



**İNSAN KOLON KANSERİ (CCL-233) HÜCRELERİNDE  
BORUN APOPTOTİK ve ANJİYOGENİK  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Şahabettin Can ÖZYARIM**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman:Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN**

**Uşak**

**Haziran, 2020**

**T.C.  
UŞAK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**İNSAN KOLON KANSERİNDE CCL-233 HÜCRELERİNDE BORUN  
APOPTOTİK ve ANTIANJİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ŞAHABETTİN CAN ÖZYARIM**

**2020  
UŞAK**

**T.C.  
UŞAK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**İNSAN KOLON KANSERİNDE CCL-233 HÜCRELERİNDE BORUN  
APOPTOTİK ve ANTIANJİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ŞAHABETTİN CAN ÖZYARIM**

**UŞAK 2020**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Şahabettin Can ÖZYARIM

UŞAK 2020



# İNSAN KOLON KANSERİ (CCL-233) HÜCRELERİNDE BORUN APOPTOTİK ve ANTIANJİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Şahabettin Can ÖZYARIM

UŞAK ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Haziran 2020

## ÖZET

Kolorektal kanser (CRC), dünya çapında kansere bağlı ölümlerin en yaygın nedenlerinden biridir ve kansere bağlı ölümün önde gelen nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Son araştırmalar, diyet ve yaşam tarzı dahil olmak üzere mikrobiyal ve çevresel faktörlerin kolon kanseri gelişimini etkileyebileceğini göstermiştir. Kolorektal kanser tedavisi için kullanılan metotların başarı oranları oldukça düşüktür.

Bor, çeşitli biyolojik işlemlerde önemli rol oynayan önemli bir mineraldir. Bitkilerin, hayvanların ve insanların büyümesi için bor gereklidir. Bor olarak adlandırılan bu bileşikler içerisinde en önemli olanları borik asit ve borakstır. Borik asit'in bazı önemli kimyasal özellikleri kanser tedavisinde kullanılabilirliğini desteklemektedir. Yapılan çalışmalar, bor diyetiyle beslenen hayvan ve insanlarda, kemik yoğunluğu, embriyonik gelişimi, yara iyileşmesi ve kanser tedavisi ile borun diğer faydalarının da ortaya koymaktadır. Borun, çeşitli enzimlerin ve minerallerin metabolizmasını etkilediği de bildirilmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında CCL-233 insan kolon adenokarsinom hücre hattı üzerine borik asitin etkileri proliferasyon, VEGF ve Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) analizi çalışmalarıyla araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda; hücre canlılık analizlerimizde

50 mM borik asitin hücre proliferasyonunu 24., 48. ve 72. saatler sonucunda azalttığı gözlenmiştir. En iyi sonuçların 48. saatte ortaya çıktığı bulunmuştur. Ardından 48. saatte PARP analizine bakılmıştır. PARP değerleri cisplatin uygulanan kontrol grubunda yüksek çıkmıştır. Buna karşılık borun iki konsantrasyonunda (50-100 mM) PARP seviyeleri kontrol grubuna göre ( $p<0,05$ ) düşük çıkmıştır. Bu analize ek olarak 48. saatte VEGF analizi yapılarak, VEGF bor düzeylerinin cisplatin uygulanan kontrol grubuyla aralarında fark olduğu, kontrol grubuyla aralarında bir fark olmadığı görülmüştür.

**Anahtar kelimeler** : Kolon Kanseri, Borik asit, Proliferasyon, VEGF, PARP

**Sayfa Adedi** : 80

**Tez Yöneticisi** : Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN



**INVESTIGATION OF THE APOPTOTIC AND ANTIANGIOGENIC EFFECTS OF  
BORON IN CCL-233 CELLS IN HUMAN COLON CANCER**

**(M. Sc. Thesis)**

**Şahabettin Can ÖZYARIM**

**UNIVERSITY OF UŞAK**

**GRADUATE EDUCATION INSTITUTE**

**June 2020**

**ABSTRACT**

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common causes of cancer-related deaths worldwide, and remains one of the leading causes of cancer-related death. Recent research has shown that microbial and environmental factors, including diet and lifestyle, may affect the development of colon cancer. The success rates of the methods used for colorectal cancer treatment are very low.

Boron is an important mineral that plays an important role in various biological processes. Boron is necessary for the growth of plants, animals and humans. Borik asit ve boraks, bor denilen bu bileşiklerin en önemlileridir. Borik asidin bazı önemli kimyasal özellikleri, kanser tedavisinde kullanımını desteklemektedir. Studies have demonstrated that bone density, embryonic development, wound healing and cancer treatment are associated with other benefits of boron in animals and humans fed the boron diet. Boron has also been reported to affect the metabolism of various enzymes and minerals. In this thesis, the effects of boric acid on CCL-233 human colon adenocarcinoma cell lines were investigated by proliferation, VEGF and PARP analysis studies.

As a result of the studies; cell viability analysis showed that 50 mM boric acid decreased cell proliferation after 24, 48 and 72 hours. The best results were found at 48 hours. At 48 hours performed PARP analysis was then. PARP values were higher in cisplatin applied

control group. In contrast, PARP levels were low at two levels of boron (50-100 mM). In addition to this analysis, VEGF analysis was performed at 48th hour and it was observed that VEGF boron levels differed with cisplatin and there was no difference between control groups.

**Keywords** : Colon Cancer, Boric acid, Proliferation, VEGF, PARP

**Number of Page** : 80

**Supervisor** : Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN





## TEŞEKKÜR

Lisans ve Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen; tez danışmanım, değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN'a en derin saygı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca yardımlarından dolayı yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Ve öğrenim hayatım boyunca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili aileme; babam Adem ÖZYARIM'a, annem Bahdişen ÖZYARIM'a, maddi manevi desteklerini esirgemeyen ablalarım Nurbanu YILMAZ ve Naime ÇILDIR'a, iyi ve kötü günümde yanımda olan Esra GÜL'e ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen dayım Ercan BALCI 'ya; kısacası emeği geçen herkese yürekten teşekkür ederim.

Şahabettin Can ÖZYARIM

UŞAK, 2020

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	viii
ÇİZELGELER LİSTESİ .....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 Kanser Nedir?.....	3
2.1.1 Kanser Türleri .....	6
2.2 Kolon Kanseri .....	7
2.2.1. Coğrafik Değişimler .....	9
2.2.2. Risk Faktörleri .....	10
2.3. Borik Asit.....	16
2. 3.1. Hayvanlarda ve İnsanlarda Borun Rolü .....	20
2. 3.2. Bor ve Hormonal Etkiler .....	21
2. 3.3. Bor ve Oksidatif Stres .....	22
2. 3.4. Borun Metabolik Etkileri.....	23
2. 4. Poli (ADP-Riboz) Polimerazlar (PARP) .....	27
2. 4.1. DNA Hasarına Bağlı PARP'ların Yapısı ve Mekanizması .....	30
2.5. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF).....	31
3. MATERYAL METOT .....	33
3.1. MATERYAL.....	33

3.1.1. Kullanılan Cihazlar .....	33
3.1.2. Kültürde Kullanılan Hücreler .....	34
3.1.3. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar .....	34
3.2. Metot.....	37
3.2.1. Hücre Kültürü Çalışması .....	37
3.2.2. Hücrelerin Çoğaltılması.....	37
3.2.3. Hücrelerin Pasajlanması .....	37
3.2.4. Hücre Proliferasyon Deneyi .....	38
3.2.5. PARP Analizi.....	39
3.2.6. VEGF Analizi .....	40
3.2.7. İstatistiksel Analizler.....	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Proliferasyon Deneyi Bulguları.....	42
4.2. PARP ve VEGF Analizi Bulguları .....	43
4.3. TAS ve TOS Analizi Bulguları .....	43
5. TARTIŞMA.....	44
KAYNAKÇA .....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	64

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Kanser nasıl başlar ve yayılır?.....	6
Şekil 2.2. Şekil Kolon kanser belirtileri ve evreleri.....	9
Şekil 2.3.1. Borik asidin kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2. 4.1. DNA onarımı ve PARP'ın aşırı aktivasyonu.....	28
Şekil 2.4.2. Kanser tedavisinde PARP inhibitörlerinin etki mekanizması.....	31



## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Dünyada en yaygın kullanılan bor içeren bileşikler .....	17
Çizelge 2.2. Bazı yicceklerdeki bor miktarı.....	18
Çizelge 2.3. Dünyadaki bor rezervleri (milyon ton).....	19
Çizelge 3.1. Kullanılan cihazların listesi, marka-modeli ve kullanım yeri .....	33
Çizelge 3.2. Hücre kültüründe kullanılan sarf malzeme ve kimyasallar listesi.....	35
Çizelge 3.3. Çalışmada oluşturulan gruplar .....	38
Çizelge 4.1. Borik Asidin farklı konsantrasyon uygulamalarındaki Proliferasyon- Konsantrasyon grafiği.....	42
Çizelge 4.2. Borik Asidin farklı konsantrasyon uygulamalarındaki PARP ve VEGF istatistiksel analizleri.....	43
Çizelge 4.3. Borik Asidin farklı konsantrasyon uygulamalarındaki TAS-TOS istatistiksel analizleri. ....	43

## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
Ppm	Milyonda bir birim
g	Gram
mM	Milimolar
mg	Miligram
L	Litre
Ca	Kalsiyum
Mg	Magnezyum
ng	Nanogram
mL	Mililitre
kg	Kilogram
B	Bor
kcal	Kilokalori
P	Fosfat
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
CRC	Colorectal Cancer
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
PARP	Poly (ADP-ribose) polymerase
BA	Borik Asit
FAP	Familyal (Ailesel) Adenomatöz Polipozis
IBH	İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları
HNPCC	Lynch sendromu
BER	Baz eksizyonu onarımı
SSBR	Tek iplikçik kopması onarımı
NF-kB	Nuclear Factor kappa B
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit

RPMI	Roswell Park Memorial Institute
CCK-8	Cholecystokinin-8
PBS	Fosfat tamponlu salin
TAS	Total antioksidan kapasite
TOS	Total oksidatif stres
EGF	Epidermal büyüme faktörü
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
MDA	Malondialdehit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
RGII	Rhamnogalacturonan II
Cis	Cisplatin
mRNA	Mesajcı RNA
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
TG	Trigliserit
OP	Organofosfat
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
GSH	Glutatyon
Hib	Haemophilus influenzae Tip b
Hep	Hepatitis
HPV	İnsan papilloma virüsü
TGA	Büyük arterlerin transpozisyon
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
LDL	Düşük yoğunluklu lipoproteinlerdir

HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
BOPP	Boronlanmış porfirin
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
CRT	Calreticulin
BNCT	Bor Nötron Yakalama Terapisi
BPA	L-boronofenilalanin
BSH	Sodyum borokaptat
ADPRT	ADP ribosil transferazın
DMS	Dimetil sülfat
3-AB	3-aminobenzamid
MN	Mikronükleus
SCE	Kardeş kromatid değişimi
RBC	Kırmızı kan hücresi
SBE	Şeker borat esteridir
CDC	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, hızlı ve kontrolsüz hücre bölünmesi sonucu gelişen ölümcül bir hastalıktır. Bu tür anormal gelişim kolon veya rektumda gerçekleştiğinde, kalın bağırsak kanseri olarak karakterize edilen kolorektal kanser (CRC) olarak kabul edilir. Kolon (kalın bağırsak ya da kalın bağırsak), sindirim sisteminin yaklaşık 5 fit uzunluğunda, gıdadan su ve tuzları emen, rektum ise sindirim sisteminin 6 inç'ine ulaşan kaslı bir borudur [1].

CRC, bağırsağın en uzun dalını temsil eden kolon dokularından birinde ve anüsün önündeki bağırsağın büyük bölümü olan rektum dokularında oluşan bir kanserdir. CRC, dünya çapında kanser ölümlerinin en önemli nedenlerinden biridir. Hemen hemen tüm CRC polip adında küçük bir gelişme olarak başlar, bu tür polipler tipik olarak iyi huyludur, birkaç yıl sonra kanser gibi büyüyebilir, ancak bu 10 yıldan fazla sürebilir. CRC, erkeklerde en sık görülen ikinci kanser ve kadın popülasyonundaki en yaygın üçüncü kanserdir [2].

CRC'nin oluşumu tüm dünyada yaygın olarak farklıdır ve özellikle Avustralya, Yeni Zelanda, Avrupa ve Kuzey Amerika'da gelişmiş ülkelerde en sık rastlanan oranlar bulunurken, en az insidans oranları Afrika ve Asya'da bulunmuştur. Bu coğrafi tutarsızlıklar, diyet ve çevresel faktörlerdeki varyanslar olarak gösterilebilir. Bununla birlikte, yeni gelişmiş ülkelerde CRC'nin ortaya çıkma oranları artmaktadır. Kanserlerin görülme oranlarının artması, diyetin batılılaşması, obezitenin artışı ve hareketsizlik olarak gösterilebilir [3].

Yaş, polip varlığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı, yaşam standardı ve özgeçmişteki genetik bozukluk gibi birçok faktör CRC riski ile ilişkili bulunmuştur. Obezite, fiziksel hareketsizlik, kötü beslenme, sigara içme ve aşırı alkol kullanımı gibi çevresel faktörler tüm CRC koşullarının yaklaşık %80'ini oluşturur [4]. Yeni oluşan CRC herhangi bir belirti göstermeyebilir ve CRC endikasyonları çoğunlukla metastaz yapma yeteneğine ve pozisyonuna güvenmektedir [5, 6].

Günümüzde kanser tedavisi için kullanılan ilaçların çoğu, hücrenin DNA'sının işleyişine bir şekilde müdahale ederek çalışan sitotoksik ilaçlardır. Sitotoksik bileşiklerin tanımlanması, on yıldır anti-kanser terapisinin geliştirilmesine yol açmıştır. Kanser tedavisinde ilerlenmiş olsa da tümör hücrelerini seçici olarak hedeflemek için kullanılacak malignitelerin benzersiz biyokimyasal yönlerinin tanımlanmasıyla sınırlı kalmaya devam etmiştir [7].

Bor, atom numarası 5 ve simgesi B olan kimyasal elementtir. Bor bir ametal ile metal arasında yarı iletken olan yarı metaldir. Gerek Güneş Sistemi'nde gerek Dünya'nın kabuğunda düşük miktarda bulunan bir elementtir. Buna rağmen, doğada rastlanan bileşiklerinin (borat minerallerinin) suda çözünürlüğü nedeniyle belli yerlerde yüksek yoğunlukta bulunabilir. Bor esas olarak okyanuslarda ve topraklarda inorganik boratlar formunda ortaya çıkar [8]. Bor zorlukla elde edilebilir çünkü bor, karbon ve başka elementlerle bileşikler oluşturur. Bu nedenle elementer bor doğada serbest halde bulunmaz. Dünyada en çok bor Türkiye'de bulunmaktadır [9]. Bor olarak adlandırılan bu bileşikler içerisinde en önemli olanları borik asit ve boraktır [10]. Borik asit ( $H_3BO_3$ ) bor'un hayvanlarda ve insanda en yaygın bulunan formudur; renk ve kokusu yoktur, şeffaf kristal yapısı nedeniyle suda kolayca çözünebilir. İz element bor, hayvan ve insan biyolojisi için temel öneme sahip dinamik bir besindir. Biyolojide boratlar memelilere düşük düzeyde toksiktir (sofra tuzu kadar) ama eklem bacaklılarda çok daha etkilidirler. Günlük bor alımı borik asit (BA) şeklinde olmaktadır. Bor (B) bileşiklerinin çeşitli biyolojik fonksiyonları bilinmektedir [11, 12, 13]. BA'nın bazı önemli kimyasal özellikleri kanser tedavisinde kullanılabilirliğini desteklemektedir [14].

Bu çalışmanın amacı; dünyada ve ülkemizde sık görülen, CCL-233 kolon kanseri hücresi üzerine in vitro koşullarda farklı konsantrasyonlarda BA'nın etkilerini incelemektir. Bu amaçla bir insan kolon kanseri hücre hattı olan CCL-233 hücrelerinde BA'nın LD50 değerini belirlemek için proliferasyon, angiogenez oluşumunu belirlemek amacıyla VEGF, apoptotik etkinin belirlenmesi amacıyla PARP analizi yapılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Kanser Nedir?

Kanser, vücut içindeki normal hücrelerin bir grubunda gelişen varyasyonların, tümör adı verilen bir yumru oluşumuna neden olacak şekilde sınırsız büyümeye meyilli olduğu zaman ortaya çıkan ölümcül bir hastalık olarak tanımlanır. Bu açıklama Hematolojik kanserler dışındaki tüm kanserler için geçerlidir. Normal hücreler sürekli olarak hücrenin bölünmesi, başka bir hücreye ayrılması veya ölmesi gerektiğini belirten sinyallere maruz kalır. Kanseri hücreleri bu sinyallerden bir dereceye kadar özerklik geliştirerek kontrolsüz büyüme ve çoğalma ile sonuçlanır. Etkilenen hücreler tedavi edilmeden bırakılırsa, tümörler gelişebilir ve sağlıklı dokuya bağlanabilir veya tümörün daha fazla yayılmasına (metastaz) kan akımı ve lenfatik sistem yoluyla mümkün olabilir. Aslında, kansere bağlı ölümlerin neredeyse %90'ı, tümör yayılmasından kaynaklanıyor – bu olay metastaz adı verilen bir süreçtir.

İnsan vücudundaki sağlıklı hücreler sürekli olarak bölünür, başka bir hücreye farklılaşır veya çeşitli sinyal ve yollara göre geri dönüştürülür. Ancak, kanser hücreleri sınırsız gelişme ve çoğalma sağlayan bu sinyallerden bağımsız olarak büyür. Kansere bağlı ölümlerin %90'ı tümörden kaynaklandığı biliniyor, eğer bu proliferasyon tedavi edilemezse ve yayılmasına izin verilirse ciddi veya tedavi edilemez bir duruma neden olabilir [15].

Kanser, dünya çapında ölüm grubunun önde gelen bir nedenidir ve 2004 yılında 7,4 milyon ölüme (tüm ölümlerin yaklaşık %13'ü) neden olmuştur. Ana kanser türleri:

- Akciğer (1,3 milyon ölüm / yıl)
- Mide (803.000 ölüm)
- Kolorektal (639.000 ölüm)

- Karaciğer (610.000 ölüm)
- Meme (519.000 ölüm)

Tüm kanser ölümlerinin %70'inden fazlası düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelmektedir.

Kanserler yaklaşık olarak her 3 kişiden birinde ortaya çıkar. Kanser, aynı zamanda kanser hastasının ömrü boyunca tekrar meydana gelebilecek veya devam edebilen bir hastalıktır, bazı kanser hastaları asla hastalığından tamamen kurtulamaz, diğer kanser hastaları ilaçtan sonra hastalıktan kurtulabilir veya remisyonda olabilir ve daha sonra kanser tekrar görülebilir. Kanser değişken hastalıkları içermesine rağmen, tüm kanser hücrelerinin önemli bir özelliği vardır, bunlar normal hücre bölünmesinin bozulduğu standart olmayan hücrelerdir ve kanser, normal hücrelerin anormal işlevler kazanmasına neden olan modifikasyonlardan büyür.

Kanserin başlatılması ve ilerletilmesi, hem ortamdaki dış etkenlere (tütün, kimyasallar, radyasyon ve bulaşıcı organizmalar) hem de hücre içindeki faktörlere (kalıtsal mutasyonlar, hormonlar, bağışıklık koşulları ve metabolizmadan kaynaklanan mutasyonlar) bağlıdır.

Kanserler için risk faktörleri

- Tütün kullanımı
- Alkol kullanımı
- Yetersiz meyve ve sebze alımını içeren diyet faktörleri
- Aşırı kilo ve obezite
- Fiziksel hareketsizlik
- Helicobacter pylori, hepatit B virüsü (HBV), hepatit C virüsü (HCV) ve bazı insan papilloma virüsünün (HPV) kronik enfeksiyonları
- İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon dahil çevresel ve mesleki riskler

Bu faktörler birlikte veya sırayla hareket ederek anormal hücre davranışı ve aşırı proliferasyona neden olabilir. Sonuç olarak, hücre kütleleri etrafındaki normal dokuları

(beyindeki gibi) etkileyerek büyür ve genişler ve ayrıca vücuttaki diğer bölgelere de yayılabilir (metastaz). Ayrıca kanserlerin çoğunluğu belirli bir olaydan veya faktörden gelişmez, kanser hücreleri sınırsız hücre gelişimi özelliğine sahiptir ve ayrıca yakın dokularına saldırma ve sonunda insan vücudunun uzak alanlarında metastaz oluşturma kabiliyetine sahiptir.

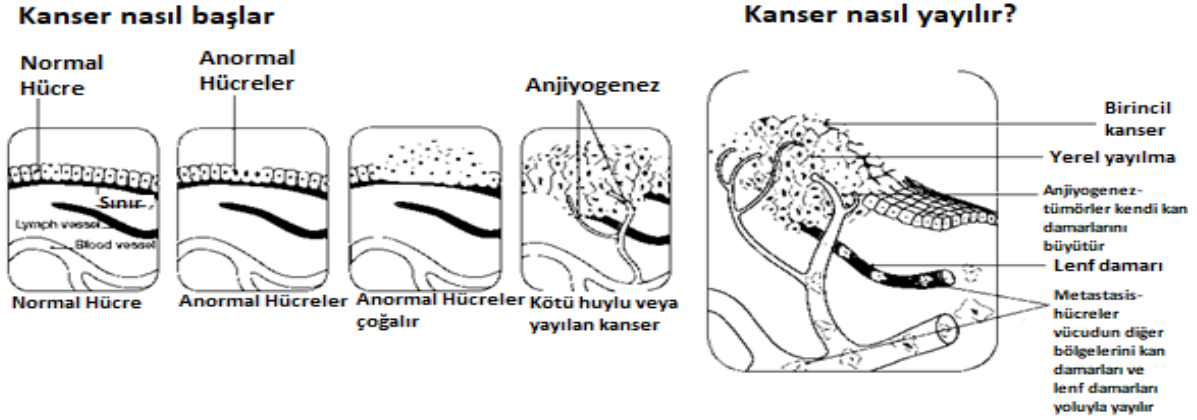
Gen mutasyonu veya deregülasyon, doku saldırısı ve uzak metastaz oluşumu ile oldukça ilişkili olan hücre hareketine de yardımcı olur. Temel olarak hücrenin normal özelliklerini değiştiren bir dizi moleküler olaydan meydana gelen kanser, kanser hücrelerinde, hücrenin büyümesini ve diğer dokuların saldırısını durduran normal kontrol sistemlerini etkisiz hale getirilir [16].

Yüzden fazla türden farklı kanser türlerine rağmen, kanserlerin çoğunda genel olan bazı benzerlikler belirlenmiştir. Sağlıklı dokular, yolları göstererek ve hücre gelişimi ile bölünme semptomlarını yöneterek iletilen proliferatif uyarıyı dikkatlice kontrol eder. Kanser hücrelerinde bu belirten yollar sıklıkla değişmekte ve kanser hücrelerinin otonom olarak çoğalmasına neden olmaktadır. Bununla birlikte, kontrolsüz proliferasyonun sadece gelişmiş proliferatif endikasyonların varlığına değil, aynı zamanda hücre proliferasyonunu sınırlayan mekanizmaların inaktivasyonuna ihtiyacı vardır [17].

Kanser hücrelerinin makroskopik tümörler üretmek için sınırsız çoğaltma potansiyeline ihtiyaç duyduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Sağlıklı dokularda, replikasyon kabiliyeti iki ana mekanizma ile sınırlıdır. Bunlardan ilki, dinlenme ama canlı bir durumda hücreleri koruyan yaşlılıktır. İkincisi hücre kaybına neden olan krizdir. Kanser hücrelerinin bu sınırlayıcı işlemleri gerçekleştirme kabiliyetinin ölümsüzleşme olduğu gösterilmiştir ve telomeraz enzimi bu prosedürde temel bir fonksiyon teşkil eder ve bu her iki mekanizmanın başlatılmasına karşı bir direnç ile bağlantılıdır.

Kanserin mortalitesi, kanser hücrelerinin insan vücudunun diğer dallarına saldıran ve metastaz yapan çok aşamalı bir süreçte dağılma kabiliyetine bağlıdır. Son olarak mikro metastaz lezyonları makroskopik tümörlere büyür ve kolonizasyona dönüşür. Ayrıca kanser hücreleri, formları ile birlikte diğer hücrelerle ve hücre dışı matriks ile olan bağlantılarında da değişiklik gösterir. Çok çeşitli kötü huylu tümör tipleri tespit edilmekle birlikte, yeni tanı konan kanserlerin %50'sinden fazlası akciğer, kolon / rektum, meme, prostat ve uterus gibi beş ana organda ortaya çıkmaktadır.

Akciğer kanserleri, kolon / rektum ve prostat erkeklerde ve kadınlarda en önemli ölüm nedenleridir, meme, kolorektal ve uterin kanserleri en yaygın olanıdır [18].



Şekil 2.1. Kanser nasıl başlar ve yayılır?

### 2.1.1 Kanser Türleri

100'den fazla kanser türü vardır. Kanser türleri genellikle kanserlerin oluştuğu organlar veya dokular için adlandırılır. Örneğin, akciğer kanseri akciğer hücrelerinde başlar ve beyin kanseri beyin hücrelerinde başlar. Kanserler ayrıca, bir epitelyal hücre veya skuamöz bir hücre gibi, onları oluşturan hücre tipiyle tarif edilebilir.

**Carcinoma:** Deride veya iç organların ve bezlerin yüzeyini kaplayan dokuda bir karsinom başlar. Karsinomlar genellikle katı tümörler oluşturur. Bunlar en yaygın kanser türüdür. Karsinom örnekleri arasında prostat kanseri, meme kanseri, akciğer kanseri ve kolorektal kanser bulunur.

**Sarkomlar:** Vücudu destekleyen ve bağlayan dokularda sarkom başlar. Bir sarkom yağda, kaslarda, sinirlerde, tendonlarda, eklemlerde, kan damarlarında, lenf damarlarında, kıkırdakta veya kemikte gelişebilir.

**Lösemiler:** Lösemi kan kanseridir. Lösemi, sağlıklı kan hücreleri değiştiğinde ve kontrolsüz bir şekilde büyüdüğünde başlar. Dört ana lösemi türü akut lenfositik lösemi, kronik lenfositik lösemi, akut miyeloid lösemi ve kronik miyeloid lösemidir.

Lenfomalar: Lenfoma, lenfatik sistemde başlayan bir kanserdir. Lenfatik sistem, enfeksiyonla mücadeleye yardımcı olan bir damar ve bez ağıdır. İki ana lenfoma türü vardır: Hodgkin lenfoma ve Hodgkin olmayan lenfoma [16].

## 2.2 Kolon Kanseri

Dünya çapında ortalama yaşam standartlarını iyileştiren ve hastalıkların tanı ve tedavisini önemli ölçüde geliştiren yeterli sağlık hizmetlerine erişimin arttığı bir çağda yaşıyoruz. Bu önlemler, dünyanın birçok bölgesinde ortalama yaşam beklentisini etkilemiştir. Bununla birlikte, bulaşıcı hastalıklardan ölüm oranları, bu tıbbi gelişmelerin bir sonucu olarak küresel olarak gelişmesine rağmen, son 40 yılda kansere bağlı ölüm oranı yaklaşık %40 artmıştır. Kolorektal kanser 1950'de oldukça nadirdir, ancak batı ülkelerinde halen kansere bağlı mortalitenin yaklaşık %10'unu oluşturan baskın bir kanser haline gelmiştir. Bu artan insidansı açıklayan nedenler arasında batı ülkelerinde yaşanan nüfus, kötü beslenme alışkanlıklarının, sigara içmenin, düşük fiziksel aktivitenin ve obezitenin fazlalaşması sayılabilir. İnsidanstaki değişim sadece sporadik hastalık oranlarında değil aynı zamanda bazı ailevi kanser sendromlarında da görülmektedir. Gerçekten de *Helicobacter pylori* enfeksiyonu (mide kanserinin nedensel bir faktörü) oranlarının önemli ölçüde düştüğü göz önüne alındığında, şu anda kolorektal kanser Lynch sendromunun (kalıtsal polipozis olmayan kolorektal kanser tipi) baskın bir sunumudur, oysa bu sendromun taşıyıcıları çoğunlukla mide kanserinden etkilenmiştir [2–4]. Kolon kanseri, bağırsağa lokalize edildiğinde yüksek oranda tedavi edilebilen ve sıklıkla iyileştirilebilen bir hastalıktır. Cerrahi tedavinin birincil şeklidir ve hastaların yaklaşık %50'sinde iyileşme ile sonuçlanır.

65–74 yaş arası daha yaygın görülür, kadınlarda daha sık görülür [19]. Kolorektal kanser, kadınlarda ve erkeklerde sırasıyla ikinci ve üçüncü en yaygın kanserdir. Bununla birlikte, bu patoloji, obezite, sedanterizm, kötü beslenme alışkanlıkları (yüksek yağ ve protein oranı yüksek), sigara içme ve nüfusun ilerleyici yaşlanması gibi risk faktörleri nedeniyle genç hastalarda daha sık teşhis edilmektedir. Kolorektal kanserli hastalarda klinik tablo, bulunduğu yere, büyüklüğün yanı sıra metastazların varlığına veya yokluğuna

bağlıdır. Klinik tablo, karın ağrısı, kronik bağırsak alışkanlıklarının değiştirilmesi, bağırsak hareketlerindeki değişiklikler, istemsiz kilo kaybı, bulantı, kusma, halsizlik, iştahsızlık ve abdominal distensi gibi semptomları içerir [20]. 2012 yılında 614.000 kadına (tüm yeni kanser vakalarının %9,2'si) ve 746.000 erkeğe (yeni kanser vakalarının %10'u) dünya çapında kolorektal kanser tanısı konmuştur [21]. Sürveyans, Epidemiyoloji ve Nihai Sonuçlar programına göre, Amerika Birleşik Devletleri'nde 2015 yılında tahmini olarak 132.700 yeni kolorektal kanser vakası vardı. Bu, tüm yeni kanser vakalarının %8'ini temsil etmektedir ve bu hastalıktan ölüm oranı 8.1 / 100.000 olan, 49.700 kişi olduğu tahmin edilmektedir. Esas olarak gelişmiş bölgeleri (25.1 / 100.000 oranda) etkilerken, bu oran gelişmemiş bölgelerde (3.9 / 100.000 oranda) önemli ölçüde düşüktür [21]. Buna göre olguların fazlası dünyanın daha gelişmiş bölgelerinde ortaya çıkmaktadır. Kolorektal kanser (CRC) ABD'de en sık görülen dördüncü kanser ve ikinci ölüm nedeni olan kanser türüdür.

2018'de ABD'de kolon kanserinden tahmini yeni vakalar ve ölümler: [22]

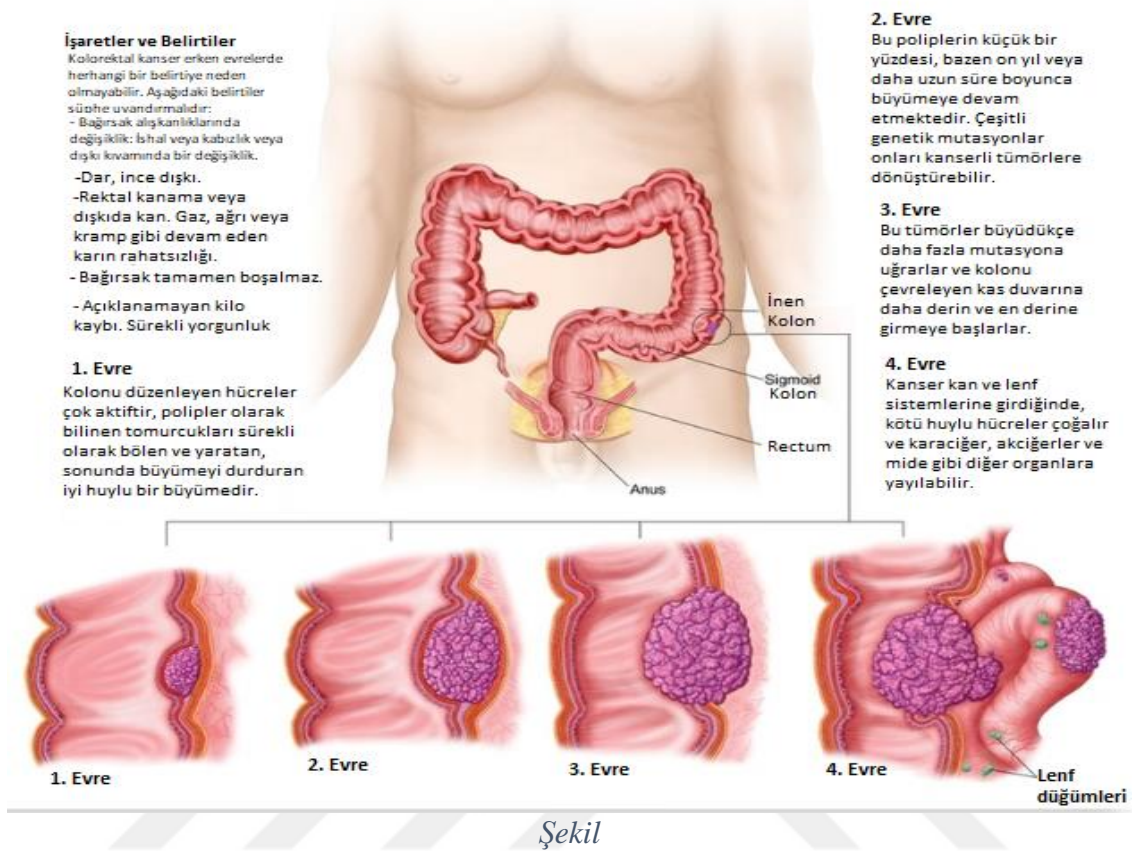
Yeni vakalar: 97,220 (sadece kolon kanseri).

Ölümler: 50,630 (kolon ve rektal kanserler).

Primer ve metastatik kolorektal kanser için yeni tedaviler geliştirilmiştir ve şunları içerir: birincil hastalık için laparoskopik cerrahi; örneğin karaciğer ve akciğerleri etkileyen metastatik hastalığın rezeksiyonu; rektal kanser ve bazı metastatik hastalıklar için radyoterapi ve neoadjuvan ve palyatif kemoterapi [23-25]. Cerrahi ve medikal tedavilerdeki gelişmelere rağmen, son on yılda tedavi oranları ve uzun süreli sağkalım çok az değişmiştir.



## Kolon Kanseri (Kolorektal Kanser)



Şekil 2.2. Şekil Kolon kanser belirtileri ve evreleri.

### 2.2.1. Coğrafik Değişimler

Dünya çapında kolorektal kanser, erkeklerde tüm kanserlerin %9,4'ünü ve kadınlarda %10,1'ini temsil etmektedir. Bununla birlikte, kolorektal kanser, Dünya çapında eşit şekilde yaygın değildir [26]. Kolorektal kanserin küresel dağılımında büyük bir coğrafi fark vardır. Kolorektal kanser esas olarak batı kültürü olan gelişmiş ülkelerin bir hastalığıdır [26]. Aslında gelişmiş ülkeler tüm vakaların %63'ünden sorumludur [27]. İnsidans oranı, en yüksek oranlara sahip ülkeler ile en düşük oranlara sahip ülkeler arasında 10 kat fark vardır. [28,29]. Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya, Yeni Zelanda ve Batı Avrupa'daki her 100.000 kişide 40'tan, Afrika'da ve Asya'nın bazı bölgelerinde

her 100.000’de 5’ten azdır [30]. Bununla birlikte, bu insidans oranları, belirsizlik eğilimine duyarlı olabilir; gelişmekte olan ülkelerde yüksek derecede eksik raporlama olabilir.

## **2.2.2. Risk Faktörleri**

Kolorektal kanser gelişimine ilişkin risk faktörleri arasında, %35’in kalıtsal faktörlerle açıklanabileceği tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, ailede görülen kolorektal kanser riskinin yanı sıra kolon veya rektum kanseri, ailesel adenomatoz polipozis (FAP) gibi kalıtsal hastalıklar; Lynch sendromu olarak bilinen polipozsuz kalıtsal kolon kanseri ile de büyük ölçüde ilgilidir [31]. Artan yaş, çoğu kanser için en önemli risk faktörüdür.

### **2.2.2.1. Değiştirilemez Risk Faktörleri**

Kolorektal kanser insidansı ile birkaç risk faktörü ilişkilidir. Bir bireyin kontrol edemediği olanlar yaş ve kalıtsal faktörleri içerir. Ek olarak, önemli sayıda çevresel ve yaşam tarzı risk faktörü, kolorektal kanserin gelişiminde önemli bir rol oynayabilir; değiştirilebilir risk faktörleri bir sonraki bölümde ele alınacaktır.

#### ***2.2.2.1.1. Yaş***

Kolorektal kanser tanısı olasılığı, 40 yaşından sonra artar, 40 yaşından itibaren giderek artar, 50 yaşından sonra keskin bir şekilde artar [30, 31]. Kolorektal kanser vakalarının %90’ından fazlası 50 yaş ve üstü kişilerde görülür [31, 32]. İnsidans oranı, 60 ila 79 yaşları arasındaki, 40 yaşından küçüklere oranla 50 kat daha yüksektir [31, 33]. Ancak, kolorektal kanser genç insanlar arasında artmaktadır [34, 35]. Aslında, Amerika Birleşik Devletleri’nde, kolorektal kanser, 20 ila 49 yaş arasındaki kadın ve erkekler arasında en sık teşhis edilen 10 kanserden biridir [36].

#### ***2.2.2.1.2. Adenomatöz Poliplerin Kişisel Tarihi***

Kolorektumun neoplastik polipleri, yani tüp ve villöz adenomlar, kolorektal kanserin prekürsör lezyonlarıdır [27]. Yaşam boyu kolorektal adenoma gelişme riski ABD popülasyonunda yaklaşık %19'dur [37]. Sporadik kolorektal kanserlerin yaklaşık %95'i bu adenomlardan gelişmektedir [33]. Adenom öyküsü olan bir birey, daha önce adenom öyküsü olmayan bireylerden daha fazla kolorektal kanser geliştirme riskine sahiptir [38]. Adenomlardan malignite gelişimi için genellikle 5 ila 10 yıl olarak tahmin edilen uzun bir gecikme süresi gerekir [38, 39]. Malign transformasyon öncesi bir adenomun saptanması ve çıkarılması kolorektal kanser riskini azaltabilir [40]. Bununla birlikte, adenomatous polip veya lokalize karsinomun tamamen çıkarılması, kolon ve rektumun herhangi bir yerinde metafonköz kanserin gelecekteki gelişme ihtimalinin artmasıyla ilişkilidir [38].

#### ***2.2.2.1.3. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığının Kişisel Tarihi***

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), ülseratif kolit ve Crohn hastalığını tanımlamak için kullanılan iki terimdir. Ülseratif kolit, kolon ve rektum mukozasında iltihaplanmaya neden olur. Crohn hastalığı, bağırsak duvarının tam kalınlığının iltihaplanmasına neden olur ve ağızdan anusa kadar sindirim sisteminin herhangi bir bölümünü içerebilir. Bu koşullar bir bireyin kolorektal kanser geliştirme riskini arttırmaktadır [32]. İnflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastalarda göreceli kolorektal kanser riski 4- 20 kat arasında tahmin edilmiştir [27]. Bu nedenle, yaşlarına bakılmaksızın, İBH olan bireylerin kolorektal kanser için daha sık taranması teşvik edilir.

#### ***2.2.2.1.4. Kolorektal Kanser veya Adenomatöz Poliplerin Ailesel Tarihi***

Kolorektal kanser vakalarının çoğunluğu kolorektal kanser veya predispozan (hastalığa yatkınlık) bir hastalık öyküsü olmayan kişilerde ortaya çıkar. Bununla birlikte, kolorektal kanser gelişen kişilerin %20'sine kadar bu hastalıktan etkilenen diğer aile üyeleri bulunmaktadır [30, 41]. Bir veya daha fazla birinci dereceden akrabalarında kolorektal kanser veya adenomatöz polip öyküsü olan kişiler risk altındadır. 60 yaşından küçük herhangi bir birinci dereceden akrabalarında kolorektal kanser veya adenomatöz polip öyküsü gibi aile öyküsü güçlü olanlarda daha yüksektir veya herhangi bir yaşta iki veya daha fazla birinci derece akrabada kolorektal kanser veya adenomatöz polip öyküsü

olanlarda daha yüksektir [42]. Riskin artmasının nedenleri açık değildir, ancak kalıtsal genler, paylaşılan çevresel faktörler veya bunların bir kombinasyonu nedeniyle ortaya çıkmaktadır.

#### **2.2.2.1.5. Kalıtsal Genetik Risk**

Kolorektal kanserlerin yaklaşık %5 ila 10'u bilinen kalıtsal koşulların bir sonucudur [43]. En sık görülen kalıtsal durumlar, ailesel adenomatoz polipozis (FAP) ve Lynch sendromu olarak da adlandırılan kalıtsal nonpolipozis kolorektal kanserdir (HNPCC). Kalıtsal kolorektal kanser türlerinden sorumlu olan genler tanımlanmıştır. HNPCC, DNA onarım yolunda yer alan genlerdeki mutasyonlarla, yani HNPCC'li bireylerde sorumlu mutasyon olan MLH1 ve MSH2 genleriyle ilişkilidir [30, 44]. FAP, tümör baskılayıcı gen APC'deki mutasyonlardan kaynaklanır [29].

HNPCC, kolorektal Kanserlerin ~2 ila %6'sını oluşturabilir [30, 32]. Tanısı konulan HNPCC ile ilişkili mutasyonlara sahip kişilerde yaşam boyu kolorektal kanser riski, %70 ila 80 [45, 46] kadar yüksek olabilir ve ortalama 40 yaşlarının ortalarında teşhis yaşı [32] olabilir. MLH1 ve MSH2 mutasyonları ayrıca uterus kanseri, mide, ince bağırsak, pankreas, böbrek ve üreter [30] gibi bazı ekstrakolonik maligniteler de dahil olmak üzere diğer kanserlerin nispi riskinin artmasıyla ilişkilidir. FAP, tüm kolorektal kanser vakalarının %1'inden azını oluşturur [30, 32, 39]. Sadece birkaç adenom geliştiren HNPCC'li bireylerin aksine, FAP'lı insanlar karakteristik olarak genellikle nispeten genç yaşta yüzlerce polip geliştirir ve bu adenomların bir veya daha fazlası tipik olarak 20 yaşından önce malign transformasyona uğrar [22]. 40 yaşına gelince, bu rahatsızlığı olan hemen hemen tüm insanlar kolon çıkarılmazsa kanser geliştirmiş olacaktırlar [30, 32]. APC ile ilişkili polipoz koşulları otozomal dominant şekilde kalıtsaldır. APC ile ilişkili polipoz koşulları olan bireylerin yaklaşık %75 ila 80'i etkilenmiş bir ebeveyne sahiptir. Etkilenmiş bir ailede hastalığa neden olan bir mutasyon tanımlanırsa doğum öncesi test ve preplantasyon genetik tanı mümkündür [47].

### **2.2.2.2. Çevresel Risk Faktörleri**

Kolorektal kanser, yaygın olarak geniş bir yelpazede sıklıkla tanımlanmamış kültürel, sosyal ve yaşam tarzı faktörlerini içermek üzere geniş bir şekilde tanımlanmış olan “çevre” olarak çevresel bir hastalık olarak kabul edilir. Böylelikle kolorektal kanser, değiştirilebilir nedenlerin kolayca tanımlanabildiği başlıca kanserlerden biridir ve teorik olarak önlenebilir vakaların büyük bir kısmıdır [26, 48]. Çevresel risk kanıtlarından bazıları, göçmenlerin çalışmaları ve yavruları ile ilgilidir. Düşük riskli ve yüksek riskli ülkelere göçler arasında, kolorektal kanserin görülme oranları, ev sahibi ülkenin nüfusunun tipiklerine göre artma eğilimindedir [27, 48]. Örneğin, Güney Avrupa'daki göçmenlerin Avustralya'ya ve Japonların Hawaii'ye göç etmeleri arasında kolorektal kanser riski menşei ülkedeki nüfus ile karşılaştırıldığında artmıştır. Aslında, Japon göçmenlerin Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yavrularında kolorektal kanser insidansı, şu anda beyaz popülasyondakilere yaklaşmakta veya aşmaktadır ve Japonya'daki Japonlardan üç veya dört kat daha yüksektir [26, 30]. Göç dışında, kolorektal kanser insidansındaki farklılıkları etkileyen başka coğrafi faktörler de vardır. Bunlardan biri kentsel konuttur. İnsidans kent sakinleri arasında sürekli olarak daha yüksektir. Bir kentsel alanda şu anki ikamet yeri, kentin doğum yerinden daha güçlü bir risk göstergesidir [27]. Kentsel alanlarda bu aşırı insidans erkeklerde kadınlardan daha fazla, kolon kanseri için ise rektal kanserden daha belirgindir [26].

#### ***2.2.2.2.1. Beslenme Uygulamaları***

Diyet, kolorektal kanser riskini güçlü bir şekilde etkiler ve gıda alışkanlıklarındaki değişiklikler bu kanser yükünün %70'ini azaltabilir [49]. Yağlı yüksek diyetler, özellikle hayvansal yağlar, kolorektal kanser için önemli bir risk faktörüdür [26, 27]. Yağın olası bir etiyolojik faktör olarak gösterilmesi, safra tuzlarını potansiyel olarak kanserojen N-nitroso bileşiklerine parçalayabilen bir bakteri florasının gelişimini destekleyen tipik Batı diyeti konseptiyle bağlantılıdır [50]. Kolorektal kanser gelişiminde yüksek et tüketimi de etkili olmuştur [50, 51]. Et tüketimi ile pozitif ilişki, kolon kanseri için rektal kanserden daha güçlüdür [50]. Kırmızı et tüketiminin kolorektal kanser ile pozitif bir ilişkisi için potansiyel temel mekanizmalar arasında kırmızı ette hem demirin varlığı bulunur [51, 52]. Ek olarak, bazı etler yüksek sıcaklıklarda pişirilir, sonuçta her ikisinin de kanserojen özelliklere sahip

olduğuna inanılan heterosiklik aminler ve polisiklik aromatik hidrokarbonların [51, 53] üretilmesiyle sonuçlanır. Ayrıca, bazı araştırmalar meyve ve sebzelerde düşük diyet yapanların kolorektal kanser riskinin daha yüksek olabileceğini göstermektedir [32]. Diyet lifi alımındaki farklılıklar kolorektal insidans oranlarındaki coğrafi farklılıklardan sorumlu olabilir [27]. Örneğin, Afrika ve Batılı ülkeler arasındaki kolorektal kanser oranlarındaki farklılıkları hesaba katan diyet lifi teklif edilmiştir- diyet lifi alımının artması dışkı içeriğini seyreltebilir, dışkı yığınını artırabilir ve transit süresini azaltabilir [30].

#### **2.2.2.2.2. Fiziksel Aktivite ve Obezite**

Yaşam tarzıyla ilgili çeşitli faktörler kolorektal kanserle ilişkilendirilmiştir. Değiştirilebilir ve birbiriyle ilişkili iki risk faktörünün, fiziksel hareketsizlik ve aşırı vücut ağırlılığının, kolorektal kanserlerin yaklaşık dörtte üçünü oluşturduğu bildirilmektedir. Genel olarak daha yüksek fiziksel aktivite seviyelerinin, riskle ters orantılı olarak fiziksel aktivitenin sıklığı ve yoğunluğu ile birlikte doz-cevap etkisinin kanıtı dahil olmak üzere, daha düşük kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğuna dair çok sayıda kanıt vardır [26, 38, 54].

Düzenli fiziksel aktivite ve sağlıklı bir diyet kolorektal kanser riskini azaltmaya yardımcı olabilir, ancak kanıtlar rektal hastalığa göre daha güçlüdür [30, 55]. Fiziksel aktivite azalması ve kolorektal kanser arasındaki ilişkiden potansiyel olarak sorumlu olan biyolojik mekanizmalar açıklanmaya başlandı. Sürekli orta derecede fiziksel aktivite metabolik hızı artırır ve maksimum oksijen alımını artırır [38]. Uzun vadede, bu tür aktivitenin düzenli süreleri, vücudun metabolik etkinliğini ve kapasitesini arttırmanın yanı sıra, kan basıncını ve insülin direncini azaltır [54]. Ek olarak, fiziksel aktivite bağırsak hareketliliğini artırır [30]. Günlük rutinlerde fiziksel aktivitenin olmayışı, kolorektal kansere bağlı diğer bir faktör olan erkek ve kadınlarda şişmanlık insidansındaki artışa bağlanabilir [38, 56]. Aşırı kilolu veya obez olmanın, özellikle artan dolaşımdaki östrojenlerin ve azalmış insülin duyarlılığının birçok biyolojik korelasyonunun kanser riskini etkilediğine inanılmaktadır ve özellikle genel vücut adipozitesinden bağımsız olarak abdominal adipozite ile ilişkilidir [38]. Bununla birlikte, aşırı kilo ve obezite ile ilişkili artan risk, yalnızca artan enerji alımından kaynaklanıyor gibi görünmemektedir; metabolik

verimlilikteki farklılıkları yansıtabilir [38]. Araştırmalar, enerjiyi daha verimli kullanan bireylerin kolorektal kanser riskinin daha düşük olabileceğini göstermektedir [26].

#### **2.2.2.2.3. Sigara**

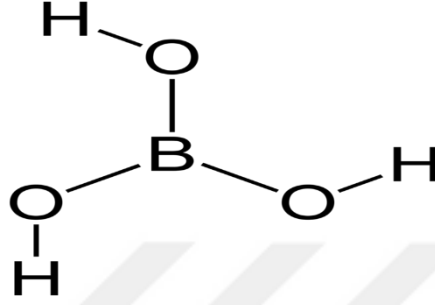
Sigara içiciliği ile akciğer kanseri arasındaki ilişki çok iyi kurulsa da sigara içilmesi de kolon ve rektuma son derece zararlıdır. Kanıtlar, kolorektal kanser ölümlerinin %12'sinin sigaraya atfedildiğini göstermektedir [57]. Tütünde bulunan kanserojenler kolon ve rektumdaki kanser büyümesini arttırmakta ve bu kanser ile tanı konma riskini arttırmaktadır [32]. Kolorektal kanser ölümlerinin %12'sinin sigaraya atfedildiği tahmin edilmektedir [57]. Sigara içmek, kolorektal kanserin bilinen öncü lezyonları olan adenomatoz poliplerin oluşumu ve büyüme hızı için önemlidir [58]. Kolon ve rektumda bulunan daha büyük polipler uzun süreli sigara içiciliği ile ilişkiliydi. Kanıtlar ayrıca sigara içen kadın ve erkeklerde kolorektal kanser insidansının daha erken yaşta olduğunu göstermektedir [57,59].

#### **2.2.2.2.4. Aşırı Alkol Tüketimi**

Sigara içmede olduğu gibi, düzenli alkol tüketimi, kolorektal kanser geliştirme riski ile ilişkili olabilir. Alkol tüketimi, genç yaşta kolorektal kanserin başlangıcında bir faktördür [57, 59] ve ayrıca distal kolondaki tümörlerin orantısız bir şekilde artmasıdır [55]. Asetaldehit gibi alkolün reaktif metabolitleri kanserojen olabilir. Ayrıca sigara ile etkileşimi vardır [57]. Tütün, DNA varlığında alkol varlığında daha az etkili bir şekilde onarılan spesifik mutasyonlara neden olabilir. Alkol ayrıca diğer kanserojen moleküllerin mukozal hücelere penetrasyonunu artıran bir çözücü olarak da işlev görebilir. Ek olarak, alkolün etkilerine prostaglandinlerin üretilmesi, lipit peroksidasyonu ve serbest radikal oksijen türlerinin üretilmesi aracılık edebilir [60]. Son olarak, yüksek alkol tüketicileri temel besin maddelerinde diyetleri düşük tutabilir ve bu da dokuları kanserojen maddeye duyarlı hale getirir [30].

### 2.3. Borik Asit

Eser besin bor'u, atom numarası 5 ve molekül ağırlığı 10.81 g/mol olan metalloid ailesine aittir. Bor, iki bol izotopu,  $^{10}\text{B}$  ve  $^{11}\text{B}$ 'ye sahiptir. Büyük yakalama profili nedeniyle,  $^{10}\text{B}$  olağanüstü bir nötron emicidir [62, 63].



Şekil 2.3.1. Borik asidin kimyasal yapısı.

Bor, doğada elemental bir form olarak ortaya çıkmaz ve kimyası karmaşıktır ve diğer elementlerle birlikte bileşik (boratlar) oluşturur [62]. Bor minerallerine sahip en yaygın kullanılan boratlar Tablo 3.1'de listelenmiştir [64, 65]. Bor, yerkabuğunda yaygın olarak bulunan 51. elementtir ve tabiatta hiçbir zaman serbest halde bulunmaz. Doğada yaklaşık 230 çeşit bor minerali olduğu bilinmektedir. [61]. Besin boru çoğunlukla toprakta ve suda bulunur. Yeryüzü kabuğunda temel olarak toprakta ortalama 10-20 ppm konsantrasyonuna sahip olan bor bulunur [66]. ABD, Batı Asya, Türkiye, Brezilya, Rusya ve Çin'in bazı bölgelerinde de yüksek miktarda bulunur [62, 67]. Dünyanın en büyük bor yatakları, iç bölgelerdeki Akdeniz ülkelerinden Kazakistan'a kadar uzanan bir topoğrafik bölgededir [67, 68]. Bor, doğada bulunan bir mineral maddedir ve sağlık sisteminde yaygın olarak kullanılmaktadır ve pasif difüzyon sayesinde vücuda uygulandıktan sonra hızla emilir [69]. Literatürde B'nin insanlar üzerindeki etkilerini belirlemek için çok fazla çalışma olmamasına rağmen, mevcut çalışmalar, B ve bileşiklerinin içme suyuna ve yiyeceğe normal maruz kalma altında insan sağlığını olumsuz etkilemediğini göstermiştir [70, 71]. USEPA ve WHO standartlarına göre, B ve bor bileşikleri toksik değildir, ancak içme ve içme suyunda sınır değeri 0,3 mg / L'dir, özellikle BA ve sodyum boratlar antiseptik özelliklere sahiptir [72]. B su, toprak ve bitkilerde bulunur. Kemik sağlığıyla ilgili olarak, günlük B alımının 3 Mg / Gün olduğu önerilmektedir [73]. Bor mineralinin Diyet Referans Alımı (DRI) değeri Ulusal Bilimler Akademisi tarafından belirlenmemiştir,



alınabilecek maksimum seviyeler; yetişkinler için ( $\geq 19$  yaş) 20 mg / gün; ergenler için (14-18 yaş) 17 mg / gün ve 9-13, 4-8 ve 1-3 yıl için sırasıyla 11, 6 ve 3 mg / gün olarak ifade edilmiştir. DSÖ, yetişkinler için 1-13 mg / gün güvenilir bir alım aralığı bildirmiştir. B yetersizliği insanlarda sık görülmez. İnsanlarda eksikliğin 63 gün boyunca günde en az <1 mg / gün B alımı için yetersiz olduğunu göstermektedir [74]. Ölümcül B seviyeleri hakkında mevcut bilgiler yetersizdir. B yaşam için önemli bir elementtir, vücuttan farklı kaynaklar alır. B ve bileşiklerin vücut üzerindeki toksik etkileri, özellikle doku seviyesinde yeterince araştırılmamıştır. Oral yol bor alımının toksisitesi düşüktür. Bor, hızla emilen ve böbreklerden atılan bir mineraldir. Deney hayvanlarında ve insanlarda BA ve boraksın sistemik toksik etkileri nedeniyle kan, doku ve idrardaki B düzeylerinin arttığı ve en yüksek Bor birikiminin beyin, karaciğer, böbrek ve kanda olduğu bildirilmektedir [74]. Borun kalsiyum ve potasyum metabolizmi [75], cyt B5 redüktaz [8, 76], insülin, östrojen, testosteron, triiyodotironin, tiroksin [77] ve ROS metabolizması [78, 79] üzerinde etkileri vardır. Aynı zamanda, borun biyokimyasal mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Şimdi, insanlar da dahil olmak üzere hayvanlarda borun biyokimyasal fonksiyonları için iki varsayım geliştirildi. Birincisi, bor, düzenleyici iyonların hormon etkisine, trans membran sinyaline ve trans membran hareketine yanıtı etkileyen hücre zarı fonksiyonlarında rol oynayabilir [80]. İkincisi, bor çeşitli enzimatik sistemlerde metabolik düzeltici olarak görev yapabilir [81].

Çizelge 2.1 Dünyada en yaygın kullanılan bor içeren bileşikler [64, 65]

<b>Bileşik</b>	<b>Renk</b>	<b>Bor Yüzdesi</b>	<b>Su Çözünürlüğü</b>
<b>Susuz boraks</b>	Beyaz	21.49	2.5556 g/100 g (25 °C)
<b>Boraks</b>	Renksiz	11.34	5.92 g/100 g (25 °C)
<b>Boraks Penta-Hidrat</b>	Beyaz	14.85	3.6 g/100 g (20 °C)
<b>Borik Asit</b>	Beyaz	17.48	63.5 g/L (30 °C)
<b>Bor Oksit</b>	Renksiz	31.06	Az Çözünür
<b>Kolemanit</b>	Beyaz	15.78	Az Çözünür
<b>Sodyum Perborat Mono-Hidrat</b>	Beyaz	10.83	15 g/L (20 °C)
<b>Sodyum Perborat Tetra-Hidrat</b>	Beyaz	7.03	23 g/L (20 °C)
<b>Üleksit</b>	Beyaz	13.33	Az Çözünür

Deniz suyunda 0.5–9.6 ppm aralığında ortalama 4.6 ppm bor bulunur. Tatlı sudaki bor aralığı 0.01 ila 1.5 ppm arasında değişmekte olup, toprakta yüksek konsantrasyonlara sahip bölgelerde bor daha fazla konsantrasyona sahiptir [60]. Bor, gıdaya yaklaşımını sağlayan ve toprak minerallerinden doğrudan elde edilebilen en enerjik besindir. Borun diyet kaynakları bitkiseldir (sebze, meyve ve kuruyemiş). Ayrıca, tüm ana besin tiplerinde önemli miktarda bor bulunduğunu ve bunun da çinko ve bakır gibi temel eser minerallerin miktarına eşdeğer olduğu bilinmektedir [82]. Çoğunlukla, ananas, çilek ve turunçgil meyvesi hariç, zengin bor konsantrasyonu meyvelerde bulunur [83]. Ayrıca, yapraklı bitkiler, kuru meyveler ve sert kabuklar yüksek miktarda bor içerir [83-86] Bazı yiyeceklerdeki bor miktarları Çizelge 2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2 Bazı yiceklerdeki bor miktarı [83-86]

<b>Kaynak</b>	<b>Bor içeriği/100 g</b>	<b>Kaynak</b>	<b>Bor içeriği/100 g</b>
<b>Badem</b>	2.82	<b>Üzüm</b>	2.72
<b>Elma</b>	2.73	<b>Fındıklar</b>	2.77
<b>Kayısı</b>	2.11	<b>Bal</b>	0.72
<b>Avokado</b>	1.66	<b>Mercimek</b>	0.74
<b>Muz</b>	2.06	<b>Süt</b>	0.23
<b>Fasulyeler</b>	1.56	<b>Soğan</b>	0.20
<b>Brokoli</b>	2.19	<b>Portakal</b>	0.25
<b>Havuçlar</b>	1.39	<b>Şeftaliler</b>	0.52
<b>Kaju Fıstığı</b>	1.15	<b>Yer Fıstığı</b>	1.92
<b>Ketçap</b>	1.39	<b>Buğday</b>	2.41
<b>Kereviz</b>	2.47	<b>Armut</b>	0.32
<b>Peynir</b>	0.19	<b>Patates</b>	0.18
<b>Kirazlar</b>	1.47	<b>Kuru Erik</b>	1.18
<b>Nohut</b>	0.71	<b>Kuru Üzüm</b>	4.51
<b>Hurma</b>	1.08	<b>Soya Unu</b>	2.80
<b>Yumurta</b>	0.37	<b>Domates</b>	2.72
<b>Un</b>	0.28	<b>Ceviz</b>	1.63
<b>Ekmek</b>	0.48	<b>Fıstık</b>	1.80

Borun tarihi çok eskidir ve ve 4000 yıl önce, altın endüstrisinde bir akı olarak kullanılan boraks Babilliler tarafından geri alındı. Eski Mısırlılar, mumyalama, metalurjik ve tıbbi amaçlarla bor kullanımı konusunda iyi biliniyor. Çok eski olan bu bulgular doğrulanmamıştır, ancak eski çağlardaki bor kullanımının en doğru kanıtı, Arap tüccarlar tarafından sekizinci yüzyılda Çin'den Mekke ve Medine'ye borat “tinkar” ticareti olmuştur [87]. Avrupa'daki kuyumcular tarafından boraks akı kullanımının kanıtlanmış bir başka kanıtı da on ikinci yüzyılda yaşanmıştır. En ilkel borat kaynağı Tibet gölleri olarak kabul edilir ve Himalayalar bölgesinden Hindistan'a taşınır [60, 88]. Türkiye'de borat üretimi 1865 yılında kalsiyum borat madenciliği ile başladı. Benzer dönemde Nevada ve Kaliforniya'daki Ölüm Vadisi'nde bazı borat rezervleri tespit edildi. Kaliforniya'daki Mojave Çölü'ndeki boraks yatağı 1913'te bulunmuştur [88, 89]. 1960'da Kirka ve Anadolu'da sodyum boratlar bulunmuştur. Türkiye uzun yıllar Avrupa borik asit üreticilerine borat taşıyor [88, 90, 91]. Sonuç olarak, Türkiye bugün dünyanın en büyük bor ürünleri tedarikçisi olarak biliniyor (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3 Dünyadaki bor rezervleri (milyon ton) [91]

Ülke	Toplam rezerv (milyon ton)	Dünyadaki yüzde payı
<b>Arjantin</b>	09	01
<b>Bolivya</b>	19	02
<b>Şili</b>	41	05
<b>Çin</b>	36	04
<b>Kazakistan</b>	15	02
<b>Peru</b>	22	02
<b>Rusya</b>	100	11
<b>Türkiye</b>	563	64
<b>Amerika Birleşik Devletleri</b>	80	09

### 2. 3.1. Hayvanlarda ve İnsanlarda Borun Rolü

Son zamanlarda, borun hayvanlar ve insanlar sağlığı için muhtemelen gerekli olduğu düşünölmektedir. Bor, çeşitli reaksiyonların sentezinde ve metabolizmasında rol oynayan hidroksilasyon reaksiyonlarına katılır gibi görünmektedir [92]. Bor, artrit için etkili bir tedavi seçeneğidir ve kemik, eklem ve kırıkdağa etkili bir şekilde kalsiyum entegrasyonunu arttırarak vakaların %95'inde görölen kemik gelişiminde belirgin iyileşmeye neden olur. Dahası, testosteron ve östrojeni içeren birkaç hormonu etkiler [8]. Kanser tedavisi bor nötron yakalama ajanları ile sağlanabilir. Borik asit, in vitro olarak meme kanseri hücrelerinin üstesinden gelmek için çok yararlıdır [93]. Borun vücuttaki bazı kan pıhtılaşma faktörlerini etkileyebileceği düşünölmektedir. Bor, konjestif kalp yetmezliği durumlarından kaynaklanan problemleri belirgin bir şekilde hafifletebilir. Bor, lipid birikimini azaltmaya yardımcı olur ve kolesterolün çeşitli yollarla giderilmesine yardımcı olur, böylece kan pıhtıları ve ateroskleroz gibi durumların ortaya çıkması riskini en aza indirir ve vücudu kalp krizi ve felçlere karşı savunur [94]. Ancak bu sonucu doğrulamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir ki bu da kalp hastalığına karşı savaşta ana bir konfederasyona (iş birliğine) yol açacaktır. Kompleks yapı ve bağlanma özelliklerinden dolayı boratlar aldehitler dehidrojenaz, nitrik oksit sentaz, peptidaz, ksantin oksidaz ve proteazlar gibi enzimler üzerinde inhibitör etki göstermiştir [95]. Bor, testosteron, östrojen, glikoz ve insülinin metabolizmasını etkiler. Glikoproteinler, glikolipidler ve hidroksil grubu olan diğer moleküller borik asitle kompleks oluşturabilir ve membranın bütünlüğünü düzenleyebilir [12, 96]. Boratlar ayrıca kanserde antiinflamatuvar ve antioksidan ajan, yara iyileşmesi, hastalık kontrolü, genotoksisiteyi azaltma ve mitokondriyal membran aktivitesini modüle etmeyi de ortaya koydu [97–99]. Buna ek olarak, borik asit, pestisitler tarafından bastırılan asetilkolinesterazı yenilemiş [100] ve ayrıca vücudu CCL4 ve diğer ajanlar tarafından indüklenen oksidatif strese karşı da korumuştur [101, 102]. Gerekli bor miktarları türe özgüdür ve aynı zamanda oldukça değişkendir. İnsanlar da dahil olmak üzere çoğu türde, gerekli miktarda bor miktarı hala belirlenmektedir.

### 2. 3.2. Bor ve Hormonal Etkiler

Bor, steroid hormonlarının ve özellikle seks hormonlarının metabolizmasını etkiler. Menopozal kadınlarda erkeklerde düşük testosteron düzeylerini ve östrojen düzeylerini yükseltir [109, 110]. Sonuçlar, 2 ay boyunca yapılan ağır vücut egzersizinin, profesyonel olmayan vücut geliştiricilerin testosteron düzeyini bozabileceğini gösterdi, ancak bor takviyesi bu hormonun seviyesini düzenledi [111]. Bor menopozlu kadınlarda östrojen üretimini artırabilir ve tedaviden birkaç gün sonra cinsel enerjisini geri alabilir. Vücuttaki doğal seks hormonları seviyesini artırır, bu yüzden farmasötik solüsyon veya hormon replasman tedavisi ihtiyacını azaltır. Bor, genellikle menopozla ilişkili gece terlemeleri ve sıcak basmaları gibi belirtileri gösterir ve postmenopozal dişiler genellikle vücudun en önemli sistemlerini çoğalabilen hormonal dengesizliklerden muzdarip olduğunu doğrular [109, 112, 113]. Dahası, bor takviyeli bir gıda verilmesi progesteron hormon tedavisinde, oositlerdeki kadınlarda germinal vezikül yıkımını başarılı bir şekilde sağladı [107]. Beslenmede bor alımı kemirgen modelinde D vitamini eksikliğinin olumsuz etkilerini azaltmıştır [103]. Mekanizma serumdaki 25-hidroksivitamin D seviyesinin artırılmasıyla tahkim (onaylanmıştır) edilebilir. Bor takviyesi, hormon replasman tedavisi alan postmenopozal kadınlarda da  $17\beta$ -estradiol düzeyini artırabilir [115]. Ovariectomi uygulanan sıçan diyetinde, 5 mg / kg takviye edici bor, 17 growth-estradiol hormon tedavisinin kemik büyümesi yoğunluğu, kemik trabeküler hacmi ve trabeküler ayrılma üzerindeki yararlı etkilerini önemli ölçüde iyileştirdi [116].  $17\beta$ -estradiolün bor ile formülasyonu, kalsiyum ve magnezyumun emilimini ve tutulmasını önemli ölçüde artırmıştır [112]. Sınırlı sayıdaki veriler, borun insülin rolünü destekleyebileceğini önermektedir. 0,2 mg / kg bor içeren sıçanların beslenmesinde, 2 mg / kg bor takviyesi plazma insülin düzeyini düşürdü, ancak kan glukoz konsantrasyonunu değiştirmede [114, 117]. Bor eksikliği olan civcivlerden salınan pankreatik insülin seviyesinin boron yeterli civcivlerden yaklaşık %75 daha fazla olduğu bildirilmiştir [117]. Ayrıca, bor, kandaki testosteron ve östrojen düzeylerinin kurtarılması için zorunludur [104]. Bu nedenle, hayvanlarda ve insanlarda bor takviyesi östrojen, testosteron ve östradiol üzerinde olumlu etkilere sahiptir, boron eksikliği ise bu hormonlar üzerindeki olumsuz etki ile ilişkilidir [113, 114].

### 2. 3.3. Bor ve Oksidatif Stres

Organofosfat (OP) bileşikleri, oksidatif strese ve organizmalarda antioksidan durumdaki değişikliklere neden olur. OP genellikle gıda tedarikinde insektisit olarak kullanılır, bu nedenle hem insanlar hem de hayvanlar rutin olarak onlara maruz kalırlar [8]. OP bileşikleri, çok sayıda hücre zarı bileşenine zarar vererek, özellikle ROS üretiminde toksik etkiler üretmiştir [118]. Son çalışmalar, yeterli miktarda bor içeren hayvanın OP insektisitlerinden korunduğunu göstermiştir. Bor uygulaması, OP indüklenmiş oksidatif stres ve enzim aktivitesinin tersine çevrilmesiyle sonuçlanmıştır. Ayrıca, bor, antioksidan mekanizmayı geliştirdi ve farelerde farklı vücut organlarını onarmıştır [100]. Endotoksin ile indüklenen oksidatif stres de bor uygulaması ile tersine döndü. Endotoksin, serbest radikaller üreterek organları etkiler ve bor, proteinlerde fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olarak organları oksidasyondan koruyabilir [119]. Kemirgen modelinde elde edilen sonuçlar 40 mg / L borun dalakların antioksidan kapasitesini artırabileceği ve dalak dokusu yapısını arttırabileceğini göstermiştir [120]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, kronik alkol tüketimine maruz kalan boron takviyeli kişiler düşük düzeyde oksidatif stres göstermiştir [95].

Bor uygulamasının, oksidanları nötralize eden glutasyon rezervlerini artırarak oksidatif stresi azalttığı düşünülmektedir [121]. Ek olarak, bor uygulaması, GSH seviyelerini artırır, böylece malatyonun toksik etkilerini korur [100]. Neonatal nekrotizan enterokolit rat modelinde, bor takviyesi GSH rezervlerinin silinmesini önlemek için antioksidan seviyesini artırmıştır [122]. Borun ayrıca, hücre içi ROS ve  $Ca^{+2}$  iyon seviyelerini azaltarak, antioksidan kapasiteyi arttırdığı ve sonuçta apoptozu önlediği düşünülmektedir [95, 96]. Ayrıca hepatoselüler karsinomda hepatosit hasarı ve oksidatif stresin biyokimyasal aktivitesi de bor indüksiyonu ile tersine çevrilebilir [123]. İnsan kan kültürlerinde bazı boratların oksidatif stres ve ağır metallerin neden olduğu genotoksisite üzerindeki etkinliği değerlendirildi. Lenfosit DNA bozukluğunu kontrol etmek için mikronükleus (MN) deneyleri ve kardeş kromatid değişimi (SCE) yapıldı. RBC'deki oksidatif stres, oksidan / antioksidan ve enzim aktivitesindeki değişikliklerin değerlendirilmesiyle hesaplandı [99, 124]. SCE, MN, malondialdehit ve glutasyon frekansının ağır metal indüksiyonu ile arttığı bildirildi, ancak boratlar ağır metallerin bu genotoksik ve oksidatif etkilerini başarıyla en aza indirdi.

### 2. 3.4. Borun Metabolik Etkileri

Borun biyolojik etkileri de canlı organizmaların biyolojik sistemleri üzerindeki borun metabolik etkilerine dayandırılabilir. Borun, hayvanların ve insanların metabolizmasına katkıda bulunduğu bilinmektedir. Canlı organizmalarda bor, karbonhidrat, mineraller, enzimler ve hematolojik indekslerin düzenlenmesi ve metabolizmasını içeren çok sayıda mekanizmayı etkiler [125]. Kabu ve ark., Peripartum dönemde süt sığırlarında serumun (30 g / gün) metabolitleri (kalsiyum, magnezyum, fosfor) üzerindeki etkilerini gösteren bir çalışma yapmışlardır. Serum kalsiyum ve magnezyum seviyeleri bor takviyesi ile iyileşirken, fosfor metaboliti parametresi tüm gruplarda önemli değildi. Sonuçlar, sodyum boratın metabolik dengeyi korumak için uygun olabileceğini ve buzağılama döneminde süt sığırlarında hipokalsemi ve hipomagnezemi gibi metabolik sendromların önlenebileceğini göstermektedir [126]. Ayrıca sığırlarda boronun plazma kalsiyum ve fosfor üzerindeki [106, 108] ve plazma magnezyum düzeylerinde [108] pozitif metabolik etkileri belgelenmiştir. Ayrıca, borun broilerlerde de belirli metabolik etkileri olmuştur [105]. Ayrıca, serum metabolitlerinde hafif artışlar, katmanlardaki düşük dozda bor desteği ile algılanmıştır [127]. Hall ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, sığırlarda LDL, TG ve kolesterol düzeyleri boron eklendikten sonra azalmıştır [128]. Bu azalma seviyesi, LDL'nin karaciğer ve aort hücrelerine bağlanmasını ve girişini engelledi. Bu olgunun, ateroskleroz hastaları için, kolesterolün dokulardan çıkarılmasına ve lipid birikiminde azalmaya yol açabileceği için yararlı olduğu iddia edilmiştir [8]. Naghii ve Samman tarafından yapılan çalışmada, borik asitin 2 hafta / gün dozunda 2 hafta boyunca sığırlara verildiğinde total kolesterol ve lipoproteini azalttığı bildirilmiştir [110].

Başka bir çalışmada, broilerdeki borik asit formundaki borun, serum alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, kreatin kinaz, gama-glutamiltransferaz, laktat dehidrogenaz, aspartat aminotransferaz enzim aktiviteleri ve kalsiyum, magnezyum, fosfor, total kolesterol, total protein, total bilirubin, albümin, globulin, glikoz ve kreatinin metabolit aktivitesi, LDL, HDL'yi önemli ölçüde etkilediğini gösterdi [129]. Ayrıca, borun, diyabet grubunda insülin ve lipaz aktivitelerini arttırdı ve glikoz ve LDL düzeylerini anlamlı düzeyde düşürdü. Böylelikle, borun deneysel diyabetlerdeki metabolik indeks değişiklikleri üzerinde olumlu etkileri olabilir [130]. Bor ayrıca negatif enerji dengesinin

azaltılmasında ve  $\beta$ -hidroksibutirat, postpartum valin, çoklu doymamış yağ asidi, propionat, sitrat, kolin, izobütirat, kolesterol ve yağ asitleri içeren metabolitleri düzenleyerek doğum sonrası ineklerdeki sağlık durumunun iyileştirilmesinde de uygun görünmektedir [131].

Sonuçlar, pre-partum döneminde glukoz konsantrasyonlarının daha yüksek olduğunu ve desteklenmemiş bor grubunda postpartum  $\beta$ -hidroksibütirik asit ve glukagon serum düzeylerinin daha yüksek olduğunu gösterdi. Sodyum borat uygulamasından sonra, kandaki toplam kolesterol, trigliserit, HDL, LDL, VLDL, glukoz, insülin ve esterlenmemiş yağ asitleri konsantrasyonları azalmıştır [94]. Boraks uygulaması ayrıca serum total protein düzeyini arttırdı ve 4. haftada Simmental ineklerde serum ürik asit konsantrasyonunu düşürdü ve deneyin 3. haftasında serum HDL konsantrasyonunu azalttı. Serum total kolesterol, beta-hidroksibütirik asit ve kan üre nitrojen konsantrasyonları anlamlı olarak artmışken, esterlenmemiş yağ asitleri doğumdan sonra önemli ölçüde azalmıştır. Beta-hidroksibütirik asit konsantrasyonu kontrol grubunda daha fazlaydı, ancak deneyin son haftasında boraks grubunda azalmaya başladı. Sonuçlar, sodyum borat desteğinin erken laktasyon sırasında Avusturyalı Simmental ineklerin metabolik profili üzerinde olumlu etkiye sahip olduğunu göstermektedir [132].

Ayrıca, çok az sayıda bilimsel veri, borun hematolojik indeksler üzerindeki etkilerini de göstermiştir. Boraksın sıçanlarda hemoglobin, beyaz kan hücresi, hematokrit, trombosit ve kırmızı kan hücresi sayımını önemli ölçüde düzenlediği bildirilmiştir. Benzer şekilde lenfosit, monosit, nötrofil ve bazofil sayısı da etkilenmiştir [133]. Kabu ve arkadaşları ayrıca, buzağılama sırasında süt sığırlarında hematolojik parametreler üzerinde propilen glikol ve metioninin yanı sıra bor (30 g / gün) eylemlerini de değerlendirmeye çalışmışlardır. Bu kombinasyonun tamamlanmasından sonra monosit, beyaz kan hücreleri, kırmızı kan hücreleri, lenfositler, granülositler ve trombosit sayısında hiçbir değişiklik görülmemiştir. Buzağıdaki ortalama hücre hacmi ve hematokrit düzeylerinde anlamlı bir fark saptandı [94]. Bu çalışma, borunun periparturient dönemde bazı hematolojik parametreler üzerindeki olumlu etkilerini göstermektedir.



### 2. 3.5. Bor ve Kanser Tedavisi

Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar borik asidin insan prostat kanseri hücreleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir [134, 135]. Borun bu anti-kanserojen etkileri NAD ve kalsiyum kanalı üzerindeki etkisi ile ilişkili olabilir. NAD hücrelerde kolesterol ve yağ üretimi için gereklidir [136, 137]. Hücre sağkalımı, Ca ++ 'nın hücrelerin içine ve dışına hareketine de bağlıdır. Hücre çalışması, NAD / NADP üretiminin kesintiye uğradığını etkiler. Borik asidin, konsantrasyona bağlı olarak kanser hücrelerinde NAD üretimini ve Ca ++ salımını değiştirdiği bulunmuştur. Kanser hücresinin çoğalmasının boratlarla %30–97 oranında engellendiği bildirilmiştir [134]. Sonuçlar ayrıca boratların doza bağlı etkiler gösterdiğini ve bir rododin reseptörü agonisti olan ADP ribozuna bağlanabildiğini göstermektedir. Borik asidin, rinodin reseptöründeki bir bölgeye bağlandığı ve böylelikle Ca ++ kanalının kanser hücre hatlarında inaktif hale gelebileceği öne sürülmüştür [95]. Ca ++ seviyeleri, kalsiyum kanalının inaktivasyonuna bağlı olarak azaldığında, sitoplazmik stres granül üretimi ve eIF2 $\alpha$  / ATF4 yolağı, daha sonra, borik asidin fizyolojik miktarları ile desteklenmiş DU–145 prostat hücrelerinde ortaya çıkmaktadır [138]. Bilim adamları, borik asidin aynı zamanda, kemopreventif ajanların, selenometiyonin ve genisteinin anti-proliferatif etkisini arttırmak için gerekli olduğunu bulurken, radyasyon tedavisi ile hücre çıkarılma oranını geliştirdiler [139]. Borik asit, hücre proliferasyonunu uyaran ve farklılaşmayı önleyen ve tümör invazyonu ve progresyonunu inhibe eden TIA-1'i tetikleyen cADPR Ca<sup>2+</sup> kanal yolunu engelleyebilir. Borik asidin tedavisi, tümör hücresi migrasyonunu ve metastaz ve büyümeyi inhibe ederek prostat kanseri hatlarını en aza indiren kalretikülünü rahatsız eden GRP78'i güçlendirdi. P53 tümör baskılayıcı için de kalretikülün (Calreticulin (CRT), ökaryotik hücrelerde yaygın olarak dağıtılan bir proteindir) gereklidir [140].

Bir laboratuvar deneyi, boratlara maruz kalmanın kanser tedavisi için faydalı olduğunu, çünkü hücrelerin büyümelerini durdurmasına ve bu prostat kanseri hücrelerini düzleştirmesine neden olduğunu ortaya koymuştur. Boratlar ayrıca hücrelerin büyümesini destekleyen sito-kimyasallar, MAPK ve A-E siklinlerinin azaldığını gösterdi. Bu nedenle, hücreler daha az yapışma, F-aktin modifikasyonları, invaziv aktivite ve migrasyon olduğunu ortaya koymuştur [135]. Borik asit, tümör hücre hatlarının LNCaP ve DU-145'inin dorsantepantent bir şekilde proliferasyonunu baskıladı ve tümör hücresi büyümesi

üzerinde iyi bir inhibitör etkiye sahipti. Ayrıca, kanser hastalarında PC-3 tümör hücre çizgisi inhibe edildi [93]. Kemirgenler LNCaP hücre çizgisi ile aşılınmış ve oral olarak borik asitle beslenmiş ve karşılanmamış grup ile karşılaştırılmıştır. Tümör boyutu 2 ay boyunca ölçüldü. Tümör hacmi farelerde %25-38 oranında azalırken, serum PSA seviyeleri kontrollere göre %86-88 azalmıştır [141]. Ek olarak, bor, prostat kanserinin büyümesi için gerekli olan tümördeki insülin büyüme faktörü-1'i [141] önemli ölçüde azaltmıştır [142, 143]. Bağışıklık sistemi hasar görmüş farelerin diyetine borik asit eklendiğinde, farelere nakledilen insan prostat kanseri tümörü azalan yönde bir eğilim göstermiştir [141]. Çalışmalar ayrıca borik asit ve fenilboronik asidin aktin düzenlemesini değiştirdiğini ve böylece prostat kanseri hücrelerinde migrasyonu azalttığını ortaya koymaktadır. Fenilboronik asitin tümör hücre migrasyonunun daha etkili bir inhibitörü olduğu bildirilmiştir [144]. Ayrıca, boronun diyet alımının, kadınlarda akciğer kanseri ve meme kanseri riskini azalttığı da gözlemlenmiştir [145].

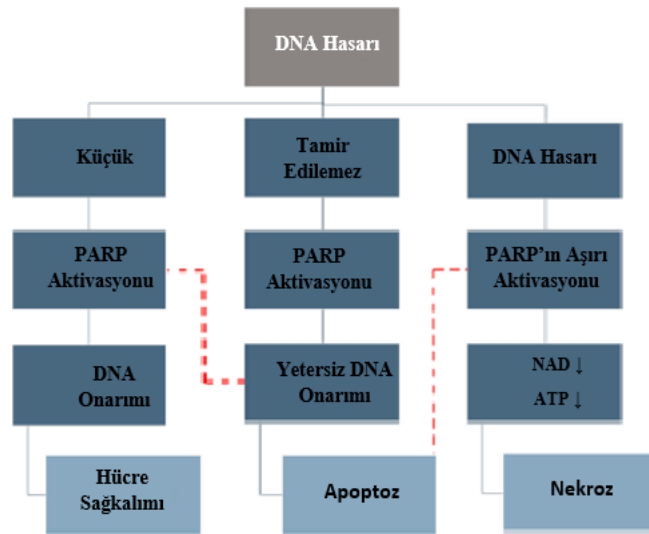
Dahası, boron-10 tarafından epitermal nötronların nükleer yakalama reaksiyonunu kullanan ve bir lokalize nükleer fizyon reaksiyonu ile sonuçlanan bor nötron yakalama terapisi (BNCT) ve daha sonra hücre ölümü kanser tedavisi için bir teknik olarak ortaya çıkmıştır [146]. Hücrelerin yıkımı, bireysel hücrelerin çapı ile sınırlı olduğundan, sadece nötron alanında büyük miktarda boron birikimi içeren hücreler yok edilir [147]. Ancak, BNCT'nin geniş kapsamlı bir kanser tedavisi olarak gelişimi, tümör seçici boron içeren ajanların bir az olması tarafından engellenmiştir [147, 148]. Bu nedenlerden ötürü, sadece L-boronofenilalanin (BPA) ve sodyum borokaptat (BSH) klinik olarak kullanılmaktadır [149]. Pek çok bilim adamı, bu iki boratı bor ajanları olarak kullanarak BNCT'de çok sayıda etkili klinik çalışma gerçekleştirmiştir. Tümörün seçiciliğinden dolayı yeni ajanlara acilen ihtiyaç vardır [144]. Son zamanlarda, bor içeren lipozomlar, boronlanmış porfirinler, boronlanmış DNA aralayıcıları, boronlanmış epidermal büyüme faktörü, transferrin-poliyetenlik glikol lipozomlar, antiepidermal büyüme faktörü reseptörü, BSH füzyonlu hücre-penetran Peptid, endotelial büyüme faktörü ve vasküler dâhil olmak üzere birçok bor ajanı kemirgen modelinde denenmiştir. Fakat hiçbir ajan BPA ve BSH'yi aşmamıştır [146, 147, 149]. Böylelikle, bir bor ajanı en iyi olarak kabul edilmek için, kanser tedavisinin başarısında belirleyici iyileşme gerektirecektir. BNCT'de tümör seçiciliğini arttırmak için, önümüzdeki yıllarda BPA ve BSH'den daha verimli olan ideal bir bor ajanı aranmalıdır.

## 2. 4. Poli (ADP-Riboz) Polimerazlar (PARP)

Poli (ADP-riboz) polimerazlar (PARP'ler), ADP-ribozun hedef proteinlere (poli ADP-ribosilasyon) transferini katalize etme kabiliyetini paylaşan yeni bir enzim ailesidir [150, 151]. Farklı genler tarafından kodlanan ve korunan bir katalitik alanda homolojiyi paylaşan PARP ailesinin en az 18 üyesi vardır. Her ne kadar PARP1 ve PARP2 dahil olmak üzere bazı izoformlar DNA tamir işlemlerine dahil oldukları için en iyi şekilde bilinmesine rağmen, artık bu ve diğer PARP'lerin hücre proliferasyonu ve hücre ölümü dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçlerde önemli bir rol oynadıkları bilinmektedir [150]. PARP için bir dizi hücresel substrat tanımlanmıştır ve bu proteinlerin çoğu, nükleik asit metabolizmasında, kromatin yapısının modülasyonunda, DNA sentezinde ve DNA onarımında yer alan nükleer proteinlerdir [151]. PARP ayrıca DNA iplik kopuşlarının mevcudiyetinde kendisini otomatik olarak değiştirir ve poli ADP ribozun in vivo ana alıcılarından biridir [2]. PARP1, PARP ailesinin ilk ve en iyi karakterize edilmiş üyesidir. PARP2, katalitik alanında %69 benzerlik ile PARP1 ile en yakından ilişkilidir ve PARP1-eksik hücrelerde PARP aktivitesinin kalıcılığı temelinde tanımlanmıştır [150, 152].

Poli (ADP-riboz) polimerazın (PARP) veya daha sonra ADP ribosil transferazın (ADPRT) geliştirilmesi antikanser tedavisi ile birlikte ilerler. İlk açıklama, enzim belirlenmeden önce, ilk kemoterapi ajanları olan DNA alkilleyici ajanların, hücresel NAD + 'nın tükenmesine bağlı olarak glikolizde aşırı bir düşüşe yol açtığıydı. ADP-riboz polimerleri kısa bir süre sonra keşfedildi ve son olarak, sorumlu enzim PARP keşfedildi. PARP reaksiyonu, NAD + 'nın nikotinamid ve ADP-riboz içine bölünmesini katalizleyerek, DNA alkilleyici ajanları tarafından zarar gördüğünde NAD + 'nın hızlı bir şekilde harcanmasını sağlar. Reaksiyonun ikinci ürünü olan nikotinamid, yanıtın mütevazı bir ürün inhibisyonuna neden olur. Bu bilgilere dayanarak, ilk PARP inhibitörleri, üç pozisyondaki heterosiklik azotun bir benzamid analogu oluşturmak üzere karbon ile değiştirildiği nikotinamid analoglarıydı. Bu üç pozisyondaki değiştirmeler iyileştirilmiş çözünürlükteydi ve 3-ikameli benzamidler, örn. 3-aminobenzamid (3-AB) PARP'ın fonksiyonunun aydınlatılmasına yardımcı olmuştur. Önemli bir çalışmada, 3-AB'nin, DNA alkilasyon maddesi, dimetil sülfat (DMS) ve gelişmiş DMS sitotoksitesinin neden olduğu DNA kopmalarının tamirini inhibe ettiğini gösterilmiştir. Bu çalışma, PARP

inhibitörlerinin, kanseri tedavi etmek için DNA alkilleyici ajanlarla kombinasyon halinde muhtemel bir avantajını ortaya koymaktadır. Tabii ki artık PARP enzimleri ailesinin olduğunu biliniyor, ancak PARP1 ve PARP2 DNA onarımı ve kanser terapisinde kullanımı açısından hedeflenmektedir, çünkü bu enzimler baz eksizyonu onarımı ve tek iplikçik kopması onarımı (BER / SSBR) yoluyla DNA kırılmalarının onarımında imbrikasyon fonksiyonuna sahiptir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, PARP3'ün DNA çift sarmal kopmalarına yanıt olarak PARP1 ile birlikte çalıştığı gösterilmiştir [153]. PARP enzim ailesi PARP-1'den ve yakın zamanda tanımlanmış poli (ADP-ribosil) enzimlerinden oluşur. PARP-1 veya PARP ayrıca poli (ADP-riboz) sentetaz veya poli (ADP-riboz) transferaz olarak da adlandırılır. Serbest radikallerin neden olduğu DNA tek iplik kopması ve nitrik oksit ile güçlü oksidan peroksinit, nitrik oksit ile süperoksit reaksiyonunun ürünüdür. PARP, çoğu hücre tipinde yapısal olarak eksprese edilen zengin (50 nükleozom başına yaklaşık bir enzim molekülü) bir enzimdir. DNA'nın sağ uçları ve 3' tek tabanlı çıkıntılar için yüksek bir bağlanma afinitesine sahip olan bu enerji tüketen enzimin, DNA onarımında yer aldığı düşünülmektedir [154].



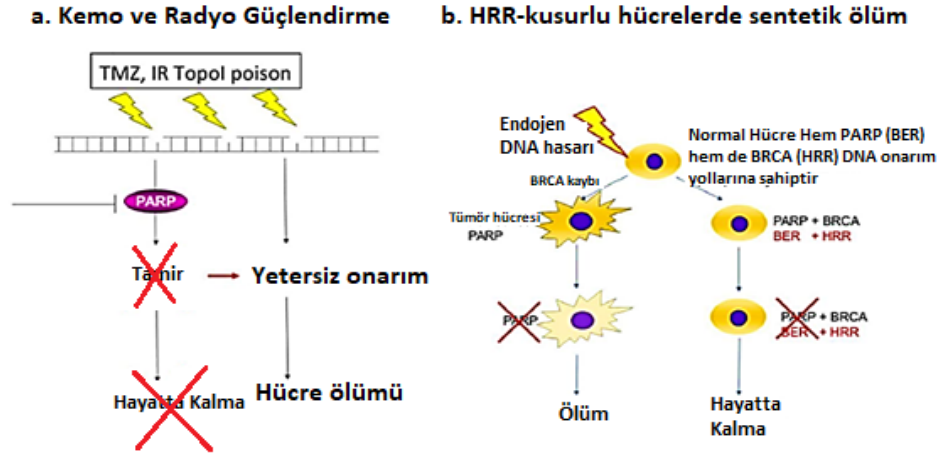
Şekil 2. 4.1. DNA onarımı ve PARP'ın aşırı aktivasyonu.

DNA hasarının yoğunluğu PARP aktivasyonunu ve hücrel sağkalımı belirler. Küçük DNA hasarı, PARP aktivasyonunu tetikleyerek DNA onarımını ve hücrel sağkalımı kolaylaştırır. DNA hasarı'nın onarılamaması, p53'e bağlı apoptotik yolu aktive eder. Ana DNA hasarı, hücrel NAD + / ATP depolarını tüketen aşırı PARP aktivasyonunu tetikleyebilir. NAD + / ATP tükenmesi apoptozu bloke eder ve nekrozla sonuçlanır. PARP'ın inhibisyonu, hücrel enerji depolarını ve bunun sonucunda ortaya çıkan apoptozu onarmayı önler ve korur.

DNA onarım enzimi poli (ADPribose) polimeraz (PARP), iyi huylu dokulara ve hücrelere kıyasla tümör hücrelerinde daha yüksek seviyelerde eksprese edilir, dolayısıyla PARP, tümöre özgü bir tedavi hedefini temsil edebilir. Dahası, hızlı bölünen kanser hücrelerine DNA-onarımı ile yardım ederken, PARP apoptotik hücre ölümünü önler [155]. Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP), DNA hasarına hücresel yanıtta rol oynayan nükleer bir enzimdir. DNA kırılmalarının, PARP'ın aktivasyonu için zorunlu tetikleyiciler olduğuna inanılmaktadır. Bu DNA kopmaları, oksidatif ve nitrosatif stres gibi çeşitli çevresel uyanlarla tetiklenir. DNA iplik kopmalarıyla yüzleşmek üzerine PARP, NAD'nin nikotinamid ve ADP-riboz içine bölünmesini katalize eder ve daha sonra, PARP'nin kendisi de dahil olmak üzere nükleer proteinlere kovalent olarak bağlanan ADPribose polimerlerini sentezlemek için ikincisini kullanır. DNA hasarı hafif olduğunda, PARP'ın etkisi, hücrenin hayatta kalmasını teşvik eder. DNA hasarı şiddetli olduğunda, PARP aktivasyonu hücre işlev bozukluğuna veya ölüme neden olan hücresel enerjik rahatsızlıklara neden olabilir. PARP'ın bir genetik bozukluğu veya bu enzimin farmakolojik inhibisyonu, iltihaplanma, şok, felç, miyokard iskemisi / reperfüzyonu üzerinde faydalı etkilere sahiptir ve otoimmün diyabetin başlamasını önler. PARP halen, gen transkripsiyonunun düzenlenmesinde de bir rol oynamaktadır. Nükleer faktör-kB (NF-kB), p53 ve AP-1 dahil olmak üzere birkaç transkripsiyon faktörü PARP ile etkileşime girer ve onun tarafından düzenlenir. Kanıtlar, oksidatif ve nitrosatif stresin, diyabetik hayvanlardan retinalarda normalden daha yüksek olduğunu, dolayısıyla potansiyel olarak PARP'yi aktive ettiğini ve diyabetik retinopatinin patogenezine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Son araştırmada, retinadaki PARP aktivitesinin diyabette arttığını ve PARP inhibisyonunun, diyabetik retinopatinin erken lezyonlarının büyümesini engellediğini tarif edin. PARP inhibisyonunun bu faydalı etkilerine, en azından kısmen NF-kB'nin düzenlenmesi yoluyla aracılık edilir [156].

## 2. 4.1. DNA Hasarına Bağlı PARP'ların Yapısı ve Mekanizması

PARP üst ailesinin üç üyesi, DNA hasarı ile etkileşime girerek katalitik olarak aktive edilir: PARP-1, PARP-2 ve PARP-3. PARP'ın DNA hasarına hücrel tepkisi uzun zamandır takdir edilmiştir ve aktif olarak gelişmeye devam etmektedir. Bilinen genel bir model, DNA hasarına bağlı Parp'lerin zarar tespiti sürecinde erken hareket ettiğini ve bunun da PARP katalitik aktivasyonuna ve PAR üretimine artmasına neden olduğunu göstermektedir. Hasar yerinde PARP varlığı ve etkinliği daha sonra onarım işleminin verimliliğini ve onarım yolunun seçimini sunabilir. DNA hasarına bağlı PARP'ların ve ürettikleri PAR modifikasyonunun temel rolü, hasar alanına onarım faktörleri kazandırmaktır. PARP ile etkileşime aracılık eden onarım proteinlerinde ve PAR sentez bölgelerine alımda çeşitli motifler ve alanlar tanınmıştır. Bir sınırlayıcı platform olarak hizmet veren PAR'a ek olarak, bir hasar bölgesinin yakınında bulunan tamir ve kromatinle ilişkili faktörlerin PAR modifikasyonunun, hedeflenen proteinlerin katalitik özelliklerini ve kromatinin yerel yapısını değiştirmesi beklenir. Bununla birlikte, PARmedite protein fonksiyonunun düzenlenmesi ile ilgili ayrıntılı görüşler genel olarak eksiktir. Ve PARP'ın DNA hasar cevabına katılımı için genel bir model oluşturulmuş olmasına rağmen, PARP'ın katılımıyla ilgili moleküler detaylar açıkça belirlenmemiştir, bu da PARP'ın belirli onarım adımlarına katılımını ve birkaç PARP'ın onarım yolu seçimine katkısını anlamamızı sınırlamıştır. Son yıllarda yapısal ve biyokimyasal çalışmalar, PARP-1'in DNA onarımına katılımının ilk aşamalarına ilişkin temel bilgiler sağlamıştır (Şekil 4.2). DNA hasarına bağlı PARP'ler benzer katalitik alan yapılarına sahiptir, ancak DNA hasarına temas eden alanlarda bir miktar değişiklik gösterirler [157].



Şekil 2.4.2. Kanser tedavisinde PARP inhibitörlerinin etki mekanizması.

(a) PARP, IR, TMZ ve topo I zehirlenmesinden kaynaklanan ve hücrenin hayatta kalmasına izin veren DNA hasarının onarımını teşvik eder. PARP inhibe edilirse onarım yetersiz kalır ve DNA hasarı hücre ölümüne yol açmaya devam eder. (b) BER ve HRR, endojen DNA hasarının onarımında birbirini tamamlar. BRCA1 veya BRCA2'nin (veya HRR'nin herhangi bir bileşeninin) kaybı, genomik kararsızlığa ve tümör gelişimine yol açabilir. Bu tür tümör hücreleri, PARP inhibe edildiğinde hücrenin DNA'sını yeterince tamir edememesi ve ölmesi için endojen DNA hasarının onarımı için PARP'ye daha fazla bağımlı hale gelir.

## 2.5. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

Başlangıçta vasküler geçirgenlik faktörü (VPF) olarak bilinen vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), kan damarlarının oluşumunu uyaran hücreler tarafından üretilen bir sinyal proteindir. VEGF ailesi memelilerde beş üyeden oluşur: VEGF-A, plasenta büyüme faktörü (PGF), VEGF-B, VEGF-C ve VEGF-D. Sonuncular VEGF-A'dan daha sonra keşfedildi ve keşiflerinden önce VEGF-A'ya sadece VEGF adı verilmiştir. Spesifik olarak, VEGF, sistin-düğüm büyüme faktörlerinin trombosit kaynaklı büyüme faktörü ailesinin bir büyüme faktörleri alt ailesidir. Hem vaskülojenizde (embriyonik dolaşım sisteminin de novo oluşumu) hem de anjiyogenezde (önceden mevcut vaskülatürden kan damarlarının büyümesi) rol oynayan önemli sinyal proteinleridir. VEGF, VEGF reseptörleri ile etki eder: VEGFR-1 ve VEGFR-2. Bunlar, öncelikle vasküler endotel

hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen tirozin kinaz reseptörleridir. VEGFR-1 reseptörleri, embriyogenez sırasında kan damarlarının oluşumunda çok önemli bir role sahipken, endotel hücreleri üzerindeki VEGFR-2 reseptörleri, VEGF molekülleri tarafından indüklenen mitojenik sinyalleri iletir [170].

Kan dolaşımı yetersiz olduğunda hipoksik durumlarda olduğu gibi dokulara oksijen alınımını onaran sistemin bir parçasıdır [171]. Bronşiyal astım ve diabetes mellitusta serum VEGF konsantrasyonu yüksektir [172]. VEGF'nin normal işlevi, embriyonik gelişim sırasında yeni kan damarları, yaralanma sonrası yeni kan damarları, egzersiz sonrası kaslar ve tıkalı damarları atlamak için yeni damarlar (kollateral dolaşım) oluşturmaktır.

Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), tümör vaskülatürünün gelişiminde rol oynayan en önemli anjiyojenik faktörlerden biridir. Kanserler, yeterli kan akımı olmadan sınırlı bir büyüklüğün ötesinde büyüyemez; VEGF'yi eksprese edebilen kanserler büyüyebilir ve metastaz yapabilir. VEGF'nin aşırı ekspresyonu, gözün retinasında ve vücudun diğer kısımlarında vasküler hastalığa neden olabilir. Aflibercept, bevacizumab, ranibizumab ve pegaptanib gibi ilaçlar VEGF'yi inhibe edebilir ve bu hastalıkları kontrol edebilir veya yavaşlatabilir [172].



### 3. MATERYAL METOT

Bu çalışmanın hücre kültürü kısmı Uşak Üniversitesi Bilimsel Analiz ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

#### 3.1. MATERYAL

##### 3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Deney çalışmalarına kullanılan cihazlar çizelge 3.1 de belirtilmiştir:

Çizelge 3.1 Kullanılan cihazların listesi, marka-modeli ve kullanım yeri

Cihaz	Markası	Kullanım Yeri
+4 °C Buzdolabı	Vestel	Moleküler Biyokimya Laboratuvarı
-80 °C Buzdolabı	Wisecryo	Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı
CO2 'li inkübatör	Heal Force Smart Cell	Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı
Hassas Terazı	Precisa	Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı
İnverted Mikroskop	Nikon Eclipse TS100	Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı
Laminar Akış Kabini	Biohazard Safety Cabinet	Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı

<b>Mikropipet</b>	İsolab	Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı
<b>Plate Reader</b>	Thermo Scientific Multiskan FC	Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı
<b>Puar</b>	İsolab	Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı
<b>Santrifüj</b>	Nüve NF800R	Moleküler Biyokimya Laboratuvarı
<b>Vorteks</b>	Wisemix VM-10	Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı

### 3.1.2. Kültürde Kullanılan Hücreler

Çalışmada CCL-233 (SW-1116) insan kolon adenokarsinom hücre hattı kullanılmıştır. Bu hücre hattı Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarından Prof. Dr. Mehmet İbrahim Tuğlu'dan temin edilmiştir.

### 3.1.3. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar

Hücre kültürü deneyinde kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar Çizelge 3.2'de listelenmiştir.

Çizelge 3.2. Hücre kültüründe kullanılan sarf malzeme ve kimyasallar listesi.

<b>Sarf Malzemeler</b>	<b>Marka</b>	<b>Lot Numarası- Katalog Numarası</b>
<b>Borik Asit</b>	Sigma	B6768
<b>CCK-8 Kit</b>	ABP Biosciences	AB1714A2
<b>Cis Platin</b>	Sigma	232120
<b>Etanol</b>	Sigma	
<b>Fosfat Tamponlu Salin (PBS)</b>	Gibco	2028282
<b>Fetal Bovine Serum</b>	Gibco	08A1374K
<b>Human (PARP)ELISA Kit</b>	Sun-Red	201904
<b>Human (T-AOC)ELISA Kit</b>	Sun-Red	201812
<b>Human (TOS)ELISA Kit</b>	Sun-Red	201812
<b>Human (VEGF)ELISA Kit</b>	Sun-Red	201812
<b>Penicilin/Streptomisin</b>	Gibco	15140122
<b>Pipet Ucu 0,5-10 µl</b>	İsolab	

<b>Pipet Ucu 20-100 µl</b>	İsolab	
<b>Pipet Ucu 100-1000 µl</b>	İsolab	
<b>RPMI Medium 1640 (L Glutaminli)</b>	Gibco	1976779
<b>Steril Cam Pipet 5ml</b>	SPL	91005
<b>Steril Cam Pipet 10ml</b>	SPL	91010
<b>Steril Cam Pipet 25ml</b>	SPL	91025
<b>Steril Falcon Tüp -Vida Kapaklı- 15 ml</b>	Lp Italiana Spa	L111548
<b>Steril Falcon Tüp -Vida Kapaklı- 50 ml</b>	Lp Italiana Spa	L116048
<b>Steril Plate 96'lık</b>	SPL	39096
<b>Steril Plate 24'lük</b>	SPL	39024
<b>Steril Flask T25</b>	SPL	70125
<b>Steril Flask T75</b>	SPL	70175
<b>Tripsin-EDTA</b>	Capricorn	CP18-2312

## **3.2. Metot**

### **3.2.1. Hücre Kültürü Çalışması**

Çalışmalarımız in vitro koşullarda yapılmıştır ve deneysel bir çalışmadır. Uşak Üniversitesi, Bilimsel Analiz ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, Hücre Kültürü Araştırma Laboratuvarı imkanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Araştırmamızda Manisa Celal Bayar Hücre Kültürü Laboratuvarından 25cm<sup>2</sup>'lik flasklarda alınan CCL-233-SW-1116 kolon kanseri hücre hattı kullanılmıştır.

CCL-233-SW-1116 hücreleri için besi ortamı, %10 RPMI-1640 (L-glutaminli), %10 FBS, %1 Penisilin/Streptomisin olarak hazırlandı.

Hücreler bu besi ortamını bulunduran 25 cm<sup>2</sup> ve 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklarda, inkübatör içinde ve iç ortamı %5 CO<sub>2</sub> ve 37°C'de tutularak ve pasajlama yapılarak üretildi.

Hücre pasajlamaları için laminar akış kabini, hücre kültürleri incelemeleri için inverted mikroskop kullanılmıştır.

### **3.2.2. Hücrelerin Çoğaltılması**

Hücreler, 25 cm<sup>2</sup>'lik flasklarda 4 ml, 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklarda ise 12 ml %10 FBS ve %1 penisilin-streptomisin içeren RPMI-1640 (L-glutaminli) medyumunu içerisinde %80-90 yoğunluğa geldiklerinde pasajlama yapılarak üretildi.

### **3.2.3. Hücrelerin Pasajlanması**

Bu işlem flasklar içerisindeki hücrelerin %80-90 yoğunluğa gelmesiyle pasajlanmaya hazır hale geldi. Bu yoğunluğa gelen hücrelerden medyum uzaklaştırıldı. Hücreler üzerine PBS 25 cm<sup>2</sup>'lik flasklara 8 ml, 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklara 24 ml eklendi. PBS'in

uzaklaştırılması ile birlikte ölü hücrelerde uzaklaştırıldı. Hücreler üzerine %0,25'lik tripsin 25 cm<sup>2</sup> flasklar için 2-2.5 ml, 75 cm<sup>2</sup> flasklar için 5-7 ml eklenerek, 37 °C'lik CO<sub>2</sub>'li inkübatörde bekletildi ve kalkmaları sağlandı. Yüzeiden ayrılan hücrelere tripsinin yaklaşık 2 katı kadar medyum ilave edilerek tripsinin etkisi ortadan kaldırıldı ve tek kullanımlık steril pipet yardımıyla santrifüj tüpüne aktarıldı. Santrifüj tüpündeki hücreler 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatantı uzaklaştırıldı. 25 cm<sup>2</sup>'lik flasklar için 2 ml, 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklar için 4 ml medyum eklenerek homojenize edilen hücreler medyum eklenen flasklara ekildi. Flasklar 37 °C'lik %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatöre konuldu.

### 3.2.4. Hücre Proliferasyon Deneyi

CCK 8 hücre canlılık testi için hücreler, 96 kuyucuklu pleyte %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren RPMI vasatta 5x10<sup>5</sup> hücre/ml olacak şekilde 90 µl olarak ekildi ve %5 CO<sub>2</sub> ve 37°C'lik inkübatörde inkübe edildi. Hücreler yüzeye yapıştıktan sonra kuyucuklar Çizelge 3.3.'te belirtilen gruplara ayrıldı ve 10'ar µl olarak uygulamalar yapıldı. Her gruptan üç tekrar yapıldı.

Çizelge 3.3. Çalışmada oluşturulan gruplar.

Gruplar	Yapılan uygulamalar
Grup 1	%10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren RPMI
Grup 2	30 µM Cis Platin
Grup 3	100 mM Borik Asit
Grup 4	75 mM Borik Asit

Grup 5	50 mM Borik Asit
Grup 6	25 mM Borik Asit
Grup 7	10 mM Borik Asit

Üç farklı saat ölçümü yapılacağı için yukarıdaki işlemler üç farklı saat grubu için de gerçekleştirildi. Uygulamalar yapıldıktan sonra her grup kendi inkübasyon süresince (24, 48, 72) inkübe edildi. 24 saatin sonunda ilk grup üzerlerine 10 µl CCK 8 solüsyonu eklendi. 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda 10 saniye çalkalama yapıp 450 nm dalga boyunda Plate Reader ile ölçüm yapıldı. Aynı işlemler 48 ve 72 saat gruplarına da uygulandı. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda diğer analizler 48 saatlik inkübasyon süresi üzerinden gerçekleştirildi. (Kit Lot No: AB1714A2)

### 3.2.5. PARP Analizi

PARP analizi için 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklardaki hücreler kullanıldı. Hücreler pasajlamadakin benzer uygulamalarla kaldırıldı. Ardından hücreler santrifüj edildi ve elde edilen pellete medyum ilavesi ile süspansiyon haline getirildi. Deney için 24 kuyucuklu hücre kültür plateleri kullanıldı. 5x10<sup>5</sup> CCL-233-SW-1116 hücresi 450µl olacak şekilde kuyucuklara ekildi. Plate 24 saat boyunca inkübatörde bekletildi ve 24 sonunda inkübatörden alınan hücreler çeşitli konsantrasyondaki Bor ile muamele edildi. 48 saat beklemek üzere 37°C'lik inkübatöre yerleştirildi. 48 saat sonunda hücreler inkübatörden alındı. Alınan platedeki hücrelerden besiyerler çekildi ve yaklaşık 700µl PBS ile muamele edildi. Muamele edilen hücrelerden PBS çekildi. Hücrelere 200µl tripsin eklenerek 37°C'lik inkübatöre yerleştirildi ve hücrelerin kalkması sağlandı. Yüzeiden ayrılan hücrelere 450µl medyum eklenerek tripsinin etkisi kaldırıldı. Hücreler tek kullanımlık pipet yardımıyla PARP için ependorfa aktarıldı. Ependorftaki hücreler 2100 rpm'de 20

dakika 15°C santrifüj edildi. Santrifüj sonrası, süpernatant atıldı. Ependorflar içerisine besiyeri eklendi ve PARP kitinden çıkan antikor yüklü 96'lık platelere ekildi. Reaktifler, örnekler ve standartlar hazırlandı. Hazırlanmış örnekler ve standartlar, platelere ekildi ve 37 ° C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Platler beş kez yıkandı, Kromojen çözeltisi A ve B ilave edildi, 37 ° C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra stop çözeltisi eklendi ve Plate Reader ile ölçümü gerçekleştirildi. (Kit Lot No: 201904)

### **3.2.6. VEGF Analizi**

Bu analiz için 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklardaki hücreler kullanıldı. Hücreler pasajlamadakine benzer uygulamalarla kaldırıldı. Ardından hücreler santrifüj edildi ve elde edilen pellete medyum ilavesi ile süspansiyon haline getirildi. Deney için 24 kuyucuklu hücre kültür plateleri kullanıldı. 5x10<sup>5</sup> CCL-233-SW-1116 hücresi 450µl olacak şekilde kuyucuklara ekildi. Plate 24 saat boyunca inkübatörde bekletildi ve 24 sonunda inkübatörden alınan hücreler çeşitli konsantrasyondaki Bor ile muamele edildi. 48 saat beklenmek üzere 37°C'lik inkübatöre yerleştirildi. 48 saat sonunda hücreler inkübatörden alındı. Alınan platedeki hücrelerden besiyerler çekildi ve yaklaşık 700µl PBS ile muamele edildi. Muamele edilen hücrelerden PBS çekildi. Hücrelere 200µl tripsin eklenerek 37°C'lik inkübatöre yerleştirildi ve hücrelerin kalkması sağlandı. Yüzeyden ayrılan hücrelere 450µl medyum eklenerek tripsinin etkisi kaldırıldı. Hücreler tek kullanımlık pipet yardımıyla ependorfa aktarıldı. Ependorftaki hücreler 2100 rpm'de 20 dakika 15°C santrifüj edildi. Santrifüj sonrası, süpernatant atıldı. Ependorflar içerisine besiyeri eklendi ve 96 kuyucuklu kisten çıkan platelere ekildi. Reaktifler, örnekler ve standartlar hazırlandı. Hazırlanmış örnekler ve standartlar, kisten çıkan antikor yüklü 96'lık platelere ekildi ve 37 ° C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Platler beş kez yıkandı, Kromojen çözeltisi A ve B ilave edildi, 37 ° C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra stop çözeltisi eklendi ve ölçümü gerçekleştirildi. (Kit Lot No: 201812)



### 3.2.7. İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda ELISA cihaz test sonuçları SPSS-20 istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar ortalama (SD) standart hata olarak verildi ( $SE = SD / n$ )

Grupların homojenliği test edildikten sonra, gruplar arasındaki farklılıkları bulmak için tek yönlü ANOVA testinde Duncan kullanıldı. Farklılıklar  $P < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



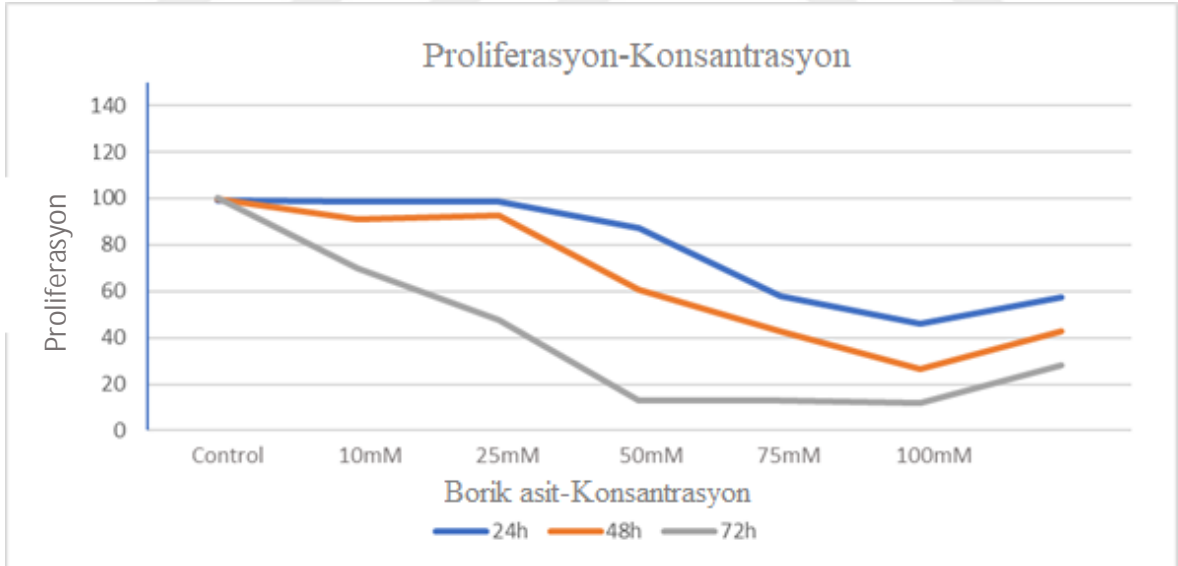
## 4. BULGULAR

### 4.1. Proliferasyon Deneyi Bulguları

CCL-233 kolon kanser hücre hattı için doz aralıkları; 10, 25, 50, 75, 100 mM olarak belirlendi. 24, 48 ve 72. saatler sonunda CCK-8 yöntemi kullanılarak kanserli hücrelerinin %50'sinin ölümüne yol açtığı için LD50 dozu 50 mM olarak tespit edildi ve kanserli hücrelerin canlılık oranı 48. saatte daha iyi sonuç verdiği tespit edildi. Yapılan diğer deneylerde bu saat ve doz esas alındı. Değerler Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Borik Asidin farklı konsantrasyon uygulamalarındaki Proliferasyon-Konsantrasyon grafiği.

(CCL-233 hücrelerine verilen bor konsantrasyonları mM olarak gösterildi.)



## 4.2. PARP ve VEGF Analizi Bulguları

Borik asidin 25, 50, 100 mM'lık konsantrasyonları CCL-233 insan kolon kanseri hücre hattında uygulandı ve ELİSA yöntemiyle PARP ve VEGF analizleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.2 de gösterildi.

Çizelge 4.2. Borik Asidin farklı konsantrasyon uygulamalarındaki PARP ve VEGF istatistiksel analizleri

	PARP (ng/L)	VEGF (ng/L)
Control	0,37± 0,06 <sup>a</sup>	0,51± 0,040 <sup>a</sup>
Borik Asit 25 mM	0,34± 0,05 <sup>a</sup>	0,47± 0,091 <sup>a</sup>
Borik Asit 50 mM	0,18± 0,004 <sup>b</sup>	0,45± 0,012 <sup>a</sup>
Borik Asit 100 mM	0,21± 0,03 <sup>b</sup>	0,40± 0,158 <sup>a</sup>
Cisplatin	0,73± 0,01 <sup>c</sup>	0,06± 0,008 <sup>b</sup>

\*Aynı sütundaki farklı harfler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlıdır. (P<0,05)

## 4.3. TAS ve TOS Analizi Bulguları

Bunlara ek olarak TAS-TOS değerlerine de bakıldı. Fakat aralarında anlamlı bir ilişkinin olmadığı tespit edildi.

Çizelge 4.3. Borik Asidin farklı konsantrasyon uygulamalarındaki TAS-TOS istatistiksel analizleri

	TAS mmol/L	TOS mmol/L
Control	0,98±0,1 <sup>a</sup>	0,99±0,2 <sup>a</sup>
Borik Asit 25 mM	0,95±0,03 <sup>a</sup>	0,98±0,4 <sup>a</sup>
Borik Asit 50 mM	0,96±0,01 <sup>a</sup>	0,97±0,2 <sup>a</sup>
Borik Asit 100 mM	0,96±0,09 <sup>a</sup>	0,96±0,4 <sup>a</sup>
Cisplatin	0,92±0,05 <sup>a</sup>	0,85±0,02 <sup>a</sup>

\*Aynı sütundaki farklı harfler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlıdır. (P<0,05)

## 5. TARTIŞMA

Kanser tedavileri üzerine yapılan araştırmalarda antikanserojen özelliklerinden dolayı bor bazlı bileşikler çalışılmaktadır. Çeşitli araştırmalar, prostat, meme, servikal ve akciğer kanserleri gibi bazı kanserlerin düşük risklerinin borla zenginleştirilmiş ortamlarla ilişkili olduğunu desteklemektedir [109]. Son birkaç yılda yapılan araştırmalar, antikanser ajanlar olarak bor bileşiklerinin, özellikle ameliyat edilemeyen kanserlerde ve malignitesi yüksek kanser türlerinde daha fazla kullanılmaya başlandığını göstermektedir [167]. Yapılan diğer araştırmalar ve elde edilen farklı doğal bileşiklerin çeşitli mekanizmalar yardımıyla kolon kanseri hücre çoğalmasını etkili bir şekilde inhibe ettiğini ve apoptozu indükleyen yolların ise aktivasyonunu sağladığını göstermektedir [158-162]. Bu tez çalışmasında da borik asidin CCL-233 insan kolon kanser hücre hattı üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu nedenle borik asit uygulamasının CCL-233 hücrelerinde; hücre canlılığı ve proliferasyon düzeyleri üzerine olan etkileri CCK-8 yöntemi; apoptoz üzerine etkileri PARP analizi, anjiogenik etkileri ise VEGF analizi kullanılarak araştırıldı. Bu alanda yapılan araştırmalara bakıldığında; bu tezde kullanılan yöntemlerin, hücre proliferasyonu ve apoptoz üzerine yapılan diğer çalışmalarda çoğunlukla kullanılan yöntemler olduğu görülmektedir. Bu çalışmanın amacı; dünyada ve ülkemizde sık görülen, kolon kanseri hücresi (CCL-233) üzerine in vitro koşullarda farklı konsantrasyonlarda BA'in etkilerini incelemektir.

Deneylerde kullanılan doz aralıklarının belirlenmesi için literatür araştırması yapılmıştır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde çok farklı doz aralıklarının kullanıldığı görülmektedir. Örneğin prostat kanser hücre hattı üzerinde yapılan araştırmaların büyük bir kısmında borik asidin 0-1000 µM'a kadar olan farklı doz aralıkları çalışılmıştır [150]. Meme kanseri hücreleri ile yapılan bir araştırmada ise en yüksek doz 22,5 mM olarak belirtilmiştir [163, 164]. Yine yapılan bir çalışmada Wade T. ve ark borik asidin insan prostat kanseri hücre çoğalması üzerine olan inhibisyonunu araştırmışlardır [93]. Çalışmalarında ise insan prostat kanseri hücresi olan DU-145, LNCaP ve PC-3 hücre hattı kullanılmıştır. 8 gün boyunca bu hücelere 0-1000 µM borik asit içeren medyum eklenmiş

ve hücreler takip edilmiştir. Takip sonunda kullanılan hücre hatları proliferasyon, apoptoz, hücre döngüsü ve mitokondrial aktivasyonu yöntemleriyle değerlendirilmiştir. Borik asit uygulamasının kullanılan DU-145, LNCaP ve PC-3 kanser hücre hatlarında doza bağlı olarak hücre proliferasyonunu açık bir şekilde düşürdüğü gözlenmiştir. Borik aside en duyarlı hücre hattı DU-145 olarak belirlenmiş ve propidiyum iyodid DNA boyaması ile hücre döngüsü analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda hücre döngüsünde belirgin bir sapma bulunamamıştır. Bora maruz bırakılan hücrelerde western blot analizi sonucunda kaspaz-3 olmadığı gösterilmiştir. 8 günlük borik aside maruz kalma konsantrasyonlarına göre DU-145 hücrelerinden izole edilen genomik DNA'da doza bağlı bir fragmentasyon saptanamamıştır. Propidiyum iyodür kullanan DU-145 hücrelerinin hücre döngüsü analizi, borik asidin indüklediği proliferatif inhibisyonun, belirgin bir hücre siklusunda evre değişimine neden olmadığını göstermiştir. Apoptoz sırasında sıklıkla hücre döngüsünde bir sapmaya rastlandığından, bu hücre proliferasyonunun inhibisyonu apoptoz yokluğunda meydana geldiğini ortaya koymuştur. Bu olay Western blot tekniğinde kaspaz 3'ün tespit edilememesi ve DNA fragmentasyon analizinde herhangi bir bulguya rastlanılmaması ile desteklenmektedir. Bu sonuçlar, borik asidin apoptozu uyarması yerine proliferatif inhibisyonla büyümeyi azalttığı yorumunu desteklemektedir [93]. Proliferasyon deneyi için CCL-233 hücre hatlarının moleküler özellikleri literatür bulguları ışığında değerlendirildiğinde; bu hücrelerin doz aralıkları: 10, 25, 50, 75, 100 mM olarak belirlendi. Çeşitli kanser hücre hatlarında aynı ajan için etki eden dozların farklı olmasının nedeni, her kanser hücresi hattının moleküler biyolojisinin arasındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır. 24, 48 ve 72. saatlerde CCL-233 kolon kanseri hücre hattında hücre proliferasyonunda doğrudan orantılı bir düşüş gözlenmiştir. Bununla birlikte, 72. saat verilerde çok yüksek bir ölüm gösterdiği için, 48 saatlik bir inkübasyon dönemi boyunca diğer çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Proliferasyon sonuçları değerlendirildiğinde, letal doz 50 (LC50) dozu 50 mM idi ve bu doz deneylerde kullanıldı. Değerlendirmeler sonucunda, borik asit uygulanan hücrelerin proliferasyonunda önemli bir azalma olduğu gösterilmiştir. Bulgularımız daha önce yapılmış (birçok) çalışmanın bulgularıyla tutarlıdır.

Ceyhan ve ark. DU-145 insan prostat kanseri hücre hattında borik asidin yüksek konsantrasyonlarının oksidatif strese etkisini incelemiştir. Oksidan ve antioksidan durumu ölçmek için TAS-TOS parametreleri kullanılmıştır ve bu parametreler en sık kullanılan

önemli parametreler olarak kabul edilir. Kontrolle karşılaştırıldığında artan borik asit konsantrasyonlarına maruz kalan DU-145 hücrelerinde TOS seviyelerinde önemli bir artışa neden olurken, konsantrasyona bağlı borik asit TAS seviyelerinde önemli bir azalmaya yol açmıştır. Sonuç olarak, bu çalışmada borik asit proliferasyonu inhibe ettiğini bulmuşlar. Borik asit tedavisinin, DU-145 prostat kanseri hücre hattında TAS'ı azaltarak ve TOS seviyelerini artırarak oksidatif stresi tetiklediği sonucuna varmışlardır [168].

Buna karşılık CCL-233 kolon kanseri hücre hattında yaptığımız çalışmada TAS-TOS değerlerine de bakılmıştır. Fakat aralarında anlamlı bir ilişkinin olmadığı tespit edilmiştir.

Scorei R. ve ark. borik asitin ve kalsiyum fruktoboratin MDA-MB-231 meme kanser hücre hatına olan etkilerini incelemişlerdir. Farklı dozlardaki borik asit ve fruktoboratin (0,45-22,5 mM) hücre canlılığı üzerine olan etkileri 3- (4,5-dimetiltiazol il-2) -2,5-difeniltetrazolyum bromür (MMT) yöntemi ile incelenmiştir. Çalışma CF ve BA'nın, MDA-MB-231 hücrelerinde konsantrasyona bağlı bir sitotoksisiteyi indüklediğini gösterdi. Bazı sitotoksik ilaçların kullanıldığı kanser tedavisinde, apoptosis programının temel unsurlarını ve hücrel stres yanıtını aktive ederek hücre ölümüne aracılık ettiği düşünülmektedir. Bundan hareketle borik asit ve kalsiyum fruktoboratin apoptotik etkilerini TUNEL yöntemini kullanarak araştırmışlardır; BA apoptoz üzerinde daha az olmasıyla birlikte kullanılan iki molekülünde apoptoz üzerine etkisi olduğunu göstermişlerdir. Apoptoz yolağında en önemli kontrol noktası apoptozu indükleyen ve inhibe eden BCL-2 ailesi üyeleri arasındaki orandır. BCL-2 proteinleri düzeyinde, Western blot analizi yöntemi kullanılarak 2.25 mM'den daha yüksek konsantrasyonlarda CF, MDA-MB 231 hücrelerinde Bcl-2 protein ekspresyonunu aşağıya çekerken, BA'in bcl-2 düzeyine herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir [163]. Yapılan başka bir çalışmada ise CCL-228-SW-480 kolon kanseri hücreleri ile yapılan bir çalışmada ise borik asitin kanser hücreleri üzerine olan etkileri incelenmiştir. Değişen dozlarda uygulanan borik asidin (10-100 mM) 24, 48 ve 72 saat sonunda hücrelerin canlılığı üzerine olan etkileri Bromodeoksiüridin (BrdU) yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Yapılan değerlendirme sonrasında tüm saatlerde kontrol grubuna kıyasla BA verilen hücrelerin sayısında belirgin bir azalma olduğu görülmüştür. Çalışmanın devamında borik asidin apoptotik etkisini belirlemek için ise kaspaz 3, Apoptoz İndükleyici Faktör (AIF) ve TUNEL metodu kullanılmıştır. 75 mM borik asit içeren hücreler hariç diğer dozları içeren kanserli hücreler

tüm saatlerde kontrol grubuna göre bütün yöntemlerde (kaspaz-3, AIF, TUNEL) az sayıda hücrenin apoptoza gittiğini göstermiştir. Fakat 75 mM BA uygulanan CCL-228-SW-480 kolon kanseri hücrelerinin ise; tüm saatlerde kontrol grubuna kıyasla çok sayıda hücrenin apoptoza gittiği tespit edilmiştir. Bu durum 75 mM borik asidin CCL-228-SW-480 hücrelerinde apoptotik DNA fragmentasyonuna dolayısıyla apoptoza neden olduğunu göstermiştir [169].

Analizlerimizin bir sonucu olarak PARP, DNA kopması ile aktive edilen bir enzimdir, PARP seviyeleri cisplatin grubu uygulanan hücrelerde kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti ( $p < 0.05$ ). Cisplatin grubu PARP aktivitesinde aşırı artışa neden oldu. PARP aktivasyonu, önemli enflamatuar yolları modüle eder. PARP aşırı aktivasyonu substratı, NAD'ı tüketir, glikoliz, elektron taşınması ve ATP oluşumu hızını yavaşlatır ve sonuçta hücre ölümüne yol açar. Bu bilgilerin bir sonucu olarak PARP, cisplatin grubu içinde PARP'nin aşırı aktivasyonu nedeniyle NAD ve ATP tüketimini artırarak nekroza yol açar. Çalışmamızda cisplatin gruplarında parp düzeylerindeki aşırı artışın hücre nekrozuna yol açtığı sonucuna varıldı. Sonuç olarak, bu çalışmanın sonuçları cisplatin grubu içinde PARP'nin aşırı aktivasyonunun cisplatin nefrotoksisitesine yol açtığını düşündürmektedir. Buna karşılık, PARP seviyeleri iki bor seviyesinde (50-100 mM) düşüktü. Bordaki düşük PARP seviyeleri, PARP enziminin borik asit uygulanan hücrelerde bloke edildiğini düşünmemize neden olur. Sonuç olarak, deneyimlerimiz borun PARP enziminin yapısını bozduğunu veya bir PARP inhibitörü olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir.

Kanser hücreleri belirli bir zamandan sonra kontrolsüz olarak büyüyüp çoğalmaya başlarlar. Bu hücreler daha fazla büyüyebilmeleri için yeni damar oluşumuna ihtiyaç duyarlar. Kanser hücreleri çok sayıda anjiogenik faktör (VEGF, epidermal büyüme faktörü (EGF), interlökin-18 gibi) salgırlar. Bu faktörlerin çoğu farklı küçük damarlara etki ederek endotel hücredeki reseptörlere bağlanırlar ve sonuçta yeni damarlar oluşur [165, 166]. Bu bilgidan yola çıkarak VEGF değerleri kanserli hücrelerde artar sitotoksik ilaçlarda ise azalır. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda ise bor ve VEGF ilişkisi üzerine herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır.

Analizlerimiz sonucunda başka çalışmalarda yapılmayan bir yöntem uygulanmış ve konsantrasyonlarına göre ayrılmış borik asit uygulanan kolon kanseri hücre hattında VEGF

seviyeleri ölçülmüştür. Farklı konsantrasyonlara göre üç konsantrasyon borik asit ve cisplatin kullanıldı. Bu borik asit seviyeleri ve cisplatin kontrol grubu ile birlikte değerlendirildi. İstatistiksel analizler sonucunda, borik asit ve cisplatin grupları düzeyleri arasında anlamlı bir fark olduğu, ancak kontrol gruplarında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Çalışmamızda cisplatin grubundaki VEGF ekspresyonunda bir azalmaya neden olmuştur. Borik asidin VEGF ekspresyon seviyesinde kontrol grubuna göre herhangi bir değişikliğe neden olmadığını göstermiştir. Bu çalışmanın başka bir sonucu, borik asidin VEGF ekspresyon seviyesini etkilemediğini göstermiştir.

Sonuç olarak, çeşitli BA konsantrasyonlarının CCL-233 kolon kanseri hücre dizisi üzerinde çoğalmaya karşı etkili olduğu tespit edildi. Çalışma sonuçları, cisplatin grubu içindeki artmış PARP düzeylerinin hücre nekrotik ölümüne yol açtığını ve Borik Asit'in PARP enziminin yapısını bozduğunu veya bir PARP inhibitörü gibi olabileceğini ve cisplatin grubunda VEGF değerlerinin azalıp borik asit verilen hücrelerde VEGF ekspresyon seviyesinin etkilemediğini göstermiştir. Buna karşılık kolon kanserinin oluşum mekanizmasıyla ilgili pek çok bilinmeyenler vardır. Daha sonraki yapılması düşünülen araştırmalarda kolon kanseri erken tanı ve tedavisi için, bu kanser çeşidinin ilerlemesine neden olan moleküler mekanizmalar ile birlikte borik asidin kolon kanseri üzerine etkisinin daha ayrıntılı yollarla açıklığa kavuşturulması gerektiği düşünülmektedir.



## KAYNAKÇA

- [1] Gearhart, S., Ahuja, N., “Early diagnosis and treatment of cancer series: Colorectal cancer 1st ed.”, 2010, *Elsevier Inc*, Stephen Yang, Philadelphia.
- [2] Parkin, D.M., Bray, F., Ferlay, J., And Pisani, P., 2005, “Global cancer statistics”, *CA Cancer J. Clin.*, 55: 74-108.
- [3] Lai, S.M., Zhang, K.B., Uhler, R.J., Harrison, J.N., Clutter, G.G., Williams, M.A., 2006, “Geographic variation in the incidence of colorectal cancer in the United States, 1998-2001”, *Cancer*, 107(5): 1172-1180.
- [4] Hagggar, F.A., And Boushey, R.P., 2009, “Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors”, *Clinics in colon and rectal surgery*, 22(4): 191.
- [5] Thompson, M., Perera, R., Senapati, A. And Dodds, S., 2007, “Predictive value of common symptom combinations in diagnosing colorectal cancer”, *British journal of surgery*, 94 (10): 1260-1265.
- [6] Lau, P.C., Sung, J.J., 2010, “Flat adenoma in colon: two decades of debate”, *Journal of digestive diseases*, 11(4): 201-207.
- [7] Schwartzmann, G., Winograd, B., Pinedo, H.M., 1988, “The main steps in the development of anticancer agents”, *Radiother Oncol*, 12: 301–313.
- [8] Devirian, T.A., Volpe, S.L., 2003, “The physiological effects of dietary boron”, *Crit Rev. Food Sci.*, 43(2):219–231.
- [9] İnternet: Wikipedia, 2004, “Boron” <https://en.wikipedia.org/wiki/Boron>.
- [10] Farfán-García, E., Castillo-Mendieta, N., Ciprés-Flores, F., Padilla-Martínez, I., Trujillo-Ferrara, J., Soriano-Ursúa, M., 2016, “Current data regarding the structure-toxicity relationship of boron-containing compounds”, *Toxicology Letters*, 258:115-25.
- [11] Brown, P.H. And Shelp, B.J., 1997, “Boron mobility in plants”, *Plant Soil*, 193: 85–101.
- [12] Nielsen, F.H., 2008, “Is boron nutritionally relevant?”, *Nutrition Reviews*, 66: 183-191
- [13] Tariq, M. And Mott, C.J.B., 2007, “The significance of boron in plant nutrition and environment. A review”, *Agronomy Journal*, 6: 1-10.
- [14] Ayodele, O.T., 2016, “Boron Complexes as Anticancer Agents and Recent Advances”, *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*, 2(2):3.

- [15] Hanahan, D., Weinberg, R., 2011, “Hallmarks of cancer: the next generation”, *Cell*, 144:646-674.
- [16] Jaramillo, M., Tibiche, C., 2010, “Cancer Genomics to Cancer Biology”, In *Cancer Systems Biology*, Wang E (ed), 12, *CRC Press*, London, 215-232.
- [17] Hillen, H., Enderling, H., Hahnfeldt, P., 2013, “The tumor growth paradox and immune system-mediated selection for cancer stem cells”, *Bulletin of Mathematical Biology*, 75:161-184.
- [18] Bartkova, J., Rezaei, N., Liontos, M., 2006, “Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints”, *Nature*, 444:633–637.
- [19] Galano, R., Rodríguez, Z., Casás, A., 1997, “Cancer de colon: Seguimiento postoperatorio”, *Revista Cubana de Cirugía*, 36(1):59-63.
- [20] Calva, A.M., Acevedo, T.M.T., 2009, “Revisión y actualización general en cancer colorrectal”, *Revista de Radiología México*, 1:99-115.
- [21] Internet: International Agency for Research on Cancer, 1977, “Statistical Information System”, <https://www.iarc.fr>.
- [22] Serafini, A.N., Klein, J.L., Wolff, B.G., 1998, “Radioimmunosintigraphy of recurrent, metastatic, or occult colorectal cancer with technetium 99m-labeled totally human monoclonal antibody 88BV59: results of pivotal, phase III multicenter studies”, *J. Clin. Oncol.*, 16(5): 1777-87.
- [23] Papamichael, D., 2014, “Treatment of colorectal cancer in older patients: International Society of Geriatric Oncology (SIOG) consensus recommendations 2013”, *Ann. Oncol.*, 26: 463–476.
- [24] Hurwitz, H., 2004, “Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer”, *N. Engl. J. Med.*, 350: 2335–2342.
- [25] Heemskerk-Gerritsen, B.A., 2015, “Improved overall survival after contralateral risk-reducing mastectomy in BRCA1/2 mutation carriers with a history of unilateral breast cancer: a prospective analysis”, *Int. J. Cancer*, 136: 668–677.
- [26] Boyle, P., Langman, J.S., 2000, “ABC of colorectal cancer: Epidemiology”, *BMJ*, 321(7264): 805–808.
- [27] Janout, V., Kolla'rova, H., 2001, “Epidemiology of colorectal cancer”, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacku Olomouc Czech Repub*, 145:5–10.

- [28] Forman, D., Bray, F., Brewster, D.H., Gombe Mbalawa, C., Kohler, B., Piñeros, M., Steliarova-Foucher, E., Swaminathan, R “World Health Organization. Cancer Incidence in Five Continents”, 2002, *The World Health Organization and The International Agency for Research on Cancer*, Lyon.
- [29] Wilmink, ABM., 1997, “Overview of the epidemiology of colorectal cancer”, *Dis Colon Rectum*, 40(4):483–493.
- [30] Internet: American Institute for Cancer Research, 2007, “World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective”, [www.aicr.org/assets/docs/pdf/reports/Second\\_Expert\\_Report.pdf](http://www.aicr.org/assets/docs/pdf/reports/Second_Expert_Report.pdf) .
- [31] Gala, M., Chung, D.C., 2011, “Hereditary colon cancer syndromes”, *Seminars in Oncology*, 38:490-9.
- [32] Internet: U.S. Department of Health and Human Services & National Institutes of Health, 2006, “National Institutes of Health. What You Need To Know About Cancer of the Colon and Rectum”, [https://m.mycareplusonline.com/sites/default/files/cmfiles/WYNTK\\_Colon\\_Cancer.pdf](https://m.mycareplusonline.com/sites/default/files/cmfiles/WYNTK_Colon_Cancer.pdf) .
- [33] Internet: American Cancer Society American Cancer Society, 2005, “Colorectal Cancer Facts & Figures Special Edition 2005”, [http://www.cancer.org/docroot/STT/stt\\_0.asp](http://www.cancer.org/docroot/STT/stt_0.asp) .
- [34] O’Connell, J.B., Maggard, M.A., Liu, J.H., 2003, “Rates of colon and rectal cancers are increasing in young adults”, *Am. Surg.*, 69 (10):866–872.
- [35] O’Connell, J.B., Maggard, M.A., Livingston, E.H., Yo, C.K., 2004, “Colorectal cancer in the young”, *Am. J. Surg.*, 187(3): 343–348.
- [36] Fairley, T.L., Cardinez, C.J., Martin, J., 2006, “Colorectal cancer in U.S. adults younger than 50 years of age, 1998-2001”, *Cancer*, 107(5): 1153–1161.
- [37] Labianca, R., Beretta, G.D., Mosconi, S., Milesi, L., Pessi, M.A., 2005, “Colorectal cancer: screening”, *Ann. Oncol.*, 16(2): ii127–ii132.
- [38] de Jong, A.E., Morreau, H., Nagengast, F.M., 2005, “Prevalence of adenomas among young individuals at average risk for colorectal cancer”, *Am. J. Gastroenterol*, 100(1): 139–143.

- [39] Davies, R.J., Miller, R., Coleman, N., 2005, “Colorectal cancer screening: prospects for molecular stool analysis”, *Nat Rev Cancer*, 5:199–209.
- [40] Grande, M., Milito, G., Attina, G.M., 2008, “Evaluation of clinical, laboratory and morphologic prognostic factors in colon cancer”, *World J. Surg. Oncol.*, 6:98
- [41] Skibber, J., Minsky, B., Hoff, P., 2001, “Cancer of the colon and rectum”, *Cancer: principles & practice of oncology*, 6th ed., DeVita VT Jr, Hellmann S, Rosenberg SA, eds., Williams & Wilkins, Philadelphia, 1216–1271.
- [42] Jackson-Thompson, J., Ahmed, F., German, R.R., Lai, S.M., Friedman, C., 2006, “Descriptive epidemiology of colorectal cancer in the United States, 1998-2001”, *Cancer*, 107(5):1103–1111.
- [43] Papadopoulos, N., Nicolaides, N.C., Wei, Y.F., 1994, “Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer”, *Science*, 263(5153):1625–1629.
- [44] Jeter, J.M., Kohlmann, W., Gruber, S.B., 2006, “Genetics of colorectal cancer”, *Oncology*, 20(3):269–276.
- [45] Al-Sukhni, W., Aronson, M., Gallinger, S., 2008, “Hereditary colorectal cancer syndromes: familial adenomatous polyposis and lynch syndrome”, *Surg. Clin. North Am.*, 88(4):819–844.
- [46] Lynch, H.T., Lynch, J.F., Lynch, P.M., Attard, T., 2008, “Hereditary colorectal cancer syndromes: molecular genetics, genetic counseling, diagnosis and management”, *Fam. Cancer*, 7(1):27–39.
- [47] Johnson, I.T., Lund, E.K., 2007, “Review article: nutrition, obesity and colorectal cancer”, *Aliment Pharmacol Ther.*, 26(2):161–181.
- [48] Willett, W.C., 2005, “Diet and cancer: an evolving Picture”, *JAMA*, 293(2):233–234.
- [49] Larsson, S.C., Wolk, A., 2006, “Meat consumption and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of prospective studies”, *Int. J. Cancer*, 119(11):2657–2664.
- [50] Santarelli, R.L., Pierre, F., Corpet, D.E., 2008, “Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence”, *Nutr Cancer*, 60(2):131–144.
- [51] Kabat, G.C., Miller, A.B., Jain, M., Rohan, T.E., 2007, “A cohort study of dietary iron and heme iron intake and risk of colorectal cancer in women”, *Br. J. Cancer*, 97(1):118–122.
- [52] Sinha, R., 2002, “An epidemiologic approach to studying heterocyclic amines”, *Mutat Res.*, 506–507:197–204.

- [53] Lee, K.J., Inoue, M., Otani, T., Iwasaki, M., Sasazuki, S., Tsugane, S., 2007, “JPHC Study Group. Physical activity and risk of colorectal cancer in Japanese men and women: the Japan Public Health Center-based prospective study”, *Cancer Causes Control*, 18(2):199–209.
- [54] Bazensky, I., Shoobridge-Moran, C., Yoder, L.H., 2007, “Colorectal cancer: an overview of the epidemiology, risk factors, symptoms, and screening guidelines”, *Medsurg Nurs.*, 16(1):46–51.
- [55] Campbell, P.T., Cotterchio, M., Dicks, E., Parfrey, P., Gallinger, S., McLaughlin, J.R., 2007, “Excess body weight and colorectal cancer risk in Canada: associations in subgroups of clinically defined familial risk of cancer”, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 16(9):1735–1744.
- [56] Zisman, A.L., Nickolov, A., Brand, R.E., Gorchow, A., Roy, H.K., 2006, “Associations between the age at diagnosis and location of colorectal cancer and the use of alcohol and tobacco: implications for screening”, *Arch. Intern. Med.*, 166(6):629–634.
- [57] Botteri, E., Iodice, S., Raimondi, S., Maisonneuve, P., Lowenfels, A.B., 2008, “Cigarette smoking and adenomatous polyps: a meta-analysis”, *Gastroenterology*, 134(2):388–395.
- [58] Tsong, W.H., Koh, W.P., Yuan, J.M., Wang, R., Sun, C.L., Yu, M.C., 2007, “Cigarettes and alcohol in relation to colorectal cancer: the Singapore Chinese Health Study”, *Br. J. Cancer*, 96(5): 821–827.
- [59] Po’schl, G., Seitz, H.K., 2004, “Alcohol and cancer”, *Alcohol Alcohol*, 39(3), Ronald R. Watson, *CRC Press*, 155–165.
- [60] Woods, W.G., 1994, “An introduction to boron: history, sources, uses, and chemistry”, *Env. Health Perspect*, 102(7): 5–11.
- [61] İnternet: Enerji Portalı, 2019, “Bor Nedir Nerelerde Kullanilir”, <https://www.enerjiportali.com/bor-nedir-nerelerde-kullanilir/9.1.19> .
- [62] Smith, R.A., McBroom, R.B., 2001, “Boron Oxides, Boric Acid, and Borates”, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 5th ed., *Wiley-Interscience*, New Jersey, 241-250
- [63] Panza, L., Prospero, D., 2012, “Boron Chemistry”, In: Neutron Capture Therapy, *Springer Berlin Heidelberg*, 77–98

- [64] Muetterties, E.L., 1967, "The chemistry of boron and its compounds", *J. Chem. Educ.*, 329:1-2.
- [65] Windholz, M., Budavari, S., Blemetti, R.F., Otterbein, E.S., 1983, "The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, 10th ed.", Rahway, *Merck and Co. Inc.*, New Jersey, 185-187.
- [66] Dembitsky, V.M., Smoum, R., Al-Quntar, A.A., Ali, H.A., Pergament, I., Srebnik, M., 2002, "Natural occurrence of boron-containing compounds in plants, algae and microorganisms", *Plant Sci.*, 163(5): 931–942.
- [67] Kabu, M., Akosman, M.S., 2013, "Biological effects of boron", *Rev Environ Contam Toxicol, de Voogt*, 57–75.
- [68] Edwards, M., 2005, "Boron in the environment", *Crit. Rev. Environ Sci. Technol.*, 35(2):81–114.
- [69] Murray, F.J., 1998, "A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans", *Biol. Trace. Elem. Res.*, 66(1): 331–341.
- [70] ECOTEC, 1995, "Reproductive and General Toxicology of Some Inorganic Borates and Risk Assesmetnt for Human Beings".
- [71] HERA, 2005. "Human and Environmental Risk Assesment on Ingredients of Household Cleaning Products".
- [72] Helvacı, C., 2005, "Batı Anadolu'da arserik ve bor mineralleri ilişkisi ve sağlığa etkileri", *I. Tıbbi Jeoloji Sempozyumu Kitabı*, Ankara, 74-92.
- [73] Zofkova, I., Nemcikova, P., Matucha, P., 2013, "Trace elements and bone health", *Clin. Chem. Lab. Med.*, 51(8): 1555-1561.
- [74] WHO 1996. "Boron. Trace Elements in Human Nutrition and Health", *WHO, Geneva, Switzerland*, 175-179.
- [75] Meacham, S.L., Taper, L.J., Volpe, S.L., 1994, "Effects of boron supplementation on bone mineral density and dietary, blood, and urinary calcium, phosphorus, magnesium, and boron in female athletes", *Environ. Health Perspect*, 102: 79–82.
- [76] Hunt, C.D., 1996, "Biochemical effects of physiological amounts of dietary boron", *J. Trace Elem. Exp. Med.*, 9: 185–213.
- [77] Armstrong, T.A., Spears, J.W., Lloyd, K.E., 2001, "Inflammatory response, growth, and thyroid hormone concentrations are affected by long-term boron supplementation in gilts", *J. Ani. Sci.*, 79(6): 1549–1556.

- [78] Turkez, H., Geyikoglu, F., Tatar, A., Keles, S., Ozkanc, A., 2007, "Effects of some boron compounds on peripheral human blood", *Z. Naturforsch*, 62: 889–896.
- [79] Ince, S., Kucukkurt, I., Cigerci, I.H., Fatih, F.A., Eryavuz, A., 2010, "The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats", *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 24(3):161–164.
- [80] Nielsen, F.H., 1991, "Nutritional requirements for boron, silicon, vanadium, nickel and arsenic: current knowledge and speculation", *Faseb J.*, 5: 2661–7.
- [81] Hunt, C.D., 1994, "The biochemical effects of physiologic amount of dietary boron in animal nutrition models", *Environ Health Perspect*, 102: 35–43.
- [82] Bhasker, T.V., Gowda, N.K.S., Pal, D.T., Bhat, S.K., Pattanaik, A.K., 2015, "Boron profile in common feedstuffs used in tropical livestock systems", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 209:280–285.
- [83] Hunt, C.D., Shuler, T.R., Mullen, L.M., 1991, "Concentration of boron and other elements in human foods and personal-care products", *J. Am. Diet Assoc.*, 91(5):558–568.
- [84] Vanderpool, R.A., Johnson, P.E., 1992, "Boron isotope ratios in commercial produce and boron-10 foliar and hydroponic enriched plants", *J. Agricult Food Chem.*, 40(3):462–466.
- [85] Nielsen, F.H., 1988, "Boron-an overlooked element of potential nutritional importance", *Nutr Today*, 23(1):4–7.
- [86] Anderson, D.L., Kitto, M.E., McCarthy, L., Zoller, W.H., 1994, "Sources and atmospheric distribution of particulate and gas-phase boron", *Atmos Environ*, 28(8):1401–1410.
- [87] Travis, N.J., Cocks, E.J., 1984, "The Tincal Trail", A history of borax, 1. Ed., *Harrap*, London 115–124.
- [88] Sprague, R.W., 1992, "Boron", *Metals and Minerals Annual Review Metals Minerals* 2<sup>nd</sup> ed., 106.
- [89] Kistler, R.B., Helvacı, C., 1994, "Boron and borates", *Industrial minerals and rocks*, 6th ed., *Elsevier*, 171–186.
- [90] Ball, R.W., Harrass MC, Culver BD (2012) "Boron", *Patty's Toxicology*, 45 ed., eula bingham, barbara cohrrsen, 885-934.

- [91] Sirin, Yi, 2003, "Mining, Metallurgy, and Chemistry, Eti Mine Works General Management", *Annual Report*, Ankara-Turkey.
- [92] Goldbach, H.E., Yu, Q., Wingender, R., Schulz, M., Wimmer, M., Findekle, P., Baluska, F., 2001, "Rapid response reactions of roots to boron deprivation", *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 164(2):173–181.
- [93] Barranco, W.T., Eckhert, C.D., 2004, "Boric acid inhibits human prostate cancer cell proliferation", *Cancer Lett*, 216(1):21–29.
- [94] Moustafa, S.R., 2015, "Clinical association between alterations of boron, cesium, rhenium and rubidium with the pathogenesis of atherosclerosis", *Am. J. Clin. Exp. Med.*, 3(5):247–254.
- [95] Sogut, I., Paltun, S.O., Tuncdemir, M., Ersoz, M., Hurdag, C., 2018, "The antioxidant and anti-apoptotic effect of boric acid on hepatotoxicity in chronic alcohol-fed rats", *Can J. Physiol Pharmacol.*, 96(4):404-411.
- [96] Coates, P.M., Blackman, M., Betz, J.M., Cragg, G.M., Levine, M.A., Moss, J., White, J.D., 2010, "Boron", In *Encyclopedia of Dietary Supplements*, 2nd ed., *Informa Healthcare*, 82-87.
- [97] Henderson, K., Stella, S.L., Kobylewski, S., Eckhert, C.D., 2009, "Receptor activated Ca(2+) release is inhibited by boric acid in prostate cancer cells", *PLoS One*, 4(6):e6009.
- [98] Sogut, I., Oglakci, A., Kartkaya, K., Ol, K.K., Sogut, M.S., Kanbak, G., Inal, M.E., 2015, "Effect of boric acid on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome", *Exp. Ther. Med.*, 9(3):1023–1027.
- [99] Ustundag, A., Behm, C., Follmann, W., Duydu, Y., Degen, G.H., 2014, "Protective effect of boric acid on lead and cadmium-induced genotoxicity in V79 cells", *Arch. Toxicol*, 88(6):1281–1289.
- [100] Coban, F.K., Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H.H., Hazman, O., 2015, "Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats", *Drug. Chem. Toxicol.*, 38(4):391–399.
- [101] Ince, S., Keles, H., Erdogan, M., Hazman, O., Kucukkurt, I., 2012, "Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice", *Drug. Chem. Toxicol.*, 35(3):285–292.



- [102] Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H.H., Acaroz, D.A., Akbel, E., Cigerci, I.H., 2014, "Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats", *Chemosphere*, 108:197–204.
- [103] Gorustovich, A.A., Steimetz, T., Nielsen, F.H., Guglielmotti, M.B., 2008, "A histomorphometric study of alveolar bone modelling and remodeling in mice fed a boron-deficient diet", *Arch. Oral Biol.*, 53(7):677–682.
- [104] Nielsen, F.H., 1994, "Biochemical and physiological consequences of boron deprivation in humans", *Env. Health Perspect.*, 102(7):59–63.
- [105] Hunt, C.D., 1989, "Dietary boron modified the effects of magnesium and molybdenum on mineral metabolism in the cholecalciferol deficient chick", *Biol. Trace. Elem. Res.*, 22(2):201–220.
- [106] Dupre, J.N., Keenan, M.J., Hegsted, M., Brudevold, A.M., 1994, "Effects of dietary boron in rats fed a vitamin D deficient diet", *Env. Health Perspect.*, 102(7):55–58.
- [107] Fort, D.J., Propst, T.L., Stover, E.L., Strong, P.L., Murray, F.J., 1998, "Adverse reproductive and developmental effects in *Xenopus* from insufficient boron", *Biol. Trace. Elem. Res.*, 66(1):237–259.
- [108] Hegsted, M., Keenan, M.J., Siver, F., Wozniak, P., 1991, "Effect of boron on vitamin D deficient rats", *Biol. Trace. Elem. Res.*, 28(3): 243–255.
- [109] Nielsen, F.H., Hunt, C.D., Mullen, L.M., Hunt, J.R., 1987, "Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women", *FASEB J.*, 1(5):394–397.
- [110] Naghii, M.R., Samman, S., 1997, "The effect of boron on plasma testosterone and plasma lipids in rats", *Nutr. Research*, 17(3):523–531.
- [111] Green, N.R., Ferrando, A.A., 1994, "Plasma boron and the effects of boron supplementation in males", *Env. Health Perspect.*, 102(7):73–77.
- [112] Sheng, M.H., Taper, L.J., Veit, H., Thomas, E.A., Ritchey, S.J., Lau, K.W., 2001, "Dietary boron supplementation enhances the effects of estrogen on bone mineral balance in ovariectomized rats", *Biol. Trace. Elem. Res.*, 81(1):29–45.
- [113] Samman, S., Naghii, M.R., Wall, P.L., Verus. A.P., 1998, "The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals", *Biol. Trace. Elem. Res.*, 66(1-3):227–235.

- [114] Nielsen, F.H., 2014, "Update on human health effects of boron", *J. Trace. Elem. Med. Biol.*, 28(4):383–387.
- [115] Miljkovic, D., Miljkovic, N., McCarty, M.F., 2004, "Up-regulatory impact of boron on vitamin D function–Does it reflect inhibition of 24-hydroxylase?", *Med. Hypotheses*, 63(6):1054–1056.
- [116] Sheng, M.H.C., Taper, L.J., Veit, H., Thomas, E.A., Ritchey, S.J., Lau, K.H.W., 2001, "Dietary boron supplementation enhanced the action of estrogen, but not that of parathyroidhormone, to improve trabecular bone quality in ovariectomized rats", *Biol. Trace. Elem. Res.*, 82:109–123.
- [117] Bakken, N.A., Hunt, C.D., 2003, "Dietary boron decreases peak pancreatic in situ insulin release in chicks and plasma insulin concentrations in rats regardless of vitamin D or magnesium status", *J. Nutr.*, 133(11):3577–3583.
- [118] El-Demerdash, F.M., 2011, "Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides", *Food Chem. Toxicol.*, 49(6):1346–1352.
- [119] Balabanli, B., Balaban, T., 2015, "Investigation into the effects of boron on liver tissue protein carbonyl, MDA, and glutathione levels in endotoxemia", *Biol. Trace. Elem. Res.*, 167(2):259–263.
- [120] Hu, Q., Li, S., Qiao, E., Tang, Z., Jin, E., Jin, G., Gu, Y., 2014, "Effects of boron on structure and antioxidative activities of spleen in rats", *Biol. Trace. Elem. Res.*, 158(1):73–80.
- [121] Cao, J., Jiang, L., Zhang, X., Yao, X., Geng, C., Xue, X., Zhong, L., 2008, "Boric acid inhibits LPS induced TNF-alpha formation through a thiol-dependent mechanism in THP-1 cells", *J. Trace. Elem. Med. Biol.*, 22(3):189–195.
- [122] Yazici, S., Aksit, H., Korkut, O., Sunay, B., Celik, T., 2014, "Effects of boric acid and 2- aminoethoxydiphenyl borate on necrotizing enterocolitis", *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr.*, 58(1):61–67.
- [123] Zafar, H., Ali, S., 2013, "Boron inhibits the proliferating cell nuclear antigen index, molybdenum containing proteins and ameliorates oxidative stress in hepatocellular carcinoma", *Arch. Biochem. Biophys.*, 529(2):66–74.

- [124] Turkez, H., Geyikoglu, F., Tatar, A., Keles, M.S., Kaplan, I., 2012, “The effects of some boron compounds against heavy metal toxicity in human blood”, *Exp. Toxicol. Pathol.*, 64(1-2):93–101.
- [125] Kabu, M., Uyarlar, C., Żarczyńska, K., Milewska, W., Sobiech, P., 2015, “The role of boron in animal health”, *J. Elem.*, 20(2):535–541.
- [126] Kabu, M., Birdane, F.M., Civelek, T., Uyarlar, C., 2013, “Effects of boron administration on serum Ca,Mg and P for peripartum cows”, *Arch. Tierz.*, 56(73):733–741.
- [127] Eren, M., Uyanik, F., Küçükersan, S., 2004, “The influence of dietary boron supplementation on egg quality and serum calcium, inorganic phosphorus, magnesium levels and alkaline phosphatase activity in laying hens”, *Res. Vet. Sci.*, 76(3):203–210.
- [128] Hall, I.H., Spielvogel, B.F., Griffin, T.S., Docks, E.L., Brotherton, R.J., 1989, “The effects of boron hypolipidemic agents on LDL and HDL receptor binding and related enzyme activities of rat hepatocytes, aorta cells and human fibroblasts”, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 65(3):297–317.
- [129] Eren, M., Uyanik, F., Guclu, B.K., Atasever, A., 2012, “The influence of dietary boron supplementation on performance, some biochemical parameters and organs in broilers”, *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 7(11): 1079–1089.
- [130] Cakir, S., Eren, M., Senturk, M., Sarica, Z.S., 2017, “The effect of boron on some biochemical parameters in experimental diabetic rats”, *Biol. Trace. Elem. Res.*, 184(1):165-172.
- [131] Basoglu, A., Baspinar, N., Tenori, L., Vignoli, A., Gulersoy, E., 2017, “Effects of boron supplementation on peripartum dairy cows’ health”, *Biol. Trace. Elem. Res.*, 179(2):218–225.
- [132] Kabu, M., Uyarlar, C., 2015, “The effects of borax on milk yield and selected metabolic parameters in Austrian Simmental (Fleckvieh) cows”, *Vet. Med.*, 60(4):175–180.
- [133] Keklik, E., Keklik, M., Bakkaloğlu, U., Yürük, M., Çoksevrim, B., 2016, “The effect of borax on hematological parameters and immunoglobulin values in rats”, *West. Indian Med. J.*, 1:1–1.

- [134] Barranco, W.T., Kim, D.H., Stella, Jr. S.L., Eckhert, C.D., 2009, “Boric acid inhibits stored Ca<sup>2+</sup> release in DU-145 prostate cancer cells”, *Cell Biol. Toxicol.*, 25(4):309–320.
- [135] Barranco, W.T., Eckhert, C.D., 2006, “Cellular changes in boric acid-treated DU-145 prostate cancer cells”, *Br. J. Cancer*, 94(6):884–890.
- [136] Belenky, P., Bogan, K.L., Brenner, C., 2007, “NAD<sup>+</sup> metabolism in health and disease”, *Trends. Biochem. Sci.*, 32(1):12–19.
- [137] Pollak, N., Dölle, C., Ziegler, M., 2007, “The power to reduce: pyridine nucleotides–small molecules with a multitude of functions”, *Biochem. J.*, 402(2):205–218.
- [138] Henderson, K.A., Kobylewski, S.E., Yamada, K.E., Eckhert, C.D., 2015, “Boric acid induces cytoplasmic stress granule formation, eIF2 $\alpha$  phosphorylation, and ATF4 in prostate DU-145 cells”, *Biometals*, 28(1):133–141.
- [139] Barranco, W.T., Hudak, P.F., Eckhert, C.D., 2007, “Evaluation of ecological and in vitro effects of boron on prostate cancer risk (United States)”, *Cancer Causes Control*, 18(1):71–77.
- [140] Kobylewski, S.E., Henderson, K.A., Yamada, K.E., Eckhert, C.D., 2017, “Activation of the EIF2 $\alpha$ /ATF4 and ATF6 pathways in DU-145 cells by boric acid at the concentration reported in men at the US mean boron intake”, *Biol. Trace. Elem. Res.*, 176(2):278–293.
- [141] Gallardo-Williams, M.T., Chapin, R.E., King, P.E., Moser, G.J., Goldsworthy, T.L., Morrison, J.P., Maronpot, R.R., 2004, “Boron supplementation inhibits the growth and local expression of IGF-1 in human prostate adenocarcinoma (LNCaP) tumors in nude mice”, *Toxicol. Pathol.*, 32(1):73–78.
- [142] Saikali, Z., Setya, H., Singh, G., Persad, S., 2008, “Role of IGF-1/IGF-1R in regulation of invasion in DU145 prostate cancer cells”, *Cancer cell Int.*, 8(1):10.
- [143] Kawada, M., Inoue, H., Arakawa, M., Ikeda, D., 2008, “Transforming growth factor- $\beta$ 1 modulates tumor-stromal cell interactions of prostate cancer through insulin-like growth factor-I”, *Anticancer Res.*, 28(2A):721–730.
- [144] McAuley, E.M., Bradke, T.A., Plopper, G.E., 2011, “Phenylboronic acid is a more potent inhibitor than boric acid of key signaling networks involved in cancer cell migration”, *Cell Adhes. Migr.*, 5(5):382–386.

- [145] Mahabir, S., Spitz, M.R., Barrera, S.L., Dong, Y.Q., Eastham, C., Forman, M.R., 2008, “Dietary boron and hormone replacement therapy as risk factors for lung cancer in women”, *Am. J. Epidemiol.*, 167(9): 1070–1080.
- [146] Hosmane, N.S., Maguire, J.A., Zhu, Y., Takagaki, M., “Boron and gadolinium neutron capture therapy for cancer treatment”, 2012, *World Scientific Publishing Co. Ltd.*, Singapore, 55-82.
- [147] Luderer, M.J., de la Puente, P., Azab, A.K., 2015, “Advancements in tumor targeting strategies for boron neutron capture therapy”, *Pharma. Res.*, 32(9):2824–2836.
- [148] Wittig, A., Collette, L., Moss, R., Sauerwein, W.A., 2009, “Early clinical trial concept for boron neutron capture therapy: a critical assessment of the EORTC trial 11001”, *Appl. Radiation Isot.*, 67(7):59–62.
- [149] Barth, R.F., Vicente, M.H., Harling, O.K., Kiger, W.S., Riley, K.J., Binns, P.J., Wagner, F.M., Suzuki, M., Aihara, T., Kato, I., Kawabata, S., 2012, “Current status of boron neutron capture therapy of high grade gliomas and recurrent head and neck cancer”, *Radiat. Oncol.* 7(1): 146.
- [150] Amé, J.C., Spenlehauer, C., de Murcia, G., 2004, “The PARP super-family”, *Bio. Essays*, 26(8): 882–93.
- [151] D’Amours, D., Desnoyers, S., D’Silva, I., Poirier, G.G., 1999, “Poly(ADP-ribose)ylation reactions in the regulation of nuclear functions”, *Biochem. J.*, 342(2): 249–68.
- [152] Amé, J.C., Rolli, V., Schreiber, V., Niedergang, C., Apiou, F., Decker, P., Muller, S., Höger, T., Ménissier-de, M.J., de Murcia, G., 1999, “PARP-2, A Novel Mammalian DNA Damage-dependent Poly(ADP-ribose) Polymerase”, *J. Biol. Chem.*, 274(25): 17860–8.
- [153] Curtin, N.J., Szabo, C., 2013, “Therapeutic applications of PARP inhibitors: anticancer therapy and beyond”, *Mol. Aspects Med.*, 34(6): 1217-1256.
- [154] Obrosova, I.G., Julius, U.A., 2005 “Role for poly (ADP-ribose) polymerase activation in diabetic nephropathy, neuropathy and retinopathy”, *Curr. Vasc. Pharmacol.*, 3(3): 267-283.
- [155] Karpel-Massler, G., Pareja, F., Aime, P., Shu, C., Chau, L., Westhoff, M.A., Siegelin, M.D., 2014, “PARP inhibition restores extrinsic apoptotic sensitivity in glioblastoma”, *PLoS One*, 9(12): e114583.

- [156] Zheng, L., Szabo, C., Kern, T.S., 2004, "Poly(ADP-ribose) polymerase is involved in the development of diabetic retinopathy via regulation of nuclear factor-kappaB", *Diabetes*, 53(11): 2960-2967.
- [157] Vyas, S., Matic, I., Uchima, L., Rood, J., Zaja, R., Hay, R.T., Chang, P., 2014, "Family-wide analysis of poly (ADP-ribose) polymerase activity", *Nat. Commun.*, 5: 4426.
- [158] Seeram, N.P., Adams, L.S., Zhang, Y., Lee, R., Sand, D., Scheuller, H.S., 2006, "Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(25): 9329-39.
- [159] Agarwal, C., Singh, R.P., Dhanalakshmi, S., Tyagi, A.K., Tecklenburg, M., Sclafani, R.A., 2003, "Silibinin upregulates the expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and causes cell cycle arrest and apoptosis in human colon carcinoma HT-29 cells", *Oncogene*, 22(51): 8271-82.
- [160] Jenab, M., Thompson, L.U., 2000, "Phytic acid in wheat bran affects colon morphology, cell differentiation and apoptosis", *Carcinogenesis*, 21(8): 1547-52.
- [161] Sriram, N., Kalayarasan, S., Ashokkumar, P., Sureshkumar, A., Sudhandiran, G., 2008, "Diallyl sulfide induces apoptosis in Colo 320 DM human colon cancer cells: involvement of caspase-3, NF- $\kappa$ B, and ERK-2", *Molecular and cellular biochemistry*, 311(1-2): 157-65.
- [162] Druesne, N., Pagniez, A., Mayeur, C., Thomas, M., Cherbuy, C., Duée, P.H., 2004, "Diallyl disulfide (DADS) increases histone acetylation and p21 waf1/cip1 expression in human colon tumor cell lines", *Carcinogenesis*, 25(7): 1227-36.
- [163] Scorei, R., Ciubar, R., Ciofrangeanu, C.M., Mitran, V., Cimpean, A., Iordachescu, D., 2008, "Comparative effects of boric acid and calcium fructoborate on breast cancer cells", *Biological trace element research*, 122(3): 197-205.
- [164] Acerbo, A.S., Miller, L.M., 2009, "Assessment of the chemical changes induced in human melanoma cells by boric acid treatment using infrared imaging", *Analyst*, 134(8): 1669-74.
- [165] Folkman, J., 2006, "Angiogenesis", *Annu. Rev. Med.*, 57: 1-18.
- [166] Liu, Y., Deisseroth, A., 2006, "Tumor vascular targeting therapy with viral vectors", *Blood*, 107(8): 3027-33.

- [167] Pizzorno, L., 2015, "Nothing boring about boron", *Integr. Med.*, 14: 35–48.
- [168] Hacıoğlu, C., Kar, F., Kacar, S., Sahintürk, V., Kanbak, G., 2019, "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*, 1-10.
- [169] Sevimli, M., 2018, "Borik Asitin in vitro ortamda kolon kanser hücre hatları üzerine etkilerinin incelenmesi", Doktora Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, 88-110.
- [170] Senger, D.R., Galli, S.J., Dvorak, A.M., Perruzzi, C.A., Harvey, V.S., Dvorak, H.F., 1983, "Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid", *Science*, 219(4587): 983–5.
- [171] Palmer, B.F., Clegg, D.J., 2014, "Oxygen sensing and metabolic homeostasis", *Molecular and Cellular Endocrinology*, 397 (1–2): 51–57.
- [172] Cooper, M., Dimitria, V., Sherif, Y., Steven, A.S., Alison, J.C., Bishoy, R., David, J.C., Leon, A.B., Darren, J.K., Richard, E.G., 1999, "Increased Renal Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor VEGFR-2 in Experimental Diabetes", *Diabetes*, 48(11): 2229–2239.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖZYARIM, Şahabettin Can

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 26.12.1995 İzmir

Medeni hali : Bekar

Telefon : 0535 437 71 24

e-mail : [sahabettincan1995@gmail.com](mailto:sahabettincan1995@gmail.com)

### Eğitim

<u>Derece</u>	<u>Eğitim Birimi</u>	<u>Mezuniyet tarihi</u>
Yüksek lisans	Uşak Üniversitesi /Moleküler Biyoloji ve Genetik	Halen
Lisans	Uşak Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik	2017
Lise	Karabağlar Cumhuriyet Lisesi	2013

### İş Deneyimi

Çalışmıyor.

### Hobiler

Futbol, Bilgisayar programları, Voleybol, Film