

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Alüminyum yer kabuğunun %8,13'ünü oluşturan metalik bir elementtir. Oksijen ve silikondan sonra doğada en çok bulunan elementtir. Alüminyum genellikle tek başına değil hidroksit, silisat, sülfat, fosfat, gibi elementler ile toprakta, kilde, mineralde, kayalarda, sel ve yiyeceklerde bulunur. İnsan ve hayvan biyokimyasında alüminyumun bilinen hiçbir rolü yoktur. Yiyeceklerde kullanılan koruyucu maddeler, renk maddeleri, maya gibi yiyecekler alüminyum içermektedir. Yaygın olarak mayalarda asidik sodyum alüminyum fosfat, emülsifikasyonda bazik sodyum alüminyum fosfat, asitlemek için alüminyum sülfat için alüminyum silisat kullanılmaktadır. Alüminyum doğada her tarafta mevcuttur. Diyetle içilen suya, kullanılan ilaçlara ve çevreye ya da mesleğe bağlı olarak insanlar alüminyuma maruz kalır. Yapılan çalışmalarda görülmüştürki insanlar havadan, sudan ve yiyeceklerden günlük yaklaşık olarak 2 ile 160 mg alüminyum alırlar. Günlük alınan yiyeceklerin bileşenlerine bağlı olarak bu miktarlar değişiklik gösterir. Ayrıca alüminyum içeren antasid ve analjezik tamponların kullanımı, günlük emilimi 5000 mg üstünde, 20 ile 200 defa artırır. Bunun yanında yemeklerin pişirildiği kaplar da günlük alınan miktarı kabın yapıldığı maddeye göre yükseltmektedir. Gastrointestinal sistemde absorpsiyonu sınırlı olan alüminyum esas olarak suda çözünmez çökelti oluşturur. Alüminyum ve onun bileşenleri insanda çok düşük miktarda absorbe edilir gibi görülmüşdür, oran ve absorpsiyonun büyüklüğü ile ilgili çalışmalar bulunmamıştır. Alüminyum normal insan böbrekleri ile kolayca ekstekte edilir ve absorbe edilir. İnsanda optimal alüminyum balansı 5–125 mg Al/gün'dür. Bu hastalar ağır nörolojik hastalıkları osteomalazi ve diyaliz hastalarında mikrositik anemi riski oldukça yüksektir. Oral alüminyum içeren ilaçların (preperat) toksisitesi rastgele alınan sitratlı ilaçların kullanımı ile daha fazla artar. Alüminyum ve bileşenlerine maruz kalanlarda alüminyumun özellikle nörotoksisite başta olmak üzere tehlikeli yan etkilere neden olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Bu gün birçok güvenilir bilimsel yayın bu teorilerin doğruluğunu kanıtlamaktadır. Normal olarak beyin, alüminyum düşük absorpsiyonu plazma proteinlerine bağlama, renal/biliar ekstraksiyon va tam bir kan-beyin bariyerleri ile alüminyumdan korunur.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda alüminyumun oksidatif stresi de artırdığı gösterilmiştir. Ancak, alüminyumun oluşturduğu oksidatif stres ve DNA hasarı ile

aralarında bir ilişkinin olup olmadığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışma ile yüksek alüminyum seviyelerinin mononükleer lökosit DNA hasarı üzerine etkileri ve DNA hasarı ile oksidatif durum arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Alüminyum

Alüminyum litosferde en çok bulunan üçüncü elementtir. Fakat doğal sulara, bitkilerde ve hayvanlarda seviyeleri nispeten düşüktür (1). Alüminyum oksit mineral türlerinde, kayalarda ve toprak üzerinde silisyum oluşumu ile beraber alüminositrat (Al_2O_5Si) şeklinde bütün organizmalarda meydana gelir (2). Topraklarda ve tortularda birçok fonksiyonları vardır: Onlar iz elementleri içine alıp köklerin büyümesine ve pH dengesinin korunmasına yardımcı olur (3).

Biyosferde oldukça yüksek oranlarda bulunan Al^{+3} 'ün bilinen fizyolojik rolü olmayıp insanlar için oldukça toksik olan esansiyel bir elementtir. Buna rağmen alüminyumun uzun yıllar boyunca insan sağlığı için zararsız bir element olduğu sanılıyordu. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarla alüminyumun toksisitesi tespit edilmiş ve Alzheimer's gibi nörolojik hastalıkların etiolojisinde ve amiyotropik lateral sklerosis ve alüminosis, osteodistrofi ve demir eksikliği mikrositik anemi gibi diğer hastalıklara neden olduğu bilinmektedir (4,5). Ayrıca Al^{+3} hemodiyalizli hastalarda ensefalopati diyalize neden olan major bir ajandır (6). Alüminyum bitkilerde de sitotoksik bir metaldir ve dünyada ekilebilir toprakların %30-40'ı asit karakterli olup dünyada üretilen tarım ürünlerine önemli zararlar verir (7). Bitkilerde Al^{+3} ün toksisitesini gösteren çalışmalar sonunda hücre ölümü, hücre bölünmesinin inhibisyonu, hücre uzaması, besleyici boru, kök uzaması, hücre duvarında yapısal değişim, fotosentez, fotosentetik elektron transportu, fosformetabolizması ve ATPaz aktiviteleri gibi muhtemel mekanizmaları olumsuz etkilediği gösterilmiştir (8,9). İnsan vücudunda Al seviyeleri 35–40 mg dır (10). İnsanlar alüminyumunu başlıca su, ilaçlar ve yemeklerin pişirilip saklandığı kaplardan sıklıkla alırlar (11). Ayrıca alüminyum, çimento, tuğla vb. gibi inşaat malzemelerinin yapısında da bulunmaktadır. Bununla beraber biyolojik sistemler bu elementi katalizde kullanmaz ve alüminyumdan mineraller yapmazlar (2,12). Alüminyum gastrointestinal sistem (GİS) ile (su, içecekler, ilaçlar, kozmetik ürünleri, yiyecekler) ya da solunum yolu ile beyne intranasal absorpsiyon ile insan organizmasına girer (13). Metallerin birçoğu GİS den ve renal yol ile dışarı atılır. Bununla birlikte alüminyum başta beyin olmak üzere, kalp kası, kemikler ve akciğerler dahil tüm vücutta birikerek toksik etkiler oluşturabilir. Sağlıklı insanlarda absorbe edilen alüminyum miktarı idrardan çıkan miktara bağlı olup bu şekilde bu elementin

normal seviyeleri korunur. İnsanlarda birikmiş geniş oral alüminyum bilinmemektedir (14).

Alüminyum A-tipi bir metal yani sert asittir ve bu nedenle Alüminyumun en uygun bağlanma yerleri özellikle biyomoleküllerin oksijen donörleri ise bu donörler negatif olarak düşünülür (19,20). Alüminyumun en önemli bağlanma yerleri fosfat, karboksilat, catecholate, aminler, thiolatlar, aminoasitler, nükleik asitler ve nükleotidlerdir

Yüksek miktarda alüminyum içeren diyetle santral sinir sisteminde (özellikle beyin ve spinal kordta) alüminyum konsantrasyonunu artırır (21). Alüminyum eser elementler olan manganez ve demirin santral sinir sistemindeki konsantrasyonunu değiştirir ve orada lipit peroksidasyonunun oluşmasına neden olur. Ayrıca alüminyum tuzları DNA ve RNA ya bağlanarak heksokinaz, asit ve alkalın fosfataz, fosfodiesteraz ve fosfooksidaz gibi enzimleri inhibe eder (22). Alüminyum glikozun kullanımındaki bozukluklarda, inozitol fosfatın birikimini stümüle etmede, serbest radikallerin sitotoksitesinde ve lipit peroksidasyon oluşumunda, protein oksidasyonunda rol oynamaktadır (23). Ayrıca alüminyum reaktif oksijen türlerini üreterek lipit, protein ve DNA oksidasyonuna neden olmaktadır (12).

Vitamin-E insan vücudunda meydana gelen serbest radikalleri nötralize eden doğal bir antioksidandır. Vitamin-E antioksidan etkisini immün hücrelerin bütünlüğünü ve fonksiyonunu sürdürmesini sağlayarak bağışıklığı arttırmaktadır (24). Yapılan çalışmalarda lipit peroksidasyonu, biyokimyasal parametreler ve enzim aktiviteleri üzerinde toksik etkili olan alüminyum kloridin vitamin-E' nin antagonisti olduğu görülmüş. Aynı şekilde esansiyel vitamin olan vitaminC' nin de alüminyumdan toksik olarak etkilendiği gözlenmiş.

2.1.1.Alüminyumun Kimyası

Alüminyumun canlıda *invivo* kullanılması Al^{+3} ün kimyasına bağlıdır. Alüminyumun makromoleküler biyolojik yapılardaki zararlı etkilerinin başında oksijen donörleri için olan çekiciliği gelir. Biyolojik sistemler sabit birkaç potansiyel ligandlar içerir ve bunlarda üçlü kompleks oluşumları da çok önemlidir. Al^{+3} ün güçlü bir hidrolitik eğilimi olduğundan fizyolojik pH da Al-ligand-hidroksid üçlü kompleksi oluşturur.

Hidroliz olmaya meyilli olan Al^{+3} iyonu mononükleer hidrokso komplekslerinin oluşumunu sağlayabilir ve alüminat ($Al(OH)_4^-$) oluşumuna öncülük eden $Al(OH)_3$ ü çöktürür. Bu daha sonradan $Al_2(OH)_2$, $Al_3(OH)_4$ ve $Al_{13}(OH)_{32}$ gibi polinükleer komplekslerde oluşturabilir. Bu yapılar makromoleküler polimerin $[Al(OH)_3]_n$ prekürsörü olan oligomerik kompleksleri çok kısa bir süreçte oluşturabilirler (16,17). $Al(OH)_3$ ün maksimum konsantrasyonu nötral pHda yükselir. $pH > 7,0$ da predominant türler alüminat iyonlarıdır ($Al(OH)_4^-$).

Fosfatın bütün canlı sistemlerde önemli fizyolojik rolü vardır. Ayrıca alüminyum ile oluşan komplekslerin ligandları içinde önemlidir. İnorganik ve organik fosfat insan vücudunda ekstrasellüler ve intrasellüler sıvıların önemli bileşenidir (1-10mM total fosfat bulunur) (22). Bazı bilim adamları yaygın olarak $AlPO_4$ gibi adlandırmalara rağmen fosfat hidrokso komplekslerinin karışımında fosfat ve hidroksitin boyutlarının değişken olduğunu göstermişler. PO_4^{3-} anyonu sulu solüsyonlarda $pH 12$ nin altındaki değerlerde bulunmaz ve fizyolojik pH da HPO_4^{2-} dominant türdür. Al^{+3} inorganik fosfat ile monoalüminyum fosfat- $Al(H_2PO_4)_3$, alüminyum metafosfat- $[Al(PO_3)_3]_n$ ve sodyum alüminyum fosfat- $NaAl_3H_{14}(PO_4)_8 \cdot 4H_2O$, $NaAl_3H_{14}(PO_4)_8$ ve $Na_8Al_2(OH)_2(PO_4)_4$ gibi tuzları oluşturabilir. Bütün fosfatların temel anyonik birimi ortofosfat anyonudur. Anyon, sahip olduğu hidrojen ve metal iyonları ile yada ikisinin birleşmesi ile yerine getirebilir. Tetrahedron yapı fosfat anyonlarının 1, 2 yada 3 lü birimi ile polimerlerin oluşumuna izin verir. Bu birimlerin her biri oksijen atomları paylaşımına bağlıdır (22).

Organik fosfatlar bazik ve zayıf bazik fosfatlar olmak üzere 2 sınıfa ayrılır. pK sı 6-7 arası olan tek temsilci(monsubstituted) birinci sınıftır ve formülü $R-OPO_3^{2-}$ tür. Mono-, di- ve trifosfat nükleositlerde son durak fosfattır. Zayıf fosfatlar disubstituteddir ve $pK < 2$ dir. $R-O(R'-O)PO_2^-$ formülü ile gösterilir ve di- ve trifosfat nükleosidlerde ve DNA ve RNA nükleik asitlerindeki fosfatlarda yer alır (16–18, 24, 25).

Daha büyük biyomoleküller olan membran fosfolipitleri ve nükleik asitler gibi fosfat içeren ATP, Al^{+3} ün bağlı olduğu yerlerdir. Fosforilasyon hücrede yüksek alüminyum konsantrasyonunu bastırır. Adenozin 5'-trifosfat(ATP) hücrelerde kimyasal enerjinin taşınmasını sağlayan önemli bir moleküldür ve bütün vücuda major ekstrasellüler sinyallerin iletilmesini sağlar. ATP bir adenin, bir riboz ve bir trifosfattan oluşan bir nükleotiddir ve hücrelerde Mg^{+2} ile bir kompleks halinde bulunur (26).

Alüminyum birçok biyolojik oluşumlarda ATP ile Mg^{+2} den daha stabil bir kompleks oluşturarak magnezyumun yerini geri dönüşümsüz olarak alır.

Hücrede yüksek alüminyum konsantrasyonu fosforilasyonu bastırır ve adenzin trifosfat / adenzin difosfat (ATP/ADP) oranının indirgenmesi ile sonuçlanır. Alüminyum çoğunlukla bazik terminal fosfat grupları arasında fosfatı nükleoside bağlar. Nükleositler mono-, di- trifosfatlara benzer bazik durum gösterirler. Al^{+3} un sulu solüsyonları nükleosid fosfatlar belirli bir pH da hidroksid ile üçlü kompleksler oluşturmaya meyillidirler. Ayrıca Al^{+3} -bağlı başka kompleksleri de oluşturma imkanı vardır (27).

Biyolojik sistemlerde AMP, ADP ve ATP ile alüminyumun şelasyonunu gösteren çalışmalarda potansiyometre kullanılarak bu elementin fosfat grupları ile oldukça stabil kompleksler oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca ATP dışında, ADP, AMP, 2,3-difosfogliserat, inozitol fosfat, glukoz 6-fosfat vb. gibi insan fizyolojisinde önemli olan fosfat bağlı biyomolekülleride etkilemektedir (28).

Champmartin yaptığı çalışmalarda sulu solüsyonlarda glukoz-6-fosfat ile Al^{+3} ün ilişkisini pH potansiyometre ve multinükleer (^{31}P -, ^{27}AL -, C-) NMR spektroskopisi kullanarak göstermiş. pH aralığını 1–8 arası ölçmüş. Çünkü bu değerlerin çökelti oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca MLH_2 , MLH , ML , ML_2H , ML_2 ve MLH_3 gibi mononükleer türlerin ve $M_2/2H-n$ ($n=1-4$) gibi dinükleer komplekslerinde oluşumunda doğrulamışlar (29).

Venturini-Soriano ve Berthon biyolojik sıvılarda Al^{3+} -malat kompleksini kantitatif olarak göstermişler ve potansiyometrik titrasyonlar kullanılarak gastrointestinal sıvılarda malatın özelliğini alüminyumun dağılımı arasında bir kolerasyon kurmuşlardır (30). Araştırmacılara göre malatın normal diyetle ince bağırsağın pH aralığının üstünde $AL(OH)_3$ ün çözünebilirliğini sürdürmeye yatkındır.

2.1.2. Alüminyum ve Enzimlerin Reaksiyonlarında Nükleotidlerin

Kullanımı

Alüminyumun toksik etkisi bitki ve hayvanlardaki birçok enzimin aktivitesini değiştirmektedir. Proteinlerin büyük bir kısmı nükleosid fosfat gibi substrat gerektirir ya da nükleosid fosfat ile regüle edildiğinden alüminyum bu proteinlerin normal fonksiyonlarını potansiyel olarak engelleyebilir (18). Bu nedenle proteinler alüminyum

ve nükleotidleri kapsayan bazı reaksiyonların öğrenilmesinde önemlidir. Bu metal NTPaz, NTPDaz ve nükleotidler gibi bazı enzimlerde nükleotidlerin fosfat gruplarını transfer ya da hidroliz eder.

2.1.2.1.NTPaz lar(ATPaz, GTPaz)

ATP fosfohidrolaz denilen enzim biyolojik sistemlerde ve evrimsel zincirde her tarafa dağılmıştır. ATPaz bazı durumlarda magnezyum ile (Mg^{2+} ATPaz) yada kalsiyum ile (Ca^{2+} ATPaz) ve bazı durumlarda da magnezyum ve kalsiyum her ikisi ile ($Ca^{2+}Mg^{2+}$ ATPaz) aktive edilir. ATPazın başka bir sınıfı sodyum ve potasyum ile stimule edilir ve $Na+K+ATPaz$ olarak adlandırılır ve oubain ile inhibe edilir. Bazı ATPazlar ATP den başka nükleotidleri hidroliz eder ancak ATP tercih edilir. Enzimlerin bir sınıfında vardır ki tercihen GTP fosfohidrolaz ya da GTPaz olarak adlandırılan GTP nükleotidini hidroliz eder.

2.1.2.2.Ca²⁺ATPazlar

Ca^{2+} ATPaz membrana bağlı kalmodulin ile (CaM) regüle edilen bir enzimdir ve hücrelerden kalsiyumun atılımını sağlayarak intrasellülerkalsiyum seviyelerinin düşük olmasını sağlar. Bugün elde edilen bilgiler alüminyumun direkt veya indirekt olarak birçok patolojik durumlar ile kalsiyum homeostazisini bozabildiğini desteklemektedir (31,32). Dört haftalık bir periyotta alüminyum ($10mgkg^{-1}$ vücut ağırlığı günü⁻¹) merkezi sinir sisteminde Ca^{2+} ATPazın aktivitesinde zararlı etkiler gösterir. Yapılan invitro deneylerde $10\mu M$ alüminyumun sinaptosomal Ca^{2+} ATPazın aktivitesinde doza bağlı azalmalar görülmüştür (3). Alüminyum, plazma ve endoplazmik retikulum (ER)ATPaz ve mitekondriyalATPaz gibi farklı regülaör sistemler ile intrasellüler kalsiyumun hareketini hareketi bozar. Ratlarda karaciğer ERCa²⁺ATPazın inhibisyonu alüminyum konsantrasyonuna bağlı bir saturason fenomenini temsil eder. Öte yandan alüminyumun ratlarda beyin ya da cerebellumda Ca^{2+} ATPaz üzerine etkileri doza bağımlıdır. İntrasellüler kalsiyum seviyelerinin azalmasının büyük bir sonucu hücrel membran bütünlüğüne zarar veren serbest radikallerin artmasıdır (32).

2.1.2.3.Na⁺K⁺ATPaz

Na⁺K⁺ATPaz (sodyum – potasyum – aktive edilmiş adenosin tri fosfat) sodyum pompalarının bir kısmını ve potasyumun içeri transportunu ve sodyumun bazı hücre tiplerinden dışarı çıkmasını sağlar ve beyinin hücrel membranında yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu dokularda üretilen ATP nin yaklaşık %40-50 sini kapsar ve membran akıcılığındaki değişikliğe yüksek oranda cevap verir (33). Bu aktivite taşıma mekanizmalarındaki karmaşıklığı ve sinir sistemindeki sinaptik transmisyon ve osmotik regülasyonu korumanın yanında hücrelerde diğer bazı fonksiyonlarda da önemlidir. Alüminyumun Na⁺K⁺ATPaz üzerindeki etkilerini göstermek amacıyla ratlarda yapılan çalışmalarda Zatta etal (34). beyindeki Na+K+ATPaz aktivitesinin fenomene bağlı olduğu görülmüş. Aynı zamanda karaciğer mitekondriyal Na+K+ATPazında aktive edildiği görülmüş. Ancak bunun tersine alüminyumun bulunduğu durumlarda bu metalin Na+K+ATPaz üzerine inhibitör etkisi gösterdiği tespit edilmiştir.

2.1.2.4.Mg²⁺ATPaz

Alüminyum bazı reaksiyonlarda magnezyumun yerini almaktadır. Bu nedenle alüminyum enzimlerin normal fonksiyonlarını engellediğinden genellikle inhibiyon ile magnezyum üzerinde de aynı etkiyi gösterir (35). 90–120 günlük alüminyum alımından (vücut ağırlığında 100mgAlkg-1alımla) sonra karaciğer ve beyindeki mitekondriyal Mg²⁺ATPaz aktivitesinin inhibe edildiği görülmüş. Kalp mitekondrisinde ise bunun tersi olarak ATPaz %73 ten %212 ye yükselmiş (36). Bu çalışmada görülmüş ki ADP fosforilasyon oranları da %46 azalmış ve ATPaz aktivitesindeki değişiklik genellikle genellikle solunumla ilgili oranlara paralel gözlemlendi. Bu çalışmada solunum aktivitesi ve ATPaz aktivitesi üzerinde Al³⁺ nın etkisine bakıldığında kalp mitekondrisinde Al³⁺ solunumun stimülasyonunu 11 kat artırırken karaciğer ve beyin mitekondrisinde solunum oranı azalır ve alüminyum konsantrasyonunu iki katına çıkarır. Böylece alüminyumun indirekt etkisi bu dokularda görülür.

Deneyel hayvanlarda alüminyumun lizozomlarda toplanması kuşkusuz insan patolojisinde de iyi bir durumdur. Yapılan deneylerde lizozomların metal birikimlerinin gerçekleştiği elective yer olduğu gözlenmiş. Böylece lizozomlar hücreyi serbest metallere veya birleşik metallere kaynaklanan toksik etkilerden korur. Ratların

karaciğer lizozomlarında yapılan bir çalışmada alüminyumun H⁺ATPaz aktivitesini engellediği görülmüştür (37). İntralizozomal pH asidiktir ve organellerin iç kısmına pompalanan H⁺ ve membranın dış kısmında bulunan magnezyum ile aktive edilen bir enzimin proton pompası ile korunur. Alüminyum substrat ATP ile güçlü kompleksler oluşturur ve Mg-ATP kompleksleri ile yarışır. Ayrıca H⁺ATPazın yapısal konformasyonunu engeller. Bitkiler üzerinde dealüminyum inhibisyonu ile ilgili çalışmalar yapılmış. Buğdayda H⁺ATPaz mikrozomlarda bulunur ve alüminyumklorid 50-200µM aralığında onun aktifliğini inhibe edemez (38). Buğday kökünde lipitler ile alüminyumun etkileşimi çalışılmış ve sonuçta bugünkü hipotezlerin aksine alüminyum toksisitesinin metal bağlı enzimatik katalitik etkileşime bağlı olmadığı görülmüş. Bunun spesifik membran lipitleriyle etkileşime bağlı olabileceği düşünülmüş. Çünkü enzimler bu membranlarda bulunur.

2.1.2.5. Ca²⁺Mg²⁺ATPaz

Kroner endoteliumda ATP'nin ADP'ye hidrolizini sağlayan Ca²⁺ ve Mg²⁺ ile aktive edilen ektonükleotidaz Ca²⁺Mg²⁺ATPaz olarak tanımlanmaktadır. (39) Yapılan çalışmalarda HPLC metodu ile ratlarda kroner sirkülasyonda ATP'nin hidrolizini test etmiştir. Bu metod rat kalbinde izolasyon çalışmalarında kroner atıklarında ATP'nin ve eşzamanlı olarak onun hidroliz ürünlerinin ölçülmesini sağlar. Çalışmalar sonunda görülmüş ki alüminyumun fazla alınması durumunda Ca²⁺Mg²⁺ATP'az ATP'nin hidrolizini değiştirmez. Ayrıca ADP'nin AMP'ye ve AMP'nin adenoze daha fazla bozulması da benzer şekilde alüminyumun hazırda bulunması ile etkilenmemiş.

2.1.2.6. GTPaz

Guanin nükleotidler GTP gibi sinyal transdüksiyon oluşumunun regülatörü olarak bilinir ve onların efektör bir sistem ile ya da fosforilasyon sonucu direk etkileşimlerinde kullanılabilir (40). G-proteinler (proteinlere bağlanan guanozin nükleotid) magnezyuma bağımlı GDP/GTP değiş tokuşu ile aktifleşir. İntrinsik GTPaz aktivitesi GDP nin hareketsizliği durumunda aktifleşir. Trimerik G-protein üzerinde alüminyumun endojen Mg²⁺ ile yer değiştirmesi GTPaz aktivitesi ile gerçekleşir. Alüminyum; metal-GTP-kompleksine bağlanarak Mg²⁺ bağımlı GDP/GTP değiş tokuş reaksiyonlarını %25–60 inhibe eder (41). G-Protein aktivasyonunun alüminyum ile

inhibe edilmesi Mg-GDP-Protein üçlü kompleksinin termodinamik stabilitesini artırır (42). Yapılan çalışmalarda mikrotübüllerin GTPaz aktivitesinde alüminyum ile inhibe edildiğini gösterir. Alüminyum ve magnezyumun yarışmalı mekanizma ile magnezyuma bağımlı bir yolda ras p 21'in GTPaz aktivitesinin pikomolar alüminyum konsantrasyonunda inhibe edildiği görülmektedir (43). Sonuç olarak; Alüminyum toksisitesinin potansiyel bir biyokimyasal mekanizma ile alüminyum ve magnezyumun birbirinin yerine geçmesi ile olduğu görülmüş (48).

Başka bir yaklaşım proteinG de alüminyum florid anyonlarının etkilerini odak alıyor. Sinyal transdüksiyonunda alüminyumun etkileri florid iyonlarının bulunup bulunmamasından tamamen farklıdır. Florid iyonlarının olmaması durumunda alüminyum tüm sinyal transdüksiyonunu azaltırken (çünkü daha az GTP bağlar) florid iyonlarının varlığında Al^{3+} nın olmasıyla sinyal transdüksiyon artar(44). Alüminyum florid nükleotid bağlanmalarında α -subünitelerde bir $GDP-Al^{3+}_F3^-$ kompleksi oluşturarak G-protein stimülasyonuna neden olur (45). Bu da biyolojik sistemlerde potansiyel olarak disfonksiyona neden olur. Bu etkilerde AlF_x (x muhtemelen 3tür) regülatör proteinlerin geçiş yerlerinde stabil $G\alpha$ subünitelerinde GTPnin γ -fosfat gruplarını taklit eder (46). AlF_x - mekanizması fosfatidil inozitol4,5-bifosfatın(PIP2) fosfolipaz C ile inozitol 1,4,5-trifosfata (IP3) ve diaçilgliserole (DAG) hidrolizi önemli bir transmembran sinyal sistemlerdir. IP3 ve DAG ün üretilmesi intrasellüler depolardan ve stimüle kinazlardan kalsiyumun serbest bırakılmasına neden olur (47).

G-protein sistemlerinde fosfoinositid sinyalizasyonu yolunda alüminyumun kendileri etkileri vardır. Alüminyum spesifik olarak fosfatidil inozitol4,5-bifosfatta (PIP2) etkili olan Ca^{2+} bağımlı enzim fosfolipaz C yi inhibe eder. O alüminyum klorid şeklinde $100\mu M$ ın biraz üstünde IC(50) bir konsantrasyonda PIP2 nin hidrolizini kompetitif inhibe eder (48).

2.1.3.Alüminyumun Kaynakları

2.1.3.1.Çevresel Kaynaklar

Doğal alüminyum toprakta meydana gelir ve dünyanın %8inde bulunur. Alüminyum madenciliği ve eritilmesi sonucu çevredeki atık sıvılarla birlikte yüksek konsantrasyonlarda bulunur (49). Alüminyumun en büyük kaynağı maden cevherleri ve kaya materyalleridir(50). Bu doğal süreçte insan aktiviteleriyle (madencilik ve tarım)

alüminyum silisilat materyallerinin savruşturulması ile çevreye sürekli olarak verilir(51). Alüminyum atmosferde daha çok alüminyum silisilat şeklinde ve ortalama 0,005 ile 0,18mg/m³ bulunur Alüminyum konsantrasyonları normal olarak doğal sularda azdır fakat kentlerde daha yüksek oranlarda bulunmaktadır (52). Alüminyum miktarı asit yağmurları ile sürekli olarak artmaktadır.

2.1.3.2.Besinsel Kaynaklar

Alüminyumlu topraklarda büyüyen yiyecekler alüminyum içerir. Toprak pH'sı 4,5–5 den daha düşük olduğu zaman alüminyum çözünür ve sulu topraklarda bitkiler kökleri ile absorbe edilir (53). Diyetle alüminyumun önemli bir miktarı yiyeceklerle vücuda katılır. Alüminyum birçok yiyeceklerin yapımında ve içme sularında önemlidir (54). Ayrıca peynir, süt ürünleri, maya tozu, kek karışımları, donmuş hamur, gözleme karışımları vb. gibi bazı yiyeceklerde alüminyum içermektedir. Bunun yanısıra bebeklerde emme ile 2.1mg/gün alınan süt ürünleride alüminyumun başka bir kaynağıdır (55). Meşrubat türü içeceklerde de ortalama alüminyum miktarı 0,1mg/g dır (56). Kuru çayda 555–1009µg/g alüminyum içerirken tipik demlenmiş bir çay 4,5-6µ/ml alüminyuma sahiptir. Demlenmiş kahve 0,04-0,30µm /ml alüminyum konsantrasyonuna sahiptir (57). Günlük yiyeceklerin pişirildiği tava, tencere, kavanoz, çaydanlık, tepsi vb. gibi alüminyumdan yapılmış kaplarda da günlük yaklaşık %20 alüminyum emilimi olmaktadır (58). Yapılan çalışmalarda yetişkin bir erkekte günde 10mg/gün alüminyum emilimi gerçekleşirken kadında bu miktarın 7mg/gün e düştüğü gözlenmiş (59). Bebeklerde alüminyumun az bir miktarı anne sütünden geçmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda gebe ratlara ve emziren ratlara deri altından Al²⁶ enjekte edildiğinde transplasental yol veya anne sütü aracılığıyla alüminyumun fetuslara veya süt çocuklarına geçtiği görülmüş (60).

2.1.3.3.Latrogenik Kaynaklar

Kan içine direkt olarak alüminyumun girişi yüksek alüminyum dialytsatesi aracılığıyla ya da alüminyum içeren fosfatların yüksek oral dozları veya ilaçlar alüminyum antasitleridir. Alüminyum intravenöz solusyonların iyi bir kontaminantı olarak bilinmektedir (61).

Akut alüminyum intoksikasyonunun bu tipleri klinikte yaygın değildir fakat meydana gelebilir ve öldürücü olabilir (62). Alüminyum toksisitesi aslında diyaliz hastalarında ortadan kalkmıştır. Bununla birlikte alüminyum içeren suyun kontaminasyonu ile seyrek toksik etkiler meydana gelebilir (63). Bunlara ilaveten alüminyum içeren reçetesiz ilaçlar, bazı antasitler, tamponlu aspirinler, antidiarroeal ürünler, douches ve hemorit ilaçlar yaygın olarak kullanılır ve önemli alüminyum kaynaklarıdır. Alüminyum içeren antasidin tek bir dozu bile serum alüminyum seviyelerini artırabilir (64). Yapılan çalışmalarda alüminyum içeren antasitlerin kronik kullanımının diyaliz demans sendromuna neden olabileceği ve sendromun diyaliz yokluğunda renal azalma ile insanlarda görülebileceğini göstermiştir. Bazı hastalar antasitler ve tamponlu ilaçlar ile günlük olarak 5 mg'dan daha fazla alüminyum alırlar (65).

Alüminyum içeren adjuvanlar; rekombinant proteinler, virüs gibi partiküller, konjugat polisakkaritler son zamanlarda DNA aşılı gibi aşı ürünlerinde geniş olarak kullanılmaktadır (66). Yaygın olarak kullanılan difteri, tetanoz, hepatit, kuduz ve şarbon hastalığı aşılarının tümünde alüminyum temeldir. Birleşik Amerika da alüminyum seviyeleri aşının her bir dozu için 0,85mg ile (FDA limit) sınırlandırılmış (67).

2.1.3.4.Mesleki Kaynaklar

Endüstri başta olmak üzere yaşamda alüminyum kullanımı arttığından alüminyuma maruz kalmanın önüne geçilemez olmuştur. Alüminyum rafinerisi, metal endüstrisi, matbaalar, otomotiv sanayi, servis istasyonları, metal üreten fabrikalar v.b. gibi işyerlerinde çalışan kişiler alüminyumun etkilerine daha çok maruz kalmaktadırlar (68). Bireylerin alüminyuma maruz kalan insanların solunum sisteminde long term engelleme ve aşamalı olarak alüminyum birikimine neden olduğunu gözlemiş.

2.1.4.Alüminyumun Vücuda Girmesi

Alüminyumun vücuttaki absorpsiyonu çok düşük olarak bilinmektedir. Fakat başka birçok faktör insanlarda ve hayvanlarda onu artırabilir. Alüminyumun absorpsiyonunun önemli bozulmalarından biri bağırsak içindedir (69). Alüminyumun kendiliğinden intestinal absorpsiyonu %1 kadar düşüktür fakat birçok organik diyet bileşenleri alüminyumun potansiyel şelatörleridir ve onun absorpsiyonunu artırabilirler

(70). Alüminyumun intestinal absorpsiyonunun artması aynı zamanda patolojik durumları da artırır. Alzheimer's hastalarında alüminyumun atılmasında gastrointestinal sistemin yeteneğinin azalmış olduğu görülmektedir. Bağırsaklardan alüminyumun absorpsiyonu ile ilgili mekanizma henüz tam olarak bilinmemektedir. Feinroth ve arkadaşlarına göre alüminyum aktif olarak bağırsakların dışına taşınırken öte yandan Cochran ve arkadaşlarına bağırsak mukozası ve alüminyum absorpsiyonunu regüle eden alüminyum bağlayan 2 tane Al- spesifik proteinin varlığına bağlamıştır (71). Günümüzde alüminyumun intestinal absorpsiyonunun iki yolla gerçekleştiği kabul edilmektedir. 1) Parasellüler pasaj doğrultusunda enterositler boyunca sıkı bağlantılar ile pasif olarak taşınmaktadır. 2) Transsellüler pasaj doğrultusunda enterositlerin içerdiği pasif taşınmanında dahil olduğu bir aktif transport sürecidir. Bunlardan birinci yol ansatredir ve sadece ekstrasellüler kalsiyum ile değişen yüksek alüminyum konsantrasyonu için kullanılırken ikinci yol saturedir (72). Gastrointestinal sistemde alüminyumun net absorpsiyonunda bu oluşumların katkısı kişilerin sağlığı ve bağırsak lümeninin kimyası dahil birkaç faktöre bağlıdır. Tozlar ve aerosoller aracılığıyla madenciler, smeltersler ve diğer metal işçileri alüminyuma büyük ölçüde maruz kalırlar. Bunlarda inhale edilen alüminyumun beyinde birikmesi olfaktör sistem yolu ile absorbe edilir) ya da a) akciğer epiteli aracılığıyla veya b) gastrointestinal sistem yolu ile sistemize edilir (73). Alüminyumun yaklaşık %3 ü akciğerlerden kanın içine absorbe edilir. Olfaktör sinir borusunda transsinaptik alüminyum dağılımı deney hayvanlarında da gösterilmiş, pulmoner alüminyum absorpsiyonu gastrointestinal alüminyum absorpsiyonundan daha etkilidir.

Alüminyum içeren kozmetik ürünler, ter önleyicileri ve deriye uygulanan ilaçlar deride veya başka organlarda zararlı etkiler göstermemektedir (74). Spesifik durumlarda alüminyum bileşenlerinin intradermal penetrasyon (75) ve histiositik birikimleri (hiperhidrosis) gösterilmiş (76). Al²⁶ klorohidratın ele sürülmesi ile Al²⁶ nin %0,0012 lik absorpsiyonuyla deri alüminyumun vücut içerisine alınmasında minör bir rol oynar.

İnvivo deneysel çalışmalarda alüminyum absorpsiyonunun genellikle çok düşük olduğu (%1) görülmüş ve alınan alüminyum miktarı ile orantılı olarak artış gösterir(77). Alüminyum vücuda girdikten sonra epitel dokuya geçer. Gastrointestinal, olfaktöryel, pulmonar ve dermal epitelin alüminyum ile ilişkisi tam olarak bilinmemektedir.

Bununla birlikte intravenüs, intramusküler ve parenteral alüminyum bileşiklerinin alınması bu bariyerleri geçerek olur.

2.1.5.Vücutta Alüminyumun Dağılımı

Sağlıklı bir insanda toplam alüminyum miktarı yaklaşık 30-50mg dır(77). Vücuttaki bu total alüminyum farklı sistemik kompartmanlarda değişiklik gösterir (78). Alüminyuma maruz kalmış insanlarda ve alüminyum tedavisi görmüş deney hayvanlarında alüminyumun çeşitli dokularda eşit olmayan dağılımı rapor edilmiş (79). Genelde insanlarda vücudun total alüminyum miktarının yarısı iskelette dörte biri akciğerlerde bulunur. Ancak vücutta alüminyumun biriktiği önemli bir yer beyindir. Beyaz cisimde gri cisimde yaklaşık iki kat kadar konsantrasyonda alüminyum içerir (80)Alüminyum insan iskeletinde gastrointestinal lenf nodülleri, adrenaller, ve paratroid bezlerinde daha düşüktür.

Yol, doz ve kaynağın süresine bağlı olarak farklı hedef organlarda metalin dağılımı çeşitlilik gösterir. Akciğerler, hilar lenf nodülleri, karaciğer ve dalak inhalasyon kaynaklı alüminyumun biriktiği ana organlardır (81). Alüminyumu tutan oral kaynaklar beyinde (özellikle hipokampuste), kemikte, böbreklerde, kas ve kalpte izlenmiştir. Kemikte alüminyumun en yüksek seviyelerine rastlanmıştır. Beyin de diğer birçok organlardan daha fazla alüminyum konsantrasyonlarına sahiptir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmada kemikten sonra artmış alüminyum seviyelerinin farklı organlarda ki sırası korteks > böbrek medulla > karaciğer > testis > iskelet kası> kalp > beyin dir. Kemik ve böbreklerde alüminyumun hareketi genellikle doza bağımlı değildir (82).

Yaş ilerledikçe akciğerler, böbrekler ve beyinde alüminyum konsantrasyonun arttığı gözlenmiştir (83). Alüminyumun dağılımında paratroid hormon ve 1,25dihidroksi vitD etkili olabilir. Paratroid hormon karaciğerde alüminyum konsantrasyonunu artırır. 1,25 dihidroksi vitD kalpte ve kaslarda alüminyumu artırır. Fakat kemik, karaciğer ve beyinde alüminyum içeriği eş zamanlı olarak azalır. Birkaç diyetle beyin alüminyum seviyeleri laktik, glukonik, malik, sitrik ve oksalik asitlerin emilmesi ile yükselirken kemikte alüminyum seviyeleri anlamlı olarak artar. Dalakta alüminyum seviyeleri glukonik ve askorbik asit ile anlamlı olarak artarken böbreklerde de glukonik ve oksalik asitler alüminyum seviyelerini artırır (84).

2.1.6.Alüminyumun Hücelere Katılımı

Hedef organlarda birikmiş alüminyum hücre içerisinde düzgün bir şekilde dağılmamıştır. Alüminyum lizozom, hücre çekirdeği ve kromatinde birikir. Çekirdek içerisindeki intranükleer alüminyum ve nörofibriler yumağın oluşumu (alüminyum nörotoksisitesinin bir işaretidir) arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir (85). Lizozomlardaki alüminyumun dementia ile birleşmiş olabileceği rapor edilmiştir. Alüminyum sitozolik, mitekondriyal, lizozomal ve çekirdek bileşenlerinde bulunmaktadır. Nöronal hücrelerde alüminyumun çekirdekte biriktiği gözlenmiştir. Alüminyumun vesiküler perinükleer dağılımı lizozomal bir marker olan kateşin ile kısmen astrositlerde bulunmuş (86).

2.1.7.Patofizyolojik Değişiklerin Oluşumunda Alüminyumun Rolü

Alüminyumun toksisitesi tam olarak ortaya çıkarılmasına rağmen işlevsel mekanizması yeterince anlaşılmamıştır. Alüminyumun beyin, karaciğer, kemik kasları ve kemik iliği üzerindeki toksik etkileri ortaya çıkarılmıştır (87). Böbreklerde alüminyumun intralizozomal birikim mekanizması metallerin yok edilmesini sağlar. Fakat diğer dokularda bazı spesifik toksik etkisi bulunmaktadır. External dokularda alüminyumun yavaş yavaş birikmesi büyük çökeltilerin oluşumuna neden olarak hücrelerin işlevini bozabilir veya öldürebilir.

2.1.7.1.Alüminyumun Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri

Her ne kadar alüminyumun moleküler sitotoksitesi ile ilgili az bilgi olduğu görülse de alüminyumun nörotoksik olduğu açıktır (88). Diğer organların aksine genç ratların beyinlerindeki alüminyum konsantrasyonu yaşlı ve yetişkin ratlara göre daha yüksek olarak bulunmuştur (89). Alüminyum oldukça toksik olup insanlarda ve deney hayvanların beynin prenatal ve postnatal dönemlerde gelişimi yüksek oranda inhibe eder. Genç yaşlarda beyin alüminyum için en hassas hedef organlardan biri olabileceği düşünülmektedir.

2.1.7.2.Alüminyum Birikmesinin Nöropatolojilerle İlişkisi

İnsanlarda gelişen bazı nörolojik hastalıklar alüminyumun intoksikasyonuna yorulmaktadır. Bunlar hafıza kaybı, titreme, irkilme, denge bozukluğu, merak kaybı,

atoxia, myoclonik irkilme ve kusma ile kendini gösterir (90). Son yapılan epidemiolojik, nöropatolojik ve biyokimyasal çalışmalar Alzheimer's hastalığının patogenezi ile alüminyumun nörotoksitesisi arasında önemli bir bağlantı olduğu ileri sürülmektedir. Bu patolojik hastalıklar ve alüminyum arasındaki ilişki hala tartışma konusudur.

Nöropatili bir hastanın otopsi çalışmalarında makroskopik incelemelerde korpus callosum ile kalp karıncığında ve beyaz cisimde tabakalara benzer gri bölümlerde genel bir dilatasyon gözlenmiştir(91). İçme suyundaki alüminyumun ratlara kronik olarak verilmesi beyinde farklı morfolojik değişimlere neden olabilir. Çalışmalarda nöronal yoğunluğun pyknosis gibi dejeneratif değişimlerin, vakuolizasyon, kromatin kondensasyon ve diğer iskelet-kas ve serebrovasküler anormalliklerin indirgendiğinin kanıtlanmasını sağladılar (92). Mikroskobik olarak demyelinizasyon ve alüminyumun ve fosfor bileşenlerinin varlığını tespit etmişler. Alüminyumun intraserebral uygulanması nörofilamentlerin perikordiyal akümülyasyonuna bağlı olarak nörofibriler karışıklığın oluşumu azalır. Beyin ve spinal korda nöronların dentritlerinde ve perikardiya da nörofilamentlerin birikmesi normal gibi görünmektedir (93). Çok fazla steroid içeren nörofilamentler nöropilde önemlidir. Alüminyum intoksikasyonu axonal şişkinliklere neden olur. Alüminyum intoksikasyonunda purkinje hücrelerinin bozulmasıyla serebral atrofi rapor edilmiştir. Çok yaşlı insan beyninde serebellar purkinje hücrelerinde alüminyumun neden olduğu benzer durumlar gözlenmiş (94).

2.1.7.3.Alüminyumun Davranışlara Etkileri

Serum alüminyum seviyesi daha yüksek olarak bilinen hemodiyalizli hastalarda görsel bellekte bir azalma gözlenmiş. Yetişkinlerde akut alüminyuma maruz kalmada üzüntü, sallanma, karışıklık, mitoclonic jerk, grand mal epilepsi, obtundation, koma ve ölüm bulguları rapor edilmiş. Çocuklarda alüminyum toksitesisi sözlü ve motor becerinin gerilemesi ile ortaya çıkar (95). Alüminyum 65 yaşından sonra, bilişsel azalma ile karakterize edilen senil demans için bir faktördür. Dializ demansı konuşma yeteneğindeki anormalliklerin yanında anormal EEG trasesi ile ilişkili hafıza gerilemesi ile karakterize edilir. Böylece bu bulgular bilişsel gerilemenin alüminyuma bağlı nörotoksitesiteye bağlı olduğunu göstermiş.

2.1.7.4. Alüminyuma Cevap Olarak Beyindeki Değişiklikler

Nöral hastalıklara yol açan alüminyumun etkisi, farklı yollarla sinir sistemi ile ilişkili olabilir. Bu farklı yollar: 1) glukoz metabolizması ile interfere olarak asetilkolinin prekürsörünü indirgenmiş forma dönüştürür ve katekolaminin katekol kısmı ile bağlanmasını sağlar. 2) Na^+ - K^+ -ATPaz ve Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPaz ın presneptik nöronal membran ile nörotransmitterlerin salınmasındaki değişikliklerden etkilenmesi ile. 3) Kanalların üzerine veya içine kompetitif inhibitör faktör olarak bağlanıp intrasüllüler homeostazisi düzenlemesini sağlaması ile 4) cAMPnin artması ile 5) Fosforilasyonun değişimi, proteolizis, transport ve sentezin sitoskeletal proteinlerde değişimlerin etkisi ile 6) Genomik yapıların genel olarak etkilenmesi ile 7) Oksidatif hasar dahil beyin fosfolipitlerinin lipit peroksidasyonu ile (96). Hüresel nükleik asit mekanizmasında beyin alüminyuma bağlı toksisitesinde önemli rol oynamaktadır.

İnvitro bir çalışmada alüminyum asetilasetatin hücre membranlarında bulunan lipitlerin moleküler yapılarını ve biyofiziksel ve fizyolojik yapısını değiştirdiği görülmektedir (97). β -amiloidin oluşumu ve birikmesi alüminyum tarafından etkilenmektedir. Alüminyum tuzları amiloid fibril oluşumunu tersine döndürmektedir. Alüminyum aynı zamanda tau proteinlerinin ve diğer nörofibriler proteinlerin agregasyonunu tetikler.

Kalsiyum kalmodülin immünoreaktivite kaybı ve çok miktardaki alüminyum artışı Alzheimer's hastalarında kalmodulinin aktif konformasyonunda değişikliklere neden olmaktadır (98).

Aminerjik nörotransmitterler ve aminoasit nörotransmitterlerde meydana gelen bölgesel hasarlar alüminyuma bağlı nörotoksitenin oluşumunda önemli katkı sağlamaktadır (99).

2.1.7.5. Ekstranöral Sistemde Alüminyumun Etkileri

2.1.7.5.1. Musculoskeletal Sistem

Kronik alüminyum zehirlenmesinde asıl hedef daha çok iskelettir. İskelet sisteminde en yüksek alüminyum miktarı birikir. Ayrıca karaciğer, böbrek, kas ve kalp gibi organlarda da alüminyum birikir. Yapılan çalışmalarda alüminyumun ilk önce kemikte depo edildiğini fakat yaşlılıkta osteoporez ile beraber kemiklerin

demineralizasyonu ile alüminyumun beyin dahil diğer organlara transfer olduğu rapor edilmiş.

Alüminyumun neden olduğu musculoskeletal toksisitesinin genel özelliği osteomalazi, kemik ağrısı, potolojik çatlamlar ve proksimal miyopati vitamin D terapisine cevapta yetersiz olmasıdır (100). Kemikte alüminyum birikimi osteodistrofi ve kırılmalarla sonuçlanarak eşzamalı olarak diyaliz demans sendromundan önde gelebilir. Kemikte aşırı alüminyum birikimi düşük kemik oluşumları ile ilişkilidir ve kırılmaları artırabilir. Deneysel hayvanlarla yapılan çalışmada verilen alüminyumun kemiksi birikme ve mineralizasyon azalması ile karakterize olan osteomalaziye neden olduğu izlenmiş. Alüminyumun osteoblast yüzeyinde azalma, osteoid birikiminin artması ve kemik oluşumuna ara verme gibi durumlara neden olacağı rapor edilmiş. Yapılan deneylerde kemiklerde alüminyumun çok düşük seviyelerinin bile mitojenik olabileceğini göstermiş. Klinik ve deneysel olarak yüksek dozdaki alüminyuma maruz kaldıkları tespit edilen hayvanlarda osteoblast ve osteoklastların gelişimini inhibe ederek osteomalazi adenomik kemik hastalıklarını oluşturduğu gözlenmiş (101). Kemiklerde alüminyumun etkileri bifaziktir. Osteoblast hücrelerinin kollajan sentezi, DNA replikasyonu, ornitin dekarboksilaz ve alkalın fosfataz (tartarat resistant) aktiviteleri yüksek alüminyum konsantrasyonlarında inhibe edilirken ($>1,5 \cdot 10^{-6}M$), alüminyumun daha düşük seviyeleri bunların aktivitelerini stimüle eder.

2.1.7.5.2.Solunum Sistemi

İnhale edilmiş alüminyumun etkileri başlıca respiratör sistemde görülür. Alüminyum endüstrisinde çalışanlarda astım, öksürük, akciğer fibrosisi ya da pulmoner fonksiyon bozukluğu artmıştır. Fakat bu etkilerin sadece alüminyuma bağlı olduğu kesin değildir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda alüminyumun bronko alveolar lavaj sıvılarında ve granulomatous reaksiyonlarında makrofajların proliferasyonuna neden olduğu rapor edilmiştir. Granulomatous reaksiyonlar bazı durumlarda pnömonia ile birlikte olan dev vacuolat makrofajlarla karakterize edilir.

2.1.7.5.3.Kardiovasküler Sistem

Alüminyumun birikmesine kalpte de rastlanmıştır. Hemodiyalizli hastalarda alüminyumun olduğu kısımda kardiyak hipertrofi gözlenmiş. Miyokardiyal hücrelerde

lizozomlarda alüminyum birikimi olabilir ve hemodiyaliz hastalarında ani ölüm ve yaygın aritmi ile kardiyomiyopati ve miyokardiumda alüminyum birikmesi arasında bilinen bir birliktelik vardır. Sarkoplazmik retikulumda kalsiyum alımının azalması ile diabetes melitusun yan etkileri potansiyel alüminyum kaynağına bağlıdır.

2.1.7.5.4.Hepatobiliar Sistem

Alüminyumun karaciğer üzerindeki yan etkileri iyi bilinmektedir. Karaciğerde alüminyumhidroksitin intraperitoneal kaynağı granuloma resorpsiyonunun farklılaşmasını indükler. Alüminyum makrofajlarda ve dev hücrelerde Morin floresans ile ölçülür. X ışınları ile mikroanaliz de elektron probu ile alüminyum, makrofajlar ve kupfer hücrelerinin lizozomlarında dominant olarak gösterilmiştir. Alüminyumun yüksek birikimine rağmen karaciğer fonksiyonu bilier eksresiyonundan dolayı nadiren etkileniyor. Bazı durumlarda intrasellüler depolar çok büyük miktarlar içerirler ki bu hepatositleri yok eder (102). Total parenteral beslenen hastalarda cholestesis, periportal inflamasyon, safra kanalı proliferasyonu ve hepatositlerin dejenerasyonu ile karakterize edilmiş karaciğer rahatsızlıklarının başladığı kabul edilir. Daha düşük dozlarda alüminyumun portal inflamasyon ile karakterize edilmiş hepatobiliar disfonksiyon oluşturabilir.

Alüminyumun karaciğerdeki anomallikleri serum safra asit konsantrasyonunun artması, glukonil transferaz aktivitesi artması, oksidaz seviyelerinin ve safra akıntısının artmasıdır. Ayrıca kolestatik ile ilgili olan safra asitleri ile taurin konjugasyonunun attığı rapor edilmiş (103).

Stokrom P-450 nin kaybı ile birlikte hemoksijenaz aktivitesi artar. Bununla birlikte redükte glutatyonun tüketimi azaldığı için paranteral alüminyum hepatik hasara neden olduğu rapor edilmiştir (104).

Ratlarda oral olarak alınan alüminyumun karaciğerde ve α - aminolevulinik asit dehidrataz (ALA) aktivitesinde azalmaya ve paralel olarak üründe α - aminolevulinik asitin artmasına neden olduğu gözlenmiştir. Alüminyum klorid karaciğerde ALA-sentetaz ve hem oksijenazazalmasına neden olur. Spesifik alüminyum tuzları ile muamelenin 2. haftasında bazı morfolojik ve biyokimyasal değişimler gözlenmiştir. Morfolojik değişimlere midzonal koagülasyon nekrosiz dahildir. Glutamat oksaloasetat tranaminaz, glutamat pruvat transaminaz. Laktat dehidrogenaz, γ -glutamil

transferaz ve alkalın fosfataz alüminyum tedavisinin 4. haftasında daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlenmiş (105). Erkek Wistar ratlarında alüminyum klorid ile muamelede süksinat dehidrogenaz ve adenzin trifosfatazın aktivitesi ilk başta yükselirken sonraları asit fosfatazla azalır. Metabolizma ve protein sentezi esnasında alüminyumun karaciğere zararlı etkileri gözlenmiştir.

2.1.7.5.5.Endokrin Sistem

Ensefalopati vakaları ile ilişkili diyalizlerde otopsi, gümüş boyalı parafin kısmı olan ışık mikroskopunda çok sayıda intrastoplazmik siyah lekeler şeklinde granüller oluşmaktadır. Hücresel ultrastrüktürde değişim olmaksızın paratroid bezlerin lizozom gibi kısımlarında alüminyumun biriktiği rapor edilmiş (106). Paratroid hormonun yüksek seviyeleri beyinde, kemikte ve paratroid bezlerde alüminyumun birikmesinden kaynaklandığı gösterilmiş. İnsanlarda ve hayvanlarda paratroid hormon seviyeleri alüminyum ile bozulur. Alüminyum kronik renal yetmezlik durumunu, sekonder hiperparatroidizmi ve paratroid fonksiyonun gelişimini etkilediği gösterilmiş (107). Alüminyumun direk olarak paratroid sekresyonunu inhibe eder. Bunun yanında alüminyumun hafif sekonder hiperparatroidizmde ve yeni hemodiyaliz hastalarında paratroid hormon seviyelerindeki değişiklik ile ilgili olmadığı gösterilmiş(108). Lipoit vücutlardaki büyük paratroid hücre stoplazmasında, lipofuscin graniller ve hemodiyalizde paratroid dectomize hastalarının paratroid bezlerinin mitekondrisinde önemli alüminyum depolarının olduğu söylenmektedir. Alüminyum depolarının hücresel bozulma ya da büyük hücre nekrozları ile veya paratroid hormon ürünlerindeki değişiklik ile ilgili olmadığı gözlemlenmiş (109).

Alüminyum metabolizmasının etkilemesi ile ortaya çıkan paratroid hormon toksisitesi birçok diyaliz hastalarında indirekt olarak alüminyumun indüklediği nörolojik hastalıklar, kemik hastalıkları ve anemi gibi rahatsızlıklara neden olabilir (110). Paratroid bezlerinin kötü çalışmasında alüminyumun rolü belli değildir. Hipertrofi alüminyum zehirlenmesi ile ilişkilidir. Farklı bir invitro çalışmada alüminyumun adenilsiklaz aktivitesinin inhibisyonu aracılığıyla paratroid hormon salgısının inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiş (111). Paratroid bezlerde alüminyumun çifte etkileri olabilir: Paratroid hormonun hiperparatroidizmde ilk

aşamada ve sonrakinde hormonun serbest bırakılmasının engellenmesi ile doku seviyeleri artar (112).

2.1.7.5.6.Üriner Sistem

Alüminyum önceden beri bir nörotoksin olarak bilinmektedir. Böbreklerde hızla alüminyum birikir fakat aynı zamanda bu elementi azaltan mekanizmalarda mevcuttur. Ratlarda yapılan bir çalışmada alüminyum ile muamelede alüminyuma cevap olarak anlamlı lizozomal zararlar gözlenmiş. Alüminyumun indüklediği nefrotoksisitesi alüminyum enjeksiyonuna ara verdikten sonra reversibl olarak kreatinin klirensinin azalmasını sağladığı gözlenmiş (113). Böbreklerin tubulo interstisiyal kısımlarında proksimal tubüller ve içme sularındaki düşük alüminyum seviyeleri ile mikrovilide hiperdilata gözlenmiş. Bazı tubüllerin atrofisi interstisiyal fibrosisin odak noktaları kuşatmasıyla oluşur. Glomerulların bazıları kısmi sklerosis ve merkezi mesangial hipercellularity e uğradığı rapor edilmiştir. Alüminyum nitritotriasetat intraperitoral olarak enjekte edildiğinde böbreklerde akut proksimal tubüler nekrosise gözlenmiş (113). İçme sularındaki alüminyum sülfat böbreklerde ALA-dehidrataz aktivitesini inhibe eder (114). Alüminyumklorid böbreklerin asit salgılama fonksiyonunu güçlendirir.

2.1.7.5.7.Kan ve Hemopietik Sistem

Mikrositik hipokromik anemi ya da kırmızı kan hücrelerinin azalmış seviyeleri hemopietik sistemde alüminyum toksisitesinin göstergesidir. Ratlara alüminyum klorür verilmesinden üç hafta sonra hemoglobin, hematokrit, ortalama korpusküler hemoglobin kütlesi ve ortalama korpusküler hemoglobin konsantrasyonunun azaldığı görülmüş. Ayrıca eritrositlerde, kan damarlarında ve dalakta da demir konsantrasyonlarında azalma görülmüş. Kanda artmış eritrosit protoporfirinlerin alüminyuma maruz kalmanın en hassas indükatörüdür (115). Kronik renal yetmezlikte aşırı alüminyum yüklenmesi ve uygun diyet alımı ile hastalarda hipokromik aneminin yaygın olduğuna dikkat çekilmiş. Anemi belirtilerin yokluğunda bile alüminyum alımı RBC üretimi ve hücre yıkımının etkisiyle hematopoiesesi artırabilir (116). Alüminyumun neden olduğu aneminin mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir

ve alüminyumun α - aminlevülük asit dehidrataz aktivitesini yükselttiğini kanıtlamış (ALA-D: Hem sentezleyen bir enzimdir.).

İnvitro yapılan çalışmalarda düşük alüminyum konsantrasyonu ile ilişkili olarak ALA-D nin aktive edildiği ve yüksek konsantrasyonlarda ise inhibe edildiği gözlenmiş. Alüminyum demir ile birleşmeye de engel olabilir. Bu tip anemi genellikle kemik hastalıkları ya da ensefalopati gibi diğer alüminyum toksisitesinde oluşur. Hemodiyaliz hastalarında alüminyum toksisitesi semptomları olmaksızın hemoglobin sentezinin inhibisyonu gözlenmiş (117). Ayrıca alüminyumun eritropoietine direnç gösterdiği rapor edilmiş. Yapılan çalışmalarda friend lökemi hücreleri ile invitro çalışmalarda alüminyum ile muamele edilince ferritin ya da hemin içinde birleşme olmaksızın aşırı demir birikmesi gözlenmiş. Alüminyumun neden olduğu bu anemi eritropoietin terapisine dirençlidir fakat anemi ve eritropoietine direncin ikisi de deferoxamine ile alüminyumun şelasyonu ile değişir. Demir ile reversibl değildir (118). Aynı şekilde tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalarda da alüminyumun anemiye neden olduğu gösterilmiş. Alüminyumun kemik iliğindeki enzimlerin azalması ile etkisini artırdığı gösterilmiş(119).

2.1.7.5.8.Üreme Sistemi

Yaşlı ratlarda yapılan çalışmalarda testislerinde yüksek miktarda alüminyum bulunmuş. Işık mikroskobunun gümüş kaplı parafin kısmında testislerin Leydig hücrelerinde çok sayıda intrastoplazmik siyah ince granüller görülmüş. Erkek ratların cinsel hareketleri alüminyum klorid enjeksiyonu ile baskılanmış. Alüminyum kloridin testislere enjeksiyonundan sonra iki gün içinde odaksal (focal) nekrosis ve yedi gün içinde de tüm spermatozoaların yıkımı görülmüş. Ayrıca alüminyum enjeksiyonundan sonra testis ağırlığı ve seminal kesecik ağırlıklarında azalma görülmüş. Farelerde alüminyum sülfatın kronik olarak bulunması testislerde ağırlığın azalmasının yanısıra tubüllerin büzülmesine ve spermatojenik azalmalara neden olur. Erkek ratlarda gonadotoksik etkiler ve gebe ratlarda fetal ölüm ile ilişkili maternal ölümün alüminyum kloridten kaynaklandığı rapor edilmiş. Son zamanlarda ratlarda ve farelerde cenin ile ilgili anormalliklerin oral olarak alınan alüminyumun etkisiyle arttığı rapor edilmiş (120).

2.2.SERBEST RADİKALLER

Kuantum kimyasına göre ancak iki elektron bir bağı yapısına girebilir. Ayrıca iki elektronun ters dönüş doğrultusunda olması gerekir. Yani yukarıya doğru dönen bir elektronun eşi aşağıya doğru dönen bir elektrondur. Elektron çiftleri oldukça kararlıdır ve insan vücudunun neredeyse tüm elektronları elektron çifti halinde bulunur.

Bir bağ kopduğunda elektronlar ya birlikte kalır (ikisi de bir atoma katılır) ya da ayrılırlar (biri bir atoma, diğeri diğerine). Eğer birlikte kalırlarsa oluşan atom bir iyon olur, fakat ayrılırlarsa serbest radikaller oluşur. Bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronları ayırıp işlerine engel olurlar. Ancak serbest radikaller bazı metabolik olaylar için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel olarak işlev görmektedirler. Bununla birlikte zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur.

2.2.1.Reaktif Oksijen Türleri

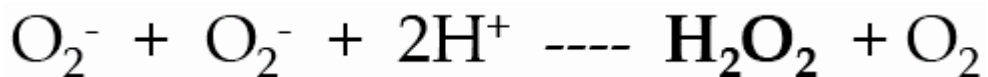
2.2.1.1.Süperoksit Radikalleri(O²⁻)

Süperoksit radikalleri (O²⁻), hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile üretilmektedirler. Süperoksit oluşumu; a-) elektron taşıyıcısının redoks durumuna ve b-) ortamdaki oksijen derişimine bağlıdır. Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikalinin kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir. Ancak süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir (121). Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O₂ ve H₂O₂ demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO[·] radikalini oluşturmaktadırlar.



Üretilen bu OH[·] Radikalleri oldukça reaktif olup DNA gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açar (122).

O₂⁻ radikalleri, hücre içi demir depolarından demiri serbest hale getirir. Serbest hale geçen demir iyonu Haber-Weiss gibi radikal üreten reaksiyonlarda veya diğer serbest radikal aracılıklı hücre hasarında rol oynayabilir. Süperoksit radikalleri çok kısa



bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H₂O₂ ve oksijen oluştururlar.

Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelmekte ve reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalizlenmektedir.

2.2.1.2.Hidroksil Radikalleri (OH[·])

Hidroksil radikali (OH[·]), biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Yaşayan canlı hücrelerin başlıca bileşeni su olduğundan bu hücrelerin X-ışını veya gama ışını gibi iyonize edici radyasyona maruz kaldıklarında su moleküllerinden H[·] ve OH[·] radikalleri meydana gelmektedir.



Hidrojen peroksit (H₂O₂)'nin Fe⁺² ve muhtemelende Cu⁺² ile reaksiyona girmesiyle de OH[·] radikali oluşmaktadır. H₂O₂ toksisitesinin büyük çoğunluğunun temelinde bu oluşan OH[·] radikali olduğu düşünülmektedir. Bu reaksiyon ilk defa 1894 yılında Fenton tarafından gözlenmiş ve günümüzde de Fenton Reaksiyonu olarak bilinmektedir.

OH[·] radikalleri başta lipid, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) olmak

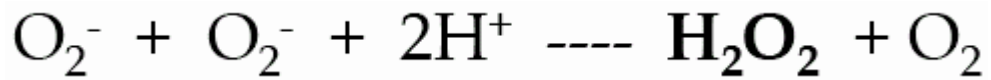
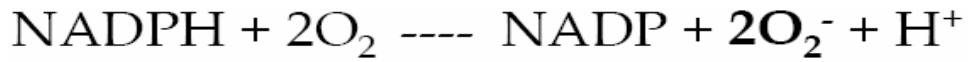


üzere hemen hemen bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. OH[·] radikali DNA da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür. Yine OH[·] radikalleri aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Örneğin: timine katılarak timin radikalini oluşturur ve bu radikal oksijenle reaksiyona girerek son derece reaktif olan timin peroksil radikalini oluştururlar. Bu gibi bir dizi reaksiyona katılabilen OH[·] radikalleri DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (123).

2.2.1.3.Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

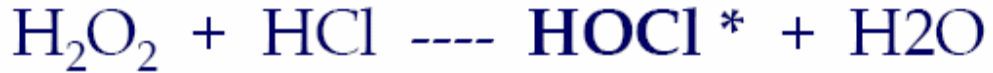
Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından aslında bir radikal değildir. Süperoksit anyonunun(O²⁻) hidrojenle yaptığı reaksiyona Dismutasyon reaksiyonu adı verilir ve Dismutasyon hızı asidik pH değerlerinde hızlanır (124). Reaksiyon şu şekilde ifade edilir;

Bazı enzimler ya tekli (NADPH oksidaz) ya da çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesini katalize ederek O₂⁻ veya H₂O₂ oluşmasını sağlarlar.



2.2.1.4.Hipoklorik Asit (HOCL)

Hipokloröz asit de radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) içinde yer almaktadır. Fagositik hücrelerin bakterileri öldürülmesinde önemli rol oynarlar. Aktive



olan nötrofiller, monositler makrofajlar ve eozinofiller süperoksit radikallerini (O₂⁻) üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem arz etmektedir. Özellikle nötrofiller miyeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce O₂⁻'in oluştururlar ve daha sonra dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'i meydana getirirler.

2.2.1.5.Singlet O₂ (O₂^{↑↓})

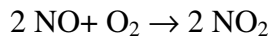
Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmadığından serbest radikal değil ancak serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Singlet O₂, oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi süperoksit radikalinin dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu tespit edilmiştir.

Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle peroksil radikalleri (ROO \cdot), alkoksil radikalleri (RO \cdot) karbon merkezli radikaller (R \cdot) veya tiol radikalleri (RS \cdot) oluşur. Bu radikaller oksijenle tekrar reaksiyona girerek yeni serbest radikaller üretirler (125).

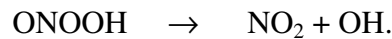
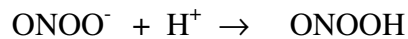
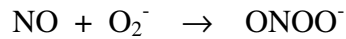
2.2.2.Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO⁺, NO⁻)

Biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen türevlerinin en önemlisi oksidasyon değeri +2 olan nitrik oksittir. NO; bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır. Bu lipofilik serbest radikal damar endotel hücrelerinde Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NOS'ın birçok izoformu tanımlanmıştır. NO'nun yarı ömrü 10-20 saniyedir. Kolayca düz kasa geçerek Guanilat Siklaz (GC) enziminin "hem" demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. Sentezlenen NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren akonitaz enzimine de bağlanır. Bu enzim hücre içi demir trafiğini kontrol eder. NO, akonitaz enzimine mRNA bağlanmasını artırır ve enzimin aktivitesini düşürür.

NO metabolize olurken moleküler oksijen ile bağlanıp nitrojen dioksidi (NO₂) oluşturur:



NO'nun ROS'leri ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOOH) oluşturduğu ve bunun da ileri dekompozisyonla OH \cdot radikalinin oluşumuna yol açtığı ifade edilmektedir:



OH \cdot radikali ise biyolojik olarak yıkıcı bir moleküldür. Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibi fenolik amino asitleri nitrolayarak toksik nitro- türevlerini (nitrotirozin) oluşturmaktadır. Sonuç olarak NO, endotel hücre disfonksiyonu ve buna bağlı ateroskleroz, hipertansiyon ve DM gibi bazı önemli hastalıklarda rol oynayabilmektedir.

2.2.3.Başlıca Serbest Radikal Oluşum Kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluştuğu gibi çeşitli dış kaynaklı etkilerin etkisiyle de oluşabilir. Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna sebep olurlar. Bunların yanısıra radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırlar. Sitokrom P 450, sitokrom b5, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, lipid peroksidasyonu, oksidatif stress yapan iskemi, travma ve intoksikasyon gibi durumlar, mitokondrial elektron transport sistemi (ETS), moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücrel serbest radikalleri oluştururlar (126) .

2.2.3.1.Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

2.2.3.1.1.Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi

Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçığının olmasıdır. Beklenilen aksine, oksijenin mitokondri solunumu sırasında bağlandığı ve suya indirgendiği sitokrom oksidaz basamağında radikal yapımı gösterilememiştir. Sitokrom oksidaz Fe:Cu:Zn:Mg atomlarını 2:2:1:1 oranında içeren bir protein olup, süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz aktivitelerine sahiptir. Bu sayede, sitokrom oksidaz üzerinde süperoksit veya H₂O₂ oluşsa bile, içerdiği enzimatik aktivite sayesinde hızla ortamdan temizlenir.

2.2.3.1.2.Endoplazmik Retikulum

Endoplazmik retikulumda buluna sitokrom P-450 moleküler oksijeni kullanarak bir çok substratı oksitler. Oksijen molekülünün bir atomu substrata bağlanır, diğer atomu ise su oluşturur. Bu reaksiyon monooksijenaz veya karışık fonksiyonlu oksidaz reaksiyonu olarak adlandırılır.

Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmaları, mikrozomal sitokrom P-450 sistemi ile aktivasyonudur. Bu sistem, moleküllere bir elektron ilave ederek (indirgeme olayı) veya molekülden bir elektron çıkararak

(oksidasyon olayı) serbest radikal oluşturur. Son durumda bir elektron eksikliği vardır ve elektrofilik bileşik oluşur. Oluşan bu elektrofilik ürün bir nükleofil ile reaksiyona girer. Bu elektrofilik bileşiği çeken en önemli bileşik sistein kalıntıları üzerindeki tiyol (-SH) grubudur. Tiyol grubu ise pek çok endojen makromolekülde (DNA, RNA, enzimler gibi) bulunduğu için reaktif ara ürünler bu moleküllerle kovalent bağlanarak toksisite gösterbilirler (127).

2.2.3.1.3.Redoks Döngüsü

Ksenobiyotiklerden serbest radikal oluşumu sadece mikrozomal reaksiyonlarla olmamaktadır. Menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin, gibi bileşikler alternatif bir redoks siklusuna girerler. Bu bileşikler, ilave bir çiftlenmemiş elektron kazanma eğilimindedirler. Bu ajanlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönüşmek için kolayca oksijenle oksitlenir ve süperoksit radikalini oluştururlar (128)

Oluşan ksenobiyotik ve süperoksit radikalleri intra sellüler ferritin depolarından demiri serbest hale getirirler. Sitozole salınan demir, serbest radikaller arasında en reaktif olan ve dolayısıyla daha yıkıcı olan hidroksil radikali gibi ikincil radikallerin olduğu Fenton reaksiyonunda katalitik rol oynar (121).

2.2.3.1.4.Araşidonik Asit Metabolizması

Hücre membranlarında prostaglandin için en önemli doymamış yağ asidi prekürsörü arşidonik asittir. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonu, plazma membranlarında arşidonik asidin salınımına yol açar. Araşidonik asidin siklooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu prostaglandinleri, lipooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu ise lökotrienleri verir ve bu tepkimeler sırasında serbest radikaller oluşur(129).

Araşidonik asit oksidasyonu başlatılmış bir serbest radikal reaksiyonudur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin her ikisi de aktiviteleri için peroksitlere ihtiyaç duyarlar. Siklooksijenaz aktivitesi daha sonra prostaglandinlerin sentezi içinde gerekli olan endoperoksitlerin oluşumuyla sonuçlanır. Öteyandan lipooksijenaz lipid peroksitleri üzerinden lökotrienlerin oluşumunu katalize eder (130). Aynı zamanda bazı ksenobiyotiklerden bu esnada reaktif ara ürünler oluşmaktadır. Bu ara ürünler hedef yapılarla etkileşerek toksisite gösterir.

2.2.3.1.5.Fagositoz

Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırırlar. Aktive fagositler intrasellüler radikal oluşumuna neden olurlar. Aktive olmuş fagositlerde üretilen serbest radikaller patojenlerle savaşta önemli rol oynar. Kan monositleri, doku makrofajları (kupfer hücreleri, alveolar makrofajlar) gibi fagositik hücreler ve nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granüositler immunojenik veya özel bir uyararla uyarıldıktan sonra lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (respiratory burst) olur. Fagositte edilmiş, patojenler oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamanın (respiratory burst) amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanısıra myeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz sistemine etkileyerek de güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahip oksidan ajanlardır. Membran peroksidasyonu, membran proteinlerinin dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna yol açıp membran bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek parçalayabilir. Fagositik kaynaklı oksidan ajanlar; ototoksik, immunosupresif ve mutojenik etki oluşturabilirler

2.2.3.1.6.Otooksidasyon

Doku bileşenlerinin çoğu molekülleri oksijenin varlığında kimyasal olarak stabil değildirler ve metabolik şartlar altında az yada çok otookside olurlar. Kolayca otookside olabilen bu bileşenler doku ve hücrelerin son derece önemli komponentleridirler (131) . Bunlar arasında, Hemoglobın gibi metalloproteinler hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipitleri sayılabilir.

Bütün otooksidasyonlar sırasında serbest radikal intermediyerleri kadar aktive oksijen türleri de üretilir. Böylece otooksidasyonlar vücudun radikal kaynaklarına katkıda bulunurlar.

2.2.3.1.7.Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları

Aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksid anyonu meydana gelebilir. Glikojen oksidaz,

ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, urat oksidaz gibi enzimlerden bazılarıdır.

Üzerinde en çok çalışılan enzim Ksantin oksidaz (XOD) aslında ksantin dehidrogenaz (XDH) olarak sentezlenmekte ve bu şekilde dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu enzim elektronlarını moleküler oksijene değil NAD'ye verir ve süperoksit anyon radikali oluşturmaz. Fakat XOD sülfidril oksidasyonu ya da sınırlı proteolizis ile dehidrogenaz formunda oksidaz formuna dönüşebilir. XOD moleküler oksijeni kullanarak H_2O_2 ve O^{2-} oluşturmaktadır.(132)

2.2.3.2.Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller, eksojen nedenlerle de oluşabilir. Radyasyon, sigara dumanı, zehirli gazlar, ilaçlar, karsinojen maddeler, pestisitler Bunlar en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynakları olarak bilinirler (133).

2.2.4.Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

2.2.4.1.Lipitlere Etkileri

Serbest radikaller biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine atak yaparak lipit peroksidasyonun oluşumuna neden olurlar. Reaksiyonlar zincirleme gelişir ve dönüşümsüzdür. Toksik etki lipit peroksitlerinin düzeyi ölçülerek belirlenir. Doymamış yağ asitlerindeki bir hidrojen atomunun çıkması peroksidasyonun başlamasına neden olur böylece yağ asiti zinciri lipit radikali niteliği kazanır. Radikal dayanıksız olup, çift bağların yerini değiştirir ve oksijenle reaksiyonu sonucu lipit peroksil radikaline dönüşür. Lipit peroksil radikalleri bir yandan diğer doymamış yağ asitlerine etki ederek yeni radikalleri oluşturur, diğer yandan da hidrojen atomlarını salarak hidrojen peroksitlerin oluşumunu sağlarlar. Hidrojen peroksitlerin parçalanmasıyla lipit alkoksil radikalleri açığa çıkar. Lipit peroksidasyonu Fe ve Cu gibi redoks yapan metaller varlığında artar.

Lipit peroksidasyon ürünleri olarak açığa çıkan lipit peroksitleri, hidroperoksitleri ve aldehitleri mebran yapısına direkt olarak, diğer hücre bileşenlerine ise aldehit üreterek indirek zarar verir. Bu da pek çok hastalığın ve doku hasarının oluşmasına neden olur (134). Membranın yapısının bozulması sonucu malondialdehit (MDA) oluşur.

2.2.4.2. Proteinlere Etkileri

Proteinler, radikallerin etkilerine lipitlere oranla daha az hassastırlar ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmunglobülin G ve albümin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur (135).

2.2.4.3. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksil ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanmaya neden olurlar (134).

2.2.4.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hücre ölümüne yol açarlar. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür.

ROS ve RNS ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak meydana gelmektedir (130). DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksid veya nitrojen dioksid (NO_2), peroksinitrit (ONOO^\cdot), dinitrojen trioksid (N_2O_3) ve nitrik asid (HNO_3) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Farklı ROS farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar. Örneğin O^{2-} ve H_2O_2 hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH^\cdot radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açar. Singlet oksijen (O^{2-}) ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (135).

Hidroksil radikali, DNA'da ve diğer moleküllerde hasarlara neden olmaktadır. Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır (136).

C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. C8-OH-pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxo-pürünler) ve formamidopirimidinler oluşur. 8-hidroksiguanin (7,8-dihidroksi-8-oxoguanin: 8-OH-Gua) ve 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) oluşum mekanizmaları görülmektedir. Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir. İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu arttırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak ölçülmektedir. Çoğu zaman 8-hidroksideoksiguanozin(8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir (137).

Hidroksil radikali fraksiyonunun DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır. Şeker radikalleri birçok farklı reaksiyonla meydana gelmektedir. Oksijensiz sistemlerde C4' merkezli radikaller β -parçalanmaya uğrarlar ve DNA zincirleri kırılarak sağlam baz ve değişikliğe uğramış şeker serbest kalır. C1 merkezli radikallerin oksidasyonu ile şeker laktonu oluşumu ve sağlam bazın salınımı gerçekleşir. Oksijen yokluğunda, baz radikalleri kendilerine komşu olan şeker grubundan H atomu alarak şeker radikallerini oluştururlar ve sonuçta zincir kırılmalarına neden olurlar. Oksijenli sistemlerde karbon merkezli şeker radikaline moleküler oksijenin eklenmesi sonucu peroksil radikalleri oluşmaktadır. Şeker peroksil radikallerinin en karakteristik özelliği karbon-karbon bağını kırarak alkali bölge oluşturmalarıdır. C5' merkezli peroksil radikali oksil radikaline dönüştürülerek β -parçalanma ile DNA zincirinin kırılmasına sağlam bazın ve değişmiş şekerin serbest kalmasına yol açmaktadır. DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları DNA zincirinden salınabilir ya da fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir.

Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları; değişik modifiye baz ve şekerler, kontrolsüz baz dizilimi, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağlarını meydana getirirler. Oksidatif DNA hasarları da denilen bu tip hasarlar mutagezise, kanserogeneze ve yaşlanmaya yol açmaktadır.

2.2.4.5. Metaller ve DNA Hasarları

Birçok metalin kanserojenik potansiyele sahip olduğu bilinmektedir. Metal kanserojenlerin metabolizması önemli ölçüde araştırılmış ve metallerin kanser oluşumunda endojen reaktif oksijen türlerini (ROS) de içine aldığı saptanmıştır. Buna dayanarak Cr'nin H_2O_2 varlığında kansere neden olduğu doğrulanmıştır (138). Daha sonra değişik metal bileşiklerinin de H_2O_2 varlığında oksidatif DNA hasarına yol açabileceği düşünülmüş ve bilimsel çalışmalarda bulunulmuştur. İn-vivo kanserojen metallerin kullanıldığı bir çok çalışma oksidatif DNA hasarı üzerindeki bu hipotezi desteklemektedir. Bu metal bileşikler, DNA hasarlarında spesifitelerine göre farklılıklar gösterirler.

Yapılan bir çok çalışmada krom (Cr^{+4}), nikel (Ni^{+2}), kobalt (Co^{+2}), berilyum (Be) kadmiyum (Cd^{+2}) ve arsenik bileşiklerinin insan kanserojenleri oldukları doğrulanmıştır. Kobalt (Co^{+2}) ve ferik nitrilotriasetat (Fe^{+2} -NTA)'ın hayvanlar üzerindeki çalışmaları bunlarında kanserojenik olduklarını göstermektedir. Metal iyonları; süperoksit anyonu (O^{2-}) ve hidrojen peroksid radikali (H_2O_2) ile birlikte hidroksil ($OH\cdot$) radikali, singlet O_2 (O^{2-}) radikali ve metal oksijen komplekslerini oluşturarak oksidatif DNA hasarlarına yol açmaktadır. Diğer taraftan DNA onarım sistemleride kanserojen metallere karşı hassas bir işleve sahiptir. Arsenik ve kadmiyum gibi birçok metal SH gruplarına bağlanarak DNA onarım sisteminin inhibisyonunu ve 8-oxo-dGua oluşumunu artırarak DNA hasarlarının oluşumuna sebep olurlar (139).

Bazı kanserojenik metal bileşenlerinin indirekt mekanizmalarla reaktif oksijene bağlı oksidatif DNA hasarlarına yol açtıkları bilinmektedir. Kurşun, H_2O_2 varlığında bile oksidatif DNA hasarlarına yol açmazken kurşun zehirlenmeleri sonucu oluşan δ -aminolevülonik asid oksidatif DNA hasarı yaparak indirek kanserogeneze yol açar. Nikel bileşikleri (Ni_3S_2 , NiO ve $NiSO_4$) inflamasyonla indirek oksidatif DNA hasarına ve Ni_3S_2 aynı zamanda H_2O_2 vasıtasıyla direkt oksidatif DNA hasarlarına yol açar. Cr, Cd, Pb, Co ve Fe gibi bazı kanserojenik metallerin reaktif oksijen türlerine benzer inflamasyonları sonucu oksidatif DNA hasarları oluşmaktadır .

2.2.4.5.1. Krom(Cr^{+4})

DNA'nın krom ve H_2O_2 ile inkübasyonunda başta guanin olmak üzere bütün bazlarda hasar oluştuğu görülmüştür (27). H_2O_2 ve krom inkübasyonun da $OH\cdot$ ve

single oksijen oluşmaktadır. OH[·] radikalleri DNA'da spesifik bölge göstermeksizin birçok noktadan oksidatif DNA hasarlarına yol açarken single oksijen sadece guanin üzerinden oksidatif DNA hasarlarına yol açmaktadır.

Kromun; glutasyon (GSH) ve askorbat varlığında oksidatif DNA hasarlarına yol açtığı düşünülmektedir (138). Krom artı GSH; apürinik/apirimidinik site ve single strent kırılmalarının oluşumuna neden olur. Yakınlarda bir çalışmada ratlara Cr⁺⁴ intratrakal olarak enjekte edilmiş ve akciğer dukularında 8-oxo-dG formunun oluştuğu görülmüştür.

2.2.4.5.2.Ferrik-Nitrilotriasetat (Fe⁺²-NTA)

Demir; insan vücudunda en çok iyon değişimi görülen metaldir. Demir bütün yaşam şekilleri için esansiyel bir element olmasına rağmen vücutta aşırı depolanması kanser riskini arttırmaktadır. Örneğin Fe⁺²-NTA ya maruz bırakılmış ratlarda renal hücre kanseri oluştuğu görülmüştür. Fe⁺²-NTA, H₂O₂ bulunan ortamlarda OH[·] radikallerini oluşturarak bütün nükeotitlerde DNA hasarlarına yol açmaktadır. Yakınlarda yapılan bir çok çalışmada Fe⁺²-NTA'nın in vivo oksidatif DNA hasarlarına yol açtığı görülmüştür. Fe⁺²-NTA'e maruz bırakılmış sıçanların idrarında 8-oxo-dG miktarında artma olduğu görülmüştür. Ayrıca Fe⁺²-NTA'nın rat hepatosit hücre kültüründe başta 8-oxo-dG olmak üzere birçok bazda hasarlar meydana getirdiği de görülmüştür. Fe⁺²-NTA aynı zamanda p15 ve p16 tümör engelleyici genlerde de hasarlara yol açarak DNA hasarını meydana getirirler (138).

2.2.4.5.3.Bakır(Cu⁺²)

Memelilerde serbest ve taşıyıcı proteinlere bağlı bakır iyonlarını azaltan bir sistem gelişmiş olmasına karşın serbest bakır iyonları muayyen durumlarda reaktif oksijen türlerinin oluşumuna katılabilmektedir. Cu⁺²/H₂O₂ fosfat tamponunda reaktif oksijen türlerini oluşturarak timin ve guanin üzerinden DNA hasarlarına neden olurken bikarbonat tamponunda poliguanin üzerinden DNA hasarlarına neden oldukları görülmektedir (139). Cu⁺²/H₂O₂'in DNA hasarına etkisi süperoksit dismutaz (SOD) ile artmaktadır.

İn vitro olarak yapılan birçok çalışmalarda bakırın demirden daha etkili bir şekilde değişik bileşiklerden reaktif oksijen türlerinin oluşumunu katalizlediği

görülmüştür. Bakır iki yolla oksidatif DNA hasarına yol açar: birincisi kanserojenlerin otooksidasyonu ile reaktif oksijen türlerini oluşturmaları yolu diğeri ise H_2O_2 'in aktivasyonu ile reaktif Cu^+ -hidroperokso kompleksini oluşturarak.

Demirin kanserojenlerden reaktif oksijen türlerinin oluşumunu katalizleme etkisi bakırlardan daha az olmasına karşın H_2O_2 'nin aktivitesini katalizleme etkilerinin aynı olduğu görülür.

2.2.4.5.4.Kobalt (Co^{+2})

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda kobalt içeren tuzlara maruz kalan işçilerde akciğer kanser riskinde önemli bir artış olduğu görülmüştür. Kobalt(Co^{+2})'in H_2O_2 'li ortamlarda tercihen G>T ve C>>A olmak üzere bütün bazlarda hasarlara yol açmaktadır. Co^{+2} 'in H_2O_2 ile tepkimesi sonucu singlet oksijen(O^{2-}) ve OH radikallerinin oluştuğu sanılmaktadır. Yakınlarda yapılan çalışmalarda kobaltın sinir hücrelerinde mitokondrial DNA hasarları da oluşturduğu görülmüştür.

2.2.4.5.5.Nikel Bileşikleri

İnsanlarda kanserojen nikel bileşenleri nikel oksid bileşikleri (NiO , NiO_4), nikel hidroksit ($Ni(OH)$) ve nikel kristalleri şeklinde sınıflara ayrılırlar (140). Bu nikel bileşiklerinin farklı kanserojenik potansiyellere sahip olduklarını incelemek için kültürel hücreler ve deney hayvanlarında meydana getirdikleri 8-oxo-dG miktarları incelenir. HeLa hücre kültüründe nikel sülfid (Ni_3S_2) kullanılmış ve 8-oxo-dG oluşumunu önemli düzeyde arttırdığı gözlenmiş daha sonra NiO ve nikel süfat ($NiSO_4$) kullanılmış ancak 8-oxo-dG oluşumunda bir artış olmadığı gözlenmiştir. Diğer bir çalışmada nikel oksid bileşikleri ratlara intra trakeal enjekte edilmiş ve akciğerler dokularında 8-oxo-dG miktarında önemli bir artış olduğu görülmüştür. Deney hayvanlarında ve hücre kültürlerinde yapılan bu çalışmalarda nikel bileşiklerinin DNA hasarlarına etkilerindeki bu farklılıklar oksidatif DNA hasarının iki yolla oluşabileceğini açıklar.

Birincisi; hücre içerisine giren veya Ni_3S_2 'nin reaksiyonları sonucu oluşan Ni^{+2} ve Ni_3S_2 kendisi H_2O_2 ile reaksiyona girerek Şekil-10'da da görüldüğü gibi reaktif oksijen türlerini oluşturarak direkt oksidatif DNA hasarlarına yol açmalarıdır (141). Diğeri ise inflamasyondan kaynaklanan indirekt oksidatif DNA hasarlarıdır. Burada nikel bileşiklerinin oluşturdukları inflame dokularda fagosit aktivitenin de etkisiyle

nitrik oksit ve reaktif oksijen türlerinin oluşması sonucu oksidatif DNA hasarları oluşmasıdır.

Sonuç olarak nikel bileşiklerinin oksidatif DNA hasarlarını iki yolla oluşturabilecekleri ileri sürülür: biri Ni^{+2} veya Ni_3S_2 'in H_2O_2 ile reaksiyonları sonucu oluşan direkt oksidatif DNA hasarı diğeri ise bütün nikel bileşiklerinin bulunduğu inflamasyonla indirekt oksidatif DNA hasarlarıdır. Ni_3S_2 'ün iki şekilde de aktivite göstermesi diğerlerine göre daha yüksek bir kanserojenik riske sahip olduğunu gösterir.

3.MATERYAL VE METOD

Aluminyum Grubu: Bu çalışmamızda Şanlıurfa Şire pazarında alüminyum kaplarda yoğurt mayalayıp satan ve tüketen, anamnezinde herhangi bir şikayeti olmayan, fizik muayenesinde herhangi bir patoloji saptanmayan, klinik ve laboratuvar tetkiklerinde lokal veya sistemik hastalık tespit edilmeyen, alkol ve sigara kullanmayan, herhangi bir kanser risk faktörü taşımayan ve fakat alüminyum seviyeleri $100 \mu g/L$ 'nin üzerinde olan 10 sağlıklı erkek ve 8 sağlıklı kadın toplam 18 birey aluminyum grubu olarak seçildi. Aluminyum grubunun yaş ortalaması 34.94 ± 14.64 olarak bulundu.

Kontrol Grubu: Bu çalışmada kontrol grubu olarak hastanemiz check-up polikliniğine başvuran, anamnezinde herhangi bir şikayeti olmayan, fizik muayenesinde herhangi bir patoloji saptanmayan, klinik ve laboratuvar tetkiklerinde lokal veya sistemik hastalık tespit edilmeyen, alkol ve sigara kullanmayan, herhangi bir kanser risk faktörü taşımayan, marketlerde satılan yoğurtlardan tüketen ve alüminyum $100 \mu g/L$ 'nin altında olan 19 sağlıklı erkek ve 17 sağlıklı kadın toplam 36 kişi randomize olarak seçildi. Kontrol grubunun yaş ortalaması 33.10 ± 10.64 idi.

3.1.Örneklerin Hazırlanması

Kan örnekleri 12 saatlik açlığı takiben antekubital venden alındı. Alınan kanlar heparinli tüplere aktarıldı. Heparinize tüplerde alına taze kan örneklerinde mononükleer lökositler separe edilip DNA hasarı çalışıldı. Daha sonra arta kalan kanlar 3000 rpm de santifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalardan TAK, LPO, Al, Protein oksidasyonu çalışılmak üzere $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklandı.

3.2.Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya

Laboratuvarında rutin olarak kullanılan cihazlardan yararlanılmıştır.

- 1-Grafit Fırınlı Atomik absorpsiyon cihazı (Varian GTA-97, Austuralya)
- 2- Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
- 3- Flöresan mikroskop (Nikon, Japon)
- 4-Spektroflorometre (Shimadzu RF-1501 MODEL, Japon)
- 5- Derin dondurucu (New Brunswick Scientifi, C54285 model)
- 6- Vorteks (Nüve, NM 110 model, Türkiye)
- 7-Hassas terazi (Sartorius marka 0,0001 g'a duyarlı)
- 8-Su banyosu (Nüve, BM 402 model, Türkiye)
- 9- Dijital pH-metre (Hanna, pH 211 model Japon)
- 10- Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset, USA)
- 11- Işık mikroskobu (Nikon, Japon)
- 12- Lanset (İSOLAB, Almanya)
- 13- Lam ve lamel
- 14- Elektroforez düzeneği

3.3.Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 1-Normal erime noktasına sahip (NMP, 65⁰C) agaroz (Merck)
- 2-Düşük erime noktasına sahip (LMP, 35⁰C) agaroz (Merck)
- 3-Sodyum-EDTA (Carlo Erba)
- 4-Sodyum klorür (Merck)
- 5-Dimetilsulfoksit (Merck)
- 6-Trizma base(Sigma)
- 7-Triton X-100 (Sigma)
- 8-Sodyum hidroksid (Merck)
- 9-Disodyum hidrojen fosfat (Merck)
- 10-Sodyum dihidrojen fosfat (Merck)
- 11-Etidyum bromit (Merck)
- 12-2,4-dinitrofenilhidrazin (Merck)
- 13-Hidroklorik asit (Merck)

- 14-Trikloroasetikasit (Merck)
- 15-Guanidin HCl (Sigma)
- 16-1,3 dietil tiyobarbitürik asit (Sigma)
- 17-o-Dianisidine(Sigma)
- 18-Ferroz amonyum sülfat(Sigma)
- 19-Hirojen peroksit (Merck)

3.4. Alkali Tek Hücre Elektroforez (Comet Assay) Yöntemi ile DNA Hasarı Tayini

3.4.1.Yöntemin Prensibi

Comet assay yöntemi, alkali ortamda elektrik alanına maruz bırakılan DNA zincirinin agaroz jelde yüklerine ve molekül büyüklüklerine göre taşınması prensibine dayanmaktadır. Tek hücreler veya çekirdekçikler agar jele yerleştirilir ve lizisten sonra serbest kalan ve hasara uğramamış DNA'lar elektriksel alanda birlikte göç edeceklerinden kuyruk (comet) oluşturmazlarken, hasara uğramış kırılmış DNA parçacıkları farklı yükler ve molekül ağırlıklarına sahip olduklarından dolayı elektriksel alanda farklı derecelerde hareket edeceklerinden kuyruk formatı oluştururlar (90-94).

3.4.2.Yönteminin Uygulanışı

Mononükleer hücrelerin seperasyonu: 0.5 ml heparinize 1 ml mononükleer hücre seperasyon medyumu (Histopaque, Sigma) üzerine tabakalandırıldı ve 30 dakika 700 x g de oda ısısında santrifüj edildi. Santrifüjden sonra mononükleer hücreden zengin ara tabaka pipetle çekilerek başka bir tüpe aktarıldı. üzerine 1 ml tuzlu fosfat tamponu (PBS), (pH 7.4) ilave edilip tekrar 700 x g de santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra aynı işlem tekrar edildi. Daha sonra 0.5 ml PBS ile dilüe edildi.

3.4.3.Slaytların Hazırlanması

% 1,0 'lik normal erime noktasına sahip (NMP, 65⁰C) agar eritilerek kenarları kumlanmış mikroskobik slaytlarının üzerine düzgün bir şekilde yayılarak üzerine lamel kapatmak suretiyle buzdolabında 5 dakika kadar bekletilmek suretiyle katılaşması sağlandı. Daha sonra lameller jelin üzerinden kaldırıldı ve nemli kutularda bekletildi. . Dilüe edilen hücrelerden 5 µl alınarak. 80 µl % 0,5 lik düşük erime noktasına sahip

(LMP, 37°C) agaroz jel ile karıştırılarak NMP jel ile kaplanmış lamalar üzerine tabakalandırıldı. Üzeri lamel ile kapatılarak 5 dakika buzdolabında bekletildi. lamalar üzerinde lameller kaldırılarak tekrar aynı konsantrasyonda 80 µl LMP jel lam üzerine ile üçüncü bir tabaka olarak düküldü ve buzdolabında 5 dakika bekletilerek donduruldu. Lameller kaldırılarak lizis için hazır hale getirildi (90–94).

3.4.4.Lizis

Hazırlanan slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizis solüsyonunda (100 mM EDTA, 2,5 M Sodyum klorid, 10 mM trizma base ve %1 triton X-100) bekletildi. Lizis solüsyonunun içeriği den oluşmaktadır. Bu solüsyonun pH 'sı 10'a ayarlanır (90–94).

3.4.5.Elektroforez Tamponu

Elektroforezde yürütmeden önce DNA'da alkali-labil bölgeler elde etmek için slaytlar alkali elektroforez tamponunda (1mM EDTA ve 300 mM NaOH, pH>13) 20-30 dakika inkübasyona bırakılır. Alkali çözeltisi(90–94).

3.4.6.Elektroforezde yürütme

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar hazırlanan tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 5-25 °C'de 30 dakika yürütülür (90–94).

3.4.7.Nötralizasyon

Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdan uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötral fosfat tamponu (tris HCl, pH 7,4) ile yıkanarak nötralizasyon işlemi gerçekleştirildi (90–94).

3.4.8.Boyama

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra slaytlar nemli ortamda buzdolabında bekletildi. İncelemeden önce 5 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan 80 µl etidyum bromid boyası ile boyandıktan sonra floresan mikroskopta (Nikon, Japon) Excitasyon: 546 nm, Emisyon: 580 nm dalga boylarında 20 x objektif ile oluşan görüntüler incelendi.

3.4.9.Analiz

Bu yöntemde DNA migrasyonu vizüel olarak değerlendirildi. Migrasyonun derecesine bağlı olarak hasar 5 katagoriye ayrıldı. Migrasyonun uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali-labil bölgelerin seviyelerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir(3). Hiç hasarı olmayan DNA lar 0. maksimum hasarı olan DNA lar 5. kategoride değerlendirildi. Herbir slayttan toplam 100 hücre değerlendirildi. Maksimum hasar 400 olacak şekilde sonuçlar arbitraty unit olarak (AU) hesaplandı.

3.5.PROTEİN OKSİDASYONU (PO)

Reaktifler

DNPH çözeltisi: 2 molarlık HCl içinde 10 milimolar 2,4-dinitrofenilhidrazin.

TCA çözeltisi: Deiyonize su içerisinde % 10 trikloroasetikasit.

Guanidin HCl çöeltisi: 6 molar guanidin HCl 20 milimolarlık potasyum fosfat tamponu (pH=2,3) içinde çözülür.

Prosedür

15 µl plazma 0,5 ml DNPH çözeltisi ile karıştırılarak oda ısısında 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üzerine 0,5 ml TCA çözeltisi eklenerek vortekslendi ve 15000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Süpernatant olarak pellet 2 kez 1/1 oranında etanol/etil asetat ile yıkandı. Kalan pellet üzerine 0,6 ml Guanidin HCl çöeltisi ilave edip 15 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakarak pelletin çözünmesi sağlandı. Oluşan rengin absorbansı 365 nm'de ölçüldü. Çıkan absorbans absorpsiyon katsayısı ($\epsilon_{\max}=22000/M/cm$) ile çarpıldıktan sonra sonuçları mg protein başına nmol (nmol/mgprot) şeklinde verildi(95).

3.6.PLAZMA LİPİT PEROKSİDASYONU ÖLÇÜMÜ

Reaktifler

DETBA çözeltisi: 10mmol/L 1,3-diethylthiobarbitirik asid 75 mol/L fosfat tamponu (pH=3) içerisinde çözünerek hazırlandı.

Prosedür

25 µl plazma 0,5 ml DETBA çözeltisi içerisinde karıştırılıp 96 °C'de bir saat inkübasyona bırakıldı. Örnekler 5 dakika buz banyosunda bırakıldıktan sonra 2,5 ml n-bütanol eklendi. Karışım vortekslenerek 1500 x g de 4 C° de 10 dakika santrifüj edildi

ve süpernatant alınır florometrede (Schimatzu, Japan) okutuldu. Extasyon= 539 ve emisyon= 553 (95)

3.7.TOTAL ANATİOKSİDAN KAPASİTE (TAK)

Reaktifler

Erel (125) tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir methoddur.

Reaktif-1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 AM $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ çözülerek hazırlandı. Bu reaktif

Reaktif-2: 7,5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır.

Prensip

Fe^{2+} -o-dianisidine kompleksihidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir.

3.8.ALÜMİNYUM (AL)

Grafit fırınlı atomik absorpsiyon cihazında ölçüldü (95,96)

3.9. İSTATİSTİK

İstatistiksel analizler ticari bir program olan SPSS 11.0 kullanılarak yapıldıGrupların arasındaki farkı değerlendirmek için student t-test kullanıldı. Parametrelerin arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için ise korelasyon analizi yapıldı. . p < 0.05 olması anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmamızda alüminyum seviyeleri 100 µg/l'nin üzerinde olanlar alüminyum ($n=18$), altında olanlar kontrol ($n=36$) grubu olarak seçildi. Alüminyum ve kontrol gruplarının cinsiyet yaş ağırlık ve body mass indeksleri (BMI) arasında istatistiki bakımdan anlamlı bir fark yoktu.

Tablo 1. Kontrol ve Alüminyum gruplarında Mononükleer lökositlerde DNA Hasarları ve plazma Alüminyum, Malon dialdehid, Protein Oksidasyonu ve Total Antioksidan Kapasite seviyelerinin karşılaştırılması

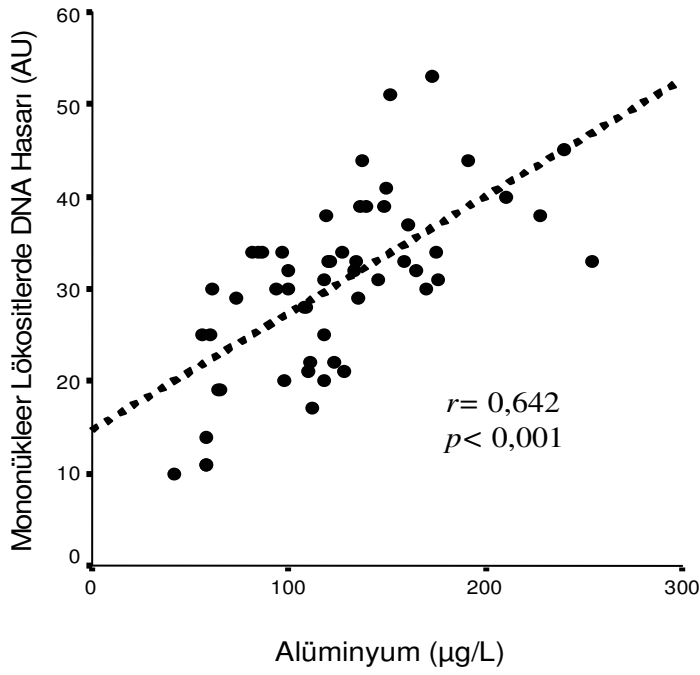
	Kontrol Grubu	Alüminyum Grubu	<i>p</i>
	<i>n=18</i>	<i>n=36</i>	
	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD	
Alüminyum (µg/L)	74,2 ±18,5	148,7 ± 37,7	<i>p</i> < 0,001
DNA Hasarı (AU)	24,5 ± 8,7	33,4 ± 8,5	<i>p</i> < 0,001
Malondialdehit (µmol/L)	264 ± 69	320 ± 88	<i>p</i> < 0,05
Protein Oksidasyonu (nmol/mg protein)	2610 ± 371	2884 ± 483	<i>p</i> < 0,05
Total Antioksidan Kapasite (mmol Trolox Eq./L)	2,53 ± 0,38	1,82 ± 0,40	<i>p</i> < 0,001

Tablo 1'de de görüldüğü gibi alüminyum gruplarında Mononükleer lökositlerde DNA hasarları, plazma alüminyum düzeyleri, Malondialdehit ve protein oksidasyonlarında sağlıklı bireylere göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Bu parametrelerin aksine plazma total antioksidan kapasite seviyelerinde ise anlamlı bir düşüş tespit ettik ($p < 0,001$).

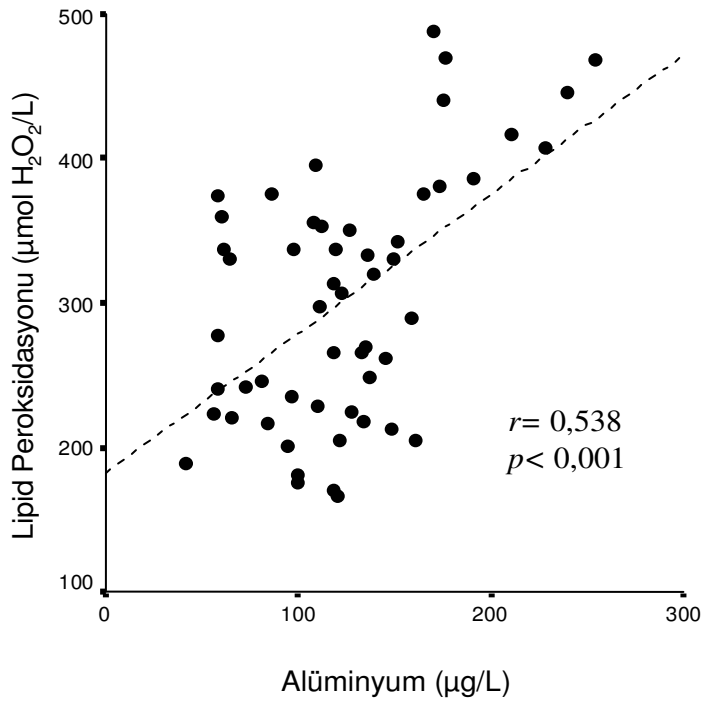
Tablo 2. Mononükleer lökositlerde DNA hasarları ve plazma Alüminyum, Malon dialdehid, Protein Oksidasyonu ve Total Antioksidan Kapasite arasındaki ilişki

		DNA Hasarı	MDA	PO	TAK
Al	<i>r</i>	0,642	0,538	0,490	-0,673
	<i>p</i>	0,001	0,001	0,001	0,001
DNA Hasarı	<i>r</i>		0,245	0,450	-0,506
	<i>p</i>		0,074	0,001	0,001
MDA	<i>r</i>			0,210	-0,249
	<i>p</i>			0,127	0,069
PO	<i>r</i>				-0,292
	<i>p</i>				0,032

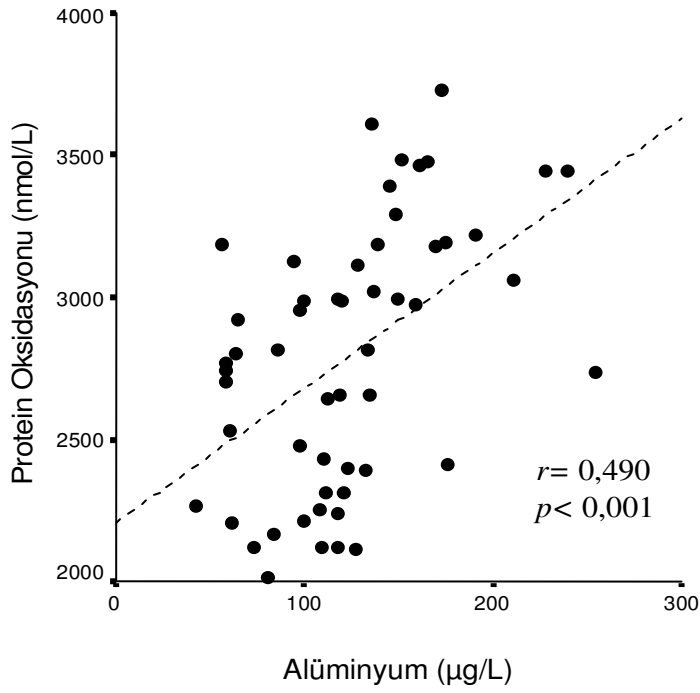
Tablo 2’de görüldüğü gibi Alüminyum ile DNA Hasarı ($r= 0,642$ $p< 0,001$), MDA($r= 0,538$ $p< 0,001$) ve PO($r= 0,490$ $p< 0,001$)’u arasında anlamlı düzeyde pozitif, Alüminyum ile TAK($r= -0,673$ $p< 0,001$) arasında ise anlamlı düzeyde negatif bir ilişki gözlemlendi. Bunun yanısıra DNA hasar düzeyinin PO($r= 0,450$ $p< 0,001$)’u ile pozitif ilişkili, TAK($r= -0,506$ $p< 0,001$) ile negatif ilişkili olduğunu tespit edildi. Bunun yanısıra PO’u ve TAK($r= -0,292$ $p< 0,05$)’u arasında da negatif bir korelasyon bulundu.



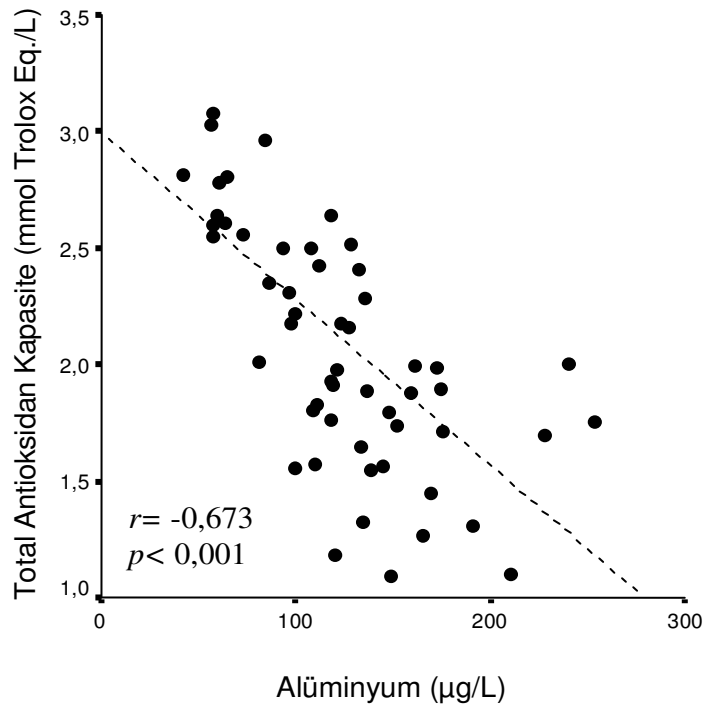
Şekil 1. Mononükleer lökositlerde DNA hasarı ve plazma Alüminyum düzeyleri arasındaki ilişki



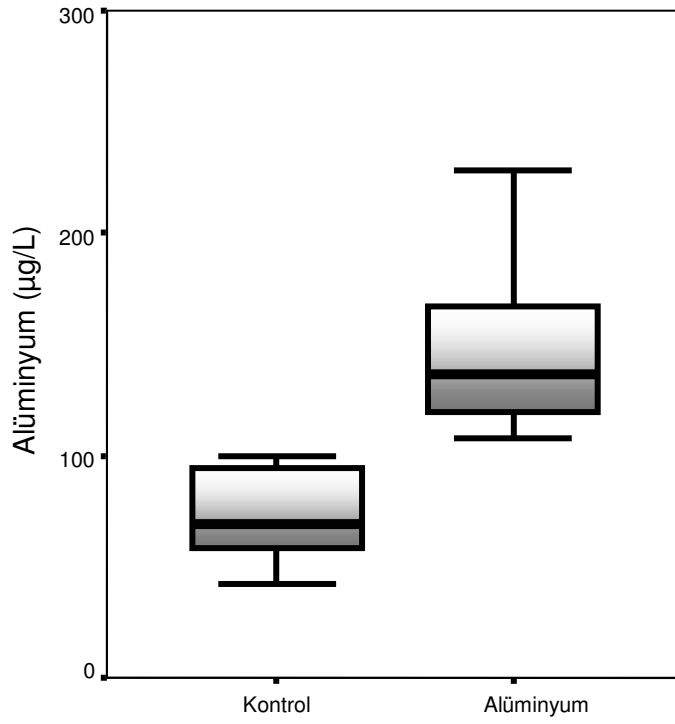
Şekil 2. Plazma lipid peroksidasyonu ve Alüminyum düzeyleri arasındaki ilişki



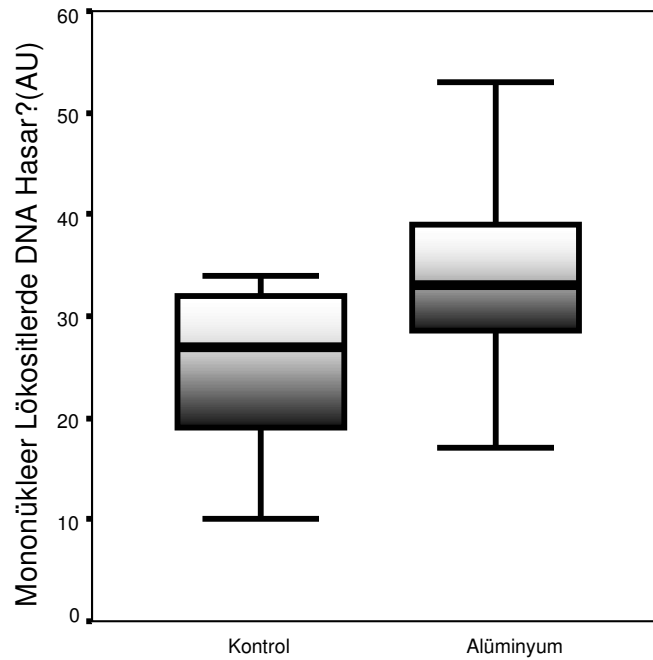
Şekil 3. Plazma protein oksidasyonu ve Alüminyum düzeyleri arasındaki ilişki



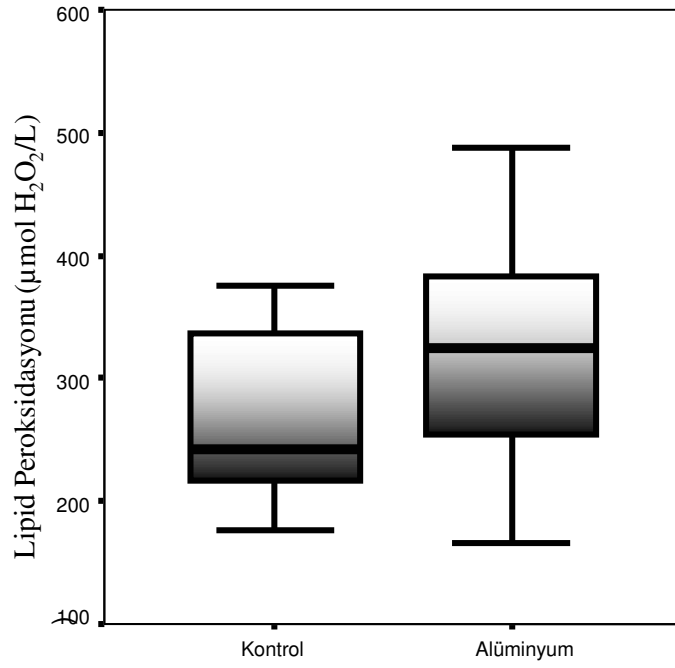
Şekil 4. Plazma total antioksidan kapasite ve Alüminyum düzeyleri arasındaki ilişki



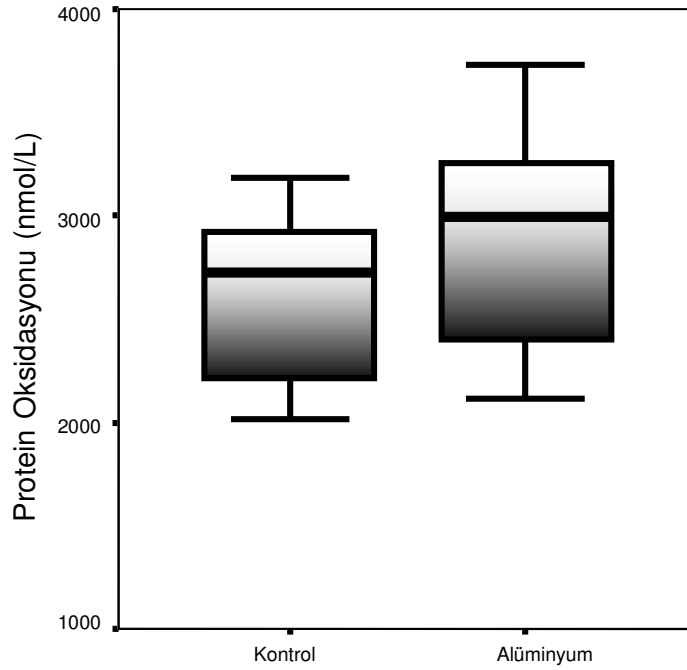
Şekil 5. Plazma kontrol ve alüminyum gruplarında alüminyum düzeyleri



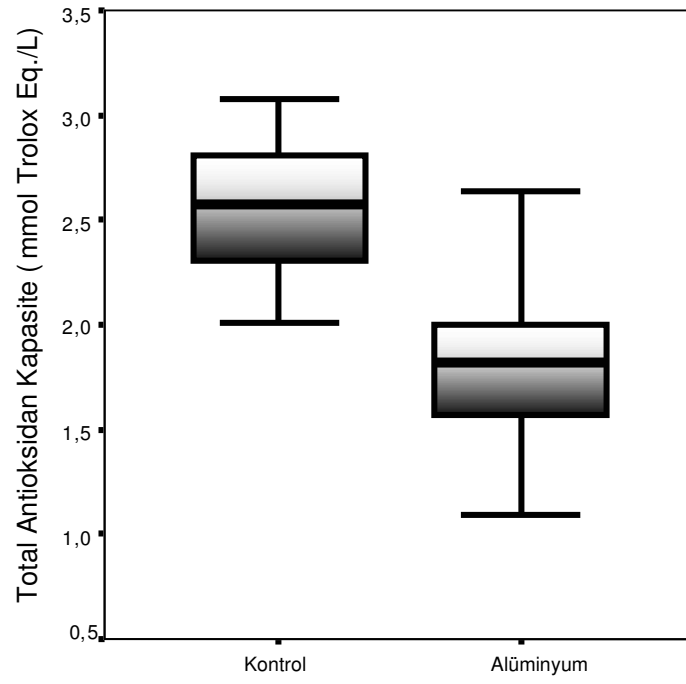
Şekil 6. Kontrol ve alüminyum gruplarında mononükleer lökosit DNA hasar düzeyleri



Şekil 7. Plazma kontrol ve alüminyum gruplarında malondialdehid düzeyleri



Şekil 8. Plazma kontrol ve alüminyum gruplarında protein oksidasyonu düzeyleri



Şekil 9. Plazma kontrol ve alüminyum gruplarında total antioksidan kapasite düzeyleri

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Çeşitli klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar, serbest radikaller, lipid peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile karsinogenezis arasında bir ilişki bulunduğunu göstermiştir (2,7,24,60,65,108,135). Serbest radikallerin DNA'ya bağlandığı ve mutasyona sebep olarak kanseri başlatabildiği gösterilmiştir (12,94,111,128).

Aerobik organizmalarda çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan biyolojik reaksiyonlarla meydana getirilen oksijen serbest radikalleri DNA'nın yanı sıra lipid, protein ve karbonhidrat gibi çeşitli makromoleküllerle reaksiyona girer. Fenn ve arkadaşlarının (32) ortaya attığı hipoteze göre oksijenin mutajenitesi serbest radikal üretiminin artışından kaynaklanan kromozomal hasara bağlıdır. Serbest radikallerin mutajenik kapasitesinin son derece reaktif ve toksik bir radikal olan hidroksil radikaline bağlı olduğu düşünülmektedir. Günümüzde artık OH[·] radikalleri ile DNA arasındaki ilişkinin varlığı yaygın olarak kabul edilmektedir. OH[·] radikali Fe⁺⁺/Cu⁺ gibi metalik iyonların varlığında O₂^{·-} ve H₂O₂ arasındaki reaksiyon sırasında oluşur (örn; H₂O₂ + O₂^{·-} Fe⁺² OH[·] + OH⁻ [Haber-Weiss]). Çeşitli yayınlarda birçok patofizyolojik olayın altında artmış serbest oksijen radikallerinin üretiminin olduğu kabul edilmektedir. Artmış serbest oksijen radikalleri oksidatif stres oluşturmakta ve buna bağlı olarak hücresel proliferasyonda çeşitli seviyelerde hasarlar meydana gelmektedir. Bu hasarların tetikleyici ya da kümülatif etkileri ile de kanser gibi çok ciddi hastalıklara zemin olmaktadır (12,32,35,47,69,85,93,111).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından uyarılan membranlarda çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunda rol oynayan bir zincir reaksiyonudur ve oksidatif hücre hasarının bir indikatörüdür. Lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarının son ürünlerinden biri MDA'dır ve bu ürün serbest radikal hasarının göstergesi olarak kullanılmaktadır. Biz de çalışmamızda serbest radikal hasarının göstergesi olarak eritrosit MDA düzeylerini ölçtük. Çeşitli çalışmalarda lipid peroksidasyon ürünlerinin DNA hasarına sebep olabileceği rapor edilmiştir. Lipid hidroperoksitleri direk olarak DNA'da zincir kopmalarına ve lipid peroksil ve alkoksil radikalleri ise DNA'da baz oksidasyonuna sebep olabilmektedir. Keza peroksit ve hidroperoksitlerin in vivo tümör geliştirici aktivitesi gösterilmiştir. Yine lipid peroksidasyonunun prokarsinojenlerin karsinogene dönüşümünde indirek bir rol oynayabileceği de ifade edilmektedir (73,108).

Protein oksidasyonu, proteinlerin reaktif oksijen türevleri veya oksidatif stres ürünleri ile kovalent modifikasyonu sonucu meydana gelir. Protein oksidasyonu esas olarak hidroksil radikali (OH) ile başlar. Diğer taraftan oksidasyon sürecinde O₂ ile birlikte, süperoksit anyon radikali (O₂⁻), ve süperoksit radikalinin protonlanmış formu olan hidroperoksil (HO₂)'in varlığı da gereklidir. Adı geçen bu reaktif oksijen türevleri amino asitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile protein fragmentasyonuna neden olur (142,143). Ancak alüminyumla ilgili çalışmalarda oksidatif stresin arttığını gösteren çalışmalar olmakla birlikte protein oksidasyonunu gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanamadı. Çalışmamızda protein oksidasyonu çalışıldı ve alüminyum düzeyi yüksek olan grupta anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü.

Serbest radikallerin mutajenik kapasitesinin son derece reaktif ve toksik bir radikal olan hidroksil radikale bağlı olduğu düşünülmektedir. OH⁻ radikali Fe⁺⁺/Cu⁺ gibi metalik iyonların varlığında O₂⁻ ve H₂O₂ arasındaki reaksiyon sırasında oluşur. DNA'da G-C bölgeleri oksidatif hasarın ana hedeflerinden biridir. DNA molekülünün bu G-C bölgelerinde Cu iyonlarının bulunduğu inanılmakta ve bu bölgeler p53 tümör baskılayıcı gende ve kanserin gelişimine neden olan onkogenlere dönüştürülen, diğer hücrel genlerde nokta mutasyonlarının meydana geldiği yerlerdir. Çeşitli yayınlarda birçok patofizyolojik olayın altında artmış serbest oksijen radikallerinin üretiminin olduğu kabul edilmektedir (144–150). Yaptığımız bu çalışmada alüminyum grubunda DNA hasarı yüksek bulundu. Ancak alüminyumla ilgili çalışmalarda DNA hasarı çalışılan herhangi bir literatüre rastlanamadı. Çalışmamızda oksidatif stres parametreleri çalışıldı ve alüminyum seviyeleri yüksek olan grupta oksidatif stresinde yüksek olduğu görüldü. Artan oksidatif stresin DNA hasarına neden olduğunu belirten birçok yayın bulunmaktadır(144–150). Bunun dışında alüminyumun direk DNA hasarına neden olabileceğini de düşünmekteyiz. Ancak bu hususta ileri araştırmalara gereksinim vardır.

Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için insan serum, eritrosit ve dokularında genel olarak antioksidanlar diye adlandırılan bir defans mekanizması mevcuttur. Antioksidanlar hem endojen serbest radikalleri inaktive etmek için hem de ksenobiyotik patlamasından ortaya çıkan elektrofilik ara ürünleri yeniden inaktive etmek için direk veya indirek olarak etki edebilir ve böylece DNA'daki makromoleküler hasarı önleyebilirler. Antioksidanlarla DNA hasarının ve lipid

peroksidasyonunun azaltılması, bu makromoleküllerle serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin etkileşiminin azaltılması yoluyla olabilir. Antioksidanlar, bu doku hasar reaksiyonlarını önlemek için direkt olarak etki edebildikleri gibi indirgenmiş glutatyon ve enzimlerin formasyonunun artırılması yoluyla indirekt olarak da etki edebilirler. Antioksidanların DNA sentez ve tamiri üzerindeki etkisi halen bilinmemektedir. Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için insan serum, eritrosit ve dokularında genel olarak antioksidanlar diye adlandırılan bir defans mekanizması mevcuttur.

Biyosferde oldukça yüksek oranlarda bulunan Al^{+3} ün bilinen fizyolojik rolü olmayıp insanlar için oldukça toksik olan esansiyel bir elementtir. Son zamanlara kadar nontoksik olduğu sanılan alüminyumun toksisitesi tespit edilmiş ve Alzheimer's gibi nörolojik hastalıkların etiyolojisinde ve amiyotropik lateral sklerosis ve alüminosis, osteodistrofi ve demir eksikliği mikrositik anemi gibi diğer hastalıklara neden olduğu gösterilmiştir(109-112). Ayrıca Al^{+3} hemodiyalizli hastalarda ensefalopati diyalize neden olan major bir ajandır(115). Alüminyum insanlarda olduğu kadar bitkilerde de sitotoksik bir metaldir Bitkilerde Al^{+3} ün toksisitesini gösteren çalışmalar sonunda hücre ölümü, hücre bölünmesinin inhibisyonu, hücre uzaması, besleyici boru, kök uzaması, hücre duvarında yapısal değişim, fotosentez, fotosentetik elektron transportu, fosformetabolizması ve ATPaz aktiviteleri gibi muhtemel mekanizmaları olumsuz etkilediği gösterilmiştir(114-117).

Klinik patofizyolojik ve nörotoksik göstergeler alüminyuma maruz kalınması ile ilgilidir. Buna ilaveten bazı patofizyolojik durumlar alüminyumun spesifik hedef organlarda birikmesi için bir faktördür. Bütün bu çalışmalara rağmen alüminyum toksisitesi ile ilgili çalışmalarda bazı noktalar hala açıklanamamıştır. Bunlar: 1) Alüminyum toksisitesine hangi organların spesifik olduğu 2) Hangi farklı organlarda alüminyumların kinetiklerinin farklı olduğu 3) Alüminyum vücuda farklı yollarla nasıl girdiği ve alüminyum toksisitesinin moleküler mekanizmasının bilinmemesi.

Alüminyum birikmesini önlemek için alüminyumun az alınması hayati önem taşır. Alüminyumun farkına varılması alüminyum toksisitesinin düşürülmesinde başlıca faktördür. Yüksek miktarda alüminyum içeren diyetle santral sinir sisteminde (özellikle beyin ve s spinal kordta) alüminyum konsantrasyonunu artırır (21). Alüminyum eser elementler olan manganez ve demirin santral sinir sistemindeki konsantrasyonunu

değiştirir ve orada lipit peroksidasyonunun oluşmasına neden olur. Ayrıca alüminyum tuzları DNA ve RNA ya bağlanarak heksokinaz, asit ve alkalın fosfataz, fosfodiesteraz ve fosfoooksidaz gibi enzimleri inhibe eder (22). Alüminyum glikozun kullanımındaki bozukluklarda, inozitol fosfatın birikimini stümüle etmede, serbest radikallerin sitotoksitesinde ve lipit peroksidasyon oluşumunda, protein oksidasyonunda rol oynamaktadır (23). Ayrıca alüminyum reaktif oksijen oksijen türlerini üreterek lipit, protein ve DNA oksidasyonuna neden olmaktadır (12). Meriga B ve arkadaşları piriç bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmalarda bitkiyi alüminyuma maruz bırakarak özellikle alüminyumun major olarak yerleştiği köklerde alüminyum akümülyasyonuna bağılı olarak serbest oksijen radikalleri aracılığıyla membranların MDA seviyelerinin, SOD aktivitesinin ve peroksidazların arttığını ve bunlara bağılı olarak bitki DNA sında bozulmalar meydana geldiğini göstermişlerdir. İnsanlar alüminyumu başlıca su, ilaçlar ve yemeklerin pişirilip saklandığı kaplardan sıklıkla alırlar (117-125). Bundan hareketle bizde araştırmamız için yıllardır alüminyum kaplarda yapılan yoğurtlarla beslenen ve alüminyum kapları ve alüminyum kapları kullanmayan insanları denek olarak kullanıldı. Ve çalışmamızın sonunda gördük ki yıllardır alüminyum kaplarda yapılan yiyecekler ile beslenen insanlarda serum alüminyum seviyeleri artarken total antioksidan kapasitenin azaldığı, protein oksidasyonu ve lipit peroksidasyonunun arttığı ve bunlara bağılı olarak önemli derecede DNA hasarlarının meydana geldiği görüldü.

Alüminyumun toksisitesi birçok çalışma ile de gösterilmiştir. Ancak, yüksek alüminyum konsantrasyonlarının DNA üzerindeki etkilerini araştıran ilk çalışma olması nedeni ile çalışma ilk ve orijinal bir çalışmadır. Yüksek konsantrasyonlarda alüminyuma maruz kalmanın neden olduğu DNA hasarı ve oksidatif stresin meydana getirdiği olumsuzluklar anlatılmalı, yüksek seviyelerde alüminyuma maruziyetin önlenmesi için gerekli tedbirin alınması hususunda halkımız ve ilgili kurumlar bilinçlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Alfrey AC. Aluminum metabolism in uremia. *Neurotoxicology* 1980; 43–53pp.
2. Alfrey AC. Aluminum intoxication. *J. Environ. Sci. Health B* 1996; 21:181–215 pp.
3. Alfrey AC. Aluminum intoxication, recognition and treatment Verona pp. *N. Engl. J. Med.* 1991; 310(6): 73–84pp.
4. Alfrey AC. Role of iron and oxygen radicals in the progression of chronic renal failure. *Am. J. Kidney Dis.* 1994; 23:183–87.
5. Anthony J, Fadl S, Mason C, Davidson A, Berry J. Absorption, deposition and distribution of dietary aluminum in immature rats: Effects of dietary vitamin D3 and food-borne chelating agent. *J. Environ. Sci. Health B* 1986; 21:191–205 pp.
6. Arbour P. Molten aluminum inhalation in the nose and ethmoid sinus. Report of an unusual case. *Rhinology* 1991; 29:239–41 pp.
7. Arief A, Cooper J, Armstrong D, and Larowitz VC. Dementia, renal failure and brain aluminum. *Ann. Intern. Med.* 1979; 90:741–7 pp.
8. *Toxicological Profile for Aluminum (Update)*, U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service 1999.
9. Bakir AA, Hryhorczuk DO, Berman E and Dunea G. Acute fatal hyperaluminemic encephalopathy in undialyzed and recently dialyzed uremic patients. *ASAIO Trans.* 1986; 32:171–6 pp.
10. Barr RJ, Alpern KS, and Jay S. Histiocytic reaction associated with topical aluminum chloride (Drysol reaction). *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 1993;19:1017–21 pp.
11. Bast-Pattersen R, Drablos PA, Goffeng LO, Thomassen Y, and Torres CG. Neuropsychological deficit among elderly workers in aluminum production. *Am. J. Ind. Med.* 1994; 25:649–62 pp.
12. Bataineh H, Al-Hamood MH, and Elbetieha AM. Assessment of aggression, sexual behaviour and fertility in adult male rat following long-term ingestion of four industrial metal salts. *Hum. Exp. Toxicol.* 1998; 17:570–6 pp.
13. Baydar T, Aydin A, Duru S, Isimer A and Sahin G. Aluminum in enteral nutrition formulas and parenteral solutions. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1997; 35:277–81 pp.
14. Belles M, Albina M. L, Sanchez DJ, and Domingo J L. Lack of protective effects of dietary silicon on aluminium-induced maternal and developmental toxicity in mice. *Pharmacol. Toxicol.* 1999; 85:1–6 pp.
15. Bellorin-Font E, Weaver ME, TJ, Stokes Jr, McConkey C, Slatopolsky E, and Marbin KJ. Effects of aluminium on bovine parathyroid adenylate cyclase. *Endocrinology* 1985; 117:1456–61 pp.

16. Bennett RW, Pwersand TVN, and Moore KL. Experimental studies on the effects of aluminum on pregnancy and fetal development. *Anal. Anz. Bd.* 1975;138:365–78 pp.
17. Berand K, van der Voet G, And Boer WH. Acute aluminum encephalopathy in a dialysis center caused by cement mortal water distribution pipe. *Kidney Int.* 2001; 59:746–753 pp.
18. Birchall JD. The toxicity of aluminum and the effect of silicon on its bioavailability. In: Nicolini M, Zatta PF, and Corain B, Editors, *Aluminum in Chemistry, Biology and Medicine*, Cortina International, Verona 1991; 53–69 pp.
19. Bishop NJ, Robinson MJ, Lenden M, Hewitt CD, Day JP, and O'Hara M. Increased concentration of aluminum in the brain of parenterally fed preterm infant. *Arch. Dis. Child* 1989; 64:1316–17 pp.
20. Bittar EE. and Huang YP. The behavior of the ouabain-insensitive sodium efflux in single barnacle muscle fibers toward the microinjection of aluminum. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1990; 106:71–79 pp.
21. Blundell G, Henderson W J, and Price EW. Soil particles in the tissues of the foot in endemic elephantiasis of the lower legs. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1989; 83:381–85 pp.
22. Bolla KI, Briefel G, Spector D, Schwartz BS, Wieler L, Herron J, and Gimenez L. Neurocognitive effects of aluminum. *Arch. Neurol.* 1992;49: 1021–26 pp.
23. Brusewitz S. *Aluminum*, University of Stockholm, Stockholm 1984; 21–26 pp.
24. Burnatowska-Hledin MA, Kaiser L, and Mayor GH. Aluminum, parathyroid hormone and osteomalacia. *Spec. Top. Endocrinol. Metab.* 1983; 5:201–26 pp.
25. Campbell A. And Bondy SC. Aluminum induced oxidative events and its relation to inflammation: A role for the metal in Alzheimer's disease. *Cell Mol. Biol.* 2000; 46:721–30 pp.
26. Cann CE, Prussin SG, and Gordan GS. Aluminum uptake by the parathyroid gland. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1979; 49:543–5 pp.
27. Casati S, Castelnova C, Campise M, and Ponticelli C. Aluminum interference in the treatment of hemodialysis patients with recombinant erythropoietin. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1990; 5: 441–7 pp.
28. Chadwick DJ, and Whelan J. *Aluminum in Biology and Medicine*, Ciba Found. Symp. Wiley, New York 1992; 5: 41–7 pp.
29. Chan JCM, Jacob M, Brown S, Savory J. and Wills M.R. Aluminum metabolism in rats—Effects of vitamin D dihydrocortisol, 1,25-dihydroxyvitamin D and phosphate binders. *Nephron.* 1988; 48: 61–4 pp.
30. Chauan VPS. Ray I. Chauan A. Weigel J, and Wisniewski H. Metal cations defibrillize beta-protein fibrils. *Neurochem. Res.* 1997; 22:805–9 pp.

31. Cherroret G, Capolaghi B, Hutin MF, Burnel D, and Lehr PR. Effects of postnatal aluminum exposure on biological parameters in the rat plasma. *Toxicol. Lett.* 1995; 78:119–25 pp.
32. Chmielnicka J, Nasiadek M, and Lewandowska-Zyndul E. The effect of aluminum chloride on some steps of heme biosynthesis in rats after oral exposure. *Biol. Trace Elem. Res.* 1994; 40:127–36 pp.
33. Chmielnicka J, Nasiadek M, Lewandowska-Zyndul E, and Pinkowski R. Effect of aluminum on hematopoiesis after intraperitoneal exposure in rats. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1996; 33:201–6pp.
34. Cochran M, Goddard G, Ramm G, Ludwigson N, Marshall J, and Halliday J. Absorbed aluminum is found with two cytosolic protein fractions, other than ferritin, in the rat duodenum. *Gut* 1993; 34:643–6pp.
35. Constantini S, and Giordano R. In: M, Nicolini, PF, Zatta and Corain B. Editors, *Aluminum in Chemistry, Biology and Medicine*, Cortina International, Verona. 1994; 121–29 pp.
36. Cournot-Witmer G. and Plachot J. J.: Parathyroid glands in chronic aluminum intoxication. *Ultrastruct. Pathol.* 1990; 14:211–19 pp.
37. Crapper McLachlan DR. and DeBoni W. Aluminum in human brain disease—An overview. *Neurotoxicology* 1980; 1:3–16 pp.
38. Cunat L, Lanhers MC, Joyeux M, and Brnell D. Bioavailability and intestinal absorption of aluminum in rats: Effects of aluminum compounds and some dietary constituents. *Biol. Trace Elem. Res.* 2000; 76:31–55 pp.
39. Voto E, and Yokel RA. The biological speciation and toxicokinetics of aluminum. *Environ. Health Perspect.* 1994; 102:940–51pp.
40. Demircan M, Ergun O, Coker C, Yilmaz F, Avanoğlu S, and Ozok G. Aluminum in total parenteral nutrition solutions produces portal inflammation in rats. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1998; 26:274–8 pp.
41. Deng Z, Coudray C, Gouzoux L, Mazur A, Rayssiguier Y, and Pepin D. Effect of oral aluminum and aluminum citrate on blood level and short-term tissue distribution of aluminum in the rat. *Biol. Trace Elem. Res.* 1998; 63:139–47pp.
42. Deng Z, Coudray C, Gouzoux L, Mazur A, Royssiguier Y, and Pepin D. Effects of acute and chronic coingestion of AlCl₃ with citrate or polyphenolic acids on tissue retention and distribution of aluminum in rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 2000; 76:245–56 pp.
43. Ding W, and Zhu Q. Metabolism of aluminum in rats. *Chung Hua Yu Fang I Hsueh Tsa Chih.* 1997; 31: 338–41 pp.
44. Divine KK, Lewis JL, Grant PG, and Bench G. Quantitative particle-induced X-ray emission imaging of rat olfactory epithelium applied to the permeability of rat epithelium to inhaled aluminum. *Chem. Res. Toxicol.* 1999; 12:575–81 pp.

45. Domingo JL, Gomez M, Sanchez DJ, Llobet J M, and Corbella J. Effect of various dietary constituents on gastrointestinal absorption of aluminum from drinking water and diet. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1993; 79: 377–80pp.
46. Du Val G, Grubb BR, and Bentley PJ. Tissue distribution of subcutaneously administered aluminum chloride in weanling rabbits. *J. Toxicol. Environ. Health* 1986; 19:97–104 pp.
47. Ebina Y, Okada S, Hamazaki S, and Midorikawa O. Liver, kidney and central nervous system toxicity of aluminum given intraperitoneally to rats: A multiple-dose subchronic study using aluminum nitrilotriacetate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1984; 75: 211–18pp.
48. Eisenrich SJ. Atmospheric input of trace metals to Lake Michigan (USA). *Water Air Soil Pollut.* 1980; 13: 287–302 pp.
49. Exley C, Burgess E, Day J. P, Jeffery E H, Melethil S. and Yokel RA :Aluminum toxicokinetics. *J. Toxicol. Environ. Health* 1996; 48:569–84 pp.
50. Feinroth M, Feinroth MV, and Berlyne GM. Aluminum absorption in the rat everted gut sac. *Miner. Electrolyte Metab.* 1982; 8:29–35 pp.
51. Fernandez E, Amoedo ML, and Montoliu J: Level-dependent inhibitory effect of hyperaluminaemia on parathyroid hormone secretion in patients with end-stage renal failure. *Eur. J. Med.* 1992; 1: 482–4 pp.
52. Fernandez-Martin JL, Canteros A, Alles A, Massari P, and Cannata-Andia J. Aluminum exposure in chronic renal failure in iberoamerica at the end of the 1990s: Overview and perspectives. *Am. J. Med. Sci.* 2000; 320: 96–99 pp.
53. Fiejka M, E. and Dougaszek M. Effect of aluminium hydroxide administration on normal mice: Tissue distribution and ultrastructural localization of aluminium in liver. *Pharmacol. Toxicol.* 1996; 78: 123–28 pp.
54. Filipek L H, Nordstorm DK, and Ficklin WH. Interaction of acid mine drainage with waters and sediments of West Squaw Creek in the West Shasta mining district, California. *Environ. Sci. Technol.* 1987; 21: 388–96 pp.
55. Flarend R. Absorption of aluminum from antiperspirants and vaccine adjuvants. In: C. Exley, Editor, *Aluminum and Alzheimer's Disease: The Science That Describes the Link*, Elsevier, Amsterdam. 2001: 75–95 pp.
56. Flarend R, Bin T, Elmore D, and Hem SL: A preliminary study of the dermal absorption of aluminium from antiperspirants using aluminium-26. *Food Chem. Toxicol.* 2001; 39:163–8 pp.
57. Flaten TP. Aluminium as a risk factor in Alzheimer's disease, with emphasis on drinking water. *Brain. Res. Bull.* 2001; 55:187–96 pp.
58. Flora SJ, Dhawan M, and Tandon SK. Effects of combined exposure to aluminum and ethanol on aluminum body burden and some neuronal, hepatic and

- haematopoietic, biochemical variables in the rat. *Hum. Exp. Toxicol.* 1991; 10:45–48 pp.
59. Fulton B, and Jeffery E. Heme oxygenase induction: A possible factor in aluminum-associated anemia. *Biol. Trace Elem. Res.* 1994; 40:9–19 pp.
60. Fulton B. and Jeffery EH. The temporal relationship between hepatic GSH loss, heme oxygenase induction, and cytochrome P450 loss following intraperitoneal aluminum administration to mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994. 127:291–7 pp.
61. Galle P. The toxicity of aluminum. *World Sci.* 1987;13:26–35 pp.
62. Ganrot PO. Metabolism and possible health effects of aluminum. *Environ. Health Perspect.* 1986; 65:363–441 pp.
63. Garay G, Grosso S, Douthat W, Fernandez Martin JL, Cannata J, and Massai PU. Influence of aluminium overload on the course of post-transplant parathyroid function. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1996, 11:65–8 pp.
64. Garbossa G, Gutnisky A, and Nesse A. Depressed erythroid progenitor cell activity in aluminum-overloaded mice. *Miner. Electrolyte Metab.* 1996; 22:214–18 pp.
65. Ghetti B, Musicco M, Morton J, and Bugiani O. Nerve cell loss in the progressive encephalopathy induced by aluminum powder: A morphologic and semiquantitative study of the Purkinje cells. *Neropathol. Appl. Neurobiol.* 1985; 11:31–53 pp.
66. Gitelman HJ, Alderman FR, Jurs-Lasky M, and Rockette HE. Serum and urinary aluminum levels of workers in the aluminum industry. *Ann. Occup. Hyg.* 1995; 39:181–91 pp.
67. Golub MS, and Germann SL. Aluminum effects on operant performance and food motivation of mice. *Neurotoxicol. Terratol.* 1998; 20:421–27 pp.
68. Golub M. S. and Tarara R. P.: Morphometric studies of myelination in the spinal cord of mice exposed developmentally to aluminum. *Neurotoxicology.* 1999; 20:953–60 pp.
69. Gomez M, Sanchez DJ, Llobet JM, Corbella J, and Domingo JL. The effect of age on aluminum retention in rats. *Toxicology* 1997; 16:1–8 pp.
70. Gomez-Alonso C, Menendez-Rodriguez P, Virgos-Soriano MJ, Fernandez-Martin J L, Fernandez-Martin MT, Fernandez-Coto and Cannata-Andia JB. Aluminum-induced osteogenesis in osteopenic rats with normal renal function. *Calcif. Tissue Int.* 1999; 64:534–41pp.
71. Gopalan C. *Nutrition Research in South-East Asia (The Emerging Agenda of the Future)*, World Health Organization, Geneva 1996; 105–12 pp.
72. Greger JL. Aluminum metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 1993; 13: 43–63 pp.
73. Greger JL, and Sutherland JE. Aluminum exposure and metabolism. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1997; 34: 439–74 pp.

74. Goetz JL, and Sullivan D. Aluminum levels in foods cooked and stored in aluminum pans, trays and foil. *J. Food Prot.* 1985; 48:772–7 pp.
75. Griswald WR, Reznik V, Mendoza SA, Trauner D, and Alfrey AC. Accumulation of aluminum in a nondialyzed uremic child receiving aluminum hydroxide. *Pediatrics* 1983; 71:56–8 pp.
76. Hamilton EI, Miniski MJ, and Cearly JJ. The concentration and distribution of some stable elements in healthy human tissues from the United Kingdom: An environmental study. *Sci. Total Environ.* 1973; 1: 341–74 pp.
77. Han J, and Dunn MA. Effect of dietary aluminum on tissue nonheme iron and ferritin levels in the chick. *Toxicology* 2000; 142:97–109 pp.
78. Hantson P, Mahieu P, Gersdorff M, Sindic CJ, and Lauwerys R. Encephalopathy with seizures after use of aluminum-containing bone cement. *Lancet* 1994; 344:16–47 pp.
79. Harris WR, Berthon G, Day JP, Exley C, Flaten TP, Forbes W F, Kiss T, Orvig C, And Zatta PF. Speciation of aluminum in biological system. *J. Toxicol. Environ. Health* 1996; 48:543–68 pp.
80. Hirschberg R, Herrath D, von, Voss R, Bossaller W, Mauelshagen U, Pauls A, and Schaefer K. Organ distribution of aluminum in uremic rats: Influence of parathyroid hormone and 1,25-dihydroxy vitamin D3. *Miner. Electrolyte Metab.* 1985; 11:106–10 pp.
81. Hosovski E, Mastelica Z, Sunderic D, and Radulovic D. Mental abilities of workers exposed to aluminum. *Med. Lav.* 1990; 81:119–23 pp.
82. Indridason OS, Pieper CF, and Quarles LD. Predictors of short-term changes in serum intact parathyroid hormone levels in hemodialysis patients: Role of phosphorus, calcium, and gender. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998; 83: 3860–66 pp.
83. Ittel TH. Determinants of gastrointestinal absorption and distribution of aluminum in health and uraemia. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1993; 81:17–24 pp.
84. Jeffery EH, Abreo K, Burgess E, Cannata JB, Greger JL, and Zaman K. Aluminum effects on bone formation and remodeling, hematopoiesis and renal function. *J. Toxicol. Environ. Health* 1996; 48:649–65 pp.
85. Jeffery EH, Jansen HT, and Dellinger JA. In vivo interaction of aluminum with hepatic cytochrome P₄₅₀ and metallothionein. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1987; 8: 541–8 pp.
86. Jones KC, and Benett BG. Exposure of man to environmental aluminum—An exposure commitment assessment. *Sci. Total Environ.* 1986; 52: 65–82 pp.
87. Jogetti V, Lopez BD, Caorsi H, Ferreira A, Palma A, Menendez P, Douthat W, Olaizola I, Ribeiro S, Jarava C, Moreira E, and Cannata J. Different patterns of renal osteodystrophy in Iberoamerica. *Am. J. Med. Sci.* 2000 320:76–80 pp.

88. Julka D, Vasistha RK, and Gill KD. Distribution of aluminum in different brain regions and body organs of rat. *Trace Elem. Res.* 1996; 52:181–92 pp.
89. Kaiser L, and Schwartz KA. Aluminum-induced anaemia. *Am. J. Kidney Dis.* 1985; 6: 348–52 pp.
90. Kamboj VP, and Kar AB. Antitesticular effect of metabolic and rare earth salts. *J. Reprod. Fert.* 1964; 7:21–28 pp.
91. Karlik SJ, Eichorn GL, and Crapper McLachlan DR. Molecular interaction of aluminum with DNA. *Neurotoxicology* 1980; 1:83–8 pp.
92. Kausz AT, Antonsen JE, Hercz G, Pei Y, Weiss NS, Emerson S, and Sherrard DJ. Screening plasma aluminum levels in relation to aluminum bone disease among asymptomatic dialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 1999; 34:688–93 pp.
93. Kavoussi LR, Gelstein LD, and Andriole GL. Encephalopathy and an elevated serum aluminum level in patients receiving intravesical alum irrigation for severe urinary hemorrhage. *J. Urol.* 1986; 136:665–7 pp.
94. Kerr DN, Ward MK, Ellis HA, Simpson W, and Parkinson IS. Aluminium intoxication in renal disease. *Ciba Found. Symp.* 1992; 169: 123–35 pp.
95. Conti M, PC Marond, Levillion P, Lemonnici A. Improved Fluorometric Determination of Malonaldehyde: 1991; 37: 1273-75.
96. Carl A. Edward R. Tietz Textbook of Clinical Chemistry 3 edition 1999.
97. Klein GL. The possible adverse effect of the use of aluminum hydroxide in chronic diarrhoea. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1984. 31:6-47 pp.
98. Klein GL, and Coburn JW. Total parenteral nutrition and its effects on bone disease of long term parenteral nutrition. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1994; 31:135–67 pp.
99. Klein GL, Herndon DN, Rutan TC, Barnett JR, Miller NL, and Alfrey AC. Risk of aluminum accumulation in patients with burns and ways to reduce it. *J. Burn Care Rehab.* 1994; 15:354–8 pp.
100. Klein GL, Lee TC, Heyman MB, and Rassin DK. Altered glycine and taurine conjugation of bile acids following aluminum administration to rats. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1989; 9:361–4 pp.
101. Klein GL, Ott SM, Alfrey AC, Sherrard DJ, Hazlet TK, Miller N. L., Maloney N. A., Berquist W. E., Ament M. E. and Coburn J. W.: Aluminum as a factor in the bone disease of long term parenteral nutrition. *Trans. Assoc. Am. Physicians* 1982; 95: 155–163 pp.
102. Koch KR., Pougnet MAB, De. Villiers S, and Montegudo F. Increased urinary excretion of aluminum after drinking tea. *Nature* 1988; 3:33-122 pp.

103. Krasovskii GN, Vasukovich LY and Charier OG. Experimental study of biological effects of lead and aluminum following oral administration. *Environ. Health Perspect.* 1979; 30: 47–51 pp.
104. Kruck TPA and McLachlan DR. Mechanism of aluminum neurotoxicity—Relevance to human disease. In: H. Siegel, Editor, *Metal Ions in Biological Systems*, Dekker, New York 1988: 285–314 pp.
105. Kawahara M, Kato M, and Kuroda Y. Effects of aluminum on the neurotoxicity of primary cultured neurons and on the aggregation of beta-amyloid protein. *Brain Res. Bull.* 2001; 55: 211–7 pp.
106. Lapersle J, Duckett S, Galle P, and Cartier L. Clinical, anatomical and biophysical data on a case of encephalopathy with aluminum deposition. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 1975; 2:282–5 pp.
107. Lee RE, von Lehmden Jr. and DJ. Trace metal pollution in the environment. *J. Air Pollut. Control Assoc.* 1973; 23:853–7 pp.
108. Levesque L, Mizzen CA, McLachlan DR, and Fraser PE. Ligand specific effects on aluminum incorporation and toxicity in neurons and astrocytes. *Brain Res.* 2000; 191–202 pp.
109. Levine SN, Sonnier GB, and Abreo K. Effects of diabetes mellitus and aluminum toxicity on myocardial calcium transport. *Toxicology* 1990; 65: 137–48 pp.
110. Liaberherr M, Grosse B, Cournot-Witmer G, Harmann-Erlee MP, and Balan S. Aluminum action on mouse bone cell metabolism and response to PTH and 1,25 (OH)₂D₃. *Kidney Int.* 31 pp 1987. 736–43.
111. Lin JL, Yang YJ, Yang SS, And Leu ML. Aluminum utensils contribute to aluminum accumulation in patients with renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* 1997; 30: 653–8 pp.
112. Lione A: The prophylactic reduction of aluminum intake. *Food Chem. Toxicol* 1983; 21: 103–9 pp.
113. Lukiw WJ, Krishnan B, Wong L, Kruck TP, Bergeron C, and Crapper McLachlan DR. Nuclear compartmentalization of aluminum in Alzheimer's disease (AD). *Neurobiol. Aging* 1992; 13:115–21 pp.
114. Madhav TR, Vatsalaa S, Ramakrishna T, Ramesh J, and Eashawaran KRK. Preservation of native conformation during aluminum-induced aggregation of tau protein. *Neuroreport.* 1996; 7: 1072–6 pp.
115. Conti M, Marond PC, Levillion P, Lemonnici A. Improved Fluorometric Determination of Malonaldehyde: 1991; 37: 1273-5pp.
116. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry* 2004; 37:112– 19pp.

117. Erel O.; A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* 2005.
118. Marsh K, Forster D, Waruiru C, Mwangi I, Winstanley M, Marsh V, Newton C, Winstanley P, Warn P, Peshu N, Pasvol G, Snow R. Indicators of life-threatening malaria in African children. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 1399–404pp.
119. Das BS, Thurnham DI, Patnaik JK, Das DB, Satpathy R, Bose TK. Increased plasma lipid peroxidation in riboflavin-deficient, malaria-infected children. *Am. J. Clin. Nutr.* 1990; 51: 859–63pp.
120. Clark IA, Hunt NH, Evidence for reactive oxygen intermediates causing hemolysis and parasite death in malaria. *J. Infect. Immun.* 1983; 39: 1–6pp.
121. Sanni LA, Fu S, Dean RT, Bloomfield G, Stocker R, Chaudhri G, Dinauer MC, Hunt NH. Are reactive oxygen species involved in the pathogenesis of murine cerebral malaria? *J. Infect. Dis.* 1999; 179: 217–22pp.
122. Sies H. Biochemistry of oxidative stress. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1986; 25: 1058–171pp.
123. Beckera K. (at all); Oxidative stress in malaria parasite-infected erythrocytes: host-parasite interactions *International Journal for Parasitology* 2004; 34: 163–89pp.
124. Pabón A (at all); Oxidative stress in patients with non-complicated malaria *Clinical Biochemistry* 2003; 36: 71–8pp.
125. Erel O, Kocyigit A, Avcı S, Aktepe N, Bulut V. Oxidative Stress and antioxidative status of Plasma and Erythrocytes in Patient with Vivax Malaria. *Clinical Biochemistry* 1997; 30: 632–9pp.
126. Birnboim HC: DNA strand breakage in human leukocytes exposed to a tumor promoter phorbol myristate acetate. *Science* 1982; 215: 1247–9pp.
127. Olinski R, Jaruga P, Zastawny TH; Oxidative DNA base modifications as factors carcinogenesis. *Acta Biochem Polonica* 1998; 45: 551–57pp.
128. Rikans LE, Hornbrook LR; Lipid peroxidation, antioxidant and aging *Biochim Biophys Acta.* 1997; 1362: 116–27pp.
129. Soruga P, Zastawny TH, Skakowski J. and et. al; Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer. *FEBS Lett.* 1997; 341: 59–6pp.
130. Fenn WO, Gerschman R, Gilbert DC. and et. al; Mutagenic effects of high oxygen tension on *E. coli*. *Proc Natl Acad Sc* 1957; 43: 1027–32pp.
131. Fisher SM, Flayd RA, Copeland ES; Workshop report from the divisions of research grants, national institute health. Oxyradicals in carcinogenesis – a chemical pathology study section workshop. *Cancer Res* 1983; 43: 5631–2pp.
132. Gyton KZ, Kersler TW; Oxidative mechanism in carcinogenesis *Br Med Bull* 1993; 49: 523–44pp.

133. Lane DP; p53 and human cancers. *Br Med Bull* 1994; 50(3): 582–89pp.
134. Moraes EC, Keyse SM, Tyrell RM; Mutagenesis by hydrogen peroxide treatment of mammalian cells: a molecular analysis. *Carcinogenesis* 1990; 31: 283–93pp.
135. Oberley LW, Oberley TD. Free radicals, aging and degenerative diseases, Alan R Liss, New York, 1986; 325–71pp.
136. Rao GM, Rao AV, Raju A; Lipid peroxidation in brain tumors. *Clin Chim Acta* 2000; 302: 205–11.
137. Lowy DF, Base R, Simo AA; Evidence for a high free radical state in low-grade astrocytomas. *Neurosurgery* 1997; 41: 46–50pp.
138. Olinski R, Zastawny T, Budzban J. DNA base modifications in chromatin of human cancerous tissues. *FEBS Lett* 1992; 309:193–94pp.
139. Soruga P, Zastawny TH, Skakowski J. and et.al; Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer. *FEBS Lett.* 1994; 341: 59–64 pp.
140. Von Sonntag C, Schuchmann HP; Radical-mediated DNA damage in the presence of oxygen *Meth Enzymol* 1990;186:511-20pp.
141. Becker K. et al; Oxidative stress in malaria parasite-infected erythrocytes: host–parasite interactions. *International Journal for Parasitology* 2004; 34:163–189pp.
142. Stadtman ER, Levine RL: Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* 2003; 25: 207-18pp.
143. Berlett BS, Stadtman ER: Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997; 272:20313-16pp.
144. Stadtman ER, Levine R. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* 2003; 25: 207-18.
145. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem* 1998; 272:20313-16pp.
146. Soruga P, Zastawny TH, Skakowski J. and et. al; Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer. *FEBS Lett.* 1988; 341: 59–64pp.
147. Fenn WO, Gerschman R, Gilbert DC. and et. al; Mutagenic effects of high oxygen tension on *E.coli*. *Proc Natl Acad Sc* 1957; 43: 1027–32pp.
148. Fisher SM, Flayd RA, Copeland ES. Workshop report from the divisions of research grants, national institute health. Oxyradicals in carcinogenesis – a chemical pathology study section workshop. *Cancer Res* 1983; 43: 5631–2pp.
149. Gyton KZ, Kersler TW. Oxidative mechanism in carcinogenesis *Br Med Bull* 1993; 49:523-44.
150. Lane DP. p53 and human cancers. *Br Med Bull* 1994; 50(3): 582–89pp.

151. Moraes E.C., Keyse S.M., Tyrell R.M.; Mutagenesis by hydrogen peroxide treatment of mammalian cells: a molecular analysis. *Carcinogenesis* 1990; 31: 283–93pp.
152. Oberley LW, Oberley TD; Free radicals, aging and degenerative diseases, Alan R Liss, New York, 1986; 325–71pp.