



**BORİK ASİTİN BAZI GENOTOKSİNLERE KARŞI ANTİGENOTOKSİK
POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Aleyna HALICI

**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.

Aleyna HALICI

25/06/2024

BORİK ASİTİN BAZI GENOTOKSİNLERE KARŞI ANTİGENOTOKSİK POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Aleyna HALICI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2024

ÖZET

Son yıllarda yapılan araştırmalar, borik asitin (BA) antioksidan, antikanser ve antigenotoksik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, BA'nın farklı konsantrasyonlarının (0,0313-0,5 µg/mL) insan lenfositlerinde olası genotoksik ve genotoksik olduğu bilinen metil metansülfonat (MMS; 6,60 µg/mL), bakır oksit nanopartikülü (CuO NP; 100 µg/mL) ve hidrojen peroksit (H₂O₂; 100 µM) karşı olası antigenotoksik/kemopreventif potansiyeli incelenmiştir. Bütün genotoksinler kromozom anormallikleri (KA), kardeş kromatit değişimi (KKD), mikronükleus (MN) ve DNA hasarında ve mitotik indekste (Mİ) anlamlı artışlara sebep olurken, BA'nın tek başına uygulanan konsantrasyonları, bir kaç istisna dışında, bu parametrelerde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Bunun tersine, kültür ortamına BA eklenmesi, MMS ve CuO NP'leri tarafından oluşturulan KA frekansını, 24 ve 48 saatlik uygulamada hemen hemen tüm konsantrasyonlarda anlamlı düzeyde azaltmıştır. KKD testinde, 24 saatlik uygulamada, BA, MMS'ye karşı en düşük üç dozda anlamlı olmayan, CuO NP'lerine karşı en düşük iki konsantrasyonda anlamlı düşüşler oluşturmuştur. 48 saatlik uygulamada, BA, hemen hemen tüm uygulamalarda MMS (0,125 µg/mL hariç) ve CuO NP'lerinden (0,5 µg/mL hariç) kaynaklanan KKD/Hücre düzeyini anlamlı düzeyde azaltmıştır. BA ayrıca, 24 saatlik uygulamada, MMS ve CuO NP'lerinden kaynaklanan mitotik indeksteki düşüşleri çoğu konsantrasyonlarda anlamlı şekilde artırmıştır. BA, MMS ve CuO NP'lerinin (0,5 µg/mL hariç) artırdığı MN frekansını tüm konsantrasyonlarda anlamlı düzeyde azaltmıştır. Komet testinde, BA, H₂O₂ kaynaklı DNA hasarını (kuyruk uzunluğu) tüm konsantrasyonlarda (0,0625 µg/mL hariç) anlamlı düzeyde azaltmıştır. Sonuç olarak, bu çalışmada, BA'nın insan lenfositlerinde tek başına önemli bir sitotoksik ve genotoksik etki oluşturmadığı, tam tersine, MMS, CuO NP'leri ve H₂O₂'e karşı güçlü bir sitoprotektif ve antigenotoksik/kemopreventif etki sergilediği belirlenmiştir. Bu nedenle, bulgularımız, borik asitin çeşitli genotoksinlere karşı koruyucu mekanizmalarının aydınlatılması için daha detaylı araştırmaların yapılması gerektiğini göstermektedir.

Bilim Kodu : 20316

Anahtar Kelimeler : Bor, borik asit, metil metansülfonat, bakır oksit nanopartikülü, hidrojen peroksit genotoksisite, antigenotoksisite

Sayfa Adedi : 123

Danışman : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

ASSESSMENT OF THE ANTIGENOTOXIC POTENTIAL OF BORIC ACID AGAINST VARIOUS GENOTOXINS

(M. Sc. Thesis)

Aleyna HALICI

GAZI UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2024

ABSTRACT

Recent studies reveal antioxidant, anticancer, and antigenotoxic properties of boric acid (BA). Therefore, this study aimed to investigate the possible genotoxic and antigenotoxic/chemopreventive potential of BA (0.0313-0.5 $\mu\text{g/mL}$) against methyl methane sulfonate (MMS 6.60 $\mu\text{g/mL}$), copper oxide nanoparticles (CuO NPs; 100 $\mu\text{g/mL}$) and hydrogen peroxide (H_2O_2 ; 100 μM), which are known to be genotoxic. While all the genotoxins significantly increased the frequency of chromosome aberration (CA), sister chromatid exchange (SCE), micronucleus and DNA tail length, and decreased mitotic index (MI) in human lymphocytes, a single treatment of BA did not make a significant change in either of these parameters in most of the concentrations applied. In contrast, BA supplementation into the medium significantly reduced the frequency of CA generated by MMS (except 0.5 $\mu\text{g/mL}$ for CA/Cell) and CuO NPs (except 0.5 $\mu\text{g/mL}$ for abnormal cell and CA/Cell) at all concentrations at 24 and 48 h (except 0.5 $\mu\text{g/mL}$ for CA/Cell in BA+MMS and BA+CuO NPs). In the SCE assay, a non-significant decrease against MMS and a significant decrease against CuO NPs were observed at the three and two lowest concentrations, respectively, during 24-h treatment. At 48-h application, BA significantly decreased SCE/Cell at almost all the concentrations against MMS (except 0.125 $\mu\text{g/mL}$) and CuO NPs (except 0.5 $\mu\text{g/mL}$). In addition, BA significantly elevated the MI against MMS and CuO NPs in most concentrations applied at 24 h. MN frequency was mitigated by all the concentrations of BA against MMS and CuO NPs (except 0.5 $\mu\text{g/mL}$). In the comet assay, BA significantly reduced the tail length at almost all concentrations (except 0.0625 $\mu\text{g/mL}$) against H_2O_2 . In conclusion, this study revealed that BA alone has no discernible cytotoxic and genotoxic effects; in contrast, it led to an increased cytoprotective and antigenotoxic/chemopreventive effect against MMS, CuO NPs and H_2O_2 in human lymphocytes. Our findings emphasize the need for further investigation into the protective mechanism of BA against various genotoxins.

Science Code : 20316

Key Words : Boron, boric acid, methyl methanesulfonate, copper oxide nanoparticle, hydrogen peroxide, genotoxicity, antigenotoxicity

Page Number : 123

Supervisor : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

TEŞEKKÜR

Eğitim hayatımın Lisans ve Yüksek Lisans dönemleri boyunca saygın ve değerli bilgilerini paylaşan, bizlere her zaman hoşgörü ve samimiyetle desteğini hissettiren saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Fatma ÜNAL'a, değerli bilgilerinden ve görüşlerinden her zaman faydalandığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU'na, tez çalışmasında kullanılan test maddesinin temin edilmesinde katkısı olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Halil İbrahim Ünal'a ve yardımları ile bana her zaman destek olan saygıdeğer hocam Araş. Gör. Ece AKBAŞ'a teşekkürlerimi sunmaktan büyük memnuniyet duyuyorum.

Hislerimi kelimelerle aktaramayacağım düzeyde hayatımın her anında beni destekleyen, cesaretlendiren, bana inanan, en mutlu ve en üzgün anılarımda benimle olan ve varlıklarından büyük mutluluk duyduğum canım annem Emine HALICI'ya, canım babam Cemal HALICI'ya ve canım abim Fatih HALICI'ya sonsuz teşekkür ederim.

Sonsuz anılar biriktirdiğim, her zaman desteğini hissettiğim, gerek tez çalışmalarım esnasında gerekse hayatımın her anında benimle olan dostum Açelya SEYREK'e de teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Bor.....	5
2.1.1. Bor rezervleri	5
2.1.4. Borun organizmalar üzerine etkileri	8
2.2. Borik Asit	9
2.2.1. Borik asitin kullanım alanları	10
2.2.2. Borik asitin önemi	10
2.2.3. Borik asitin genotoksik ve antigenotoksik potansiyeli	12
2.3. Genetik Toksikoloji.....	14
2.3.1. Genotoksinler.....	14
2.3.2. Antigenotoksisite	20
2.3.3. Genotoksisite testleri	21
2.4. Kanser	25
3. MATERYAL VE METOT	31
3.1. Materyal	31

	Sayfa
3.1.1. Kromozom incelemesi için materyal	31
3.2. Metot	33
3.2.1. Çalışmada kullanılan konsantrasyonların belirlenmesi	33
3.2.2. Test materyallerinin hazırlanması	34
3.3. Preparatların Hazırlanması	35
3.3.1. Kùltùre alınmış insan lenfositlerindeki çalışmalar	35
4. ARAşTIRMA BULGULARI	43
4.1. Kromozom Anormallikleri Bulguları	43
4.1.1. 24 saatlik muamele	43
4.1.2. 48 saatlik muamele	48
4.2. Kardeş Kromatit Değişimi, Mitotik İndeks ve Replikasyon İndeksi Bulguları ..	54
4.2.1. 24 saatlik muamele	54
4.2.2. 48 saatlik muamele	58
4.3. Sitokinez Blok Mikronùkleus Sitom ve Proliferasyon İndeksi Bulguları	63
4.4. Kuyruk uzunluğu, Kuyruk yoğunluğu ve Kuyruk Momenti Bulguları	68
5. TARTIşMA	73
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	101
KAYNAKLAR	107
ÖZGEÇMİş	123

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Borik asitin endüstride kullanım alanları ve kullanım nedenleri.....	11
Çizelge 2.2. BA'nın genotoksik potansiyel gösterdiği çalışmalar	13
Çizelge 2.3. BA'nın antigenotoksik potansiyel gösterdiği bazı çalışmalar	14
Çizelge 3.1. Borik asitin tek başına ve MMS ile eş zamanlı uygulamasının ön denemelerinden elde edilen mitotik indeks ve kromozom anormallikleri .	34
Çizelge 4.1. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin kromozom anormallikleri üzerine etkisi	46
Çizelge 4.2. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin kromozom anormallikleri üzerine etkisi	51
Çizelge 4.3. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin KKD, Mİ ve Rİ değişimleri üzerine etkileri	56
Çizelge 4.4. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin KKD, Mİ ve Rİ değişimleri üzerine etkileri	60
Çizelge 4.5. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin sitokinez blok mikronükleus sitom değişikleri üzerine etkileri.....	65
Çizelge 4.6. BA, BA+H ₂ O ₂ ve BA+CuO NP'nin DNA hasarı üzerine etkileri.....	70
Çizelge 6.1. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin KA ve KKD testi sonuçları	103
Çizelge 6.2. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin CBMN-Cyt testi sonuçları.....	104
Çizelge 6.3. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin Komet testi sonuçları.....	105

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Borik asitin yapısal formülü	31
Şekil 3.2. Metil metansülfonatın yapısal formülü.....	32
Şekil 3.3. Bakır oksitin yapısal formülü	32
Şekil 3.4. Hidrojen peroksitin kimyasal formülü.....	33
Şekil 4.1. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'lerinin 24 saatlik muamelesinin anormal hücre frekansı üzerine etkisi	47
Şekil 4.2. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin KA/Hücre oranına etkisi.....	48
Şekil 4.3. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin anormal hücre frekansı üzerine etkisi	52
Şekil 4.4. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin KA/Hücre oranına etkisi.....	52
Şekil 4.5. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin kardeş kromatit değişimi üzerine etkisi.....	57
Şekil 4.6. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin mitotik indeks üzerine etkisi.....	57
Şekil 4.7. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin replikasyon indeksi üzerine etkisi.....	58
Şekil 4.8. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin kardeş kromatit değişimi üzerine etkisi.....	61
Şekil 4.9. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin mitotik indeks üzerine etkisi.....	61
Şekil 4.10. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin replikasyon indeksi üzerine etkisi.....	62
Şekil 4.11. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin mikronükleus frekansı üzerine etkisi.	66
Şekil 4.12. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin nükleer tomurcuk üzerine etkisi	66
Şekil 4.13. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin nükleoplazmik köprü üzerine etkisi ..	67
Şekil 4.14. BA, BA+H ₂ O ₂ ve BA+CuO NP'nin kuyruk uzunluğu üzerine etkisi	71
Şekil 4.15. BA, BA+H ₂ O ₂ ve BA+CuO NP'nin kuyruk yoğunluğu üzerine etkisi	71

Şekil**Sayfa**

Şekil 4.16. BA, BA+H₂O₂ ve BA+CuO NP'nin kuyruk momenti üzerine etkisi..... 72



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP muamelesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu kromozom anormallikleri.....	53
Resim 4.2. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP muamelesinin insan lenfositlerde oluşturduğu kardeş kromatit değişimleri.....	62
Resim 4.3. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP muamelesinin insan lenfositlerde oluşturduğu mikronükleus, nükleer tomurcuk ve nükleoplazmik köprü içeren binükleat hücreler.....	67
Resim 4.4. BA, BA+H ₂ O ₂ ve BA+CuO NP muamelesinin insan lenfositlerde oluşturduğu DNA hasarları.....	72

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
H ₃ BO ₃	Borik asit
B(OH) ₃	Borik asit
B	Bor
Cu	Bakır
Cd	Kadmiyum
Pb	Kurşun
mM	Milimolar
mL	Mililitre
mg	Miligram
μM	Mikromolar
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μg/mL	Mikrogram/mililitre
g/mol	Gram/mol
g/L	Gram/litre
r	Regresyon katsayısı
mA	Miliamper
V	Volt
rpm	Devir sayısı
ppm	Parça/milyon
IC ₅₀	Yarım maksimum inhibitör konsantrasyonu

Kısaltmalar**Açıklamalar**

8-OHdG	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
A375	İnsan malign melanomu
A549	İnsan akciğer hattu
AFB1	Aflatoksin B1
ATP	Adenosin trifosfat
BA	Borik asit
BCNT	Bor nötron yakalama tedavisi
BN	Binükleat
BrdU	Bromodeoksiüridin
BX	Boraks
Caco-2	İnsan kolorektal adenokarsinom hücre dizisi
CAT	Katalaz
CBMN-Cyt	Sitokinez blok mikronükleus sitom
COL	Kolemanit
CuO NP	Bakır oksit nanopartikülü
CYC	Siklofosfamid
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
EtBr	Etidyum bromür
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
Fe₃O₄	Demir oksit
GSH	Glutatyon
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HCC	Hepatosellüler karsinom
HCl	Hidroklorik asit
HepG2	İnsan hepatoma hücreleri
HT29	İnsan kolon kanseri
KA	Kromozom anormallik
KCl	Potasyum klorür
KiT	Kemik iliği transplantasyonu
KKD	Kardeş kromatit değişimi

Kısaltmalar**Açıklamalar**

KT	Kemoterapi
LDH	Laktat dehidrogenaz
LMA	Düşük erime ısılı agar
MCF 7	Meme kanseri hücre dizisi
MDA	Malondialdehit
Mİ	Mitotik indeks
MMS	Metil metansülfonat
MN	Mikronükleus
N7MeG	N7-metilguanin
NAOH	Sodyum hidroksit
NF-κB	Transkripsiyon faktörü
NMA	Yüksek erime ısılı agar
NP	Nanopartikül
NPK	Nükleoplazmik köprü
NRU	Nötral kırmızı alımı
NT	Nükleer tomurcuk
PAC	Paklitaksel
PBS	Fosfat tamponlu salin
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
Pİ	Proliferasyon indeksi
Rİ	Replikasyon indeksi
RNA	Ribonükleik asid
RNT	Reaktif nitrojen türü
ROT	Reaktif oksijen türü
RT	Radyoterapi
RT-PCR	Revers-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
SMART	<i>Drosophila</i> somatik mutasyon ve rekombinasyon testi
SN2	Metilleyici ajan tipi
SOD	Süperoksit dismutaz
SSC	Sodyum salin sitrat
TAC	Total antioksidan kapasite
TiO₂	Titanyum dioksit

Kısaltmalar**Açıklamalar****UV**

Ultraviyole

UX

Üleksit

WI-38

İnsan akciğeri normal hücre hattı



1. GİRİŞ

Yüzyıllar önce keşfedilen ve günümüzde 400'den fazla alanda kullanım alanı olan bor, metaller ve ametaller arasındaki metaloid grubunun en hafif elementidir. Bor elementi antimikrobiyal, antibakteriyel, antifungal, yanmayı geciktirici, gıdalarda mikrobiyal bozulmayı önleme ve yara iyileşmesini hızlandırma gibi özelliklere sahip olması nedeniyle cam, tekstil, tarım, gıda, sağlık, ilaç ve kozmetik endüstrisi gibi birçok alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bor elementi antikanser özellik gösterebilmekte ve bu sebeple son yıllarda kanser tedavisinde de kullanılabilir. Bor, organizmalar için hayati önem taşıyan bir mikro besin olup, bitkilerde çiçek üretimine, anter oluşumuna, fotosenteze ve kök gelişimine fayda sağlamaktadır. Borun hayvanlarda hücre büyümesine, çoğalmasına ve gelişimine katkı sağladığı, insanlarda vücut minerallerinin düzenlenmesinde ve kemik yapısının korumasında önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Diğer yandan borun, alkolleici ajanlar, ağır metaller, nanopartiküller ve reaktif oksijen türü gibi genotoksik ajanlara karşı iyileştirici/koruyucu/kemopreventif/antigenotoksik özellik gösterdiği ve dolayısıyla kanser riskini azaltmada da etkili olduğu bildirilmiştir. Bor doğada element halinde değil, diğer elementlerle bağ yaptığı için bileşik halde bulunmaktadır. Borun en önemli bileşiği borik asit (BA)'dır. BA'nın antibakteriyel, antifungal, antikanser, raf ömrünü uzatma, düşük toksisite gösterme, suyu yumuşatma, direnç artırma ve yanmayı geciktirici gibi pek çok aktiviteye sahip olması, bu bileşiğin cam sanayiinden fotoğrafçılığa, tarımdan tıp ve eczacılığa, kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinden gıda katkısına, tekstilden temizlik ürünlerine kadar birçok alanda kullanılmasına olanak sağlamıştır. BA, organizmalarda DNA hasarına neden olmadığı gibi, antikanser, antioksidan ve hepatoprotektif özellik gösterebilmektedir. BA, ağır metaller, zehirli gazlar ve alüminyum gibi zararlı toksinlerin neden olduğu genetik hasarlara karşı iyileştirici/antigenotoksik etkiler de göstermektedir.

Kanser, hücrelerde kontrolsüz bir çoğalma ve düzensiz yayılma ile kendini gösteren, dünyada ikinci derecede ölüm riski oluşturan, 200'den fazla çeşidi bilinen bir hastalık grubudur. Kanser teşhisi konulan hastalar, hastalığın durumuna göre, bir veya birkaç seçenek ile tedavi edilerek, hastanın sağlıklı hücrelerine zarar vermeden, kanserli hücrelerin gelişip yayılmasının durdurulması ve hatta mümkünse tamamen ortadan kaldırılması hedeflenmektedir. Böylece hastalara daha kaliteli bir yaşam sürmeleri sağlanmaktadır. Ancak, radyoterapi ve kemoterapi gibi yöntemler, tedavide bazı zorluklara sebep olabildikleri gibi, uygulamalar esnasında, zamanla sağlıklı hücrelerde de genetik hasarlar

oluşturabilmekte ve sekonder tümörlerin oluşmasını tetikleyebilmektedir. Kemoterapi amacıyla yaygın bir şekilde kullanılan ilaçlardan biri olan metil metansülfonat (MMS), DNA alkilleyici bir ajan olup, DNA'da en yaygın oluşturduğu eklentiler, pürinleri N7- ve N3-pozisyonunda alkilemektir (N7-metilguanin ve N3-metiladenin). Alkilenmiş pürinler oldukça kararsız bir hale gelir ve fizyolojik şartlarda pürinlerini kolayca kaybeder. Bu durum DNA'da tek zincir kırıklarına, mikronükleus oluşumuna, kromozom hasarına ve sonuçta hücre ölümüne sebep olmaktadır. Bu etki kanser hücresinde ortaya çıktığında avantaj sağlarken, sağlıklı bir hücrede ortaya çıktığında yeni tümörlerin oluşmasını tetikleyebilmektedir. Metal oksit nanopartiküllerinden biri olan bakır oksit nanopartikülleri (CuO NP), yeni nesil nanomalzemelerde kilit bir bileşen olarak rol oynamaktadır. CuO NP'nin zirai kimyasallar, boya ve sağlık gibi pek çok alanda uygulanması, organizmaların bu partiküllere doğrudan veya dolaylı olarak maruz kalmasına ve ekosisteme salınmasına yol açmaktadır. CuO NP'leri, insan lenfositleri gibi birçok hücre ve/veya hücre hatlarında genotoksik özellik göstermektedir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), DNA'yı parçalayabilen, hücrelerde tek ve çift zincir kırıkları gibi DNA lezyonlarına neden olan bir reaktif oksijen türüdür. Aşırı H_2O_2 üretimi, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler bozukluklar ve kanser ile bağlantılıdır.

MMS, H_2O_2 ve CuO nanopartikülleri gibi kimyasal maddeler, DNA ve kromozomlarda hasarlar oluşturdukları için, genetik toksisite çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan kimyasallardır. Günümüz teknolojisindeki ilerlemelerle birlikte insan ve diğer organizmalar, gerek yukarıda sözü edilen kimyasallara ve gerekse başka pek çok genotoksik ajana maruz kalmaktadır. Bir fiziksel ve/veya kimyasal ajanın, hücre DNA'sında, kromozomlarda veya gen ürünleri olan proteinlerin fonksiyonlarında hasar oluşturma yani genotoksik potansiyelini incelemek amacıyla en yaygın kullanılan testler kromozom anormallikleri (KA), kardeş kromatit değişimi (KKD), sitokinez blok mikronükleus sitom (CBMN-Cyt) ve tek hücre jel elektroforezi (SCGE) /kuyruklu yıldız (komet) testidir. Bunlar aynı zamanda, çeşitli antioksidanların, bitki ekstraktlarının ve doğal bileşiklerin kemopreventif/antigenotoksik potansiyelini belirlemek amacıyla da kullanılan testlerdir.

Bu tez çalışmasının amacı, daha önceki bazı çalışmalarda antigenotoksik etki gösterdiği belirlenen borik asitin, insan periferik lenfositlerinde, hem tek başına genotoksik etki gösterip göstermediğini belirlemek ve hem de genotoksik olduğu bilinen MMS, CuO nanopartikülleri ve H_2O_2 tarafından oluşturulan genetik hasarlara karşı olası bir

iyileştirici/koruyucu/kemopreventif/antigenotoksik etki gösterip göstermediğini insan lenfositlerinde KA, KKD, CBMN-Cyt ve komet testleri ile ilk defa incelemektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bor

Periyodik tabloda “B” ile sembolize edilen bor, yeryüzünde elementer formda bulunmayan, ancak tortul kayalıklarda, okyanuslarda, toprakta kömürde ve kilde borat formunda bulunan, metaller ile *ametaller* arasında yer alan, yarı *metal*/semimetal olarak kabul edilen bir elementtir. Yarı metallerin fiziksel özellikleri metallere benzerken kimyasal özellikleri ametallere benzemektedir (Rondanelli ve diğerleri, 2020). Bor elementi, ilk kez İngiliz kimyager Humphry Davy ve Fransız kimyager Gay-Lussac tarafından saf element şeklinde 1808 yılında keşfedilmiştir (Türkiye Enerji, Nükleer ve Maden Araştırma Kurumu, 2024a).

2.1.1. Bor rezervleri

Dünya coğrafyasında bor miktarı az olmasına rağmen bazı ülkelerde bor rezervleri oldukça yüksektir. Bu ülkeler arasında Türkiye, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Rusya Federasyonu, Kazakistan, Arjantin, Çin, Peru, Bolivya, Sırbistan ve Şili bulunmaktadır. Dünyada yaklaşık 1.241 milyar ton bor oksit (B_2O_3) bulunduğu tahmin edilmektedir. Bu miktarın en büyük sahiplerinden biri olan Türkiye, dünya bor rezervlerinin %73,3'üne sahiptir. Tinkal (boraks) ve kolemanit, Türkiye’de en çok bulunan bor mineralleridir (Türkiye Enerji, Nükleer ve Maden Araştırma Kurumu, 2024b).

2.1.2. Bor bileşikleri

Bor, periyodik tabloda grup 13’e ait elementler arasında alüminyumdan sonra en fazla bulunan elementtir. Bor, doğada saf halde bulunmaz, oksijenle bağ kurmaya çok yatkın olması nedeniyle, her zaman oksijene bağlı olarak bulunur. Genellikle oksijenle birlikte diğer elementlerle bileşik halinde bulunmaktadır (Karayel, 2022; Kim, Kim, Jiang, Kim ve Kang, 2023). Bu bileşiklerin en yüksek düzeyde bulunan formları borik asit ve boratlardır. Bor bileşikleri doğada su ile çözünerek borik asit formuna dönüşür. Bu bileşiklerin oral yolla alımından sonra, fizyolojik sıvılarda (kan, idrar vb.) gözlenen formu da borik asittir. Boratlardan en yoğun düzeyde bulunanı sodyum boratlar (boraks)’dır. Bu mineraller arasında en önemlileri yapısında sodyum, kalsiyum ve sodyum-kalsiyum bulunanlardır. Sodyum kökenli bor mineralleri boraks, kalsiyum kökenli bor mineralleri kolemanit,

sodyum-kalsiyum kökenli bor mineralleri ise üleksit olarak adlandırılmıştır. Ticari öneme sahip bor bileşikleri arasında en önemlileri sassolit (borik asit; BA), tinkal (boraks; BX), kolemanit (COL), üleksit (UX), probertit, borasit, pandermite, hidroborasit ve kernittir (Sökmen ve Büyükkakıncı, 2018; Karayel, 2022).

2.1.3. Borun kullanım alanları

Yüzyıllardır bilinen bor ve bor bileşikleri hafif olmalarına rağmen stres ve kimyasal etkilere karşı dayanıklılık gösterebilmektedir. Bu sebeple, bor bileşikleri endüstride en fazla cam ve seramik sanayiinde kullanılmaktadır. Bu bileşikler, termal genleşmeyi azalttığı, dayanıklılığı ve kimyasal direnci arttırdığı, titreşim, yüksek sıcaklık ve termal şoka karşı direnç gösterdikleri için borcam, borosilikat camlar, laboratuvar camları, otomotiv camları, pencere camı, şişe camı ve uçak camlarının içeriğinde yer almaktadır. Cam sanayiinde boraks, borik asit, bor nitrür, kolemanit, sodyum perborat ve üleksit gibi bor bileşikleri kullanılmaktadır (Ismawati, Nugroho ve Prasetya, 2023; Kim, Kim, Jiang, Kim ve Kang, 2023).

Bor bileşiklerinden olan borik asit ve boraks, mikrobiyal bozulmayı engellediği, raf ömrünü uzattığı ve tekstür özellik gösterdiği için, gıda takviyesi, gıda koruyucusu, emülgatör ve gıda katkı maddesi olarak, gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Başkan, Kanak ve Yılmaz, 2022).

Göz bozukluklularında numaralı gözlük yerine alternatif olarak kontakt lensler de tercih edilebilmektedir. Bu lenslerin temizliği, dezenfeksiyonu ve saklanması için kullanılan solüsyonlarda ve göz damlalarının içeriğinde borik asit ve boraks bulunmaktadır. Bu iki bor bileşiği, gözün tahriş olmasını önlediği, göz enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalara karşı antibakteriyel/antimikrobiyal özellik gösterdiği için, bu sektörde de tercih edilmektedir (Ulu ve diğerleri, 2018; Heller, Murthy ve Jen, 2019).

Bor bileşikleri, düşük yoğunluklu olduklarından ve antibakteriyel, antifungal, antikanser ve antigenotoksik özellik sergilediklerinden, yara iyileşmesini hızlandırdığı ve tümörlü hücreleri yok etme özelliği gösterdiğinden, sağlık sektöründe de tercih edilen bileşiklerdir. Bor karbür, borik asit, bor oksit ve sodyum perborat gibi bileşikler, çeşitli hastalıkların (alerjik, cilt, artrit, menopoz, osteoporoz ve yanık vb.) tedavisinde, anti-HIV çalışmalarında, MR cihazları ile yapılan tanı ve teşhis amaçlı taramalarda, psikiyatride, vulvovajinal ve otit

enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. (Powell ve diğ erleri, 2019; Zengin, Aka, Gençay ve Uzun, 2023).

Bor ve bileşikleri, kozmetik-kişisel bakım ürünlerinde de tercih edilmektedir. Diş beyazlatma ürünlerinde sodyum perborat bulunmaktadır. Bu bileşik kuru halde stabildir, ancak su ile birleştiğinde hidrojen peroksit (H_2O_2), sodyum metaborat ve serbest oksijen açığa çıkarmaktadır. H_2O_2 , beyazlatma işlemini başlatacak olan aktif oksijeni salar ve böylece sodyum perborat beyazlatma işlemine katkı sağlamış olur (Koruk ve Kırzioğlu, 2010; Çelik, 2017). Borik asit ve boraks, koruyucu, bakteri replikasyonunu önemli ölçüde inhibe etme ve bakteriyostatik etkisinden dolayı bazı kremlerin içeriğinde de bulunmaktadır (Sharma, Banyal, Gupta ve Joshi, 2023; Öndaş, Utl , Bayrakçeken ve Yıldırım, 2023). Bor nitrür, yüksek opaklık, renk efektlerinin yoğunlaştırılması, yüksek yağ emilimi ve ciltte kurumaya karşı koruma sağladığı için makyaj ürünlerinde kullanılmaktadır (Kim, Kim, Jiang, Kim ve Kang, 2023).

Bor fiberleri, kimyasal buhar biriktirme yöntemiyle bor kaplanması sonucu üretilen özel ipliklerdir. Güçlü ve yüksek basın a dayanma özelliklerinden dolayı bisiklet  er evesi, golf sopası, golf şaftı ve olta üretiminde, tenis, squash ve badminton raketleri gibi spor ürünlerinin üretiminde kullanılmaktadır (G rg n, Kumartaşlı, Avinç ve Atar, 2021). Susuz boraks, boraks pentahidrat, disodyum oktaborat, hidroborasit, kolemanit, sodyum pentaborat ve üleksit gibi bor bileşikleri, tarımda gübre yapımında kullanılmaktadır. Bu bor bileşikleri bitkilerde tozlaşma, meyve verimi ve kalitesini arttırma ve bitkilerdeki bor eksikliğini giderme potansiyeline sahiptir. Diğ er yandan, borik asit, hedef alınmayan türlerde düşük toksisite gösterdiğinden, pestisitlerde de sıklıkla yer almaktadır (Guliyev, 2018).

Tekstil endüstrisinde apreleme, deri boyaları, ısıya dayanıklı kumaş üretimi ve kumaş boyama işleminde, borik asit, sodyum perborat, boraks pentahidrat gibi bileşikler kullanılmaktadır. Bu bileşikler, yanma geciktirici ve boyar madde olmaları, antimikrobiyal ve antiviral özellik göstermeleri nedeniyle tekstil endüstrisinde tercih edilmektedir ( yig ndoğdu, Demir, Asutay ve şahin, 2017; Sökmen ve B y kakıncı, 2018).

Bor bileşikleri bulaşık-çamaşır deterjanı, sabun ve dezenfektan ürünlerinde de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu tür ürünlerin içeriğinde yer alan boraks, borik asit, sodyum hipoklorit, sodyum perborat monohidrat ve sodyum perborat tetrahidrat gibi bileşiklerin leke

çıkarma, ağartma, kıyafetlerde boya akıntısını engelleme, suyu yumuşatma, çamaşırları daha parlak ve temiz yapma, biyosidal ve antimikrobiyal özellik göstermektedir (Sökmen ve Büyükkakıncı, 2018; Zengin, Aka, Gençay ve Uzun, 2023). Amonyum fluoboratlar, çinko borat, borik asit ve bor fosfatlar, duman emisyonunu azalttığı, diğer alev geciktiricilere kıyasla daha ucuz olduğu ve uygulandığı pamuklu kumaşta gerilme mukavemetini azalttığı için, yanmayı geciktirici malzemelerin üretilmesinde de kullanılmaktadır (Ceyhan, Bağcı, Baytar ve Şahin, 2020; Topçu ve Soyhan, 2022).

2.1.4. Borun organizmalar üzerine etkileri

Bor kuşkusuz ki yaşamın hem kökeninde hem de evriminde rolü olan bir kimyasal elementtir. Organizmalar arasında bor gereksinimi, belirgin farklılıklar gösterebilmektedir. Örneğin, yüksek bitkilerde bor elementine büyük bir gereklilik duyulmaktadır. Diğer yandan, bitkilere kıyasla hayvanlar bor elementine daha az gereksinim duymaktadır. Buna rağmen, organizmalar için bir mikro besin olan borun az bir eksikliği veya az bir fazlalığı zararlı etkiler gösterebilmektedir (Deliboran, 2020; Biță ve diğerleri, 2022). Mikro besinler doz, maruz kalma süresi ve uygulama yöntemine bağlı olarak toksik olabilmekte ve bu nedenle borun organizmalarda bulunması gereken miktar büyük önem arz etmektedir (Demircan ve Velioğlu, 2020).

Bor, bitkilerin büyümesi, gelişmesi, verimi, kalitesi, meyve ve sebze yetiştirmesi için en gerekli mikro besinlerden olup, metal olmayan tek mikro elementtir (Brdar-Jokanović, 2020). Borun bitkilerdeki temel görevi, hücre duvarının yapısının ve işleyişinin korunmasıdır. Diğer yandan, bor bitkilerde, çiçek üretimi, anter oluşumu, tozlaşma, stomaların açılıp-kapanması, fotosentez, kök gelişimi, iyon akışı gibi birçok olayda rol oynamaktadır. Bitkilerin yer altı kısımları, boru plazma zarı boyunca pasif difüzyon yoluyla küçük yüksüz borik asit molekülleri (yaklaşık %96) ve daha az olarak borat anyonları şeklinde almaktadır (García-Sánchez ve diğerleri, 2020; Kohli ve diğerleri, 2023).

Bor, bitkilerde kolay bir şekilde alınamamakla beraber, eksikliği sonucunda bitkilerde çok büyük anormalliklere neden olur ve dolayısıyla bitkilerin morfolojik, biyokimyasal ve metabolik durumlarında sorunlar oluşturur. Bor eksikliğinin aksine toprakta fazla miktarda bor bulunması, bitkilerde toksisiteye yol açabilmektedir. Toprakta toksik düzeyde bor

birikmesi, büyüme ve bitki metabolizmasının bozulmasına yol açarak, yaprakta kloroz ve nekroza neden olmaktadır (Kohli ve diğerleri, 2023; Liu ve diğerleri, 2023).

Bor, hayvanlar için de önemli bir mikro besin olup karbonhidrat, mineral metabolizması, enerji tüketimi, çeşitli enzim aktivitelerinin düzenlenmesi ve embriyonik gelişim gibi çeşitli mekanizmaları etkilemektedir. Ayrıca, hücre zarı fonksiyonlarında, hormon reseptörleri ve transmembran sinyallerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Bor eksikliği, büyümede bozulmaya ve anormal kemik gelişimine yol açarken, bor fazlalığı, kısırlığa, sinirsel semptomlara ve cilt tahrişine neden olmaktadır (Uluişik, Karakaya ve Koç, 2018; Al-Ali ve Gonzalez-Sarmiento, 2017).

İnsanlar için gerekli olan bor, özellikle kahve (29 µg/100 g), süt (18 µg/100 g), yer fıstığı (1.700 µg/100 g), fıstık ezmesi (1.450 µg/100 g), şarap (610 µg/100 g) ve çekirdeksiz kuru üzümde (2.200 µg/100 g) bulunmaktadır. Ayrıca, glukonat şelatları, bor aspartat, bor sitrat, bor askorbat ve bor glisinat şeklinde takviye olarak satılan organik bor bileşikler de bulunmaktadır (Rondanelli ve diğerleri, 2020). İnsan vücudunda toplam bor içeriğinin 3-20 mg arasında değiştiği ve özellikle kemik, tırnak ve saçlarda bulunduğu tahmin edilmektedir (Devirian ve Volpe, 2003). Bor, kalsiyum ve D vitamini gibi vücut minerallerinin düzenlenmesinde, kalsiyum ve magnezyumun azalmasını önlemede ve kemik yapısının korumasında rol oynamaktadır. Küçük çocuklarda öğrenme, yetenek ve okul becerilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır (Atasoy ve Dusak, 2022). Bor eksikliği, artrit, hafıza kaybı, osteoporoz, dejeneratif ve yumuşak kıkırdak hastalıkları ve hormonal dengesizlik gibi genel sağlık sorunlarına yol açabileceği gibi, kanser riskine de sebep olabilir (İnce ve Arslan-Acaröz, 2015). Diğer yandan, bor vücutta fazla miktarda bulunduğu, yetişkinlerde kusma, ishal, baş ağrısı, heyecan veya depresyona sebep olabilirken, çocuklarda havale ve koma gibi belirtiler görülebilmektedir. Bor içeriği yüksek olan su ve gıda ürünlerinin uzun süreli tüketilmesi, kalp-damar, koroner, sinir ve üreme sistemlerinde problemler, çocuklarda gelişme geriliği ve hamile kadınlarda doğum patolojisi riski de oluşturabilmektedir (Başkan, Kanak ve Yılmaz, 2022; Kim, Kim, Jiang, Kim ve Kang, 2023).

2.2. Borik Asit

Borun en önemli bileşiği olan borik asit (BA), Wilhelm Holmberg tarafından keşfedilmiş ve ilk kez İtalya'da 1830 yılında üretilmiştir. Doğada sassolit minerali şeklinde bulunan BA,

doğal sularda baskın şekilde yer almaktadır. BA denizlerde, tatlı sularda ve yer kabuğunda çeşitli konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Öndaş, Utlu, Bayrakçıken ve Yıldırım, 2023). Ortoborik asit olarak da bilinen BA, endüstriyel olarak, borat minerallerinden ve tuzlu sulardan üretilmektedir (Yardımcı, Mollaoğlu, Altıntaş ve Güler, 2023).

Borik asit [$B(OH)_3$ / H_3BO_3], monobazik olup, sudan bir hidroksil iyonu alan ve bir proton salan bir Lewis asidi gibi davranmaktadır (Yardımcı, Mollaoğlu, Altıntaş ve Güler, 2023). BA'nın fiziksel özellikleri aşağıda kısaca özetlenmiştir (Chinchanikar, Bawangaonwala, Bokade ve Garode, 2020).

- | | |
|--|------------------------------------|
| ▪ Fiziksel form: kokusuz bir toz halinde, kristal ve granüler form | ▪ Moleküler kütle: 61,83 g/mol |
| ▪ Erime noktası: 160°C | ▪ Safılık: %99,999 |
| ▪ Kaynama noktası: 300°C | ▪ Yoğunluk: 1,44 g/cm ³ |

2.2.1. Borik asitin kullanım alanları

Yapılan araştırmalar, BA'nın, antibakteriyel, antifungal, antiseptik ve antikanser etkili olduğunu, gıdalara iyi bir doku kazandırdığını, yüzey gerilimini azalttığını, ağartmada ve yanmayı geciktirmede etkili olduğunu ve en önemlisi de düşük toksisite gösterdiğini belirtmektedir. BA'nın günümüzde kullanım alanları arasında cam sanayi, fotoğrafçılık, kozmetik ve kişisel bakım ürünleri, ilaç-eczacılık, sağlık alanı, gıda, tarım, tekstil ve temizlik endüstrileri bulunmaktadır. BA'nın endüstride kullanım alanları ve kullanım nedenleri Çizelge 2.1'de sunulmuştur.

2.2.2. Borik asitin önemi

Borik asit, canlılarda metabolik olayları desteklemede rol oynayan önemli bir bor bileşiğidir. Bitkiler, insanlar ve hayvanlarda, hücre büyümesini, çoğalmasını ve gelişimini etkileyebilmektedir. Memelilerde enerji tüketimini ve enzim aktivitesini düzenleyebilen BA, hayvan ve insan dokularında düşük konsantrasyonda, bitkilerde hemen hemen tüm meyvelerde bulunmaktadır (Çalışkan, Güney, Kar, Gündoğdu ve Özbayer, 2022). BA, vücuda alındıktan sonra, vücutta dağılır ve ağırlıklı olarak böbrekler tarafından idrarla atılır.

Çizelge 2.1. Borik asitin endüstride kullanım alanları ve kullanım nedenleri

Kullanım alanı	Kullanım yeri	Borik asitin kullanım nedeni	Referans
Cam Sanayi	Cam elyafları, borosilikat camları, emaye, frit, sırlama ve LCD düz panel ekranlarda	Erimeyi ve incelmeyi hızlandırma, mekanik ve termal şoklara karşı direnci artırma, termal genleşme katsayısını azaltma, sır viskozitesini ve yüzey gerilimini azaltma ve sırın mukavemetini ve dayanıklılığın artırma	Sevim, Demir, Bilen ve Okur, 2006; A. Harabor, Rotaru, Scorei, ve N. A. Harabor, 2014
Gıda endüstrisi	Gıda koruyucu, gıdada bayatlığı gizleme, tazeliği koruma, gıda katkı maddesi	Antifungal ve antibakteriyel etki, gıdanın raf ömrünü uzatma, gıdaya daha iyi bir doku kazandırma ve gıdada renk değiştirme	Kumar ve Srivastava, 2011; Amit ve diğerleri, 2020
İlaç-eczacılık sektörü	Kontakt lens solüsyonu ve göz damlaları	Antiseptik, antibakteriyel ve antifungal etki	George, 1965; Ulu ve diğerleri, 2018
Sağlık alanı	Yanık tedavisi, vulvovajinal ve otit enfeksiyonları tedavisi, kanser tedavisi	Antifungal, antibakteriyel ve antikanser etki	Dinesh ve diğerleri, 2013; Powell ve diğerleri, 2019; Zengin, Aka, Gençay ve Uzun, 2023
Kozmetik-kişisel bakım endüstrisi	Kremler	Bakterilerin çoğalmasını inhibe etme ve antiseptik özellik	Öndaş, Utlu, Bayrakçeken ve Yıldırım, 2023
Tarım alanı	Pestisit	Düşük toksisite gösterme, böceklerin metabolizmasını etkileyen mide zehri görevi görme	Habes, Messiad, Gouasmia ve Grib, 2013; A. Harabor, Rotaru, Scorei, ve N. A. Harabor, 2014
Tekstil endüstrisi	Kumaş boyası, ısıya dayanıklı kumaş üretimi	Antimikrobiyal ve antiviral etki, kumaştaki gerilme mukavemetini azaltma ve alev geciktirme	Thompson 1974; Aydın, Gürü, Ayar ve Çakanyıldırım, 2016
Temizlik ürünleri	Deterjan ve sabun	Antibakteriyel etki, ağartıcı özellik, suyu yumuşatma özelliği	Zengin, Aka, Gençay ve Uzun, 2023
Yanmayı geciktiriciler	Polietilen hammaddeli kablo yalıtım ürünleri, kumaşlar	Pamuklu kumaştaki gerilme mukavemetini azaltma	Aydın, Gürü, Ayar ve Çakanyıldırım, 2016

Az bir miktarı ise ter ile beraber atılabilmektedir (Ghanizadeh, Kiani, Koohyar ve Khanlarzadeh, 2020). Doğru miktarlarda BA, organizmalar için gerekli bir besindir. Örneğin, BA'nın uygun konsantrasyonlarda (en fazla 160 mg/L) devekuşu yavrusunun beyinde apoptozisi ve beyin gelişimi esnasında oluşan hasarları önlediği belirlenmiştir (Tang ve diğerleri, 2016). Diğer yandan BA, yüksek konsantrasyonlarda, bakterilerden kemirgenlere kadar, çeşitli organizmalara mücadelede etkili bir zehir olarak kullanılmaktadır (Schmidt, Schaumberg, Steen ve Boyer, 2010). Yutma yoluyla alınan BA'nın minimum ölümcül dozu kesin olarak belirlenmemiştir ancak yaklaşık olarak bebeklerde 2-3 g, çocuklarda 5-6 g ve yetişkinlerde 15-20 g olduğu bildirilmiştir. BA zehirlenmesinin yaklaşık %88'i asemptomatiktir, fakat bulantı, kusma, taşikardi ve nöbetler de görülmektedir. BA ile zehirlenme vakalarında (10-88 g) ölüm bildirilmemiştir (Nouira ve diğerleri, 2020).

Borun biyokimyasal önemi esasen borik asitten kaynaklanmaktadır, çünkü metabolizmada yer alan birçok enzimin aktivitesini etkilemektedir. BA'nın, kemoprevensiyon durumunda önemli olan peptidaz, proteaz ve proteazomların, arginaz, nitrik oksit sentaz ve transpeptidazların etkili bir inhibitörüdür. BA'nın düşük konsantrasyonları, insanlarda

kalsiyum, magnezyum, potasyum, insülin, östrojen, testosteron, T3, T4, trigliseritler, glukoz ve D vitamini ile ilişkili kemik metabolizmasında rol oynamaktadır. Diğer yandan, BA kadınlarda menopoz sonrası steroid hormonlarının düzenlenmesinde görev alır. Hem insanlarda hem de hayvanlarda B2 vitamininin (riboflavinür) oluşumunu teşvik etmektedir (Tütüncü, Özşengezer, Karakayalı ve Altun, 2022). BA, bazı kanserojenlere, reaktif oksijen türlerine ve alüminyum gibi metallerin oluşturduğu genetik hasarlara karşı antigenotoksik/iyileştirici/koruyucu özellik göstermektedir. Diğer yandan, BA'nın, bakterilerde ve kültürdeki memeli hücrelerinde minimum genotoksik etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Türkez ve diğerleri, 2022).

2.2.3. Borik asitin genotoksik ve antigenotoksik potansiyeli

Son yıllarda borik asitin genotoksik ve antigenotoksik rolünün değerlendirildiği çalışmalar gittikçe artış göstermektedir. Bütün bu çalışmalar *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında farklı test sistemleri ile gerçekleştirilmiştir.

Borik asitin genotoksik potansiyeli

BA'nın antibakteriyel, antimikrobiyal, antifungal ve antikanser gibi özellikler gösteren bir bor bileşiği olduğu bilinmektedir. Diğer yandan, bu bor bileşiğinin genotoksik özellik gösterebildiği belirtilmekle beraber, BA'nın genotoksik potansiyelinin değerlendirildiği çalışmalar literatürde sınırlı düzeydedir. Literatürdeki verilere göre, BA'nın yüksek konsantrasyonlarda çeşitli organizma ve/veya hücrelerde genotoksik risk taşıyabileceği bildirilmiştir. BA'nın *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda farklı test sistemleri ile genotoksik etkisinin değerlendirildiği çalışmalar Çizelge 2.2'de sunulmuştur. Bu çalışmalara göre, KA, KKD ve SMART (*Drosophila* somatik mutasyon ve rekombinasyon) testlerinin uygulamaları sonucunda BA'nın insan lenfositleri (400-1000 µg/mL), *Trigonella foenum-graecum* bitkisi (%0,25-1), *Danio rerio* (1-64 mg/L), *Galleria mellonella* larvalarında (78,125-10 000 ppm) ve *Drosophila melanogaster* (100 mM) gibi organizmalar üzerinde KA, KKD, MN frekanslarını ve DNA hasarını arttırarak genotoksisiteye yol açtığı belirlenmiştir.

Çizelge 2.2. BA'nın genotoksik potansiyel gösterdiği çalışmalar

Hücre/hücre hattı/organizma	Konsantrasyon/maruziyet süresi	Test sistemi	Sonuç	Referans
İnsan lenfositleri	400, 600, 800 ve 1.000 µg/mL 24 ve 48 saat	KA ve KKD	Genotoksik	Arslan, Topaktaş ve Rencuzoğulları, 2008
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L. (çemen otu) bitkisi	%0,25; 0,50; 0,75 ve 1	KA	Genotoksik	Kumar ve Srivastava, 2011
<i>Danio rerio</i> (zebra balığı)	1, 4, 16, 64 mg/L 24, 48 ve 72 saat	Komet	Genotoksik	Gülsoy, Yavaş ve Mutlu 2015
<i>Galleria mellonella</i> (petek güvesi) larvaları	78,125; 156,25; 312,5; 625; 1.250; 2 500; 5 000 ve 10 000 ppm	MN ve Komet	Genotoksik	Gwokyalı ve Altuntaş, 2019
<i>Drosophila melanogaster</i> (sirke sineği)	100 mM	Komet ve SMART	Genotoksik	Hozayen, AlSenosy, Basal, Ahmed ve Diab, 2020
KA: kromozom anormallikleri, KKD: kardeş kromatit değişimi, MN: mikronükleus, SMART: <i>Drosophila</i> somatik mutasyon ve rekombinasyon testi				

Borik asitin antigenotoksik potansiyeli

BA'nın genotoksik risk oluşturabildiği sonuçların aksine, bazı çalışmalarda, çeşitli hücre ve/veya organizmalarda hem tek başına uygulamasının toksik olmadığını ve hem de mutajen/kanserojen/genotoksinlerin neden olduğu genotoksik hasara karşı antigenotoksik/iyileştirici/koruyucu özellik gösterdiği de rapor edilmiştir. Bu çalışmalardan bazıları Çizelge 2.3'te gösterilmiştir. Borik asitin tek başına etkisinin komet, XTT (hücre proliferasyon kiti), TUNEL (terminal deoksinnükleotidil transferaz kırık-uç işaretlenmesi), NRU (nötral kırmızı alım), akış sitometrisi ve RT-PCR (revers-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu) analizi ile araştırıldığı çalışmalarda, BA'nın insan sertoli hücreleri (0,5-1 000 µM) ve TT medüller tiroid kanseri hücre hattında (10-500 µM) anigenotoksik ve hatta potansiyel bir antikanser olduğu bildirilmiştir. Diğer yandan, borik asitin çeşitli konsantrasyonlarda (2,5 ve 5 mg/L; 0,25-20 ppm; 2,5 ve 10 µM, 3-200 µM; 0,2-3 g/L), paklitaksel, aflatoksin B1, kadmiyum klorür, kurşun klorür ve hidrojen peroksit gibi ajanlara etkisi KKD, MN, komet ve biyokimyasal testler ile de araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, borik asitin toksik ajanlara karşı koruyucu rol üstlendiğini göstermektedir.

Çizelge 2.3. BA'nın antigenotoksik potansiyel gösterdiği bazı çalışmalar

Hücre/hücre hattı/organizma	Uygulama		Test sistemi	Sonuç	Referans
	BA konsantrasyonu	Genotoksin			
İnsan lenfositleri	2,5 ve 5 mg/L 72 saat	Paklitaksel (10 ve 20 µg/L 72 saat)	KKD ve MN	BA, koruyucu role sahiptir	Türkez, Tatar, Hacımüftüoğlu ve Özdemir, 2010
İnsan lenfositleri	0,25; 0,5; 1, 2, 5, 10 ve 20 ppm	Aflatoksin B1 (1,56 ve 3,12 ppm)	KKD, MN ve biyokimyasal testler	BA, koruyucu role sahiptir	Türkez ve Geyikoğlu, 2010
V79 hücre hattı	2,5 ve 10 µM	Kadmiyum klorür ve kurşun klorür (3, 5 ve 10 µM)	MN ve Komet	BA, koruyucu role sahiptir	Üstündağ, Behm, Föllmann, Duydu ve Degen, 2014
Çin hamsteri akciğer fibroblastı	3, 10, 30, 100 ve 200 µM	Hidrojen peroksit	Komet	BA, koruyucu role sahiptir	Yılmaz, Üstündağ, Ülker ve Duydu, 2016
<i>Oreochromis niloticus</i> (Nil Tilapyası)	0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 2,0 ve 3,0 g/L 96 saat	Saprolegnia enfeksiyonu	Komet testi ve histokimyasal parametreler	BA, profilaktik potansiyele sahiptir	Ali, Gamil, Skaar, Evensen ve Charo-Karisa, 2019
TT medüller tiroid kanseri hücre hattı	10, 20, 35, 50, 75,100, 200 ve 500 µM	*	Komet, XTT ve TUNEL testi ve RT-PCR analizi	BA, potansiyel bir antikanser ajandır	Yıldırım, Seçme, Dodurga, Mete ve Fenkci, 2021
İnsan sertoli hücreleri	0,5; 5, 10, 50, 100, 500 ve 1 000 µM	*	Komet, akış sitometrisi ve NRU testi	Antigenotoksik	Sarıaltın, Üstündağ, Chinheya, İpek ve Duydu, 2022
*BA'nın antigenotoksik potansiyeli herhangi bir genotoksine karşı değerlendirilmemiştir. BA: borik asit, KKD: kardeş kromatit değişimi, MN: mikronükleus, XTT: bir sitotoksikite testi TUNEL: terminal deoksitribofotidil transferaz kırık-uç işaretlenmesi, NRU: nötral kırmızısı alımı					

2.3. Genetik Toksikoloji

Genetik toksikoloji, biyolojik/kimyasal ve/veya fiziksel ajanların/maddelerin, somatik ve/veya germ hücrelerinde, genetik materyal olan DNA/RNA'da, kromozomlarda veya gen ürünleri olan proteinlerin ifade düzeyinde oluşturdukları zararlı etkileri ve bu etkilerin mekanizmasını ve sonuçlarını inceleyen bir bilim dalıdır. Bu hasarlar, sonuçta hücre bütünlüğünün/sağlamlığının/fonksiyonlarının bozulmasına sebep olmaktadır (Topaktaş ve İstifli, 2022: 1, 29).

2.3.1. Genotoksinler

DNA/RNA'da, kromozomlarda veya gen ürünleri olan proteinlerin ifade düzeyinde hasar oluşturan maddeler genotoksin/genotoksik madde olarak adlandırılmaktadır. Genotoksinler, kimyasal, fiziksel veya biyolojik etmenler olabileceği gibi, ekzojen veya endojen kaynaklı da olabilir. Hücrenin DNA dizisinde kalıcı ve kalıtsal değişikliğe yani mutasyonlara sebep olan maddeler mutajen olarak bilinmektedir. Bütün mutajenler genotoksik iken, bütün genotoksinler mutajen değildir (Topaktaş ve İstifli, 2022: 1, 29).

Genotoksinlerin oluşturduğu hasarlar organizmanın somatik hücrelerinde veya germ (gamet) hücrelerinde ortaya çıkabilir. Hücreler, DNA onarımı veya apoptoz yoluyla genotoksinin zararlı etkisini/mutasyonun ekspresyonunu önleyebilmektedir. Ancak bu hasarlar uygun şekilde onarılamazsa, somatik hücrelerde oluşan hasarlar, hücrenin veya o canlı türünün sadece kendisini etkilerken, germ hücrelerinde oluşan hasarlar ise bu hücreden veya canlıdan oluşacak yeni nesilleri de etkileyecektir (Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2023; Choudhuri, Kaur, Jain, Sharma ve Asthana, 2021). Somatik hücrelerde meydana gelen hasarlar sonucunda doku hasarı, yaşlanma, metabolik hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve hatta çeşitli kanserler ortaya çıkabilmektedir. Diğer yandan, eşey hücrelerinde/gametlerde meydana gelen hasar onarılamazsa, infertile ve multifaktöriyel ve genetik hastalıklar ve doğumsal anormallikler görülebilir (Yüzbaşıoğlu, Avuloğlu-Yılmaz ve Ünal, 2016; Sommer, Buraczewska ve Kruszewski, 2020).

Fiziksel/kimyasal ajanların genetik materyalde, kromozomlarda veya gen ürünlerinde meydana getirdiği hasarları veya bunların sonuçlarını tespit etmek yani genotoksisiteyi belirlemek amacıyla çeşitli *in vitro* ve *in vivo* test sistemleri geliştirilmiştir. Bu testler, çevresel kimyasalların veya tüketici ürünlerinin güvenliğini araştırmak ve bilinen veya şüphelenilen kanserojenlerin etki mekanizmasını keşfetmek amacıyla kullanılmaktadır. Birçok kimyasal kanserojen/mutajen metabolik aktivasyon yoluyla reaktif türler oluşturmakta, bu türler de ya DNA'ya kovalent şekilde bağlanmakta ya da DNA eklentileri oluşturmaktadır. Hücrelerde oluşan bu anormal yapılar, çeşitli hassas testler ile tespit edilebilmektedir. Kanser hücrelerinde, normal hücrelere kıyasla hem DNA ve hem de kromozom düzeyinde hasarlar mevcuttur ve ayrıca proteinlerin ekspresyon düzeylerinde de varyasyonlar tespit edilmiştir. Bu nedenle, eğer bir genotoksin de bu tür hasarlara sebep oluyor ise, bunların aynı zamanda kanser oluşturma risklerinin de bulunduğu ifade edilmektedir (Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014; Yüzbaşıoğlu, Avuloğlu-Yılmaz ve Ünal, 2016).

Metil metansülfonat

Bir antikanser ilaç olan metil metansülfonat (MMS), DNA'yı alkilleyici bir özelliğe sahiptir. DNA'da tek zincir kırıklarına, takiben hücre döngüsünün S fazı sırasında çift zincir kırıklarına ve hatta mutasyonlara sebep olmaktadır (Feng ve diğerleri, 2022). Alkilleyici ajanlar, hücrenin DNA'sına müdahale eden ve kanser hücresinin büyümesini inhibe eden bir

antikanser ilaç ailesidir. Bu ilaçlar gastrointestinal sistem, kemik iliği, testisler ve yumurtalıklar gibi pek çok organı hedef almaktadır. Bu ajanlar, kanser tedavisinde yararlı olduğu belirlenen ilk kimyasal grup arasında yer almaktadır. Alkilleyici ajanlar güçlü sitotoksik, genotoksik ve mutajenik ajanlar olduğundan kanser tedavisinde özellikle tercih edilmektedir. Ancak, uzun süreli kullanımlarda, normal hücrelerde de benzer etkiler göstermek suretiyle sekonder kanserlerin oluşmasını da tetikleyebilmektedir (Kumar ve Tutlani, 2023).

MMS, özellikle guanini (7-metilguanin) ve adenini (3-metiladenin) metillemektedir fakat diğer nükleobazlarda oksijen ve azot atomlarını daha az düzeyde metillemektedir. Metillenmiş nükleobazlar baz kesip çıkarma (BKÇ) ve DNA alkil transferaz yoluyla onarılabilmektedir. Ancak uygun şekilde onarılamayanlar, yanlış baz eşleşmesine, mutasyonlara ve DNA replikasyonunun inhibisyonuna neden olmaktadır. Fosfodiester bağların metilasyonu, doğrudan çift zincir kırıkları da oluşturmaktadır. Bu çift zincir kırıklarının, replikasyon esnasında MMS'nin replikasyon çatalında oluşturduğu hasardan kaynaklandığı belirlenmiştir. MMS ile muameleden sonra, baz kesip çıkarma onarımı tetiklenir, bu esnada replikasyon çatalı ile birlikte tek zincir kırıkları ve çift zincir kırıkları da oluşmaktadır. Bu şekilde, replikasyonla bağlantılı çift zincir kırıkları DNA onarım mekanizmalarından homolog rekombinasyon onarımını da tetiklemektedir (Yao, Bilichak, Golubov ve Kovalchuk, 2012; Ovejero, Soulet ve Moriel-Carretero, 2021).

MMS'nin hücre ölümüne, mutasyona, kromozom hasarına ve neoplastik transformasyona neden olduğu bilinmektedir. MMS bir yandan, beyin tümörlerinin güçlü bir indükleyicisi iken, diğer yandan, ratların yenilenen karaciğerinde zayıf bir hepatokarsinojen özellik gösterebilmektedir. Genom bütünlüğünün korunmasında sıklıkla kullanılan bir alkilleyici ajan olan MMS, DNA polimerazın DNA üzerinde düzgün bir şekilde kaymasını engelleyebilir ve DNA kırılmasına yol açabilir. Bu durum göz önüne alındığında, MMS, hücrenin DNA'sındaki alkilleyici lezyonlarla başa çıkma mekanizmalarını analiz etmek için model bir ajandır ve DNA'ya zarar veren bir ajan olarak uzun yıllardan beri kanser araştırmaları alanında ve aynı zamanda birçok insan kanserinin tedavisinde de kullanılmaktadır. MMS insan lenfositlerde DNA hasarına neden olabilmektedir. Diğer yandan, MMS'nin, kemirgenlerde farklı doku bölgelerinde tümörlere neden olduğu da bilinmektedir (Lee, 2007; Brinkworth ve Anderson, 2017; Ovejero, Soulet ve Moriel-Carretero, 2021).

MMS'nin, potansiyel bir genotoksik ajan olduğu ve insan lenfositleri, *Xenopus laevis* (Afrika pençeli kurbağası) ve fare karaciğer, böbrek ve kemik iliğinde DNA hasarına neden olduğu bilinmektedir. Benzer şekilde MMS'nin *Danio rerio* (zebra balığı), *Gasterosteus aculeatus* (üç dikenli balık) ve Sprague Dawley ratları gibi çeşitli organizmalarda genotoksik özellik gösterdiği rapor edilmiştir (Santos ve diğerleri, 2013; Muto ve diğerleri, 2015; Habas, Najafzadeh, Baumgartner, Brinkworth ve Anderson, 2017; Wang ve diğerleri, 2022).

Bakır oksit nanopartikülleri

Nanoteknoloji, nanometre düzeyinde malzeme sentezleyen ve tasarlayan, fizik, kimya, biyoloji, mühendislik ve tıp gibi çok sayıda konuyu içeren disiplinler arası bir bilim dalıdır. Nanoteknolojide kullanılan nanopartiküller, boyutu 1-100 nm (nanometre) arasında değişen atomik agregalardır. Günümüzde, çok fazla sayıda nano içerikli ürün bulunmaktadır ve bu ürünlerin %37 kadarının içeriği metal ve metal oksit türevi nanopartiküllerden oluşmaktadır (Saygılı, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021; Halıcı, Seyrek, Aykan, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021).

Metal oksit nanopartiküllerinden biri olan bakır oksit nanopartikülleri (CuO NP), çok çeşitli uygulamaları nedeniyle nanomalzemelerde önemli bir rol oynamaktadır. Sahip olduğu optik, katalitik, mekanik ve elektriksel özellikleri nedeniyle CuO NP'lerine ilgi giderek artmaktadır (Kamel ve diğerleri, 2022). CuO NP'lerinin sahip olduğu bu özellikler, birçok alanda kullanılmasına öncülük etmiştir. Bu uygulamalara genel olarak antimikrobiyal ürünler, zirai kimyasallar, boyalar, yarı iletken bileşikler, atık arıtma, pil, gıda koruma, güneş enerjisi, katalizör üretimi, tekstil endüstrisi, antitoksin, tıbbi ve çevre dostu malzemeler örnek verilebilir (Eskin ve Bozdoğan, 2022). CuO NP'lerinin bu kadar yaygın kullanımı hem insanların ve hem de diğer canlı türlerinin bu partiküllere maruziyetini artırırken, sonuçta bunların kısa ve uzun vadeli toksik risklerini de artırmaktadır. CuO NP'lerinin, akciğer, cilt, karaciğer, böbrek, ürüme sistemi ve sinir sistemi üzerinde toksik etkileri olduğuna dair araştırmalar mevcuttur (Naz, Gül ve Zia, 2020).

Metal oksit nanopartikülleri kanser hücrelerini hedef alabilmektedir. CuO NP'leri, kanser hücrelerine saldırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. CuO NP'lerin düşük konsantrasyonlarda, akciğer, meme, serviks (rahim ağzı) gibi farklı kanser türlerinde antikanser özellik gösterdiği belirlenmiştir ancak, kanser hücrelerine yönelik toksisite, NP'lerin farklı boyutlarına ve şekillerine göre değişmekte olup CuO NP'lerin de toksisitesi

değerlendirilirken şekil, boyut, yüzey yükü ve zeta potansiyeli gibi birçok faktör göz önüne alınmaktadır (Letchumanan, Sok, Ibrahim, Nagoor ve Arshad, 2021). Örneğin, yapılan bir çalışmada, 30 ve 60 nm boyutlarındaki CuO NP'lerin hastane enfeksiyonlarından sorumlu olan *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus epidermidis* bakterilerine karşı standart ve klinik suşlardaki antimikrobiyal aktivitesi ve malign meme kanseri hücreleri olan 4T1 hücre hattına karşı antikanser aktivitesi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, standart ve klinik suşlar üzerinde, 60 nm CuO NP'lerine kıyasla, 30 nm CuO NP'lerin daha fazla antibakteriyel ve antikanser aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bu sebeple, daha küçük boyutlu CuO NP'lerin, antibakteriyel ve antikanser olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Abbasi, Ghorban, Nojoomi ve Dadmanesh, 2021). Genotoksik etkiler genetik materyalde değişikliğe sebep olmaktadır. Kanser ortaya çıkmasının ana öncülerinden biri genetik değişikliklerdir.

CuO NP'leri herhangi bir organizma ve/veya hücre hattında genotoksik etki göstererek, kanser riskini de arttırabilmektedir. CuO NP'lerinin insan periferik lenfositleri, insan akciğeri normal hücre hatları (WI-38), insan akciğer hücre hattı (A549), insan deri epidermal hücreleri ve insan hepatoma hücrelerinde (HepG2) konsantrasyona bağlı olarak DNA hasarını arttırarak genotoksik hasara neden olduğu da rapor edilmiştir (Fahmy, Ebrahim ve Gaber, 2020; Adayemi ve diğerleri, 2020). Benzer şekilde, CuO NP'leri ile *Drosophila melanogaster* (sirke sineği), *Galleria mellonella* (petek güvesi) hemositleri, *Lymnea luteola* L (salyangoz) sindirim bezi hücreleri, Yeni Zelanda tavşanı, *Mytilus trossulus* (midye) hücrelerinde, rat hücreleri, *Coriandrum sativum* (kişniş), *Hordeum vulgare* (arpa) ve *Lycopersicon esculentum* (domates) bitkilerinde yapılan araştırmalar, bu nanopartiküllerin KA, KKD ve DNA hasarlarını önemli düzeyde arttırarak genotoksik özellik gösterdiği bildirilmiştir (Carmona, Inostroza-Blancheteau, Obando, Rubio ve Marcos, 2015; Alaraby, Hernández ve Marcos, 2017; Chelomin, Slobodskova, Zakhartsev ve Kukla, 2017; AlQuraidi, Mosa ve Ramamoorthy, 2019; Shobha, Shashidhara ve Naik, 2020; Petrova, Plaksenkova, Kokina ve Jermaļonoka, 2021; Eskin ve Bozdoğan, 2022).

Hidrojen peroksit

Reaktif oksijen türleri (ROT), elektron yörüngelerinin en dış kabuğunda eşleşmemiş elektron bulunduran atom, atom grupları veya moleküllerdir. Reaktif oksijen türleri, normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit

(H₂O₂) ve hidroksil radikali (OH•)'dir. ROT'leri, çeşitli serbest radikallerin oluştuğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler. H₂O₂, süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin, çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin, iki proton (H⁺) ile birleşmesi sonucunda oluşur. Biyolojik yapılarda H₂O₂'in asıl üretimi, süperoksidin (O₂⁻) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluşturur. Bu reaksiyonda radikal olmayan ürünler olduğundan dismutasyon reaksiyonu şeklinde adlandırılır. Bu reaksiyon ya spontan olarak gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve sonuçta serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe²⁺ veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının (O₂⁻) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu ile en reaktif ve hasar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH•) oluşturur (Len, Koh ve Tan, 2019; Sies ve Jones, 2020).

H₂O₂, canlı sistemlerde çeşitli fizyolojik ve patolojik etkiler gösterir, fazlalığı hücre ve dokulara zarar verebilir. Biyolojik süreçlerin regülasyonunda, apoptozda ve immün hücre aktivasyonunda görev almaktadır. H₂O₂'nin endüstride pek çok kullanım alanı mevcuttur. Bu alanlar arasında özellikle tekstil, metalurji, gıda, ilaç ve kozmetik endüstrisi yer almaktadır (Patel, Kruse ve Selvaganapathy, 2020; Gao ve diğerleri, 2020).

H₂O₂, tek ve çift zincir DNA kırıkları oluşturan bir genotoksindir. H₂O₂'in insan periferik lenfositleri ve HepG2 hücreleri, bukkal mukoza, Suriye hamster embriyo hücreleri ve Çin hamsteri V79 fibroblast hücreleri gibi çeşitli organizma ve hücre hatlarında KKD, MN ve DNA hasarını anlamlı olarak arttırarak genotoksik özellik gösterdiği bilinmektedir (Benhusein, Mutch, Aburawi ve Williams, 2010; Del Real García ve diğerleri, 2019).

H₂O₂, p53 aktivitesini ve kanser hücresi ölümünü düzenleyen diğer transkripsiyon faktörlerini arttırmaktadır. Kanser hücrelerinde ve tümör dokularında H₂O₂ üretimi devam ederek daha fazla DNA hasarına, iltihaplanmaya ve hücresel metabolizmada değişikliklere yol açabilmektedir (Vilema-Enríquez, Arroyo, Grijalva, Amador-Zafra ve Camacho, 2016). Kanser hücrelerinin fazla miktarda H₂O₂ üretmesi, kanser teşhisine ve yeni görüntüleme tekniklerinin geliştirilmesine yönelik önemli bir yaklaşım modeli olabilir. H₂O₂ kanser dâhil

olmak üzere çeşitli hastalık ve bozuklukların izlenmesinde önemli bir biyobelirteçtir (Patel, Kruse ve Selvaganapathy, 2020).

H₂O₂ bir ROT olduğundan kanser hücresi çoğalması üzerinde zıt etki gösterebilmektedir. Örneğin, H₂O₂ (50, 100, 150 ve 200 µM) insan meme kanseri MCF-7 hücrelerinin çoğalmasını engelleyebilirken, diğer yandan H₂O₂ (1 ve 10 µM) hepatoma 7721 hücrelerinin çoğalmasını artırabilmektedir. Dolayısıyla H₂O₂, belirli konsantrasyonlarda ve kanser hücresi tiplerinde kullanıldığında kanser hücresi çoğalmasının, göçünün ve istilasının bir inhibitörü olarak kullanılabilir (Chua, Yip ve Bay, 2009; Vilema-Enríquez, Arroyo, Grijalva, Amador-Zafra ve Camacho, 2016).

2.3.2. Antigenotoksisite

İnsan DNA'sı sürekli olarak genotoksinlere maruz kalmaktadır. İnsan vücudunun her hücresinde her gün on binlerce DNA hasarının meydana geldiği tahmin edilmektedir. DNA hasarı hem endojen (fizyolojik ve patolojik süreçler sırasında üretilen reaktif türler) hem de eksojen ajanlar (ultraviyole-UV ışık, iyonlaştırıcı radyasyon, alkilleyici ajanlar, antikanser ilaçlar, antimetabolitler ve topoizomeraz inhibitörleri, hava, su ve gıda kirleticileri vb.) tarafından tetiklenebilir (Luca, Miron ve Aprotosoae, 2016). DNA hasarı, kanserin yanı sıra kronik iltihaplanma, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve diğer çeşitli patolojik durumların gelişiminde rol oynayan mutasyonlara da neden olmaktadır (Shimizu, Yoshida, Suda ve Minamino, 2014).

Antigenotoksisite, genotoksinlerin neden olduğu DNA mutasyonunu azaltma yeteneğidir, bu nedenle genotoksik etkiye sahip ajanlardan korunmak açısından çok önemlidir. DNA hasarını azaltma yeteneğine sahip olan ve antigenotoksik olarak adlandırılan bileşikler, patolojik durumların önlenmesine, geciktirilmesine veya şiddetinin azaltılmasına yardımcı olabilmektedir. Antigenotoksik bileşikler etki ettiği bölge veya etki tiplerine göre ayrılabilir. Bu bileşikler, antioksidan ve detoksifikasyon özelliği, epigenetik değişiklikler ve sinyal yolları gibi birbirini bütünleyen mekanizmalarla fonksiyon göstermektedir. Bu sebeple, antigenotoksik bileşiklerin etki mekanizmalarını anlamak nispeten güçtür (Eraga, Aganbi, Anigboro, Asagba ve Tonukari, 2022).

Genotoksisite ve antigenotoksisite arasında önemli bir ayrım bulunmaktadır. Genotoksisite araştırmaları, DNA'ya, kromozomlara ve genoma, kısaca sağlığa yönelik tehditleri kavrayabilmek açısından önem teşkil ederken, antigenotoksisite çalışmaları, genomik kararsızlığı en aza indirmek ve hatta ortadan kaldırmak açısından büyük önem taşımaktadır (Gonçalves ve Gaivão, 2023).

2.3.3. Genotoksisite testleri

Fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlar genomun stabilitesini etkiler ve başta kanser olmak üzere, kardiyovasküler hastalık, akciğer hastalığı veya nörodejeneratif hastalıkların gelişimine neden olabilir. Bu sebeple insanların maruz kaldığı çeşitli ajanların genotoksik potansiyelini araştırmak için birçok test tekniği geliştirilmiştir. DNA, kromozom, genom veya epigenetik değişiklikleri tespit etmek amacıyla kullanılan genotoksisite testleri, farmasötiklere, endüstriyel kimyasallara, pestisitlere, biyositlere, nanopartiküllere, gıda katkı maddelerine ve kozmetik bileşenlere kadar her türlü maddenin güvenlik değerlendirmesinin gerçekleştirilmesinde çok önemli bir yer tutmaktadır. Kromozom anormallikleri testi, kardeş kromatit değişimi testi, sitokinez blok mikronükleus testi ve komet testi oldukça yaygın kullanılan genotoksisite testleri arasında yer almaktadır (Yüzbaşıoğlu, Avuloğlu-Yılmaz ve Ünal, 2016; Sommer, Buraczewska ve Kruszewski, 2020; Luan ve Honma, 2022).

Ekonomik İş birliği ve Kalkınma Örgütü (OECD) tarafından yayınlanan test kılavuzları, kimyasalların güvenliğini değerlendirmek için hükümetler, endüstri ve bağımsız laboratuvarlar tarafından kullanılan, uluslararası kabul görmüş en uygun test yöntemlerinin bir derlemesidir. Genotoksisite değerlendirilmesi için gerekli olan tüm testler OECD test kılavuzlarında yer almaktadır. KA testi (OECD 473), mikronükleus testi (OECD 487) ve komet testi (OECD 489), OECD yönergelerinde yer alan testler olmakla birlikte, KKD testi 2014 yılında OECD test yönergesinden çıkarılmıştır. Ancak yine de araştırmacılar bu testi genotoksisite çalışmalarında hala kullanmaktadır (OECD, 2023).

Kromozom anormallikleri testi

Genotoksik ajanların varlığı, farklı mekanizmalar yoluyla kromozomal mutasyonlara neden olabilmektedir. Bu mutasyonlar, kromozom yapısındaki değişiklikler ve kromozom

sayısındaki değişiklikler olmak üzere iki ana kategoride sınıflandırılmaktadır. Oluşan bu değişiklikleri tespit etmek amacıyla günümüzde kromozom anormallikleri testi *in vitro* ve *in vivo* koşullarda uygulanabilmektedir. Kromozom yapısında meydana gelen anormalliklerin/değişiklerin temeli, doğrudan DNA hasarına veya hasarlı bir DNA şablonundaki replikasyona bağlıdır. Diğer yandan, sayısal kromozom anormalliklerinin temeli, hücre bölünmesinde rol oynayan iğ ipliklerinde meydana gelen hasarlara veya kromozomların sentromer-kinetokor bölgelerine dayanmaktadır. KA testi ile yapılan mikroskopik incelemelerde, kromatit-kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme, disentrik kromozom, kromatit değişimi ve halka kromozomlar yapısal anormallik olarak değerlendirilmektedir. Poliploidi ve endoreduplikasyon ise sayısal anormallik olarak değerlendirilmektedir (Yüzbaşıoğlu, Avuloğlu-Yılmaz ve Ünal, 2016; Halıcı, Seyrek, Aykan, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021).

Kromozom anormallikleri, fiziksel ve/veya kimyasal ajanlar tarafından oluşturulan genetik hasarın direkt göstergesidir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, kromozomlarda meydana gelen anormallikler ile kanser insidansı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu korelasyon, test edilen ajanın genotoksik risk oluşturabildiğine dair güvenilir bir somut veri sunmaktadır. Kanser gelişimi, kanser hücrelerinde hem yapısal hem de sayısal kromozomal anormalliklere yol açan genom kararsızlığı ile ilişkilidir. Bu sebeple, lenfositlerinde yüksek KA frekansına sahip olan bireylerin kansere yakalanma riskinin önemli ölçüde yüksek olduğuna yönelik çalışmalar mevcuttur (Obe ve diğerleri, 2002; Luan ve Honma, 2022).

Kardeş kromatit değişimi testi

Kardeş kromatit değişimi testi, 1970’li yıllardan beri kimyasal ajanların potansiyel kromozomal mutajenitesini ve dolayısıyla metafaz kromozomlarının kardeş kromatitleri arasındaki DNA değişimini tespit etmek için kullanılan köklü ve hassas bir tekniktir. Kardeş kromatitler arasındaki DNA değişimi, kromozomlarda meydana gelen çift zincir kırıklarının homolog rekombinasyon yoluyla onarıldığı bölgeleri yansıtmaktadır. KKD oluşumu, DNA eklentisi oluşturan veya DNA replikasyonu ile etkileşim oluşturan ajanların mutajenik veya kanserojenik potansiyellerini belirlemede etkili bir tekniktir. Bloom sendromu, fankoni anemisi ve kseroderma pigmentosum gibi kalıtsal hastalıklarda KKD sayısında önemli bir artış gözlenmektedir. Meme, yumurtalık, mide ve prostat kanserli hastaların periferik

lenfositlerinde gözlenen KKD sayısı da normal bireydekinin üç katına kadar çıkabildiği bilinmektedir (Stults, Killen ve Pierce, 2014; Çelik, 2022: 185, 217).

KKD testi, günümüzde fiziksel ve/veya kimyasal ajanların genotoksik ve karsinojenik potansiyellerinin tespitinde, bazı hastalıklarda artmış DNA hasar tespitinde, kanserden korunmada ve biyoizlem çalışmalarında *in vitro* ve *in vivo* koşullarda kullanılmaktadır. KKD testi 2014 yılında OECD test yönergelerinden çıkarılmıştır. Buna rağmen, KKD testi, tamamlayıcı bir test olması, diğer testler ile birlikte kullanılması, potansiyel genotoksisiteyi araştırma özelliğini koruması ve sağlam nicel sonuçlar vermesinden dolayı, günümüzde önemli bir genotoksisite testi olarak halen kullanılmaktadır (Çelik, 2022: 185, 217; Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2023).

Sitokinez blok mikronükleus sitom testi

Genotoksisite testleri arasında en çok tercih edilen testlerden biri olan mikronükleus (MN) testi, anöjenik ve mutajenik etkilerin tespitinde kullanılan bir tekniktir. MN testi hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak farklı organizmalarda ve hücre tiplerinde uygulanabilmektedir (Yüzbaşıoğlu ve Avuloğlu-Yılmaz, 2022: 219, 249). MN, hücre bölünmesi sırasında bir kromozom veya kromozomun bir parçasının yavru çekirdeklerden birine katılmaması durumunda oluşan küçük çekirdektir. MN'ler, anafaz sırasında, yanlış onarılmış veya onarılmamış DNA kırılmaları veya kromozomların ayrılmaması nedeniyle oluşan gecikmiş asentrik kromozom veya kromatit fragmentlerinden oluşmaktadır. MN'ler genellikle genotoksik olayların ve kromozomal instabilitenin bir işaretidir. MN testi sayesinde yaşlanmayla ilişkili DNA hasarı, sitokinetik etkiler, proliferatif potansiyel ve hücre ölümü, nörodejeneratif bozukluklar ve çeşitli otoimmün hastalıklar gibi genetik bozukluklar, eksojen veya endojen genotoksik ajanların etkilerine karşı bireysel duyarlılık, yüksek kanser riski ve genetik instabilitiyi artıran kanserojen sürecin biyobelirteci değerlendirilebilmektedir (Fenech, 2000; Sommer, Buraczewska ve Kruszewski, 2020; Yüzbaşıoğlu ve Avuloğlu-Yılmaz, 2022: 219, 249).

MN frekansının değerlendirilmesinde günümüzde en sık kullanılan yöntem sitokinez blok mikronükleus sitom (CBMN-Cyt) testidir. Bu test, kromozom kırılması, DNA yanlış onarımı, kromozom kaybı ve ayrılmama, nükleoplazmik köprü, nükleer tomurcuk, nekroz ve apoptozu değerlendirmek için de oldukça elverişlidir. CBMN-Cyt testinde sitokalsin-B

ile sitokinezi bloke ettikten sonra binükleat (BN) görünimleri ile tanınmaktadır. Sitom, hücrenin canlılık durumunu ve mitotik durumunu ifade etmektedir. Bu test tekniği *in vitro* veya *in vivo* genotoksik ve sitotoksik hasarın değerlendirildiği biyolojik çalışmalarda uygulanmaktadır (Fenech, 2007; Sommer, Buraczewska ve Kruszewski, 2020).

Tek hücre jel elektroforez / Komet / Kuyruklu yıldız testi

Komet testi veya kuyruklu yıldız-Tek hücre jel elektroforezi testi, hücrelerdeki DNA hasarının miktarını belirlemek için yaygın olarak kullanılan önemli bir genotoksisite testidir. DNA hasarının değerlendirilmesinde pek çok farklı test tekniği mevcuttur ancak komet testi, özellikle mikronukleus testi ile birlikte son yıllarda oldukça yaygın kullanılan bir testtir. Komet testi, az sayıda hücre gerektirmesi, çeşitli hücre ve dokularda uygulanabilmeye elverişli olması, hassas, hızlı ve güvenilir olması nedeniyle genotoksisite çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Komet testi, birçok organizma ve hücre hatlarında *in vitro* ve *in vivo* olarak uygulanabilmektir. Bu test özellikle çeşitli kimyasal ve/veya fiziksel ajanların oluşturabileceği genotoksik hasarların değerlendirilmesinde kullanılmakla beraber, biyoizleme, DNA onarım çalışmaları, beslenme çalışmaları gibi çeşitli alanlarda da kullanılmaktadır (Ünal, Saygılı, Akbaş, 2022: 313, 340; Brunborg ve diğerleri, 2023;).

Komet test tekniği, negatif yüklü DNA fragmentlerinin bir agaroz jel üzerinde elektroforez ortamında + kutba doğru göç etme prensibine dayanmaktadır. Eğer DNA’da kırık varsa gevşemiş ve kırılmış DNA fragmentleri, çekirdekten anoda doğru göç ederek, hasarlar hücrelerde kuyruklu yıldız görünümü oluşturmaktadır. Bu nedenle bu tekniğin diğer adı kuyruklu yıldız testidir (Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014).

Komet testinin analizinde çeşitli yazılım programları kullanabilmektedir. Bunlardan birisi de “Comet Assay IV” (Perceptive Instruments Ltd., UK) programıdır. Bu program sayesinde kometlerde kuyruk uzunluğu (μm), kuyruk yoğunluğu (%DNA) ve kuyruk momenti gibi parametreler hassas bir şekilde değerlendirilebilmektedir. DNA’da oluşan hasar ne kadar fazla ise, bu parametrelerin değerleri de o oranda artış göstermektedir. DNA hasarına uğramış hücre, baş ve kuyruk kısmından oluşmaktadır. Kırıkların ve diğer hasarların meydana geldiği DNA, hasarsız çekirdek (baş) dışına göç etmek suretiyle bir kuyruk oluşturmaktadır. Bazı çalışmalarda, yazılım programları kullanılmadan, gözlenen DNA

hasarları, 0-4 arasında 5 farklı şekilde puanlanmaktadır (0: hasarsız, 1: az hasarlı, 2: orta hasarlı, 3: çok hasarlı, 4: aşırı çok hasarlı) (Ünal, Saygılı ve Akbaş, 2022: 313, 340).

2.4. Kanser

Kanser, hücre çoğalmasını, metabolizmasını, DNA onarımını ve hücre ölümünü kontrol eden genlerde meydana gelen hasarlar sonucunda oluşan ve kontrolsüz hücre çoğalması ile karakterize bir genetik hastalıktır. Sadece gen mutasyonları değil, kromozom mutasyonları ve epigenetik değişimler de kansere ortam hazırlamaktadır. Akciğer kanseri, meme kanseri, mide kanseri ve prostat kanseri gibi bulundukları organa veya hücre tipine göre isimlendirilen 100'den fazla farklı kanser türü bulunmaktadır (Nia, Munn ve Jain, 2020). Her kanser türünün ortak özellikleri mevcut olup bunlar, sürekli proliferatif sinyal iletimi, büyüme süpresörlerinden kaçınma, hücre ölümüne direnç gösterme, ölümsüzlük, anjiyogenez indüksiyonu, invazyon ve metastazdır (Babaç, Ekinci ve İlem-Özdemir, 2023).

Kanser, önemli bir halk sağlığı sorunu olup, Dünya genelinde en yaygın ikinci ölüm nedenidir. Küresel demografik özellikler, önümüzdeki on yıllarda kanser vakalarının artacağını öngörmekte ve hatta 2025 yılına kadar yılda 20 milyondan fazla yeni kanser vakası beklenmektedir (Siegel, Miller, Wagle ve Jemal, 2023).

Kansere neden olan faktörler

Kanserin kesin nedenleri hala tam olarak bilinmemekle beraber, iç ve dış faktörler birçok kansere katkı sağlamaktadır. İç faktörler arasında gen mutasyonları, hormonal ve bağışıklık sistemindeki değişiklikler ve metabolik anormallikler bulunmaktadır. Diğer yandan, sigara içmek, aşırı alkol tüketmek, sağlıksız beslenme, güneş ışınlarına ve kanserojen kimyasallara maruziyet, egzersiz eksikliği ve yaşam tarzı gibi faktörler dış faktörlere örnek oluşturmaktadır (Sankpal ve diğerleri, 2012). Yaşam tarzıyla ilgili faktörler kendi başlarına kansere neden olan etkenler değildir ancak mesleki maruziyetler, alışkanlıklar ve bilinen veya şüphelenilen kanserojenlere maruz kalmaya yol açan, bağımlılık yoluyla kanser oluşumuyla ilişkili risk faktörleridir (Irigaray ve diğerleri, 2007).

DNA nispeten stabil bir organik molekül olmasına rağmen genom, sürekli olarak çeşitli endojen ve eksojen hasar kaynaklarına maruz kalmaktadır. DNA hasarına neden olan ajanlar

farklı şekilde sınıflandırılmaktadır. Bu ajanlar endojen (metabolizma veya inflamasyon gibi süreçlerden kaynaklanan reaktif yan ürünler), eksojen (gıda, su veya havada bulunan ajanlar), fiziksel (UV ışık ve iyonlaştırıcı radyasyon) veya reaktif oksijen türleri, interkalasyon ajanları, alkilleyici ajanlar ve baz analogları gibi kimyasallar olabilmektedir. Hücreler bu tür hasarları onarabilecek mekanizmalar geliştirmiştir ancak çeşitli nedenlerle bu mekanizmaların kendilerinde de hasarlar meydana gelebilmektedir (Groelly, Fawkes, Dagg, Blackford ve Tarsounas, 2023).

Serbest radikaller

Serbest radikaller, dış atomik yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran moleküllerdir. Serbest radikaller, kanser gibi birçok patolojik hastalıkların oluşumuna neden olmaktadır. Serbest radikaller, oksijen [reaktif oksijen türleri (ROT)] ve nitrojen [reaktif nitrojen türleri (RNT)] kaynaklı olabilmektedir. Yüksek düzeyde reaktif olmaları nedeniyle bu moleküller başta DNA olmak üzere, lipit ve protein gibi biyolojik makromoleküllere saldırarak, oksidasyona ve DNA hasarına neden olabilir. ROT'lar, DNA zincirinde kırıklara ve nükleotidlerde oksidatif hasara neden olmaktadır. Bu hasarların bir kısmı onarılmakla birlikte, hasar düzeyi arttıkça, onarım seviyesi buna yetişemez ve sonuçta mutajenez ve kanserle sonuçlanmaktadır. Birçok çevresel ve yaşam tarzı faktörü, hücrenin antioksidan kapasitesini aşan seviyelerde reaktif türleri oluşturarak, oksidatif strese neden olabilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016; Martemucci ve diğerleri, 2022).

Oksidatif stres

Oksidatif stres, oksidasyonun vücuttaki antioksidan sistemleri aştığı ve bunlar arasındaki dengenin kaybolduğu bir durumdur. Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu, oksidatif DNA hasarı ve hücre içi sinyal iletiminin düzenlenmesine neden olmaktadır. Oksidatif stres başladığında engellenmez ise zamanla stres artar ve Alzheimer, diyabet, koroner kalp hastalıkları ve hatta kanser gibi birçok hastalık ortaya çıkabilir. Oksidatif stresle beraber, birçok proto-onkogen ve tümör baskılayıcı gen hasara uğrayabilir ve kansere neden olduğu bilinen mutasyonlara neden olabilir (Luo, Mills, Le Cessie, Noordam ve Van Heemst, 2020; Jelic, Mandic, Maricic ve Srdjenovic, 2021).

Antioksidanlar

Oksidatif hasarın önlenmesini sağlamak için hücreler bir dizi antioksidan sisteme sahiptir. Antioksidanlar, organizmada dejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasına ve yayılmasına neden olan oksidatif süreçleri kontrol eden, onarabilen, geciktiren veya önleyen bileşiklerdir. Antioksidanlar, ROT'ları veya serbest radikalleri nötralize ederek ve bunların neden olduğu kansere karşı etkili bir mekanizma sergileyerek antikanserojen rol oynamaktır. Bu nedenle "serbest radikal temizleyicileri" olarak adlandırılmaktadır. Kısaca, bağışıklık savunmasını geliştirip çeşitli metabolik hastalıkların ve kanser riskinin azaltılmasında görev yaparlar. ROT'ların detoksifikasyonunda antioksidan enzimler veya enzimatik olmayan moleküller görev almaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz birer antioksidan enzimleridir. Diğer yandan, metabolik antioksidan ve besinsel antioksidanlar enzimatik olmayanlardır (Jelic, Mandic, Maricic ve Srdjenovic, 2021; Munteanu ve Apetrei, 2021).

Kanser tedavisi

Kanser vakalarının yaklaşık %5-10'unun genetik bozukluklardan, geri kalan %90-95'inin ise çevre ve yaşam tarzından kaynaklanması, kanserin önlenabilir bir hastalık olduğunu ve tedavisi veya engellenmesinde önemli fırsatlar bulunduğunu göstermektedir. Kanser kalıtsal etkisinin nispeten daha az olması ve çevresel faktörlerin değiştirilebilir olması, kanserin önlenbilmesine de bir imkân sağlamaktadır. Diğer yandan, kanser tedavisinde günümüzde sıklıkla kemik iliği (kök hücre) transplantasyonu, radyoterapi, kemoterapi, immünoterapi, hormon ve cerrahi tedavi gibi yöntemler kullanılmaktadır (Akeren ve Hintistan, 2021).

Kemik iliği transplantasyonu (KİT), lösemi ve diğer bazı kötü huylu ve kötü huylu olmayan hastalıklar için etkili bir tedavi yöntemidir. KİT, hematopoetik kök hücre transplantasyonu, uzun süreli sağkalımın hedeflendiği belirli hematolojik ve lenfoproliferatif durumlar için önemli bir tedavi seçeneğidir (Tuzovic, Mead, Young, Schiller ve Yang, 2019). Radyoterapi (RT), çok sayıda kanser türü için multidisipliner tedavi yaklaşımının önemli bir parçasıdır. RT, X ışınları, gama ışınları ve diğer ışınlar gibi yüksek enerjili foton radyasyonunu kullanarak kanser hücrelerine yönelik bir tedavi yöntemidir (Gong, Zhang, Liu, Zhang ve Han, 2021). Kemoterapi (KT) ise çeşitli lenfoma türlerinin tedavisinde etkili olduğu bilinen

bir kanser tedavisidir. Bununla beraber, diğer kanser türlerinde kemoterapinin genellikle iyileştirici etkileri yoktur ancak genel sağkalımı uzatabilmektedir (Schirrmacher, 2019). Bir diğer kanser tedavi yöntemi olan immünoterapi, doğal mekanizmalar yoluyla kanser hücrelerine saldırmak amacıyla bağışıklık sistemini aktive etmek veya artırmak için kullanılan bir yöntemdir. Bu nedenle, belirli kanser türlerini tedavi etmek ve hatta iyileştirmek için umut verici bir yöntem olduğu düşünülmektedir (Riley, June, Langer ve Mitchell, 2019). Hormon tedavisi, östrojenler ile neoplastik hücreleri uyaran östrojene bağımlı yollar arasındaki etkileşimi önlemeyi amaçlamaktadır (Drăgănescu ve Carmocan, 2017). Cerrahi tedavi ise biyopsi ile tanı konması ve metastaz durumunda kanserli hücrelerin vücuttan çıkarılması esasına dayanmaktadır (Baykara, 2019).

Kanser ve bor

Bor takviyesinin kanseri önleme ve tedavisinde olumlu etkiler gösterdiğini doğrulayan *in vitro* ve *in vivo* veriler bulunmaktadır. Hem sağlık ve refahı geliştirmek hem de kanseri önlemek ve tedavi etmek için meyve, sebze, bitkisel ürünler ve baklagiller açısından zengin diyetlerle bor tüketiminin artırılması önerisi sunulmaktadır. Beslenmede bor tüketiminin yetersiz olması başta kanser olmak üzere pek çok sağlık sorununa yol açabilmektedir (Gündoğdu ve diğerleri, 2023). Borun vücuda hangi yolla alındığına bakılmaksızın, kısa sürede idrar ile vücuttan atılmaktadır. Bu nedenle borun kanser oluşturma riski olmadığı gibi, tam tersine antikarsinojenik özelliklere sahip olduğu ileri sürülmektedir. Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar, özellikle malignitesi yüksek olan ve ameliyat edilemeyen kanserlerde bor bazlı bileşiklerin antikanser ajanı olarak kullanımının arttığını göstermektedir (Demirtaş, 2010; Atasoy ve Dusak, 2022).

Bor bileşikleri içeren ilaçların tasarımı nispeten yeni olmakla beraber, bunlar kanser tedavisinde kullanılabilir. Boronik asit, bortezomib, talabostat ve bor nötron yakalama tedavisi antikanser tedavisi için önemli bor içeren adaylardır. Bortezomib, bir 26S proteozom inhibitörü olup, NF- κ B (NF-kappa B; tüm hücre tiplerinde bulunan bir transkripsiyon faktörü)'yi aktive etmektedir. Boronik asit, hücrelerde bir antikanser ajan olarak kullanılmaktadır. Bortezomib, 2003 yılında FDA (Amerikan gıda ve ilaç idaresi) tarafından onaylanmış olup günümüzde multipl miyelom ve mantle hücreli lenfoma kemoterapisinde kullanılmaktadır. Diğer yandan bor, belirli kanser türlerinde nötron

yakalama tedavisinde de kullanılabilmektedir (Fernandes, Denny ve Dos Santos, 2019; Sevim ve Kara, 2022).

Bor nötron yakalama tedavisi

Bor nötron yakalama tedavisi (BNCT), bor bileşiği kullanılarak (özellikle borik asit) tümör hücrelerini seçici olarak tedavi etmeyi amaçlayan ve farklı kanser türleri için yaygın kullanılan bir tekniktir. Bu tedavide sadece tümör hücreleri hedef alınmakta ve aşırı radyasyona maruz kalmadan kanserli hücrelere uygulanmaktadır. BNCT, geleneksel radyoterapilere kıyasla özellikle neoplastik dokuyu seçici olarak hedefleyebilen bir tedavidir (Maliszewska-Olejniczak, Kaniowski, Araszkiewicz, Tyminska ve Korgul, 2021).

BNCT ilk olarak baş ve boyun kanseri tedavisinde kullanılmıştır ancak yöntemin geliştirilmesiyle beraber meme kanseri, glioblastoma, cilt melanomları, karaciğer ve tedavi edilemeyen beyin tümörleri başta olmak üzere birçok kötü huylu tümörün tedavisinde umut verici bir yöntem dönüşmüştür. BNCT'nin temel prensibi, hastaya bor içeren bir ilacın enjekte edilmesi, bor bileşiğinin tümör hücrelerinde birikmesi ve daha sonra tümör bölgesinin bir nötron ışını ile ışınlanmasıdır. Bu tedavi yöntemi, bor bileşikleri ve nötronların çarpışması ve atomik fisyon reaksiyonlarına dayanmaktadır. Dünya çapında yaklaşık 2000'den fazla BNCT klinik uygulaması gerçekleştirilmiştir. BNCT işleminin glioblastoma, melanom, boyun tümörleri, plevral mezotelyoma ve hepatoselüler karsinom tedavisinde olumlu sonuçlara katkı yaptığı rapor edilmiştir (Dukenbayev ve diğerleri, 2019; Taskaev, 2021; Cheng, Li ve Liang, 2022).

Vücuda alınan bor, tamamen emilmekte ve BA olarak kanda dolaşmaktadır. BA, insan bağırsağından hızla emilir ve 21 saatlik bir yarılanma ömrü ile idrar yoluyla vücuttan atılmaktadır. BA'nın idrar ile dışarı atılması tıpkı diğer bor bileşikleri gibi kanser gibi çeşitli hastalıklara sebep olmamasına öncülük etmektedir. BA, kan akışına geçtikten sonra, antioksidan veya antikanser özellikleri sayesinde birçok fizyolojik ve biyokimyasal sürece katılmaktadır (Hacıoğlu, Kar, Kaçar, Şahintürk ve Kanbak, 2020). BA'nın kanser hücreleri ile ilişkisindeki etki mekanizması hakkındaki verilerin birçoğu *in vitro* çalışmalardan gelmektedir. Bu çalışmalar arasındaki başlıca farklılıklar, test edilen farklı BA konsantrasyonlarından, inkübasyon süresinden ve kullanılan modelden kaynaklanmaktadır (Paties Montagner, Dominici, Piaggi, Pompella ve Corti, 2023).

BA, birçok kanser hücresine karşı hücre proliferasyonunu inhibe edebildiği gibi, anti invaziv ve antikanser özellik de gösterebilmektedir. Literatürde BA'nın kanser hücrelerine karşı potansiyelinin incelendiği pek çok çalışma yer almaktadır. Bu çalışmalarda, BA'nın Caco-2 kolorektal kanser hücrelerine karşı antikanser özellik gösterdiği, HT29 (insan kolon kanseri), A375 (insan malign melanomu), endometrium (rahim) kanseri ve prostat kanseri hücre ve hücre hatlarında hücre proliferasyonunu inhibe ettiği, bir kanserojen olan 3-metil kolantrene karşı tümör oluşumunu azaltılabileceği, pankreas kanserinde potansiyel bir anti-invaziv bileşik olabileceği ve bir kanser ilacı olan sorafenibin kombinasyonu ile üçlü negatif meme kanser hücre hatlarında antikanser etkinliğinin güçlendiği rapor edilmiştir. Bu veriler, BA'nın kanser hücrelerinde proliferasyon ve ölümü modüle edebileceğini göstermektedir (Kahraman ve Göker, 2023; Gündoğdu ve diğerleri, 2023; Paties Montagner, Dominici, Piaggi, Pompella ve Corti, 2023).

BA'nın kanser hücrelerine etkisi konusunda mekanizmalar henüz tam olarak aydınlığa kavuşmamış olmasına rağmen BA, otofajiyi artırıp kanserlerde doza bağlı hücre ölümüne neden olmaktadır. Her ne kadar BA otofajiye etki etse bile hücre ölümüne neden olan tek faktör olmayabilir. Bu sebeple, BA'nın kanser ile ilişkili rolünü anlamak için daha fazla araştırması yapılması gerekmektedir (Al-Ali ve Gonzalez-Sarmiento, 2017).

Bu tez çalışmasının amacı, son yıllarda antioksidan, antikanser ve antigenotoksik etkilere sahip olduğuna yönelik araştırmaların artış gösterdiği ve bir bor bileşiği olan borik asitin hem tek başına muamelesinin insan periferik lenfositlerinde olası genotoksik potansiyelini değerlendirmek ve hem de genotoksik olduğu bilinen metil metansülfonat (MMS), bakır oksit nanopartikülü (CuO NP) ve hidrojen peroksitin (H₂O₂) oluşturduğu genetik hasara karşı olası antigenotoksik/antimutajenik/kemopreventif/iyileştirici potansiyelini *in vitro* koşullarda kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi, sitokinez blok mikronükleus sitom (CBMN-Cyt) ve komet testi ile incelemektir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

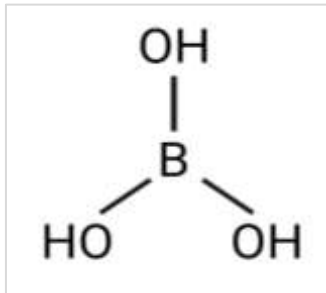
3.1.1. Kromozom incelemesi için materyal

Bu çalışmada, bir bor bileşiği olan borik asitin olası genotoksik etkisi ve genotoksik olduğu bilinen metil metansülfonat, bakır oksit nanopartikülü ve hidrojen peroksitin oluşturduğu genotoksik etkiye karşıya antigenotoksik/iyileştirici/kemopreventif potansiyeli, *in vitro* insan periferel kan lenfositlerinde, kromozomal anormallik, kardeş kromatit değişimi, sitokinez blok mikronükleus ve tek hücre jel elektroforezi/kuyruklu yıldız (komet) testi kullanılarak araştırılmıştır. Periferel kan örnekleri, herhangi bir sağlık problemi olmayan, sigara ve alkol kullanmayan, son 3 aydır herhangi bir toksik ajana maruz kalmayan ve gönüllü olur formunu imzalayan 22-25 yaş aralığındaki 2 kadın donörden temin edilmiştir. Bu araştırma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 19.12.2022 tarihinde, 030 sayılı izin ile onaylanmıştır.

3.1.2. Test materyalleri ve kullanılan diğer kimyasallar

Borik Asit (BA)

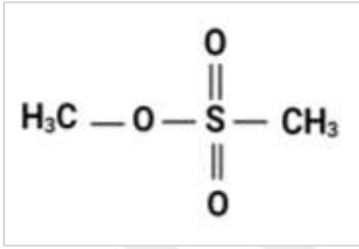
Bu çalışmada test materyali olarak kullanılan borik asit, Eti Maden'den temin edilmiştir. Borik asitin katalog numarası 10043-35-3, molekül ağırlığı 61,83 g/mol, kimyasal formülü H_3BO_3 veya $B(OH)_3$ 'tür. Borik asitin yapısal formülü Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Borik asitin yapısal formülü (BioRender programı ile çizilmiştir)

Metil metansülfonat

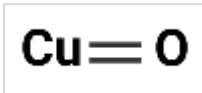
Bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan metil metansülfonat, Sigma Aldrich'ten ticari olarak temin edilmiştir. MMS'in katalog numarası 66-27-3, molekül ağırlığı 110,13 g/mol, kimyasal formülü ise $C_2H_6O_3S$ 'dir. Metil metansülfonatin yapısal formülü Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Metil metansülfonatin yapısal formülü (BioRender programı ile çizilmiştir)

Bakır oksit nanopartikülü

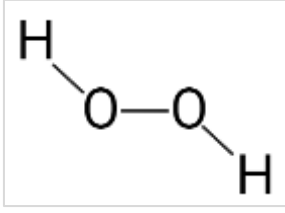
Bu araştırmada pozitif kontrol olarak kullanılan CuO NP'ü, Sigma-Aldrich'ten ticari olarak temin edilmiştir. Katalog numarası 1317-38-0, ürün numarası 544868 olup, partikül boyutu <50 nm'dir. Bakır oksitin yapısal formülü Şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Bakır oksitin yapısal formülü (BioRender programı ile çizilmiştir)

Hidrojen peroksit

H_2O_2 , pozitif kontrol olarak kullanılan son test materyali olup, Applichem'den satın alınmıştır. H_2O_2 'nin katalog numarası 7222-84-1, molekül ağırlığı 34,01 g/mol'dür. Hidrojen peroksitin yapısal formülü Şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4. Hidrojen peroksitin kimyasal formülü (BioRender programı ile çizilmiştir)

Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar

EDTA (Katalog no: 6381-92-6), EtBr (Katalog no: 1239-45-8), DMSO (Katalog no: 67-68-5), Düşük erime ısıllı agar (LMA) (Katalog no: 9012-36-6), Yüksek erime ısıllı agar (NMA) (Katalog no: 9012-36-6), KCl (Katalog no: 7447-40-7), LymphoPlus Medium (Katalog no: CY0100-100), NaOH (Katalog no: 1310-73-2), Tris (Katalog no: 77-86-1) ve Triton X (Katalog no: 9002-93-1) Applichem'den satın alınmıştır. HCl (Katalog no: 7647-01-0) ve Formaldehit (Katalog no: 50-00-0) Carlo Erba'dan; Dulbecco's PBS (Katalog no: H0500-540) ve Lymphocyte Separation Medium (Katalog no: CY0100-100) Cegrogen Biotech'ten; Entellan (Katalog no: 1079610500), Glasial asetik asit (Katalog no: K41799956049), Giemsa (Katalog no: HX947066) ve Metil alkol (Katalog no: 1624608208) Merck'ten satın alınmıştır. Bromodeoksiüridin (Katalog no: 59-14-3), Kolkisin (Katalog no: 64-86-8), NaCl (Katalog no: 7647-14-5) ve Sitokalsin-B (Katalog no: 14930-96-2) Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Çalışmada kullanılan konsantrasyonların belirlenmesi

Borik asitin bu çalışmada kullanılacak konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla bir ön deneme yapılmıştır. Bunun için insan periferel lenfositleri, hem borik asitin 0,0313, 0,0625, 0,125; 0,25; 0,5; 1 ve 2,5 µg/mL olmak üzere 7 farklı konsantrasyonu ile hem tek başına ve hem de borik asit (aynı konsantrasyonlar) + MMS (6,60 µg/mL) ile eş zamanlı olarak 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Deneme için hazırlanan preparatlarda hem mitotik indeks değerleri ve hem de kromozomal anormalliklerin frekansı belirlenmiştir. Elde edilen verilere dayanarak, 2,5 ve 1 µg/mL'lik konsantrasyonların, iyileştirici etki göstermede, daha düşük konsantrasyonlara nazaran, daha zayıf etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.1). Bu nedenle,

bu çalışma için borik asitin 0,0313, 0,0625, 0,125; 0,25 ve 0,5 µg/mL konsantrasyonlarının kullanılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 3.1. Borik asitin tek başına ve MMS ile eş zamanlı uygulamasının ön denemelerinden elde edilen mitotik indeks ve kromozom anormallikleri

Test Maddesi	Süre (saat)	Konsantrasyonlar (µg/mL)	Mitotik İndeks	Anormal hücre sayısı	KA/Hücre sayısı
Kontrol	24	-	101	4	4
P.K (MMS)	24	6,60	49	10	10
		0,0313	61	3	3
		0,0625	63	3	3
		0,125	50	4	4
Borik asit	24	0,25	79	5	5
		0,5	54	9	8
		1	63	7	6
		2,5	62	6	6
		0,0313	60	2	2
		0,0625	55	3	3
		0,125	48	3	3
Borik asit+MMS	24	0,25	64	4	4
		0,5	69	5	5
		1	63	5	5
		2,5	40	6	6
Kontrol	48	-	100	4	4
P.K (MMS)	48	6,60	67	13	13
		0,0313	59	2	2
		0,0625	45	4	4
		0,125	64	6	6
Borik asit	48	0,25	70	5	5
		0,5	116	4	4
		1	71	7	7
		2,5	70	7	7
		0,0313	61	4	4
		0,0625	69	4	3
		0,125	71	6	5
Borik asit+MMS	48	0,25	75	6	6
		0,5	49	7	7
		1	67	11	9
		2,5	52	9	9
P.K: pozitif kontrol					

3.2.2. Test materyallerinin hazırlanması

Araştırmada kullanılan borik asit (BA), distile su içerisinde çözünerek hazırlanmıştır. Bu çalışmada, insan periferik lenfositleri, µg/mL olmak üzere 5 farklı BA konsantrasyon ile muamele edilmiştir. Bu konsantrasyonlar, en yüksek dozun distile su ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır.

Bu araştırma için metil metansülfonat (MMS), bakır oksit nanopartikülü (CuO NP) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) olmak üzere üç farklı pozitif kontrol kullanılmıştır. Kullanılan pozitif kontrollerin konsantrasyonları şu şekildedir; MMS için 6,60 µg/mL; CuO NP'leri için 100 µg/mL ve H₂O₂ için 100 µM.

3.3. Preparatların Hazırlanması

3.3.1. Kültüre alınmış insan lenfositlerindeki çalışmalar

Kromozom anormallikleri ve kardeş kromatit değişimi testi

Kromozom anormallikleri testi, Evans, Kilbey, Legator, Nichols ve Ramel'in (1984: 405, 424) metodunda bazı modifikasyonlarla (Yüzbaşıoğlu, Çelik, Yılmaz, Ünal ve Aksoy, 2006), kardeş kromatit değişimi testi ise Perry ve Wolff'un (1974) metodunda bazı modifikasyonlar (Speit ve Haupter, 1985) yapılarak uygulanmıştır. Bu testlerin uygulanması için, heparinli enjektör ile gönüllü donörlerden alınan periferik kanın 0,2 mL'si steril koşullar altında 2,5 mL'lik besi ortamı (LymphoPlus) bulunan kültür tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra aynı kültür tüplerinin her birine 10 µg/mL BrdU (5-Bromo-2deoksiuridin=Bromodeoksiüridin) ilave edilmiş ve 37°C'deki etüv içerisinde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Bu çalışmada borik asitin olası genotoksik ve antigenotoksik etkilerini belirlemek amacıyla, KA ve KKD testi için, insan lenfositleri aşağıdaki uygulamalara maruz bırakılmıştır:

I. Grup:

BA tek başına: 0,0313; 0,0625; 0,125; 0,25 ve 0,5 µg/mL

II. Grup:

BA+MMS, eş zamanlı [BA (yukarıdaki 5 farklı konsantrasyon) + 6,60 µg/mL MMS]

III. Grup

BA+CuO NP, eş zamanlı BA [(yukarıdaki 5 farklı konsantrasyon) + 100 µg/mL CuO NP]

IV. Grup:

Negatif kontrol (distile su)

V. Grup:

Pozitif kontrol, MMS (6,60 µg/mL)

VI. Grup:

Pozitif kontrol, CuO NP (100 µg/mL)

BA'nın 0,0313; 0,0625; 0,125; 0,25 ve 0,5 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları hem tek başına hem de 6,60 $\mu\text{g/mL}$ 'lik MMS ve 100 $\mu\text{g/mL}$ 'lik CuO NP'leri ile eş zamanlı olarak, inkübasyonun 24. ve 48. saatinde, insan lenfosit kültürlerine ilave edilmiştir. Kültür sonlanmasından 2 saat önce (inkübasyonun 70. saati) 0,06 $\mu\text{g/mL}$ olacak şekilde her bir kültür tüpüne kolkisin eklenmiştir. İnkübasyon süresinin bitimi ile tüpler etüvden alınıp, 1 100 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Takiben tüplerin üst kısmında bulunan süpernatant atılmış ve tüplerin dip kısmında kalan hücrelere 5 mL 0,075 M KCL hipotonik çözelti ilave edilmiştir. Tüpler 37°C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra, 1 100 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip, süpernatant atılmıştır. Ardından hücreler soğuk 3:1 metanol:asetik asit ile 3 kez tespit edilmiştir. Bu aşamadan sonra tüpler tekrar santrifüj edilmiş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Tüplerin dibinde kalan beyaz kan hücreleri, pastör pipeti ile önceden temizlenen lamalar üzerine yayılmıştır. Hazırlanan preparatlar, 1 gün boyunca oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

Sitokinez blok mikronükleus sitom testi

Sitokinez blok mikronükleus sitom testi, Fenech'in (2007) metodunda bazı modifikasyonlar (Yüzbaşıoğlu ve Avuloğlu-Yılmaz, 2022: 219, 249) yapılarak uygulanmıştır. CBMN-Cyt testi için de 3 deney grubu oluşturularak lenfositlere uygulama yapılmıştır. Bu gruplar aşağıda verilmiştir.

I. Grup:

BA tek başına: 0,0313; 0,0625; 0,125; 0,25 ve 0,5 $\mu\text{g/mL}$

II. Grup:

BA+MMS, eş zamanlı [BA (yukarıdaki 5 farklı konsantrasyon) + 6,60 $\mu\text{g/mL}$ MMS]

III. Grup

BA+CuO NP, eş zamanlı BA [(yukarıdaki 5 farklı konsantrasyon) + 100 $\mu\text{g/mL}$ CuO NP]

IV. Grup:

Negatif kontrol (distile su)

V. Grup:

Pozitif kontrol, MMS (6,60 $\mu\text{g/mL}$)

VI. Grup:

Pozitif kontrol, CuO NP (100 $\mu\text{g/mL}$)

Gönüllü donörlerden heparinli enjektörle elde edilen periferik kan, steril koşullarda 2,5 mL besi ortamı bulunan (LymphoPlus) kültür tüplerine 0,2 mL olacak şekilde eklenmiş ve tüpler 37°C'lik etüv içerisinde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kültürün 24. saatinde her bir tüpe, I.-VI. deney grubunda belirtilen kimyasal maddeler ilave edilmiştir. İnkübasyonun 44. saatinde sitokinezi bloke etmek için 5,2 µg/mL sitokalsin-B eklenmiştir. Kültür 72. saatte sonlandırıldıktan sonra, tüpler 1 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve ardından süpernatant uzaklaştırılmıştır. Tüplerin dip kısmında bulunan hücre süspansiyonuna 5 mL 0,075 M KCL hipotonik çözelti eklenmiştir. Takiben tüpler 1 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip, süpernatant atılmıştır. Hücreler soğuk 3:1 metanol:asetik asit çözeltisi ile 3 kez tespit işleminden geçirilmiştir. Son tespit işlemine %1'lik formaldehit eklenmiştir. Tüpler tekrar 1.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip, süpernatant uzaklaştırılmıştır. Tüplerin dip kısmında kalan hücre süspansiyonu temiz lamlara yayılmıştır. Hazırlanan preparatlar, oda sıcaklığında 1 gün kurumaya bırakılmıştır.

Preparatların boyanması

Kromozom anormallikleri, mitotik indeks ve mikronükleus oluşumlarını tespit etmek için preparatlar, Sorensen tamponu ile hazırlanmış %5'lik Giemsa (pH 6,8) ile boyanmıştır. Kardeş kromatit değişimi ve replikasyon indeksini belirlemek için preparatlar Speit ve Haupter'in (1985) metodunda bazı değişiklikler yapılarak, Floresan+Giemsa metoduna göre boyanmıştır. Bu metotta, preparatlar Sorensen tamponu (pH 6,8) ile kaplanmış ve 13 dakika boyunca, 254 nm dalga boyunda ışınlanmıştır. Takiben preparatlar, 1xSSC'de (sodyum salin sitrat-60°C) 1 saat inkübe edilmiştir. Preparatlar %5'lik Giemsa ile boyandıktan sonra, oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Entellan ile daimî hale getirilen preparatlar, kurutulduktan sonra mikroskopik incelenmeye alınmıştır.

Kromozom anormallikleri ve mitotik indeksin belirlenmesi

Kromozom anormalliklerinin belirlenmesi amacıyla, her bir uygulama grubu için, preparatlarda, kromozomları iyi dağılmış toplam 200 (2 kadın donörün her birinden 100'er) metafaz hücresi incelenmiştir. Bütün uygulama ve kontrol grupları için anormal hücre frekansı ve hücre başına düşen kromozom anormalliği (KA/Hücre) belirlenmiştir. Mitotik indeksi (Mİ) belirlemek için, her bir uygulama ve kontrol grubuna ait toplam 2 000 (2 kadın donörün her birinden 1 000'er) hücre incelenmiştir. Bölünen hücre sayısının toplam hücre

sayısına yüzde cinsinden oranı ile Mİ tespit edilmiştir. KA ve Mİ için incelemeler Olympus CX23 mikroskobunda gerçekleştirilmiştir. KA incelemesi X 1000 büyütmede, Mİ incelemesi X100 büyütmede gerçekleştirilmiştir. Gözlenen kromozom anormalliklerine ait örnekler, Leica DM LB2 mikroskobuna bağlı Leica MC170 HD kamera ile Leica V4.7 yazılımı kullanılarak fotoğraflanmıştır.

Kardeş kromatit değişimi ve replikasyon indeksinin belirlenmesi

Kardeş kromatit değişimlerinin belirlenmesi için her bir uygulama ve kontrol grubunda, kromozomları iyi dağılmış ve ikinci mitoz bölünme geçiren toplam 50 (2 kadın donörün her birinden 25) hücre incelenmiştir. Kültür ortamına BrdU eklenmesinden dolayı, kromozomun bir kromatiti koyu renkte, diğer kromatiti BrdU içerdiği için daha açık renkte boyanmıştır. Böylece kardeş kromatitler arasındaki parça değişimi ayırt edilebilmiş ve değerlendirilmiştir. Kardeş kromatit değişimleri, Olympus CX23 mikroskobu ile X 1000 büyütmede incelenmiştir. KKD'ler, Leica DM LB2 mikroskobuna bağlı Leica MC170 HD kamera ile Leica V4.7 yazılımı kullanılarak fotoğraflanmıştır. Replikasyon indeksi için her bir uygulama ve kontrol grubunda toplam 200 (2 kadın donörün her birinden 100) hücre değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme için $(RI) = [1x(M1) + 2x(M2) + 3x(M3)] / N$ formülü kullanılmıştır. Bu formülde M1: birinci, M2: ikinci ve M3: üçüncü mitoz bölünme evresindeki hücreleri, N: incelenen toplam hücre sayısını temsil etmektedir.

Sitokinez blok mikronükleus sitom ve proliferasyon indeksinin belirlenmesi

Mikronükleus frekansının belirlenmesinde, çekirdek bölünmesini tamamlamış ancak sitoplazmik bölünme gerçekleştiremeyen çift çekirdekli (binükleat) hücreler değerlendirilmiştir. Her bir uygulama ve kontrol grubunda toplam 2 000 (2 kadın donörün her birinden 1 000) binükleat hücre incelenmiştir. Mikronükleus taşıyan hücreler sayılmış ve binükleat hücrelerin taşıdıkları mikronükleus sayısına göre, $[1x(1MN) + 2x(2MN) + 3x(3MN) + 4x(4MN)] / N$ (N=incelenen toplam hücre sayısı) formülü ile hücre başına düşen MN sayısı (MN/hücre) değerlendirilmiştir. Bu formülde 1MN: bir mikronükleuslu binükleat hücreleri, 2MN: iki mikronükleuslu binükleat hücreleri, 3MN: üç mikronükleuslu binükleat hücreleri, 4MN: dört mikronükleuslu binükleat hücreleri ve N: incelenen toplam hücre sayısını ifade etmektedir. Ek olarak, nükleer tomurcuk (NT) ve nükleoplazmik köprü (NPK) tipindeki anormallikler de tespit edilmiştir. Proliferasyon

indeksi (Pİ) için, her bir uygulama ve kontrol grubunda toplam 1 000 (2 kadın donörün her birinden 500) hücre incelenmiştir. Bu indeks için, $Pİ = [1x(1N) + (2x(2N) + 3x(3N + 4N))] / N$ formülü kullanılmıştır. Bu formülde 1N: bir çekirdekli hücreleri, 2N: iki çekirdekli hücreleri, 3N: üç çekirdekli hücreleri, 4N: dört çekirdekli hücreleri ve N: incelenen toplam hücre sayısını temsil etmektedir. MN sitom ve Pİ için Olympus CX23 mikroskopunda X400 büyütmede inceleme yapılmıştır. Gözlenen MN, NT ve NPK'lerin görüntüleri, Leica DM LB2 mikroskopuna bağlı Leica MC170 HD kamera ile Leica V4.7 bilgisayar yazılımı kullanılarak elde edilmiştir.

3.3.2. İzole edilmiş insan lenfositlerindeki çalışmalar

Tek hücre jel elektroforezi/kuyruklu yıldız (Komet) testi

Komet testi, Singh ve diğerlerinin (1988) metodunda bazı modifikasyonlar yapılarak (Ünal, Saygılı ve Akbaş, 2022: 313, 340) gerçekleştirilmiştir. Komet testi için, izole edilmiş lenfositlerde aşağıda detayları verilen deney grupları oluşturulmuştur.

I. Grup:

BA tek başına: 0,0313; 0,0625; 0,125; 0,25 ve 0,5 µg/mL

II. Grup:

BA+ H₂O₂, eş zamanlı [BA (yukarıdaki 5 farklı konsantrasyon) + 100 µM H₂O₂]

III. Grup

BA+CuO NP, eş zamanlı [BA (yukarıdaki 5 farklı konsantrasyon) + 100 µg/mL CuO NP]

IV. Grup:

Negatif kontrol (distile su)

V. Grup:

Pozitif kontrol, H₂O₂ (100 µM)

VI. Grup:

Pozitif kontrol, CuO NP (100 µg/mL)

Gönüllü donörlerden heparinli enjektörle alınan periferik kanın 100 µL'si, 1 000 µL fosfat tamponu (PBS) bulunan ependorflara ilave edilerek buz üzerinde 10 dakika bekletilmiştir. Tüplere 100 µL Lymphocyte Separation Medium eklenmiş ve 1 060 rpm'de 3 dakika santrifüj edildikten sonra, bulutsu katmandan 100 µL alınmıştır. İzole edilen lenfositler,

yukarıda özetlenen deney protokolüne uygun şekilde, 37°C'lik etüvde 1 saat muamele edilmiştir. Takiben tüpler 3 000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip, süpernatant atıldıktan sonra, 100 µL PBS ilave edilmiştir. Daha sonra hücre süspansiyonu düşük erime ısıları agar ile karıştırılmış ve normal erime ısıları agar ile kaplanmış lamlara yayılıp, lamel ile kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar 20-25 dakika buzdolabında bekletildikten sonra, lysing solüsyonu içerisinde (30 mL DMSO+3 mL Triton-X) buzdolabında 1 saat bekletilmiştir. Lamalar daha sonra, elektroforez tamponunda (10 M NaOH+0,2 M EDTA, pH>13) 20 dakika bekletilmiş ve ardından 25V (volt), 300 mA (miliamper)'da 20 dakika elektroforez uygulanmıştır. Preparatlar 3 kez nötralizasyon (0,4 M Tris, pH=7,5) işleminden geçirildikten sonra, lenfositler, 50 µL etidyum bromür (EtBr) damlatılarak boyanmıştır. Boyanan lenfositler (nükleoidler), Olympus BX51 floresan mikroskopunda uyarma filtresi (546 nm) ve bariyer filtresi (590 nm) kullanılarak X400 büyütmede incelenmiş ve Comet Assay IV, Perceptive Instruments Ltd., UK programı ile analiz edilmiştir. Oluşan DNA hasarları, kuyruk uzunluğu (µm), % kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti cinsinden değerlendirilmiştir. Her bir uygulama ve kontrol grubunda toplam 200 hücre (2 kadın donör, her donörden 2 preparat x 50 hücre=100 hücre) değerlendirilmiştir. Oluşan DNA hasarlarının görüntüleri de aynı mikroskopta, Basler Vision kamera kullanılarak elde edilmiştir.

İyileştirme düzeyinin belirlenmesi

Bu tez çalışmasında, BA'nın MMS, CuO NP'leri ve H₂O₂'nin neden olduğu genetik hasara karşı iyileştirme yüzdesi, Eşitlik 3.1'de belirtilen formül ile hesaplanmıştır.

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

İstatiksel analizler

Bu çalışmada kullanılan BA'nın her bir uygulama gruplarının yanı sıra, BA+MMS, BA+CuO NP ve BA+H₂O₂ uygulama gruplarından elde edilen anormallik düzeylerinin kontrol grupları ile karşılaştırılması için SPSS 22.0 bilgisayar programı kullanılmıştır. Kontrol gruplarına kıyasla anlamlı değişiklikler gözlenen uygulama grupları için doz-yanıt ilişkisini saptamak amacıyla bu yazılım programı ile regresyon analizi gerçekleştirilmiştir.

Uygulama ve kontrol gruplarındaki anormal hücre frekansı, hücre başına düşen kromozom anormalliği, mitotik indeks, replikasyon indeksi, sitokinez blok mikronükleus sitom ve proliferasyon indeksini karşılaştırmak için z-testi, kardeş kromatit değişimi ve komet testi için One-Way ANOVA testi kullanılmıştır.





4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Kromozom Anormallikleri Bulguları

Bu çalışmada, Borik asitin (BA) beş farklı konsantrasyonunun (0,0313; 0,0625; 0,125; 0,250 ve 0,500 µg/mL) tek başına ve ayrıca aynı konsantrasyondaki BA'nın Metil metansulfonat (BA + MMS) ve Bakır oksit nanopartikülleri (BA+ CuO NP) ile eş zamanlı şekilde, insan lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik uygulamasının kromozom anormallikleri üzerindeki etkileri Çizelge 4.1 ve 4.2'de özetlenmiştir.

4.1.1. 24 saatlik muamele

İnsan periferik lenfositlerinde, BA'nın tek başına 24 saatlik muamelesinde, 0,0313-0,25'lik konsantrasyonları, anormal hücre frekansında anlamlı bir artış oluşturmamıştır (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1). Tam tersine, en düşük üç konsantrasyonda (0,0313, 0,0625 ve 0,125 µg/mL) oluşan anormal hücre frekansı, negatif kontrolden de daha düşük düzeydedir. BA'nın sadece en yüksek konsantrasyonu (0,5 µg/mL) anormal hücre frekansında anlamlı bir artışa sebep olmuştur. Genel olarak, BA konsantrasyonundaki artış ile anormal hücre frekansındaki artış arasında güçlü ve pozitif yönde bir korelasyon belirlenmiştir ($r=0,70$). Aynı uygulama konsantrasyonlarında, KA/Hücre düzeyinde, negatif kontrole kıyasla anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Burada da en düşük üç konsantrasyondaki (0,0313, 0,0625, 0,125 µg/mL) KA/Hücre düzeyinin, negatif kontrolden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Borik asitin tek başına 24 saatlik muamelesi sonucunda, kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve kromatit değişimi olmak üzere beş farklı yapısal kromozom anormalliği ve poliploidi şeklinde sayısal kromozom anormalliği gözlenmiştir (Resim 4.1). Kardeş kromatitlerde birleşme, en sık gözlenen yapısal kromozom anormalliğidir. Diğer yapısal anormalliklerin gözlenme sıklığı sırasıyla kromatit kırığı, fragment, kromatit değişimi ve kromozom kırığı şeklindedir.

Pozitif kontrol olarak kullanılan MMS hem anormal hücre frekansını ve hem de KA/Hücre düzeyini, kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttırmıştır (Çizelge 4.1). Diğer yandan, BA+MMS'nin insan lenfositlerinde eş zamanlı muamelesi, MMS'nin tek başına uygulamasına kıyasla, anormal hücre frekansını, tüm konsantrasyonlarda anlamlı düzeyde azaltmıştır. Burada, BA'nın konsantrasyon artışı ile anormal hücre frekansındaki azalış

arasında pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir ($r=-0,35$) (Şekil 4.1). BA+MMS eş zamanlı muamelesi, KA/Hücre oranında da tüm konsantrasyonlarda ($0,5 \mu\text{g/mL}$ hariç), pozitif kontrole (MMS) kıyasla anlamlı bir azalma meydana getirmiştir. Burada, konsantrasyona bağlı zayıf bir korelasyon gözlenmiştir ($r=-0,31$) (Şekil 4.2). MMS insan lenfositlerinde, kromatid kırığı, kromozom kırığı, fragment ve kardeş kromatitlerde birleşme olmak üzere dört farklı yapısal kromozom anormalliği oluşturmuştur. Ayrıca sayısal anormallik olan poliploidi de oluşturmuştur. BA+MMS eş zamanlı uygulaması sonucunda da, kromatit ve kromozom kırığı, fragment ve kardeş kromatitlerde birleşme (yapısal anormallik) ve poliploidi (sayısal anormallik) tipinde anormallikler oluşmuştur (Resim 4.1). MMS tek başına en sık kromatid kırığı oluştururken, BA+MMS'nin eş zamanlı uygulaması en sık kardeş kromatitlerde birleşmeye sebep olmuştur. Diğer anormalliklerin sıklığı, MMS'de kardeş kromatitlerde birleşme, kromozom kırığı ve fragment şeklinde sıralanırken, BA+MMS eş zamanlı uygulamasında, sırasıyla kromatit kırığı, fragment ve kromozom kırığı şeklindedir.

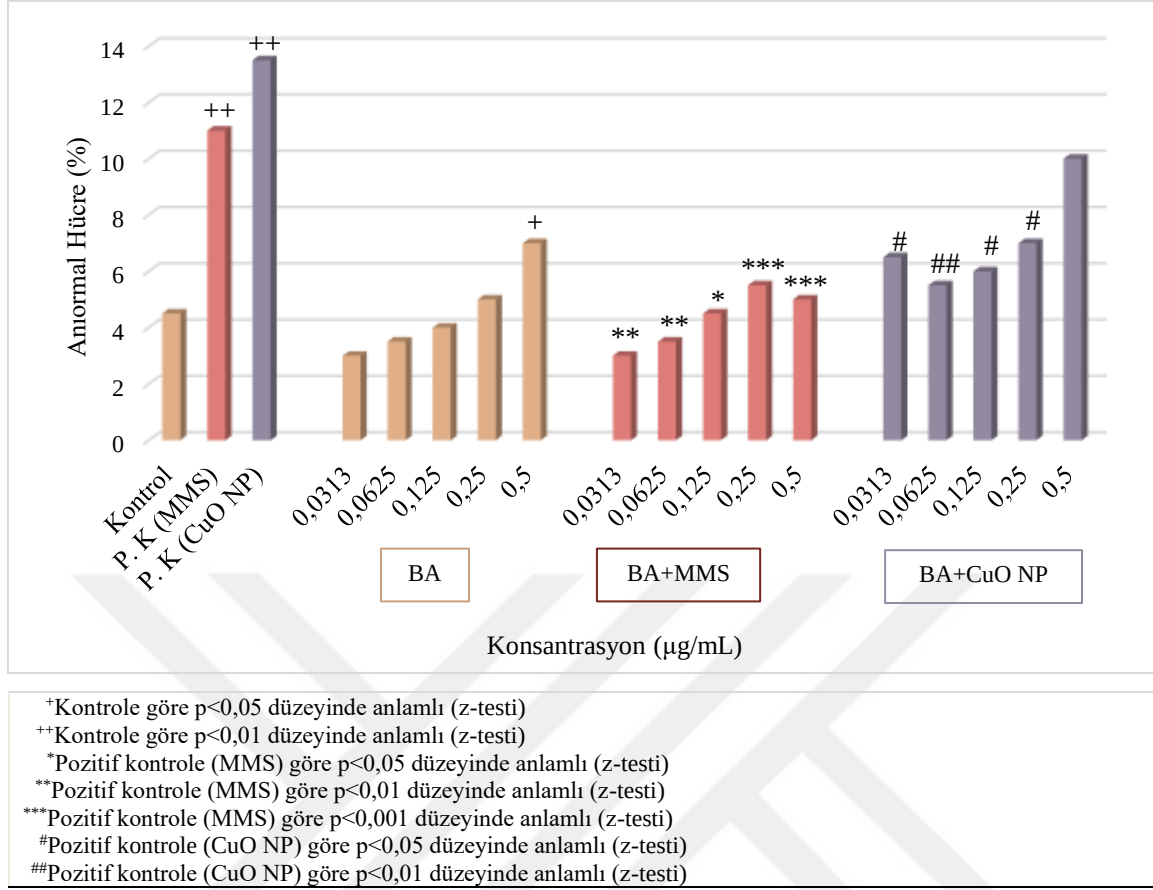
Bu çalışmada, ikinci bir pozitif kontrol olarak kullanılan CuO NP'leri, anormal hücre frekansı ve KA/Hücre oranını, kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttırmıştır (Çizelge 4.1). CuO NP'leri, lenfositlerde, yapısal anormallik olarak kromatid ve kromozom kırığı, fragment ve kardeş kromatitlerde birleşmeye sebep olmuştur. Ayrıca, poliploidi tipinde sayısal anormallik oluşturmuştur. CuO NP'leri ile eş zamanlı uygulandığında, BA'nın tüm konsantrasyonları hem anormal hücre yüzdesini ve hem de hücre başına düşen anormallik sayısını, pozitif kontrole (CuO NP) kıyasla anlamlı düzeyde azaltmıştır ($0,5 \mu\text{g/mL}$ hariç). Bu azalmalar, zayıf korelasyon göstermiştir (Anormal hücre frekansı için $r=-0,25$; KA/Hücre için $r=-0,23$) (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). BA+CuO NP'nin eş zamanlı muamelesi lenfositlerde kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment ve kardeş kromatitlerde birleşme olmak üzere dört farklı yapısal kromozom anormalliği oluşturmuştur. Sayısal kromozom anormalliği olarak sadece poliploidi gözlenmiştir (Resim 4.1). Yapısal anormalliklerin sıklığı sırasıyla fragment, kardeş kromatitlerde birleşme, kromatit kırığı ve kromozom kırığı şeklindedir.

Çalışma sonuçlarına göre, borik asitin hem MMS'ye ve hem de CuO NP'lerin oluşturduğu anormal hücre frekansına karşı iyileştirici özellik gösterdiği belirlenmiştir. BA'nın MMS ile eş zamanlı muamelesinde en düşük konsantrasyon olan $0,0313 \mu\text{g/mL}$ 'de %123,07 düzeyinde iyileştirme göstererek en etkili konsantrasyon olduğu tespit edilmiştir. Diğer konsantrasyonlar için iyileştirme yüzdeleri ise sırasıyla %115,38 ($0,0625 \mu\text{g/mL}$), %100

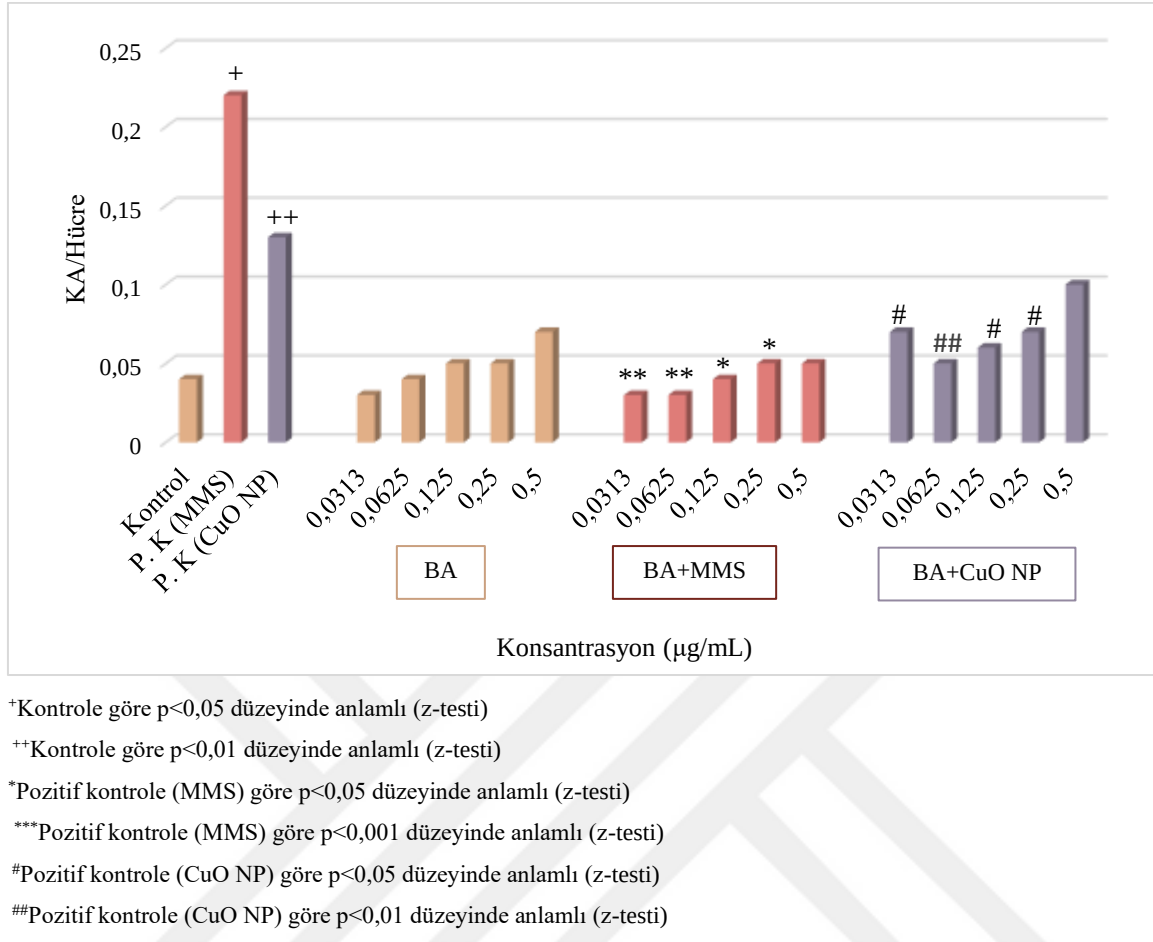
(0,125 µg/mL), %84,61 (0,25 ve 0,5 µg/mL) düzeyindedir. BA+CuO NP'leri için de en yüksek iyileştirme düzeyi 0,0625 µg/mL'de olup kromozomal hasarı %88,88 düzeyine kadar iyileştirilmiştir. Benzer şekilde 0,125 µg/mL'lik konsantrasyonda iyileştirme yüzdesinin %88,83 düzeyinde olduğu saptanmıştır. Diğer konsantrasyonların iyileştirme yüzdeleri sırasıyla %72,22 (0,0313 µg/mL), %66,66 (0,25 µg/mL) ve %38,88 (0,5 µg/mL) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Hücre başına düşen anormallik sayısı açısından BA, MMS'ye karşı sırası ile %127,77 (0,0313 µg/mL), %118,18 (0,0625 µg/mL), %100 (0,125 µg/mL), %81,81 (0,25 µg/mL) ve %90,90 (0,5 µg/mL) düzeyinde iyileştirme sağlarken, CuO NP'lerine karşı %77,77 (0,0313 µg/mL), %88,88 (0,0625 µg/mL), %83,33 (0,125 µg/mL), %72,22 (0,25 µg/mL) ve %38,88 (0,5 µg/mL) düzeyinde iyileştirme sağlamıştır (Çizelge 4.1).

46



Şekil 4.1. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'lerinin 24 saatlik muamelesinin anormal hücre frekansı üzerine etkisi



Şekil 4.2. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin KA/Hücre oranına etkisi

4.1.2. 48 saatlik muamele

BA'nın tek başına 48 saatlik uygulamasında, kullanılan konsantrasyonlardan hiç biri, anormal hücre frekansı ve KA/Hücre oranında, negatif kontrole kıyasla anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Çizelge 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). BA'nın 0,125 µg/mL dışındaki diğer tüm konsantrasyonlarında, oluşan anormalliklerin düzeyi, kontrolden de daha düşüktür. BA muamelesi sonucunda lenfositlerde kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve halka kromozom olmak üzere toplam beş farklı yapısal kromozom anormalliği ve poliploidi şeklinde sayısal kromozom anormalliği oluşmuştur (Resim 4.1). Yapısal kromozom anormalliklerinin oluşma sıklığı sırasıyla kardeş kromatitlerde birleşme, fragment, kromatit kırığı ve kromozom kırığıdır.

Bir alkilleyici ajan olan ve pozitif kontrol olarak kullanılan MMS hem anormal hücre frekansını hem de KA/Hücre oranını negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde arttırmıştır (Çizelge 4.2). Bunun tersine, BA+MMS'nin eş zamanlı uygulaması, anormal hücre frekansını ve KA/Hücre oranını, tüm konsantrasyonlarda (KA/Hücre için 0,5 µg/mL hariç) pozitif kontrole (MMS) kıyasla anlamlı olarak azaltmıştır. Bu azalmalar zayıf yönde korelasyon sergilemiştir (Anormal hücre frekansı için $r=-0,35$; KA/Hücre için $r=-0,38$) (Şekil 4.3, Şekil 4.4). BA+MMS'nin eş zamanlı uygulaması sonucunda, lenfositlerde kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve halka kromozom olmak üzere beş farklı yapısal kromozom anormalliği ve poliploidi şeklinde de sayısal anormallik gözlenmiştir.

Metal oksit nanopartiküllerinden olan ve pozitif kontrol olarak kullanılan CuO NP'leri, anormal hücre frekansını ve KA/Hücre oranını negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde arttırmıştır (Çizelge 4.2). CuO NP'leri, insan lenfositlerinde 5 farklı yapısal (kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve disentrik kromozom) ve tek tip sayısal (poliploid) kromozom anormalliği oluşturmuştur. BA+CuO NP'lerinin 48 saatlik muamelesi, anormal hücre frekansını ve KA/Hücre oranını tüm konsantrasyonlarda (KA/Hücre için 0,5 µg/mL hariç) pozitif kontrole (CuO NP) kıyasla anlamlı düzeyde azaltmıştır. Buradaki azalmalar, negatif yönde orta düzeyde bir korelasyon göstermiştir (Anormal hücre için $r=-0,51$; KA/Hücre için $r=-0,50$) (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). BA+CuO NP'lerinin eş zamanlı 48 saatlik muamelesi sonucunda lenfositlerde kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve disentrik kromozom şeklinde yapısal anormallikler ve poliploidi şeklinde sayısal kromozom anormalliği gözlenmiştir (Resim 4.1). Yapısal anormalliklerden en sık gözleneni fragment olup, bu anormalliği sırasıyla kromatit kırığı, kardeş kromatitlerde birleşme, kromozom kırığı ve disentrik kromozom takip etmektedir.

Borik asitin hem MMS'ye ve hem de CuO NP'lerin oluşturduğu anormal hücre frekansına karşı iyileştirici özellik göstermiştir. BA+MMS için en düşük iki konsantrasyon olan 0,0313 ve 0,0625 µg/mL'de %111,11 düzeyine kadar yüksek düzeyde iyileştirme gösterirken, diğer konsantrasyonlar da %88,88 (0,125 ve 0,25 µg/mL) ve %72,22 düzeyinde iyileştirme gerçekleştirmiştir. Diğer yandan, BA+CuO NP'leri ise en yüksek iyileştirme düzeylerini 0,0625 ve 0,125 µg/mL'lik konsantrasyonlarda (%88) göstermiştir. Buna ilaveten,

iyileştirme düzeylerini sırası ile 0,0313 ve 0,125 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlar (%80) ve 0,5 $\mu\text{g/mL}$ 'lik (%64) konsantrasyon takip etmektedir (Çizelge 4.2).

Hücre başına düşen anormallik sayısını iyileştirme düzeyleri, BA+MMS için sırası ile %112,50 (0,0313 $\mu\text{g/mL}$), %118,75 (0,0625 $\mu\text{g/mL}$), %93,75 (0,125 $\mu\text{g/mL}$), %87,50 (0,25 $\mu\text{g/mL}$) ve %68,75 (0,5 $\mu\text{g/mL}$) düzeyinde olduğu belirlenmiştir. BA+CuO NP'leri için ise iyileştirme düzeyleri sırası ile %79,16 (0,0313 $\mu\text{g/mL}$), %90 (0,0625 $\mu\text{g/mL}$), %90 (0,125 $\mu\text{g/mL}$), %79,16 (0,25 $\mu\text{g/mL}$) ve %64 (0,5 $\mu\text{g/mL}$) düzeyindedir (Çizelge 4.2).

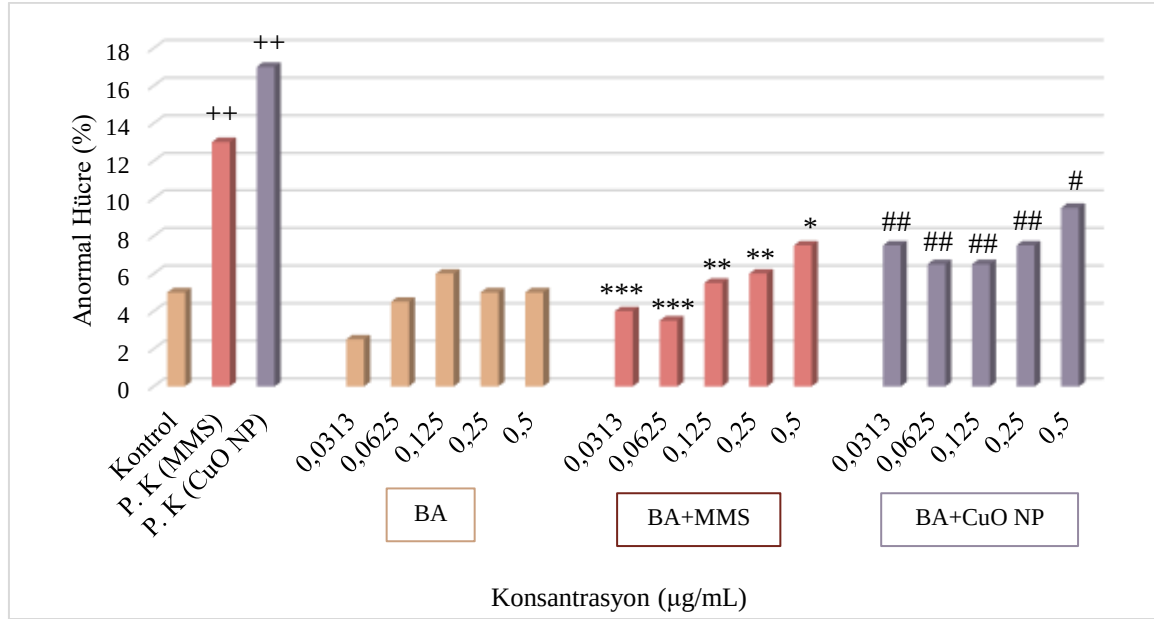


Çizelge 4.2. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin kromozom anormallikleri üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Anormallikler							Anormal Hücre ± SH (%)	% İyileştirme	KA/Hücre± SH	% İyileştirme
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	ktk	kzk	f	kbb	ds	h	p				
Kontrol	48	0,00	4	-	1	4	-	-	1	5,00 ± 1,54	-	0,050 ± 0,015	-
P. K (MMS)	48	6,60	11	2	6	7	-	-	2	14,0 ± 2,45 ⁺⁺	-	0,130 ± 0,013 ⁺⁺⁺	-
P. K (CuO NP)	48	100	11	6	8	6	1	-	3	17,5 ± 2,68 ⁺⁺	-	0,170 ± 0,026 ⁺⁺⁺	-
BA	48	0,0313	-	1	4	-	-	-	1	3,00 ± 1,20	-	0,025 ± 0,011	-
	48	0,0625	3	-	3	4	-	-	-	5,00 ± 1,54	-	0,045 ± 0,014	-
	48	0,125	2	-	5	5	-	-	-	6,00 ± 1,67	-	0,060 ± 0,016	-
	48	0,25	-	-	1	7	-	-	2	5,00 ± 1,54	-	0,050 ± 0,015	-
	48	0,5	-	-	3	4	-	1	2	5,00 ± 1,54	-	0,050 ± 0,015	-
BA+MMS	48	0,0313	5	-	-	2	-	-	1	4,00 ± 1,38 ^{***}	111,11	0,040 ± 0,013 ^{***}	112,50
	48	0,0625	4	-	4	-	-	-	-	4,00 ± 1,38 ^{***}	111,11	0,035 ± 0,012 ^{***}	118,75
	48	0,125	5	1	2	3	-	-	1	6,00 ± 1,67 ^{**}	88,88	0,055 ± 0,016 ^{**}	93,75
	48	0,25	5	-	-	6	-	-	1	6,00 ± 1,67 ^{**}	88,88	0,060 ± 0,016 [*]	87,5
	48	0,5	8	-	4	1	-	1	1	7,50 ± 1,86 [*]	72,22	0,075 ± 0,018	68,75
BA+CuO NP	48	0,0313	3	1	9	4	-	-	1	7,50±1,86 ^{##}	80	0,075 ± 0,018 ^{##}	79,16
	48	0,0625	6	-	1	4	1	-	2	6,50±1,74 ^{##}	88	0,062 ± 0,017 ^{##}	90
	48	0,125	4	1	7	2	-	-	-	6,50±1,74 ^{##}	88	0,062 ± 0,017 ^{##}	90
	48	0,25	4	-	4	4	-	-	3	7,50±1,86 ^{##}	80	0,075 ± 0,018 ^{###}	79,16
	48	0,5	5	2	7	5	-	-	1	9,50±2,07 [#]	64	0,095 ± 0,020	64

P. K: pozitif kontrol, BA: borik asit, MMS: metil metansülfonat, CuO NP: bakır oksit nanopartikülü, KA: kromozom anormallik ktk: kromatit kırığı, kzk: kromozom kırığı, f: fragment, kbb: kardeş kromatitlerde birleşme, ds: disentrik kromozom, h: halka kromozom, p: poliploidi, P. K: pozitif kontrol, SH: standart hata

⁺⁺Kontrolle göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z-testi)
⁺⁺⁺Kontrolle göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z-testi)
^{*}Pozitif kontrole (MMS) göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z-testi)
^{**}Pozitif kontrole (MMS) göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z-testi)
^{***}Pozitif kontrole (MMS) göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z-testi)
[#]Pozitif kontrole (CuO NP) göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z-testi)
^{##}Pozitif kontrole (CuO NP) göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z-testi)
^{###}Pozitif kontrole (CuO NP) göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z-testi)



++Kontrolle göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

*Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

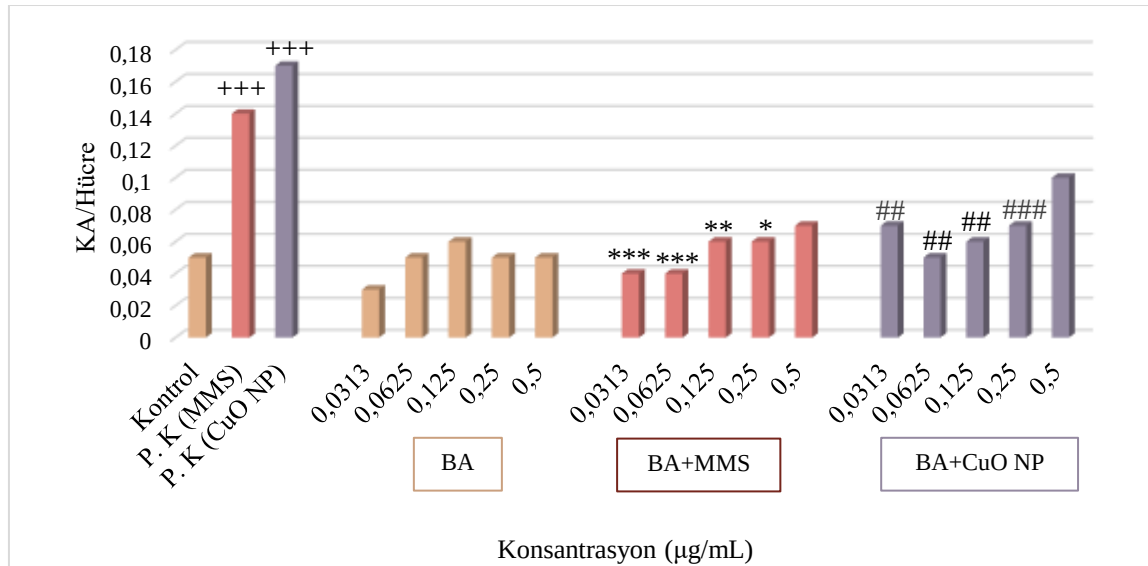
**Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

***Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

#Pozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

##Pozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

Şekil 4.3. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin anormal hücre frekansı üzerine etkisi



+++Kontrolle göre $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

*Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

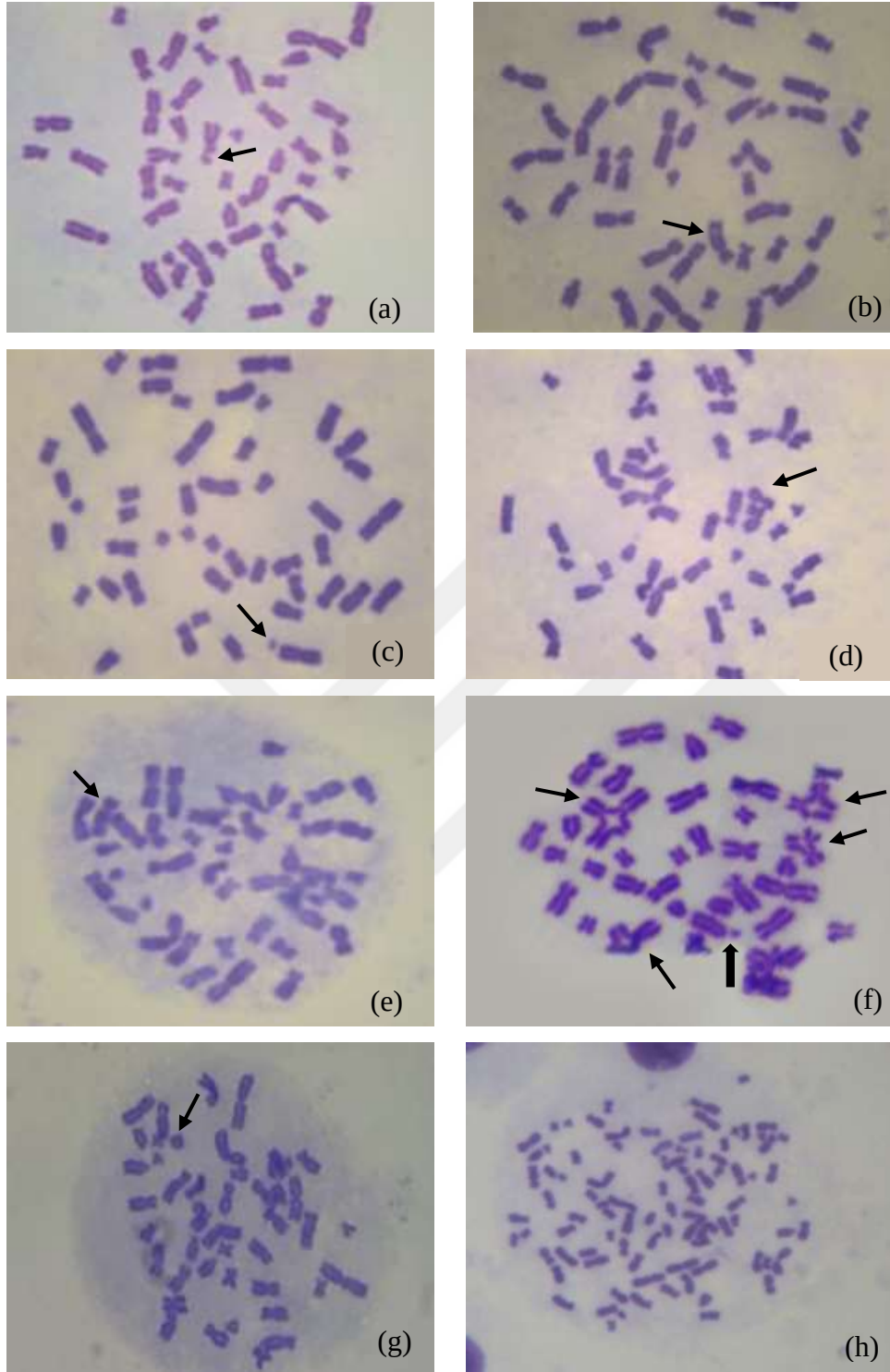
**Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

***Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

##Pozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

###Pozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

Şekil 4.4. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin KA/Hücre oranına etkisi



Resim 4.1. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP muamelesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu kromozom anormallikleri. (a) kromatit kırığı, (b) kromozom kırığı, (c) fragment, (d) kardeş kromatitlerde birleşme, (e) disentrik kromozom, (f) kromatit değişimleri (ince ok) ve fragment (kalın ok), (g) halka kromozom, (h) poliploidi

4.2. Kardeş Kromatit Değişimi, Mitotik İndeks ve Replikasyon İndeksi Bulguları

BA'nın 5 farklı konsantrasyonu (0,0313; 0,0625; 0,125; 0,250 ve 0,500 $\mu\text{g/mL}$) hem tek başına hem de MMS (6,60 $\mu\text{g/mL}$) (BA+MMS) ve CuO NP'leri (100 $\mu\text{g/mL}$) (BA+CuO NP) ile eş zamanlı şekilde insan lenfositlerine 24 ve 48 saat muamele edilerek, kardeş kromatit değişimi, mitotik indeks ve replikasyon indeksi üzerindeki etkileri incelenmiştir.

4.2.1. 24 saatlik muamele

BA muamelesi, 0,0313-0,250 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda, KKD/Hücre sayısında, negatif kontrole kıyasla anlamlı bir artış oluşturmadığı gibi, en düşük iki konsantrasyonda (0,0313 ve 0,0625 $\mu\text{g/mL}$) KKD oranının, negatif kontrolden de daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ancak, BA, en yüksek konsantrasyonda (0,5 $\mu\text{g/mL}$), negatif kontrole kıyasla KKD/Hücre düzeyinde anlamlı bir artış meydana getirmiştir. KKD düzeyindeki artış, doz artışı ile güçlü bir korelasyon göstermiştir ($r=0,77$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5). BA muamelesi, lenfositlerde, hücre başına, 1-20 (minimum-maksimum) arasında KKD oluşturmuştur (Resim 4.2).

Pozitif kontrol olan MMS, kontrol grubuna kıyasla KKD düzeyini anlamlı bir şekilde artırmıştır. MMS, lenfositlerde 4-21 arasında KKD oluşumuna sebep olmuştur. Diğer yandan, BA+MMS'nin eş zamanlı muamelesinde, 1-24 arasında KKD oluştuğu belirlenmiştir (Resim 4.2). Ancak, BA+MMS uygulaması, pozitif kontrolün tek başına (MMS) uygulamasına kıyasla, KKD/Hücre düzeyinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Bu uygulamalarda, BA'nın üç düşük konsantrasyonu (0,0313, 0,0625 ve 0,125 $\mu\text{g/mL}$) ile yapılan eş muamelede, KKD/Hücre sayısı, pozitif kontrole kıyasla bir miktar azalırken, iki yüksek konsantrasyon (0,250 ve 0,5 $\mu\text{g/mL}$) ile yapılan eş muamelede ise, pozitif kontrole kıyasla bir miktar yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5).

Pozitif kontrol olarak kullanılan CuO NP'leri de insan lenfositlerinde, kontrol grubuna kıyasla, KKD/Hücre sayısını anlamlı şekilde artırmıştır. CuO NP'leri, lenfositlerde 4-24 arasında KKD/Hücre meydana getirmiştir (Resim 4.2). BA+CuO NP'lerinin eş zamanlı uygulamasında, 0,0313-0,250 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda KKD/Hücre sayısı, CuO NP'lerinin tek başına uygulamasına kıyasla bir düşüş göstermiştir. Ancak bu düşüşler sadece en düşük 2 konsantrasyonda (0,0313 ve 0,0625 $\mu\text{g/mL}$) anlamlı düzeydedir. KKD/Hücre düzeyindeki bu azalma, doza bağlı bir korelasyon göstermektedir ($r=-0,65$) (Şekil 4.5).

BA'nın en yüksek konsantrasyonunun eş zamanlı uygulamasında (BA+CuO NP) gözlenen KKD/Hücre sayısı ise, CuO NP'lerinin tek başına uygulamasına kıyasla anlamlı olmayan çok küçük bir artış oluşturmıştır. BA+CuO NP'lerin eş zamanlı uygulaması, 2-23 arasında KKD/Hücre oluşturmıştır (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5).

BA'nın hem tek başına ve hem de MMS ve CuO NP'leri ile eş zamanlı uygulamasının insan lenfositlerinde mitotik indeks ve replikasyon indeksi üzerindeki etkileri de incelenmiştir. MMS ve CuO NP'leri, mitotik indekste, kontrole kıyasla anlamlı azalmaya sebep olmuştur. BA'nın uygulanan tüm konsantrasyonları (0,25 µg/mL hariç) da negatif kontrole grubuna kıyasla mitotik indeksi anlamlı düzeyde azaltmıştır. Meydana gelen azalmalar, doz artışı ile negatif yönde orta düzeyde bir korelasyon göstermektedir ($r=-0,65$) (Şekil 4.6). BA+MMS eş zamanlı uygulamasında, mitotik indeks, pozitif kontrole (MMS) kıyasla bütün konsantrasyonlarda artış göstermiştir. Bu artışlar, sadece en yüksek iki konsantrasyonda (0,5 ve 0,25 µg/mL) anlamlı düzeydedir. Buradaki artışlar, pozitif yönde bir korelasyon göstermiştir ($r=0,67$). Pozitif kontrole (CuO NP) kıyasla, CuO NP'leri ile eş zamanlı uygulanan BA'nın, tüm konsantrasyonlarda, mitotik indeksi arttırdığı tespit edilmiştir. Mitotik indeksteki bu artış, en düşük üç konsantrasyon (0,0313; 0,0625 ve 0,125 µg/mL) için anlamlı düzeyde olup, aralarında zayıf bir korelasyon oluşturmıştır ($r=0,23$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.6).

Borik asitin MMS ve CuO NP'lerinin oluşturduğu kardeş kromatit değişimlerine karşı da iyileştirici etki gösterdiği belirlenmiştir. BA, MMS'nin neden olduğu kardeş kromatit değişimlerine karşı sırasıyla %35,06 (0,0313 µg/mL), 20,77 (0,0625 µg/mL) ve %13,85 (0,125 µg/mL) düzeyine kadar iyileştirme göstermiştir. BA, CuO NP'lerinin sebep olduğu kardeş kromatit değişimlerine karşı da sırasıyla %39,07 (0,0313 µg/mL), %43,38 (0,0625 µg/mL) %31,38 (0,125 µg/mL) ve %32,03 (0,5 µg/mL) düzeylerine kadar iyileştirici etki göstermiştir (Çizelge 4.3). Bu verilere göre BA, CuO NP'lerine karşı daha fazla iyileştirme kapasitesi göstermiştir.

Replikasyon indeksi değerlendirildiğinde ne BA'nın tek başına uygulamaları ne de MMS ve CuO NP'leri ile eş zamanlı uygulamaları, kendi kontrol gruplarına kıyasla anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Çizelge 4.3, Şekil 4.7).

Çizelge 4.3. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin KKD, Mİ ve Rİ değişimleri üzerine etkileri

Test maddesi	Uygulama		Min-maks KKD	KKD/Hücre $\pm$ SH	% İyileştirme	M1	M2	M3	Rİ $\pm$ SH	Mİ $\pm$ SH %
	Süre (saat)	Konsantrasyon (μ g/mL)								
Kontrol	24	0,00	1-15	5,06 $\pm$ 0,31	-	12	53	135	2,61 $\pm$ 0,04	9,25 $\pm$ 0,65
P. K (MMS)	24	6,60	4-21	9,68 $\pm$ 0,58 ^c	-	15	60	125	2,55 $\pm$ 0,44	4,70 $\pm$ 0,47 ⁺⁺⁺
P. K (CuO NP)	24	100	4-24	11,56 $\pm$ 0,67 ^c	-	18	70	112	2,62 $\pm$ 0,04	3,70 $\pm$ 0,42 ⁺⁺⁺
BA	24	0,0313	2-11	4,50 $\pm$ 0,31	-	14	56	130	2,58 $\pm$ 0,04	6,80 $\pm$ 0,50 ⁺⁺
	24	0,0625	1-13	4,86 $\pm$ 0,35	-	14	54	132	2,59 $\pm$ 0,04	7,10 $\pm$ 0,57 ⁺
	24	0,125	2-12	5,46 $\pm$ 0,35	-	15	50	135	2,60 $\pm$ 0,04	5,85 $\pm$ 0,52 ⁺
	24	0,25	1-13	5,30 $\pm$ 0,34	-	23	54	123	2,50 $\pm$ 0,04	7,60 $\pm$ 0,59
	24	0,5	3-20	7,04 $\pm$ 0,48 ^a	-	18	56	126	2,54 $\pm$ 0,04	5,95 $\pm$ 0,52 ⁺
BA+MMS	24	0,0313	1-16	8,06 $\pm$ 0,51	35,06	11	53	136	2,61 $\pm$ 0,04	5,98 $\pm$ 0,52
	24	0,0625	2-20	8,72 $\pm$ 0,60	20,77	13	61	126	2,56 $\pm$ 0,04	5,40 $\pm$ 0,50
	24	0,125	2-20	9,04 $\pm$ 0,58	13,85	14	54	132	2,57 $\pm$ 0,04	5,00 $\pm$ 0,48
	24	0,25	4-24	10,58 $\pm$ 0,71	-	12	53	135	2,61 $\pm$ 0,04	6,25 $\pm$ 0,54 [*]
	24	0,5	2-20	10,02 $\pm$ 0,65	-	19	54	127	2,54 $\pm$ 0,04	6,35 $\pm$ 0,54 [*]
BA+CuO NP	24	0,0313	2-13	9,02 $\pm$ 0,41 ^ß	39,07	16	50	134	2,59 $\pm$ 0,04	5,25 $\pm$ 0,49 [#]
	24	0,0625	2-16	8,74 $\pm$ 0,51 ^ß	43,38	14	51	135	2,60 $\pm$ 0,04	5,25 $\pm$ 0,49 [#]
	24	0,125	3-17	9,52 $\pm$ 0,47	31,38	8	63	129	2,60 $\pm$ 0,04	5,10 $\pm$ 0,49 [#]
	24	0,25	2-18	9,46 $\pm$ 0,58	32,03	18	64	118	2,50 $\pm$ 0,04	5,25 $\pm$ 0,49
	24	0,5	4-23	11,74 $\pm$ 0,71	-	11	61	128	2,58 $\pm$ 0,04	4,30 $\pm$ 0,45

P.K: pozitif kontrol, BA: borik asit, MMS: metil metansülfonat, CuO NP: bakır oksit nanopartikülü, KKD: kardeş kromatit değişimi, M1: 1. Mitoz, M2: 2 Mitoz, M3: 3. Mitoz, Rİ: replikasyon indeksi, Mİ: mitotik indeks, SH: standart hata

^cKontrolle göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

^aPozitif kontrole (MMS) göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tukey)

^ßPozitif kontrole (CuO NP) göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

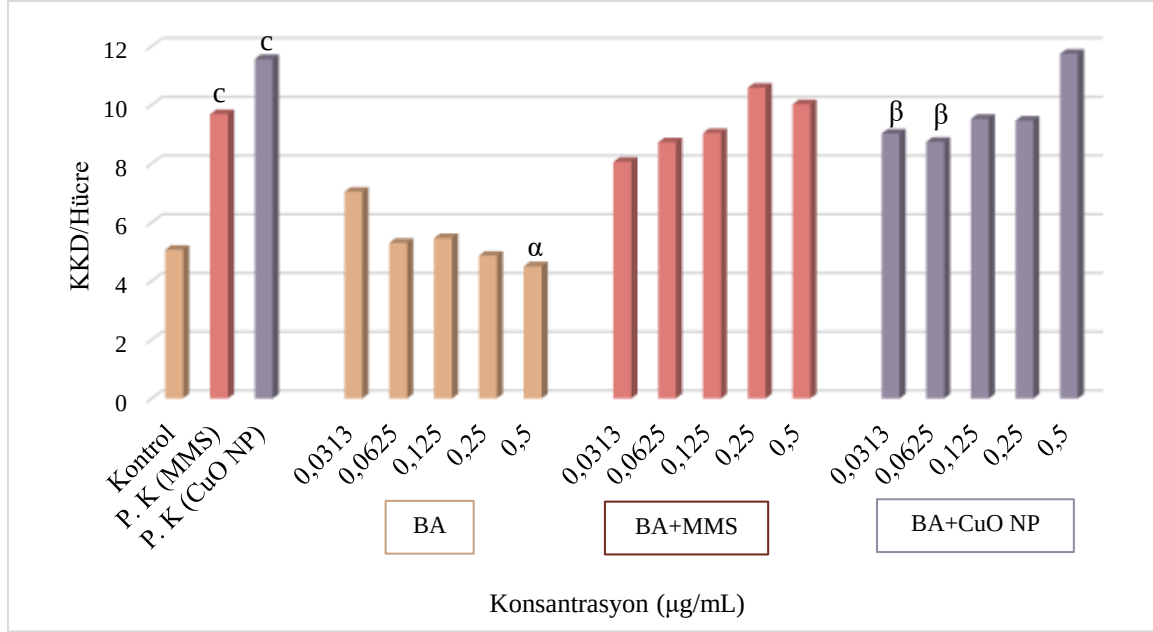
⁺Kontrolle göre p<0,05 düzeyine anlamlı (z testi)

⁺⁺Kontrolle göre p<0,01 düzeyine anlamlı (z testi)

⁺⁺⁺Kontrolle göre p<0,001 düzeyine anlamlı (z testi)

^{*}Pozitif kontrole (MMS) göre p<0,05 düzeyine anlamlı (z testi)

[#]Pozitif kontrole (CuO NP) göre p<0,01 düzeyine anlamlı (z testi)

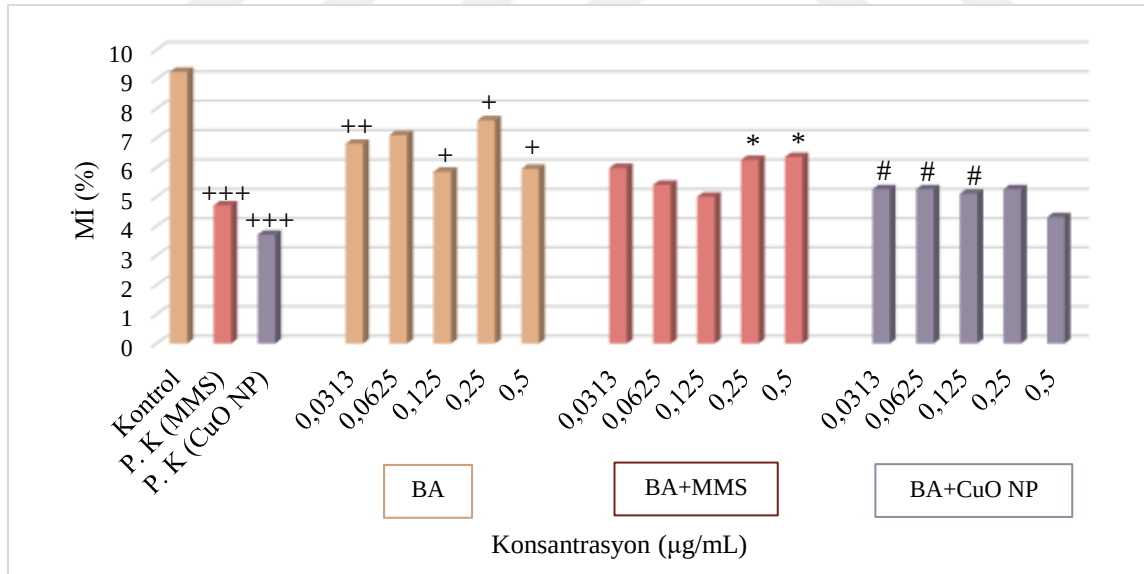


*Kontrolle göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

*Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tukey)

*Pozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

Şekil 4.5. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin kardeş kromatit değişimi üzerine etkisi



*Kontrolle göre $p < 0,05$ düzeyine anlamlı (z testi)

**Kontrolle göre $p < 0,01$ düzeyine anlamlı (z testi)

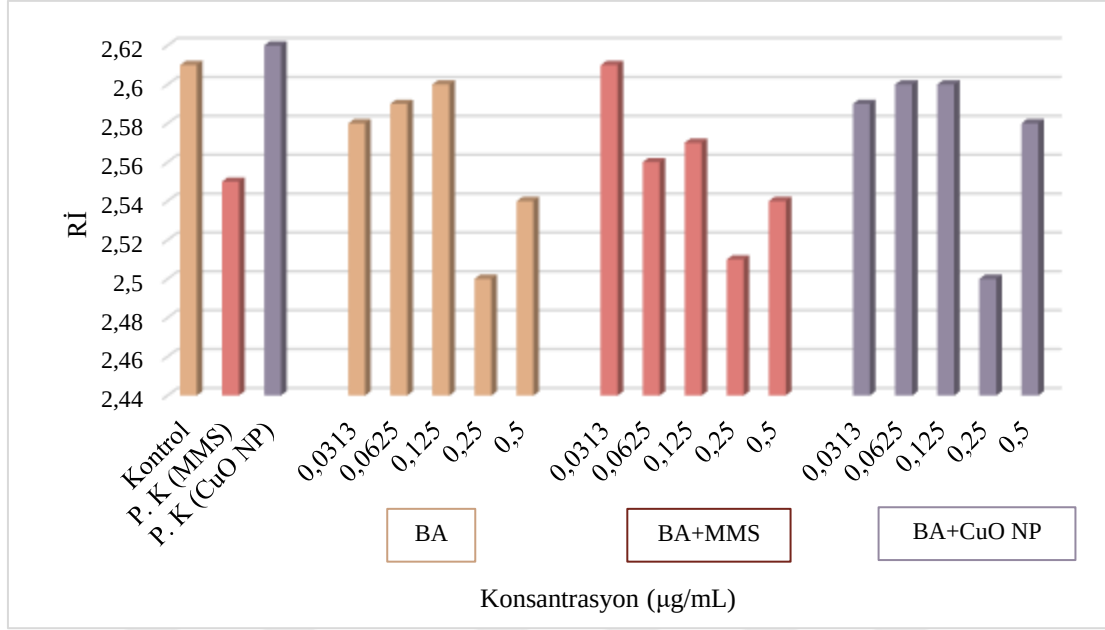
+++Kontrolle göre $p < 0,001$ düzeyine anlamlı (z testi)

*Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,05$ düzeyine anlamlı (z testi)

#Pozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,01$ düzeyine anlamlı (z testi)

#Pozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

Şekil 4.6. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin mitotik indeks üzerine etkisi



Şekil 4.7. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 24 saatlik muamelesinin replikasyon indeksi üzerine etkisi

4.2.2. 48 saatlik muamele

BA'nın insan lenfositlerinde 48 saatlik uygulamasında, 0,0313; 0,0625 ve 0,125 µg/mL'lik dozlarda, KKD/Hücre oranında, negatif kontrole kıyasla küçük fakat anlamsız düşüşler olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan, 0,250 ve 0,500 µg/mL'lik dozlarda ise bir artış gerçekleşmiştir. Ancak bu artışlardan sadece 0,500 µg/mL'lik konsantrasyon anlamlı düzeydedir. KKD oranındaki bu artış doz artışı ile pozitif yönde ve orta düzeyde korelasyon göstermektedir ($r=0,68$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.8). BA, lenfositlerde hücre başına 1-17 arasında KKD oluşturmuştur (Resim 4.2).

MMS'nin 48 saatlik tek başına muamelesi, negatif kontrol grubuna kıyasla KKD /Hücre oranını anlamlı düzeyde artırmıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan MMS, lenfositlerde 4-24 arasında KKD oluşturmuştur. Diğer yandan, BA'nın, MMS ile eş zamanlı kullanılan tüm konsantrasyonları, tek başına MMS uygulamasına kıyasla, KKD/Hücre düzeyini tüm konsantrasyonlarda (0,125 µg/mL hariç) azalttığı saptanmıştır ($r=-0,29$) (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.8). BA+MMS'nin eş zamanlı muamelesi lenfositlerde 3-20 arasında KKD oluşturmuştur (Resim 4.2).

Pozitif kontrol olarak kullanılan CuO NP'leri de KKD/Hücre düzeyinde negatif kontrol grubuna kıyasla anlamlı artışa sebep olmuştur. CuO NP'leri, lenfositlerde 4-26 arasında KKD oluşturmuştur. BA'nın CuO NP'leri ile birlikte eş zamanlı uygulanan bütün konsantrasyonları (0,5 µg/mL hariç), KKD/Hücre düzeyini, CuO NP'lerinin tek başına uygulamasına kıyasla anlamlı şekilde azaltmıştır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.8). BA+CuO NP'nin eş zamanlı muamelesi lenfositlerde 4-28 arasında KKD meydana getirmiştir (Resim 4.2).

Borik asit, MMS ve CuO NP'lerinin neden olduğu kardeş kromatit değişimlerine karşı iyileştirici potansiyel göstermiştir. BA, MMS'nin toksik etkisine karşı, en küçük konsantrasyondan en büyük konsantrasyona doğru sırasıyla %59,82 (0,0313 µg/mL), %51,31 (µg/mL), 19,64 (0,125 µg/mL), %43,98 (0,25 µg/mL) ve %39,88 (0,5 µg/mL) iyileştirme sergilemiştir. Diğer yandan, BA, CuO NP'lerine karşı, en küçük konsantrasyondan en büyük konsantrasyona doğru sırasıyla %64,86 (0,0313 µg/mL), %62,08 (0,0625 µg/mL), %55,76 (0,125 µg/mL), %44,23 (0,25 µg/mL) ve %3,84 (0,5 µg/mL) düzeylerine kadar iyileştirme gerçekleştirmiştir (Çizelge 4.4). Bu testte BA, CuO NP'lerine karşı daha etkili bir iyileştirme göstermiştir.

Pozitif kontrol grupları (MMS ve CuO NP), insan lenfositlerinde mitotik indekste anlamlı düşüslere sebep olurken ne BA'nın tek başına uygulamaları ne de BA+MMS ve BA+CuO NP uygulamaları mitotoik indekste anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Replikatif indekste de uygulanan hiçbir kimyasalın anlamlı değişiklikler oluşturmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.9 ve Şekil 4.10).

Çizelge 4.4. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin KKD, Mi ve Rİ değişimleri üzerine etkileri

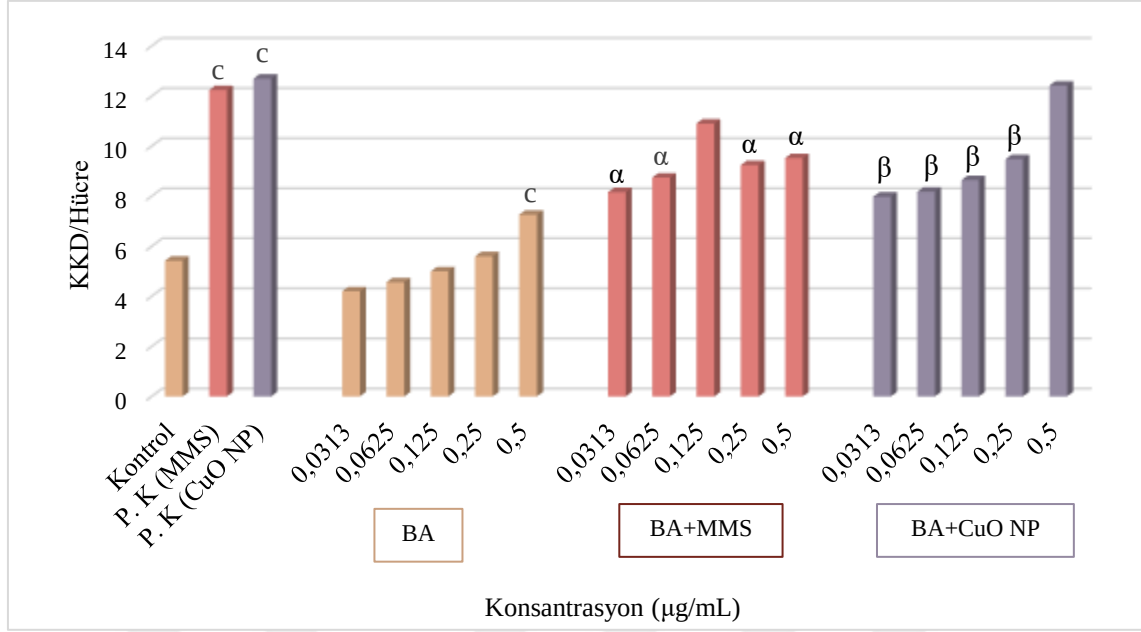
Test maddesi	Uygulama		Min-maks. KKD	KKD/Hücre $\pm$ SH	% İyileştirme	M1	M2	M3	Rİ $\pm$ SH	Mi $\pm$ SH %
	Süre (ssat)	Konsantrasyon. (μ g/mL)								
Kontrol	48	0,00	1-12	5,42 $\pm$ 0,33	-	10	51	139	2,64 $\pm$ 0,04	7,80 $\pm$ 0,59
P. K (MMS)	48	6,60	4-24	12,24 $\pm$ 0,60 ^c	-	21	64	115	2,47 $\pm$ 0,04	5,70 $\pm$ 0,26 ⁺⁺
P. K (CuO NP)	48	100	4-26	12,70 $\pm$ 0,70 ^c	-	18	69	113	2,49 $\pm$ 0,04	4,15 $\pm$ 0,19 ⁺⁺⁺
BA	48	0,0313	1-12	4,20 $\pm$ 0,32	-	11	50	139	2,64 $\pm$ 0,04	7,15 $\pm$ 0,57
	48	0,0625	1-11	4,54 $\pm$ 0,31	-	7	50	143	2,68 $\pm$ 0,03	6,25 $\pm$ 0,54
	48	0,125	1-12	5,00 $\pm$ 0,37	-	14	53	133	2,59 $\pm$ 0,04	7,35 $\pm$ 0,34
	48	0,25	2-15	5,60 $\pm$ 0,34	-	14	50	136	2,61 $\pm$ 0,04	7,25 $\pm$ 0,57
	48	0,5	3-17	7,26 $\pm$ 0,50 ^c	-	12	53	135	2,61 $\pm$ 0,04	8,90 $\pm$ 0,63
BA+MMS	48	0,0313	3-17	8,16 $\pm$ 0,47 ^a	59,82	12	53	135	2,61 $\pm$ 0,04	6,35 $\pm$ 0,54
	48	0,0625	4-19	8,74 $\pm$ 0,51 ^a	51,31	18	53	129	2,55 $\pm$ 0,04	6,60 $\pm$ 0,55
	48	0,125	5-21	10,9 $\pm$ 0,65	19,64	24	61	115	2,49 $\pm$ 0,04	6,10 $\pm$ 0,53
	48	0,25	3-20	9,24 $\pm$ 0,58 ^a	43,98	13	53	134	2,60 $\pm$ 0,04	6,70 $\pm$ 0,55
	48	0,5	5-20	9,52 $\pm$ 0,55 ^a	39,88	11	56	133	2,61 $\pm$ 0,04	5,40 $\pm$ 0,50
BA+CuO NP	48	0,0313	4-19	7,98 $\pm$ 0,53 ^β	64,83	24	58	118	2,47 $\pm$ 0,04	5,25 $\pm$ 0,49
	48	0,0625	5-21	8,18 $\pm$ 0,51 ^β	62,08	21	59	120	2,49 $\pm$ 0,04	5,05 $\pm$ 0,48
	48	0,125	4-28	8,64 $\pm$ 0,43 ^β	55,76	13	57	130	2,58 $\pm$ 0,04	5,30 $\pm$ 0,50
	48	0,25	4-19	9,48 $\pm$ 0,58 ^β	44,23	17	53	130	2,56 $\pm$ 0,04	4,60 $\pm$ 0,46
	48	0,5	4-24	12,42 $\pm$ 0,71	3,84	12	63	125	2,56 $\pm$ 0,04	4,35 $\pm$ 0,45

P. K: pozitif kontrol, BA: borik asit, MMS: metil metansülfonat, CuO NP: bakır oksit nanopartikülü, KKD: kardeş kromatit değişimi, M1: 1. Mitoz, M2: 2 Mitoz, M3: 3. Mitoz, Rİ: replikasyon indeksi, Mi: mitotik indeks, SH: standart hata.

^cKontrolle göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

^aPozitif kontrole (MMS) göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tukey)

^βPozitif kontrole (CuO NP) göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

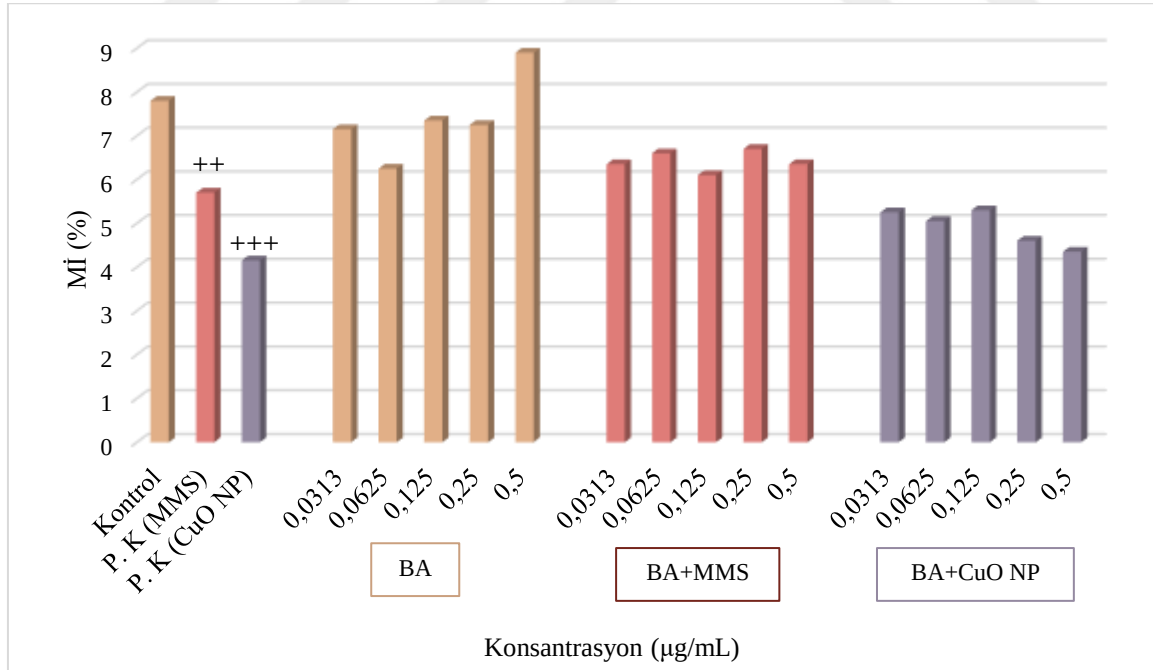


*Kontrolle göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

^aPozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tukey)

^bPozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

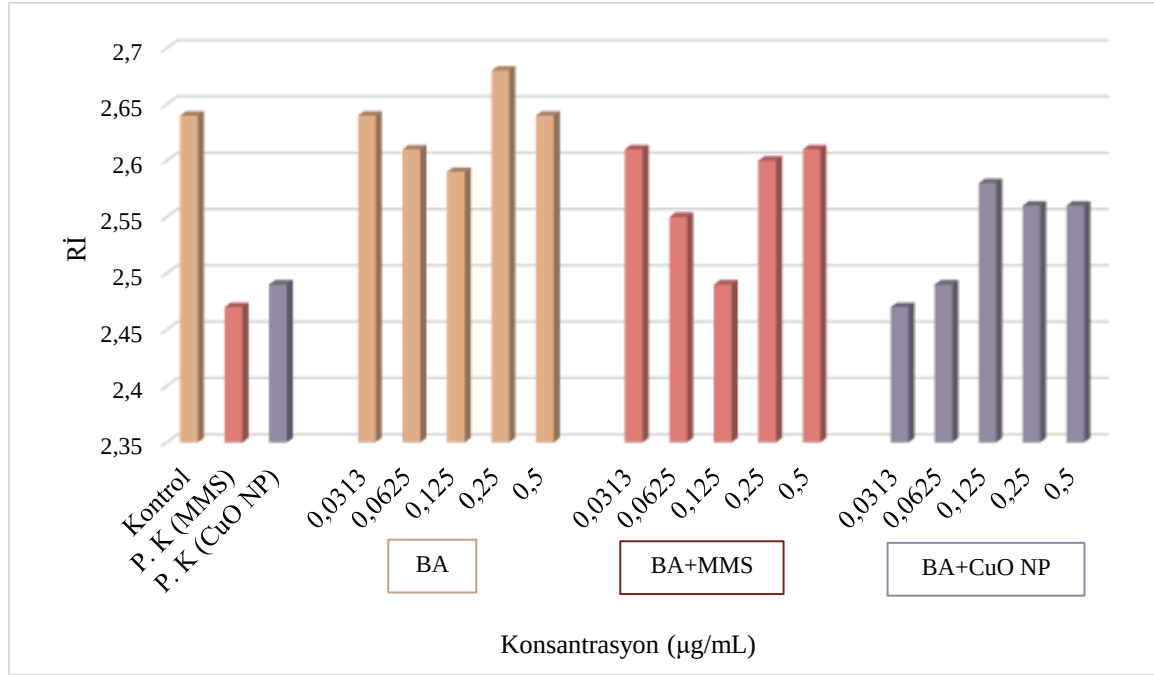
Şekil 4.8. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin kardeş kromatit değişimi üzerine etkisi



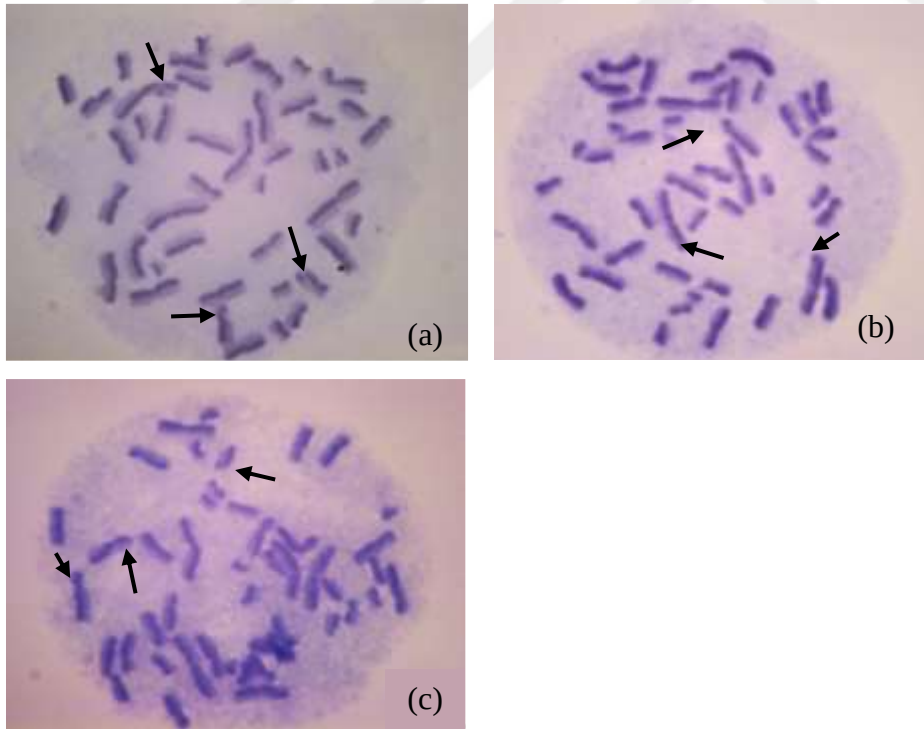
**Kontrolle göre $p < 0,01$ düzeyine anlamlı (z testi)

***Kontrolle göre $p < 0,001$ düzeyine anlamlı (z testi)

Şekil 4.9. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin mitotik indeks üzerine etkisi



Şekil 4.10. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin 48 saatlik muamelesinin replikasyon indeksi üzerine etkisi



Resim 4.2. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP muamelesinin insan lenfositlerde oluşturduğu kardeş kromatit değişimleri. (a) tek başına BA muamelesi, (b) BA + MMS eş zamanlı muamelesi, (c) BA + CuO NP eş zamanlı muamelesi

4.3. Sitokinez Blok Mikronükleus Sitom ve Proliferasyon İndeksi Bulguları

Bu tez çalışmasında, insan lenfositlerinde mikronükleus, nükleer tomurcuk, nükleoplazmik köprü ve proliferasyon indeksini değerlendirebilmek amacıyla sitokinez blok mikronükleus sitom testi de uygulanmıştır. Lenfositler, BA'nın tek başına 5 farklı konsantrasyonu (0,0313; 0,0625; 0,125; 0,250 ve 0,500 µg/mL) ve BA'nın aynı konsantrasyonları hem MMS (6,60 µg/mL) ve hem de CuO NP'leri (100 µg/mL) ile eş zamanlı olarak 48 saat muamele edilmiştir. Elde edilen verilen Çizelge 4.5'te sunulmuştur. 48 saatlik muamele sonucunda, bir ve iki mikronükleuslu binükleat (BN) hücreler, nükleer tomurcuk ve nükleoplazmik köprü oluşumu gözlenmiştir (Resim 4.3).

Negatif kontrole kıyasla hem MMS ve hem de CuO NP'leri, MN frekansında anlamlı artışlar oluşturmuştur. Ancak bu kimyasallar, NT ve NPK oluşumunda anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Diğer yandan, negatif kontrole kıyasla, BA'nın uygulanan hiçbir konsantrasyonu, MN frekansında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Sadece en düşük iki konsantrasyonda (0,0313 ve 0,0625 µg/mL) küçük bir azalma gerçekleşmiştir. BA, negatif kontrole kıyasla NT ve NPK oluşumunda da anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Şekil 4.13). BA, MMS ile eş zamanlı uygulandığında, BA'nın tüm konsantrasyonları, MMS tarafından oluşturulan MN frekansında anlamlı düşüşler oluşturmuştur ($r=-0,20$) (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.11). BA+MMS, pozitif kontrole (MMS) kıyasla, NT ve NPK oluşumunda da anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Şekil 4.12, Şekil 4.13).

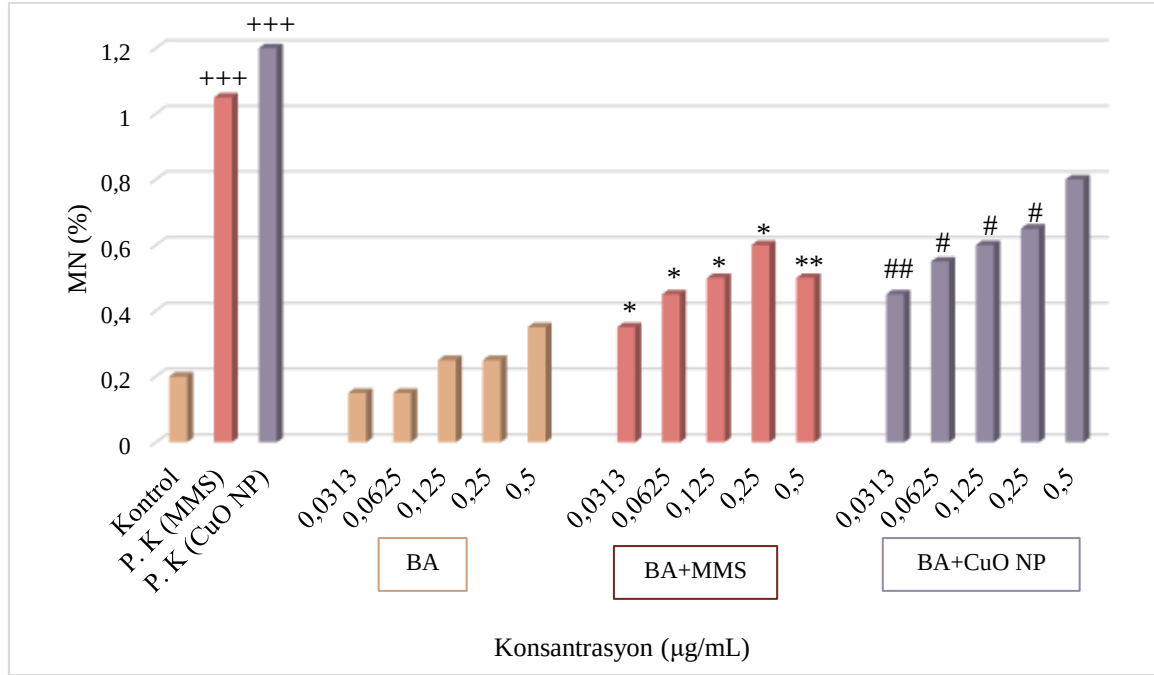
BA+CuO NP'lerinin eş zamanlı muamelesi, pozitif kontrole (CuO NP) kıyasla, tüm konsantrasyonlarda (0,5 µg/mL hariç) MN frekansını anlamlı şekilde azaltmıştır ($r=-0,27$) (Şekil 4.9). BA+CuO NP uygulaması, NT ve NPK oluşumunda, pozitif kontrole (CuO NP) kıyasla, anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. Proliferasyon indeksinde de ne BA'nın tek başına ve ne de BA+MMS ve BA+CuO NP uygulamaları, ilgili kontrollerine kıyasla, anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. (Çizelge 4.5, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12).

Borik asit, MMS ve CuO NP'leri tarafından indüklenen MN frekansında da iyileştirmeler oluşturmuştur. BA'nın MMS ile eş zamanlı uygulamasında en düşük konsantrasyon olan 0,0313 µg/mL'de %82,35 düzeyinde yüksek bir iyileştirme gösterdiği belirlenmiştir. Diğer konsantrasyonlar için sırasıyla %70,58 (0,0625 µg/mL), %64,70 (0,125 µg/mL), %52,94 (0,25 µg/mL) ve %41,17 (0,5 µg/mL) iyileşme gerçekleştirmiştir. Diğer yandan BA'nın CuO

NP'leri eş zamanlı uygulamasında en yüksek iyileştirme düzeyi 0,0313 µg/mL'lik (%75) konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir. Bu iyileştirme düzeyini sırasıyla 0,0625 µg/mL (%65), 0,125 µg/mL (%60), 0,25 µg/mL (%55) ve 0,5 µg/mL (%40) konsantrasyonları takip etmektedir (Çizelge 4.5).



+++Kontrolle göre $p<0,001$ düzeyinde anlamlı
*Pozitif kontrolle (MMS) göre $p<0,05$ düzeyinde anlamlı
**Pozitif kontrolle (MMS) göre $p<0,01$ düzeyinde anlamlı
#Pozitif kontrolle (CuO NP) göre $p<0,05$ düzeyinde anlamlı



+++Kontrolle göre $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı

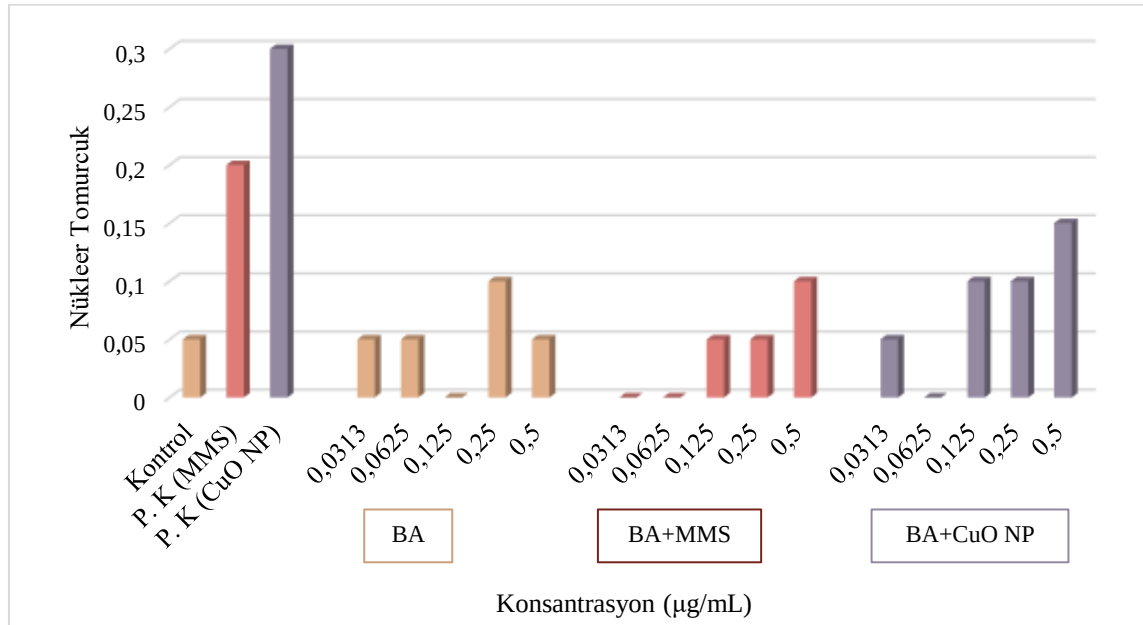
*Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı

**Pozitif kontrole (MMS) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı

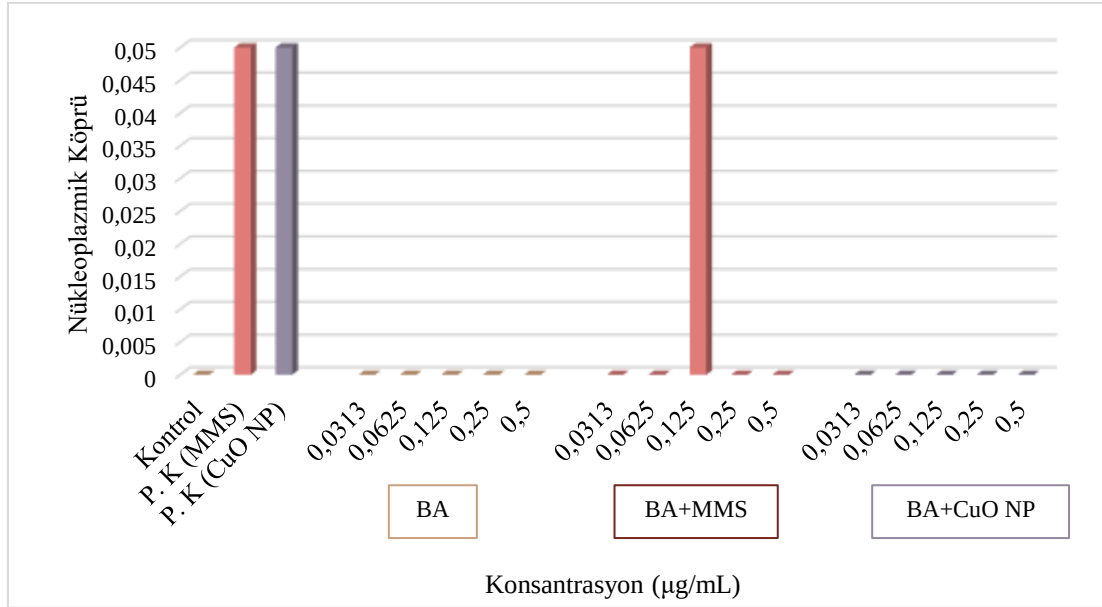
#Pozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı

##Pozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z-testi)

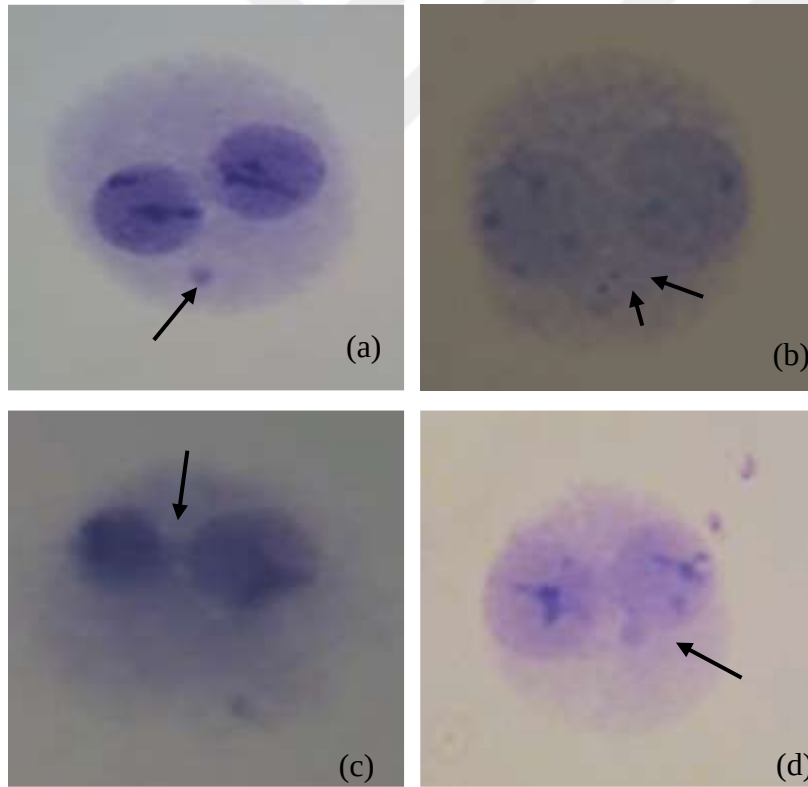
Şekil 4.11. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin mikronükleus frekansı üzerine etkisi



Şekil 4.12. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin nükleer tomurcuk üzerine etkisi



Şekil 4.13. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin nükleoplazmik köprü üzerine etkisi



Resim 4.3. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP muamelesinin insan lenfositlerde oluşturduğu mikronükleus, nükleer tomurcuk ve nükleoplazmik köprü içeren binükleat hücreler. (a) bir mikronükleuslu binükleat hücre, (b) iki mikronükleuslu binükleat hücre, (c) nükleer tomurcuk içeren binükleat hücre (d) nükleoplazmik köprü içeren binükleat hücre

4.4. Kuyruk uzunluğu, Kuyruk yoğunluğu ve Kuyruk Momenti Bulguları

DNA hasarlarını belirlemek amacıyla BA'nın 5 farklı konsantrasyonu (0,0313; 0,0625; 0,125; 0,250 ve 0,500 $\mu\text{g/mL}$) tek başına ve aynı konsantrasyonların hidrojen peroksit (H_2O_2 -100 μM) ($\text{BA} + \text{H}_2\text{O}_2$) ve CuO NP'leri (100 $\mu\text{g/mL}$) ($\text{BA} + \text{CuO NP}$) ile 1 saat eş zamanlı olarak uygulanmıştır. DNA hasarı için 3 farklı parametre incelenmiştir. Bu parametreler kuyruk uzunluğu (μm), kuyruk yoğunluğu (%) ve kuyruk momentidir. Elde edilen DNA hasarı verileri Çizelge 4.6'da ve DNA hasarlarının görüntüleri Resim 4.4'te sunulmuştur.

Pozitif kontrol olarak kullanılan H_2O_2 negatif kontrole kıyasla, kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentinde anlamlı artışlar oluşturmıştır. CuO NP'leri ise kuyruk uzunluğunda anlamlı artışa, kuyruk yoğunluğunda anlamlı düşüşe sebep olurken kuyruk momentinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Çizelge 4.6).

BA'nın tek başına muamelesi, kuyruk uzunluğunu, kontrol grubuna kıyasla tüm konsantrasyonlarda azaltmıştır. Kuyruk uzunluğundaki azalma, yalnızca en yüksek konsantrasyonda (0,5 $\mu\text{g/mL}$) istatistiksel düzeyde anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.14). BA muamelesi, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentinde negatif kontrole kıyasla anlamlı olmayan değişiklikler meydana getirmiştir (Çizelge 4.6, Şekil 4.15, Şekil 4.16, Resim 4.4).

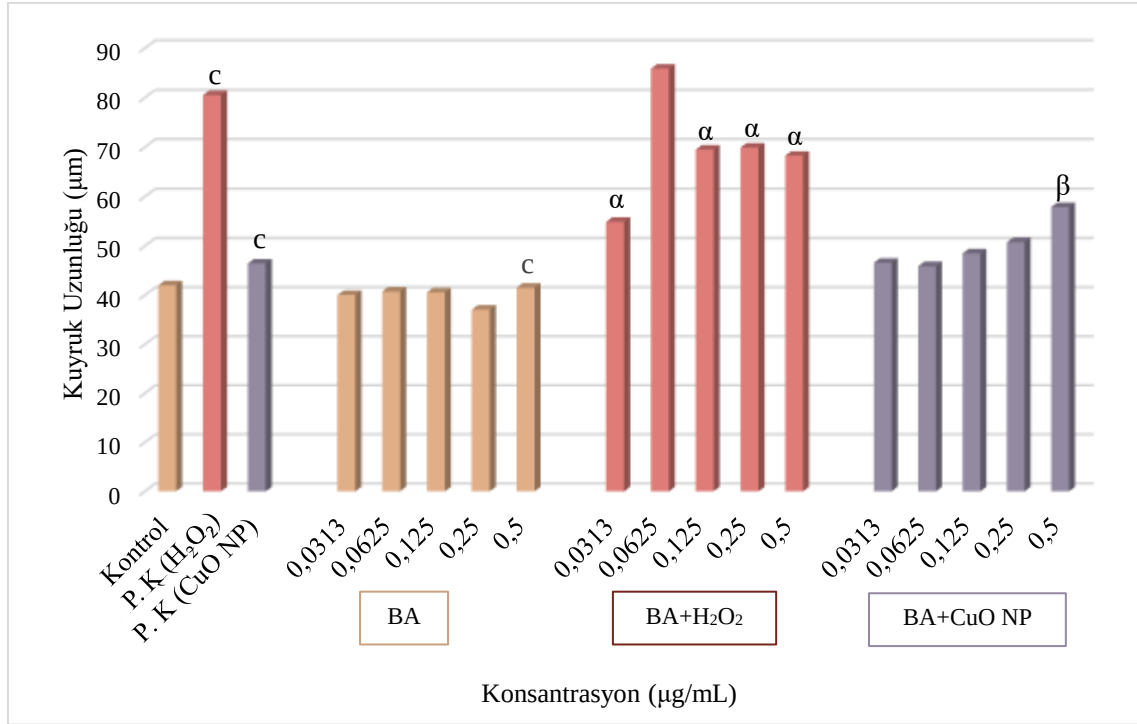
Pozitif kontrol olarak kullanılan H_2O_2 , negatif kontrol grubuna kıyasla üç farklı parametre (kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentini) için anlamlı düzeyde artış meydana getirmiştir. $\text{BA} + \text{H}_2\text{O}_2$ 'nin muamelesinin, pozitif kontrole (H_2O_2) kıyasla kuyruk uzunluğunu tüm konsantrasyonlarda istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde (0,0625 $\mu\text{g/mL}$ hariç) azalttığı belirlenmiştir ($r=-0,15$). $\text{BA} + \text{H}_2\text{O}_2$ 'nin pozitif kontrole (H_2O_2) kıyasla kuyruk yoğunluğunu en düşük (0,0313 $\mu\text{g/mL}$) ve en yüksek konsantrasyonda (0,5 $\mu\text{g/mL}$) anlamlı olarak azalttığı saptanmıştır ($r=-0,48$). $\text{BA} + \text{H}_2\text{O}_2$ 'nin uygulaması, kuyruk momentini pozitif kontrole (H_2O_2) kıyasla yalnızca 0,5 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ($r=0,79$) (Çizelge 4.6, Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16).

Çalışmada kullanılan bir diğer pozitif kontrol CuO NP'leri, kuyruk uzunluğu anlamlı düzeyde ve kuyruk momentini de kontrol grubuna kıyasla arttırmıştır. Diğer yandan, CuO NP'lerin muamelesi, kontrol grubuna kıyasla kuyruk yoğunluğunu anlamlı düzeyde

azaltmıştır. BA+CuO NP eş zamanlı uygulaması, düşük konsantrasyonlarda (0,0313 ve 0,0625 µg/mL), kuyruk uzunluğunda bir değişim oluşturmaz iken, konsantrasyon artışı ile birlikte, DNA hasarı da artış göstermiştir. Özellikle en yüksek konsantrasyonda (0,5 µg/mL), pozitif kontrole (CuO NP) kıyasla kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentinde anlamlı bir artış tespit edilmiştir (Kuyruk uzunluğu için $r=0,85$, kuyruk yoğunluğu için $r=0,76$, kuyruk momenti için $r=0,72$) (Çizelge 4.6, Şekil 4.13, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15).

Borik asit, H₂O₂ 'in neden olduğu DNA hasarlarına karşı kuyruk uzunluğunda, sırasıyla %67,22 (0,0313 µg/mL), %28,61 (0,125 µg/mL), %27,57 (0,25 µg/mL) ve %31,38 (0,5 µg/mL) düzeyinde iyileştirme sağlarken, kuyruk yoğunluğunda %48,07 (0,0313 µg/mL), %25,78 (0,125 µg/mL), %24,86 (0,25 µg/mL) ve %14,84 (0,5 µg/mL) düzeylerinde iyileştirme gerçekleşmiştir. BA+ H₂O₂ eş zamanlı uygulamasında kuyruk momentinde test edilen konsantrasyonlarda önemli bir iyileşme tespit edilmemiştir. Diğer yandan BA, CuO NP'lerine karşı kuyruk uzunluğunda sadece 0,0625 µg/mL'lik konsantrasyonda %12,35 düzeyinde iyileştirme gerçekleştirmiş, kuyruk momentinde de sadece 0,0313 µg/mL'lik konsantrasyonda %11,53 düzeyinde iyileştirme sağlamıştır (Çizelge 4.6).

*Kontrolle göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tukey)
^aPozitif kontrole (H_2O_2) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)
^ßPozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

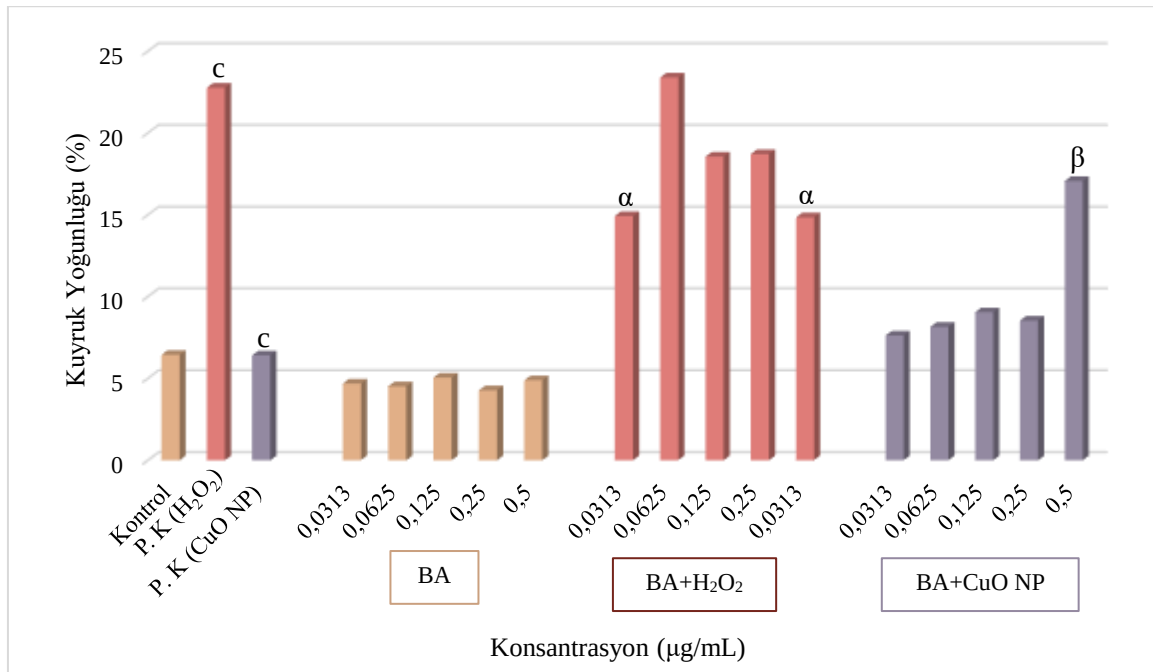


*Kontrolle göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tukey)

^aPozitif kontrole (H₂O₂) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

^bPozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

Şekil 4.14. BA, BA+H₂O₂ ve BA+CuO NP'nin kuyruk uzunluğu üzerine etkisi

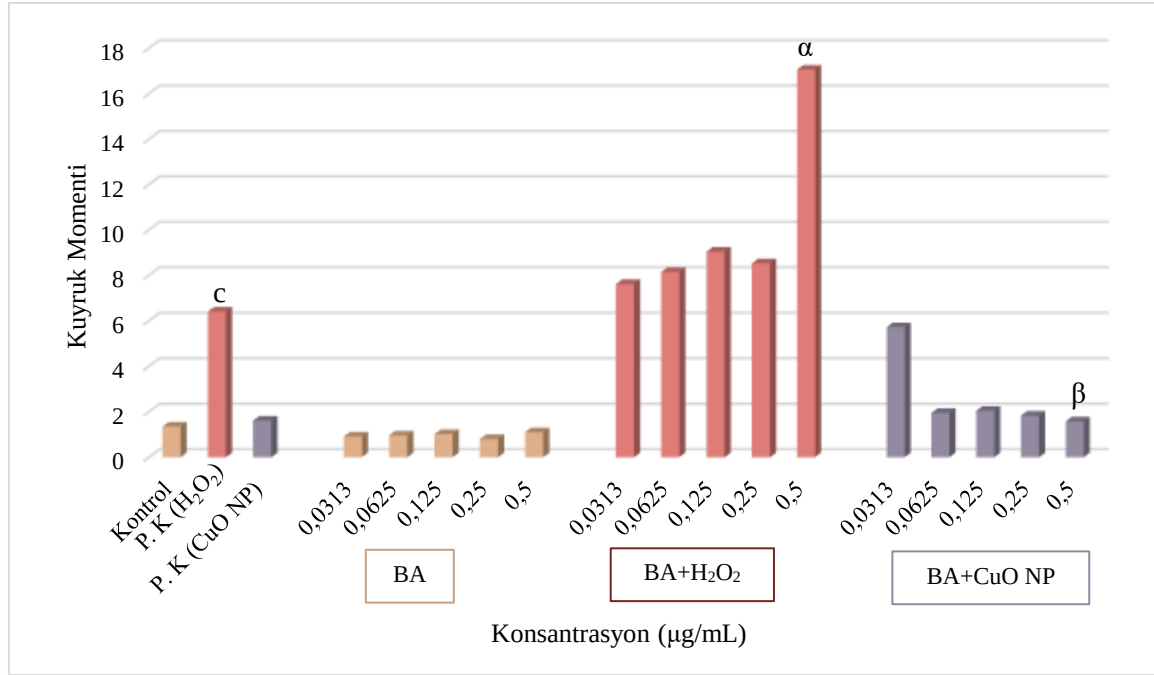


*Kontrolle göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tukey)

^aPozitif kontrole (H₂O₂) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

^bPozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

Şekil 4.15. BA, BA+H₂O₂ ve BA+CuO NP'nin kuyruk yoğunluğu üzerine etkisi

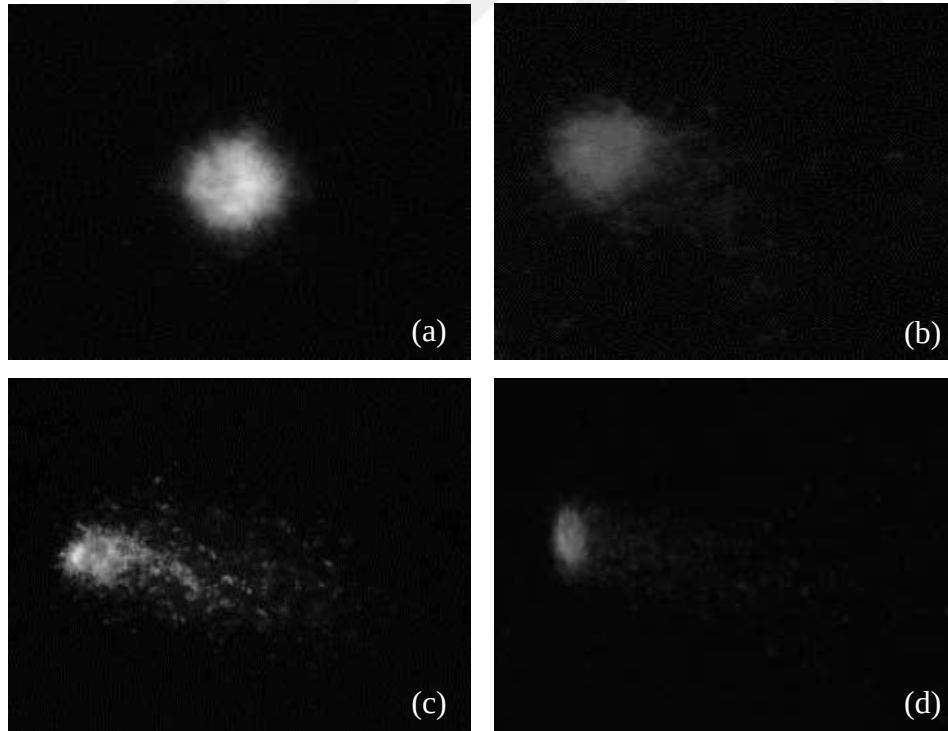


*Kontrolle göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tukey)

^aPozitif kontrole (H₂O₂) göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

^bPozitif kontrole (CuO NP) göre $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı (One-Way ANOVA/Tamhane's T2)

Şekil 4.16. BA, BA+H₂O₂ ve BA+CuO NP'nin kuyruk momentini üzerine etkisi



Resim 4.4. BA, BA+H₂O₂ ve BA+CuO NP muamelesinin insan lenfositlerde oluşturduğu DNA hasarları. (a) hasarsız DNA, (b) orta hasarlı DNA, (c) çok hasarlı DNA, (d) aşırı hasarlı DNA

5. TARTIŞMA

Bor ve bor bileşikleri, sahip oldukları antimikrobiyal, antibakteriyel, antiseptik, yara iyileşmesini hızlandırma, yüksek dayanıklılık, yanmayı geciktirici ve genotoksinlerin neden olduğu DNA hasarına karşı iyileştirici özellikleri nedeniyle son yıllarda büyük ilgi odağı haline gelmiştir. Bor, gübre, insektisit, ilaç, gıda, tekstil, cam, sağlık, temizlik ve kozmetik gibi birçok endüstride kullanılmaktadır. Bor ve bor bileşiklerinin kullanımındaki artış, organizmaların da bu bileşiklere maruziyetinde artış oluşturduğu için, bilim insanlarında bu maruziyetten kaynaklanabilecek zararlar konusunda bir endişe oluşturmuştur. Mevcut veriler, doğru miktarda bor alımının organizmalar için önemli olduğunu ancak, gereken miktardan az veya fazla miktarda bor alımının, canlıları olumsuz yönde etkileyebileceğini göstermektedir. Bor eksikliği ile bor fazlalığının neden olduğu toksisitesi arasındaki konsantrasyon aralığı çok dar olup bor miktarı biraz yüksek olduğunda organizmalar için tehlikeli hale gelebilmektedir. Ayrıca, fazla miktarda borun neden olduğu toksik etkiler, bor eksikliğinden kaynaklanan sorunlardan daha yaygındır (Sevim ve Kara, 2022; Kim, Kim, Jiang, Kim ve Kang, 2023). Borik asit, borun en değerli bileşiği olup, organizmalarda metabolik olaylara destek sağlar ve ayrıca antioksidan aktivite gösterir. BA ayrıca, antiseptik, antifungal, antimikrobiyal, antibakteriyel, antikanser ve genotoksinlerin neden olduğu kromozom ve/veya DNA düzeyindeki hasarlara karşı antigenoksik özellik göstermesi sebebi ile son yıllarda araştırmaların ilgi odağı haline gelmiştir. BA günümüzde cam, fotoğrafçılık, gıda, ilaç-eczacılık, kozmetik-kişisel bakım, sağlık, tarım, tekstil, temizlik ürünleri ve yanmayı geciktirici maddeler gibi oldukça geniş alanlarda kullanılmaktadır (Zengin, Aka, Gençay ve Uzun, 2023).

Borik asit, organizmalarda hücre büyümesine, çoğalmasına ve gelişimine katkı sağlayabilmektedir. Aşırı miktarda bor ve/veya BA, protein sentezinde ve mikroorganizmada mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna neden olabilmektedir. Diğer yandan fazla miktarda bor ve/veya BA, hücre bölünmesini ve gelişimini bozan enzimler olan serin-proteaz, β -laktamaz ve amino-asil tRNA sentetazın aktivitelerini ve membran fonksiyonunu, bütünlüğünü ve konformasyonunu bozabilmektedir (Adriztina, Adenin ve Lubis, 2018). BA, yara iyileştirme, kanser hücresi inhibisyonu ve antimikrobiyal ve antibakteriyel dahil olmak üzere birçok biyolojik etki göstermektedir. Bu etkilerin mekanizması tam olarak açıklanamamış olmakla beraber, BA'nın protein ve kollajen üretimi yoluyla hücre dışı matriks sentezini artırarak yara iyileşme sürecinde önemli rol oynadığı

bildirilmiştir. BA'nın karaciğer kanserinin önde gelen formu olan hepatosellüler karsinom (HCC) hücre hatları üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, hücre canlılığını, koloni oluşturma yeteneğini ve tümör büyümesini azaltmasının yanı sıra, apoptozu, otofajiyi ve morfolojik değişikliği tetiklediği de bulunmuştur. BA'nın kanser hücre inhibisyon mekanizmasının, protein kinaz B sinyal yolağının inhibisyonu ile gerçekleştiği düşünülmektedir (Kahraman ve Göker, 2022). BA'nın antimikrobiyal etkilerinin altında yatan mekanizmanın bakteriyostatik ve antibiyofilm etkilerinden kaynaklandığı belirtilmektedir. Bu sebeple, BA ya tek başına veya başka bir antibiyotikle kombinasyon halinde, tekrarlayan/kronik enfeksiyon için tercih edilebilmektedir. Diğer yandan, BA *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakteriler üzerinde antibakteriyel etkiye sahiptir ancak bu etkinin temel mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir (Oğur ve diğerleri, 2021).

Genotoksinler, organizmaların canlı hücrelerinde DNA'da veya kromozomlarda hasar oluşturan veya metabolik süreçlerde bozulmalara sebep olabilen kimyasal ve/veya fiziksel ajanlardır. Diğer yandan, hücreler, DNA'da veya kromozomlarda oluşan hasarları tanıma ve onarma işlevi gören çok sayıda onarım mekanizmalarına sahiptir. Ancak, hasar görmüş DNA'nın hatalı veya yanlış onarımı hücre ölümüne ve/veya kanser gibi ciddi hastalıklara yol açabilmektedir. Birçok kanserojen/mutajen/genotoksik ajanlar, DNA'ya kovalent olarak bağlanarak, DNA'nın yapısında değişikliklere ve sonuçta mutasyona sebep olabilmektedir (Thada ve Greenberg, 2022). Kanser ana nedenlerinden biri çevresel maddelerin genotoksik etkileridir. Organizma, bir genotoksine maruz kaldığı zaman, somatik ve germ hücrelerinde mutasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Germ hücrelerindeki mutasyonlar, steriliteye veya doğum kusurlarına yol açabilmektedir. Diğer yandan, somatik hücrelerin genetik materyalinde meydana gelen bir değişim, metabolik hastalıklara, nörodejeneratif hastalıklara veya kanser gelişmesine yol açabilmektedir (Choudhuri, Kaur, Jain, Sharma ve Asthana, 2021).

Karsinogenez (kanserojenез), normal hücrelerin farklı özellikler kazanarak kanser hücrelerine dönüştüğü çok adımlı bir süreçtir. Karsinogenez, genotoksik veya genotoksik olmayan mekanizmalar yoluyla tetiklenebilmektedir. Kimyasal kanserojenler, bu mekanizmalar yoluyla tümör oluşumuna neden olabilmektedir. Genotoksik kanserojenler, doğrudan veya metabolik aktivasyon sonrasında DNA ile etkileşime girerek, mutasyonlara

neden olabilen ve tümör oluşumuna yol açabilen ajanlardır. Diğer yandan, genotoksik olmayan kanserojenler, DNA'ya doğrudan zarar vermeden (DNA dizisinde değişime neden olmadan) epigenetik mekanizmalarla tümör oluşturan kimyasal bileşikler grubunu içermektedir (Veltman, Pennings, van de Water ve Luijten, 2023). Bütün bu etkilerin tersine, bazı bileşikler/ajanlar, fiziksel/kimyasal/biyolojik ajanların genetik materyalde meydana getirdiği hasarları engelleme, azaltma, iyileştirme veya koruyucu potansiyele sahiptir. Bu tür maddeler antigenotoksik/antimutajenik bazen de antikanser özellikler gösterdikleri için, aynı sıfatlarla adlandırılmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalar, bor içeren bileşiklerin, genellikle genotoksik olmadıkları gibi, genotoksik etki sergiledikleri bilinen birçok kimyasal maddelere karşı antigenotoksik/antimutajenik etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Bu konuda yapılan bir çalışmada, borik asitin, nörotoksik bir madde olan akrilamidinin beyin dokusunda neden olduğu toksisiteye karşı koruyucu bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Yıldızhan, Ülger, Gündüz, Akkuş ve Bilge, 2023). Türkez ve arkadaşlarının (2010) yaptığı bir araştırmada, BA'nın bir kanser ilacı olan paklitaksele karşı koruyucu rolü araştırılmıştır. Paklitakselin lenfositlerde kardeş kromatit değişimlerini ve mikronükleus frekanslarını artırdığı belirlenmiştir. Bunun tersine, BA'nın paklitakselin neden olduğu genotoksisiteye karşı kardeş kromatit değişimlerini ve mikronükleus frekanslarını azaltarak koruyucu bir rol üstlendiği rapor edilmiştir (Türkez, Tatar, Hacımüftüoğlu ve Özdemir, 2010). Bor ve bor bileşiklerinin serviks kanseri, prostat kanseri, ağız kanseri ve meme kanseri gibi birçok farklı kanser türünde, antikanser özellik gösterdiği de rapor edilmiştir (Scorei ve diğerleri, 2008; Portu ve diğerleri, 2015). Bor içeren bileşiklerin kanser hücrelerine karşı gösterdiği aktivitesine ilişkin potansiyel mekanizmalar arasında serin proteazlar, NAD-dehidrojenazlar, mRNA splicing, DNA polimerizasyonu, timidilat sentezi, sadenosilmetiltransferaz, histon olmayan kromatin metilasyonu, DNaz ve RNaz gibi çok sayıda enzimatik sürecin inhibisyonu yer almaktadır. Bu bileşikler ayrıca, kalsiyum reseptörlerini etkileyerek, hücre bölünmesini ve apoptoz oluşumunu inhibe ederek etki gösterebilmektedir. BA'nın kanser hücreleri üzerinde oluşturduğu inhibisyon, doğrudan enzimatik inhibisyon, apoptoz, reseptör bağlanması ve mRNA splicing gibi çeşitli hücresel mekanizmaları içerebilmektedir (Scorei ve Popa, 2010). Bütün bu biyolojik etkileri nedeniyle, akut, kronik ve nadir görülen hastalıklar ile kanser hastalığının tedavi edilmesi için yenilikçi ilaçların geliştirilmesinde bor esaslı hibrit bileşikler önemli bir gelecek vaat etmekte ve dolayısıyla bunlardan yararlanılması düşünülmektedir.

Bir yandan bor ve bor bileşiklerinin fazla miktarda alınması durumunda canlılar için toksik etkiler sergileyebileceği, diğer yandan aynı bileşiklerin belli dozlarda antigenotoksik, antimutajenik ve antikanserojen etkiler gösterebileceğine yönelik yayınların olması, bizleri de bor bileşiklerinden borik asitin bazı genotoksinlere karşı antigenotoksik potansiyele sahip olup olmadığı konusunda bir araştırma yapmaya teşvik etmiştir. Bunun için, 1) antikanser ilaçlardan biri olan ve DNA'yı alkillayıcı etki gösteren metil metan sülfonatın, 2) son yıllarda birçok alanda kullanılan ancak belli konsantrasyonlarda genotoksik etki gösteren bakır oksit nanopartiküllerin ve 3) reaktif oksijen türü olarak bilinen ve toksik olarak kabul edilen hidrojen peroksitin oluşturduğu genetik hasarlara karşı, borik asitin antigenotoksik/antimutajenik/kemopreventif bir potansiyele sahip olup olmadığını belirlemek amacıyla bir çalışma yürütülmüştür.

Bu çalışmada ayrıca, borik asitin tek başına kullanımının da herhangi bir genotoksik etki oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır. Bu araştırmalarda, kimyasalların genotoksik risk taşıyıp taşımadığını belirlemek amacıyla son yıllarda yaygın bir şekilde kullanılan ve OECD ve diğer kuruluşlar tarafından da onaylanan kromozom anormallikleri, mikronukleus ve komet testleri kullanılmıştır. 2014 yılında OECD test kılavuzlarından çıkarılan ancak halen çok sayıda genotoksiste çalışmasında kullanılan kardeş kromatid değişimi testi de kullanılmıştır. Bütün bu testler insan lenfositlerinde, *in vitro* koşullarda gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada uygulanan kromozom anormallikleri testinde, BA'nın 0,313; 0,0625, 0,125, 0,25 ve 0,5 µg/mL'lik konsantrasyonları, insan lenfositlerinde hem tek başına ve hem de MMS ve CuO NP'leri ile birlikte eş zamanlı olarak uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan ve alkillayıcı bir ajan olan MMS ve metal oksit nanopartikülü olan CuO NP'lerinin her ikisi de hem anormal hücre frekansını hem de KA/Hücre oranını, 24 ve 48 saatlik uygulamaların her ikisinde de negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde arttırmıştır. BA'nın tek başına 24 saatlik muamelesi sonucunda, 0,0313; 0,0625 ve 0,125 µg/mL'lik konsantrasyonların, anormal hücre frekansını kontrole kıyasla artırmadığı gibi, bir miktar düşürdüğü ancak bu düşüşlerin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. 0,25 µg/mL'lik konsantrasyonun anlamlı olmayan küçük bir artışa, 0,5 µg/mL'lik konsantrasyonun ise, kontrole kıyasla anlamlı bir artışa sebep olduğu belirlenmiştir. BA'nın tek başına muamelesi, hiçbir konsantrasyonda, KA/Hücre oranında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Diğer yandan, BA'nın hem MMS ve hem de CuONP'leri ile eş zamanlı muamelesi, kendi pozitif kontrol gruplarına kıyasla anormal hücre frekansı ve KA/Hücre oranını, tüm

konsantrasyonlarda (KA/Hücre için 0,5 µg/mL hariç) anlamlı bir şekilde azaltmıştır. 48 saatlik muamelede, BA'nın kullanılan hiçbir konsantrasyonu, kontrol gurubuna kıyasla anormal hücre frekansı ve KA/Hücre oranında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Bunun tersine, BA+MMS ve BA+CuONP şeklindeki eş zamanlı uygulamalarda, anormal hücre frekansını ve KA/Hücre sayısını, tüm konsantrasyonlarda (KA/Hücre için 0,5 µg/mL'lik konsantrasyon hariç), kendi pozitif kontrollerine kıyasla, anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir. Özetle, BA'nın özellikle düşük konsantrasyonlarda, tek başına kromozom anormallığı oluşturmadağı gibi, MMS ve CuO NP'lerinin oluşturduğu kromozomal hasarlara karşı antigenotoksik/antimutajenik/iyileştirici/koruyucu özellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasının sonuçlarına göre, 24 saatlik eş zamanlı uygulamalarda borik asitin MMS'ye karşı anormal hücre frekansını ve KA/Hücre oranındada en yüksek iyileştirmeyi 0,0313 µg/mL (anormal hücre frekansı için %123,07; KA/Hücre için %127,27) ve CuO NP'lerine karşı en yüksek iyileştirmeyi 0,0625 µg/mL (anormal hücre frekansı ve KA/Hücre için %88,88)'lik konsantrasyonda gerçekleştirmiştir. Diğer yandan, 48 saatlik eş zamanlı uygulamalarda MMS'ye karşı anormal hücre frekansında en yüksek düzeyde iyileştirmeyi 0,0313 ve 0,0625 µg/mL (%11,11) gerçekleştirirken, CuO NP'lerine karşı en yüksek iyileştirmeyi 0,0625 ve 0,125 µg/mL (%88)'lik konsantrasyonlarda gerçekleştirmiştir. 48 saatlik uygulamada KA/Hücre oranında ise MMS'ye karşı en yüksek düzeyde iyileştirme 0,0313 µg/mL (%112,50) ve CuO NP'lerine karşı en yüksek düzeyde iyileştirme 0,0625 ve 0,125 µg/mL (%90)'lik konsantrasyonlarda belirlenmiştir.

Kromozom anormallikleri testi, fiziksel ve/veya kimyasal ajanların kromozom düzeyinde meydana getirdiğı anormallikleri tespit edebilen bir yöntemdir. Periferik kan lenfositlerinde KA düzeyindeki artışın, insanlarda kanser riskinin biyolojik bir belirteci olduğı kabul edilmektedir (Ataseven, Yüzbaşıoğlu, Keskin ve Ünal, 2016). KA'lerinin incelenebilmesi için hücre kültürüne, *Colchicum autumnale*'den elde edilen bir alkaloid olan kolkisin ilave edilmektedir. Böylece, iğ ipliklerinin oluşumu engellenerek hücre bölünmesi metafaz safhasında durdurulur ve sonuçta çok sayıda metafazın incelenmesine imkân sağlanır (İla ve Hüsnet, 2022: 153, 184).

Bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan MMS ve CuO NP'leri, insan lenfositlerinde, kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatitlerde birleşme ve disentrik kromozom şeklinde yapısal anormallikler ve poliploidi tipinde sayısal anormallik

oluşturmuştur. Tek başına borik asit muamelesi ise eş zamanlı muamele gruplarından farklı olarak kromatit değişimi oluşturmuş ancak disentrik kromozom oluşturmamıştır.

Kromatit kırığı, DNA çift zincir kırıklarından kaynaklanan ve kromozomun yalnızca tek bir kromatitinde kırık meydana gelmesi olayıdır. Hücre döngüsünün geç S ve G₂ fazlarında ortaya çıkan yapısal bir kromozom anormallığıdır (Yılmaz, Ünal, Yüzbaşıoğlu ve Aksoy, 2008). Kromozom kırığı, DNA'da meydana gelen çift zincir kırıklarından kaynaklanmaktadır. Bir ajan, hücre döngüsünün G₀ veya G₁ fazında etkiliyse kromozom kırığı oluşmaktadır. Eğer, G₁ fazında kromozomun sadece bir kromatitinde kırık meydana gelir ve S fazı boyunca devam ederse, metafazı takiben her iki kromatitte kırık oluşmaktadır (Saygılı, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2021). Fragmentler, kromozomlarda meydana gelen kromatit veya kromozom kırılmalarının yapısal sonucudur. Eğer oluşan bu kırılma tekrar birleşmezse bir delesyonlu kromozom ve bir asentrik fragment ortaya çıkmaktadır (Ünal, Yüzbaşıoğlu ve Çelik, 2020). Kardeş kromatitlerde birleşme, kromozomun her iki kardeş kromatitinde meydana gelen terminal delesyonlar sonucu aynı noktadan kesilen kırık kardeş uçların yeniden birleşmesi ile meydana gelmektedir (Savage, 1976). Disentrik kromozomlar da terminal uçları delesyona uğrayan iki kardeş kromatitten veya homolog olmayan iki kromozom arasında uçtan uca bir füzyon sonucunda meydana gelebilir. Kromozomların ucunda yer alan, ifade edilmeyen tekrar dizilerinden oluşan ve transkripsiyona uğramayan bölge olarak bilinen telomerler, kromozom bütünlüğü açısından büyük önem taşımaktadır. Hücre bölünmeleri ile tekrarlanan genom replikasyonunun sonucunda, telomerlere özgü DNA tekrarlarının sayısında kademeli bir azalma olması, telomerlerin zamanla ortadan kalkmasına ve sonuçta yapışkan kromozom uçlarının oluşumuna sebep olmaktadır. Çeşitli ajanların etkisi ile telomer bölgelerinden önceki alanlarda DNA'da oluşan kırıklar da aynı şekilde yapışkan uçlar oluşturmaktadır. Bu yapışkan uçlarda gerçekleşen telomer füzyonu (telomer birleşmesi) ile disentrik kromozomlar oluşmaktadır (Pellestor, Gaillard, Schneider, Puechberty ve Gatinois, 2022). Kromatit değişimi, farklı kromozomlar arasındaki kromatit kırılmaları ve takiben oluşan değişimlerdir. Aynı kromozomun iki kolu arasında veya aynı kromozom kolu üzerindeki iki farklı bölgede veya farklı kromozomların kromatitleri arasında da meydana gelebilmektedir (Revell, 1974: 367, 416). Halka kromozom, her iki kromozom kolundaki telomer bölgelerinin ve ayrıca bazı gen bölgelerinin kırılması ve ardından kırık uçların füzyonu sonucunda oluşmaktadır. Sonuçta, genetik materyal kaybına yol açmaktadır (Guilherme ve diğerleri, 2011).

Sayısal kromozom anormalliği olarak bilinen poliploidi, hücre bölünmesi sırasında mitotik iğ ipliklerindeki bozulmadan kaynaklanmaktadır. Bu bozulma nedeniyle, bir kromozomun kardeş kromatitleri anafaz sırasında normal şekilde ayrılamaz (kromozom ayrılmaması) ve sonuçta bir hücrede, diploid kromozom sayısının iki katı kadar sayıda artış gerçekleşir. Poliploidinin ana mekanizmasını, DNA'da kırıklara neden olabilen topoizomerez enzimler oluşturmaktadır. Topoizomerez II (TP-II) enzimi, ATP (adenozin trifosfat) kullanarak DNA'da çift zincir kırıkları oluşturur ve sarmal bir yapıya sahip olan DNA'nın çözülmesine yol açar. TP-II enzimi inhibe edildiğinde ciddi DNA hasarına neden olur ve kromozom sayısında artışlar meydana gelerek poliploidi oluşabilmektedir. Poliploid hücreler, kemik iliği, kalp, iskelet kası, beyin ve karaciğer gibi memeli organlarında da yüksek sıklıkta bulunabilmektedir (Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014; İla ve Hüsnet, 2022: 153, 184; Was ve diğerleri, 2022).

Kromozom anormalliklerinin temelinde DNA rekombinasyonu, onarımı ve replikasyon süreçlerini içeren farklı mutasyon mekanizmaları yer almaktadır. Kromozom anormalliklerinin frekansındaki artış, tamirin yapılmadığı ya da yanlış yapıldığının bir belirticidir. Yapılan çalışmalar, kromozom yapısındaki ve sayısındaki anormalliklerin frekansındaki artış ile kanser oluşumu arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, insan lenfositlerinde, yapısal ve sayısal anormalliklerin belirlenmesi insan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014; İla ve Hüsnet, 2022: 153, 184).

MMS'nin genotoksik mekanizması, bazlar ile reaksiyona girmesi sonucunda oluşturduğu modifikasyonlar ile ilgili olup, sonuçta bazların N-glikozidik bağları zayıflamaktadır. MMS, DNA zincirinde depürinasyon/depirimidinasyona yol açmaktadır. Bu durum abazik bölgelerin oluşumuna neden olmaktadır. MMS kaynaklı toksisite ve genotoksisite, S_N2 (metilleyici ajan tipi) alkilleyici ajanlara maruz kalmanın ardından oluşan anahtar sitotoksik olaylar olarak kabul edilmektedir. Ana eklenti N7MeG (N7-metilguanin), replikasyonu engellemez ve yanlış kodlama yapmaz, ancak depürinasyon onarılmadığı takdirde mutajenik ve sitotoksik olabilen bir apürinik (AP) bölge oluşturulmaktadır (Habas, Najafzadeh, Baumgartner, Brinkworth ve Anderson, 2017; Khan ve diğerleri, 2021).

Nanopartiküllerin genotoksik mekanizması doğrudan (DNA iplikçikleri ile bağlantı kurarak) veya dolaylı (oksidatif stresi indükleyerek) olmak üzere iki yolla gerçekleşebilmektedir.

NP'ler nükleer gözeneklerden çekirdek içine nüfuz ederek veya mitoz sırasında çekirdek zarından arındırılmış DNA molekülleriyle doğrudan etkileşime girebilir veya bunların replikasyonunu ve transkripsiyonunu bozabilir. Bu durum, doğrudan genotoksik etki olarak adlandırılmaktadır. Diğer yandan, dolaylı genotoksik etkide NP'ler, nükleer proteinler, mitotik iğler veya kontrol noktaları ile etkileşime girerek ve antioksidan savunma mekanizmasının inhibisyonu ile toksisiteye neden olmaktadır (Naz, Gül ve Zia, 2020; Eskin ve Bozdoğan, 2022). NP'lerin bir grubu olan metal oksit nanopartiküllerinin genotoksik mekanizması, kapsamlı çalışmalara rağmen henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Buna rağmen, bir metal oksit nanopartikülü olan CuO NP'lerin, olası genotoksik mekanizmasının, DNA'nın yapısı ve onarım sistemi üzerindeki doğrudan etkisinden ve dolaylı veya ara indüksiyon mekanizmalarından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Chelomin, Slobodskova, Zakhartsev ve Kukla, 2017; Naz, Gül ve Zia, 2020).

Çalışmamızda, borik asitin hem MMS ve hem de CuO NP'lerine karşı sergilediği antigenotoksik/antimutajenik/koruyucu/iyileştirici etkisi, başka araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen çalışmalar ile de benzerlik göstermektedir. Örneğin, Türkez ve diğerleri (2024), genotoksik bir kanserojen olarak kabul edilen 3-MCPD'nin (3-kloro-1,2-propanediol; 11,12 mg/L, IC₅₀), insan tam kan hücreleri üzerindeki sitotoksik, oksidatif ve genotoksik hasar oluşturma potansiyeline karşı, BA ve boraksın (BA ve BX; 2,5, 5 ve 10 mg/L) olası iyileştirici etkisini, 72 saat muamele süresince araştırmıştır. Çalışmada, sitotoksik etki MTT ve laktat dehidrogenaz (LDH) testi ile, oksidatif hasar ise total antioksidan kapasite (TAC) ve malondialdehit (MDA) düzeyleriyle değerlendirilmiştir. Genotoksisite için kromozom anormallikleri ve 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) testleri uygulanmıştır. Test sonuçları, 3-MCPD bileşiğinin sitotoksisiteyi ve oksidatif stresi, konsantrasyona bağlı şekilde artırdığı belirlenmiştir. 3-MCPD ayrıca, MDA ve TAC düzeyi ile, KA/Hücre ve 8-OHdG seviyesinde de anlamlı artışlara sebep olmuştur. Diğer yandan, BA ve BX, MTT ve LDH değerlerine göre, en yüksek konsantrasyonda bile herhangi bir sitotoksik etki göstermemiştir. MDA, KA/Hücre ve 8-dOHG düzeyinde kontrole kıyasla herhangi bir artış oluşturmamıştır. TAC seviyesinde ise, kontrole kıyasla anlamlı bir artış oluşturmıştır. BA ve BX'in, 3-MCPD ile birlikte uygulandığı hücrelerde ise, bütün konsantrasyonlarda sitotoksik etkiyi anlamlı şekilde düşürdüğü, ayrıca, TAC seviyesinde, KA/Hücre ve 8-dOHG düzeyinde anlamlı düşüşler oluşturduğu bildirilmiştir. Kısaca, BA ve BX, 3-MCPD'nin sebep olduğu sitotoksik, oksidatif ve genotoksik hasarlara karşı koruyucu/iyileştirici/antigenotoksik etki göstermiştir. BA, BX'e kıyasla daha yüksek

düzeyde koruyucu/iyileştirici etki sergilemiştir. BA ve BX'in koruyucu etki mekanizmasının bu bileşiklerin antioksidan rollerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle araştırmacılar, diyetlere bor takviyesi yapılmasının, 3-MCPD ve diğer ksenobiyotikler tarafından oluşturulan hematotoksik etkilerin iyileştirilmesinde yeni bir strateji olabileceğini belirtmişlerdir (Türkez ve diğerleri, 2024).

Bor bileşiklerinden BA, BX, kolemanit (COL) ve üleksit (UX)'in alüminyum klorür ($AlCl_3$) kaynaklı hematotoksisite ve nörotoksisteye karşı genetik, sitolojik, biyokimyasal ve patolojik açıdan iyileştirici etkileri de insan periferik kan lenfositleri ve rat sistemleri üzerinde KA testi kullanılarak araştırılmıştır (Türkez ve diğerleri, 2022). $AlCl_3$, *in vitro* ve *in vivo* uygulamalarda, kan ve beyinde, oksidatif stres ve KA frekansını anlamlı şekilde artırmıştır. Beyinde, ciddi histopatolojik bozulmalar oluşturmuştur. Diğer yandan, bor bileşiklerinin tek başına uygulamalarının incelenen parametreler açısından ciddi yan etkiler oluşturmadığı, tam tersine, $AlCl_3$ 'in zararlı etkilerini bertaraf ederek antioksidan, antigenotoksik ve sitoprotektif etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Bu düzeydeki faydalı etkileri nedeniyle, bor bileşiklerinin insanda tıbbi amaçlarla kullanılma potansiyeline sahip olduğu vurgulanmıştır. Sonuç olarak, bor bileşiklerinin (özellikle BA, BX ve UX), nörodejeneratif ve hematolojik anormallikleri engellemek amacıyla, canlılarda belirlenen dozlarda kullanılabileceği vurgulanmıştır (Türkez ve diğerleri, 2022).

Geyikoğlu ve Türkez (2008), insan lenfositlerinde, vanadyum (IV) tetraoksitin (5, 10 ve 20 mg/L) genotoksisitesine karşı borik asit ve boraksın (BA ve BX; 5 ve 10 mg/L) koruyucu rolünü belirlemek için KA testini uygulamıştır. Tıbbi ve farmakolojik alanda kullanılan vanadyumun, genotoksik etkiler gösterdiği bilinmektedir. Yapılan bu çalışmada, vanadyum (IV) tetraoksitin KA frekansını kontrole kıyasla önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir. Diğer yandan, BA'nın test edilen konsantrasyonları, KA frekansını kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaltmıştır. Benzer şekilde, BX'in 10 mg/L'lik konsantrasyonunun da kontrol grubuna kıyasla KA frekansını anlamlı düzeyde azalttığı, fakat 5 mg/L'lik konsantrasyonun kontrole kıyasla küçük miktarda bir anlamlı artışa neden olduğu bulunmuştur. Bor bileşiklerinin vanadyum (IV) tetraoksit ile eş zamanlı muamelesinde ise vanadyum kaynaklı artan KA frekansını, BA ve BX'in, tüm konsantrasyonlarda anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir. BA ve BX'in, kimyasal yapıları ve cis-hidroksil içeren moleküller arasında diester köprüleri oluşturma kapasiteleri nedeniyle genotoksisiteye karşı farklı roller üstenebildiği bildirilmiştir (Geyikoğlu ve Türkez, 2008).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, BA ve bor bileşiklerinin organizmalar üzerinde daha ziyade antigenotoksik potansiyele sahip olduğunu gösteren çalışmaların yanında, bu bileşiklerin genotoksik risk taşıyabileceğini gösteren araştırmalar da mevcuttur. Kumar ve Srivastava (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, BA'nın kendisi gibi gıda katkı maddesi olarak kullanılan Sunset Yellow (SY) boyası ile *Trigonella foenum-graecum* L. (çemen otu) bitkisi üzerindeki genotoksik etkisi KA testi ile değerlendirilmiştir. Her iki katkı maddesinin (%0,25; 0,50; 0,75 ve 1), konsantrasyon artışına bağlı olarak mitotik indeksi azalttığı ve KA frekansını arttırdığı tespit edilmiştir. BA'nın neden olduğu en yaygın anormallikler metafazda yapışkanlık, anafazda köprü ve yapışkanlıktır. BA ve SY'nin mitoinhibitör etkiye ve genotoksik özelliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (Kumar ve Srivastava, 2011).

Bu tez çalışmasında, test maddelerinin olası genotoksik ve/veya antigenotoksik etkilerini belirlemek amacıyla kullanılan yöntemlerden biri olan kardeş kromatit değişimi (KKD) testi de uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan MMS ve CuO NP'lerin, her ikisi de 24 ve 48 saatlik uygulamalarda KKD frekansında, negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde artışa sebep olmuştur. BA'nın 24 ve 48 saatlik muamelesinde, 0,0313, 0,0625 ve 0,125 ve 0,25 µg/mL'lik konsantrasyonların, kontrol grubuna kıyasla KKD frekansını artırmadığı gibi, en düşük iki (24 saatlik uygulamada) ve üç (48 saatlik uygulama) konsantrasyonda bir miktar düşürdüğü dahi gözlenmiştir. Ancak bu düşüşler anlamlı düzeyde değildir. En yüksek konsantrasyonda ise (0,5 µg/mL), KKD/Hücre düzeyi, kontrole kıyasla anlamlı şekilde artış göstermiştir. Diğer yandan, BA+MMS eş zamanlı muamelesi, 24 saatlik uygulamada, bütün dozlarda KKD/Hücre oranında anlamlı olmayan küçük değişikliklere sebep olmuştur. BA+CuONP'lerinin eş zamanlı muamelesinde ise, en düşük iki konsantrasyonun (0,0313 ve 0,0625 µg/mL) KKD/Hücre düzeyinde CuONP'lerinin tek başına oluşturduğu KA frekansına kıyasla anlamlı düşüşlere sebep olduğu, iki yüksek konsantrasyondaki (0,125 ve 0,25 µg/mL) değişimlerin ise anlamlı olmadığı belirlenmiştir. 48 saatlik uygulamada, borik asit, insan lenfositlerinde tek başına KKD/Hücre düzeyinde anlamlı bir artış oluşturmadığı gibi, hem MMS (0,125 µg/mL hariç) ve hem de CuO NP'lerinin (0,5 µg/mL hariç) oluşturduğu KKD/Hücre oranını anlamlı düzeyde düşürmüştür.

Bu tez çalışmasından elde edilen verilere göre borik asitin MMS ile eş zamanlı şekilde, 24 saatlik muamelesinde en düşük üç konsantrasyonda (0,0313-0,125 µg/mL) pozitif kontrole (MMS) kıyasla KKD frekansında anlamlı olmayan azalmalar meydana gelmiştir. BA'nın, MMS'ye karşı en yüksek iyileştirme düzeyini 0,0313 µg/mL'de (%35,06) gerçekleştirdiği

gözlenmiştir. Diğer yandan, borik asitin CuO NP'leri ile eş zamanlı muamelesi, 0,0313-0,25 µg/mL'lik konsantrasyonlarda pozitif kontrole (MMS) kıyasla anlamlı (0,125 ve 0,25 µg/mL) azalmalar oluşturmuştur. Buradaki en yüksek iyileştirme %39,07 ile 0,0313 µg/mL'lik konsantrasyonda tespit edilmiştir. 48 saatlik uygulamalarda ise MMS ve CuO NP'lerine karşı en yüksek iyileşme 0,0313 µg/mL'lik konsantrasyonda (BA+MMS için %59,82 ve BA+CuO NP'leri için %64,83) gerçekleşmiştir.

Tıbbi ve farmasötik alanlarda kullanılan ancak bazı toksik etkileri olduğu bilinen vanadyum (IV) tetraoksitin insan lenfositlerinde genotoksik olup olmadığı ve bor bileşiklerinden BA ve BX'in (5 ve 10 mg/L) bu etkileri iyileştirici rol oynayıp oynamadığını belirlemek amacıyla da kardeş kromatid değişimi testi uygulanmıştır. Vanadyumun tek başına muamelesi, lenfositlerde KKD frekansını anlamlı düzeyde artmıştır. Diğer yandan BA ve BX'in tek başına muamelesinde kontrole kıyasla KKD frekansında anlamlı bir artış olmadığı, tam tersine, vanadyum ile eş zamanlı uygulandığında vanadyuma karşı, konsantrasyon artışına bağlı şekilde antigenotoksik potansiyel gösterdikleri rapor edilmiştir (Geyikoğlu ve Türkez, 2008). Benzer bir çalışmada, BA ve BX'in (2,5; 5 ve 10 µM), potansiyel bir kanserojen/mutajenik ajan olan titanyum dioksit (TiO₂-1; 2; 3; 5; 7,5 ve 10 µM) karşı iyileştirici rolü insan tam kan kültürlerinde KKD testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Mevcut bulgulara göre, TiO₂'in (2, 3, 5, 7,5 ve 10 µM) KKD frekanslarını kontrole kıyasla anlamlı düzeyde arttırdığı bulunmuştur. BA ve BX'in kullanılan hiçbir konsantrasyonu KKD frekansında anlamlı artış oluşturmamıştır. Diğer yandan, bu bileşikler TiO₂'in oluşturduğu KKD düzeyini ciddi şekilde düşürmüştür. Bu etkinin, BA ve BX'in koruyucu etkisinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Türkez, 2008).

Borik asitin genotoksinlere karşı iyileştirici özellik gösteren çalışmalarının yanı sıra, bazı araştırmalar, bu bor bileşiğinin genotoksik risk taşıyabileceğini de bildirmiştir. Örneğin, yapılan bir çalışmada, BA'nın (400, 600, 800 ve 1 000 µg/mL; 24 ve 48 saat muamele) insan periferik lenfositleri üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla KA ve KKD testleri uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar, BA'nın KA frekansını konsantrasyon artışına bağlı olarak artırdığını göstermektedir. Borik asitin, DNA'nın fosfodiester bağı kırarak KA oluşumuna yol açabileceği bildirilmiştir. BA, KKD frekansını ise önemli ölçüde arttırmadığı belirlenmiştir. Diğer yandan, BA'nın mitotik indeks ve replikasyon indeksi değerlerini azaltarak sitotoksik bir etki gösterdiği rapor edilmiştir. Araştırmacılar, BA'nın yüksek

konsantrasyonlarda potansiyel risk oluşturabildiğini rapor etmiştir (Arslan, Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2008).

Benzer şekilde, BA'nın (0,195; 0,391; 0,781; 1,563; 3,125; 6,250 ve 12,500 mM), DU-145 insan prostat kanseri hücreleri üzerindeki etkileri MTT ve biyokimyasal testler uygulanarak araştırılmıştır. BA, DU-145 hücrelerinde konsantrasyona bağlı olarak oksidatif strese, hücre büyümesinin inhibisyonuna, apoptoza ve morfolojik değişikliklere neden olmuştur. Ayrıca, BA uygulamasının, hücrelerdeki antioksidan düzeylerini konsantrasyon artışına paralel bir şekilde azalttığı saptanmıştır. BA'nın, belirli konsantrasyonlarda oksidan görevi görerek hücre çoğalmasını inhibe edebildiği bildirilmiştir. Diğer yandan, yüksek konsantrasyonlarda bor bileşiklerinin antioksidan enzimlerin aktiviteleri ve glutatyon seviyeleri üzerinde inhibe edici etkiler gösterebileceği rapor edilmiştir (Hacıoğlu, Kar, Kaçar, Şahintürk ve Kanbak, 2020).

KKD testi, klastojenlerin aktivitesinin tespitinde kullanılan bir genotoksisite testidir. KKD, iki özdeş kardeş kromatit arasında genetik materyal alışverişi yapan doğal bir moleküler süreçtir. Hücre döngüsünün S fazı esnasında DNA replike olur ve her kromozom, sentromerde sıkı bir şekilde birleşen, birbirine yakın ilişkili iki yavru kromatit halinde kopyalanır. Kardeş kromatitler, ortaya çıkan yavru hücelere ayrılmadan önce mitozun geç profazında ve erken metafazında belirgin halde görülebilmektedir. KKD oluşumunda, kanserojenler gibi genotoksik ajanlar ve kromozom instabilite sendromlarına yol açan DNA onarım mekanizmalarındaki hatalar rol oynamaktadır. Bir ajanın KKD frekansını arttırması, o ajanın replikasyon mekanizmasını etkilediğini ve DNA hasarına neden olabileceğinin bir göstergesidir. Diğer yandan, bazı genetik hastalıkların KKD frekansı ile ilişkisi olduğu bilinmektedir. Örneğin, bloom sendromuna sahip bireylerin KKD frekansları normal kişilere kıyasla 10 ile 13 kat daha fazla düzeydedir. Nükleotid eksizyon onarımı enziminin mutasyona uğraması ile ortaya çıkan bir hastalık olan xeroderma pigmentosum (XP) hastaları için de benzer durum mevcuttur. XP'li bireylerin KKD frekansı ile normal bireylerin KKD frekansı arasında bir fark bulunmamıştır ancak XP'li bireylerin ultraviyole ve X ışınlarına ve alkilleyici ajanlara maruz kalması durumunda KKD frekanslarında yüksek düzeyde artışlar olduğu saptanmıştır (Conrad, Künzel ve Löbrich, 2011; Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2016; Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2022).

Kardeş kromatit değişimlerini görünür kılabilmek amacıyla hücre kültürüne BrdU (bromodeoksiüridin) ilavesi yapılmaktadır. KKD'nin gözlenebilmesi için iki hücre siklusu gereklidir. BrdU, birinci sentez sırasında sadece yeni sentezlenmiş olan DNA ipliğine katılır ancak her iki kardeş kromatit te koyu renkli boyanır. Aynı hücreler ikinci replikasyonu geçirdikten sonra, orijinal DNA zincirine sahip olan kardeş kromatit bir normal DNA ipliğine ve bir BrdU içeren DNA ipliğine sahip olur. Diğer kardeş kromatitin her iki ipliğinde de BrdU bulunur. Bu esnada kromozomların bir kromatiti koyu renkli ve diğer kromatiti açık renkte (BrdU içerdiği için) boyanır. Herhangi bir etkiden dolayı kromatitlerde kırılma ve takiben karşılıklı değişim meydana gelirse, boyama farkı nedeniyle, değişim bölgeleri kolayca ayırt edilebilir. KKD sayıları da buna göre değerlendirilir (Çelik, 2022: 185, 217).

Bu tez çalışmasında uygulanan bir diğer yöntem sitokinez blok mikronükleus testidir. BA'nın 0,0313; 0,0625, 0,125, 0,25 ve 0,5 µg/mL'lik konsantrasyonları hem tek başına ve hem de MMS ve CuO NP'leri ile eş zamanlı olarak lenfositlere uygulanmıştır. MMS ve CuO NP'leri, negatif kontrol grubuna kıyasla MN frekansında anlamlı artışlara sebep olmuştur. Ancak, nükleer tomurcuk (NTK) ve nükleoplazmik köprü (NPK) oluşumundaki değişimler anlamlı düzeyde değildir. Diğer yandan, BA'nın tek başına uygulaması, hiçbir konsantrasyonda, MN, NTK ve NPK frekansında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Eş zamanlı uygulamalarda (BA+MMS ve BA+CuO NP) ise, BA, kendi pozitif kontrollerine kıyasla MN frekansını tüm konsantrasyonlarda anlamlı olarak azaltmıştır (BA+CuO NP için 0,5 µg/mL hariç). Borik asit, MMS ve CuO NP'lerinin oluşturduğu MN frekasına karşı en yüksek iyileştirmeyi 0,0313 µg/mL'lik konsantrasyonda %82,35 düzeyinde göstermiştir.

Bu çalışmanın bulguları, borik asitin insan lenfositlerinde tek başına MN frekansı, NT ve NPK oluşturmada anlamlı bir etkisinin olmadığını, tam tersine, özellikle düşük konsantrasyonlarda, genotoksinler tarafından tetiklenmiş olan MN frekansına karşı daha yüksek düzeyde iyileştirici/koruyucu/antigenotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu tez çalışmasında elde edilen veriler, literatürdeki veriler ile de uygunluk göstermektedir. Örneğin, Türkez ve diğerlerinin (2010) yaptığı bir çalışmada, insan lenfositlerinde BA'nın (2,5 ve 5 mg/L), kemoterapi ilacı olan paklitaksele (PAC-10 ve 20 µg/L) karşı olası iyileştirme potansiyeli araştırılmıştır. Çalışmada, KKD ve MN oluşumlarının tespiti için 72 saatlik muamele süresi uygulanmıştır. BA'nın tek başına muamelesi KKD ve MN frekansında anlamlı bir değişiklik oluşturmaz iken, PAC'in, lenfositlerde KKD ve MN oluşumunu anlamlı düzeyde arttırdığı belirtilmiştir. Diğer yandan, BA + PAC'in eş zamanlı

muamelesi sonucunda, PAC'in neden olduğu KKD ve MN frekansında anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Ayrıca, PAC'in 20 µg/L'lik konsantrasyonu lenfositlerdeki nükleer bölünme indeksini azaltmıştır. Kültürlere BA eklenmesi, nükleer bölünme indeksini, 2,5 mg/L'lik konsantrasyonda anlamlı olmayan düzeyde bir miktar attırdığı ve bunun tersine, 5 mg/L'lik konsantrasyonun kontrole kıyasla bir miktar düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgular, BA'nın, insan lenfositlerinde paklitakselin genotoksitesine karşı koruyucu/antigenotoksik rol oynadığını göstermektedir. Araştırmacılar, BA'nın koruyucu mekanizmasının doku antioksidan kapasitesini güçlendirme ve serbest oksijen radikallerine karşı savunma yeteneğinden kaynaklandığını düşünmektedir. Diğer yandan, araştırmacılar BA'nın 2,5 mg/L'lik konsantrasyonunun 5 mg/L'lik konsantrasyondan daha güçlü bir koruma etkisine sahip olduğu belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyonun (5 mg/L) daha az koruyucu etkiye sahip olması, fizyolojik sınırların ötesinde olmasından kaynaklanmaktadır (Türkez, Tatar, Hacımüftüoğlu ve Özdemir, 2010).

Alak ve diğerleri (2020a) ticari açıdan önemli bir bor minerali olan kolemanitin (COL; 5, 10 ve 20 mg/L) *Danio rerio* (zebra balığı) üzerindeki etkilerini, MN ve bazı biyokimyasal testleri uygulayarak incelemiştir. Kullanılan COL konsantrasyonlarının beyinde ve karaciğerde oksidatif strese, DNA hasarına ve apoptoz oluşumlarına neden olmadığı saptanmıştır. COL'in zebra balığında genotoksik hasarı tetiklemediği, MN frekansında, oksidatif strese, apoptozda ve DNA hasar düzeylerinde anlamlı bir artış oluşturmadığı rapor edilmiştir. Diğer yandan, COL'in oksidatif stresi önlemede, yüksek konsantrasyona (20 mg/L) kıyasla, düşük konsantrasyonlarda (5 ve 10 mg/L) daha etkili olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, COL'in balık karaciğerinde 5 ve 10 mg/L konsantrasyonlarda antioksidan kapasiteyi desteklediğini ve aynı zamanda düşük COL konsantrasyonlarının beyinde oksidatif strese, DNA hasarına ve hatta apoptoz oluşumlarına neden olmadığını bildirmiştir (Alak ve diğerleri, 2020a).

Sprague Dawley ratlarında yürütülen bir araştırmada, BA'nın (3,25; 13; 36 ve 58,5 mg/kg), alüminyum klorüre (AlCl₃; 5 mg/kg) karşı koruyucu rolü, MN ve çeşitli biyokimyasal testler (alkalin fosfataz; ALP, aspartat aminotransferaz; AST, alanin aminotransferaz; ALT ve laktat dehidrojenaz, LDH) ile araştırılmıştır. Çalışmada, Sprague Dawley ratları rastgele on gruba ayrılmış ve her grupta beş rat bulundurulmuştur. Ratlar, on gün BA maruziyetini takiben dört gün boyunca AlCl₃ ile muamele edilmiştir. AlCl₃ maruziyetinden sonra, hepatositlerdeki MN frekansında ve ALP, AST, ALT ve LDH gibi bazı enzim aktivitelerinde

önemli ölçüde artış meydana gelmiştir. Diğer yandan, BA'nın tek başına muamelesi, en küçük iki konsantrasyonda (3,25 ve 13 mg/kg) kontrol grubuna kıyasla hepatositlerdeki MN frekansında anlamlı bir azalma meydana getirmiştir. BA'nın en yüksek iki konsantrasyonu ise kontrole kıyasla MN frekansında anlamlı düzeyde artış oluşturmuştur. Bunun tersine, BA ile $AlCl_3$ 'ün eş zamanlı muamelesi, hepatositlerdeki MN frekansında ve test edilen biyokimyasal parametrelerde, BA, alüminyum kaynaklı hasarları azaltarak koruyucu rol üstelenmiştir. Araştırmacılar, BA'nın karaciğer belirteç enzimlerinin dolaşıma katılmasını engellediğini ve dolayısıyla $AlCl_3$ toksisitesinin neden olduğu hasarları sınırlayarak koruyucu etki gösterdiğini bildirmiştir (Türkez, Geyikoğlu ve Çolak, 2011).

Vanadyum (IV) tetraoksitin farklı konsantrasyonlarının (5, 10 ve 20 mg/L) genotoksik etkisi ve borik asit ve boraksın (BA ve BX; 5, 10 ve 20 mg/L) koruyucu etkisini belirlemek için MN ve TAC testlerinin uygulandığı bir çalışmada, vanadyum (IV) tetraoksitin, kontrole kıyasla, MN oluşumunu anlamlı düzeyde arttırdığı, diğer yandan proliferasyon indeksinde (10 mg/L'nin üzerindeki konsantrasyonların) anlamlı olmayan bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. BA ve BX'in test edilen konsantrasyonlarda sitotoksik ve genotoksik etki göstermediği gibi, vanadyum kaynaklı MN frekansını anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca, BA ve BX'in, eritrositlerde de TAC değerini yükselttiği saptanmıştır. Mevcut bulgular, bor bileşiklerinin, vanadyuma karşı konsantrasyona bağlı olarak antigenotoksik etkili olduğunu göstermektedir (Geyikoğlu ve Türkez, 2008).

Türkez (2008), TiO_2 (1; 2; 3; 5; 7,5 ve 10 μM) kaynaklı genotoksositeye karşı, BA ve BX'in (2,5; 5 ve 10 μM), insan kan kültürlerindeki etkisini belirlemek için MN testi uygulamıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, TiO_2 'in, MN (5, 7,5 ve 10 μM) frekanslarını, kontrole kıyasla önemli düzeyde arttırdığı belirlenmiştir. BA ve BX'in, kullanılan hiçbir konsantrasyonu, MN frekansı arttırmadığı gibi, bu iki bor bileşiğinin TiO_2 kaynaklı MN oluşumunu anlamlı ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Türkez, 2008).

Mikronukleus, bir hücre bölünmesinin metafaz safhasından anafaz safhasına geçişte oluşan ve ana çekirdeğe benzeyen ancak ondan daha küçük bir yapıdır. MN'ler, anöjenik (DNA üzerinde etkili) ya da klastojenik (iğ iplikleri üzerinde etkili) hasarların sonucunda oluşmaktadır. Hücre bölünmesi sırasında yavru hücrelerin kromozomları etrafında çekirdek zarı oluşurken, hücrede bulunan ve herhangi bir kutba ulaşmamış olan asentrik kromozom ve/veya kromatit kırıkları veya bütün kromozom/kromozomların etrafında da çekirdek zarı

oluşmaktadır. Ana çekirdekten daha küçük olan bu çekirdekler, mikronukleus olarak adlandırılmaktadır. MN'ler, ayrıca, sentromerik DNA'da ve kinetokor proteinlerindeki hatalardan veya histon modifikasyonları ve geç replikasyon sonucunda da oluşmaktadır. MN frekansındaki artışın ana nedenleri arasında, genotoksinlere yüksek düzeyde maruziyet, DNA replikasyonu ve onarımı için gerekli olan mikro besinlerde eksiklik, mitoz ve kontrol noktalarında önemli olan proteinlerde meydana gelen genetik hatalar gibi faktörler de bulunmaktadır. MN frekansındaki artış, fiziksel ve/veya kimyasal ajanların hücrelerde meydana getirdiği yapısal ve sayısal kromozom anormalliklerinin indirekt göstergesidir. Sitom testinde, incelenen her hücrenin canlılık durumu (nekroz, apoptoz), mitotik durumu (tek çekirdekli, binükleat, çok çekirdekli) ve kromozomal hasar veya instabilite durumu (nükleoplazmik köprü ve nükleer tomurcuk) tespit edilebilmektedir. NT, amplifiye DNA ve/veya DNA onarım komplekslerinin nükleer eliminasyonunun göstergesidir. Kromozom karasızlığının bir belirteci olan NT'ler, çekirdeğe ince bir nükleoplazmik bağlantıyla bağlanan ve mikronükleus benzeri cisimlerdir. NPK, hatalı DNA onarımının ve/veya telomer uç lezyonlarının bir göstergesidir. Disentrik kromozomlardan veya anafaz sırasında tamamen ayrılmamış kromatitlerden kaynaklanmaktadır. Telofaz safhasında ortaya çıkan anafaz köprüleri, iki kardeş çekirdeğe benzer şekilde nükleer membran tarafından sarılır ve çekirdekleri birleştiren nükleoplazmik köprü haline gelir (Yüzbaşıoğlu ve Avuloğlu-Yılmaz, 2022: 219, 249; Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2023).

Son yıllarda genotoksisite çalışmalarında oldukça yaygın bir şekilde kullanılan CBMN-Cyt testi, genotoksik ajanlara maruziyet sonucu ortaya çıkan ve çift zincir DNA kırıklarının oluşmasına aracılık eden anormallikleri tanımlamaktadır. Bu test, DNA hasarı ve yanlış onarımı, kromozomal instabilite, mitotik anormallikler ve hücre ölümünün doğrudan ve/veya dolaylı olarak ölçülmesini mümkün kılmaktadır. CBMN-Cyt yönteminde binükleat hücreleri görüntüleyebilmek için, hücre kültürüne sitokalsin B ilavesi yapılmaktadır. Sitokalsin B, *Helminthosporium dermatioideum* türü mantardan elde edilen mikotoksindir. Bu mikotoksin, mikrofilamentlerin artı ucuna aktinlerin eklenmesi ve ayrılmasını engeller. Bu durumda, sitokalsin B, karyokinezi durdurmazken sitokinezi inhibe eder ve binükleat (iki çekirdekli) hücreler meydana gelir. Bu test yönteminde, 1 000 binükleat hücre sayılır. Ayrıca, binükleatlardaki bir, iki veya daha fazla MN'ler de tespit edilerek toksisite değerlendirmesi yapılabilmektedir (Fenech, 2007; Yüzbaşıoğlu ve Avuloğlu-Yılmaz, 2022: 219, 249).

Epidemiyolojik çalışmalar, insan lenfositlerinde MN frekansındaki artış ile kanser insidansı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu sebeple, CBMN testi, kanser tanısının konulmasında ve takibinde de öneme sahiptir. Ayrıca, Fanconi anemisi, down sendromu, diyabet, kronik obstrüktif akciğer ve Behçet hastalığında da MN frekanslarının yüksek düzeyde olduğu bilinmektedir (Yüzbaşıoğlu, Avuloğlu-Yılmaz ve Ünal, 2014; Yüzbaşıoğlu ve Avuloğlu-Yılmaz, 2022: 219, 249).

Bu tez çalışmasında, test maddelerinin 1 saatlik uygulamasının DNA hasarı üzerine etkisini belirlemek için komet testi de uygulanmıştır. Bunun için, BA'nın 5 farklı konsantrasyonu (0,0313; 0,0625, 0,125, 0,25 ve 0,5 $\mu\text{g/mL}$) hem tek başına ve hem de pozitif kontrol olarak kullanılan CuO NP'leri (100 $\mu\text{g/mL}$) ve DNA'da kırıklar oluşturduğu bilinen hidrojen peroksit (H_2O_2 ; 100 μM) ile eş zamanlı şekilde insan lenfositlerine uygulanmıştır. Borik asitin test edilen tüm konsantrasyonlarda kuyruk uzunluğunu kontrol grubuna kıyasla azalttığını ancak bu azalmaların yalnızca en yüksek konsantrasyonda (0,5 $\mu\text{g/mL}$) anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, borik asit kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentini de kontrole kıyasla tüm konsantrasyonlarda azaltmıştır ancak bu azalmalar anlamlı düzeyde değildir. Diğer yandan, pozitif kontrol CuO NP'leri ve H_2O_2 , kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentini (CuO NP'leri hariç) kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttırmıştır. Bunun tersine, BA+ H_2O_2 'nin eş zamanlı muamelelerinde, H_2O_2 'in tek başına muamelesinden kaynaklanan kuyruk uzunluğunu tüm konsantrasyonlarda (0,0625 $\mu\text{g/mL}$ hariç), kuyruk yoğunluğunu en yüksek (0,5 $\mu\text{g/mL}$) ve en düşük (0,0313 $\mu\text{g/mL}$) konsantrasyonlarda anlamlı düzeyde düşürmüştür. Diğer yandan, bütün BA+ H_2O_2 konsantrasyonlarında kuyruk momentinde artış gözlenmiş olup, bu artış 0,5 $\mu\text{g/mL}$ 'de anlamlı düzeydedir. BA+CuO NP'lerinin eş zamanlı muamelesi ise kendi pozitif kontrolüne (CuO NP) kıyasla, düşük dozlarda (0,0313 ve 0,625 $\mu\text{g/mL}$) özellikle kuyruk uzunluğunda bir fark oluşturmamıştır. Ancak BA konsantrasyonu arttıkça, kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentinde artışlar olmuş, bu artış en yüksek konsantrasyonda anlamlılık göstermiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, H_2O_2 ve CuO NP'lerinin DNA hasarlarına sebep olduğunu, diğer yandan BA'nın özellikle H_2O_2 'in oluşturduğu DNA kuyruk uzunluklarında anlamlı düzeyde iyileştirme sağladığını göstermiştir. Borik asitin H_2O_2 'nin neden olduğu DNA hasarına karşı kuyruk uzunluğunda ve kuyruk momentinde en yüksek düzeyde iyileştirmeyi 0,0313 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda gerçekleştirirken (kuyruk uzunluğu için %67,22 ve kuyruk

momenti için %48,07), kuyruk yoğunluğunda en yüksek düzeyde iyileşme 0,5 µg/mL'lik (%48,56) konsantrasyonda gerçekleşmiştir. Diğer yandan, BA'nın CuO NP'leri eş zamanlı muamelesinde, kuyruk momentini yalnızca 0,0625 µg/mL'lik konsantrasyonda %11,53 düzeyinde iyileştirmiştir. BA'nın H₂O₂ ile eş zamanlı uygulamasında test edilen konsantrasyonlarda kuyruk momentinde önemli bir iyileştirme tespit edilmemiştir.

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular, BA'nın tek başına lenfositlerde DNA hasarı oluşturmadığını, tam tersine H₂O₂ kaynaklı DNA hasarını kuyruk uzunluğu açısından anlamlı düzeyde iyileştirici olduğunu göstermektedir. Diğer yandan CuO NP'lerinden kaynaklanan DNA hasarının, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olmaması nedeniyle, BA'nın CuO NP'leri ile eş zamanlı uygulamasında anlamlı bir düşüş de gözlenmemiştir. BA'nın H₂O₂'e karşı daha güçlü iyileştirici etki göstermesi, H₂O₂'in CuO NP'lerinden daha ciddi düzeyde DNA hasarlarına neden olmasından kaynaklanıyor olabilir. H₂O₂'in hedeflerden biri DNA olup, DNA'da tek veya çift zincir DNA kırıkları ve çapraz bağlar oluşturmaktadır. DNA'daki değişiklikler genellikle hücre tarafından onarılabilmektedir ancak kalıcı DNA hasarı oluştuğunda replikasyon hataları, genomik instabilite, onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ortaya çıkabilmektedir (Vilema-Enríquez, Arroyo, Grijalva, Amador-Zafra ve Camacho, 2016). Yapılan araştırmalarda, H₂O₂'in, genel olarak konsantrasyona bağlı şekilde genotoksik etkilerde artışlar gösterebileceği belirlenmiştir. Bazı araştırmalarda ise, H₂O₂ muamelesinin konsantrasyon veya zamana bağlı bir genotoksik etki sergilemediği de bildirilmiştir. Bu durumun DNA'da meydana gelen hasarların onarımından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Murphy ve Friedman, 2019). Komet testinde, BA'nın yüksek iyileştirme gösterememesi, uygulama süresinin 1 saat gibi oldukça kısa şekilde uygulanmasından da kaynaklanıyor olabilir. DNA onarım mekanizmaları genellikle 1 saatten, bazen 2 saatten ve hatta 3-4 saatten sonraki etkili bir onarım yapabilmektedir. Bankoğlu, Schuele ve Stopper (2021), yaptıkları bir çalışmada, TK6 hücrelerini H₂O₂ ile 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6 ve 20 saat boyunca muamele etmiştir. Araştırmacılar, H₂O₂ ile muamele sonucunda maksimum hasarın 0,5 saat (30 dakika) sonra gerçekleştiğini ve DNA ipliklerindeki kırılmaların zamanla kademeli olarak azalarak 20 saat sonra kontrol seviyesine ulaştığını tespit etmişlerdir. DNA hasarının zamanla azalmasının hem DNA onarımından hem de ağır hasar görmüş hücrelerin ölümünden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Bankoğlu, Schuele ve Stopper, 2021).

Bu tez çalışmasında, BA'nın özellikle H_2O_2 'in neden olduğu DNA hasarlarına karşı koruyucu özellik gösterdiği belirlenmiştir. Mevcut çalışma, literatürde gerçekleştirilmiş olan çalışmalar ile de benzerlik göstermektedir. Örneğin, Türkez ve diğerleri (2022), bor bileşiklerinin (BA, BX, COL ve UX) $AlCl_3$ kaynaklı genotoksisite, hematotoksisite ve nörotoksisiteye karşı insan periferik kan lenfositleri ve rat sistemleri üzerindeki etkilerini MN, komet, MTT ve biyokimyasal (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon (GSH), MDA, TAC ve toplam oksidatif stres), testleri kullanarak araştırmıştır. Elde edilen veriler, $AlCl_3$ 'ün kanda ve beyinde oksidatif stresi ve genetik hasarı arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca, $AlCl_3$, beyinde ciddi histopatolojik ve yapısal değişikliklere yol açmıştır. Bu durumun tersine, bor bileşiklerinin test edilen parametrelerde olumsuz değişikliklere neden olmadığı ve hatta $AlCl_3$ 'ün neden olduğu MN frekansını ve DNA hasarını anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir. Araştırmacılar, bor bileşikleriyle muamele edilen oksidatif stresi baskılayarak, genotoksik hasarı azaltabileceğini ve bor bileşiklerinin, antioksidan, antigenotoksik ve sitoprotektif etkiye sahip olduğunu rapor etmiştir (Türkez ve diğerleri, 2022).

Toksik ağır metaller olan kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb), insan sağlığına ciddi zararlar verebilecek önemli çevre kirleticileridir. Bu sebeple, BA'nın (2,5 ve 10 μM), V79 hücre kültürlerinde kadmiyum klorür ($CdCl_2$; 3, 5 ve 10 μM) ve kurşun klorür ($PbCl_2$; 3, 5 ve 10 μM) kaynaklı genotoksisiteye karşı potansiyel koruyucu etkilerini belirlemek amacıyla MN, komet, sitotoksisite testleri (NRU ve hücre titer mavisi testi; CTB) ve CREST analizi gerçekleştirilmiştir. $CdCl_2$ ve $PbCl_2$ belirgin sitotoksite gösterdiği gibi, MN frekanslarında ve DNA zincir kırılmalarında konsantrasyona bağlı artışlara da neden olmuştur. Bunun tersine, BA uygulamasının, test edilen metallerin genotoksik etkilerini güçlü bir şekilde azalttığı ve $CdCl_2$ ve $PbCl_2$ metallerine karşı koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir (Üstündağ, Behm, Föllmann, Duydu ve Değen, 2014).

Yapılan bir çalışmada, BA'nın (10, 20, 35, 50, 75, 100, 200 ve 500 μM) TT medüller tiroid kanseri hücre hattında hücre proliferasyonu, invazyonu, migrasyonu, koloni oluşumu, hücre döngüsü ve apoptoz ile ilişkili genler ve miRNA'ların ifadesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Mevcut çalışmada komet, XTT, TUNEL, RT-PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. BA muamelesi sonucunda, kontrol grubuna kıyasla komet baş uzunluğu ve yoğunluğunda azalma belirlenirken, kuyruk uzunluğu, yoğunluğu ve momentinde ise artış belirlenmiştir. Mevcut bulgular, BA'nın TT hücrelerinde DNA hasarını arttırarak hücre ölümüne neden

olduğunu göstermektedir. Diğer yandan, BA'nın hücre döngüsünü durdurarak apoptozu indüklediği, invazyonu ve koloni oluşumunu azalttığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, borik asitin hem medüller tiroid kanserinde hem de diğer kanser türlerinde olası bir tedavi edici ajan olarak kullanılabileceğini önermişlerdir (Yıldırım, Seçme, Dodurga, Mete ve Fenkci, 2021).

İnsan sertoli hücrelerine (HSeC), BA uygulamasının (0,5; 5, 10, 50, 100, 500 ve 1000 μ M) komet, akış sitometrisi ve NRU testi ile değerlendirildiği bir çalışmada, BA'nın 1 000 μ M'ye kadar olan konsantrasyon aralığında HSeC için sitotoksik olmadığı ve hatta en yüksek konsantrasyonda bile hücre canlılığının %90'ın üzerinde kaldığı belirtilmiştir. Ayrıca, BA'nın test edilen konsantrasyonları kontrol grubuna kıyasla DNA hasarında bir artış oluşturmamıştır. Test edilen konsantrasyonlar, epidemiyolojik çalışmalarda bildirilen kan ve semen bor düzeylerinden oldukça yüksek olmasına rağmen, BA'nın en yüksek konsantrasyonda bile sitotoksik ve genotoksik etki göstermediği rapor edilmiştir (Sarıaltın, Üstündağ, Chinheya, İpek ve Duydu, 2022).

BA'nın Çin hamsteri akciğer fibroblast hücrelerinde (V79) oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu etkileri komet (BA: 5, 10, 50, 100 and 200 μ M) ve sitotoksik etkileri de NRU (BA: 3, 10, 30, 100 ve 200 μ M) testi ile araştırılmıştır. V79 hücrelerinde BA'nın tek başına DNA hasarı oluşturmada önemli bir etkisi bulunmamıştır. Bunun tersine, BA'nın tüm konsantrasyonları H_2O_2 'in (50 ve 100 μ M) neden olduğu DNA hasarını önemli ölçüde azaltmıştır. NRU testinin sonuçlarına göre ise BA'nın test edilen konsantrasyonlarda sitotoksik olmadığı belirlenmiştir. Mevcut sonuçlar, BA'nın sitotoksik bir etki oluşturmadığı ve oksidatif DNA hasarına karşı da koruyucu rol oynadığını göstermektedir. BA'nın koruyucu rolünün etki mekanizmasının antioksidan kapasitesinden kaynaklandığı açıklanmıştır (Yılmaz, Üstündağ, Ülker ve Duydu, 2016).

BA'nın (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 2,0 ve 3,0 g/L) Nil Tilapyası'nda (*Oreochromis niloticus*) Saprolegnia enfeksiyonunu (tatlı su balıklarını ve yumurtalarını etkileyen bir enfeksiyon) önleme yeteneği, 96 saatlik muamele süresince komet testi ve histokimyasal parametrelerle araştırılmıştır. BA ile muamele edilen grupların, hasarlı DNA yüzdesinde kontrol gruplarına kıyasla yalnızca %2'lik bir artış oluşturduğu rapor edilmiştir. Diğer yandan, BA'nın 0,2-0,6 g/L konsantrasyonlarında herhangi bir histomorfolojik değişiklik gözlenmemiştir. Mevcut bulgular, BA'nın terapötik seviyelerinin hafif genotoksisiteye neden olabileceğini, ancak

balıkların yaşayabilirliği üzerinde olumsuz bir etki yaratmadığını göstermektedir (Ali, Gamil, Skaar, Evensen ve Charo-Karisa, 2019).

Gwokyalı ve Altuntaş (2019), *Galleria mellonella* (petek güvesi) larvalarını model olarak kullanarak, BA'nın (10 000; 5 000; 2 500; 1 250; 625; 312,5; 156,25 ve 78 125 ppm) insektisidal etkileri ve toksik aktivitelerini, immünolojik ve genotoksik açısından araştırmıştır. Araştırmada MN ve komet testleri uygulanmıştır. Ayrıca, toplam ve diferansiyel hemosit sayıları, mitotik indeks, apoptoz ve nekroz incelemesi de gerçekleştirilmiştir. BA konsantrasyonları, *G. mellonella* larvalarına beslenme yolu ile uygulanmıştır. Biyokimyasal analizlerde BA'nın LC₃₀, LC₅₀ ve LC₇₀ konsantrasyonları seçilmiştir. BA muamelesi sonucunda, MN frekansında yalnızca en yüksek konsantrasyonda artış gözlenirken, DNA hasarının tüm konsantrasyonlarda ortaya çıktığı tespit edilmiştir. BA muamelesinde, diferansiyel hemosit sayımlarında değişiklikler meydana gelmekle beraber, toplam hemosit sayılarında ciddi azalmalar belirlenmiştir. BA, canlı hücrelerde konsantrasyona bağlı azalmalar ve nekrotik ve apoptotik oranlarda artış göstermiştir. Bunun tersine, BA'nın hiçbir konsantrasyonunda, larva hemositlerinin mitotik indeks değerlerinde değişiklik meydana gelmemiştir. BA'nın sitotoksik etkisi, muamele edilen larvaların kapsüllenme, melanizasyon ve nodülasyon aktiviteleri gibi hücrel bağışıklık tepkilerinde önemli bir azalmaya yol açmıştır. Bu bulgular, BA'nın *G. mellonella*'nın bağışıklık sistemini baskıladığını ve ayrıca yüksek konsantrasyonlarda genotoksik risk oluşturduğunu bildirmektedir. BA'nın genotoksik mekanizmasının kısmen oksidatif stres artışıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Gwokyalı ve Altuntaş, 2019).

Komet testi, fiziksel ve/veya kimyasal ajanların genotoksik potansiyelini belirlemede ve kanser çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir testtir. Bu test tekniği, tek ve çift zincir DNA kırıkları, alkali kararsız bölgeler, değiştirilmiş bazlar, tamamlanmamış onarım bölgeleri ve zincirler arası çapraz bağlantılar gibi çeşitli DNA hasar türlerini ölçmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Genetik materyalde genotoksik ajanlar hücre DNA'sında hatalar meydana getirdiğinde, DNA'daki bütünlük korunamaz ve DNA'da kırıklar oluşur. Eğer DNA'da kırıklar mevcutsa, DNA parçaları çekirdekten anoda doğru göç eder ve böylece kuyruklu yıldız görünümü oluşur. Ayrıca, daha hasarlı hücrelerde hem baş kısmı hem de kuyruk kısmı dağılmış halde gözlenir. İnsanlarda görülebilen bazı hastalıklar ile DNA hasarı arasında bir korelasyon mevcuttur. Koroner arter hastalığı, diyabet, böbrek hastalığı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve Alzheimer hastalığına sahip olan bireylerde, sağlıklı kontrollere kıyasla

ortalama 2 kat daha fazla DNA kırığı olduğu belirlenmiştir (Ünal, Saygılı ve Akbaş, 2022: 313, 340; Collins ve diğerleri, 2023).

DNA hasarının tespitinde en sık kullanılan parametreler kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentidir. Kuyruk uzunluğu DNA hasarının derecesiyle orantılıdır ve oldukça hassas parametredir. Bu durum, çok düşük düzeyde hasar mevcut olduğunda yararlı olabilmektedir. Diğer yandan, kuyruk uzunluğunun aksine, % kuyruk DNA'sı (kuyruk yoğunluğu) en geniş hasar aralığını kapsar ve bu hasar kırılma frekansı ile doğrusal olarak bağlantılıdır. Kuyruk momenti ise kuyruk yoğunluğu ve kuyruk uzunluğunun çarpımının bir ürünüdür. Doğrusal olarak bağımlı parametre, doğrusal olmayan bir parametre ile çarpıldığı için oldukça verimsiz gibi görünmesinin yanı sıra, bu durum doz-yanıt eğrisinin doğrusallıktan sapmasına neden olabilmektedir. Ayrıca, farklı dokulardan veya türlerden gelen hücreler kuyruk uzunluğu açısından önemli ölçüde farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle, kuyruk uzunluğu kuyruk momentinin hesaplanmasında bir faktör olduğundan, benzer hasar miktarları farklı kuyruk momenti değerlerine yol açabilir. Sonuç olarak, DNA hasarı tespitinde kullanılan parametrelerden en güvenilir olanın kuyruk yoğunluğu olduğu bilinmektedir (St-Pierre, Sernoskie, Verner ve Ho, 2021; Ünal, Saygılı ve Akbaş, 2022: 313, 340).

Yapılan bu tez çalışmasında, test maddelerinin sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla, KA testi için hazırlanan preparatlarda mitotik indeks, KKD testi için hazırlanan preparatlarda replikasyon indeksi ve CBMN-Cyt testi için hazırlanan preparatlarda ise proliferasyon indeksi incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, BA'nın 24 saat muamelesinin, tüm konsantrasyonlarda, Mİ'yi kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde azalttığı (0,25 µg/mL hariç) belirlenmiştir. 48 saatlik muamelede ise Mİ'te anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Diğer yandan, pozitif kontrol olarak kullanılan MMS ve CuO NP'leri, hem 24 ve hem de 48 saatlik muamele sürelerinde Mİ'yi kontrole kıyasla anlamlı düzeyde düşürmüştür. BA+MMS'nin 24 saatlik eş zamanlı muamelesi, pozitif kontrole (MMS) kıyasla Mİ'yi tüm konsantrasyonlarda arttırmıştır, bu artışlar en yüksek iki konsantrasyonda anlamlı düzeydedir. Benzer şekilde, BA+CuO NP eş muamelesi de pozitif kontrole (CuO NP) kıyasla, tüm konsantrasyonlarda Mİ'te artışlar oluşturmıştır. Buradaki artışlar, 0,0313-0,125 µg/mL'lik konsantrasyonlar için anlamlı düzeydedir. 48 saatlik muamelede ise, BA'nın hem MMS ve hem de CuO NP'leri ile eş zamanlı muamelesi sonucunda, kendi pozitif kontrol gruplarına kıyasla, tüm konsantrasyonlar (BA+MMS için 0,5 µg/mL hariç)

Mİ'i anlamlı olmayan düzeyde arttırmıştır. Mİ, mitoz geçiren hücrelerin oranını göstermekte ve tüm canlı organizmalarda sitotoksitenin belirlenebilmesi için bir kriter olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, Mİ, kanser hücrelerinin proliferatif aktivitesinin belirlenmesi için basit ve hızlı bir yöntem olup çok çeşitli malignitelerde önemli prognostik bilgiler de sağlamaktadır. Lenfositler arasındaki metafazların oranını temsil etmek ve aynı zamanda hücre proliferasyon hızını değerlendirmek için Mİ kullanılabilir. Mİ değerlendirmesi, bin hücrelik bir popülasyonda mitoz geçiren hücrelerin yüzdesi alınarak belirlenmektedir. Mitotik indeksin yüksek bir değere sahip olması, proliferasyonun hızlı olduğunun bir belirtici iken bunun tersine düşük mitotik indeks değeri, proliferasyon oranının düşük olduğunun bir göstergesidir. Herhangi bir ajanın mitotik indeksi düşürmesi, o ajanın sitotoksik etkiye sahip olduğunu gösterebilmektedir (Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2022). BA, lipoik asit ve hiperosit gibi bazı bileşiklerin, mutajenlere karşı mitotik indeksi artırması, bu hücrelerde iyileştirici rol oynadığına işaret etmektedir (Ünal, Taner, Yüzbaşıoğlu ve Yılmaz, 2013; Yüzbaşıoğlu, Dilek, Erikel ve Ünal, 2023).

Bu tez çalışmasında, BA, MMS ve CuO NP'lerin 24 ve 48 saat muamele süresince uygun kontrol gruplarına kıyasla Rİ değerinde önemli değişiklikler oluşturamamıştır. Rİ, hücre proliferasyonun göstergesi olarak kullanılmaktadır. Rİ, BrdU varlığında bir, iki ve üç kez bölünen mitotik hücrelerin yüzdesinden belirlenmektedir. Replikasyon indeksindeki azalma, çeşitli kimyasalların neden olduğu hücre proliferasyon kinetiğinde bir gecikmeyi ortaya koymaktadır (Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2022). Bu tez çalışmasının sonuçları, BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'lerin, uygun kontrol gruplarına kıyasla proliferasyon indeksi üzerinde önemli etkilere yol açmadığını da göstermektedir. Proliferasyon indeksi, bir test maddesinin hücre döngüsünde bir gecikmeye sebep olup olmadığının veya sitotoksitenin belirlenebilmesi için kullanılmaktadır (Yüzbaşıoğlu, Avuloğlu-Yılmaz, 2022: 219, 249).

Yapılan bir çalışmada, BA'nın insan periferik lenfositlerinde Rİ ve Mİ azaltarak sitotoksik etki gösterdiği ve hatta Mİ azaltması, ATP seviyesinin düşmesi ve enerji üretim merkezinin işleyişinden kaynaklanan baskıdan kaynaklanabildiği rapor edilmiştir (Arslan, Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2008).

Borik asitin antigenotoksik/antimutajenik/iyileştirici/koruyucu rol oynadığı, bu tez çalışmasında uygulanan test yöntemleri haricinde, literatürde çeşitli hücre ve/veya

organizmalarda, farklı test teknikleri ile de gösterilmiştir. Bu konuda ratlar üzerinde, analjezik (ağrı kesici) ve antipiretik (ateş düşürücü) bir ilaç olan parasetamolün (2 g/kg) neden olduğu karaciğer doku hasarına karşı BA'nın (50, 100 ve 200 mg) iyileştirici etkilerini belirlemek için 8-OHG, ALT, AST, GSH, MDA, SOD, CAT, GPx ve NO seviyeleri analiz edilmiştir. Ayrıca, inflamasyon üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla karaciğer dokularında TNF- α , IL-1 β ve IL-18 düzeyleri de incelenmiştir. Çalışma sonucunda, parasetamolün oksidatif ve nitrozatif stresi, inflamasyonu ve endoplazmik retikulum (ER) stres/apoptozu arttırarak karaciğer hasarına katkıda bulunduğu ve bunun tersine, BA'nın ER stresini ve ER stresi aracılı apoptozu baskılayabildiği, aynı zamanda antioksidan özellik göstererek parasetamol kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruyucu rol üstlendiği bildirilmiştir (Karabağ, İnce ve Demirel, 2023).

2023 yılında yapılan bir çalışmada, nörotoksik bir madde olan akrilamidin (ACR; 20 ve 50 mg/kg) beyin dokusunda oluşturduğu toksik hasara karşı BA'nın (200 mg/kg) koruyucu etkisi histolojik ve biyokimyasal parametrelerle incelenmiştir. Çalışmada 28 tane Wistar albino erkek rat kullanılmıştır. ACR, ratlarda oksidatif strese yol açmıştır. Bu durumun aksine, BA'nın, ACR kaynaklı oksidatif strese bağlı nörotoksisitenin önlenmesinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. BA'nın koruyucu mekanizmasının, antioksidan özelliğinden kaynakladığı rapor edilmiştir (Yıldızhan, Ülger, Gündüz, Akkuş ve Bilge, 2023). Yürütülen bir başka çalışmada, A549 hücre hatlarında BA'nın (2,5; 5 ve 10 mM) kanserojen olan formaldehite (100 μ M) karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır. BA'nın koruyucu potansiyelini belirlemek için MTT testi, oksidatif stres parametreleri [MDA, SOD, GSH, nitrik oksit (NO), CAT] ve Real-time PCR analizi gerçekleştirilmiştir. Formaldehit muamelesi, SOD, CAT ve GSH aktivitesini azaltırken, MDA ve NO aktivitelerini arttırmıştır. Formaldehit, A549 hücre hatlarında lipid peroksidasyona (LPO), inflamasyona ve oksidatif strese yol açmıştır. Buna karşılık, BA, LPO'yu azaltmıştır. Ayrıca BA'nın, proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiği ve A549 hücre hattında antioksidan savunma sisteminin aktivitesini geliştirdiği belirlenmiştir. Mevcut bulgular, BA'nın lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve antioksidan enzimlerin tükenmesini engelleyerek formaldehit kaynaklı oksidatif stresi ve inflamasyonu etkili bir şekilde iyileştirdiğini göstermektedir (Arslan-Acaröz ve Bayşu-Sözbilir, 2020).

Borik asit gibi diğer bor bileşiklerinin antigenotoksik/antimutajenik/iyileştirici/koruyucu rolünün değerlendirildiği çalışmalar da mevcuttur. Örneğin, Atamanalp ve diğerleri (2022),

Oncorhynchus mykiss (Gökkuşluğu alabalığı)'te, ACR (12,5 mg/L) kaynaklı toksisiteye karşı BX'in (0,75 mg/L) iyileştirme potansiyelini incelemişlerdir. ACR ile muamele edilen balıklarda, inflamatuvar sitokinlerde artış ve antioksidan düzeylerinde azalma meydana geldiği belirlenmiştir. ACR ile maruziyetin, oksidatif strese ve hücre ölümüne yol açtığı da tespit edilmiştir. BX ve ACR'nin eş zamanlı 48 ve 96 saatlik uygulamasında, BX'in dokularda proliferatif bir yanıtı indükleyerek önemli ölçüde ACR'in neden olduğu hematolojik, genetik ve oksidatif hasara karşı iyileştirme sağladığı rapor edilmiştir (Atamanalp ve diğerleri, 2022).

Bir bor bileşiği olan çinko boratın kültürlenmiş insan lenfositleri üzerindeki genotoksik aktivitesi KA, KKD ve biyokimyasal testler (TAC ve toplam oksidatif stres seviyeleri) kullanılarak araştırılmıştır. KA ve KKD testi için insan lenfositleri, çinko boratın 8 farklı konsantrasyonu (1,25; 2,5; 5; 10; 20; 40; 80; 160; 320; 640 ve 1280 mg/L⁻¹) ile 72 saat, biyokimyasal testler için 24 saat muamele edilmiştir. Çinko boratın, insan lenfositlerinde toplam antioksidan kapasiteyi azalttığı fakat toplam oksidatif stres seviyelerinde değişikliğe neden olmadığı belirlenmiştir. Diğer yandan, çinko boratın, KA ve KKD frekanslarını anlamlı düzeyde değiştirmedeği de tespit edilmiştir. Bu bulgulardan hareketle, çinko boratın kullanılan geniş konsantrasyon aralığında insan lenfositlerinde genetik materyalde hasara neden olmadığı bildirilmiştir (Çelikezen, Türkez ve Toğar, 2014).

Uçar ve diğerleri (2023), *Oncorhynchus mykiss*'te manyetik demir oksit nanopartiküllerinden (Fe₃O₄ MNP) kaynaklanan toksik etkilere karşı bir bor minerali olan UX'in olası koruyucu rolünü MN testi, hematolojik parametreler (kan hücresi sayımları), biyokimyasal analizler, kaspaz-3 analizi ve 8-OHdG testi ile araştırmıştır. Elde edilen bulgular, Fe₃O₄ MNP'lerin ROT'a bağlı bir yol ile lökositlerde sitotoksisiteye yol açtığını, MN frekansını, 8-OHdG düzeylerini ve kaspaz-3 aktivasyonu arttırdığını diğer yandan SOD, CAT, GPx ve GSH enzimlerini inhibe ettiğini göstermektedir. Fe₃O₄ MNP'lerinin neden olduğu toksisitenin ana mekanizmasının oksidatif stres olduğu kabul edilmektedir. Fe₃O₄ MNP'leri ile eş zamanlı şekilde üleksit uygulaması, Fe₃O₄ MNP'lerinin tek başına oluşturduğu hematotoksik ve hepatotoksik değişikliklere, oksidatif ve genetik hasarlara karşı koruyucu bir etki oluşturmuştur. UX'in koruyucu rolü, oluşan serbest radikallerin düzeyini nötralize ederek gerçekleştirdiği rapor edilmiştir (Uçar ve diğerleri, 2023).

Yetişkin *Danio rerio* da yürütülen bir başka çalışmada, UX'in (5, 10, 20 ve 40 mg/L; 96 saat muamele) hematolojik ve hepatik etkileri araştırılmıştır. Bu etkileri belirlemek amacıyla MN frekansı, oksidatif DNA hasarı (8-OHdG), apoptoz (Kaspaz-3), SOD, CAT, GPx, miyeloperoksidaz (MPO), paraoksonaz (PON), arilesteraz (AR) ve LPO düzeyleri değerlendirilmiştir. UX'in düşük konsantrasyonlarda (5, 10 ve 20 mg/L) akut uygulamasının *Danio rerio*'da oksidatif strese veya genotoksisiteye neden olmadığı belirlenmiştir. Diğer yandan, UX'in en yüksek konsantrasyonda (40 mg/L) genotoksisiteye ve oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, UX'in düşük dozlarda koruyucu etkiye sahip olabileceği ifade edilmektedir (Alak ve diğerleri, 2020b).

Borik asit ve diğer bor bileşiklerinin antigenotoksik/antimutajenik/koruyucu özellik gösterdiği çalışmalar, bu bileşiklerin koruyucu rolünün antioksidan mekanizmasından kaynaklayabileceğini ileri sürmektedir. Borun antioksidan kapasiteyi artırma mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamakla beraber, BA'nın antimikrobiyal aktivite gösterebildiği ve oksidatif metabolizmadaki değişiklikleri içerebilecek henüz tanımlanmamış bir mekanizma yoluyla doku antioksidan savunmasını güçlendirebildiği bilinmektedir (Türkez ve Geyikoğlu, 2010).

Antioksidanlar, kanser dâhil birçok hastalığın nedeni olabilecek serbest radikallerin verdiği hasara karşı koruyucu özellik gösterebilmektedir. Antioksidan özelliklere sahip bileşikler hücre ve dokuların korunmasına katkıda bulunmaktadır (Türkez ve Geyikoğlu, 2010). Bor bileşikleri üzerinde gerçekleştirmiş olan çalışmaların bazıları, bu bileşiklerin antigenotoksik/antimutajenik/koruyucu/iyileştirici rolünü antioksidan aktiviteye bağlamaktadır. Bor takviyesinin (BA ve BX; 100 mg/kg) Sprague Dawley ratları üzerindeki etkisinin biyokimyasal analizlerle incelendiği bir araştırma sonucuna göre, bor bileşiklerinin MDA düzeyini, DNA hasarını, kandaki protein karbonil içeriğinin (PCO) seviyesini ve karaciğerdeki glutatyon konsantrasyonunu, SOD ve CAT aktivitesini azalttığı belirlenmiştir. Bu azalmaların altında yatan mekanizmanın, bor takviyesinin antioksidan aktiviteyi artırarak lipid peroksidasyonunu azaltmasından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır (İnce, Küçükçurt, Cigerci, Fidan ve Eryavuz, 2010).

İnsan lenfositlerinde BA'nın (0,25; 0,5; 1, 2, 5, 10 ve 20 ppm), mutajen ve kanserojen olan aflatoksin B₁'e (AFB₁; 1,56 ve 3,12 ppm) karşı etkinliği KKD, MN ve biyokimyasal testler kullanılarak araştırıldığında, BA'nın AFB₁'in neden olduğu oksidatif hasara karşı DNA'nın

direncinin artmasına neden olmuştur. BA'nın koruyucu mekanizması, MDA oluşumunu azaltma ve ilişkili antioksidanları artırma yeteneğinden kaynaklanmaktadır (Türkez ve Geyikoğlu, 2010). Diğer yandan, AFB₁'in (3,12 ppm) neden olduğu genetik değişikliklere karşı BX'in (1, 2 ve 5 ppm) koruyucu rolü de KKD ve MN testleri kullanılarak incelenmiştir. BX ve AFB₁'in eş zamanlı muamelesi, tek başına AFB₁ ile muamele edilen grupla karşılaştırıldığında, KKD ve MN oranlarında azalma meydana geldiği ve BX'in AFB₁'in neden olduğu KKD'lere ve MN'lere karşı koruma sağladığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, BX'in özellikle düşük konsantrasyonlarda güçlü antioksidan özellikler sergilediğini ve AFB₁'e karşı antioksidan savunma mekanizmasını güçlendirdiğini göstermektedir (Türkez, Geyikoğlu, Dirican ve Tatar, 2012).

Dört farklı bor bileşiğinin (BA, BX, COL ve UX; 0, 5, 10, 20, 40, 50, 80, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mg/L) periferik kan kültürlerindeki toksik etkisi KA, KKD ve MN testleri ve biyokimyasal parametreler açısından (SOD, CAT, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz, toplam glutatyon, MDA ve antioksidan kapasitesi) incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, dört farklı bor bileşiğinin, insan kan kültürlerinde antioksidan enzim aktivitelerini desteklemede etkili olduğu ve en yüksek konsantrasyonlarda bile genotoksik etki göstermediği, ancak artan konsantrasyonlarda oksidatif strese neden olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, BA, BX, COL ve UX'in periferik kan kültürlerinde düşük dozlarda antioksidan aktivite mekanizmasını ortaya çıkarabileceği bildirilmiştir (Türkez, Geyikoğlu, Tatar, Keleş ve Özkan, 2007).

Bu tez çalışmasının bulguları ışığında, borik asitin tek başına genotoksik risk oluşturmada anlamlı bir etkisinin olmadığı, tam tersine borik asitin metil metansülfonat, bakır oksit nanopartikülleri ve hidrojen peroksitin neden olduğu kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi ve mikronükleus frekansını ve DNA hasarını anlamlı düzeyde azalttığı ifade edilebilir. Literatürde borik asit ve diğer bor bileşikleriyle gerçekleştirilmiş olan çalışmalardan yola çıkarak borik asitin koruyucu rolünün antioksidan mekanizmasından kaynakladığı ifade edilebilir. Borik asitin antioksidan mekanizmaları henüz net olarak aydınlatılamamış olsa da çalışmalar, borik asitin içerdiği hidroksil ve benzil grupları sayesinde lipitler ve proteinlerle etkileşime girdiğini ve böylece antioksidan mekanizmaları desteklemesinin yanı sıra lipid peroksidasyonunu önlediğini ve dokuların bütünlüğünün korunduğu göstermektedir. Ancak, borik asitin antigenoksik mekanizmasını daha iyi anlayabilmek amacıyla daha detaylı bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple, daha farklı

hücreler ve organizmalarda, çeşitli *in vitro* ve *in vivo* test sistemleri ile daha kapsamlı araştırmaların yapılması gerekmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bor, tarihteki ilk keşfinden bu yana giderek daha değerli ve önemli hale gelmektedir. Antimikrobiyal, antibakteriyel, antifungal ve antigenotoksik gibi önemli ve çok sayıda özellik göstermesi nedeniyle borun son yıllarda çeşitli endüstrilerde kullanımı gittikçe artmaktadır. Borun oksijenle bağ yapma olasılığı çok yüksek olduğundan doğada saf formda bulunmaz, bunun yerine, oksijen ve diğer elementleri içeren bileşiklerle birlikte bulunur. Bu bileşiklerden en önemlisi borik asittir.

Borik asit, antibakteriyel, antifungal, antiseptik, antikanser, raf ömrünü uzatma, gıda koruyucu, yangın geciktirici, yara iyileştirme, düşük toksisite gösterme ve genotoksositeye karşı koruma gibi çeşitli özelliklere sahiptir. Borik asitin ayrıca antikanser özelliklere sahip olduğu ve dolayısıyla organizmaları kanserojenlerden koruyabileceğini göstermektedir. Borik asit, kanser hücrelerinin çoğalmasını ve ölümünü etkileyebilir ve genetik hasara neden olan genotoksinlere karşı antigenotoksik/antimutajenik/iyileştirici/kemopreventif rol oynayabilir.

“Genotoksin” olarak bilinen ajanlar, DNA ve/veya kromozomlarda genetik hasarlara sebep olmaktadır. Genetik bir değişiklik geri döndürülemez olduğunda kanser gibi ciddi sağlık sorunları ortaya çıkabilir. Kanser, çağımızın en önemli sağlık sorunlarından biri olup, hücrelerin kontrolsüz ve sürekli bölünmesi, apoptozdan kurtulması ve metastaz yapmasıyla bilinmektedir. Genotoksinler kanser hücrelerinin büyümesini hızlandırma ve sonunda hastalığa neden olma potansiyeline sahiptir. Araştırmalar CuO NP ve H₂O₂’in ve antikanser bir ilaç olan MMS’nin, sağlıklı hücrelerde birçok biyokimyasal parametrelerde anormalliklere sebep olabildiği gibi, kromozomal anormalliklere, kardeş kromatid değişimlerine, mikronükleus oluşumlarına ve DNA’da hasarlara da sebep olabilmektedir. Bu etkileri nedeniyle kanseri tetikleme potansiyeline de sahip olan bu genotoksinler, ilaçlar, boyalar ve zirai kimyasallar da dâhil olmak üzere, insanların maruz kaldığı çok çeşitli maddelerde bulunabilir. Diğer yandan, yapılan birçok araştırmada, bu tür genotoksinlerin sebep olduğu genetik ve mutajenik etkilerin, çeşitli antigenotoksik/antimutajenik bileşiklerle engellenebileceği ya da en azından azaltılabileceği de gösterilmiştir.

Son yıllarda bu alanda oldukça detaylı şekildeki incelemelerin merkezinde yer alan bor türevi kimyasallar, bunlardan da özellikle borik asitin, çeşitli genotoksinlerin oluşturduğu hasarlara karşı, antigenotoksik/antimutajenik/koruyucu/iyileştirici potansiyele sahip olduğu bildirilmektedir.

Bu tez çalışmasında, borik asitin hem tek başına genotoksik olup olmadığı ve hem de metil metansülfonat, bakır oksit nanopartikülü ve hidrojen peroksit tarafından oluşturulan genotoksik hasarlara karşı antigenotoksik/antimutajenik/koruyucu/iyileştirici potansiyelini incelemek amacıyla, *in vitro* insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi, sitokinez blok mikronükleus ve komet testleri uygulanmıştır. Elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde (Tablo 6.1, Tablo 6.2, ve Tablo 6.3), borik asitin tek başına genotoksik olmadığı, tam tersine genotoksik olduğu bilenen bu kimyasallara karşı antigenotoksik/antimutajenik, iyileştirici/kemopreventif özelliklere sahip olduğu, kısaca genotoksinlere karşı koruma sağladığı belirlenmiştir. Bu nedenle, BA gibi bor bileşikler, antikanser ilaçlar gibi çeşitli genotoksinlere, bilerek veya farkında olmadan maruziyetten kaynaklanan genotoksik hasarların iyileştirilmesinde ve daha yüksek yaşam kalitesine ulaşma konusunda yardımcı olabilir. Borik asitin antigenotoksik mekanizmasının genelde lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve antioksidan enzimlerin tükenmesini engelleyerek genotoksik ajanlara karşı antioksidan sistemi aktivite etmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ancak yine de BA'nın genotoksinlerden kaynaklanan hasara karşı korumadaki etki mekanizmasını tam olarak anlayabilmek için, farklı test sistemleri, hücreler, hücre dizileri ve organizmalar üzerinde başta *in silico* araştırmalar olmak üzere *in vitro* ve gerekirse *in vivo* şartlarda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Çizelge 6.2. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin CBMN-Cyt testi sonuçları

Muamele		CBM-Cyt testi			
Test maddesi	Konsantrasyon (µg/mL)	MN	NT	NPK	Pİ
MMS	6,60	↑	—	—	—
CuO NP	100	↑	—	—	—
	0,0313	—	—	—	—
	0,0625	—	—	—	—
Borik asit	0,125	—	—	—	—
	0,25	—	—	—	—
	0,5	—	—	—	—
	0,0313	↓	—	—	—
Borik asit	0,0625	↓	—	—	—
+MMS	0,125	↓	—	—	—
	0,25	↓	—	—	—
	0,5	↓	—	—	—
	0,0313	↓	—	—	—
Borik asit	0,0625	↓	—	—	—
+CuO NP	0,125	↓	—	—	—
	0,25	↓	—	—	—
	0,5	—	—	—	—

Negatif kontrole göre anlamlı artış ↑

Negatif kontrole göre anlamlı değil —

Pozitif kontrole (MMS) göre anlamlı azalış ↓

Pozitif kontrole (MMS) göre anlamlı değil —

Pozitif kontrole (CuO NP) göre anlamlı azalış ↓

Pozitif kontrole (CuO NP) göre anlamlı değil —

Çizelge 6.3. BA, BA+MMS ve BA+CuO NP'nin Komet testi sonuçları

Muamele		Komet testi		
Test maddesi	Konsantrasyon (µg/mL)	Kuyruk uzunluğu	Kuyruk yoğunluğu	Kuyruk momenti
H ₂ O ₂	100 µM			
CuO NP	100			
	0,0313			
	0,0625			
Borik asit	0,125			
	0,25			
	0,5			
	0,0313			
Borik asit	0,0625			
+H ₂ O ₂	0,125			
	0,25			
	0,5			
	0,0313			
Borik asit	0,0625			
+CuO NP	0,125			
	0,25			
	0,5			
Negatif kontrole göre anlamlı artış				
Negatif kontrole göre anlamlı azalış				
Negatif kontrole göre anlamlı değil				
Pozitif kontrole (H ₂ O ₂) göre anlamlı artış				
Pozitif kontrole (H ₂ O ₂) göre anlamlı azalış				
Pozitif kontrole (H ₂ O ₂) göre anlamlı değil				
Pozitif kontrole (CuO NP) göre anlamlı artış				
Pozitif kontrole (CuO NP) göre anlamlı değil				



KAYNAKLAR

- Abbasi, A., Ghorban, K., Nojoomi, F. and Dadmanesh, M. (2021). Smaller copper oxide nanoparticles have more biological effects versus breast cancer and nosocomial infections bacteria. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 22(3), 893.
- Adriztina, I., Adenin, L. I. and Lubis, Y. M. (2018). Efficacy of boric acid as a treatment of choice for chronic suppurative otitis media and its ototoxicity. *Korean Journal of Family Medicine*, 39(1), 2-9.
- Akeren, Z. ve Hintistan, S. (2021). Kanser hastalarının semptom yönetiminde aromaterapi kullanımı. *Sakarya Üniversitesi Holistik Sağlık Dergisi*, 4(3), 136-154.
- Alak, G., Özgeriş, F. B., Yeltekin, A. Ç., Parlak, V., Uçar, A., Çağlar, O., Türkez, H. and Atamanalp, M. (2020). Hematological and hepatic effects of ulexite in zebrafish. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80, 103496.
- Alak, G., Parlak, V., Uçar, A., Yeltekin, A. C., Özgeriş, F. B., Çağlar, O., Atamanalp, M. and Türkez, 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.
- Al-Ali, R. and Gonzalez-Sarmiento, R. (2017). High concentrations of boric acid induce autophagy in cancer cell lines. *bioRxiv*, 193441.
- Alaraby, M., Hernández, A. and Marcos, R. (2017). Copper oxide nanoparticles and copper sulphate act as antigenotoxic agents in *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 58(1), 46-55.
- Ali, S. E., Gamil, A. A., Skaar, I., Evensen, Ø. and Charo-Karisa, H. (2019). Efficacy and safety of boric acid as a preventive treatment against Saprolegnia infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Scientific Reports*, 9(1), 18013.
- AlQuraidi, A. O., Mosa, K. A. and Ramamoorthy, K. (2019). Phytotoxic and genotoxic effects of copper nanoparticles in coriander (*Coriandrum sativum*-Apiaceae). *Plants*, 8(1), 19.
- Amit, Z., Lasem, L. A., Rahamn, M. H. L. A., Rifen, N. N. N. A., Muti, N. H. A. and Ling, J. H. (2020). Contents of Boric Acid in Noodles and Processed Foods. *Borneo Journal of Resource Science and Technology*, 10(1), 70-78.
- Arslan, M., Topaktas, M. and Rencüzoğulları, E. (2008). The effects of boric acid on sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in cultured human lymphocytes. *Cytotechnology*, 56, 91-96.
- Arslan-Acaröz, D. and Bayşu-Sözbilir, N. (2020). Ameliorative effect of boric acid against formaldehyde-induced oxidative stress in A549 cell lines. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 4067-4074.

- Atamanalp, M., Türkez, H., Yeltekin, A. Ç., Özgeriş, F. B., Uçar, A., Çağlar, Ö., Parlak, V., Öner, S. and Alak, G. (2022). Borax relieved the acrylamide-induced hematotoxic, hepatotoxic, immunotoxic and genotoxic damages in rainbow trout by regulating apoptosis and Nrf2 signaling pathway. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 259, 109396.
- Atasoy, N. and Dusak, Z. B. (2022). Boron and Cancer Treatment. *Journal of Integrated Health*, 1(2), 8-12.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbaşıoğlu, D. and Ünal, 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.
- Aydın, D. Y., Gürü, M., Ayar, B. and Çakanyıldırım, Ç. (2016). Bor bileşiklerinin alev geciktirici ve yüksek sıcaklığa dayanıklı pigment olarak uygulanabilirliği. *Journal of Boron*, 1(1), 33-39.
- Babaç, M., Ekinçi, M. ve İlem-Özdemir, D. (2023). Kanser tanısı ve tedavisinde kullanılan monoklonal antikörler. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 47(1), 295-310.
- Bankoğlu, E. E., Schuele, C. and Stopper, H. (2021). Cell survival after DNA damage in the comet assay. *Archives of Toxicology*, 95(12), 3803-3813.
- Başkan, S., Kanak, E. K. ve Yılmaz, S. Ö. (2022). Borun antimikrobiyel etkileri ve gıdalarda koruyucu olarak kullanım olanaklarının değerlendirilmesi. *Gıda*, 47(3), 399-407.
- Baykara, O. (2016). Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(3), 154-165.
- Benhusein, G., Mutch, E., Aburawi, S. and Williams, F. (2010). Genotoxic effect induced by hydrogen peroxide in human hepatoma cells using comet assay. *Libyan Journal of Medicine*, 5(1), 4637.
- Biță, A., Scorei, I. R., Bălșeanu, T. A., Ciocîlteu, M. V., Bejenaru, C., Radu, A., Bejenaru, L. E., Rău, G., Dan Mogoșanu, G., Neamtu, J. and Benner, S. A. (2022). New insights into boron essentiality in humans and animals. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9147.
- Brđar-Jokanović, M. (2020). Boron toxicity and deficiency in agricultural plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1424.
- Brunborg, G., Eide, D. M., Graupner, A., Gutzkow, K., Shaposhnikov, S., Kruszewski, M., Sirota, N., Jones, G. D. D., Koppen, G., Vanhavere, F., Møller, P., Stetina, R., Dahl, H. and Collins, A. (2023). Calibration of the comet assay using ionising radiation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 885, 503560.
- Carmona, E. R., Inostroza-Blancheteau, C., Obando, V., Rubio, L. and Marcos, R. (2015). Genotoxicity of copper oxide nanoparticles in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 791, 1-11.

- Çelik, Ç. (2017). Diş Renklenmelerinin Tedavisi. *Türkiye Klinikleri Restorative Dentistry-Special Topics Journal Identity*, 3(2), 104-12.
- Çelik, M. (2022). Kardeş kromatit değişimi testi. Ünal, F. ve Yüzbaşıoğlu, D. (Editörler). *Genetik Toksikoloji*, Ankara: Nobel Yayınları, 185-217.
- 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.
- Ceyhan, A. A., Bağcı, S., Baytar, O. ve Şahin, Ö. (2020). Amonyum floroborat üretimi ve üretim parametrelerinin belirlenmesi. *Bor Dergisi*, 5(2), 63-72.
- Chelomin, V. P., Slobodskova, V. V., Zakhartsev, M. and Kukla, S. (2017). Genotoxic potential of copper oxide nanoparticles in the bivalve mollusk *Mytilus trossulus*. *Journal of Ocean University of China*, 16(2), 339-345.
- Cheng, X., Li, F. and Liang, L. (2022). Boron neutron capture therapy: clinical application and research progress. *Current Oncology*, 29(10), 7868-7886.
- Chinchanikar, S., Bawangaonwala, H. M., Bokade, S. and Garode, S. (2020). Investigations on the machining performance using solid lubricant mixed with varying proportions in vegetable oil during hard turning. *Materials Science and Engineering*, 810(1), 012044.
- Choudhuri, S., Kaur, T., Jain, S., Sharma, C. and Asthana, S. (2021). A review on genotoxicity in connection to infertility and cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 345, 109531.
- Chua, P. J., Yip, G. W. C. and Bay, B. H. (2009). Cell cycle arrest induced by hydrogen peroxide is associated with modulation of oxidative stress related genes in breast cancer cells. *Experimental Biology and Medicine*, 234(9), 1086-1094.
- Collins, A., Møller, P., Gajski, G., Vodenková, S., Abdulwahed, A., Anderson, D., Bankoğlu, E. E., Bonassi, S., Boutet-Robinet, E., Brunborg, G., Chao, C., Cooke, M. S., Costa, C., Costa, S., Dhawan, A., De Lapuente, J., Del Bo, C., Dubus, J., Dusinska, M., Duthie, S. J., El Yamani, N., Engelward, B., Gaivão, I., Giovannelli, L., Godschalk, R., Guilherme, S., Gutzkow, K. B., Habas, K., Hernández, A., Herrero, O., Isidori, M., Jha, A. N., Knasmüller, S., Kooter, I. M., Koppen, G., Kruszewski, M., Ladeira, C., Laffon, B., Larramendy, M., Le Hégarat, L., Lewies, A., Lewinska, A., Liwszyc, G. E., López de Cerain, A., Manjanatha, M., Marcos, R., Milić, M., Moraes de Andrade, V., Moretti, M., Muruzabal, D., Novak, M., Oliveira, R., Olsen, A. K., Owiti, N., Pacheco, M., Pandey, A. K., Pfuhler, S., Pourrut, B., Reisinger, K., Rojas, E., Rundén-Pran, E., Sanz-Serrano, J., Shaposhnikov, S., Sipinen, V., Smeets, K., Stopper, H., Teixeira, J. P., Valdiglesias, V., Valverde, M., Van Acker, F., Van Schooten, F. J., Vasquez, M., Wentzel, J. F., Wnuk, M., Wouters, A., Žegura, B., Zikmund, T., Langie, S. A. S. and Azqueta, A. (2023). Measuring DNA modifications with the comet assay: A compendium of protocols. *Nature Protocols*, 18(3), 929-989.
- Conrad, S., Künzel, J. and Löbrich, M. (2011). Sister chromatid exchanges occur in G2-irradiated cells. *Cell Cycle*, 10(2), 222-228.

- Del Real García, J. F., Saldaña-Velasco, F. R., Sánchez-de la Rosa, S. V., Ortiz-García, Y. M., Morales-Velazquez, G., Gómez-Meda, B. C., Zúñiga-González, G. M., Sánchez-Parada, M. G. and Zamora-Perez, A. L. (2019). *In vivo* evaluation of the genotoxicity and oxidative damage in individuals exposed to 10% hydrogen peroxide whitening strips. *Clinical Oral Investigations*, 23(7), 3033-3046.
- Deliboran, A. (2020). Neden bor? Borun çevre ile insan, hayvan ve bitki sağlığı açısından önemi. *Bahçe*, 49(2), 127-141.
- Demircan, B. ve Velioğlu, Y. S. (2020). Gıda ve çevreden alınan bor bileşiklerinin toksikolojik değerlendirmesi. *Akademik Gıda*, 18(3), 312-322.
- Demirtaş, A. (2010). Bor'un insan beslenmesi ve sağlığı açısından önemi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(1), 75-80.
- Devirian, T. A. and Volpe, S. L. (2003). The physiological effects of dietary boron. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(2), 219–231.
- Dinesh, S., Ajit, P., Madhav, P., Chetan, P. and Prachi, P. (2013). Study of antifungal activity of boric acid on vaginal pathogens. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 4(3), 319-323.
- Drăgănescu and Carmocan, C. (2017). Hormone therapy in breast cancer. *Chirurgia*, 112(4), 413-417.
- Dukenbayev, K., Korolkov, I. V., Tishkevich, D. I., Kozlovskiy, A. L., Trukhanov, S. V., Gorin, Y. G., Shumskaya, E. E., Kaniukov, E. E., Vinnik, D. A., Zdorovets, M. V., Anisovich, M., Trukhanov, A. V., Tosi, D. and Molardi, C. (2019). Fe₃O₄ nanoparticles for complex targeted delivery and boron neutron capture therapy. *Nanomaterials*, 9(4), 494.
- Eraga, L. I., Aganbi, E., Anigboro, A. A., Asagba, S. O. and Tonukari, N. J. (2022). Antigenotoxicity and antioxidant activities of bitter leaf (*Vernonia amygdalina* del.) accessions from different parts of Nigeria. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 22(4), 20161-20180.
- Evans, H. J., In Kilbey, B. J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C. (1984). Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, Amsterdam, Elsevier Sciences, 2nd ed., 405–424.
- Fahmy, H. M., Ebrahim, N. M. and Gaber, M. H. (2020). *In vitro* evaluation of copper/copper oxide nanoparticles cytotoxicity and genotoxicity in normal and cancer lung cell lines. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 60, 126481.
- 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.

- Feng, Y., Zhang, Y., Li, J., Omran, R. P., Whiteway, M. and Feng, J. (2022). Transcriptional profiling of the *Candida albicans* response to the DNA damage agent methyl Methanesulfonate. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7555.
- Fernandes, G. F. S., Denny, W. A. and Dos Santos, J. L. (2019). Boron in drug design: Recent advances in the development of new therapeutic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 179, 791-804.
- Gao, G., Tian, Y., Gong, X., Pan, Z., Yang, K. and Zong, B. (2020). Advances in the production technology of hydrogen peroxide. *Chinese Journal of Catalysis*, 41(7), 1039-1047.
- García-Sánchez, F., Simón-Grao, S., Martínez-Nicolás, J. J., Alfosea-Simón, M., Liu, C., Chatzissavvidis, C., Pérez-Pérez, J. G. and Cámara-Zapata, J. M. (2020). Multiple stresses occurring with boron toxicity and deficiency in plants. *Journal of Hazardous Materials*, 397, 122713.
- George, A. J. (1965). Toxicity of boric acid through skin and mucous membranes. *Food and Cosmetics Toxicology*, 3, 99-101.
- Geyikoğlu, F. and Türkez, H. (2008). Boron compounds reduce vanadium tetraoxide genotoxicity in human lymphocytes. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26(3), 342-347.
- Ghanizadeh, H., Kiani, F., Koohyar, F. and Khanlarzadeh, B. (2020). Theoretical study on ionization of boric acid in aqueous solution by ab initio and DFT methods at T= 298.15 K. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(2), 177.
- Gonçalves, S. and Gaivão, I. (2023). *The Beauty and the Toxic Beast: Use of Comet Assay to Study Antigenotoxicity of Natural Ingredients*. IntechOpen.
- Gong, L., Zhang, Y., Liu, C., Zhang, M. and Han, S. (2021). Application of radiosensitizers in cancer radiotherapy. *International Journal of Nanomedicine*, 1083-1102.
- Görgün, D. E., Kumartaşlı, S., Avinç, O. and Atar, N. (2021). Boron fibers and their applications. *Textile Science and Economy*, 56.
- Groelly, F. J., Fawkes, M., Dagg, R. A., Blackford, A. N. and Tarsounas, M. (2023). Targeting DNA damage response pathways in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 23(2), 78-94.
- Guilherme, R. S., Ayres Meloni, V. F., Kim, C. A., Pellegrino, R., Takeno, S. S., Spinner, N. B., Conlin, L. K., Christofolini, D. M., Kulikowski, L. D. and Melaragno, M. I. (2011). Mechanisms of ring chromosome formation, ring instability and clinical consequences. *Bio Medical Central Genetics*, 12, 1-7.
- Guliyev, R. (2018). Borojips endüstriyel atığının bor içerikli diamonyum fosfat üretiminde kullanılabilirliğinin incelenmesi. *Bor Dergisi*, 3(2), 87-96.
- Gülsoy, N., Yavaş, C. and Mutlu, Ö. (2015). Genotoxic effects of boric acid and borax in zebrafish, *Danio rerio* using alkaline comet assay. *Experimental and Clinical Sciences*, 14, 890.

- Gündoğdu, A. Ç., Arı, N. S., Höbel, A., Şenol, G., Eldiven, Ö. and Kar, F. (2023). Boric acid exhibits anticancer properties in human endometrial cancer ishikawa cells. *Cureus*, 15(8).
- Gwokyalaya, R. and Altuntaş, H. (2019). Boric acid-induced immunotoxicity and genotoxicity in model insect *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: *Pyralidae*). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 101(4), e21588.
- Habas, K., Najafzadeh, M., Baumgartner, A., Brinkworth, M. H. and Anderson, D. (2017). An evaluation of DNA damage in human lymphocytes and sperm exposed to methyl methanesulfonate involving the regulation pathways associated with apoptosis. *Chemosphere*, 185, 709-716.
- Hacıoğlu, C., Kar, F., Kaçar, S., Şahintürk, V. and Kanbak, G. (2020). High concentrations of boric acid trigger concentration-dependent oxidative stress, apoptotic pathways and morphological alterations in DU-145 human prostate cancer cell line. *Biological Trace Element Research*, 193, 400-409.
- Halıcı, A., Seyrek, A., Aykan, K., Ünal, F. ve Yüzbaşıoğlu, D. (2021). Nanopartiküllerin genotoksik etkileri. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 2(2), 19-38.
- Harabor, A., Rotaru, P., Scorei, R. I. and Harabor, N. A. (2014). Non-conventional hexagonal structure for boric acid. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 118, 1375-1384.
- Heller, E., Murthy, A. S. and Jen, M. V. (2019). A slime of the times: two cases of acute irritant contact dermatitis from homemade slime. *Pediatric Dermatology*, 36(1), 139-141.
- Hozayen, W., AlSenosy, N., Basal, W., Ahmed, A. and Diab, A. (2020). Evaluation of genotoxicity of three food preservatives in drosophila melanogaster using smart and comet assays. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10(1), 38-41.
- İla, H. B. ve Hüsnet, M. T. (2022). Kromozom anormallikleri testi. Ünal, F. ve Yüzbaşıoğlu, D. (Editörler). *Genetik Toksikoloji*, Ankara: Nobel Yayınları, 153-184.
- İnce, S. and Arslan-Acaröz, D. (2015). An update on health effects of metalloïd trace element: Boron. *Aperito Journal of Drug Designing and Pharmacology*, 2(1), 78-92.
- İnce, S., Küçükkurt, I., Cigerci, I. H., Fidan, A. F. and Eryavuz, A. (2010). The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(3), 161-164.
- İnternet: OECD. Web: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecd-guidelines-testing-chemicals-related-documents.htm#:~:text=The%20OECD%20Guidelines%20for%20the,assess%20the%20safety%20of%20chemicals>, Son Erişim Tarihi: 08.09.2023.

İnternet: Türkiye Enerji, Nükleer ve Maden Araştırma Kurumu Web: <https://boren.tenmak.gov.tr/tr/calisma-alanlari/rezervler.html>, Son Erişim Tarihi, 29.04.2024.

İnternet: Türkiye Enerji, Nükleer ve Maden Araştırma Kurumu. Web: <https://boren.tenmak.gov.tr/tr/calisma-alanlari/tarihce.html>, Son Erişim Tarihi: 29.04.2024.

Irigaray, P., Newby, J. A., Clapp, R., Hardell, L., Howard, V., Montagnier, L., Epstein, S. and Belpomme, D. (2007). Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 61(10), 640-658.

Ismawati, R., Nugroho, S. E. and Prasetya, A. T. (2023). Natural indicators of borax and its utilization in the development of project-based student worksheets to improve science process skills. *Jurnal Pendidikan Sains Indonesia*, 11(3), 496-511.

Jelic, M. D., Mandic, A. D., Maricic, S. M. and Srdjenovic, B. U. (2021). Oxidative stress and its role in cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 17(1), 22-28.

Kahraman, E. and Göker, E. (2022). Boric acid exert anti-cancer effect in poorly differentiated hepatocellular carcinoma cells via inhibition of AKT signaling pathway. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 73, 127043.

Kahraman, E. and Göker, E. (2023). Boric acid treatment strengthens the cytotoxic effect of sorafenib on triple negative breast cancer cell lines. *Celal Bayar University Journal of Science*, 19(2), 137-141.

Kahraman, E., Gürhan, İ. D. and Korkmaz, M. (2013). Investigation of possible genotoxic and cytotoxic effects of differential boron compounds in CCL 62 (hela contaminant) human amniotic epithelial cell line. *Medicine Science*, 2(1), 454-468.

Kamel, S. M., Elgobashy, S. F., Omara, R. I., Derbalah, A. S., Abdelfatah, M., El-Shaer, A., Al-Askar, A., Abdelkhalek, A., Abd-Elsalam, K. A., Essa, T., Kamran, M. and Elsharkawy, M. M. (2022). Antifungal activity of copper oxide nanoparticles against root rot disease in cucumber. *Journal of Fungi*, 8(9), 911.

Karabağ, F., İnce, S., & Demirel, H. H. (2023). Boric acid is associated with the suppression of apoptosis and endoplasmic reticulum stress in rat model of paracetamol-induced hepatotoxicity. *Journal of Taibah University for Science*, 17(1), 2250565.

Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1), 50-59.

Karayel, H. B. (2022). The effects of natural boron mineral on the essential oil ratio and components of the spearmint (*Mentha spicata* L.). *Journal of Agricultural Sciences*, 28(1), 63-70.

Khan, M. A., 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.

- 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*, 106062.
- Kohli, S. K., Kaur, H., Khanna, K., Handa, N., Bhardwaj, R., Rinklebe, J. and Ahmad, P. (2023). Boron in plants: Uptake, deficiency and biological potential. *Plant Growth Regulation*, 100(2), 267-282.
- Koruk, D. ve Kırzioğlu, Z. (2010). Diş beyazlatma tedavisinin güvenilirliği. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 11(1), 29-37.
- Kumar, G. and Srivastava, N. (2011). Genotoxic effects of two commonly used food additives of boric acid and sunset yellow in root meristems of *Trigonella foenum-graecum*. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 8(4), 361-366.
- Kumar, R. and Tutlani, A. (2023). Alkylating agent used in mutation breeding. *Just Agriculture*, 3(11), 366-373.
- Lee, M.Y., Kim, M.A., Kim, H.J., Bae, Y.S., Park, J.I., Kwak, J.Y., Chung, J. H. and Yun, J. (2007). Alkylating agent methyl methanesulfonate (MMS) induces a wave of global protein hyperacetylation: Implications in cancer cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 360(2), 483-489.
- Letchumanan, D., Sok, S. P., Ibrahim, S., Nagoor, N. H. and Arshad, N. M. (2021). Plant-based biosynthesis of copper/copper oxide nanoparticles: an update on their applications in biomedicine, mechanisms, and toxicity. *Biomolecules*, 11(4), 564.
- Lindberg, H. K., Wang, X., Järventausta, H., Falck, G. C. M., Norppa, H. and Fenech, M. (2007). Origin of nuclear buds and micronuclei in normal and folate-deprived human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 617(1-2), 33-45.
- Liou, G. Y. and Storz, P. (2010). Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research*, 44(5), 479-496.
- Lisanti, M. P., Martinez-Outschoorn, U. E., Lin, Z., Pavlides, S., Whitaker-Menezes, D., Pestell, R. G., Howell, A. and Sotgia, F. (2011). Hydrogen peroxide fuels aging, inflammation, cancer metabolism and metastasis: the seed and soil also needs" fertilizer". *Cell cycle*, 10(15), 2440-2449.
- Liu, J., Zhang, M., Fan, J., Ding, W., Chen, L., Luo, J., Liu, Y. and Mei, L. (2023). The synergistic effects of AMF inoculation and boron deficiency on the growth and physiology of *Camellia oleifera* seedlings. *Forests*, 14(6), 1126.
- Luan, Y. and Honma, M. (2022). Genotoxicity testing and recent advances. *Genome Instability and Disease*, 3(1), 1-21.
- Luca, V. S., Miron, A. and Aprotosoiaie, A. C. (2016). The antigenotoxic potential of dietary flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 15, 591-625.
- Luo, J., Mills, K., Le Cessie, S., Noordam, R. and Van Heemst, D. (2020). Ageing, age-related diseases and oxidative stress: what to do next?. *Ageing research reviews*, 57, 100982.

- Maliszewska-Olejniczak, K., Kaniowski, D., Araszkiewicz, M., Tymińska, K. and Korgul, A. (2021). Molecular mechanisms of specific cellular DNA damage response and repair induced by the mixed radiation field during boron neutron capture therapy. *Frontiers in Oncology*, 11, 676575.
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P. and D'Alessandro, A. G. (2022). Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2), 48-78.
- Munteanu, I. G. and Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380.
- 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.
- Muto, S., Yamada, K., Kato, T., Wako, Y., Kawasako, K., Iwase, Y. and Uno, Y. (2015). Assessment of methyl methanesulfonate using the repeated-dose liver micronucleus assay in young adult rats. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 780, 107-110.
- Naz, S., Gül, A. and Zia, M. (2020). Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *The Institution of Engineering and Technology*, 14(1), 1-13.
- Nia, H. T., Munn, L. L. and Jain, R. K. (2020). Physical traits of cancer. *Science*, 370(6516), eaaz0868.
- Nouira, N., Hamdi, D., Tlili, R., Ftirich, N., Bahria, W., Sfaxi, S., Lahouegue, A. and Cheikh, M. B. (2020). Fast atrial fibrillation: could the systemic uptake of boric acid through the nasal mucosa be the cause?. *Journal of MAR Cardiology and Heart Diseases*, 1(1), 1-6.
- Obe, G., Pfeiffer, P., Savage, J. R. K., Johannes, C., Goedecke, W., Jeppesen, P., Natarajan, A. T., Martínez-López, W., Folle, G. A. and Drets, M. E. (2002). Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504(1-2), 17-36.
- Öndaş, O., Utlu, B., Bayrakçeken, K. and Yıldırım, S. (2023). Efficacy of topical boric acid in the treatment of experimental *Pseudomonas aeruginosa* keratitis in rats. *Van Tıp Dergisi*, 30(1).
- Ovejero, S., Soulet, C. and Moriel-Carretero, M. (2021). The alkylating agent methyl methanesulfonate triggers lipid alterations at the inner nuclear membrane that are independent from its DNA-damaging ability. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), 7461.
- Patel, V., Kruse, P. and Selvaganapathy, P. R. (2020). Solid state sensors for hydrogen peroxide detection. *Biosensors*, 11(1), 9.
- Paties Montagner, G., Dominici, S., Piaggi, S., Pompella, A. and Corti, A. (2023). Redox mechanisms underlying the cytostatic effects of boric acid on cancer cells-an issue still open. *Antioxidants*, 12(6), 1302.

- Pellestor, F., Gaillard, J. B., Schneider, A., Puechberty, J. and Gatinois, V. (2022). Chromoanagenesis, the mechanisms of a genomic chaos. In *Seminars in Cell and Developmental Biology* 123, 90-99.
- Perry, P. and Wolff, S. (1974). New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature*, 251(5471), 156-158.
- Petrova, A., Plaksenkova, I., Kokina, I. and Jermałonoka, M. (2021). Effect of Fe₃O₄ and CuO Nanoparticles on morphology, genotoxicity, and miRNA expression on different barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. *The Scientific World Journal*, 2021, 1-11.
- Portu, A., Molinari, A. J., Thorp, S. I., Pozzi, E. C. C., Curotto, P., Schwint, A. E. and Saint Martin, G. (2015). Neutron autoradiography to study boron compound microdistribution in an oral cancer model. *International Journal of Radiation Biology*, 91(4), 329-335.
- Powell, A., Ghanem, K. G., Rogers, L., Zinalabedini, A., Brotman, R. M., Zenilman, J. and Tuddenham, S. (2019). Clinicians' use of intravaginal boric acid maintenance therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. *Sexually Transmitted Diseases*, 46(12), 810.
- Revell, S. H. (1974). *Advances in Radiation Biology*. Lett, J. T., Adler, H. and Zelle, M. (Editors). *Advances in Radiation Biology*, New York: Academic Press, 367-416.
- Riley, R. S., June, C. H., Langer, R. and Mitchell, M. J. (2019). Delivery technologies for cancer immunotherapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(3), 175-196.
- Rondanelli, M., Faliva, M. A., Peroni, G., Infantino, V., Gasparri, C., Iannello, G., Perna, S., Riva, A., Petrangolini, G. and Tartara, A. (2020). Pivotal role of boron supplementation on bone health: A narrative review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62, 126577.
- Sankpal, U. T., Pius, H., Khan, M., Shukoor, M. I., Maliakal, P., Lee, C. M., Abdelrahim, M., Connelly, S. F. and Basha, R. (2012). Environmental factors in causing human cancers: emphasis on tumorigenesis. *Tumor Biology*, 33, 1265-1274.
- Santodomingo-Rubido, J., Mori, O. and Kawaminami, S. (2006). Cytotoxicity and antimicrobial activity of six multipurpose soft contact lens disinfecting solutions. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 26(5), 476-482.
- Santos, R., Palos-Ladeiro, M., Besnard, A., Reggio, J., Vulliet, E., Porcher, J. M., Bony, S., Sanchez, W. and Devaux, A. (2013). Parental exposure to methyl methane sulfonate of three-spined stickleback: contribution of DNA damage in male and female germ cells to further development impairment in progeny. *Ecotoxicology*, 22(5), 815-824.
- Sarıaltın, S.Y., Üstündağ, A., Chinheya, R.M., İpek, S. and Duydu, Y. (2022). Cytotoxicity, genotoxicity, oxidative stress, apoptosis, and cell cycle arrest in human Sertoli cells exposed to boric acid. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 70, 126913.
- Savage, J. R. (1976). Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *Journal of Medical Genetics*, 13(2), 103-122.

- Saygılı, Y., Ünal, F. ve Yüzbaşıoğlu, D. (2021). Metal oksit nanopartiküllerin genotoksik etkileri. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 33(3), 429-443.
- Schirmacher, V. (2019). From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment. *International Journal of Oncology*, 54(2), 407-419.
- Schmidt, M., Schaumberg, J. Z., Steen, C. M. and Boyer, M. P. (2010). Boric acid disturbs cell wall synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Microbiology*, 930465.
- Scorei, R. and Popa, R. (2010). Boron-containing compounds as preventive and chemotherapeutic agents for cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 10(4), 346-351.
- Scorei, R., Ciubar, R., Ciofrangeanu, C. M., Mitran, V., Cimpean, A. and Iordachescu, D. (2008). Comparative effects of boric acid and calcium fructoborate on breast cancer cells. *Biological Trace Element Research*, 122, 197-205.
- Sevim, Ç. and Kara, M. (2022). Boron and Boron-Containing Compounds Toxicity. In *The Toxicity of Environmental Pollutants*. IntechOpen.
- Sevim, F., Demir, F., Bilen, M. and Okur, H. (2006). Kinetic analysis of thermal decomposition of boric acid from thermogravimetric data. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 23, 736-740.
- Sharma, A., Banyal, M., Gupta, J. and Joshi, S. (2023). Formulation And Evaluation Of Herbal Cold Cream. *International Journal of Advance Research and Innovative Ideas in Education*, 9(3), 2395-4396.
- Shimizu, I., Yoshida, Y., Suda, M. and Minamino, T. (2014). DNA damage response and metabolic disease. *Cell Metabolism*, 20(6), 967-977.
- Shobha, G., Shashidhara, K. S. and Naik, C. (2020). Cuprous Oxide Nanoparticles Induced Antioxidant Response and Genotoxicity in *Lycopersicon esculentum*. *BioNanoScience*, 10, 1128-1137.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S. and Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(1), 17-48.
- Sies, H. and Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(7), 363-383.
- Singh, J., Kaur, G. and Rawat, M. (2016). A brief review on synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and its applications. *Journal of Bioelectronics and Nanotechnology*, 1(9).
- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R. and Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175(1), 184-191.

- Sökmen, N. and Büyükakıncı, B. Y. (2018). The usage of boron/boron compounds in the textile industry and its situation in Turkey. *CBU International Conference On Innovations in Science and Education*, Prague, 1158-1165.
- Sommer, S., Buraczewska, I. and Kruszewski, M. (2020). Micronucleus assay: The state of art, and future directions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1534.
- Speit, G. and Haupter, S. (1985). On the mechanism of differential Giemsa staining of bromodeoxyuridine-substituted chromosomes: II. Differences between the demonstration of sister chromatid differentiation and replication patterns. *Human Genetics*, 70, 126-129.
- St-Pierre, L. P., Sernoskie, S. C., Verner, M. A. and Ho, V. (2021). Genotoxic effect of meat consumption: a mini review. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 863, 503311.
- Stults, D. M., Killen, M. W. and Pierce, A. J. (2014). The sister chromatid exchange (SCE) assay. *Molecular Toxicology Protocols*, 439-455.
- Tang, J., Zheng, X. T., Xiao, K., Wang, K. L., Wang, J., Wang, Y. X., Wang, K., Wang, W., Lu, S., Yang, K. L., Sun, P. P., Khaliq, H., Zhong, J. and Peng, K. M. (2016). Effect of boric acid supplementation on the expression of BDNF in African ostrich chick brain. *Biological Trace Element Research*, 170, 208-215.
- Taskaev, S. Y. (2021). Boron neutron capture therapy. *Physics of Atomic Nuclei*, 84, 207-211.
- Thada, V. and Greenberg, R. A. (2022). Unpaved roads: How the DNA damage response navigates endogenous genotoxins. *DNA Repair*, 103383.
- Thompson, R. (1974). Industrial applications of boron compounds. *Pure and Applied Chemistry*, 39(4), 547-559.
- Topaktaş, M. ve İstifli E.S. (2022). Kısa süreli genotoksisite testleri ve genotoksisitede bilgisayar destekli *in silico* moleküler kenetlenme ve moleküler dinamik yaklaşımlar. Ünal, F. ve Yüzbaşıoğlu, D. (Editörler). *Genetik Toksikoloji*, Ankara: Nobel Yayınları, 1-29.
- Topçu, U. ve Soyhan, H.S. (2022). Bor mineralinin yangın geciktirici etkileri. *Uluslararası Yakıtlar Yanma ve Yangın Dergisi*, 10(1), 28-37.
- Türkez, H. (2008). Effects of boric acid and borax on titanium dioxide genotoxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 28(5), 658-664.
- 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. and Çolak, S. (2011). The protective effect of boric acid on aluminum-induced hepatotoxicity and genotoxicity in rats. *Turkish Journal of Biology*, 35(3), 293-301.

- Türkez, H., Geyikoğlu, F., Dirican, E. and Tatar, A. (2012). *In vitro* studies on chemoprotective effect of borax against aflatoxin B1-induced genetic damage in human lymphocytes. *Cytotechnology*, 64, 607-612.
- 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.
- Türkez, H., Tatar, A., Hacımüftuoğlu, A. and Özdemir, E. (2010). Boric acid as a protector against paclitaxel genotoxicity. *Acta Biochimica Polonica*, 57(1), 95-97.
- Türkez, 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*, 1-11.
- Türkez, H., Yıldırım, S., Şahin, E., Arslan, M.E., Emsen, B., Tozlu, O.O., Alak, G., Tatar, A., Hacımüftüoğlu, A., Keleş, M. S., Geyikoğlu, F., Atamanalp, M., Saruhan, F. and Mardinoğlu, A. (2022). Boron Compounds Exhibit Protective Effects Against Aluminum-Induced Neurotoxicity and Genotoxicity: *in vitro* and *in vivo* Study. *Toxics*, 10(8), 428.
- Tütüncü, M., Özşengezer, S. K., Karakayali, T. and Altun, Z. S. (2022). The effects of boric acid and disodium pentaborate dehydrate in metastatic prostate cancer cells. *Journal of Radiology and Oncology*, 6(2), 12-17.
- Tuzovic, M., Mead, M., Young, P. A., Schiller, G. and Yang, E. H. (2019). Cardiac complications in the adult bone marrow transplant patient. *Current Oncology Reports*, 21, 1-16.
- Uçar, A., Arslan, M. E., Çilingir Yeltekin, A., Özgeriş, F. B., Çağlar-Yıldırım, O., Parlak, V., Alak, G., Türkez, H. and Atamanalp, M. (2023). Neutralization of iron oxide magnetic nanoparticle aquatotoxicity on *Oncorhynchus mykiss* via supplementation with ulexite. *Drug and Chemical Toxicology*, 5, 1-13.
- Ulu, A., Balcıoğlu, S., Birhanlı, E., Sarımeşeli, A., Keskin, R., Koytepe, S. and Ateş, B. (2018). Poly (2-hydroxyethyl methacrylate) /boric acid composite hydrogel as soft contact lens material: Thermal, optical, rheological, and enhanced antibacterial properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(35), 46575.
- Uluişik, I., Karakaya, H. C. and Koç, A. (2018). The importance of boron in biological systems. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 45, 156-162.
- Ünal, F., Saygılı, Y. ve Akbaş, E. (2022). Kuyruklu yıldız/Komet testi. Ünal, F. ve Yüzbaşıoğlu, D. (Editörler). *Genetik Toksikoloji*, Ankara: Nobel Yayınları, 313-340.
- Ünal, F., Taner, G., Yüzbaşıoğlu, D. and Yılmaz, S. (2013). Antigenotoxic effect of lipoic acid against mitomycin-C in human lymphocyte cultures. *Cytotechnology*, 65, 553-565.

- Üstündağ, 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.
- Veltman, C. H., Pennings, J. L., van de Water, B. and Luijten, M. (2023). An adverse outcome pathway network for chemically induced oxidative stress leading to (non) genotoxic carcinogenesis. *Chemical Research in Toxicology*, 36, 805-817.
- 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.
- Wang, Y., Feng, J., Wu, S., Shao, H., Zhang, W., Zhang, K., Zhang, H. and Yang, Q. (2022). Determination of methyl methanesulfonate and ethyl methylsulfonate in new drug for the treatment of fatty liver using derivatization followed by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Molecules*, 27(6), 1950.
- Was, H., Borkowska, A., Olszewska, A., Klemba, A., Marciniak, M., Synowiec, A. and Kieda, C. (2022, June). Polyploidy formation in cancer cells: How a Trojan horse is born. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 81, pp. 24-36). Academic Press.
- Watt, B. E., Proudfoot, A. T. and Vale, J. A. (2004). Hydrogen peroxide poisoning. *Toxicological Reviews*, 23, 51-57.
- Yao, Y., Bilichak, A., Golubov, A. and Kovalchuk, I. (2012). ddm1 plants are sensitive to methyl methane sulfonate and NaCl stresses and are deficient in DNA repair. *Plant Cell Reports*, 31, 1549-1561.
- Yardımcı, B. K., Mollaoğlu, Z., Altıntaş, F. and Güler, A. (2023). Investigation of dependency of boric acid and lithium metaborate induced yeast toxicity on the expressions of antioxidative and apoptotic genes. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(1), 545-554.
- Yıldırım, O., Seçme, M., Dodurga, Y., Mete, G. A. and Fenkci, S. M. (2021). Effects of boric acid on invasion, migration, proliferation, apoptosis, cell cycle and mirnas in medullary thyroid cancer cells. *International Journal of Engineering Technologies*, 8(2), 58-69.
- Yılmaz, S., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D. and Aksoy, H. (2008). Clastogenic effects of food additive citric acid in human peripheral lymphocytes. *Cytotechnology*, 56, 137-144.
- 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.
- Yüzbaşıoğlu, D. ve Avuloğlu-Yılmaz E. (2022). Mikronükleus Testi. Ünal, F. ve Yüzbaşıoğlu, D. (Editörler). *Genetik Toksikoloji*, Ankara: Nobel Yayınları, 219-249.
- Yüzbaşıoğlu, D., Avuloğlu-Yılmaz, E. ve Ünal, F. (2016). Antidepresan ilaçlar ve genotoksisite. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 9(1), 17-28.

- Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M., Yılmaz, S., Ünal, F. and Aksoy, H. (2006). Clastogenicity of the fungicide afugan in cultured human lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 604(1-2), 53-59.
- Yüzbaşıoğlu, 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.
- Yüzbaşıoğlu, D., Zengin, N. ve Ünal, F. (2014). Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. *Gıda*, 39(3), 179-186.
- Zengin, A., Aka, A., Gençay, S. ve Uzun, M. (2023). Bor madeni ve ensdüstriyel uygulamaları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (46), 161-178.







Gazili olmak ayrıcalıktır