutteridge 1984).

Penisillinin metaboliti olan Penisillamin, bakır ile birleşerek idrarla atılır (Bergstrom ve ark. 1981). Penisillamin tedavisi başladıktan sonra nörolojik bulgularda artış olduğu ve bunun dokulardan dolaşıma geçen bakırın beyin dokusunda birikmesine bağlı olduğu ileri sürülmüştür (Paul ve ark. 2003).

1.1.2. Bakır Yetersizliği

Bakır, lizil oksidazın yapısına katılarak kollajen ve elastin polipeptitleri arasında çapraz bağlanmalar yapmasını sağlar. Eksikliğinde kollejen ve elastin proteinleri arasında çapraz bağlanmalar yapılamadığından, arter damarları zayıflar, damarda kopma ve çatlamlar meydana gelir. Bakır noksanlığında hayvanlarda enzootik ataksi hastalığı yaygın olarak görülür. Bakır, Fe metabolizmasında da önemli rol oynar, eksikliği Fe emilimini azaltır, anemiye, eritropoezde bozulmaya ve eritrosit ömründe azalmaya sebep olur (Kalaycioğlu ve ark. 2000).

Genetik özelliklere bağlı olarak çocuklarda bakır yetersizliği sonucu oluşan Menkes hastalığında gelişme geriliği, arterlerde defektler, beyinde lokal dejeneratif değişiklikler, mental gerilik ve saçlarda zayıflıkla birlikte saç renginde açılmalar görülür (Danks 1972).

1.1.3. Bakır Toksisitesi

Bakır toksisitesi hayvanlarda oldukça sık görülmesine karşın insanlarda nadir görülür. Kronik bakır toksisitesi en sık koyunlarda görülür (Keen ve Graham 1989). Bulantı, kusma, ishal, karın ağrısı, ateş, titreme, hemolitik anemi, sarılık, hemoglobinüri ve şiddetli kas ağrıları bakır toksisitesinin belirtileridir (Scheinberg 1976).

Bakırın indüklediği oksidatif hasar genellikle yüksek derecede reaktif olan hidroksil radikalinin (OH^{*}) oluşumu ile gerçekleşir. Hidroksil radikali oluşumu dokularda hasara neden olan lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Britton 1996, Gaetke ve Chow 2003).

Bedlington ve terrier ırkı köpeklerde fazla miktarda bakırın karaciğerde depolandığı ve bunun sonucunda hepatitis ve sirozun şekillenmesine neden olduğu belirtilmiştir (Batu 1990).

Wilson hastalığı, safra aracılığı ile bakır atılımının yetersiz olması ve bu nedenle karaciğer, beyin, böbrek ve diğer organlarda bakır birikmesi ile karakterizedir (Frommer 1974).

Gebelik boyunca serum bakır seviyesi artar ve son trimesterde normal değerlerin iki ile üç misline ulaşır. Ayrıca infeksiyon veya enflamatuvar stres durumlarında serum bakır konsantrasyonu yükselir (Barness ve ark. 1996, Chan ve ark. 1998, Milne ve ark. 1999).

İnsanda bakır solunumu tahriş edicidir. Bakır tozuna maruz kalan çalışanlarda burun akıntısı, göğüs ağrısı, hapşırık, öksürük ve solunum sistemi tahrişinin anlamlı olduğu bildirilmiştir (Askergren ve Mellgren 1975, Suciü ve ark. 1981). Suciü ve ark (1981), elenmiş bakırla iç içe olan 75- 100 işçinin akciğer filminde pulmoner fibrozis ve bazı vakalarda nodulasyon gözlemlemişlerdir.

Farelerde, hamstırlarda ve tavşanlarda bakırın sebep olduğu solunum sistemi etkileri test edilmiş, 3 saat süresince 3,3 mg/ m³ bakır sülfat tozuna maruz bırakılan Syrian-Golden hamstırlarında silia hareketleri azalmıştır (Drummond ve ark. 1986). Günde 3 saat 0,6 mg/ m³ bakır kloride tozuna maruz bırakılan (4- 6 hafta süresince haftada 5 gün) tavşanlardaki alveoler tip 2 hücre yoğunluğunda önemsiz artış (Johansson ve ark. 1984), üç yıl ve daha fazla süreyle 111 ile 434 mg/ m³ arası seviyelerde bakır tozuna maruz bırakılan bireylerde anoreksiye, mide bulantısı, diyare ve karaciğer büyümesi (Suciü ve ark. 1981), 0,64–1,05 mg/m³ havadaki bakır

tozuna maruz kalan işçilerde ise eritrosit ve hemoglobin seviyelerinde düşme gözlenmiştir (Finelli ve ark. 1981).

Yaklaşık 3 g bakır sülfat içeren solüsyonu içen 18 aylık çocuklarda akut hemolitik anemi gözlenmiştir (Walsh ve ark. 1977). Fazla dozda bakır sülfat verilen 125 kişinin 5'inde akut intravasküler hemoliz olduğu bildirilmiştir (Ahasan ve ark. 1994). Günde 66 mg Cu/kg ya da daha fazlasına maruz kalan ratlarda hemoglobin ve hemotokrit değerlerinde düşme gözlenmiştir (Rana ve Kumar 1980, Kumar ve Sharma 1987). Ondört günlük besleme ile günlük 196 mg Cu/kg olacak kadar bakır sülfat verilen ratlarda kemik iliğindeki kan yapıcı hücrelerde azalma görülmüştür (NTP 1993). Bu bulguların aksine Liu ve Medeiros (1986), 20 hafta boyunca günde 14 mgCu /kg (bakır karbonatla) beslenen ratlarda hemotokrit seviyeleri değişmemiş ve hemoglobin seviyelerinde artış olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Bakır sülfatın ölümcül doz vaka raporlarında sarılık (Akintonwa ve ark. 1989), sentrilobuler tıkanma (Lamont ve Duflou 1988), akut hepatotoksisite (Ahasan ve ark. 1994) bildirilmektedir.

Karaciğer hasarıyla ilgili birkaç vaka sentrilobular nekrozis, sarılık ve aspartat aminotransferaz aktivitesinde artış bakır sülfatın ölümcül dozlarının alınmasıyla ilişkilendirilmiştir. Yeni doğanlarda ve çocuklarda bildirilen karaciğer etkileri genellikle üç sendromdan biriyle açıklanmıştır: Wilson hastalığı, Hindistan çocukluk çağı sirozu ve nedeni bilinmeyen bakır zehirlenmesi. Wilson hastalığında otozomal resesif genetik bozukluk, hasar görmüş bakır metabolizmasıyla ilişkilendirilmiştir. Diyetle 15 hafta boyunca bakır sülfatla günde 550 mg Cu/kg'dan fazla bakır alan ratlarda ağır karaciğer hasarı (kronik hepatit) görülmüştür (Haywood ve ark. 1985). Selenyumun bakırın zehirli etkisini yok ettiği bildirilmiştir (Frost ve Olson 1972).

1.2. Seruloplazmin (Cp)

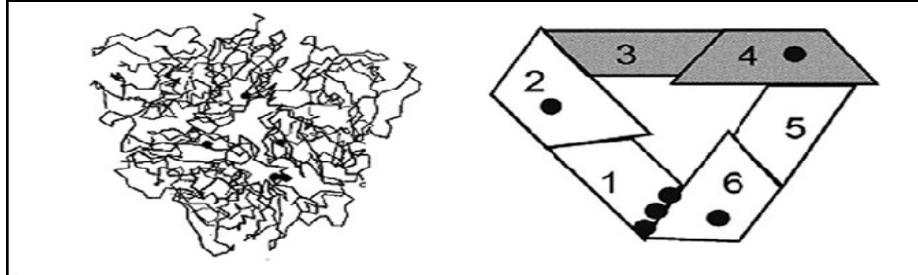
1.2.1.Yapısı ve Biyosentezi

Seruloplazmin insan plazmasında bakırın başlıca taşıyıcısı olup (McPearson 1996) sağlıklı bireylerde dolaşımdaki total bakırın yaklaşık % 90- 95'i yapısında bulunur (Fox ve ark. 1995).

Seruloplazmin (Cp), molekül ağırlığı 132 000 olan, herbir molekülünde 6 bakır atomu içeren ve % 7- 8'i karbonhidrat olan (Osaki ve ark. 1966, Mateescu ve ark. 1995, Richardson 1999, Aouffen ve ark. 2001, Kang ve ark. 2002) bir glikoproteindir. Yapısındaki karbonhidrat içeriğini sialik asit oluşturur (Fox ve ark 1995).

Başlıca karaciğerde sentezlenen Cp aynı zamanda inflamasyon ve doku hasarı gibi durumlarda ılımlı yanıt gösteren bir akut faz proteindir (Fox ve ark. 1995, McPearson 1996). Seruloplazmin karaciğerde önce aposeruloplazmin olarak sentezlenir ve golgi organelinde 6- 7 bakır atomu bağladıktan sonra holo-seruloplazmin olarak plazmaya salınır (Perman ve ark. 1979, Yuce ve ark. 1999).

Yetişkin bir insanda plazma seruloplazmin seviyeleri 300 µg /ml'dir (Ganaraja ve ark. 2004). Rat ve insanlarda seruloplazminin yarılanma süresi yaklaşık 27 saattir (Hamer ve ark. 1970).



Şekil 1:İnsan Cp (Zaitseva ve ark 1996).

1.2.2.Metabolizması ve Fonksiyonları

Hayvansal organizmada belli başlı hücre içi antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir. SOD' un yapısında bakır, çinko ve manganez; GPx'de ise selenyum iyonu bulunduğundan bu enzimler metalloenzim olarak da adlandırılırlar. Hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptogloblin, seruloplazmin, albumin, bilirubin, beta-karoten ve alfa-1 antitripsin sorumludur (Halliwell 1991).

Akut faz proteini olan Cp, organizmada antioksidan olarak da görev yapmaktadır. Yara, infeksiyon, inflamasyon boyunca Cp aktivitesindeki artış, serum Cp'nin bir akut faz reaktanı ve bir antioksidan gibi hareket ettiğini göstermektedir (Gitlin 1988, Fleming ve ark. 1991).

Seruloplazmin serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek, dokularda ve plazmada bulunan serbest radikallerin zararlarını engellemektedir (Gruys ve ark. 1994, Burtis ve Ashwood 1999, Floris ve ark. 2000). Seruloplazmin, ferrokسيدaz aktivitesiyle ferröz demirin (Fe^{2+}) ferrik demire (Fe^{3+}) oksidasyonunu katalizleyerek demirin transport proteini olan transferrin ve depo proteini olan ferritine bağlanmasını kolaylaştırır ve aynı zamanda Fenton reaksiyonunu da önleyerek antioksidan aktivite gösterir (Fox ve ark. 1995).

Süperoksit radikali ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi oksidasyon ürünlerinin üretimiyle plazmada artan Cp, seruma az miktarda verildiğinde serum antioksidanı gibi görev yapar (Osaki ve ark. 1966, Aouffen ve ark. 2001). Oksidatif stres süresince Cp inaktivasyonu ortaya çıkabilir ve bakır radikalleri serbest kalabilir (Swain ve ark. 1994, Eum ve Kang 1999, Choi ve ark. 2000). Bu nedenle hasarlı Cp, oksidatif strese maruz kalan makromoleküller üzerinde serbest radikal aracılı hasarın artmasına neden olabilmektedir.

Seruloplazmin, damar tonusunun düzenlenmesinde etkilidir (Cappelli-Bigazzi ve ark. 1997, Bianchini ve ark. 1999). Seruloplazminin endotelial nitrik oksit sentaz fonksiyonunu değiştirebileceği gösterilmiştir. Nitrik oksit sentaz, damar tonusunun korunması ile ilişkili olduğundan, Cp'nin damarların nitrik okside bağlı gevşemesinin kontrolü ile ilişkili bir rolü de olabileceği düşünülmektedir (Floris ve ark. 2000).

1.2.3. Seruloplazmin Noksanlığı

Seruloplazmin; nitrik oksit, azidler ve oksijenli bileşiklerle etkileşim yapabilir. Ferrokسيدaz aktivitesine egemen olmasından dolayı demir metabolizması için çok önemlidir (Osaki ve ark. 1966). Seruloplazmin geninin fonksiyonlarındaki bir eksiklik demir metabolizmasını etkiler (Harris 1991). Farelerde Cp eksikliğinde karaciğer ve diğer organlarda demir birikimi gözlenmiştir (Harris ve ark. 1999, Patel ve ark. 2002).

Karaciğer yetersizliği ve malnütrisyon gibi protein sentez bozuklukları, protein kaybettiren enteropati, nefrotik sendrom, herediter hiposeruloplazminemi, Wilson hastalığı, Menkes hastalığı, nutrisyonel bakır eksikliği (Scheinberg ve

Steinlieb 1984, Danks 1989) ve diyabetli hastalarda (Cunningham ve ark. 1995) plazma Cp düzeylerinin önemli düzeyde düşük olduğu bildirilmiştir.

1987’de Miyajima, Aseruloplazminemi adını verdiği, dolaşımdaki seruloplazminin hemen hemen yokluğu ile karakterize, otozomal resesif, nörodejeneratif bir hastalık tanımladı. Seruloplazmin geninde mutasyonla ortaya çıkan aseruloplazminemide; pankreas, retina ve beyinde fazla demir birikimi meydana gelmekte ve (Xu ve ark. 2004) artan demir konsantrasyonu, beyinde lipid peroksidasyonunun artmasına neden olabilmektedir (Miyajima ve ark. 2002).

1.2.4. Seruloplazminin Toksik Etkileri

Seruloplazmin, tamamen zararsız değildir çünkü yüksek seviyelerdeki bu protein aterosklerozise zemin hazırlar. Birçok araştırmacı kardiyovasküler hastalıklar ve artmış Cp seviyeleri arasındaki korelasyonu kanıtlamışlardır (Fox ve ark. 1995). Yüksek riskli akut myokardial enfarktüs ve Cp seviyelerindeki artış arasındaki ilişki Finlandiya’da yapılan epidemiyolojik çalışmalarla da gösterilmiştir (Reunanen ve ark. 1992).Seruloplazminin akut myokard infarktüsünde meydana gelen inflamasyon ve iskemik dokudaki hasar sonucu akut faz reaksiyonu ile karaciğerden atılımı artarken plazma düzeyleri yükselmeye başlar (Reunanen ve ark. 1992, Fox ve ark. 2000). Geç akut faz reaktanı olarak bilinen Cp’nin (McPearson 1996) myokard infarktüsü geçiren hastalarda infarktüsün 24. saati sonunda bile sağlıklılara göre 2 kat artış gösterdiği bildirilmektedir (Özgül Güngör ve ark. 2004). Myokard infarktüsündeki artmış riskin Cp’nin pro-oksidan aktivitesinden ve LDL’yi oksidatif modifikasyona uğratarak aterosklerozun fizyopatolojisine katkıda bulunmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (Lamb ve Leake 1994).

Ateroskleroz (Bustamente ve ark. 1976) abdominal aort anevrizması (Powell ve ark. 1987) “unstable” anjina (Jayakumari ve ark. 1992), Myokard infarktüsü (Singh 1992, Klipstein-Grobusch ve ark. 1999), vaskülit ve periferik arter hastalığı (Belch ve ark. 1989) gibi çoklu kardiyovasküler bozukluğu olan hastalarda Cp düzeylerinde yükselme olduğu bildirilmiştir. Tip 2 diabetes mellituslu hastalarda serum Cp düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olmasına karşın serum Cp seviyelerinin kan glikoz seviyeleriyle ilişkisi henüz belirlenmemiştir (Daimon ve ark. 1998).

1.2.5.Türlere Göre Seruloplazmin Düzeyleri

Seruloplazmin konsantrasyonları türlere göre farklılıklar gösterir. En yüksek Cp konsantrasyonu domuzlarda daha sonra sırasıyla insan, sığan, koyun, sığır, köpek ve kanatlılarda görülür (Evans ve Wiederanders, 1967).

Serum Cp düzeylerini Kang ve ark (2001); yetişkin insanlarda 30- 44 mg/dl, Kincaid ve White (1988); kuzularda 15,1 mg/dl, Kodama ve ark (1998); sekiz haftalık dişi Long Evans Agouti ratlarda 21,3- 35,1 mg/dl olarak bildirmektedirler.

Başpınar (1989), koyunlarda gebelik ve postpartum ilk ayda Cp düzeylerinin yüksek seyrettiğini, aynı şekilde Burrows ve ark (1971), insanlarda gebeliğin başlamasıyla Cp düzeylerinin yükseldiğini, gebeliğin 22. haftasında pik yapan düzeylerin daha sonra hafifçe düşme göstererek doğuma yakın dönemde tekrar yükseldiğini bildirmektedirler.

1.3. Boron

İlk olarak 1808 de keşfedilen, atom numarası 5 olan boron, yarı metal ve yarı iletken olup III A grubunun metal olmayan tek elementidir (Nielsen 1988).

Periyodik tabloda 5. element olan boron, genellikle toprak, taş ve okyanus yüzeylerinde inorganik borat ve borik asit formunda doğal olarak bulunur (Woods 1994). Borik asitin farmokinetiği; emilim, dağılım ve metabolizması insalarda ve ratlarda benzerdir (Jansen ve ark. 1984).

Boron doğal olarak bulunan katı bir maddedir. Genellikle yalnız bulunmaz, Borat adı verilen formu ve diğer maddelerle kombine bulunur. Yaygın bulunan borat bileşikleri; borik asit, borat tuzları ve borik oksittir. Boron ve borat tuzları tehlikeli atık alanlarında bulunur. Boron tek başına suda çözünmez, kolay buharlaşmaz ve çift bağlı makromoleküllere eğilim gösterir. Gıdalarda borik asit, sodyum borat olarak bulunur ve sindirim sisteminde çok iyi emilir (Nielsen 1988).

1.3.1. Boron Metabolizması ve Fonksiyonları

Boron oral alındıktan sonra bağırsaklardan tamamen absorbe olduğu, emilimi takiben en fazla kemiklerde yoğunlaştığı, ancak herhangi bir dokuda birikmediği (Vaziri ve ark. 2001), toksik dozlarda ise karaciğer ve beyin dokusunda 2000 ppm'e kadar yükseldiği bildirilmektedir (Moseman 1994).

Avakado, amerikan fıstığı, pekan cevizi, üzüm, kuru üzüm ve şarap gibi gıdalar boron yönünden zengin olmasına karşın, süt ürünleri ve et fakirdir (Gropper ve ark. 2004).

Okyanuslar boron yönünden zengindir (Bassett 1990). Siyona bakterilerin azot bağlamak için borona ihtiyaç duydukları gösterilmiştir (Bonilla ve ark. 1990). Ca^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , K^+ ya da vitamin D yönünden yetersiz beslenmeler, nutrisyonel stres gibi etki ederek boron gibi geçiş elementlerinin yanıtını artırmaktadır (Nielsen 1996).

İnsanlarda günlük boron alımı diyetle 2 mg düzeylerinde, günlük alınması gereken ortalama doz ise 3- 9 mg olarak bildirilmektedir (Naghii ve Samman 1996). Organizmaya alınan fazla boron başlıca idrar olmak üzere safra, ter ve solunum havasıyla atılır (Zittle 1951).

Oral yolla alınan boronun yarılanma ömrü, insanlarda yaklaşık 21 saat (Murray 1998), ratlarda ise 5,23 mg/kg boronun plazma yarılanma ömrü 3 saat olarak bildirilmiştir. Alınan boron miktarının artmasıyla idrar boron düzeyleri yükselmekte

bu sebeple boronun başlıca atılım yerinin böbrekler olduğu ileri sürülmektedir (Vaziri ve ark. 2001).

Boron hidroksil grubu taşıyan şekerler, polisakkaritler, adenozin 5 fosfat, pridoksin, riboflavin, dehidroaskorbik asit, piridin nükleotidleri, fosfoinozotidler, glikoproteinler, glikolipitler ve cis-hidroksil grubu bulunan organik bileşiklerle kompleksler oluşturmaktadır (Bolanos ve ark. 2004). Ayrıca vitamin D, Ca, P ve bakırın boronla etkileşimi bulunmakta, boronun hidroksilasyon reaksiyonlarını başlatarak steroid hormonlarla da etkileşime girdiği iddia edilmektedir (Nielsen ve ark. 1987, Nielsen 1994, Meacham ve ark. 1994).

Yeterince Mg^{2+} veya Cu^{2+} içeren diyetle alınan boron, insanlarda kan glikoz, steroid hormon, hemoglobin ve trombosit sayısında anlamlı değişimlere (Nielsen ve ark. 1987, Nielsen 1994), kuşlarda (Hunt 1989) ve ratlarda (Dupre ve ark. 1994) vitamin D ve kalsiyum eksikliği semptomlarının azalmasına yol açar. Köpeklerde 44 mg boraks halinde boron, packet hücrelerinde ve hemoglobin değerlerinde azalmaya yol açmıştır (Weir ve Fisher 1972). Boron beyaz kan hücrelerinin iflamasyon aktivitelerinin neden olduğu serin proteaz salınımını, leukotriene sentezini, akyuvarları ve T-hücrelerini baskılayarak anti-inflamatuvar etki de gösterebilir (Hunt 1998). Ayrıca normal dozlarda boronun gökkuşağı balıklarının büyümesini uyardığı iddia edilmektedir (Eckhert 1998).

Boronun öncelikle enerji metabolizmasıyla ilgili olmak üzere 26 enzimin aktivitesinde etkili olduğu ileri sürülmektedir (Hunt 1998). İnsanlarda boron ilavesi bakır ve bakıra bağımlı enzimlerin seviyelerini etkiler. Diyetle 0,25 mg B/2000 kcal/gün düşük boronla 63 gün süreyle beslenen 45 yaş üstü 5 erkek ve menapoz sonrası östrojen tedavisi gören 5 kadında eritrosit süperoksit dismutaz, serum seruloplazmin ve plazma bakırının yükseldiği (Nielsen 1994), menapoz sonrası boron ilavesinin östrojen ve testosteron konsantrasyonlarını artırdığı bildirilmektedir (Nielsen ve ark 1987).

Bor ilavesi tibial kemik mineralizasyonunu artırarak piliçlerde tibial dyschondroplasia' yı (gövdenin normal fakat kol ve bacakların normalden kısa olması) azaltır (Edwards 1987). Kurtoğlu ve ark. (2005), piliçlerde ortoborik asitin, tibia boron ve kalsiyum düzeylerini doza bağlı olarak artırdığını gözlemlemişlerdir.

Ratlarda rasyonla alınan boronun; kardiyak bakır, kalsiyum, manganez, molibdenum ve fosfor konsantrasyonlarını etkilediği (Hunt ve Herbel 1992a), ancak

domuzlarda kemik çinko, bakır, magnezyum, fosfor, kalsiyum konsantrasyonlarına bir etkisi olmadığı ileri sürülmüştür (Armstrong ve ark. 2000).

Reaktif oksijen radikallerinin zararlarına karşı süperoksit dismutaz ve seruloplazmin enzimleri koruyucu etki gösterirler. Boron alımı eritrosit süperoksit dismutaz enzim düzeylerinde önemli düşmelere yol açar (Nielsen 1994).

Boron ilavesinin plazma insülin, glukoz, lipid ve koagulasyon faktörlerine önemli bir etkisi görülmezken (Wallece ve ark. 2002), boron eksikliği tavuklarda insülin salınımını (Hunt 1998, Nielsen 2000), piruvat konsantrasyonlarını artırır ve trigliserid konsantrasyonlarını düşürür (Hunt ve Herbel 1991–1992b).

1.3.2. Boron Toksikitesi

Hayvanlarda 100 ppm'den fazla boronun toksik olduğu bildirilmektedir (Mastromatteo ve Sullivan 1994). İçme suyuyla günde yaklaşık 20,8 ppm boron verilen ratlarda, 10 ve 14 hafta sonra karaciğer NADPH- cytochrome C indirgenme aktivitesi ve cytochrome B içeriği azalmıştır (Settimi ve ark. 1982).

Weir ve Fisher (1972); 2,6; 8,8; 26,3; 87,5 ve 263 mg boron/kg ağırlık dozda 90 gün borik asit verilen Sprague Dawley ratların 263 mg boron/kg ağırlık dozla beslenenlerinin tamamının öldüğünü; 87,5 mg boron/kg ağırlık dozla beslenenlerde; karaciğer, böbrek, dalak, testis, yumurtalık ve vücut ağırlığında düşmeler olduğunu bildirmişlerdir.

İnsanlarda intravenöz yolla verilen 100 mg boron ya da oral yolla verilen 270 mg borik asitin açık toksisite septomları göstermediğinin bildirilmesine karşın (Jansen ve ark. 1984), yenidoğanlarda yanlılıkla borik asit şeklinde 505- 765 mg /kg boronun dokularda sarılığa yol açtığı bildirilmektedir (Wong ve ark. 1964).

İnsanlarda toksik düzeyde boron alınması bulantı, kusma, diyare ve ve sancılı karın ağrısına neden olmaktadır (Linden ve ark. 1986).

Solunum yoluyla alınan boron oksit ve sulu çözeltileri ile borik asitin solunum yolu ve gözde tahrişe neden olduğu ileri sürülmüştür (Garabrant ve ark. 1984).

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Çalışmada 8 haftalık 200 -250 g canlı ağırlıkta erişkin, 45 adet erkek Spraque-Dawley ırkı rat kullanıldı. Ratlar 240- 250 cm³ alanda bir rat olacak şekilde, yonga talaşı altlıklı polikarbonat kafeslerde, 22 ± 3 ° C de 12: 12 saat aydınlık karanlık siklusunda tutularak standart Purina rat yemi (Optima Besin Maddeleri San. Ve Tic. A.Ş.) ve su ile ad libitum beslendi.

Ratlar kontrol, deneme 1 (D1), deneme 2 (D2) olmak üzere 15'erli 3 gruba ayrıldı. Her 3 gruba standart rat yemi (Tablo 2) öğütülerek D1 grubuna 50 ppm, D2 grubuna 100 ppm boron olacak şekilde sodyumtetraborat dekahidrat (Na₂B₄O₇. 10H₂O M=381 379 g/mol Merck A716303 %99,0- 103,0) ilave edilip karıştırıldı ve tekrar pellet haline getirildi. Pelletler 80°C'de etüvde kurutuldu ve ratlara verildi.

Üç aylık deneme süresince 3 haftada bir ratların canlı ağırlıkları tartılıp kuyruk venasından heparinli (sodyum içerikli Nevparin 5000 IU/ml) polietilen tüplere alınan kan örnekleri 3000 g'de 10 dk'da santrifüj edilerek plazmaları çıkarıldı, -20 °C'de saklandı.

Tablo 2.1. Purina standart rat yemi rasyon bileşimi

| YEM MADDESİ | RAT RASYONU % |
|------------------|----------------|
| KURU MADDE | 88 |
| HAM PROTEİN | 23 |
| HAM SELÜLOZ | 5 |
| HAM KÜL | 8 |
| HCL'DE ÇÖZ. KÜL | 1 |
| NaCl | 1 |
| KALSİYUM | 1-1,3 |
| SODYUM | 0,5-0,6 |
| FOSFOR | 0,9 |
| LİZİN | 1,35 |
| METİYONİN | 0,45 |
| SİSTİN | 0,35 |
| VİTAMİN A | 15.000 İ.Ü./kg |
| VİTAMİN D3 | 3.300 İ.Ü./kg |
| VİTAMİN E | 40 mg/kg |
| VİTAMİN B2 | 5mg/kg |
| VİTAMİN B12 | 20 mcg/Kg |
| VİTAMİN K3 | 5 mg/kg |
| METABOLİK ENERJİ | 3100Kcal/kg |

2.2. Metot

2.2.1. Plazma Seruloplazmin Analizi

2.2.1.1. İlke

Optimum pH ve ısı koşullarında asetat tamponunda hazırlanan P-fenilen diammin diklorid (PPD) plazma örnekleri ile inkube edildiğinde oluşan renkli ürünün absorbansı spektrometrede 546 nm'de okundu ve okunan absorbanstan Cp konsantrasyonları Colombo ve Richerich (1964)'in formülüne göre hesaplandı.

2.2.1.2. Ayıraçlar

Substrat Çözeltisi: 144 mg p-fenilen daimin diklorid, PPD (Merck N394597 608 M= 181,07 g/mol saflık \geq % 99,0) 100 ml asetat tamponunda çözüldü (7.95 mM). Çözeltinin pH'sı 0,1 N sodyum hidroksit ile 5,6'ya ayarlandı. Işığa karşı duyarlı olan çözelti her seride taze olarak hazırlandı ve kullanıldı.

Asetat Tamponu 0,43 M, pH 5,6: 1,34 ml glasiyel asetik asit (CH_3COOH Merck K36232556 625 Saflık % 99,8- 100,5) ve 26,49 g sodyum asetat (Merck 6267) 1 litrelik balon jöjeye alınarak bir miktar distile suda çözüldü, balon içeriği distile su ile litreye tamamlandı.

Sodyum Azid Çözeltisi: 3 g Sodyum azid (NaN_3 , SİGMA Lot 112K0982 saflık % 99,5) 100 ml'lik balon jöjeye alındı, bir miktar distile su ile çözüldü, balon içeriği distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve oda ısısında saklandı.

2.2.1.3. Teknik

Analizler 10 örneklik seriler halinde yapıldı. Alınan plazma örneklerinden hemoliz ve bulanıklık göstermeyenler seçilerek Cp analizlerinde kullanıldı.

Bir tüp sporuna 10 adet test tüpü ve karşılıklarına aynı sayıda kör olarak kullanmak amacıyla tüpler yerleştirildi. Tüm test ve kör tüplerine taze olarak hazırlanmış substrat çözeltisinden 1'er ml konuldu. Kör tüplerine 200'er μl sodyum azid çözeltisi ilave edilerek tüpler iyice karıştırıldı.

Her plazma örneğinden kendisine ait test ve kör tüplerine 20'şer μl eklendi ve iyice karıştırılan tüpler kapakları kapatılarak 37°C 'deki su banyosunda 15 dk inkubasyona bırakıldılar.

İnkubasyon sonunda test tüplerine sıra ile 200'er μl sodyum azid çözeltisi eklendi ve tüpler iyice karıştırıldı. Test ve kör tüplerindeki karışımların absorbansları spektrofotometrede distile suya karşı 546 nm'de ölçüldü.

2.2.1.4. Hesabı

Seruloplazmin (mg/dl) = (Testin Absorbansı – Körün Absorbansı) x 237

2.2.2.Bakır Analizi

2.2.2.1. Stok Bakır Standartları

a. Stok standartı 1: Ticari olarak kullanılan High-Purity standards CAT. No. 100014- 1, % 2'lik HNO₃ 'de hazırlanmış 1000µg/ml bakır standartları kullanıldı. Bu stok standarttan çalışma stok standart çözeltileri aşağıdaki gibi hazırlandı.

b. Stok standart 2: 100 mg/kg

5 ml stok standart 1'den alındı, bidistile su ile 50 ml'ye tamamlandı.

2.2.2.2. Bakır çalışma standartları

a. Standart 1: 0,03 mg/kg

0,03 ml stok standart 2'den alındı, bidistile su ile 100ml'ye tamamlandı.

b. Standart 2: 0,05 mg/kg

0,05 ml stok standart 2'den alındı, bidistile su ile 100ml'ye tamamlandı

c. Standartları 3: 0,1 mg/kg

0,1 ml Stok Standart 2'den alındı, bidistile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

d. Standart 4: 0.2 mg/kg

0,2 ml stok standart 2'den alındı, bidistile su ile 100ml'ye tamamlandı.

e. Standartları 5: 0,4 mg/kg

0,4 ml Stok Standart 2'den alındı, bidistile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

f. Standart 6: 0.8 mg/kg

8 ml stok standart 2'den alındı, bidistile su ile 100ml'ye tamamlandı.

g. Standartları 7: 1,6 mg/kg

1,6 ml Stok Standart 2'den alındı, bidistile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

Plazma örneğinden 0,1 ml alınarak bidistile su ile 10 kat sulandırıldı. Standart ve test örneklerindeki bakır düzeyleri Perkin Elmer AAS 400 (USA) marka Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre cihazında 324,8 nm dalga boyunda ppm olarak ölçüldü, sulandırma katsayılarıyla çarpılarak sonuçlar elde edildi.

2.2.3.İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçların istatistiksel değerlendirmeleri SPSS paket programı kullanılarak; gruplar arası farklar ANOVA ve Duncan testleriyle tesbit edilmiştir.

3. BULGULAR

Çalışmada elde edilen bakır, seruloplazmin düzeyleri ile ilgili sonuçlar tablo 3.1, 3.2 ve grafik 3.1, 3.2 ve canlı ağırlıktaki değişimler tablo 3.3 ve grafik 3.3 de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kontrol ve deneme grupları plazma bakır değerleri

| PARAMETRE | Bakır ($\mu\text{g}/\text{dl}$) | | | | | | p (önem) |
|-----------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------|
| | GRUPLAR | N | BAŞLANGIÇ X \pm Sx | 2.ÖRNEK X \pm Sx | 3.ÖRNEK X \pm Sx | 4.ÖRNEK X \pm Sx | |
| KONTROL | 12 | 124,2 \pm 0,006a x | 85,2 \pm 0,006bc | 93,9 \pm 0,005bc | 74,4 \pm 0,05c | 95,3 \pm 0,003b | *** |
| DENEME 1 | 12 | 97,9 \pm 0,006a y | 93 \pm 0,003a | 92,8 \pm 0,003a | 63,8 \pm 0,002b | 90,2 \pm 0,005a | *** |
| DENEME 2 | 12 | 87,8 \pm 0,005b y | 127,8 \pm 0,012a | 88,3 \pm 0,004b | 76 \pm 0,005b | 91,9 \pm 0,004b | *** |
| p(önem) | | * | - | - | - | - | |

*** : p<0.001

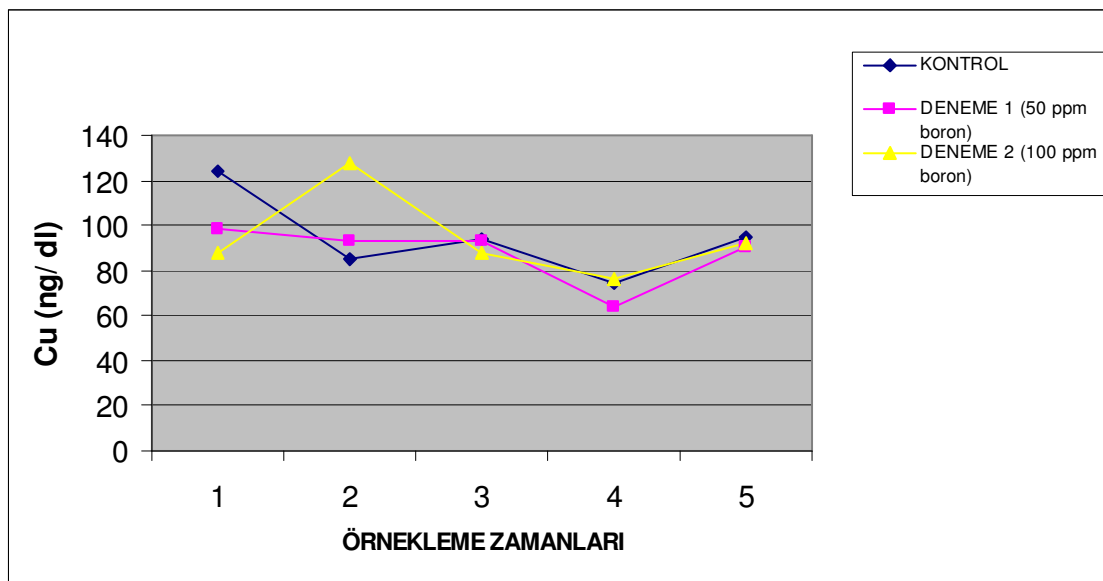
* : p<0.05

- : Önemsiz

a, b, c: Aynı satırda farklı harfler birbirinden istatistiki açıdan önemlidir.

x, y: Aynı sütunda farklı harfler birbirinden istatistiki açıdan önemlidir.

Grafik 3.1. Kontrol ve deneme grupları plazma bakır değerleri



Tablo 3.2. Kontrol ve deneme grupları plazma seruloplazmin değerleri

| PARAMETRE | Seruloplazmin (mg/dl) | | | | | | p (önem) |
|-----------|-----------------------|---------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------|
| | GRUPLAR | N | BAŞLANGIÇ X±Sx | 2.ÖRNEK X±Sx | 3.ÖRNEK X±Sx | 4.ÖRNEK X±Sx | |
| KONTROL | 12 | 68,5523±5,04a | 65,3725±4,26ab | 61,8965±4,07ab | 43,3315±4,22 c | 55,2013±2,41b | *** |
| DENEME 1 | 12 | 57,196±5,61a | 52,614±3,96ab | 49,7305±2,62ab | 45,1683±3,84ab | 42,7785±3,07b | * |
| DENEME 2 | 12 | 59,487±3,32ab | 67,071±8,81a | 51,7648±3,36bc | 36,972±3,51c | 44,9115±4,1bc | ** |
| p (önem) | | - | - | * | - | * | |

*** : p<0.001

** : p=0.001

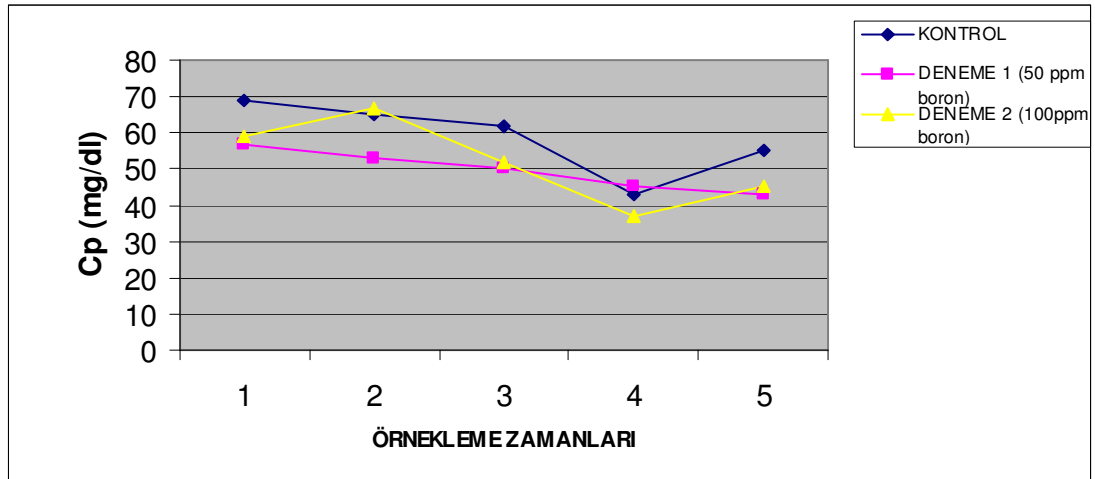
* : p<0.05

- : Önemsiz

a, b, c: Aynı satırda farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir.

x, y: Aynı sütunda farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir.

Grafik 3.2. Kontrol ve deneme grupları plazma seruloplazmin değerleri



Tablo 3.3. Kontrol ve deneme grupları canlı ağırlık değerleri

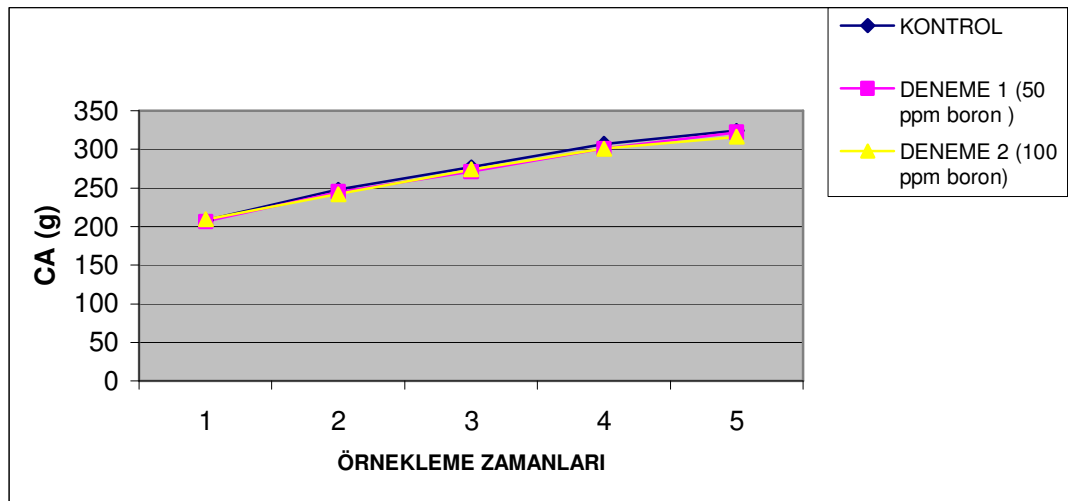
| PARAMETRE | Canlı Ağırlık (g) | | | | | | |
|-----------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------|
| GRUPLAR | N | BAŞLANGIÇ X±Sx | 2.ÖRNEK X±Sx | 3.ÖRNEK X±Sx | 4.ÖRNEK X±Sx | 5.ÖRNEK X±Sx | P (önem) |
| KONTROL | 12 | 207,67±5,10a | 248,25±3,44 b | 276,50±3,03c | 306,75±4,35 d | 324,4167±5,2 e | *** |
| DENEME 1 | 12 | 206,17±4,48a | 245,42±4,42b | 270,67±6,4c | 300,58±6,94d | 322,83±10,48e | *** |
| DENEME 2 | 12 | 208,83±5,27b | 242,42±5,29b | 273,92±5,68b | 301,25±6,06 a | 315,83±4,71 a | *** |

*** : $p < 0.001$

- : Önemsiz

a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir.

Grafik 3.3. Kontrol ve deneme grupları canlı ağırlık değerleri



4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, rasyonla 50- 100 ppm boron verilen erkek Sprague–Dawley ratlarda boronun plazma bakır, seruloplazmin düzeylerine ve canlı ağırlık artışına etkileri incelendi.

Bitkiler ve hayvanlarda büyüme için gerekli olduğu bilinen boronun yüksek dozları toksisiteye neden olur. Weir ve Fisher (1972), günlük; 2,6; 8,8; 26,3; 87,5 ve 263 mg boron/kg canlı ağırlık olacak şekilde 90 gün boyunca boraks ve borik asit içeren diyetle beslenen Sprague Dawley ırkı ratlarda yaptıkları araştırma sonucunda; 263 mg boron/kg canlı ağırlık dozla beslenen ratların tamamının öldüğünü 87,5 mg boron/kg canlı ağırlık olacak şekilde beslenen ratlarda; vücut ağırlığında düşmeler olduğunu bildirmişlerdir. Günlük 5,9; 17,5 ve 58,5 mg boron/kg canlı ağırlık ile beslenen otuz beş Sprague Dawley rat iki yıl süreyle borik asit ve boraks içeren diyetle beslenmiş; 58,5 mg boron/kg canlı ağırlık doz diyetle beslenen ratlarda büyüme geriliği gözlemlemişlerdir. Yedi erkek, 6 dişi Sprague Dawley ratları 5,9; 17,5 ve 58,5 mg kg /canlı ağırlık gün boron olacak şekilde boraks veya borik asit içeren diyetle beslenmede düşük ve orta doz gruplarda hiçbir toksik etki gözlenmezken yüksek doz verilen erkeklerde spermatozoid hareketlerinin azlığı ve ovülasyonda düşmeyle ilgili olarak kısırlıklar görülmüştür.

Heindel ve ark. (1992), 13,6; 28,5; 57,7; 94,2 mg / kg canlı ağırlık/ gün boron olacak şekilde borik asit içeren diyetle beslenen gebe Sprague Dawley ratlarda, gebelik boyunca yüksek dozla (57,7- 94,2 mg / kg canlı ağırlık/ gün) beslenenlerde canlı ağırlık artışında düşme olduğunu bildirmektedirler.

Armstrong ve ark. (2000) 21 günlük erkek ve dişi domuz yavrularında yapılan çalışmada 5- 15 mg/kg diyet (5- 15 ppm) boronun canlı ağırlık artışını etkilemediğini gözlemlemişlerdir.

Sunulan çalışma canlı ağırlıklardaki değişim yönünden incelendiğinde (tablo 3.3, grafik 3.3) kontrol grubunda başlangıç canlı ağırlıkları $207,67 \pm 5,1$ g'dan $324,42 \pm 5,2$ g'a (fark 116,75 g), deneme 1'de $206,17 \pm 4,5$ g'dan $322,83 \pm 10,5$ g' a (fark 116,66 g), deneme 2'de $208,83 \pm 5,3$ g'dan $315 \pm 4,7$ g'a (fark 107 g) yükselmiştir. Deneme sonunda canlı ağırlık artışları arasındaki farklılık önemsiz olmakla birlikte boron düzeyleriyle ilişkili olarak düşmüştür. Bu sonuçlar diğer araştırmacıların; domuzlarda (Amstrong ve ark 2000) ve Sprague Dawley ratlarda (Weir ve Fisher 1972, Heindel ve ark 1992) yaptıkları çalışmalarla uyumlu bulunmaktadır.

Ratlarda ve diğer hayvanlarda boronun plazma bakır ve seruloplazmin düzeylerine etkileriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır.

İnsanlarda serum bakır düzeyi (10- 25µmol/L) 100- 200 µg /dl iken (Grand ve ark. 1996), hayvanlarda 50- 150 µg/dl (Keen ve Graham 1989), 215–230 g olan dişi Sprague–Dawley rat plazmasında 125 µg/dl (Adams ve ark. 2005), 120- 145 g olan erkek Sprague–Dawley rat serumunda 70 ± 20 µg/dl (Saito ve ark 2002), sekiz haftalık dişi Long Evans Agouti rat serumunda 100- 173 µg/dl (Kodama ve ark. 1998), 200-250 g dişi Wistar albino ratlarda ise plazma bakır düzeyi $119 \pm 0,10$ µg/dl (Toplan ve ark 2003), olarak belirtilmektedir.

Hunt ve ark. (1997) 0,36- 3,23 mg / gün boronun serum Mg konsantrasyonlarını düşürdüğünü, Armstrong ve ark. (2000) domuz yavrularında 5- 15 ppm diyetle alınan boronun plazma Ca, Mg, P konsantrasyonlarını etkilemediğini, Kurtoğlu ve ark. (2005), broiler piliçlerinde 5- 25 ppm boron etken maddesi olacak şekilde rasyona katılan orthoborik asitin dozla ilişkili olarak plazma boron düzeylerini yükseltirken, bakır düzeylerini de artırdığını, buna karşın tibia bakır düzeylerinin değişmediğini bildirmektedirler.

Boronun etkileri cinsiyete göre farklılıklar gösterebilir. Naghi ve Samman (1997), yetişkin erkeklerde 10 mg/gün boronun plazma östrodiol ve testesteron seviyelerini; Nielsen ve Penland (1999), bayanlarda 2,5 mg/gün boronun plazma östrodiol düzeylerini artırdığını belirlemişlerdir.

Nielsen ve ark. (1987), 48- 82 yaşları arasında 13 menapoz sonrası kadında diyetle alınan 3,25 mg/kg gün boronun 17β -östrodiol ve testesteron düzeylerini artırarak, üriner Ca, Mg, P atılımını azalttığını belirleyerek boronun osteoporozda etkili olabileceğini ileri sürmektedirler.

Nielsen (1994), menapoz sonrası kadınlarda boronun, total plazma Ca konsantrasyonlarını azalttığını östrojen alımının serum immunoreaktif seruloplazmin ve eritrosit süperoksit dismutaz düzeylerini artırdığı, artışın boron alanlarda daha yüksek olduğu, östrojen almayanlarda herhangi bir etkisinin olmadığını, boronun östrojen absorpsiyonunu artırarak veya yıkılım ve atılımını azaltarak serum 17β -östrodiol seviyesini artırdığı, östrojenin de plazma bakır seviyesinde artışa yol açtığı bildirilmektedir.

Hunt ve Herbel (1991- 1992a), STZ ratlarda diyetle alınan boronun (0,06 mg B/kg) kardiyak boron konsantrasyonlarını etkilemediğini ancak kardiyak bakır,

kalsiyum, manganez, molibdenum ve fosfor konsantrasyonlarını etkilediğini ileri sürmüşlerdir.

Huel ve ark. (2004), fazla miktarda borona maruz kalan hamile annelerden (n=197) doğumda plasental dokuda ve göbek kordonu kanında boron seviyesinin normalin üç katı olduğu bakırlı bir enzim olan δ - Amino Levülinik Asit Dehidrataz (ALA-D) düzeylerinin önemli oranda düştüğünü; kan boron seviyesi ile ALA-D düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar bir Lewis asidi olan boronun, hidroksil grubu taşıyan organik moleküllerle kompleks yaparak ALA-D'yi inhibe edici etkisiyle açıklanmaktadır.

Nielsen (1994) insanlarda boron alımının bakırlı bir enzim olan eritrosit süperoksit dismutaz düzeylerinde önemli düşmelere yol açtığını ileri sürmektedir.

Plazma ve serum Cp düzeyleri türlere göre farklıdır. Plazma Cp düzeylerini Adams ve ark (2005); 215–230 g dişi Sprague–Dawley ratlarda 25,5 mg/dl, Ramesh ve Pugalendi (2006); 180-200 g erkek Wistar albino ratların EDTA'lı örneklerinde $20,54 \pm 2,11$ mg/dl, Prakasam ve ark (2003); 140- 160 g erkek Wistar albino ratlarda $23 \pm 4,3$ mg/dl, Tran ve ark (2002); 238 ± 35 g olan erkek ve dişi Sprague–Dawley ratlarda yaptıkları çalışmada; erkeklerde $16,3 \pm 15$ mg/dl, dişilerde $20,6 \pm 18$ mg/dl, serum Cp düzeylerini ise Kang ve ark (2001); yetişkin insanlarda 30- 44 mg/dl, Kincaid ve White (1988); kuzularda 15,1 mg/dl, Kodama ve ark (1998); sekiz haftalık dişi Long Evans Agouti ratlarda 21,3- 35,1 mg/dl olarak bildirmektedirler.

Sunulan çalışmada plazma bakır düzeyleri (tablo 3.1, grafik 3.1) $63,8 \pm 0,002$ ile $127,8 \pm 0,012$ $\mu\text{g} / \text{dl}$ olarak belirlenen değerleri yukarıda verilen literatür bilgileriyle uyumludur. Plazma bakır düzeyleri örnekleme zamanlarına göre önemli ($P < 0,001$) düzeyde farklılıklar göstermesine karşın gruplar arası fark önemsiz bulunmuştur. Bu sonuçlar Nielsen (1994)'in menapoz sonrası bayanlarda boronun östrojen üzerinden bakır düzeylerinde gözlemlendiği artışla ve Kurtoğlu ve arkadaşlarının (2005) piliçlerdeki bulgularıyla uyumlu değildir. Farklılık tür ve cinsiyetten kaynaklanabilir.

Çalışmada plazma Cp düzeyleri 36- 68 mg/dl (tablo 3.2, grafik 3.2) olarak tesbit edildi. Plazma seruloplazmin düzeyleri araştırmacıların bildirdikleri düzeylerden yüksek bulunmuştur. Bu yükseklik Cp analizinde serum yerine heparinli plazma örneklerinin kullanılmasından ileri gelebilir.

Sunulan çalışmada kontrol ve deneme 2 grubuna ait Cp düzeyleri 4. örneklere kadar düşmüş fakat 5. örneklerde tekrar yükselmiş buna karşın deneme 1 grubunda

başlangıçtan itibaren azalma göstermektedir. Her üç grupta da 5. örnek Cp düzeyleri başlangıç düzeylerine göre önemli oranda azalmış ancak deneme 1 ve deneme 2 gruplarındaki düşmeler kontrol grubuna göre önemli ($P<0,05$) düzeyde düşük bulunmuştur (tablo 3.2, grafik 3.2).

Deneme gruplarında Cp düzeylerindeki düşüşün insanlarda bakırlı enzimlerden olan ALA-D (Huel ve ark. 2004) ve eritrosit süperoksit dismutaz enzim (Nielsen 1994) düzeylerinin boronla ilişkili olarak düşmesi bulgularıyla uyumludur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak ratlarda rasyonla alınan 50- 100 ppm boronun plazma bakır düzeylerini etkilemeksizin Cp düzeylerini ve canlı ağırlık kazancını düşürdüğü; bu sebeple boronun, Cp sentezini azaltarak ya da Cp'nin yapısına bakırın bağlanmasını engelleyerek etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu konu üzerinde yapılacak benzer çalışmalarda kan boron seviyelerine de bakılması, aynı zamanda çalışmanın üç ay yerine altı ay yapılması önerilmektedir.

6. ÖZET

T.C

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Boronun Kan Bakır ve Seruloplazmin Düzeylerine Etkileri

Pınar BULUZ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA- 2008

Bu çalışmada; rasyona katılan boronun plazma bakır ve seruloplazmin düzeylerine etkileri araştırıldı.

Çalışmada 8 haftalık 200 -250 g canlı ağırlıkta erişkin, 45 adet erkek Sprague-Dawley ırkı rat kullanıldı. Ratlar 240- 250 cm³ alanda bir rat olacak şekilde, yonga talaşı altlıklı polikarbonat kafeslerde, 22 ± 3 ° C de 12: 12 saat aydınlık karanlık siklusunda tutularak standart rat yemi ve su ile ad libitum beslendi.

Ratlar kontrol, deneme 1 (D1), deneme 2 (D2) olmak üzere 15'erli 3 gruba ayrıldı. Her 3 gruba standart rat yemi öğütülerek D1 grubuna 50 ppm, D2 grubuna 100 ppm boron olacak şekilde sodyumtetraborax ilave edilip karıştırıldı ve tekrar pellet haline getirildi. Pelletler 80°C'de etüvde kurutuldu ve ratlara verildi.

Üç aylık deneme süresince 3 haftada bir ratların canlı ağırlıkları tartılıp kuyruk venasından heparinli polietilen tüplere alınan kan örneklerinde plazma seruloplazmin ve bakır analizleri yapıldı.

Çalışmada kontrol ve deneme grupları plazma bakır konsantrasyonlarının zamanla değiştiği (P<0,001), ancak gruplar arası farkın önemsiz (P=0,159) olduğu belirlenmiştir.

Örnekleme zamanına göre seruloplazmin düzeylerindeki değişimler, bakır düzeylerindeki değişimlerle paralellik göstermekle beraber deneme grupları plazma seruloplazmin düzeyleri kontrole göre daha düşük olup, gruplar arası fark önemli (P<0,05) bulunmuştur.

Sonuç olarak; boronun plazma bakır düzeylerini etkilemeksizin seruloplazmin düzeylerini düşürdüğü; bu sebeple boronun, Cp sentezini azaltarak ya da Cp'nin yapısına bakırın bağlanmasını engelleyerek etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Boron; Seruloplazmin; Bakır

7. SUMMARY

T.C

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Effects of boron on plasma copper and ceruloplasmin levels

Pınar BULUZ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA- 2008

In this study, effects of boron supplementation of diet on plasma copper and ceruloplasmin levels were investigated.

Male Sprague-Dawley (n=45, 200- 250 g) rats eight weeks old were used. They were maintained in a temperature-controlled room ($22^{\circ}\text{C} \pm 3$) in polycarbonate cages on a 12- h light- dark cycle. Food (Purina rat chow) and water was provided ad libitum.

Rats were divided into 3 groups as Control, Experimental 1(E1) and Experimental 2 (E2), including 15 animals in each. Fifty (E1) and 100 ppm (E2) boron was added daily into the ration for 3 months.

Blood samples were collected from the tail vein once with a 3 weeks interval and transferred into heparinized tubes for the estimation of ceruloplasmin and copper levels. Body weight of each rat was also recorded at the same time points.

Plasma copper levels in Control and Experimental groups changed significantly by time ($P < 0,001$), but the difference between groups were not significantly different ($P = 0,159$).

Variation in the plasma ceruloplasmin levels during the study was in correlation the plasma copper levels whereas plasma ceruloplasmin levels in group E 1 and E2 were lower ($P < 0,05$) compared to the control group.

It was concluded that, boron might reduce plasma ceruloplasmin levels without any effect on copper, probably by decreasing synthesis of ceruloplasmin or preventing the copper content of ceruloplasmin.

Key Words: Boron, Ceruloplasmin, Copper

8. KAYNAKLAR

1. Adams JY, Rucker RB, Commisso JF, Keen CL. *Diabetes and dietary copper alter Cu metabolism and oxidant defense in the rat.* Journal of Nutritional Biochemistry (2005)16, 312– 320.
2. Ahasan HA, Chowdhury MAJ, Azhar MA, et al *Copper sulphate poisoning.* Trop Doct. (1994), 24(2):52- 53.
3. Akintonwa A, Mabadeje AFB, Odutola TA. *Fatal poisonings by copper sulfate ingested from "spiritual water".* Vet Hum Toxicol (1989). 31(5):453- 454.
4. Armstrong Todd A, Jerry W. Spears, Thomas D. Crenshaw and Forrest H. Nielsen. *Boron supplementation of a semipurified diet for weanling pigs improves feed efficiency and bone strength characteristics and alters plasma lipid metabolites.* j.Nutr. (2000) 139: 2575-2581.
5. Aouffen M, Paquin J, De Grandpré E, Nadeau R. And Mateescu MA. *Deglycosylated ceruloplasmin maintains its enzymatic, antioxidant, cardioprotective, and neuroprotective properties.* Biochem. Cell Biol. (2001) 79, 489- 497.
6. Askergren A, Mellgren M. *Changes in the nasal mucosa after exposure to copper salt dust. A preliminary report.* Scand J Work Environ Health (1975) 1: 45- 49.
7. Barness LA, Curran SJ. In: Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM, eds *Nelson Textbook of Pediatrics.* 115th ed. Philadelphia: WB Saunders; (1996) 141- 84. 3.
8. Bassett RL. *A critical evaluation of the available measurements for the stable isotopes of boron.* Appl. Geochem. (1990) 5,541–554.
9. Başpınar N. *Gebe Koyunlarda Vitamin C, Seruloplazmin, Glikoz ve Hemoglobin Değerlerinin Postpartum İlk Aya Kadar Değişimleri ve Bu Parametreler Arasındaki İlişkiler.* Doktora Tezi. S.Ü. Sağ. Bil. Enst. Konya. (1989)
10. Batu A. *Kedi ve Köpek Hastalıkları ve Beslenmeleri.* Ogun Kardesler Matbaacılık San. AS, Ankara. p (1990) 156- 217.
11. Belch JJ, Chopra M, Hutchison S, Lorimer R, Sturrock RD, Forbes CD, Smith WE. *Free radical pathology in chronic arterial disease.* Free Radic. Biol. Med. (1989) 6, 375- 8.
12. Bergstrom RF, Kay DR, Harkcom TM, Wagner JG. *Penicillamine kinetics in normal subjects.* Clin Pharmacol Ther; (1981), 30: 404- 13.
13. Bianchini A, Musci G, and Calabrese L. *Inhibition of endothelial nitric-oxidesynthase by ceruloplasmin.* J. Biol. Chem, (1999) 274: 20265–20270,
14. Bolanos L, Lukaszewski, Bonilla I, Blevins D *Why Boron?* Plant physiologyand Biochemistry (2004),42, 907- 912.
15. Bonilla I, Garcia-Gomez, M. and Mateo P. *Boron requirement in cyanobacteria. Its possible role in the early evolution of photosynthetic organisms.* Plant Physiol. (1990). 94, 1554–1560.
16. Bremmer I. *The toxicity of cadmiyum, zinc and molybdenum and their effects on copper metabolism.* Pro Nutr Soc (1979) 38: 325.
17. Brewer GJ, Dick RD, Johnson VD, Fink JK, Kluin KJ, Daniels S *Treatment of Wilson's disease with zinc XVI: treatment during the pediatric years.* J Lab Clin Med; (2001) 137:191- 8.
18. Britton RS. *Metal induced hepatotoxicity.* Semin Liver Dis; (1996) 16: 3- 12.
19. Burrows S, Pekala B. *Serum Copper and Ceruloplasmin in Pregnancy.* Am. J. Obstet. Gynec; (1971) 109, 907- 909.
20. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Edition.* Chapter 20, (1999), 477- 507. W.B. Sounders Company.
21. Bustamente J, Martin Mateo MC, Fernandez J, de Quiros, B, Ortiz Manchado O *Zinc, copper and ceruloplasmin in arteriosclerosis.* Biomedicine (1976) 25, 244- 5.
22. Cappelli-Bigazzi M, Ambrosio G, Musci G, Battaglia C, Bonaccorsi di Pati M C, Golino P, Ragni M, Chiariello M, and Calabrese L *Ceruloplasmin impairs endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta.* Am. J. Physiol, (1997) 273: H2843–H2849.
23. Chan S, Gerson B, Subramaniam S. *The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health.* Clin Lab Med; (1998) 18: 673- 85.
24. Chitkara DK, Pleskow RG, Grand RJ *Wilson disease.* In Walker WA, Durie PR, Hamilton JR, Walker-Smith JA, Watkins JB (eds). *PediatricGastrointestinal Disease. 3th ed.* B.C. Decker Inc. Canada: (2000) 1171- 84.
25. Choi SY, Kwon HY, Kwon OB, Eum WS. and Kang JH (2000) *Fragmentation of human ceruloplasmin induced by hydrogen peroxide.* Biochimie 82, 175- 180.

26. Colombo JP, Richterich R. *Zur bestimmung des caeruloplasmin im plasma*, Schweiz Med Wschr, (1964) 94, 715- 720.
27. Cousins RJ. *Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin*. Physiol Rev; (1985) 65: 238- 309.
28. Cunningham J, Leffell M, Mearkle P, Harmatz P) *Elevated plasma ceruloplasmin in insulindependent diabetes mellitus: evidence for increased oxidative stress as a variable complication*. Metabolism (1995) 44, 996–999.
29. Daimon M, Susa S, Yamatani K, et al *Hyperglycemia is a factor for an increase in serum ceruloplasmin in type 2 diabetes*. Diabetes Care (1998), 21: 1525- 1528.
30. Danks DM. *Intrauterine diagnosis of genetic disorders* .Aust Paediatr J. Jun; (1972) 8(3):128- 30.
31. Danks DM. Disorders of copper transport; in *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, Scriver CR, Beaudet, AL, Sly WS and Vale D (eds.), (1989) pp. 1411- 1431, McGraw Hill, New York, USA.
32. Danks DM. *Copper and liver disease*. Eur J Pediatr; (1991), 150: 142- 8.
33. Danks DM. *Disorders of copper transport*. In Scriver CR, Beaudet AL; Sly WS, et al (eds) : *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. 7. ed. New York, McGraw-Hill, (1996) pp: 2211- 2236.
34. Drummond JG, Aranyi C, Schiff LJ, et al. *Comparative study of various methods used for determining health effects of inhaled sulfates*. Environ Res(1986) 41: 514- 528.
35. Dupre JN, Keenan MJ, Hegsted M and Brudevold AM. *Effects of dietary boron in rats fed a vitamin D deficient diet*. Env. Health Perspect. (1994) 102 (Suppl. 7), 55–58.
36. Eckhert CD. *Boron stimulates embryonic trout growth*. J.Nutr. (1998) 128, 2488–2493.
37. Edwards HM, Jr. *Effects of thiuram, disulfiram, and a trace element mixture on the incidence of tibial dyschondroplasia in chickens*. J. Nutr. (1987), 117:964–969.
38. Eisenger MJ. *Hepatic copper metabolism*. In Zakim D, Boyer TD (eds) : *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. Philedelphia, WB Saunders (1996) pp.554- 563.
39. Eum WS. and Kang JH. *Release of copper ions from the familial amyotrophic lateral sclerosis-associated Cu, Zn, superoxide dismutase mutants*. Mol. Cells (1999) 9, 110- 114.
40. Evans GW, Majors PF, Cornatzer WE. *Induction of ceruloplasmin synthesis by copper*. Biochem Biophys Res Commun (1970) 41(5):1120- 1125.
41. Evans RM ve Wiederanders G, *Blood copper variations among species*. Amer J Physiol, (1967) 213, 1183- 1185.
42. Finelli VN, Boscolo P, Salimei E, et al. *Anemia in men occupationally exposed to low levels of copper*. Heavy Met Environ Int Conf 4th, (1981). 475- 478.
43. Fischer PWF, Giroux A, L'Abbe AR. *Effect of zinc supplementation on copper status in adult man*. Am J. Clin Nutr 40: (1984) 743- 746.
44. Fleming RE, Whitman IP and Gitlin JD. *Induction of ceruloplasmin gene expression in rat lung during inflammation and hyperoxida*. Am. J. Physiol (1991). 260, 68- 74.
45. Floris G, Medda R, Padiglia A, Musci G. *The physiopathological significance of ceruloplasmin. A possible therapeutic approach*. Biochem. Pharmacol. (2000) 60, 1735- 41.
46. Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK *Ceruloplasmin and cardiovascular disease*. Free Rad. Biol. & Med. (2000) 28, 1735- 44.
47. Fox PL, Mukhopadhyay C, Ehrenwald E *Structure, oxidant activity and cardiovascular mechanisms of human ceruloplasmin*. Life Sci. (1995) 56 (21), 1749- 58.
48. Frommer DJ. *Defective biliary excretion of copper in Wilson's disease*. Gut (1974) 15: 125- 129.
49. Frost DV, Olson OE. *The two faces of selenium-can selenophobia be cured?* CRC Crit Rev Toxicol (1972) 1: 467- 514.
50. Gaetke LM, Chow CK. *Copper toxicity, oxidative stres and antioxidant nutrients*. Toxicology; (2003) 189: 147- 163.
51. Ganaraja B, Pavithran P, Ghosh S *Effect of estrogen on plasma ceruloplasmin level in rats exposed to acute stress*. Ind J Med Sci (2004) 58: 150–154.
52. Garabrant DH, Bernstein L, Peters JM, et al. *Respiratory and eye irritation from boron oxide and boric acid dusts*. J Occup Med (1984) 26: 584- 586 .
53. Gitlin JD. *Transcriptional regulation of ceruloplasmin gene expression during inflammation*. J. Biol. Chem. (1988) 263,6281- 6287.
54. Grand RJ, Plaskow RG. *Wilson's disease*. In Walker WA, Durie PR, Hamilton JR, Watkins JB (eds) *Pediatric Gastrointestinal Disease* 2. ed. St. Louis, Mosby. (1996) Pp: 1233- 1246.
55. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. 4th ed. Belmont, CA: Thomson Wadsworth: (2004) 492- 493.
56. Gruys E, Oblowo MJ, Toussaint JM *Diagnosis significanse of major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review*. Vet Bull, (1994) (64) 11: 1009 - 1015.

57. Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF Boron, W. F, Nussberger, S, Gollan, J. L, and Hediger, M. A. *Nature*(1997) **388**,482–488
58. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Oxygen toxicity oxygen radicals transition metals and disease.* Biochem J; (1984) 219: 1- 144.
59. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med. Sep* (1991) 30;91(3C):14S-22S.
60. Hamer CJA, Morrel AG, Scheinberg IH *Physical and Chemical Studies on Ceruloplasmin.* From the Department of Medicine, Albert Einstein College of Medicine, New York, New York (1970) 10461.
61. Harris ED. *Copper transport: an overview.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1991) 196, 130- 140. 33.
62. Harris ZL, Takahashi Y, Miyajima H, Serizawa M, MacGillivray RTA, Gitlin JD. *Aceruloplasminemia: molecular characterization of this disorder of iron metabolism.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995). 92: 2539–2543.
63. Harris ZL, Durlay AP, Man TK, and Gitlin JD *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (1999) 96, 10812–10817.
64. Hawley GG. *The condensed chemical dictionary.* New York, NY: Van Nostrand Reinhold Company. (1981) 273- 274.
65. Haywood S, Trafford J, Loughran M. *Copper toxicosis and tolerance in the rat.* IV. Renal tubular excretion of copper. *Br J Exp Pathol* (1985) 66: 699- 707.
66. Heindel JJ, Price CJ, Field EA, Marr MC, Myers CB, Morrissey RE, Schwetz BA. *Developmental toxicity of boric acid in mice and rats.* *Fundamental And Applied Toxicology* (1992) 18, 266- 277.
67. Hochstein P, Kumar KS, Forman SJ. *Lipid Peroxidation and the cytotoxicity of copper.* *Ann NY Acad Sci;* (1980) 355: 240- 248.
68. Huel G, Yazbeck C, Burnel D, Missy P, Kloppmann W *Environmetal Boron Exposure and Activity of δ - Aminolevulinic Acid Dehydratase (ALA-D) in a Newborn Population.* *Toxicological Science* (2004) 80, 304- 309.
69. Hunt CD. *Dietary boron modified the effects of magnesium and molybdenum on mineral metabolism in the cholecalciferol-deficient chick.* *Biol Trace Elem Res.* Nov (1989) ;22(2):201- 20.
70. Hunt CD, Herbel JL. *Effect of dietary boron and mineral metabolism in the streptozotocin injected, vitamin D3-deprived rat,* *Magnesium Trace Elem.* (1991- 1992a)10(5- 6): 387- 408.
71. Hunt CD, Herbel, J. L. *Boron affects energy metabolism in the streptozotocin-injected, vitamin D3-deprived rat.* *Magnesium Trace Elem.* (1991–1992b) 10: 374–386.
72. Hunt CD, Herbel JL, Nielsen FH *Metabolic responses of postmenapousal women to supplemental dietary boron and aluminum during usual and low magnesium intake: boron, calsium and magnesium absorption and retention and blood mineral concentration.* *Am J Clin Nutr* (1997) 65: 803- 13.
73. Hunt CD *Regulation of enzymatic activity: one possible role of dietary boron in higher animals and humans.* *Biol Trace Elem Res;* (1998), 66: 205- 225).
74. Jansen JA, Schou JS, Aggerback B. *Gastro-intestinal absorption and in vitro release of boric acid from water-emulsifying ointments.* *Food Chem Toxicol* (1984) 22: 49- 53.
75. Jayakumari N, Ambikakumari V, Blaakrishnan KG, Subramonia Iyer K. *Antioxidant status in relation to free radical production during stable and unstable anginal syndromes.* *Atherosclerosis* (1992) 94, 183- 90.
76. Johansson A, Curstedt T, Robertson B, et al. *Lung morphology and phospholipids after experimental inhalation of soluble cadmium, copper, and cobalt.* *Environ Res* (1984) 34: 295 -309.
77. Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik AM, *Biyoelementler, Biyokimya Ders Kitabı, N. Başpınar, (2000) 44- 46, S.Ü. Veteriner Fakültesi Yayinevi Ünitesi. Kampüs L.- Konya.*
78. Kang JH, Kyung Sik Kim, Soo Young Choi, Hyeok Yil Kwon, Moo Ho Won, Tae-Cheon Kang *Protective effects of carnosine, homocarnosine and anserine against peroxy radical-mediated Cu, Zn - superoxide dismutase modification.* *Biochimica et Biophysica Acta* (2001) 1570;89– 96
79. Kang JH, Kim KS, Choi SY, Kwon HY, Won MH. and Kang TC *Protection by carnosine-related dipeptides against hydrogen peroxide-mediated ceruloplasmin modification.* *Mol. Cells* (2002) 13, 107 -112.
80. Keen C L ve Graham TW *Copper In ‘‘Clinical Biochemistry of Domestic Animals’’* Fourth edition, Edited Kaneko JJ, (1989) pp: 776 -795, Academic Pres Inc. New York.

81. Kincaid RL, White CL. *The effects of ammonium tetrathiomolybdate intake on tissue copper and molybdenum in pregnant ewes and lambs.* J Anim Sci. Dec (1988);66(12):3252- 8. Dept. of Anim. Sci, Washington State Univ, Pullman 99164- 6310.
82. Klipstein-Grobusch K, Grobbee DE, Koster JF, Lindemans J, Boeing H, Hofman A, et al. *Serum ceruloplasmin as a coronary risk factor in the elderly: the Rotterdam Study.* Br. J. Nutr. (1999) 81, 139- 44.26. Warren L.
83. Kodama H, Murata Y, Mochizuki and Abe T. *Copper and ceruloplasmin metabolism in the LEC rat, an animal model for Wilson disease.* J. Inher. Metab. Dis. 21 (1998) 203- 206.
84. Kumar A, Sharma CB. *Hematological indices in copper-poisoned rats.* Toxicol Lett (1987) 38: 275- 278.
85. Kurtoğlu F, Kurtoğlu V, Çelik İ, Keçeci T, Nizamlioğlu M *Effect of dietary boron supplementation on some biochemical parameters, peripheral blood lymphocytes, splenic plasma cells and bone characteristics of broiler chicks given diets with adequate or inadequate cholecalciferol (vitamin D₃) content.* British Poultry Science Volume 46, Number (2005)1, pp. 87- 96.
86. Lamb DJ, Leake DS. *Acidic pH enables ceruloplasmin to catalyse the modification of low-density lipoprotein.* FEBS (1994). Letters 338, 122- 6.
87. Lamont DL, Duflou JALC. *Copper sulfate. Not a harmless chemical.* Am J Forensic Med Pathol (1988) 9(3):226- 227.
88. Linden CH, Hall AH, Kulig KW, Rumack BH. *Acute ingestions of boric acid.* J Toxicol Clin Toxicol. (1986) 24(4):269- 79.
89. Liu CF, Medeiros DM. *Excess diet copper increases systolic blood pressure in rats.* Biol Trace Elem Res (1986) 9: 15- 24.
90. Mateescu MA, Chahine, R, Roger S, Atanasiu R, Yamaguchi N, Nalumiére G. and Nadeau R. *Protection of myocardial tissue against deleterious effects of oxygen free radicals by ceruloplasmin.* Arzheim.-Forsch. (1995) 45,476- 480.
91. McCullough AJ, Fleming CR, Thistle JL, et al. *Diagnosis of Wilson's disease presenting as fulminant hepatic failure.* Gastroenterology; (1983) 84:161- 7.
92. McPearson RA. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method* . In: Henry JB, editor, (1996) 237- 57 Philadelphia: W.B. Saunders Company.
93. Meacham SL, Taper LJ, Volpe SL *Effects of boron supplementation on bone mineral density and dietary, blood, and urinary calcium, phosphorus, magnesium, and boron in female athletes.* (1994)
94. Milne DB, Burtis CA, Ashhwood ER *Trace Elements.* In: Environ Health Perspect;102: 79- 82Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; (1999) 1029 -1055.
95. Miyajima H, Nishimura Y, Mizoguchi K, Sakamoto M, Shimizu T, and Honda, N. *Neurology* (1987) 37, 761-767
96. Miyajima H, Kono S, Takahashi Y, Sugimoto M. *Increased lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction in aceruloplasminemia brains.* Blood cells Mol Dis. Nov (2002); 29 (3): 433- 8.
97. Moseman RF. *Chemical disposition of boron in animals and humans.* Environ Health Perspect 102 (Suppl 7) (1994):113- 117.
98. Mastromatteo E. ve Sullivan F. *Summary: International Symposium on the Health Effects of Boron and Its Compounds.* University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada; Division of Pharmacology and Toxicology, St Thomas's Hospital, London, United Kingdom- Environ Health Perspect 102(Suppl 7):139- 141 Environ Health Perspect; 102 Suppl (1994) 7: 113- 117.
99. Murray FJ. *A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans.* Biol Trace Elem Res (1998);66: 331- 341.
100. Naghii MR, Samman S. *The effect of boron supplementation on the distribution of boron in selected tissues and on testosterone synthesis in rats.* J. Nutr. Biochem. (1996) 7: 507-512.
101. Naghii MR, Samman S. *The effect of boron supplementation on its urinary excretion and selected cardiovascular risk factors in healthy male subjects.* Biological Trace Element Research (1997) 56,273- 286.
102. Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, et al *Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women.* FASEB J: (1987) 394- 397.
103. Nielsen FH *Nutritional significance of the ultratrace elements.* Nutr Rev. Oct; (1988) 46(10):337- 41.

104. **Nielsen FH.** *Biochemical and physiologic consequences of boron deprivation in humans.* Environ Health Perspect; (1994) 102: 59- 63.
105. **Nielsen, F. H.** *Evidence for the nutritional essentiality of boron.* J. Trace Elem. Exp. Med. (1996) 9, 215–229.
106. **Nielsen FH, Penland JG.** *Boron supplementation of peri-menopausal women affects boron metabolism and indices associated with macromineral metabolism, hormonal status and immune function.* Journal of Trace Elements in Experimental Medicine (1999) 12, 251-261.
107. **Nielsen FH.** *The emergence of boron as nutritionally important throughout the life cycle.* Nutrition; (2000) 16: 512- 514.
108. **NTP. 1993.** *NTP Technical Report on toxicity studies of cupric sulfate administered in drinking water and feed to F344/N rats and B6C3F1 mice.* National Toxicology Program. United States Department of Health and Human Services. NIH Publication 93- 3352.
109. **Osaki S, Johnson DA. and Frieden E.** *The possible significance of the ferrous oxidase activity of Ceruloplasmin in normal human serum.* J. Biol. Chem. (1966) 241, 2746- 2751.
110. **Özgül Güngör ve ark** *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem;* (2004) 29 (3); 226- 231.
111. **Patel BN, Dunn RJ, Jeong SY, Zhu Q, Julien JP and David S.** *Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury.* J. Neurosci, (2002) 22: 6578–6586,
112. **Paul AC, Varkki S, Yohannan NB, Eapen CE, Chandy G, Raghupathy P.** *Neurologic deterioration in a child with Wilson's disease on penicillamine therapy.* (2003) Indian J Gastroenterol.
113. **Pekelharing HL, Lemmens AG, Beynen AC.** *Iron, copper and zinc status in rats fed on diets containing various concentrations of tin.* Br J Nutr (1994) 71: 103- 109.
114. **Perman JA, Werlin SL, Grand RJ, Watkins JB.** *Laboratory measures of copper metabolism in the differentiation of chronic active hepatitis and Wilson disease in children.* J Pediatr; (1979) 94: 564- 8.
115. **Perman JA, Werlin SL, Watkins JB, Grand RJ.** *Wilson's disease and chronic active hepatitis.* Lancet; (1977)1(8019):1008.
116. **Powell JT, Muller BR, Greenhalgh RM.** *Acute phase proteins in patients with abdominal aortic aneurysms.* J. Cardiovasc. (1987) Surg.28, 528- 30.
117. **Prakasam A, Sethupathy S, Pugalendi KV,** *Effect of casearia esculenta root extract on blood glucose and plasma antioksidant status in streptozotosin diabetic rats.* Polish Journal of pharmacology Pol. J. Pharmacol. (2003) 55, 43- 49.
118. **Ramesh B ve Pugalendi KV** *Antioksidan role of Umbellferone in STZ- diabetic rats.* Life Sciences (2006) 79, 306- 310.
119. **Rana SV, Kumar A.** *Biological, haematological and histological observations in copper poisoned rats.* Ind Health (1980) 18: 9- 17.
120. **Reunanen A, Knekt P, Ritva-Kaarina, A** *Serum ceruloplasmin level and the risk of myocardial infarction and stroke.* Am. J.Epidemiol. (1992) 136, 1082- 90.
121. **Richardson DR** *Role of ceruloplasmin and ascorbate in cellular iron release.* J. Lab. Clin. Med. (1999) 13, 454- 465.
122. **Saito S, Hiyamuta S, Kurasaki M, et. al.** *The effect of Au injection on the ceruloplasmin, metallothionein and 8-hydroxydeoxyguanosine of rat serum, kidney and liver.* Chemicobiological Interactions 140 (2002) 265- 278
123. **Scheinberg IH.** *The effects of heredity and environment on copper metabolism.* Med Clin N Am (1976), 60: 705- 712.
124. **Scheinberg IH, Steinlieb, I.** *Ceruloplasmin; in Wilson Disease,* Lloyd, H. and Smith, Jr. (eds.), (1984) pp. 1- 171, W. B.Saunders Co, Philadelphia, USA.
125. **Settimi L, Elovaara E, Savolainen H.** *Effects of extended peroral borate ingestion on rat liver and brain.* Toxicol Lett (1982) 10: 219- 223.
126. **Singh TK** *Serum ceruloplasmin in acute myocardial infarction.* Acta Cardiol. (1992) 4, 321- 9.
127. **Suciu I, Prodan L, Lazar V, et al.** *Research on copper poisoning.* Med Lav (1981). 3: 190- 197.
128. **Swain JA, Darley-USmar, V. and Gutteridge, J. M.** *Peroxonitrite release copper from ceruloplasmin: implications for atherosclerosis.* FEBS Lett. (1994) 342, 49- 52.
129. **Tissieres P, Chevret L, Debray D, Devictor D.** *Fulminant Wilson's disease in children: appraisal of a critical diagnosis.* Pediatr Crit Care Med (2003) 4: 338- 43.
130. **Toplan S, Dariyerli N, Özçelik D, Akyolcu MC** *Sıçanlarda deneysel bakır uygulamasının oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkileri.* Cerrahpaşa J Med, (2003) 185- 187.

131. **Tran T, Ashraf M, Jones L, Westbrook T, Hazegh-Azam M and Linder MC.** *Dietary iron status has little effect on expression of ceruloplasmin but alters that of ferritin in rats.* J.Nutr.(2002), 132: 351- 356
132. **Vaziri ND, Fariba Oveisi, B. Dwight Culver, Madeleine V. Pahl, Melvin E. Andersen, Philip L. Strong and Jay Murray.** *The effect of Pregnancy on Renal Clearance of Boron in Rats Given Boronic Acid Orally.* Toxicological Sciences (2001) 60, 257- 263.
133. **Xu X, Pin S., Gathinji M., Haris ZL.** *Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis.* Ann N. Y. Acad Sci.(2004) Mar; 1012: 299-305.
134. **Wallece JMW, MPA Hannon-Fletcher, PJ Rabson, WS Gilmore, SA Hubbard and JJ Strain** *Boron supplementation and activated factor VII in healthy men.* European journal of Clinical (2002) Nutrition 56, 1102- 1107.
135. **Walshe JM, Briggs J. (1962)** *Ceruloplasmin in liver disease; a diagnostic pitfall.* Lancet; ii: 263- 5.
136. **Walsh FM, Crosson FJ, Bayley J, et al** *Acute copper intoxication.* Am J Dis Child (1977) 131: 149- 151.
137. **Wapnir RA, Devas G, Solans CV.** *Inhibition of intestinal copper absorption by divalent cations and low-molecular weight ligands in the rat.* Biol Trace Elem Res (1993) 36: 291- 305.
138. **Weir RJ Jr, Fisher RS.** *Toxicologic studies on borax and boric acid.* Toxicol Appl Pharmacol (1972) 23: 351- 364.
139. **Wong LC, Heimbach MD, Truscott DR, et al.** *Boric acid poisoning: Report of 11 cases.* Can Med Assoc .(1964) J 90: 1018- 1023.
140. **Woods W.G.** *An introduction to boron; history, sources, uses and chemistry.* Environ. Health Perspect, (1994), 102, 5- 11.
141. **Yadrick MK, Kenney MA, Winterfeldt EA.** *Iron, copper, and zinc status: Response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females.* Am J Clin Nutr (1989) 49: 145- 150.
142. **Yorbik Ö.** *Otistik bozukluğu olan çocuklarda antioksidan enzimlerin ve bunlarla ilgili eser elementlerin araştırılması. Yayınlanmamış uzmanlık tezi.* (1999) Gülhane askeri Tıp Akademisi, Ankara.
143. **Yu S, Wests CE, Beynen AC.** *Increasing intakes of iron reduces status, absorption and biliary excretion of copper in rats.* Br J Nutr (1994) 71: 887- 895.
144. **Yuce A, Kocak N, Ozen H, Gurakan F.** *Wilson's disease patients with normal ceruloplasmin levels.* Turk J Pediatr (1999) 41: 99- 102.
145. **Zaitseva I, Zaitsev V, Card G et al** *The X-ray structure of human ceruloplasmin at 3.1Å: nature of the copper centers.* J Biol Inorg Chem.; (1996) 1: 15–23.
146. **Zittle CA.** *Reaction of borate with substances of biological interest.* Adv Enzymol; (1951) 12: 493- 527.

9. ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Hatay İskenderun'da doğdu. İlköğrenimini İskenderunda, orta öğrenimini Bilecik Sağlık Meslek Lisesi Hemşirelik bölümünde tamamladıktan sonra, 1997 yılında Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliğini kazandı ve 2002 yılında mezun oldu. 1998 yılında Devlet Hastanesinde hemşire olarak çalışmaya başladı. Beş yıl hemşirelik yaptıktan sonra 2003 yılında kurumlar arası geçişle Fen Bilgisi Öğretmenliğine atandı. Halen Meram Mustafa Bağrıaçık İlköğretim Okulunda görev yapmaktadır.