



ÜLEKSİTİN GENOTOKSİK VE ANTİGENOTOKSİK POTANSİYELİ

Açelya SEYREK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HAZİRAN 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Açelya SEYREK
25/06/2024

ÜLEKSİTİN GENOTOKSİK VE ANTİGENOTOKSİK POTANSİYELİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Açelya SEYREK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2024

ÖZET

Bor bileşikleri insektisit, gübre, temizlik malzemesi, farmasötik, kozmetik, gıda katkısı ve kişisel bakım ürünleri gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Bununla beraber, bitkiler, hayvanlar ve insanlarda antioksidan, antiapoptotik, antigenotoksik, antikanser ve antiinflamatuvar gibi kritik biyolojik fonksiyonlar göstermeleri nedeniyle, bor bileşikleri üzerinde yapılan araştırmalarda son 20 yıldır büyük artış görülmektedir. Diğer yandan insanlar, günlük yaşamlarında, genetik materyalde hasarlara sebep olabilecek çeşitli genotoksik kimyasallara maruz kalmaktadır. Bu çalışmada, önemli bir bor minerali olan üleksitin (UX) (2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL) genotoksik ve sitotoksik potansiyeli ve genotoksik kimyasallar olarak bilinen iki antikanser ilacı (Mitomycin-C, 0,20 µg/mL; Metil metan sülfonat, 6,60 µg/mL) ve H₂O₂ (100 µM)'e karşı antigenotoksik ve sitoprotektif potansiyeli, *in vitro* insan lenfositlerinde araştırılmıştır. Kromozom anormallikleri (KA), kardeş kromatit değişimi (KKD), sitokinez blok mikronükleus sitom (CBMN-Cyt) ve komet testleri kullanılmıştır. Bu testlerde UX, kendi başına herhangi bir genotoksik ve sitotoksik etki oluşturmamıştır. Tam tersine, MMC ve MMS tarafından oluşturulan KA, KKD ve MN frekansında anlamlı iyileşme ve sitoprotektif etki oluşturmuştur. Komet testinde, UX, DNA hasarında anlamlı artışlar oluşturmamıştır, tam tersine, bütün konsantrasyonlarda, H₂O₂ tarafından oluşturulan DNA hasarlarını (komet kuyruk uzunluğu, yoğunluğu ve momenti) anlamlı şekilde düşürmüştür. Bu sonuçlar, UX'in test edilen konsantrasyonlarının insan lenfositlerinde genotoksik ve sitotoksik olmadığını göstermiştir. Tam tersi, UX, MMC, MMS ve H₂O₂ ile birlikte uygulandığında, antigenotoksik/sitoprotektif/kemopreventif/iyileştirici potansiyel göstermiştir. Sonuç olarak, UX, *in vitro* koşullarda hem güvenilir hem de toksik olmayan ve hatta genotoksik kimyasalların meydana getirdiği sitotoksik ve genetik hasarları iyileştirmektedir. Bu sonuçlar, üleksit gibi bor bileşiklerinin, genotoksinlerin oluşturduğu sitotoksik ve genotoksik hasarları azaltıcı yeni bir strateji olabileceğini göstermektedir.

Bilim Kodu : 20316
Anahtar Klimeler : Üleksit, Kromozomal Anormallikler, Kardeş Kromatit Değişimi, Sitokinez Blok Mikronükleus Sitom, Komet Testi, Genotoksisite, Antigenotoksisite
Sayfa Adedi : 123
Danışman : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

GENOTOXIC AND ANTIGENOTOXIC POTENTIAL OF ULEXITE

(M. Sc. Thesis)

Açelya SEYREK

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2024

ABSTRACT

Boron compounds are used in various areas, such as insecticides, fertilizers, cleaning products, pharmaceuticals, cosmetics, food supplements, and personal care products. However, investigations on several boron compounds have gained momentum in the last two decades due to their critical biological functions, such as anti-oxidant, anti-apoptotic, anti-genotoxic, anticancer, and anti-inflammatory potentials on plants, animals, and humans. On the other hand, humans are exposed to various genotoxic chemicals in their daily lives that may be harmful to genetic material. In this study, we have evaluated the potential genotoxic and cytotoxic effect of ulexit (UX) (2.5, 5, 10 and 20 µg/mL), a valuable boron mineral, and its anti-genotoxic and cytoprotective potential against two anticancer drugs (Mitomycin-C, 0.20 µg/mL; Methyl methane sulphonate; 6.60 µg/mL) and H₂O₂ (100 µM), known as genotoxic chemicals, in human peripheral lymphocytes *in vitro*. Chromosome aberrations (CA), sister chromatid exchange (SCE), cytokinesis block micronucleus cytome (CBMN-Cyt), and comet tests were applied. Ulexite alone did not induce significant genotoxic and cytotoxic effects in these tests. In contrast, UX significantly ameliorated the frequency of CAs, SCEs, and MNi induced by MMC and MMS. UX also revealed cytoprotective potential against MMC and MMS. In the comet assay, UX did not significantly increase DNA damage; in contrast, in all the concentrations, it significantly decreased DNA damage determined as comet tail length, tail intensity, and tail moment against H₂O₂. These results revealed that the concentrations of UX tested in this study did not induce a genotoxic and cytotoxic risk alone in human lymphocytes. On the contrary, UX exhibited antigenotoxic/cytoprotective/ chemopreventive/ ameliorative potential when administered with MMC, MMS, and H₂O₂. In conclusion, UX is safe and non-toxic under *in vitro* conditions and can ameliorate cytotoxic and genetic damage induced by genotoxic chemicals. These results suggest that boron compounds like ulexite suggest a novel strategy for mitigating cytotoxicity and genotoxicity generated by genotoxins.

Science Code : 20316

Key Words : Ulexite, chromosomal aberration, sister chromatid exchange, cytokinesis block micronucleus cytome, comet assay, genotoxicity, antigenotoxicity

Page Number : 123

Supervisor : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

TEŞEKKÜR

Lisans ve lisansüstü eğitimim boyunca her konuda beni destekleyen, tecrübesi, bilgileri ve önerileri ile yönlendiren, hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Fatma ÜNAL'a ve lisans ve lisansüstü eğitimimde bilgi ve görüşlerinden her zaman yararlandığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Bu tezde kullanılan üleksiti tarafımıza hediye eden G.Ü. Fen Fakültesi, Kimya Bölümü öğretim üyesi sayın hocam Prof. Dr. Halil İbrahim ÜNAL'a da çok teşekkür ederim. Ayrıca, bana her zaman destek olan hocam Arş. Gör. Ece AKBAŞ'a, Genetik Laboratuvarı'ndaki çalışmalarında emeği geçen tüm lisansüstü arkadaşlarıma ve özellikle lisans ve yüksek lisans sürecim de dahil olmak üzere hayatımda daima yanımda olan dostum Aleyna HALICI'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Beni ben yapan, her anımda yanımda olan, sevginin ve mutluluğun en saf halini yaşatan, varlıklarından güç aldığım canım annem Sevda SEYREK'e, canım babam Erkan SEYREK'e ve biricik ablam Damla SEYREK ŞAHİN'e minnet dolu sonsuz sevgimi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasını FYL-2023-8246 koduyla destekleyen Gazi Üniversitesi Rektörlüğü, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne de çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Bor.....	5
2.1.1. Bor bileşikleri ve sınıflandırılması.....	6
2.1.2. Borun kullanım alanları.....	7
2.1.3. Bora maruz kalma yolları ve bor metabolizması	13
2.1.4. Borun canlılar üzerindeki etkileri.....	14
2.2. Üleksit	15
2.2.1. Üleksitin kullanım alanları.....	16
2.3. Genotoksisite ve Antigenotoksisite.....	18
2.3.1. Genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmalarında kullanılan testler	19
2.4. Kanser	24
2.4.1. Kanserin nedenleri	26
2.4.2. Serbest radikaller.....	27
2.4.3. Kanser tedavileri	29
2.4.4. Kanser tedavilerinde kullanılan ilaçlar.....	32
2.5. Üleksit ile Yapılan Genotoksisite ve Antigenotoksisite Çalışmaları	34
3. MATERYAL VE METOT	37
3.1. Materyal	37
3.1.1. Kromozom incelemesi için materyal	37
3.1.2. Test materyalleri ve kullanılan kimyasallar	37

	Sayfa
3.2. Metot	40
3.2.1. Üleksit'in çalışmada kullanılacak konsantrasyonlarının belirlenmesi	40
3.2.2. Test materyallerinin hazırlanması	40
3.2.3. Preparatların hazırlanması.....	40
3.2.4. Preparatların boyanması.....	42
3.2.5. Mikroskopik inceleme sonuçlarının değerlendirilme kriterleri.....	43
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	47
4.1. Kromozom Anormallikleri (KA) Testi Bulguları	47
4.2. Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Testi Bulguları	55
4.3. Sitokinez Blok Mikronükleus Sitom Testi Bulguları.....	63
4.4. Komet Testi Bulguları.....	68
5. TARTIŞMA.....	73
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	101
KAYNAKLAR	103
ÖZGEÇMİŞ	123

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Dünya bor rezervleri	6
Çizelge 2.2. Ticari öneme sahip başlıca bor bileşikleri	7
Çizelge 2.3. Üleksitin fiziksel özellikleri.....	16
Çizelge 2.4. Üleksit ve diğer bazı bor bileşiklerinin genotoksik ve antigenotoksik etkisi konusundaki araştırma örnekleri	35
Çizelge 4.1. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulaması sonucu oluşan kromozom anormallikleri ve frekansları	51
Çizelge 4.2. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulaması sonucu oluşan kromozom anormallikleri ve frekansları	53
Çizelge 4.3. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının KKD frekansı, replikasyon indeksi ve mitotik indeks üzerine etkisi	59
Çizelge 4.4. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının KKD frekansı, replikasyon indeksi ve mitotik indeks üzerine etkisi	61
Çizelge 4.5. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının mikronükleus, nükleer tomurcuk, nükleoplazmik köprü ve sitokinez blok proliferasyon indeksi üzerine etkisi	65
Çizelge 4.6. UX ve UX+H ₂ O ₂ uygulamasının kuyruk yoğunluğu, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti üzerine etkisi.....	70
Çizelge 5.1. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin sitotoksik, genotoksik ve antigenotoksik etkisi	99
Çizelge 5.2. UX ve UX+H ₂ O ₂ 'nin DNA hasarı üzerine etkisi.....	100

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Üleksitin yapısal formülü	38
Şekil 3.2. Mitomisin-C'nin yapısal formülü	38
Şekil 3.3. Metil metansülfonatın yapısal formülü.....	39
Şekil 3.4. Hidrojen peroksitin yapısal formülü.....	39
Şekil 4.1. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının anormal hücre frekansına etkisi	52
Şekil 4.2. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının KA/hücre frekansına etkisi	52
Şekil 4.3. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının anormal hücre frekansına etkisi	54
Şekil 4.4. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının KA/Hücre frekansına etkisi	54
Şekil 4.5. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının KKD/hücre oranına etkisi	60
Şekil 4.6. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının mitotik indeks üzerine etkisi.....	60
Şekil 4.7. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının KKD/Hücre oranına etkisi	62
Şekil 4.8. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının mitotik indeks üzerine etkisi.....	62
Şekil 4.9. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının mikronükleus oluşumu üzerine etkisi	66
Şekil 4.10. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının nükleer tomurcuk oluşumu üzerine etkisi	66
Şekil 4.11. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının nükleoplazmik köprü oluşumu üzerine etkisi	67
Şekil 4.12. UX, UX + H ₂ O ₂ uygulamasının kuyruk yoğunluğu üzerine etkisi.....	71
Şekil 4.13. UX, UX + H ₂ O ₂ uygulamasının kuyruk uzunluğu üzerine etkisi.....	71
Şekil 4.14. UX, UX + H ₂ O ₂ uygulamasının kuyruk momenti üzerine etkisi.....	72

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. UX, UX+MMC ve UX+MMS uygulaması sonucunda gözlenen kromozomal anormallik tipleri	55
Resim 4.2. UX, UX+MMC ve UX+MMS uygulaması sonucunda gözlenen kardeş kromatit değişimleri.....	63
Resim 4.3. UX, UX+MMC ve UX+MMS uygulaması sonucunda gözlenen mikronükleus, nükleer tomurcuk ve nükleoplazmik köprü içeren binükleat hücreler.....	67
Resim 4.4. UX ve UX+H ₂ O ₂ uygulaması sonucunda gözlenen DNA hasarları	72

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µg/mL	Mikrogram/mililitre
µM	Mikromolar
RPM	Devir sayısı
Kısaltmalar	Açıklamalar
ATP	Adenozin trifosfat
B	Borr
BN	Binükleat
BNYY	Borlu nötron yakalama yöntemi
BrDU	Bromodeoksiüridin
CBMN-Cyt	Sitokinez Blok Mikronükleus-Sitom
CBPİ	Sitokinez Blok Proliferasyon İndeksi
Cyt-B	Sitokalsin B
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
KA	Kromozomal anormallik
KKD	Kardeş kromatit değişimi
Mİ	Mitotik İndeks
MMC	Mitomisin-C
MMS	Metil metansülfonat
MN	Mikronükleus
NPK	Nükleoplazmik köprü
NT	Nükleer tomurcuk

Kısaltmalar**Açıklamalar****OECD**

Ekonomik İş Birliği ve Kalkınma Örgütü

Rİ

Replikasyon İndeksi

RNA

Ribonükleik asit

UX

Üleksit

WHO

Dünya Sağlık Örgütü



1. GİRİŞ

Bor, periyodik tabloda “B” simgesi ile gösterilen, yarı iletken özelliğe sahip, metalle ametal arası bir elementtir. Bitki büyümesinde temel bir madde olan bor, tarım ve temizlik sanayii, cam, enerji ve seramik gibi çeşitli endüstriyel alanların dışında, özellikle son yıllarda, sağlık alanında, osteoporoz tedavilerinde, kemik sağlığının korunmasında, beyin fonksiyonlarında, bağışıklık sisteminde, alerjik hastalıklarda, psikiyatride, kimyasal biyoloji veya tıpta yeni ilaç adayları olarak ve biyomoleküler görüntüleme ajanları için problemlerin tasarımında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Son çalışmalar, borun üreme sistemi ve periodontal hastalıkların tedavisinde de rol oynadığını göstermektedir. Özellikle beyin kanseri olmak üzere diğer kanserlerin tedavisinde etkin olarak kullanılan “Borlu Nötron Yakalama” yöntemi, kanser hücrelerinin hedeflenerek imha edilmesi ve sağlıklı hücrelere zararının minimum düzeyde tutulmasına yardımcı olmaktadır.

Ticari açıdan en önemli bor minerallerinden biri olan Üleksit ($\text{NaCa} [\text{B}_5\text{O}_6(\text{OH})_6] 5\text{H}_2\text{O} \cdot \text{UX}$) (boronatrokalsit/sulu sodyum kalsiyum borat hidroksit), yer kabuğunda ender yerlerde lokalize olmuştur. Ülkemizde Kırka, Bigadiç ve Emet yörelerinde yaygın şekilde bulunan UX, kompozit alanı, otomotiv sektörü, yalıtım, gübre ve televizyon camı endüstrisi, borik asit, boraks ve sodyum borhidrür gibi bor minerallerinin üretilmesi gibi çeşitli alanlarda kullanılmakla beraber, insan ve hayvanlarda, immün sistemi desteklemesi, antioksidan savunma sistemini teşvik etmesi, doğal terapötik ajan olarak manyetik nanopartiküllerin ve ağır metallerin neden olduğu oksidatif stresi ve genetik hasarları azaltması ve potansiyel düzenleyici ajan olması gibi özellikleri nedeniyle, çeşitli organizmalarda koruyucu amaçlı olarak da tercih edilmeye başlanan bir bileşiktir. Ayrıca, sağlık alanında optik ve manyetik rezonans görüntülemeye ve dozimetri uygulamalarında kullanılmaktadır. UX’in yüksek dozlarda kromozom hasarını ve oksidatif stresi, düşük dozlarda ise antioksidan savunma sistemini uyarak DNA hasarını ve apoptoz düzeyini azalttığı belirtilmiştir.

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünmesi ve çoğalması ile kendini gösteren, özellikle çevresel koşulların etkisiyle ortaya çıkan ve günümüzde 200’den fazla çeşidi olan kompleks bir hastalıktır. Tek bir organda başlamakla birlikte, uzaktaki organlara da yayılma (metastaz) potansiyeline sahiptir. Kanser, dünyada, kalp-damar hastalıklarından sonra, ikinci derecede ölümcül bir hastalıktır. Dünyada her altı ölümden biri kanserden kaynaklanmaktadır. Kanserde genellikle tercih edilen tedavi yöntemleri cerrahi, radyoterapi

ve kemoterapidir. Ayrıca immünoterapi, hedefe yönelik tedaviler ve hormon tedavileri de kullanılmaktadır. Bu yöntemler tek başına kullanılabilirler gibi, bazen kombine olarak da uygulanabilmektedir. En yaygın kullanılan kemoterapötiklerden olan mitomisin-C (MMC), *Streptomyces caespitosus* bakterisi tarafından doğal olarak üretilen antineoplastik bir antibiyotiktir. DNA çift sarmalında, çoğunlukla guanin ve sitozin çiftleri arasında çapraz bağlar oluşturarak, DNA sentezini ve hatta yüksek konsantrasyonlarda, RNA ve protein sentezini engelleyen, alkileyici bir ajandır. Bu nedenle özellikle kanser tedavisinde yaygın şekilde kullanılan MMC'nin, sağlıklı hücreler üzerinde de toksik ve özellikle genotoksik etkileri olabileceğine yönelik bulgular da mevcuttur. Kemoterapide yaygın şekilde kullanılan bir diğer ilaç olan metil metansülfonat (MMS), bir metansülfonat esteri olup, tek işlevli alkileyici bir ajandır. DNA'yı alkileyerek ve reaktif olmasından dolayı hasar vererek bir mutajen gibi hareket eder. DNA zincirinde depürinasyona ve/veya depirimidinyasyona ve sonuçta DNA'da baz değişimlerine neden olmaktadır. MMS'nin birçok çalışmada, kromozom hasarlarına ve hatta hücre ölümüne neden olduğu bildirilmiştir.

Reaktif oksijen türlerinden biri olan ve biyolojik sistemlerde inflamasyon ve oksidatif fosforilasyon yoluyla endojen fizyolojik süreçler sonucunda üretilen H_2O_2 , demir-II (Fe^{+2}) ve bakır-II (Cu^{+2}) gibi geçiş metallerinin varlığında, Fenton reaksiyonu ile son derece reaktif bir yapı olan hidroksil radikaline (OH) dönüşmektedir. OH radikali, DNA, lipid ve proteinler gibi hücrel makromoleküllere hızlı bir şekilde bağlanmaktadır. DNA'da pürin ve pirimidinlerin hidroksil türevlerinin (8-hidroksiguanin gibi) oluşumuna ve DNA-protein çapraz bağlarına sebep olur. Bu modifikasyonlar da sonuçta DNA'da tek ve çift zincir kırıklarına ya da diğer fonksiyonel ve yapısal değişikliklere, kısaca, genotoksik etkilere sebep olmaktadır. Bu değişimler hem immün sistemi etkileyerek inflamatuvar hastalıklara hem de kansere sebep olabilmektedir.

Gerek insanlar ve gerekse diğer tüm canlılar, yaşamları süresince birçok fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlara maruz kalmaktadır. Bu ajanlar genetik materyalde (DNA veya RNA), kromozomlarda veya gen ürünlerinin ifade şekli/düzeyinde hasar oluşturma potansiyeline sahiptir. Bu potansiyel, çeşitli genetik toksisite testleri kullanılarak tespit edilebilmektedir. Bu testler, günümüzde, ilaçların ve daha pek çok ürünün ticari olarak erişilebilir olmasından önce kullanılan ve çeşitli uluslararası kuruluşlar tarafından da kabul edilen ve önerilen testlerdir. Genetik toksisite testleri, insanlarda genotoksik, mutajenik ve kanserojenik olabilecek maddeleri tespit etmek amacıyla kullanıldığı gibi, son yıllarda, bu

maddelerin sebep olduğu hasarı azaltabilme ve/veya iyileştirebilme potansiyeli olabilecek, yani antigenotoksik/antikanserojen/kemopreventif etki gösterebilecek maddeleri/bileşikleri belirlemek amacıyla da kullanılmaktadır. Bu testlerden elde edilen veriler, bir kimyasal maddenin genotoksik veya antigenotoksik potansiyeli hakkında önemli bilgiler vermektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, bor bileşiklerinden biri olan UX'in olası genotoksik ve MMC, MMS ve H₂O₂ ile birlikte kullanıldığında, bu genotoksinlere karşı olası antigenotoksik potansiyelini ilk kez incelemektir. Bu amaca ulaşmak için, *in vitro* insan periferik lenfositlerinde kromozom anormallikleri (KA), kardeş kromatit değişimi (KKD), sitokinez blok mikronükleus sitom (CBMN-Cyt) ve komet testleri kullanılmıştır. Lenfositlerde, KA, KKD ve MN frekansındaki ve DNA hasarındaki artışlar, başta kanser olmak üzere, Alzheimer ve Huntington gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklara, kısırlığa ve erken yaşlanmaya sebep oldukları, kısaca bu artışlarla hastalıklar arasında pozitif korelasyon olduğu bilinmektedir. Diğer yandan antigenotoksik/amtimutajenik/kemopreventif maddeler, sözü edilen anormalliklerin frekansını azalttığı gibi bunlarla bağlantılı hastalıkların oluşma riskini de azaltmaktadır. Bütün bu bilgilerden dolayı, UX'in olası genotoksik ve/veya antigenotoksik potansiyelinin tespit edilmesi başta insan sağlığı olmak üzere, doğadaki tüm canlılar açısından büyük avantajlar sağlayacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bor

Periyodik tabloda 13. grup ve 2. periyotta yer alan bor (B) (atom kütlesi 10,811 g/mol), bu grubun en elektronegatif elementidir. Metalle ametal arasında yer alan borun çeşitli allotropları mevcut olup, yapısı nedeniyle diğer elementlerle kolay bir şekilde yeni bileşikler oluşturabilmektedir. Doğada farklı miktarlarda kalsiyum, sodyum veya magnezyum içeren 230'dan fazla bor minerali bilinmektedir (Hossain, 2022; EtiMaden, 2023a). Doğada hiçbir zaman serbest halde bulunmayan bor elementi, çeşitli metal veya ametallerle, farklı özellikler gösteren bileşikler oluşturduğu için, endüstrinin farklı dallarında kullanılmaktadır. Saf bor, karbon gibi iletkenlik özelliği gösterirken, kristalize bor, kırılğan, koyu ve parlak bir malzemedir. Görünüm ve optik özellikleri açısından elmasa benzer ve neredeyse elmas kadar serttir. Amorf bor ise, kahverengi bir toz yapısındadır. Bor bileşiklerinin başlıca doğal kaynakları, volkanik ve jeotermal alanlar, kaplıcalar ve fiziksel ayrışmalardır. Ayrıca B doğal olarak bazı gıdalarda da bulunmaktadır (Yiğitbaşıoğlu, 2014; Boren, 2023e). 20. yüzyılın önde gelen Amerikalı kimyacılarından biri olan ve 1979 yılında Nobel kimya ödülü alan Herbert Charles Brown, bor bileşikleri (organoboronlar) ile sentetik organik kimya alanında devrim niteliğinde bir çalışma ortaya çıkarmıştır (Purdue University, 2023).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılan açıklamada, yetişkin sağlıklı bireylerin beslenme yolu ile 1-13 mg bor tüketebileceği belirtilmiştir. Ananas, elma, armut, erik, hurma gibi meyvelerde, fasulye, nohut ve mercimek gibi sebzelerde bol miktarda bulunan bor, pastörize sütlerin içeriğinde de yoğun olarak bulunmaktadır. Yapraklı bitkiler, kuru meyveler ve sert kabuklu yemişler de çok yüksek düzeyde B içermektedir (Abdelnour ve diğerleri, 2018; EtiMaden, 2023b). Dünyada, ticari açıdan en yaygın kullanılan bor mineralleri, tinkal, kolemanit, kernit, üleksit, pandemit, borasit, szaybelit ve hidroborasittir. Türkiye, dünya bor rezervlerinin yaklaşık %73'üne (3,3 milyar ton) sahiptir ve rezerv açısından ilk sırada yer almaktadır (Çizelge 2.1). Türkiye'deki bor yatakları, Eskişehir Kırka'da, Kütahya-Emet'te, Balıkesir-Bigadiç ve Sultançayır'da ve Bursa-Kestelek'te bulunmaktadır (Ünlü, S.D. Doğan ve M. Doğan, 2014).

Çizelge 2.1. Dünya bor rezervleri (Celep, Yazıcı ve Deveci, 2022).

Ülke	Bor Tipi	Bin Metrik Ton Olarak Üretimi (2020 Yılı)
Türkiye	Rafine boratlar	2 400
Şili	Üleksit	400
Çin	Borik oksit eş değeri	250
Bolivya	Üleksit	200
Almanya	Bileşikler	120
Peru	Ham boratlar	110
Rusya	Datolit	80
Arjantin	Ham cevher	70

2.1.1. Bor bileşikleri ve sınıflandırılması

Bor ürünleri tüketimi, 2000 yılında 3,1 milyon ton iken, 2014'te 4,3; 2015'te 3,8; 2016'da 3,77 ve 2017'de ise 3,87 milyon ton düzeyine ulaşmıştır. Bor ürünlerinin %47'si cam sektöründe, %16'sı tarımda-gübre üretimde, %15'i seramik sektöründe, %2'si temizlik ve deterjan sektöründe ve %20'lik kısmı ise diğer sektörlerde tüketilmektedir (Boren, 2023d; Kim, Kim, Jiang, Kim ve Kang, 2023).

Bor mineralleri tiplerine göre, sodyum-kalsiyum boratlar (üleksit/boronatrokalsit ve probertit), sodyum boratlar (tinkal/boraks, tinkalkonit ve kernit), kalsiyum borosilikatlar (datolit, danburit ve havlit), kalsiyum boratlar (kolemanit, pandemit, nobleit, inyoit ve meyerhofferit), hidrojen boratlar (sassolit), magnezyum boratlar (hidroborasit, inderborit, szaybelit/aşarit, borasit, kurnakovit, inderit, suanit, kotoit ve pinnoit) ve diğer boratlar (kahnit, vonsenit, ludvigit, tunelit, bakerit, searlesit ve teepleit) şeklinde sınıflandırılmaktadır. Bor ürünleri, bileşiğin tipine ve kalsiyum ve sodyumun varlığına göre değişen bor oksit (B_2O_3) içeriğine göre piyasaya sürülmektedir (Elevli, Yaman ve Laratte, 2022). Ticari öneme sahip bor mineralleri Çizelge 2.2'de gösterilmiştir (Celep, Yazıcı ve Deveci, 2022; Boren, 2023b).

Çizelge 2.2. Ticari öneme sahip başlıca bor bileşikleri (Celep, Yazıcı ve Deveci, 2022; Boren, 2023b).

Mineral	Kimyasal formül	% B ₂ O ₃
Üleksit (Boronatrokalsit)	NaCaB ₅ O ₉ .8H ₂ O	43,0
Kernit (Rasorit)	Na ₂ B ₄ O ₇ .4H ₂ O	51,0
Tinkalkonit	Na ₂ B ₄ O ₇ .5H ₂ O	48,8
Tinkal (Doğal boraks)	Na ₂ B ₄ O ₇ .10H ₂ O	36,5
Probertit (Kramerit)	NaCaB ₃ O ₉ .5H ₂ O	49,6
Kolemanit	Ca ₂ B ₆ O ₁₁ .5H ₂ O	50,8
Meyerhofferit	Ca ₂ B ₆ O ₁₁ .7H ₂ O	46,7
Inyoit	Ca ₂ B ₆ O ₁₁ .13H ₂ O	37,6
Pandermit (Priseit)	CaB ₁₀ O ₁₉ .7H ₂ O	49,6
Inderit (Lesserit)	MgB ₃ O ₃ (OH) ₅ .5(H ₂ O)	37,3
Hidroborasit	CaMgB ₆ O ₁₁ .6H ₂ O	50,5
Borasit	Mg ₃ B ₇ O ₁₃ Cl	62,2
Aşarit (Szaybelit)	MgBO ₂ OH	41,4
Datolit	CaBSiO ₄ OH	24,9
Sassolit (Doğal borik asit)	H ₃ BO ₃	56,3

2.1.2. Borun kullanım alanları

Modern endüstrinin temel bileşeni olarak bilinen ve yaklaşık 250'ye yakın üründe tercih edilen bor ve bor bileşikleri, sağlık, tarım, temizlik, cam endüstrisi ve enerji alanları da dâhil birçok alanda kullanımı her geçen gün artış göstermektedir. Diğer yandan B, filogenetik çalışmalarda da bir biyobelirteç haline gelmiştir (Abdulai ve Cengiz, 2023; EtiMaden, 2023b; Nellessen ve diğerleri, 2023).

Bor, özellikle sağlık alanında, farklı uygulamalarda kullanılmaktadır. B'nin, kalsiyum metabolizması ve buna bağlı olarak kemik metabolizması için faydalı olduğu belirlenmiştir. B, kalsiyum, fosfor ve daha sonra D vitamini ile etkileşimiyle ve diğer yandan bakır, magnezyum ve benzeri elementlerin emilimini de artırmasıyla biyoyararlanımı sağlayarak, kemik gelişiminde rol oynamaktadır. Kemik büyümesini destekleyen hormonların düzenlenmesinde görev yapmakta ve böylece ağrıların azalmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca menopoz tedavisinde de tercih edilmektedir (Estevez-Fregoso ve diğerleri, 2023). Yapılan araştırmalarda, borun, memelilerde steroid hormon metabolizmasını, hücre duvarı bütünlüğünü, kemik sağlığını, östrojen ve testosteron hormonlarını düzenlediği, besinler ile alımında halsizlik ve stres oluşumunu en az seviyeye indirdiği, topikal uygulamasında da dokuların büyümesini ve yara iyileşmesini kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Gowda ve diğerleri,

2023; Marfavi, Kavianpour ve Rendina, 2022). Bor takviyesi, merkezi sinir sisteminde, bağışıklıkta ve hepatik metabolizmada olumlu etkiler oluşturmaktadır (Khaliq, Juming ve Ke-Mei, 2018).

Borat-riboz komplekslerinin oluşumu, yaşamda kritik bir bileşen olan ribonükleik asit (RNA) için önemlidir. Bor, RNA'nın önemli bir bileşeni olan ribozu stabilize etmede ve dengelemede hayati bir rol oynadığından, B alımı yaşam için temel bir gereksinimdir. Bor miktarları, büyümede ve gelişmede rol oynayan bazı maddelerin metabolizmasını ve tüketimini değiştirebilmektedir. Bu yüzden bor, öncelikle beyin, sindirim, cilt, iskelet ve bağışıklık organları olmak üzere çeşitli vücut sistemlerini etkilemektedir (Nellessen ve diğerleri, 2023).

Bor, karbon ve hidrojen içeriğine sahip olan “karboranlar”, kimyasal biyoloji veya tıpta yeni moleküler tekniklerin kullanımıyla geleneksel polisiklik organik maddelere kıyasla bir alternatif olmaktadır. Yüksek termal kararlılık, benzersiz 3 boyutlu inorganik yapı ve aromatiklik, enzimatik bozunmaya karşı direnç, peptitlerle ve dihidrojen bağlarıyla olağandışı etkileşme yeteneklerinden dolayı, yeni ilaç adayları ve biyomoleküler görüntüleme ajanları için problemlerin tasarımında önemli bir tercih haline gelmiştir (Różycka ve diğerleri, 2020; Marfavi, Kavianpour ve Rendina, 2022).

Boronik asitler ve esterler, benzoksaboroller ve azaborinler, ilaç ve kimyasal sonda tasarımında araştırılan bor türevleri arasında yer almaktadır. Özellikle, “bortezomib” (antikanser ilacı), multipl miyelomu (beyaz kan hücresi kanseri) tedavi etmek için bir proteazom inhibitörü olarak kullanılan ve ilk Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı, “bor içeren” ilaçtır. “İksazomip”, FDA tarafından, 2015’te, multipl miyelomun tedavisi için, diğer bazı ilaçlar ile kombine kullanılmak üzere geri dönüşümlü bir proteazom inhibitörü olarak onay almıştır. Diğer ilaç örnekleri tırnak mantarı tedavisi için topikal bir antifungal olan “tavaborol” ve hafif-orta derecede atopik dermatiti tedavi etmek için kullanılan “crisaborol”dür. “Vaborbaktam” ise geniş spektrumlu antibiyotik olarak kullanılmaktadır. Bor içeren diğer birkaç aday ilaç, hepatit C, insan uyku hastalığı ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisi için, klinik deneylerde değerlendirilmektedir. “Boromycin”, *Streptomyces antibioticus* tarafından üretilen, gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olan, bor içeren bir antibiyotiktir. *Plasmodium knowlesi* ve *Plasmodium falciparum*'a karşı oldukça etkili bir zoonotik ve antiplazmodiyal etkiye sahiptir. Tetrasiklinlerin aksine,

boromycin, çoklu ilaca dirençli *Plasmodium falciparum* suşları dâhil olmak üzere, düşük konsantrasyonlarda (1 nM) her iki *Plasmodium* türünün aseksüel aşamalarını hızla öldürdüğü bildirilmiştir. “Benzaksoborol”, l6sil-tRNA sentetazı baskıladığından, tırnak ve cilt enfeksiyonlarının tedavisi için topikal bir antifungal aday ilacıdır. “Akoziborol” ise protozoa enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bütün bunlar borun, çeşitli canlı gruplarında, farklı fonksiyonları ve etkileri olduğunu göstermektedir (Dibek, Babayeva, Kürkçü ve Çöl, 2020; Kumar ve Bhargava, 2022).

Bor elementinin iki boyutlu formu olan borofen, biyouyumluluk ve minimal sitotoksosite gibi avantajlı özellikleri sebebiyle, tıbbi alanda, biyo-protezlerde ve yara pansuman materyallerinde kullanım potansiyeline sahiptir. Borofen üzerine doksorubisin (antikanser ilacı) kaplaması, kanser tedavisinde başarı sağlamaktadır. Borofen, yüksek kuantum verimi ve fotostabilitesi sayesinde hücresel görüntüleme için etkili bir seçenek sunarken, elektriksel hassasiyeti nedeniyle de biyosensörlerin üretimi için mükemmel bir adaydır (Hossain, 2022). Bor ve poloksamer içerikli hidrojel, hücre göçünün uyarılması, büyüme faktörü ekspresyonu, inflamatuvar yanıt ve vaskülarizasyon gibi mekanizmalar yoluyla yanık yarasının iyileşimini desteklemektedir (Demirci ve diğerleri, 2015). Göz iltihaplarının sterilizasyonunda ve bazı merhemlerin yapımında, alerjik hastalıklar ve cilt hastalıklarında, yanık tedavisinde, bazı antidepresan ve kolesterol ilaçlarının üretiminde de kullanılmaktadır. Ayrıca, birçok organik bileşiğin sentezinde tercih edilmektedir (Güven, 2009; Yakıncı ve Kök, 2016; Purdue University, 2023).

Bor nötron yakalama yöntemi (BNYY), tümörlü hücrelerin seçilerek imha edilmesini sağlarken, çevre dokularda yer alan sağlıklı hücrelere zararının minimum düzeyde tutulmasına yardımcı olan bir radyoterapidir. Bu yöntem, tümörlerde tercihli bor birikimini ve nötron ışınlamasını birleştirerek etki göstermektedir. Biyokimyasal olarak hedeflenen bu tedavide, sadece tümör değil aynı zamanda tespit edilemeyen mikrometastazlar ve kanserli dokudaki malign transformasyon odakları da tedavi edilebilmektedir. Bu yöntem, toksik bir etki göstermeden glioblastoma multiforme (beyin tümörü), melanom, tekrarlayan baş ve boyun tümörleri, akciğer ve karaciğer metastazları, mezotelyoma (akciğer zarı kanseri) ve meme dışı Paget hastalığında terapötik etkinliğe sahiptir. BNYY, hastaların yaşam kalitesini iyileştirmekte, kısmi ve tam yanıtları tetiklemekte ve hastaların hayatta kalma süresini uzatmaktadır (Hu, Breeze, Walker, Faulques, Sloan ve Lloyd-Hughes, 2023; EtiMaden, 2023b). Yukarıda özetlenen araştırmalarda da görüldüğü üzere, canlıların yaşamlarında

gerekli bir element olduğu belirlenen bor, insan sağlığına yaptığı katkılar nedeniyle sağlık sektöründe giderek önemli bir konuma ulaşmıştır.

Bor ve bor bileşiklerinin, gıda sektöründe, 4 g/kg dozunda koruyucu olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir. Amerikan Gıda Takviyesi Veri Tabanına göre 2357 farklı gıda takviyesinde bor mevcut olup, endüstride, kalsiyum frukto borat, bor sitrat, bor aspartat, bor glisinat şelatları, bor askorbat ve sodyum borat içeren ürünlerde bulunmaktadır. Borlar, çoğunlukla kapsüllerde, efervesan tozlarda ve gıda takviyesi olarak çiğnenebilir tabletlerde artan kullanıma sahiptir. Bor, karides, erişte, pirinç ve nişasta jölesi gibi bazı gıdalarda esnekliği ve canlılığı arttırmak için kullanılmaktadır (Mutlu ve Çalıcioğlu, 2021).

Bor, besin ve gübre gibi işlevsellik göstermesi, bakterisit, herbisit ve fungusit etkisi, tohum kalitesini artırmadaki potansiyeli, yüksek verim, uygun maliyet ve bitki büyümesini tetiklemesi sebebiyle, tarımda da kullanılmaktadır (Alshebli, Salsabila, Yuzer ve Bicer, 2023). B gübresi, tozlaşmayı, meyve verimini, kaliteyi ve görünümü artırmaktadır. Özellikle üleksit ve kolemanitin, B gübresi kaynağı olarak en yaygın kullanılan cevherler olduğu bildirilmektedir (Ganie ve diğerleri, 2013; Degryse, 2017).

B, hücre duvarı ve membranların yapı ve fonksiyon bütünlüğünde, membranlar boyunca iyon akışlarında, hücre bölünmesinde ve uzamasında, azot ve karbonhidrat metabolizmasında, şeker ve hücre iskeleti proteinlerinde, plazmolemmaya bağlı enzimlerde, nükleik asitlerde, indolasetik ve askorbik asitte, poliaminlerde, fenol metabolizmasında ve taşınmasında görevlidir. Borun bu özelliklerinden dolayı, kaliteli tarım ürünleri elde etmek amacıyla yeterli B tedariği gerekli olduğu belirtilmektedir (Saleem, Khanif, Fauziah, Samsuri ve Hafeez, 2011).

Sabun, bulaşık ve çamaşır deterjanı gibi ürünlerde antiseptik özelliği olan borun, leke çıkarma işlemini kolaylaştırma ve ağartma, enzimleri stabilize etme, alkali tamponlama, suyu yumuşatma ve sürfaktan olarak kullanılan malzemenin performansını artırma niteliğinin olması, temizlik alanında tercih edilebilirliğini artırmaktadır. Kişisel bakım ürünlerinde ve dezenfektanlarda ise bakterisit ve fungusit özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir (Alshebli, Salsabila, Yüzer ve Biğer, 2023; Algrifi ve Salman, 2023).

Bor ve bor ürünlerinin, camın akışkanlığını ve yüzey gerilimini düşürme, camın termal şok direncini artırma, fiziksel ve kimyasal etkilere, ısıya, çizilmeye, kırılmaya ve darbeye karşı daha dayanıklı olma özellikleri vardır. Ek olarak, estetize çalışmalarında boyanın daha iyi tutunmasını sağlayarak, canlı ve parlak renkler elde edilmesine olanak tanımaktadır. Bu ürünler, cam ve seramik sırlamada sıklıkla tercih edilmekte olup, mutfak alanında ve bilimsel araştırma laboratuvarlarında ise borosilikat camlarda kullanılmaktadır (Acaralı ve Oktay, 2021; EtiMaden, 2023b; Koroğlu, Peksen, İnce ve Ayaş, 2023). Diğer yandan B mineralleri, ilaç sektöründe şurup, antibiyotik ve vitamin haplarını şişelemede ve şişe içecek sanayisinde de kullanılmaktadır (EtiMaden, 2023b; Kılıçoğlu ve diğerleri, 2023).

Elektronik alanında uzun yıllardır, yağlayıcı ve aşındırıcı malzeme olarak bor nitrürün çeşitli formları kullanılmaktadır. Altıgen bor nitrürün katmanlı yapısı, çok pürüzsüz yüzeylere ve düşük kusur yoğunluğuna sahip ultra ince nano tabakaların hazırlanmasına olanak tanımaktadır. Geniş optik bant aralıklarından dolayı, sabit oda sıcaklığında tek foton emisyonu göstermesiyle yeni nesil fotonikler için büyük bir potansiyel sergilemektedir. Diğer yandan hava pillerinde, bor ve azot ikili sisteminde olduğu gibi, farklı kombinasyonlardaki B'nin rolü, termodinamik bariyeri azaltmak ve içsel aktiviteyi artırarak reaksiyon kinetiğini hızlandırmaktır. Bu şekilde B, hava pillerinin performansını ve dayanıklılığını artırmasıyla nedeniyle, elektronik alanında kullanımı artmaktadır (Wang ve diğerleri, 2023; Moon ve diğerleri, 2023). Diğer yandan, özel sodyum boratlar, borik asit ve disodyum metaborat, fotoğrafçılık kimyasallarında ve sodyum borhidrür, elektronik cihazların ekran camlarında kullanılmaktadır (Kim, Kim, Jiang, Kim ve Kang, 2023).

Bor, ağırlıkça %10,8 hidrojen depolaması, yanıcı ve patlayıcı olmaması ve hidrojen verme reaksiyonunu kontrol altında tutabilmesi gibi özellikleri sayesinde enerji alanında kolay bir kullanım sunmaktadır. Hidrojen enerjisinin yüksek verimle kullanılmasını sağlayan borun, sodyum borhidrürlü yakıt pillerinin geliştirilmesinde önemli bir ham madde olduğu bildirilmektedir. Diğer yandan, sodyum borhidrür, arıtım kimyasallarında, metal yüzeylerin temizlenmesinde, değerli metal kazanılması işleminde ve atık sulardan ağır metallerin temizlenmesinde tercih edilmektedir. Sodyum borhidrür, elektronik cihazlarda, taşıtlarda ve elektrik/ısı üretim tesislerinde, askeri ve sivil amaçlı kullanılan yakıt pillerinde tercih edilen bir ürün haline gelmiştir (Yadav ve Pramanik, 2023; EtiMaden, 2023b).

Kimyasal reaksiyona girmeden, maddelerin daha kolay ve daha düzgün akmasına yardımcı olan bor nitrürün kozmetik alanında, altıgen formu kullanılmaktadır. FDA tarafından sağlanan bilgilere göre, 643 kozmetik formülasyonda bor nitrür kullanılmakta olup, sırasıyla, göz farı formülasyonlarında, koku preparatlarında ve ruj formülasyonlarında tercih edilmektedir. Ayrıca diş beyazlatma ürünlerinde de tercih edilmektedir (Klär, Palarie, Burkovski, Karl ve Grobecker-Karl, 2022; Verma ve diğerleri, 2023).

B, yüksek sıcaklıklarda düzgün, yapışkan ve koruyucu özelliğinden ve aşınmaya karşı dayanıklı, sürdürülebilir, sert bir malzeme olmasından dolayı lehimlemede tercih edilmektedir. Diğer yandan, demir-bor alaşımı olan ferrobör, çelik üretiminde çeliğin sertleştirilmesi amacıyla kullanılan bor, yüksek maliyetli malzemelerin yerine kullanılmaktadır (Durmuş ve diğerleri, 2019). Bor ve borlu ürünlerin katkısıyla, çeşitli fiziksel ve kimyasal işlemlerden geçerek elde edilen endüstriyel yağların, makine ve araçlarda, sürtünmeyi ve aşınmayı azaltmak suretiyle ömürlerinin uzamasına yardımcı olduğu bildirilmektedir. Borlu yağların yüksek ısıya dayanıklı olması hem olası aşınmayı iyileştirmekte hem de gürültü oluşumunu azaltmaktadır (EtiMaden, 2023b).

Bor ve fiber takviyeli kompozitler, askeri ve ticari uçan makinelerde kullanım alanı bulmaktadır. Bu kompozitler, çeşitli uçaklarda, dümen, kanat ve kanat altı, kuyruk kanadı ve dikey dengeleme kaplamaları gibi bölümlere uygulanmaktadır. Diğer yandan, bazı iş uçaklarında kullanılan epoksiler, uçağın temel ağırlığının %70'inden fazlasını oluşturmaktadır, bor ve fiberle güçlendirilmiş kompozitler ise bu durumu değiştirerek, nihai ağırlığın azaltılmasına imkân sağlamaktadır. Ayrıca, B takviyeli kompozitler, roket yapılarına dâhil edilerek, menzili ve aynı zamanda yük taşıma kapasitesini genişletmeye yardımcı olmaktadır (Rao ve diğerleri, 2023).

Bor bileşikleri, ahşabı güçlü ve dayanıklı bir malzemeye dönüştürerek kullanım ömrünü uzatmaktadır. Bu bileşikler, dış tabakalardan içeriye ısının iletilmesini önleyerek, yanmada gecikmeye ve sonuçta can ve mal kaybının en aza indirilmesine yardımcı olmaktadır. Bu kayıpların azaltılması sayesinde, ormanlık alanların korunmasına ve ağaç kullanımının azaltılmasına büyük katkı sağlamaktadır (Davesne ve diğerleri, 2019; EtiMaden, 2023b).

Bor bileşikleri, ısı, ses ve elektrik yalıtım özellikleri sayesinde ısı değişiminin, gürültü kirliliğinin, yalıtım arızalarının ve yetersiz termal yönetimin önüne geçilmesi

sağlanmaktadır. B içeren cam yünü, ısı ve ses yalıtımı amacıyla, duvar ve betonarmelerin iç yüzeylerinde, merdiven ve asansör boşluklarında, klima ve çatı şiltelerinde, merkezi ısıtma sistemlerinde ve müzik stüdyolarında etkin şekilde kullanılmaktadır (Altın ve Yıldırım, 2022; EtiMaden, 2023b; Wang ve diğerleri, 2023).

Borun Mars'ta fillosilikat içeren ana kayanın yakınında keşfedilmesi, Mars'taki potansiyel geçmiş prebiyotik koşullar hakkında güçlü çıkarımlar yapılmasını sağlamaktadır. Borat iyonları, fillosilikat kil minerallerini kolaylıkla absorbe etmektedir. Mars'ta dünyadaki doğal ana kaya miktarlarından daha önemli miktarda borun varlığı, prebiyotik koşulları bulma potansiyeli ve yaşam veya yaşanabilirlik belirtilerini kavrayabilmek için çok önemli olduğu rapor edilmektedir (Nellessen ve diğerleri, 2023).

2.1.3. Bora maruz kalma yolları ve bor metabolizması

Bor elementi yer kabuğunda 10 mg/kg, toprakta 5-150 mg/kg, deniz suyunda 0,5-9,6 mg/L, içme suyunda 0,1- 0,3 mg/L ve havada <0,5-80 ng/m³ oranında bulunmakla beraber, kömürde, yeraltı ve yerüstü sularında da yüksek oranda mevcuttur. Bu nedenle toprak ve su yoluyla veya topraktaki mineralleri absorbe eden bitkiler vasıtasıyla, bor ve bor bileşikleri insanlara ve diğer organizmalara ulaşmaktadır (Deliboran, 2020). Diğer yandan insanlar, kozmetik ürünleri, sabun ve deterjanlar, gübreler, pestisitler, koruyucular, vücut geliştirme takviyeleri, tekstil, cam yünü, takı, kaplama, hidrojen enerjisi depolama, cam, demir, çelik ve seramik endüstrisi gibi bazı tüketici ürünleri vasıtasıyla, ticari kullanımlar neticesinde bu minerallere maruz kalmaktadır (Uçkun, 2013; Çelikezen, Türkez, Aydın, İzgi ve Çelikezen, 2015). Dolayısıyla bor vücuda, solunum, sindirim yolları (gastrointestinal dokular) veya ağız mukozaları yoluyla girmektedir. İnsanların ve hayvanların, ilave inorganik borun tamamını emebildiği ve çoğunlukla kemiklerde biriktiği bildirilmektedir. B'nin homeostazisi ise temel olarak idrar yoluyla sağlanmaktadır. Bazı *in vitro* ve epidemiyolojik çalışmalar B'nin insan sağlığına önemli katkılar sağlayabileceğini göstermektedir (Aisha ve Çetin, 2023). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, gıda aracılığıyla bor alımı yaklaşık olarak 1,2 mg/gün şeklinde belirlenmiştir. WHO borun güvenli üst alım seviyesini ilk olarak 13 mg/gün olarak belirlemiş fakat daha sonra bu değeri artırarak 0,4 mg/kg şeklinde güncellemiştir (Deliboran, 2020). Bor konusunda yapılan çalışmalarda, insan kanındaki borik asit düzeyinin, genotoksik özellik oluşturmadığı bildirilmiştir. Bu nedenle B ve bor bileşikleri, farmakolojik ve tıbbi uygulamalarda da kullanılmaktadır (Türkez, 2008; Rao, Ande, Sinha, Kumar ve

Kumar, 2016). Sonuçta hem toprak ve su yoluyla hem de yaygın uygulamalar yoluyla, başta insanlar olmak üzere, tüm canlılar bor ve bor türevlerine doğrudan veya dolaylı şekilde maruz kalabilmektedir.

2.1.4. Borun canlılar üzerindeki etkileri

İnsan ve hayvanlar için esansiyel olduğu bildirilen B'nin algler, bakteriler ve bitkiler için de biyolojik, metabolik ve fizyolojik süreçlerde birçok yararlı fonksiyonu olduğu rapor edilmiştir (Abdelnour ve diğerleri, 2018). Borun, mikroorganizmaların fizyolojik ve metabolik aktivitelerinde de önemli rolleri bulunmaktadır. *Bacillus boroniphilus*, büyümek için bora ihtiyaç duyan bir bakteridir. *Frankia* cinsinin heterosistöz siyanobakterileri ve aktinomisetleri, *Azotobacter* ler büyüme ve azot fiksasyonu için bora ihtiyaç duymaktadır. B, kahverengi algler gibi alt ökaryotlar ve tek hücreli bir ökaryot olan *Saccharomyces cerevisiae* nin büyümesi için de gereklidir. Bor eksikliğinde maya hücrelerinin bölünemediği, ortama tekrar bor eklendiğinde hücrelerin normal şekilde çoğaldığı bildirilmiştir. Diğer yandan, ortamda bor seviyesi normalden fazla olduğunda, bu hücrelerin iyi büyüyemedikleri de rapor edilmiştir (Uluışık, Karakaya ve Koç, 2018).

B, bitkilerde sulama sularından emilmektedir. B eksikliği ile toksisitesi arasındaki fark çok küçük olduğu için bu minerale maruz kalınan konsantrasyon oldukça önemlidir. Düşük dozlardaki maruziyet fayda sağlarken, yüksek dozlar toksisiteye yol açabilmektedir. Sulama suyundaki güvenli bor konsantrasyonu, hassas bitkiler için 0,3 mg/L, yarı toleranslı bitkiler için 1-2 mg/L ve toleranslı bitkiler için ise 2-4 mg/L'dir. Uygun bor seviyesi organizmalar için faydalı olurken, fazla bor alımı ise bitkisel dokularda birikerek, bor içeren gıda ve su tüketen bireyler için bazı sağlık riskleri oluşturabilmektedir. Sulama suyundaki 1 mg/L'yi aşan bor seviyelerinin, avokado ve turuncgiller gibi hassas mahsullerin üretimini azaltabileceği bildirilmektedir. Bu nedenle B'nin toksik olmayan konsantrasyonlarının belirlenmesi canlılar açısından büyük önem taşımaktadır (N.I. Kim ve K.C. Kim, 2023).

Bor, hayvan ve insan sağlığının korunmasında ve beslenme bozukluklarının önlenmesinde hayati bir rol oynamaktadır. Bor eksikliği ile bağışıklık sisteminin düşmesi, osteoporoz ve ölüm riski arasında bir bağlantı olduğu bildirilmiştir. Sıçanlarda B desteği, serum alanin aminotransferaz (ALT), serum trigliserit, HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) ve LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) kolesterol ve alanin transaminaz düzeylerini düşürmektedir.

Bu durum B'nin karaciğer sağlığını geliştirmede önemli rol oynadığını ifade etmektedir. Ayrıca diyet ile bor alımı, besin sindirilebilirliğini ve büyümeyi de iyileştirmektedir. Bütün bunların tersine, fazla bor düzeyi insanlarda ve farklı hayvan türlerinde hücre hasarına ve toksisiteye neden olmaktadır (Abdelnour ve diğerleri, 2018).

Borun, çok sayıda mineral ve enerji üretiminde ve/veya hücresel metabolizmada görev yapan en az 26 farklı enzim metabolizması üzerinde hayati düzeyde etkisi mevcuttur. B, dolaylı olarak kalsiyum ve fosfor emilimini artırarak magnezyum metabolizmasını düzenlemektedir. Toksik radyoaktif elementlerin vücuda alınmasını engelleyerek, onların hücre dışına taşınmasına yardım etmekte ve ağır metallerin detoksifikasyonunu sağlamaktadır. Vücutta östradiol ve testosteron seviyelerini de artırdığı ve üremeyi etkilediği rapor edilmiştir (Abdelnour ve diğerleri, 2018). B, ayrıca hücre çoğalmasında da korumaktadır. DNA hasarını ve yüksek sıcaklık koşullarında stresi hafifleterek hücre duvarı ve hücre zarı stabilitesinin korunmasına katkıda bulunmaktadır. B'nin çeşitli fizyolojik işlevlerde, özellikle de bağışıklık ve antioksidan savunma mekanizmalarının geliştirilmesinde önemli rol oynadığı ifade edilmektedir. Besi hayvanlarında borun diyetle dâhil edilmesi, interferon gama ve tümör nekroz faktörü düzeylerini artırarak bağışıklık sisteminin güçlendirilmesine yol açtığı belirtilmiştir. B alımının, çeşitli organizmalarda T hücrelerinin çoğalması ve doğal öldürücü (NK) hücre fonksiyonunun artırılması dâhil olmak üzere immün sistemi belirgin şekilde uyarıcı etkisi olduğu ileri sürülmektedir (Uluişik, Karakaya ve Koç, 2018).

2.2. Üleksit

Adını Alman kimyager Georg Ludwig Ulex'ten alan üleksit (UX) ($\text{NaCa} [\text{B}_5\text{O}_6(\text{OH})_6] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), sulu sodyum kalsiyum borat hidroksit veya boronatrokalsit adıyla bilinmektedir. Beş bor atomuna sahip olduğundan pentaborat grubuna aittir (Acaralı ve Oktay, 2021). UX, %40,55 oranında B, %12,3 oranında CaO ve %5,92 düzeyinde Na_2O içermektedir (Kalita, Kaya-Keleş, Çakal, Meriç ve Polymeris, 2021). UX, doğada saf halde çıkarılan, beyaz, şeffaf, camsı, ipeksi ve saten parlaklığı olan, masif, karnabahar, lifsel, koni, rozet, pamuk yumağı ve çubuk görünümlerine sahip bir bileşiktir (Abdulai ve Cengiz, 2023; Boren, 2023b). Yerkabuğunda ender yerlerde lokalize olan UX, ülkemizde Bigadiç, Kırka ve Emet bölgesinde, dünyada ise Arjantin'de yaygındır. Ticari açıdan en önemli bor minerallerinden olan UX, çeşitli ürünlerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Alak ve diğerleri,

2020; Alak ve diğerkleri, 2021). UX'in fiziksel özellikleri Çizelge 2.3'te listelenmiştir (Uçar, Çalık, Emre ve Akkurt, 2021; PubChem, 2023a).

Çizelge 2.3. Üleksitin fiziksel özellikleri (Uçar vd., 2021; PubChem, 2023a).

Kimyasal formülü	$\text{NaCaB}_5\text{O}_6(\text{OH})6.5\text{H}_2\text{O}$
Molekül ağırlığı (g/mol)	405,23
Renk, Şeffaflık	Renksizden beyaza, Şeffaf
Erime (°C)	2 190
Kaynama (°C)	2 250
Su soğurumu (%)	24,2
Özgül ağırlık (g/mL)	1,97
Yoğunluk(g/cm ³)	2,13
Isı kapasitesi (J/g°C)	25,1
Yüzey gerilimi (mN/m)	68,64
Sertlik skalası	2,5
Kristal verisi	Triklinik
Optik özellikler	Çift eksenli (+)
Ultraviyole floresansı	Sarı, yeşilimsi sarı, krem, beyaz
Karakteristik	Paralel lifli kütleler, fiber optik ışık boruları görevi görebilir

2.2.1. Üleksitin kullanım alanları

UX, kaliteli ve sürdürülebilir ürünlere dönüştürülebilme potansiyeli nedeniyle kullanılan, mineral bakımından oldukça zengin ve önemli bir bor bileşiğidir. UX, kompozitlerde, otomotiv alanında ve çeşitli endüstriyel uygulamalarda yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yalıtımda, optik ve dozimetri alanında, gübre, kâğıt, cam, seramik ve takı endüstrisinde de kullanılan UX, bazı bor minerallerinin üretiminde de önemli rol oynamaktadır (Yanen, Dağ ve Aydoğmuş, 2022; Yıldırım ve Al-Mashhadani, 2023). UX, dolgu maddesi olarak epoksi kompozitlerde, nötron soğurma kapasitesini artırmak ve maliyeti düşürmek için polipropilen kompozitlerde, yoğunluğu, sertliği, aktivasyon enerjisi ve ısı iletkenlik katsayısını artırması nedeniyle polyester kompozitlerde kullanılmaktadır (Yanen, Dağ ve Aydoğmuş, 2022). UX, uygulandığı yerde sertliği artırma, ısıya ve aşınmaya karşı dayanıklılığı güçlendirme özelliklerinden dolayı, fren balatası formülasyonlarında yer almaktadır. Diğer yandan,

sürtünme katsayısı düşük olması nedeniyle, otomotiv fren balataları ve fren sürtünme malzemelerinde tercih edilmektedir (I. Sugözü, Mutlu ve K. B. Sugözü, 2018).

UX karbonat çözeltisinde çözündüğünde yan ürün olarak kalsiyum karbonat oluşur. Bu yan ürün, kâğıt hamuru ve kâğıt endüstrisinde büyük miktarlarda kâğıt dolgu maddesi olarak ve gelişmiş basılabilirlik özelliği sağlayarak, kâğıt kaplaması uygulamalarında kullanılmaktadır. UX'ten elde edilen seramik kâğıdı, bağlayıcı olarak kullanılan diğer maddelere kıyasla, daha az esnek olmasına rağmen, daha güçlü etki gösterdiği için tercih edilme olasılığını artırmaktadır (Leonardi, Zanuttini, Miró ve Milt, 2017).

UX'in kristal yapısal gruplarından biri olan potasyum dikromat, çeşitli laboratuvar uygulamalarında ve endüstriyel uygulamalarda, en yaygın kullanılan oksitleyici inorganik bir reaktandır. Bu madde, camlarda organik dekoratif kaplamalara hidrofobiklik, kolay kuruma, çapraz kesim, görsellik ve termallik özellikleri kazandırması nedeniyle tercih edilmektedir (Acaralı ve Oktay, 2021). Isıya dayanıklılığı artırma ve aşınmaya karşı dayanıklılık ve sertlik oluşturma özelliğinden dolayı cam üretiminde kullanılmaktadır (I. Sugözü, Mutlu ve K. B. Sugözü, 2018). UX, düşük maliyete sahip olduğu için, vitrifiye karo üretiminde, maliyeti yüksek kiler yerine kullanılabilmekte, kolay öğütülebilme, karo kalınlığı ve basıncını azaltma ve akışkanlık potansiyeli sayesinde, ateşleme sıcaklığını düşürerek malzemelerin kullanım ömrünü artırmaktadır (Somany ve diğerleri, 2014). Diğer yandan, gözenekli yapıya sahip olan UX, absorpsiyon özelliği sayesinde metil oranjin sulu çözeltilerden uzaklaştırılmasında da tercih edilmektedir (Hacıosmanoğlu, Genç ve Can, 2021). Epoksi reçineler gibi çeşitli polimerlerde, sinerjistik etkilerinden dolayı, tek başına veya ticari alev geciktiricilerle birlikte alev geciktirici olarak kullanılabilir (Ünlü, S.D. Doğan ve M. Doğan, 2014).

UX, kararlı bir yapıya sahip olduğundan, ısı, ses ve radyasyon yalıtımında ve koruyucu betonlarda yaygın şekilde kullanılmaktadır. UX, sahip olduğu kristal fiberlerinden her birinin, fiber optik kablolar gibi davranması nedeniyle, ışığı bir yüzeyden diğerine iletmektedir. Bu nedenle "Televizyon Taşı/Kayası/Camı" olarak da bilinmektedir. Yansıtıcı özellik gösteren UX, elyaf yönüne dik olarak cilalanırsa, levhanın alt kısmından yukarıya doğru bir görüntü iletmektedir. Bu özelliği, takılarda estetik görünüm sergilediğinden kullanım sıklığını artırmaktadır (Canımurbey, 2020; Comboni ve diğerleri, 2021; Karshoğlu, Onur ve Balaban, 2022; International Gem Society, 2023).

Suda kolayca çözünen B gübrelerinin aksine, UX içeren Nano-Borun etkisi yavaş olup, uzun süreli etkili olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle, Nano-B, B toksisitesine duyarlı bitkiler için daha güvenli şekilde kullanılmaktadır. Mahsul verimliliğini artırmak, çevre sorunlarını azaltmak, tarımda ve çevrede sürdürülebilirliği artırmak amacıyla, yeni teknolojilerden yararlanarak yenilikçi ve bor içeren etkili gübreler geliştirilmiştir (Helvacı, 2015; Dameto, Moraes ve Moreira, 2023).

UX, benzersiz elektrik alan gradyan elemanı olmasından dolayı, elektron yoğunluğunu B-O bağında iletme özelliğiyle, nükleer manyetik rezonans görüntülemeye de tercih edilmektedir (Zhou ve diğerleri, 2016). UX'in, hayvan beslemede antioksidan özelliği bulunduğu, doğal ve potansiyel düzenleyici terapötik bir ajan olmasından dolayı antioksidan savunma sistemini teşvik ettiği ve böylece oksidatif stresi azalttığı için, çeşitli organizmalarda koruyucu yönde katkı sağladığı da rapor edilmiştir (Türkez ve diğerleri, 2012; Acaralı ve Oktay, 2021; Alak ve diğerleri, 2021; Uçar ve diğerleri, 2022; EtiMaden, 2023c). UX, manyetik nanopartiküllerin ve ağır metallerin neden olduğu oksidatif stresi azaltarak, bunlara karşı karşı koruma sağlayan bir bileşiktir (Türkez ve diğerleri, 2012; Alak ve diğerleri, 2021).

2.3. Genotoksisite ve Antigenotoksisite

Genetik toksikoloji, DNA'da, proteinlerde veya kromozomlarda hasara sebep olan fiziksel, kimyasal veya biyolojik etmenleri/genotoksinleri ve bu genotoksinlerin hasar oluşturma mekanizmalarını araştıran bir bilim dalıdır (Yüzbaşıoğlu, Avuloğlu-Yılmaz ve Ünal, 2016). Genotoksinler/genotoksik ajanlar, başta insanlar olmak üzere, doğadaki tüm organizmaların hatta mikroorganizmaların/bakterilerin DNA'sında ve kromozomunda mutasyonlara ve çeşitli anormalliklere sebep olabilmektedir. Genotoksinler, insanda başta kanser olmak üzere Alzheimer, Huntington, Parkinson ve ataksi gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklara, infertiliteye ve kardiyovasküler hastalıklara sebep oldukları gibi, erken yaşlanma ve metabolik sendromlar dâhil diğer bazı hastalıkların başlamasında ve ilerlemesinde de etkilidir (Yıldız, 2021).

Genotoksik ajanların oluşturduğu/oluşturabileceği hasarları engelleme veya iyileştirme potansiyeline sahip olan ajanlar ile bu ajanların antigenotoksik/antimutajenik/koruyucu/iyileştirici potansiyeli ve bu potansiyelin mekanizmasını inceleyen çalışma alanı

da antigenotoksisite olarak adlandırılmaktadır (López-Romero ve diğerleri, 2018). Yapılan araştırmalar, bazı antigenotoksik ajanların günlük alımının kanseri ve diğer bazı hastalıkları azaltma ve hatta önleme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu nedenle son yıllarda, antigenotoksik/antimutajenik/koruyucu/iyileştirici potansiyellerinin ortaya çıkarılması amacıyla, çeşitli vitaminler, bitki ekstraktları ve doğal toprak bileşikleri üzerinde detaylı araştırmalar büyük bir merakla yürütülmektedir.

2.3.1. Genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmalarında kullanılan testler

Genetik değişikliklere neden olan fiziksel ve kimyasal ajanların belirlenmesinde kullanılan genotoksisite testleri, gen, DNA ve kromozom yapılarında mutasyonlara/anormalliklere sebep olan (mutajenleri, klastojenleri) ve kromozom sayısında anormalliklere sebep olan ajanları (anöjenleri) belirlemek için kullanılan, uluslararası düzenleyici kuruluşlar tarafından da kılavuzları yayınlanmış olan testlerdir. Bu testler kullanılarak, somatik ve/veya gametik hücrelerde hasara sebep olabilecek ajanların genotoksik değerlendirmeleri yapılmaktadır.

Mutajenite, bir maddenin, DNA'yı ve/veya kromozom sayısını veya yapısını değiştiren ve sonraki hücre nesillerine aktarılabilen, geri dönüşü olmayan bir olay olan genetik mutasyonu tetikleme yeteneğini ifade etmektedir.

DNA veya kromozom düzeyinde oluşan anormallikler veya mutasyonlar somatik hücrelerde kansere kadar varabilen hastalıklara neden olabilirken, germ hücrelerindeki mutasyonlar ise gelecek nesillere aktarılma riski taşımaktadır. Normal koşullarda, DNA ve kromozom hasarları, DNA onarım mekanizmaları tarafından onarılıp tersine çevrilmektedir. Bu durumda kalıcı değişiklikler ortaya çıkmaz. Ancak somatik hücrelerde DNA ve kromozom hasarlarının yeterli düzeyde onarılamaması ve birikmesi, bazı dejeneratif hastalıkların ortaya çıkma riskini de artırmaktadır. Buna ilaveten, DNA ve kromozom hasarlarının birikmesi, somatik hücrelerde yaşlanmanın hızlanmasını, bağışıklığın bozulmasını, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli dejeneratif hastalıkların gelişmesini tetiklerken, germ hücrelerinde spontan düşüklere, kısırılığa, malformasyon veya yavrularda kalıtsal mutasyonlara sebep olmaktadır. Genetik toksisitede kullanılan testler, aynı zamanda DNA ipliğindeki kırılmaları ve DNA eklenti oluşumu gibi mutasyonların dolaylı kanıtlarının değerlendirilmesine de yardımcı olmaktadır.

Bir fiziksel veya kimyasal maddenin genetik risklerini değerlendirmek amacıyla kullanılan testler, o maddenin bütün etki mekanizmaları hakkında yeterli bilgi sağlayamaz. Bu nedenle, çeşitli ajanların genotoksik risklerinin değerlendirilmesinde, çoklu testlerden oluşan kombinasyonlar kullanılmaktadır. Genetik toksisiteyi belirlemek amacıyla kullanılan bütün testler, aynı zamanda, bazı vitaminlerin, bitki sekonder metabolitlerinin veya bazı doğal bileşiklerin antigenotoksik/antimutajenik/kemopreventif/koruyucu/iyileştirici etkileri hakkında da bilgiler vermektedir. Genetik hasarların frekansındaki anlamlı düşüşler, kullanılan belli bir bileşiğin antigenotoksik potansiyelinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Günümüzde genotoksik, mutajenik ve antigenotoksik veya antimutajenik analizler, terapötik ilaçların, kozmetiklerin, tarım kimyasallarının, endüstriyel bileşiklerin, gıda katkı maddelerinin ve nanopartiküllerin, zararlı veya faydalı potansiyellerinin belirlenmesinde önemli role sahiptir (Ünal, Taner, Yüzbaşıoğlu ve Yılmaz, 2013; Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014; Türkez, Arslan ve Özdemir, 2017; Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2020; Luan ve Honma, 2022).

Kromozom anormallikleri testi

Kromozom anormallikleri (KA) testi, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda, çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanların etkisiyle oluşan, kromozom sayısı veya yapısındaki anormallikleri tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu test ayrıca, genomik kararsızlığın ve kanserin biyolojik göstergesi olarak da kabul edilmektedir (Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014; Halıcı, Seyrek, Aykan, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021). KA testinde, metafaz evresindeki kromozomlar incelenmektedir. Metafaz evresi, kromozomların en görünür hali olduğu için, hücre kültürüne mitozu durdurmak amacıyla iğ ipliği inhibitörü olan kolkisin ilave edilir ve böylece hücrelerin metafaz evresinde kalması sağlanırken, anafaz evresine geçişler engellenmektedir. Bu da çok sayıda hücrenin analiz edilebilmesine imkân sağlamaktadır (Djoković, Janković, Milovanović ve Bulat, 2023).

Çevresel ajanların etki şekline göre, insan lenfositlerinde kromatit ve kromozom kırığı, disentrik kromozom, fragment, kromatit değişimi, kardeş kromatitlerde birleşme ve halka kromozom şeklinde yapısal, poliploidi ve endoreduplikasyon şeklinde sayısal anormallikler meydana gelebilmektedir. Yapısal anormallikler, kromozomun yeniden düzenlenmesiyle ortaya çıkmaktadır. Çoğu yapısal anormallik, kromozomlar arasındaki eşit olmayan değişimden veya kromozomların kırılıp normal olmayan bir biçimde tekrar birleşmesinden

kaynaklanmaktadır. Sayısal kromozom anormallikleri ise, normal diploid sayıdan farklı olan kromozomal anormallikleri içermektedir. Tek bir kromozomun eksikliği veya fazlalığı şeklinde olabileceği gibi, bütün bir haploid kromozom setinin eksikliği veya fazlalığı şeklinde de ortaya çıkabilmektedir (Karkucak, 2016; Halıcı, Seyrek, Aykan, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021; Abdel-Khalek, Al-Quraishy ve Abdel-Gaber, 2021; Di Giampaolo ve diğerleri, 2021).

DNA’da hasar oluşturan maddelere maruz kalan kişilerde, dolaşımdaki lenfositlerde, kromozomal anormalliklerde meydana gelen artışlar, genellikle artmış kanser insidansının bir göstergesi olarak düşünülmektedir. Gerçekleştirilen çalışmalarda, periferik lenfositlerde kromozom anormallikleri sıklığı, hem genotoksik maddelere maruz kalmanın erken etkilerini gösterirken hem de kansere bireysel bir duyarlılığı meydana getirerek insanlarda kanser oluşumu riskine karşı bir önlem imkânı sunmaktadır. Diğer yandan, KA testi sonucunda gözlenen kromozom hasarı düzeyinin anlamlı düzeyde azalması, söz konusu kimyasalın etkisi sonucunda ortaya çıkan antigenotoksik/antimutajenik/antikanserojen/iyileştirici/koruyucu potansiyelini ortaya koymaktadır. KA testi OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) kılavuzlarında “Test Yönergesi 473” şeklinde yer almaktadır (Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014; OECD, 2023a; Erikel, 2021).

Kardeş kromatit değişimi testi

Kardeş kromatit değişimi (KKD) testi, önceki sentez evresinde replike olmuş metafaz kromozomundaki iki kromatitin belli yerlerde kırılması ve takiben karşılıklı yer değiştirmesi-birleşmesi sonucunda ortaya çıkan kromozom bölgelerinin incelenmesine olanak sağlayan bir yöntemdir. KKD testinde DNA kırıklarını tespit edilebilir bir hale getirmek için, kültür ortamına timin analogu olan Bromodeoksiüridin (BrdU) eklenmektedir. Herhangi bir maddenin KKD frekansında artış/azalışa sebep olması, o maddenin replikasyon mekanizmasını etkileyerek, DNA hasarı oluşturabildiğini/iyileştirebildiğini ifade etmektedir. Çeşitli ajanların mutajenik ve karsinojenik etkilerinin araştırılmasında ve kardeş kromatitler arasındaki fiziksel DNA değişiminin görsel olarak tespit edilmesinde avantaj sağlamaktadır. KKD sayısı, Bloom sendromu, kseroderma pigmentosum (genetik hastalıklar) ve Behçet sendromunda (kronik inflamatuvar hastalık), akut lösemilerde ve fankoni anemisi gibi hastalıklarda veya tümör hücrelerinde artış gösterdiği bilinmektedir (Fan ve diğerleri, 2007; Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014;

Mourelatos, 2016; Tumini ve Aguilera, 2021). Ayrıca KKD testi ile, sitotoksitenin göstergesi olan replikasyon indeksi (Rİ) ve mitotik indeks (Mİ) değerleri de tespit edilebilmektedir (Erikel, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2023). Memeli hücrelerinde *in vitro* KKD testi, 2014 yılında OECD kılavuzlarından çıkarılmakla beraber genetik toksikoloji çalışmalarda tamamlayıcı test olması ve nicel ve nitel sonuçlar vermesi nedeniyle, hâlâ diğer testlerle birlikte kullanılmaya devam edilmektedir (Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2020; Özer, 2023).

Sitokinez blok mikronükleus sitom testi

Sitokinez Blok Mikronükleus Sitom (CBMN-Cyt) testi, fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanların klastojenik (kromozom kırılması) ve anöjenik (kromozom kaybı) potansiyelini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Mikronükleus (MN), bir hücrede, ana çekirdekten ayrı olan küçük çekirdeklerdir. MN'ler, ya sentromeri olmayan (asentrik) kromozom fragmentlerinden veya anafaz esnasında kutuplara ulaşamayan, ana çekirdeğe dahil olamayan bütün bir kromozomdan oluşmaktadır. MN oluşumu, mitoz ve hücre döngüsündeki kontrol noktalarında görevli genlerdeki ve ürünlerindeki hasarlardan, DNA onarım enzimlerindeki hasarlardan veya DNA kırıklarının yanlış onarımından kaynaklanabilir. Bu testte, hücre kültürüne, sitokinezi bloke etmek üzere aktin polimeraz inhibitörü olarak bilinen sitokalsin B (Cyt-B) eklenmektedir. Bu uygulama sayesinde çekirdek bölünmesini (karyokinez) tamamlamış fakat sitoplazma bölünmesini (sitokinez) tamamlayamamış iki çekirdekli (binükleat) hücreler elde edilmektedir. Böylece, eklenen ajanın varlığında bir kez hücre bölünmesi geçirmiş olan iki çekirdekli hücrelerdeki MN oluşumlarının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Bu test ile hem mikronükleus (MN) frekansını hem diğer anormallikler olan nükleoplazmik köprü, nükleer tomurcuk, apoptotik ve nekrotik hücrelerin frekansını ve hem de hücre proliferasyonunu (mono-, bi- ve multi-nükleatlı hücrelerin frekansı) belirlemek mümkündür (Fenech, 2007; Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014). Bu test OECD kılavuzlarında “Test Yönergesi 487” olarak yayınlanmıştır (OECD, 2023b).

Hücrede mikronükleus oluşumu, mitoz sırasında yapısal ve/veya sayısal kromozom anormalliklerini ve hatalı kromozom ayrışmasını gösterirken, nükleoplazmik köprüler (NPK), disentrik kromozomların, anafazda, sentromer bölgelerinden karşılıklı kutuplara çekilmesi sırasında oluşan anafaz köprüsünden köken almaktadır. Bu köprü anafazda

kırılmazsa, çekirdek zarı, yavru çekirdekleri ve anafaz köprüsünü kapsayacak şekilde yani NPK oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Nükleer tomurcuklar (NT), çekirdek bölünmesinden sonra, sitoplazmada boşlukta kalan genellikle interstisiyal asentrik kromozom fragmentleri veya terminal kromozom fragmentlerinin DNA'sının muhtemelen çekirdek zarıyla sarılmasıyla oluşan veya çekirdek dışına doğru itilmiş-fışkırmış amplifiye olmuş DNA'yı göstermektedir (Fenech, 2020). CBMN-Cyt, hücre bölünmesi sırasında ortaya çıkan kromozom anormalliklerini, genomik mutasyonları, hücreyi öldürmeksizin büyümesini engelleyici (sitostatik) etkiyi ve hücre fonksiyonunu durduran ya da hücreyi öldüren (sitotoksik) etkileri analiz etmede avantajlı bir yöntemdir (Franzke, Schwingshackl ve Wagner, 2020). Ayrıca mutajenik ve/veya anöjenik etkilerin saptanmasında hızlı ve güvenilir bir test olarak kabul görmektedir (Avuloğlu-Yılmaz, 2018; Dimici, 2020; Fenech ve diğerleri, 2011; Yüzbaşıoğlu ve Avuloğlu-Yılmaz, 2022:219).

Kimyasalların genotoksisitesinin incelendiği çalışmalarda, insan periferik lenfositlerinde MN, NPK ve NT'lerin ve diğer nükleer anormalliklerin frekansındaki artış ile kanser sıklığı arasında pozitif bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle bu anormallikler, kanserde sıklıkla görülen genotoksik olayların ve kromozomal instabilitenin biyobelirteçleri olarak kabul edilmektedir (Bonassi, El-Zein, Bolognesi ve Fenech, 2011; Ennaceur, 2017; Raj ve Rajitha, 2023).

Komet testi

Kuyruklu yıldız veya tek hücre jel elektroforezi olarak da bilinen komet testi, çeşitli fiziksel ve kimyasal maddelerin etkisiyle DNA'da meydana gelen tek ve çift zincir kırıklarını, alkali hassas bölgeleri, oksitlenmiş bazları ve DNA onarımının düzeyini belirlemektedir. Bu testte DNA hasarı, negatif yüklü DNA fragmentlerinin agaroz jel içerisinde artı kutba doğru elektriksel göçüne dayanarak belirlenmektedir. Komet testi çok hassas olup, çok az düzeydeki DNA hasarları bile ayırt edebilmektedir. Bu test aynı zamanda, hızlı ve güvenilir bir testtir (Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014; Halıcı, Seyrek, Aykan, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021; Ünal, Saygılı ve Akbaş, 2022:313).

Komet testi, insan biyo-izleme çalışmaları, genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmaları, eko-genotoksisite, nanomateryal genotoksisitenin değerlendirilmesi, moleküler epidemiyoloji, spermatozoidler ve mezenkimal kök hücrede DNA bütünlüğünün

değerlendirilmesi ve kanser gibi farklı alanlarda başarıyla kullanılmaktadır (Halıcı, Seyrek, Aykan, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021). Bu test OECD kılavuzlarında “Test Yönergesi 489” olarak yayınlanmıştır (OECD, 2023c, Ünal, Saygılı ve Akbaş, 2022:313).

Bütün bu testlerde gözlenen anormallikler, kanserin biyobelirteci olarak önemli rol oynamaktadır. Yapılan araştırmalarda, kromozomal anormalliklerin, kardeş kromatit değişimlerinin, mikronükleus oluşumlarının ve DNA hasarlarının kanserli hücrelerdeki insidansının arttığı belirlenmiştir. Diğer yandan, DNA veya kromozom düzeyindeki hasarların, çeşitli kimyasallar ile azaltılabildiği ve böylece kanser ve/veya diğer hastalıkların oluşma riskinin de azaltılabileceğine yönelik araştırmalar da mevcuttur. Özellikle insan lenfositlerinin sıklıkla kullanıldığı ve yukarıda adı geçen testler için önerilen protokoller, Ekonomik İş Birliği ve Kalkınma Teşkilatı (Organisation for Economic Co-operation and Development- OECD) yönergelerinde mevcuttur (OECD, 2023). Memeli hücrelerinde *in vitro* kardeş kromatit değişimi testi OECD yönergelerinden çıkarılmış olmasına rağmen, genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmalarında hala kullanılmaktadır. Bütün bu sebeplerden dolayı, bu testlerin birlikte uygulanması, kimyasalların genotoksik ve aynı zamanda antigenotoksik potansiyellerinin belirlenmesine imkân sağlaması nedeniyle, başta insan sağlığı olmak üzere, tüm canlıların yararı açısından büyük önem taşımaktadır.

2.4. Kanser

Kanser, somatik hücrelerdeki mutasyonlardan kaynaklanan ve 100’den fazla çeşidi olan genetik bir hastalıktır. DNA veya kromozomlardaki mutasyonlar, kendiliğinden oluşabileceği gibi, çeşitli endojen ve ekzojen kaynaklardan da oluşabilmektedir. Ökaryotik organizmalarda somatik hücrelerdeki genetik hasar maligniteye yol açabilirken, germ hücrelerindeki hasarlar üremeyi olumsuz yönde etkileyebilir veya kalıtsal mutasyonlara neden olabilir. Bir bileşiğin genotoksisitesinin araştırılması, o bileşiğin mutajenik ve sonuçta kanserojenlik potansiyelinin ve mekanizmasının değerlendirilmesi açısından da oldukça önemlidir (Phillips ve Arlt, 2009).

Kanser, vücuttaki bazı anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyüme, normal sınırların dışına çıkarak etrafı istila etme ve hatta vücudun diğer bölgelerine yayılabilme (metastaz) potansiyeli olan bir hastalıktır. Normalde hücreler kontrollü bir şekilde büyür ve çoğalır, ancak bazen hücreler anormal bir şekilde çoğalabilmektedir. Trilyonlarca hücreden oluşan

insan vücudunun hemen hemen her organında veya dokusunda başlayabilen kanser, geniş bir hastalık grubu olup, dünya çapında ikinci derecede ölüm nedeni olarak bilinmektedir (Xiao, Yang, Jin, Lin, Zhang, S. Huang ve Z. Huang, 2022; Ulusal Kanser Enstitüsü [NCI], 2023; Cancer Council, 2023).

Kanserin gelişimi, genellikle uzun yıllar ila birkaç on yıl süren, yavaş ve aşamalı bir süreçtir. Bu süreç, yetişkin bir kök hücrede, bölünmeyi kontrol eden genlerdeki bir mutasyonla başlamaktadır. Mutasyon geçiren bu ilk hücre, bölünmeye teşvik edildiğinde bir klon haline gelerek, bu sürecin ilk adımı atılmaktadır. Bu ilk mutasyon, hücreleri yeni mutasyonlar için daha duyarlı hale getirmektedir. Bu şekilde devam eden mutasyonlar, kanser gelişiminin ilerleme adı verilen uzun süreli bir aşamasını oluşturmaktadır (Compton, 2020).

Tümörler iyi huylu (benign) ve kötü huylu (malign) olmak üzere 2 şekilde sınıflandırılmaktadır. Tümör, kelimenin tam anlamıyla "şişme" veya "kitle" anlamına gelir. Bu durumda, vücudun fizyolojik işlevinde, bilinen bir amacı olmayan, yapılandırılmamış, yeni hücre kütlelerini ifade etmektedir. İyi huylu bir tümör, anormal şekilde büyümeye devam edebilmesine rağmen, vücudun diğer ilgisiz dokularını veya organlarını istila etmemiştir. Diğer yandan kötü huylu tümörler, hızlı büyürler ve etrafındaki normal dokulara yayılarak istila ederek onların fonksiyon göstermesini de engellerler. Hızlı çoğaldıklarından besinlerini hızlı şekilde tüketirler, bu nedenle beslenmeleri için gerekli olan maddeleri sağlıklı hücrelerden, onların mitokondrilerinden çalarak ayakta kalırlar. Bazı tipleri hayatı ciddi şekilde tehdit ederler (Ulusal Kanser Enstitüsü [NCI], 2023).

Kanser hücreleri, büyüdükçe şekil ve işlev açısından mutasyona dayalı değişiklikler kazanmaktadır. Kötü huylu bir tümör, dolaşım sistemi boyunca, bazal membranı ve vücudun diğer kısımlarını istila eden veya yayılan hücrelerden oluşur. Bu, doğrudan komşu organlara ve/veya dokulara yayılarak, lenfatik yollarla bölgesel drenaj yapan lenf düğümlerine geçmekte veya kan yoluyla uzak organ ve dokulara taşınmaktadır. Bu hücreler, yeni bölgedeki dokuyu istila ederek yok etmeye devam eden yeni neoplastik hücre kolonileri oluşturur ve vücudun diğer bölgelerine yerleşerek ikincil bir kanser veya metastaz oluşturabilmektedir. Kanser vücudun uzak bölgelerine metastaz yapmayı başardığında oldukça heterojen hale gelmektedir. Tedaviye dirençli hale gelen kanserin ölümcül olma olasılığı da yükselmektedir. İkincil kanserler vücudun bazı bölümlerinin düzgün çalışmasını engelleyerek, erken ölüme neden olabilmektedir. Metastaz, kanser sebebiyle meydana gelen

ölümün önemli bir nedeni olarak rapor edilmektedir (J. Fares, M. Fares, Khacfe, Salhab ve Y. Fares, 2020; Compton, 2020; NCI, 2023a ve 2023b; WHO, 2023a; Cancer Council, 2023).

Kanser hücreleri, hücre bölünmesini durdurma ve büyüme sinyallerini almadan gelişme, yakın bölgeleri istila ederek vücudun diğer bölgelerine yayılma, bağışıklık hücrelerini, tümörü yok etmek yerine korumaya teşvik etme, kromozomlarda delesyonlara ve duplikasyonlara neden olarak çoklu değişikliklere neden olma gibi özellikleriyle normal hücrelere göre farklılıklar göstermektedir. Ayrıca, bazı kanser hücreleri, normal hücrelerden farklı bir şekilde besinlerden enerji üreterek daha hızlı büyüme sağlamaktadır. Prostat akciğer, mide, kolorektal ve karaciğer kanserleri erkeklerde, meme, kolorektal, akciğer, rahim ağzı ve tiroid kanserleri ise kadınlarda en sık görülen türlerdir (Fadaka, Ajiboye, Ojo, Adewale, Olayide ve Emuowhochere, 2017; Ulusal Kanser Enstitüsü [NCI], 2023).

Kanser yükü küresel anlamda, bireyler, aileler, topluluklar ve sağlık sistemleri üzerinde fiziksel, duygusal ve mali baskıya sebep olmaktadır. Düşük ve orta gelirli ülkelerdeki pek çok sağlık sistemi bu yükün üstesinden gelmek için yeterli düzeyde değildir. Diğer yandan, Dünya çapında çok sayıda kanser hastası, zamanında kaliteli teşhis ve tedaviye erişim sağlayamamaktadır. Sağlık sistemlerinin iyi olduğu ülkelerde, erişilebilir erken teşhis ve tedavi ve hayatta kalma bakımı sayesinde birçok kanser türü atlatılarak, buna paralel olarak, hastaların hayatta kalma oranları da artmaktadır (WHO, 2023a).

2.4.1. Kanser nedenleri

Kanser vakalarının yaklaşık %10-30'u genetik faktörlere bağlanmaktadır (Salem, 2023). Kalıtımın rolü hem ikiz çalışmalarıyla ve hem de kanserden sorumlu genlerin tanımlanmasıyla gösterilmiştir. Çevresel faktörlerin kanser gelişimindeki rolünün ise çok daha yüksek ve etkili olduğu, uzun yıllardır yapılan epidemiyolojik çalışmalardan anlaşılmaktadır. Bu nedenle çevresel korunma, kanserden korunmak için en önemli etmendir (Tomasetti ve Vogelstein, 2017).

Çevre kirliliği, beslenme, stres ve sigara içme, aktivite eksikliği, teknolojiye bağımlılığın artması, kimyasallara maruz kalma gibi yaşam tarzı faktörleri kanserin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır (Salem, 2023; Iwasaki, Itoh, Sawada ve Tsugane, 2023). Kanser,

hücre proliferasyonunu art arda artıran sürücü gen mutasyonlarının, kademeli olarak birikmesinin sonucunda oluştuğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Dünya çapında ölüm nedenleri arasında altı ölümden birinin kanser olduğu bildirilmektedir (Vogelstein ve diğerleri, 2013; López-Lázaro, 2018).

2.4.2. Serbest radikaller

Vücudumuzdaki hücre ve organellerde meydana gelen biyokimyasal reaksiyonlar, yaşamın devamını sağlayan itici güç olarak bilinmektedir. Bu reaksiyonlar sonucu oluşan serbest radikaller, kararsızdır ve dolayısıyla diğer moleküllerle kimyasal reaksiyonlara karşı aktif davranmaktadır. Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronlara sahip atomlar, moleküller veya iyonlar olarak bilinmektedir. Eşleşmemiş elektronlara ve dolayısıyla kararsız özelliğe sahip olan bu yapılar, diğer maddelerle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek kararlı duruma geçme eğilimindedir. Bu radikaller oksijen, nitrojen ve kükürt olmak üzere üç elementten türerler ve böylelikle reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen (azot) türleri (RNT) ve reaktif kükürt türlerini (RKT) meydana getirirler (Carocho ve Ferreira, 2013; Karabulut ve Gülay, 2016).

ROT, süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH), hidroperoksil radikali (HO_2^-) ve nitrik oksit (NO) gibi serbest radikalleri ve diğer türleri (hidrojen peroksit- H_2O_2 , tekli oksijen- $^1O_2$, hipokloröz asit- HOCl ve peroksinitrit- $ONOO^-$) içermektedir. ROT'leri, DNA, protein ve lipitler de dâhil olmak üzere hücrenin temel yapı taşlarına zarar verebilmektedir (Carocho ve Ferreira, 2013; Shields, Traa ve Van Raamsdonk, 2021).

Organizmadaki serbest radikaller endojen ve ekzojen kaynaklar tarafından üretilir. Serbest radikaller endojen olarak, en önemli üretim yeri olan mitokondri içindeki metabolizmanın normal bir ürünü olup, lipit peroksidasyonu, ksantin oksidaz ve mitokondriyal sitokrom oksidaz gibi çeşitli kaynaklardan, inflamasyon sürecinde nötrofiller ve makrofajlar tarafından, araşidonik asit metabolizması, iskemi ve fiziksel egzersiz yoluyla üretilmektedir. Diğer yandan, zihinsel veya vücut yorgunluğundan kaynaklanan stres, kortizol ve katekolamin gibi hormonlar da vücutta stres reaksiyonlarına yol açabilmekte ve aynı zamanda bu hormonların kendileri de serbest radikallere dönüşebilme potansiyeline sahiptir. Serbest radikallerin üretimini teşvik eden ekzojen kaynaklar arasında ise, sigara ve alkol kullanımı, çevreyi kirleten maddeler, UV, gamma, X-ray ve mikrodalga ışınları,

pişirme sırasında organik maddelerin yakılması (Benzo[a]piren), ilaçlar, pestisitler, endüstriyel solventler ve ozon yer almaktadır. Yaşam için gerekli olan elementlerin (özellikle oksijenin) bu reaktif türler yoluyla insan vücudu üzerinde zararlı etkileri olması da oldukça ilgi çekicidir (Carocho ve Ferreira, 2013; Karabulut ve Gülay, 2016).

Serbest radikaller, hücreler üzerinde, fagositoz ile enfeksiyonlara karşı savunma, makrofajlar ve sitotoksik lenfositler yoluyla kanser hücrelerini yok etme ve mitokondride ATP üretme yoluyla az veya orta düzeyde faydalı etkiler sergilerken, yüksek seviyelerde olduklarında ise oksidatif strese neden olarak toksik etki göstermektedir (Karabulut ve Gülay, 2016; Mohapatra ve diğerleri, 2023).

Oksidatif stres, serbest radikaller ile hücrenin antioksidan kapasitesi arasındaki denge durumunun bozulmasıyla ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres, iyonlaştırıcı radyasyona ve çeşitli kimyasal ajanlara maruz kalmanın bir sonucu olarak ve normal hücresel metabolizmanın yan ürünü olarak oluşmaktadır (Hanawalt ve Spivak, 2008). Oksidatif hasarın mekanizması, reaktif oksijen türlerinden, yüksek oranda reaktif hidroksil radikalinden ($\text{OH}^\cdot$), DNA bazlarının çift bağlarına ek olarak ve timinin metil grubundan bir H atomu ve 2'-deoksiribozun her bir C-H bağından bir H atomu uzaklaştırarak DNA ile reaksiyona girmesi suretiyle oluşmaktadır (Cooke, Evans, Dizdaroglu ve Lunec, 2003).

Biyolojik bir sistemde ROT'leri ve serbest radikallerin aşırı üretimi, nükleik asitler, lipitler ve proteinler gibi hayati biyomolekülleri olumsuz yönde etkilemektedir. Hücresel antioksidanların kapasitesi aşıldığında DNA hasarı ve mutasyon riski artmaktadır, bu artış, zamanla, dejeneratif hastalıklarda, otoimmün bozukluklarda, kardiyovasküler hastalıklarda, diyabet, yaşlanma ve çeşitli kanserlerde de artışa neden olmaktadır (Lee, O'Connor ve Pfeifer, 2002; Wijeratne, Cuppett ve Schlegel, 2005; Weydert ve Cullen, 2010; Tvrdá ve Benko, 2020; Bardelcıková, Šoltys ve Mojžiš, 2023).

Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2), oksidatif fosforilasyon sırasında çeşitli fizyolojik süreçler tarafından endojen olarak doğrudan ve dolaylı yollarla üretilen bir bileşiktir (Benhusein, Mutch, Aburawi ve Williams, 2010; Ciriminna, Albanese, Meneguzzo ve Pagliaro, 2016; Ponce, 2020). H_2O_2 'in düşük konsantrasyonlarda apoptozu, yüksek konsantrasyonlarda ise

nekrozu tetiklediği tespit edilmiştir (Murphy ve Friedman, 2019). H_2O_2 , dünyada en önemli 100 kimyasal arasında yer almaktadır (Tian ve diğerleri, 2021). Evsel kullanım için gerekli olan önemli bir oksidasyon reaktifi olması nedeniyle, birçok endüstriyel üründe, özellikle dezenfektanlarda, çamaşır suyu ihtiva etmeyen beyazlatıcılarda, kumaşlardan boyaların temizlenmesinde, kontak lenslerin dezenfeksiyonunda, saç boyalarında ve diş macunlarında kullanılmaktadır (Watt, Proudfoot ve Vale, 2004). Diğer yandan, fotokatalitik üretimde, atık su arıtmada, kâğıt hamuru ve kâğıt endüstrisinde ve ayrıca enerji araştırmalarında da yaygın olarak uygulanmaktadır (Ciriminna, Albanese, Meneguzzo ve Pagliaro, 2016; Hou, Zeng ve Zhang, 2020). Endüstride bu kadar yaygın bir şekilde kullanılan H_2O_2 'in diğer yandan zararları da bulunmaktadır. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları, hidrojen peroksitin (H_2O_2) demir (II) iyonları (Fe^{+2}) tarafından katalizlenmesiyle hidroksil radikalleri ($OH\cdot$) oluşturmaktadır (Aslankoç ve diğerleri, 2019). Esasen ROT'lerinden biri olan hidrojen peroksit, yüksek konsantrasyonlarda, çeşitli hücre tiplerinde nükleer ve mitokondriyal DNA lezyonlarına, kromozomlarda hasara ve hatta sitotoksik etkilere sebep olmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle H_2O_2 , genetik toksikoloji çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılmaktadır (Vilema-Enríquez, Arroyo, Grijalva, Amador-Zafra ve Camacho, 2016; Cimini ve diğerleri, 2022; Özer, 2023). Hücreye kolayca girebilen H_2O_2 , DNA'nın bazlarında hasarlara ve nükleik asit zincirinde kırıklara neden olmaktadır (Murphy ve Friedman, 2019).

2.4.3. Kanser tedavileri

Kanserde yaygın olarak kullanılan tedavi yöntemleri arasında cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi yer almaktadır. Daha az sıklıkta olmak üzere immünoterapi, hormon tedavileri ve hedefe yönelik tedaviler de kullanılmaktadır. Bu tedavi yöntemleri tek başına kullanılabildikleri gibi, bazen kombine olarak da uygulanabilmektedir. İlk uygulanan tedavi genellikle birinci basamak tedavi olarak bilinmektedir. Birinci basamak tedavinin arkasından uygulanan tedavi ise adjuvan tedavi olarak adlandırılır (Qu ve diğerleri, 2023; T.C. Sağlık Bakanlığı, 2023a).

Cerrahi tedavi

Cerrahi, kanserli dokunun vücuttan çıkarılması işlemidir. Cerrahi tedavi, kanserde genellikle uygulanan ilk yöntemdir ve bazı kanserlerde bu tedavi ile çözüm sağlanabilmektedir. Aynı

zamanda tanının biyopsi alınarak doğrulanması, evreleme, yan etkilerin ve ağrının azaltılmasında kullanılan bir tedavi yöntemidir (Tohme, Simmons ve Tsung, 2017).

Radyoterapi

Radyasyon tedavisi/radyoterapi uygulamasında, iyonizan radyasyon kullanılmaktadır. Buradaki amaç, lokalize kanser hücrelerini yok etmek ve tümörü küçültmektir. Planlamanın temel amaçlarından biri, radyasyondan etkilenebilecek sağlıklı dokuların en az düzeyde etkilenmesini sağlamaktır. Harici radyoterapide, radyasyon hasarlı bölgeye, ışın kaynağı olan bir cihaz yardımıyla dışarıdan verilmektedir. İnternal radyoterapide, radyoaktif madde vücuda belli bir süre için verilerek uygulanmaktadır. Sistemik radyasyon tedavisinde ise, radyoaktif madde hastaya damardan sıvı ya da ağızdan hap şeklinde verilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2023b; Zhen, Weichselbaum ve Lin, 2023).

Kemoterapi

Kemoterapi, kanser hücrelerini yok etme veya bu hücrelerin büyümesini kontrol altına alma hedefiyle, antikanser ilaçlar kullanılarak yapılan tedavidir. Bu tedavi, tek başına veya cerrahi veya radyoterapi ile birlikte uygulanabilmektedir. Çeşitli mekanizmalar yoluyla, hızla bölünen hücreleri hedef alarak tümör büyümesini durdurmak için, güçlü sitotoksik ilaçlar kullanılmaktadır. Kemoterapinin amacı, hastalık çeşidine ve yayılımına göre değişebilmektedir. Kemoterapinin amacı, kanser hücrelerinin proliferasyonu önleyip, yayılmasını yavaşlatmak, kontrol altına almak ve tedavi etmektir. Diğer yandan radyoterapi veya cerrahi tedavi sonrası uygulandığında, hastalığın tekrarlanma ihtimalini azaltarak, cerrahi veya radyoterapi öncesi uygulanarak yapılacak lokal tedavileri kolaylaştırmaktır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2023a; Brianna ve Lee, 2023).

İmmünoterapi

Bağışıklık sistemi, enfeksiyona karşı savunmada uzmanlaşmış rollere sahip hücre ve moleküllerden oluşmaktadır. İmmünoterapi, bağışıklık sisteminin kanserle savaşmasına yardımcı olmayı hedeflemektedir. İmmünoterapi, kanseri tedavi etmek için canlı organizmalardan yapılan maddelerin kullanıldığı, bir tür biyolojik tedavidir. İmmünoterapide, bağışıklık kontrol noktası inhibitörleri, T hücresi transfer tedavisi,

monoklonal antikorlar, tedavi aşıları ve bağışıklık sistemi modülatörleri kullanılmaktadır (NCI, 2023c; Prazerekos, 2023).

Hormon tedavileri

Hormonal tedavi, vücuttaki hormon miktarını değiştirerek/düzenleyerek tedavi etme prensibine dayanmaktadır. Meme, prostat ve üreme sistemi kanseri gibi bazı kanserler hormonların varlığında büyüyüp gelişmektedir. Hormonal tedavinin de diğer tedaviler gibi yan etkileri mevcut olup, bu etkiler kullanılan ilaca ve cinsiyete göre değişiklik göstermektedir. Diğer yandan yan etkiler, tedavinin tamamlanmasıyla ortadan kalkmaktadır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2023c).

Hedefe yönelik tedaviler

Moleküler hedefe yönelik tedaviler, kanserin büyümesini, ilerlemesini ve metastazını engellemek için spesifik moleküllere müdahale eden, devrim niteliğindeki terapötikler olarak bilinmektedir. FDA tarafından onaylanan birçok moleküler hedefe yönelik tedavinin, meme, lösemi, kolorektal, akciğer ve yumurtalık kanserleri de dâhil olmak üzere sayısız kanser türünün tedavisinde dikkate değer anlamda klinik başarı gösterdiği rapor edilmiştir (Lee, Tan ve Oon, 2018).

Kanserden korunma

Risk faktörlerini değiştirerek veya bunlardan kaçınarak, önleme stratejilerinin uygulanmasıyla kanserden kaynaklanan ölümlerin, %30-50'si önlenabilir düzeyde olduğu bildirilmektedir. Kanser yükü, kanserin erken teşhisi ve hasta yönetimi yoluyla da azaltılabilmektedir. Diğer yandan önleme, kanserin kontrolü için uygun maliyeti ve yaşam için uzun vadeli stratejiyi sunmaktadır. Kanser oluşturma potansiyeli olan etmenlerden korunabilmenin yolları, tütün ve alkol kullanımından kaçınmak, UV radyasyona maruz kalmayı azaltmak, hava kirliliğinden ve kapalı mekân dumanından uzak durmak, çevresel kimyasallardan uzak durmak şeklinde sıralanabilir. Diğer yandan, sağlıklı kiloyu korumak, bol miktarda meyve ve sebze içeren antioksidan diyetini rutine dâhil etmek, düzenli egzersiz yapmak ve tıbbi bakımlara önem göstermek de kanserden korunmanın yolları olarak rapor edilmektedir (WHO, 2023a).

2.4.4. Kanser tedavilerinde kullanılan ilaçlar

Anatomik Terapötik Sınıflandırma (ATC) sistemine göre (çeşitli kimyasal yapılara ve biyofiziksel/kimyasal özelliklere dayanarak) antikanser ilaçlar, antineoplastikler ve endokrin tedavisi olmak iki ana gruba ayrılır. Bu gruplar ise, alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, bitki alkaloidleri ve diğer doğal ürünler, sitotoksik antibiyotiklerle ilgili maddeler ve diğer antineoplastik ajanlar olmak üzere beş grupta sınıflandırılmaktadır (Mukherjee, Mehta, Dhangar ve Kumar, 2021).

Antineoplastik ve immünomodülatör ajanlar, ATC sınıflandırmasına göre, 2.seviye farmakolojik alt grup içerisinde olup, Mitomisin-C ve Metil Metansülfonat alkilleyici ajanlar olarak bu grupta yer almaktadır (WHO, 2023b).

Mitomisin C (MMC)

Mitomisin C ($C_{15}H_{18}N_4O_5$), *Streptomyces caespitosus* bakterisi tarafından üretilen ve doğal olarak oluşan bir maddedir. MMC, antineoplastik/antikanser, antibiyotik ve oftalmik bir ajandır (Crespo, Rapuano ve Syed, 2023; Angelini ve diğerleri, 2023). Bu etkileri nedeniyle MMC, göğüs, kolon, rektum, pankreas, mide, akciğer, rahim, serviks ve mesane kanserlerini tedavi etmek için sıklıkla tercih edilmektedir (Siddique, Ara, Beg, Gupta ve Afzal, 2010; Rjiba-Touati, Ayed-Boussema, Guedri, Achour, Bacha ve Abid, 2013). MMC, oftalmoloji, refraktif ve glokom cerrahisi ve lazerle korneanın eğiminin değiştirilmesi gibi çeşitli tıbbi alanlarda da sıklıkla tercih edilmektedir (Carones, Vigo, Scandola ve Vacchini, 2002; Wilkins, Indar ve Wormald, 2005; Santhiago, Netto ve Wilson, 2012; Singh ve Singh, 2013; PubChem, 2023b).

İki işlevli alkilleyici bir ajan olarak hareket eden MMC, kanser hücrelerindeki DNA'nın kendini eşlemesini ve sonuçta hücre proliferasyonunu engellemektedir. Aynı zamanda hücre DNA'sında hasar da oluşturmaktadır. Bu ajan, genellikle guanin ve sitozin çiftlerinde DNA'nın zincirleri arasında, çapraz bağların oluşumunu kolaylaştıran farklı bir kinon bazlı kimyasal yapıya sahiptir. Nükleer lizis oluşumu ile DNA'yı parçalara ayırarak, DNA'da çift sarmallı kırılmalara neden olmakta ve sentezi engellemektedir. Ayrıca, MMC'nin, uzun süreli kullanımda normal hücrelerde ikincil neoplazmalara neden olabileceği de bildirilmektedir (Bahrami, Greenwell ve Muecke, 2014; Luu, Tellez ve Chadha, 2022).

MMC ayrıca, oksidatif strese sebep olarak toksik etki göstermekte ve sonuçta kromozom kırığı ve kardeş kromatit değişimi gibi çeşitli anormalliklerin ortaya çıkmasına da yol açmaktadır. Bu maddenin, sağlıklı hücreler üzerinde de bazı toksik ve özellikle genotoksik etkiler oluşturması nedeniyle, insan sağlığı açısından bazı endişelere de sebebiyet vermektedir. Yukarıda verilen etkileri nedeniyle MMC, genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan genotoksik bir ajandır (Imyanitov ve Iyevleva, 2022; Ünal, Taner, Yüzbaşıoğlu ve Yılmaz, 2013).

Metil Metansülfonat (MMS)

Metil Metansülfonat ($C_2H_6O_3S$), ayrışmaya kadar ısıtıldığında zehirli sülfoksit dumanları yayan, stabil, renksiz, yanıcı bir sıvıdır. MMS, kanser kemoterapötik ajanı olarak klinikte ve kimyasal sentezde katalizör olarak laboratuvarlarda kullanılmaktadır. Alkilleyici bir madde olan MMS, DNA'da değişiklikler oluşturarak, mutajen işlevi görmektedir. MMS gibi tek işlevli metilleyici ajanlar, 7-metil-guanin, O^6 -Metilguanin ve O^4 -Metilimin, 3-metiladenin, metilfosfotriester ve alkilfosfotriesterleri üretmektedir. Bunlar, apürinik bölgelere, promutajenik lezyonlara, baz değişiklikleri ve geçişlerine, nükleik asit sentezinin yavaşlamasına ve/veya bloke olmasına ve nokta mutasyonlarına sebep olmaktadır (PubChem, 2023c). MMS'nin, birçok çalışmada zayıf mutajenik, karsinojenik ve genotoksik etkili olduğu belirtilmiştir. MMS, DNA lezyonlarına, mikronükleus oluşumuna, kromozom hasarına ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Ayrıca MMS toksik bir ajan olduğundan, genotoksisite çalışmalarında pozitif kontrol olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Kemoterapötik ajan olarak kullanılan MMS, diğer yandan insanlar için mutajen ve kanserojen olabilmektedir.

Antineoplastik ajanlar kanser tedavisinde sıklıkla kullanıldıkları ve hastanın DNA'sını etkileyebildikleri için, kanserli olmayan doku üzerindeki genotoksik sonuçlarının bilinmesi önemlidir. Diğer yandan MMC ve MMS, klastojen olmalarından dolayı, OECD kılavuzlarında yer alan Test Yönergesi 473'te pozitif kontrol olarak kullanılması önerilmektedir (Struys ve diğerleri, 2023; OECD, 2023a).

2.5. Üleksit ile Yapılan Genotoksisite ve Antigenotoksisite Çalışmaları

Literatürde üleksit ile yapılmış genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmaları sınırlı olmakla birlikte, farklı test sistemleri ile incelendiği çalışmalar da mevcuttur. UX, genel anlamda, DNA onarımını tetikleyici, oksidatif ve genetik hasarlara karşı koruyucu ve iyileştirici etkiler göstermektedir. Diğer yandan, daha önce gerçekleştirilen bir çalışmada, UX'in yüksek konsantrasyonda (40 mg/L) toksik olduğu da bildirilmiştir. Bu toksisite doza bağlı olup, aynı çalışmada kullanılan diğer konsantrasyonların (5, 10 ve 20 mg/L) toksik olmadığı gibi antioksidan etki gösterdiği rapor edilmiştir. Bütün bu araştırmalardan da görüleceği üzere, bor bileşiklerinden borik asit, boraks, kolemanit ve üleksitin kendi başına genellikle toksik ve genotoksik olmadığı tespit edilmiştir. Diğer yandan, UX'in ve diğer bor bileşiklerinin Fe_3O_4 -MNP, ağır metaller ve serbest radikaller gibi çeşitli genotoksik ajanlara karşı antioksidan/antigenotoksik/koruyucu/iyileştirici etki gösterdiği belirlenmiştir. Üleksit ve diğer bazı bor bileşiklerinin genotoksik ve antigenotoksik etkisi konusundaki araştırmalar Çizelge 2.4'te özetlenmiştir.

Çizelge 2.4. Üleksit ve diğer bazı bor bileşiklerinin genotoksik ve antigenotoksik etkisi konusundaki araştırma örnekleri

Madde	Organizma	Testler	Konsantrasyon-Süre	Etki	Referans
UX	Zebra balığı	Genotoksisite testi -MN Biyokimyasal testler*	0 (kontrol); 5; 10; 20 ve 40 mg/L 96 saat	5, 10 ve 20 mg/L; antioksidan etkili 40 mg/L; genotoksik etkili	Alak ve diğerleri, 2020
UX BA BX COL	İnsan periferik kan lenfositleri	Genotoksisite testleri -KKD -MN -KA Biyokimyasal testler*	0; 5; 10; 20; 40; 50; 80; 100; 150; 200; 300; 400 ve 500 mg/L Genotoksisite testleri 72 saat	Düşük dozlarda antioksidan etkili Yüksek dozlarda dahi genotoksik etkili değil	Türkez, Geyikoğlu, Tatar, Keleş ve Özkan, 2007
UX Fe ₃ O ₄ -MNP	Gökkuşuğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Genotoksisite testi -MN Biyokimyasal testler*	0,005; 0,01; 0,02; 0,04 ve 0,08 mL/L 96 saat	UX, oksidatif ve genetik hasarları iyileştirici etkili	Uçar ve diğerleri, 2023
BA BX COL UX As ₂ O ₃ CdCl ₂ PbCl ₂ C ₆ H ₅ O ₇ ·Bi HgCl ₂	İnsan lenfositleri ve eritrositleri	Genotoksisite testleri -KKD -MN Biyokimyasal testler*	Bor bileşikleri konsantrasyonları: 5, 10, 15 ve 20 ppm Ağır metallerin konsantrasyonları: As ₂ O ₃ , CdCl ₂ , PbCl ₂ (3 ve 5 ppm); C ₆ H ₅ O ₇ ·Bi (7,5 ve 15 ppm) HgCl ₂ (6 ve 9 ppm)	Bor bileşikleri, antigenotoksik ve antioksidan etkili	Türkez, Geyikoğlu, Tatar, Keleş ve Kaplan, 2012
BA H ₂ O ₂	Çin hamster akciğer fibroblast hücreleri	Genotoksisite testi -Komet	3, 10, 30, 100 ve 200 µM	BA, koruyucu etkili	Yılmaz, Üstündağ, Ülker ve Duydu, 2016
BA BX TiO ₂	İnsan lenfositleri	Genotoksisite testleri -KKD -MN	BA ve BX (2,5, 5 ve 10 µM)	BA ve BX, antigenotoksik etkili	Türkez, 2008
BA Paklitaksel	İnsan lenfositleri	Genotoksisite testleri -KKD -MN	BA (2,5 ve 5 mg/L) Paklitaksel (10 ve 20 µg/L) 72 saat	BA, koruyucu etkili	Türkez, Tatar, Hacımüftüoğlu ve Özdemir, 2010
BA Aflatoksin B1	İnsan lenfositleri	Genotoksisite testleri -KKD -MN Biyokimyasal testler*	BA (0,25, 0,5, 1, 2, 5, 10 ve 20 ppm) Aflatoksin B1 (1,56 ve 3,12 ppm)	BA, koruyucu etkili	Türkez ve Geyikoğlu, 2010
UX: Üleksit; BA: Borik asit, BX: Boraks; COL: Kolemanit; Fe ₃ O ₄ MNP: Demir oksit Manyetik Nanopartikülü; H ₂ O ₂ : Hidrojen peroksit; As ₂ O ₃ : Arsenik trioksit; CdCl ₂ : Kadmium klorür; PbCl ₂ : Kurşun klorür; C ₆ H ₅ O ₇ : Kolloidal bizmut substrat; HgCl ₂ : Civa klorür; *Biyokimyasal parametreler; 8-OHdG: 8-Hidroksiguanozin, SOD: Süperoksit dismutaz; CAT: Katalaz; GPx: Glutasyon peroksidad; GSH: Glutasyon; GST: Glutasyon S transferaz; G6PD: Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz; TGSH: Toplam glutasyon malondialdehit; TAC: Toplam antioksidan kapasitesi; MPO: Miyeloperoksidad; PON: Paraoksonaz; ARE: Arilesteraz; MDA: Malondialdehit.					

Literatür taramalarından elde edilen verilerden hareketle, bu tez çalışmasının amacı, bir bor bileşiği olan UX'in *in vitro* insan periferik lenfositlerinde hem tek başına olası genotoksik potansiyelini incelemek ve hem de antikanser ilaçlar olan MMC ve MMS ile serbest radikal olan H₂O₂'in oluşturduğu genetik hasara karşı olası antigenotoksik/antimutajenik/

kemopreventif/iyileştirici etkilerini incelemektir. Bu amaçla, kromozom anormallikleri (KA), kardeş kromatit değişimi (KKD), sitokinez blok mikronükleus sitom (CBMN-Cyt) ve komet testleri kullanılmıştır. Bu araştırma, UX'in, MMC, MMS ve H₂O₂ olmak üzere 3 farklı genotoksik maddeye karşı antigenotoksik potansiyelinin insan lenfositlerinde değerlendirildiği ilk araştırma niteliğindedir.



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kromozom incelemesi için materyal

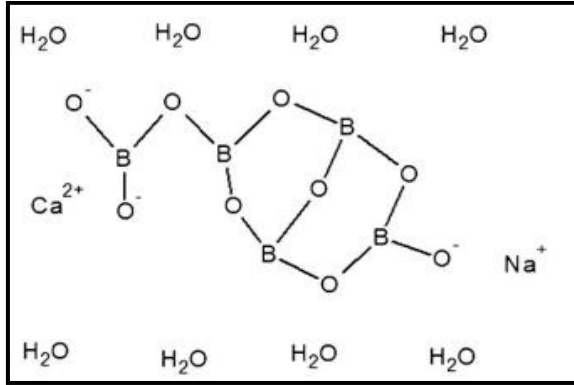
Bu çalışmada bir bor bileşiği olan Üleksit'in tek başına genotoksik ve mitomisin C, metil metansülfonat ve hidrojen peroksitin oluşturduğu genotoksik etkiye karşı antigenotoksik potansiyeli, *in vitro* insan periferel kan lenfositlerinde kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi ve sitokinez blok mikronükleus sitom testleri için kültüre edilmiş insan periferel lenfositlerinde; komet testi için izole edilmiş insan periferel lenfositlerinde incelenmiştir.

Bu incelemelerde kullanılan periferel kan, sağlık sorunu bulunmayan, son üç ay içinde herhangi bir ilaç kullanmayan, sigara ve alkol tüketmeyen ve gönüllü olur formunu onaylayan 20-24 yaş aralığındaki iki kadın donörden temin edilmiştir. Bu araştırma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 08.08.2022 tarih ve 019 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir. Kan örneklerinin, gönüllü donörlerden, Gazi Üniversitesi Sağlık, Kültür ve Spor Dairesi Başkanlığı bünyesinde görev yapan hemşireler tarafından alınması için, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Başhekimliği'nin onayı da alınmıştır.

3.1.2. Test materyalleri ve kullanılan kimyasallar

Üleksit

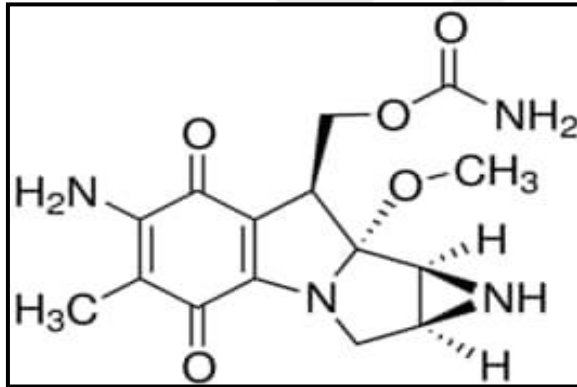
CAS. No.: 1319-33-1 (Etimaden, Türkiye), moleköl ağırlığı 405,21 g/mol ve kimyasal formülü $\text{NaCa}[\text{B}_5\text{O}_6(\text{OH})_6] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ olup, boyutu 45 μm 'dir. Üleksit'in yapısal formülü Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Üleksitin yapısal formülü (Özdemir ve diğerleri, 2015)

Mitomisin-C

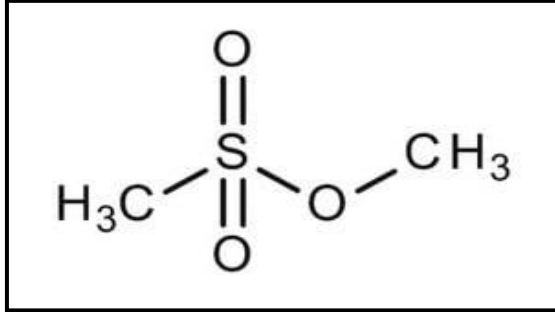
CAS. No.: 200 008-6, moleküler ağırlığı 334,33 g/mol olup, kimyasal formülü C₁₅H₁₈N₄O₅'tir. Mitomisin-C'nin yapısal formülü Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Mitomisin-C'nin yapısal formülü (Sigma-Aldrich, 2023a)

Metil Metansülfonat

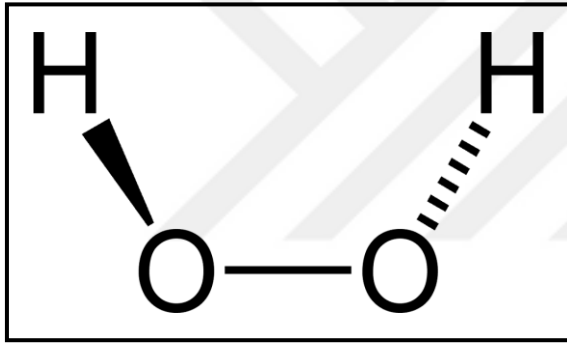
CAS. No.: 66-27-3 (Sigma Aldrich), molekül ağırlığı 110,13 g/mol olup, kimyasal formülü C₂H₆O₃S'dir. Metil metansülfonatın yapısal formülü Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Metil metansülfonatin yapısal formülü (Sigma-Aldrich, 2023b)

Hidrojen Peroksit

CAS. No.: 7722-84-1 (Applichem), molekül ağırlığı: 34,01 g/mol olup, kimyasal formülü H_2O_2 'dir. Hidrojen peroksitin yapısal formülü Şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4. Hidrojen peroksitin yapısal formülü (PubChem, 2023)

Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar

Kolkisin (CAS. No. 64-86-8), Bromodeoksiüridin (CAS. No. 59-14-3), Sitokalsin B (CAS. No. 14930-96-2) ve NaCl (CAS. No. 7647-14-5) Sigma-Aldrich'ten, Glasiyel asetik asit (Katalog No: 64-19-7), Metanol (Katalog No: 67-56-1), Entellan (Katalog No: 1079610500), Giemsa (Katalog No: HX947066) ve NaOH (CAS. No. 1310-73-2) Merck'ten, DMSO (CAS. No: 67-68-5), Triton X-100 (CAS. No. 9002-93-1), Tris (CAS. No. 77-86-1), EDTA (CAS. No. 6381-92-6), Düşük erime noktalı agaroz (CAS. No. 9012-36-6), Normal erime noktalı agaroz (CAS. No. 9012-36-6), LymphoPlus Medium (Catalog No: CY0100-100) ve EtBr (CAS. No. 1239-45-8) Applichem'den, Lenfosit ayırma solüsyonu (Katalog No: J0100-840) ve Dulbecco's PBS (Katalog No: H0500-540) Cegrogen

Biotech'ten ve HCl (CAS. No. 7647-01-0) Carlo Erba'dan temin edilmiştir. Diğer kimyasallar teknik formda mevcuttur.

3.2. Metot

3.2.1. Üleksit'in çalışmada kullanılacak konsantrasyonlarının belirlenmesi

Deneylerde uygulanacak konsantrasyonların belirlenmesi amacıyla, daha önceki araştırmalarda kullanılan konsantrasyonlar dikkate alınarak, Üleksit'in 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 15; 20; 25 ve 30 µg/mL'lik konsantrasyonları ile bir ön deneme yapılmıştır. Burada, hücre proliferasyonunu, negatif kontrole kıyasla, yaklaşık %50 düzeyinde azaltan dozun belirlenmesi hedeflenmiştir. Elde edilen sonuçlara dayanarak, Üleksit'in uygulama konsantrasyonları 2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL olarak belirlenmiştir.

3.2.2. Test materyallerinin hazırlanması

Üleksit, distile su içerisinde hazırlanmıştır. Öncelikle en yüksek doz (20 µg/mL) hazırlanmış takiben diğer dozlara (10, 5 ve 2,5 µg/mL) seri dilüsyon yapılmıştır.

Pozitif kontrol olarak kullanılan Mitomisin-C ve Metil metansülfonat sırasıyla 0,20 µg/mL ve 6,60 µg/mL olacak şekilde kültüre uygulanmıştır. Diğer pozitif kontrol olan Hidrojen peroksit ise 100 µM konsantrasyonda kullanılmıştır.

3.2.3. Preparatların hazırlanması

Kültüre alınmış insan lenfositlerindeki çalışmalar

Kromozom anormallikleri ve kardeş kromatit değişimi testi

KA testi, Evans ve diğerlerinin (1984) metodunda bazı değişiklikler yapılarak (Ünal ve diğerleri, 2022), kardeş kromatit değişimi testi ise Perry ve Wolf'un (1974) metodunda bazı modifikasyonlar (Speit ve Haupter, 1985; Ünal ve diğerleri, 2022) yapılarak uygulanmıştır. Donörlerden heparinlenmiş enjektör aracılığı ile alınan kanın 0,2 mL'si, steril şartlarda 2,5 mL'lik besi ortamı (LymphoPlus Medium) içeren tüplere ilave edilmiştir. Daha sonra, her bir tüpe, 10 µg/mL olacak şekilde BrdU (5-Bromo-2-deoksiuridin=Bromodeoksiüridin)

ilave edilmiş ve kültür tüpleri, etüvde 37°C’de, 72 saat inkübasyona tabii tutulmuştur. Inkübasyon süresinin 70. saatinde (inkübasyon süresinin bitiminden 2 saat önce) her tüpe, 0,06 µg/mL olacak şekilde kolkisin eklenmiştir.

Bu çalışmada Üleksit’in genotoksik ve antigenotoksik potansiyelini belirlemek amacıyla aşağıdaki deney protokolleri kullanılmıştır;

1. Üleksit tek başına: 2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL
2. UX + MMC, eş zamanlı [UX (yukarıdaki 4 farklı konsantrasyon) + MMC (0,20 µg/mL)]
3. UX + MMS, eş zamanlı [UX (yukarıdaki 4 farklı konsantrasyon) + MMS (6,60 µg/mL)]
4. Negatif kontrol (distile su)
5. Pozitif kontrol, MMC (0,20 µg/mL)
6. Pozitif kontrol, MMS (6,60 µg/mL)

UX’in 2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL’lik konsantrasyonları hem tek başına hem de 0,20 µg/mL’lik MMC ve hem de 6,60 µg/mL’lik MMS ile eş zamanlı olarak, inkübasyonun 24. ve 48. saatinde, insan lenfosit kültürlerine ilave edilmiştir. 72 saatlik inkübasyondan sonra tüpler santrifüj edilerek (1 100 RPM) süpernatant atılmıştır. Daha sonra, kültür tüpünün dibinde kalan hücrelere hipotonik solüsyon (0,075 M KCl, 5 mL) eklenmiştir. Ardından tüpler 37°C’deki etüvde 20 dakika bekletilmiş ve sonra santrifüj edilerek süpernatant atılmıştır. Tüplerdeki hücrelere, önceden hazırlanmış soğuk 3:1 oranında metanol-asetik asit çözeltilisinden ilave edilerek 3 kez tespit edilmiştir. Tüplerdeki süpernatant atıldıktan ve tüpün dibinde kalan hücre süspansiyonu pipet ile iyice karıştırıldıktan sonra lamaların üzerine yayılmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

Sitokinez blok mikronükleus sitom testi

Sitokinez blok mikronükleus sitom testi, Fenech’in (2007) yönteminde bazı değişiklikler (Kirsch-Volders ve diğerleri, 2011) yapılarak gerçekleştirilmiştir. Donörlerden, heparinlenmiş enjektör ile alınan periferik kan, içinde 2,5 mL LymphoPlus Medium bulunan tüplere ekilmiştir. Kültür tüpleri 37°C’de sabitlenmiş etüvde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Bu çalışmada Üleksit'in genotoksik ve antigenotoksik potansiyelini belirlemek amacıyla aşağıdaki deney protokolü kullanılmıştır;

1. Üleksit tek başına: 2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL
2. UX + MMC, eş zamanlı [UX (yukarıdaki 4 farklı konsantrasyon) + MMC (0,20 µg/mL)]
3. UX + MMS, eş zamanlı [UX (yukarıdaki 4 farklı konsantrasyon) + MMS (6,60 µg/mL)]
4. Negatif kontrol (distile su)
5. Pozitif kontrol, MMC (0,20 µg/mL)
6. Pozitif kontrol, MMS (6,60 µg/mL)

CBMN-Cyt testinde tüm deney protokollerinde 48 saatlik muamele periyodu uygulanmıştır. Kimyasallar ile muamele, son 48 saatte gerçekleştirilmiştir. Sitokinezi bloke etmek amacıyla, inkübasyonun 44. saatinde, her bir tüpe 5,2 µg/mL Sitokalsin-B ilave edilmiştir. Kültürün 72. saatinde inkübasyon sonlandırılarak tüpler 1 000 RPM'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra süpernatant atılmış ve tüplerin dibinde kalan hücre süspansiyonuna 0,075 M KCl çözeltisi eklenmiştir. Ardından 1 000 RPM'de 10 dakika santrifüj edilen tüplerdeki süpernatant atılmış ve önceden hazırlanmış soğuk 3:1 metanol: asetik asit çözeltisi ile 3 kez fiksasyon sağlanmıştır. Son fiksatif çözeltisine %1 oranında formaldehit eklenmiştir ve tekrar santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Tüplerin dibinde kalan hücre süspansiyonu homojenize edildikten sonra lamlara yayılmıştır.

3.2.4. Preparatların boyanması

Lamlara yayımı gerçekleştirilen ve 1 gün oda sıcaklığında kurutulan preparatlar, Sorensen tamponu ile hazırlanan %5'lik Giemsa boyası (pH 6,8) kullanılarak boyanmıştır. Kardeş kromatit değişimlerinin belirlenmesi için Speit ve Haupter'in (1985) metodunda bazı değişikliklerle Floresan+Giemsa boyaması yapılmıştır. Preparatlar, ışınlama tankına dizilerek, 254 nm dalga boyunda 13 dakika boyunca ışınlanmıştır. Daha sonra, preparatlar, içinde 60°C'de 1xSSC (Salin Sodyum Sitrata) solüsyonu bulunan şaleye dizilerek, etüvde 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Takiben preparatlar %5'lik Giemsa ile (pH=6,8) boyanmıştır. Oda sıcaklığında 1 gün kurumaya bırakılan preparatlar entellan ile kapatılarak daimî hale getirilmiştir.

3.2.5. Mikroskobik inceleme sonuçlarının değerlendirilme kriterleri

Kromozom anormalliklerinin belirlenmesi ve mitotik indeksin saptanması

Kromozom anormalliklerinin belirlenmesi amacıyla, her bir uygulama ve kontrol grubu için kromozomları iyi dağılmış toplam 200 (her bir donör için 100'er) metafaz hücresi incelenmiştir. İncelenen toplam hücreler içindeki anormal hücrelerin yüzdesi ve hücre başına düşen kromozom anormalliği sayısı belirlenmiştir.

Mitotik indeksin saptanabilmesi amacıyla, her bir uygulama ve kontrol grubuna ait preparatlardan 2 000 (her bir donör için 1 000'er) metafaz hücresi incelenmiştir. Mitotik indeks, bölünen hücre sayısının toplam hücre sayısına yüzde cinsinden oranlanmasıyla elde edilmiştir. Hücre taramaları Olympus CX-23 mikroskobu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikroskopta kromozom anormalliklerinin tespit edilmesinde 1 000X büyütme kullanılırken, Mİ'in tespit edilmesi için 100X büyütme kullanılmıştır. Gözlenen anormalliklerin fotoğrafları, MC170 HD kamera eklentili Leica DM LB2 mikroskopta, Leica V4.7 yazılım programı kullanılarak elde edilmiştir.

Kardeş kromatit değişimlerinin ve replikasyon indeksinin saptanması

Kardeş kromatit değişimlerinin belirlenebilmesi amacıyla kültüre, timin bazının analogu olan BrdU ilave edilmiştir. Böylece hücre bölünmek için DNA'yı replike ettiğinde yeni sentezlenen komplementer ipliğe timin yerine ortamda bulunan BrdU geçmiştir. Bu şekilde yapısında BrdU bulunan DNA/kromozom, ışınlanmaya maruz bırakılıp ardından boyanmıştır. BrdU bulunan bölgeler açık renkli gözlenirken, diğer bölgelerin koyu renkli olması sayesinde kardeş kromatitler arasındaki değişimler tespit edilebilmektedir. KKD sayısı, bir kromozomun açık boyanmış kromatitindeki koyu boyanmış parçaların veya koyu boyanmış kromatitindeki açık boyanmış parçaların sayılmasıyla belirlenmiştir. Kardeş kromatit değişimlerinin belirlenmesi amacıyla her bir uygulama ve kontrol grubu için, kromozomları iyi dağılmış ve ikinci mitoz bölünmesini geçiren 50 (her bir donör için 25'er) hücre incelenmiştir. İnceleme, Olympus CX-23 mikroskopta gerçekleştirilmiştir. Mikroskopta kardeş kromatit değişimlerinin gözlenebilmesi için kromozom incelemeleri 1 000X büyütmede yapılmıştır. Gözlenen kardeş kromatit değişimlerinin fotoğrafları, MC170

HD kamera eklentili Leica DM LB2 mikroskopta Leica V4.7 yazılım programı kullanılarak elde edilmiştir.

Her bir uygulama için replikasyon indeksini ($R\dot{I}$) hesaplamak için, 200 (her bir donör için 100'er) hücre incelenmiştir. İncelenen hücreler arasında birinci (M1), ikinci (M2) ve üçüncü (M3) mitoz evresindeki hücreler sayılmış ve replikasyon indeksi ($R\dot{I}$) = $[1x(M1)+2x(M2)+3x(M3)]/N$ (N= incelenen toplam hücre sayısı) formülüyle hesaplanmıştır.

Mikronükleus, nükleer tomurcuk, nükleoplazmik köprü frekanslarının belirlenmesi ve proliferasyon indeksinin saptanması

Mikronükleus, nükleer tomurcuk ve nükleoplazmik köprü frekanslarının belirlenmesinde çekirdek bölünmesini (karyokinez) tamamlamış ancak sitoplazmik bölünmesi (sitokinez) Sitokalsin-B ile bloke edilmiş binükleat (çift çekirdekli) hücreler değerlendirilmektedir. Her bir uygulama ve kontrol grubu için incelenen preparatlardan 2 000 (her bir donör için 1 000'er) binükleat hücre değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada mikronükleus içeren hücreler 1 mikronükleuslu ve 2 mikronükleuslu olacak şekilde tespit edilmiş ve $[1x(1MN)+2x(2MN)]/N$ (N incelenen toplam hücre sayısı) formülü kullanılarak hücre başına düşen MN sayısı (MN/hücre) belirlenmiştir. Ayrıca nükleer tomurcuk (NT) ve nükleoplazmik köprü (NPK) içeren binükleat hücrelerin yüzdesi de belirlenmiştir. MN, NT ve NPK'lerin gözlenebilmesi için mikroskopta sayımlar 1 000X büyütmede yapılmıştır. Gözlenen mikronükleus, nükleer tomurcuk ve nükleoplazmik köprülerin fotoğraf çekimlerinin yapılabilmesi için, MC170 HD kamera eklentili Leica DM LB2 mikroskopta Leica V4.7 yazılım programı kullanılmıştır.

Sitokinez Blok Proliferasyon İndeksi (CBPI) belirlenirken her bir konsantrasyonda 1 000 (her donörden 500'er) hücre değerlendirilmiştir. Hücreler 1 çekirdekli (1N), 2 çekirdekli (2N), 3 çekirdekli (3N) ve 4 çekirdekli (4N) şeklinde tespit edilmiş ve $[1x(1N)+2x(2N)+3x(3N)+4x(4N)]/n$ (n incelenen toplam hücre sayısı) formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır.

İzole edilen insan lenfositlerindeki çalışmalar

Komet testi

Bu çalışmada, Üleksit'in tek başına insan periferik lenfositlerinde DNA hasarı oluşturma potansiyeli ve ayrıca, oksidan bir bileşik olan hidrojen peroksit (H_2O_2) tarafından oluşturulan DNA hasarına karşı olası antigenotoksik/koruyucu/iyileştirici etkileri de incelenmiştir. Bu amaçla, aşağıdaki deney protokolleri kullanılmıştır;

1. Üleksit tek başına: 2,5, 5, 10 ve 20 $\mu g/mL$
2. UX + H_2O_2 [UX (yukarıdaki 4 farklı konsantrasyon) + H_2O_2 (100 μM)]
3. Negatif kontrol (distile su)
4. Pozitif kontrol, H_2O_2 (100 μM)

Komet testinde, Singh ve diğerlerinin (1988) protokolü, bazı modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. Donörlerden alınan kanın 100'er μL 'si, PBS ile süspanse edilmiş ve lenfositler, bir lenfosit ayırma ortamı kullanılarak tam kandan izole edilmiştir. İzole lenfositler, yukarıdaki protokollerde belirtildiği şekilde etüvde 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, lenfositler santrifüjlenmiş ve PBS içinde yeniden süspanse edilmiştir. Lenfositler düşük erime ısıları agar ile karıştırıldıktan sonra, önceden yüksek erime ısıları agar ile kaplanmış olan lamalar üzerine yayılmıştır. Preparatlar 20-25 dk. buzdolabında bekletildikten sonra soğuk lisis çözeltisinde (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, pH = 10, 10% DMSO ve 1% Triton X-100 ilave edilir) +4°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra preparatlar elektroforez tamponunda (300 mM NaOH, 1 mM EDTA, pH>13) 20 dakika bekletilmiştir. Ardından, 25 V, 300 mA'da 20 dakika süreyle elektroforez uygulanmıştır. Preparatlar 0,4 M Tris (pH 7,5) ile nötralizasyona tabii tutulduktan sonra, 20 $\mu g/mL$ etidyum bromür ile boyanmıştır.

Komet testinin değerlendirilmesi

Komet testinin değerlendirilebilmesi amacıyla her uygulama ve kontrol grubu için 200 (her bir donör için 100'er) hücre/nükleoid incelenmiştir. Her konsantrasyon için iki lamdan sayım yapılmıştır. Her lam, bir uyarma filtresi (546 nm), bir bariyer filtresi (590 nm) ve Basler Vision kamera ile donatılmış Olympus BX51 floresan mikroskop kullanılarak "Comet Assay

IV”, Perceptive Instruments Ltd., UK analiz sistemi aracılığıyla X400 büyütmede incelenmiştir. Gözlenen hasarların derecesi, % kuyruk yoğunluğu, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti cinsinden değerlendirilmiştir.

İyileştirme düzeyinin belirlenmesi

Bu tez çalışmasında UX’in MMC, MMS ve H₂O₂ kaynaklı hasara karşı iyileştirme yüzdesi, Eşitlik 3.1’de gösterilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{İyileştirme} = \frac{(\text{Pozitif kontrol}) - (\text{UX} + \text{Genotoksin})}{(\text{Pozitif kontrol}) - (\text{Negatif kontrol})} \times 100 \quad (3.1)$$

İstatiksel analizler

Bu çalışmada kullanılan UX’in tek başına ve UX+MMC, UX+MMS ve UX+H₂O₂ eş zamanlı uygulama gruplarından elde edilen verilerin, negatif ve pozitif kontrol (MMC, MMS ve H₂O₂) gruplarından elde edilen verilerle karşılaştırılması amacıyla SPSS 20.0 bilgisayar programı kullanılmıştır. Kontrol gruplarına kıyasla anlamlı değişiklikler gözlenen uygulama grupları için doz-yanıt ilişkisini saptamak amacıyla, aynı program ile regresyon analizi gerçekleştirilmiştir.

Kontrol ve uygulama gruplarından elde edilen değerleri karşılaştırmak amacıyla, anormal hücre frekansı, hücre başına düşen kromozom anormalliği, mikronükleus, nükleer tomurcuk, nükleoplazmik köprü, mitotik indeks, replikasyon indeksi ve mitotik indeks, replikasyon indeksi ve sitokinez blok proliferasyon indeksi için Z-testi, kardeş kromatit değişimi ve komet testi için One-Way ANOVA testi kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Kromozom Anormallikleri (KA) Testi Bulguları

Üleksit (UX), Üleksit+Mitomisin C (UX+MMC) ve Üleksit+Metil Metansülfonat'ın (UX+MMS) kromozom anormallikleri üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla, hem UX'in 2,5; 5; 10 ve 20 µg/mL'lik konsantrasyonları tek başına ve hem de MMC'nin 0,20 µg/mL'lik ve MMS'nin 6,60 µg/mL'lik konsantrasyonları ile insan periferik lenfositlerine 24 ve 48 saat boyunca eş zamanlı olarak uygulanmıştır.

24 saatlik uygulama

UX'in 24 saatlik tek başına uygulamasında, 2,5 µg/mL'lik konsantrasyonda, kromozom anormalliği frekansı ve KA/Hücre oranı, negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde düşüktür (anormal hücre yüzdesi için $r=0,157$; hücre başına düşen anormallik sayısı için $r=0,000$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2). Diğer konsantrasyonlarda (5, 10 ve 20 µg/mL), bu anormalliklerin düzeyinde bir miktar artış olsa da bunların hiçbirisi, negatif kontrole kıyasla anlamlı değildir. UX'in 24 saat boyunca, tek başına uygulamalarında, lenfositlerde, 4 tip yapısal (kromatit ve kromozom kırığı, fragment ve kardeş kromatitlerde birleşme) ve 2 tip sayısal (poliploidi ve endoreduplikasyon) kromozom anormalliği gözlenmiştir.

Antikanser ilaç olan MMC, 24 saatlik uygulamada, negatif kontrole kıyasla hem anormal hücre frekansında ve hem de KA/Hücre düzeyinde anlamlı artışa sebep olmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2). MMC, insan lenfositlerinde kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment ve disentrik kromozom olmak üzere 4 tip yapısal anormallik ve sadece 1 hücrede endoreduplikasyon şeklinde tek tip sayısal anormallik oluşturmuştur (Resim 4.1).

Diğer antikanser ilaç olan MMS'nin 24 saatlik uygulamasında da hem anormal hücre frekansında ve hem de KA/Hücre oranında, negatif kontrole kıyasla anlamlı artışlar tespit edilmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2). MMS, insan lenfositlerinde 4 tip yapısal (kromatit ve kromozom kırığı, fragment ve kardeş kromatitlerde birleşme) ve 1 hücrede tek tip sayısal (poliploidi) kromozom anormalliği oluşturmuştur (Resim 4.1). Diğer yandan, UX'in kullanılan hiçbir konsantrasyonu (2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL) ne anormal hücre frekansında ne de KA/Hücre düzeyinde, negatif kontrole kıyasla, anlamlı bir artış

oluşturmadığı gibi, 2,5 µg/mL’lik konsantrasyondaki düşüşlerin, negatif kontrole kıyasla anlamlı olduğu belirlenmiştir (anormal hücre yüzdesi için $r=0,157$; hücre başına düşen anormallik sayısı için $r=0,000$).

Çizelge 4.1’de, UX+MMS’nin insan lenfositlerinde 24 saat boyunca eş zamanlı uygulamasının sonuçları da görülmektedir. Bu uygulamalarda hem anormal hücre frekansında hem de hücre başına düşen anormallik sayısında tüm uygulama konsantrasyonlarında, pozitif kontrole (MMS) kıyasla, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma tespit edilmiştir. Bu azalma, doz artışıyla zayıf düzeyde korelasyon göstermiştir (anormal hücre frekansı için $r=-0,401$ ve KA/Hücre için $r=-0,45$) (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Resim 4.1).

Çizelge 4.1’de, UX+MMC’nin insan periferik lenfositlerinde 24 saat boyunca eş zamanlı uygulaması sonucunda, pozitif kontrole kıyasla hem anormal hücre frekansında ve hem de KA/Hücre düzeyinde, anlamlı düşüşler oluşturduğu görülmektedir (anormal hücre yüzdesi için $r=-0,638$; hücre başına düşen anormallik sayısı için $r=-0,688$). UX+MMC uygulamasında, kromatit ve kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme, disentrik kromozom ve kromatit değişimi olmak üzere 6 farklı yapısal kromozom anormalliği tespit edilmiştir. Eş zamanlı uygulamada, UX’in sadece 10 µg/mL’lik dozunda sayısal bir anormallik olan poliploidi gözlenmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Resim 4.1).

Bu tez çalışmasında, üleksitin, MMC ve MMS alkileyici ajanlarının sebep olduğu hasara karşı iyileştirici potansiyel sergilediği tespit edilmiştir. 24 saatlik UX+MMC eş zamanlı uygulamasında, üleksitin, 2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL’lik konsantrasyonları, MMC’nin tetiklediği anormal hücre frekansını, sırasıyla %107,69, %107,69, %103,85 ve %96,15 düzeylerinde iyileştirmiştir. En güçlü iyileştirme 2,5 ve 5 µg/mL’lik konsantrasyonlarda gözlenmiştir. KA/hücre oranında ise UX’in iyileştirme yüzdeleri sırasıyla, %115,79, %115,79, %105,26 ve %115,79 şeklindedir. Anormal hücre frekansında olduğu gibi KA/hücre oranında da UX’in 2,5 ve 5 µg/mL’lik konsantrasyonları en güçlü iyileştirmeyi gerçekleştirmiştir.

Üleksit+MMS’nin 24 saatlik eş zamanlı uygulamasında ise UX, MMS’nin oluşturduğu anormal hücre frekansını, 2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL’lik konsantrasyonlarda, sırasıyla, %125, %100, %110 ve %75 düzeyinde iyileştirmiştir. En etkili iyileştirmenin 2,5 µg/mL’lik

konsantrasyonda meydana geldiği tespit edilmiştir. UX, KA/hücre oranında ise MMS kaynaklı hasara karşı sırasıyla %142,86, %114,28, %114,28 ve %92,86 düzeyinde iyileştirme sağlamıştır. UX'in en küçük konsantrasyonu olan 2,5 µg/mL en güçlü iyileştirmeye sebep olmuştur.

48 saatlik uygulama

UX'in ve antikanser ilaçlar olan MMC ve MMS'nin, 48 saatlik uygulama sonuçları hem tek başına ve hem de eş zamanlı olarak, Çizelge 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Resim 4.1'de gösterilmiştir.

UX'in 48 saatlik tek başına uygulamasında, insan lenfositlerinde oluşan KA frekansı ve KA/Hücre düzeyi, negatif kontrole kıyasla oldukça düşük düzeydedir. Bu düşüş, 2,5 µg/mL'de, negatif kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir (anormal hücre frekansı için $r=-0,267$ ve KA/Hücre için $r=-0,351$). En yüksek konsantrasyon olan 20 µg/mL'de dahi, anormallik frekansı ve KA/Hücre düzeyi, negatif kontrolden oldukça düşüktür. Ancak bu düşüşler, doz artışı ile bağlantılı değildir. UX'in tek başına 48 saatlik uygulaması sonucunda, insan lenfositlerinde oluşan yapısal kromozom anormallikleri, kromatit ve kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve halka (sadece 1 adet) kromozomdur. Üleksit, sadece 2 hücrede sayısal anormallik olan poliploidi oluşturmuştur.

Bu 2 farklı antikanser ilaç (MMC ve MMS), 48 saatlik uygulamada, negatif kontrole kıyasla hem anormal hücre frekansında ve hem de KA/Hücre düzeyinde anlamlı artışa sebep olmuştur. MMC, insan lenfositlerinde 6 farklı yapısal kromozom anormalliği oluşturmuştur. Bunlar, kromatit ve kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme, disentrik ve halka kromozomdur. MMS de disentrik ve halka kromozom dışındaki diğer tüm yapısal kromozom anormalliklerini oluşturmuştur. Ayrıca hem MMC hem de MMS, sayısal anormalliklerden poliploidi oluşturmuştur (Çizelge 4.2).

UX'in bütün konsantrasyonları (2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL), MMC ile birlikte hem KA frekansında ve hem de KA/Hücre oranında, negatif kontrole kıyasla anlamlı düşüşlere sebep olmuştur. Bu düşüşlerin doz artışıyla zayıf düzeyde korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (anormal hücre frekansı için $r=-0,617$, KA/Hücre için $r=-0,614$). UX+MMC uygulamasında,

kromatit ve kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve 1 adet disentrik kromozom gözlenmiştir. Ayrıca 1 adet poliploidi tespit edilmiştir.

48 saatlik Üleksit+MMS uygulamasında da negatif kontrole kıyasla hem kromozom anormalliklerinin frekansında hem de KA/Hücre oranında, negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde düşüşler olduğu belirlenmiştir. Bu düşüşlerin doz artışına bağlılığı, anormal hücre yüzdesi için $r=-0,341$, KA/Hücre için $r=-0,702$ olduğu belirlenmiştir. UX + MMS'nin insan periferik lenfositlerinde, 48 saat boyunca eş zamanlı uygulaması sonucunda, kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve disentrik kromozom olmak üzere 5 farklı yapısal; poliploidi ve endoreduplikasyon olmak üzere 2 farklı sayısal anormallik oluşturmuştur.

MMC'nin 48 saatlik uygulamada oluşturduğu anormal hücre frekansına karşı UX'in tüm konsantrasyonları sırasıyla %125, %120,83, %104,17 ve %112,5 düzeyinde iyileştirme sağlamıştır. UX+MMC uygulamasında KA/hücre oranındaki iyileştirme düzeyleri sırasıyla, %74,36, %66,7, %64,10 ve %64,10 şeklindedir. Hem anormal hücre frekansında hem de KA/hücre oranında en güçlü iyileştirme 2,5 µg/mL'lik konsantrasyonda gerçekleşmiştir.

Üleksit+MMS eş zamanlı uygulamasında, Üleksit, MMS'nin oluşturduğu hasarları, sırasıyla, %142,10, %94,74, %131,58 ve %84,21 düzeyinde iyileştirmiştir. En etkili iyileştirmenin yine 2,5 µg/mL'lik konsantrasyonda meydana geldiği tespit edilmiştir. UX+MMS uygulamasında, KA/hücre oranında, Üleksitin oluşturduğu iyileştirme düzeyleri sırasıyla, %76,5, %64,7, %44,1 ve %100 şeklinde bulunmuştur. En yüksek doz olan 20 µg/mL'lik konsantrasyon en güçlü iyileştirmeyi sağlamıştır.

Çizelge 4.1. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulaması sonucu oluşan kromozom anormallikleri ve frekansları

Uygulama grubu	Uygulama		Anormallikler										K.A/Hücre ± SH	%İyileştirme
	Süre (Saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	Yapısal					Sayısal						
			ktk	kzm	f	kkb	ds	ktk	p	er	Anormal hücre ± SH (%)	%İyileştirme		
Kontrol	24	0,00	4	3	4	2	-	-	2	-	7,50±1,86	-	0,075±0,01	-
P.K (MMC)	24	0,20	20	4	13	-	3	-	-	1	20,50±2,85***	-	0,170±0,02**	-
P.K (MMS)	24	6,60	8	3	21	2	-	-	1	-	17,50±2,68**	-	0,145±0,02*	-
Üleksit	24	2,5	1	1	2	1	-	-	-	-	2,50±1,10*	-	0,025±0,01*	-
	24	5	1	2	5	-	-	-	1	-	4,50±1,46	-	0,040±0,01	-
	24	10	2	1	3	2	-	-	1	2	5,50±1,61	-	0,055±0,01	-
	24	20	4	2	2	4	-	-	1	-	7,00±1,80	-	0,060±0,01	-
Üleksit+MMC	24	2,5	6	1	4	1	1	-	-	-	6,50±1,74***	107,69	0,060±0,01***	115,79
	24	5	6	1	5	1	-	1	-	-	6,50±1,74***	107,69	0,060±0,01***	115,79
	24	10	6	3	4	-	-	-	1	-	7,00±1,80***	103,85	0,070±0,01**	105,26
	24	20	7	2	5	-	2	-	-	-	8,00±1,91***	96,15	0,060±0,01***	115,79
Üleksit+MMS	24	2,5	4	1	3	1	-	-	1	-	5,00±1,54***	125	0,045±0,01***	142,86
	24	5	3	3	5	1	-	-	-	-	6,50±1,74***	100	0,065±0,01**	114,28
	24	10	4	3	7	1	-	-	-	-	7,50±1,86***	110	0,065±0,01**	114,28
	24	20	6	1	9	-	2	-	1	-	10,00±2,12†	75	0,080±0,01†	92,86

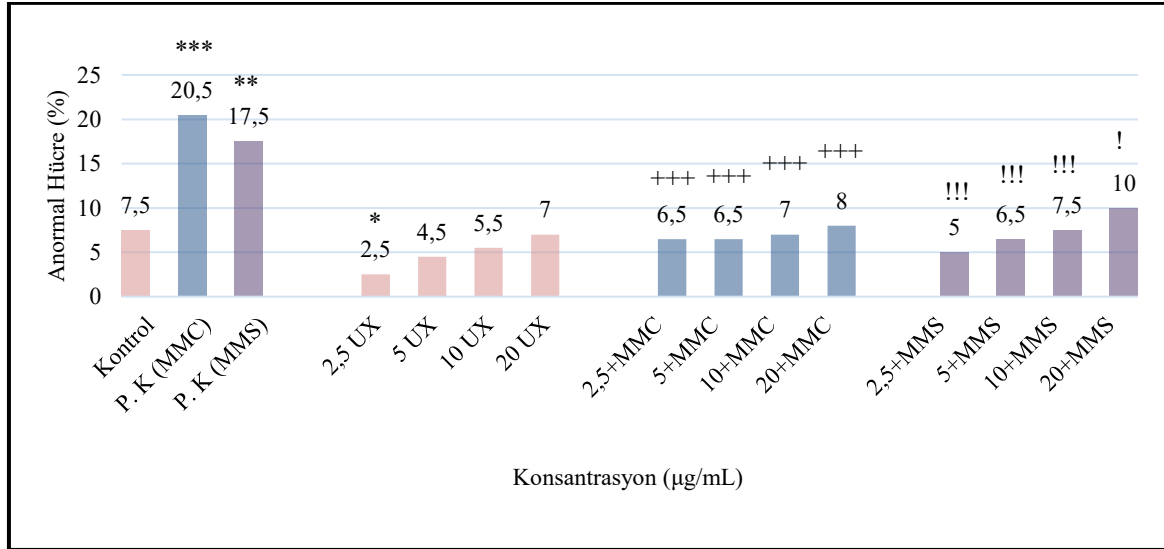
ktk: kromatiti kırığı, kzk: kromozom kırığı, f: fragment, kkb: kardeş kromatitlerde birleşme, ds: disentrik kromozom, ktd: kromatiti değişimi, p: poliploidi, er: endoreduplikasyon, SH: standart hata, P.K: pozitif kontrol

ktk: kromatit kırığı, kzk: kromozom kırığı, f: fragment, kkb: kardeş kromatitlerde birleşme, ds: disentrik kromozom, ktd: kromatit değişimi, p: poliploidi, er: endoreduplikasyon, SH: standart hata, P.K: pozitif kontrol

Kontrolle kıyasla *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 (z testi)

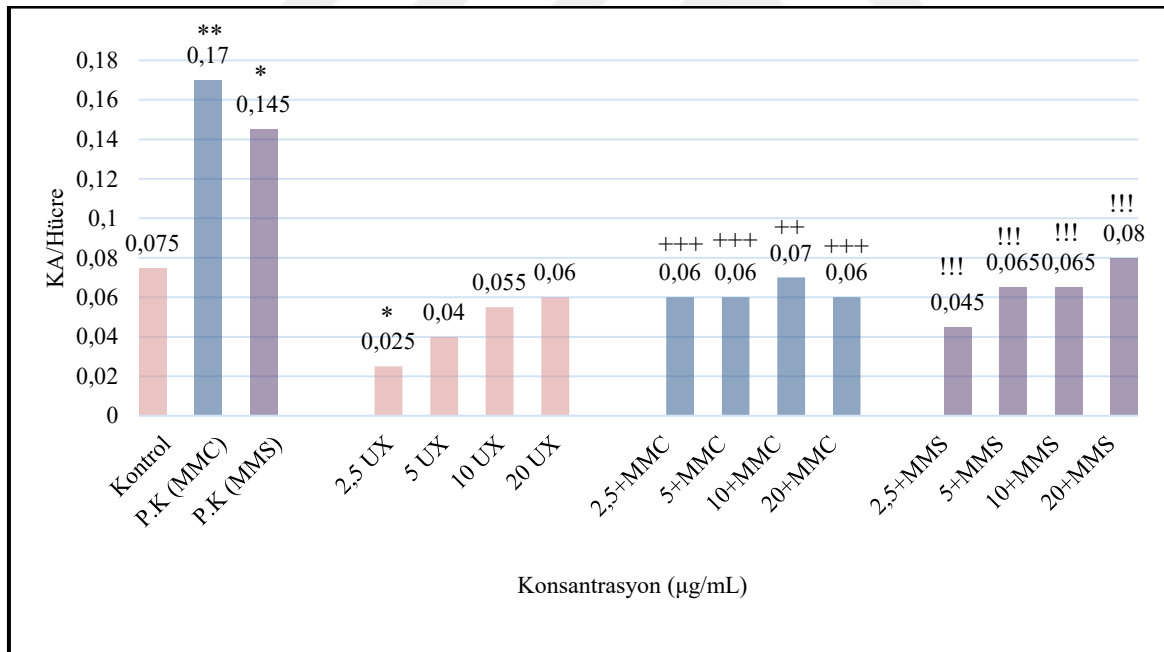
Pozitif kontrole (MMC) kıyasla ***p<0,001 (z testi)

Pozitif kontrole (MMS) kıyasla *p<0,05, **p<0,001 (z testi)



Şekil 4.1. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının anormal hücre frekansına etkisi

Kontrolle kıyasla *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001
 Pozitif kontrole (MMC) kıyasla +++p<0,001
 Pozitif kontrole (MMS) kıyasla !p<0,05, !!!p<0,001 (z testi)



Şekil 4.2. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının KA/hücre frekansına etkisi

Kontrolle kıyasla *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 (z testi)
 Pozitif kontrole (MMC) kıyasla ++p<0,01, +++p<0,001 (z testi)
 Pozitif kontrole (MMS) kıyasla !!!p<0,001(z testi)

Çizelge 4.2. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulaması sonucu oluşan kromozom anormallikleri ve frekansları

Uygulama grubu	Uygulama		Anormallikler										Anormal hücre ± SH (%)	%İyileştirme	K A/Hücre ± SH	%İyileştirme
	Süre (Saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	Yapısal					Sayısal								
			ktk	kzk	f	kkb	ds	h	p	er						
Kontrol	48	0,00	5	5	4	3	1	-	1	1	1	10,00±2,12	-	0,010±0,02	-	
P. K (MMC)	48	0,20	11	7	13	7	2	1	3	-	-	22,00±2,92***	-	0,205±0,02**	-	
P. K (MMS)	48	6,60	8	3	21	2	-	-	1	-	-	19,50±2,80**	-	0,180±0,02*	-	
Üleksit	48	2,5	3	1	1	-	-	-	-	-	-	2,50±1,10**	-	0,025±0,01**	-	
	48	5	1	1	5	2	-	-	1	-	-	5,50±1,61	-	0,050±0,01	-	
	48	10	5	1	2	2	-	1	1	-	-	6,00±1,67	-	0,055±0,01	-	
	48	20	6	-	5	1	-	-	-	-	-	6,00±1,00	-	0,055±0,01	-	
Üleksit+MMC	48	2,5	3	3	4	2	1	-	1	-	-	7,00±1,80***	125	0,060±0,01***	74,36	
	48	5	8	2	3	2	-	-	-	-	-	7,50±1,86***	120,83	0,075±0,01***	66,70	
	48	10	9	4	5	1	-	-	-	-	-	9,50±2,07***	104,17	0,080±0,01***	64,10	
	48	20	3	3	6	5	-	-	-	-	-	8,50±1,97***	112,50	0,080±0,01***	64,10	
Üleksit+MMS	48	2,5	1	1	7	-	3	-	-	-	-	6,00±1,67***	142,10	0,050±0,01***	76,50	
	48	5	3	2	6	1	-	-	2	-	-	7,00±1,80***	94,74	0,070±0,01***	64,70	
	48	10	8	4	6	-	-	-	2	1	-	10,50±2,16†	131,58	0,105±0,02†	44,10	
	48	20	6	2	13	1	1	-	-	-	-	11,50±2,25†	84,21	0,010±0,02†	100	

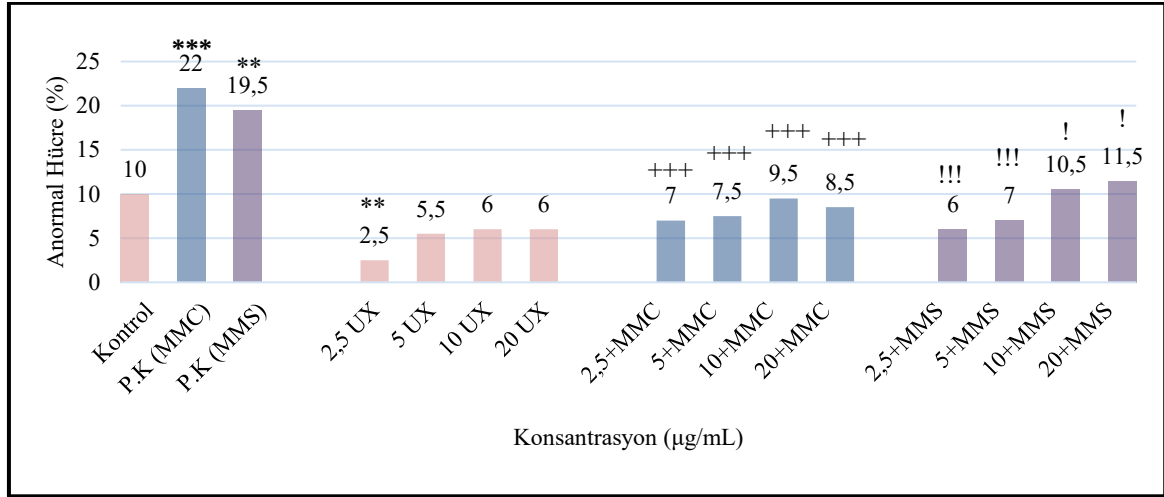
ktk: kromatit kırığı, kzk: kromozom kırığı, f: fragment, kkb: kardeş kromatitlerde birleşme, ds: disentrik kromozom, ktd: kromatit değişimi, h: halka, p: poliploidi, er: endoreduplikasyon, SH: standart hata, P.K.: pozitif kontrol

ktk: kromatit kırığı, kzk: kromozom kırığı, f: fragment, kkb: kardeş kromatitlerde birleşme, ds: disentrik kromozom, ktd: kromatit değişimi, h: halka, p: poliploidi, er: endoreduplikasyon, SH: standart hata, P.K: pozitif kontrol

Kontrolle kıyasla *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

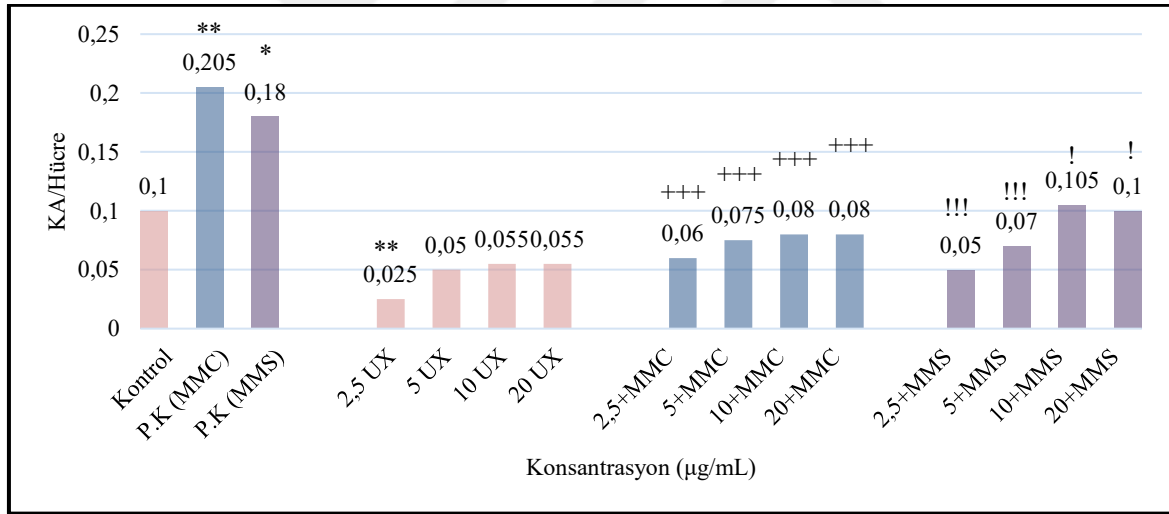
Pozitif kontrole (MMC) kıyasla +++p<0,001

Pozitif kontrole (MMS) kıyasla [†]p<0,05, ^{††}p<0,001 (z testi)



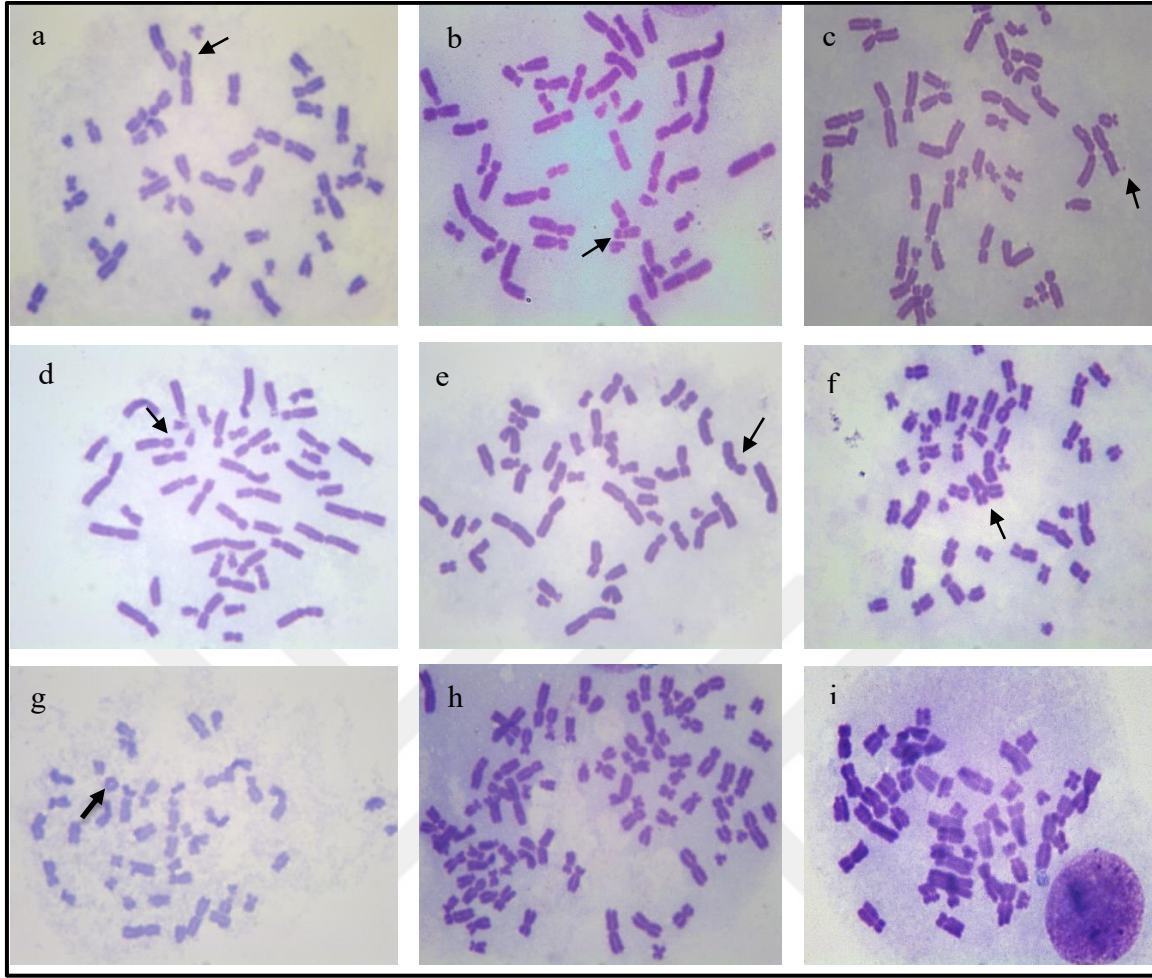
Şekil 4.3. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının anormal hücre frekansına etkisi

Kontrolle kıyasla * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (z testi)
 Pozitif kontrole (MMC) kıyasla +++ $p < 0,001$ (z testi)
 Pozitif kontrole (MMS) kıyasla ! $p < 0,05$, !!! $p < 0,001$ (z testi)



Şekil 4.4. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının KA/Hücre frekansına etkisi

Kontrolle kıyasla * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (z testi)
 Pozitif kontrole (MMC) kıyasla +++ $p < 0,001$ (z testi)
 Pozitif kontrole (MMS) kıyasla ! $p < 0,05$, !!! $p < 0,001$ (z testi)



Resim 4.1. UX, UX+MMC ve UX+MMS uygulaması sonucunda gözlenen kromozomal anormallik tipleri a) kromatit kırığı, b) kromozom kırığı, c) fragment, d) kardeş kromatitlerde birleşme, e) disentrik kromozom, f) kromatit değişimi, g) halka kromozom, h) poliploidi ve i) endoreduplikasyon

4.2. Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Testi Bulguları

UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin kardeş kromatit değişimi üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla, insan periferik lenfositleri, hem UX'in 2,5, 5, 10 ve 20 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları ile tek başına ve hem de MMC'nin 0,20 $\mu\text{g/mL}$ 'lik ve MMS'nin 6,60 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları ile eş zamanlı şekilde, 24 ve 48 saat muamele edilmiştir.

Hem UX'in hem de antikanser ilaçlar olan MMC ve MMS'nin tek başına ve ayrıca, UX +MMC ve UX+MMS'nin eş zamanlı şekilde 24 ve 48 saatlik uygulamalarının, insan lenfositlerinde, minimum ve maksimum kardeş kromatit değişimi, KKD/Hücre frekansı, birinci (M1), ikinci (M2) ve üçüncü (M3) mitozu geçiren hücreler, replikasyon indeks ve

mitotik indeks üzerindeki etkileri, Çizelge 4.3-4.4, Şekil 4.5-4.8 ve Resim 4.2’de gösterilmiştir.

24 saatlik uygulama

Hem MMC ve hem de MMS, insan lenfositlerinde, 24 saatlik uygulamada, KKD/Hücre düzeyini, negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde artırmıştır. Hücre başına, MMC, 4-27 arasında, MMS ise 5-27 arasında KKD oluşturmuştur. Diğer yandan hem MMC ve hem de MMS, mitotik indeksi negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde düşürmüştür.

UX’in tek başına 24 saatlik uygulamasında 1-20 arasında KKD gözlenmiş olmasına rağmen, gözlenen KKD/Hücre düzeyinin, negatif kontrol düzeyinin altında veya çok yakın olduğu belirlenmiştir. En yüksek KKD sayısı, en yüksek konsantrasyonda (20 µg/mL) gözlenmiştir. UX’in tek başına uygulamalarında, negatif kontrole kıyasla, hiçbir konsantrasyonda, M1, M2 ve M3 düzeylerinde, Rİ’de ve Mİ’de anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir.

Diğer yandan, UX+MMC’nin 24 saatlik eş zamanlı uygulamalarında, lenfositlerde 2-25 arasında KKD olduğu belirlenmiştir. Eş zamanlı uygulamada, pozitif kontrolün tek başına uygulamasına kıyasla, KKD/Hücre oranında azalmalar meydana gelmiştir. Bu azalmaların, 5 ve 10 µg/mL’lik konsantrasyonlarda istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir. Doz artışı ve KKD/Hücre düzeyindeki azalmaların, negatif yönde zayıf korelasyon oluşturduğu belirlenmiştir ($r=-0,566$). UX+MMC eş zamanlı uygulaması, pozitif kontrole kıyasla, M1, M2, M3 düzeylerinde, replikatif indekste ve mitotik indekste anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır.

UX+MMS’nin 24 saatlik eş zamanlı uygulamasında, lenfositlerde 1-29 arasında kardeş kromatit değişimi olduğu tespit edilmiştir. UX+MMS’nin birlikte uygulaması sonucunda, UX’in en yüksek dozu (20 µg/mL) dışındaki diğer dozlarda (2,5; 5 ve 10 µg/mL), pozitif kontrole (MMS) kıyasla, KKD/Hücre oranında düşüşler olduğu gözlenmiştir. Ancak, bu düşüşlerin, sadece 2,5 µg/mL’lik üleksit konsantrasyonunda anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($r=0,294$). UX+MMS uygulaması, MMS’nin tek başına uygulamasına kıyasla, bütün konsantrasyonlarda, mitotik indekste anlamlı artışlara sebep olmuştur. Ancak bu artış, doz artışı ile zayıf korelasyon göstermiştir ($r=0,462$). Diğer yandan, M1, M2 ve M3 düzeylerinde ve replikatif indekste anlamlı değişimler gözlenmemiştir.

48 saatlik uygulama

Pozitif kontrol olarak kullanılan MMC ve MMS'nin her ikisi de insan lenfositlerinde, KKD/Hücre düzeyini, negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde artırmıştır. MMC ve MMS, hücre başına sırasıyla 5-27 ve 6-27 arasında kardeş kromatit değişimi oluşturmuştur. Diğer yandan, her iki antineoplastik ajan, mitotik indeksi negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde düşürmüştür. Ancak, MMC ve MMS, negatif kontrole kıyasla, M1, M2 ve M3 düzeylerinde ve Rİ'de anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır.

UX'in insan lenfositlerinde tek başına 48 saatlik uygulaması, 1-18 arasında kardeş kromatit değişimi oluşturmuştur. UX uygulaması sonucunda, KKD/Hücre düzeyi, en düşük konsantrasyon olan 2,5 µg/mL'de negatif kontrolden anlamlı düzeyde düşüktür. Diğer konsantrasyonlarda hafif bir artış olmakla beraber, bunların hiçbiri negatif kontrole kıyasla anlamlı değildir. Üleksit tek başına M1, M2 ve M3 düzeylerinde ve replikatif indekste anlamlı değişiklik oluşturmamıştır. Ancak, 2,5 ve 10 µg/mL'lik konsantrasyonlarda, negatif kontrole kıyasla, Mİ'te anlamlı düşüşlere sebep olmuştur ($r=-0,373$).

UX+MMC'nin 48 saat boyunca eş zamanlı uygulaması, hücrelerde 2-22 arasında KKD oluşturmuştur. Eş zamanlı uygulamada, MMC'nin tek başına etkisine kıyasla, KKD/Hücre oranında düşüşler tespit edilmiştir. Bu düşüşler 2,5 ve 20 µg/mL'lik konsantrasyonlarda anlamlı olup, doz artışı ile negatif yönde zayıf korelasyon göstermiştir ($r=-0,543$). UX, MMC'nin sebep olduğu mitotik indekste düşüşü bir dereceye kadar yükseltmiş olmasına rağmen, bu artışların hiçbiri anlamlı değildir. UX+MMC eş zamanlı uygulaması, M1, M2, M3 düzeyinde ve Rİ'de anlamlı değişiklikler oluşturmamıştır.

UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasında, hücrelerde 1-27 arasında KKD gözlenmiştir. UX'in MMS ile birlikte uygulaması, 10 µg/mL'lik konsantrasyon haricindeki diğer bütün konsantrasyonlarda, MMS'nin tek başına uygulamasına kıyasla, KKD/Hücre oranını düşürmüştür. Bu düşüş, 2,5 ve 5 µg/mL'lik konsantrasyonlarda anlamlıdır ($r=0,271$). UX, MMS'nin mitotik indekste sebep olduğu anlamlı düşüşü bir miktar yükseltmiş olmakla beraber, bunların hiçbiri anlamlı değildir. UX+MMS eş zamanlı muamelesi, hücrelerde, M1, M2, M3 düzeylerini ve replikatif indeksi anlamlı şekilde değiştirmemiştir.

Çalışma sonuçlarına göre, üleksitin hem MMC'nin ve hem de MMS'nin oluşturduğu hücre başına düşen kardeş kromatit değişimi (KKD/hücre) frekansını iyileştirdiği belirlenmiştir. 24 saatlik UX+MMC eş zamanlı uygulamasında, en güçlü iyileştirme 5 µg/mL'lik konsantrasyonda %62,07 düzeyinde gözlenmiş olup, diğer konsantrasyonlardaki (2,5, 10 ve 20 µg/mL) iyileştirme yüzdeleri sırasıyla, %41,37, %44,83 ve %38,31 şeklindedir. Diğer yandan, 24 saatlik UX+MMS eş zamanlı uygulamasında ise UX'in en yüksek konsantrasyonu olan 20 µg/mL hariç, diğer tüm konsantrasyonların (2,5, 5 ve 10 µg/mL) iyileştirme yüzdeleri sırasıyla %56,61, %38,36 ve %13,75 şeklindedir (Çizelge 4.3).

48 saatlik eş zamanlı UX+MMC eş zamanlı uygulamasında ise, KKD/hücre frekansında iyileştirme yüzdeleri sırasıyla, %70,83, %38,75, %34,17 ve %66,67'dir. UX+MMS uygulamasında ise, 10 µg/mL'lik MMS konsantrasyonu hariç diğer tüm dozlarda (2,5, 5 ve 20 µg/mL) iyileşme gözlenmiş olup, bu dozlardaki iyileşme düzeyleri %87,12, %95,42 ve %17,50 şeklindedir (Çizelge 4.4).

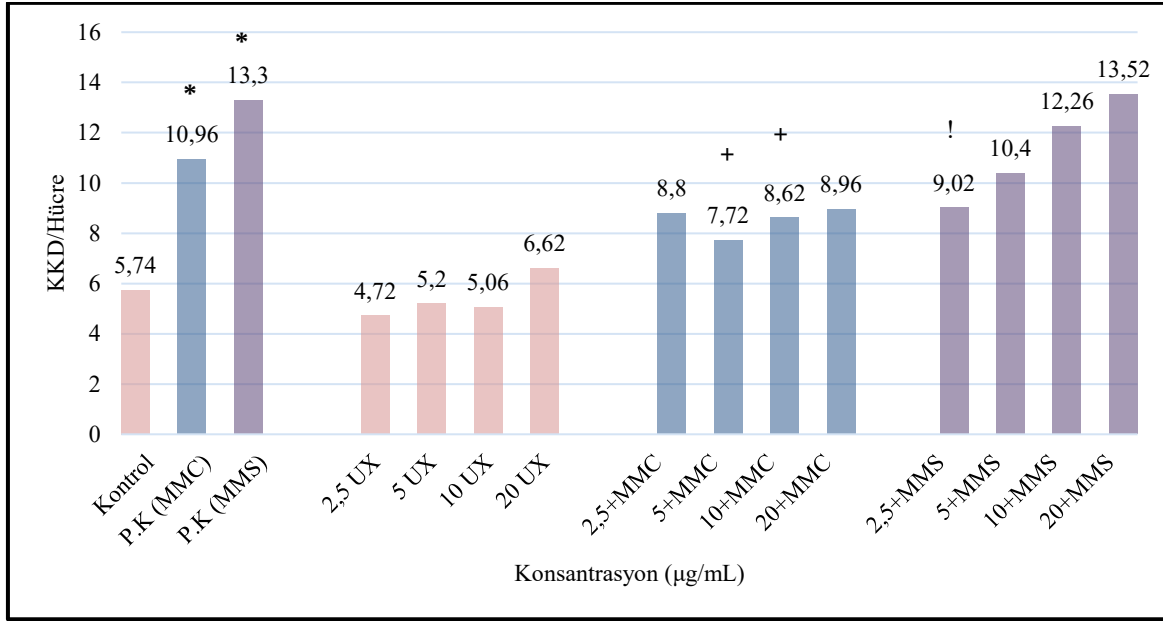
Genel çerçevede, hem 24 hem de 48 saatlik uygulama gruplarında, 2,5 ve 5 µg/mL'lik konsantrasyonların, MMC ve MMS kaynaklı KKD/hücre frekansını diğer konsantrasyonlara (10 ve 20 µg/mL) kıyasla daha fazla iyileştirici özellik sergilediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının KKD frekansı, replikasyon indeksi ve mitotik indeks üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Min-maks. KKD	KKD/Hücre ±SH	%iyileştirme	M1	M2	M3	Rİ±SH	Mİ±SH %
	Süre	Konsantrasyon (µg/mL)								
Kontrol	24	0,00	1-15	5,74±0,38	-	31	50	119	2,44±0,05	6,25±0,53
P. K (MMC)	24	0,20	4-27	10,96±0,62*	-	20	56	124	2,52±0,04	4,55±0,45 ^{al}
P. K (MMS)	24	6,60	5-27	13,30±0,76*	-	25	57	118	2,46±0,04	3,60±0,41 ^{al}
Üleksit	24	2,5	1-12	4,72±0,35	-	21	52	127	2,53±0,04	5,60±0,50
	24	5	2-13	5,20±0,34	-	12	52	136	2,62±0,04	5,80±0,51
	24	10	1-10	5,06±0,32	-	9	51	140	2,65±0,03	5,35±0,50
	24	20	2-20	6,62±0,62	-	23	52	125	2,51±0,04	6,75±0,55
Üleksit+MMC	24	2,5	2-25	8,80±0,63	41,37	35	50	115	2,40±0,05	5,10±0,48
	24	5	2-21	7,72±0,58 ⁺	62,07	18	53	129	2,56±0,04	4,45±0,45
	24	10	4-16	8,62±0,49 ⁺	44,83	10	63	127	2,59±0,04	5,20±0,48
	24	20	4-19	8,96±0,55	38,31	13	51	136	2,61±0,05	5,40±0,50
Üleksit+MMS	24	2,5	1-23	9,02±0,61 ¹	56,61	30	54	116	2,43±0,05	6,35±0,53 ^{al}
	24	5	3-24	10,40±0,75	38,36	16	53	131	2,57±0,04	5,20±0,48 ^{al}
	24	10	2-29	12,26±0,95	13,75	36	50	114	2,39±0,05	4,85±0,47 ^{al}
	24	20	7-24	13,52±0,72	-	23	50	127	2,61±0,04	5,90±0,51 ^{al}

Min.-Maks.: Minimum-Maksimum, KKD: kardeş kromatit değişimi, M1: 1. Mitoz, M2: 2. Mitoz, M3: 3. Mitoz, Rİ: replikasyon indeksi, Mİ: mitotik indeks, SH: standart hata, P.K: pozitif kontrol

Kontrolle kıyasla *p<0,05 (One-Way ANOVA testi)
Pozitif kontrole (MMC) kıyasla ¹p<0,05 (z testi)
Pozitif kontrole (MMS) kıyasla ⁺p<0,05 (z testi)
Kontrolle kıyasla ^{al}p<0,05, ^{al}p<0,001 (z testi)

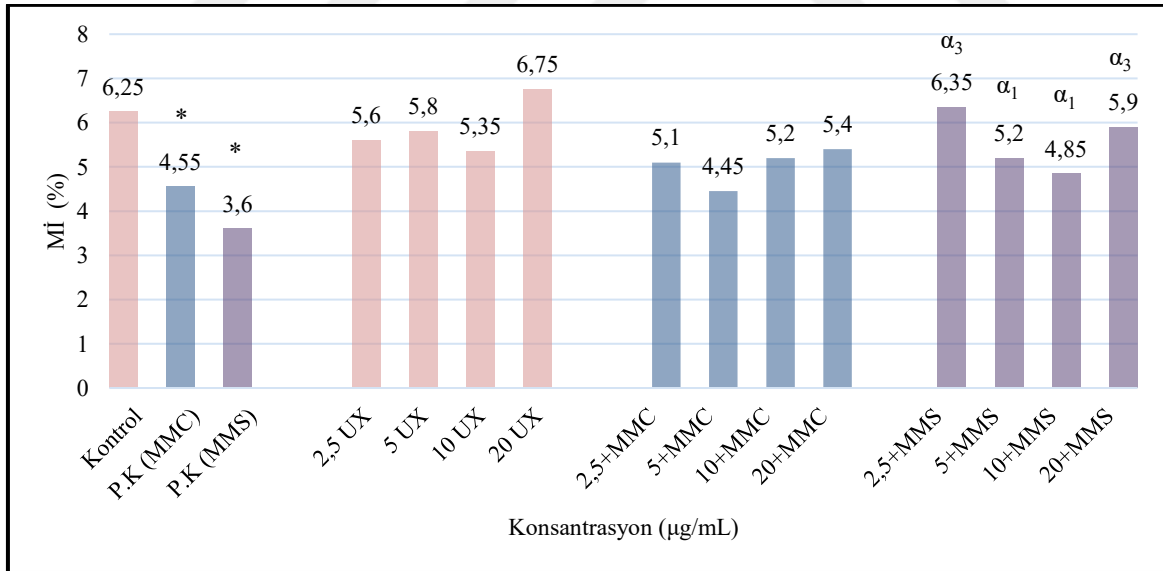


Şekil 4.5. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının KKD/hücre oranına etkisi

Kontrolle kıyasla * $p < 0,05$ (One-Way ANOVA testi)

Pozitif kontrole (MMC) kıyasla + $p < 0,05$ (One-Way ANOVA-Tukey)

Pozitif kontrole (MMS) kıyasla ! $p < 0,05$ (One-Way ANOVA-Tukey)



Şekil 4.6. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 24 saatlik uygulamasının mitotik indeks üzerine etkisi

Kontrolle kıyasla * $p < 0,05$ (OneWay ANOVA-Tukey)

Pozitif kontrole (MMS) kıyasla $\alpha_1 p < 0,05$, $\alpha_3 p < 0,001$ (z testi)

Çizelge 4.4. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının KKD frekansı, replikasyon indeksi ve mitotik indeks üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama	Min- maks. KKD	KKD/Hücre ±SH	%İyileşirme	M1	M2	M3	Rİ±SH	Mİ±SH %
	Süre	Konsantrasyon (µg/mL)							
Kontrol	48	0,00	6,52±0,37	-	21	56	123	2,56±0,04	7,60±0,59
P. K (MMC)	48	0,20	11,32±0,71*	-	22	63	115	2,46±0,05	5,50±0,50 ^{a2}
P. K (MMS)	48	6,60	13,82±0,82*	-	22	77	101	2,39±0,04	4,55±0,45 ^{a3}
Üleksit	48	2,5	5,02±0,45*	-	24	53	123	2,49±0,04	5,70±0,50 ^{a1}
	48	5	5,64±0,43	-	26	50	124	2,48±0,04	7,30±0,57
	48	10	6,02±0,34	-	19	50	131	2,56±0,04	4,55±0,45 ^{a3}
	48	20	5,82±0,27	-	16	54	130	2,57±0,04	6,70±0,55
Üleksit+MMC	48	2,5	7,92±0,34 ⁺	70,83	17	51	132	2,57±0,04	6,45±0,54
	48	5	9,46±0,46	38,75	20	59	121	2,50±0,04	5,95±0,51
	48	10	9,68±0,69	34,17	25	57	118	2,46±0,04	5,15±0,48
	48	20	8,12±0,50 ⁺	66,67	21	50	129	2,48±0,04	5,75±0,51
Üleksit+MMS	48	2,5	7,46±0,63 [!]	87,12	19	52	129	2,55±0,04	5,85±0,51
	48	5	9,24±0,71 [!]	95,42	17	59	124	2,53±0,04	5,30±0,50
	48	10	14,50±0,81	-	24	54	122	2,49±0,04	5,00±0,23
	48	20	12,98±0,59	17,50	18	57	125	2,53±0,04	5,70±0,50

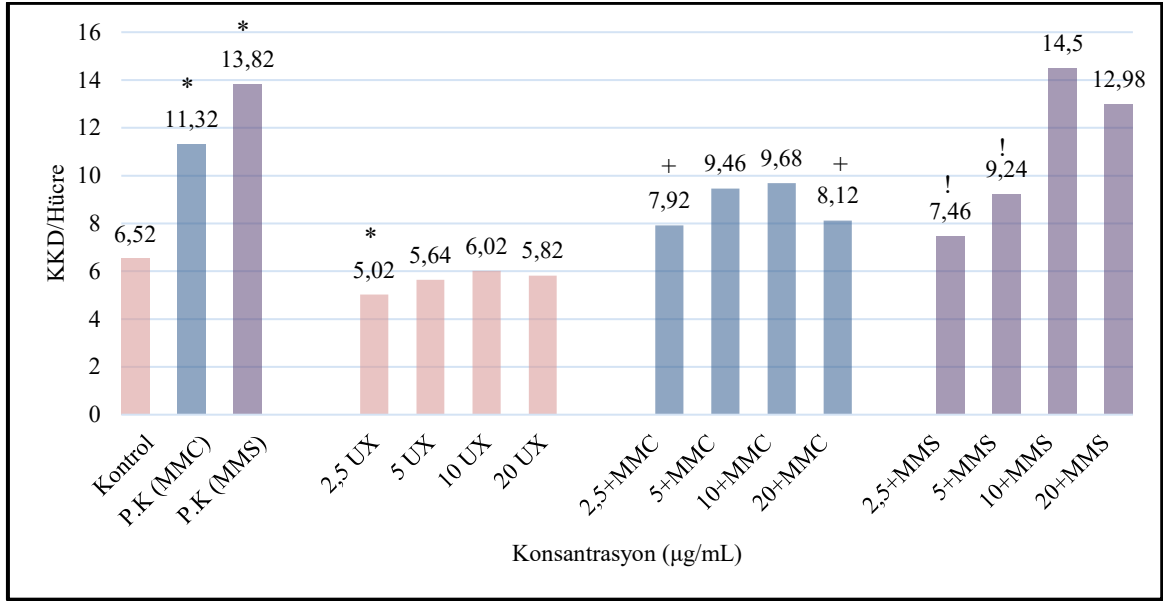
Min.-Maks.: minimum-maksimum, KKD: kardeş kromatit değişimi, M1: 1. Mitoz, M2: 2 Mitoz, M3: 3. Mitoz, Rİ: replikasyon indeksi, Mİ: mitotik indeks, SH: standart hata, P.K: pozitif kontrol

Kontrolle kıyasla^{a1} p<0,05 (OneWay ANOVA-Tukey)

Pozitif kontrole (MMC) kıyasla⁺ p<0,05 (z testi)

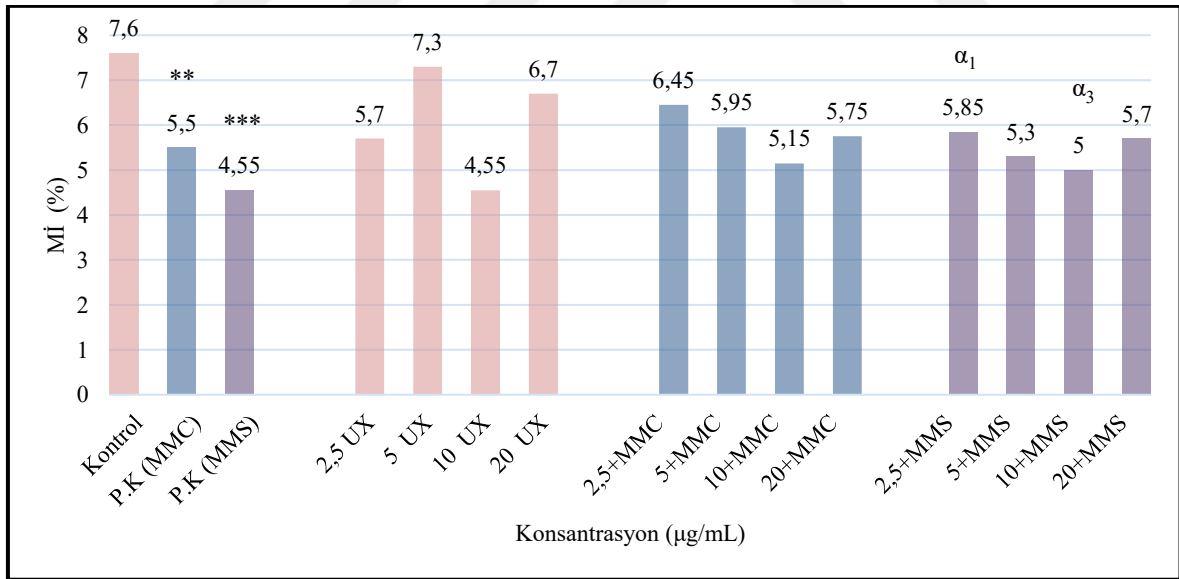
Pozitif kontrole (MMS) kıyasla^{a2} p<0,05 (z testi)

Kontrolle kıyasla^{a1} p<0,05, ^{a2} p<0,01, ^{a3} p<0,001 (z testi)



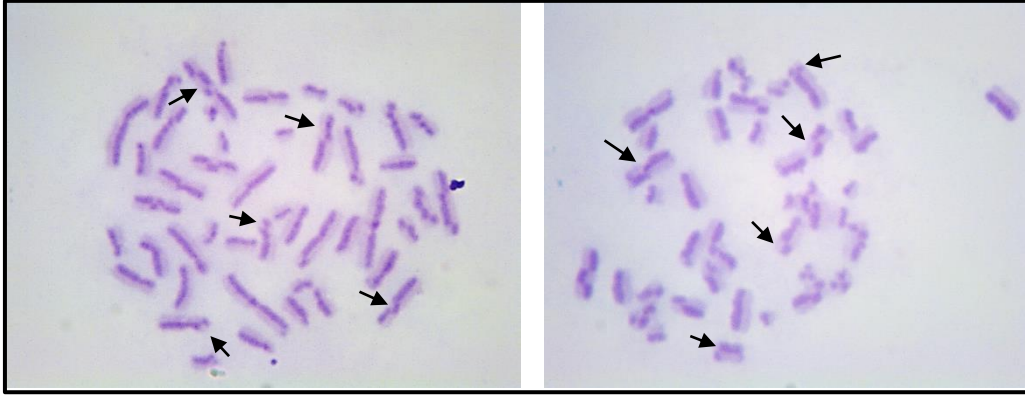
Şekil 4.7. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının KKD/Hücre oranına etkisi

Negatif kontrole kıyasla * $p < 0,05$ (One-Way ANOVA-Tukey)
 Pozitif kontrole (MMC) kıyasla + $p < 0,05$ (One-Way ANOVA- Tamhane's T2)
 Pozitif kontrole (MMS) kıyasla ! $p < 0,05$ (One-Way ANOVA-Tamhane's T2)



Şekil 4.8. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının mitotik indeks üzerine etkisi

Kontrolle kıyasla * $p < 0,05$ (OneWay ANOVA-Tukey)
 Pozitif kontrole (MMS) kıyasla $\alpha_1 p < 0,05$, $\alpha_3 p < 0,001$ (z testi)



Resim 4.2. UX, UX+MMC ve UX+MMS uygulaması sonucunda gözlenen kardeş kromatit değişimleri (oklar)

4.3. Sitokinez Blok Mikronükleus Sitom Testi Bulguları

UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin mikronükleus (MN), nükleer tomurcuk (NT), nükleoplazmik köprü (NPK) ve proliferasyon indeksi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla, insan periferik lenfositleri, hem UX'in 2,5; 5; 10 ve 20 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları ile tek başına ve hem de MMC'nin 0,20 $\mu\text{g/mL}$ 'lik ve MMS'nin 6,60 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları ile eş zamanlı şekilde 48 saat muamele edilmiştir (Çizelge 4.4).

Pozitif kontrol olarak kullanılan MMC ve MMS, insan lenfositlerinde, MN frekansı ve nükleer tomurcuk düzeyini, negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde artırmıştır, nükleoplazmik köprü düzeyinde ise anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. UX'in tek başına 48 saatlik uygulamasında, MN frekansında kontrol grubuna göre azalmalar oluşmakla beraber, bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Diğer yandan, UX+MMC'nin eş zamanlı uygulamasında, tüm dozlar (2,5; 5; 10 ve 20 $\mu\text{g/mL}$), pozitif kontrole (MMC) kıyasla, MN frekansında istatistiksel açıdan anlamlı düşüşler meydana getirmiştir; bu düşüş doz artışı ile negatif yönde zayıf korelasyon göstermiştir ($r=-0,523$). UX+MMS'nin eş zamanlı uygulamasında ise, MN frekansında tüm dozlarda azalmalar meydana gelmekle beraber, bu azalma yalnızca en düşük konsantrasyon olan 2,5 $\mu\text{g/mL}$ 'de istatistiksel açıdan anlamlı düzeydedir ($r=0,162$).

UX'in bütün konsantrasyonları, nükleer tomurcuk frekansında küçük artışlar oluşturmakla birlikte, bunlardan sadece 10 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki frekansın, negatif kontrol grubuna göre anlamlı olduğu gözlenmiştir ($r=0,472$). UX+MMC eş zamanlı uygulamasında ise, en yüksek doz olan 20 $\mu\text{g/mL}$ haricindeki diğer dozlarda, nükleer tomurcuk yüzdesi anlamlı

düzeyde azalmıştır ($r=-0,548$). UX+MMS eş zamanlı uygulamasında, 2,5 µg/mL'lik konsantrasyonda nükleer tomurcuğa rastlanmadığı gibi, diğer tüm dozlarda pozitif kontrole (MMS) kıyasla yüksek düzeyde anlamlı azalmalar mevcuttur ($r=0,664$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.9-4.11). Diğer yandan, UX, UX+MMC ve UX+MMS uygulamalarının sitokinez blok proliferasyon indeksini ve nükleoplazmik köprü oluşumunu anlamlı düzeyde etkilemediği belirlenmiştir.

UX, UX+MMC ve UX+MMS uygulamalarında gözlenen birli ve ikili mikronükleus, nükleer tomurcuk ve nükleoplazmik köprü içeren binükleat hücreler Resim 4.3'te gösterilmiştir.

UX'in, UX+MMC ve UX+MMS eş zamanlı uygulamalarında iyileştirici özellik gösterdiği tespit edilmiştir. UX+MMC eş zamanlı uygulamasında, üleksitin tüm konsantrasyonları (2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL) mikronükleus frekansında sırasıyla, %85, %100, %75 ve %60 düzeyinde iyileşme sağlamıştır. Bu iyileşmenin en çok 5 µg/mL'lik konsantrasyonda gerçekleştiği görülmektedir. UX+MMS eş zamanlı uygulamasında ise, UX, MMS kaynaklı MN oluşumunu %68,75 (2,5 µg/mL), %56,25 (5 µg/mL), %12,5 (10 ve 20 µg/mL) düzeylerinde iyileştirmiştir (Çizelge 4.5).

Nükleer tomurcuk frekansında ise, UX, MMC kaynaklı nükleer tomurcuk oluşumunu, en yüksek doz olan 20 µg/mL'lik konsantrasyon (%75) hariç diğer tüm konsantrasyonlarda (2,5, 5 ve 10 µg/mL) %100 düzeyinde iyileştirirken, diğer uygulama grubu olan UX+MMS'de ise, UX, MMS kaynaklı NT oluşumunu sırasıyla %111,76, %88,23, %105,88 ve %100 düzeyinde iyileştirmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının mikronükleus, nükleer tomurcuk, nükleoplazmik köprü ve sitokinez blok proliferasyon indeks üzerine etkisi

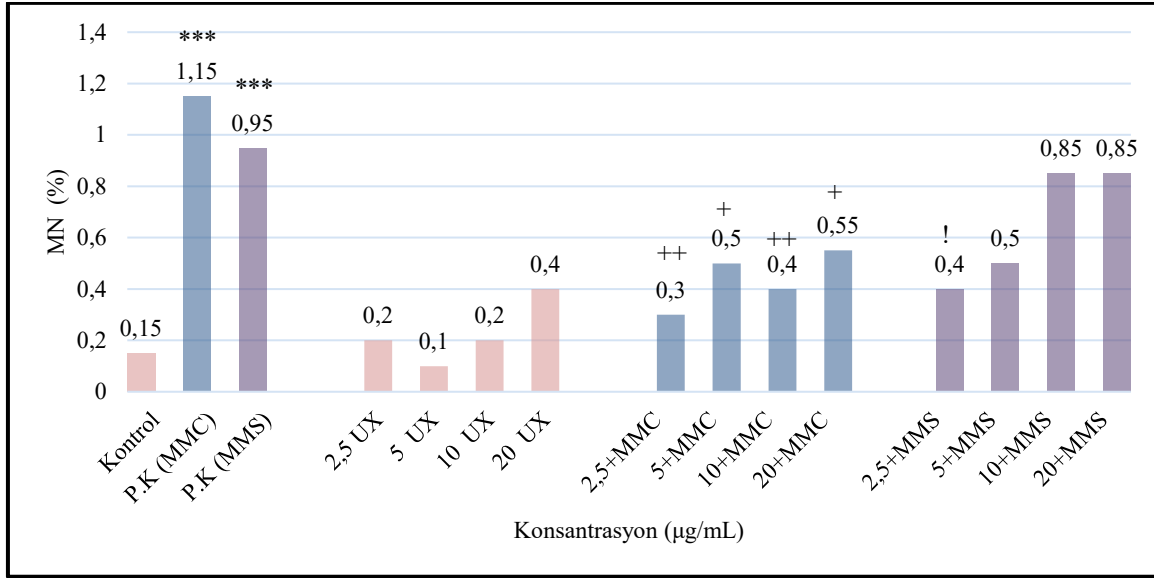
Uygulama grubu	Uygulama	Sayılan binükleat hücre sayısı	BN hücreler içinde MN frekansları	MN±SH (%)	%İyileştirme	CBP±SH	NT±SH (%)	%İyileştirme	NPK±SH (%)		
										Süre (saat)	Konsantrasyon(µg /mL)
Kontrol	48	0,00	2000	2	1	0,15±0,08	-	-	0,05±0,04		
P. K (MMC)	48	0,20	2000	21	2	1,15±0,23***	-	-	0,05±0,04		
P. K (MMS)	48	6,60	2000	17	2	0,95±0,21***	-	-	0,1±0,07		
UX	48	2,5	2000	3	1	0,2±0,09	-	-	0,00±0,00		
		5	2000	2	-	0,1±0,07	-	-	0,05±0,04		
		10	2000	4	-	0,2±0,09	-	-	0,05±0,04		
		20	2000	8	-	0,4±0,14	-	-	0,00±0,00		
UX+MMC	48	2,5	2000	6	-	0,3±0,12 ⁺⁺	85	100	0,05±0,04		
		5	2000	9	1	0,5±0,15 ⁺	100	100	0,00±0,00		
		10	2000	6	2	0,4±0,14 ⁺⁺	75	100	0,00±0,00		
		20	2000	11	-	0,55±0,16 ⁺	60	75	0,00±0,00		
UX+MMS	48	2,5	2000	8	-	0,4±0,14 [!]	68,75	111,76	0,00±0,00		
		5	2000	10	-	0,5±0,15	56,25	88,23	0,05±0,04		
		10	2000	17	-	0,85±0,20	12,5	105,88	0,00±0,00		
		20	2000	17	-	0,85±0,20	12,5	100	0,00±0,00		

BN: binükleat, MN: mikronükleus, NP: nükleoplazmik, SH: standart hata, P.K: pozitif kontrol

Kontrolle kıyasla *p<0,05, ***p<0,001 (z testi)

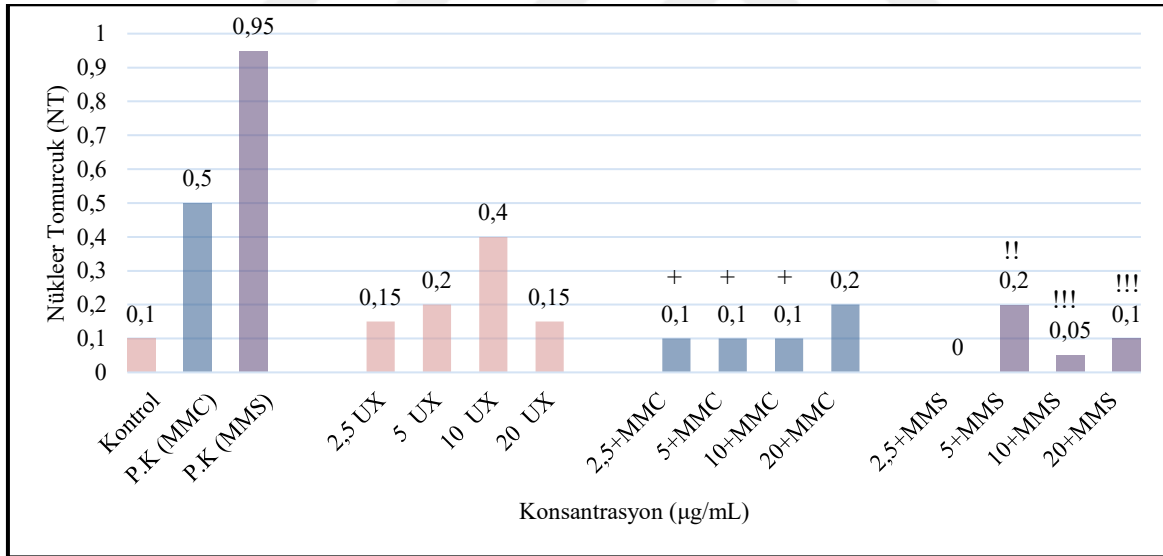
Pozitif kontrole (MMC) kıyasla +p<0,01, ++p<0,001 (z testi)

Pozitif kontrole (MMS) kıyasla !p<0,05, !!p<0,01, !!!p<0,001

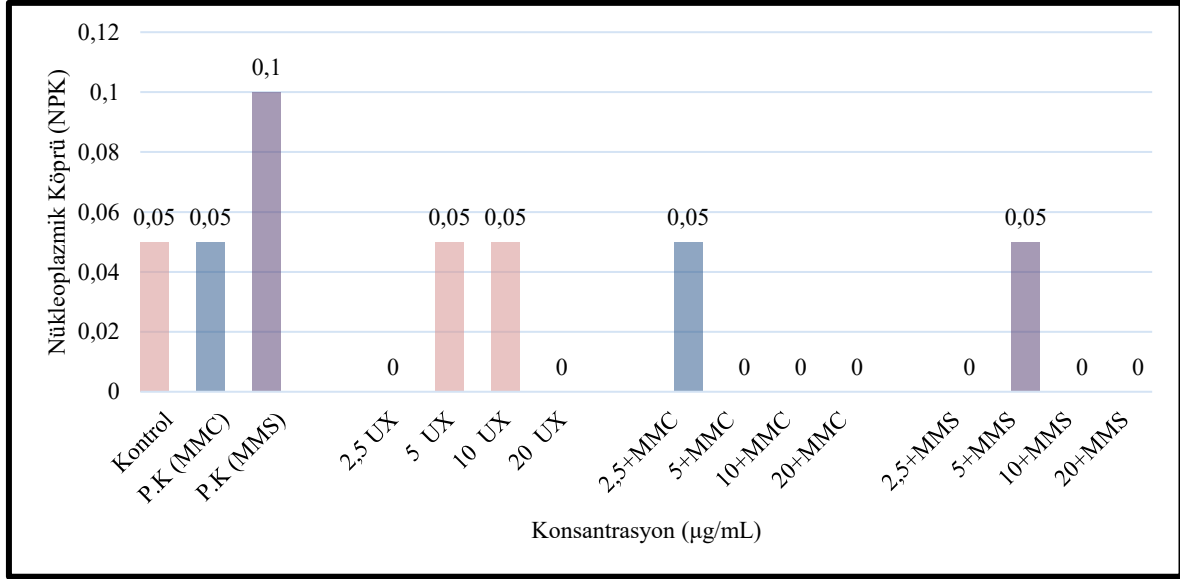


Şekil 4.9. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının mikronükleus oluşumu üzerine etkisi

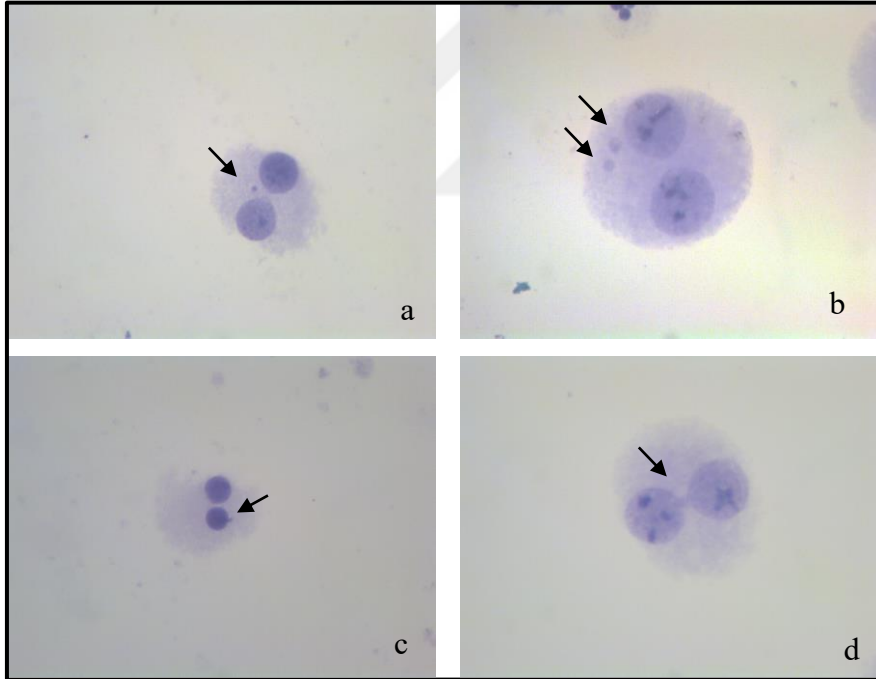
Pozitif kontrole (MMC) kıyasla ⁺p<0,05, ⁺⁺p<0,01 (z testi)
Pozitif kontrole (MMS) kıyasla [!]p<0,05 (z testi)



Şekil 4.10. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının nükleer tomurcuk oluşumu üzerine etkisi



Şekil 4.11. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin 48 saatlik uygulamasının nükleoplazmik köprü oluşumu üzerine etkisi



Resim 4.3. UX, UX+MMC ve UX+MMS uygulaması sonucunda gözlenen mikronükleus, nükleer tomurcuk ve nükleoplazmik köprü içeren binükleat hücreler a) bir mikronükleus içeren binükleat hücre b) iki mikronükleus içeren binükleat hücre c) bir nükleer tomurcuk içeren binükleat hücre d) bir nükleoplazmik köprü içeren binükleat hücre

4.4. Komet Testi Bulguları

UX, H₂O₂ ve UX+H₂O₂'nin DNA hasarı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla, hem UX'in 2,5; 5; 10 ve 20 µg/mL'lik konsantrasyonları tek başına ve hem de hidrojen peroksitin 100 µM'lık konsantrasyonu ile eş zamanlı olarak izole edilen insan periferik lenfositlerine, 1 saat boyunca uygulanmıştır. DNA hasarının tespiti için, kuyruk yoğunluğu (%), kuyruk uzunluğu (µm) ve kuyruk momenti parametreleri incelenmiştir.

Pozitif kontrol olan H₂O₂, negatif kontrole kıyasla, tüm komet parametrelerinde (kuyruk yoğunluğu, uzunluğu ve momenti) anlamlı artışlara sebep olmuştur (Çizelge 4.5, Şekil 4.12-4.14). UX ve UX+H₂O₂ uygulamalarında gözlenen DNA hasarları, hasarsız DNA, orta hasarlı DNA ve çok hasarlı DNA ekinde Resim 4.4'te gösterilmiştir.

UX'in tek başına uygulaması, negatif kontrole kıyasla, kuyruk yoğunluğunda, en yüksek doz (20 µg/mL) haricindeki diğer dozlarda, negatif kontrole kıyasla azalmalar meydana getirmiştir ancak bunlardan hiçbirisi anlamlı düzeyde değildir. Kuyruk uzunluğunda, UX'in tek başına uygulaması, 2,5 ve 5 µg/mL'de negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde azalmalar meydana getirirken, en yüksek doz olan 20 µg/mL'de anlamlı düzeyde artış meydana getirmiştir. Doz artışı ile kuyruk uzunluğundaki artış arasında zayıf bir korelasyon saptanmıştır ($r=0,576$). UX'in tek başına uygulaması, kuyruk momentinde küçük değişiklikler oluşturmakla beraber, bunlardan hiçbirisi, negatif kontrole kıyasla anlamlı değildir. Diğer taraftan, UX'in H₂O₂ ile eş zamanlı uygulamasında, kuyruk yoğunluğunda, pozitif kontrole (H₂O₂) kıyasla bütün dozlarda anlamlı azalmalar gözlenmiş olup, bu azalmalar, doz artışı ile negatif yönde güçlü bir korelasyon göstermiştir ($r=-0,790$). Kuyruk uzunluğu açısından değerlendirildiğinde, UX+H₂O₂ eş zamanlı uygulaması, tüm dozlarda, pozitif kontrole kıyasla, anlamlı azalmalara sebep olmuştur. Bu azalma, doz artışı ile negatif yönde zayıf bir korelasyon göstermiştir ($r=-0,737$). UX+H₂O₂ eş zamanlı uygulaması, kuyruk momentinde de pozitif kontrole (H₂O₂) göre anlamlı düzeyde azalmalara neden olmuştur; bu azalma doz artışı ile negatif yönde zayıf bir korelasyon göstermiştir ($r=0,681$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.12-4.14).

UX, H₂O₂ kaynaklı DNA hasarına karşı kuyruk yoğunluğu yüzdesinde sırasıyla, %72,71 (2,5 µg/mL), %94,74 (5 µg/mL), %92,7 (10 µg/mL) ve %90,15 (20 µg/mL) düzeyinde iyileştirme sağlarken, kuyruk uzunluğu parametresinde %46,32 (2,5 µg/mL), %96,04 (5

$\mu\text{g/mL}$), %68,64 (10 $\mu\text{g/mL}$) ve %73,98 (20 $\mu\text{g/mL}$) düzeylerinde iyileştirme sergilemiştir. Kuyruk momenti parametresinde ise en yüksek iyileştirmenin %90,12 düzeyiyle 10 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda gerçekleştiği tespit edilmiş olup, diğer konsantrasyonlardaki iyileştirme düzeyleri sırasıyla (2,5, 5 ve 20 $\mu\text{g/mL}$), %67,15, %87,50 ve %89,82 şeklindedir. Kuyruk yoğunluğu ve kuyruk uzunluğu parametresinde en etkili iyileştirmenin 5 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda, kuyruk momentinde ise 10 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda gerçekleştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).



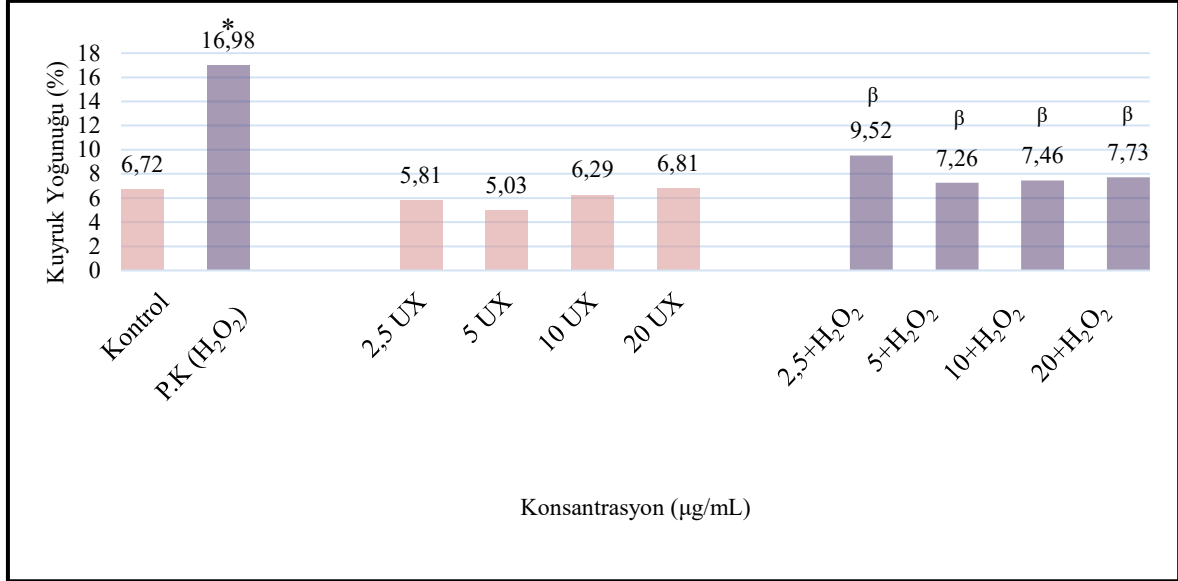
Çizelge 4.6. UX ve UX+H2O2 uygulamasının kuyruk yoğunluğu, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti üzerine etkisi

Uygulama grubu	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	Kuyruk Yoğunluğu (%)	%İyileştirme	Kuyruk Uzunluğu (µm)	%İyileştirme	Kuyruk Momenti	%İyileştirme
Kontrol P.K (H ₂ O ₂)	1	-	6,72±0,62	-	50,75±0,89	-	1,41±0,12	-
	1	100	16,98±1,09*	-	74,00±1,66*	-	4,85±0,30*	-
Üleksit	1	2,5	5,81±0,58	-	45,35±0,91*	-	1,31±0,15	-
	-	5	5,03±0,47	-	43,24±0,80*	-	1,01±0,10	-
	-	10	6,29±0,53	-	55,24±1,25	-	1,71±0,25	-
	-	20	6,81±0,71	-	56,49±1,77*	-	1,74±0,25	-
Üleksit+ H ₂ O ₂	1	2,5	9,52±0,65 ^β	72,71	63,23±1,53 ^β	46,32	2,54±0,17 ^β	67,15
	100	5	7,26±0,83 ^β	94,74	51,67±1,01 ^β	96,04	1,84±0,31 ^β	87,50
	100	10	7,46±0,77 ^β	92,79	58,04±0,77 ^β	68,64	1,75±0,17 ^β	90,12
	100	20	7,73±0,62 ^β	90,15	56,80±0,88 ^β	73,98	1,76±0,14 ^β	89,82

P.K: pozitif kontrol

Kontrolle kıyasla *p<0,05 (One-Way ANOVA-Tamhane's T2)

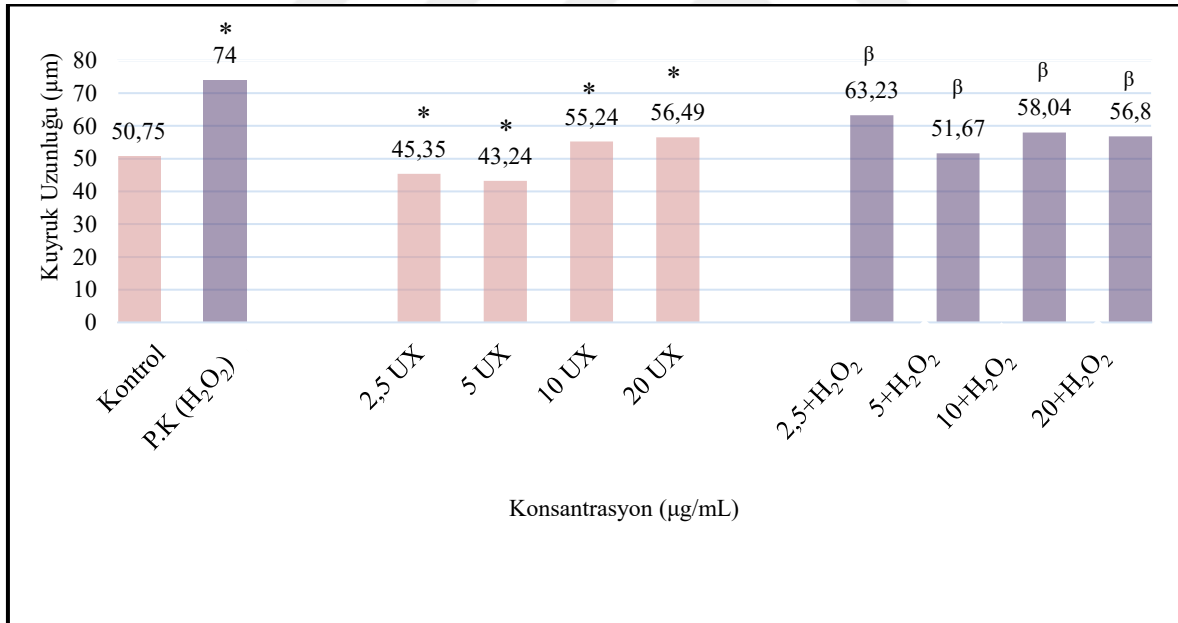
Pozitif kontrole (H₂O₂) kıyasla ^βp<0,05 (One-Way ANOVA-Tamhane's T2)



Şekil 4.12. UX, UX + H₂O₂ uygulamasının kuyruk yoğunluğu üzerine etkisi

Kontrolle kıyasla *p<0,05 (One-Way ANOVA-Tamhane's T2)

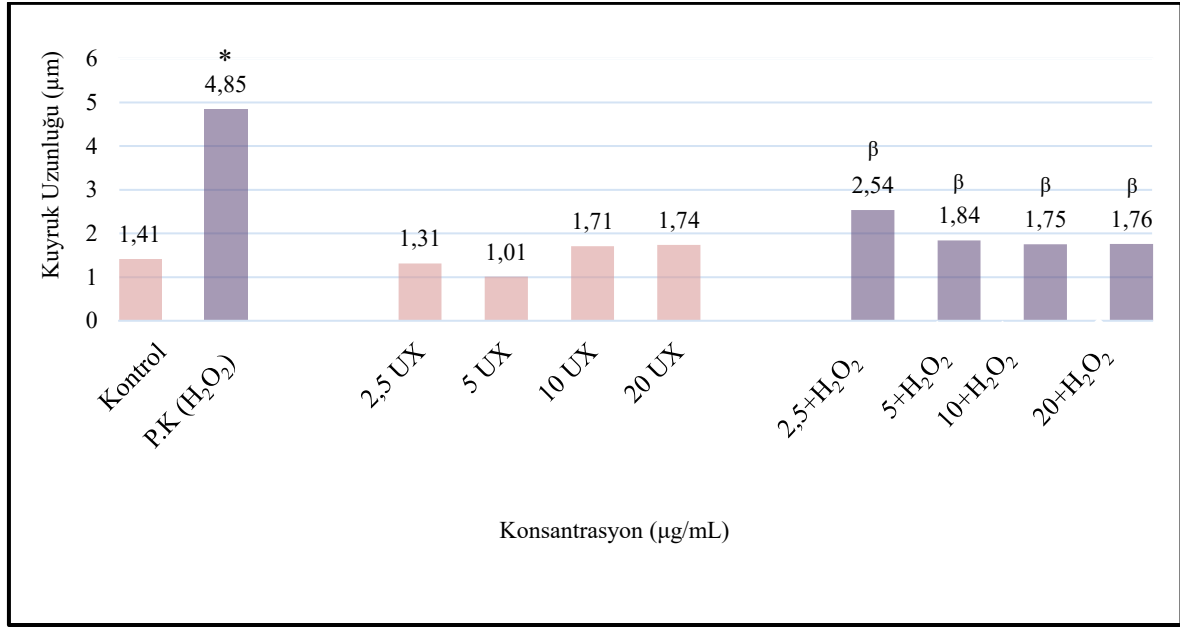
Pozitif kontrole (H₂O₂) kıyasla ^βp<0,05 (One-Way ANOVA-Tamhane's T2)



Şekil 4.13. UX, UX + H₂O₂ uygulamasının kuyruk uzunluğu üzerine etkisi

Kontrolle kıyasla *p<0,05 (One-Way ANOVA-Tamhane's T2)

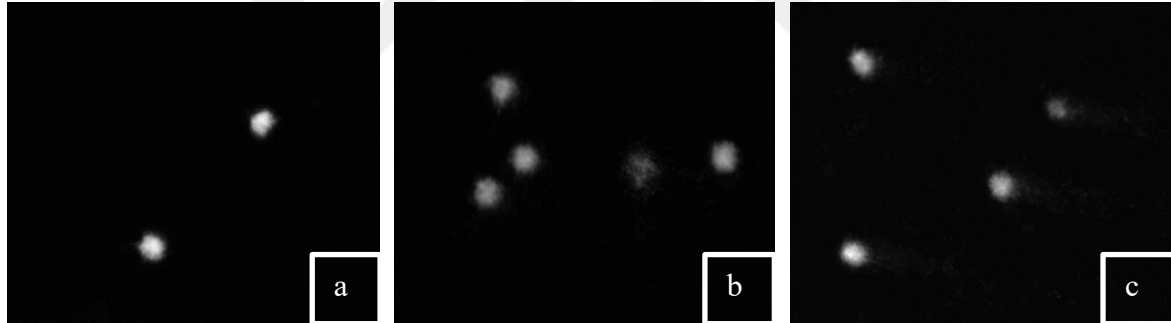
Pozitif kontrole (H₂O₂) kıyasla ^βp<0,05 (One-Way ANOVA-Tamhane's T2)



Şekil 4.14. UX, UX + H₂O₂ uygulamasının kuyruk momenti üzerine etkisi

Kontrolle kıyasla *p<0,05 (One-Way ANOVA-Tamhane's T2)

Pozitif kontrole (H₂O₂) kıyasla ^βp<0,05 (One-Way ANOVA-Tamhane's T2)



Resim 4.4. UX ve UX+ H₂O₂ uygulaması sonucunda gözlenen DNA hasarları a) hasarsız DNA b) orta hasarlı DNA c) çok hasarlı DNA

5. TARTIŞMA

Metal ve ametaller arasında yer alan ve önemli bir iz element olan bor, doğal olarak toprakta, suda ve kayalarda bulunmaktadır. Doğada serbest halde bulunmayan bor, daha ziyade borik asit, boraks, sodyum borat, üleksit ve kolemanit gibi çeşitli bileşikler halinde yer almaktadır. Bor ve bor bileşikleri, uzun yıllardan beri, verimi artırması nedeniyle kimyasal gübrelerde ve pestisitlerde, antibakteriyel ve ağartıcı özelliğiyle temizlik malzemelerinde, dayanıklılık avantajıyla cam endüstrisinde ve enerji potansiyelini artırma gücüyle çeşitli endüstrilerde geniş kullanım alanına sahiptir. Bor bileşikleri, izolasyon, cam yünü ve yanma geciktirici olarak da yaygın kullanım alanı bulmaktadır (Açaröz ve diğerleri, 2019). Bu bileşikler, antifungal, antimikrobiyal ve antikanser ajan ve potansiyel ilaç olarak sağlık alanında kullanıldığı gibi, pH düzenleyici, emülgatör, gıda katkı maddesi, nötrleştirici ve su yumuşatıcısı olarak da kullanılmaktadır (Türkez ve diğerleri, 2007).

Ticari açıdan borun en önemli minerallerinden biri olan üleksit (Alak ve diğerleri, 2020), kompozitlerde, otomotiv sektöründe, yalıtım ve gübre endüstrisinde ve çeşitli bor minerallerinin üretiminde kullanıldığı gibi, sağlık sektöründe de özellikle manyetik rezonans görüntülemeye tercih edilmektedir. Kullanım potansiyeli geniş ve gelişmekte olan UX, antioksidan savunma sistemini teşvik etmesi, doğal terapötik ajan olarak manyetik nanopartiküllerin neden olduğu oksidatif stresi azaltması, potansiyel düzenleyici ajan olması ve çeşitli organizmalarda ağır metallerle karşı koruyucu etki göstermesi nedeniyle tercih edilmeye başlanan bir bileşiktir. Hatta, UX, BA ve BX gibi bor bileşiklerinin, (Türkez ve diğerleri, 2022), nörodejeneratif ve hematolojik bozuklukların önlemesi amacıyla özellikle belirli dozlarda uygulanabileceği de bildirilmiştir (Türkez ve diğerleri, 2012; Güzel, Sivrikaya ve Deveci, 2016; Zhou ve diğerleri, 2016; Canımkurbey, 2020; Alak ve diğerleri, 2020; Bilici ve diğerleri, 2021; Comboni ve diğerleri, 2021; Alak ve diğerleri, 2021; Uçar ve diğerleri, 2022; Karşlıoğlu, Onur ve Balaban, 2022).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bor bileşiklerinin immün, sindirim ve iskelet sistemi gibi çeşitli vücut sistemlerinde etkili olduğu da bildirilmektedir (Mutlu ve Çalıcıoğlu, 2021). Bor aynı zamanda canlılarda kalsiyum, potasyum, D vitamini, magnezyum, tironin, tiroksin, insülin, östrojen, progesteron, trigliserit, kolesterol, glukoz, ksantin oksidaz ve aldehit dehidrojenaz gibi çeşitli metabolik parametrelerde önemli rol oynamaktadır (Arslan-Acaroz ve Bayşu-Sözbilir, 2020). Bor ve bor bileşikleri, artrit, osteoporoz ve koroner kalp

hastalıkları gibi rahatsızlıkları tedavi etmek amacıyla tıpta da kullanılmaktadır. Bor bileşikleri özellikle beyin tümörleri ve melanoma olmak üzere, çeşitli kanserleri tedavi etmek amacıyla, Bor Nötron Yakalama Tedavisinde (BNYT) önemli kullanım alanı bulmaya başlamıştır (Nojiri, Takata, Hu, Sakurai, Suzuki ve Tanaka, 2024). Bütün bunların ötesinde, son yıllarda yapılan araştırmalarda, bu bileşiklerin antioksidan, antikanser, antigenotoksik ve hepatokoruyucu etkileri olduğu da rapor edilmiştir. Bu kadar yaygın kullanım alanı olması ve daha pek çok alanda kullanılma potansiyeli olması nedeniyle, bor ve bor bileşikleri konusundaki çalışmalar her geçen gün artış göstermektedir (Helvacı, 2015; Uluişik, Karakaya ve Koç, 2018; Elevli, Yaman ve Laratte, 2022; Abdulai ve Cengiz, 2023).

Bir yandan özellikle ülkemizdeki bor rezervinin dünyaya kıyasla yüksek olması, diğer yandan da bor bileşiklerinin insan sağlığı açısından önemli avantajlar sergilemesi nedeniyle, bu bileşiklerden maksimum düzeyde fayda sağlanması hem insan sağlığı hem de doğal zenginliklerin değerlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu önemli konular dikkate alınarak, bu tez çalışmasında, bor bileşiklerinden biri olan üleksitin tek başına kullanımının genotoksik potansiyele sahip olup olmadığı ve ayrıca, üleksit, MMC, MMS ve H_2O_2 ile eş zamanlı kullanıldığında, genotoksik olduğu bilinen bu kimyasallara karşı antigenotoksik potansiyel gösterip göstermediği araştırılmıştır. Bu tez çalışması, *in vitro* insan periferik lenfositlerinde kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi, sitokinez blok mikronükleus sitom ve komet testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Lenfositler, bağışıklık sisteminin bir parçası olan ve dolaşan kanda bulunan hücrelerdir (National Human Genome Research Institute, 2023). Periferik kan lenfositlerindeki genetik hasar seviyesinin, hedef dokularda kanserojenik sürece yol açan öncü hücrelerdeki hasar miktarını yansıttığı varsayılmaktadır. Lenfositlerin yaklaşık olarak %80'i, periferik kandan ayrılarak bütün vücudu dolaşabildiği için özellikle T-lenfositleri genotoksisite çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Lenfositler, dalak, lenf düğümleri ve diğer dokulardan geçerek tekrar kan dolaşımına katıldıkları için, vücutta ortaya çıkan hasarlı DNA'yı içeren lenfositler periferik kanda kolayca tespit edilebilecektir (Erikel, 2021). Lenfositlerin elde edilebilirliğinin kolay olması, hassas olması ve aynı zamanda insanlardaki hastalıkların araştırılmasına imkân sağlaması, birincil insan hücreleri olması, az düzeyde spontan kromozom hasarı içermesi ve sabit kromozom sayısına ($2n=46$) sahip olması, bu hücrelerin genetik toksikoloji çalışmalarında primer hücreler olarak tercih edilmesini sağlamaktadır. Lenfositlerde gözlenen genetik hasarların, genotoksik kanserojenlerin erken

biyolojik etkilerini veya bireysel kanser duyarlılığını yansıttığı ve insanlarda kanser riskinin erken biyobelirteci olarak önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Mahmoodi ve diğerleri, 2017).

İnsan lenfositlerinde meydana gelen kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi, mikronükleus oluşumu ve DNA hasarı gibi genetik değişiklikler, çeşitli hastalıkların ortaya çıkma riski ile ilişkilendirilmiştir. Bu değişikliklerin artışı, hepatik (karaciğer), nörodejeneratif (sinir sistemi), kardiyovasküler (kalp-damar sistemi), diyabet, artritis, kronik inflamasyon, yaşlanma ve kanser gibi birçok hastalığın oluşma riskini artırabilir. Ayrıca, Down sendromu, Fanconi anemisi ve Bloom sendromu gibi genetik hastalıklar da lenfositlerdeki genetik hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. Bu nedenle, lenfositlerdeki genetik değişikliklerin belirlenmesi ve değerlendirilmesi, hastalık risklerinin değerlendirilmesi ve hastalıkların tanımlanması için önemli bir araç olabilir. Diğer yandan, son yıllarda yapılan araştırmalarda, bazı biyoaktif kimyasalların, genotoksinlerin oluşturduğu ve yukarıda adı geçen hasarları azalttığı, hatta engellediği ve sonuçta antijenotoksik, antimutajenik ve antikanserojenik potansiyel sergilediği belirlenmiştir. Bu nedenle, insanları genotoksik ajanların etkilerinden ve zararlarından korumak amacıyla birçok bileşiğin iyileştirici potansiyele sahip olup olmadığı konusunda önemli araştırmalar yürütülmeye başlanmıştır. Tüm bu bilgiler doğrultusunda, bu çalışmada UX'in olası genotoksik ve/veya antijenotoksik potansiyelinin belirlenmesi başta insan sağlığı olmak üzere, doğadaki tüm canlıların sağlığının korunması açısından büyük avantajlar oluşturacaktır. Bu tür araştırmalar, insanlar için potansiyel iyileştirici ajanların tanımlanması ve geliştirilmesi için yol gösterici olacaktır.

Kanser, vücudun hemen hemen her organ veya dokusunda oluşabilen, bir veya birkaç genin, gen ürünü olan proteinlerin veya kromozomların mutasyona uğraması sonucunda başlayan bir hastalıktır. Bu mutasyonlar, hücrelerin normalden farklı ve kontrolsüz bir şekilde çoğalmasına neden olur. Sonuç olarak, bu anormal hücreler bir tümör oluşturabilirler. Kanser hücreleri, normal hücrelerin işlevlerini ve organizasyonlarını bozarlar ve bazen bu tümörler olağan sınırların ötesine geçerek yakın dokulara yayılabilirler. Bu durumda, kanser hücreleri metastaz yaparak vücudun diğer bölgelerine yayılabilirler. Kanser birçok farklı çeşide sahiptir ve farklı organlarda ve dokularda oluşabilir (Brown, Amend, Austin, Gatenby, Hammarlund ve Pienta, 2023). Kanseri ortadan kaldırmak, küçültmek veya ilerlemesini engellemek amacıyla çeşitli tedaviler uygulanmaktadır. Kanser tedavisinde

cerrahi, radyasyon veya kimyasal tedaviler, kemik iliği transplantasyonu, immünoterapi, hormon terapi, hedefli ilaç terapi, kanserin dondurma yöntemiyle (kriyoablasyon) tedavisi, radyofrekans yoluyla tedavi ve bor nötron yakalama yoluyla tedavi gibi çeşitli yaklaşımlar kullanılmaktadır.

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlardan MMC ve MMS alkilleyici özelliğe sahiptir. Alkilleyici ajanlar, kimyasal özellikleri nedeniyle doğrudan veya biyolojik aktivasyon sonrasında DNA, RNA ve protein gibi makromoleküllerle etkileşime girerek kovalent bağlar oluşturabilirler. Kanser tedavisindeki rolleri, sitotoksik özellikleri ile, temel olarak DNA hasarını ve hücre ölümünü tetikleme kapasitelerinden kaynaklanmaktadır (Guo ve diğerleri, 2017). Tek işlevli ve çok işlevli alkilleyici ajanların her ikisi de mutajenik ve kanserojenik özellikte olmasına rağmen, tek işlevli alkilleyici ajanlar, iki işlevlilere kıyasla daha az mutajenik ve kanserojenik potansiyele sahiptir. Literatürde çift fonksiyonlu alkilleyici ajanların (MMC), tek fonksiyonlu alkilleyici ajanlara (MMS) kıyasla kromozomal anormallikleri ve kardeş kromatit değişimlerini daha fazla tetiklediği bildirilmektedir. Bu ilaçlar, her ne kadar kanserli hücreleri yok etmek için kullanılsalar da uzun kullanımlar sonrasında, normal hücreler üzerinde de toksik etki gösterebilirler. Sonuçta, kanser tedavisi sürecinde, sağlıklı hücrelerde sekonder kanserlerin oluşmasını da tetikleyebilirler. Sergiledikleri genotoksik etkiler nedeniyle, MMC ve MMS, genotoksisite çalışmalarında referans madde/pozitif kontrol olarak yaygın şekilde kullanılan iki önemli alkilleyici ajandır (Guo ve diğerleri, 2017; Souza, Conceição ve Weber, 2018; Ali Khan ve diğerleri, 2021; Pehlivan, Çavuşoğlu, Yalçın ve Acar, 2023).

Bu tez çalışmasında hem genotoksisitenin hem de antigenotoksisitenin belirlenmesinde çeşitli testler kullanılmıştır. Her bir testin kendine özgü avantaj ve dezavantajları olmakla birlikte, genelde hassas, basit, bazıları sadece proliferen olan hücrelerde bazıları da hem proliferen olan ve hem de proliferen olmayan hücrelerde uygulanan testlerdir. Burada uygulanan testlerden birincisi kromozom anormallikleri testidir. Bu test, fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanların, kromozomlarda meydana getirdiği yapısal ve sayısal anormallikleri belirlemek amacıyla kullanılan, OECD tarafından da önerilen önemli bir testtir. KA testi, pestisitler, ilaçlar ve gıda katkı maddeleri de dâhil olmak üzere çeşitli kimyasal maddelerin genotoksik etkilerinin ve aynı zamanda bitki ekstraktları, polifenoller ve çeşitli vitaminler gibi bazı kimyasal bileşiklerin antigenotoksik etkilerinin tespitinde de kullanılan bir

biyoizlem testidir. Bu test ayrıca, sitotoksosite parametrelerinden olan mitotik indeksin de tespit edilmesine olanak sağlamaktadır (Halıcı, Seyrek, Aykan, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021).

Kromozomal anormallikler, metafaz evresindeki kromozomlarda mikroskobik düzeyde gözlenebilen genetik değişikliklerdir. Bu anormalliklerin çoğu hasar görmüş olan kromozomların tamir edilememesi, yanlış tamir edilmesi veya hücre bölünmesi sırasında kutuplara göç aşamasında oluşan hatalardan kaynaklanmaktadır. Kullanılan ajanın etkisine göre kromozom yapısında ve sayısında değişimler oluşmaktadır. Bunlar kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme, disentrik kromozom ve halka kromozom gibi yapısal ve poliploidi ve endoreduplikasyon gibi sayısal kromozom anormallikleridir. Bu test ile belirlenebilen kromatit kırığı ve fragment, S evresinin sonlarına doğru oluşan ya da G2 evresinde meydana gelen hasarlardan kaynaklanmaktadır. Kromozom kırığı, genellikle interfaz hücre döngüsünün ilk fazında (G ya da erken S fazı) ortaya çıkar (Yeyin, 2015). Disentrik kromozomlar ise genelde iki farklı kromozomda oluşan kırılmayı takiben, asentrik fragmentlerin kaybolması, sentromerli kromozom bölgelerinin yanlış eşleşmeleri sonucunda oluşan, iki sentromerli kromozomlardır (Korkmaz, 2018). DNA zincir kırıklarının ve iki kromozomun yanlış onarımı veya anormal kromozom replikasyonu gibi durumlar disentrik kromozomların oluşumuna yol açmaktadır (Dimici, 2020). Halka kromozomlar, her iki kromozomun uç bölgelerinde kırıklar oluşması, bu kırıkların birleşerek halka şeklini alması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Sentromersiz fragmentlerin kaybı ile sonuçlanmaktadır. Kardeş kromatitlerde birleşme, iki kardeş kromatitin telomer bölgelerindeki delesyonlar neticesinde oluşan kırık uçların yeniden birleşmesiyle meydana gelmektedir. Burada da sentromersiz fragmentler, hücrede genetik kayıplar oluşturacaktır. Kromatit değişimi, 2 veya daha fazla farklı kromozomun kromatitlerinde kırılma ve takiben bu segmentlerin karşılıklı değiştirilmesi sonucunda oluşan anormalliklerdir (Dimici, 2020). Sayısal anormalliklerden olan poliploidi, haploit kromozom sayısında katlar şeklindeki artışlardan oluşmaktadır (Kara, 2023). Bir diğer sayısal anormallik olan endoreduplikasyon ise, DNA topoizomerez II enziminde oluşan fonksiyon bozukluğundan, DNA replikasyonu sonrasında kromozomların ayrılmasında oluşan hatalardan ve genom kararsızlıklarından kaynaklanmaktadır (Dimici, 2020). Bu test, genom kararsızlığının ve kromozomal hasarın biyolojik göstergesi olarak kullanılmaktadır. Bu test, genotoksinlere maruz kalmanın erken etkilerini belirlemeye de fırsat tanıyan önemli bir genotoksosite testidir. Antigenotoksik/antimutajenik maddelerle muamelelerde ise, genotoksik maddelerin meydana getirdiği anormalliklerin frekansında düşüşler meydana

gelmektedir. Dolayısıyla, antigenotoksik maddeler, kullanılan genotoksik kimyasalın etkisini azaltarak/engellerek hem genomik yapının bütünlüğünün sağlanmasına hem de başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıkların engellenmesi veya azaltılmasına büyük katkı katkı sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasında, MMC, 24 ve 48 saatlik uygulamalarda, insan lenfositlerinde kromatit ve kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme, disentrik kromozom, halka kromozom ve kromatit değişimi şeklinde 7 tip yapısal kromozom anormalliği ve poliploidi ve endoreduplikasyon şeklinde 2 tip sayısal anormallik oluşturmuştur. MMS ise, 24 ve 48 saatlik uygulamalarda, kromatit ve kromozom kırığı, fragment ve kardeş kromatitlerde birleşme olmak üzere dört tip yapısal ve poliploidi şeklinde tek tip sayısal anormallik oluşturmuştur. Her iki alkilleyici ajan, hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamalarda hem kromozom anormalliklerinin frekansında ve hem de KA/Hücre oranında, negatif kontrole kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı artışlara sebep olmuştur. Diğer yandan UX'in 2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL'lik konsantrasyonları, 24 ve 48 saatlik tek başına uygulamalarda, lenfositlerde, kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve halka kromozom ile poliploidi ve endoreduplikasyon şeklinde yapısal ve sayısal anormallikler oluşturmuştur. Ancak, kullanılan hiçbir konsantrasyon, anormal hücre frekansı ve KA/Hücre düzeyini, negatif kontrole kıyasla, anlamlı düzeyde artırmadığı gibi, her iki parametre de negatif kontroldekinden dahi daha düşük düzeylerde dir. Hatta en düşük konsantrasyonda (2,5 µg/mL), hem 24 hem de 48 saatlik uygulama sürelerinde, bu iki parametrenin negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir.

UX'in 2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL'lik konsantrasyonları, MMC (UX+MMC) ve MMS ile (UX+MMS) birlikte, eş zamanlı şekilde, 24 ve 48 saat uygulandığında lenfositlerde ortaya çıkan kromozom anormallikleri de yapısal ve sayısal açıdan değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda, UX'in kullanılan bütün konsantrasyonlarının, hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamalarda, ilgili pozitif kontrollere kıyasla anormal hücre frekansını ve hücre başına düşen kromozom anormalliği sayısını anlamlı şekilde düşürdüğü belirlenmiştir. Bu veriler, UX'in kullanılan konsantrasyonlarının tek başına genotoksik olmadığını, tam tersine MMC ve MMS tarafından oluşturulan kromozom anormalliklerini anlamlı düzeyde düşürerek antigenotoksik/antiklastojenik/kemopreventif/iyileştirici etki sergilediğini göstermektedir. Bu etkinin, kısa süreli (24 saat) uygulamada ve düşük konsantrasyonlarda daha güçlü olduğu görülmektedir.

Kromozom anormalliklerinden elde edilen verilere dayanarak, UX+MMC'nin 24 saatlik eş zamanlı uygulamasında, UX'in 2,5 ve 5 µg/mL'lik konsantrasyonları, MMC kaynaklı anormal hücre frekansını (%107,69) ve KA/hücre oranını (%115,79) iyileştiren en etkili konsantrasyonlardır. 24 saatlik UX+MMS eş zamanlı uygulamasında ise, MMS kaynaklı hasara karşı en etkili konsantrasyonun 2,5 µg/mL olduğu tespit edilmiştir. En düşük doz olan 2,5 µg/mL'lik UX, anormal hücre frekansında %125, KA/hücre oranında ise %142,86 düzeyinde iyileşme sağlamıştır.

48 saatlik uygulamada da UX'in 2,5 µg/mL'lik konsantrasyonu, MMC'ye karşı hem anormal hücre frekansında (%125) hem de KA/hücre oranında (%74,36) en etkili iyileştirmeyi sağlamıştır. UX+MMS eş zamanlı uygulamasında ise, UX'in 2,5 µg/mL'lik konsantrasyonu %142,10 düzeyinde iyileştirme sağlarken, tam tersine KA/hücre oranında en etkili iyileşmeyi 20 µg/mL'lik konsantrasyon göstermiştir.

Buna göre genel anlamda hem 24 hem de 48 saatlik uygulamada en yüksek antigenotoksik/antiklastojenik/ kemopreventif/iyileştirici etkinin, en düşük konsantrasyon olan 2,5 µg/mL'de ortaya çıktığı tespit edilmiştir.

Literatürde çift fonksiyonlu alkilleyici ajanların (MMC), tek fonksiyonlu alkilleyici ajanlara (MMS) kıyasla daha toksik olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da benzer sonuçlar gözlenmiş olup, MMC, MMS'ye kıyasla daha yüksek düzeyde genotoksik etki göstermiştir. Buna rağmen, UX'in kromozom anormallikleri üzerindeki antigenotoksik/antiklastojenik/kemopreventif etkisinin özellikle MMC'ye karşı daha güçlü olduğu tespit edilmiştir. Buradan hareketle, UX'in, genotoksik ajanın toksisitesine karşı antigenotoksik/antiklastojenik/kemopreventif/iyileştirici rolünün, toksisite düzeyi arttıkça daha etkili olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Bu tez çalışmasından elde edilen ve üleksitin genotoksik olmadığını gösteren veriler, daha önce yapılan bazı araştırmalarla da uygunluk göstermektedir. Bu konuda yapılan bir çalışmada, bazı bor bileşiklerinin (Borik asit-BA, Boraks-BX, Kolemanit-COL ve Üleksit-UX) olası genotoksik etkilerinin belirlenebilmesi amacıyla, 0, 5, 10, 20, 40, 50, 80, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mg/L'lik konsantrasyonların insan periferik kan lenfositlerindeki etkileri kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi ve mikronükleus testleri ile incelenmiştir. Aynı çalışmada, bor bileşiklerinin oksidatif stres üzerindeki etkilerini

belirlemek amacıyla bazı biyokimyasal parametreler de (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, glutatyon-S transferaz, toplam glutatyon, malondialdehit ve toplam antioksidan kapasite) incelenmiştir. Araştırmacılar, kullandıkları hiçbir bor bileşiğinin en yüksek konsantrasyonda dahi genotoksik etki göstermediğini bildirmişlerdir. Diğer yandan, bor bileşiklerinin, düşük dozlarda (5-20 mg/L) insan lenfositlerinde antioksidan enzim aktivitelerini uyardığını tespit etmişlerdir. Bor bileşiklerinin yüksek dozlarda uygulandığında oluşturdukları toksik etkinin, antioksidan enzim seviyelerindeki düşüşten kaynaklandığı gösterilmiştir. Bu bileşiklerin, bazı enzimlerin (GST, GSH-Px, G-6-PDH) aktivitelerinin, glutatyon seviyeleri üzerindeki olumsuz etkilerin ve G-6-PDH ve GSH-Px aktivitesindeki önemli düşüşlerin, oksidatif stresi tetiklemesinden kaynaklandığı rapor edilmiştir. Dolayısıyla, genotoksisitenin oluşmamasının, oksidatif stresin aşırı düzeyde artmamasıyla açıklanmıştır (Türkez, Geyikoğlu, Tatar, Keleş ve Özkan, 2007).

Çinko boratın, KA testi kullanılarak genotoksisitesinin ve antioksidan kapasitesinin araştırıldığı bir çalışmada, bu bileşiğin 1,25, 2,5, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 ve 1280 mgxL⁻¹ konsantrasyonları insan lenfositlerine uygulanmıştır. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, çinko borat muamelesinin, KA oranını anlamlı düzeyde değiştirmedeği ve dolayısıyla bu maddenin geniş bir konsantrasyon aralığında bile insan lenfositlerinde genetik materyalde hasar oluşturmadığı rapor edilmiştir. Diğer yandan bu bileşiğin 1,25, 2,5, 5, 10 ve 20 mgxL⁻¹ konsantrasyonlarının toplam antioksidan seviyesini artırdığı bildirilmiştir (Çelikezen, Türkez ve Toğar, 2014).

Yürütülen bir araştırmada, bor bileşiklerinden lityum metaborat dihidratın (LMD) 0, 1,25, 2,5, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 ve 1280 mg/L'lik konsantrasyonlarının KA ve MN oluşumları üzerine etkileri kültürdeki kan hücrelerinde incelenmiştir. Ayrıca çalışmada, antioksidan/oksidan aktivite, toplam oksidan durum (TOS) ve toplam antioksidan kapasite değerlendirilmiştir. Uygulanan LMD konsantrasyonlarının kromozom anormallikleri ve mikronükleus düzeyini anlamlı şekilde etkilemediği bildirilmiştir. Özellikle 5, 10, 20 ve 40 mg/L'lik LMD konsantrasyonlarının insan lenfositlerinde total antioksidan kapasitede anlamlı artışa sebep olduğu, bunun tersine, kullanılan hiçbir konsantrasyonun total oksidan düzeyini değiştirmedeği belirlenmiştir. Araştırmacılar bu bor bileşiğinin, glutatyon ve benzer analogların düzeyini veya diğer nötralize edici ajanların düzeyini artırdığını veya lipit

peroksidasyon düzeyini azalttığını bildirmişlerdir (Çelikezen, Toğar, Özgeriş, İzgi ve Türkez, 2016).

Bor bileşiklerinin tek başına uygulandığı ve genotoksik olmadığının belirlendiği çalışmaların dışında, bu bileşiklerin olası antigenotoksik/iyileştirici etkilerini belirlemek amacıyla da birçok araştırma yürütülmüştür. Bu araştırmalardan birinde, sitotoksik etkilere neden olduğu bilinen ve en güçlü polisiklik hidrokarbonlardan biri olan, 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin (TCDD)'in periferik kan mononükleer hücrelerde (PBMC) oluşturduğu sitotoksik etkilere karşı, borik asit, üleksit ve boraksın (2,5, 5 ve 10 mg/L) iyileştirici rol oynayıp oynamadığı incelenmiştir. Tek başına TCDD'ye maruz bırakılan hücrelerde, önemli hücresel bozulmalar gözlenmiş olup, membran bütünlüğünde bozulma, antioksidan savunma mekanizmalarında belirgin bir azalma ve oksidatif stresin bilinen bir belirteci olan malondialdehit (MDA) seviyelerinde artışlar olduğu gözlenmiştir. Genomik açıdan bakıldığında, artan 8-OH-dG düzeyleri ve kromozomal anormallik sıklığı, TCDD'nin DNA hasarına neden olma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur. Diğer yandan, TCDD+Bor bileşikleri ile muamelelerin, kontrol grubuna kıyasla, herhangi bir genotoksik etki sergilemediği ve hatta B bileşiklerinin TCDD kaynaklı genotoksisite üzerinde hafifletici/iyileştirici bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Kullanılan tüm bor bileşiklerinin, pozitif kontrole kıyasla, hücre başına düşen kromozom anormallliği sayısında azalmalar meydana getirdiği ve çoğu dozda bu azalmaların anlamlı düzeyde olduğu bildirilmiştir. BA, UX ve BX'in, TCDD'nin tetiklediği sitotoksik, genotoksik ve oksidatif stres düzeylerini azaltma konusunda etkili olduğu tespit edilmiştir (Arslan, Baba ve Tozlu, 2024).

Endüstride sıklıkla kullanılan bor bileşiklerinden biri olan amonyum tetraboratın (0, 1,25, 2,5, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 ve 1280 µg/mL) insan tam kan kültürlerinde antioksidan potansiyelinin ve genotoksik riskinin değerlendirilmesinin amaçlandığı bir çalışmada, genotoksik etkiyi belirlemek için KA ve MN testleri uygulanmıştır. Ayrıca biyokimyasal parametrelerden, toplam antioksidan kapasite ve toplam oksidatif stres düzeyleri de ölçülmüştür. Araştırmacılar, test edilen tüm amonyum tetraborat konsantrasyonlarının KA ve MN düzeylerini pozitif kontrole kıyasla düşürdüğünü ve bu maddenin genotoksik bir risk taşımadığını bildirmişlerdir. Diğer yandan, amonyum tetraboratın tüm konsantrasyonlarında, toplam oksidatif stres seviyelerinin değişmediği, hatta düşük

konsantrasyonlarda antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Çelikezen, Türkez, Aydın, İzgi ve Çelikezen, 2015).

BA ve BX'in (5 ve 10 mg/L), tıpta ve farmakolojide kullanılan vanadyum tetraoksit (5, 10 ve 20 mg/L) karşı koruma sağlayıp sağlamadığının belirlenmesi için periferik lenfositlerde KA, KKD ve MN testleri uygulanmış, aynı zamanda toplam antioksidan aktivite de ölçülmüştür. Vanadyum tetraoksit tek başına proliferasyon indeksinde azalmaya neden olmuştur. Ayrıca, vanadyum tetraoksitin 10 ve 20 mg/L'lik konsantrasyonları, KA, KKD ve MN frekanslarını kontrollere kıyasla anlamlı düzeyde artırmıştır. BA ve BX uygulamaları ise test edilen konsantrasyonlarda sitotoksik ve genotoksik etki göstermemiştir. Üstelik bu bileşiklerin, eritrositlerde toplam antioksidan seviyeyi yükselterek antioksidan bir rol sergilediği bildirilmiştir (Geyikoğlu ve Türkez, 2008).

3-kloro-1,2-propandiol (3-MCPD), kloropropanoller olarak bilinen kirleticiler grubunun bir üyesi olup, genotoksik kanserojen olarak kabul edilmektedir. Çoklu gıda üretiminde önlenemeyen 3-MCPD'nin ortaya çıkması nedeniyle, 3-MCPD'nin toksisitesini azaltmak için yeni ajanların araştırılması gerektiği belirtilmektedir. Bor bileşiklerinin antikanser ve antigenotoksik özellikler sergilemesinden dolayı, bu bileşiklerin, 3-MCPD'nin toksisitesini azaltıcı ajanlar olabileceği düşünülmüştür. Bu düşünceden hareketle, bor bileşiklerinin (BA ve BX; 2,5, 5 ve 10 mg/L), 3-MCPD (11,12 mg/L) kaynaklı genotoksositeye karşı koruyucu rolü araştırılmıştır. Bu çalışmada, 3-MCPD'nin insan tam kan kültürleri üzerindeki *in vitro* sitotoksik, genotoksik ve oksidatif hasar potansiyeli ve bu potansiyele karşı borik asit ve boraksın olası hafifletici-iyileştirici etkisi, 72 saat boyunca değerlendirilmiştir. Sitotoksosite için MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) ve laktat dehidrojenaz (LDH) salın analizlerine ilave olarak, oksidatif hasar düzeyi toplam antioksidan kapasite (TAC) ve malondialdehit (MDA) seviyeleri değerlendirilerek tespit edilmiştir. Genotoksosite değerlendirmeleri, KA testi ve 8-hidroksi deoksiguanozin (8-OHdG) biyobelirteci kullanılarak yapılmıştır. Araştırmacılar, 3-MCPD bileşiğinin konsantrasyona bağlı olarak sitotoksositeyi, genotoksositeyi ve oksidatif stresi tetiklediğini bildirmişlerdir. Diğer yandan, BA ve BX, 3-MCPD'nin neden olduğu sitotoksositeyi, genotoksositeyi ve oksidatif stresi önemli düzeyde düşürmüştür. Bu bulgulara dayanarak, araştırmacılar, diyetdeki bor takviyelerinin, 3-MCPD dahil olmak üzere ksenobiyotiklerin neden olduğu hematotoksositeyi hafifletmek için yeni bir strateji sunabileceğini öne sürmüşlerdir (Türkez ve diğerleri, 2024).

Bu tez çalışmasında kullanılan genotoksisite testlerinden ikincisi kardeş kromatit değişimi testi olup, mitoz sırasında kardeş kromatitler arasındaki değiş tokuş düzeyini tespit etmek için kullanılmaktadır. Ayrıca bu test, mutajenik ve genotoksik faktörlerin neden olduğu tek ve çift sarmal kırılmaları şeklindeki DNA hasarının tespitini de mümkün kılmaktadır. Bunlara ilaveten, bu test ile sitotoksisite parametrelerinden olan replikasyon indeksi de tespit edilebilmektedir (Velickova ve Milev, 2020). KKD'ler, kardeş kromatitler arasındaki bir lokusta simetrik bir değişim olarak tanımlanır. Genel kromozomal morfolojiyi değiştirmeyen KKD'lerin hücre döngüsünün S fazı sırasında DNA kırılması ve onarım mekanizmasını içerdiği bilinmektedir. KKD, hatalı onarım yollarıyla ilişkili olup, DNA zincirinin kırılması ve kırılan kromatitlerin, karşılıklı yer değiştirmesini takiben yeniden birleştirilmesi sonucunda oluşmaktadır. Bu şekildeki yeniden düzenleme, kromatitler arasındaki uyum sayesinde mümkün olur (Velickova ve Milev, 2020; Wójcik, Kępka ve Skup, 2023).

Bu tez çalışmasında, UX'in 2,5, 5, 10 ve 20 µg/mL'lik konsantrasyonlarının, tek başına 24 saatlik uygulaması, negatif kontrole kıyasla, KKD/Hücre oranında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. UX'in, 2,5, 5 ve 10 µg/mL'de oluşturduğu KKD/Hücre düzeyi, negatif kontrolden daha düşük olmasına rağmen, bu düşüşlerden hiçbiri anlamlı düzeyde değildir. UX muameleleri, hücrelerde 1-20 arasında kardeş kromatit değişimi meydana getirmiştir. 48 saatlik uygulama süresinde de UX'in kullanılan bütün konsantrasyonlarında, KKD/Hücre düzeyi negatif kontrolden daha düşük olduğu gibi, bu düşüş en küçük uygulama konsantrasyonu olan 2,5 µg/mL'de anlamlı düzeydedir. UX'in 48 saatlik tek başına uygulaması, lenfositlerde 1-18 arasında KKD/Hücre oluşturmuştur.

Bu araştırmada, üleksitin iyileştirici potansiyelini belirlemek amacıyla, pozitif kontroller (MMC ve MMS) ile birlikte eş zamanlı uygulamaları sonucunda oluşan KKD sayıları ve KKD/Hücre düzeyleri de tespit edilmiştir. UX+MMC'nin 24 saatlik eş zamanlı uygulamasında, 2-25 arasında kardeş kromatit değişimi meydana gelmiş olup, KKD/Hücre oranı, bütün konsantrasyonlarda, pozitif kontrole kıyasla düşüşler göstermiştir. Bu düşüşler, özellikle 5 ve 10 µg/mL'lik konsantrasyonlarda anlamlı düzeydedir. 48 saatlik uygulamada da benzer durum mevcut olup, kullanılan bütün dozlarda KKD/Hücre oranı pozitif kontrole kıyasla düşüşler göstermiştir. Bu düşüşler, 2,5 ve 20 µg/mL'lik konsantrasyonlarda anlamlı düzeydedir. Buradaki eş zamanlı uygulamalarda hücre başına 2-22 arasında kardeş kromatit

değişimi gözlenmiştir. Gözlenen sonuçlar, UX'in MMC'ye karşı antigenotoksik/kemopreventif/koruyucu bir rol oynadığını göstermektedir.

UX+MMS'nin 24 saatlik eş zamanlı uygulaması, hücre başına 1-29 arasında KKD oluşturmuştur. KKD/Hücre oranı, en yüksek konsantrasyon hariç (20 µg/mL) diğer tüm konsantrasyonlarda (2,5, 5 ve 10 µg/mL) pozitif kontrole kıyasla düşüşler göstermiştir. Bu düşüşler, özellikle 2,5 µg/mL'lik konsantrasyonda anlamlı düzeydedir. UX+MMS'nin 48 saatlik eş zamanlı uygulamasında 1-27 arasında KKD oluşmuştur. KKD/Hücre oranı, 10 µg/mL'lik konsantrasyon hariç diğer tüm konsantrasyonlarda, pozitif kontrole kıyasla düşüşler göstermiş olup, bu düşüşler 2,5 ve 5 µg/mL'lik konsantrasyonlarda anlamlı düzeydedir. Bu sonuçlar, UX'in MMS'ye karşı antigenotoksik/kemopreventif bir etki oluşturduğunu göstermektedir.

Kardeş kromatit değişimi testinden elde edilen verilere göre, UX+MMC'nin 24 saatlik eş zamanlı uygulamasında, en güçlü iyileştirme 5 µg/mL'lik konsantrasyonda %62,07 düzeyinde; 24 saatlik UX+MMS eş zamanlı uygulamasında ise, UX'in en düşük konsantrasyonu olan 2,5 µg/mL'de %56,61 oranında en yüksek iyileşme gözlenmiştir.

48 saatlik eş zamanlı UX+MMC eş zamanlı uygulamasında ise, KKD/hücre frekansında en yüksek iyileşme 2,5 µg/mL'de (%70,83) gerçekleşmiş olup, UX+MMS uygulamasında ise, %95,42 düzeyinde 5 µg/mL'lik konsantrasyonda gerçekleşmiştir.

Buna göre KKD/hücre frekansında, genel anlamda hem 24 hem de 48 saatlik uygulamada en yüksek antigenotoksik/antiklastojenik/kemopreventif/iyileştirici etkinin, düşük konsantrasyonlarda (2,5 ve 5 µg/mL) gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Kardeş kromatit değişimi testi kullanılarak, literatürde bor içeren bileşiklerin tek başına genotoksik etkileri veya bazı genotoksinlerle birlikte uygulamaları sonucundaki olası antigenotoksik potansiyelleri de incelenmiştir. Bu çalışmalardan birinde, çinko boratın, 1,25, 2,5, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 ve 1280 mgxL⁻¹ konsantrasyonları, insan lenfositlerine uygulanmış ve KKD oluşumu üzerine etkileri incelenmiştir. Genotoksisite ve antioksidan kapasitesinin araştırıldığı bu çalışmada, çinko borat muamelesinin, kontrol gruplarına kıyasla, kardeş kromatit değişimlerini anlamlı düzeyde artırmadığı ve dolayısıyla bu bileşiğin geniş bir konsantrasyon aralığında (1,25-1280 mgxL⁻¹) insan lenfositlerinde

genetik materyalde hasara sebep olmadığı bildirilmiştir. Özellikle 1,25, 2,5, 5, 10, 20 gxL^{-1} 'lik konsantrasyonların, toplam antioksidan seviyesini artırdığı da rapor edilmiştir (Çelikezen, Türkez ve Toğar, 2014). Gıdalarda antimikrobiyal ajan olarak kullanılan borik asitin olası genotoksik etkileri de insan periferik lenfositlerinde KKD testi ile incelenmiştir. Lenfositler, dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözünmüş borik asitin 400, 600, 800 ve 1 000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonları ile 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Kontrol ve çözücü kontrol (DMSO) ile karşılaştırıldığında, BA'nın hiçbir konsantrasyonu ve muamele süresi KKD oluşumunu artırmamıştır (Arslan, Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2008).

Bor bileşiklerinin tek başına uygulandığı çalışmaların dışında, bu bileşiklerin olası antigenotoksik/iyileştirici etkilerini belirlemek amacıyla da birçok araştırma yürütülmüştür. Bu tez çalışmasına benzer şekilde, bazı bor bileşiklerinin (BA, BX, COL ve UX) 5, 10, 15 ve 20 ppm'lik konsantrasyonlarının, kültürdeki insan periferik lenfositlerinde, ağır metallerin (As_2O_3 , CdCl_2 , PbCl_2 -3 ve 5 ppm; $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Bi}$ -7,5 ve 15 ppm ve HgCl_2 - 6 ve 9 ppm) neden olduğu toksisiteye karşı iyileştirici etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, DNA hasarlarını tespit etmek amacıyla kardeş kromatit değişimi ve mikronükleus testleri uygulanmıştır. Ayrıca eritrositlerdeki ana antioksidan enzim aktivitelerindeki değişiklikler ve total glutatyon (TGSH) seviyeleri tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada, ağır metal muamelelerinin KKD ve MN frekanslarını ve plazma malondialdehit (MDA) düzeyini arttırdığını ve kontrollere kıyasla antioksidan enzim aktivitelerini ve TGSH düzeyini azalttığını bildirmişlerdir. Diğer yandan, test edilen bor bileşiklerinin, düşük dozdaki ağır metallerin oluşturduğu genotoksik etkileri önemli düzeyde azaltarak antigenotoksik potansiyel sergilediği ifade edilmiştir. Bu koruyucu etkinin bor bileşiklerinin antioksidan kapasitesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Türkez, Geyikoğlu, Tatar, Keleş ve Kaplan, 2012).

Literatürdeki çalışmaların birinde, bir kanser ilacı olan paklitaksel karşı, borik asitin (BA) iyileştirici etkisi, KKD ve MN testleriyle araştırılmıştır. Bu çalışmada, borik asitin 2,5 (B1) ve 5 mg/L (B2) konsantrasyonları, paklitakselin ise 10 (P1) ve 20 $\mu\text{g/L}$ (P2) konsantrasyonları kullanılmıştır. Borik asit+paklitaksel uygulamasında ise hücre kültürüne B1+P1, B1+P2, B2+P1 ve B2+P2 grupları uygulanmıştır. P1 ve P2 grupları, kontrol grubuna kıyasla KKD ve MN frekanslarını doza bağlı şekilde ve anlamlı düzeyde artırmıştır. B2+P1 ve B2+P2 grupları ise, paklitakselin tek başına uygulamasına kıyasla KKD ve MN frekanslarını anlamlı düzeyde azaltmıştır. KKD ve MN frekanslarını azalttığı için borik

asitin iyileştirici potansiyeli olduğu rapor edilmektedir (Türkez, Tatar, Hacımüftüoğlu ve Özdemir, 2010). Borik asitin 0,25, 0,5, 1, 2, 5, 10 ve 20 ppm dozlarının, bir mikotoksin olan aflatoksin B1'in meydana getirdiği hasara karşı antioksidan potansiyeli tetikleyerek ve kardeş kromatit değişimi ve mikronükleus oluşumlarını azaltarak antigenotoksik etki sergilediği de bildirilmiştir (Türkez ve Geyikoğlu, 2010). Borik asit ve boraksın (2,5, 5 ve 10 μ M) antigenotoksik potansiyele sahip olup olmadığını tespit etmek amacıyla yürütülen bir başka çalışmada da bu bileşikler, genotoksik bir ajan olan TiO_2 (1, 2, 3, 5, 7,5 ve 10 μ M) ile birlikte insan lenfositlerine uygulanmıştır. Yürütülen bu araştırmanın sonuçlarına göre, BA ve BX'in, TiO_2 kaynaklı KKD ve MN oluşumlarını azaltarak antigenotoksik etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Türkez, 2008).

Bu tez çalışmasında hem geonotoksik ve hem de antigenotoksik etkileri belirlemek amacıyla Sitokinez Blok Mikronükleus Sitom testi de kullanılmıştır. CBMN-Cyt testi, genotoksik ajanlara maruziyet sonucunda ortaya çıkan sitotoksisteyi, DNA hasarını ve sitostatik etkileri değerlendirmek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir testtir (Quintana-Sosa ve diğerleri, 2021; Yüzbaşıoğlu, Dilek, Erikel ve Ünal, 2023; Erikel, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2023). Bu testte aktin oluşumunu engelleyerek sitokinezi bloke eden Sitokalsin B kullanılmakta olup, bu madde, mitozdan sonra yavru hücrelerin sitoplazmasının ayrılmasını (sitokinez) önleyerek çift çekirdekli/binükleat hücrelerin oluşumuna yol açmaktadır. Binükleat hücreler, test edilmek istenen kimyasalın kültür ortamına ilavesinden sonra bölünen hücreler olduğu için, bu hücrelerdeki anormalliklerin o kimyasal tarafından oluşturulduğunu göstermektedir (Velickova ve Milev, 2020). Bu test, mikronükleus, nükleoplazmik köprü ve nükleer tomurcukların gözlenmesine imkân tanıdığı gibi, sitokinez blok proliferasyon indeksinin belirlenmesine de olanak sağlamaktadır. Mikronükleuslar, hücre bölünmesi sırasında, çeşitli ekzojen maddelerin etkisiyle kromozomda meydana gelen kırıklar neticesinde oluşan asentrik kromozom parçalarından veya iğ ipliklerindeki hasardan dolayı telofazda kutuplara çekilemeden geri kalan bütün bir kromozomdan oluşan ve interfaz hücrelerinin sitoplazmasında gözlenebilen küçük çekirdekler olarak bilinmektedir. Kromozomal kırılmaların ve/veya tam kromozom kaybının göstergesi olan MN'ler, karyokinezden sonra iki ana çekirdekten birinin içine dâhil olmak yerine, kendi nükleer zarfıyla çevrelenen ve çekirdekten tamamen ayrılmış, bağımsız kromatin yapılarıdır. Mikronükleusların ortalama boyutu, çekirdek boyutunun 1/3'ü ila 1/16'sı arasında değişebilir (Fenech, 2000; Fenech, 2007; Velickova ve Milev, 2020). Nükleoplazmik köprü, DNA kırıklarının yanlış onarımı nedeniyle veya telomer kaybı ya da telomer fonksiyon

bozukluğunun bir sonucu olarak, kromatit uç füzyonu nedeniyle mitotik anafaz sırasında kromatitler bir arada kaldığında oluşmaktadır. Telomerler, ökaryotik kromozomlar için mutlaka gerekli olan yapılar olup, disentrik kromozomların ve nükleoplazmik köprülerin oluşumuna ve daha sonra kromozomal dengesizliğe, kanser başlangıcına ve ilerlemesine neden olan telomer uç füzyonlarını önlemekten sorumludurlar. Nükleer tomurcuklar, çoğaltılmış (amplifiye olmuş) DNA'yı gösterir ve DNA tamir komplekslerinin görevini yapamadığının biyobelirteci olarak değerlendirilmektedir. NT, nükleoplazmik köprü yoluyla ana çekirdeğe bağlıdır (Avuloğlu-Yılmaz, 2018; Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2023; Ortiz-García ve diğerleri, 2023; Dhillon, Deo ve Fenech, 2023).

Bu tez çalışmasında, pozitif kontrol olarak kullanılan MMC ve MMS ile üleksitin tek başına ve ayrıca UX'in hem MMC hem de MMS ile birlikte (UX+MMC ve UX+MMS) CBMN-Cyt oluşumları üzerindeki etkileri de incelenmiştir. İnsan lenfositlerinde 48 saat boyunca yapılan uygulamaların ardından hem MMC hem de MMS, lenfositlerde mikronükleus ve nükleoplazmik köprü frekanslarında kontrole kıyasla anlamlı artışlara neden olmuştur. Diğer yandan, üleksitin tek başına uygulaması MN, nükleoplazmik köprü ve NT (10 µg/mL hariç) frekanslarında kontrole kıyasla anlamlı bir değişiklik meydana getirmemiştir. Bu bulgular, üleksitin genotoksik olmadığını, ancak MMC ve MMS'nin lenfositlerde genotoksik etkilere neden olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, UX+MMC eş zamanlı uygulamasında, kendi pozitif kontrolüne (MMC) kıyasla, UX'in tüm dozlarının, mikronükleus frekansında istatistiksel açıdan anlamlı azalmalara neden olduğu gözlenmiştir. Nükleer tomurcuk frekansında da en yüksek doz (20 µg/mL) haricindeki tüm konsantrasyonların anlamlı düşüşlere neden olduğu belirlenmiştir. UX'in kullanılan hiçbir konsantrasyonu, NPK frekansında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. UX+MMS eş zamanlı uygulamasında ise, UX'in tüm dozlarının MN frekansını azalttığı, ancak bu azalmanın sadece en düşük konsantrasyonda (2,5 µg/mL) istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir. NT frekansı, UX'in en düşük dozunda tamamen "0" a inerken, diğer tüm dozlarda da anlamlı düşüşler göstermiştir. Gözlenen bu sonuçlar, UX'in tek başına genotoksik/mutajenik olmadığını, fakat pozitif kontroller olan MMC ve MMS antikanser ajanlarının, özellikle MN ve NT yapılarında anlamlı artışlar oluşturduğunu (Struys ve diğerleri, 2023), kısaca ciddi genotoksik hasarlar oluşturduğunu göstermektedir. Diğer yandan UX'in, MMC ve MMS kaynaklı MN ve NT oluşumlarını anlamlı düzeyde düşürdüğünü, kısaca antigenotoksik/ antimutajenik/ kemopreventif/ koruyucu etkili olduğunu desteklemektedir. Bütün bu veriler,

hem literatürdeki kaynakların sonuçları ile örtüşmekte ve hem de UX'in önemli bir koruyucu bileşik olabileceğini göstermektedir.

CBMN-Cyt testi sonuçlarına göre, UX+MMC'nin 48 saatlik eş zamanlı uygulamasında, MN frekansındaki en güçlü iyileştirme 5 µg/mL'lik konsantrasyonda %100 düzeyinde gözlenmiştir. 24 saatlik UX+MMS eş zamanlı uygulamasında ise, UX'in en düşük konsantrasyonu olan 2,5 µg/mL'de %68,75 oranında en yüksek iyileşme gözlenmiştir.

48 saatlik eş zamanlı UX+MMC uygulamasındaki NT frekansında ise, en yüksek iyileşme 2,5-10 µg/mL'de %100 düzeyinde gerçekleşmiş olup, UX+MMS uygulamasında ise, %111,76 düzeyinde en düşük (2,5 µg/mL) dozda gerçekleşmiştir.

Mikronükleus testi kullanılarak, literatürde bor içeren bileşiklerin tek başına genotoksik olup olmadıkları veya bazı genotoksinlerle birlikte uygulanmaları sonucunda olası antigenotoksik potansiyelleri de incelenmiştir. Bu konuda zebra balığında yürütülen bir araştırmada, balıklar, bir bor bileşiği olan kolemanitin (COL) 5, 10 ve 20 mg/L'lik konsantrasyonlarına, 96 saat maruz bırakılmıştır. Zebra balığı kanında MN testi, beyin ve karaciğer dokularında ise oksidatif hasar parametrelerinden olan 8-OHdG (DNA hasarı göstergesi), Kaspaz-3 (apoptoz), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), miyeloperoksidaz (MPO), paraoksonaz (PON), arilesteraz (AR) ve lipid peroksidasyon (MDA) ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, düşük dozlarda (5 ve 10 mg/L) kolemanitin beyin ve karaciğerde oksidatif strese yol açmadığını ve test edilen hiçbir konsantrasyonda DNA hasarına veya apoptoza neden olmadığını, tam tersine antioksidan enzim sistemlerini desteklediğini göstermiştir. Ayrıca araştırmacılar, kontrol ve deney grupları arasında, eritrositlerdeki MN frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını ve dolayısıyla kolemanitin zebra balığı üzerinde genotoksik bir risk taşımadığını bildirmişlerdir (Alak ve diğerleri, 2020). Bor bileşiklerine doğal olarak maruz kalan kişilerde mikronükleus düzeyleri ve kardeş kromatit değişimi frekanslarının araştırıldığı bir çalışmada, bora maruz kalan kişilerdeki MN frekansının kontrol bireylerine kıyasla anlamlı şekilde daha düşük olduğu bulunmuştur. KKD frekansları da aynı şekilde maruz kalan kişilerde, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Bu sonuçlar dikkate alındığında, MN ve KKD değerlerindeki düşüşün borun DNA hasarına karşı koruyucu etkisinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Uçkun, Üstündağ, Korkmaz ve Duydu, 2009).

Daha önce gerçekleştirilen antigenotoksisite araştırmaları incelendiğinde, Alak ve diğerklerinin (2020), UX'in yüksek dozda genotoksik olduğunu tespit ettikleri bir çalışmada, zebra balıkları UX'in 0, 5, 10, 20 ve 40 mg/L'lik konsantrasyonlarına 96 saat boyunca maruz bırakılmıştır. MN oluşumlarının ve biyokimyasal parametrelerin (8-OHdG, Kaspaz-3, SOD, CAT, GPx, MPO, PON, ARE ve MDA) düzeylerinin incelendiği bu çalışmada, düşük UX dozlarının antioksidan sistemi teşvik ettiği, ancak en yüksek konsantrasyon olan 40 mg/L'de genetik hasar oluşturduğu ve mikronükleus oluşumlarını uyardığı rapor edilmiştir. Bu araştırma, UX'in düşük dozlarda antioksidan sistemi uyardığını, yüksek dozda ise genotoksik etkili olduğunu bildiren tek çalışma olmasıyla oldukça ilgi çekicidir (Alak ve diğerkleri, 2020). Bu çalışmadan hareketle, bu tez çalışmasında yaptığımız n deneme testlerinde en yüksek konsantrasyon olarak seçilen 30 mg/mL'lik UX uygulamasında da MN frekansında herhangi bir anlamlı artış gözlenmemiştir. Bu veriler, UX'in tek başına uygulamalarında, 40 mg/L'lik konsantrasyondan itibaren genotoksik etkileri artırabileceğini göstermektedir. Bu da kimyasalların düşük dozlarda zararsız ve hatta antigenotoksik/antimutajenik/kemopreventif/iyileştirici olabileceğini ancak belli bir dozdan itibaren o maddenin kendisinin de toksik bir duruma gelebileceğini göstermektedir. Maruziyet süresi ve kullanılan model organizmanın/ hücre tipinin farklı olması da diğer nedenler arasında yer almaktadır.

stndağ ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada, V79 hamster akciğer fibroblast hücrelerinde, ağır metallerden kurşun ve kadmiyumun oluşturduğu genotoksik etkiye karşı borik asitin iyileştirici potansiyeli incelenmiştir. Genotoksisite testlerinden MN ve komet testlerinin kullanıldığı çalışmada, hücreler, borik asitin 2,5 μ M ve 10 μ M'lık konsantrasyonlarına 16 saat maruz bırakılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, kurşun ve kadmiyum MN frekansında konsantrasyon artışına bağlı şekilde anlamlı artışlara neden olurken, borik asitin tek başına kullanılan konsantrasyonlarında herhangi bir genetik hasar gözlenmemiştir. Diğer yandan, ağır metallere birlikte uygulandığında, borik asitin, kurşun klorür ve kadmiyum klorür kaynaklı MN frekanslarını bir dereceye kadar azaltarak koruma sağladığı, aynı şekilde komet testinde de H₂O₂ kaynaklı DNA hasarını azaltarak antigenotoksik etki gösterdiği rapor edilmiştir (stndağ, Behm, Fllmann, Duydu ve Degen, 2014). Uçar ve diğerkleri (2024), gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) asetilferrosenin (AFC) 96 saatlik tek başına uygulamasının toksik ve genotoksik etkisini ve UX'in bu toksisiteye karşı koruyucu potansiyelini, kan ve karaciğer hücrelerinde araştırmışlardır. Eritrositlerde UX muamelesinin, 48 ve 96 saatlik uygulamalarda, AFC

kaynaklı toksisiteye karşı, MN oluşumunu 48. saatte azalttığı ancak 96. saatte etkilemediği bildirilmiştir. Ayrıca UX ile birlikte uygulamanın, antioksidan sistemi aktive ettiği ve MDA/MPO düzeylerini inhibe ettiği belirlenmiştir. UX ile eş zamanlı uygulamanın, uygulama süresinin artışına bağlı şekilde, Nrf-2 düzeyini engellediği, IL-6 ve TNF- α düzeylerinde artışa sebep olduğu belirtilmiştir. UX uygulamasının, 8-OHdG eklentilerinin birikimini ve kaspaz-3 düzeyini baskıladığı bildirilmiştir. Sonuç olarak UX'in, AFC kaynaklı hematotoksik, oksidatif, genotoksik ve sitotoksik hasarlara karşı önemli bir koruma sergilediği ve dolayısıyla UX'in çevresel hasarlara karşı doğal bir koruyucu bileşik olabileceği bildirilmiştir (Uçar ve diğerleri, 2024).

Üleksitin olası koruyucu potansiyelini belirlemek amacıyla yürütülen bir başka araştırmada, gökkuşağı alabalıkları üzerinde, öncelikle, manyetik demir oksit nanopartiküllerinin (Fe_3O_4 -MNP'lerin) genotoksik etkileri ve öldürücü dozu (LC50) incelenmiştir. Çalışmada, geniş bir konsantrasyon aralığındaki (0,005-0,08 mL/L) nanopartiküllerin 96 saatlik uygulamasının genotoksik etkileri değerlendirilmiş ve ayrıca üleksitin olası koruyucu rolü incelenmiştir. Başlangıçta yapılan toksisite analizlerinde, uygulama gruplarında hematolojik parametreler (kanda hücre sayımı) incelenmiştir. Kan ve karaciğer örneklerindeki biyokimyasal testler antioksidan/oksidatif stres ve inflamatuvar parametrelerin tespit edilmesinde kullanılmıştır. Nanopartiküllere maruziyet sonrasında ortaya çıkan nükleer anormallikler mikronükleus testi ile değerlendirilmiştir. 8-OHdG düzeyi oksidatif DNA hasarlarının, Kaspaz-3 analizi de apoptotik hücre ölümünün değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Yapılan incelemelerde, Fe_3O_4 -MNP'lerinin, SOD, CAT, GPx ve GSH enzim düzeylerinde, uygulama süresine bağlı düşüşler oluştururken, MDA ve MPO'da artış oluşturduğu tespit edilmiştir. TNF-a ve IL-6 düzeylerinde artış olurken, Nrf-2 düzeyinde, 46. ve 96. saatlerde düşüşler tespit edilmiştir. Uygulama süresi arttıkça, MN frekansı ile 8-OHdG ve kaspaz-3 aktivitesinde artış gözlenmiştir. Bunların tersine, üleksit muamelesinin, Fe_3O_4 -MNP kaynaklı hematotoksik ve hepatotoksik değişimler ile oksidatif stresi ve genetik hasarları iyileştirdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak, araştırmacılar, UX'in, manyetik nanopartiküllerin oluşturduğu çevresel toksisiteye karşı umut vaat eden, güvenilir ve doğal bir koruyucu ajan olduğunu belirtmişlerdir (Uçar ve diğerleri, 2023).

Üç farklı boryum ve bir borinyum bileşiğinin farklı konsantrasyonlarının (0, 1,56, 3,12, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200 ve 400 mg/L) genotoksik etkileri de MN ve KKD testiyle, sitotoksik etkileri ise MTT ve LDH testleri ile incelenmiştir. Bulgulara göre, boryum

bileşikleri yüksek konsantrasyonlarda dahi sitotoksik etki göstermezken, borinyum bileşiği düşük konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermemiştir. KKD ve MN testinde, borenium bileşikleri genotoksik etki göstermemiştir. Diğer yandan, borinyum bileşiğinin KKD frekansını değiştirmedeği fakat MN frekansını, kontrole kıyasla anlamlı düzeyde artırdığı bildirilmiştir. Bu verilere göre, katyonik boron bileşiklerinin sağlık, kozmetik ve diğer endüstrilerde güvenilir bir şekilde kullanılabileceği rapor edilmiştir (Bayıl Oğuzkan, Türkez, Karagül, Çakır ve Uğraş, 2019).

Bu tez çalışmasında, UX'in insan lenfositlerinde, DNA üzerindeki etkileri ve DNA hasarı oluşturduğu bilinen H_2O_2 'e karşı antigenotoksik/kemopreventif/iyileştirici etkileri komet testi ile de incelenmiştir. Tek hücreli jel elektroforezi veya kuyruklu yıldız olarak da bilinen komet testi, tek hücre düzeyinde DNA hasarının ve onarımının nitel ve nicel olarak değerlendirilmesine olanak sağlayan bir yöntemdir. Komet testinde, öncelikle hücreler lizis işlemine tabi tutulur; hipertonic ve non-iyonik deterjan çözeltisi içinde hücre membranı, sitoplazma ve nükleozomlar da dâhil olmak üzere nükleoplazma uzaklaştırılır. Geriye kalan çıplak nükleoiddeki hasar görmüş DNA'nın, pH > 13 olan elektroforez tamponunda çift zincirinin ayrılması sağlandıktan sonra ince bir agaroz tabakasında, elektroforetik ortama tâbi tutulduğunda, hasar görmüş negatif yüklü düşük molekül ağırlıklı DNA fragmentleri artı kutba doğru hareket eder. DNA'nın elektroforezi sırasındaki göç hızı ve yoğunluğu, hasarın boyutunu yansıtmaktadır. Bu test ile çeşitli ajanların etkisi sonucunda DNA'da meydana gelen tek ve çift zincir kırıkları, alkali-hassas bölgeler, oksidatif hasar görmüş DNA bazları ve tamamlanmamış kesip çıkarma onarım bölgeleri tespit edilebilmektedir. Komet testi, hızlı ve kolay gerçekleştirilebilen, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip, çeşitli doku ve hücre tiplerine uygulanabilen, hem proliferen olan hem de proliferen olmayan hücrelere uygulanabilen, her uygulama grubu için az sayıda hücre gerektiren ve hücrelerdeki DNA kırıklarının görsel olarak belirlenebilmesine imkân tanıyan bir testtir. Bu özellikler, genotoksisite ve antigenotoksisite araştırmalarında büyük avantaj sağlamaktadır (Afanasieva, Sivolob, 2018; Halıcı, Seyrek, Aykan, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021; Ünal, Saygılı ve Akbaş, 2022:313).

Kometin değerlendirilmesinde baş, gövde ve kuyruk esas alınmaktadır. Dağılmamış baş kısmına sahip olan komet hasarsız DNA'yı, baş, gövde ve kısa bir kuyruğa sahip olan komet az-orta düzeyde DNA hasarını, dağınık bir baş, gövde ve uzun bir kuyruğa sahip olan komet ise daha ciddi düzeydeki DNA hasarını göstermektedir. Baş ve gövde, süpersarmal yapısı

açılmış ve bir miktar çözünmüş DNA ipliğinden oluşurken, kuyruk ise kırık DNA parçalarından ibarettir. Bu değerlendirme, komet testinin sonuçlarını yorumlarken DNA hasarının şiddetini belirlemeye yardımcı olmaktadır (Avuloğlu-Yılmaz, 2018; Parambil, Prasad, Tomar, Ghosh ve Rajamani, 2024). Bu tez çalışmasında değerlendirilen parametrelerden biri olan kuyruk uzunluğu, kometin baş kısmının dışı ile kuyruğun son noktası arasındaki mesafeyi kapsamaktadır. DNA hasarının boyutu, kuyruktaki DNA'nın uzunluğu ile bağlantılır. En yaygın kullanılan parametrelerden olan kuyruk momenti, kuyruk yoğunluğu ile kuyruk uzunluğu sonuçlarının çarpımı ile elde edilen bir değerdir. Bu iki parametrenin, elektroforez şartlarından etkilendikleri düşünüldüğü için, komet testlerinde üçüncü bir parametre olan kuyruk yoğunluğu tercih edilmektedir. Bu değer, kuyruktaki DNA fragmentlerinin yüzdesini kapsaması ve deney şartlarından etkilenmemesi nedeniyle, laboratuvarlar arası karşılaştırmalar için en uygun parametre olarak kabul edilmektedir. Bütün bu parametreler birlikte kullanılarak, komet testi sonuçlarının ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmesi ve DNA hasarının hassas bir şekilde ölçülmesi sağlanmaktadır (Sunjog ve diğerleri, 2013; Yıldız, 2021; Akouchekian ve diğerleri, 2023).

Bu tez çalışmasında, hem üleksitin tek başına olası genotoksik etkisini ve hem de genotoksik olduğu bilinen H_2O_2 'in insan periferik lenfositlerinde oluşturduğu DNA hasarlarını iyileştirme potansiyelini komet testi ile belirlemek amacıyla eş zamanlı $UX+H_2O_2$ uygulamaları yapılmıştır. Oluşan hasarların düzeyi kuyruk uzunluğu (μm), kuyruk yoğunluğu (%) ve kuyruk momenti parametreleri açısından değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan H_2O_2 , insan lenfositlerinde kuyruk uzunluğu (μm), kuyruk yoğunluğu (%) ve kuyruk momentinde, negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde artışlar oluşturmuştur. Bunun aksine, UX 'in tek başına uygulanan hiçbir konsantrasyonu, negatif kontrole kıyasla kuyruk yoğunluğunda ve kuyruk momentinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Tam aksine üleksit, 2,5 ve 5 $\mu g/mL$ 'lik konsantrasyonda, kuyruk uzunluğunda anlamlı düşüşler oluşturmıştır. Ancak konsantrasyon arttıkça önce anlamsız bir artış (10 $\mu g/mL$) oluştururken, en yüksek konsantrasyon olan 20 $\mu g/mL$ 'de anlamlı bir artışa sebep olmuştur. Diğer yandan, üleksitin H_2O_2 ile birlikte eş zamanlı uygulamasında ($UX+H_2O_2$), H_2O_2 'in tek başına uygulamasına kıyasla, incelenen tüm komet parametrelerinde, anlamlı düşüşler tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, UX 'in tüm dozlarının (2,5, 5, 10 ve 20 $\mu g/mL$) H_2O_2 kaynaklı DNA hasarına karşı antijenotoksik/ kemopreventif/ DNA hasarını onarıcı etki sergilediğini göstermektedir. Diğer test sonuçlarında olduğu gibi, komet

testinde de üleksitin genotoksinlere karşı iyileştiric rol oynadığı bir kez daha tespit edilmiştir.

UX, H₂O₂ kaynaklı DNA hasarına karşı kuyruk yoğunluğu yüzdesinde en yüksek iyileşmeyi %94,74 (5 µg/mL) düzeyinde, kuyruk uzunluğu parametresinde %96,04 (5 µg/mL) ve kuyruk momenti parametresinde ise en yüksek iyileştirmenin %90,12 düzeyiyle 10 µg/mL’lik konsantrasyonda gerçekleştiği tespit edilmiştir. Kuyruk yoğunluğu ve kuyruk uzunluğu parametresinde en etkili iyileştirmenin 5 µg/mL’lik konsantrasyonda, kuyruk momentinde ise 10 µg/mL’lik konsantrasyonda gerçekleştiği belirlenmiştir.

Literatürde komet testi kullanılarak yapılan araştırmalarda, bor bileşiklerinin hem genotoksik hem de antigenotoksik etkiler sergilediği sonuçlar mevcuttur. İnsan sertoli hücreleri üzerinde yürütülen bir çalışmada, borik asitin geniş bir konsantrasyon aralığında (0,5, 5, 10, 50, 100, 500 ve 5000 µM) sitotoksik olmadığı gibi komet testinde DNA hasarına da sebep olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, oksidatif stres ve apoptozun tetiklenmediği, hatta hücre döngüsünde bir duraklama olmadığı rapor edilmiştir. Bu bulgular, borik asitin insan sertoli hücrelerinde toksik etkilere yol açmadığı ve genetik materyalde herhangi bir hasar meydana getirmediği şeklinde değerlendirilmiştir (Sarıaltın, Üstündağ, Chinheya, İpek ve Duydu, 2022). Bor bileşiklerinden borik asit ve boraksın 1, 4, 16 ve 64 mg/L’lik konsantrasyonlarının zebra balığında 24, 48, 72 ve 96 saatlik uygulamasının DNA hasarı üzerine etkileri de kuyruktaki DNA yüzdesi ve Olive kuyruk momenti açısından incelenmiştir. Oluşan DNA hasarlarının, BA uygulamalarında konsantrasyon artışına bağlı olduğu, ancak BX için hem konsantrasyon ve hem de uygulama süresindeki artışa bağlı olduğu açıklanmıştır. Bu bulgular, bor bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde ve farklı hücre tiplerinde genotoksik etkilere neden olabileceğini ve uygulama süresi arttıkça hasarın da artabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Gülsoy, Yavaş ve Mutlu, 2015).

Yukarıdaki çalışmaların aksine, literatürde, bazı bor bileşiklerinin antigenotoksik etkiler sergilediği çalışmalar da mevcuttur. Örneğin, Türkez ve diğerleri (2022) tarafından yürütülen bir araştırmada, BA, BX, COL ve UX gibi çeşitli bor bileşiklerinin, AlCl₃’e karşı genetik, sitolojik, biyokimyasal ve patolojik etkileri, farklı hücre ve hayvan modellerinde incelenmiştir. Bu bileşikler, 3,25 ve 6,5 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde, 30 gün boyunca hem tek başlarına hem de AlCl₃ (4,2 mg/kg vücut ağırlığı) ile birlikte Sprague-Dawley ratlara, intraperitoneal (IP) olarak verilmiştir. DNA ve kromozom hasarını analiz etmek için

komet, MN ve KA testleri, sitostazı tespit etmek için de nükleer bölünme indeksi incelenmiştir. Oksidatif değişikliklerin belirlenmesi için kanda ve beyinde bazı biyokimyasal parametreler (SOD, CAT, GSH-Px, MDA, TAC ve TOS) incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, $AlCl_3$ 'ün kanda ve beyinde oksidatif stresi ve genetik hasarı arttırdığı, hatta beyinde ciddi histopatolojik ve yapısal değişikliklere de yol açtığı belirlenmiştir. Benzer şekilde insan lenfositleri ve primer rat kortikal nöronlarda (PRCNs) 20 ppm'lik $AlCl_3$ 'ün hücre canlılığında ve NBI'nde anlamlı düşüşlere ve kromozom anormallikleri, mikronükleus ve DNA hasarında anlamlı artışlara sebep olduğu gözlenmiştir. Diğer yandan kullanılan tüm bor bileşiklerinin $AlCl_3$ kaynaklı toksik etkileri ortadan kaldırarak, hem *in vitro* ve hem de *in vivo* koşullarda antioksidan, antigenotoksik ve sitoprotektif etki gösterdiği rapor edilmiştir. Bu bulgular, bor bileşiklerinin potansiyel bir koruyucu veya tedavi edici bir bileşik olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Araştırmacılar, elde edilen bulgulara göre, bor alımının, beyinde oksidatif stresi ve genetik hasarları azalttığı ve yapısal ve ultrayapısal formun iyileştirilmesinde önemli rol oynadığını ifade etmişlerdir. Nörodenejeneratif anormalliklerin tedavisinde önemli kısıtlar olması nedeniyle, bu anormalliklerde bor takviyeleri ile etkili, güvenli ve ekonomik tedavi seçenekleri sunulabileceğini belirtmişlerdir (Türkez ve diğerleri, 2022). Bizim tez çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular da bu araştırmacıların bulgularıyla uyum göstermektedir. Her iki çalışma da bor bileşiklerinin antigenotoksik ve sitoprotektif etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Kısaca bu bilgiler, bor bileşiklerinin özellikle düşük dozlarda hem medikal ve farmasötik açıdan hem de besinsel amaçlı kullanımının, hücresel olaylarda toksik etki göstermeyebileceğini, hatta, toksik etkili olduğu bilinen ajanlara karşı da bir avantaj sağlayabileceğini göstermektedir.

Bor bileşiklerini konu alan diğer bir ilginç araştırmada, bor açısından zengin ve fakir bölgelerde yaşayan kadınların lenfositlerinde ve bukkal hücrelerinde, komet ve MN testleri uygulanmıştır. Komet testine göre, bora maruz kalan bireylerin lenfositlerinde DNA hasarında anlamlı bir fark gözlenmediği gibi, yüksek maruziyet grubunda gözlenen bukkal MN frekansının bile, düşük maruziyet grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, bor maruziyetinin DNA hasarına neden olmadığını ve hatta düşük maruziyet grubunda bukkal hücrelerdeki mikronükleus frekansını bile düşürdüğü şeklinde yorumlanmıştır (Başaran ve diğerleri, 2019). Borun (5, 10 ve 20 mg/kg) kemoterapi ilacı olan siklofosamid (CYC-75 mg/kg) kaynaklı oksidatif strese, DNA hasarına ve histopatolojik değişikliklere karşı koruyucu etkisi de Wistar albino ratlarda incelenmiştir.

DNA hasarının tespit edilmesinde komet testi kullanılmıştır. Araştırmada, borun mononükleer lökositlerde, CYC kaynaklı DNA hasarını ve oksidatif stresi önlediği bildirilmiştir. Bu etkinin, borun antioksidan savunma sistemini tetiklemesi ve lipit peroksidasyonunu inhibe etmesinden kaynaklandığı rapor edilmiştir. Borun ayrıca karaciğer, kalp, akciğer ve beyin dokularındaki hücresel hasarları, doza bağlı şekilde koruduğu da tespit edilmiştir. Bu bulgular doğrultusunda, borun CYC kaynaklı oksidatif stres ve DNA hasarına karşı koruyucu etkilere sahip olduğu ve bu etkileri antioksidan mekanizmaları ve doku rejenerasyonunu teşvik etmek suretiyle gerçekleştirdiği rapor edilmiştir (İnce, Küçük Kurt, Demirel, Açaröz, Akbel ve Cigerci, 2014). Antioksidan enzimler, memeli hücrelerinin savunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu enzimler, farklı toksik maddelere maruz kalan kan hücrelerinde indüklenebilir veya inhibe edilebilir. Bazı bor bileşiklerinin, insan kan hücrelerinde, herhangi bir genetik hasara yol açmadığı gibi, antioksidan enzim aktivitelerini tetiklediğine dair önemli kanıtlar bulunmaktadır. Antioksidan seviyeleri düştüğünde oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle hücre savunmasında antioksidan enzimlerin aktivitelerinin rolü çok önemlidir. Borik asit, boraks, üleksit ve kolemanit gibi bor bileşiklerinin, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzim aktivitelerinde önemli artışlara neden olduğu ve MDA/MPO düzeylerini düşürdüğü rapor edilmektedir. Bu bulgular, bor bileşiklerinin hücrelerde oksidatif stresi azaltarak serbest radikallere karşı koruma sağladığını ve antioksidan savunma sistemini güçlendirdiğini göstermektedir (Türkez, Geyikoğlu, Tatar, Keleş ve Özkan, 2007).

Bu tez çalışmasında incelenen parametrelerden biri olan mitotik indeks hem pozitif kontrollerin ve hem de üleksitin tek başına ve UX+MMC, UX+MMS şeklinde eş zamanlı uygulamalarda, sitotoksikite değerlendirmesine olanak sağlayan bir parametredir. Mitotik indeks, bölünen hücre sayısının, incelenen toplam hücre sayısı içindeki yüzde değerini ifade eden bir değer olup, sitotoksikiteyi tanımlamak için güvenilir bir parametre olarak kullanılmaktadır. Mitotik indeks, hücrelerin mitoz sırasındaki aktivitesini yansıttığı için, potansiyel sitotoksik etkileri belirlemede önemli bir araçtır. Bu değerlendirme, hücrelerin normal bölünme kapasitesini ve sitotoksikiteye yanıtını belirlemede yardımcı olur, bu da bir madde veya ajanın hücreler üzerindeki etkilerini değerlendirmede önemli bir parametre oluşturur. Sitostatik etki, hücre büyümesini veya hücre bölünmesini engelleyen bir madde veya etkiyi ifade ederken, sitotoksik etki ise, hücrelere zarar veren veya öldüren bir madde veya etkiyi ifade eder (Fatma, Verma, Kamal ve Srivastava, 2018; Reis ve diğerleri, 2018; Anttila ve diğerleri, 2019).

Replikasyon indeksi de bir diğ er sitotoksisite parametresi olup, hücrelerin DNA replikasyon düzeyini ve proliferasyon kapasitesini değerlendirmede önemli bir  l   tt r. Bu parametre, hücrelerin hangi düzeyde replikasyona uğradığını değerlendirmede kullanılır ve bir maddenin veya ajanın hücrelerin replikasyon düzeyi üzerindeki etkisini anlamak için önemlidir (Istifli, H sunset ve İla, 2019; Mamur,  nal, Yılmaz, Erikel ve Yüzbaşıoğlu, 2020). Bu tez çalışmasında, uygulama gruplarındaki replikasyon indeksi, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Literatürde bir çalışmada, bir bor minerali olan borik asitin (400, 600, 800 ve 1 000  g/mL), insan lenfositlerinde replikasyon indeksini ve mitotik indeksi azaltarak sitotoksik etki gösterdiği bir çalışma mevcuttur. Ancak burada kullanılan konsantrasyonlar, bu tez çalışmasında kullanılanlardan oldukça yüksektir. Bu düşüş, konsantrasyonun yüksek olmasından kaynaklanıyor olabilir (Arslan, Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2008).

Bu tez çalışmasında, pozitif kontrol olarak kullanılan MMC ve MMS'nin her ikisi de hem 24 hem de 48 saatlik uygulamalarda, mitotik indeksi, kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde d ş rm ştir.  leksitin tek başına 24 saatlik uygulaması, M 'te anlamlı bir değişiklik oluşturmazken, 48 saatlik uygulamada, 2,5 ve 10  g/mL'lik konsantrasyonlar negatif kontrole kıyasla, anlamlı düşüşlere sebep olmuştur.  leksitin, MMC ile eş zamanlı uygulaması, 24 ve 48 saatlik muamelelerde, MMC'nin tek başına muamelesine kıyasla, bazı konsantrasyonlarda mitotik indekste artışlar oluşturmakla beraber, bu artışların hiçbiri anlamlı değildir. UX+MMS eş zamanlı uygulamasında ise, 24 saatlik muamelede, üleksitin bütün konsantrasyonları, MMS kaynaklı M 'teki düşüşlerde anlamlı artışlar oluşturmuştur. UX+MMS'nin 48 saatlik eş zamanlı uygulamasında da M 'te artışlar olmakla beraber, bu artışların hiçbiri MMS'nin tek başına uygulamasına kıyasla anlamlı değildir. Bütün bu verilere göre, UX tek başına M 'te ciddi düşüşler oluşturmadığı gibi, MMC veya MMS'den kaynaklanan mitotik indeksteki düşüşleri artırıcı bir etki göstermiştir. UX'in mitotik indeksi artırıcı etkisi özellikle MMS ile eş zamanlı uygulamada daha etkili olmuştur. Bu durum, MMS'nin mitotik indeksi çok daha etkili şekilde düşürmesi ve UX'in de bu etkiyi düzeltmede daha etkili rol oynamasından kaynaklanmış olabilir. 48 saatlik muamelede, UX'in 2,5 ve 10  g/mL konsantrasyonlarında anlamlı azalmalar meydana gelmesi, aynı konsantrasyonlarda uygulama süresinin uzamasıyla ve dolayısıyla maruziyet süresinin artmasıyla açıklanır. Bu durum, bölünebilme oranının hasar görmesinden kaynaklı M 'in de azalmış olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, sıvı bor gübresi olan bor etanolaminin (BE), badem bitkisi yapraklarındaki mitotik indeks düzeyine etkilerinin incelendiği bir

araştırmada, BE'nin düzenli mitoz ve moleküler stabiliteye katkı sağlayarak mitotik indeksi artırdığı raporlanmıştır. Bu nedenle, araştırmacılar borun, bitki gelişimi ve sağlıklı büyümesi üzerindeki olumlu potansiyelini vurgulamışlardır (Esteves, Carvalho, Roque, Rodrigues, Correia ve Lima-Brito, 2022).

Bu tez çalışması kapsamında değerlendirilen bir diğer sitotoksikite parametresi ise sitokinez blok proliferasyon indeksi olup, belirli bir ajanın mitojen tepkisinin ve sitostatik etkinin ölçüsünü vermektedir (Rodrigues, Beaton-Green, Wilkins ve Fenech, 2018). Bu tez çalışmasında, hiçbir uygulama grubu, bu indeks açısından anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Bu bulgu, incelenen kimyasalların hücrelerin bölünme ve proliferasyon kapasitesi üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Proliferasyon indeksiyle ilgili yapılan bir çalışmada, farklı BA konsantrasyonlarının (100, 300, 500, 700, 800, 850, 900, 1 000 ve 1 500 µg/mL) Jurkat hücreleri üzerindeki sitotoksitesini, proliferasyona etkisi açısından incelenmiştir. Jurkat hücrelerine farklı konsantrasyonlarda BA uygulandıktan 24, 48 ve 72 saat sonra doza ve zamana bağlı olarak hücre canlılığında azalma olduğu gözlenmiştir (Hilal, Eldem, Öz, Pehlivan ve Pirim, 2023).

Bu tez çalışmasında kullanılan tüm testlerin sonuçları birlikte değerlendirildiğinde (Çizelge 5.1 ve Çizelge 5.2), üleksitin incelenen konsantrasyonlarının tek başına genotoksik/mutajenik etki göstermediği ve DNA hasarını artırmadığı, tam tersine MMC, MMS ve H₂O₂ gibi mutajenik ve genotoksik ajanların neden olduğu anormalliklere karşı, antigenotoksik/antimutajenik/kemopreventif/koruyucu/iyileştirici potansiyel sergilediği görülmektedir. Gerçekleştirilen tez çalışmasının sonuçlarından hareketle, eş zamanlı muamelelerde ortaya çıkan bu etkilerin, literatürde rapor edildiği gibi, bor bileşiklerinden birisi olan üleksitin SOD, CAT, GSH-Px gibi çeşitli antioksidan enzim düzeylerini artırmasından, 8-OHdG eklentilerini, DNA hasarını ve dolayısıyla apoptoz göstergesi olan kaspaz-3 düzeyini düşürmesinden, oksidatif stresi ve genetik hasarları azaltmasından veya onarım düzeylerini artırmasından kaynaklanıyor olabilir.

Bütün bu veriler bor bileşiklerinin, özellikle üleksitin ağır metaller, manyetik ve diğer tip nanopartiküller ve çeşitli mutajenlerin oluşturduğu genetik, biyokimyasal, sitolojik ve histolojik hasarlara karşı güvenilir ve doğal bir koruyucu ve düzenleyici olabileceğini hatta nörodejeneratif ve hematolojik bozukluklara karşı umut vaat eden bir bileşik olabileceğini göstermektedir. Ancak, üleksitin antigenotoksik/ antimutajenik/ antioksidan/

kemopreventif/ /koruyucu/ iyileştirici özelliklerinin ve bunların mekanizmasının tam olarak anlaşılması ve insanların kullanımına sunulabilmesi için farklı hücre tiplerinde ve farklı türlerde hem *in vitro* ve hem de sonrasında *in vivo* şartlarda daha detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır.



Çizelge 5.1. UX, UX+MMC ve UX+MMS'nin sitotoksik, genotoksik ve antigenotoksik etkisi

Test maddesi	Uygulama		Anormal Hücre Yüzdesi	KA/Hücre	KKD/Hücre	MN	NT	NPK	Mİ	CBP İ	Rİ
	Süre (saat)	Doz (µg/mL)									
PK (MMC)	24		↑	↑	↑				↓		—
	48		↑	↑	↑	↑	↑	—	↓	—	—
PK (MMS)	24	6,60	↑	↑	↑				↓		—
	48	6,60	↑	↑	↑	↑	↑	—	↓	—	—
UX	24	2,5	↓	↓	—				↓		—
		5	—	—	—				—		—
		10	—	—	—				↓		—
		20	—	—	—				—		—
	48	2,5	↓	↓	↓	—	—	—	↓	—	—
		5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		10	—	—	—	—	↑	—	↓	—	—
		20	—	—	—	—	—	—	—	—	—
UX+MMC	24	2,5	↓	↓	—				—		—
		5	↓	↓	↓				—		—
		10	↓	↓	↓				—		—
		20	↓	↓	—				—		—
	48	2,5	↓	↓	↓	↓	↓	—	—	—	—
		5	↓	↓	—	↓	↓	—	—	—	—
		10	↓	↓	—	↓	↓	—	—	—	—
		20	↓	↓	↓	↓	—	—	—	—	—
UX+MMS	24	2,5	↓	↓	↓				—		—
		5	↓	↓	—				—		—
		10	↓	↓	—				—		—
		20	↓	↓	—				—		—
	48	2,5	↓	↓	↓	↓	—	—	—	—	—
		5	↓	↓	↓	—	↓	—	—	—	—
		10	↓	↓	—	—	↓	—	—	—	—
		20	↓	↓	—	—	↓	—	—	—	—

Negatif kontrole göre anlamlı artış ↑
 Negatif kontrole göre anlamlı azalış ↓
 Negatif kontrole göre anlamlı değil —

Pozitif kontrole (MMC) göre anlamlı azalış ↓
 Pozitif kontrole (MMC) göre anlamlı değil —

Pozitif kontrole (MMS) göre anlamlı azalış ↓
 Pozitif kontrole (MMS) göre anlamlı değil —

Çizelge 5.2. UX ve UX+H₂O₂'nin DNA hasarı üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Kuyruk yoğunluğu (%)	Kuyruk uzunluğu (µm)	Kuyruk momenti
	Süre (saat)	Doz (µg/mL)			
PK (H ₂ O ₂)		100 µM	↑	↑	↑
UX	1	2,5	—	↓	—
		5	—	↓	—
		10	—	—	—
		20	—	↑	—
UX+ H ₂ O ₂	1	2,5	↓	↓	↓
		5	↓	↓	↓
		10	↓	↓	↓
		20	↓	↓	↓

Negatif kontrole göre anlamlı artış ↑

Negatif kontrole göre anlamlı azalış ↓

Negatif kontrole göre anlamlı değil —

Pozitif kontrole (H₂O₂) göre anlamlı azalış ↓Pozitif kontrole (H₂O₂) göre anlamlı değil —

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kanser dünya genelinde ölümlerin önemli bir nedeni olup, ikinci sırada yer almaktadır. Kanser tedavisinde, genellikle cerrahi müdahale, radyasyon terapisi ve ilaç tedavisi (kemoterapi, hormonoterapi, hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapi) uygulanmaktadır. MMC ve MMS gibi antikanser ilaçları, bir yandan kanser hücrelerinin apoptozuna/ölümüne sebebiyet verirken, diğer yandan, normal hücrelerde de genetik hasarlara ve dolayısıyla kansere neden olabilmektedir. Antitümör ajanları, serbest radikaller oluşturarak kanserli hücreleri öldürmektedir. Ancak diğer taraftan, normal hücrelerde de sekonder tümörlerin meydana gelmesine neden olabilmektedir. Aynı şekilde reaktif oksijen türleri de düşük dozlarda faydalıyken, yüksek seviyelerde toksik hale gelebilmektedir. Bu çalışmada da kullanılan, MMC ve MMS gibi antitümör ajanları ve H₂O₂ toksik ajan olduklarından, genotoksisite ve antigenotoksiste çalışmalarında pozitif kontrol olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Son yıllarda yapılan araştırmalar, çeşitli bor bileşiklerinin, kromozom veya DNA düzeyinde zararlı olabilecek genotoksinlerin veya mutajenlerin etkisini azaltacak/iyileştirecek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu bileşiklerin antikanser ilaçlarının ve serbest radikallerin oluşturduğu hasarları iyileştirme mekanizmalarını tetiklediği de bildirilmiştir.

Çevresel ajanların DNA ve kromozom düzeyindeki etkilerinin belirlenmesinde kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi, sitokinezi bloke edilmiş mikronükleus ve komet testleri, en yaygın kullanılan ve OECD tarafından da önerilen testlerdir. Bu testler hem kimyasalların olası genotoksik etkilerinin ve hem de antigenotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde kabul gören testlerdir.

Bu tez çalışmasında, üleksitin genotoksik ve MMC, MMS ve H₂O₂ (yalnızca komet testi)'e karşı olası antigenotoksik etkileri, insan lenfositlerinde KA, KKD, CBMN-Cyt ve komet testleri kullanılarak ilk defa incelenmiştir. Bu testlere dayanarak elde edilen veriler, üleksitin kendi başına genotoksik/ mutajenik olmadığını, tam tersine, MMC, MMS ve H₂O₂ (yalnızca komet testi)'in oluşturduğu genotoksik/mutajenik/DNA hasarlarına karşı güçlü bir antigenotoksik/ antimutajenik/ DNA hasarını engelleyici-onarıcı/ kemopreventif potansiyeline sahip bir bileşik olduğunu göstermektedir. Ancak bu mekanizmaların

detaylarının tam anlamıyla anlaşılması için daha farklı hücre kültürlerinde, daha farklı test sistemleri ile yürütülecek *in vitro* ve *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, antigenotoksisite çalışmalarında kullanılan ve burada uygulanan eş zamanlı muameleye ek olarak ön ve geç zamanlı uygulamalara ve bunların sonuçlarına da ihtiyaç vardır. Daha sonrasında gen düzeyinde ve hatta gelişmiş omiks tekniklerinin gücünden yararlanılarak, bor bileşiklerinin rol oynadığı hücresel ve moleküler olayların mekanizmasına yönelik detaylı araştırmalara da ihtiyaç vardır. Bu şekilde, daha geniş bakış açıları ve yaklaşımlar kullanılarak, insanların, bor bileşiklerinden hem daha iyi ve hem de onların toksik risklerine maruz kalmadan daha güvenli şekilde yararlanmaları sağlanabilir.



KAYNAKLAR

- Abdel-Khalek, A. A., Al-Quraishy, S., and Abdel-Gaber, R. (2021). Silver nanoparticles induce time-and tissue-specific genotoxicity in oreochromis niloticus: Utilizing the adsorptive capacities of fruit peels to minimize genotoxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2(4), 1-9.
- Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Swelum, A. A., Perillo, A., and Losacco, C. (2018). The vital roles of boron in animal health and production: A comprehensive review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50, 296-304.
- Abdulai, D., and Cengiz, S. (2023). The effect of boron addition on the prosthetic dental materials: A review. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 9(2), 31-37.
- Acaralı, N., and Oktay, R. (2021). Optimization and enhancement of decorative glass organic coating properties containing ulexite mineral. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (27), 665-669.
- Acaroz, U., Ince, S., Arslan-Acaroz, D., Gurler, Z., Demirel, H. H., Kucukkurt, I., Eryavuz, A., Kara, R., Varol, N., and Zhu, K. (2019). Bisphenol-A induced oxidative stress, inflammatory gene expression, and metabolic and histopathological changes in male Wistar albino rats: protective role of boron. *Toxicology Research*, 8(2), 262-269.
- Afanasieva, K., and Sivolob, A. (2018). Physical principles and new applications of comet assay. *Biophysical Chemistry*, 238, 1-7.
- Aisha, A. E. S. A., and Çetin, M. (2023). Determination of boron for indoor architecture plants used in indoor architectural designs. *Scientific Research Communications*, 3(2), 25-32.
- Akbas, E., Unal, F., and Yuzbasioglu, D. (2022). Genotoxic effects of gadobutrol and gadoversetamide active substances used in magnetic resonance imaging in human peripheral lymphocytes *in vitro*. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(6), 2471-2482.
- Akouchejian, M., Alizadeh, R., Beiranvandi, F., Manshadi, M. D., Taherizadeh, F., and Shooshtari, M. H. (2023). Evaluation of DNA repair capacity in parents of pediatric patients diagnosed with autism spectrum disorder using the comet assay procedure. *IBRO Neuroscience Reports*, 15, 304-309.
- Alak, G., Özgeriş, F. B., Yeltekin, A. Ç., Parlak, V., Ucar, A., Caglar, O., Turkez, H., and Atamanalp, M. (2020). Hematological and hepatic effects of ulexite in zebrafish. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80, 103496.
- Alak, G., Parlak, V., Ucar, A., Yeltekin, A. C., Ozgeris, F. B., Caglar, O., Atamanalp M., and Turkez, H. (2020). Oxidative and DNA damage potential of colemanite on zebrafish: Brain, liver and blood. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(8), 593-602.

- Alak, G., Ucar, A., Parlak, V., Yeltekin, A. Ç., Özgeriş, F. B., Atamanalp, M., and Türkez, H. (2021). Antioxidant potential of ulexite in zebrafish brain: assessment of oxidative DNA damage, apoptosis, and response of antioxidant defense system. *Biological Trace Element Research*, 199, 1092-1099.
- Algrifi, M. A., and Salman, T. M. (2023). Boron concentration measurement in well water. *Biomedicine and Chemical Sciences*, 2(3), 217-220.
- Ali Khan, M., Jyoti, S., Rahul, Naz, F., Ara, G., Afzal, M., and Siddique, Y. H. (2021). Effect of lemon grass extract against methyl methanesulfonate-induced toxicity. *Toxin Reviews*, 40(4), 1172-1186.
- Alshebli, R. F., Salsabila, N., Yuzer, B., and Bicer, Y. (2023). Boron and lithium recovery from aqueous solutions by ion-exchange resin stuffed electro-electrodialysis process with hydrogen production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 110687.
- Altin, M., and Yildirim, G. Ş. (2022). Investigation of usability of boron doped sheep wool as insulation material and comparison with existing insulation materials. *Construction and Building Materials*, 331, 127303.
- Angelini, L. L., Dos Santos, R. A. C., Fox, G., Paruthiyil, S., Gozzi, K., Shemesh, M., and Chai, Y. (2023). Pulcherrimin protects *Bacillus subtilis* against oxidative stress during biofilm development. *npj Biofilms and Microbiomes*, 9(1), 50.
- Anttila, J. V., Shubin, M., Cairns, J., Borse, F., Guo, Q., Mononen, T., Vazquez-Garcia, Pulkkinen, O., and Mustonen, V. (2019). Contrasting the impact of cytotoxic and cytostatic drug therapies on tumour progression. *PLoS Computational Biology*, 15(11), e1007493.
- Arslan, M. E., Baba, C., and Tozlu, O. O. (2024). Boron compounds mitigate 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced toxicity in human peripheral blood mononuclear cells. *Toxics*, 12(2), 98.
- Arslan, M., Topaktas, M., and Rencuzogullari, E. (2008). The effects of boric acid on sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in cultured human lymphocytes. *Cytotechnology*, 56, 91-96.
- Arslan-Acaroz, D., and Bayşu-Sozibilir, N. (2020). Ameliorative effect of boric acid against formaldehyde-induced oxidative stress in A549 cell lines. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 4067-4074.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E.Ş., and Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 26(3), 362-369.
- Avuloglu Yılmaz, E., Yuzbasioglu, D., and Unal, F. (2023). Investigation of genotoxic effect of octyl gallate used as an antioxidant food additive in *in vitro* test systems. *Mutagenesis*, 38(3), 151-159.

- Avuloglu-Yilmaz, E., Yuzbasioglu, D., and Unal, F. (2020). *In vitro* genotoxicity assessment of monopotassium glutamate and magnesium diglutamate. *Toxicology in Vitro*, 65, 104780.
- Avuloğlu-Yılmaz, E. (2018). *Gıda katkı maddeleri olarak kullanılan monopotasyum glutamat, magnezyum diglutamat ve xylitol'ün genotoksik etkilerinin araştırılması*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 98.
- Bahrami, B., Greenwell, T., and Muecke, J. S. (2014). Long-term outcomes after adjunctive topical 5-fluorouracil or mitomycin C for the treatment of surgically excised, localized ocular surface squamous neoplasia. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 42(4), 317-322.
- Bardelčíková, A., Šoltys, J., and Mojžiš, J. (2023). Oxidative Stress, Inflammation and Colorectal Cancer: An Overview. *Antioxidants*, 12(4), 901.
- Başaran, N., Duydu, Y., Üstündağ, A., Taner, G., Dilsiz, S. A., Anlar, H. G., Yalçın, C.Ö., Bacanlı, M., Golka, K., Schwerdtle, T., and Bolt, H. M. (2019). Environmental boron exposure does not induce DNA damage in lymphocytes and buccal cells of females: DNA damage in lymphocytes and buccal cells of boron exposed females. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 53, 150-153.
- Bayıl Oguzkan, S., Turkez, H., Karagul, B., Cakir, U., and Ibrahim Ugras, H. (2019). *In vitro* cytotoxic and genotoxic effects of newly synthesised boron ionic liquids. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 33(1), 86-92.
- Behera, B., Kancheti, M., Raza, M. B., Shiv, A., Mangal, V., Rathod, G., Altaf, M.A., Kumar, A., Aftab, T., Kumar, R., Kumar-Tiwari, R., Kumar-Lal, M., and Singh, B. (2023). Mechanistic insight on boron-mediated toxicity in plant vis-a-vis its mitigation strategies: A review. *International Journal of Phytoremediation*, 25(1), 9-26.
- Benhusein, G., Mutch, E., Aburawi, S., Williams, F. (2010). Genotoxic effect induced by hydrogen peroxide in human hepatoma cells using comet assay. *Libyan Journal of Medicine*, 5(1), 4637.
- Bilici, I., Aygün, B., Deniz, C.U., Öz, B., Sayyed, M.I. and Karabulut, A. (2021). Fabrication of novel neutron shielding materials: Polypropylene composites containing colemanite, tincal and ulexite. *Progress in Nuclear Energy*, 141, 103954.
- Brianna, and Lee, S. H. (2023). Chemotherapy: How to reduce its adverse effects while maintaining the potency? *Medical Oncology*, 40(3), 88.
- Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., and Pienta, K. J. (2023). Updating the definition of cancer. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142-1147.
- Canımurbey, B. (2020). Electrical properties of ulexite by dielectric spectroscopy. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 13(1), 88-94.
- Carocho, M., and Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.

- Carones, F., Vigo, L., Scandola, E., Vacchini, L. (2002). Evaluation of the prophylactic use of mitomycin-C to inhibit haze formation after photorefractive keratectomy. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, 28(12), 2088-2095.
- Celep, O., Yazıcı, E. Y. ve Deveci, H. (2022). Cevherlerden ve tuzlu su kaynaklarından lityum kazanımı. *Scientific Mining Journal*, 61(2), 105-120.
- Celikezen, F., Turkez, H., Aydin, E., Izgi, M., and Celikezen, B. (2015). Potent antioxidant and genotoxic effects of ammonium tetraborate. *Natural Science and Discovery*, 1(2), 45-9.
- Cimini, S., Giaccone, G., Tagliavini, F., Costantino, M., Perego, P., and Rossi, G. (2022). P301L tau mutation leads to alterations of cell cycle, DNA damage response and apoptosis: Evidence for a role of tau in cancer. *Biochemical Pharmacology*, 200, 115043.
- Ciriminna, R., Albanese, L., Meneguzzo, F., and Pagliaro, M. (2016). Hydrogen peroxide: A key chemical for today's sustainable development. *European Chemical Societies Publishing*, 9(24), 3374-3381.
- Comboni, D., Pagliaro, F., Gatta, G. D., Lotti, P., Battiston, T., Merlini, M., and Hanfland, M. (2021). Phase transition and high-pressure behavior of ulexite, a potential aggregate in radiation-shielding concretes. *Construction and Building Materials*, 291, 123188.
- Compton, C. (2020). Cancer initiation, promotion, and progression and the acquisition of key behavioral traits. Were, D. (Editor). *Cancer: The enemy from within: A comprehensive textbook of cancer's causes, complexities and consequences. Springer International Journal*, 3(7), 25-48.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., and Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *The Federation of American Sociates for Experimental Biology Journal*, 17(10), 1195-1214.
- Crespo, M. A., Rapuano, C. J., and Syed, Z. A. (2023). Applications of Mitomycin-C in cornea and external disease. *Turkish Journal of Ophthalmology*, 53(3), 175.
- Çelikezen, F. Ç., Toğar, B., Özgeriş, F. B., Izgi, M. S., and Türkez, H. (2016). Cytogenetic and oxidative alterations after exposure of cultured human whole blood cells to lithium metaborate dehydrate. *Cytotechnology*, 68, 821-827.
- Çelikezen, F. Ç., Türkez, H., and Toğar, B. (2014). *In vitro* assessment of genotoxic and oxidative effects of zinc borate. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 96(5), 777-782.
- Dameto, L. S., Moraes, L. A., and Moreira, A. (2023). Effects of boron sources and rates on grain yield, yield components, nutritional status, and changes in the soil chemical attributes of soybean. *Journal of Plant Nutrition*, 46(9), 2077-2088.
- Davesne, A. L., Lazar, S., Bellayer, S., Qin, S., Grunlan, J. C., Bourbigot, S., and Jimenez, M. (2019). Hexagonal boron nitride platelet-based nanocoating for fire protection. *ACS Applied Nano Materials*, 2(9), 5450-5459.

- Degryse, F. (2017). Boron fertilizers: Use, challenges and the benefit of slow-release sources—a review. *Journal of Boron*, 2(3), 111-122.
- Deliboran, A. (2020). Neden bor? Borun çevre ile insan, hayvan ve bitki sağlığı açısından önemi. *Bahçe*, 49(2), 127-141.
- Demirci, S., Doğan, A., Karakuş, E., Halıcı, Z., Topçu, A., Demirci, E., and Sahin, F. (2015). Boron and poloxamer (F68 and F127) containing hydrogel formulation for burn wound healing. *Biological Trace Element Research*, 168, 169-180.
- Dhillon, V. S., Deo, P., and Fenech, M. (2023). The relationship between telomere length and nucleoplasmic bridges and severity of disease in prostate cancer patients. *Cancers*, 15(13), 3351.
- Di Giampaolo, L., Zaccariello, G., Benedetti, A., Vecchiotti, G., Caposano, F., Sabbioni, E., Groppi, F., Manenti, S., Niu, Q., Poma, A.M.G., Gioacchino, M.D., and Petrarca, C. (2021). Genotoxicity and immunotoxicity of titanium dioxide-embedded mesoporous silica nanoparticles (TiO₂@ MSN) in primary peripheral human blood mononuclear cells (PBMC). *Nanomaterials*, 11(2), 270.
- Dibek, E., Babayeva, A., Kürkçü, M. S., Çöl, N. A., and Çöl, B. (2020). Bor içeren bazı biyoaktif bileşikler. *Journal of Boron*, 5(1), 29-39.
- Dimici, E. (2020). *Manyetik rezonans görüntülemeye kullanılan gadobutrol ve gadoversetamid etken maddelerinin insan periferik lenfositlerinde genotoksik etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 21.
- Djoković, J. D., Janković, S. M., Milovanović, A. P., and Bulat, P. (2023). Chromosomal aberrations, micronuclei, blood parameters and received doses in workers exposed to ionizing radiation. *La Medicina del Lavoro*, 114(4), 125.
- Durmuş, H., Çömez, N., Gül, C., Yurddaşkal, M., ve Uzun, R.O. (2019). Ferromolibden ve ferrobör takviyeli lazer kaplamaların aşınma karakteristiği ve mikroyapısı. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 10(3), 1009-1017.
- Elevli, B., Yaman, İ., and Laratte, B. (2022). Estimation of the Turkish boron exportation to Europe. *Mining*, 2(2), 155-169.
- Erikel, E. (2021). *Amygdalin'in in vitro insan lenfositlerinde genotoksik ve antigenotoksik etkileri*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 122.
- Erikel, E., Yuzbasioglu, D., and Unal, F. (2023). A study on Amygdalin's genotoxicological safety and modulatory activity in human peripheral lymphocytes *in vitro*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 64(5), 291-308.
- Esteves, A., Carvalho, A., Roque, J., Rodrigues, M. Â., Correia, C. M., and Lima-Brito, J. (2022). Cytogenetic and molecular characterization of almond trees treated with plant biostimulants or boron-based fertilizers. *Plant Growth Regulation*, 98(1), 179-187.
- Estevez-Fregoso, E., Kilic, A., Rodríguez-Vera, D., Nicanor-Juárez, L. E., Romero-Rizo, C. E. M., Farfán-García, E. D., and Soriano-Ursúa, M. A. (2023). Effects of boron-containing compounds on liposoluble hormone functions. *Inorganics*, 11(2), 84.

- Evans, H. J. (1984). Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. In: Kilbey, B. J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C (Eds.), *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, Amsterdam: Elsevier Sciences, 405–427.
- Fadaka, A., Ajiboye, B., Ojo, O., Adewale, O., Olayide, I., and Emuowhochere, R. (2017). Biology of glucose metabolism in cancer cells. *Journal of Oncological Sciences*, 3(2), 45-51.
- Fan, J., Wilson, P. F., Wong, H. K., Urbin, S. S., Thompson, L. H., and Wilson III, D. M. (2007). XRCC1 down-regulation in human cells leads to DNA-damaging agent hypersensitivity, elevated sister chromatid exchange, and reduced survival of BRCA2 mutant cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48(6), 491-500.
- Fares, J., Fares, M. Y., Khachfe, H. H., Salhab, H. A., and Fares, Y. (2020). Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), 28.
- Fatma, F., Verma, S., Kamal, A., and Srivastava, A. (2018). Monitoring of morphotoxic, cytotoxic and genotoxic potential of mancozeb using Allium assay. *Chemosphere*, 195, 864-870.
- Fenech, M. (2000). The *in vitro* micronucleus technique. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1-2), 81-95.
- Fenech, M. (2007). Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 2(5), 1084-1104.
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A. T., Surralles, J., Crott, J. W., Parry, J., Norppa, H., Eastmond, D.A., Tucker, J.D., and Thomas, P. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26(1), 125-132.
- Franzke, B., Schwingshackl, L., and Wagner, K. H. (2020). Chromosomal damage measured by the cytokinesis block micronucleus cytome assay in diabetes and obesity-A systematic review and meta-analysis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 786, 108343.
- Ganie, M. A., Akhter, F., Bhat, M. A., Malik, A. R., Junaid, J. M., Shah, M. A., Bhat, A., and Bhat, T. A. (2013). Boron-a critical nutrient element for plant growth and productivity with reference to temperate fruits. *Current Science*, 76-85.
- Geyikoglu, F., and Turkez, H. (2008). Boron compounds reduce vanadium tetroxide genotoxicity in human lymphocytes. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26(3), 342-347.
- Gowda, N. K. S., Gopi, M., Pal, D. T., Dey, D. K., and Bhasker, T. V. (2023). Bioactive role of dietary boron in animals: A review. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 23(2), 437-453.

- Guerard, M., Baum, M., Bitsch, A., Eisenbrand, G., Elhajouji, A., Epe, B., Habermeyer, M., Kaina, B., Martus, H.J., Pfuhler, S., Schmitz C., Sutter, A., Thomas, A.D., Ziemann, C., and Froetschl, R. (2015). Assessment of mechanisms driving non-linear dose-response relationships in genotoxicity testing. *Mutation Research / Reviews in Mutation Research*, 763, 181-201.
- Gunasekarana, V., Raj, G. V., and Chand, P. (2015). A comprehensive review on clinical applications of comet assay. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(3), GE01-GE05.
- Guo, J. R., Li, Z., Wang, C. Y., Lam, C. W. K., Chen, Q. Q., Zhang, W. J., Wong, V.K.W., Yao, M.C., and Zhang, W. (2017). Profiling of ribonucleotides and deoxyribonucleotides pools in response to DNA damage and repair induced by methyl methanesulfonate in cancer and normal cells. *Oncotarget*, 8(60), 101707.
- Guzel, G., Sivrikaya, O., and Deveci, H. (2016). The use of colemanite and ulexite as novel fillers in epoxy composites: Influences on thermal and physico-mechanical properties. *Composites Part B: Engineering*, 100, 1-9.
- Gülsoy, N., Yavas, C., and Mutlu, Ö. (2015). Genotoxic effects of boric acid and borax in zebrafish, *Danio rerio* using alkaline comet assay. *Experimental and Clinical Sciences Journal*, 14, 890.
- Güven, A. C. (2009). *Borik asitin yeni doğan sıçan beyin hücre kültürlerinde glutamatla oluşturulan nörotoksisiteye etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 18.
- Hacıosmanoğlu, G.G., Genç, S., and Can, Z.S. (2021). Efficient removal of methyl orange from aqueous solutions using ulexite. *Environmental Technology and Innovation*, 22, 101466.
- Hanawalt, P. C., and Spivak, G. (2008). Transcription-coupled DNA repair: Two decades of progress and surprises. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(12), 958-970.
- Hartmann, A., Plappert, U., Poetter, F., and Suter, W. (2003). Comparative study with the alkaline Comet assay and the chromosome aberration test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 536(1-2), 27-38.
- Helvacı, C. (2015). Bor yataklarının mineral ve kimyası yönünden genel değerlendirilmesi ve gelecek öngörüsü. *Madencilik ve Yer Bilimleri Dergisi*, 6 (47).
- Hilal, B., Eldem, A., Oz, T., Pehlivan, M., and Pirim, I. (2023). Boric acid affects cell proliferation, apoptosis, and oxidative stress in ALL cells. *Biological Trace Element Research*, 12, 1-9.
- Hossain, S., Peng, G., and Nakagawa, T. (2022). Boron nanostructure formation on Mo (112) surface. *Surface Science*, 724, 122145.
- Hou, H., Zeng, X., and Zhang, X. (2020). Production of hydrogen peroxide by photocatalytic processes. *Angewandte Chemie International Edition*, 59(40), 17356-17376.

- Hu, Z., Breeze, B., Walker, M., Faulques, E., Sloan, J., and Lloyd-Hughes, J. (2023). Spectroscopic insights into the influence of filling carbon nanotubes with atomic nanowires for photophysical and photochemical applications. *ACS Applied Nano Materials*, 6(4), 2883-2893.
- Imyanitov, E. N., and Iyevleva, A. G. (2022). Molecular tests for prediction of tumor sensitivity to cytotoxic drugs. *Cancer Letters*, 526, 41-52.
- Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H. H., Acaroz, D. A., Akbel, E., and Cigerci, I. H. (2014). Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. *Chemosphere*, 108, 197-204.
- Issac, P. K., Velayutham, M., Guru, A., Sudhakaran, G., Pachaiappan, R., and Arockiaraj, J. (2022). Protective effect of morin by targeting mitochondrial reactive oxygen species induced by hydrogen peroxide demonstrated at a molecular level in MDCK epithelial cells. *Molecular Biology Reports*, 49(6), 4269-4279.
- Istifli, E. S., Hüsün, M. T., and İla, H. B. (2019). Cell division, cytotoxicity, and the assays used in the detection of cytotoxicity. *Cytotoxicity-Definition, Identification, and Cytotoxic Compounds*, 1.
- Iwasaki, M., Itoh, H., Sawada, N., and Tsugane, S. (2023). Exposure to environmental chemicals and cancer risk: epidemiological evidence from Japanese studies. *Genes and Environment*, 45(1), 10.
- İnternet: Boren (2023a) “Kronoloji”. URL: <https://boren.tenmak.gov.tr/tr/kronoloji.html>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.
- İnternet: Boren (2023b) “Bor Mineralleri”. URL: <https://boren.tenmak.gov.tr/tr/bor-mineralleri.html> , Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.
- İnternet: Cancer Council “Cancer”. URL: <https://www.cancer.org.au/cancer-information/what-is-cancer>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.
- İnternet: Cancer Research “How cells and tissues grow”. URL: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer/how-cancer-starts>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.
- İnternet: Etimaden (2023a) “Bor Elementi”. URL: <https://www.etimaden.gov.tr/bor-elementi>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.
- İnternet: Etimaden (2023b) “Borun Kullanım Alanları”. URL: <https://www.etimaden.gov.tr/>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.
- İnternet: Etimaden (2023c) “Ulexite”. URL: <https://www.etimaden.gov.tr/en/ulexite>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.
- İnternet: Etimaden (2023d) “Dünyada Bor”. URL: <https://www.etimaden.gov.tr/dunyada-bor> , Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.
- İnternet: Etimaden (2023e) “Türkiyede Bor”. URL: <https://www.etimaden.gov.tr/turkiyede-bor>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: International Gem Society “Ulexite Value, Price, and Jewelry Information”. URL: <https://www.gemsociety.org/article/ulexite-jewelry-and-gemstone-information/>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: MTA “Üleksit”. URL: <https://www.mta.gov.tr/v3.0/bilgi-merkezi/uleksit>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: National Cancer Institute (2023a) “What Is Cancer?”. URL: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: National Cancer Institute (2023b) “Cancer Terms”. URL: <https://training.seer.cancer.gov/disease/cancer/terms.html>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: National Cancer Institute (2023c) “Immunotherapy to Treat Cancer”. URL: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: National Human Genome Research Institute “Lymphocyte”. URL: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Lymphocyte>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: OECD (2023a) “Test No. 473: *In vitro* Mammalian Chromosomal Aberration Test”. URL: <https://www.oecd.org/env/test-no-473-in-vitro-mammalian-chromosomal-aberration-test-9789264264649-en.htm>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: OECD (2023b) “Test No. 487”: *In vitro* Mammalian Cell Micronucleus Test”. URL: <https://www.oecd.org/env/ehs/testing/test-no-487-in-vitro-mammalian-cell-micronucleus-test-9789264264861-en.htm>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: OECD (2023c) “Test No. 489”: *In vivo* Mammalian Alkaline Comet Assay”. URL: <https://www.oecd.org/env/test-no-489-in-vivo-mammalian-alkaline-comet-assay-9789264264885-en.htm>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: PubChem (2023a) “Ulexite”. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ulexite>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: PubChem (2023b) “Mitomycin-C”. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/mitomycin-C>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: PubChem (2023c) “Methyl-Methanesulfonate”. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methyl-methanesulfonate>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: PubChem, Hydrogen Peroxide (2024) URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydrogen-Peroxide#section=2D-Structure>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: Purdue University “Herbert C. Brown: 1979 Nobel Prize in Chemistry”. URL: <https://www.chem.purdue.edu/hcbrown/#:~:text=Brown%3A%201979%20Nobel%20Prize%20in%20Chemistry,-Herbert%20C>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: Sigma-Aldrich (2023a). Mitomycin C, URL: <https://www.sigmaaldrich.com/TR/en/product/sigma/m4287>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: Sigma-Aldrich (2023b). Methyl Methanesulfonate, URL: https://www.sigmaaldrich.com/TR/en/product/mm/820775?gclid=Cj0KCQjw84anBhCtARIsAISi-xdVw4QmrmY-cCWT3afGo37mhhmE3bQv1_SQooXKP_6j4SpSGtkAsTMaAgnQEALw_wcB&gclid=src=aw.ds, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: TC. Sağlık Bakanlığı (2023a) “Kemoterapi”. URL: <https://hsgmdestek.saglik.gov.tr/tr/kanser-tedavisi/kanser-tedavisi-nelerdir/kemoterapi.html>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: TC. Sağlık Bakanlığı (2023b) “Radyoterapi”. URL: <https://hsgmdestek.saglik.gov.tr/tr/kanser-tedavisi/kanser-tedavisi-nelerdir/kanser-tedavisinde-radyasyon.html>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: TC. Sağlık Bakanlığı (2023c) “Hormonal Tedavi”. URL: <https://hsgmdestek.saglik.gov.tr/tr/kanser-tedavisi/kanser-tedavisi-nelerdir/hormonal-tedavi.html>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: WHO (2023a) “Cancer Prevention”. URL: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

İnternet: WHO (2023b) “Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification”. URL: <https://www.who.int/tools/atc-ddd-toolkit/atc-classification>, Son Erişim Tarihi: 06.06.2024.

Kalita, J. M., Kaya-Keleş, Ş., Çakal, G. Ö., Meriç, N., and Polymeris, G. S. (2021). Thermoluminescence and optically stimulated luminescence properties of ulexite mineral. *Journal of Luminescence*, 230, 117759.

Kara, G. (2023). *Carmoisine ve ponceau 4R gıda boyalarının insan lenfositlerinde genotoksik etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 61.

Karabulut, H., and Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1), 45-50.

Karkucak, M. (2016). Kromozom anomalileri ve fertilite problemleri. *Androloji Bülteni*, 18(64), 33–39.

Karşlıoğlu, A., Onur, M. İ., and Balaban, E. (2022). Investigation of boron waste usage in civil engineering applications. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 11(3), 727-735.

- Khaliq, H., Juming, Z., and Ke-Mei, P. (2018). The physiological role of boron on health. *Biological Trace Element Research*, 186, 31-51.
- Kilicoglu, O., Akman, F., Ogul, H., Agar, O., and Kara, U. (2023). Nuclear radiation shielding performance of borosilicate glasses: Numerical simulations and theoretical analyses. *Radiation Physics and Chemistry*, 204, 110676.
- Kim, K. C., Kim, N. I., Jiang, T., Kim, J. C., and Kang, C. I. (2023). Boron recovery from salt lake brine, seawater, and wastewater-A review. *Hydrometallurgy*, 14, 106062.
- Kim, N.I., and Kim, K. C. (2023). Review of inexpensive adsorbents for removing boron from aqueous solutions. *World*, 8 (1), 9-21.
- Klär, V., Palarie, V., Burkovski, A., Karl, M., and Grobecker-Karl, T. (2022). Pilot study on the applicability of boron-doped diamond electrodes for tooth whitening. *Clinical and Experimental Dental Research*, 8(3), 757-762.
- Koppen, G., Azqueta, A., Pourrut, B., Brunborg, G., Collins, A. R., and Langie, S. A. (2017). The next three decades of the comet assay: a report of the 11th International Comet Assay Workshop. *Mutagenesis*, 32(3), 397-408.
- Korkmaz, N. (2018). *İğnemi ve polirodanin kaplı iğnemi TiO₂ nanopartiküllerinin insan lenfositlerindeki genotoksik etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 57.
- Koroglu, L., Peksen, C., Ince, M., and Ayas, E. (2023). Cost-effective and eco-friendly transparent ceramic glazes for porcelain bodies. *Journal of the Australian Ceramic Society*, 1-7.
- Kumar, V., and Bhargava, G. (2022). Protozoal infections: Treatment and challenges. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4, 1292.
- Lee, D. H., O'Connor, T. R., and Pfeifer, G. P. (2002). Oxidative DNA damage induced by copper and hydrogen peroxide promotes CG→TT tandem mutations at methylated CpG dinucleotides in nucleotide excision repair-deficient cells. *Nucleic Acids Research*, 30(16), 3566-3573.
- Lee, Y. T., Tan, Y. J., and Oon, C. E. (2018). Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity. *European Journal of Pharmacology*, 834, 188-196.
- Leffa, D. D., da Rosa, R., Munhoz, B. P., Mello, A. D. M., Mandelli, F. D., Amaral, P. D., Rossatto, A.E., and de Andrade, V. M. (2012). Genotoxic and antigenotoxic properties of *Calendula officinalis* extracts in mice treated with methyl methanesulfonate. *Advancements in Life Sciences*, 2(2), 21-28.
- Leonardi, S.A., Zanuttini, M.A., Miró, E.E., and Milt, V.G. (2017). Catalytic paper made from ceramic fibres and natural ulexite. Application to diesel particulate removal. *Chemical Engineering Journal*, 317, 394-403.
- López-Lázaro, M. (2018). The stem cell division theory of cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 123, 95-113.

- López-Romero, D., Izquierdo-Vega, J. A., Morales-González, J. A., Madrigal-Bujaidar, E., Chamorro-Cevallos, G., Sánchez-Gutiérrez, M., Betanzos-Cabrera, G., Alvarez-Gonzalez, I., Morales-Gonzalez, A., and Madrigal-Santillán, E. (2018). Evidence of some natural products with antigenotoxic effects. Part 2: Plants, vegetables, and natural resin. *Nutrients*, 10(12), 1954.
- Luan, Y., and Honma, M. (2022). Genotoxicity testing and recent advances. *Genome Instability and Disease*, 3(1), 1-21.
- Luu, K., Tellez, P.A., and Chadha, N.K. (2022). The effectiveness of mitomycin C in otolaryngology procedures: A systematic review. *Clinical Otolaryngology*, 47(1), 1-13.
- Mahmoodi, M., Soleyman-Jahi, S., Zendehdel, K., Mozdarani, H., Azimi, C., Farzanfar, F., Safari, Z., Mohagheghi, M.A., Khaleghian, M., Divsalar, K., Asgari, E., and Rezaei, N. (2017). Chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, and micronuclei in lymphocytes of oncology department personel handling anti-neoplastic drugs. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(2), 235-240.
- Mamur, S., Ünal, F., Yılmaz, S., Erikel, E., and Yüzbaşıoğlu, D. (2020). Evaluation of the cytotoxic and genotoxic effects of mycotoxin fusaric acid. *Drug and Chemical Toxicology*, 43(2), 149-157.
- Mancini, M., Cerny, M. E. V., Cardoso, N. S., Verissimo, G., and Maluf, S. W. (2023). Grape seed components as protectors of inflammation, DNA damage, and cancer. *Current Nutrition Reports*, 12(1), 141-150.
- Marfavi, A., Kavianpour, P., and Rendina, L.M. (2022). Carboranes in drug discovery, chemical biology and molecular imaging. *Nature Reviews Chemistry*, 6(7), 486-504.
- Mohapatra, D., Pratap, R., Pandey, V., Shreya, S., Senapati, P. C., Dubey, P. K., Parmar, A., and Sahu, A. N. (2023). *In vitro* cancer cell imaging, free radical scavenging, and Fe³⁺ sensing activity of green synthesized carbon dots from leaves of *Piper longum*. *Journal of Cluster Science*, 34(3), 1269-1290.
- Moon, S., Kim, J., Park, J., Im, S., Kim, J., Hwang, I., and Kim, J. K. (2023). Hexagonal boron nitride for next-generation photonics and electronics. *Advanced Materials*, 35(4), 2204161.
- Mourelatos, D. (2016). Sister chromatid exchange assay as a predictor of tumor chemoresponse. *Mutation Research*, 803-804, 1-12.
- Mukherjee, S., Mehta, D., Dhangar, K., and Kumar, M. (2021). Environmental fate, distribution and state-of-the-art removal of antineoplastic drugs: A comprehensive insight. *Chemical Engineering Journal*, 407, 127184.
- Murphy, E.C., and Friedman, A.J. (2019). Hydrogen peroxide and cutaneous biology: Translational applications, benefits, and risks. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 81(6), 1379-1386.

- Nellessen, M. A., Gasda, P., Crossey, L., Peterson, E., Ali, A., Zhang, J., Zhou, W., Ming, H., Spilde, M., Newsom, H., Lanza, N., Reyes-Newell, A., Legett, S., Das, D., Delapp, D., Yeager, C., Labouriau, A., Samuel, C., and Wiens, R. C. (2023). Boron adsorption in clay minerals: Implications for martian groundwater chemistry and boron on Mars. *Icarus*, 401, 115599.
- Nojiri, M., Takata, T., Hu, N., Sakurai, Y., Suzuki, M., and Tanaka, H. (2024). Neutron flux evaluation algorithm with a combination of Monte Carlo and removal-diffusion calculation methods for boron neutron capture therapy. *Medical Physics*, 1-14.
- Ortiz-García, R. G., Gómez-Meda, B. C., Gutiérrez-Sevilla, J. E., Gallegos-Arreola, M. P., Zamora-Perez, A. L., Ortiz-García, Y. M., Garcia-Arias, V.E., Torres-Mendoza, B.M., and Zúñiga-González, G. M. (2023). Micronuclei and nuclear buds in amniotic tissue of rats treated with cyclophosphamide. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 890, 503659.
- Ozdemir, A., Sarioglu, O. F., and Tekinay, T. 2015. Spectroscopic evaluation of DNA-Borate interactions. *Biological Trace Element Research*, 168, 508-515.
- Özer, T. (2023). *Fe₂O₃ Nano- ve Mikro-partiküllerinin memelilerdeki genotoksik etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 14.
- Parambil, A. M., Prasad, A., Tomar, A. K., Ghosh, I., and Rajamani, P. (2024). Biogenic carbon dots: a novel mechanistic approach to combat multidrug-resistant critical pathogens on the global priority list. *Journal of Materials Chemistry B*, 12(1), 202-221.
- Pehlivan, Ö. C., Cavoşoğlu, K., Yalçın, E., and Acar, A. (2023). *In silico* interactions and deep neural network modeling for toxicity profile of methyl methanesulfonate. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(55), 117952-117969.
- Perry, P., and Wolff, S. (1974). New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature*, 251 (5471), 156-158.
- Ponce D.L. C. (2020). In situ anodic generation of hydrogen peroxide. *Nature Catalysis*, 3(2), 96-97.
- Prazerekos, P. (2023). Immunotherapy as a cancer treatment option in the future. *Health Science Journal*, 17(6), 1-3.
- Qu, H., Chen, H., Cheng, W., Wang, Y., Xia, Y., Zhang, L., Ma, B., Hu, R., and Xue, X. (2023). A supramolecular assembly strategy for hydrophilic drug delivery towards synergistic cancer treatment. *Acta Biomaterialia*, 164, 407-421.
- Quintana-Sosa, M., León-Mejía, G., Luna-Carrascal, J., Rodríguez, I. L., Acosta-Hoyos, A., Anaya-Romero, M., Trindade, C., Narvaez, D.M., de Restrepo, H.G., Dias, J., Niekraszewicz, L., Garcia, A.L.H., Rohr, P., da Silva, J., and Henriques, J. A. P. (2021). Cytokinesis-block micronucleus cytome (CBMN-CYT) assay biomarkers and telomere length analysis in relation to inorganic elements in individuals exposed to welding fumes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 212, 111935.

- Rao, P. S. S., Ande, A., Sinha, N., Kumar, A., and Kumar, S. (2016). Effects of cigarette smoke condensate on oxidative stress, apoptotic cell death, and HIV replication in human monocytic cells. *PloS One*, 11(5), e0155791.
- Rao, V. S., Mohan, K. K., Naveen, P., Ganesh, N. V., Sai, P. U., Khan, N. I. A., and Shaik, B. (2023). Experimental investigation on mechanical properties of basalt, s glass and chopped mate fiber reinforced with 10% sheep horn powder. *Mukt Shabd Journal*, 12(4), 214-218.
- Reis, S., Pavia, I., Carvalho, A., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., and Lima-Brito, J. (2018). Seed priming with iron and zinc in bread wheat: effects in germination, mitosis and grain yield. *Protoplasma*, 255, 1179-1194.
- Rjiba-Touati, K., Ayed-Boussema, I., Guedri, Y., Achour, A., Bacha, H., and Abid, S. (2013). Role of recombinant human erythropoietin in mitomycin C-induced genotoxicity: analysis of DNA fragmentation, chromosome aberrations and micronuclei in rat bone-marrow cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 753(1), 48-53.
- Różycka, D., Korycka-Machała, M., Żaczek, A., Dziadek, J., Gurda, D., Orlicka-Płocka, M., Wyszko, E., Biniek-Antosiak, K., Rypniewski, A., and Olejniczak, A. B. (2020). Novel isoniazid-carborane hybrids active *in vitro* against *Mycobacterium tuberculosis*. *Pharmaceutics*, 13(12), 465.
- Saleem, M., Khanif, Y. M., Fauziah, I., Samsuri, A. W., and Hafeez, B. (2011). Importance of boron for agriculture productivity: A review. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 1(8), 293-300.
- Salem, H. S. (2023). Cancer status in the occupied palestinian territories: Types; incidence; mortality; sex, age, and geography distribution; and possible causes. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 149(8), 5139-5163.
- Santhiago, M. R., Netto, M. V., and Wilson, S. E. (2012). Mitomycin C: Biological effects and use in refractive surgery. *Cornea*, 31(3), 311-321.
- Shields, H. J., Traa, A., and Van Raamsdonk, J. M. (2021). Beneficial and detrimental effects of reactive oxygen species on lifespan: A comprehensive review of comparative and experimental studies. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 628157.
- Siddique, Y. H., Ara, G., Beg, T., Gupta, J., and Afzal, M. (2010). Assessment of cell viability, lipid peroxidation and quantification of DNA fragmentation after the treatment of anticancerous drug mitomycin C and curcumin in cultured human blood lymphocytes. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(5), 503-508.
- Singh, P., and Singh, A. (2013). Mitomycin-C use in ophthalmology. *IOSR Journal of Pharmacy*, 3(1), 12-14.
- Somany, S., Trivedi, G.G., Sridhar, T., Goel, A., Mohanty, D., and Pitchumani, B. (2014). Increase in vitrified tile production by the use of borate flux. *Qualicer*, 6, 1-11.

- Souza, H. D. O., Conceição, M. B. D., and Weber, L. I. (2018). Lethal concentration of methyl methanesulfonate in a new potential invertebrate model for ecotoxicology. *Nauplius*, 26, e2018022.
- Speit, G., and Haupter, S. (1985). On the mechanism of differential giemsa staining of bromodeoxyuridine-substituted chromosomes. *Human Genetics*, 70(2), 126-129.
- Struys, I., Verscheure, E., Lenaerts, L., Amant, F., Godderis, L., and Ghosh, M. (2023). Characterization of the genotoxic profile of antineoplastic drugs using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 97, 104036.
- Sugozu, I., Mutlu, I., and Sugozu, K. B. (2018). The effect of ulexite to the tribological properties of brake lining materials. *Polymer Composites*, 39(1), 55-62.
- Sun, M. S., Jin, H., Sun, X., Huang, S., Zhang, F. L., Guo, Z. N., and Yang, Y. (2018). Free radical damage in ischemia-reperfusion injury: an obstacle in acute ischemic stroke after revascularization therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1, 3804979.
- Sunjog, K., Kolarević, S., Héberger, K., Gačić, Z., Knežević-Vukčević, J., Vuković-Gačić, B., and Lenhardt, M. (2013). Comparison of comet assay parameters for estimation of genotoxicity by sum of ranking differences. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405, 4879-4885.
- Şekeroğlu, Z. A. ve Şekeroğlu, V. (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229.
- Tian, Q., Jing, L., Ye, S., Liu, J., Chen, R., Price, C. A. H., Fan, F., and Liu, J. (2021). Nanospatial charge modulation of monodispersed polymeric microsphere photocatalysts for exceptional hydrogen peroxide production. *Small*, 17(49), 2103224.
- Tohme, S., Simmons, R. L., and Tsung, A. (2017). Surgery for cancer: A trigger for metastases. *Cancer Research*, 77(7), 1548-1552.
- Tomasetti, C., Li, L., and Vogelstein, B. (2017). Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science*, 355(6331), 1330-1334.
- Tumini, E., and Aguilera, A. (2021). The sister-chromatid exchange assay in human cells. *In Homologous Recombination*, 383-393.
- Turkez, H. (2008). Effects of boric acid and borax on titanium dioxide genotoxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 28(5), 658-664.
- Turkez, H., and Geyikoglu, F. (2010). Boric acid: A potential chemoprotective agent against aflatoxin B1 toxicity in human blood. *Cytotechnology*, 62, 157-165.
- Turkez, H., Arslan, M. E., and Ozdemir, O. (2017). Genotoxicity testing: Progress and prospects for the next decade. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 13(10), 1089-1098.

- Turkez, H., Geyikoglu, F., Tatar, A., Keles, M. S., and Kaplan, I. (2012). The effects of some boron compounds against heavy metal toxicity in human blood. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(1-2), 93-101.
- Turkez, H., Tatar, A., Hacimuftuoglu, A., and Ozdemir, E. (2010). Boric acid as a protector against paclitaxel genotoxicity. *Acta Biochimica Polonica*, 57(1), 95-97.
- Turkez, H., Tozlu, O. O., Arslan, M. E., Baba, C., Saracoglu, M. M., Yıldız, E., Tatar, A., and Mardinoglu, A. (2024). Boric Acid and Borax Protect Human Lymphocytes from Oxidative Stress and Genotoxicity Induced by 3-Monochloropropane-1,2-diol. *Biological Trace Element Research*, 3, 1-11.
- Turkez, H., Yıldırım, S., Sahin, E., Arslan, M. E., Emsen, B., Tozlu, O. O., Alak, G., Ucar, A., Tatar, A., Hacimuftuoglu, A., Keles, M.S., Geyikoglu, F., Atamanalp, M., Saruhan, F., and Mardinoglu, A. (2022). Boron compounds exhibit protective effects against aluminum-induced neurotoxicity and genotoxicity: *In vitro* and *in vivo* study. *Toxics*, 10(8), 428.
- Türkez, H., and Geyikoğlu, F. (2010). Boric acid: A potential chemoprotective agent against aflatoxin b1 toxicity in human blood. *Cytotechnology*, 62(2), 157-165.
- Türkez, H., Geyikoğlu, F., Tatar, A., Keleş, S., and Özkan, A. (2007). Effects of some boron compounds on peripheral human blood. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 62(11-12), 889-896.
- Tvrda, E., and Benko, F. (2020). *Free Radicals: What They Are And What They Do*. Cambridge: Academic Press, 3-13.
- Ucar, A., Parlak, V., Ozgeris, F.B., Yeltekin, A.C., Arslan, M.E., Alak, G., Turkez, H., Kocaman, E.M., Atamanalp, M. (2022). Magnetic nanoparticles-induced neurotoxicity and oxidative stress in brain of rainbow trout: Mitigation by ulexite through modulation of antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic activities. *Science of The Total Environment*; 838 (1), 155718.
- Ucar, A., Arslan, M. E., Cilingir Yeltekin, A., Ozgeris, F. B., Caglar Yıldırım, O., Parlak, V., Alak, G., Turkez, H., and Atamanalp, M. (2023). Neutralization of iron oxide magnetic nanoparticle aquatotoxicity on *Oncorhynchus mykiss* via supplementation with ulexite. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-13.
- Ucar, A., Parlak, V., Caglar, O., Cilingir Yeltekin, A., Ozgeris, F. B., Turkez, H., Alak, G., and Atamanalp, M. (2024). Mitigating roles by Ulexite against acetyferrocene-induced hematotoxicity, hepatotoxicity, genotoxicity and oxidative stress in *Oncorhynchus mykiss*, *Chemistry and Ecology*, 40(2), 118-135.
- Uçar, N., Çalık, A., Emre, M., and Akkurt, I. (2021). Physical-radiation shielding properties of concrete contains colemanite and ulexite. *Indoor and Built Environment*, 30(10), 1827-1834.
- Uçkun, Z. (2013). Esansiyel bir komponent: bor-borun günlük alımı ve fizyolojik etkileri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 119-123.

- Uçkun, Z., Üstündağ, A., Korkmaz, M., and Duydu, Y. (2009). Micronucleus levels and sister chromatide exchange frequencies in boron exposed and control individuals. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 38(2), 79-88.
- Ulusik, I., Karakaya, H. C., and Koc, A. (2018). The importance of boron in biological systems. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 45, 156-162.
- Unal, F., Taner, G., Yuzbasioglu, D., and Yilmaz, S. (2013). Antigenotoxic effect of lipoic acid against mitomycin-C in human lymphocyte cultures. *Cytotechnology*, 65, 553-565.
- Unlu, S. M., Dogan, S. D., and Dogan, M. (2014). Comparative study of boron compounds and aluminum trihydroxide as flame retardant additives in epoxy resin. *Polymers for Advanced Technologies*, 25(8), 769-776.
- Ustundag, A., Behm, C., Föllmann, W., Duydu, Y., and Degen, G. H. (2014). Protective effect of boric acid on lead-and cadmium-induced genotoxicity in V79 cells. *Archives of Toxicology*, 88, 1281-1289.
- Ünal, F., Saygılı, Y ve Akbaş, E. (2022). *Kuyruklu Yıldız/Komet Testi*. Ankara: Nobel Yayınları, 313-340.
- Velickova, N., and Milev, M. (2020). Genotoxicity test methods-a tool for DNA and chromosome damage biomonitoring. *Serbian Archives of Medicine*, 148(9-10), 626-630.
- Verma, P. (2023). Decay-Associated Fluorescence for Boron Determination in Uranium-Based Nuclear Fuels. *ACS Omega*, 8(49), 47271-47276.
- Vilema-Enríquez, G., Arroyo, A., Grijalva, M., Amador-Zafra, R. I., and Camacho, J. (2016). Molecular and cellular effects of hydrogen peroxide on human lung cancer cells: potential therapeutic implications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1908164.
- Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V. E., Zhou, S., Diaz Jr, L. A., and Kinzler, K. W. (2013). Cancer genome landscapes. *Science*, 339(6127), 1546-1558.
- Wang, F., Zhang, R., Zhang, Y., Li, Y., Zhang, J., Yuan, W., Liu, H., Wang, F., and Xin, H. L. (2023). Modulating electronic structure of atomically dispersed Nickel Sites through Boron and Nitrogen Dual Coordination Boosts Oxygen Reduction. *Advanced Functional Materials*, 33(17), 2213863.
- Wang, H. L., Li, R., Zhao, M., Wang, Z. Y., Tang, H., Cao, Z. Y., Zheng, G.L., and Zhang, W. (2023). A drimane meroterpenoid borate as a synchronous Ca^{+} oscillation inhibitor from the coral-associated fungus *Alternaria* sp. ZH-15. *Journal of Natural Products*, 86(2), 429-433.
- Wang, J., Zheng, J., Lee, E. E., Aguilar, B., Phan, J., Abdilleh, K., Taylor, R.C., Longabaugh, W., Johansson, B., Mertens, F., Mitelman, F., Pot, D., and LaFramboise, T. (2023). A cloud-based resource for genome coordinate-based exploration and large-scale analysis of chromosome aberrations and gene fusions in cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 62(8), 441-448.

- Watt, B. E., Proudfoot, A. T., and Vale, J. A. (2004). Hydrogen peroxide poisoning. *Toxicological Reviews*, 23(1), 51-57.
- Weydert, C. J., and Cullen, J. J. (2010). Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nature Protocols*, 5(1), 51-66.
- Wijeratne, S. S., Cuppett, S. L., and Schlegel, V. (2005). Hydrogen peroxide induced oxidative stress damage and antioxidant enzyme response in Caco-2 human colon cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8768-8774.
- Wilkins, M., Indar, A., and Wormald, R. (2005). Intraoperative Mitomycin C for glaucoma surgery. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4, 21.
- Wójcik, E., Kępka, K., and Skup, M. (2023). Effect of selected micro-and macroelements and vitamins on the genome stability of bovine embryo transfer recipients following *in vitro* fertilization. *Animals*, 13(6), 1056.
- Xiao, C., Yang, L., Jin, L., Lin, W., Zhang, F., Huang, S., and Huang, Z. (2022). Prognostic and immunological role of cuproptosis-related protein FDX1 in pan-cancer. *Frontiers in Genetics*, 13, 962028.
- Yadav, N. K., and Pramanik, H. (2023). Quick synthesis of low-cost NaOH-doped pristine PVA-TEOS composite alkaline membrane electrolyte for power generation from direct sodium borohydride fuel cell at moderate temperature. *Ionics*, 1-21.
- Yakıncı, Z. D., and Kök, M. (2016). Borun sağlık alanında kullanımı. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 4(1).
- Yanen, C., Mustafa, D. A. Ğ., and Aydoğmuş, E. (2022). Investigation of thermophysical properties of colemanite, ulexite, and tincal reinforced polyester composites. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 36, 155-159.
- Yeyin, N. (2015). Radyasyonun biyolojik etkileri. *Nuclear Medicine Seminars*, 1(3), 139-143.
- Yıldız, B.M. (2021). *Lactobacillus salivarius KC27L suşundan izole edilen ekzopolisakkaritin in vitro genotoksik ve antigenotoksik etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 28.
- Yılmaz, S., Üstündağ, A., Ülker, O. C. and Duydu, Y. (2016). Protective effect of boric acid on oxidative DNA damage in Chinese hamster lung fibroblast V79 cell lines. *Cell Journal*, 17(4), 748.
- Yiğitbaşıoğlu, H. (2014). Türkiye için önemli bir maden: Bor. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, 2(2), 13-25.
- Yildirim, D., and Al-Mashhadani, M. M. M. Mechanical and physical performance of portland cement composites with partial replacements of Metakaolin and Ulexite. *International Journal of Engineering Technologies*, 8(2), 58-69.

- Yildiz, B. M., Yuzbasioglu, D., Yuksekdog, Z., Cetin, D., Unal, F., and Suludere, Z. (2023). *In vitro* genotoxic and antigenotoxic effects of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus salivarius* KC27L. *Toxicology in Vitro*, 86, 105507.
- Yuzbasioglu, D., Dilek, U. K., Erikel, E., and Unal, F. (2023). Antigenotoxic effect of hyperoside against Mitomycin C and hydrogen peroxide-induced genotoxic damage on human lymphocytes. *Toxicology in Vitro*, 90, 105604.
- Yuzbasioglu, D., Mamur, S., Avuloglu-Yilmaz, E., Erikel, E., Celebi-Keskin, A., and Unal, F. (2021). Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects of exopolysaccharide pullulan in human lymphocytes *in vitro*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 870, 503391.
- Yüzbaşıoğlu, D., Avuloğlu-Yılmaz, E. and Ünal, F. (2016). Antidepresan ilaçlar ve genotoksisite. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 9(1), 17-28.
- Yüzbaşıoğlu, D., Zengin, N., and Ünal, F. (2014). Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. *Gıda*, 39(3), 179-186.
- Zhao, C., Chen, S., Han, Y., Zhang, F., Ren, M., Hu, Q., Ye, P., Li, X., Jin, E., and Li, S. (2023). Proteomic analysis of rat duodenum reveals the modulatory effect of boron supplementation on immune activity. *Genes*, 14(8), 1560.
- Zhao, M., Wang, D. D., Che, Y., Wu, M. Q., Li, Q. R., Shao, C., Wang, Y., Cao, L.J., Wang, G.J., and Hao, H. P. (2018). Ginsenosides synergize with mitomycin C in combating human non-small cell lung cancer by repressing Rad51-mediated DNA repair. *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(3), 449-458.
- Zhen, W., Weichselbaum, R. R., and Lin, W. (2023). Nanoparticle-mediated radiotherapy remodels the tumor microenvironment to enhance antitumor efficacy. *Advanced Materials*, 35(21), 2206370.
- Zhou, B., Sun, W., Zhao, B. C., Mi, J. X., Laskowski, R., Terskikh, V., Zhang, X., Yang, L., Botis, S.M., Sherriff, B.L., and Pan, Y. (2016). 11B MAS NMR and first-principles Study of the [OBO₃] pyramids in borates. *Inorganic Chemistry*, 55(5), 1970-1977.





Gazili olmak ayrıcalıktır