

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BOR MARUZİYETİNİN İNSANLAR ÜZERİNDEKİ
GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zuhal UÇKUN

FARMASOTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
PROF.DR. Yalçın DUYDU

2006 - ANKARA

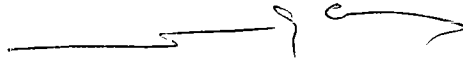
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Toksikoloji Yüksek Lisans Programı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

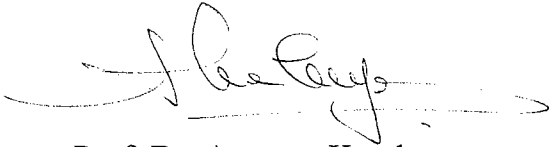
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20 / 07 / 2006



Prof. Dr. Mümtaz İşcan

Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Asuman Karakaya

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Prof. Dr. Nurşen Başaran

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Prof. Dr. Yalçın Duydu

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Doç. Dr. H. Sinan Süzen

Ankara üniversitesi Eczacılık Fakültesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	xi
1.GİRİŞ	1
1.1. Bor	1
1.1.1. Bor ve bor bileşiklerin genel özellikleri	1
1.1.2. Bor terminolojisi	2
1.1.3. Borun kullanım alanları	3
1.1.4. Çevredeki bor ve bora maruziyet yolları	5
1.1.5. Farmakokinetik	6
1.1.5.1. Borun absorpsiyonu	7
1.1.5.1.1. Gastrointestinal yolla absorpsiyon	7
1.1.5.1.2. Solunum yolu ile absorpsiyon	7
1.1.5.1.3. Dermal yol ile absorpsiyon	8
1.1.5.2. Borun vücuttaki dağılımı	8
1.1.5.3. Borun metabolizması	9
1.1.5.4. Borun vücuttan atılımı	10
1.1.6. Borun günlük olarak alımı	11
1.1.7. Borun fizyolojik etkileri	13
1.1.7.1. Borun oksidatif stress üzerine olan etkileri	13
1.1.7.2. Micronutrient metabolizması üzerine olan etkileri	14
1.1.7.3. Steroid hormon metabolizması üzerine olan etkileri	14
1.1.7.4. Romatoid artrit üzerine olan etkileri	15
1.1.7.5. Beyin fonksiyonları üzerine olan etkileri	15
1.2. Bor Toksisitesi	16
1.2.1. Genotoksisite çalışmaları	17
1.2.2. Bor maruziyetinin üreme (reproductive) ve gelişim (developmental) bozukluğu üzerine olan etkileri	18
1.2.2.1. Bor maruziyetinin gelişim (developmental) bozukluğu üzerine olan etkileri	18
1.2.2.2. Bor maruziyetinin) üreme (reproductive) bozukluğu üzerine olan etkileri	20
1.2.3. Kronik çalışmalar	23
1.2.4. Epidemiyolojik çalışmalar	26
1.3. Sitogenetik Yöntemler	29
1.3.1. Kardeş Kromatid Değişimi (Sister Chromatid Exchange, SCE)Yöntemi	29
1.3.1.1. SCE' i Etkileyen Faktörler	31
1.3.1.1.1. Fiziksel Faktörler	31
1.3.1.1.2. Biyolojik Faktörler	32
1.3.1.2. SCE Yönteminin Avantajları ve Dezavantajları	32
1.3.1.2.1. Avantajları	32

1.3.1.2.2. Dezavantajları	33
1.3.2. Mikroçekirdek (Micronuclei, MN) Yöntemi	33
1.3.2.1. MN' i Etkileyen Faktörler	35
1.3.2.2. CBMN Yönteminin Avantajları	35
1.4. Tezin Amacı	36
2. GEREÇ VE YÖNTEM	37
2.1. Gereç	37
2.1.1. Kullanılan Maddeler	37
2.1.2. Kullanılan Aletler	37
2.1.3. Kan Örneklerinin Sağlanması	38
2.2. Yöntem	40
2.2.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	41
2.2.2. SCE Analizi	41
2.2.2.1. İnkübasyon	41
2.2.2.2. Fiksasyon	41
2.2.2.3. Boyama	42
2.2.2.4. Mikroskopta İnceleme	43
2.2.3. CBMN Analizi	43
2.2.3.1. İnkübasyon	43
2.2.3.2. Fiksasyon	44
2.2.3.3. Boyama	45
2.2.3.4. Mikroskopta İnceleme	45
2.3. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	45
3. BULGULAR	46
3.1. Kan örnekleri alınan kişilerin özellikleri ve alınan kan örnekleri ile tespit edilen ortalama SCE Değerleri	46
3.1.1. Kan örnekleri alınan kişilerin bireysel özelliklerinin ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri	49
3.1.1.1. Örneklerdeki cinsiyet farkının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri	50
3.1.1.2. Örneklerdeki yaş farkının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri	50
3.1.1.3. Örneklerdeki sigara içimin ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri	51
3.1.1.4. Örneklerdeki ilaç kullanımının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri	52
3.2. Kan örnekleri alınan kişilerde tespit edilen ortalama MN değerleri	53
3.2.1. Kan örnekleri alınan kişilerin bireysel özelliklerinin ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri	54
3.2.1.1. Örneklerdeki cinsiyet farkının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri	54
3.2.1.2. Örneklerdeki yaş farkının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri	55
3.2.1.3. Örneklerdeki sigara içimin ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri	56
3.2.1.4. Örneklerdeki ilaç kullanımının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri	57

3.3. Lenfositlerde Gözlenen Kardeş Kromatid Değişimlerinin (SCE) Işık Mikroskobu Altındaki Görüntüler	59
3.4. Lenfositlerde Gözlenen MN'lerin Işık Mikroskobu Altındaki Görüntüleri	60
4. TARTIŞMA	61
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	66
ÖZET	67
SUMMARY	68
KAYNAKLAR	69
EKLER	78
ÖZGEÇMİŞ	81

ÖNSÖZ

Bora maruziyetinin insanlar üzerindeki genotoksik etkilerinin araştırılması, bu Yüksek Lisans Tez Projesinin temel amacını oluşturmaktadır. Bu amaçla Balıkesir'in içme ve kullanma sularında yüksek oranda bor içeren (1,55 –20,8 mg B/l) İskele yöresi ile içme ve kullanma sularında oldukça düşük oranda bor içeren (0,07 –0,2 mg B/l) Bademli yöresinde yaşayan insanlardan periferik kan örnekleri alınmıştır. Bu kan örneklerinde SCE ve MN analizleri yapılarak olası genetik hasarlar tespit edilmiş ve yöre yaşayanlarında bor maruziyetinin genetik materyal üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir.

Bu Yüksek Lisans Tez Projesinin hazırlanması esnasında her ne koşulda olursa olsun, en yoğun zamanlarında bile, büyük sabır ve anlayışla beni dinleyen; bilgileriyle beni yönlendiren, yol gösteren; destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Yalçın DUYDU' a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın esnasında her türlü olanağı sağlayan, destek ve yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Mümtaz İŞCAN' a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım için gerekli olan kan örneklerinin toplanmasında büyük emeği geçen Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir Sağlık Yüksek Okul Öğretim Üyesi Yard. Doç. Dr. Mehmet KORKMAZ' a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın deney safhasında destek ve yardımlarını esirgemeyen ve bilgileriyle bana yol gösteren Araş. Gör. Aylin ÜSTÜNDAĞ' a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini ve sevgilerini her zaman hissettiren ve her zaman yanımda olan sevgili aileme sonsuz saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

BrdU	Bromo-deoksi Uridin
CBMN	Sitokinez blok mikroçekirdek (Cytokinesis-Block Micro Nucleus)
CBPI	Sitokinez blok proliferasyon indeksi (Cytokinesis-Block proliferation Index)
CYT-B	Sitokalsin B
GSH	İndirgenmiş glutatyon
GSSG	Yükseltgenmiş glutatyon
HO [·]	Hidroksil radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit radikali
LOAEL	Gözlenen en düşük advers etki düzeyi (Lowest Observed Adverse Effect Level)
MMC	Mitomisin –C
MN	Mikroçekirdek (Mikro Nucleus)
NADPH	Nikotin amid adenin dinükleotid fosfat
NOAEL	Hiçbir advers etkinin gözlenmediği düzey (No Observed Adverse Effect Level)
O ₂ ^{·-}	Süperoksit radikali
PRI	Proliferasyon İndeksi
SCE	Kardeş kromatid değişimi (Sister Chromatid Exchange)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Lenfositlerin 72 saatlik inkübasyon süresinin farklı aşamaları	30
M1: 1. Mitoz; M2 : 2. Mitoz aşamaları ve BrdU ile kolşisinin ilave edilmesi	
Şekil 1.2. Hücre bölünmesi esnasında kromatidlerin farklı tonlarda boyanma mekanizması	31
Şekil 1.3. Hücre bölünmesi sırasında mikroçekirdeklerin oluşumu	33
Şekil 1.4. Hücre bölünmesi sırasında CBMN yöntemi ile iki çekirdekli hücrede mikroçekirdeğin (MN) görünüşü	34
Şekil 3.1. Maruz kalan grup ile kontrol grubunun ortalama SCE değerlerinin karşılaştırılması	49
Şekil 3.2. Cinsiyet farkının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri	50
Şekil 3.3. Yaş farkının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri	51
Şekil 3.4. Sigara içiminin ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri	52
Şekil 3.5. İlaç kullanımının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri	53
Şekil 3.6. Maruz kalan grup ile kontrol grubunun ortalama MN değerlerinin karşılaştırılması	54
Şekil 3.7. Cinsiyet farkının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri	55
Şekil 3.8. Yaş farkının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri	56
Şekil 3.9. Sigara içiminin ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri	57
Şekil 3.10. İlaç kullanımının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri	58
Şekil 3.11. SCE analizlerinde kullandığımız M2 kromozomlarının ışık mikroskobu altındaki görüntüleri	59
Şekil 3.12. CBMN yönteminde değerlendirmeye alınan ve alınmayan mikroçekirdeklerin ışık mikroskobu altındaki görüntüleri	60

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Çizelge 1.1. Bor ve bazı bor bileşiklerinin özellikleri	2
Çizelge 1.2. Bor equivalenti değeri için dönüştürme faktörleri	3
Çizelge 1.3. İnsanlarda ve sıçanlarda inorganik borat bileşiklerin toksikokinetik özelliklerinin özeti	11
Çizelge 1.4. Borun günlük olarak alımı	12
Çizelge 1.5. Borun genotoksik etkileri ile ilgili çalışmalar	18
Çizelge 1.6. Borun gelişim bozukluğu üzerine olan etkileri için NOAEL ve LOAEL değerleri	20
Çizelge 1.7. Borun üreme bozukluğu üzerine olan etkiler için NOAEL ve LOAEL değerleri	22
Çizelge 1.8. Borun kronik ve subkronik maruziyet ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar	24
Çizelge 1.9. Yurt dışında yapılmış olan epidemiyolojik çalışmaların sonuçları	26
Çizelge 1.10. Bekir Sıtkı ŞAYLI yönetiminde ülkemizde yürütülmüş olan bor ile ilgili olan reproduktif çalışmalar	28
Çizelge 2.1. Kan örnekleri alındığı bölgelerdeki içme ve kullanma sularında bulunan bor konsantrasyonları	39
Çizelge 3.1. Bora maruz kalan (İskele Bölgesi) kişilerin özellikleri ve alınan kan örnekleri ile tespit edilen ortalama SCE ve MN değerleri	47
Çizelge 3.2. Kontrol grubundaki kişilerin (Bademli Bölgesi) özellikleri ve Alınan kan örnekleri ile tespit edilen ortalama SCE ve MN değerleri	48
Çizelge 3.3. Cinsiyet farkına göre maruz ve kontrol grubu için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri	50
Çizelge 3.4. Yaş gruplarına göre maruz ve kontrol grubu için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri	51
Çizelge 3.5. Maruz ve kontrol grubundaki sigara içen ile içmeyen kişiler için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri	52
Çizelge 3.6. Maruz ve kontrol grubundaki ilaç kullanan ile kullanmayan kişiler için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri	53
Çizelge 3.7. Cinsiyet farkına göre maruz ve kontrol grubu için elde edilen ortalama MN değerleri	55
Çizelge 3.8. Yaş gruplarına göre maruz ve kontrol grubu için elde edilen ortalama MN değerleri	56
Çizelge 3.9. Maruz ve kontrol grubundaki sigara içen ile içmeyen kişiler için elde edilen ortalama MN değerleri	57
Çizelge 3.10. Maruz ve kontrol grubundaki ilaç kullanan ile kullanmayan kişiler için elde edilen ortalama MN değerleri	58

1. GİRİŞ

1.1. Bor

Kimyasal sembolü B ile tanımlanan bor elementi periyodik sistemin III. grubun başında olup bu grubun metal olmayan yegane elementidir. Atom numarası 5 ve atom ağırlığı 10,81 olan bor elementi aslında kütle numaraları 10 (10B %19,8) ve 11 (11B % 80,2) olan iki kararlı izotopundan oluşmaktadır (IPCS, 1998, WHO, 1998, U.S.EPA, 2004).

1.1.1. Bor ve bor bileşiklerin genel özellikleri

Doğada serbest olarak yani elemental olarak bulunmayan bor elementi daima oksijene bağlı halde bulunmaktadır ki oksijene bağlı halde bulunan bu bileşiğe borat adı verilmektedir (Murray, 1995, Howe, P.D., 1998, Murray ve Andersen, 2001, Çöl ve Çöl, 2003, U.S.EPA, 2004). Bor bileşikleri arasında en basit yapıdaki bileşikler bor oksit (B_2O_3) ve borik asit (H_3BO_3) tir. Bor ve bazı bor bileşiklerinin özellikleri çizelge 1.1’ de verilmiştir.

Doğada yaklaşık olarak 230 çeşit bor minerali bulunmakta olup bu mineraller arasında en önemlileri yapılarında Na, Ca, ve Na -Ca bulunduranlardır. Na kökenli bor minerallerine boraks (tinkal), Ca kökenli bor minerallerine kolemanit, Na -Ca kökenli bor minerallerine ise üleksit adı verilmektedir. (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1: Bor ve bazı bor bileşiklerinin özellikleri (U.S. EPA, 2004).

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 ₂ O ₃	69,62	31,06	Beyaz veya renksiz camsı kristal
Borik asit	H ₃ BO ₃	61,83	17,48	Beyaz veya renksiz kristal granüller veya toz
Kolemanit	CaB ₆ O ₁₁ .5H ₂ O	411,1	15,78	Beyaz veya renksiz camsı kristal
Üleksit	NaCaB ₅ O ₉ .8H ₂ O	810,6	13,33	Beyaz veya renksiz camsı kristal
Boraks (tinkal)	Na ₂ B ₄ O ₇ .10H ₂ O	381,43	11,34	Beyaz veya renksiz kristal granüller veya toz
Boraks pentahidrat	Na ₂ B ₄ O ₇ .5H ₂ O	291,35	14,85	Beyaz veya renksiz kristal granüller veya toz
Susuz boraks	Na ₂ B ₄ O ₇	201,27	21,49	Beyaz veya renksiz camsı kristal

1.1.2. Bor terminolojisi

Doğada bor, elemental olarak bulunmadığından toksikolojik çalışmalarda bor kaynağı olarak borik asit veya inorganik boratlar kullanılmaktadır. Çalışmalarda kullanılan bor terimi, borik asit ve inorganik boratların yalnızca bor içeriğini ifade etmektedir. Kullanılan borik asit ve inorganik boratların doz düzeylerini elemental bor ile karşılaştırabilmek amacıyla deneylerde kullanılan inorganik boratların moleküler ağırlıkları çizelge 1.2.' de görülen dönüştürme faktörü ile çarpılarak bor

equivalent dozu elde edilir. Hesaplanan bor equivalent değeri elemental bor ile eşdeğerdir ancak bor equivalent doz ifadesi elemental bor ifadesinden daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Murray, 1995, Murray ve Andersen, 2001, Çöl ve Çöl, 2003, HERA, 2005).

Borik asit dozu x 0,175 = Bor equivalent dozu

Boraks dozu x 0,113 = Bor equivalent dozu

Boraks pentahidrat dozu x 0,148 = Bor equivalent dozu

Çizelge 1.2. Bor equivalentı değeri için dönüştürme faktörleri (IPCS, 1998, HERA, 2005)

Bileşik ismi	Bileşik formülü	Bor equivalent dozu için dönüştürme faktörü
Borik asit	H_3BO_3	0,175
Disodyum tetraborat dekahidrat (boraks, tinkal)	$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	0,113
Disodyum tetraborat pentahidrat (boraks pentahidrat)	$Na_2B_4O_7 \cdot 5H_2O$	0,148
Susuz boraks	$Na_2B_4O_7$	0,215
Sodyum perborat tetrahidrat	$NaBO_3 \cdot 4H_2O$	0,070
Sodyum perborat monohidrat	$NaBO_3 \cdot H_2O$	0,108

1.1.3. Borun kullanım alanları :

Bor mineralleri ve bileşikleri çeşitle endüstri dallarında çok farklı malzeme ve ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Bor ve ürünlerinin kullanım alanlarını aşağıdaki gruplarda toplamak mümkündür;

Cam Sanayi: Borosilikat camları. İzolasyon cam elyafı, tekstil cam elyafı, optik lifler, cam seramikleri, şişe ve diğer düz camlarda.

Seramik Sanayi: Emaye, sır, sırça, porselenlerde.

Nükleer Sanayi: Nükleer kazalarda güvenlik amaçlı ve nükleer atık depolayıcı olarak, (Reaktör kontrol çubukları) , uzay ve havacılık sanayinde (sürtünme – aşınmaya dayanıklı malzemeler, roket katkı malzemeleri).

Askeri & Zırhlı Araçlar: Zırh plakalar, kompozit malzemelerde.

Elektronik – Elektrik ve Bilgisayar Sanayinde: Bilgisayarların mikro chiplerinde, CD- sürücülerinde bilgisayar ağlarında; Isıya – aşınmaya dayanıklı fiber optik kablolar, yarı iletkenler, vakum tüpler, elektrik kondansatörleri, gecikmeli sigortalarda.

İletişim Araçlarında: Cep telefonları, modemler, televizyonlarda.

İnşaat – Çimento Sektöründe: Mukavemet ve izolasyon artırıcılarda.

Metalurji: Paslanmaz ve alaşımlı çelik, sürtünmeye ve aşınmaya dayanıklı malzemeler, briket malzemeleri, lehimleme, döküm malzemelerinde katkı maddesi olarak.

Enerji sektöründe: Hidrojen taşıyıcı, güneş enerjisinin depolanması güneş pillerinde koruyucu olarak.

Otomobil sanayinde: Hava yastıklarında, hidroliklerde, ısı ve ses yalıtımı sağlamak amacıyla, antifriz karışımına katkı maddesi olarak.

Tekstil Sektöründe: Isınmaya dayanıklı kumaşlar, yanmayı geciktirici ve önleyici selülozik malzemeler, izolasyon malzemeleri, tekstil boyaları, deri renklendiricileri, suni ipek parlatma malzemelerinde.

Kimya sanayinde: Bazı kimyasalların indirgenmesinde, elektrolitik işlemlerde, banyo çözeltilerinde, petrol boyalarında, yanmayan erimeyen boyalarda, tekstil boyalarında.

Tıp alanında: Osteoporoz tedavilerinde, alerjik hastalıklarda, psikiyatride, kemik gelişiminde ve artiritte, menopoz tedavisinde, beyin kanserlerinin tedavisinde (BNCT), dezenfekte edicilerde, antiseptiklerde.

Tarım sektöründe: Suni gübrede (bitkilerin gelişiminde) ve böcek öldürücü olarak (insektisit).

Mumyalamada

Manyetik cihazlarda

Korozyonu önlemede

Fotoğraf kimyasallarında

Mıknatıslarda

Koruyucu olarak: Ahşap malzemelerde ve ağaçlarda koruyucu olarak, boya ve vernik kurutucularında.

Kağıt Sanayi: Beyazlatıcı olarak.

Temizleme ve beyazlatma Sanayinde: Toz deterjanlar, toz beyazlatıcılar, parlaticılarda kullanılmaktadır (<http://www.boren.gov.tr/kulyer.htm>).

1.1.4. Çevredeki bor ve bora maruziyet yolları

Doğada genellikle borat formu şeklinde bulunan bor elementi (Howe, 1998, IPCS, 1998, U.S.EPA, 2004) yer kabuğunda, atmosferde, denizde, toprakta, kömürde, yeraltı ve yerüstü sularında ve sedimentlerde yüksek oranda bulunmaktadır (IPCS, 1998, Samman ve ark., 1998, Murray ve Andersen, 2001, EGVM, 2002, EFSA, 2004, Yazbeck ve ark., 2005). Yeryüzünde geniş bir alana yayılmış halde bulunan bor elementi doğada değişime uğramaz ve parçalanmaz. Ancak çevre koşullarına bağlı olarak (nem düzeyi, pH vb.) spesifik formlarına dönüşebilmektedir (ATSDR, 1992). Doğal olarak bor, toprakta 5 – 150 ppm (Çöl ve Çöl, 2003), yerkabuğunda ortalama 10 ppm, deniz suyunda 0,5 – 9,6 ppm konsantrasyonları arasında olup ortalama 4.6 ppm, tatlı sularda <0,01–1,5 ppm değişen konsantrasyonlarda (U.S.EPA, 1987, IEHR, 1997) ve havada <0,5 -80 ng/m³ değişen konsantrasyonlarda (ortalama 20 ng/m³) bor bulunmaktadır (IPCS, 1998, EVGM, 2002).

Bor okyanuslardan, yanardağlardan, kaplıcalardan, orman yangınlarından ve ticari olarak kullanılmasıyla atmosfere serbest olarak ulaşabilmektedir (Howe ve

ark., 1998). Atmosferdeki bor kaynağının % 65 ile % 85' ini okyanuslar oluştururken % 7 ile % 18' ini major antropojenik kaynaklar oluşturmaktadır (Howe ve ark., 1998). Her yıl atmosfere yaklaşık olarak 1,8 ile 5,3 bor milyon/kg serbest olarak bırakılmaktadır (Argust, 1998).

Denizler, yanardağlar ve kaplıcalar başta olmak üzere kayalardan, topraklardan, yer altı - yerüstü sularından, ticari kullanımından ve atıklardan çevresel komponentlere ulaşan bora insanlar; hava ve sudaki bor mineralleriyle temas ederek, bor yatakları bakımından zengin havzalardaki yeraltı ve yerüstü sularını kullanarak, maden ocaklarında ve fabrikalarda çalışarak, bor içeren kimyasal maddeleri ve ürünleri kullanarak ve özellikle borca zengin yiyecek ve içecekleri alarak bora maruz kalmaktadırlar (bölüm 1.1.6.).

1.1.5. Farmakokinetik

Düşük konsantrasyonlarda ve fizyolojik pH' larda inorganik boratlar absorbe edilmeden önce mukozal yüzeylerin sulu katmanlarında borik aside dönüştürülmektedirler (EVGM, 2002, EFSA, 2004). Bor, borik asit olarak pasif diffüzyonla vücut sıvısı boyunca dağılmaktadır (EFSA, 2004). Alınan bor kaynağının borat veya borik asit olduğuna bakılmaksızın bor bileşiği kanda >% 98 (Woods, 1996), idrarda >% 90 oranında borik asit olarak görülmektedir (IPCS, 1998, WHO, 1998).

Absorbsiyon, dağılım ve metabolizma açısından borik asidin farmakokinetiği insanlar ile sıçanlar arasında benzerlik göstermektedir (Dourson ve ark., 1998, Murray, 1998, Murray ve Andersen, 2001, Vaziri ve ark., 2001, HERA, 2005).

1.1.5.1. Borun absorpsiyonu

Bor absorpsiyonu üç yolla olur. Bunlar;

- Gastrointestinal
- İnhalasyon
- Dermal

Borun vücuda asıl giriş yolu oral yoldur.

1.1.5.1.1. Gastrointestinal yolla absorpsiyon

İnsanlar tarafından oral yolla alınan borun hemen hemen tamamı gastrointestinal yoldan hızlı bir şekilde absorbe edilmektedir (Murray, 1995, EVGM, 2002, U.S. EPA, 2004, EFSA, 2004). Schou ve ark. (1984) tarafından yapılan bir çalışmada suda çözünmüş olarak tek dozda verilen borik asidin 96 saat içinde verilen doz ortalamasının % 92-94' ünün idrarla atıldığı gözlenmiştir. Naghii ve Samman (1997) tarafından yapılan çalışmada da alınan dozun % 84' ünün idrarla atıldığı gözlenmiştir. Job (1973) tarafından yapılan çalışmada ise idrarla atılım verileri göz önüne alınarak alınan dozların % 90' dan fazlasının gastrointestinal yoldan absorbe edildiği gözlenmiştir. Sıçan (Ku ve ark., 1991; Usuda ve ark., 1998), tavşan (Draize ve Kelley, 1959), koyun (Brown ve ark., 1989) ve sığır (Owen, 1944; Weeth ve ark., 1981) gibi denek hayvanları ile yapılan çalışmalarda da oral maruziyet sonrası borun çok hızlı bir şekilde absorbe edildiği gözlenmiştir. Yapılan bu çalışmalar ile oral yolla alınan borun insanlarda ve hayvanlarda gastrointestinal yoldan kolay bir şekilde absorbe edildiği sonucuna varılmaktadır.

1.1.5.1.2. Solunum yolu ile absorpsiyon

Soluk alıp verme esnasında havadaki borun absorbe edilmesine dayanmaktadır (U.S. EPA, 2004). Culver ve ark. (1994) tarafından yapılan bir çalışmada bor üreten bir fabrikada 3,3 -18 mg/m³ değişen aralıkta borat tozlarına (boraks, boraks pentahidrat ve susuz boraks) maruz kalan erkek işçilerin, maruz kalınan dozla orantılı olarak kan ve idrardaki bor düzeylerinin de yükseldiği bildirilmiştir. Bor oksit aerosollerine (77

mg/m³ ortalama konsantrasyon) maruz kalan sıçanların idrarlarındaki bor düzeylerini izleyen Wilding ve ark. (1959) tarafından da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmada maruz kalan sıçanların idrarlarındaki bor düzeylerinin kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğu ve maruziyete son verilmesi ile maruz kalan sıçanların idrarlarındaki bor düzeylerinin de çok kısa süre içinde azaldığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda borun inhalasyon yoluyla absorbe edildiği gözlenirse de herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir.

1.1.5.1.3. Dermal yol ile absorbsiyon

Tavşan, sıçan, yeni doğan ve yetişkin insanlarla yapılan tüm çalışmalarda borun deri yoluyla absorbe edilmesi özellikle deride açık yara bulunmuyorsa minimum seviyede olduğu bildirilmiştir (Murray, 1995, WHO, 1998, EVGM, 2002, U.S. EPA, 2004).

1.1.5.2. Borun vücuttaki dağılımı

Absorbe edilen bor, vücut sıvısı boyunca pasif difüzyonla çok hızlı bir şekilde dağılmaktadır (Murray, 1995, IPCS, 1998, EVGM, 2002, EFSA, 2004). Çeşitli doz seviyelerinde alınan bor, insan ve hayvanların doku ve organlarında borun 0,05 ve 0,6 mg/kg (yaş ağırlık) arasında değişen konsantrasyonlarda dağılırken kemiklerde daha yüksek bir değerde bulunmaktadır (EVGM, 2002, EFSA, 2004,). Bor vücut sıvısı boyunca düzenli olarak dağılırken kemik, tırnak ve kıllarla (4,3 ile 17,9 ppm) karaciğer dalak gibi organlarda çok düşük konsantrasyonlarda birikebilmektedir (Moseman, 1994, EVGM, 2002, Devirian ve Volpe, 2003, EFSA, 2004). İnsan vücudunda toplam bor konsantrasyonu 3 ile 20 mg arasında değişmektedir (Devirian ve Volpe, 2003).

Normal memeli doku ve sıvısında düşük konsantrasyonlarda bulunan (0,02 –0,5 mg/g) bor, biyomoleküllerle etkileşim içinde değildir (Woods, 1996). Genellikle monomerik borik asit (B(OH)₃) ve tetrahidroksiborat anyonu (B(OH)₄⁻) şeklinde bulunmaktadır (Woods, 1996, IPCS, 1998, EVGM, 2002, U.S. EPA, 2004). Borik

asit zayıf bir asit (pKa 9,2) (Woods, 1996, IPCS, 1998, WHO, 1998, Cherrington ve Chernoff, 2002, EVGM, 2002, EFSA, 2004, U.S.EPA, 2004) olduğundan insan kanında >% 98 oranında serbest formda borik asit ve <% 2 oranında borat anyonu şeklinde bulunmaktadır (Woods, 1996, Devirian ve Volpe, 2003, U.S. EPA, 2004).

Bor bileşikleri, insan ve hayvan plasentasından geçme özelliklerine de sahiptirler (IPCS, 1998, EFSA, 2004,).

1.1.5.3. Bor metabolizması

Bor oksijene çok güçlü bir bağ ile bağlıdır (B-O). Bu bağın kopması için ancak laboratuvar koşulları altında sağlanabilecek çok yüksek bir enerjiye (523 kJ/Mol) gereksinim duyulduğundan borat bileşiklerinin insanlarda ve hayvanlarda metabolize olma olasılığı oldukça düşüktür (IPCS, 1998, Murray ve Andersen, 2001, Vaziri ve ark., 2001, EVGM, 2002, EFSA, 2004, U.S. EPA, 2004). Düşük konsantrasyonlarda ve fizyolojik pH' larda inorganik boratların absorbe edilmeden önce mukozal yüzeylerin sulu katmanlarında borik aside dönüştürülmesi (EVGM, 2002, EFSA, 2004) ve borik asidin (>% 90) değişmemiş olarak idrarda görülmesi borik asidin metabolize olmadığına bir göstergesidir (Murray, 1995, IPCS, 1998, Murray ve Andersen, 2001, EVGM, 2002, EFSA, 2004, U.S. EPA, 2004 HERA, 2005).

Hidroksil, amino ve tiyol gruplarına karşı affinitesi yüksek olan borik asit, mono-, di- ve poli hidroksil gruplarını içeren organik bileşiklerle ester bağları ile bağlanarak çeşitli kompleksler oluşturabilmektedir (ATSDR, 1992, Woods, 1996, IPCS, 1998, U.S. EPA 2004). Şeker, polisakkarit, adenozin-5-fosfat, pridoksin, riboflavin, dehidroaskorbik asit ve piridin nükleotidleri içeren organik bileşiklerle kompleks oluşturabilen bor (Gregory ve Kelly, 1997, Boron Monograph, 2004) kompleks oluşumunu konsantrasyonuna bağlı olarak geri dönüşümlü oluşturur (U.S.EPA, 2004).

1.1.5.4. Borun vücuttan atılımı

Bölüm 1.1.5. ve bölüm 1.1.5.3.' te anlatıldığı gibi inorganik borat bileşikleri vücutta borik asit formunda bulunarak metabolize olmadan atılırlar. Bundan dolayı borik asit idrarda belirlenen tek bor bileşiği olup alınan borat dozunun $> \% 90$ miktarı idrarda gözlenir (IPCS, 1998, EVGM, 2002, EFSA, 2004). Bor başta idrarla olmak üzere ter, solunum, salya ve feçesle de atılmaktadır (Jansen ve ark., 1984a, Schou ve ark., 1984, Boron, monograph, 2004). Oral yolla alınan dozun indikatörü olarak idrardaki bor göz önüne alınmaktadır (EVGM, 2002, Devirian ve Volpe, 2003). Bor, vücuda hangi yolla alınırsa alınsın $\% 92 -96$ ' sı alındıktan 96 saat sonra hiç değişmeden idrarla atılmakta (Jansen ve ark., 1984a, U.S. EPA, 2004) ve 3 – 7 gün içinde de vücuttan tamamen elimine olmaktadır (Çöl ve Çöl, 2003).

Eliminasyon yolu ve yarılanma ömrünü içeren eliminasyon kinetiği, insanlarda ve sıçanlarda benzerlik göstermektedir (IPCS, 1998, EVGM, 2002, U.S. EPA, 2004 HERA, 2005). Ancak sıçanlarda glomerular filtrasyon oranı insanlara göre daha yüksek olduğundan borun sıçanlardaki renal kleransı insanlara göre 3 -4 kat daha hızlı olmaktadır. Bundan dolayı borun sıçanlardaki yarılanma ömrü (14 -19 saat) insanlara göre (24 saat veya daha kısa sürede) daha kısa sürede olmaktadır (Jansen ve ark., 1984a, Schou ve ark., 1984, EVGM, 2002, Boron monograph, 2004, EFSA, 2004, HERA, 2005, Yazbeck ve ark., 2005).

Borun düşük konsantrasyonlarda da olsa kemiklerde birikmesi; kemiklerdeki eliminasyon kinetiğinin yumuşak dokulardaki ve vücut sıvılarındaki eliminasyon kinetiğinden farklı bir şekilde gerçekleşmesine neden olmaktadır (Chapin ve ark., 1997, IPCS, 1998, EVGM, 2002, EFSA, 2004).

Çizelge 1.3. İnsanlarda ve sıçanlarda inorganik borat bileşiklerin toksikokinetik özelliklerinin özeti (HERA, 2005).

Absorbsiyon	• Oral ve (solunuma uygun partiküllerin) inhalasyon yolu ile kolay bir şekilde absorbe edilirler. • Deride açık yara yoksa dermal absorpsiyon 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 ağılıkları karşılaştırılarak) sıçanlardaki renal klerans insanlara göre yaklaşık olarak 3 kat daha hızlı bir şekilde olmaktadır. • İdrarla hemen hemen tamamı atılır.

1.1.6. Borun günlük olarak alımı

İnsanlar, bora en fazla gıda ve içme suyu ile maruz kalmaktadırlar (Anderson ve ark., 1994, Coughlin, 1998, IPCS, 1998, Meacham ve Hunt, 1998, Rainey ve Nyquist 1998, IPCS, 1998, EVGM, 2002, Çöl ve Çöl, 2003, EFSA, 2004). Gıda ile bora maruz kalma su ile maruz kalmaya göre daha fazla önem taşımaktadır.

Yüksek oranda bor içeren yiyecekler; yeşil yapraklı sebze ve meyveler, fındık-ceviz gibi sert kabuklu yemişler, baklagiller, avokado ve mantarlardır. Şarap, elma şarabı ve bira gibi içecekler de yüksek oranda bor içeren içeceklerdir. Et, balık, süt ve süt ürünleri gibi gıdalar da nispeten düşük oranda bor içeren gıdalardır (Naghii ve ark., 1996, IPCS, 1998, Samman ve ark., 1998, Murray ve Andersen, 2001, Cherrington ve Chernoff, 2002, EVGM, 2002, Devirian ve Volpe, 2003, EFSA, 2004).

Kurutulmuş meyveler, baklagiller, fındık-ceviz gibi sert kabuklu yemişler ve avokado 1,0 -4,5 mg bor/100 g; taze meyve ve sebzeler ve bal 0,1 -0,6 mg bor/100 g; et, balık, süt ve süt ürünleri 0,01 -0,06 mg bor/100 g oranlarında bor içermektedirler (Naghii ve ark., 1996, Devirian ve Volpe, 2003, Boron Monograph, 2004).

Çizelge 1.4. Borun günlük olarak alımı.

Ülke	Cinsiyet	Diyet ile alınan miktar (mg B/gün)	Kaynak
ABD	Erkek	1,52 ± 0,38	Iyenger ve ark., 1988
ABD	Erkek	1,21 ± 0,07	Anderson ve ark., 1994
Kanada	Bayan	1,33 ± 0,13	Clarke ve Gibson, 1988
Avustralya	Bayan	2,16 ± 1,1	Saman ve ark., 1998
Avustralya	Erkek	2,28 ± 1,3	Saman ve ark., 1998

Yukarıdaki çizelgede görüldüğü gibi diyet ile alınabilecek bor miktarı ülkeler arasında farklılık göstermektedir ki bu farklılık bireyler arasında da olmaktadır. Buna karşılık insanların diyet ile alabilecekleri ortalama miktar 1,5 -3,0 mg B/gün olarak açıklanmıştır (Nielsen ve ark., 1987, Devirian ve Volpe, 2003). Gıda haricinde su, hava ve kozmetik ürünlerle de bora maruz kalabilen insanlar, sudan günde 0,2 -0,6 mg bor; havadan günde 0,44 µg bor ve kozmetik ürünlerden maksimum 0,47 mg bor alabilmektedirler (IPCS, 1998, EVGM, 2002, EFSA, 2004, Yazbeck ve ark., 2005). Tüm bu değerlerin toplanmasıyla elde edilecek olan değer aşağıda The Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine (2001) ve The Institute of Medicine (IOM, 2002) tarafından açıklanan değerden daha yüksek bir değer olmamakla birlikte insanın alması gereken doz aralığında bulunmaktadır. Bundan dolayı insanlar normal koşullar altında bora maruz kaldıklarında herhangi bir toksik etki oluşturmaz sonucuna ulaşabiliriz.

The Food and Nutrition Board of The Institute of Medicine (2001) ve The Institute of Medicine (IOM, 2002), Bor un; yetişkinler tarafından alınabilecek üst sınırını 20 mg B/gün olarak açıklamışlardır.

1.1.7. Borun fizyolojik etkileri

Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalar borun insan ve hayvanlar için diyetle alınabilen esansiyel bir komponent olduğunu göstermektedir (Murray, 1995, Penland, 1998, EVGM, 2002, Devirian ve Volpe, 2003) ki; Nielsen (1992), insanların günde en az 1 mg bor almaları gerektiğini açıklamıştır.

Borun fizyolojik etkilerini öğrenmek amacıyla; borun

- Oksidatif stress üzerine olan etkileri
- Micronutrient metabolizması üzerine olan etkileri
- Steroid hormon metabolizması üzerine olan etkileri
- Romatoid artrit üzerine olan etkileri
- Beyin fonksiyonları üzerine olan etkileri

ile ilgili çalışmalar yapılmıştır.

1.1.7.1. Borun oksidatif stress üzerine olan etkileri

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($HO^{\cdot}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen radikalleri hücrelerde detoksifiye edilemeyecek kadar fazla miktarda oluştuğlarında hücrelerde oksidatif stress meydana gelmektedir (Ercal ve ark. 2001). Reaktif oksijen radikalleri hücrelerdeki DNA, lipid ve protein gibi makromoleküllerle etkileşerek hücrelerde irreversibl bozukluklar oluşturabilmektedirler (Ercal ve ark. 2001). Hücrelerde reaktif oksijen radikallerini detoksifiye edebilen antioksidanlardan biri olan indirgenmiş glutatyon (GSH) oksidatif stres esnasında hızla oksitlenerek miktarı azalmaktadır (Shan ve ark., 1990). Oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) yeniden indirgenmesi için nikotinamid adenin dinükleotid fosfata (NADPH) gereksinim duyulmaktadır. Borun buradaki etkili rolü NADPH seviyelerinin düzenlenmesinde olmaktadır (Devirian ve Volpe, 2003). NADPH, hücrelerde indirgenmiş glutatyon (GSH) miktarını artırarak oksidatif stresi buna bağlı olarak da oksidatif hasarları azaltabilmektedir.

1.1.7.2. Borun micronutrient metabolizması üzerine olan etkileri

Bor kalsiyum, fosfor, vitamin D, magnezyum, molibden, alüminyum gibi çeşitli micronutrientlerin metabolizmasında regülör bir rol oynamaktadır (Devirian ve Volpe, 2003). Bor özellikle sağlıklı bir kemik yapısının oluşmasında son derece önemli rol oynayan magnezyum, vitamin D, fosfor, kalsiyum minerallerinin metabolizmasını olumlu yönde etkilemektedir (Naghii ve Samman, 1993, Gregory ve Kelly, 1997, EVGM, 2002, Devirian ve Volpe, 2003,

Menapoz sonrası osteoporoz görülen kadınların serumlarındaki kalsitonin seviyeleri diğer insanlara göre daha yüksek seviyede bulunmaktadır. Serumda kalsitonin seviyelerin yüksek olması kalsiyum atılımını artırmaktadır. Bor günlük olarak yeterli miktarda alındığında serumdaki kalsitonin seviyesi düşmekte ve buna bağlı olarak da kalsiyum kaybı azalmaktadır (Hunt, 1996, Gregory ve Kelly, 1997, Devirian ve Volpe, 2003).

Borun micronütrient metabolizmasını olumlu yönde etkilemesi ve serumdaki kalsitonin seviyesini düşürmesi borun osteoporoz oluşumunun önlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Hunt, 1996, Gregory ve Kelly, 1997, Devirian ve Volpe, 2003).

1.1.7.3. Borun steroid hormon metabolizması üzerine olan etkileri

Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalar borun steroid hormon metabolizmasını olumlu yönde etkilediğini göstermektedir (Nielsen ve ark., 1987, Naghii ve Samman, 1997, Samman ve ark, 1998, Devirian ve Volpe, 2003). Bor, hidroksilasyon reaksiyonları ile steroid hormon metabolizmasını etkileyerek bu hormonların hızlı bir şekilde degradasyona uğramasını önler (Gregory ve Kelly, 1997, Devirian ve Volpe, 2003, Boron, monograph, 2004)

Steroid metabolizması ile ilgili Nielsen ve ark. (1987) tarafından yapılmış olan bir çalışmada menopoz sonrası dönemde 7 hafta boyunca günde 3 mg bor kullanan kadınlarda 17- β estradiol hormonun önemli oranda arttığı gözlenmiştir. Steroid

hormon seviyelerin yükselmesi kalsiyum atılımını azaltmaktadır. Bundan dolayı borun günlük olarak yeterli miktarda alınması osteoporoz görülen bayanlar için büyük önem taşımaktadır (Devirian ve Volpe, 2003).

1.1.7.4. Borun romatoid artrit üzerine olan etkileri

Bor, T hücrelerinin aktivitesini azaltarak ve serumdaki antikor konsantrasyonlarını düzenleyerek artrit sonucu oluşacak olumsuz etkileri azaltmaktadır (Devirian ve Volpe, 2003, Boron, monograph, 2004).

Romatoid artrit ile ilgili yapılan çalışmalarda içme suyunda, toprakta, meyve ve sebzelerde daha yüksek oranda bor içeren bölgelerde gözlenen artrit vakalarının bor konsantrasyonu daha düşük olan bölgelere göre daha az olduğu bildirilmiştir (Newnham, 1991, Gregory ve Kelly, 1997, Devirian ve Volpe, 2003) Artritlik kemiklerin, sağlıklı kemiklere göre daha düşük oranda bor içermeleri bu bulguyu destekler niteliktedir (Devirian ve Volpe, 2003).

1.1.7.5. Borun beyin fonksiyonları üzerine olan etkileri

Düşük miktarda bor alımı; el-göz koordinasyonu, algıma, dikkat, kısa ve uzun sürede olayları ve durumları hatırlama gibi performanslar, yüksek miktarda bor alındığında görülen performansa göre daha zayıf olmaktadır (Penland, 1994, Gregory ve Kelly, 1997, Devirian ve Volpe, 2003, Boron Monograph, 2004).

İnsanlarda yapılan ölçümlerle diyetle alınan bor miktarı azaltıldığında elektroensefalogram (EEG) aktivitesinin de azaldığı gözlenmiştir (Penland, 1998, EVGM, 2002, Devirian ve Volpe,2003).

Bor yeterli miktarda alınması ile;

- Serumdaki kalsitonin seviyesi düşmekte
- Steroid hormonların (östrojen, testosteron) konsantrasyonları yükselmekte

- Yukarıdaki her iki duruma bağılı olarak plazmadaki kalsiyum seviyesi yükselirken atılımı azalmakta
- Magnezyum ve vitamin D' nin eksikliği sonucu oluşacak olumsuz etkiler indirgenmektedir.

Tüm bu sonuçlar özellikle osteoporoz görülen bayanlarda kemik yapısını korumada önemli rol oynayan minerallerin seviyelerinin yükselmesinde çok büyük etkileri bulunmaktadır (Devirian ve Volpe, 2003).

Bor antioksidant özelliği ile ateroskleroz hastalığının önlenmesinde de etkili bir rol oynamaktadır (Naghii ve Samman, 1996, Devirian ve Volpe, 2003,).

1.2. Bor Toksisitesi

İnsanlarda ve hayvanlarda borik asit kısa sürede vücuttan uzaklaştırıldığından toksik etkisini yüksek miktarda maruz kalındığında göstermektedir (Devirian ve Volpe, 2003). Borun tek doz olarak alındığında öldürücü olma olasılığı oldukça düşüktür. Ancak bireylerde kan dolaşım bozukluğu, böbrek yetmezliği bulunuyor ise ölüm, yüksek doz alındıktan sonra birkaç gün içinde görülmektedir (Devirian ve Volpe, 2003).

Bor zehirlenmesi ile ilgili birçok vaka raporu bulunmaktadır. Bunlar arasında en spesifik vakalar şunlardır;

Bir vaka raporunda 34 haftalık hamile bir bayanın kazara 70 gr borik asidi oral yolla alması sonucu 2 saat içinde düşük yaptığı bildirilmiştir. Fetüsün kalp durması ve dolaşım bozukluğu sonucu öldüğü düşünülmektedir (Fail ve ark., 1998).

Diğer bir vaka raporunda ise 24 gr üzerinde borik asit alarak intihar girişiminde bulunan 44 yaşındaki bir bayanda borik asidi alımından sonra 2 gün boyunca eksofoliyatif dermatit ve mide bulantısı görüldüğü ve sıvı terapisiyle hastanın kurtarıldığı bildirilmiştir (Fail ve ark., 1998).

Borik asidin rapor edilen en düşük letal dozu; oral maruziyette 640 mg/kg; dermal maruziyette 8600 mg/kg; intravenöz injeksiyon ile 29 mg/kg olarak

bildirilmiştir (WHO, 1998, EVGM, 2002, U.S. EPA, 2004,). Oral olarak borik aside maruz kalındığında borik asidin potansiyel letal dozu genellikle yetişkinler için 15 -20 gr, çocuklar için 5 -6 gr ve bebekler için 2 -3 gr olarak bildirilmiştir (EVGM, 2002, EFSA, 2004, U.S. EPA, 2004).

Bora akut olarak maruz kalındığında kusma, mide bulantısı, ishal ve karın ağrısı başta olmak üzere konvülsiyon, yüksek ateş, merkezi sinir sisteminde bozukluk, renal tübüllerde hasar, deride kızarıklık, sarılık ve karaciğer fonksiyonunda anormallikler gibi semptomlar görülürken kronik olarak maruz kalındığında anoreksi, halsizlik, anemi, alopesi, dermatit, konvülsiyon ve gastrointestinal rahatsızlık gibi semptomlar görülmektedir (Gregory ve Kelly, 1997, Devirian ve Volpe, 2003, Boron, monograph, 2004, U.S. EPA, 2004).

1.2.1. Genotoksisite çalışmaları

Borun genotoksik etkilerini test etmek amacıyla yapılmış birçok standart genotoksisite ve mutajenite testleri bulunmaktadır (çizelge 1.5.). Uygulanan standart genotoksisite ve mutajenite testleriyle borik asidin bakteriyel ve memeli sistemlerde mutajenik ve genotoksik bir etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmaktadır. Ancak bugüne kadar bor maruziyetinin insanlar üzerindeki genotoksik etkilerinin yer aldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çizelge 1.5. Borun genotoksik etkileri ile ilgili çalışmalar.

Kimyasal	Test	Test Ortamı	KC S-9 Fraksiyonu	Sonuç	Kaynak
Borik Asit	Mutasyon testi	Escherischia Coli Sd-4		“negatif”	Szybalski, 1958
Borik Asit	Mutasyon testi	Salmonella Typhimurium	+/-	“negatif”	NTP, 1987
Borik Asit	Unscheduled DNA sentezi indüksiyonu	F344 Sıçan hepatositleri		“negatif”	Bakke, 1991
Borik Asit	Fare Lenfoma mutasyon testi	L5178Y Fare lenfoma hücreleri	+/-	“negatif”	NTP, 1987
Borik Asit	Kromozom hasar testi	CHO Hücrelerinde	+/-	“negatif”	NTP, 1987
Borik Asit	SCE Frekansı	CHO Hücrelerinde	+/-	“negatif”	NTP, 1987
Borik Asit	MN testi	Swiss-Webster Farelerinde, Kemik iliği eritrositlerinde		“negatif”	O’Loughlin ,1991

1.2.2. Bor maruziyetinin üreme (reproductive) ve gelişim (developmental) bozukluğu üzerine olan etkileri

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, borun aşırı veya düşük miktarda alınması sonucunda gelişim ve üreme üzerine etkili olabileceği gösterilmiştir (Murray, 1995).

1.2.2.1. Bor maruziyetinin gelişim bozukluğu üzerine olan etkileri

Borun gelişim toksisitesini öğrenmek amacıyla tavşan, fare ve sıçanlar üzerinde yapılmış olan çalışmalar ile en hassas türün sıçan olduğu açıklanmıştır (çizelge 1.6.) (Murray, 1995, Price ve ark., 1996a, IPCS, 1998, Pahl, ve ark., 2001, HERA, 2005). Bor toksik etkisini özellikle gelişen fetüs üzerinde göstermektedir (U.S. EPA, 2004).

Borun gelişim toksisitesini değerlendirmek amacıyla yapılmış olan çalışmalar arasında en fazla Price ve Heindel’ in yaptığı çalışmalar bulunmaktadır. Price ve ark.

(1994, 1996a) tarafından yapılan bir çalışmada sıçanlar borik aside maruz bırakıldıklarında doğum öncesi ve doğum sonrası oluşabilecek etkileri değerlendirmek amacıyla iki safhada yürütülen çalışmada; I. safhada borun teratojenik etkileri, II. safhada doğum sonrası borun gelişim üzerine olan etkileri incelenmiştir. I. safhada sıçanlar hamilelikleri boyunca (0-20 gün), II. safhada ise yavrular üzerindeki etkileri değerlendirmek amacıyla doğumdan sonraki 21. güne kadar değerlendirmeye alınmıştır. I. safhada sıçanlar hamilelikleri boyunca (0-20 gün) oral yolla 3,3 ; 6,3 ; 9,6 ; 13,3 ve 25 mg B/kg/gün borik aside maruz bırakılmışlardır. Maruz kalınan 13,3 ve 25 mg B/kg/gün dozlarda hamilelik sonrası doğan yavruların ağırlıklarının kontrol gruplarına göre daha düşük olduğu ve kemiklerdeki malformasyonların (13. kaburga kemiğinin kısalması ve kaburga kemiklerin dalgalı olması) arttığı gözlenmiştir. Bu çalışmada fetüsteki kilo kaybı temel alınarak NOAEL 9,6 mg B/kg/gün ve LOAEL 13,3 mg B/kg/gün olduğu belirtilmiştir.

II. safhada sıçanlar 3,2 ; 6,5 ; 9,7; 12,9 ve 25,3 mg B/kg/gün dozlarına maruz kalmışlardır. Çalışma sonunda yavruların vücut ağırlığının değişmediği, dalgalı kaburga kemiği ve ekstra kaburga kemiğin oluşmadığı yalnızca 25,3 mg B/kg/gün dozunda kısalmış XIII. kaburga kemiğine sahip yavruların yüzdelerinde bir artışın olduğu bildirilmiştir.

Farelerle yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar alınmıştır. Heindel ve ark. (1994, 1992) tarafından fareler hamilelikleri boyunca (0-17) oral yolla 0 ; 43,4 ; 79 ve 175,3 mg B/kg/gün dozlara maruz bırakılmışlardır. Çalışmanın sonunda hamile kalma oranlarının etkilenmediği yalnızca 79 ve 175,3 mg B/kg/gün dozlarda fetüsteki malformasyonların (13. kaburga kemiğin kısalması ve kaburga kemiğin dalgalı olması) kontrol gruplarına göre arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada fetüsteki kilo kaybı temel alınarak NOAEL 43,4 mg B/kg/gün ve LOAEL 79 mg B/kg/gün olduğu belirtilmiştir.

Borik asidin tavşanlardaki gelişim bozukluğu üzerine olan etkilerini tespit etmek amacıyla yine Price ve ark. (1996b) tarafından yapılan bir çalışmada tavşanlar hamileliklerinin 6 -19 günlerinde (organogenezis) oral yolla 0, 11, 22 ve 44 mg B/kg/gün dozlarına maruz bırakılmışlardır. Çalışmanın sonunda en yüksek doza (44

mg B/kg/gün) maruz kalan tavşanlarda doğum öncesi ölüm oranında ve ölü fetüse sahip dişilerin sayılarında bir artışın olduğu gözlenmiştir. Tavşanlarda en sık görülen anomaliler interventriküler septal defektleri içeren kardiyovasküler malformasyonlardır. Bu çalışma için NOAEL 22 mg B/kg/gün ve LOAEL 44 mg B/kg/gün olduğu belirtilmiştir.

9,6 mg B/kg/gün NOAEL değeriyle en hassas türün sıçan olduğu görülmektedir (çizelge 1.6.). İnsanlara en yakın tür yine sıçanlardır. Bundan dolayı borik asidin insanlarda gelişim bozukluğuna neden olabilecek dozlarının değerlendirilmesinde sıçanlardaki NOAEL değeri göz önüne alınmaktadır.

Borik asidin gelişen fetüs üzerine etkileri; mitozu inhibe etmesi ve kemik dokusuna doğrudan bağlanmasıyla kemiklerde malformasyonlara neden olduğu şeklinde açıklanmaktadır (Fail ve ark., 1998, U.S. EPA, 2004).

Çizelge 1.6. Borun gelişim bozukluğu üzerine olan etkileri için NOAEL ve LOAEL değerleri.

Tür	NOAEL ^a mgB/kg/gün	LOAEL ^b mgB/kg/gün	LOAEL değerinde gözlenen etkiler	Kaynak
Sıçan	9,6	13,3	Fetüste kilo kaybı; kemiklerde malformasyon	Price ve ark., 1996a, 1994
Fare	43,4	79	kemiklerde malformasyon	Heindel ve ark., 1992
Tavşan	22	44	Kardiyovasküler malformasyon	Price ve ark., 1996b

^aNOAEL (no observed adverse effect level, hiçbir advers etkinin gözlenmediği düzey);

^bLOAEL (lowest observed adverse effect level, gözlenen en düşük advers etki düzeyi).

1.2.2.2. Bor maruziyetinin üreme bozukluğu üzerine olan etkileri

Boraks ve borik asit ile köpek, fare ve sıçan gibi deney hayvanları üzerinde yapılan subkronik ve kronik çalışmalarla borat bileşiklerinin erkeklerde özellikle üreme sistemi üzerine toksik etki oluşturabileceği gösterilmiştir.

Dixon ve ark. (1976) tarafından yapılan bir çalışmada erkek sıçanlar boraksa akut olarak 0, 45, 150 ve 450 mg B/kg dozlara oral yolla maruz bırakıldıklarında

fertilite üzerine herhangi bir toksik etki ile testislerde herhangi bir lezyon gözlenmemiştir. Bu çalışma için NOAEL 450 mg B/kg olarak tespit edilmiştir. Yine Dixon ve ark. (1976) tarafından erkek sıçanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada sıçanlar subkronik olarak boraksa (90 gün) 0 ; 0,045 ; 0,14 ve 0,84 mg B/kg/gün dozlarda içtikleri su ile maruz bırakılmışlardır. Çalışmanın sonunda boraksın üreme üzerine herhangi bir toksik etkisi gözlenmemiş; folikül stimüle edici hormon (FSH) ve Lütinize edici hormonların (LH) plazma düzeyleri ile vücut ve testis ağırlıklarında da herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Hayvanlara verilen en yüksek dozda (0,84 mg B/kg/gün) dahi toksik etki gözlenmediğinden en yüksek doz (0,84 mg B/kg/gün) bu çalışmanın NOAEL değerini oluşturmaktadır. Her iki çalışmada dikkat edilmesi gereken nokta verilen dozların yüksek olduğu halde borik asidin üreme sistemi üzerine herhangi bir toksik etkisinin görülmemiş olmasıdır.

Weir ve Fisher (1972) tarafından yapılmış olan multijenerasyon çalışmasında erkek ve dişi sıçanlar boraks ve borik aside 0, ; 5,9 ; 17,5 ve 58,5 mg B/kg/gün dozlarda diyet ile maruz bırakıldıklarında 5,9 ve 17,5 mg B/kg/gün dozlarda üreme sistemi üzerinde herhangi bir toksik etki gözlenmezken 58,5 mg B/kg/gün doza maruz kalan tüm hayvanların steril olduğu görülmüştür. Erkek sıçanlarda testislerde atrofi ve sperm sayısında azalma; dişilerde ise ovulasyonda azalma gözlenmiştir. Weir ve Fisher (1972) tarafından boraks ve borik asit ile erkek sıçanlar üzerine yapılmış olan kronik çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yine 0, ; 5,9 ; 17,5 ve 58,5 mg B/kg/gün dozlarla yapılmış olan kronik çalışmada tümör gözlenmezken 58,5 mg B/kg/gün doza maruz kalan hayvanlarda testislerde atrofi gözlenmiştir. Her iki çalışma da NOAEL 17,5 mg B/kg/gün ve LOAEL 58,5 mg B/kg/gün olarak tespit edilmiştir.

Ku ve ark. (1993a) tarafından lezyon gelişimi ile testislerdeki bor konsantrasyonlarını karşılaştırmak amacıyla yapılmış olan bir çalışmada sıçanlar borik aside 0, 3000, 4500, 6000 ve 9000 ppm (0, 26, 38, 52 ve 68 mg B/kg/gün) dozlara 9 hafta boyunca oral yolla maruz bırakıldıklarında 3000 ve 4500 ppm dozlarında sperm oluşumunun inhibe edildiği gözlenirken 6000 ve 9000 ppm dozlarında atrofının olduğu gözlenmiştir. Testis dokusunda biriken ortalama bor düzeyi 5,6 µg B/g sperm oluşumunun inhibe edilmesine; 11,9 µg B/g düzeyi de atrofının oluşmasına neden olan bor düzeyleri olarak saptanmıştır. Bu çalışma için LOAEL 26

mg B/kg/gün olarak belirtilmiştir. Bu çalışmaya takiben Ku ve ark. (1993b), in vivo olarak borik asidin atrofiye neden olduğu aynı konsantrasyonlarıyla testis hücrelerini in vitro olarak maruz bırakarak farklı bir çalışma yapmışlardır. Yapılan çalışmada borik asidin erken evrede germ hücrelerin oluşmasını ve olgunlaşmasını olumsuz olarak etkilediği gözlenmiştir.

Boraks ve borik asitin üreme üzerine olan toksik etkileri köpeklerde de çalışılmıştır. Yapılmış olan çalışmalar da borat bileşiklerinin testis üzerine toksik etkiye neden olduğu gösterilmiştir (Weir, 1966a,b, 1967a,b, Weir ve Fisher, 1972). Ancak deneylerde kullanılan köpek sayısının yeterli sayıda olmaması ve oluşan etkilerin kontrol gruplarında da görülmüş olması köpeklerden elde edilen verilerin güvenilir olmadığı sonucuna varılmasına neden olmuştur.

Çizelge 1.7. Borun üreme bozukluğu üzerine olan etkileri için NOAEL ve LOAEL değerleri.

Tür	Maruziyet	NOAEL mgB/kg/gün	LOAEL mgB/kg/gün	Referans
Sıçan	Akut	450 ^a	-	Dixon ve ark., 1976
Sıçan	Subkronik	0,84	-	Dixon ve ark., 1976
Sıçan	Multijenerasyon	17,5	58,5	Weir ve Fisher, 1972
Sıçan	2 yıl	17,5	58,5	Weir ve Fisher, 1972
Sıçan	9 hafta	-	26	Ku ve ark., 1993a
Fare	sürekli çoğalma	27	111	Fail ve ark., 1991
Köpek	2 yıl	10,2	39,4	Weir, 1966a,b; 1967a,b
Köpek	38 hafta	-	29,2	Weir ve Fisher, 1972
Köpek	2 yıl	-	8,8	Weir ve Fisher, 1972

^a Maruziyet akut olduğundan kullanılan doz birimi mg B/kg dır.

Borik asit maruziyetinin üreme üzerine toksik etkileri konusunda yapılmış olan tüm çalışmalar ile borik asidin çok yüksek dozlarda maruz kalındığında üreme sistemi üzerine toksik etkiye neden olduğu; bor maruziyetine ara verildiğinde düşük dozlarda oluşan etkilerin kaybolduğu; borun üreme sistemi üzerindeki etki

mekanizması tam olarak bilinmemesine karşılık mevcut verilerle borun sertoli hücrelerini etkileyerek spermlerin olgunlaşmasını ve serbest kalmasını olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmaktadır.

1.2.3. Kronik çalışmalar

U.S. EPA, kimyasal maddeleri karsinojenik etkilerine göre 5 grup altında sınıflandırmıştır. Bunlar;

- Grup A: İnsanda karsinojenik etki gösterenler (human carcinogen)
- Grup B: İnsanda karsinojenik etki olasılığı olanlar (probable human carcinogen, B1 ve B2 olarak ikiye ayrılmaktadır)
- Grup C: İnsanda muhtemelen karsinojenik olanlar (possible human carcinogen)
- Grup D: İnsanda karsinojenik olarak sınıflandırılmayanlar (not classifiable as to human carcinogenicity)
- Grup E: İnsanda karsinojenik etki göstermeyenler (evidence of non-carcinogenicity for humans)

EPA bu 5 grup içerisinde borik asidi 1993 yılında “ Grup E ”, 1994 yılında da “ Grup D ” altında sınıflandırmıştır ki çizelge 1.8.’ de görüldüğü gibi hayvanlarla yapılmış olan subkronik ve kronik çalışmalarda borun kanserojenik bir etkiye neden olmadığı ancak yüksek dozlarda bora maruz kalan erkeklerde borun özellikle üreme sistemi üzerine toksik etkiye neden olduğu görülmektedir. Yapılmış olan kronik, subkronik, genotoksik ve mutajenik etkiler (bölüm 1.2.1.) ile ilgili tüm çalışmalar borun kanserojenik, genotoksik ve mutajenik etkisinin olmadığı yönündedir.

Kronik maruziyet ile ilgili yapılmış olan çalışmalar çizelge 1.8.’ de görülmektedir;

Çizelge 1.8. Borun kronik ve subkronik maruziyetleri ile ilgili yapılmış olan bazı çalışmalar (EVGM, 2002, IPCS, 1998).

Bileşik	Doz^a (mg B/kg/gün)	Etki	Kaynak
Borik asit (farede , oral yolla,13 hafta)	Erkek fareler için 0, 34, 70, 141, 281, 563; Dişi fareler için 0, 47, 97, 194, 388, 776 ^b	En yüksek dozlarda (erkek fareler için 563 mg B/kg/gün, dişi fareler için 776 mg B/kg/gün) % 60 üzeri mortalite; 281 mg B/kg/gün dozda da % 10 oranında mortalite (erkeklerde); 141 mg B/kg/gün dozda erkeklerde seminiferous tubullerinde dejenerasyon ve her iki cinste kilo kaybı görülmüştür. Tüm maruz gruplarında dalakta ekstrasmeduller haematopoiesis gözlenirken 563 ve 776 mg B/kg/gün dozlarda midenin hücre katının kalınlığında artış gözlenmiştir.	NTP, 1987
Borik asit (farede, oral yolla, 103 hafta)	0, 48, 96	En yüksek dozda erkeklerde 32 haftadan sonra % 10, dişilerde 52 haftadan sonra % 17 oranında kilo kaybı gözlenmiştir. Herhangi bir klinikal toksik etki görülmemiştir. Yalnızca her iki dozda da testislerde atrofi görülmüştür.	NTP, 1987
Borik asit (Sıçanda oral yolla, 30 gün)	0 ; 22,7 ; 57 ve daha yüksek dozlar ^c	Düşük dozda büyüme üzerine inhibisyon gözlenmemiştir. Ancak ≥ 57 mg B/kg/gün dozda büyümede yavaşlama gözlenmiştir. Hematolojik etki veya histolojik değişimler gözlenmemiştir.	Preiffer ve ark., 1945
Boraks (Sıçanda, oral yolla,198 gün)	0 ; 0,056 ; 0,28 ; 2,8 ; 28 ^d	98. günde dişilerin tüm maruz gruplarında pankreas/vücut oranında azalma gözlenirken 198.günde erkeklerde pankreas/vücut oranında artış gözlenmiştir.	Wang ve ark., 1984
Borik asit (Sıçanda oral yolla, 8 hafta)	0,95 ;3,65 ; 5,2 ; 9,9	5,2 ve 9,9 mg B kg/gün dozlarda kilo kaybı görülmüştür. Diğer toksik etkiler değerlendirilmemiştir.	Forbes ve Mitchell, 1957
Boraks & Borik asit (Sıçanda oral yolla, 90 gün)	0 ; 2,6 ;8,8 ; 26,3 ; 87,5 ; 262,5 ^e	En yüksek dozda % 100 mortalite; 87,5 ve 26,3 mgB/kg /gün dozlarda testisler - de atrofi; 87,5 mg B/kg/gün dozda kilo kaybı ve karaciğer, testis, böbrek ve dalak ağırlığında düşüş gözlenmiştir. Daha düşük dozlarda gözlenen kilo değişiklikleri verilen dozlara göre değişmediği gözlenmiştir.	Weir ve Fisher, 1972

Boraks & Borik asit (Sıçanda oral yolla, 2 yıl)	0 ; 5,9 ; 17,5 ; 58,5 ^a	58,5 mg B/kg/gün dozda her iki bor bileşiği büyümeyi geciktirmiştir. 58,5 mg B/kg/gün dozda testis ağırlığında ve testis/vücut ağırlık oranında düşüş, beyin/vücut ağırlığı ve beyin/tiroid ağırlık oranında artış; seminiferous epitelyu - munda atrofi ve tubuller büyüklüğünde ise azalma gözlenmiştir. Ancak daha düşük dozlarda herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir.	Weir ve Fisher, 1972
Boraks & Borik asit (Tavşanda oral yolla, 4 ay boyunca haftada 5 gün)	31	Serumdaki glutamik oksalaasetik asit transaminaz (SGOT) ve serum glutamik pirüvik transaminaz (SGPT) düzeylerinde artış, serum laktat dehidrojenaz ve aldolazda ılımlı bir artış gözlenmiştir. Katalaz ve amilaz düzeylerinde ise düşüş gözlenmiştir.	Verbitskaya, 1975
Sodyum metaborat (Farede, oral yolla, ömür boyu)	0, 095 ^e	Vücut ağırlığında ve ömrün uzaması üzerine herhangi bir etki gözlenmemiştir.	Schroeder ve Mitchener, 1975
Borik asit (Köpek- te, oral yolla, 104 hafta)	0 ; 1,4 ; 2,9 ve 8,8	Testislerde atrofi gözlenirken tümör gözlenmemiştir.	Weir ve Fisher, 1972
Borik asit (Köpek- te, oral yolla, 38 hafta)	0 ; 29,2	Spermelerde hareketsizlik gözlenirken tümör gözlenmemiştir.	Weir ve Fisher, 1972

^a Borun moleküler ağırlığı / bor bileşiğine oranlanarak günde vücut ağırlığının kg ağırlık başına / mg olarak bor bileşiğindeki dozun çarpılmasıyla hesaplanmıştır.

^b Maruziyetin 4. haftasında kontrol grubundaki erkekler için 161 g/kg/gün; dişiler için 222 g/kg/gün değerlerindeki gıda tüketim değerleri temel alınarak hayvanlara verilen dozlar tahmin edilmiştir.

^c Yazarlar tarafından rapor edilen 0,12 -0,14 ml/g değerlerindeki su tüketim değerleri temel alınarak hayvanlara verilen dozlar hesaplanmıştır.

^d Varsayılan 0,35 kg vücut ağırlığı kullanılarak hesaplanmış ve günlük olarak tüketilen su miktarı 19,5 ml olarak rapor edilmiştir.

^e Vücut ağırlığı 0,35 kg ve sıçanlarda 0,049 günlük su tüketimi veya gıda faktörü sıçanlarda 0,05 , köpeklerde 0,025 veya 0,03 kg vücut ağırlığı ve farelerde günlük su tüketimi 0,0057 referans değerleri varsayılarak dozlar hesaplanmıştır.

1.2.4. Epidemiyolojik çalışmalar

Borik asit maruziyeti ile ilgili yapılmış olan bazı epidemiyolojik çalışmalar aşağıdaki çizelge 1.9. ve çizelge 1.10.' da görülmektedir. Bu çalışmalarla borik asidin insanlarda üreme üzerine toksik etkisinin olmadığı sonucuna varılmaktadır.

Çizelge 1.9. Yurt dışında yapılmış olan epidemiyolojik çalışmaların sonuçları.

Yer		Maruziyet	Etki	Kaynak
Amerika (Borax madenleri)		İnhalasyon (Erkek madenciler)	542 kişide; Fertilité üzerinde etki yok. Kız çocuk doğumları daha fazla (ancak anlamlı değil)	Whorton ve ark. 1992, 1994a,b
Amerika (Borax madenleri)		İnhalasyon (Kadın madenciler)	68 kişide; Fertilité üzerinde etki yok.	Whorton ve ark. 1992
Kuzey Fransa	I.bölge	Oral (içme suyundaki bor konsantrasyonu; 0 - 0,09 mg/l)	Doğum oranı ‰ 13,49; ölüm oranı ‰ 9,82	Yazbeck ve ark. 2005
	II. bölge	Oral (içme suyundaki bor konsantrasyonu; 0,1 - 0,29 mg/l)	Doğum oranı ‰ 14,43; ölüm oranı ‰ 9,26	
	III.bölge	Oral (içme suyundaki bor konsantrasyonu > 0,3 mg/l)	Doğum oranı ‰ 17,30; ölüm oranı ‰ 8,83*	

* III. bölge için elde edilen doğum oranlarının, diğer bölgelerden (I. ve II. bölgeler) ve Fransa'nın genel popülasyonundan elde edilen değerlere göre daha yüksek olurken ölüm oranlarının da daha düşük olması borun insanlar üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olmadığını düşüncesini desteklemektedir.

Dünyadaki en büyük bor yataklarına sahip ülke Türkiye'dir. Ülkemizde borun en fazla olduğu iller ise Bursa, Eskişehir, Kütahya ile Balıkesir'in özellikle Bigadiç bölgesidir. Aşağıdaki çizelge 1.10' da görüldüğü gibi ülkemizde Şaylı ve ark. tarafından borun en fazla olduğu bölgelerde reproduktif etkilerin incelendiği çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda gerek içme suyu ile gerek solunan hava ile gerekse yiyecek ile yüksek oranda bora maruz kalan insanlar ile birebir görüşmeler yapılarak kendileri ve ailelerine yönelik bilgiler alınmıştır. Anket ile yapılmış olan çalışmalarda fertilité için ölü olarak doğmayan bebek sayısı göz önüne alınmıştır. Aşağıdaki çizelge 1.10' da görülen her bir çalışmadan elde edilen infertilité oranları, yapılmış olan her bir çalışma için seçilmiş kontrol bölgelerinden, yurdun diğer bölgelerinden ve yurdun dışında yapılmış olan çalışmalardan elde

edilen infertilite oranlarından daha yüksek bir değerde değildir. Yapılan bu çalışmalar ile borun üreme üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Şaylı ve ark., 1998a, Şaylı, 1998b, Şaylı ve ark., 2000, 2001, 2003). Ancak bölüm 1.2.2.2. ve çizelge 1.8.' de anlatıldığı gibi hayvanlar ile yapılmış olan çalışmalarda, hayvanlar yüksek oranda bora maruz kaldıklarında borun özellikle üreme sistemi üzerine olumsuz etkisi bulunduğu bilinmektedir. Bundan dolayı ülkemizde ve yurt dışında yapılmış olan epidemiyolojik çalışmalarda borun üreme sistemi üzerine olumsuz etkileri görülmemesine karşın hayvanlarda bu etkilerin görülmesi borun üreme üzerine etkileri konusunda bir tartışmanın yaşanmasına neden olmaktadır. Ancak unutulmamalıdır ki hayvanlar ile yapılan çalışmalarda verilen dozlar oldukça yüksek olup insanların bu dozlarda bora maruz kalma olasılıkları oldukça düşüktür. Yine de günümüzde bu konu ile ilgili tartışmalar halen devam etmektedir.

Çizelge 1.10. Bekir Sıtkı ŞAYLI yönetiminde ülkemizde bor ile ilgili yürütülmüş olan bazı reproduktif çalışmalar*.

Yer		Maruziyet	Proband analiz sonuçları ^a	Pedigri analiz sonuçları ^b	Kaynak
Bigadiç	I.bölge (İskele, Osmanca)	Oral (içme su - yundaki bor konsantrasyonu; 2,05- 29 mg/l)	159 kişide; infertilite oranı % 1,25.	1068 kişide; infertilite oranı %4,31. Kız çocuk doğum sayısı daha fazla (E/K; 0,89) (anlamli değil)	Şaylı ve ark., 1998a
	II.bölge (Değirmenci, Bademli, Kadıköy)	Oral (içme su- yundaki bor konsantrasyonu; 0,03 -0,4 mg/l)	154 kişide; infertilite oranı % 3,25.	610 kişide; infertilite oranı % 4,43. Erkek çocuk doğum sayısı daha fazla (E/K; 1,04) (anlamli değil)	
Balıkesir,		Oral (içme su – yundaki bor konsantrasyonu; 0,05- 29 mg B/l)	916 kişide; infertilite oranı % 3,17.	5934 kişide; infertilite oranı % 3,0.	Şaylı, 1998b
Kütahya,					
Eskişehir					
Balıkesir,		Oral (içme su- yundaki bor konsantrasyonu; 0,05 -29 mg B/l)	2197 kişide; infertilite oranı % 3.	12891 kişide; infertilite oranı % 3,2.	Şaylı ve ark., 2000
Bursa,					
Kütahya,		Oral - inhalasyon	2529 kişide; infertilite oranı % 3,1.	14320 kişide; infertilite oranı % 3,2.	Şaylı ve ark., 2003
Eskişehir					

^aProband: Aile analizi için gerekli olan bilgiler, anketteki soruların yanıtlanması ile elde edilmiştir ki bu soruları yanıtlayan ve her biri bir aileyi temsil eden kadın veya erkeğe proband denilmiştir.

^bPedigri analizi: 3 jenerasyondan oluşmaktadır. I. jenerasyon: Probandın ve proband eşinin ebeveyn kardeşlerini; II. jenerasyon: Proband ve probandın eşi ile birlikte her ikisinin kardeşlerini; III.jenerasyon: Proband ile eşinin ve her ikisinin kardeşlerinin çocuklarını temsil etmektedir.

*: Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen infertilite oranlarının hiç biri anlamli değildir.

1.3. Sitogenetik yöntemler

DNA üzerinde hasarların oluşmasına neden olan kimyasal maddelere karşı maruziyetin biyogöstergesi olarak çeşitli sitogenetik yöntemler kullanılmaktadır (Tucker ve Preston, 1996). Herhangi bir kimyasal maddeye maruz kalınması halinde oluşacak etkinin genotoksik olup olmadığının belirlenmesi amacı ile yapılan biyoizleme çalışmalarında en yaygın kullanılan testler Kardeş Kromatid Değişimi (SCE) ve Mikroçekirdek (MN) testleridir (Wulf, 1989).

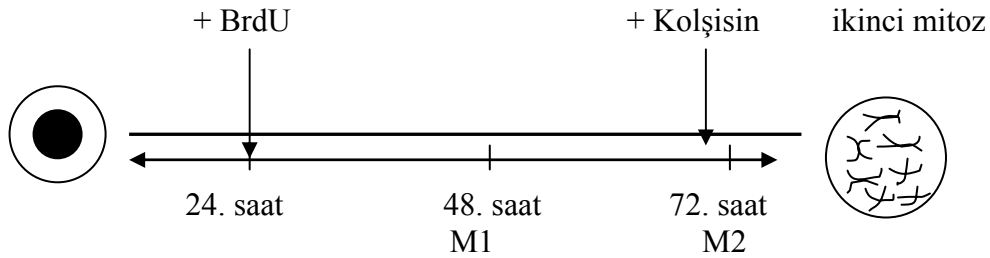
1.3.1. Kardeş Kromatid Değişimi (Sister Chromatid Exchange, SCE)

Yöntemi

Doğada yaygın bir şekilde oluşan Kardeş Kromatid Değişimi (SCE) (Reyes ve Ramirez, 2003), bir kromozomun iki kardeş kromatidinin özdeş lokusları arasında karşılıklı olarak genetik materyalin değişim esasına dayanmasına rağmen (Hagmar ve ark., 2001, Baltacı ve Zeyneloğlu, 2004) oluşum mekanizması tam olarak bilinmeyen bir olgudur (Wulf, 1989, Bender ve ark., 1992, Cardoso ve ark., 2001, Reyes ve Ramirez, 2003, Baltacı ve Zeyneloğlu, 2004). Ancak son yıllarda yapılmış olan çalışmalar ile SCE' nin hücre döngüsünün S fazında meydana gelen DNA replikasyon aşamasında, hasarlı DNA' nın homolog rekombinasyon onarımı (Homologous Recombinational Repair, HRR) ile onarılması esnasında oluştuğu düşünülmektedir (Sonoda ve ark., 1999, Matsuoka ve ark., 2004). HRR, her iki DNA zincirinde oluşan hasarlar nedeni ile DNA zincirlerinin, homolog ve sağlam bir DNA molekülünden gelen DNA zincirleri ile fiziksel olarak yer değiştirmesi sonucunda oluşmaktadır (Üstündağ, 2004). Sonoda ve ark. (1999) tarafından HRR' da majör genler olan RAD51 ve RAD54' ten yoksun DT40 B tavuk hücreleri ile yapılmış olan bir çalışmada mitomosin C nin indüklediği SCE frekanslarının, yaban tip (wild type) hücrelerinde gözlenen SCE frekanslarından anlamlı bir şekilde düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç SCE oluşumunda HRR' nin temel mekanizma olduğunu göstermektedir.

Genotoksik bir maddeye maruz kalınıp kalınmadığını belirlemek amacı ile kullanılan ve kromozom morfolojisini değiştirmeyen (Latt, 1974, Hagmar ve ark., 2001) yalnızca parça değişim esasına dayanan SCE yöntemi, küçük oranlardaki maruziyetleri tespit edebilecek düzeyde hassasiyetinin yüksek olması nedeniyle en çok kullanılan sitogenetik test metodlarından biridir (Perry ve Thomson, 1984).

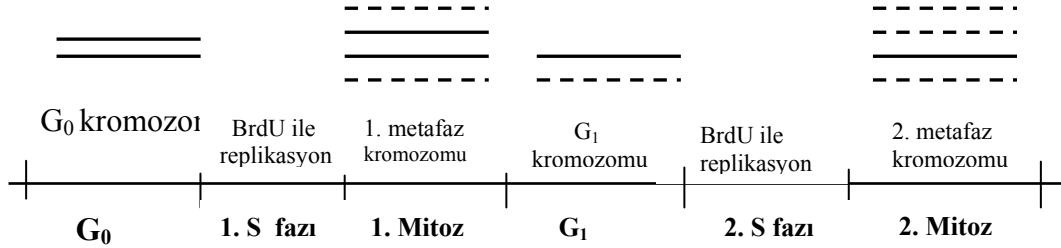
SCE testleri birçok farklı hücre grubunda yapılabiliyor olmasına rağmen biyoizleme çalışmalarında genellikle periferik kan lenfositleri kullanılmaktadır (Wulf, 1989, Bender, ve ark., 1992, Carbonell ve ark., 1995, Wu ve Wu, 1995, Melcher, 2000, Duydu ve ark., 2001, Emingel ve ark., 2002, Duydu ve ark., 2005). Şekil 1.1 ve Şekil 1.2’ de görüldüğü gibi periferik kan lenfositleri hücre siklusunun G_0 fazında iken lenfositleri stimule etmek amacıyla aspesifik bir antijen olan fitohemagglütinin kullanılarak bölünmeleri sağlanır. Fiksasyondan hemen önce hücre bölünmesini metafazın 2. mitozunda durdurmak amacı ile kolşisin ilave edilir (Perry ve Wolf, 1974, Wu ve Wu, 1995, Emingel ve ark., 2002, Reyes ve Pamirez, 2003, Baltacı ve Zeyneloğlu, 2004, Üstündağ, 2004).



Şekil 1.1. Lenfositlerin 72 saatlik inkübasyon süresinin farklı aşamaları. M1: 1. Mitoz; M2: 2. mitoz aşamaları ve BrdU ile kolşisin ilavesi (Üstündağ, 2004).

Kardeş kromatid değişimin gözlenebilmesi amacı ile kromozomlardaki kromatidleri birbirlerinden ayırt edebilecek bir boya ile boyanmaları gerekmektedir. Bu amaçla bir timin analogu olan bromodeoksiüridin (BrdU) kullanılır ve bölünmenin 24. saatinde hücre kültürüne ilave edilir (Şekil 1.1). BrdU, DNA’ nın ardarda oluşan iki replikasyon aşamasında timinin yerine DNA’ nın yapısına katılarak kardeş kromatidlerin farklı renkte boyanmalarını sağlar (Latt, 1974, Duydu ve ark., 2001, Emingel ve ark., 2002). BrdU, kromatidlerin tek bir DNA sarmalın yapısına katılması sonucu mikroskopta görülen renk daha koyu olurken, kromatidlerin her iki DNA sarmalının yapısına katılması rengin daha açık görülmesine neden olur (Şekil 1.2.). Genotoksik bir maddeye maruz kalınması

halinde koyu renkte görülen koldan bir parça, açık tonda görülen koldaki bir parça ile yer değiştirecektir (Wulf, 1989, Lakhanisky ve ark., 1993, Ortiz ve ark., 1994, Carbonell ve ark., 1995, Ponzenelli ve ark., 1997, Üstündağ, 2004).



Şekil 1.2. Hücre bölünmesi esnasında kromatidlerin farklı tonlarda boyanma mekanizması (Wulf, 1989).

Genotoksik bir maddeye maruz kalınıp kalınmadığını belirlemek amacı ile kullanılan SCE yöntemi, çok küçük oranlardaki maruziyetleri tespit edebilecek kadar duyarlı olmasına karşın kimyasal maddenin mutajenitesi veya kanserojenitesi hakkında belirleyici bir sonuç vermemektedir. Yapılmış olan çalışmalarda, bir bireyin veya bireylerin “SCE/Hücre” değerlerinin beklenen değerden daha yüksek bir değerde olması o bireyin veya bireylerin kanser olacaklarını göstermeye yetmemesiyle birlikte kanser vakalarında “SCE/hücre” değerlerinin yüksek olduğu görülmektedir (Wulf, 1989, Carbonell ve ark., 1995, Wu ve Wu, 1995, Hagmar ve ark., 2001, Üstündağ, 2004).

1.3.1.1. SCE’ yi Etkileyen Faktörler

SCE’ yi etkileyen faktörler; Fiziksel (Üstündağ, 2004) ve biyolojik faktörler (Wulf, 1989, Duydu ve ark., 2001, Üstündağ, 2004, Duydu ve ark., 2005) olarak iki grup altında toplanabilir.

1.3.1.1.1. Fiziksel Faktörler

- Besi yeri (medyum)
- BrdU konsantrasyonu
- Inkübasyon süresi
- Saklama koşulları
- Kültür ortamının sıcaklığı
- Antikoagülan seçimi (heparin kullanılır)

- Mitozun stimulasyonunda kullanılan kimyasallar
- Kolşisin kullanımı

1.3.1.1.2. Biyolojik Faktörler

SCE' yi etkileyen biyolojik faktörler iç ve dış nedenlerden kaynaklanabilir.

SCE' yi etkileyen iç kaynaklı biyolojik faktörler;

- Cinsiyet
- Yaş
- Genetik faktörler

SCE' yi etkileyen dış kaynaklı biyolojik faktörler;

- Sigara içimi
- Alkol tüketimi
- Diyet /yaşam alanı
- İlaç kullanımı
- Radyasyona maruz kalma
- Çeşitli hastalıklar

1.3.1.2. SCE Yönteminin Avantajları ve Dezavantajları

SCE yöntemin avantajları ve dezavantajları aşağıda görüldüğü gibi sıralanabilir (Üstündağ, 2004);

1.3.1.2.1. Avantajları

- Hücrelerin tek tek incelenebilmesi
- Hassasiyetin yüksek olması
- Hücre proliferasyon oranının (M1/M2/M3 oranının) belirlenebilmesi
- İstatistiksel olarak yüksek frekanslı hücrelerin (high frequency cells, HFC) değerlendirilebilmesi.

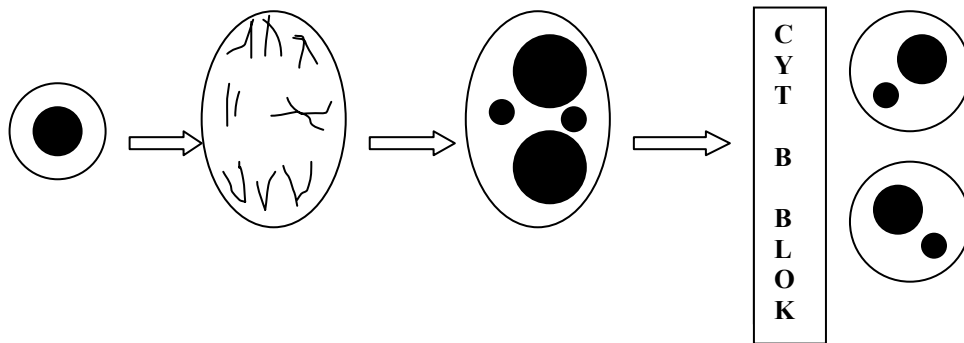
1.3.1.2.2. Dezavantajları

- Mutasyonları belirleyemez
- İn vitro hücre kültürüne ihtiyaç duyar (2 mitoz)
- BrdU ilavesine ihtiyaç vardır (BrdU ilavesi SCE frekansını etkiler)
- Zaman alıcıdır
- Ardı ardına iki S fazına ihtiyaç vardır.

1.3.2. Mikroçekirdek (Micronuclei, MN) Yöntemi

Genetik hasarların belirlenmesi amacı ile en çok kullanılan testlerden biri olan MN, bölünmekte olan hücrenin çekirdeğinden mitoz sırasında kopan kromozom parçalarının veya tam kromozomların görülmesine dayanan oldukça duyarlı bir yöntemdir (Tucker ve Preston, 1996, Fenech, 2000, Bonassi ve ark., 2001, Hagmar ve ark., 2001, Pastor ve ark., 2003).

MN testleri, periferik kan lenfositleri, eritrosit, fibroblast, epitelyal ve kemik iliği hücreleri gibi pek çok farklı hücre grubunda yapılabilir (Fenech ve ark., 1999, Volders ve Fenech, 2001) olmasına rağmen biyoizleme çalışmalarında genellikle periferik kan lenfositleri kullanılmaktadır. Periferik kan lenfositlerinin bölünmelerini stimüle etmek amacıyla aspesifik bir antijen olan fitohemaglutinin kullanılır (Fenech ve Morley, 1985, Fenech, 2000, Volders ve Fenech, 2001).

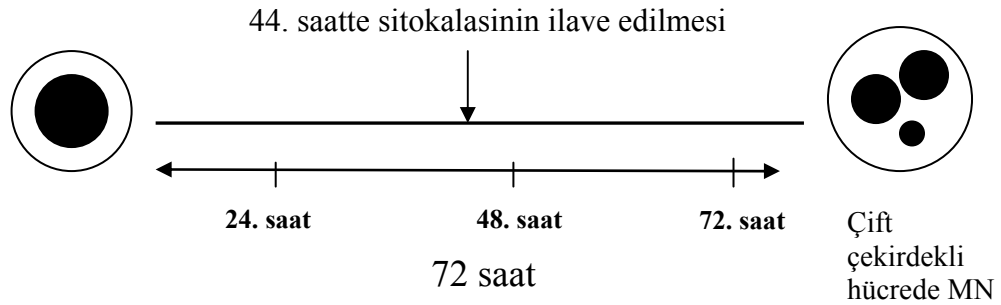


Şekil 1.3. Hücre bölünmesi sırasında mikroçekirdeklerin oluşumu (Fenech, 1993).

Yukarıdaki şekilde görüldüğü gibi mitoz bölünmenin anafaz evresinde sentrik kromozomlar kutuplara çekilirken, genotoksik hasar sonucu oluşan asentrik kromozomlar, kromozom parçaları veya tam kromozomlar kutuplara çekilemeyerek

geride kalırlar. Bu kromozomlar hücre bölünmesi sonunda sitoplazmada hücre çekirdeğinden ayrı olarak membranla çevrili bir yapı oluştururlar. Hücre çekirdeğinden daha küçük olan bu yapılara mikroçekirdek adı verilir (Tucker ve Preston, 1996, Fenech, 1993, Fenech, 1998a, Fenech, 2000, Volders ve Fenech, 2001).

Normal şartlar altında hücre bölünürken, önce çekirdek bölünmesi ardından sitoplazma bölünme aşaması gerçekleşerek iki hücre oluşur. Sitokinez blok MN (Cytokinesis-block MN, CBMN) yönteminde kullanılan sitokalsin, anafaz evresinde gerçekleşen sitoplazma bölünme aşamasını engeller (Fenech ve Morley, 1985, Fenech, 1993, Fenech ve ark. 1999, Bonassi ve ark., 2001, Hagmar ve ark., 2001, Fenech ve ark., 2003a, Fenech ve ark., 2003b, Pastor ve ark., 2003). 72 saatlik bölünmenin 44. saatinde sitokalsinin ilave edilmesi sonucu tek bir sitoplazma içinde iki çekirdek görülür. Genotoksik etki sonucu kromozomlarda bir kırılma meydana gelmişse kopan parça bir mikroçekirdek olarak iki çekirdekli hücre içerisinde görülebilir (Üstündağ, 2004). (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Hücre bölünmesi sırasında CBMN yöntemi ile iki çekirdekli hücrede mikroçekirdeğin (MN) görünüşü (Üstündağ, 2004).

İki çekirdekli hücre içerisinde görülen mikroçekirdekler, aşağıda sıralanan özelliklere sahiptirler (Fenech, 2000, Bonassi ve ark., 2001, Fenech ve ark., 2003a);

- Mikroçekirdekler morfolojik bakımından hücre çekirdeği ile aynıdır.
- Hücre çekirdeğine göre daha küçük yapıdadırlar.
- Şekilleri yuvarlak veya ovaldir.
- Çapları, bir hücre çekirdeğinin ortalama çapının 1/3 ile 1/16 değerleri arasında değişmektedir.
- Işık mikroskobu altında ışığı yansıtmadıklarından boya partikülleri gibi yapılardan kolayca ayrılırlar.

- Zaman zaman hücre çekirdeğine göre daha yoğun renkte olmalarına karşılık genellikle hücre çekirdeği ile aynı renktedirler.
- Hücre çekirdeği ile üst üste gelebilir veya hücre çekirdeğine değebilirler. Buna karşılık mikroçekirdeklerin sınırı, hücre çekirdeğin sınırı ile ayrılacak düzeyde belirgin olmalı ve hücre çekirdeği ile birleşik bir durumda olmamalıdır.

Dokulardaki MN frekansı ile kanser gelişimi arasında doğrudan bir ilişkinin olduğunu gösteren çok sayıda bulgular bulunmaktadır (Fenech ve ark., 1999). Bu bulgular;

- Kanserli hastaların periferik kan lenfositlerinde ve hedef dokularındaki MN frekansının belirgin bir şekilde artması
- Bloom sendromu ve ataksi telanjiektazi (ataxia telangiectasia) gibi hastalıkların görüldüğü bireylerde anormal derecede MN frekansının yükselmesi ile birlikte kanser olma riskinde de artışın görülmesi
- İyonizasyon radyasyonu, etilen oksit, benzen, sigara içimi gibi insan ve hayvanlarda MN frekansını yükseltebilen bazı ajanların genotoksikite ve karsinojenite arasında anlamlı bir korelasyonun olması

Tüm bu bulgular MN ile kanser arasında nedensel bir ilişkinin olabileceğini göstermektedir.

1.3.2.1. MN' i Etkileyen Faktörler

Yaş, cinsiyet ve sigara içimi başta olmak üzere diyetle alınan folat miktarının düşük olması, vitamin B12 ve homosisteinin plazmadaki düzeyleri MN' i etkileyen en önemli faktörlerdir (Fenech ve ark., 1994, Fenech ve ark., 1998a, Fenech ve ark., 1998b, Fenech ve ark., 1999, Bonassi ve ark., 2001, Pastor ve ark., 2003).

1.3.2.2. CBMN Yönteminin Avantajları

Sitokalsin kullanılarak yapılan MN yöntemi (CBMN) ile sitokalsin kullanılmadan yapılan MN yöntemi arasında önemli farklar bulunmaktadır. Sitokalsin kullanılmadan yapılan MN yönteminde mikroçekirdek hücrenin dışında kalabileceğinden oluşan mikroçekirdekleri saymak ve hücre proliferasyonu hakkında

bilgi edinmek oldukça zor olmaktadır (Fenech, 2000, Volders ve ark., 2003). Sitokalasin kullanılarak yapılan MN yönteminin aşağıda sıralanan avantajları bulunmaktadır (Fenech,1997, Fenech, 2000, Volders ve ark., 2003, Üstündağ, 2004);

- Bölünmeye uğramış hücreler ile bölünmeye uğramamış hücrelerin birbirinden ayrılmasını kolaylaştırır.
- Disentrik kromozomların, nükleoplazmik köprüler şeklinde tayinine olanak verir.
- Hücre proliferasyonu değerlendirilebilir.
- Oluşan mikroçekirdekler hücre içinde kalacağından mikroskop altında tayin edip saymak daha kolaydır.
- Doz –cevap ilişkisinin belirgin bir şekilde gözlenmesine imkan sağlar.

1.4. Tezin Amacı

Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda Bor'un genotoksik olduğuna dair bir bulguya rastlanmamıştır. Ancak bu çalışmaların büyük bir çoğunluğu in-vitro koşullarda ve hücre kültürlerinde gerçekleştirilmiştir. Ancak bor'a maruz kalan kişilerde yapılmış araştırma sonuçları oldukça sınırlıdır. Bu yüksek Lisans Tez Projesinde Balıkesir'in Bigadiç bölgesinde yaşayan insanlarda bor'un olası genotoksik etkilerinin SCE ve MN test yöntemleri ile tayin edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, doğduğundan beri bu bölgede yaşayan kişilerden kan örnekleri alınmıştır. Özellikle İskele bölgesindeki içme ve kullanma sularındaki yüksek bor konsantrasyonları nedeni ile (1,55 – 20,8 mg/l) bu bölgede yaşayan kişilerin yüksek oranda bor'a maruz kaldıkları düşünülmüştür. Buna göre bu bölgeden alınan kan örneklerinde (n=38) borun genotoksik etkileri araştırılmıştır. Kontrol grubu ise, yine Bigadiç yöresinde Bademli köyünde yaşayan bireyler arasından seçilmiştir. Bigadiç yöresindeki içme ve kullanma sularındaki bor konsantrasyonlarının çok düşük olması nedeni ile (0,07 – 0,2 mg/l) bu bölgeden alınan örnekler kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Bu çalışma sonrasında, bor maruziyetinin periferik kan lenfositlerde kardeş kromatid kırıklarının (SCE) artmasına veya mikroçekirdek (MN) sayısının artmasına neden olup olmadığı belirlenmiş olacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Kullanılan Maddeler

Sodyum pirüvat (Sigma, ABD)
 Fötal Calf Serum (Sigma, ABD)
 L – Glutamin – Penisilin –Streptomisin (Sigma, ABD)
 RPMI 1640 Medyum (Sigma, ABD)
 Bromodeoksiüridin (BrdU) (Sigma, ABD)
 Sodyum klorür (Merck, Almanya)
 Potasyum klorür (Merck, Almanya)
 Disodyum hidrojen fosfat (Merck, Almanya)
 Dipotasyum hidrojen fosfat (Merck, Almanya)
 Potasyum dihidrojen fosfat (Merck, Almanya)
 Hidroklorik asit (Merck, Almanya)
 Trisodyum sistrat (Merck, Almanya)
 Hoechst 33258 (Sigma, ABD)
 Sitrik asit (Merck, Almanya)
 Giemsa (Merck, Almanya)
 May -Grünwald (Merck, Almanya)
 Metanol (Merck, Almanya)
 Glasiyel asetik asit (Merck, Almanya)
 Kolşisin (Sigma, ABD)
 Sitokalsin – B (Sigma, ABD)
 Dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma, ABD)
 Fitohemaglütinin (Seromed, Almanya)

2.1.2. Kullanılan Aletler

Rotator (Labinco BV, Hollanda)
 İnkübatör (Nüve EN500, Türkiye)
 Laminar air flow (Faster, İtalya)

Vorteks (Nüve NM110, Türkiye)
 Otomatik otoklav (Sanyo, Japonya)
 Terazı (Sartorius, Türkiye)
 Hassas Terazı (Metler, İsviçre)
 Otomatik pipet (Sealpette, Finlandiya)
 Membran filtre (MFS, Japonya)
 Steril tüpler (TPP, İsviçre)
 Santrifüj (Hettich, Almanya)
 Su banyosu (Nüve BM101, Türkiye)
 UV lambası (Camag, İsviçre)
 pH metre (Jenway, BM)
 Lam, lamel (Menzel Glaser, Almanya)
 Mikroskop (Olympus Bx50, Japonya)

2.1.3. Kan Örneklerinin Sağlanması

Bu çalışmada kullanılan *kan örnekleri** doğduğundan beri Balıkesir'in Bigadiç bölgesinde yaşayan insanlardan alınmıştır. İskele köyündeki içme ve kullanma sularında yüksek oranda bor bulunduğu için bu bölgeden alınan kan örnekleri bora maruz kalan kişileri temsil etmektedir (n=38). Bigadiç ve Bademli yöresindeki içme ve kullanma sularındaki bor konsantrasyonları oldukça düşük olduğu için bu bölgede yaşayan insanlardan alınan kan örnekleri kontrol grubunu temsil etmektedir (n=38). Tüm kanlar analiz edilene kadar (en çok 24 saat) heparinli tüplerde ve +4°C bekletildi. Kan örnekleri alınan kişilerin bireysel özellikleri bulgular bölümünde verilmiştir. Aşağıda çizelge 2.1.' de kan örneklerinin alındığı bölgelerdeki içme ve kullanma sularında bulunan bor konsantrasyonları gösterilmiştir.

* Çalışmamızda kullanılmış olan kan örnekleri Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir Sağlık Yüksek Okulu öğretim üyelerinden Yard. Doç. Dr. Mehmet KORKMAZ tarafından (yürütmekte olduğu "İnsanların bir günde aldığı bor miktarının saptanması ve bunun insan sağlığına etkisinin belirlenmesi" isimli proje dahilinde Balıkesir Valiliğinden almış olduğu yetki ile) toplanmış ve anabilim dalımızdaki çalışmada kullanılmak üzere laboratuvarımıza göndermiştir. Valiliğin vermiş olduğu yetki belgesi tezin ek bölümünde yer almaktadır.

Çizelge 2.1. Kan örneklerinin alındığı bölgelerdeki içme ve kullanma sularında bulunan bor konsantrasyonları.

	Bor konsantrasyonu, mg/l	
	12 Mayıs, 2003	13 Haziran, 2003
Maruziyet grubu		
İskele, şehir suyu	1,55	2,02
İskele, İnce Mehmet kaynak suyu	5,66	5,69
İskele, Küçük kaynak suyu	12	12
İskele, Oluk kaynak suyu	5,75	6,31
İskele, Cuma kaynak suyu	20,8	18,9
İskele, Belediye önü kaynak suyu	6,72	5,95
Kontrol grubu		
Bademli, şehir suyu	0,07	0,2

2.2. Yöntem

2.2.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Medyum: 12 ml fötal calf serum, 2,6 ml sodyum piruvat ve 1 ml L – glutamin – penisilin/streptomisin steril bir tüpe alındı. RPMI 1640 ile 100 ml'ye tamamlandı. Buzdolabında + 4 °C'de saklandı.

BrdU: 30,7 mg BrdU 10 ml steril distile suda çözöldü (10 µM) ve steril süzgeçten filtre edildi. Çözelti ışık görmediğı sürece uzun süre dayanacağından koyu renkli bir şişede hazırlandı ve buzdolabında – 20 °C'de saklandı.

PBS: 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1, 44 g susuz Na₂HPO₄, 0,2 g susuz KH₂PO₄ tartıldı ve 800 ml distile suda çözöldü. Distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlandı. HCl ile pH: 7,4'e ayarlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

2XSSC: 8,77 g NaCl (0,3 M) ve 3,87 g trisodyum sitrat (0, 03 M) 100 ml distile suda çözöldü ve 500 ml'ye distile su ile tamamlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

Hoechst 33258 çözeltisi: 25 mg alındı ve 50 ml distile suda çözöldü ve 500 µg/ml'lik stok çözeltisi hazırlanmış oldu. Bu 500 µg/ml'lik stok çözeltisinden 1 ml alınıp 100 ml'ye PBS ile seyreltildi ve 5 µg/ml'lik bir çözelti elde edildi. Ömrü 2 gün olan bu 5 µg/ml'lik çözelti boyamada kullanıldı. Stok çözelti koyu renkli bir şişede ve alüminyum folyo ile sarılarak 0 – 4 °C' de saklandı.

Mcllvanes tamponu: 0,1 M susuz sitrik asit çözeltisi (A çözeltisi) ve 0, 2 M susuz disodyum hidrojen fosfat (B çözeltisi) hazırlandı. 80 ml A çözeltisi ve 920 ml B çözeltisi karıştırılarak elde edildi. 5 N NaOH ile pH: 8'e ayarlandı.

Giemsa Boyası: 0,01 M K₂HPO₄ ile 0,01 M KH₂PO₄ pH: 6,7 olacak şekilde karıştırıldı. 2 ml Giemsa alındı ve 100 ml' ye bu tampon çözeltisi ile tamamlandı.

Carnoy's çözeltisi: 3 kısım metanol ile 1 kısım glasiyel asetik asit karıştırılarak hazırlandı. Bu çözelti her seferinde taze hazırlandı ve mutlaka soğuk olarak (+ 4 °C) olarak kullanıldı.

Kolşisin çözeltisi: 15 mg/100 ml'lik stok çözeltisi hazırlandı ve buzdolabında saklandı. Bu çözeltiden 1 ml alındı ve 7,5 ml'ye seyreltildi ve bu seyreltik çözelti deneylerde kullanıldı.

KCI: 5,58 g KCl distile suda çözöldü ve 1000 ml'ye tamamlanarak 0,075 M' lık hipotonik çözelti hazırlandı.

May- Grünwald Giemsa: 5 ml May-Grünwald ile 5 ml giemsa çözeltisi alındı ve distile su ile hacim 100 ml' ye tamamlandı.

Sitokalasin – B: Dimetil sülfoksit (DMSO) otoklavda strelize edildildi ve 1 mg sitokalasin – B sterilize edilen 1,67 ml DMSO içinde çözüldü.

2.2.2. SCE Analizi

2.2.2.1. İnkübasyon

Heparinli tüplere alınan kan bir süre rotarda bekletildi. Laminar air flow altında steril tüplere 300 µl kan koyuldu. Daha önceden hazırlanan ve çalışmadan en az bir saat önce 37 °C'de bekletilerek ısıtılan medyumdan 2,5 ml tüplere ilave edildi. Lenfositlerin bölünmesini stimule etmek amacıyla 56 µl fitohemaglutinin ilave edildi. Laminar air flow altında tüplerin kapakları kapatıldı. Vortekste hafifçe karıştırıldı ve tüpler 37 °C'lik inkübatöre kaldırılarak 72 saatlik inkübasyon başlatıldı. 24. saatte tüpler inkübatörden alındı ve laminar air flow altında her bir tüpe 3 µl BrdU ilave edildi, vortekste hafifçe karıştırıldı. Işıktan korumak amacıyla tüpler, alüminyum folyo ile sarıldı ve ardından 37 °C'lik inkübatöre kaldırıldı. 68. saatte tüpler inkübatörden alındı ve laminar air flow altında her bir tüpe 75 µl kolşisin ilave edildi. Vortekste hafifçe karıştırıldı ve tüpler yeniden 37 °C' lik inkübatöre kaldırıldı.

72. saatte tüpler inkübatörden alındı ve 2000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 0,5 ml'ye kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı, ardından tüpler vortekslendi. Daha önce hazırlanan ve çalışmadan en az bir saat önce 37 °C'de bekletilerek ısıtılan 0,075 M KCl çözeltisi ile tüplerin hacmi 5 ml'ye tamamlandı ve tüpler 37 °C'lik inkübatörde 15 dakika bekletildi.

2.2.2.2. Fiksasyon

Tüpler inkübatörden alındı ve 2000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 1 ml' ye kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı, ardından tüpler vortekslendi. Çalışmadan bir saat önce taze olarak hazırlanıp buzdolabında bekletilerek soğutulan carnoy's çözeltisi vorteksleme esnasında pastör pipet

yardımıyla toplam hacim 5 ml oluncaya kadar ilave edildi. Tüpler bu şekilde buzdolabında 12- 24 saat bekletilerek 1. fiksasyon tamamlanmış oldu.

Tüpler buzdolabından alındı ve 2000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 1,5 ml kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı, ardından tüpler vortekslendi. Vorteksleme esnasında taze hazırlanan ve soğuk carnoy's çözeltisi ile hacim 5 ml'ye yavaşça tamamlandı. Tüpler buzdolabında 15 dakika bekletilerek 2. fiksasyon tamamlanmış oldu.

Tüpler buzdolabından alındı ve 2000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 1,5 ml kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı, ardından tüpler vortekslendi. Vorteksleme esnasında taze hazırlanan ve soğuk carnoy's çözeltisi ile hacim 5 ml'ye tamamlandı. Tüpler yeniden 2000 devirde 15 dakika santrifüj edildi ve böylece 3. fiksasyon tamamlanmış oldu.

Santrifüj edilen tüpler alındı ve süpernatant 1,5 ml kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı, ardından tüpler vortekslendi. Daha önceden deterjanla yıkanarak iyice kayganlaştırılan ve distile su ile yıkandıktan sonra distile su ile dolu bir şalede buzdolabında bekletilerek soğutulan lamalar üzerinde süpernatant 1 metrelik mesafeden damlatıldı. Lamlar ışıktan korunarak kurutuldu.

2.2.2.3. Boyama

Lamlar kuruduktan sonra PBS çözeltisi ile dolu şalenin içine daldırıldı ve bu şekilde karanlıkta 5 dakika bekletildi. Lamlar daha sonra yeni bir şaleye doldurulan Hoechst çözeltisi içine daldırıldı ve karanlıkta 15 dakika bekletildi. Daha sonra lamlar yeniden PBS çözeltisi ile dolu şalenin içine daldırıldı, 30 saniye bekletildi ve döküldü. Lamlar distile su ile dolu şale içine dizildi ve 3 kez distile su ile lamlar yıkandı. Son olarak her bir lam piset yardımıyla yıkandı ve kurutma kağıdı üzerine sıralandı. Ardından her bir lam, çalışmadan 1- 2 saat önce 60 °C'lik inkübatörde ısıtılan McIlvanes çözeltisi ile yıkandı. Lamlar üzerine 3- 5 damla McIlvanes çözeltisi damlatıldı ve üzerlerine lamel ile kapatılarak kenarları parafilmleildi. Bu şekilde lamlar bir kap içine dizildi, üzerlerine birkaç damla McIlvanes çözeltisi

damlatıldı ve 50 °C'lik su banyosuna yerleştirildi. 5 cm mesafeden UV lambası altında 10 dakika bekletildi. UV' den alınan lamaların üzerlerindeki lameller ve parafilmeler çıkartıldı. Lamalar distile su ile piset yardımı ile yıkandı ve kuruması için dik şekilde dizilerek bekletildi. Çalışmadan 1- 2 saat önce şaleye doldurulup 60 °C'lik inkübatörde bekletilerek ısıtılan SSC çözeltisi içine lamalar daldırıldı ve 10 dakika bekletildi. Lamalar distile su ile dolu şaleye dizildi, iki kez distile su ile lamalar yıkandı. Ardından lamalar hazırlanan giemsa çözeltisi ile dolu şalenin içine daldırıldı ve 10 dakika bekletildi. Lamalar yeniden distile su ile dolu şaleye dizildi, 4- 5 kez distile su ile lamalar yıkandı. Son olarak lamalar piset yardımıyla distile su ile yıkandı ve kuruması amacıyla dik şekilde dizilerek karanlıkta bekletildi.

2.2.2.4. Mikroskopta İnceleme

Her kan numunesine karşılık gelen lamlarda 100x/1,25 objektif ile immersiye yağ kullanılarak 50 adet II. metafaz hücrelerinde kardeş kromatid değişimleri sayıldı. 50 adet II. metafaz hücresindeki kırıkların ortalaması alındı.

Proliferasyon indeksini bulmak için I. metafaz (MI), II. metafaz (MII) ve III. Metafaz (MIII) hücreleri toplam 100 hücre olacak şekilde sayıldı.

$PRI = MI + 2 (MII) + 3 (MIII)/100$ formülüne göre PRI hesaplandı.

2.2.3. CBMN Analizi

2.2.3.1. İnkübasyon

Heparinli tüplere alınan kan bir süre rotarda bekletildi. Laminar air flow altında steril tüplere 300 µl kan koyuldu. Daha önceden hazırlanan ve çalışmadan en az bir saat önce 37 °C' de bekletilerek ısıtılan medyumdan 2,5 ml tüplere ilave edildi. Lenfositlerin bölünmesini stimule etmek amacıyla 56 µl fitohemaglutinin ilave edildi. Tüplerin kapakları laminar air flow altında kapatıldı. Vortekste hafifçe karıştırıldı ve tüpler 37 °C' lik inkübatöre kaldırılarak 72 saatlik inkübasyon başlatıldı. 44. saatte tüpler inkübatörden alındı ve laminar air flow altında her bir tüpe 15 µl sitokalsin- B ilave edildi, vorteksle hafifçe karıştırıldı. Işıktan korumak amacıyla tüpler alüminyum folyo ile sarıldı ve 37 °C' lik inkübatöre kaldırıldı.

72. saatte tüpler inkübatörden alındı ve 2000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 0,5 ml kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı, ardından tüpler vortekslendi. Daha önce hazırlanan ve çalışmadan en az bir saat önce 37 °C'de bekletilerek ısıtılan 0,075 M KCl çözeltisi ile tüplerin hacmi 5 ml'ye tamamlandı ve tüpler 37 °C'lik inkübatörde 15 dakika bekletildi.

2.2.3.2. Fiksasyon

Tüpler inkübatörden alındı ve 2000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 1 ml kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı, ardından tüpler vortekslendi. Çalışmadan bir saat önce taze olarak hazırlanıp buzdolabında bekletilerek soğutulan carnoy's çözeltisi vorteksleme esnasında pastör pipet yardımıyla toplam hacim 5 ml oluncaya kadar ilave edildi. Tüpler bu şekilde oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.

20 dakikalık sürenin ardından tüpler 2000 devirde 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant 1 ml kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı ve ardından tüpler vortekslendi. Vorteksleme esnasında taze hazırlanan ve soğuk carnoy's çözeltisi ile hacim 5 ml'ye yavaşça tamamlandı. Tüpler bu şekilde oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.

20 dakikalık sürenin ardından tüpler 2000 devirde 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant 1 ml kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı ve ardından tüpler vortekslendi. Vorteksleme esnasında taze hazırlanan ve soğuk carnoy's çözeltisi ile hacim 5 ml'ye tamamlandı. Tüpler yeniden 2000 devirde 15 dakika santrifüj edildi.

Santrifüj edilen tüpler alındı ve süpernatant 1 ml kalıncaya kadar pastör pipet yardımıyla atıldı, ardından tüpler vortekslendi. Daha önceden deterjanla yıkanarak iyice kayganlaştırılan ve distile su ile yıkandıktan sonra distile su ile dolu bir şalede buzdolabında bekletilerek soğutulan lamalar üzerine süpernatant damlatılarak yayıldı. Lamlar ışıktan korunarak kurutuldu.

2.2.3.3. Boyama

Lamlar kuruduktan sonra metanol çözeltisi ile dolu şalenin içine daldırıldı ve bu şekilde 10 dakika bekletildi. Daha sonra lamlar May-Grünwald Giemsa çözeltisi ile dolu şalenin içine daldırıldı ve 15 dakika bekletildi. Son olarak lamlar distile su ile 2-3 kez yıkandı ve yatay konumda dizilerek ve ışıktan korunarak kurumak üzere bırakıldı.

2.2.3.4. Mikroskopta İnceleme

Her kan numunesine karşılık gelen lamlarda 40x/0,65 objektif ile 1000 adet çift çekirdekli hücre içindeki mikroçekirdekler sayıldı.

Proliferasyon indeksini bulmak amacıyla (CBPI) bir çekirdekli (M1), iki çekirdekli (MII), üç çekirdekli (MIII) ve dört çekirdekli (MIV) hücreler toplam 500 hücre olacak şekilde sayıldı.

$CBPI = MI + 2 (MII) + 3 (MIII + MIV)/500$ formülüne göre CBPI hesaplandı.

2.3. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Yapmış olduğumuz çalışmada SCE, MN ve proliferasyon indeksi değerleri arasındaki önem kontrolünün yapılmasında, sırası ile Mann–Whitney U testi, χ^2 testi ve Student-t testi kullanılmıştır. Bu testlerin yapılması esnasında Microsoft Office Excel 2003 ve SPSS for Windows 11 programları kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Kan örnekleri alınan kişilerin özellikleri ve alınan kan örnekleri ile tespit edilen ortalama SCE Değerleri

Çalışmamızda kullanılmış olan kan örnekleri, içme ve kullanma sularında çizelge 2.1.' de görülen konsantrasyonlarda bor içeren bölgelerde yaşayan insanlardan alınmıştır. Kan örnekleri alınan (Maruz kalan grup için n=38, Kontrol grubu için n=38) kişilerin özellikleri çizelge 3.1 ve çizelge 3.2.' de görülmektedir. Bölüm 2.2.2. ve 2.2.3.'de anlatıldığı şekilde SCE ve CBMN yönteminin uygulanması ile çizelge 3.1 ve çizelge 3.2.' de görülen "SCE/Hücre" ve "MN/1000 Çift Çekirdekli Hücre" değerleri elde edilmiştir. SCE yönteminin uygulanması esnasında, Bora maruz kalan ve kontrol grubuna ait PRI değerleri sırası ile 1,87 ve 1,77 olarak tespit edilmiş ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$, Student *t*-test). CBMN yöntemin uygulanması esnasında da, Bora maruz kalan ve kontrol grubuna ait CBPI değerleri sırası ile 1,36 ve 1,19 olarak tespit edilmiş ve yine aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$, Student *t*-test). Çizelge 3.1 ve 3.2 incelendiğinde sadece bora maruz kalan grupta 2 kişinin alkol kullanıyor olduğu görülecektir. Kontrol grubunda ise alkol kullanan birey bulunmamaktadır. Bu nedenle elde edilen SCE ve MN değerlerinin alkol kullanımı ile etkilenip etkilenmediğine dair istatistiksel bir değerlendirme yapılmamıştır.

Çizelge 3.1. Bora maruz kalan (İskele Bölgesi) kişilerin özellikleri ve alınan kan örnekleri ile tespit edilen ortalama SCE ve MN değerleri.

Sıra No.	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş	Alkol	Sigara	Hastalık	İlaç	SCE/Hücre	MN/1000 Çift çekirdekli hücre
1	FK	K	48	-	-	-	-	7,78	11
2	ZÇ	K	46	-	-	Ülser	Adını Bilmiyor	7,34	10
3	GA	K	65	-	-	Astım, Bronşit	Adını Bilmiyor	6,86	10
4	NA	E	72	-	-	-	-	7,00	12
5	ZB	K	45	-	-	-	Kolesterol Düşürücü	6,42	*
6	GA	K	58	-	-	Tansiyon, Romatizma	Adını Bilmiyor	11,00	12
7	FB	K	45	-	-	Tansiyon	Adını Bilmiyor	4,35	11
8	ŞA	K	50	-	-	Şeker, Tansiyon	Adını Bilmiyor	9,56	7
9	GÇ	K	27	-	-	-	-	4,76	11
10	ZK	K	52	-	-	-	-	7,30	12
11	RI	K	46	-	-	Şeker	İnsülin	8,29	12
12	AA	E	42	+	-	-	-	8,88	9
13	SK	K	44	-	-	-	-	3,00	10
14	FD	K	73	-	-	Tansiyon, Osteoporoz	Adını Bilmiyor	*	10
15	ME	E	31	-	+	-	-	7,62	6
16	BK	E	48	-	-	-	-	4,81	7
17	ME	E	53	-	-	Migren	-	8,82	9
18	EK	E	35	+	+	-	-	7,02	11
19	EÇ	K	50	-	-	Osteoporoz	Adını Bilmiyor	7,24	9
20	EK	K	44	-	-	-	-	6,26	11
21	HK	K	35	-	-	-	-	7,14	6
22	ZB	K	30	-	+	-	-	*	6
23	ŞK	K	50	-	-	-	-	7,88	11
24	RÖ	E	48	-	+	-	-	8,26	9
25	ZD	K	55	-	-	Kalp, Tansiyon	Adını Bilmiyor	*	9
26	ME	E	34	-	-	-	-	6,70	12
27	NK	K	46	-	-	-	-	7,48	8
28	AK	K	74	-	-	-	-	9,64	10
29	AD	E	69	-	-	Tansiyon	Adını Bilmiyor	9,34	10
30	HD	K	36	-	-	-	-	6,30	10
31	MS	E	72	-	-	-	-	5,94	8
32	SK	E	51	-	-	-	-	7,69	8
33	CB	K	46	-	-	Depresyon	Zanax	8,13	11
34	ND	E	42	-	+	-	-	8,30	8
35	HÇ	E	73	-	-	Kalp	Diltizem	6,46	9
36	HA	K	74	-	-	Tansiyon	Adını Bilmiyor	7,41	13
37	MM	E	34	-	+	-	-	8,18	12
38	AÇ	K	60	-	-	Kalp	Adını Bilmiyor	5,75	13
Ortalama:								7,28	9,81
Standart Sapma:								1,60	1,94

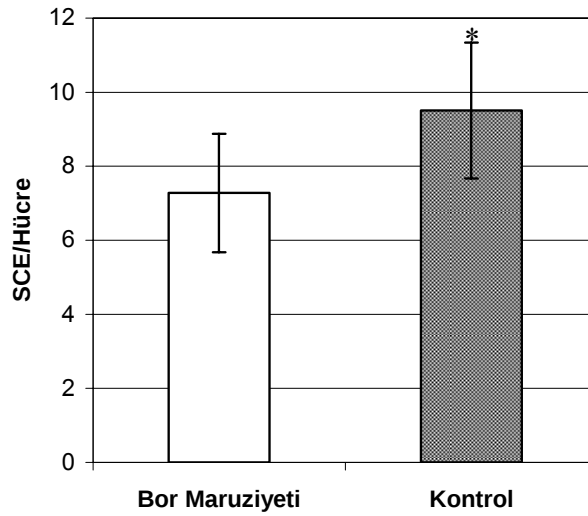
* : Çeşitli sebeplerle SCE veya MN değerleri değerlendirilemedi.

Çizelge 3.2. Kontrol grubundaki kişilerin (Bademli bölgesi) özellikleri ve alınan kan örnekleri ile tespit edilen ortalama SCE ve MN değerleri.

Sıra No.	Adı Soyadı	Cinsiyeti	Yaş	Alkol	Sigara	Hastalık	İlaç	SCE/Hücre	MN/1000 Çift çekirdekli hücre
1	FK	K	54	-	-	-	-	10,96	22
2	FK	K	67	-	-	Şeker	İnsülin	6,08	14
3	FK	K	76	-	-	-	Coversil, Diltizem, Monoket	7,80	17
4	FK	K	53	-	-	Şeker, Kolesterol	Amaryl, Lipofen	10,40	23
5	FG	E	59	-	+	-	-	8,62	24
6	FK	K	55	-	-	-	-	7,46	18
7	FK	E	68	-	-	-	-	7,74	23
8	FK	K	55	-	-	-	-	7,54	28
9	FK	K	52	-	-	-	-	10,42	24
10	FG	K	60	-	-	-	-	9,00	24
11	FA	K	53	-	-	-	-	9,88	20
12	HI	K	54	-	-	-	-	11,28	19
13	AI	K	72	-	-	-	Dideral, Coraspin	9,38	21
14	VÖ	K	30	-	-	-	-	9,96	28
15	MÖ	K	44	-	-	-	-	*	17
16	AF	K	-	-	-	-	-	9,04	21
17	AS	E	41	-	-	-	-	10,68	16
18	AO	K	38	-	-	-	-	8,24	19
19	NE	K	36	-	-	-	-	8,60	24
20	FS	K	44	-	-	-	-	8,78	21
21	HÇ	E	50	-	-	-	-	6,80	22
22	HD	E	72	-	-	-	-	9,96	18
23	RD	E	50	-	+	-	-	11,72	21
24	MAO	E	71	-	-	-	-	12,87	21
25	YG	E	56	-	-	-	-	8,90	25
26	EÇ	K	51	-	-	-	Beloc	15,40	16
27	FŞ	K	50	-	-	-	Dilopin	7,75	*
28	HS	K	29	-	-	-	-	8,94	18
29	SS	K	46	-	-	-	Gingobil, Atarax, Tenoretic	9,36	21
30	EDY	K	45	-	-	-	-	8,80	30
31	AI	K	27	-	-	-	-	8,06	17
32	VD	E	53	-	+	-	-	9,02	18
33	CÇ	E	38	-	+	-	-	12,90	19
34	RS	E	29	-	+	-	-	10,82	15
35	SS	K	42	-	-	-	-	9,80	16
36	HA	E	33	-	+	-	-	9,22	23
37	AÇ	E	42	-	+	-	-	11,08	14
38	RK	E	30	-	+	-	-	8,18	15
Ortalama:								9,50	20,32
Standart Sapma:								1,83	3,98

* : Çeşitli sebeplerle SCE veya MN değerleri değerlendirilemedi.

Bor a maruz kalan (n= 35) ve kontrol (n=37) grubundan elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri sırası ile $7,28 \pm 1,60$ ve $9,50 \pm 1,83$ olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre istatistiksel bir değerlendirme yapıldığında, Maruziyet grubu ile Kontrol grubu arasındaki farkın anlamlı olduğu görülmekte (Mann-Whitney U-test, $p<0,05$) dolayısıyla da kontrol grubundaki bireylerin bora maruz kalan bireylerden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek ortalama SCE değerlerine sahip oldukları anlaşılmaktadır.



Şekil 3.1. Maruz kalan grup ile kontrol grubunun ortalama SCE değerlerinin karşılaştırılması (Bora maruz kalan grup ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır; *Mann-Whitney U-test, $p<0,05$).

3.1.1. Kan örnekleri alınan kişilerin bireysel özelliklerinin ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri

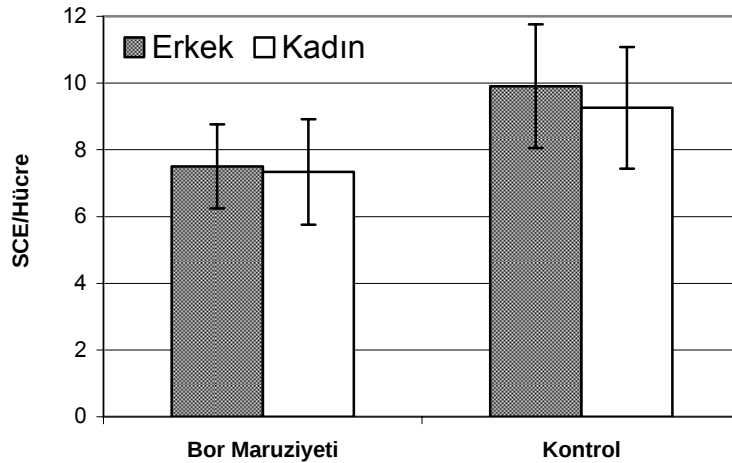
Bölüm 1.3.1.1.' de SCE' yi etkileyen iç ve dış kaynaklı biyolojik faktörlerden söz edilmiştir. Çalışmamızda bora maruz kalan grup ile kontrol grubunda tespit edilmiş olan ortalama SCE değerlerinin iç ve dış kaynaklı biyolojik faktörlerden etkilenip etkilenmediği de incelenmiştir. Ancak daha önce de söz edildiği gibi alkol kullanan kişi sayısının az (n=2) olması nedeni ile alkol kullanımının etkisi incelenmemiştir.

3.1.1.1. Örneklerdeki cinsiyet farkının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri

Çizelge 3.3 ve şekil 3.2.' de görüldüğü gibi bora maruz kalan grup ve kontrol grubundaki erkek ve kadınlar arasında ortalama SCE değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Mann Whitney U- test, $p > 0,05$).

Çizelge 3.3. Cinsiyet farkına göre maruz ve kontrol grubu için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri.

	Maruz grup		Kontrol grubu	
	Erkek (n=14)	Kadın (n=21)	Kadın (n=14)	Erkek (n=23)
Ortalama SCE/Hücre	7,50	7,34	9,26	9,91
Standart sapma	1,26	1,58	1,82	1,85



Şekil 3.2. Cinsiyet farkının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri. Maruz kalan grup ve kontrol grubunda kadın-erkek arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Mann Whitney U- test, $p > 0,05$).

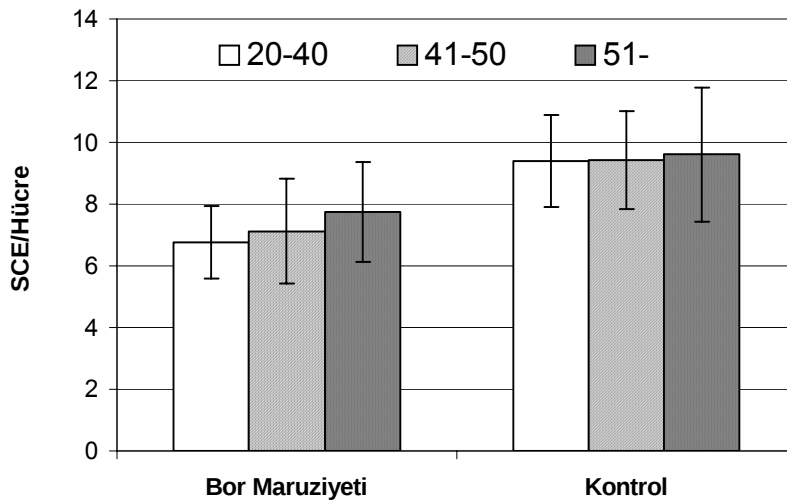
3.1.1.2. Örneklerdeki yaş farkının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri

Yaş farkının SCE/Hücre değerleri üzerine olan etkilerini değerlendirmek amacıyla maruz grup ve kontrol grubunu oluşturan kişiler yaşlarına göre 20 -40 , 41 -50 , 51 - şeklinde gruplandırılmıştır. Bu yaş gruplarına göre maruz ve kontrol grubu için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri çizelge 3.4. ve şekil 3.3.' de görülmektedir. Her yaş grubundan (20- 40; 41 -50; 51 -) elde edilen ortalama SCE/Hücre

değerlerine göre bora maruz kalan grupta ve kontrol grubunda yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Mann Whitney U- test, $p > 0,05$) (çizelge 3.4 ve şekil 3.3.).

Çizelge 3.4. Yaş gruplarına göre maruz ve kontrol grubu için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri.

	Maruz grup			Kontrol grubu		
	20 -40 (n=6)	41 -50 (n=17)	51 – (n=12)	20 -40 (n=10)	41 -50 (n=9)	51 – (n=18)
Ortalama SCE/Hücre	6,76	7,13	7,75	9,39	9,42	9,61
Standart sapma	1,19	1,71	1,62	1,49	1,59	2,17



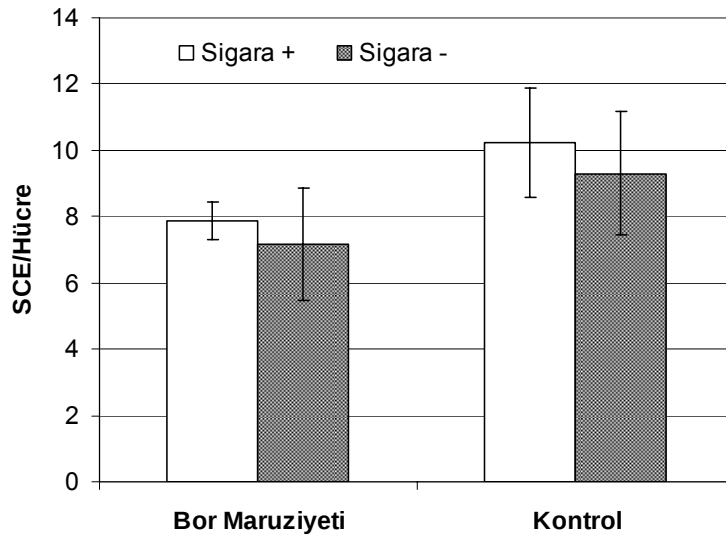
Şekil 3.3. Yaş farkının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri. Ortalama SCE/Hücre değerlerine göre yaş grupları arasında bora maruz kalan grupta ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Mann Whitney U - test, $p > 0,05$).

3.1.1.3. Örneklerdeki sigara içiminin ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri

Maruz ve kontrol grubundaki sigara içen ve içmeyen kişiler için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri çizelge 3.5. ve şekil 3.4.' de görülmektedir. Bora maruz kalan grupta ve kontrol grubunda sigara içen ile içmeyen kişiler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Mann Whitney U- test, $p > 0,05$) (çizelge 3.5 ve şekil 3.4.).

Çizelge 3.5. Maruz ve kontrol grubundaki sigara içen ile içmeyen kişiler için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri.

	Maruz grup		Kontrol grubu	
	Sigara içen (n=5)	Sigara içmeyen (n=30)	Sigara içen (n=8)	Sigara içmeyen (n=29)
Ortalama SCE/Hücre	7,86	7,18	10,22	9,31
Standart sapma	0,556	1,69	1,65	1,86



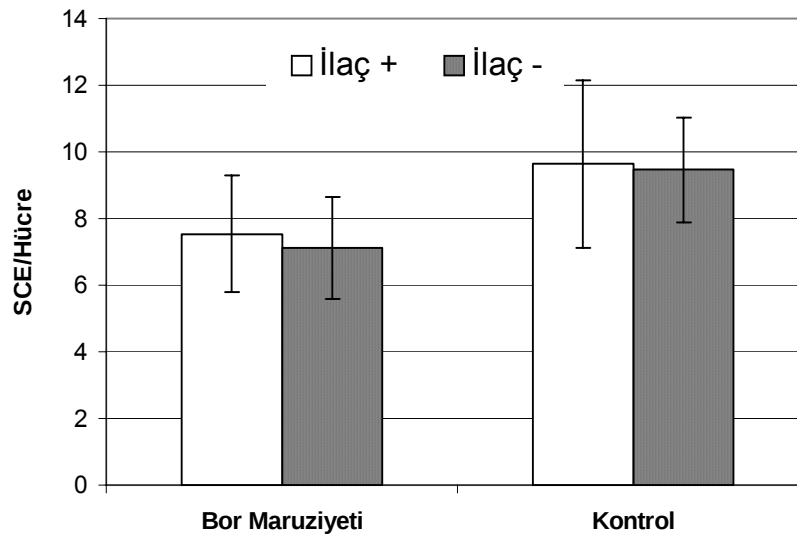
Şekil 3.4. Sigara içiminin ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri. Sigara içen ve içmeyen kişiler için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerlerine göre bora maruz kalan grup ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Mann Whitney U- test, $p > 0,05$).

3.1.1.4. Örneklerin ilaç kullanımının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri

Maruz ve kontrol grubundaki ilaç kullanan ile kullanmayan kişiler için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri çizelge 3.6. ve şekil 3.5.' de görülmektedir. Bora maruz kalan grupta ve kontrol grubunda ilaç kullanan ile kullanmayan arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Mann Whitney U- test, $p > 0,05$) (çizelge 3.6 ve şekil 3.5.).

Çizelge 3.6. Maruz grup ve kontrol grubundaki ilaç kullanan ile kullanmayan kişiler için elde edilen ortalama SCE/Hücre değerleri.

	Maruz grup		Kontrol grubu	
	İlaç kullanan (n=13)	İlaç kullanmayan (n=22)	İlaç kullanan (n=10)	İlaç kullanmayan (n=27)
Ortalama SCE/Hücre	7,54	7,13	9,63	9,46
Standart sapma	1,75	1,52	2,51	1,57

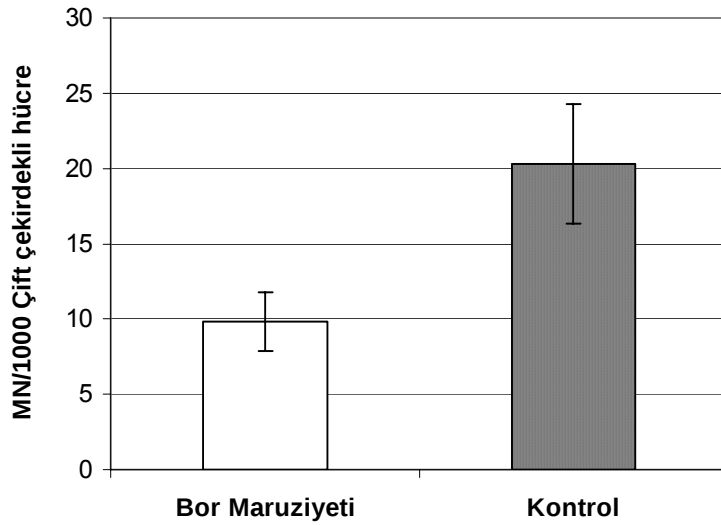


Şekil 3.5. İlaç kullanımının ortalama SCE değerleri üzerine olan etkileri. Maruz grupta ve kontrol grubunda ilaç kullanan ile kullanmayan arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Mann Whitney U- test, $p > 0,05$).

3.2. Kan örnekleri alınan kişilerde tespit edilen ortalama MN değerleri

Kan örnekleri alınan kişilerin özellikleri çizelge 3.1 (Bora maruz kalan örnekler) ve çizelge 3.2. de (Kontrol Grubu) gösterilmiştir. Bölüm 2.2.3.' de anlatıldığı şekilde CBMN yönteminin uygulanması ile çizelge 3.1 ve 3.2.' de görülen ortalama MN değerleri elde edilmiştir. Bora maruz kalan kişilerden alınan kan örneklerinde tespit edilen ortalama MN değerleri ($n=37$, $9,81 \pm 1,94$) ile kontrol grubunu oluşturan kişilerde tespit edilen ortalama MN değerleri ($n=37$, $20,32 \pm 3,98$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (şekil 3.6.). Ancak kontrol grubunda gözlenen ortalama MN değeri, bora maruz kalan kişilerden elde edilen ortalama MN değerinden göreceli olarak yüksektir.

MN sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi χ^2 testi ile yapılmıştır. Bu test gereğince $\chi^2 > 3,84$ olduğunda $p < 0,05$ olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda yer alan bora maruz kalan bireylerin ortalama MN değerleri ile kontrol grubundan elde edilen ortalama MN değerlerinin karşılaştırılmasında $\chi^2 = 3,67$ olarak bulunmuştur. Bu değer 3,84 den küçük olduğu için iki grup arasındaki fark anlamlı olarak değerlendirilememiştir. Ancak elde edilmiş olan değer anlamlı olmaya oldukça yakın bir değerdir.



Şekil 3.6. Maruz kalan grup ile kontrol grubun ortalama MN değerlerinin karşılaştırılması. ($p > 0,05$, χ^2 test).

3.2.1. Kan örnekleri alınan kişilerin bireysel özelliklerinin ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri

Bölüm 1.3.2.1.' de MN' i etkileyen başlıca faktörlere değinilmiştir. Buna göre, çalışmamızda bora maruz kalan grup ile kontrol grubunun ortalama MN değerlerinin karşılaştırılması ile birlikte cinsiyet, yaş, sigara içimi ve ilaç kullanımı gibi biyolojik faktörlerin ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri incelenmiştir.

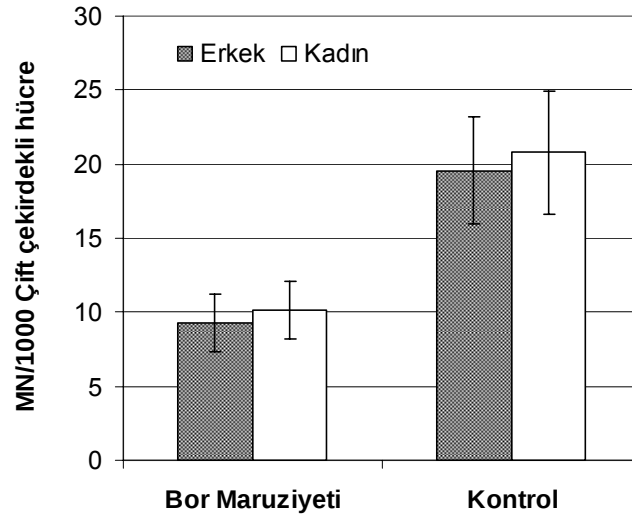
3.2.1.1. Örneklerdeki cinsiyet farkının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri

Çizelge 3.7. ve şekil 3.7.' de görüldüğü gibi bora maruz kalan grup ile kontrol grubunda yer alan erkek ve kadınlardan elde edilen ortalama MN değerleri arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$, χ^2 test) (çizelge 3.7. ve şekil 3.7.).

Çizelge 3.7. Cinsiyet farkına göre maruz grup ve kontrol grubu için elde edilen ortalama MN değerleri.

	Maruz grup		Kontrol grubu	
	Erkek (n=14)	Kadın (n=23)	Kadın (n=14)	Erkek (n=23)
Ortalama MN	9,29	10,13	20,78	19,57
Standart sapma	1,89	1,94	4,18	3,65



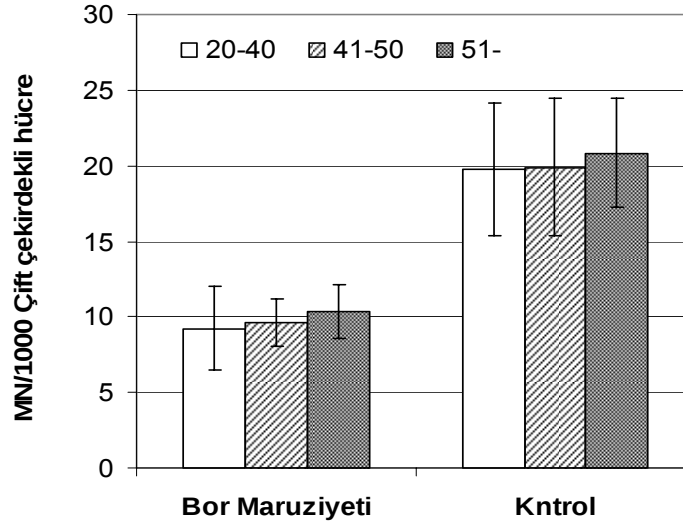
Şekil 3.7. Cinsiyet farkının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri. ($p>0.05$, χ^2 - test).

3.2.1.2. Örneklerdeki yaş farkının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri

Yaş farkının ortalama MN değerleri üzerine olan etkilerini değerlendirmek amacıyla maruz grup ve kontrol grubunu oluşturan kişiler yaşlarına göre 20 -40 , 41 -50 , 51 - şeklinde gruplandırılmıştır. Bu yaş gruplarına göre maruz ve kontrol grubu için elde edilen ortalama MN değerleri çizelge 3.8.' de görülmektedir.

Çizelge 3.8. Yaş gruplarına göre maruz ve kontrol grubu için elde edilen ortalama MN değerleri.

	Maruz grup			Kontrol grubu		
	20 -40 (n=8)	41 -50 (n=15)	51 – (n=14)	20 -40 (n=9)	41 -50 (n=10)	51 – (n=18)
Ortalama MN	9,25	9,6	10,36	19,78	19,9	20,84
Standart sapma	2,76	1,59	1,74	4,388	4,538	3,62



Şekil 3.8. Yaş farkının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri ($p > 0,05$, χ^2 test).

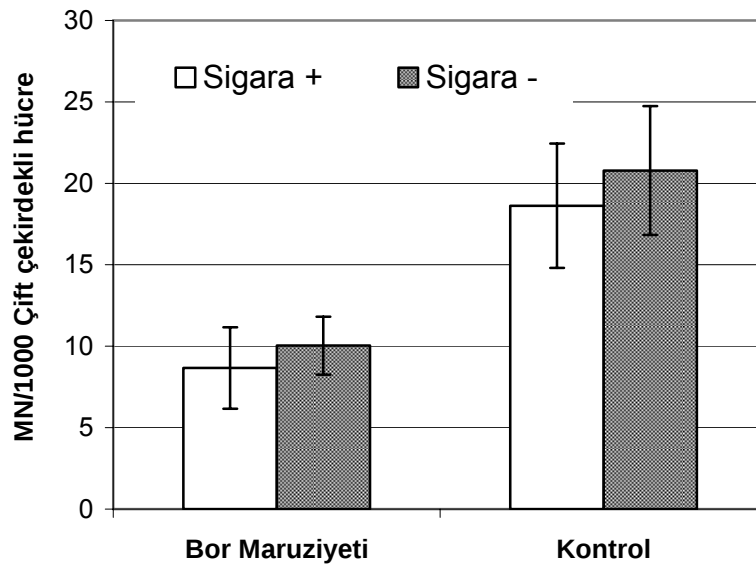
Her yaş grubundan (20- 40; 41 -50; 51 -) elde edilen ortalama MN değerlerine göre bora maruz kalan grupta ve kontrol grubunda yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (χ^2 test, $p > 0,05$) (çizelge 3.8 ve şekil 3.8.).

3.2.1.3. Örneklerdeki Sigara içimin ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri

Maruz ve kontrol grubundaki sigara içen ile içmeyen kişiler için elde edilen ortalama MN değerleri çizelge 3.9.' da görülmektedir. Bora maruz kalan grup ve kontrol grubunda sigara içen ve içmeyenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (χ^2 test, $p > 0,05$) (çizelge 3.9 ve şekil 3.9.).

Çizelge 3.9. Maruz grup ve kontrol grubundaki sigara içen ile içmeyen kişiler için elde edilen ortalama MN değerleri.

	Maruz grup		Kontrol grubu	
	Sigara içen (n=6)	Sigara içmeyen (n=31)	Sigara içen (n=8)	Sigara içmeyen (n=29)
Ortalama MN	8,67	10,037	18,62	20,79
Standart sapma	2,507	1,78	3,81	3,96



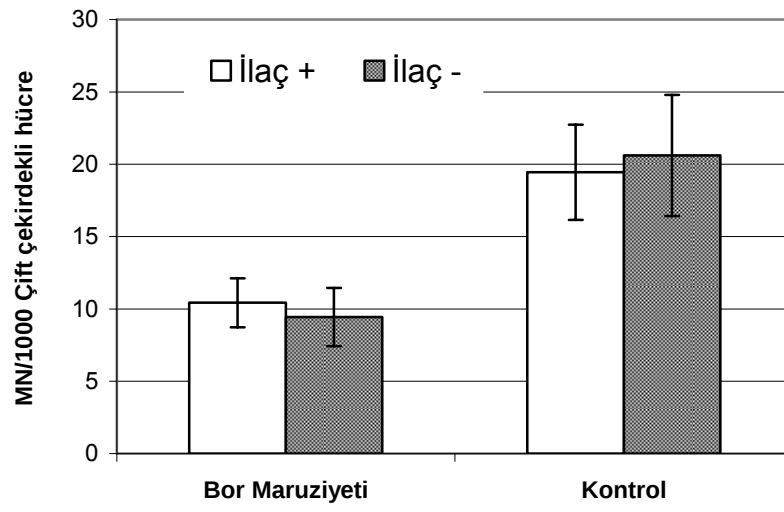
Şekil 3.9. Sigara içiminin ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri ($p>0.05$, χ^2 test,).

3.2.1.4. Örneklerdeki ilaç kullanımının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri

Maruz ve kontrol grubundaki ilaç kullanan ile kullanmayan kişiler için elde edilen ortalama MN değerleri çizelge 3.10.' da görülmektedir. Bora maruz kalan grupta ve kontrol grubunda ilaç kullanan ile kullanmayan arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$, χ^2 test) (çizelge 3.10 ve şekil 3.10.).

Çizelge 3.10. Maruz grup ve kontrol grubundaki ilaç kullanan ile kullanmayan kişiler için elde edilen ortalama MN değerleri.

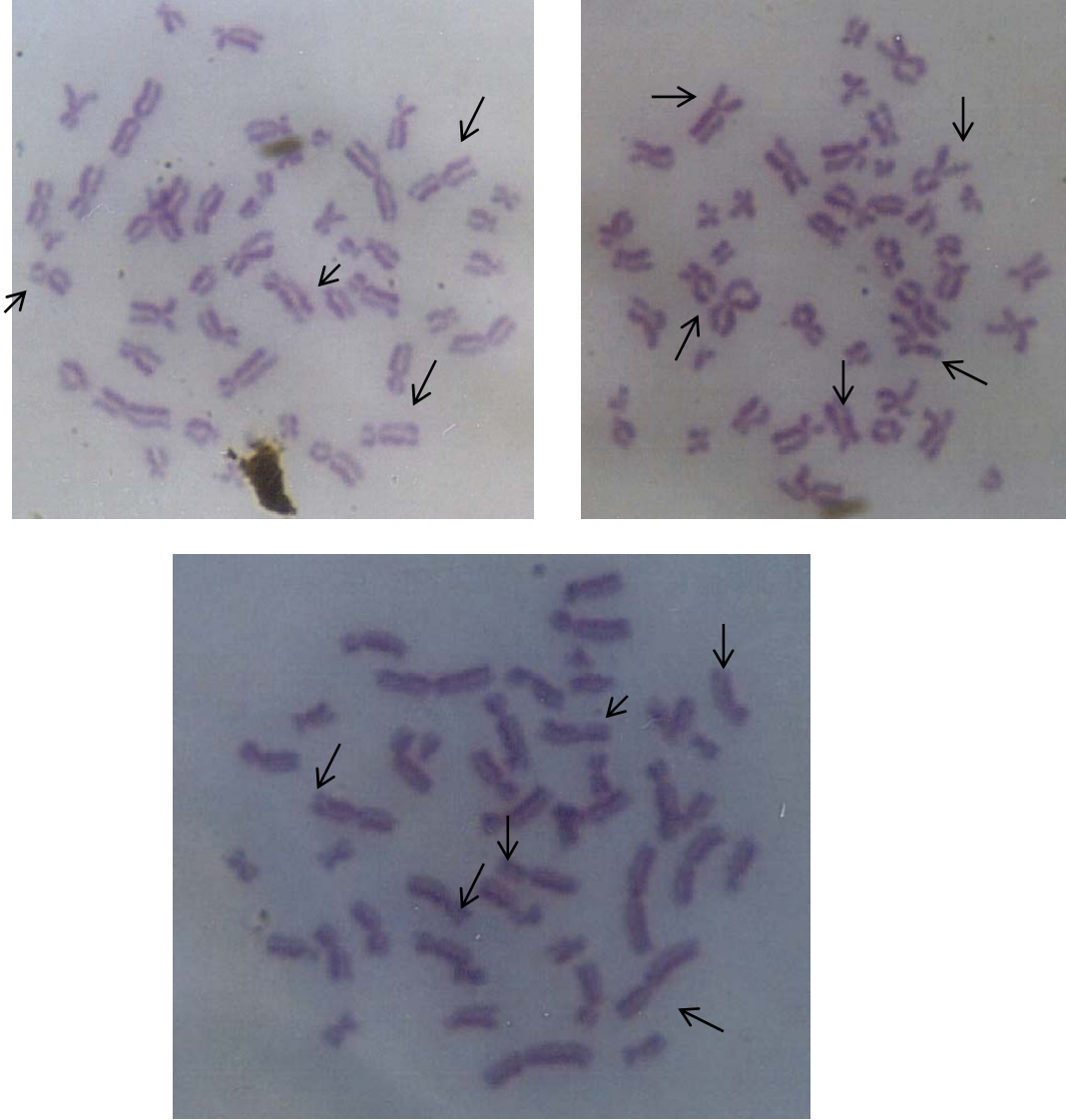
	Maruz grup		Kontrol grup	
	İlaç kullanan (n=14)	İlaç kullanmayan (n=23)	İlaç kullanan (n=9)	İlaç kullanmayan (n=28)
Ortalama MN	10,43	9,44	19,44	20,61
Standart sapma	1,69	2,02	3,28	4,19



Şekil 3.10. İlaç kullanımının ortalama MN değerleri üzerine olan etkileri ($p > 0,05$, χ^2 test).

3.3. Lenfositlerde Gözlenen Kardeş Kromatid Değişimlerinin (SCE) Işık Mikroskobu Altındaki Görüntüleri

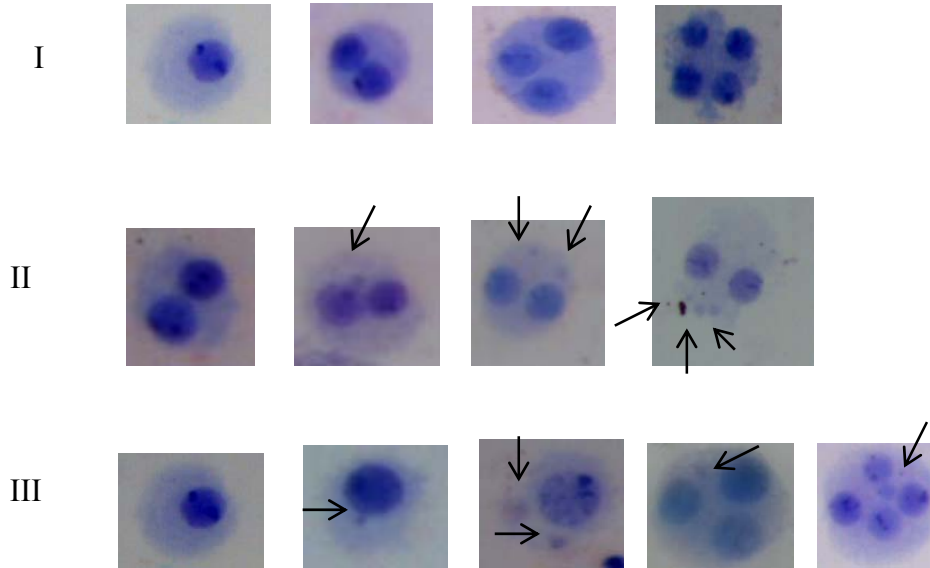
SCE analizlerinde kullandığımız II. Metafaz (M2) kromozomlarına ait ışık mikroskobu altındaki görüntüleri şekil 3.11.' de görülmektedir.



Şekil 3.11. SCE analizlerinde kullandığımız M2 kromozomlarının ışık mikroskobu altındaki görüntüleri. Oklar kardeş kromatid değişimlerini (SCE) göstermektedir.

3.4. Lenfositlerde CBMN yöntemi ile gözlenen MN' lerin Işık Mikroskobu Altındaki Görüntüleri

CBMN yönteminde değerlendirmeye alınan ve alınmayan mikroçekirdek görüntülerine ait örnekler şekil 3.12' de görülmektedir.



Şekil 3.12. CBMN yönteminde değerlendirmeye alınan ve alınmayan mikroçekirdeklerin ışık mikroskobu altındaki görüntüleri.

I: CBPI' in hesaplanmasında kullanılan bir, iki, üç ve dört çekirdekli hücreler.

II: İki çekirdekli hücredeki mikroçekirdekler sayılmıştır. Oklar değerlendirmeye alınan mikroçekirdekleri göstermektedir.

III: Bir ve birden fazla çekirdekli hücrelerdeki mikroçekirdekler sayıma dahil edilmedi. Oklar değerlendirmeye alınmayan mikroçekirdekleri göstermektedir.

4. TARTIŞMA

Yapmış olduğumuz çalışmada; içme ve kullanma suları (1,55 – 20,8 mg Bor/l) ile normalin üzerinde bora maruz kalan 38 kişinin periferik kan lenfositlerindeki kardeş kromatid değişimleri (SCE) ve mikroçekirdek (MN) sayıları tespit edilmiştir. Bu değerler, içme ve kullanma sularında düşük oranda bor içeren yörelerde (0,07 – 0,2 Bor mg/l) yaşayan bireyler arasından seçilen 38 kişilik kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Elde etmiş olduğumuz sonuçlar; içme ve kullanma sularında yüksek oranda bor bulunması nedeni ile bora maruz kalan bireylerde gözlenen SCE ve MN değerlerinin, kontrol grubunda yer alan bireylerden daha düşük olduğunu göstermektedir.

Elde etmiş olduğumuz sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, bora maruz kalan bireylerde gözlenen ortalama SCE/hücre değerinin ($7,28 \pm 1,60$), kontrol grubundaki bireylerden elde edilen ortalama SCE/hücre değerinden ($9,50 \pm 1,83$), istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir (Mann-Whitney U-test, $p < 0,05$). Bora maruz kalanlar bireylerdeki ortalama MN değerleri ($9,81 \pm 1,94$) ile kontrol grubundaki ortalama MN değerleri ($20,32 \pm 3,98$) karşılaştırıldığında yine bora maruz kalan bireylerde gözlenen ortalama MN değerlerinin daha düşük olduğu söylenebilmektedir. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (χ^2 test, $p > 0,05$).

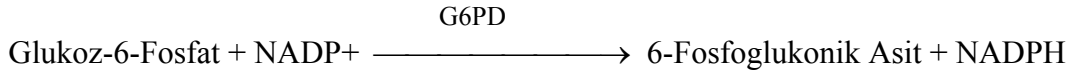
Herhangi bir kimyasal maddeye maruziyetin ve bu maruziyetin etkilerinin araştırılması hedeflenen çalışmalarda, öncelikli olarak yapılması gereken; araştırılan canlı popülasyonundaki bireylerin vücut sıvılarında (kan, idrar...) maruz kalınan kimyasal maddenin kantitatif olarak gösterilmesidir (maruziyetin biyoindikatörü). Bu yapıldığı takdirde kesin olarak araştırılan canlı popülasyonunun o kimyasal maddeye maruz kaldığı gösterilmiş olur. Ayrıca maruz kalınan kimyasal maddenin vücut sıvılarındaki konsantrasyonları da belirlendiğinde, araştırılan etkilerin hangi dozlarda ortaya çıktığı ve doz artışı ile birlikte etkilerin de artıp artmadığı (doz-cevap ilişkisi) gösterilebilir.

Çalışmamızda kullanılmış olan kan örnekleri, Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü ile Balıkesir Üniversitesi Bor Araştırma Merkezi'nin ortak bir projesi

olan “İnsanların bir günde aldıkları bor miktarının saptanması ve bunun insan sağlığına etkisinin belirlenmesi” isimli proje dahilinde Yard. Doç. Dr. Mehmet KORKMAZ tarafından alınarak analiz edilmek üzere gönderilmiştir. Gönderilmiş olan miktar sadece SCE ve MN analizi yapmaya yetecek miktarda olduğundan gönderilen kanlardaki bor miktarları tayin edilmemiştir. Dolayısıyla bu çalışmada içme sularında yüksek oranda bor içeren bölgelerde yaşayanlardan alınan kan örnekleri; bora maruz kalan bireyler olarak kabul edilmişlerdir. İçme sularında düşük oranda bor içeren bölgelerde yaşayanlardan alınan kan örnekleri de, kontrol grubu olarak kabul edilmişlerdir.

Çalışmamızda yer alan bireyler arasındaki cinsiyet farkının, yaş farkının, sigara kullanımı ve ilaç kullanımının, elde edilen ortalama SCE ve MN değerleri üzerinde etkili olup olmadığı da araştırılmıştır. Ancak yukarıda sayılan faktörlerin, bu çalışma için seçilmiş olan bireylerde gözlenen ortalama SCE ve MN değerleri üzerine olan etkilerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Buna göre, bora maruz kalan kişilerden elde edilen ortalama SCE ve MN değerlerinin kontrol grubuna göre düşük olmasının yukarıda incelenen faktörlerden kaynaklanmadığı anlaşılmaktadır. Yapılmış olan bu istatistiksel değerlendirmeler, içme sularında yüksek oranda bor içeren bölgelerde yaşayanlarda gözlenen daha düşük SCE ve MN ortalamalarının bor maruziyetinden kaynaklandığı ihtimalini güçlendirmektedir.

Çalışmamız esnasında kullanılmış olan kan örneklerine uygulamış olduğumuz sitogenetik testler (SCE, MN), neticede hücrenin genetik materyalinin görmüş olduğu hasar ile ilgili bilgi vermektedir. Bu çerçevede elde etmiş olduğumuz sonuçları yorumlayacak olursak; bora maruz kalan bireylerde gözlenen genetik hasarın çok daha düşük olduğunu söylemek mümkündür. Bu durumda borun oluşabilecek genetik hasarlara karşı koruyucu bir etkisinin olabileceği söylenebilir. Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalar böyle bir ihtimali güçlendirmektedir. Özellikle bor maruziyetinin “Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz” aktivitesini arttırdığı ve sonuçta NADPH oluşumunu indüklediği, sıçanlarda yapılan deneylerde gösterilmiştir. Buna bağlı olarak hücrelerde GSH miktarının (aşağıda gösterilen mekanizmaya bağlı olarak) artması sonucunda, hücreler toksik oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı korunabilmektedir (Samman ve ark.,1998, Devirian ve Volpe, 2003).



Hücrelerde GSH/GSSG oranının düşük olmasının, hücreleri oksijen radikallerinin oluşturabilecekleri hasarlara karşı daha duyarlı hale getirdiği bilinmektedir (Ercal ve ark. 2001). Buna bağlı olarak herhangi bir ksenobiyotik maruziyeti sonrasında hücrede lipid peroksidasyonunun başlaması ve oksidatif DNA hasarının meydana gelmesi ihtimali artmış olacaktır. Konu bu yönü ile ele alındığında, bor maruziyetinin hücre içinde GSH düzeyini yükseltebileceği ve buna bağlı olarak hücrelerde ksenobiyotik maruziyeti sonrasında oluşabilecek oksijen radikallerinin, lipid peroksidasyonunu veya oksidatif DNA hasarını indüklemesini önleyebileceği düşünülebilir. Buna göre yapmış olduğumuz çalışmada bora maruz kalan bireylerde görülen SCE ve MN değerlerinin kontrol grubuna göre düşük olması, borun hücrelerdeki GSH düzeylerini arttırabilmesinden kaynaklanmış olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Yukarıdaki bilimsel veriler ışığında yapmış olduğumuz bu değerlendirme eğer doğru ise, bu durumda ksenobiyotik maruziyeti sonrasında oluşabilecek genotoksik etkilere karşı borun koruyucu bir etkisinin olduğu düşünülebilir.

Yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçları yukarıdaki biçimde yorumlanabileceği gibi, bir başka şekilde yorumlanabilir;

Anabilim Dalımız Laboratuvarlarında çok uzun zamandan beri farklı meslek gruplarında, mesleki ve çevresel kimyasal maddelere maruziyetler sonucunda oluşan genotoksik etkiler SCE ve MN testleri kullanılarak yapılmaktadır. Doğal olarak bu çalışmaların her birinde de kontrol grupları kullanılmıştır. Bu nedenle elimizde daha önceki çalışmalara ait kontrol gruplarından elde edilen ortalama SCE ve MN değerleri mevcuttur. Bu çalışmalarda kontrol grubu için elde etmiş olduğumuz ortalama değerler SCE ve MN için sırasıyla “4-6 SCE/Hücre” ve “5-8 MN/1000 çift çekirdekli hücre” şeklindedir. Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında elde ettiğimiz değerleri, önceki çalışmalardan elde ettiğimiz bu değerlerle karşılaştırdığımızda, bu çalışmanın kontrol grubunda gözlenen ortalama SCE ve MN değerlerinin istatistiksel

olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmektedir (Mann-Whitney U-test, $p < 0,05$, χ^2 test, $p < 0,05$). Yani bu çalışmanın kontrol grubundan elde edilen ortalama SCE ve MN değerleri daha önce yapmış olduğumuz çalışmalardaki kontrol grubu ortalamalarından oldukça yüksektir. Böyle bir sonuç, bu çalışmada kontrol grubu olarak seçilen bireylerin yaşadıkları bölge itibarıyla genotoksik etkili bir kimyasal maddeye maruz kaldıklarını düşündürmektedir. Bora maruz kalan bireylerden elde etmiş olduğumuz ortalama SCE ve MN değerlerinin, daha önceki çalışmalarımızda kontrol grupları için elde etmiş olduğumuz ortalama SCE ve MN değerlerinden istatistiksel olarak bir farklılık göstermemesi de yukarıda sözü edilen bu varsayımı desteklemektedir (Mann-Whitney U-test, $p > 0,05$, χ^2 test, $p > 0,05$).

Sonuçta elde etmiş olduğumuz sonuçlar bu açıdan yorumlanacak olursa; Bora maruz kalan bireylerden elde edilmiş olan ortalama SCE ve MN değerleri, bizim daha önce yapmış olduğumuz çalışmalarda kontrol grubu olarak kullandığımız bireylerden elde edilmiş olan ortalama SCE ve MN değerlerinden istatistiksel olarak bir farklılık göstermemektedir. Bu durumda da Bor maruziyetinin ksenobiyotik maruziyeti sonucunda oluşabilecek genotoksik etkilere karşı ne ölçüde koruyucu olabileceği konusunda bir yorum yapabilmek mümkün olamayacaktır.

Yukarıdaki iki farklı yorumu bir arada düşünerek bir sonuç değerlendirmesi yapmak gerekirse aşağıdaki değerlendirmeyi yapmak mümkündür;

Kan numunelerinin (hem kontrol grubu bireylerinin hem de bora maruz kalan maruziyet grubu bireylerinin) toplandığı bölgelerde eğer SCE ve MN artışına sebep olabilecek bir başka kimyasal maddeye herhangi bir şekilde maruziyet söz konusu ise (böyle bir durum kontrol grubunda elde edilen yüksek SCE ve MN değerlerini de açıklayabilir) bu durumda bora maruz kalan bireylerden elde edilen düşük SCE ve MN değerleri, borun genotoksik maddelere maruz kalındığında koruyucu etkisinin olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Ancak kontrol grubu olarak seçilen bireyler, yaşadıkları bölge itibarıyla genotoksik bir kimyasal maddeye maruz kaldıkları halde, bora maruz kalan bireylerin yaşadığı bölgede aynı genotoksik kimyasal maddeye maruziyet söz konusu değilse bu durumda borun genotoksik etkilere karşı bir koruyucu etkisinden söz etmek mümkün olamayacaktır.

Görüldüğü gibi çalışmamızda özellikle kontrol grubu olarak belirlenen kişilerden elde etmiş olduğumuz yüksek SCE ve MN değerleri, elde etmiş olduğumuz sonuçların değerlendirilmesinde farklı yorumların yapılabilmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle sağlıklı bir değerlendirme yapabilmek için o bölgede daha detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçları; tartışma bölümünde söz edilen koşullar altında, borun kimyasal maddelere maruziyet sonrasında oluşabilecek genotoksik etkilere karşı koruyucu bir etkisinin olabileceğini göstermektedir. Ancak özellikle kontrol grubunu oluşturan bireylerde elde edilmiş olan yüksek SCE ve MN değerleri, sonuçların farklı şekillerde değerlendirilebilmesine sebep olabilmektedir. Bu nedenle daha sağlıklı bir değerlendirme yapabilmek için bu bölgede daha detaylı bir çalışmanın yapılması gerekmektedir. Öncelikle;

1. Kan numunelerinin alındığı bölgelerde SCE ve MN artışına sebep olabilecek genotoksik bir kimyasal maddeye maruz kalınıp kalınmadığının araştırılması. Böyle bir araştırma özellikle kontrol grubundaki yüksek SCE ve MN değerlerinin açıklanmasına yardımcı olacaktır.
2. Bundan sonraki çalışmalarda kontrol ve maruziyet grubu olarak seçilecek bireylerin kan ve idrarlarında mutlaka bor miktarının tayin edilmesi.

O bölgedeki bor maruziyetinin genetik materyal üzerine olan etkilerinin değerlendirilebilmesinde çok daha faydalı olacaktır.

ÖZET

Bor Maruziyetinin İnsanlar Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Araştırılması

Bu çalışmanın amacı bora maruz kalınması halinde, borun insanlar üzerinde genotoksik bir etkiye neden olup olmadığını araştırmaktır. Bu amaçla ülkemizde borun en fazla bulunduğu Bigadiç bölgesinde yaşayan insanlardan periferik kan örnekleri alınarak sitogenetik değerlendirmelerde en çok kullanılan yöntemler olan kardeş kromatid değişimi (sister chromatid exchange, SCE) ve mikroçekirdek (micronucleus, MN) test yöntemleri uygulanmıştır.

Yapmış olduğumuz bu çalışma esnasında, maruz ve kontrol grubu için ortalama SCE değerleri sırası ile $7,28 \pm 1,60$ ve $9,50 \pm 1,83$; ortalama MN değerleri ise sırasıyla $9,81 \pm 1,94$ ve $20,32 \pm 3,98$ olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre istatistiksel olarak bir değerlendirme yapıldığında kontrol grubu için tespit edilen ortalama SCE değerlerinin, maruz grup için tespit edilen ortalama SCE değerlerine göre daha yüksek olduğu ve her iki grubun ortalama SCE değerleri arasında anlamlı bir farkın olduğu görülmüştür (Whitney U-test, $p < 0.05$). Her iki grubun ortalama MN değerleri incelendiğinde ise kontrol grubu için tespit edilen ortalama MN değerlerinin, maruz grup için tespit edilen ortalama MN değerlerine göre göreceli olarak daha yüksek olmasına karşılık her iki grubun ortalama MN değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür (χ^2 testi, $p > 0.05$).

Bora maruz kalan bireylerdeki ortalama SCE ve MN değerlerinin kontrol grubuna göre düşük olması, borun oluşabilecek genetik hasarlara karşı koruyucu bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Bor, bor genotoksitesi, kardeş kromatid değişimi, lenfosit, mikroçekirdek.

SUMMARY

Investigation on the genotoxic effects of boron exposure in humans

The aim of the study was to investigate the genotoxic effects in boron exposed humans. Accordingly blood samples were taken from the voluntary individuals (n=38) living in the boron rich area (Balıkesir-Bigadiç) of Turkey in order to evaluate the cytogenetic effects of boron exposure. The increase of sister chromatid exchange (SCE) and micronucleus (MN) frequencies in peripheral blood lymphocytes were used as a cytogenetic biomarker of boron exposure.

According to our results, SCE frequencies in boron exposed individuals ($7,28 \pm 1,60$) were significantly (Mann Whitney U- test, $p < 0,05$) lower than the controls ($9,50 \pm 1,83$). The same decrement was also observed for the MN values in boron exposed individuals. Nevertheless the difference was statistically not significant (χ^2 testi, $p > 0,05$). MN values in boron exposed and control group were $9,81 \pm 1,94$ and $20,32 \pm 3,98$ respectively.

Consequently, statistically significant decrease was observed in SCE frequencies for the boron exposed group when compared with the control group. In spite of the statistical insignificance, lower MN values were also observed in boron exposed group. When these results were taken into consideration the decrease in SCE and MN values might be a result of a protective effect of boron exposure. However this suggestion surely needs further investigation.

Key Words: Boron, genotoxicity of boron, lymphocytes, micronucleus, sister chromatid exchange.

KAYNAKLAR

- ANDERSEN, D.L., CUNNINGHAM, W.C., LINDSTROM, T.R. (1994). Concentrations and intakes of H, B, S, K, Na, Cl and NaCl in foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. **7**: 59 -82.
- ARGUST, P. (1998). Distribution of boron in the environment. *Biological Trace Element Research*. **66**: 131 -143.
- ATSDR (Agency for Toxic Substance and Disease Registry). (1992). Toxicological profile for boron and compounds; TP-91/05. Available from ATSDR, Atlanta, GA.
- BALTACI, V., ZEYNELOĞLU, H.B. (2004). Increased frequency of sister -chromatid exchange and altered alkaline comet assay scores in superovulation cycles for unexplained infertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. **113**: 73 -77.
- BAKKE, J.P. (1991). Evaluation of the potential of boric acid to induce unscheduled DNA synthesis in the in vitro hepatocyte DNA repair assay using the male F -344 rat. Submitted by U.S. Borax Corp; MRID No. 42038903. [unpublished study].
- BENDER, M.A., PRESTON, R.J., LEONARD, R.C., PYATT, B.E., GOOCH, P.C. (1992). On the distribution of spontaneous SCE in human peripheral blood lymphocytes. *Mutation Research*. **281**: 227 -232.
- BONASSI, S., FENECH, M., LANDO, C., LIN, Y.P., CEPPI, M., CHANG, W.P., HOLLAND, N., VOLDERS, M.K., ZEIGER, E., BAN, S., BARALE, R., BIGATTI, M.P., BOLOGNESI, C., JIA, C., GIORGE, M.D., FERGUSON, L.Y., FUCIC, A., LIMA, O.G., HRELIA, P., KTISHNAJA, A.P., LEE, T.K., MIGLIORE, L., MIKHALEVICH, L., MIRKOVA, E., MASESSO, P., MULLER, W.U., ODAGIRI, Y., SCARF, M.R., SZABOVA, E., VOROBTSOVA, I., VRAL, A., ZIJNO, A. (2001). HUMAN micronucleus Project: International database comparison for results with cytokinesis -block micronucleus assay in human lymphocytes: I. Effect of laboratory protocol, scoring criteria, and host factors on the frequency of micronuclei. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. **37**: 31 -35.
- Boron Monograph.(2004). *Alternative Medicine Review*. **9(4)**: 434 -437.
- BROWN, T.F., MCCORMICK, M.E., MORRIS, D.R., ZARINGUE, L.K. (1989). Effects of dietary boron on mineral balance in sheep. *Nutrition Research*. **9**: 503 -512.
- CARBONELL, E., PERIS, F., XAMENA, N., CREUS, A., MARCOS, R. (1995). SCE analysis in human lymphocytes of a Spanish control population. *Mutation Research*. **335**: 35 -46.
- CARDOSO, R.S., TKAHASHI -HYODO, S., PEILL, JR., GHILARDI -NETO, T., SAKAMOTO -HOJO, E.T. (2001). Evaluation of chromosomal aberrations, micronuclei and sister chromatid exchanges in hospital workers chronically exposed to ionizing radiation. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*. **21**: 431-439.
- CHAPIN, R.E., KU, W.W., KENNEY, M.A., MCCOY, H., GLADEN, B., WINE, R.N., WILSON, R., ELWELL, M.R. (1997). The effects of dietary boron on bone strenght in rats. *Fundamental and Applied and Toxicology*. **35**: 205 -215.
- CHERRINGTON, J.W., CHERNOFF, N. (2002). Periods of vertebral column sensitivity to boric acid treatment in CD-1 mice in utero. *Reproductive Toxicology*. **16**: 237 -243.
- CLARKE, W.B., GIBSON, R.S. (1988). Lithium, boron and nitrogen in 1 -day diet composites and a mixed-diet standart. *Journal of Food Composition Analysis*. **1**: 209 – 220.

- COUGHLIN, J.R. (1998). Sources of human exposure. Overview of water supplies as sources of boron. *Biological Trace Element Research*. 66(1 -3): 87 -100.
- CULVER, B.D., HUBBARD, S. (1996). Inorganic boron health effects in humans: An aid to risk assessment and clinical judgment. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*. 9: 175 -184.
- CULVER, B.D., SHEN, P.T., TAYLOR, T.H., LEE-FELDSTEIN, A., ANTON - CULVER, H., STRONG, P.L. (1994). The relationship of blood - and urine -boron to boron exposure in borax -workers and usefulness of urine -boron an exposure marker. *Environmental Health Perspectives* 102(Suppl 7): 133 -137.
- ÇÖL, M., ÇÖL, C. (2003). Environmental boron contamination in waters of Hisarcık area in the Kütahya province of Turkey. *Food and Chemical Toxicology*. 41: 1417 -1420.
- DEVIRIAN, T.A., VOLPE, S.L. (2003). The physiological effects of dietary boron. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43(2): 219 -231.
- DIXON, R.L., LEE, I.P., SHERINS, R.J. (1976). Methods to assess reproductive effects of environmental chemicals. Studies of cadmiyum and boron administered orally. *Environmental Health Perspectives*. 13: 59 -67.
- DOURSON, M., MAIER, A., MEEK, B., RENWICK, A., OHANIAN, E., POIRIER, K. (1998). Boron tolerable intake: re -evaluation of toxicokinetics for data -derived uncertainty factors. *Biological Trace Elememny Research*. 66(1-3): 453 -463.
- DUYDU, Y., DUR, A., SUZEN, H.S. (2005). Evaluation of increased proportion of cells with unusually high sister chromatid exchange counts as a cytogenetic biomarker for lead exposure. *Biological Trace Element Research*. 104: 121 -129.
- DUYDU, Y., SUZEN, H.S., AYDIN, A., CANDER, O., UYSAL H., İŞİMER, VURAL, N. (2001). Correlation between lead exposure indicators and sister chromatid exchange (SCE) frequencies in lymphocytes from inorganic lead exposed workers. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 41: 241 -246.
- DRAIZE, J.H., KELLEY, E.A. (1959). The urinary excretion of boric acid preparations following oral administration and topical applications to intact and damaged skin of rabbits. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1: 267 -276.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2004). Opinion 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. Erişim: [http://www.efsa.eu.int/science/nda/nda_opinions/529/opinion_nda08_ej80_boron_v2_en1.pdf]. Erişim tarihi: 16.02.2006
- Environmental Protection Agency (EPA). (1993). Reregistration Eligibility Decision (RED): Boric acid and its sodium salts, Office of prevention, pesticides and toxic substances, Washington, DC., Report EPA 738-R-93-017, September, pp. 1-43
- EMINGIL, G.S., BICAKCI, N.O., OZKINAY, F. (2002). Sister chromatid exchange (SCE) analysis in periodontitis. *Journal Clinical Peridontology*. 29: 811 -815.
- ERCAL, N., GURER-ORHAN, H., AYKIN-BURNS, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 1(16): 529 -539.
- EVGM (Expert Group on Vitamins and Minerals) (2002). Revised review of boron. EVGM/99/23/P.REVISED AU2002. Erişim: [<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/boron.pdf>]. Erişim tarihi: 16.02.2006

- FAIL, P.A., CHAPIN, R., PRICE, C.J., HEINDEL, J.J. (1998). General, reproductive, developmental, and endocrine toxicity of boronated compounds. *Reproductive Toxicology*. **12**(1): 1-18.
- FAIL, P.A., GEORGE, J.D., SEELY, J.C., GRIZZLE, T.B., HEINDEL, J.J. (1991). Reproductive Toxicity of boric acid in Swiss (CD-1) Mice: Assessment using the continuous breeding protocol. *Fundamental and Applied Toxicology*. **17**: 225-239.
- FENECH, M. (1993). The cytokinesis-block micronucleus technique: A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutation Research*. **285**: 35-44.
- FENECH, M. (1997). The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method. *Mutation Research*. **392**: 11-18.
- FENECH, M. (1998a). Important variables that influence base-line micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes - a biomarker for DNA damage in human populations. *Mutation Research*. **404**: 155-165.
- FENECH, M., RINALDI, J. (1994). The relationship between micronuclei in human lymphocytes and plasma levels of vitamin-C, vitamin-E, vitamin-B12 and folic acid. *Carcinogenesis*. **15**: 1405-1411.
- FENECH, M., AIYKEN, C., RINALDI, J. (1998b). Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogenesis*. **19**: 1163-1171.
- FENECH, M. (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research*. **455**: 81-95.
- FENECH, M., BONASSI, S., TURNER, J., LANDO, C., CEPPI, M., CHANG, W.P., HOLLAND, N., VOLDERS, M.K., ZEIGER, E., BIGATTI, M.P., BOLOGNESI, C., CAO, J., LUCA, G.D., GIORGIO, M.D., FERGUSON, L.R., FUCIC, A., LIMA, O.G., HADJIDEKOVA, V.V., HRELIA, P., JAWORSKA, A., JOKSIC, G., KRISHNAJA, A.P., LEE, T.K., MARTELLI, A., MCKAY, M.J., MIGLIORE, L., MIRKOVA, E., MULLER, W.U., ODAGIRI, Y., ORSIERE, T., SCARFI, M.R., SILVA, M.J., SOFUNI, T., SURALLES, J., TRENTA, G., VOROBTSOVA, I., VRAL, A., ZIJNO, A. (2003b). Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes results of an international slide-scoring exercise by the HUMN Project. *Mutation Research*. **534**: 45-64.
- FENECH, M., CHANG, W.P., VOLDERS, M.K., HOLLAND, N., BONASSI, S., ZEIGER, E. (2003a). HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research*. **534**: 65-75.
- FENECH, M., HOLLAND, N., CHANG, W.P., ZEIGER, E., BONASSI, S. (1999). The Human MicroNucleus Project- An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutation Research*. **428**: 271-283.
- FENECH, M., MORLEY, A.A. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research*. **147**: 29-36.
- FORBES, R.M., MIRCHELL, H.H. (1957). Accumulation of dietary boron and strontium in young and adult albino rats. *Archives of Industrial Health*. **16**: 489-492.

- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (2001). Panel on micronutrients, Subcommittees on upper reference levels of nutrients and of interpretation and use of dietary reference intakes, and the standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington, DC.: National Academy Press.
- GREGORY, S, KELLY, G.S. (1997). Boron: A review of its nutritional intarnations and therapeutic uses. *Alternative Medicine Review*. **2(1)**: 48 -56. Erişim: [<http://www.thorne.com/pdf/journal/2-1/boron.pdf>].Erişim 16.02.06.
- HAGMAR, L., STROMBERG, U., TINNERBERG, H., MIKOCZY, Z. (2001). The usefulness of cytogenetic biomarkers as intermediate endpoints in carcinogenesis. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. **204**: 43 -47.
- HEINDEL, J.J., PRICE, C.J. FIELD, E.A., MARR, M.C., MYERS, C.B., MORRISSEY, R.E., SCHWETZ, B.A. (1992). Developmental toxicity of boric acid in mice and rats. *Fundamental and Applied Toxicology*. **18(2)**: 266 -277.
- HEINDEL, J.J., PRICE, C.J., SCHWETZ, B.A. (1994). The Developmental toxicity of boric acid in mice, rats and rabbits. *Environmental Health Perspectives*. **102(Suppl 7)**: 107 – 112.
- HERA (Human and Environmental Risk Assessment on ingreients of Household Cleaning Products). (2005). Subrance: Boric Acid. (CAS No 10043 -35 -3). Edition 1.0 Erişim: [http://www.heraproject.com/files/27-F-06_HERA_Boric_Acid%20_06_HERA_Boric_Acid%20_Jan_2005.pdf]. Erişim tarihi:16.02.2006
- HUNT, C. D. (1996). Biochemical effects of physiological amounts of dietary boron. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*. **9**: 185 -213.
- HOWE, P.D. (1998). A review of boron effects in the environment. *Biological Trace Element Research*. **66(1-3)**: 153 -166.
- <http://www.boren.gov.tr/kulyer.htm> Erişim tarihi: 13.02.2006
- IEHR (Institutue for Evaluating Health Risks). (1997). An assessment of boric acid and borax using the IEHR evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents.
- IOM (Institute of Medicine) (2002). Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington, DC: National Academy Press.
- IPCS (International Programme on Chemical Safety) (1998). Boron, Environmental Health Criteria (EHC), **204**: 1 -192.WHO, Geneva, Switzerland.
- IYENGAR, GV; CLARKE, WB; DOWNING, RG; TANNER, JT. (1988) Lithium in biological and dietary materials. Proc Intl Workshop. *Trace Element Analytical Chemistry Medicinal Biology*. **5**: 267-269.
- JANSEN, J.A., ANDERSEN, J., SCHOU, J.S. (1984). Boric acid single dose pharmacokinetics after intravenous administration to man. *Archives Toxicology* . **55**: 64-67.
- JOB C. (1973). Absorbtion and excretion of orally administration boron. *Z. Angew Bader-und Klimaheilkunde*. **20**: 137 -142.
- KU, W.W., CHAPIN, R.E. (1994). Mechanism of the testicular toxicity of boric acid in rats. In vivo and in vitro studies. *Environmental Health Perspectives*. **102(Suppl 7)**: 99 -105.

- KU, W.W., CHAPIN, R.E., MOSEMAN, R.F., BRINK, R.E., PIERCE, K.D., ADAMS, K.Y. (1991). Tissue disposition of boron in male Fischer rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **111**: 145 -151.
- KU, W.W., CHAPIN, R.E., WINE, R.N., GLADEN, B.C. (1993a). Testicular toxicity of boric acid (BA): Relationship of dose to lesion development and recovery in the F344 rat. *Reproductive Toxicology*. **7**: 305 -319.
- KU, W.W., SHIH, L.M., CHAPIN, R.E. (1993b). The effects of boric acid (BA) on testicular cells in culture. *Reproductive Toxicology*. **7**: 321 – 331.
- LAKHANISKY, T., BAZONI, D., JADOT, P., JORIS, I., LAURENT, C., OTTOGALI, M., PAYS, A., PLANARD, C., ROS, Y., VLEMINKX, C. (1993). Cytogenetic monitoring of a village population potentially exposed to a low level of environmental pollutants. Phase I: SCE analysis. *Mutation Research*. **319(4)**: 317 -323.
- LATT, S.A. (1974). Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: Detection by fluorescence and induction by mitomycin C. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **71(8)**: 3162 -3166.
- MATSUOKA, A., LUNDIN, C., JOHANSSON, F., SAHLIN, M., FUKUHARA, K., SJOBERG, B.M., JENSEN, D., ONFELT, A. (2004). Correlation of sister chromatid exchange formation through homologous recombination with ribonucleotide reductase inhibition. *Mutation Research*. **547**: 101 -107.
- MEACHAM S.L., HUNT, C.D. (1998). Dietary boron intakes of selected populations in the United States. *Biological Trace Element Research*. **66(1-3)**: 65 -78.
- MELCHER, U. (2000). Molecular genetics, sister chromatid exchange. Erişim: [<http://opbs.okstate.edu/~melcher/MG/MGW1/MG1223.html>]. Erişim tarihi: 13.02.2006
- MOSEMAN, R.F. (1994). Chemical disposition of boron in animals and humans. *Environmental Health Perspectives*. **102(Suppl 7)**: 113 -117.
- MURRAY, F.J. (1995). A human health risk assessment of boron (boric acid and borax) in drinking water. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. **22**: 221 -230.
- MURRAY, F.J. (1998). A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and human. *Biological Trace Element Research*. **66(1-3)**: 331 -341.
- MURRAY, F.J., ANDERSEN, M.E. (2001). Data-derived uncertainty factors: Boric acid (BA) as a case study. *Human and Ecological Risk Assessment*. **7(1)**: 125 -138.
- NAGHII, M.R., LYONS, P.M., SAMMAN, S. (1996). The boron content of selected foods and the estimation of its daily intake among free-living subjects. *Journal of the American College of Nutrition*. **15(6)**: 614 -619.
- NAGHII, M.R., SAMMAN, S. (1993). The role of boron in nutrition and metabolism. *Progress in Food & Nutrition Science*. **17(4)**: 331 -49.
- NAGHII, M.R., SAMMAN, S. (1997). The effects of boron supplementation on its urinary excretion and selected cardiovascular risk factors in healthy male subjects. *Biological Trace Element Research*. **56**: 273 -286.
- NEWMHAM, N.E. (1991). Agricultural practices affect arthritis. *Nutrition and Health*. **7(2)**: 89 -100.
- NIELSEN, F.H. (1992). Facts and fallacies about boron. *Nutrition Today*. **27**: 6 -12.
- NIELSEN, F.H., HUNT, C.D., MULLEN, M.L., HUNT, J.R. (1987). Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB J.)* **1**: 394 -397.

- NTP (National Toxicology Program). (1987). Toxicology and carcinogenesis studies of boric acid (CAS No. 10043 -35 -3) in B6C3F1 mice (feed studies). Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, NTP TR - 324. Erişim: [http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/LT_rpts/tr324.pdf]. Erişim tarihi: 16.02.2006
- O'LOUGHLIN, K.G. (1991). Bone marrow erthrocyte micronucleus assay of boric acid in Swice Webster mice. Submitted by U.S. Borax Corp. MRID No. 42038904. [Unpublished data].
- ORTIZ, R., CAMPOS, C., GOMEZ, J.L., ESPINONOZA, M., RAMOS -MOTILLA, M., BETANCOURT, M. (1994). Sister chromatid exchange (SCE) and cell proliferation in lymphocytes from infected and non -infected children with severe protein calorie malnutrition (PCM). *Mutation Research*. **312(1)**: 33 -37.
- OWEN, E.C. (1944). The excretion of borate by the dairy cow. *The Journal of Dairy Research*. **13(3)**: 243 – 248.
- PAHL, M.V., CULVER, B.D., STRONG, P.H., MURRAY, F.J., VAZIRI, N.D. (2001). The effect of pregnancy on renal clearance of boron in humans: A study based on normal dietary intake of boron. *Toxicology Sciences*. **60**: 252 -256.
- PASTOR, S., CREUS, A., PARRON, T., CEBULSKA-WASILEWSKA, A., SIFFEL, C., PIPERAKIS, S., MARCOS, R. (2003). Biomonitoring of four European populations occupationally exposed to pesticides: use of micronuclei as biomarkers. *Mutagenesis*. **18(3)**: 249 -258.
- PENLAND, J.G. (1994). Dietary boron, brain function, and cognitive performance. *Environmental Health Perspectives*. **102**: 65 -72.
- PENLAND, J.G. (1998). The importance of boron nutrition for brain and psychological function. *Biological Trace Element Research*. **66**: 299 -317.
- PERRY, P.A., THOMSON, E.F. (1984). The methodology of sister chromatid exchanges. *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*. Elsevier Science Publishers: p.: 24.
- PERRY, P.A., WOLFF, S. (1974). New giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature*. **251**: 156 -158.
- PFEIFFER, C.C., HALLMAN, L.F., GERSH, I. (1945). Boric acid oinment: a study of possible intoxication in the treatment of burns. *The Journal of America Medical Association (JAMA)*. **128**: 266 -274.
- PONZANELLI, I., LANDI, S., BERNACCHI, F., BARALE, R. (1997). The nature of high frequency sister chromatid Exchange cells. (HFCs). *Mutagenesis*. **12(5)**: 329 -333.
- PRICE, C.J., MARRY, M.C., MYERS, C.B. (1994). Determination of the no- observable-adverse-effect level (NOAEL) for Developmental toxicity in Sprague- Dawley (CD) rats rats exposed to boric acid in feed on gestational days 0 to 20, and evaluation of postnatal recovery through postnatal day 21[final report]. Research Triangle Institute, Center for life Science, Research Triangle Park, NC; RTI Identification No. 65C-5657-200.
- PRICE, C.J., STRONG, P.L., MARR, M.C., MYERS, C.B., MURRAY, F.J. (1996a). Developmental toxicity NOAEL and postnatal recovery in rats fed boric acid during gestation. *Fundamental and Applied Toxicology*. **32**: 179 -193.
- PRICE, C.J., MARR, M.C., MYERS, C.B., SEELY, J.C. (1996b). The developmental toxicity of boric acid in rabbits. *Fundamental and Applied Toxicology*. **34**: 176 -187.
- RAINEY, C., NYQUIST, L. (1998). Multicountry estimation of dietary boron intake. *Biological Element Research*. **66(1-3)**: 79 -86.

- REYES, R.R., RAMÍREZ, P.M. (2003). Sister chromatid Exchange induction and the course of DNA duplication, two mechanisms of sister chromatid exchange induction by ENU and the role of BrdU. *Mutagenesis*. **18(1)**: 65 -72.
- SAMMAN, S., NAGHII, M.R., LYONS, W., VERUS, A.P. (1998). The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. *Biological Trace Element Research*. **66**: 227 -235.
- SAYLI, B.S. (1998b). An assessment of fertility in boron- exposed Turkish subpopulations 2. Evidence that boron has no effect on human reproduction. *Biological Trace Element Research*. **66**: 409 -422.
- SAYLI, B.S. (2000). Investigations on the health effects of boron and its compounds, 1995 – 1999 (on a contract between the Faculty and Eti Holding A.S. Report, Turkish), Ankara, Turkey.
- SAYLI, B.S., ÇÖL, M., ELHAN, A.H., GENÇ, Y. (2003). Assessment of fertility and infertility in boron -exposed Turkish subpopulations 6: relevant data from all centers. *Journal of Ankara Medical School*. **25(4)**: 165 -174.
- SAYLI, B.S., TUCCAR, E., ELHAN, A.H. (1998a). An assesment of fertility in boron-exposed turkish subpopulations. *Reproductive Toxicology*. **12(3)**: 297 -304.
- SCHOU, J.S., JANSEN, J.A., AGGERBECK, B. (1984). Human pharnacokinetics and safety of boric acid. *Archives Toxicology*. **7**: 232 -235.
- SCHROEDER, H.A., MITCHHENER, M. (1975). Life -time effects of mercury, methyl mercury, and nine other trace metals on mice. *The Journal of Nutrition*. **105**: 452 -458.
- SHAN, X., AW, T.Y., JONES, D.P. (1990). Glutathione -dependent protection against oxidative injury. *Pharmacology & Therapeutics*. **47**: 61 -71.
- SONODA, E., SASAKI, M., MORRISON, C., IWAI, Y.Y., TOKATA, M., TAKEDA, S. (1999). Sister chromatid exchanges are mediated by homologous recombinaion in vertebrate cells. *Molecular and Cellular Biology*. **19(7)**: 5166 -5169.
- SZYBALSKI, W. (1958). Special microbiological system. II. Observations oon chemical mutagenesis in microorganisms. *Annals of The New York Academy of Sciences* **76**: 475 -489.
- TUCKER, J.D., PRESTON, R.J. (1996). Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment. *Mutation Research*. **365**: 147 – 159.
- U.S. EPA. (1987). Health effects assessment for boron and compounds. Prepared by the Office of health and environmental assessment, environmental criteria and assessment office, Cincinnati, OH fort the Office soid waste and emergency response, Washington, DC.
- U.S. EPA (1994). Integrated risk information system - online. U.S. Environmental protection agency. Environmental criteria and assessment Office, Cincinnati, Ohio.
- U.S. EPA. (2004). Toxicology review of boron and compounds in support of summary information on integrated risk information (IRIS). National Center for Environmental Assessment, Washington,DC. June **2004**. Erişim: [<http://www.epa.gov/iris>].
- USUDA, K., KONO, K., ORITA, Y., DOTE, T., IGUCHI, K., NISHIURA, H., TOMINAGA, M., TAGAWA, T., GOTO, E., SHIRAI. (1998). Serum and urinary boron levels in rats after single administration of sodium tetraborate. *Archives Toxicology*. **72**: 468 – 474.

- ÜSTÜNDAĞ, A. (2004). Kurşun genotoksitesinde delta -aminolevülinik asitin etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- VAZIRI, N.D., OVEISI, F., CULVER, B.D., PAHL, M.V., ANDERSEN, M.E., STRONG, P.L., MURRAY, F.J. (2001). The effect of pregnancy on renal clearance of boron in rats given boric acid orally. *Toxicological Sciences*. **60**: 257 – 263.
- VERBITSKAYA, G.V. (1975). Experimental and field investigations concerning the hygienic evaluation of boron -containing drinking water. *Gig i Sanit*. **7**: 49 -53. (in Russian with English summary).
- VOLDERS, K.M., FENECH, M. (2001). Inclusion of micronuclei in nondivided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes. *Mutagenesis*. **16(1)**: 51 -58.
- VOLDRES, K.M., SOFUNI, T., AAERDDEMA, M., ALBERTINI, S., EASTMOND, D., FENECH, M., ISHIDATE, M., KIRCHNER, J., LORGE, E., MORITA, T., NORPPA, H. (2003). Report from the in vitro micronucleus assay working group. *Mutation Research* **540**: 153 -163.
- WANG, E., XUN, X., WANG, H., CHEN, Y., MENG, X., ZHANG, S., HUANG, J, CONG, S., TAO, K., YU, B., XIAO, J., HE, D., YANG, X., JIANG, J. (1984). Toxicological effect of boron in laboratory rats. *Zhonghua Yufangxue Zazhi*. **18**: 20 -22. (in Chinese with English abstract).
- WEETH, H.J., SPETH, C.F., HANKS, D.R. (1981). Boron content of plasma and urine as indicators of boron intake in cattle. *American Journal of Veterinary Research*. **42 (3)**: 474 -477.
- WEIR, R.J. (1966a). Two-year dietary feeding -dogs- Boric acid. Hazleton Laboratories Inc., Falls Church, VA, Report to US Borax, 8 July. (TX-66-17).
- WEIR, R.J. (1966b). Two-year dietary feeding -dogs- Borax. Hazleton Laboratories Inc., Falls Church, VA and Addendum to Final Report(1967). Report to US Borax, 8 July. (TX-66-20).
- WEIR, R.J. (1967a). 38 week dietary feeding-dogs-Boric acid. Hazleton Laboratories Inc., Falls Church, VA, Report to US Borax, 28 February. (TX-67-3).
- WEIR, R.J. (1967b). 38 week dietary feeding-dogs-Borax. Hazleton Laboratories Inc., Falls Church, VA, Report to US Borax, 28 February. (TX-67-4).
- WEIR, R.J., FISHER, R.S. (1972). Toxicologic studies on borax and boric acid. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **23**: 351 -364.
- WHO (World Health Organization). (1998). Boron in drinking-water. Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. *Geneva, Switzerland*.
- WHORTON, M.D., HAAS, J., TRENT, L. (1992). Reproductive effects of inorganic borates on male employees: birth rate assessment report. Prepared for United States Borax and Chemical Corporation; Document No. 6966001.
- WHORTON, M.D., HAAS, J., TRENT, L. (1994a). Reproductive effects of inorganic borates on male employees: birth rate assessment. *Environmental Health Perspectives*. **102(Suppl 7)**:129 – 131.
- WHORTON, M.D., HAAS, J.L., TRENT, L., WONG, O. (1994b). Reproductive effects of Sodium borates on male employees: birth rate assessment. *Occupational and Environmental Medicine*. **51**: 761 -767.
- WILDING, J.L., SMITH, W.J., YEVICH, P., SICKS, M.E., RYAN, S.G., PUNTE, C.L. (1959). The toxicity of boron oxide. *American Industrial Hygiene Association Journal*.

20: 284 -289.

- WOODS, W.G. (1996). Review of possible boron speciation relating to its essentiality. *The Journal of Trace Elements*. **9**: 153 -163.
- WU, D.Q., WU, Y. (1995). Micronucleus and sister chromatid exchange frequency in endemic fluorosis. Erişim: [<http://www.fluoridealert.org/sce-fluorosis.html>]. Erişim tarihi: 13.02.2006
- WULF, H.C. (1989). Monitoring of genotoxic exposure of humans by the sister chromatid exchange test. Metodology and confounding factors. *Danish Medical Bulletin*. **37(2)**: 132 -143.
- YAZBECK, C., KLOPPMANN, W., COTTIER, R., SAHUQUILLO, J., DEBOTTE, G., HUEL, G. (2005). Health impact evaluation of boron in drinking water: a geographical risk assessment in Northern France. *Environmental Geochemistry and Health*. **27**: 419 – 427.

EKLER

Çalışmamızda kullanılmış olan kan örnekleri, Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü ile Balıkesir Üniversitesi Bor Araştırma Merkezi'nin ortak bir projesi olan “İnsanların bir günde aldıkları bor miktarının saptanması ve bunun insan sağlığına etkisinin belirlenmesi” isimli proje dahilinde Yard. Doç. Dr. Mehmet Korkmaz tarafından alınarak analiz edilmek üzere gönderilmiştir. Yukarıda adı geçen proje hazırlandığı tarihlerde Balıkesir’de “Etik Kurul” henüz kurulmamış olduğundan o tarihte kan alımları için izin Balıkesir Valiliğinden alınmıştır. Bu çalışma için tarafımıza gönderilen kan örnekleri de bu izin doğrultusunda alınmıştır. Bu konu ile ilgili belgeler aşağıda yer almaktadır.

T.C.
BALIKESİR VALİLİĞİ
Sağlık Müdürlüğü

ŞUBE : BI04ISM4100009/ 120/
SAYI : 21761 / 21588
KONU : Yrd. Doç. Dr. Mehmet KORKMAZ' ın talebi.

BALIKESİR
30 / 12/2004

VALİLİK MAKAMINA
BALIKESİR

Balıkesir Üniversitesi Bor Araştırma Merkezi ile Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü arasında imzalanan 4 Haziran 2004 tarihli Proje hükümleri gereğince Balıkesir Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet KORKMAZ' ın " İnsanların Bir Günde Aldıkları Bor Miktarının Saptanması ve Bunun İnsan Sağlığına Etkisinin Belirlenmesi" amacıyla ilimiz Bigadiç İlçesi ve köylerinde proje amaçları doğrultusunda araştırmaya yönelik kan ve idrar örneği alabilmelerine onayınızı arz ederim.

Dr. Süleyman BAYSAI
Sağlık Müdürü

OLUR

29 12 2004

Karlın DOĞAN
Vz. a.
Vani Yardımcısı

T.C.
BALIKESİR VALİLİĞİ
Sağlık Müdürlüğü

ŞUBE : BI041SM4100009/1205
SAYI : 15/21776
KONU : Yrd. Doç. Dr. Mehmet KORKMAZ' ın talebi.

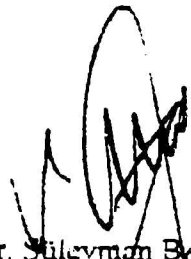
BALIKESİR
31/12/2004

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK YÜKSEK OKULU MÜDÜRLÜĞÜNE
BALIKESİR

Balıkesir Üniversitesi Bor Araştırma Merkezi ile Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü arasında imzalanan 4 Haziran 2004 tarihli Proje hükümleri doğrultusunda araştırma yapmak isteyen kurumunuz personeli ile ilgili makam onayı ektedir.

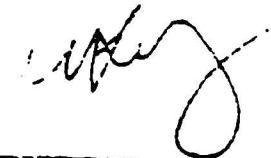
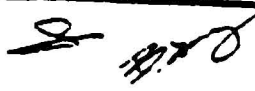
Bulgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Eki: 1 Onay


Dr. Süleyman BAYSAL
Sağlık Müdürü

BAKIM NAYI TESLİM EDİLMİŞTİR? . 05.01.2004 YRD.DOÇ.DR. MEHMET KORKMAZ

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ BALIKESİR SAĞLIK YÜKSEK OKULU MÜDÜRLÜĞÜ	
Kayıt	23.01.2005
Havale	01
Dosya No	300
Ekler	ONAY

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Zuhâl
Soyadı : UÇKUN
Doğum yeri ve tarihi : Antakya – 10.09.1981
Uyruđu : TC
Medeni durumu : Bekar

II- Eğitim

Serinyol Lisesi, 1999
Ankara Üniversitesi Fen Fakóltesi, Biyoloji Bölümü, 2003
Yabancı dili : İngilizce

III- Bilimsel Etkinlik

“ Bor maruziyetinin insanlar üzerindeki etkileri ”, Yüksek lisans semineri, Mayıs-2005.