

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FARKLI ZİNCİR UZUNLUKLARINA VE YAPILARINA SAHİP
KUATERNER AMONYUM SİLAN BİLEŞİKLERİNİN TOKSİK ETKİLERİNİN
DROSOPHILA MELANOGASTER'DA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ghada TAGORTI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FARKLI ZİNCİR UZUNLUKLARINA VE YAPILARINA SAHİP
KUATERNER AMONYUM SİLAN BİLEŞİKLERİNİN TOKSİK ETKİLERİNİN
DROSOPHILA MELANOGASTER'DA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ghada TAGORTI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2024

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI ZİNCİR UZUNLUKLARINA VE YAPILARINA SAHİP
KUATERNER AMONYUM SİLİAN BİLEŞİKLERİNİN TOKSİK ETKİLERİNİN
DROSOPHILA MELANOGASTER'DA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ghada TAGORTI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FDK-2023-6161 nolu proje ve Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 1001 program kapsamında 121Z809 nolu proje ile desteklenmiştir.

OCAK 2024

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ZİNCİR UZUNLUKLARINA VE YAPILARINA SAHİP
KUATERNER AMONYUM SİLİAN BİLEŞİKLERİNİN TOKSİK ETKİLERİNİN
***DROSOPHILA MELANOGASTER*'DA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ghada TAGORTI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 25/01/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Bülent KAYA (Danışman)
Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ
Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU
Prof. Dr. Hakan AŞKIN
Doç. Dr. Esra AYDEMİR

ÖZET

FARKLI ZİNCİR UZUNLUKLARINA VE YAPILARINA SAHİP KUATERNER AMONYUM SİLAN BİLEŞİKLERİNİN TOKSİK ETKİLERİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'DA DEĞERLENDİRİLMESİ

Ghada TAGORTI

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bülent KAYA

Ocak 2024; --- 101 sayfa

Alkol bazlı ve alkolsüz ürünler de dahil olmak üzere küresel dezenfektan tüketimi, COVID-19 pandemisinin başlangıcından bu yana çarpıcı bir şekilde artmıştır. Bu nedenle, bu tür ürünlerin ve karışımlarının toksik potansiyeli belirsizliğini korumaktadır. Ayrıca, alkol de dahil olmak üzere dezenfektan üretiminde hammaddelerin yetersizliği bildirilmiştir. Dünya yeni bir zorluk veya pandemi ile karşı karşıya kaldığında malzemelerde ani bir eksiklik yaşamadan daha az yan etkisi olan ürünler elde etmek önemlidir. Bu amaçla bu çalışmada yeni bir dezenfektan olan silan kuaterner amonyum bileşikleri (Si-QAC'ler) sentezlenmiştir. Bu çalışmada, yeni sentezlenmiş alkolsüz dezenfektanların genotoksik, sitotoksik, apoptotik ve nörotoksik potansiyelleri model organizma olan *Drosophila melanogaster*'de değerlendirilmiştir. Silan grubunun farklı yapılara ve zincir uzunluklarına (12 C- 18 C) sahip kuaterner amonyum bileşikleriyle reaksiyonuna dayanarak yeni dezenfektanlar sentezlenmiştir. Si-QAC'lerin antimikrobiyal aktivitesi MİK testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Genotoksik potansiyel, SMART (mutasyon ve/veya rekombinasyon) ve Komet (DNA kırıkları) analizleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca tripan mavisi testi kullanılarak sitotoksik potansiyel, kaspaz aktiviteleri ölçülerek apoptotik potansiyel incelenmiştir. Ek olarak, TAS/TOS testi kullanılarak oksidatif stres potansiyel değerlendirilmiştir. DNA onarım mekanizmasını anlamak amacıyla, RT²-PCR kullanılarak farklı DNA onarım yollarında yer alan 36 genin ekspresyonunu ölçülmüştür. Si-QAC'lerin nörotoksik potansiyelini anlamak için *Drosophila* üzerinde larva hareketi, pupa pozisyonu, negatif jeotaksis ve duyarlılık dahil olmak üzere çeşitli deneyler gerçekleştirilmiştir.

SMART testinde, Si-QAC-1'in tüm konsantrasyonlarda genotoksik etkisi olduğu kaydedilirken, yalnızca sadece en yüksek Si-QAC-2 konsantrasyonunda (% 300) mutasyon riski bulunmaktadır. Kalan Si-QAC'lerde istatistiksel önemde bir değişiklik gözlenmemiştir. Bununla birlikte, komet testi sonuçlarına göre Si-QAC-1 (% 100), Si-QAC-3 (% 25, % 50, % 100, ve % 200), Si-QAC-4 (% 50, % 200, ve % 300), ve Si-QAC-5 (% 50, % 100, % 200, ve % 300)'de DNA kırıkları tespit edilmiş ama Si-QAC-2'de anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir. Ayrıca, Si-QAC-2 için sitotoksik potansiyel kaydedilmemiştir, ancak Si-QAC-1'in (% 200 ve % 300), Si-QAC-3'ün (% 100, % 200, ve % 300), Si-QAC-4'ün (% 100 ve % 200), ve Si-QAC-5'in (% 300) konsantrasyonlarında anlamlı hasarlar bildirilmiştir. Kaspaz aktiviteleri, Si-QAC-1 (% 50) hariç tüm konsantrasyonlarda tüm Si-QAC'lerde artmıştır. RT²-PCR analizine göre, Si-QAC-2 (% 25) ve Si-QAC-3 (% 300) DNA onarımında yer alan genlerin çoğunu yukarı-regüle ederken, Si-QAC-1 (% 300) ana genleri aşağı-regüle edilmiştir. Tüm Si-

QAC'ler oksidatif strese yol açmıştır. Larva hareketi testinde, Si-QAC-3'e (% 300) maruz kalan larvaların geçtiği mesafe kontrol grubuna göre artmış ve dolayısıyla hız da artmıştır. Negatif jeotaksis deneyinde, tüm Si-QAC'ler için herhangi bir fark gözlenmemiştir. Pupa pozisyonu deneyinde, Si-QAC-1'e maruz kalan larvalar besinden uzakta bulunmuştur. Duyarlılık testinde, Si-QAC-1 (% 25), Si-QAC-2 (% 200) ve Si-QAC-3 (% 50 , % 100, % 200, ve % 300) larvaları termoreseptörlerinden etkilemiştir.

Sonuç olarak, Si-QAC-2 umut verici bir dezenfektan gibi görünmektedir, ancak en yüksek konsantrasyonlar bir miktar hasara neden olmaktadır. Bununla birlikte, dezenfektanın piyasaya sürülmesinden önce tüketicilerin güvenliğini sağlamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELEER: Dezenfektan, *Drosophila melanogaster*, DNA onarımı, genotoksisite, nörotoksisite.

JÜRİ: Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU

Prof. Dr. Hakan AŞKIN

Doç. Dr. Esra AYDEMİR

ABSTRACT

ASSESSMENT OF THE TOXIC EFFECTS OF SILANE QUATERNARY AMMONIUM COMPOUNDS WITH VARIOUS CHAIN LENGTHS AND STRUCTURES ON *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Ghada TAGORTI

PhD Thesis in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Bülent KAYA

January 2024; ---- 101 pages

The global consumption of disinfectants, including alcohol-based and alcohol-free products, has increased dramatically since the onset of the COVID-19 pandemic. Thus, the toxic potential of such products and their mixtures remains unclear. Furthermore, shortcomings of raw materials, including alcohol, have been reported. In this context, to limit the side effects and potential risks of using disinfectants and to ensure a friendly product without suffering a sudden shortcoming in materials when the world faces a new challenge or pandemic, we attempted to synthesize a new disinfectant, silane quaternary ammonium compounds (Si-QACs).

In the present study, we assessed the genotoxic, cytotoxic, apoptotic, and neurotoxic potential of alcohol-free novel synthesized disinfectants in *Drosophila melanogaster* as a model organism. Novel disinfectants were synthesized based on the reaction of the silane group with quaternary ammonium compounds with different structures and chain lengths (12 C-18 C). The antimicrobial activity of Si-QACs was evaluated using the MIC test. The genotoxic potential was assessed using SMART (mutation and/or recombination) and comet (DNA strand breaks) assays. Furthermore, the cytotoxic potential was evaluated using the trypan blue test, and the apoptotic potential was evaluated by measuring caspases activities and oxidative stress using TAS/TOS assay. To elucidate the mechanism of DNA repair, the expression of 36 genes involved in different DNA repair pathways was measured using RT²-PCR. Several assays, including crawling, pupal position, climbing, and sensitivity, have been conducted in *Drosophila* to understand the neurotoxic potential of Si-QACs.

In the SMART assay, a potential mutation of Si-QAC-1 was recorded at all concentrations, whereas only the highest concentration of Si-QAC-2 (300 %) was associated with a risk of mutation. No significant changes were observed in the remaining Si-QACs. However, according to comet assay results, DNA strand breaks were recorded in Si-QAC-1 (100 %), Si-QAC-3 (25 %, 50 %, 100 %, and 200 %), Si-QAC-4 (50 %, 200 %, and 300 %), and Si-QAC-5 (50 %, 100 %, 200 %, and 300 %), and no significant change was observed in Si-QAC-2. Further, no cytotoxic potential has been recorded for Si-QAC-2, however, significant damage has been reported in the midgut of *Drosophila*

larvae exposed to Si-QAC-1 (200 % and 300 %), Si-QAC-3 (100 %, 200 %, and 300 %), Si-QAC-4 (100 % and 200 %), and Si-QAC-5 (300 %). Caspase activities increased in all Si-QACs at all concentrations, except Si-QAC-1 (50 %). According to RT²-PCR analysis, Si-QAC-2 (25 %) upregulated most of the genes involved in DNA repair, followed by Si-QAC-3 (300 %), whereas Si-QAC-1 (300 %) downregulated the major genes. All Si-QACs caused oxidative stress. In the crawling assay, the distance crossed by larvae exposed to Si-QAC-3 (300 %) increased compared to the control group, and thus, the speed. In the climbing assay, no defects were reported for any Si-QACs. In the pupal position assay, the larvae exposed to Si-QAC-1 were located far from the medium. In the sensitivity assay, Si-QAC-1 (25 %), Si-QAC-2 (200 %), and Si-QAC-3 (50 %, 100 %, 200 %, and 300 %) affected larvae thermoreceptors.

In conclusion, Si-QAC-2 seems to be a promising disinfectant, where only the highest concentrations were able to induce some damage; however, further studies are needed to ensure the safety of consumers before the release of the disinfectant to the market.

KEYWORDS: Disinfectant, *Drosophila melanogaster*, DNA repair, genotoxicity, neurotoxicity.

COMMITTEE: Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU

Prof. Dr. Hakan AŞKIN

Doç. Dr. Esra AYDEMİR

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, 1001 program kapsamında 121Z809 proje numaralı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) Projesi ve FDK-2023-6161 numaralı Doktora tez projesi olarak Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Öncelikle tez çalışmasında, her türlü bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren ve bana ekibinde çalışma fırsatı tanıyan danışman hocam Prof. Dr. Bülent KAYA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Si-QAC'ler sentezinde ve karakterizasyonun belirlenmesine katkı sağlayan Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Doç. Dr. Esin AKARSU ve ekibine çok teşekkür ederim. Ayrıca MİK testi belirlenmesine katkı sağlayan Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Doç. Dr. Ömer KESMEZ ve ekibine çok teşekkür ederim. DNA Panel deneyi için çalışmalarımda yardımcı olan Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Nuray KAYA'ya teşekkür ederim. Ayrıca, çalışmalarım sırasında laboratuvar olanaklarını sağlayan Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Sibel Tunç ve ekibine çok teşekkür ederim.

Vakit ayırıp Tez değerlendirme ve Tez Savunma Sınavıma katılan değerli Jüri Üyelerim; Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Prof. Dr. Bülent KAYA, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Prof. Dr. Hakan AŞKIN, Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Doç. Dr. Esra AYDEMİR'e, çok teşekkür ederim.

Kimya ve Biyoloji bölümünden Araştırma Görevlisi Ceren ÖZCAN DİKER, Doktora Öğrencisi Neslihan CİHANOĞLU, Tuğçe KURUCA ve Doktora Öğrencisi Serap ÖZKAYA GÜL'e bilgilerini benimle paylaştıkları için çok teşekkür ederim.

Drosophila genetik ve genomik labta benimle birlikte azimle çalışan Dr. Burçin YALÇIN, Dr. Merve GÜNEŞ ve Doktora Öğrencisi Ayşen Yağmur BURGAZLI çok teşekkür ederim.

Bana Türkiye'de Doktora eğitimim için fırsatı sunan, maddi ve manevi destek sağlayan Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığına (YTB), tez çalışmalarım için maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na ve Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne çok teşekkür ederim.

Beni her zaman destekleyen, bugünlere getiren, sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli aileme ve eşime içten duygularıyla teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
2.1. Dezenfeksiyon tanımı.....	4
2.2. Dezenfektan türleri ve tarihçesi.....	4
2.3. Dezenfektanlar ve sabun arasındaki karşılaştırmalar	5
2.4. Dezenfektanların formülasyonu	6
2.5. Kuaterner amonyum bileşikler.....	6
2.5.1. QAC mekanizması.....	9
2.5.2. QAC'ye maruziyeti.....	9
2.5.3. QAC'lerin farklı etkileri	11
2.6. Si-QAC'lerin tanımı ve mekanizması	13
2.7. Genotoksisite	15
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Kullanılan kimyasallar	16
3.2. Si-QAC sentezi.....	16
3.3. Si-QAC konsantrasyon belirlenmesi	16
3.4. Si-QAC karakterizasyonu.....	17
3.5. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) testi	17
3.6. <i>Drosophila melanogaster</i>	18
3.6.1. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	21
3.6.2. <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)....	22
3.6.3. <i>Drosophila</i> tek hücre jel elektroforezi testi (Komet testi)	27
3.6.4. <i>Drosophila</i> hemositlerinde kaspazlar aktiviteleri deneyi	31
3.6.5. <i>Drosophila</i> Tripan mavisi testi	33

3.6.6. <i>Drosophila</i> DNA hasarı sinyal yolu Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) dizileri.....	34
3.6.7. <i>Drosophila</i> toplam antioksidan durumu ve toplam oksidan durumu (TAS/TOS) deneyi.....	38
3.6.8. Davranışsal Toksisite Analizleri.....	38
4. BULGULAR.....	45
4.1. Si-QAC sentezi.....	45
4.2. Si-QAC karakterizasyonu.....	46
4.2.1. FTIR ile elde edilen sonuçları	46
4.3. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) testi.....	51
4.4. <i>Drosophila melanogaster</i>	51
4.4.1. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	51
4.4.2. <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)....	54
4.4.3. <i>Drosophila</i> tek hücre jel elektroforezi testi (Komet testi).....	57
4.4.4. <i>Drosophila</i> hemositlerinde kaspazlar aktiviteleri.....	57
4.4.5. <i>Drosophila</i> Tripan mavisi testi	57
4.4.6. <i>Drosophila</i> DNA hasarı sinyal yolu Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) dizileri.....	65
4.4.7. <i>Drosophila</i> TAS/TOS deneyi sonuçları.....	67
4.4.8. Davranışsal Toksisite Analizleri.....	69
5. TARTIŞMA	76
6. SONUÇLAR	84
7.KAYNAKLAR	86
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Farklı Zincir Uzunluklarına Ve Yapılarına Sahip Kuaterner Amonyum Silan Bileşiklerinin Toksik Etkilerinin *Drosophila melanogaster*’da Değerlendirilmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

25/01/2024

Ghada TAGORTI

İmzası

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
μM	: Mikromolar
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat
<i>Act42A</i>	: Aktin 42A
<i>APE1</i>	: Apuritik / apirimidinik endonükleaz
<i>Bd^S</i>	: Beaded serrat
<i>Brca2</i>	: Breast and ovarian cancer susceptibility protein 2 geni
cm	: Santimetre
CFU	: Koloni oluşturan birim
<i>CG9601</i>	: Polynucleotide kinase 3'-phosphatase geni
<i>Dap/CDKN1A</i>	: Dacapo geni
<i>DNA-lig1</i>	: DNA ligaz 1 geni
<i>DNApol-eta/POLH</i>	: DNA polimeraz eta
Eq/L	: Litre başına eşdeğerler
<i>Ercc1</i>	: Endonuclease non-catalytic subunit 1 geni
<i>Fancd2</i>	: Fanconi anemia complementation group D2 geni
<i>Fen1</i>	: Flap endonuclease 1 geni
<i>flr³</i>	: Flare
g	: Göreceli santrifüj kuvveti (Gravite)
<i>Gapdh 1</i>	: Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz 1

<i>GDC</i>	: Genomik DNA kontaminasyonu
gr	: Gram
<i>Grim</i>	: Apoptotik protein antagonistlerinin inhibitörünün bir üyesini
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
<i>Hid</i>	: Head involution defective geni
<i>Hus1-like</i>	: HUS1 checkpoint clamp component 1 like geni
Iap2	: Apoptoz inhibitörü 2
Iav	: İnactive
ir21a/ir25	: İyonotropik reseptörler
K21/TEOS	: 3– (trietoksisilil) -propildimetiloktadesil amonyum klorürün
Kg	: Kilogram
lb	: Pound
M	: Molar
m	: Çarpım faktörü
m ³	: Metre küp
mA	: Miliamper
Mb	: Megabaz
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
<i>MCPH1</i>	: Microcephalin 1
<i>mei-41/ATR</i>	: Meiotic 41 geni
<i>Mlh1</i>	: MutL homolog 1 geni
<i>MRE11</i>	: Meiotic recombination 11

<i>mu2/ MDC1</i>	: Mutator 2 geni
<i>mus101/TOPBP1</i>	: Mutagen-sensitive 101 geni
<i>mus304/ATRIP</i>	: Mutagen-sensitive 304
<i>mwh</i>	: Multiple wing hair
<i>NBN</i>	: Nibrin geni
<i>ng</i>	: Nanogram
<i>nM</i>	: Nanomolar
<i>NompC</i>	: Mekanoreseptörsüz potansiyel C
<i>Ogg1</i>	: 8-oxoguanine DNA glycosylase geni
<i>p53</i>	: Tumor protein p53
<i>PCNA</i>	: Proliferating cell nuclear antigen geni
<i>Pkd2</i>	: Polikistik böbrek hastalığı 2
<i>Pms2</i>	: Postmeiotic segregation increased 2 geni
<i>PNKP</i>	: Polynucleotide kinase 3'-phosphatase geni
<i>ppm</i>	: Milyonda bir birim
<i>put/ ACVR2A</i>	: Activin A receptor type 2A geni
<i>Rad1</i>	: Radiation insensitive 1 geni
<i>Rad17</i>	: Radiation insensitive 17 geni
<i>Rad51D</i>	: Rad51 recombinase D geni
<i>Rad9</i>	: Radiation insensitive 1 geni
<i>Rev1</i>	: DNA polymerase Rev1 geni
<i>rpm</i>	: Dakikada devir sayısı
<i>Sirt2</i>	: Sirtuin 2
<i>SdhA</i>	: Süksinat dehidrojenaz kompleksi flavoprotein alt birimi A

SH-SY5Y	: İnsan Nöroblastom Hücre Hattı
<i>spel1/MSH2</i>	: Spellchecker1 geni
<i>spn-D/Rad51C</i>	: Spindle D geni
<i>stg/CDC25A</i>	: String geni
Strica	: Ser/Thr-rich
<i>tefu/ATM</i>	: Telomer fusion/Drosophila ATM geni
TM3	: Balancer
V	: Volt
<i>Vtd/ RAD21</i>	: Verthandi
<i>Xpac/xpa</i>	: Xeroderma pigmentosum group A-like geni
<i>XRCC1</i>	: X-ray repair cross complementing 1 geni
w	: Zayıf pozitif

Bu tezde ondalık yazım ayırıcı olarak nokta (.) kullanılmıştır.

Kısaltmalar

8-oxoG	: 8-oksoguanin
AB	: Avrupa Birliği
A β	: Amiloid beta
ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
ATMAC	: Alkiltrimetilamonyum klorür
ATP	: Adenozin trifosfat
BAC	: Benzalkonyum klorür
BCA	: Bikinkoninik asit testi
BMAA	: β -N-metilamino-L-alanin
BSA	: Bowine serum albümin
Cdk	: Sikline bağımlı kinaz

cDNA	: Tamamlayıcı DNA
Chk	: Kontrol Noktası
CIP	: Sikline bağımlı kinaz etkileşimli protein
CPG	: Merkezi desen üreteçleri
CT	: Çevrim eşiği (cycle threshold)
Damm	: Death-associated molecule related to Mch2
Dcp-1	: <i>Drosophila</i> caspase-1
DDAC	: Didesildimetilamonyum klorür
Decay	: Death executioner caspase related to apopain/yama
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DOG	: Sırt organı ganglionu
Dredd	: Death related ced-3/Nedd2-like
Drice	: <i>Drosophila</i> interleukin 1 β -converting enzyme
Dronc	: Death regulator Nedd2-like
DS	: Distile su
EEO	: Electro-endosmosis
EMS	: Etil metansülfonat
EPA	: ABD Çevre Koruma Ajansı
EtBr	: Etidyum bromür
FDA	: ABD Gıda ve İlaç İdaresi
Fr	: Frekans
FT-İR	: Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi
GABA	: Gama-aminobütirik asit
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
GG-NER	: Küresel genom nükleotid eksizyon onarımı
H0	: Sıfır Hipotez

HA	: Alternatif Hipotez
HR	: Homolog Rekombinasyon
HSGM	: Biyosidal Ürün Analizleri Talimat
LC ₅₀	: Letal Konsantrasyon 50
Lig	: Ligaz
LMA	: Düşük erime ısisına sahip agaroz
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
Na ₂ EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
NaCl	: Sodyum klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
NER	: Nükleotid eksizyon onarımı
NHEJ	: Homolog olmayan uç birleştirme
NMA	: Normal erime ısisına sahip agaroz
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
OSI	: Oksidatif stres indeksi
PBS	: Fosfat tamponlu salin
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
QAC	: Kuaterner amonyum bileşikleri
R	: Radikal
RHG	: <i>rpr</i> , <i>hid</i> ve <i>grim</i> kompleks
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RpL32	: Ribozomal protein L32
RpLP2	: Ribosomal protein LP2
<i>Rpr</i>	: Reaper
RT ² -PCR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RTC	: Birinci iplikçik sentezi
RTG-2	: Alabalık Gökkuşığı gonad dokusu
SARS-CoV-2	: Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2
Si-QAC	: Silan Kuaterner amonyum bileşikleri
SMART	: Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
TAS	: Toplam antioksidan durumu
Tau	: Beyindeki mikrotübülle ilişkili proteinler
Tbp	: Tata Bağlayıcı Protein
TC-NER	: Transkripsiyona bağlı nükleotid eksizyon onarımı
TDP-43	: Tar DNA bağlayıcı protein 43
TOG	: Terminal organ ganglionu
TOS	: Toplam oksidan durumu
TRP	: Geçici Reseptör Potansiyeli
TRPA	: TRP-Ankirin
TRPC	: TRP-canonical
TRPL	: TRP-like
TRPM	: TRP-melastatin
TRPV	: TRP-vanilloid
UV	: Morötesi
XPC	: Xeroderma pigmentosum, complementation group C

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Farklı dezenfektan içeren kimyasallara maruz kalan çeşitli organizmalarda bulunan hormetik doz-yanıt ilişkisinin şematik bir temsildir	2
Şekil 2.1. Mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyallerin etki mekanizmaları.....	4
Şekil 2.2. Dezenfektan tarihçesi	5
Şekil 2.3. QAC'nin genel yapısı	7
Şekil 2.4. QAC'ler sınıflandırılması	8
Şekil 2.5. BAC, DDAC ve ATMAC genel yapıları.....	9
Şekil 2.6. QAC'ler için emilim, dağılım, metabolizma ve atılım yolları.....	11
Şekil 2.7. K21 genel yapısı	13
Şekil 2.8. Si-QAC'nin antibakteriyel mekanizması.....	14
Şekil 3.1. MİK testi kullanılan oyuklu plaka	18
Şekil 3.2. <i>Drosophila</i> ve insanlar arasındaki yapıları ve işlevleri ile ilgili benzer dokular veya organlardır	19
Şekil 3.3. 25 °C'de meyve sineği yaşam döngüsü.....	19
Şekil 3.4. <i>Drosophila</i> imajinal diskleri, embriyonik primordileri ve ergin birey kütiküler ürünleri	20
Şekil 3.5. <i>Drosophila</i> trikom fenotipi.....	22
Şekil 3.6. <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi prensibi	23
Şekil 3.7. SMART deneyinde uygulanan hazırlanan preparat.....	25
Şekil 3.8. <i>D. melanogaster</i> kanatlarının farklı bölümleri	25
Şekil 3.9. Işık mikroskobu ile elde edilen <i>D. melanogaster</i> kanatlarının görüntüleri	26
Şekil 3.10. <i>Drosophila</i> komet testi metodolojisi	29
Şekil 3.11. Larvaların doku hasarı puanlamaları	34
Şekil 3.12. <i>Drosophila</i> RT ² Profiler PCR dizisi kullanılan plaka	34
Şekil 3.13. Si-QAC'a maruz kalan larvaların yürüme mesafeleri örnekleri.....	39

Şekil 3.14. <i>Drosophila</i> larva'nın DOG ve TOG yapılarının pozisyonu	41
Şekil 3.15. <i>Drosophila</i> 'da termosensasyon ve TRP'ler.....	42
Şekil 3.16. <i>Drosophila</i> larvaların duyarlılık testi. (A) termal, (B) soğuğa duyarlılık testi	43
Şekil 4.1. Çalışma kapsamında sentezlenen Si-QAC'ler.....	45
Şekil 4.2. Si-QAC'lerin sentezlenen bileşiklerin yapıları.....	45
Şekil 4.3. Si-QAC-1'in FTIR spektrumu.....	46
Şekil 4.4. Si-QAC-2'nin FTIR spektrumu.....	47
Şekil 4.5. Si-QAC-3'ün FTIR spektrumu.....	47
Şekil 4.6. Si-QAC-4'ün FTIR spektrumu.....	48
Şekil 4.7. Si-QAC-5'in FTIR spektrumu.....	48
Şekil 4.8. Si-QAC-3'ün ¹ H-NMR spektrumu.....	50
Şekil 4.9. Si-QAC-3'ün ¹³ C-NMR spektrumu.....	50
Şekil 4. 10. Si-QAC-1'in konsantrasyon-ölüm modeli.....	52
Şekil 4.11. Si-QAC-2'nin konsantrasyon-ölüm modeli.....	52
Şekil 4.12. Si-QAC-3'ün konsantrasyon-ölüm modeli.....	53
Şekil 4.13. Si-QAC-4'ün konsantrasyon-ölüm modeli.....	53
Şekil 4.14. Si-QAC-5'in konsantrasyon-ölüm modeli.....	54
Şekil 4.15. Komet kuyruk uzunluğu sonuçları	58
Şekil 4.16. Komet kuyruk momenti sonuçları	59
Şekil 4.17. Komet kuyruk yoğunluğu sonuçları	60
Şekil 4.18. Kaspaz 3/7 aktivitesi ölçülmesi	61
Şekil 4.19. Kaspaz 8 aktivitesi ölçülmesi	62
Şekil 4.20. Kaspaz 9 aktivitesi ölçülmesi	63
Şekil 4.21. Tripan mavisi sonuçları	64

Şekil 4.22. Kat değişimine (fold change) göre en düşük ve en yüksek konsantrasyona sahip 5 farklı Si-QAC'den farklı şekilde ifade edilen 36 genin ısı haritası grafiğidir	65
Şekil 4.23. Mix grubu (Bir mekanizmadan daha fazla etkileyen genler) DNA tamir geni görevleri	66
Şekil 4.24. Si-QAC-1'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI)	67
Şekil 4.25. Si-QAC-2'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI)	68
Şekil 4.26. Si-QAC-3'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI)	68
Şekil 4.27. Si-QAC-4'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI)	69
Şekil 4.28. Si-QAC-5'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI)	69
Şekil 4.29. Larva hareketi sonuçları	71
Şekil 4.30. Pupa pozisyon sonuçları	72
Şekil 4.31. Negatif jeotaksis sonuçları.....	73
Şekil 4.32. Termal duyarlılık sonuçları	74
Şekil 4.33. Soğuğa duyarlılık sonuçları	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Sentez sırasında kullanılan maddeler.....	16
Çizelge 3.2. Standart <i>Drosophila</i> besini içeriği	21
Çizelge 3.3. Mutant klonların sınıflandırılması	26
Çizelge 3.4. <i>Drosophila</i> komet testi kullanılan solüsyonları	30
Çizelge 3.5. <i>Drosophila</i> DNA hasarı sinyal yolu PCR dizileri kullanılan genleri	35
Çizelge 3.6. Çoklu karar testi değerlendirme tablosu	44
Çizelge 4.1. Si-QAC'lerin FTIR analiz sonucu	46
Çizelge 4.2. Verimin sınıflandırılması.....	49
Çizelge 4.3. Titrasyon sonuçları	49
Çizelge 4.4. Si-QAC'lerin MİK değerleri.....	51
Çizelge 4.5. Si-QAC'lerin <i>D. melanogaster</i> 'ın 72±4 saatlik transheterozigot (<i>mwh/flr³</i>) larvalarındaki genotoksik etkisi	55

1. GİRİŞ

Dezenfektanlar ve antiseptikler, cansız yüzeylerde ve insan derisinde mikroorganizmalarla savaşılabilen biyositler adı verilen birçok aktif kimyasal bileşiklerdir (McDonnell ve Russell 1999, Maillard ve Centeleghe 2023). Küresel yüzey dezenfektan pazarı, 2020’den 2027’ye kadar yıllık % 9,1 kümülatif büyüme göstermiştir (Hora vd. 2020).

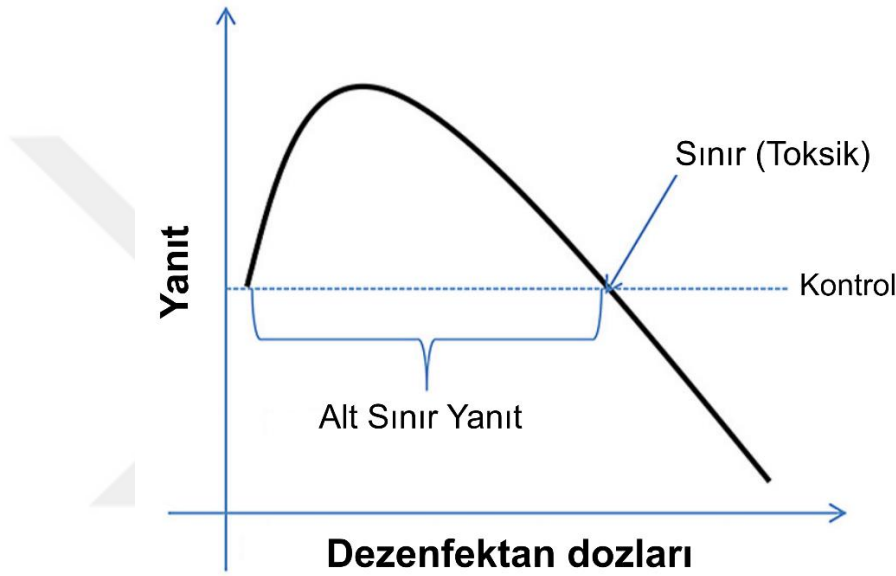
EPA (Çevre Koruma Ajansı, ABD)’nin SARS-CoV-2’ye karşı etkililik kriterlerini karşılayan 537 yüzey dezenfektanı içeren “Liste N: SARS-CoV-2’ye Karşı Kullanım için Dezenfektanlar” listesini yayınlamıştır. Önerilen dezenfektan ürünlerinin büyük bir kısmı kuaterner amonyum bileşiklerine (QAC’ler) dayanmaktadır (EPA 2021).

QAC’ler ilk olarak heksametilen tetraminin türevleri olarak tanıtılmış ve bu tuzların bakterisit özellikleri 1915’ten 1916’ya kadar çeşitli yayınlarda araştırılmıştır (Jacobs ve Heidelberger 1915). Alkil grubunun 8 ila 18 karbon atomu içeren bir zincir olabileceği benzalkil dimetilamonyum klorür (ADBAC) veya benzalkonyum klorür (BAC) gelişmesiyle 1935 yılına kadar QAC’lerin daha geniş kullanımı başlamamıştır (Domagk 1935). Eylül 2016’da triklosan, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından yapılan risk değerlendirmesinin ardından sabun ürünlerinde kullanımını yasaklanmıştır. Avrupa Birliği (AB) ise, Ocak 2017’den itibaren triklosanı tüm insan hijyeni biyosidal ürünlerinde yasaklanmıştır (Weatherly ve Gosse 2017). Triklosan yasağından sonra, satılan birçok antibakteriyel el sabununda BAC’ler yerine kullanılmaya başlanmıştır (Hora vd. 2020).

COVID-19 pandemisinden önce, BAC’ler, alkiltrimetilamonyum bileşikleri (ATMAC’ler) ve dialkildimetilamonyum bileşikleri (DADMAC’ler) dahil olmak üzere QAC’ler, ABD’de yılda 1 milyon poundun (lb) üzerinde üretilmiş veya ithal edilmiştir. Bununla birlikte, Avrupa’da, gıda ürünlerinde ve tüketici el ve vücut temizleyicilerinde QAC’lerin kullanımı son zamanlarda sınırlandırılmıştır (Pereira ve Tagkopoulos 2019). Pandemi sırasında bu ürünlerin kullanımı hastanelerde, bakım tesislerinde, ve işyerleri de dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda kullanımı oldukça artmıştır (Zheng vd. 2020). Artan QAC tüketimi, atık su arıtma sistemlerine, çevreye ve insana artan yüklerle yol açacaktır. Ayrıca, COVID-19’a karşı yoğun dezenfektan uygulamasının insanlar ve çevre üzerinde çeşitli olumsuz etkileri olabilmektedir (Nabi vd. 2020).

Dezenfektanlar solunum yollarında iltihaplanma, tahriş, şişme ve ülserasyona neden olabilmektedir. Ayrıca cilt kuruluğu, astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, bozulmuş beyin gelişimi, çocuklarda kısırlık gelişme riskini artırabilmektedir (Dhama vd. 2021). Bununla birlikte, QAC’ler gibi daha uzun ömürlü dezenfektanların daha geniş kapsamlı çevresel etkilere sahip olması beklenebilmektedir. Bunun dışında, QAC’lerin patojenlerin çoğalmasına, bakterilerde antibiyotiklere dayanıklı çapraz direnç yolu açabileceğini ve direnç genlerinin yayılmasına yardımcı olabilecek yeni genetik elementlerin fiksasyonunun teşvik edildiğini gösteren yeterli kanıtlar tespit edilmiştir (Pereira ve Tagkopoulos 2019; Chen vd. 2021).

Farklı QAC'ler, alt sınır dozlarda, yani geleneksel toksikolojik sınırdan daha küçük dozlarda önemli tepkilerle hormesisini indükleyebilmektedir (Hrubec vd. 2021). Hormesis (Şekil 1.1), genellikle daha yüksek dozlarda toksik olduğu bilinen bir ajanın düşük dozlarına maruz kalmanın neden olduğu faydalı veya uyarıcı bir etki olarak tanımlanmaktadır (Mattson 2008). Diğer taraftan hormesis sadece tek kimyasallar tarafından değil, aynı zamanda karışımlar, özellikle katkı maddesi veya sinerjik etkiler de gösterebilen QAC'ler ile yapılan çalışmalarda indüklenmiştir (Mo vd. 2020). Ayrıca, çeşitli canlıların geleneksel toksikolojik sınırdan daha küçük olan düşük dozlara maruz kalmasının uzun süreli etkilere sahip olabileceğini, hatta bu etkilerin nesiller boyu aktarılabilmesini ve on nesilden daha sonra gözlemlenebileceği de gösterilmiştir (Calabrese ve Agathokleous 2020).



Şekil 1.1. Farklı dezenfektan içeren kimyasallara maruz kalan çeşitli organizmalarda bulunan hormetik doz-yanıt ilişkisinin şematik bir temsili (Agathokleous vd. 2020)

Bu nedenle, dezenfektanların bu kadar yoğun bir şekilde uygulanmasının kaçınılmaz olduğu durumlara hazırlıklı olmak için eşit veya daha yüksek dezenfekte etme kabiliyetine sahip ancak daha az potansiyel yan etkiye sahip alternatif ürünlerin keşfedilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Agathokleous vd. 2020).

Bu çalışmada farklı karbon zincir uzunluklarına sahip QAC silan grubu (Si-) eklenmiş ve alkolsüz bazlı formül kullanılarak Si-QAC bileşikler sentezlenmiştir. Dört farklı bakteri suşu üzerinde MİK testi yapılmış ve dezenfektanın karakterizasyonu (FTIR, Verim) belirlenmiştir.

Sentezlenen dezenfektanların, genotoksisitelerini ve DNA onarım mekanizmalarını değerlendirmek için *Drosophila melanogaster* üzerinde farklı deneylerde (SMART, Komet, RT²-PCR Paneli deneyleri) değerlendirilmiştir. Ayrıca oksidatif stres (TAS/TOS deneyi), apoptoz indüksiyon potansiyeli (Kaspaz 3/7, 8 ve 9 aktivitesi), bağırsak hücre hasarı (tripan mavisi testi) değerlendirilmiştir.

Bunun dışında, *Drosophila* üzerindeki nörotoksisite anlamak için farklı deneyler (larva hareketi, pupa pozisyon, negatif jeotaksis, duyarlılık testi) gerçekleştirilmiştir. Bulgular düşük genotoksik ve nörotoksik potansiyele sahip dezenfektanların piyasada üretilceğini göstermektedir.



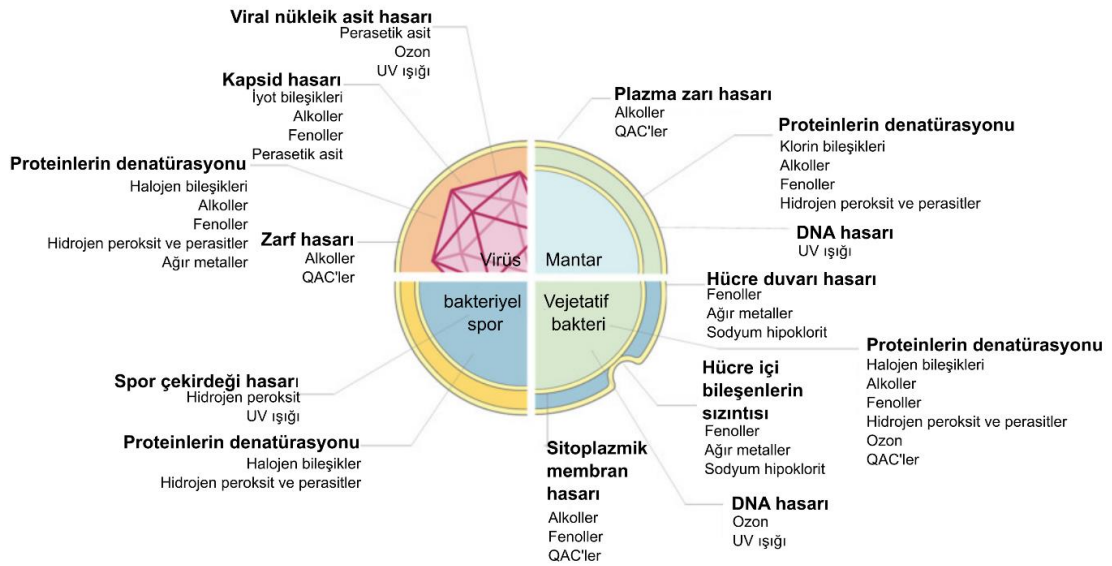
2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Dezenfeksiyon tanımı

“Dezenfeksiyon” ve “Sanitasyon” terimleri, farklı anlamlar içerse de, genellikle birbirinin yerine kullanılmaktadır. Dezenfeksiyon, bir maddenin potansiyel enfeksiyonunun bakteri sporları hariç mevcut mikroorganizmaların sayısının azaltılmasıyla gidermektir. Böyle bir süreç mutlaka tüm mikroorganizmaları ortadan kaldırmayabilir, ancak onları artık enfeksiyonu başlatamayacakları bir seviyeye indirebilmektedir. Sanitasyon işlemi, mikroorganizma sayısını güvenli bir seviyeye düşürmek anlamına gelmektedir (Hoffman vd. 2004).

2.2. Dezenfektan türleri ve tarihçesi

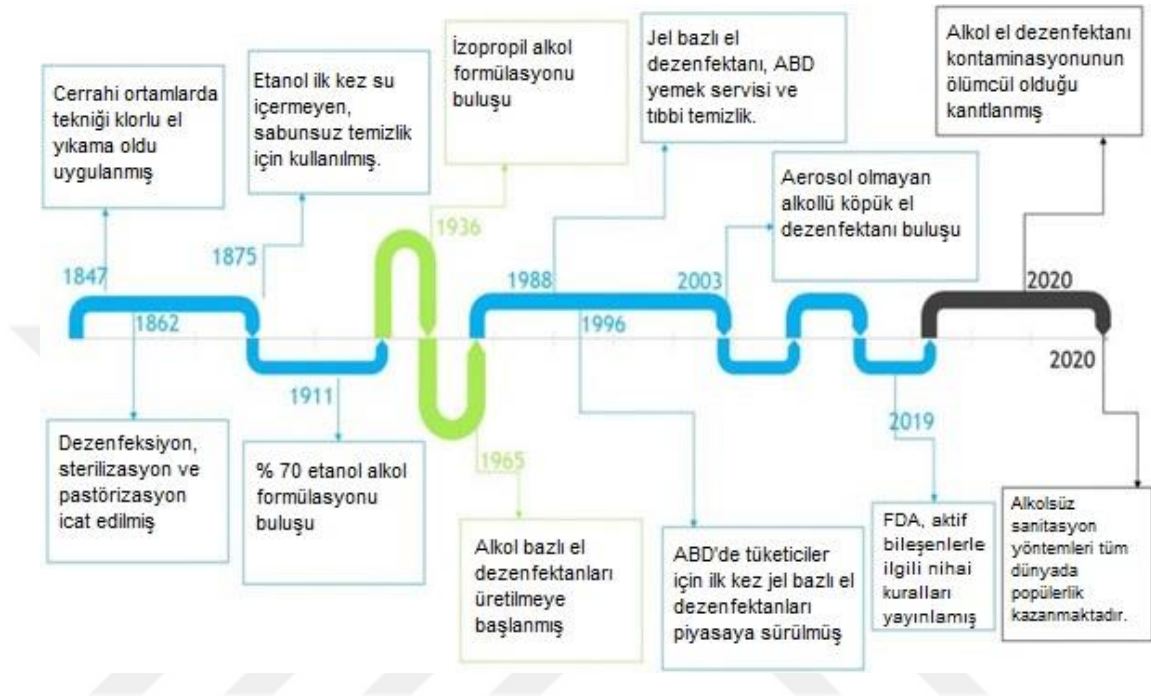
Günümüzde antimikrobiyal ajan olduğu iddia edilen yüzeylerde kullanılacak çok sayıda madde bulunmakta ve bunlar tek başına veya kombinasyon halinde formüle edilmektedir. En yaygın dezenfektanlar halojenler, alkoller, kuaterner amonyum bileşikler (QAC’ler), peroksijenler, ozon ve morötesi (UV) olarak ayrılabilir. Genel olarak, bu antimikrobiyaller mikroorganizmanın belirli bir bölümüne zarar vermektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyallerin etki mekanizmaları (Artasensi vd. 2021)

İki dezenfektan kategorisi vardır: (i) alkol bazlı olmayan dezenfektanlar ve (ii) alkol bazlı dezenfektanlar. Alkol bazlı olmayan dezenfektanların en yaygın birincil aktif bileşeni olan benzalkonyum klorür, bir kuaterner amonyum olup yaygın olarak kullanılan bir dezenfektandır. Benzalkonyum klorürlü dezenfektanlar genellikle alkollülere göre daha az tahriş edicidir, ancak daha yeni kanıtlar kontakt dermatiteye önceden düşünülenden daha sık neden olabileceğini düşündürmektedir. Alkol bazlı dezenfektanlar

cilt üzerinde alkol bazlı olmayan dezenfektanlardan daha az kullanıcı dostu olmasına rağmen, bulaşmayı azaltmaları ve düşük maliyeti olmaları nedeniyle tercih edilmektedirler ve sağlık tesislerinde kullanımları daha yaygındır. Bununla birlikte, alkol bazlı olmayan dezenfektanlar yanıcı olamaması ve kötüye kullanım potansiyellerinin daha düşük olması ile daha az endişe vericidir (Golin vd. 2020). Dezenfektanın geçmişi Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Dezenfektan tarihçesi (Prajaapati vd. 2022)

2.3. Dezenfektanlar ve sabun arasındaki karşılaştırmalar

Dezenfektanlar ve sabun arasında doğrudan karşılaştırma içeren yeterli çalışma yoktur. Bununla birlikte sabun, su ve alkolü dezenfektanlar bazı virüs ve bakterilere karşı etkilidir (Prajaapati vd. 2022).

Cilt üç ana katmandan oluşur: yüzeysel bir epidermis (50-100 µm), orta bir dermis (≈2 mm) ve en içteki bir hipodermis (1-2 mm). Cilt mekanik darbelerle karşı koruma sağlamakta ve vücuttan aşırı su kaybını önlerken istilacı mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadır (Jing vd. 2020). Bununla birlikte, ellerin yıkanması ciltte strese yol açabilecek kendi yağ asitlerini gidermekte ve sonuçta mikroplar için potansiyel bir geçit olarak ortaya çıkabilmektedir. Basit bir şekilde el yıkamadan daha etkili olması için patojenik mikroorganizmalarla mücadelede etkili olan ve ayrıca yumuşatıcılar ekleyerek cildin durumunu iyileştiren el dezenfektanları da kullanımda bulunmaktadır (Prajaapati vd. 2022).

2.4. Dezenfektanların formülasyonu

Günümüzde köpük, jel, sıvı, mendil, sprey ve krem dahil olmak üzere çeşitli dezenfektan formları mevcuttur. Ancak, jel ve köpük formatlarının, hızlı emilim, yumuşak/nemli el hissi, yapışkanlık hissi ve düşük koku dahil olmak üzere istenen bazı temel özellikler nedeniyle sıvıdan daha fazla uygun olduğu düşünülmektedir (Greenaway vd. 2018).

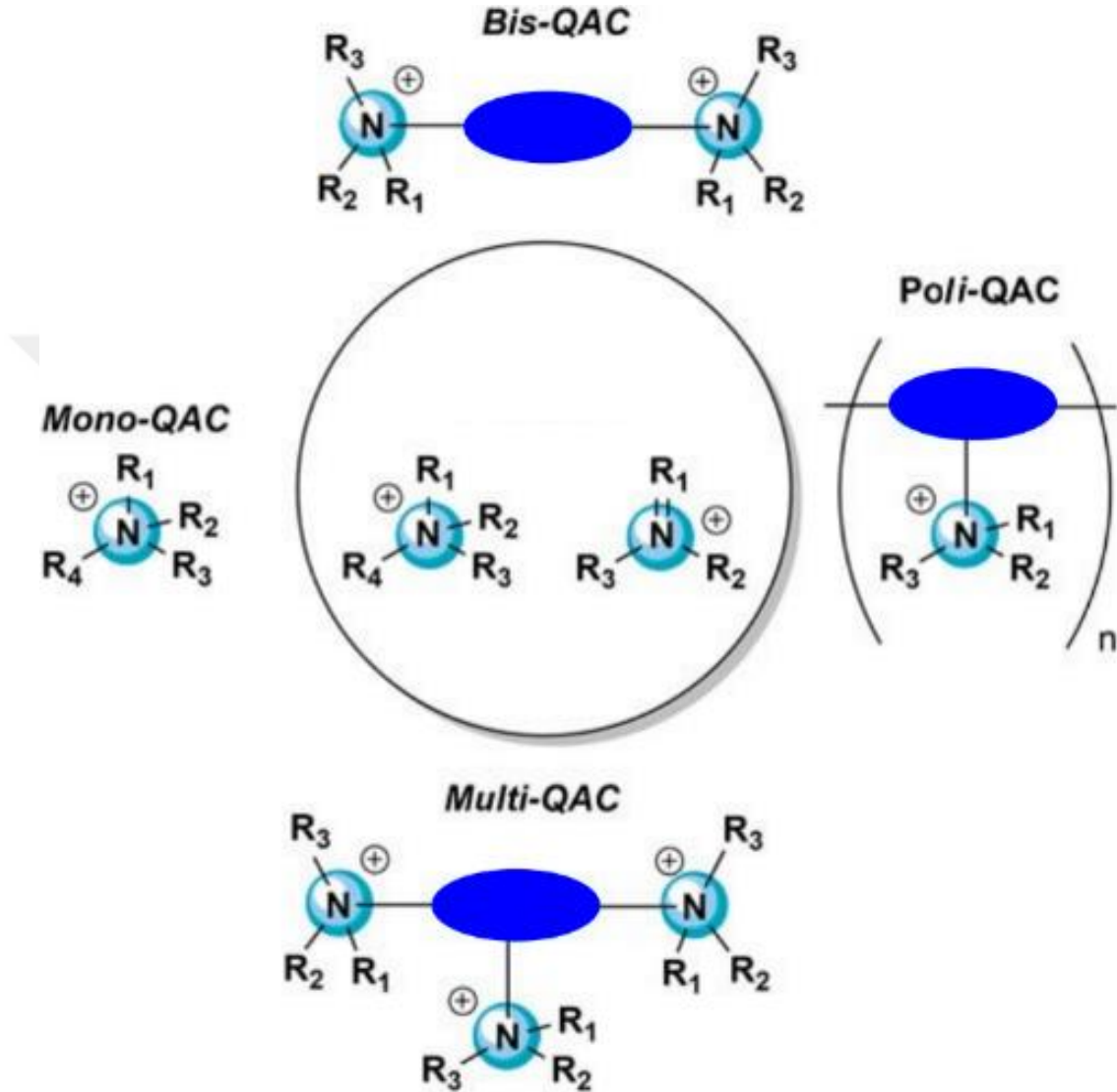
2.5. Kuaterner amonyum bileşikleri

Kuaterner amonyum bileşikleri (QAC'ler), kuatlar olarak da bilinir, antimikrobiyal özellikleri nedeniyle çeşitli tüketici ve endüstriyel ürünlerde kullanılan geniş bir kimyasal sınıftır. Örneğin: temizlik ürünleri, herbisitler, dezenfekte edici ürünler, kozmetikler, göz damlaları, eczacılık ürünleri bu grup içinde yer almaktadır (Boyce 2023). 2019'da QAC pazarının 963,7 milyon dolar olduğu tahmin edilmiştir (XiaoZhi 2020). QAC'lerin uzun bir güvenli kullanım geçmişi vardır ve piyasadaki güvenlik açısından düzenleyici otoriteler tarafından rutin olarak gözden geçirilmektedir (Ogilvie vd. 2021). Ağustos 2020 itibarıyla Liste N, EPA'nın SARS-CoV-2'ye karşı etkinlik kriterlerini karşılayan 482 yüzey dezenfektanı içermektedir. Dezenfektanların yaklaşık % 81'i (n = 389) tek bir aktif bileşen içerirken, kalan dezenfektanlar iki veya daha fazla aktif bileşenin karışımlarından oluşmaktadır. Tek aktif bileşenden oluşan dezenfektanların yaklaşık % 48'i kuaterner amonyum bileşikleri içermektedir (EPA 2021).

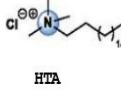
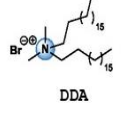
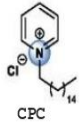
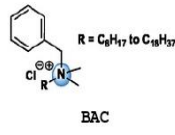
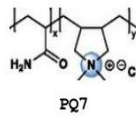
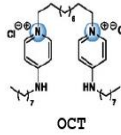
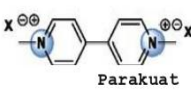
1916'da Jacob kimyasal yapı ile bakterisidal aktivite arasındaki ilişkiyi araştırarak heksametilentetraminin ve türevlerinin kuaterner tuzlarının antimikrobiyal aktivitesini keşfetmiştir (Jacobs vd. 1916). Birkaç yıl sonra, Alman Nobel ödüllü Gerhard Domagk, 1935'te tanınmış ve günümüzde de yaygın olarak kullanılan benzalkonyum veya BAC'ın keşfiyle QAC'nin potansiyelini fark etmiştir (Domagk 1935). QAC'ler etkinliklerinde belirgin bir azalma olmaksızın 1930'lardan beri kullanılmaktadır (Gilbert ve Moore 2005). 1970'lerde, QAC'ler, oral biyofilmleri engellemek için ilk olarak gargaralarda birleştirilmiştir (Rosa ve Sturzenberger 1967; Bonesvoll ve Gjermo 1978). 1994'de, ilk kez, QAC bazlı antimikrobiyal monomer, QAC ile metil akrilolil gruplarının birleştirilmesiyle geliştirilmiştir (Imazato vd. 1994). Bilimin ilerlemesi ile araştırmacılar, performanslarını maksimum biyo-uyumlulukla iyileştirmek için QAC'lerin yapısındaki çeşitli değişiklikleri araştırmaya başlamışlardır (Zhang vd. 2018).

QAC'ler, amonyum bileşiklerin yan ürünleridir ve nitrojene bağlı hidrojenin dördü de hidrokarbil grupları ile değiştirilmektedir. Genel formüller, benzer veya farklı olabilen R_4NX , dört R, hidrokarbidir. Ayrıca, X genel durumlarda bir halojen anyondur ya da $RCOO$, HSO_4 , $RCOO$ gibi asit radikali de olabilmektedir (Gilbert ve Moore 2005). Farklı QAC türleri, yapılarındaki pozitif yüklü azotların sayısına ve daha kesin olarak yanıl zincirlere göre sınıflandırılabilir (Vereshchagin vd. 2021). Birinci sınıflandırma, mono-QAC (bir nitrojen), bis-QAC (iki nitrojen) veya ikiz yüzey aktif

madde, multi-QAC ve poli-QAC'yi (ikiden fazla nitrojen) içermektedir (Şekil 2.3). Multi-QAC, her biri "aralayıcı" adı verilen bir desene bağlı olan en az üç amonyak içeren molekülleri temsil etmektedir. Buna karşılık, poli-QAC dahil olmak üzere artan sayıda tekrarlanan model içeren yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerdir (Peyneau vd. 2022). Farklı çeşitlerdeki QAC'ler Şekil 2.4'te göstermiştir.



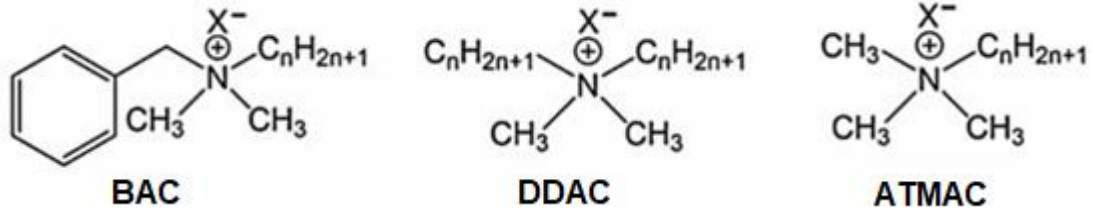
Şekil 2.3. QAC'nin genel yapısı (Peyneau vd. 2022)

QAC'nin türü		Yapı	Grubun üyeleri	Kullanım
Mono-QAC	Tetraetilamonyum		TEA	Potasyum kanal blokleri
	Trimetilalkilamonyum		HTA, CTAB	Cila, dezenfektan ve yol yapım malzemeleri
	Dialkildimetilamonyum		DDA, DDAC	Hastanede dezenfekte / deterjan, antimikrobiyal ajan, yüzme havuzlarında algisit, mantar ilacı, kumaş tazeleyici ve yumuşatıcılar, boya ve cila. Veteriner ve deneysel aşılarda adjuvandır
	Pyridinyum		CPC	Farmasötik kullanımda koruyucu: ağız bakım ürünleri (diş macunu, gargara), burun spreyleri
	BAC-türü		BAC, BE, CKC, miramistin	Yumuşatıcılar, kişisel hijyen ve kozmetik ürünler, göz damlası ve ilaçlarda koruyucu, dezenfektanlar (ev, tanı, endüstriyel, klinik ortamlar)
Poli-QAC			PQ7, PQ10	Kozmetikte kullanılan yumuşatıcı (şampuan, saç kremi, duş jeli, makyaj.)
Bis-QAC	OCT			Cilt antiseptik, dezenfektan, cerrahi ekipmanların dezenfeksiyonu
	Dikuat			Herbisitler
	Parakuat			Herbisitler

TEA, tetraetilamonyum klorür; HTA, heksadesiltrimetilamonyum klorür; CTAB, setiltrimetilamonyum bromür; ODA, dimetildioktadesilamonyum bromür; DOAC, dimetildidesilamonyum klorür; TBM, setilpiridinyum klorür; BAC, benzalkonyum klorür; BE, benzetonyum klorür; CKC, setalkonyum klorür; OCT, oktenidin dihidroklorür; PQ7, polikuaterniyum-7; PQ10, polikuaterniyum-10.

Şekil 2.4. QAC'ler sınıflandırılması (Peyneau vd. 2022)

BAC (benzalkonyum klorür), DDAC (didesildimetilamonyum klorür), ve ATMAC (alkiltrimetilamonyum klorür) C8'den C18'e kadar alkil zincir uzunluklarına sahip en yaygın aktif QAC'lerdir (Mohapatra vd. 2023). BAC, DDAC ve ATMAC yapıları Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. BAC, DDAC ve ATMAC genel yapıları (Mohapatra vd. 2023)

2.5.1. QAC mekanizması

Bakteri hücrelerinin yüzeyi evrensel olarak Mg^{2+} veya Ca^{2+} gibi iki değerlikli katyonlarla stabilize edilmiş negatif bir yük taşımaktadır. Hücre fosfolipid zarı, Gram pozitif bakterilerde teikoik asit ve polisakkarit elementleri içeren peptidoglikan ile kaplıdır. Buna karşılık, Gram negatif bakterilerde peptidoglikan başka bir lipopolisakkarit tabakası ile kaplanmaktadır (Gilbert ve Moore 2005). Her yüzey ayrıca zarın yapısal bütünlüğü, katabolizma, hücre taşıma veya hücre dışı ürünlerin biyosentezi (örneğin toksinler) için gerekli proteinleri içermektedir. Bir QAC bir hücre zarı ile temas ettiğinde, pozitif yüklü azot, bakterinin negatif yüklü zarına güçlü bir şekilde bağlanmaktadır. Molekülün pozitif başı zarın dışında kalırken, hidrofobik yan zincir fosfolipid tabakasına daldırılmaktadır. Bu interkalasyon, fosfolipid iki tabakalı zarın bozulmasına, zar proteinlerinin konfigürasyonunda bir değişikliğe ve ölümüne yol açan bakterilerden sitoplazmik içeriğin sızmasına neden olmaktadır (Gilbert ve Moore 2005). Bu aktivite, QAC'nin yan zincir uzunluğuna göre maksimize edilebilir: Gram pozitif bakteriler için bu aktivite, 12-14 karbondan daha kısa zincir uzunluklarıyla maksimize edilirken, Gram negatif bakteriler için optimal aktivite, 14-16 karbon yan zincirli bileşikler tarafından verilmektedir (Gilbert ve Moore 2005).

QAC'lerin influenza virüslerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (Yamanaka vd. 2014). Bunlar ile SARS-CoV-2 arasındaki dış zarları karşılaştırırken, her ikisi de nispeten benzer fosfolipid çift tabakaları içerdiğinden, QAC'lerin COVID-19'a karşı dezenfeksiyon prosedürleri için viral yükü azaltmada etkili olması gerektiği varsayılmaktadır (Schrack vd. 2020).

2.5.2. QAC'ye maruziyeti

Avrupa birliği ve bazı ülkeler, iki ünlü QAC: DDAC ve BAC'nin gıda endüstrisinde kullanımına izin verilmektedir. Düşük maliyeti nedeniyle süt ürünlerinde ve diğer bazı gıda endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmıştır. Ek olarak, bu bileşiklerin, kısa bir bozunma yarı ömrüne sahip oldukları ve biyo-birikmedikleri için alternatiflerine kıyasla daha çevresel olarak iyi huylu olduklarına inanılmaktadır (Arnold vd. 2023). Bu nedenle, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi tarafından QAC'lerin maksimum 0.1 mg/kg seviyesinde kullanmasına karar verilmiştir. Bununla birlikte, Almanya'da 2015 yılında, bebek süt tozunda QAC'lerin test edildiği bir çalışmada üst sınır değerinden daha yüksek

bir oran tespit edilmiştir (Xian vd. 2016; Slimani vd. 2017). Greyfurt çekirdeği ekstrelerinde, süt ve diğer süt ürünleri gibi işlenmiş gıdalarda yüksek düzeyde QAC bulunmuştur (Takeoka vd. 2001). İnsanlar, dolaylı gıda teması yoluyla veya işlenmiş yüzeylere maruziyet ya da elden ağza transfer yoluyla QAC'lere oral yoldan maruz kalabilmektedir (Şekil 2.6) (Luz vd. 2020). QAC'ler uçucu değildir. QAC'nin solunması, solunabilir partikül boyutlarındaki aerosol oluşumundan, ev spreylelerinden veya tozlara yapışmış QAC'lerden kaynaklanabilmektedir (Clausen vd. 2020).

İç mekânda sert yüzeylere uygulandıktan sonra QAC'lere insan maruziyeti modellenmiştir. Uygulanan dezenfektanların dezenfeksiyondan sonra silinmediği varsayıldığında, ağızdan temasın uygulama sonrası maruziyete en çok (> % 90) katkıda bulunduğu bulunmuştur (Li vd. 2020). Pamuk ve suni ipek gibi malzemelere olan yakınlıklarına bağlı olarak, QAC kalıntılarının uygulamadan sonra tekstil yüzeylerinde kalması muhtemeldir (Dewey vd. 2022). QAC içeren bir ürünün püskürtülmesinden kısa bir süre sonra havada bazı QAC'lerin (BAC C12–C16) yüksek konsantrasyonlarının varlığı bildirilmiştir. Arka plandaki QAC konsantrasyonunun örneklenen iç mekânlarda (alana doğrudan püskürtme yapılmadan) $4.36 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 'e kadar ulaşabileceğini bulmuştur (Zheng vd. 2021).

QAC'ler için dermal absorpsiyon oranlarının genellikle düşük olduğu bildirilmiştir. Sıçanda % 1-2 kuaterniyum 15'e 48 saat maruz kalma ve sıçanda % 1,5'ten az poliaterniyum 10'a maruz kaldıktan 24 saat sonra dermal emilim görülmüştür (Becker vd. 2010, 2012). Alkildimetilbenzil amonyum klorür için *in vitro* insan derisinin dermal emilimi % 8,3'tür (ECHA 2015). Oral absorpsiyon oranları dermal absorpsiyon oranlarından daha yüksektir. Kuaterniyum 15'in sıçan çalışmaları, kuaterniyum 15'in % 84-88 emiliminin olduğunu göstermiştir (Becker vd. 2010). Uygulanan QAC dozunun çoğu dışkıda elimine edilmektedir (ECHA 2015). Kemirgen çalışmalarına göre BAC için, oral yoldan verilen bir dozun % 90-98'i dışkıda elimine edilmiş ve DDAC için dışkıda oral dozun % 89-99'u elimine edilmiştir (Hrubec vd. 2021).

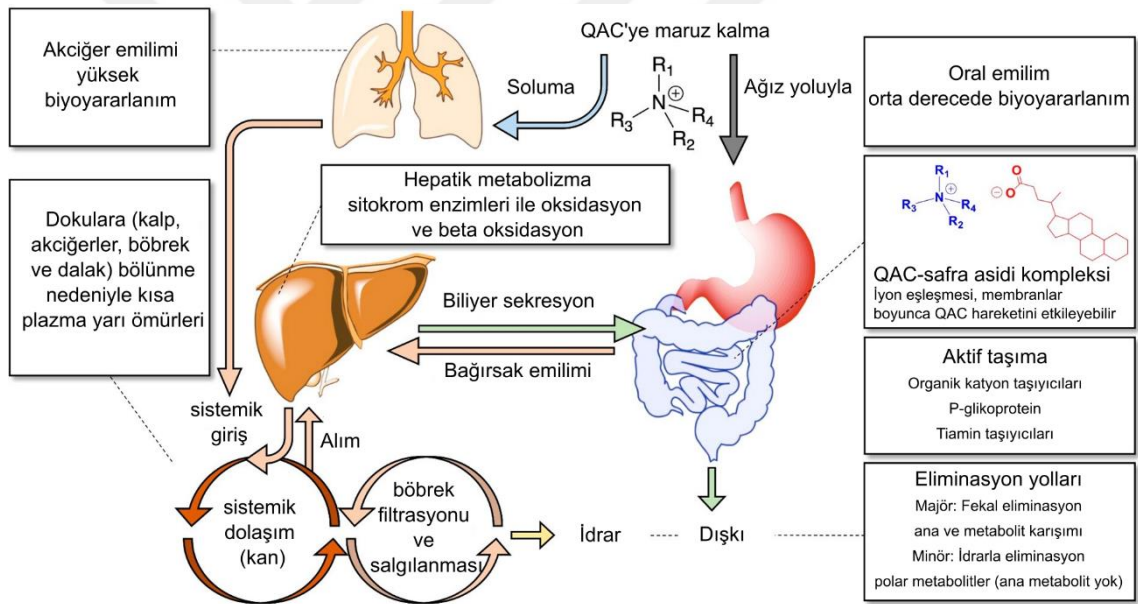
Genel popülasyondan alınan kan örneklerinde QAC tespit edilmiş ve COVID-19 pandemi sırasında daha yüksek seviyeler gözlenmiştir. COVID-19 pandemisi öncesinde toplanan örneklerde insan plazmasında 5 QAC tespit edilmiş ve bu QAC'lerin toplam konsantrasyonları, % 80'e varan tespit sıklığıyla 0.01 ila 58.7 ng/mL arasında değişmiştir (Hrubec vd. 2021). COVID-19 salgını öncesinde ve sırasında toplanan 222 ABD-Indiana'da yaşayan sakininden alınan insan serumunu analiz etmiştir. Örneklerin % 97'sinde 15 QAC (ATMAC C12–C18, BAC C8–C18, DADMAC C8:C8–C10:C10 ve C14:C14–C18:C18) tespit edilmiştir. Pandemi sırasında toplanan örneklerdeki toplam QAC konsantrasyonları, pandemi öncesi toplanan kan örneklerine göre anlamlı derecede yükselmiştir (% 77 artış) (Zheng vd. 2021).

Anne sütünde QAC'ler de bulunmuştur, bu da emzirmenin, emzirilen bebekler için önemli bir maruz kalma yolu olabileceğini düşündürmektedir. ABD'deki kadınlardan toplanan anne sütünde 13 QAC (ATMAC C8–C18, BAC C10–C18 ve DADMAC C8–

C10) tanımlamıştır. En çok bulunan QAC, medyan konsantrasyonu 0.45 ng / mL olan dodesilbenzildimetilamonyum klorürdür (BAC C14) (Zheng vd. 2020).

Japonya’da birkaç akut yüksek düzeyde maruz kalma olayı, QAC’lerin oral yoldan alındıktan sonra insan kanında kolayca tespit edilebileceğini göstermektedir. Bir oral BAC zehirlenmesi vakasında, birey hazımsızlıktan 18 gün sonra öldüğünde kanda C12, C14 ve C16 BAC’lerin hala mevcut olduğu, ancak bu BAC’lerin idrarda tespit edilemediği açıklanmıştır. Bu nedenle, akut maruziyet, QAC’lerin oral olarak emilebileceğini ve insan vücudunda uzun süre kalabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca akut maruziyette, çoklu organ yetmezliği nedeniyle böbrek fonksiyonunu azaltmıştır (Mishima-Kimura vd. 2018). BAC C10, C12, C14 ve C16, ana ksenobiyotik metabolize edici enzimler olan insan sitokrom P450’ler tarafından metabolize edilmiştir (Seguin vd. 2019).

Bununla birlikte, bu çalışmalar tek bir oral doza dayanmaktadır; kronik maruziyetten sonra dokudaki birikimi değerlendirilmemiştir. Ayrıca, dışkıda QAC’nin yoğun olarak bulunması, düşük emilimi net bir şekilde göstermemektedir (Hrubec vd. 2021).



Şekil 2.6. QAC’ler için emilim, dağılım, metabolizma ve atılım yolları (Arnold vd. 2023)

2.5.3. QAC’lerin farklı etkileri

- Apoptosis ve Necrosis

Mitokondriyal matriksin negatif yükü, QAC’lerin pozitif yükü ve biyolojik zarlardan geçme yeteneği ile birleştiğinde, bileşiklerin mitokondride hücre içi seviyelerin 100 kat üzerinde birikmesini sağlamaktadır (Murphy ve Smith 2007). Hücrelerinin mitokondrisinde QAC birikimi, apoptotik veya nekrotik hücre ölümüne yol açan ATP üretiminin azalmasına neden olmaktadır. QAC’ler mitokondriyal kompleks I’i inhibe etmektedir. Kompleks I’in inhibisyonu, mitokondriyal membran potansiyelinin

çökmesine neden olmaktadır. Mitokondriyal membran potansiyelindeki kayba, kalsiyum ve potasyum iyonu sızıntısı ile kanıtlandığı gibi artan membran geçirgenliği aracılık etmektedir (Datta vd. 2017). İnsan hücre hatları, daha düşük dozlarda apoptoz öncesi sinyalleme meydana geldiğini, yüksek QAC seviyelerinin hızla ATP'yi tükettiğini ve nekrotik hücre ölümünün meydana geldiğini göstermiştir (Inácio vd. 2011).

- İnflamasyon

Proinflamatuvar sinyalleme, zar bütünlüğünün hasara bağlı kaybının ardından meydana gelmekte ve potansiyel olarak artmış vasküler geçirgenliğe, protein sızıntısına ve enflamatuvar sinyal kaskadının daha fazla yayılmasına yol açmaktadır. Bu, esas olarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu içeren sitotoksiteden kaynaklanmaktadır. Apoptoz yoluyla hücre ölümü de iltihaplanmaya yol açabilir, ancak nekrozdan daha azdır (Rock ve Kono 2008). Solunum yolu hücrelerinde *in vivo* farelerde QAC uygulaması, gelişmiş vasküler geçirgenlik ve proteinlerin sızmasını sağlayan zar bütünlüğünün kaybına neden olmaktadır. Bu hasar, bağışıklık hücrelerinden kaynaklanan oksidatif strese yol açan iltihaplanmaya neden olmaktadır (Ohnuma vd. 2011).

- Solunum sistemi etkileri

QAC'ler içeren dezenfektanlara ve temizlik ürünlerine maruz kalmanın iş yerlerinden görülen astımla bağlantılı olduğunu bulunmuştur. QAC'ler, spesifik bir immünolojik tepkiye duyarlı mekanizma yoluyla işle ilgili astımı indükleyebilmekte ve bu tahriş de rol oynayabilmektedir (Paris vd. 2012; Gonzalez vd. 2014). Benzalkonyum klorür aerosolüne maruz kalma, solunduktan sonra sıçanda akciğer hücresi hasarına ve iltihaplanmaya neden olmuştur (Kwon vd. 2019).

- Üreme ve gelişimsel etkileri

Alkil (% 60 C14, % 25 C12, % 15 C16) dimetilbenzil amonyum klorür ve didesildimetil amonyum klorür karışımı içeren bir QAC dezenfektanın kullanıldığı tesislerde barındırılan farelerde doğurganlıkta azalma gözlenmiştir (Melin vd. 2014). Hayvan tesisinde kullanılan QAC dezenfektanına yalnızca çevre yoluyla maruz kalan erkek farelerde de sperm sayısında azalma tespit etmiştir (Melin vd. 2016). Dezenfektan içeren diyetle maruz kalan fareler ve sıçanlar, erken gebelikte nöral tüp defektleri göstermiş ve geç gebelikte yavru büyüklüğü ve hayatta kalma kabiliyetinde azalma belirlenmiştir (Hrubec vd. 2017). Fareler diyet yoluyla benzildodesildimetil amonyum klorüre veya benzil heksadesil dimetil amonyum klorüre maruz bırakılmıştır. Bu benzalkonyum klorürlerin her ikisi de yenidoğan beyin dokularında tespit edilmiş ve plasental ve embriyonik kan-beyin bariyerleri boyunca aktarımın olduğu belirlenmiştir (Herron vd. 2019). Benzalkonyum klorüre veya benzetonyum klorüre maruz kalma, embriyonik mortalite ve zebra balıklarında morfolojik malformasyonlar ve *Caenorhabditis elegans*'ta germline toksisitesi ile sonuçlanmıştır (Sreevidya vd. 2018).

- Deri etkileri

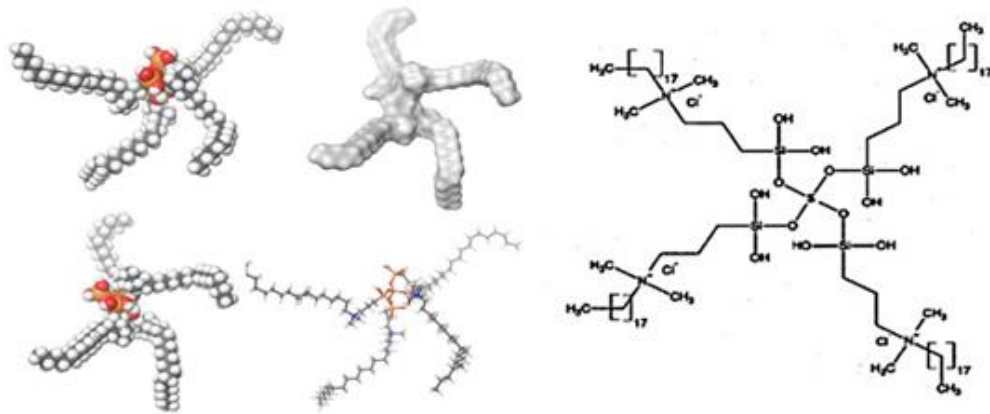
Alerjik kontakt dermatit, lateks eldivenlerde setilpiridinyum klorür ve nemlendirici bir losyonda kuaterniyum 15 gibi bazı QAC maruziyetleriyle olduğu tespit edilmiştir (Steinkjer 1998; Cahill ve Nixon 2005). Didesildimetil amonyum klorüre dermal olarak maruz kalan farelerde gözlenen cilt tahrişi ve alerjik duyarlılık gelişimi de bildirilmiştir (Anderson vd. 2016). 3D cilt modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, QAC ürünlerinin uygulanmasının cilt mikrobiyotasının bileşimini ve çeşitliliğini değiştirebileceğini gözlemlemiştir (Frantz 2023).

- Bağırsak mikroflorasında etkileri

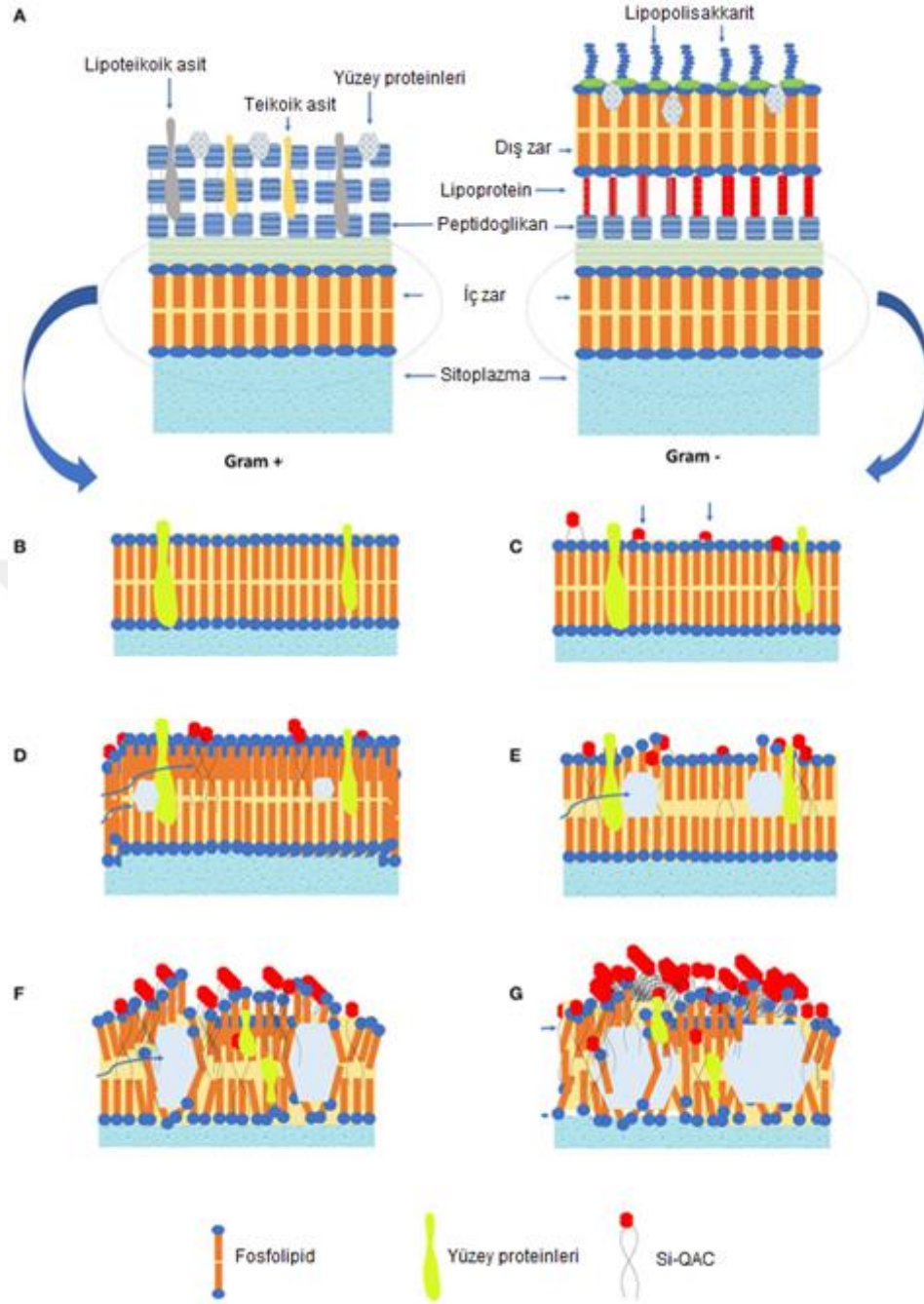
Vücuda giren QAC'ler dışkıda metabolize edilmeden atılır. Bu, aktif dezenfektanın sindirim sisteminden geçerken bağırsak mikroflorasını değiştirebileceğini göstermektedir. QAC'lerin yaygın kullanımı mutasyonla antibiyotik direncin artışına sebep olduğu ve bağırsak mikroflorası ile etkileşerek bağışıklık fonksiyonunu değiştirebilmektedir (Valerie vd. 2017).

2.6. Si-QAC'lerin tanımı ve mekanizması

1970'lerin başlarında bildirildiği gibi, Dow Corning corporation, 3-(trimetoksisilil)-propildimetiloktadesil amonyum klorürü (Si-QAC) ABD Çevre Koruma Ajansı'na kaydettirmiştir (Battice ve Hales 2016). Bilinen Si-QAC (kod adı K21; $C_{92}H_{204}Cl_{14}N_4O_{12}Si_5$; Şekil 2.7), 3-(trioksisilil)-propildimetiloktadesil amonyum klorürün tetraetoksisilan (TEOS) ile reaksiyonu ile sol-jel yöntemiyle üretilmektedir (Daood vd. 2020).



Şekil 2.7. K21 genel yapısı (Bapat vd. 2022)



Şekil 2.8. Si-QAC'nin antibakteriyel mekanizması. (A) Gram + ve Gram - bakterilerin hücre zarı yapısı. (B) Fosfolipidlerin ve yüzey proteinlerinin yapı düzenini gösteren hücre zarının normal yapısı. (C) Membran fosfolipidlerinin baş grubunda adsorbe edilen Si-QAC molekülleri. (D) Hidrofilik kuyruk, zarın hidrofobik çekirdeğine karışarak boşluk oluşumuna yol açmaktadır. (E) Artan penetrasyon, genişlemiş boşluk oluşumuna yol açarak zarın daha da zayıflamasına neden olmaktadır. (F) Membran yapısının, altıgen bir düzene sahip akışkan kristal durumuna dönüşmesi. (G) Protein pertürbasyonu meydana gelmekte ve fosfolipidin çözünmesi, hücre zarı yapısının kaybına ve hücre parçalanmasına yol açmaktadır (Bapat vd. 2022)

Si-QAC diş hekimliğinde biyofilmi diş dokularından uzaklaştırmak için kullanılmıştır. Ayrıca, Si-QAC kavite dezenfektanı, endodontik irrigant, kök kanal ilacı ve ilaç verme yaklaşımları için bir nano-taşıyıcı olarak test edilmiştir (Bapat vd. 2022). Si-QAC'ler, en az bir ana hidrofobik elementle bağlantılı bir kuaterner nitrojene sahip amfoterik yüzey aktif maddelerdir. N-alkil zincir uzunluğu, Si-QAC'ın lipofilik etkisini belirlemektedir. Si-QAC'ın güçlü antimikrobiyal işlevi, bakteriyel hücre zarına nüfuz ederek hasara neden olabilen $-C_{18}H_{37}$ lipofilik alkil zincirinden kaynaklanmaktadır. Si-QAC, negatif yüklü lipit kısımları olarak kardiyolipin ve fosfatidilgliserol içeren bakteri zarına doğru çekilen pozitif yüklü azot atomlarına sahiptir (Şekil 2.8) (Alkhalifa vd. 2020, Tagorti vd. 2024).

2.7. Genotoksisite

DNA, kısmen hücresel solunum sürecinde çalışan elektron taşıma zincirinden sızıntı ve fizyolojik metabolizmadan elektrofıl sızıntısı nedeniyle reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve diğer elektrofillerin üretildiği endojen süreçlerden sürekli olarak zarar görmektedir (Zhao vd. 2023). Her insan hücresinin günde yaklaşık 70.000 lezyona maruz kaldığı tahmin edilmektedir (Lindahl ve Barnes 2000). ROS, guanini oksitleyerek 8-oksoG oluşturur. 8-oksoG, adenin ile eşleşebilir ve GT mutasyonları oluşturabilir. DNA tek iplik kırıkları, çok daha az sıklıkta olmasına rağmen daha tehlikeli olan DNA çift kırıklarına da dönüşebilmektedir (Cox 2013).

Genotoksisite, kimyasal bileşiklerin ve metabolitlerin DNA ve/veya genom bütünlüğünü kontrol eden hücresel işlevler ile etkileşime girme yeteneğini tanımlar (Butterworth 2006). Genotoksik maddeler, iplik veya kromozom kırıkları gibi DNA hasarı üretmek için doğrudan DNA veya kromozomlarla etkileşime girmekte veya dolaylı olarak genomik bütünlüğü çeşitli mekanizmalar yoluyla, özellikle (1) DNA replikasyonu, transkripsiyonu veya onarımında rol oynayan proteinlerle; (2) mitotik iğ bileşenleri ile; veya (3) hücre döngüsü kontrol noktalarından sorumlu protein kinazlarla etkileşime girerek bozmaktadır (Magdolenova vd. 2014). Genotoksik maddeler genellikle mutajenitelerine göre, bir DNA hasarının bir mutasyona dönüşmesi, klastojenite, kromozom yapısının modifikasyonu ve öjeniklik, kromozom sayısındaki değişiklikler (kayıp veya kazanç) şeklinde sınıflandırılır (Muller vd. 2008). Mutasyonların ortaya çıktığı süreç olan mutajenez, bir mutajene maruz kalmadan kendiliğinden ortaya çıkabilir veya fiziksel veya kimyasal mutajenler tarafından indüklenebilmektedir. Bir DNA lezyonunun kalıcı ve kalıtsal bir mutasyona dönüştürülmesi, DNA replikasyonunu gerektirmektedir. Eklenen baz “yanlış eşleşme” ve “anlamsız” mutasyonlara yol açabilirken, insersiyon veya delesyon, her ikisi de değiştirilmiş gen ifadesine yol açan çerçeve kayması mutasyonlarına neden olabilmektedir (Magdolenova vd. 2014). Ayrıca, bazı genotoksik olmayan ajanlar, DNA onarım mekanizmalarına etki ederek veya hücre çoğalmasını uyararak dolaylı olarak mutajenezi artırabilmekte, bu da replikasyon sıklığını artırmaktadır (Dixon ve Kopras 2004).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan kimyasallar

β -gliserofosfat, agar, bowine serum albümin (BSA), Coomassie blue, düşük erime ısısına sahip agaroz (LMA), etanol, eter, etidyum bromür (EtBr), etil alkol, etilendiamin tetraasetik asit (Na_2EDTA), etil metansülfonat (EMS), N-feniltiyöre, fosfat tamponlu salin (PBS), gliserol, gum arabik, kloral hidrat, N-larin sarkozin sodyum, normal erime ısısına sahip agaroz (NMA), orto-fosforik asit, propiyonik asit, sodyum hidroksit (NaOH), sodyum klorür (NaCl), sodyum pirofosfat, tripan mavisi, triton-X, ve trizma Sigma Aldrich firmasından satın alınmıştır. Si-QAC'ler Akdeniz Üniversitesi kimya bölümünden alınmıştır. Caspase-Glo 3/7, 8, ve 9 kitleri Promega firmadan, TAS/TOS kitleri Baran Medikal firmasından satın alınmıştır. TissueLyser, RNeasy mini izolasyon ve RT² first strand kitleri Qiagen firmasından satın alınmıştır.

3.2. Si-QAC sentezi

Si-QAC sentezinde, ayrı ayrı olmak üzere 5 farklı QAC ile (3-Kloropropil) trimetoksisilan bileşikler molce 1:1 ile kullanılarak bir çözelti ortaya çıkarılmıştır (Çizelge 3.1) ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerinde bulunan yağ banyosunun sıcaklığı 130 °C'ye sabitlenerek sistemde inert atmosfer oluşturmak amacıyla sisteme azot gazı verilmiştir. Sistem sıkı bir şekilde kapatılarak reaksiyon bu şekilde sentez gerçekleşene kadar tutulmuştur. Bu süreçte Si-QAC bileşiklerinin viskozitelerinde bariz bir artış ve neredeyse renksiz olan başlangıç maddeleri ile kıyaslandığında oluşan bileşiğin renginde koyu renkte bir sararma tespit edilmiştir.

Çizelge 3.1. Sentez sırasında kullanılan maddeler

N,N-Dimetildodesilamin	(3-Kloropropil)trimetoksisilan	Si-QAC-1
N,N-Dimetiltetradesilamin		Si-QAC-2
N,N-Dimetilheksadesilamin		Si-QAC-3
1-Heksadesilamin		Si-QAC-4
N,N-Dimetiloktadesilamin		Si-QAC-5

3.3. Si-QAC konsantrasyon belirlenmesi

Hazırlanan Si-QAC bileşiklerinin konsantrasyonlarının belirlenmesi için UV Spektrofotometresi (Varian Cary 5000) ve GC-MS (Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi, Shimadzu, İtalya) cihazı ile istenilen ölçüm sonuçları elde edilemediği için ASTM D2074 “Alternatif İndikatör Yöntemi ile Yağ Aminlerinin Toplam, Birincil, İkincil ve Üçüncül Amin Değerleri için Standart Test Yöntemleri” ne göre titrasyon ile

reaksiyon takibi yapılmıştır. Titrasyon gerçekleşmesi için; 250 mL’lik bir erlene 1 ila 4 g $\pm 0,1$ mg arasında ürün hassas bir şekilde ölçülmüştür. Sonra 50 mL alkol eklenmiş ve mevcut olabilecek serbest amonyağı atmak için 1 dakika kaynatılmıştır. Oda sıcaklığına soğutarak 5 damla bromfenol mavisi indikatörü eklenmiş ve dönüm noktasına kadar 0,2 N hidroklorik asit ile titre edilmiştir. Bu işlem ile birlikte reaksiyonun % kaçının gerçekleştiği hesaplanmıştır.

3.4. Si-QAC karakterizasyonu

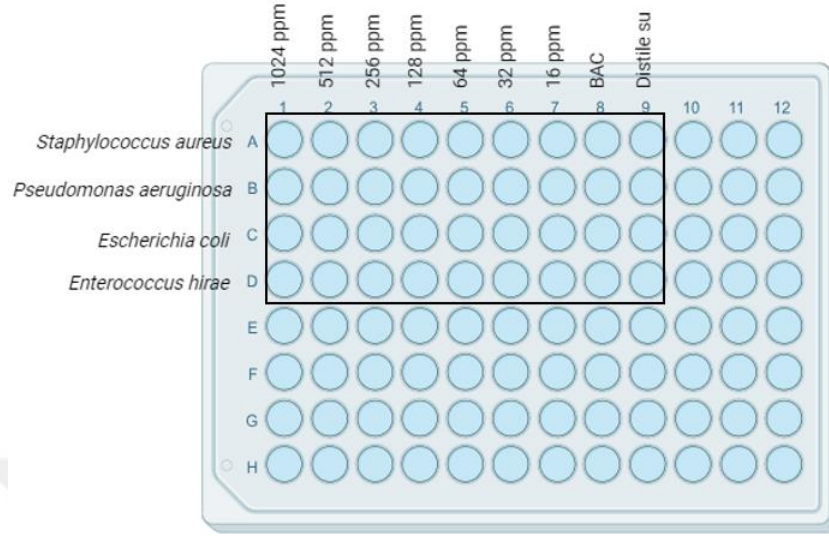
Elde edilen Si-QAC bileşiklerinin karakterize etmek için FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) laboratuvarı bulunan Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesinde yer alan Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır. Si-QAC bileşiklerinin MİK testi sonucuna göre en iyi sonuca sahip bileşiğin moleküler yapısını $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ analizleri ile karakterize etmek için nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi laboratuvarı bulunan Orta Doğu Teknik Üniversitesi’ne (ODTÜ) gerçekleştirilmiştir.

3.5. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) testi

Dilüsyon testlerinden minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) önemli temel antibakteriyel test parametresi için rutin olarak kullanılan testlerden biridir. Çalışma kapsamında sağlık bakanlığının yayınladığı Biyosidal Ürün Analizleri ve Yetki Verilen Laboratuvarlar Hakkında Talimata göre (HSGM 2021) belirtilen, medikal, umumi ve kişisel alanda kullanılacak biyosidal ürünler için test organizmaları doğrultusunda *Escherichia coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 ve *Enterococcus hirae* ATCC 10541 olmak üzere dört farklı bakteri türü için “CLSI Bakteriler İçin Dilüsyon Antibakteriyel Duyarlılık Test Metodu” kullanılarak kuaterner amonyum silan bileşiklerinin MİK değerleri belirlenmiştir.

İlk olarak her bakteri türü için 0,5 Mc Farland ayarlanarak buradan 10^6 olacak şekilde seyreltme sağlanmıştır. MİK testi 5 adet sentezlenen Si-QAC ve antibakteriyel aktivitelerini karşılaştırmak amacıyla benzalkonyum klorür (BAC) ile tespit edilmiştir (Şekil 3.1). Si-QAC bileşiklerinin ve başlangıç çözeltilerinin saf su ile 1024 ppm’lik çözeltileri hazırlanmıştır. Sonra, 2 gün boyunca saf su içerisinde bekletilmiş, ardından 96 kuyucuklu mikropelateler 100 μL sıvı besiyeri katılmıştır. 1024 ppm madde konsantrasyonlarına sahip çözeltilerden 100 μL alınarak 1 numaralı kuyucuğa pipetaj yapılarak ilave edilmiştir. Daha sonrasında 1 sayısı ile başlayan dikey sıradan her Si-QAC bileşiği için farklı mikropipet ucu kullanmak şartı ile 100 μL alınarak bakteri analizlerde kullanılan dilüsyon yöntemini takiben soldan sağa doğru $\frac{1}{2}$ oranında seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir. Her seyreltme aşamasında mikropipet ile çözeltiler iyice karıştırılmıştır. Her bir oyukta bulunan 100 μL çözeltiye daha önceden pasajlanmış ve 0.5 Mc Farland’a ayarlanmış bakteri süspansiyonlarının 2. dilüsyon tüpünden yoğunluğu yaklaşık 5×10^6 CFU/mL olacak çözeltiler yapılmıştır. Her bir kuyucuğa farklı mikropipet uçlarıyla bakteri süspansiyonundan 25 μL ilave edilmiştir. Daha sonra oyuklu

plakanın üstü kapatılarak 37 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İki gün sonra oluşan bulanıklara göre çözeltilerin MİK değerleri tespit edilmiştir.

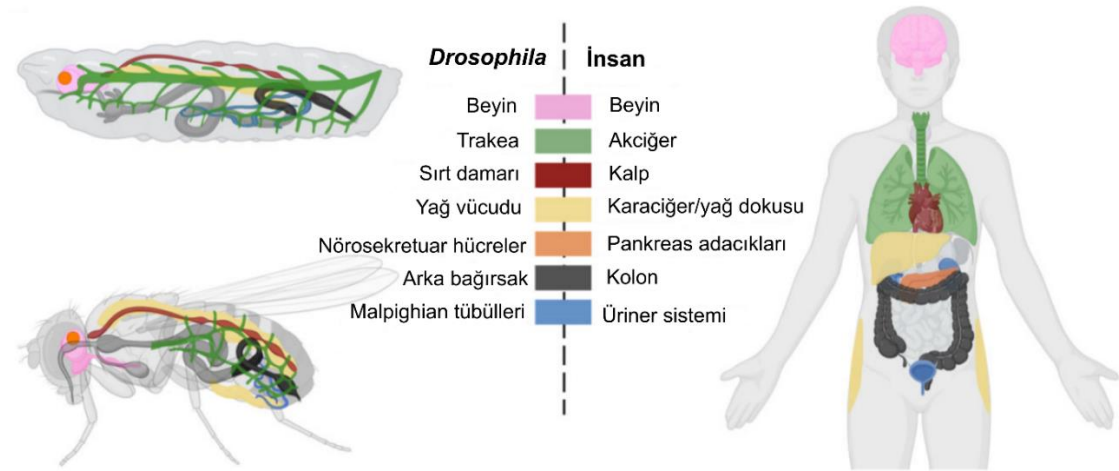


Şekil 3.1. MİK testi kullanılan oyuklu plaka

3.6. *Drosophila melanogaster*

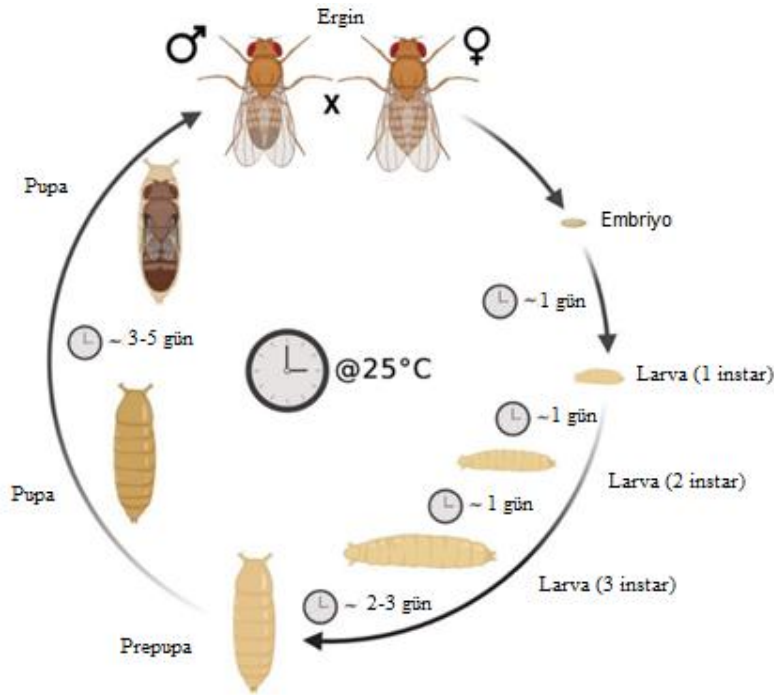
Meyve sineği (*Drosophila melanogaster*), biyolojinin farklı alanlarında araştırma için bir model olarak kullanılmaktadır (Brischigliaro vd. 2023). *Drosophila*’nin birçok avantajı, onu temel genetik prensipleri, kalıtım mekanizmalarını, kromozomları ve genleri ve mutajenezi anlamada en önemli ökaryotik organizma haline getirmiştir. Bu avantajlar arasında küçük bir vücut büyüklüğü (2-3 mm), laboratuvarda kolay ve ucuz yetiştirme ve bakım, çiftleşme başına çok sayıda yavru (günde ~ 100 yumurta) ve hızlı bir yaşam döngüsü (25 °C’de yaklaşık on gün) bulunmaktadır (King 1975). Ek olarak, meyve sineği araştırma çalışmalarında daha yüksek laboratuvar hayvanlarının kullanımının yerini alan 3R ilkesinin (Değiştirme, İyileştirme, Azaltma) mükemmel bir örneğidir (Fuentes vd. 2022).

D. melanogaster’ın genomu dizilmiş ve 2000 yılında yayınlanmıştır (Adams 2000; Myers 2000). Yaklaşık 180 Mb’lık bir boyuta sahiptir, bunun yaklaşık 120 Mb’ı ökromatindir (Adams 2000; Celniker vd. 2002). Tahmin edilen protein kodlayan gen sayısı 14.000’den fazladır ve yaklaşık 3000’i ise protein kodlamayan genlerdir (Brown vd. 2014; Kaufman 2017). Tüm insan genlerinin yaklaşık % 60’ı ve insan hastalıklarıyla ilgili genlerin % 75’inin meyve sineğinde homologları vardır (Ugur vd. 2016; Yamamoto vd. 2014, Kaya vd. 2022). Bu özellikler *D. melanogaster*’ı hem temel hem de uygulamalı genetik çalışmalar için çekici bir organizma yapmaktadır (Şekil 3.2).



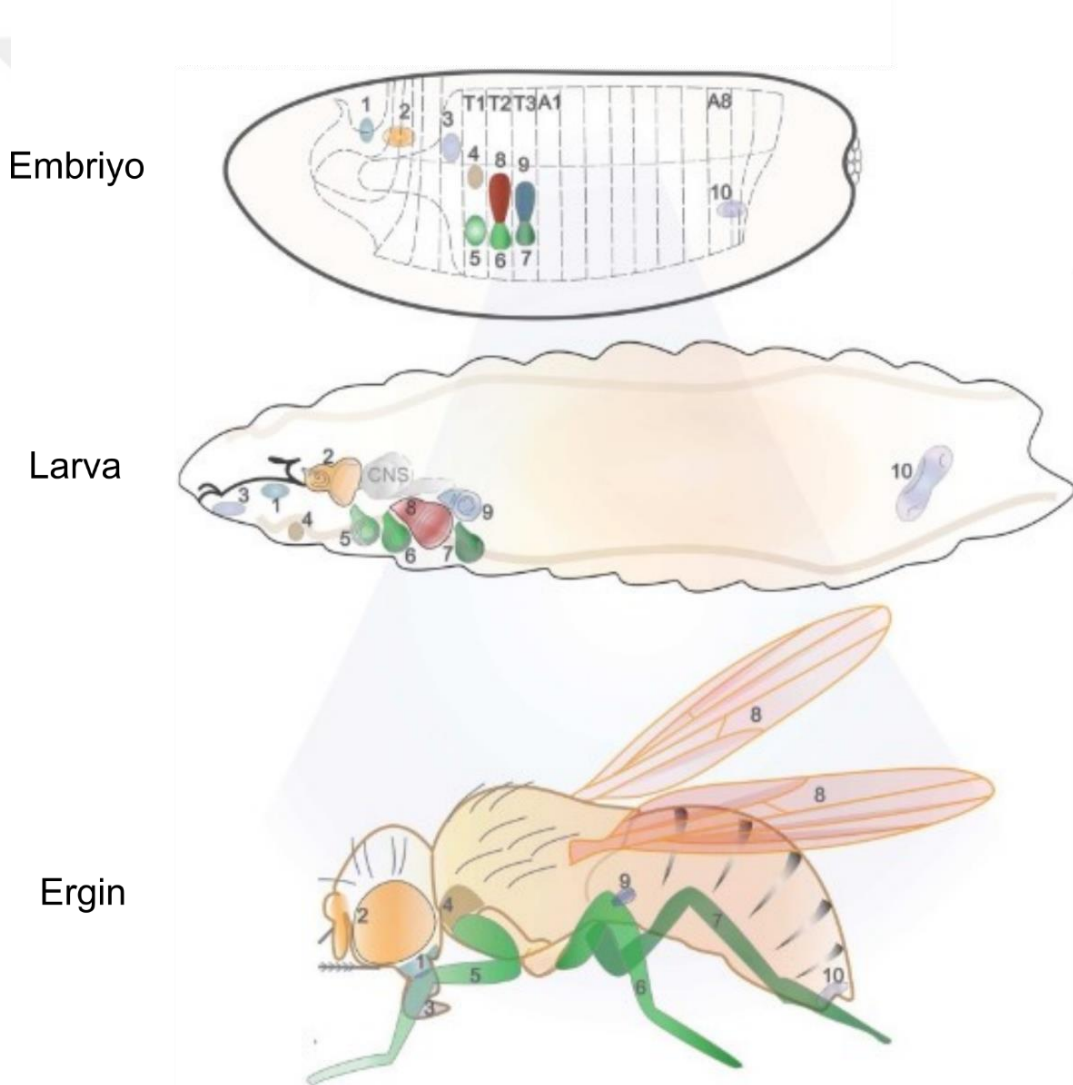
Şekil 3.2. *Drosophila* ve insanlar arasındaki yapıları ve işlevleri ile ilgili benzer dokular veya organlardır (Jiang vd. 2022)

Ergin dişi ve erkek sinekler arasında çiftleştikten sonra döllenmiş yumurtalar dış ortama bırakılmakta ve embriyo ~ 24 saat içinde birinci evre larvaya dönüşmektedir (Şekil 3.3). Daha sonra larvalar büyümekte ve her biri ~ 24 saat süren iki larva aşamasından daha (ikinci ve üçüncü evre) geçmektedir. Larva aşamalarında, *D. melanogaster* metamorfoz için gerekli olan yüksek glikolitik akı, laktat üretimi ve yüksek oranda glikojen sentezi ve trigliserit birikimi gerçekleşmektedir. Pupa evresinde metamorfoz oluşur (3-5 gün) ve ergin sinek dokuları oluşmaktadır. Metamorfozun sonunda, pupa'dan eklozyon meydana gelmektedir. Sinekler, yetiştirme koşullarına (yani sıcaklık ve diyet bileşimi) bağlı olarak 60-90 gün yaşamaktadır (Brischigliaro vd. 2023).



Şekil 3.3. 25 °C'de meyve sineği yaşam döngüsü (Brischigliaro vd. 2023)

Gelişim sırasında, birçok organizma önce ergin vücut yapılarının minyatür versiyonlarını geliştirmekte ve bu da sonunda boyut olarak artmaktadır (Şekil 3.4). Bununla birlikte, *Drosophila*, yaşam döngüsü boyunca önemli morfolojik değişikliklere uğramaktadır. Ergin bireyler iyi gelişmiş uzantılara (gözler, kanatlar, bacaklar, halterler ve cinsel organlar) sahipken, larvalar beslenme veya yiyecek arama gibi basit davranışlar için daha az karmaşık yapılara ihtiyaç duymaktadır. Erginde dış uzantılara dönüşecek yapılar larva içinde korunmaya devam etmekte ve "imajinal disk hücreler" olarak adlandırılmaktadır. İmajinal yapılar, diskler olarak bilinen epidermal kese benzeri hücre kümeleriyle sınırlı değildir, aynı zamanda histoblast, bağırsak ve tükürük bezlerinin diğer küçük hücre gruplarını da içermektedir (Cohen 1993; Lawrence ve Morata 1992). Larvada toplamda 19 disk vardır; epidermal yapılar oluşturacak dokuz taraflı çift ve bir genital disk (Held 2005).



Şekil 3.4. *Drosophila* imajinal diskleri, embriyonik primordileri ve ergin birey kütiküler ürünleri (Beira ve Paro 2016)

Standart *Drosophila* besini

Standart *Drosophila* besini, Lewis (1960) tarafından incelenen standart mediumuna göre seçilmiştir. Lewis besin ortamının içeriği Çizelge 3.2’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2. Standart *Drosophila* besini içeriği (Lewis 1960)

Bileşikler			Miktar
Mısır unu			104 gr
Şeker			94 gr
Maya			19 gr
Agar			5 gr
Distile su			1020 mL
Asit karışımı	Orto-fosforik asit	83 mL	6 mL
	Propiyonik asit	836 mL	
	Distile su	108 mL	

Hazır *Drosophila* besini

1,5 gr *Drosophila* hazır besini [Blue Formula® (Ward’s science, ABD)] test edilen farklı kimyasalların 9 mL’si ile ıslatılmasıyla hazırlanmaktadır.

3.6.1. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi

MİK testinin sonuçları alındıktan sonra, her tip dezenfektan için test edilen bakterilerin hepsini öldürebilen en yüksek konsantrasyon % 100 konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Buna göre her bir Si-QAC için % 25, % 50, % 100, % 200 ve % 300’lik konsantrasyonlar seçilmiştir. Ek olarak, çalışılacak olan konsantrasyonlar, *Drosophila* larvalarının pupadan çıkış başarısı temel alınarak belirlenmiştir. Çalışılan konsantrasyon % 50’den az ölüme neden olursa, bu çalışma için kullanımına devam edilmiştir.

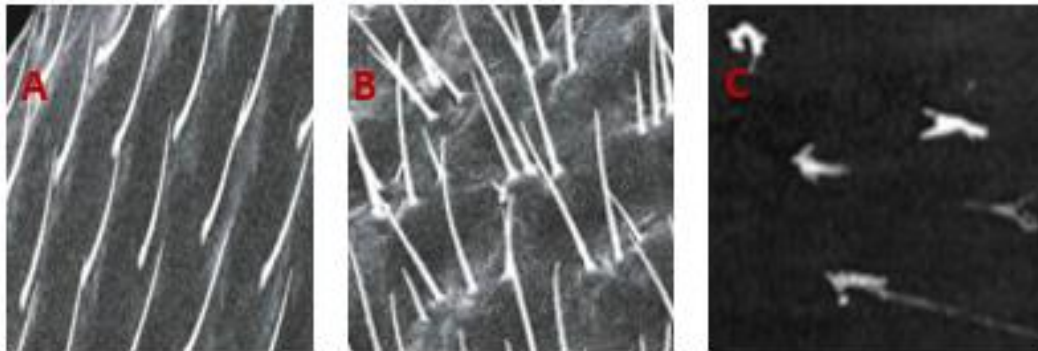
Bu deney aşağıdaki adımlara göre gerçekleştirilmiştir;

1. *Drosophila* Oregon R⁺ hattından 8 saat boyunca yumurta toplama işlemi gerçekleştirilmiştir.
2. Her tüp için 1,5 gr *Drosophila* hazır besini üzerinde 5 test edilen Si-QAC’ler 5 farklı konsantrasyonlarda (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) 9 mL’si ile ıslatılarak ve 50 üçüncü larval evre (72 ± 4 saatlik) aktarılmıştır.
3. Her uygulama grubu için 3 tekrar gerçekleştirilmiştir.
4. Ergin hale döndükten sonra, tüm bireyler boş tüplere aktarılmış, eter ile bayıltılarak ve sayımları gerçekleştirilmiştir.
5. Elde edilen sonuçlar ölüm yüzdesi şeklinde ifade edilmiştir.

3.6.2. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

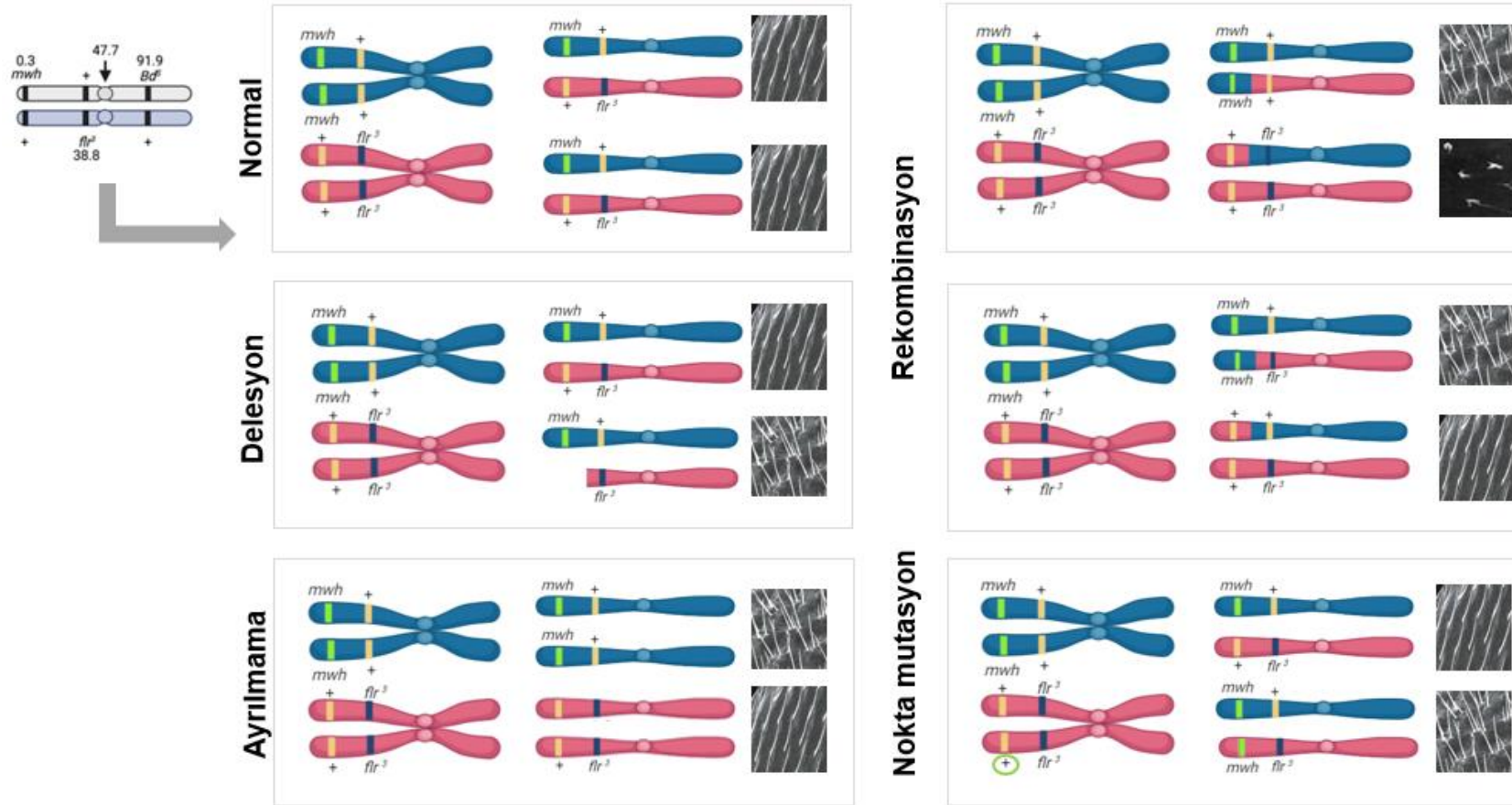
Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) veya kanat klon testi, transheterozigot bireylerde bölünen kanat imajinal disk hücrelerinin genetik hasar indüksiyonu ile heterozigotluğun kaybolması ile ergin birey kanatlarında mutant kanat olarak fenotipe yansımaya neden olmaktadır (Graf vd. 1984). İmajinal disk hücreleri, larva gelişimi sırasında her 10 saatte bir çoğalabilmektedir. Hızlı hücre çoğalması nedeniyle, genotoksinlerin larva genomu ile etkileşime girme şansı daha yüksektir ve SMART'ı hassas bir genotoksisite testi haline getirmektedir (Graf vd. 1984; Aldaz vd. 2010). SMART testi ile mutasyon (nokta mutasyon, delesyon, ayrılma) ve rekombinasyonu değerlendirebilmektedir (Graf vd. 1984, Kaya vd. 2022).

SMART testi için iki *Drosophila* hattı kullanılmaktadır: (i) çoklu kanat trikomları olan (*mwh/mwh*) ve (ii) *flare* (*flr³/In(3LR) TM3, ri p^p sep l(3)89Aa bx^{34e} e Bd^S*) (Lindsley ve Zimm 1992). *mwh* (3-0,03) geni kromozom 3 üzerinde bulunmakta ve homozigot olduğunda tek bir hücreden çoklu trikomlar çıkarabilmektedir. Ayrıca *flr³* (3-38,8) geni kromozom 3 üzerinde bulunmakta, ama homozigot durumunda letaldır ve heterozigot durumunda kanatta anormal epidermal nokta benzeri trikomlar fenotip olarak üretmektedir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *Drosophila* trikome fenotipi. (A) normal trikome, (B) *mwh* trikome, (C) *flr³* trikome (Marcos ve Carmona 2013)

flr³ geninin homozigotlaşmasını önlemek için çoklu inversiyonlar geçirmiş dengeleyici kromozom *TM3* kullanılmak ve aynı anda *TM3* çalışılan mutant marker genlerin de üzerinde bulunduğu 3. kromozomdaki rekombinasyonu baskılanabilmektedir. Çaprazlamalardan rekombinasyonun baskılandığı (serrate kanatlı bireyler) ve rekombinasyon ve mutasyonun birlikte görülebildiği (normal kanatlı bireyler) ergin bireyler elde edilmektedir. Farklı fenotipteki bireylerden hazırlanacak kanat preparatlarının değerlendirilmesi ile rekombinasyon veya mutasyon etkisi arasındaki fark da ayrılabilir. *TM3* dengeleyici kromozomu taşıyan ve taşımayan bireyler fenotipik olarak ayırmak için, dominant *Bd^S* (Beaded serrate) genini *TM3* üzerinde bulunmaktadır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi prensibi (Kaya 2000; Marcos ve Carmona 2013)

mwh/mwh ve *flare* (*flr³/In(3LR) TM3, ri p^p sep l(3)89Aa bx^{34e} e Bd^S*) arasındaki çaprazlama, standart bir çaprazlama olarak trans-heterozigot (normal kanatlı) veya balancer-heterozigot (serrat kanatlı) ergin bireyler meydana gelmektedir. Normal kanatlı uç kısımları oval yapıya sahip serrat kanatlı ise uç kısımları tırtıklı bir yapıya sahiptir (Graf vd. 1984; Graf ve van Schaik 1992).

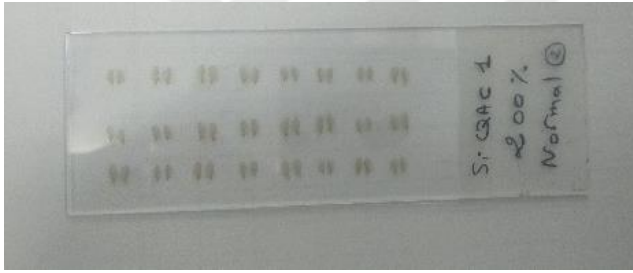
Marker mutant genleri üçüncü kromozomda (otozomal kromozom) bulunduğundan, dişi ve erkeğin hangi mutant hattan seçildiği önemli değildir. Bu nedenle yumurta verimliliğine odaklanmak gerekmekte, *flr³* bireyler dişi daha fazla yumurta ürettikleri için *mwh* bireyler dişisine kıyasla *flr³* bireyler dişi ebeveyn ve *mwh* bireyler erkek ebeveyn olarak tercih edilmektedir (Marcos ve Carmona 2013).

Drosophila erkekleri pupadan çıktıklarında cinsel olgunluğa ulaşmışlardır. Bununla birlikte, dişinin cinsel olarak olgunlaşması için 4-6 saatlik bir süreye ihtiyacı vardır. Dişi, spermateka aracılığı ile spermi depolayabildiğinden, çaprazların doğru olduğundan emin olmak için virjin (çiftleşmemiş) dişiler seçilmiştir (Graf ve Schaik 1992).

Drosophila SMAR testi için aşağıdaki adımlar gerçekleştirilmiştir (Graf vd. 1984; Marcos ve Carmona 2013);

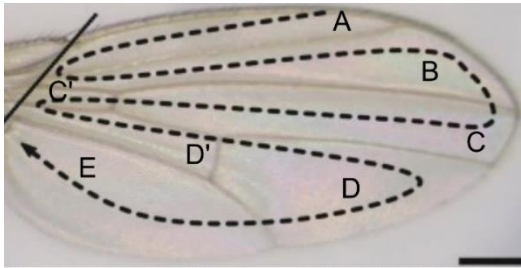
1. *Drosophila* standart besini bulunan şişelerde 40 virjin *flr³* dişi ve 40 *mwh* erkek aynı şişede aktarılmıştır.
2. Çiftleşmiş olan bu bireylerden 8 saatlik yumurta toplanmıştır.
3. Toplanan yumurtalar 72±4 saatlikken 3. evre larva içeren kültür şişeleri musluk suyu altında yıkanmış ve larvalar ince gözenekli bir elek aracılığı ile uygulama için toplanmıştır.
4. Her grup için 3 farklı tüp kullanılmış (3 tekrar). % 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300'lik Si-QAC solüsyonlarının 9 mL'si 1,5 gr hazır *Drosophila* besin üzerine ıslatarak uygulama ortamı sağlanmıştır.
5. Daha önce musluk suyunda yıkanan larvalardan 1-2 mikrospatül tüplere aktararak larvaların ergin bireyler oluncaya kadar aynı tüpte kalmaları sağlanmıştır (25 °C, % 60 bağıl nem, 12 saat karanlık-12 saat aydınlık).
6. SMAR testi için 1 mM EMS pozitif kontrol olarak ve distile su ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.
7. Uygulama ortamına bırakılan larvalar ergin hale döndükten sonra, bireyler eter ile bayıltılarak toplanmıştır. Toplanan bireyler % 70 etil alkol bulunan tüplere aktarılmış ve preparat hazırlama aşamasına kadar +4°C'de saklanmıştır.

8. % 70 etil alkolde bulunan ergin bireyler çukur lama damlatılan Faure solüsyonu (20 mL Gliserol, 30 gr Gum Arabik, 50 gr Kloral hidrat, 50 mL Distile su) içerisine koymuş ve uçlu pens ve iğne yardımı ile kanatları kopartılmıştır.
9. Her bir preparata 24 bireyden kopartılan 48 adet kanat çiftler halinde yapıştırılmış ve her uygulama grubu için 2 preparat hazırlanmıştır (Şekil 3.7).
10. Hazırlanan preparatlar 24 saat süre boyunca kapalı bir kutuda tozsuz ortamda kurumaya bırakılmıştır.
11. 24 saat sonunda lamlar Faure solüsyonu kullanılarak 24x60 mm lik lameller ile kapatılmış, kurutma kâğıdı ile sarılmış ve üzerinde ağırlık konularak (200 gr) 48 saat boyunca sabit preparat haline gelmesi için beklenmiştir.
12. 48 saat sonunda, hazırlanan preparatlar 400X büyütmede ışık mikroskobunda analiz edilmiştir.
13. Her grup için ve negatif kontrol için 80 adet kanat sayımı yapılmıştır.



Şekil 3.7. SMART deneyinde uygulanan hazırlanan preparat

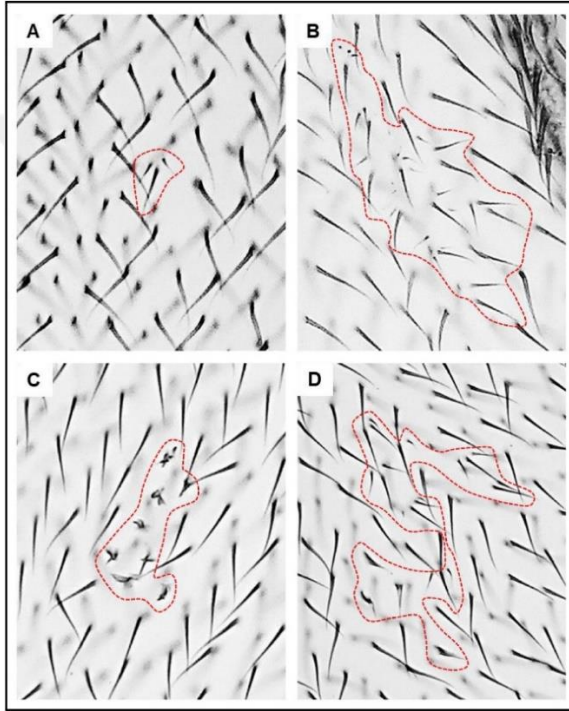
D. melanogaster kanatları mutant klonların sayım 7 farklı bölgelere (A, B, C, C', D, D' ve E) ayrılmıştır (Şekil 3.8) (Graf vd. 1984; Marcos ve Carmona 2013). Elde edilen mutant klonlarının her biri farklı türü sınıflandırabilmektedir (Çizelge 3.3, Şekil 3.9).



Şekil 3.8. *D. melanogaster* kanatlarının farklı bölümleri (Trotta vd. 2010)

Çizelge 3.3. Mutant klonların sınıflandırılması (Graf vd. 1984)

Klon tipi	Açıklama	Sorun
Küçük tek tip klon	1-2 <i>mwh</i> klon	Mutasyonel olaylar veya mitotik rekombinasyon
Büyük tek tip klon	$3 \geq mwh$ klon veya $4 \geq flr^3$ klon	
İkiz klon	<i>mwh</i> ve <i>flr³</i> yakın ($2 \leq$ yaban tip klon)	Mitotik rekombinasyon

**Şekil 3.9.** Işık mikroskobu ile elde edilen *D. melanogaster* kanatlarının görüntüleri (400X büyütme). (A) Küçük tek tip klon; (B) büyük tek tip klon ($3 \geq mwh$ klon), (C) büyük tek tip klon ($4 \geq flr^3$ klon); (D) İkiz klon (Naves vd. 2021)

- Aralarında 2 yaban klondan daha az varsa klonlar sırası olan klonlar aynı klonlar olarak kabul edilmektedir.
- Pupa evresinde hücre bölünmesinin son iki turunda küçük tek tip klonlar oluşurken, larva beslenmesi sırasında büyük tek tip klonlar oluşmaktadır.
- *mwh* klonları nokta mutasyonu, delesyon veya mitotik rekombinasyondan kaynaklanmaktadır (Graf vd. 1984).
- Distile su seyreltme ortamı olarak kullanılmış ve negatif kontrol olarak spontan mutasyon frekansının belirlenmesi amacı ile uygulanmıştır.
- Varyasyon nedeniyle de ortaya çıkabildiği için *flr³* klon sayısı ≤ 4 sayımlarda dikkate alınmamıştır (Szabad vd. 1983).

3.6.3. *Drosophila* tek hücre jel elektroforezi testi (Komet testi)

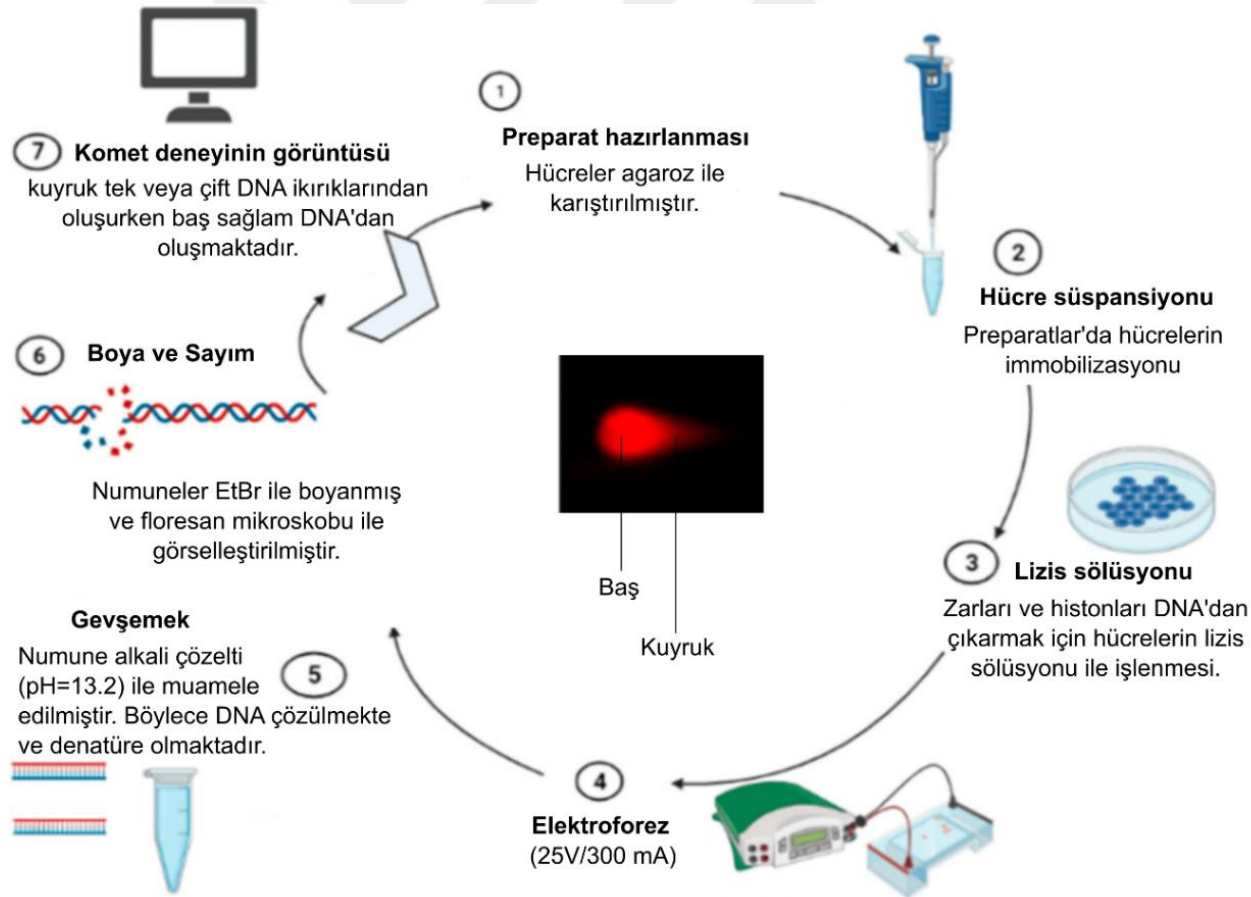
Komet testinde lizis aşaması sırasında proteinler çıkarıldığında, DNA kompakt bir şekilde ve aşırı sarılmış durumda kalmaktadır. Bununla birlikte, DNA kırıkları mevcutsa, ilmeklerin aşırı sarılması gevşemektedir. Bu gevşemenin bir sonucu olarak, floresan mikroskopu altında görülen karakteristik ‘komet kuyruğunu’ oluşturarak anoda doğru çekilmiştir. Kuyruktaki toplam DNA’nın nispi miktarı, kopma sıklığını yansıtmaktadır. Komet testi Olive vd. (1990) tarafından bilim Dünyasına tanıtılmıştır ve 2000 yılında Pubmed’de Tıbbi Konu Başlığı olarak kabul edilmiştir (Olive vd. 1990; Collins vd. 2023).

Komet testi ilk olarak 1984 yılında, tek memeli hücrelerinde radyasyona bağlı DNA kırıklarını tespiti için bir yöntem olarak tanımlanmıştır (Ostling ve Johanson 1984). Birkaç yıl sonra, bu yöntem, elektroforez çözeltisinin pH’ını artırarak değiştirilmiş ve bugün en yaygın olarak kullanılan alkali komet testi geliştirilmiştir (Singh vd. 1988). Alkali komet testi her tür ökaryotik hücrenin çekirdeğindeki DNA iplik kırıklarını ve alkali kararsız bölgeleri (apurinik/apirimidinik bölgeler altında bir DNA iplik kırıkları haline gelen herhangi bir DNA modifikasyonunu tespit eden hassas bir yöntemdir (Collins vd. 2023).

Drosophila Komet testide aşağıdaki şekilde bir yol izlenmiştir (Şekil 3.10; Ertuğrul vd. 2020);

1. *Drosophila* Oregon R+ hattından 8 saatlik yumurtalar toplanmıştır.
2. Toplanan yumurtalar 72 ± 4 saatlikken larva içeren kültür şişeleri musluk suyu altında yıkanmış ve larvalar ince gözenekli bir elek yardımı ile toplanmıştır.
3. Her tüp 1,5 gr *Drosophila* hazır besini eklenmiş üzerinde 9 mL farklı Si-QAC farklı konsantrasyonları (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) ıslatarak uygulanmış ve 24 saat süre ile maruz bırakılmıştır.
4. EMS (4 mM) pozitif kontrol olarak, distile su ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.
5. Maruziyet süresi sonunda, larvalar (96 ± 4 saatlik) uygulama tüpleri musluk suyu altında yıkanmış ve larvalar ince gözenekli bir elek yardımı ile toplanmıştır.
6. Pens yardımıyla her uygulama grubu için 60 larva seçilmiş petri kabına aktarılmıştır.
7. Toplanan larvalar sterilize edilmek üzere 2 dakika boyunca % 5’lik sodyum hipoklorid çözeltisinde bekletilmiştir. Süre sonunda musluk suyu ile sodyum hipoklorid çözeltisinden arındırılmış larvalar hemosit izolasyonu aşamasına kadar bekletilmiştir.

8. Larva toplamanın hemen sonrasında hemosit izolasyon aşamasına geçilmiştir. Her 10 larva için 120 µL % 0.07 N-feniltiyoyüre bulunan fosfat tamponu içerisine eklenmiştir. Larvanın kütükula tabakası ince uçlu pens yardımı ile ayrılmış ve hemolenf toplanmıştır.
9. Toplam N-feniltiyoyüre bulunan fosfat tamponu solüsyonu ve larvalardan toplanan hemosit 1,5 mL'lik santrifüj tüpünde toplanmıştır. Santrifüj tüplerindeki hemositler +4 °C'de 10 dakika 1300 rpm'de santrifüj edilmiştir.
10. Santrifüj sonrası süpernatantın üst kısmı pipetle atılmıştır. Soğuk 40 µL PBS solüsyonu ve 160 µL düşük erime ısisına sahip agaroz (LMA) eklenmiştir.
11. Bir gün önceden hazırlanmış normal erime ısisına sahip agaroz (NMA)'la kaplanmış lamalar üzerine 120 µL şeklinde karışımı yayılmış, lamel ile kapatılmış ve 10 dakika soğuk levha üzerinde bırakılmıştır.
12. Daha sonra, lamaların üzerindeki lameler jel zarar görmeyecek şekilde uzaklaştırılmış ve yeniden 80 µL LMA lamalar üzerinde yayılarak tekrar lamel ile kapatılmıştır. Bu şekilde 10 dakika soğuk levha üzerinde bırakılmıştır.
13. Lamaların üzerindeki lameler tekrar uzaklaştırılmış ve lamalar içerisinde lizis solüsyonu (Çizelge 3.4) bulunan şale içerisine yerleştirilmiş ve +4 °C en az bir saat bırakılmıştır.
14. Süre sonunda, lamalar içerisinde elektroforez solüsyonu konulmuş olan elektroforez tankında yerleştirilmiş ve 30 dakika bu ortamda bırakılmıştır. Sonrasında, tüm lamalar elektroforez'de (25 V, 300 mA, 30 dakika) yürütülmüştür.
15. Elektroforez işlemi sonrasında, lamalar tris tamponu ile 5 dakikalık +4 °C'te iki yıkama ile nötralize edilmiştir.
16. Her lam için 50 µL etidyum bromür (500 µL distile su, 750 µL EtBr karışımı) yayılmış üzeri lamel ile kapatılmış ve +4 °C'te 20-30 dakika bekletilmiştir.
17. Her konsantrasyon için 50 hücre floresans mikroskopu (Nikon Eclipse E200, 400X) altında KOMET-IV (Version 4.11) programı ile sayılmıştır.
18. Kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti (kuyruk uzunluğu X kuyruk yoğunluğu) farklı ölçüm parametreleri otomatik olarak kullanılan program yardımı ile hesaplanmıştır.



Şekil 3.10. *Drosophila* komet testi metodolojisi (Zineldeen vd. 2017; Jiang vd. 2023)

Çizelge 3.4. *Drosophila* komet testi kullanılan solüsyonları

Adam	İçeriği	Ortam	Amaç
Lysis solüsyonu hazırlanması	84,6 gr NaCl + 0,72 gr Trizma + 22,4 gr Na ₂ EDTA+ 540 mL distile su Sonra, Lysis solüsyonundan 12 mL'si çıkarılıp atılmaktadır. 6 mL N-larin sarkozin sodyum+ 6 mL Triton-X eklenmektedir.	pH=10 25 °C	- Na₂EDTA hücre zarı çözülmek için kullanılmaktadır. - Tris tamponu, çözeltinin pH'ını korumaktadır. - NaCl DNA'nın denatürasyonunu önlemektedir. DNA'nın negatif yükünün nötröle olmasına yardımcı olmakta ayrıca hücre duvarından geçerek proteinleri hücre duvarından ayırmaktadır. - Triton X lipidler arasındaki bağları bozarak hücre içeriği DNA'nın izole olmasına yardımcı olmaktadır. - N-larin sarkozin sodyum membran proteinleri ve glikoproteinlerin çözünmesi ve ayrılması için kullanılmaktadır. -pH=10 hücrel ve nükleer membranları istikrarsızlaştırmak için kullanılmıştır. Histonların çıkarılması da dahil olmak üzere hücreyi deproteinize etmektedir.
Elektroforez solüsyonu hazırlanması	60 mL 10 mM NaOH (40 gr NaOH+100 mL distile su) + 10 mL 0,4 mM Na ₂ EDTA (1,488 gr Na ₂ EDTA + 10 mL distile su) + 1930 mL distile su	pH=13,2	Alkali Komet, DNA tek ve çift kırıkların her ikisini de tespit etmek için gerçekleştirilirken, nötr Komet ise yalnızca çift kırıkları tespit etmektedir.
Nötrölizayson solüsyonu hazırlanması	29,1 gr Trizma+ 600 mL distile su	pH=7,5 4 °C	Tuz ve deterjanı ortamdan uzaklaştırmak ve boya tutmak için kullanılmaktadır.
Boya solüsyonu hazırlanması	Karışım (0,1 gr EtBr+ 100 mL distile su)	4 °C karanlıkta	Mikroskop altında floresan renk sağlamak için kullanılmaktadır.

(Devamı Arkada)

Çizelge 3.4.'in Devamı

Adım	İçeriği	Ortam	Amaç
PBS hazırlanması	1 tablet PBS + 200 mL distile su	4 °C	Bu işlem elektrostatik protein-protein hücre köprülemesini kırarak hücrelerin ayrışmasına neden olmaktadır.
NMA düşük EEO (electro-endosmosis) hazırlanması	1gr NMA+ 100 mL distile su	55 °C	NMA: eritmek için yüksek sıcaklığa gereksinim duymaktadır. Düşük EEO: nükleik asidin tüm jel üzerindeki hareketi herhangi bir gecikmeye neden olmamaktadır (üniforma hareketi).
LMA hazırlanması	0,075gr LMA+ 10 mL distile su	30 °C	Fizyolojik bir sıcaklığın yakınında erimektedir. Protein denature etmemektedir.
Feniltiyoüre hazırlanması	0,07 gr feniltiyoüre + 100 mL PBS	25 °C 12 h karıştırma	Melanizasyondan önlemek için kullanılmaktadır.

3.6.4. *Drosophila* hemositlerinde kaspazlar aktiviteleri deneyi

Drosophila yedi kaspaza sahiptir: üç başlatıcı (initiator) kaspaz; ‘Death related ced-3/Nedd2-like’ (Dredd), ‘Death regulator Nedd2-like’ (Dronc) ve ‘Ser/Thr-rich’ (Strica), bir de dört efektör kaspaz; ‘*Drosophila* interleukin 1 β -converting enzyme’ (Drice), ‘Death-associated molecule related to Mch2’ (Damm), ‘Death executioner caspase related to apopain/yama’ (Decay) ve ‘*Drosophila* caspase-1’ (Dcp-1) (Kietz ve Meinander 2023). *Drosophila* Dronc, insan kaspaz-9’a homologdur ve sinekte apoptozu başlatan ana kaspazdır (Hay ve Guo 2006). Drice ve Dcp-1, memeli kaspaz-3’e homologdur ve apoptoz sırasında kısmen örtüşen işlevlere sahip görünmektedir. Drice, protein *Drosophila* iap2 (Iap2) ile etkileşimi yoluyla, enflamatuvar sinyalleme düzenleyicisi olarak apoptotik sinyalleme ötesinde bir role sahiptir (Kietz vd. 2022). Kaspaz-8 homologunun Dredd’nin apoptotik sinyallemede işlev gördüğü iddia edilirken, ana işlevinin Gram negatif bakteriler tarafından tetiklenen enflamatuvar yanıtın düzenleyicisi olduğu tespit edilmiştir (Chen vd. 1998, Leulier vd. 2000). Decay, Strica ve Damm diğer *Drosophila* kaspazları kadar ilgi görmemiştir, ancak Decay yakın zamanda Dronc’nin neden olduğu apoptozdan bağımsız olarak kanat boyutunu düzenlediği bulunmuştur (Shinoda vd. 2019). Ancak Strica ve Damm’ın işlevleri bilinmemektedir (Kietz ve Meinander 2023).

D. melanogaster'ın hemositleri plazmatositlerden (işlevsel olarak memeli makrofajlarına benzer), lamelositlerden (parazit enfeksiyonu sırasında bulunur) ve kristal hücrelerden (yara onarımı ve melanizasyon için kullanılır) oluşmaktadır (Filipiak vd 2012). Hemosit toplama sırasında, lamelositler seyrek olduğu ve kristal hücreleri birkaç dakika içinde bozulduğu için sadece plazmatositler toplanmaktadır (Ribeiro ve Brehélin 2006).

Drosophila kaspaz aktivitelerini ölçmek için bu yol izlemiştir;

1. *Drosophila* Oregon R+ hattından 8 saatlik yumurtalar toplanmıştır.
2. Toplanan yumurtalar 72 ± 4 saatlikken larvadan hemosit izolasyonu PBS içerisinde sağlanmıştır.
3. Her konsantrasyon için 40 larvadan hemosit izole edilmiştir ve tüm hemositler aynı tüpte toplanmıştır.
4. 1300 g'de 2 dakika 4 °C santrifüj yapıp süpernatant atılmış ve tüpte kalan 1 mL hücre Thoma lamında canlı hücre sayımı gerçekleştirilmiş ve her 1 mL'de 4×10^6 hemosit olacak şekilde PBS ile seyreltilmiştir.
5. Her bir konsantrasyon için 1,5 mL'lik tüpler hazırlanmış ve her tüpte 60 µL hücre üzerine 840 µL PBS eklenmiştir.
6. 1500 g'de 15 dakika 4 °C santrifüj yapıp süpernatant (810 µL) atılmış ve tüplerde kalan hücreler üzerine 600'er µL uygulaması yapılmış olan 5 farklı Si-QAC'lerin 5 farklı konsantrasyonu (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) eklenmiştir.
7. Oda sıcaklığında ve karanlık ortamda çalkalayıcıda (300 rpm) 3 saat maruziyete bırakılmıştır. Maruziyet süresi sonunda, her tüpte 600'er µL 200'er µL lizis tamponu (20 mM Tris HCl (pH= 7,5), 150 mM NaCl, 2 mM Na₂EDTA, % 1 Triton-X-100, 2,5 mM Sodyum pirofosfat, 1 mM β-gliserofosfat) eklenip 30 dakika +4 °C'de karanlık ortamda kalmıştır.
8. Sonra 5 dakika buz üzerinde 5 dakika oda sıcaklığında 5 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve -80 °C'de saklanmıştır.
9. Sonraki gün, tüpler -80 °C dondurucudan çıkardıktan sonra eriyene kadar bekletilmiştir.
10. 1500 rpm'de 15 dakika +4 °C'de santrifüj edilip süpernatant (400 µL) yeni tüplere alınmıştır.

11. BCA (Bikinkoninik asit) testi için kontrol grubu olarak 96 kuyucuklu hücre kültürü plaklarına 2'şer tekrarlı olacak şekilde önceden hazırlanan standart BSA (Bowine serum albümin) konsantrasyonları (1000-7,5 µL aralığında yarı yarıya seyreltilen 8 konsantrasyon PBS ile hazırlanmaktadır) ve uygulama yapılmış hücrelerden her kuyucuğa 50'şer µL eklenmiş üzerlerine 150 µL boya (2x Bradford: 10 mg Coomassie blue, 2,5 mL %95'lik etanol, 5 mL % 85'lik ortofosforik asit, 42,5 mL distile su) eklenmiştir.
12. Oda sıcaklığında ve karanlık ortamda çalkalayıcıda (300 rpm) 2 saat inkübasyona bırakılmıştır.
13. Ardından 600 nm'de ölçüm gerçekleştirilip gerekli hesaplamalar yapılarak hücrelerdeki protein miktarı hesaplanmıştır.
14. 100 µL'de 100 µg protein olacak şekilde gerekli seyreltmeler PBS ile gerçekleştirilmiştir.
15. Her kuyucuğa her konsantrasyon için 100 µL eklenmiştir.
16. Üzerine de 100'er µL kaspazların substrat+buffer karışımları (Caspase-Glo 3/7, 8 ve 9 kitinden alınmıştır) eklenerek toplamda 200 µL'de 595 nm okuma yapılmıştır.
17. Tüm kaspaz aktivite ölçümlerinde negatif kontrolün dışında ölçümlerin, arka planın lüminisansı ile karışmaması için kontrol olarak blank reaksiyonu (hücre olmadan sadece hücre ortamı ve substrat karışımı) kullanılmıştır.

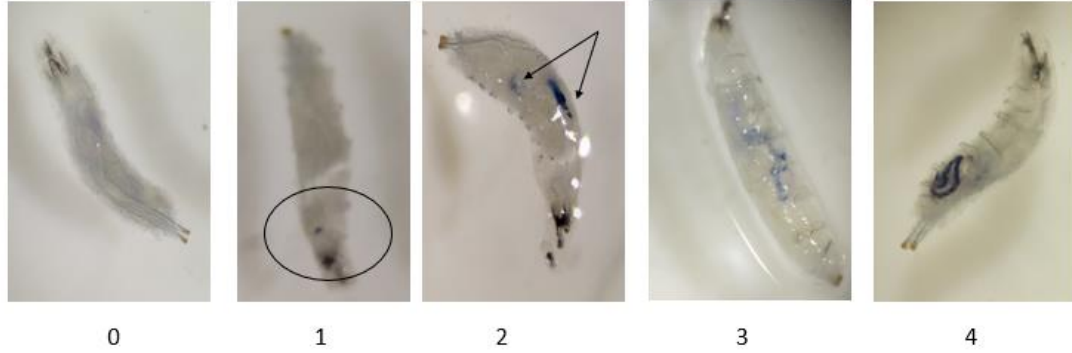
3.6.5. *Drosophila* Tripan mavisi testi

Tripan mavisi testi, canlı ve ölü hücreleri birbirinden ayıran basit bir testtir. Larva bağırsağındaki hücre ölümünü tespit etmek için kullanılmaktadır (Mishra vd. 2019).

Tripan mavisi testi için aşağıdaki adımlar gerçekleştirilmiştir;

1. *Drosophila* Oregan R+ hattı bireylerinden 8 saatlik yumurtalar toplanmıştır.
2. Elde edilen larvalar (72 ± 4 saatlik) 24 saat süre ile 5 farklı Si-QAC konsantrasyonuna (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) maruz bırakılmıştır.
3. Her bir konsantrasyonun uygulanması 10 adet larvada birbirinden bağımsız 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Sonra 96 ± 4 saatlik larvalar (1X) PBS ile besin artıklarından arınmak amacıyla yıkanmıştır.
4. Daha sonra içerisinde % 0,2'lik tripan mavisi petrilere eklenmiş ve oda sıcaklığında 40 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

5. Süre sonunda larvalar 2 kez PBS (7 dakika/ 1X PBS) ile yıkanmıştır.
6. Stereomikroskop altında incelenerek görüntüler kaydedilmiş ve her larva için bir puanlama Şekil 3.11'ye göre verilmiştir. Sonra verilen puanlama ortalaması hesaplanmıştır.



Şekil 3.11. Larvaların doku hasarı puanlamaları

3.6.6. *Drosophila* DNA hasarı sinyal yolu Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) dizileri

RT² Profiler PCR dizisi, gerçek zamanlı PCR metodolojisi kullanılarak DNA hasarı ve onarımında odaklanmış gen panellerinin oldukça güvenilir ve hassas bir gen ekspresyonu profillemesini sağlamaktadır.

Bu çalışmada RT² Profiler *Drosophila* DNA hasar sinyal yolu PCR dizileri (CAPD14014, Qiagen) kullanılmıştır. Bu sinyal yolunu incelemek için, *Drosophila*'daki DNA onarımı ile ilgili 36 genden oluşturmaktadır (Çizelge 3.5). Ek olarak, Aktin 42A (*Act42A*), Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz 1 (*Gapdh 1*), Ribozomal protein L32 (*RpL32*), Süksinat dehidrojenaz kompleksi flavoprotein alt birimi A (*SdhA*) ve TATA bağlayıcı protein (*Tbp*) dahil referans olarak kullanılan 5 housekeeping geni seçilmiştir. Ayrıca, genomik DNA kontaminasyonu (*GDC*), gerçek zamanlı PCR verimliliği (*PPC*) ve birinci iplikcik sentezi (*RTC*) dahil olmak üzere panel kontrolleri kullanılmıştır. 96 kuyucuklu plakada, aynı plakada iki numune gerçekleştirecek şekilde tasarlanmıştır (Şekil 3.12).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Xpac	spel1	Fen1	Rad9	mus101	Tbp	Xpac	spel1	Fen1	Rad9	mus101	Tbp
B	Cdk7	Mlh1	PCNA	DNApol-eta	Fancd2	DGDC	Cdk7	Mlh1	PCNA	DNApol-eta	Fancd2	DGDC
C	XRCC1	Rad51C	rad50	Hus1-like	p53	RTC	XRCC1	Rad51C	rad50	Hus1-like	p53	RTC
D	Ogg1	dap	DNA-ligl	CG9601	vtd	RTC	Ogg1	dap	DNA-ligl	CG9601	vtd	RTC
E	mei-41	MCPH1	Brca2	put	Act42A	RTC	mei-41	MCPH1	Brca2	put	Act42A	RTC
F	Rad51D	Ercc1	Rev1	Rad17	Gapdh1	PPC	Rad51D	Ercc1	Rev1	Rad17	Gapdh1	PPC
G	Rad1	Pms2	mu2	tefu	RpL32	PPC	Rad1	Pms2	mu2	tefu	RpL32	PPC
H	Sir2	RpLP2	mus304	stg	SdhA	PPC	Sir2	RpLP2	mus304	stg	SdhA	PPC

Housekeeping genler

PCR kontrol genler

Şekil 3.12. *Drosophila* RT² Profiler PCR dizisi kullanılan plaka

Drosophila RT² Profiler PCR dizisi uygulaması aşağıdaki gibi gerçekleştirmiştir;

1. Üçüncü instar larvaları Oregon R+ (72 ± 4 h) 24 saat 5 farklı Si-QAC'lerin en düşük ve en yüksek konstrasyonlarına (% 25 ve % 300) maruz bırakılmıştır.
2. Her uygulamadan 30 larva (96 ± 4 h) toplanmıştır ve bilye karıştırıcı ile ezilerek homojenize edilmiştir.
3. Elde edilen larvaların dokuları TissueLyser protokolüne göre (Qiagen) homojenize edilmiştir.
4. Rneasy Mini İzolasyon Kiti (Qiagen) kullanılarak dokudan total mRNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.
5. RNA'nın saflığını ve miktarını belirlemek için Nanodrop cihazı kullanılmıştır.
6. RNA'nın saflığı ve miktarı yeterli olduğunda (260/280 oranı ~ 2 ve 260/230 oranı > 1,7), RT² First Strand Kiti (Qiagen) ile cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.
7. Genlerin ekspresyonundaki artışı veya azalmayı ölçmek için Applied biosystems PCR cihazı ile tespit etmiştir.

Çizelge 3.5. *Drosophila* DNA hasarı sinyal yolu PCR dizileri kullanılan genleri (Flybase 2023)

Sembol	İnsan ortolog	Açıklama	Görev
<i>Xpac</i>	<i>XPA</i>	Xeroderma pigmentosum group A	DNA eksizyon onarımında yer almakta, hasarlı bölgelere bağlanarak onarımı başlatmaktadır
<i>spel1</i>	<i>MSH2</i>	spellchecker1	Çoğaltma sonrası yanlış eşleşme onarımında yer almakta, eşleşmeyen nükleotitler içeren DNA'ya spesifik olarak bağlanmaktadır
<i>Fen1</i>	<i>FEN1</i>	Flap endonuclease 1	DNA replikasyonu ve onarımında rol oynayan 5'-flap endonükleaz ve 5'-3' ekzonükleaz aktivitelerine sahip yapıya özgü nükleazdır
<i>Rad9</i>	<i>RAD9A</i>	Rad9	DNA hasarına bağlı kontrol noktası yanıtında merkezi rol oynamaktadır
<i>mus101</i>	<i>TOPBP1</i>	mutagen-sensitive 101	Mitoz sırasında DNA replikasyon kontrol noktasında yer almaktadır
<i>Cdk7</i>	<i>CDK7</i>	Cyclin dependent kinase 7	Mitozda hücre döngüsü ilerlemesini düzenlemektedir
<i>Mlh1</i>	<i>MLH1</i>	Mlh1	Yanlış eşleşme onarımına dahil olacağı tahmin edilmektedir

(Devamı Arkada)

Çizelge 3.5.'in Devamı

Sembol	İnsan ortolog	Açıklama	Görev
<i>PCNA</i>	<i>PCNA</i>	Proliferating cell nuclear antigen	Polimerazın işlenebilirliğini artırarak DNA replikasyonunun ve onarımının kontrolünde yer almaktadır
<i>DNApol-eta</i>	<i>POLH</i>	DNA polymerase eta	DNA çift kırıkların homolog rekombinasyon onarımı sırasında çalışmaktadır
<i>Fancd2</i>	<i>FANCD2</i>	FA complementation group D2	DNA polimeraz bağlanma aktivitesini etkinleştireceği tahmin edilmektedir
<i>XRCC1</i>	<i>XRCC1</i>	X-ray repair cross complementing 1	Baz eksizyon onarımında rol oynayacağı tahmin edilmektedir
<i>spn-D</i>	<i>RAD51C</i>	spindle D	Homolog rekombinasyonel DNA onarımında yer almaktadır
<i>rad50</i>	<i>RAD50</i>	rad50	DNA çift kırıkları onarımı ve telomer bakımı için gereklidir.
<i>Hus1-like</i>	<i>HUS1</i>	Hus1-like	DNA hasarına bağlı kontrol noktası yanıtında merkezi rol oynamaktadır
<i>p53</i>	<i>TP53</i>	Tumor protein p53	Hücre ölümü, telafi edici proliferasyon ve DNA onarımı dahil olmak üzere genotoksik strese adaptif tepkiler için gereklidir.
<i>Ogg1</i>	<i>OGG1</i>	8-oxoguanine DNA glycosylase	8-okso guaninlerin çekirdeklerden uzaklaştırılması için gereken DNA glikosilazını kodlar.
<i>dap</i>	<i>CDKN1A</i>	dacapo	CIP / KIP ailesindeki sikline bağımlı bir kinaz inhibitörünü kodlar. CycE-Cdk2 komplekslerine bağlanmakta ve böylece protein kinaz aktivitelerini inhibe etmektedir
<i>DNAlig1</i>	<i>LIGI</i>	DNA ligase 1	DNA replikasyonu, DNA rekombinasyonu ve DNA onarımı sırasında çift kırıkları DNA'daki çentikleri kapatan DNA ligazıdır.
<i>CG9601</i>	<i>PNKP</i>	CG9601	DNA onarımında rol aldığı tahmin edilmektedir
<i>vtd</i>	<i>RAD21</i>	verthandi	Gen ekspresyonunun ve DNA onarımının düzenlenmesinde birden fazla role sahiptir.
<i>mei-41</i>	<i>ATR</i>	meiotic 41	Onarım ve hücre döngüsü kontrol noktası sinyali dahil olmak üzere DNA hasarına bağlı tepkileri destek sağlamaktadır
<i>MCPH1</i>	<i>MCPH1</i>	Microcephalin 1	Genom stabilitesi ve hücre döngüsü düzenlenmesinde rol oynamaktadır
<i>Brca2</i>	<i>BRCA2</i>	Brca2	Homolog rekombinasyon yoluyla çift kırıkların onarımında yer almaktadır
<i>put</i>	<i>ACVR2A</i>	punt	Aktivin bağlama aktivitesini ve transmembran reseptör proteini serin/treonin kinaz aktivitesini sağlamaktadır

(Devamı Arkada)

Çizelge 3.5.'in Devamı

Sembol	İnsan ortolog	Açıklama	Görev
<i>RAD51D</i>	<i>RAD51D</i>	Rad51 recombinase D	DNA çift kırıkları onarımında homolog rekombinasyonda yer almaktadır
<i>Ercc1</i>	<i>ERCC1</i>	Ercc1	Yanlış eşleşme onarımı ve mayotik rekombinasyonda yer almaktadır
<i>Rev1</i>	<i>REV1</i>	Rev1 DNA directed polymerase	Diğer birçok transkripsiyon polimerazı ile etkileşime girmekte ve DNA hasarının toleransı ve onarımında rol oynamaktadır
<i>Rad17</i>	<i>RAD17</i>	Rad17	DNA hasarı kontrol noktası sinyallemede rol oynadığı tahmin edilmektedir
<i>Rad1</i>	<i>RAD1</i>	Radiation insensitive 1	DNA hasarına bağlı kontrol noktası tepkisinde merkezi bir rol oynamaktadır
<i>Pms2</i>	<i>PMS2</i>	Pms2	Yanlış eşleşme onarımına dahil olacağı tahmin edilmektedir
<i>mu2</i>	<i>MDC1</i>	mutator 2	Kromatin organizasyonunun çift sarmallı kopma onarımı ve düzenlenmesinde yer almaktadır
<i>tefu</i>	<i>ATM</i>	telomere fusion	Kromozom organizasyonu dahil olmak üzere çeşitli süreçlerde yer almakta; hücre ölümünün negatif düzenlenmesi; ve mitotik hücre döngüsü faz geçişinin negatif düzenlenmesidir.
<i>Sirt2</i>	<i>SIRT2</i>	Sirtuin 2	Protein deasetilasyonunda, yetişkin ömrünün belirlenmesinde ve nörodejenerasyonda rol oynamaktadır.
<i>RPLP2</i>	<i>RPLP2</i>	Ribosomal protein LP2	Protein sentezinin uzama aşamasında önemli bir rol oynamaktadır.
<i>mus304</i>	<i>ATRIP</i>	mutagen-sensitive 304	Kromozom kırıkları onarımı ve gelişim sırasında genomik stabilite için gerekli DNA hasarı kontrol noktası proteindir.
<i>stg</i>	<i>CDC25A</i>	string	Hücre döngüsünün ilerlemesi için gerekli olan bir tirozin protein fosfatazdır.

3.6.7. *Drosophila* toplam antioksidan durumu ve toplam oksidan durumu (TAS/TOS) deneyi

Toplam antioksidan durum (TAS), tüm antioksidanların toplam etkisini, toplam oksidan durum (TOS) ise hemolenfte bulunan tüm oksidanların toplam etkisini yansıtmaktadır (Erel 2005).

Drosophila TAS/TOS deneyinde bu yol izlenmiştir;

1. *Drosophila* Oregon R+ hattı bireylerinden 8 saatlik yumurtalar toplanmıştır.
2. Elde edilen larvalar (72 ± 4 saatlik) 24 saat boyunca 5 farklı Si-QAC 5 farklı konsantrasyonlarının (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) maruziyetine bırakılmıştır. Distile su negatif kontrol olarak kullanılmıştır.
3. Her bir uygulama grubu için 60 larva toplanmıştır. Larvalar bilye karıştırıcıli homojenizatör ile ezilerek homojenize edilmiştir. Sonra, santrifuj tüpleri $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 10 dakika 1300 rpm'de çöktürme işlemi yapılmıştır.
4. Toplam antioksidan durumu (TAS mmol Trolox Eq/L) ve toplam oksidan durumu (TOS $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L), kit üreticisinin talimatlarına dayanarak Erel (2005) tarafından bildirilen yöntemle göre belirlenmiştir.
5. Daha sonra oksidatif stres düzeyleri oksidatif stres indeksine ($\text{OSI} = \text{TOS}/\text{TAS}$) göre belirlenmiştir.

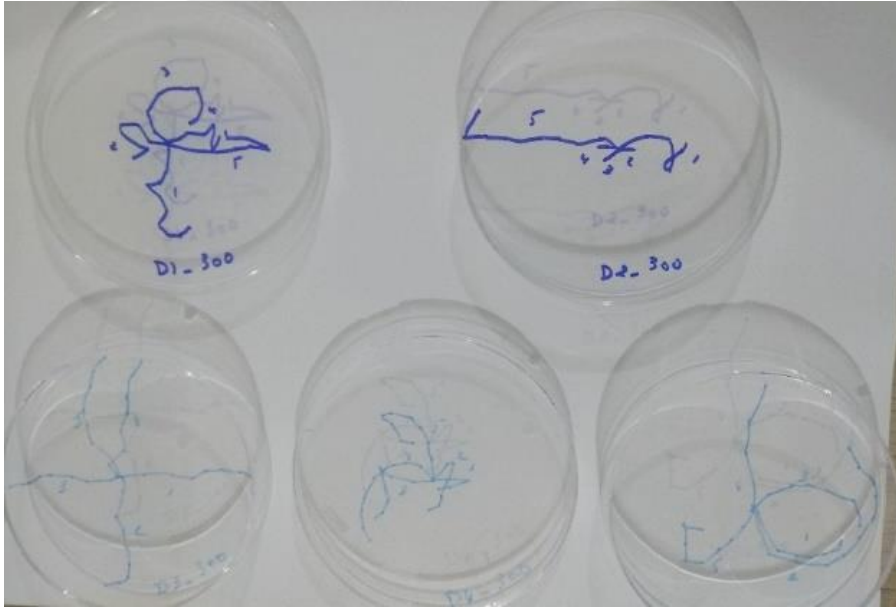
3.6.8. Davranışsal Toksisite Analizleri

3.6.8.1. *Drosophila* larva hareketi deneyi

Drosophila larva hareketi sinir sistemi tarafından düzenlenmektedir. *Drosophila* larvalarında sinir sistemi beyin, özofagus altı gangliyonları ve ventral sinir kordonu olarak sınıflandırılmaktadır (Heckscher vd. 2014). Larva internöronları uyarıcı veya inhibe edici olabilir: uyarıcı internöronların çoğu kolinerjiktir, inhibitör internöronlar ise GABAerjik veya glutamaterjiktir (Clark vd. 2018). Larvalar düz bir yüzeyde sürünürken, birkaç kısa duraklama ile peristaltik hareketler yapmaktadır. Bu hareket modeli, motor sinirler, duyuşal geri besleme nöronları ve merkezi model oluşturunuculardaki internöronlar dahil olmak üzere sinir devrelerinin etkisiyle kontrol edilmektedir. Larva hareketi ("Crawling"), peristaltik kasılmalarının bir sonucu olarak ortaya çıkarmaktadır (Hunter vd. 2021). *Drosophila* larva gövdesi üç torasik (T1-T3) ve sekiz abdominal segment (A1–A8) içermektedir. Her bir hemisegment, iki ana kas grubu halinde gruplandırılmış ~ 30 vücut duvarı kasına sahiptir, vücut eksenine boyunca düzenlenmiş uzunlamasına kaslar ve vücut eksenine dik olarak düzenlenmiş enine kaslar (Gallio vd. 2011; Frank vd. 2015). Spesifik olarak, bir kas kasılması dalgası, onu ileriye ve geriye doğru hareket ettirmek için hayvanın arkasından ön tarafına geçmektedir. Her tam dalga ve dolayısıyla tek bir larva "adımı" ~ 1 sn uzunluğundadır. Kas kasılmaları, hayvanın ventral sinir kordonunda bulunan ve memeli omuriliğine benzeyen merkezi bir model oluşturunucu (CPG) internöronlar tarafından tahrik edilmektedir (Hunter vd. 2021).

Drosophila larva hareketi deneyi aşağıdaki gibi gerçekleştirmiştir;

1. *Drosophila* Oregon R+ hattı bireylerinden 8 saatlik yumurtalar toplanmıştır.
2. Toplanan yumurtalardan çıkan larvalar 3. larva evresine ulaştıktan sonra (72 ± 4 saatlik) 24 saat boyunca 5 farklı Si-QAC 5 farklı konsantrasyonlarına (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) maruziyetine bırakılmıştır. Distile su negatif kontrol olarak kullanılmıştır.
3. Her konsantrasyondan 45 larva (96 ± 4 saat) toplanmış, PBS içinde yıkanmıştır.
4. Toplanan larvalardan 5 tanesi % 2'lik agarla kaplanmış petri üzerinde bırakılmıştır.
5. Petri kabı grafik kağıdının üzerine yerleştirilmiş ve larvalar serbestçe sürünmüştür.
6. Her larvanın bir dakika içinde geçtiği yol çizilmiş (Şekil 3.13) ve kat edilen ortalama mesafe hesaplanmıştır (Dhar vd. 2020).



Şekil 3.13. Si-QAC'a maruz kalan larvaların yürüme mesafeleri örnekleri

3.6.8.2. *Drosophila* pupa pozisyon deneyi

Drosophila pupa hareket mesafesi, genetik özelliklerden, nem ve çevresel ipuçları gibi dış faktörlerden etkilenebilmektedir. Bu mesafe, gelişmekte olan larvanın toksik bileşiklere maruz kalması da dahil olmak üzere farklı paradigmalarda, sürünen larvayı metamorfoz için güvenli bir yere götürmek için nöromusküler sistemin uygunluğunun bir göstergesi olarak kullanılmıştır (Cabrita vd. 2022).

Drosophila pupa pozisyon deneyi için aşağıdaki yol izlenmiştir;

1. *Drosophila* Oregon R+ hattından 8 saatlik yumurtalar toplanmıştır.
2. Her tüp 1,5 gr *Drosophila* hazır besini eklenmiş üzerinde 9 mL farklı Si-QAC farklı konsantrasyonları (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) ıslatarak uygulanmıştır. Distile su negatif kontrol olarak kullanılmıştır.
3. 50 mL'lik Falkon tüp uygulama tüpü olarak kullanılmış ve tüpler üzerinde 4 farklı bölgeye ayrılmıştır (besin içinde bulunan pupalar; besinin biraz üzerine yerleştirilmiş pupalar; besinden 1 cm kadar konumlandırılmış pupalar; ve 1 cm'nin üzerindeki alanı konumlandırılmış pupalar). Bu bölgelerde oluşan pupalar sayılarak kaydedilmiştir.

3.6.8.3. *Drosophila* negatif jeotaksis testi

En yaygın *Drosophila* davranış ölçümlerinden biri olan negatif jeotaksi ("Climbing") testi kullanılarak lokomotor kapasitesi kolayca ölçülebilmektedir. Belli bir sayıda sinek bir şişeye alındıktan sonra yavaşça şişenin tabanına vurularak hepsinin şişenin dibine inmesi sağlanmakta ve *Drosophila*'nın negatif jeotropizm davranışı nedeni ile içgüdüsel olarak yukarı doğru tırmanması beklenmektedir (Gargano vd. 2005). Tırmanma performansı genellikle sineklerin yüzdesi belirli bir yüksekliğe ulaşana kadar geçen süre olarak rapor edilmiştir (Gargano vd. 2005).

Amiloid beta (A β), Tau, Tar DNA bağlayıcı protein 43 (TDP-43) dahil olmak üzere *Drosophila* beyindeki insan nörodejeneratif hastalıklarıyla ilişkili agregatif proteinlerin çoğunun ekspresyonu, motor fonksiyonda hızlandırılmış bir düşüşe neden olmaktadır. Bu şekilde, sinirsel iletimin verimliliğindeki bir düşüşle ilişkilidir (Taylor ve Tuxworth 2019).

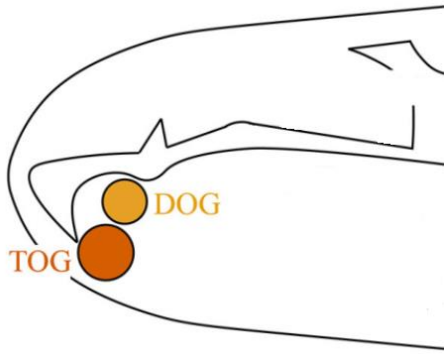
Negatif jeotaksis testi aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir;

1. *Drosophila* Oregon R+ hattından 8 saatlik yumurtalar toplanmıştır.
2. Her tüp 1,5 gr *Drosophila* hazır besini eklenmiş üzerinde 9 mL farklı Si-QAC farklı konsantrasyonları (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) ıslatarak uygulanmıştır. Distile su negatif kontrol olarak kullanılmıştır.
3. Dört gün sonra çıkan ergin bireyler boş tüplere aktarılmış, eter ile bayıltılarak ve her bir uygulama için dikey bir cam şişeye 30 ergin sinek yerleştirilmiştir.
4. Dört saatlik bir iklimlendirme süresinden sonra, her bir tüp yavaşça şişenin tabanına vurularak bireylerin dibe inmesi sağlanmış ve 10 saniyelik bir süre içinde 10 cm yükseklikte bir çizgiyi geçen sinek sayısı puanlanmıştır.

5. Her grup başına 3 ardışık sayım yapılmıştır ve her bir tekrar için toplam 30 sinek analiz edilmiştir (Campesan vd. 2011).

3.6.8.4. *Drosophila* duyarlılık testleri

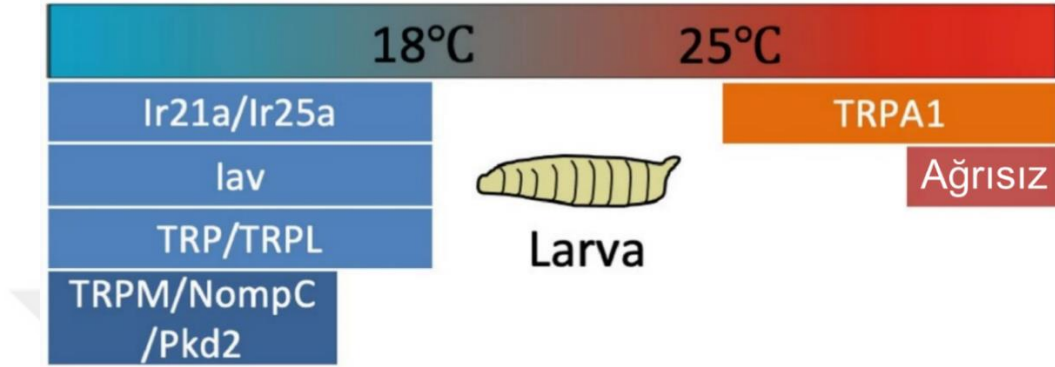
Meyve sinekleri poikilotermik hayvanlardır ve bu nedenle ortam sıcaklığındaki değişikliklere karşı son derece hassastırlar (Fowler ve Montell 2013). Sinek larvalarında sıcaklık sensörleri tespit edilmiştir. Larva termosensörleri larva başının ön ucunda bulunmaktadır (Li ve Gong 2017). Larva termosensörlerinin hücre gövdeleri iki ganglionda bulunur: sırt organı ganglionu (DOG) ve terminal organ ganglionu (TOG) (Şekil 3.14) (Klein vd. 2015; Ni vd. 2016). Bu nöronların dendritleri, dış sıcaklık bilgilerini toplayabilen terminal organlar ve sırt organları adı verilen derinin hemen altındaki iki yapıya kadar uzanmaktadır (Dillon vd. 2009). *Drosophila* larvaları, ikinci, erken ve orta üçüncü larval evre dahil olmak üzere erken larva aşamalarında ılık bir sıcaklık (24 °C) ihtiyaç duymaktadır, ancak üçüncü larva evresinin sonlarında daha soğuk bir sıcaklık (18-20 °C) ihtiyaç göstermiştir (Tyrrell vd. 2021).



Şekil 3.14. *Drosophila* larva'nın DOG ve TOG yapılarının pozisyonu (Ni 2021)

İyon kanallarının Geçici Reseptör Potansiyeli (TRP) üst ailesi, solucanlardan sineklere ve insanlara korunan bir katyon kanalları koleksiyonunu içermektedir (Şekil 3.15). Kanallar, birincil amino asit sekans homolojisine (TRPC, TRPV, TRPA, TRP, TRPM, TRPML ve TRPP) dayalı olarak yedi alt aile halinde düzenlenmiştir (Fowler ve Montell 2009). *Drosophila*'da sıcaklık reseptörleri olarak iki ilgili TRPA (Ankirin geçici reseptör potansiyeli) kanalı önerilmiştir: ağrısız ("painless") ve TRPA1. Ağrısız kanal, yüksek ısı (> 42-45 °C) ve larva vücut duvarının periferik çoklu dendritik nöronlarında ifade edilmektedir (Gallio vd. 2011). TRPA1, 27 °C'nin üzerinde etkinleştirilmekte ve daha yüksek sıcaklıklardan kaçınmaya katkıda bulunmaktadır. Larvalar, tercih edilen 18 – 24 °C aralığının dışındaki sıcaklıklardan uzaklaştırmaktadır (Sokabe ve Tominaga 2009). *Drosophila* larvalarında birkaç düşük sıcaklık algılama yolu tanımlanmıştır. Geçici reseptör potansiyeli (TRP), TRPM (TRP-melastatin), NompC (mekanoreseptörsüz potansiyel C) ve Polikistik böbrek hastalığı 2'yi (Pkd2) soğuk nosisepsiyon için gereklidir (Turner vd. 2016). Bir TRPV (vanilloid) kanalı, İav, kordotonal nöronlarda eksprese

edilmekte ve üçüncü instar sırasında soğuk sıcaklıklarda termal kaçınmaya katkıda bulunmaktadır (Kwon vd. 2010). Bir TRPC (canonical) kanalı olan TRPL, birinci (15-21 °C) ve üçüncü (14-17,5 °C) larval evrelerde sıcaklıkların soğumasından kaçınmada da rol oynamaktadır (Rosenzweig vd. 2008; Kwon vd. 2010). DOG nöronları, soğuğa duyarlı iyonotropik reseptörler ir21a ve ir25'i ifade etmektedir. Bu nöronlar, bazal sıcaklık 17 °C'ye ayarlandığında yanıt vermektedir (Ni vd. 2016).

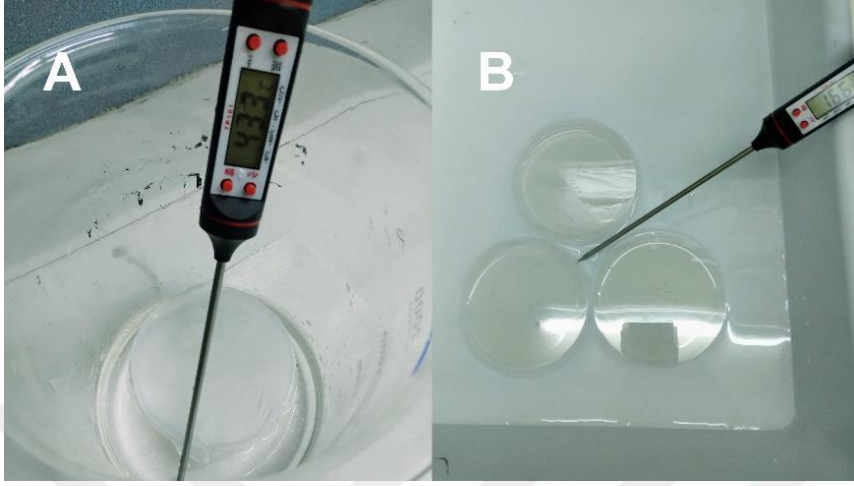


Şekil 3.15. *Drosophila*'da termosensasyon ve TRP'ler (Suito vd. 2022)

Drosophila duyarlılık testi adımlarında bu yol izlenmiştir (Mishra ve Barik 2018);

1. *Drosophila* Oregon R+ hattından 8 saatlik yumurtalar toplanmıştır.
2. Her tüp 1,5 gr *Drosophila* hazır besini eklenmiş üzerinde 9 mL farklı Si-QAC farklı konsantrasyonları (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) ıslatarak uygulanmıştır. Distile su negatif kontrol olarak kullanılmıştır.
3. Toplanan yumurtalardan çıkan 72±4 saatlik larvalar (3. larval evrenin başlangıcı) (~100 larva-1 spatula), her bir uygulama tüpüne eklenmiş ve 24 saat süre ile maruz bırakılmışlardır.
4. Larvalar maruziyet sonrasında % 2 agar içeren bir petri plakasına aktarılmıştır.
5. Her uygulamadan 15 üçüncü evre larva (3x tekrar) seçilmiş ve PBS ile yıkanmıştır.
6. **Termal duyarlılık testi:** petri plakası kaba 200 mL sıcak su (40-45 °C) üzerinde larvaları süzölmüş ve davranışlarını kontrol etmek için en az 5 dakika boyunca bir beherde tutulmuştur. Petriler parafilm ile kapatmıştır. Kontrol grubu larvaları agar plakasında daha hızlı hareket etmiş ve kapağa tırmanmaya çalışmıştır (Şekil 3.16.A).
7. **Soğuğa duyarlılık testi :** Plaka çevreye alışmalarını sağlamak için 1 dakika boyunca soğuk su (14-18 °C) üzerinde süzölmüştür. Bir dakika sonra larva hareketi 5 dakika boyunca gözlenmiştir. Kontrol grubu larvaları yavaş hareket

etmiş ve soğuğu hissedebildikleri için hareket etmekte tereddüt etmişlerdir (Şekil 3.16.B).



Şekil 3.16. *Drosophila* larvaların duyarlılık testi. (A) termal, (B) soğuğa duyarlılık testi

3.7. İstatistiksel analiz

SMAR testi ve DNA hasarı sinyal yolu PCR testi dışındaki tüm deneylerde elde edilen sonuçlar IBM SPSS programı (versiyon 20, IBM, Armonk, NY, ABD) kullanılarak one-way ANOVA testi ve ardından Dunnett testi ile analiz edilmiştir.

SMAR testi, Frei ve Würzler'in (1988) çoklu karar prosedürünü takiben (Çizelge 3.6), koşullu binominal test ile $\alpha = \beta = 0.05$ olasılık seviyesi kullanılarak MICROSTA programı ile değerlendirilmiştir (Kastenbaum ve Bowman 1970). Hem küçük tek tip klonlar hem de toplam klonlar yüksek spontan frekanslara sahip olduğu için çarpım faktörü (m) 2 olarak seçilmiş, ancak ikiz klonlar ve büyük klonlar düşük spontan frekanslara sahip olduğu için m faktörü 5 olarak belirlenmiştir (Graf ve Singer 1992).

DNA hasarı sinyalizasyon yolu PCR testi elde edilen sonuçları RT² Profiler PCR Dizisi Veri Analizi v3.5 (GeneGlobe, Qiagen) $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanılarak analiz edilmiştir. CT ('cycle threshold') floresan seviyesinin belirli bir miktara ulaştığı döngüdür. ΔCT test edilen gen ve referans genler arasındaki CT'deki farktır. $\Delta\Delta CT$ test edilen gen ve referans genler arasındaki ΔCT 'deki farktır (Livak ve Schmittgen 2001).

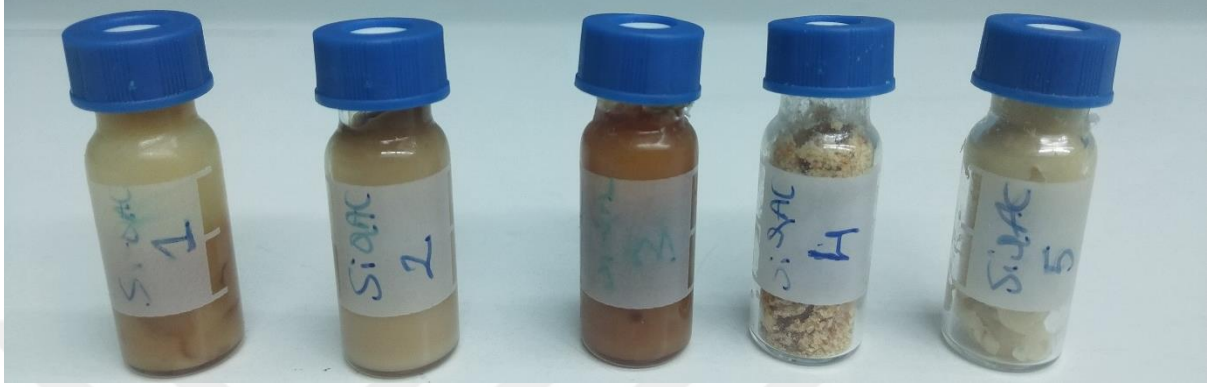
Çizelge 3.6. Çoklu karar testi değerlendirme tablosu (Frei ve Würzler 1988)

		Alternatif Hipotez (H_A): test edilen kimyasal ile negatif kontrol arasında fark yoktur	
		Kabul	Ret
Sıfır Hipotez (H_0): test edilen kimyasal ile negatif kontrol arasında bir fark vardır	Kabul	Anlamsız (i)	Negatif (-)
	Ret	Pozitif (+)	Zayıf pozitif (w)

4. BULGULAR

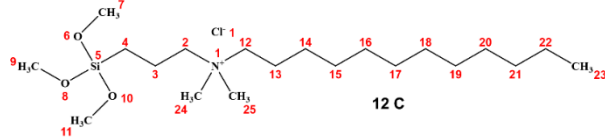
4.1. Si-QAC sentezi

Beş farklı Si-QAC başarıyla sentezlenmiş ve $\geq 99.5\%$ saflığa sahip oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.1 ve 4.2).

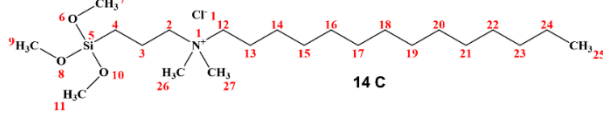


Şekil 4.1. Çalışma kapsamında sentezlenen Si-QAC'ler

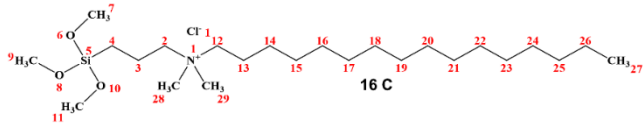
Dimetildodesil [3- (trimetoksisilil) propil] amonyum klorür
(Si-QAC-1)



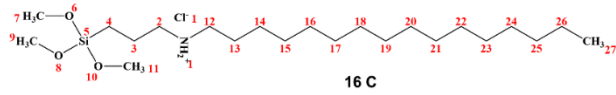
Dimetiltetradecil [3- (trimetoksisilil) propil] amonyum klorür
(Si-QAC-2)



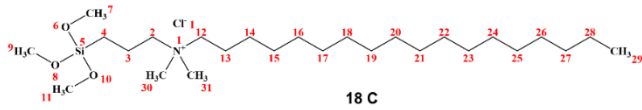
Dimetilheksadesil [3- (trimetoksisilil) propil] amonyum klorür
(Si-QAC-3)



Heksadesil [3- (trimetoksisilil) propil] amonyum klorür
(Si-QAC-4)



Dimetiloktadesil [3- (trimetoksisilil) propil] amonyum klorür
(Si-QAC-5)



Şekil 4.2. Si-QAC'lerin sentezlenen bileşiklerin yapıları

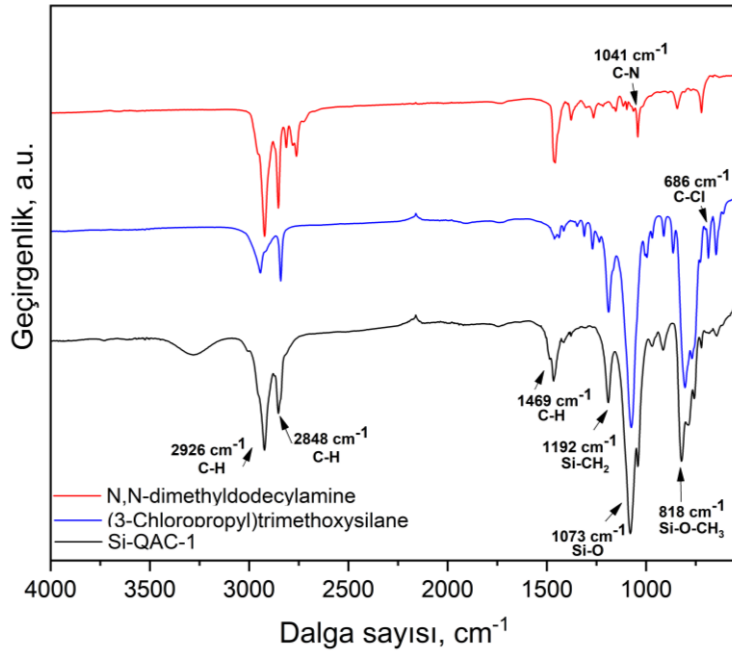
4.2. Si-QAC karakterizasyonu

4.2.1. FTIR ile elde edilen sonuçları

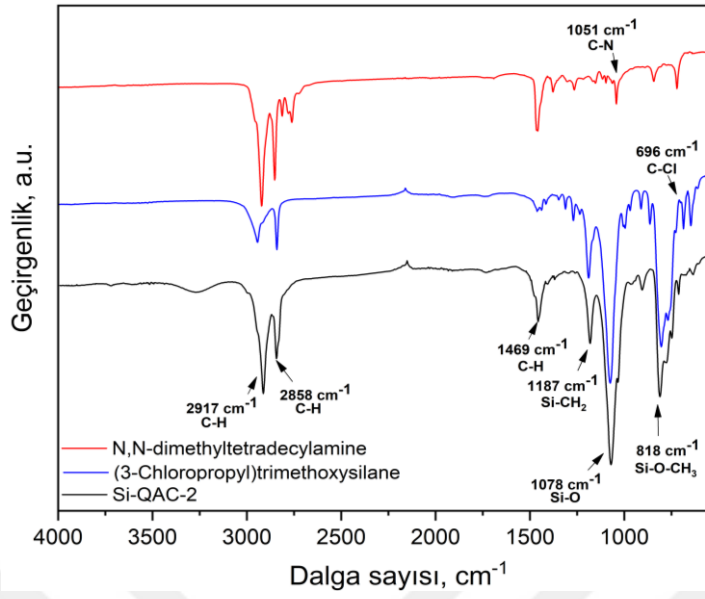
FTIR spektroskopisi, bilinmeyen bileşiklerin tanımlanmasında veya bir numunedeki spesifik fonksiyonel grupların varlığının doğrulanmasında etkilidir. Si-QAC'lerin yapıları FTIR ile doğrulanmıştır. Ayrıca C-Cl bağı dışında yer alan bağlarda takip edilebilecek bir değişiklik olmamasından ötürü dikkate alınmamıştır. Si-QAC'lerin FTIR spektrumu Şekil 4.3-4.7'te gösterilmiştir. Ayrıca Si-QAC'lerin fonksiyonel grupları Çizelge 4.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1. Si-QAC'lerin FTIR analiz sonucu

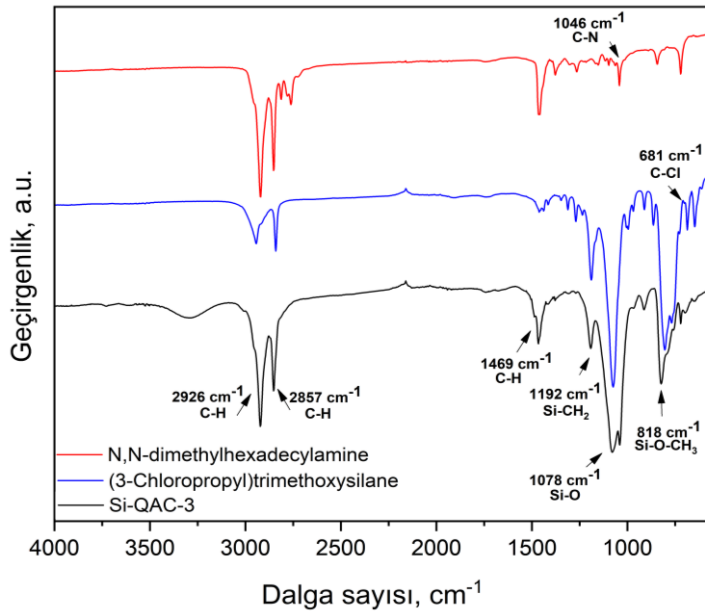
Bileşik	C-N alifatik gerilmesi	C-Cl gerilmesi
Si-QAC-1	1041	686
Si-QAC-2	1051	696
Si-QAC-3	1146	681
Si-QAC-4	1160	686
Si-QAC-5	1146	686



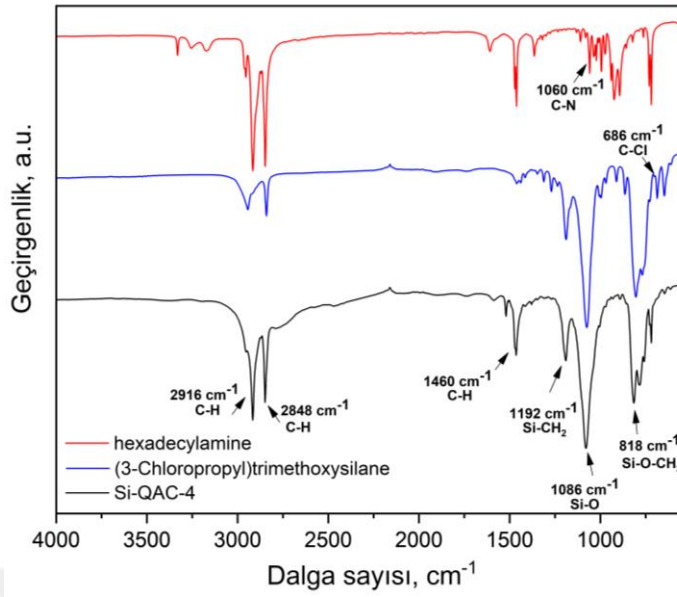
Şekil 4.3. Si-QAC-1'in FTIR spektrumu



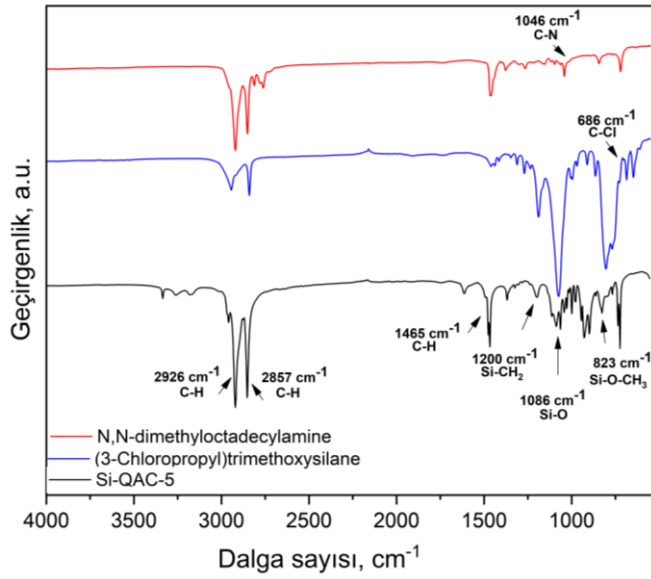
Şekil 4.4. Si-QAC-2'nin FTIR spektrumu



Şekil 4.5. Si-QAC-3'ün FTIR spektrumu



Şekil 4.6. Si-QAC-4'ün FTIR spektrumu



Şekil 4.7. Si-QAC-5'in FTIR spektrumu

4.2.2. Titrasyon sonuçları

Verim, tipik olarak elde edilen gerçek ürün miktarının teorik maksimum ürün miktarına bölünmesi ve 100 ile çarpılmasıyla hesaplanmakta ve yüzde olarak ifade edilmektedir. Verim, cihazda yürütülen bir kimyasalın istenen ürüne ne kadar verimli bir şekilde dönüştürüldüğüne dair bir gösterge vermektedir. Yüksek verim, daha verimli bir reaksiyonu gösterirken, düşük verim, yan reaksiyonlar veya yürütülen bir kimyasalın eksik dönüşümü gibi verimsizlikleri gösterebilmektedir (Furniss ve Vogel 2009). Verimin sınıflandırılması Çizelge 4.2'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Verimin sınıflandırılması (Furniss ve Vogel 2009)

Verim (%)	Karakterizasyon
100'e yakın	Nicel
≥ 90	Mükemmel
≥ 80	Çok iyi
≥ 70	İyi
≥ 50	Orta
≤ 40	Kötü

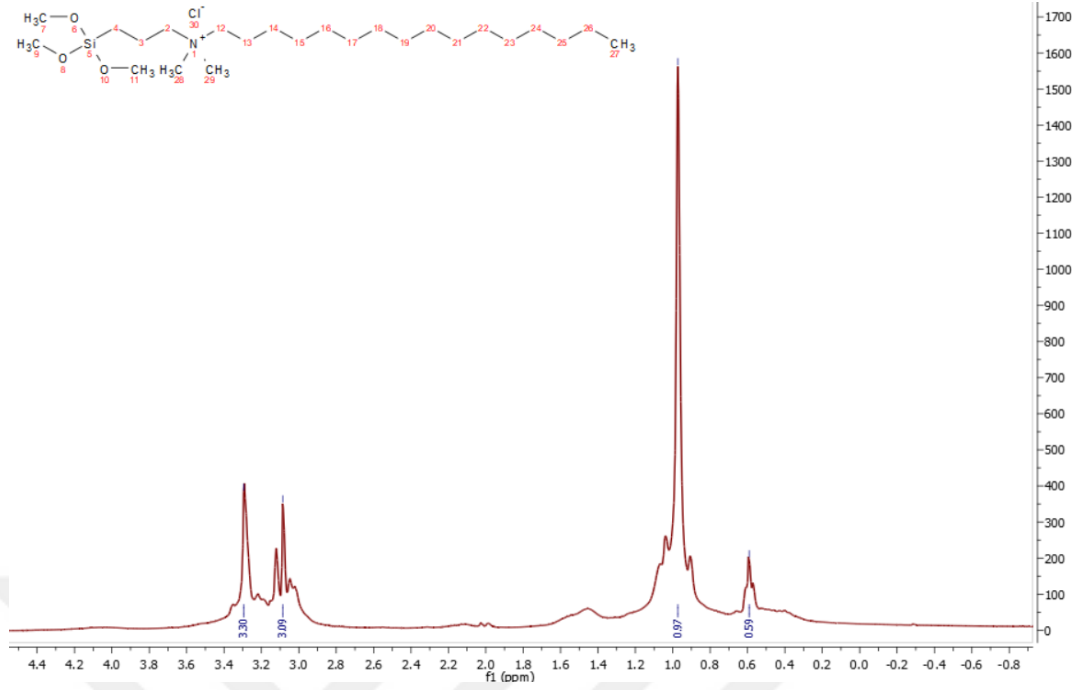
Verimin sınıflandırılmasına göre Si-QAC-1, 2 ve 5, çok iyi olarak kabul edilirken Si-QAC-3 ve 4 mükemmel olarak kabul edilmiştir (Çizelge 4.3). Ancak Si-QAC-4 için dallanmış yapılarda bu kadar yüksek verim sağlanamamıştır. Muhtemelen verimliliği etkileyen sebep, reaksiyon ortamında inert bir atmosfer sağlanamamasıdır. Bu nedenle, sadece Si-QAC-3 mükemmel verime sahip olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 4.3. Titrasyon sonuçları

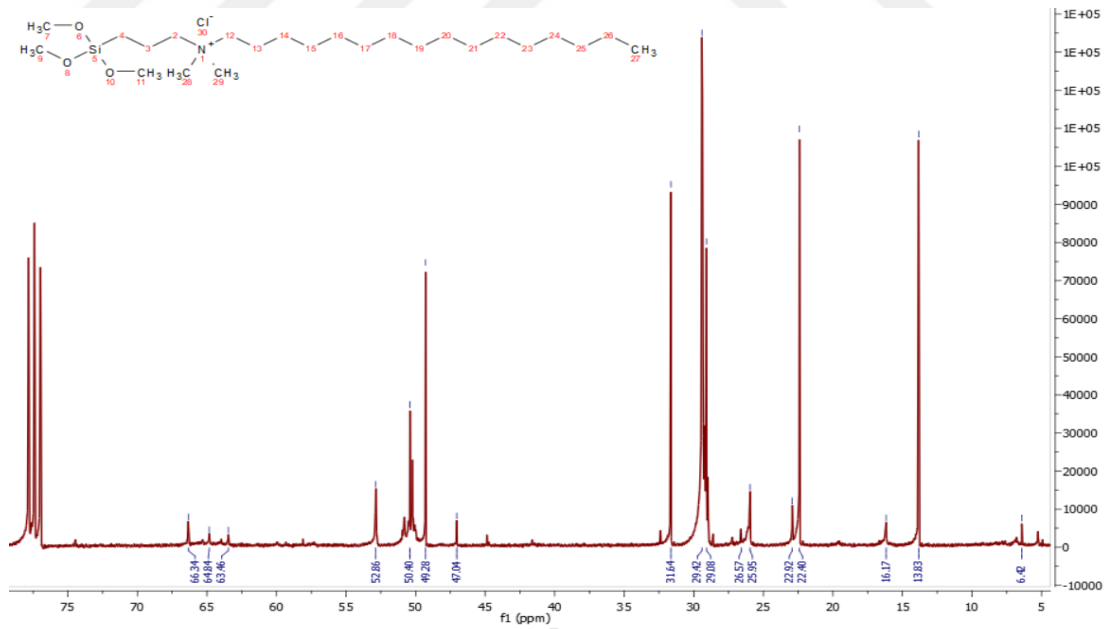
Bileşik	Verim (%)
Si-QAC-1	88.0
Si-QAC-2	85.3
Si-QAC-3	90.0
Si-QAC-4	98.5
Si-QAC-5	80.4

4.2.3. ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopisi

Verim sonucuna göre ^1H -NMR (Proton Nükleer Manyetik Rezonans) ve ^{13}C -NMR (Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans) spektroskopik karakterizasyonu gerçekleştirilmesi ile en etkili ürün, Si-QAC-3, seçilmiştir. ^1H -NMR, hidrojen atomlarının bağlantısı, etrafındaki kimyasal ortam ve fonksiyonel grupların varlığı hakkında bilgi sağlarken, ^{13}C -NMR, bir moleküldeki karbon atomlarının sayısı ve türleri ile kimyasal ortamları hakkında bilgi vermektedir. Ancak ikisi de FTIR (Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi) ile birlikte kimyasal bileşiklerin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını sağlamak için kullanılmaktadır. Si-QAC-3'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopisi elde edilen sonuçları Şekil 4.8 ve 4.9'te gösterilmiştir. Si-QAC-3 bileşiğine ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde reaksiyon verimi % 90 gerçekleşmesinden dolayı yer alan spektrumda pik görülmektedir.



Şekil 4.8. Si-QAC-3'ün ^1H -NMR spektrumu



Şekil 4.9. Si-QAC-3'ün ^{13}C -NMR spektrumu

4.3. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) testi

MİK testi değerleri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. MİK testi değerlerine göre, her Si-QAC için en yüksek konsantrasyon bakterilerin hepsini öldürebilen % 100 konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Si-QAC-3 (bir dimetil grubu içeren) bileşiği, Si-QAC-4'e (bir dimetil grubu içermeyen) kıyasla, tüm test edilen bakterilere karşı daha düşük bir MİK değerine sahiptir. Bu durum, dimetil grubunun yokluğunun Si-QAC'ın antimikrobiyal potansiyelini azalttığını göstermektedir. Ayrıca, Si-QAC-1 ve Si-QAC-2 bileşikleri, Gram-pozitif bakterilere karşı Gram-negatif bakterilere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

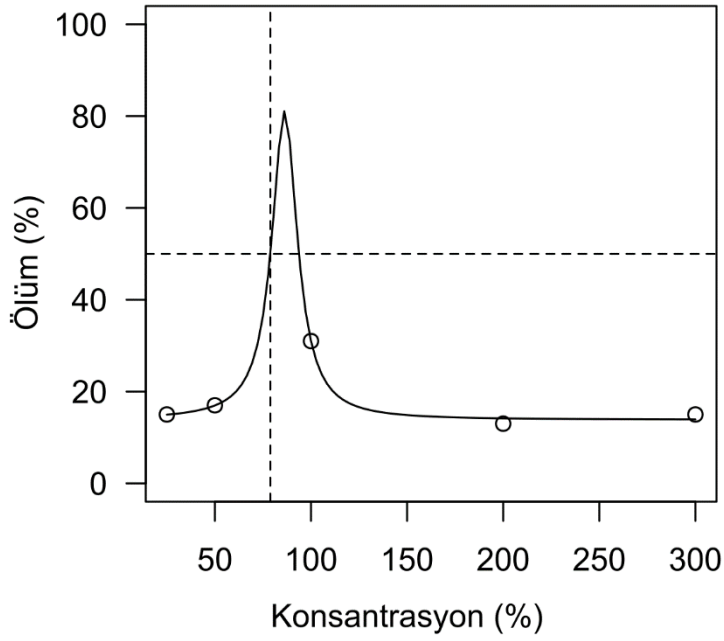
Çizelge 4.4. Si-QAC'lerin MİK değerleri

Bileşik	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>
Si-QAC-1	28 ppm	28 ppm	112 ppm	28 ppm
Si-QAC-2	<16 ppm	13 ppm	218 ppm	436 ppm
Si-QAC-3	<16 ppm	<16 ppm	28 ppm	<16 ppm
Si-QAC-4	31 ppm	31 ppm	63 ppm	63 ppm
Si-QAC-5	<16 ppm	51 ppm	51 ppm	51 ppm
Pozitif kontrol (BAC)	32 ppm	32 ppm	128 ppm	32 ppm

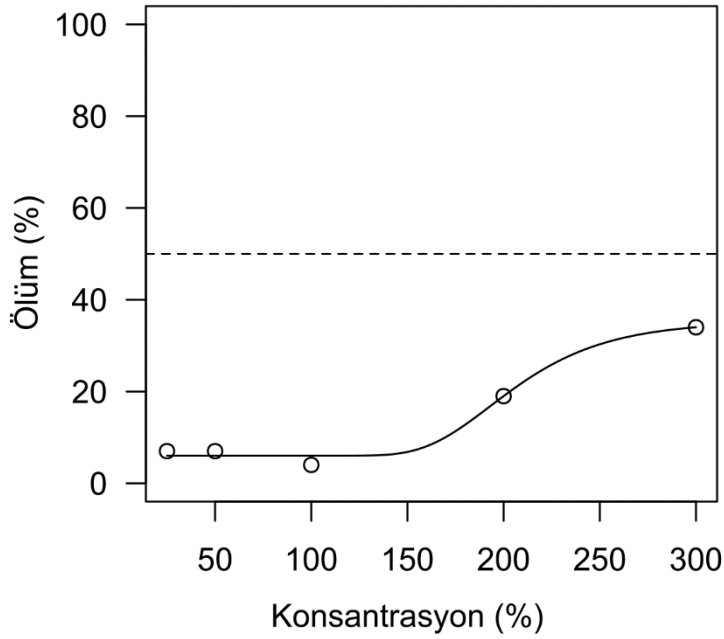
4.4. *Drosophila melanogaster*

4.4.1. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi

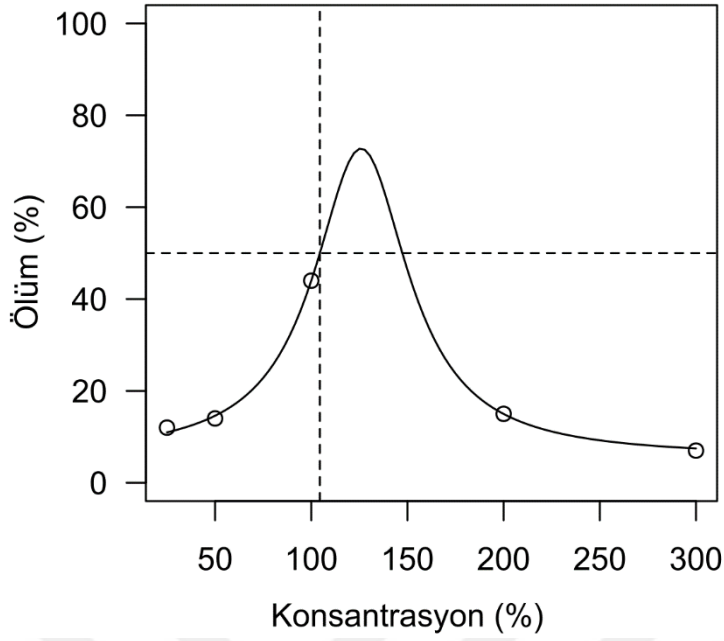
MİK testinin sonuçlarına göre, her tip dezenfektan için test edilen bakterilerin hepsini öldürebilen en yüksek konsantrasyon % 100 konsantrasyon olarak belirlenmiştir. İnsanların dezenfektan tüketiminin farklı nedenlere bağlı olarak bazen aşırı bazen de az olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, hem yüksek konsantrasyon (x2 kat) hem de düşük konsantrasyon (2 kat az) olarak çalışma kapsamında seçilmiştir. Buna göre her bir Si-QAC için % 25, % 50, % 100, % 200 ve % 300'lik konsantrasyonlar belirlenmiştir. Çalışılmış olan konsantrasyonlar, *Drosophila* larvalarının pupadan çıkış başarısı temel alınarak belirlenmiştir. Tüm konsantrasyonların pupadan çıkış başarı oranı % 50'den fazladır (Şekil 4.10-4.14). Bu nedenle % 25, % 50, % 100, % 200 ve % 300'lik konsantrasyonlar deneylerde kullanılmak üzere kabul edilmiştir.



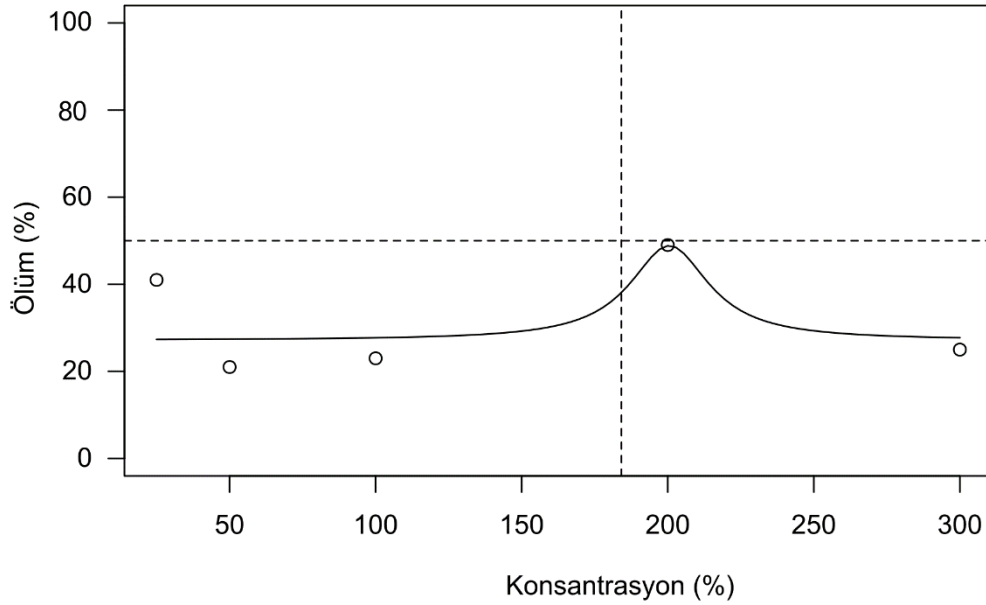
Şekil 4.10. Si-QAC-1'in konsantrasyon-ölüm modeli. Grafiklerdeki noktalar, gözlenen birey ölüm yüzdesini göstermiştir. Beklenen ölüm oranını gösteren noktaları birleştirmek için tahmin edilen bir model çizilmiştir ($n = 50$; 3x tekrar)



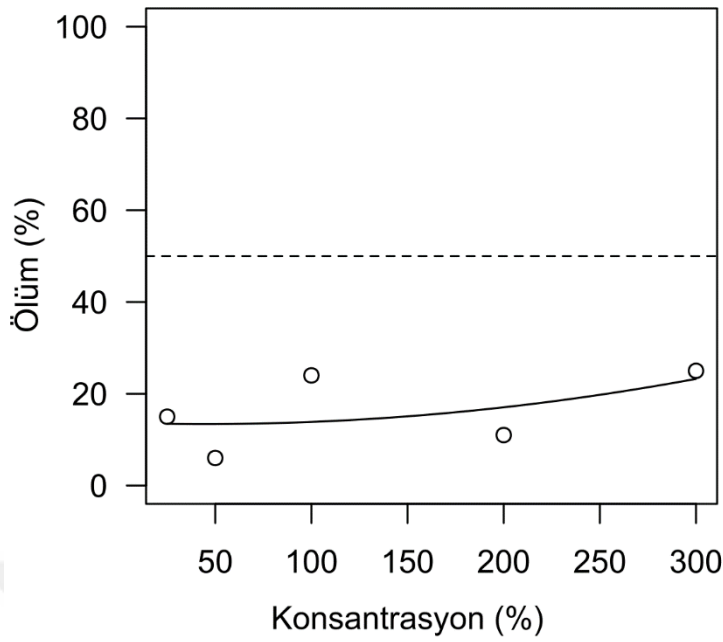
Şekil 4.11. Si-QAC-2'nin konsantrasyon-ölüm modeli. Grafiklerdeki noktalar, gözlenen birey ölüm yüzdesini göstermiştir. Beklenen ölüm oranını gösteren noktaları birleştirmek için tahmin edilen bir model çizilmiştir ($n = 50$; 3x tekrar)



Şekil 4.12. Si-QAC-3'ün konsantrasyon-ölüm modeli. Grafiklerdeki noktalar, gözlenen birey ölüm yüzdesini göstermiştir. Beklenen ölüm oranını gösteren noktaları birleştirmek için tahmin edilen bir model çizilmiştir ($n = 50$; 3x tekrar)



Şekil 4.13. Si-QAC-4'ün konsantrasyon-ölüm modeli. Grafiklerdeki noktalar, gözlenen birey ölüm yüzdesini göstermiştir. Beklenen ölüm oranını gösteren noktaları birleştirmek için tahmin edilen bir model çizilmiştir ($n = 50$; 3x tekrar)



Şekil 4.14. Si-QAC-5'in konsantrasyon-ölüm modeli. Grafiklerdeki noktalar, gözlenen birey ölüm yüzdesini göstermiştir. Beklenen ölüm oranını gösteren noktaları birleştirmek için tahmin edilen bir model çizilmiştir ($n = 50$; 3x tekrar)

4.4.2. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

Pozitif kontrolün (EMS, 1 mM) toplam klon frekansında, negatif kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Ayrıca, hem *mwh* klonları (delesyon veya nokta mutasyon veya rekombinasyon'dan dolayı meydana gelmekte) hem de ikiz klonlarda (rekombinasyon'dan dolayı ortaya çıkmaktadır) istatistiksel olarak anlamlı bir artış kaydedilmiştir. Bu durum EMS'nin hem mutajenik hem de rekombinojenik etkileri olduğunu göstermektedir. Si-QAC-1'in toplam klon frekansında tüm konsantrasyonlarda negatif kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Si-QAC-1'in *mwh* klon tipinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiş ancak ikiz klon frekansındaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Si-QAC-2'in en yüksek dozu (% 300) zayıf pozitif çıkmıştır. Kalan Si-QAC-(3,4, ve 5) toplam klon frekansı hiçbir konsantrasyonunda negatif kontrole göre anlamlı bir artış göstermemiştir. Bununla birlikte çalışmada kullanılan diğer klon tiplerinde de istatistiksel olarak anlamlı bir artış kaydedilmemiştir. *Drosophila* üzerinde test edilen Si-QAC-(3,4, ve 5) tüm konsantrasyonlarında ne mutagenik ne de rekombinogenik etkiler belirlenmemiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Si-QAC'lerin *D. melanogaster*'ın 72±4 saatlik transheterozigot (*mwh/flr³*) larvalarındaki genotoksik etkisi

Derişimler (%)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2) (m = 2)			Büyük tek tip klonlar (>2) (m = 5)			İkiz klonlar (m = 5)			Toplam mwh klonlar (m = 2)			Toplam klonlar (m = 2)		
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.
Distile su	80	30	0.375		3	0.038	+	1	0.013		33	0.413		34	0.425	
EMS (1 Mm)	20	94	4.7	+	18	0.9	+	12	0.6	+	102	5.1	+	114	5.7	+
Si-QAC-1 25	80	59	0.74	+	4	0.05	i	1	0.013	i	63	0.788	+	64	0.8	+
50	80	65	0.813	+	4	0.05	i	1	0.013	i	69	0.863	+	70	0.875	+
100	80	57	0.713	+	3	0.038	i	0	0	i	60	0.75	+	60	0.75	+
200	80	64	0.8	+	3	0.038	i	2	0.025	i	67	0.838	+	69	0.863	+
300	80	72	0.9	+	6	0.075	i	2	0.025	i	77	0.963	+	80	1	+
Si-QAC-2 25	80	25	0.313	-	2	0.025	-	0	0	i	27	0.338	-	27	0.338	-
50	80	26	0.325	-	3	0.038	i	0	0	i	29	0.363	-	29	0.363	-
100	80	35	0.438	-	4	0.05	i	0	0	i	39	0.488	-	39	0.488	-
200	80	30	0.375	-	2	0.025	-	0	0	i	32	0.4	-	32	0.4	-
300	80	60	0.75	w	5	0.063	i	0	0	i	65	0.813	w	65	0.813	w
Si-QAC-3 25	80	30	0.375	-	7	0.088	i	2	0.025	i	37	0.463	-	39	0.488	-
50	80	33	0.413	-	4	0.05	i	1	0.013	i	37	0.463	-	38	0.475	-
100	80	29	0.363	-	1	0.013	-	4	0.05	i	30	0.375	-	34	0.425	-
200	80	41	0.513	-	3	0.038	i	0	0	i	44	0.55	-	44	0.55	-
300	80	29	0.363	-	7	0.088	i	3	0.038	i	36	0.45	-	39	0.488	-

(Devamı arkada)

Çizelge 4.5. 'in Devamı

Derişimler (%)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2) (m = 2)			Büyük tek tip klonlar (>2) (m = 5)			İkiz klonlar (m = 5)			Toplam mwh klonlar (m = 2)			Toplam klonlar (m = 2)		
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.
Si-QAC-4 25	80	23	0.288	-	2	0.025	-	1	0.013	i	25	0.313	-	26	0.325	-
50	80	24	0.3	-	5	0.063	i	0	0	i	29	0.363	-	29	0.363	-
100	80	31	0.388	-	5	0.063	i	0	0	i	36	0.45	-	36	0.45	-
200	80	34	0.425	-	5	0.063	i	1	0.013	i	39	0.488	-	40	0.5	-
300	80	24	0.3	-	2	0.025	-	1	0.013	i	26	0.325	-	27	0.338	-
Si-QAC-5 25	80	16	0.2	-	2	0.025	-	0	0	i	18	0.225	-	18	0.225	-
50	80	16	0.2	-	6	0.075	i	1	0.013	i	21	0.263	-	22	0.275	-
100	80	17	0.213	-	2	0.025	-	0	0	i	17	0.213	-	19	0.238	-
200	80	14	0.175	-	2	0.025	-	0	0	i	16	0.2	-	16	0.2	-
300	80	16	0.2	-	2	0.025	-	1	0.013	i	18	0.225	-	19	0.238	-

EMS, Etil metansülfonat; Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; w, zayıf pozitif m= çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

4.4.3. *Drosophila* tek hücre jel elektroforezi testi (Komet testi)

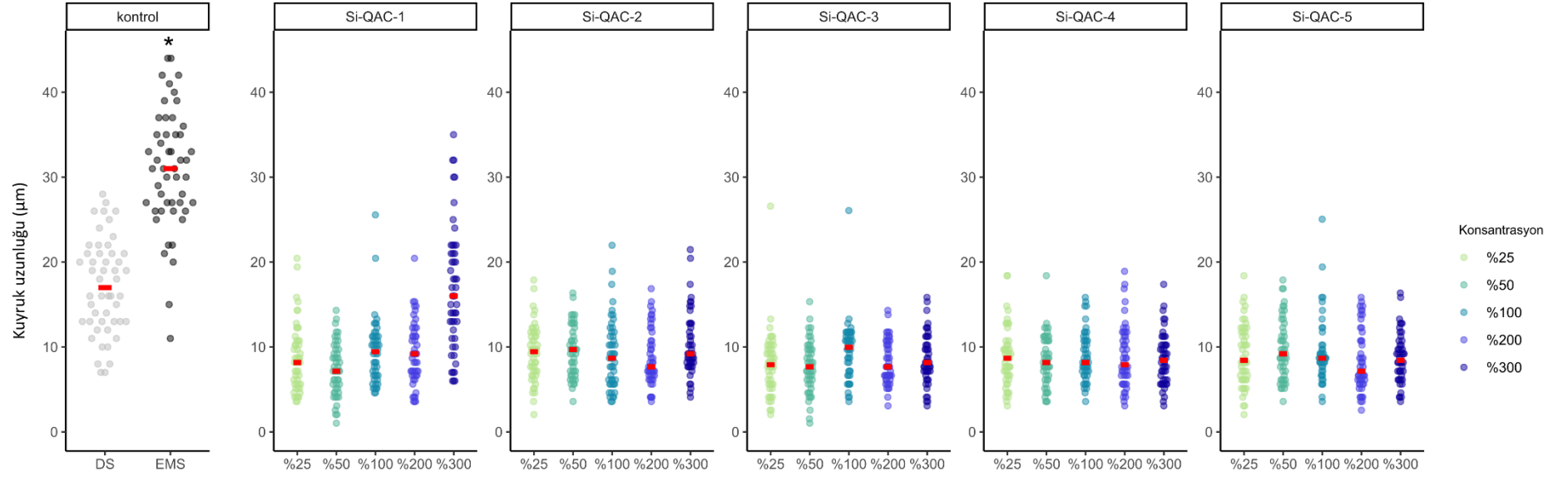
Komet testinin sonucunu değerlendirmek için genellikle üç parametre kullanılmaktadır: kuyruk uzunluğu (μm), kuyruk yoğunluğu (%) ve kuyruk momenti (=kuyruk uzunluğu X kuyruk yoğunluğu). Komet testinin kuyruğundaki yoğunluk, DNA hasarını değerlendirmek için en çok kullanılan parametredir. Pozitif kontrol (EMS, 4 mM) negatif kontrole kıyasla tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı DNA kırıklarına (tek ve/veya çift kırıklar) neden olmuştur (Şekil 4.15-4.17). Si-QAC-1 (% 100), Si-QAC-3 (% 25, % 50, % 100, ve % 200), Si-QAC-4 (% 50, % 200, ve % 300), ve Si-QAC-5 (% 50, % 100, % 200, ve % 300) uygulamalarında istatistiksel olarak anlamlı DNA kırıkları tespit etmiştir (Şekil 4.17). Si-QAC-2'nin tüm konsantrasyonlarında hiçbir DNA hasarı gözlenmemiştir.

4.4.4. *Drosophila* hemositlerinde kaspazlar aktiviteleri

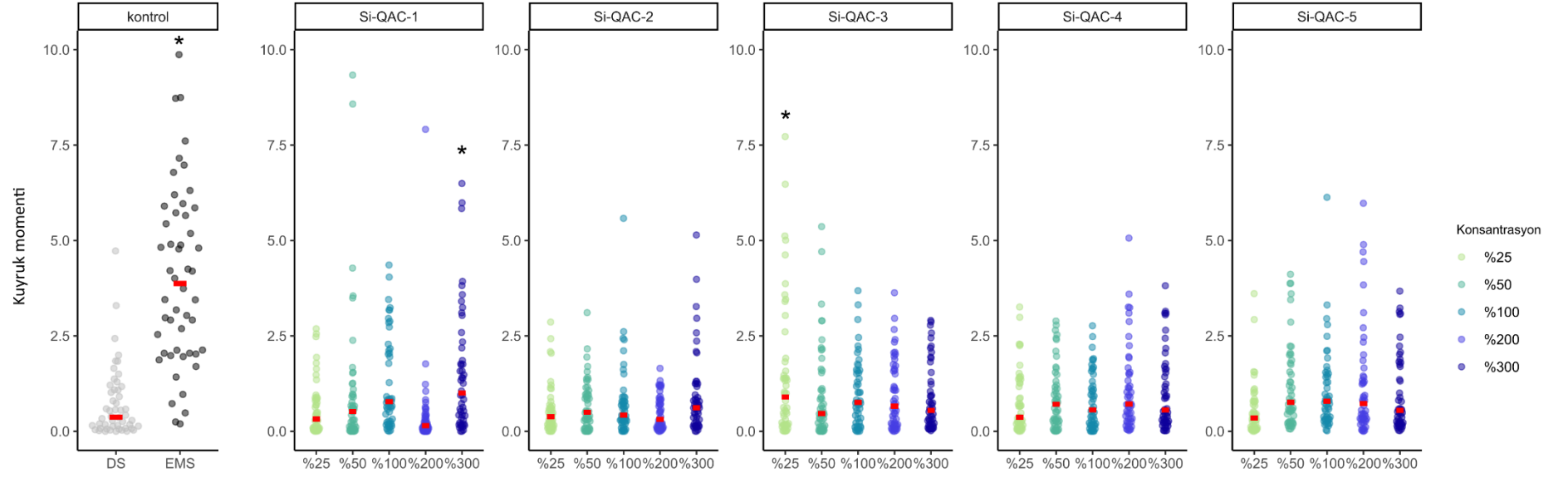
Si-QAC-2,3,4 ve 5 tüm konsantrasyonlarında kaspaz-3/7 (Şekil 4.18), kaspaz-8 (Şekil 4.19) ve kaspaz 9 (Şekil 4.20) aktivitelerinde istatistiksel olarak bir artış tespit edilmiştir. Si-QAC-5'in % 300 konsantrasyonu hem kaspaz 8 hem de kaspaz 9 aktivitelerinde en yüksek değeri ortaya çıkarmıştır. İkinci sırada, Si-QAC-3'ün % 100 konsantrasyonu tüm kaspazlar içinde yüksek bir değer sahip olarak gözlenmiştir.

4.4.5. *Drosophila* Tripan mavisi testi

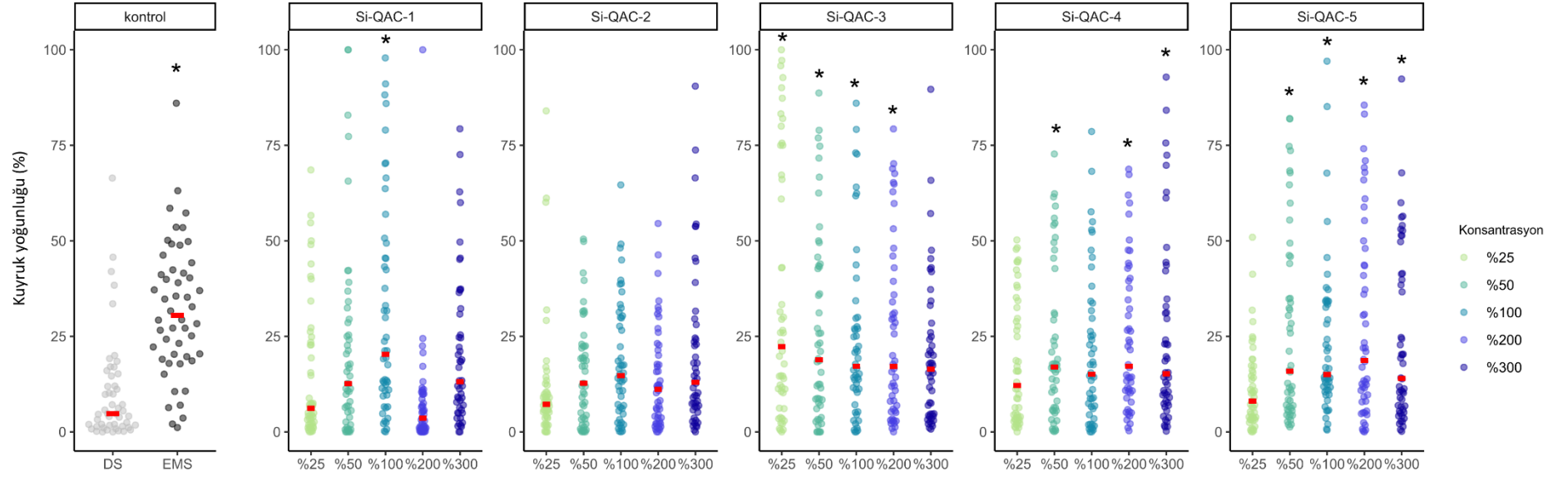
Si-QAC'lara maruz bırakılan *Drosophila* larvalarının bağırsak hasarını puanlamak için 4 farklı grup sınıflandırılmıştır: (0) bağırsakta mavi renk yok - hiçbir hasar gözlenmemiş, (1) bağırsakta küçük belirli mavi renkli bir nokta - küçük hasar, (2) bağırsakta mavi renkli farklı yerde bulunan iki nokta - orta hasar, (3) bağırsağın yaklaşık yarısı mavi renktedir - büyük hasar, (4) çoğu bağırsak mavi renkte - çok büyük hasar. Hidrojen peroksit (0.05 M) pozitif kontrol olarak kullanılmış ve istatistiksel olarak bağırsakta orta hasar oluşturduğu gözlenmiştir. Si-QAC-2'nin tüm konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir hasar kaydedilmemiştir. Si-QAC-1'in % 200 ve % 300 konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı büyük bir hasar olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.21). Si-QAC-3'ün % 100 ve % 200 konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı büyük bir hasar olduğu gözlenmiş ancak Si-QAC-3'ün % 300 konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde orta hasar olduğu gözlenmiştir. Si-QAC-4'ün % 100 ve % 200 konsantrasyonlarında istatistiksel olarak büyük oranda hasar olduğu gözlenmiştir. Si-QAC-5'nin % 300 konsantrasyonunda istatistiksel olarak çok büyük oranda hasar meydana geldiği tespit edilmiştir.



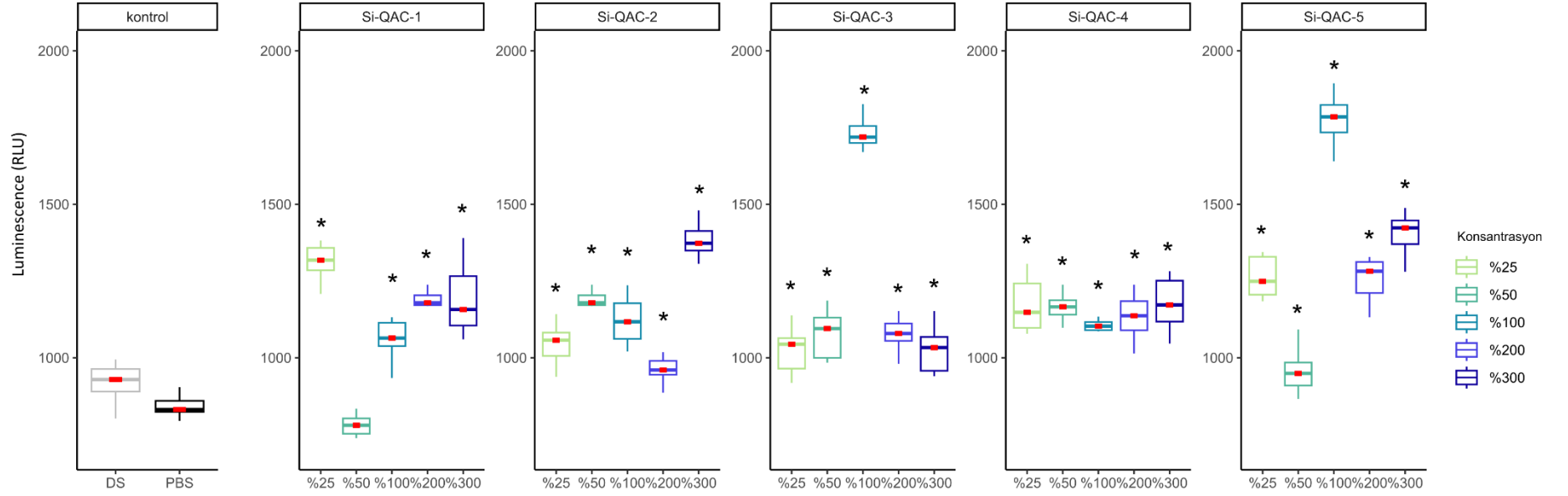
Şekil 4.15. Komet kuyruk uzunluğu sonuçları. Kırmızı çizgi medyanı temsil etmektedir. DS, distile su; EMS, etil metansülfonat. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p<0.05$). Her bileşik için 50 hücre sayılmıştır



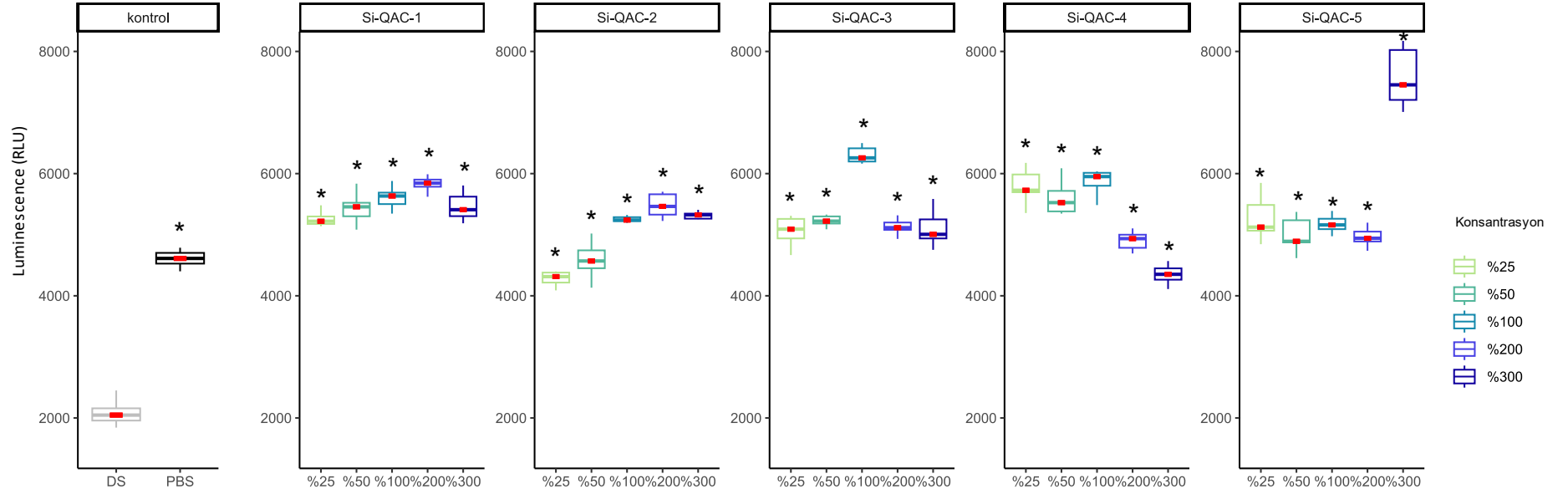
Şekil 4.16. Komet kuyruk momenti sonuçları. Kırmızı çizgi medyayı temsil etmektedir. DS, distile su; EMS, etil metansülfonat. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p < 0.05$). Her bileşik için 50 hücre sayılmıştır



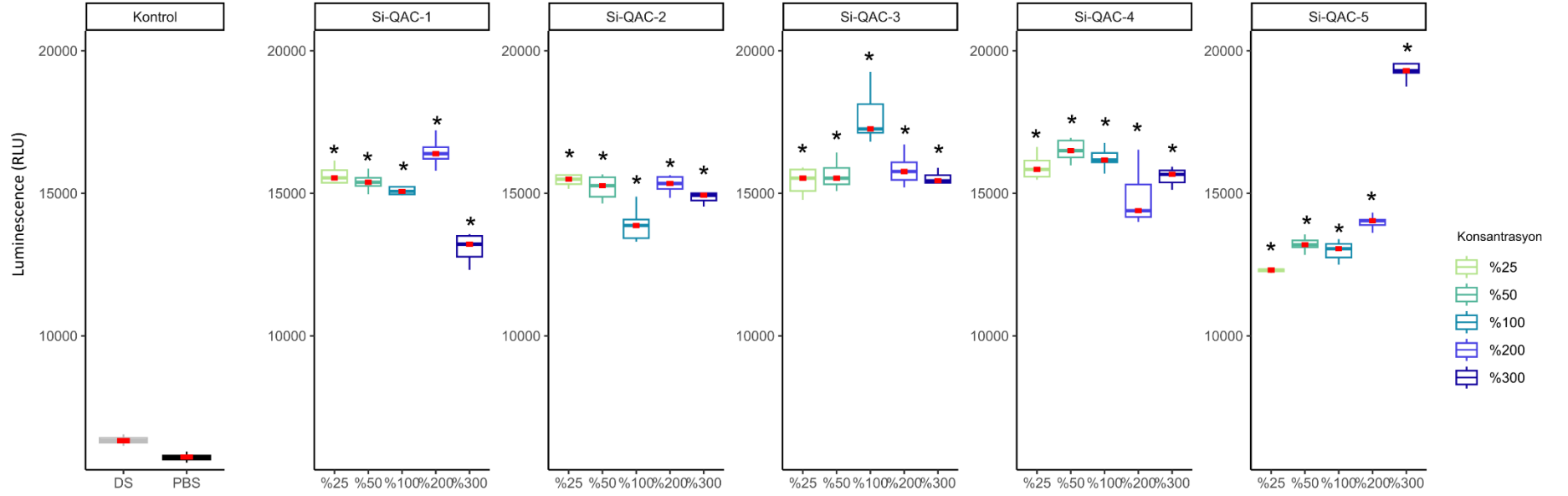
Şekil 4.17. Komet kuyruk yoğunluğu sonuçları. Kırmızı çizgi medyanı temsil etmektedir. DS, distile su; EMS, etil metansülfonat. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p < 0.05$). Her bileşik için 50 hücre sayılmıştır



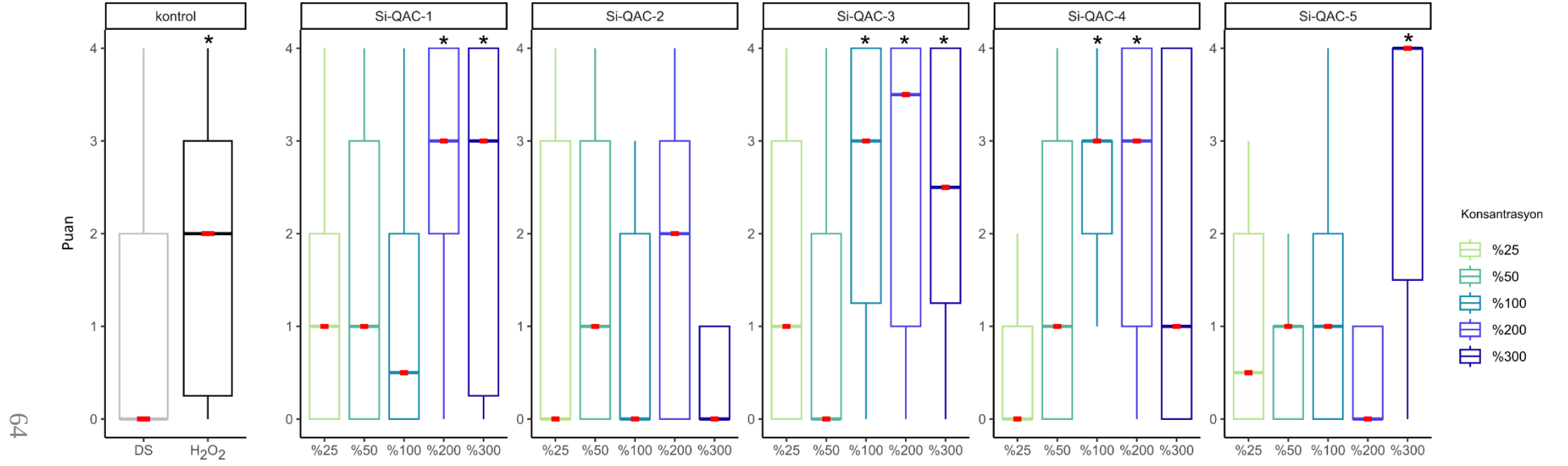
Şekil 4.18. Kaspaz 3/7 aktivitesi ölçülmesi. Kırmızı çizgi medyanı temsil etmektedir. DS, distile su; PBS, fosfat tamponlu salin. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p < 0.05$)



Şekil 4.19. Kaspaz 8 aktivitesi ölçülmesi. Kırmızı çizgi medyanı temsil etmektedir. DS, distile su; PBS, fosfat tamponlu salin. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p < 0.05$)



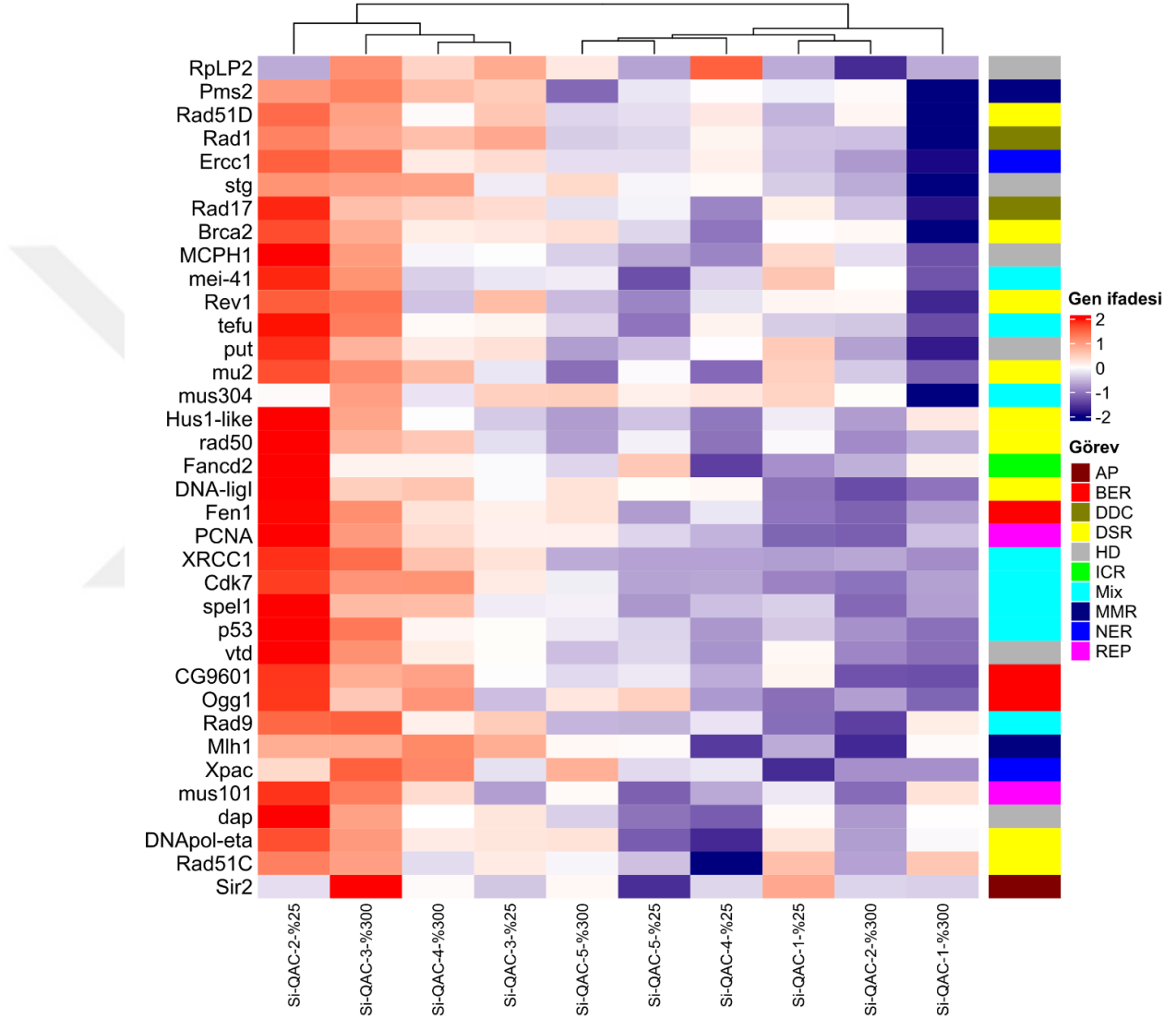
Şekil 4.20. Kaspaz 9 aktivitesi ölçülmesi. Kırmızı çizgi medyanı temsil etmektedir. DS, distile su; PBS, fosfat tamponlu salin. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p < 0.05$)



Şekil 4.21. Tripan mavisi sonuçları ($n=10$; 3x tekrar). Kırmızı çizgi medyanyı temsil etmektedir. DS, distile su; H₂O₂, hidrojen peroksit (0.05 M). Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p<0.05$)

4.4.6. *Drosophila* DNA hasarı sinyal yolu Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) dizileri

Çalışma kapsamında 5 farklı Si-QAC'lerin DNA tamir gen ifadelerinin etkilerini belirlemek amacıyla her bir Si-QAC'nin çalışılmış olan en düşük (% 25) ve en yüksek (% 300) konsantrasyonu kullanılmıştır. DNA tamir gen ifadelerinin değişimi Şekil 4.22'te bulunmuştur ($p < 0.05$). Kullanılan genlerin görevleri Şekil 4.22 ve 4.23'te gösterilmiştir.



Şekil 4.22. Kat değişimine (fold change) göre en düşük ve en yüksek konsantrasyona sahip 5 farklı Si-QAC'den farklı şekilde ifade edilen 36 genin ısı haritası grafiğidir. Dendrogram, hiyerarşik kümeleme kullanılarak tabakalandırılmış iki kümeyi göstermektedir. Yüksek ifade kırmızıyla, düşük ifade maviyle gösterilmektedir. AP (apoptoz); BER (Base excision repair, baz eksizyon onarımı); DDC (DNA damage checkpoints, DNA hasarı kontrol noktaları); DSR (Double-strand breaks repair, çift kırıkları DNA onarımı); HD (Hücre döngüsü); ICR (Intercrosslink repair, çapraz bağlar onarımı); Mix (Birden fazla mekanizma-ayrıntı Şekil 4.23'te); MMR (Mismatch repair,

yanlış eşleşme onarımı); NER (Nucleotide excision repair, nükleotit eksizyon onarımı); REP (DNA replication checkpoints, DNA replikasyon kontrol noktaları). DNA tamir genleri görevlerini FlyBase'den (Versiyon FB2023_03, 13 Haziran 2023'te yayınlanmış) biyolojik süreç (Biological process) deneysel kanıtlara dayanmakta ve deneysel kanıtın yokluğunda tahminlere veya iddialara dayalı terimler seçilmiştir

	AP	BER	DDC	DSR	HD	ICR	MMR	NER	REP
mei-41									
tefu									
mus304									
XRCC1									
Cdk7									
spel1									
p53									
Rad9									

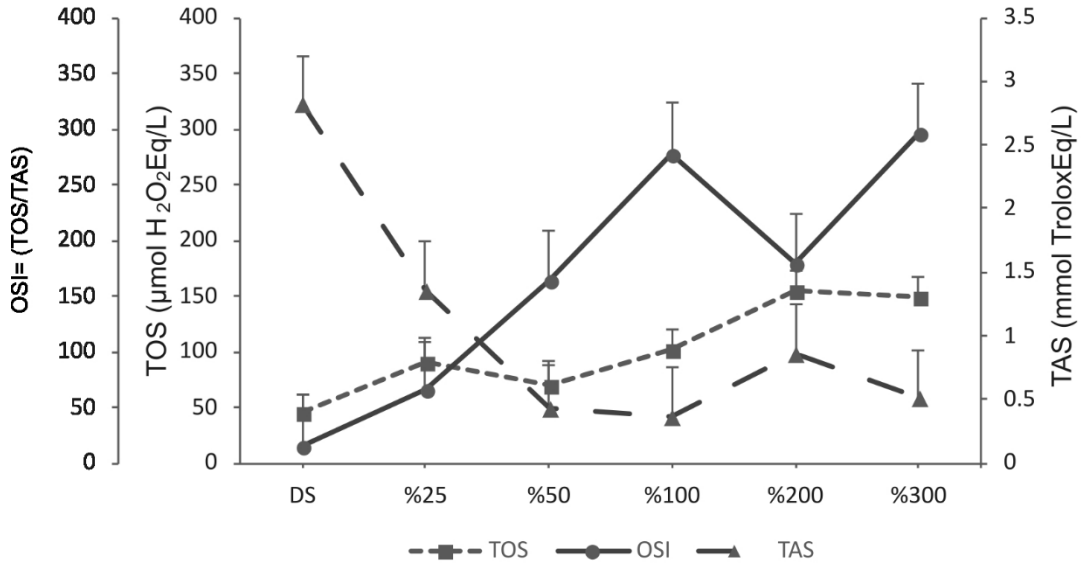
Şekil 4.23. Mix grubu (Bir mekanizmadan daha fazla etkileyen genler) DNA tamir geni görevleri. AP (apoptoz); BER (Base excision repair, baz eksizyon onarımı); DDC (DNA damage checkpoints, DNA hasarı kontrol noktaları); DSR (Double-strand breaks repair, çift kırıkları DNA onarımı); HD (Hücre döngüsü); ICR (Intercrosslinks repair, çapraz bağlar onarımı); MMR (Mismatch repair, Yanlış eşleşme onarımı); NER (Nucleotide excision repair, nükleotit eksizyon onarımı); REP (DNA replication checkpoints, DNA replikasyon kontrol noktaları). DNA tamir genleri görevlerini FlyBase'den (Versiyon FB2023_03, 13 Haziran 2023'te yayınlanmış) biyolojik süreç (Biological process) deneysel kanıtlara dayanmakta ve deneysel kanıtın yokluğunda tahminlere veya iddialara dayalı terimler seçilmiştir

Elde edilen sonuçlara göre Si-QAC-2-% 25 ve Si-QAC-3-% 300, Si-QAC-4-% 300 ve Si-QAC-3- % 25 aynı kümede yer almaktadır (kümede çoğu genin yukarı-regüle edilmiştir). Si-QAC-2-% 25, 33 gen yukarı-regüle edilmiş, 1 gen değişim göstermemiş, ve 2 gen aşağı-regüle edilmiştir. Çoğu artış, çift kırıkları onarım (DSR) mekanizmasında yer alan gende kaydedilmiştir. Apoptoz ve nükleotit eksizyon onarım (NER) geninin ekspresyonlarında herhangi bir artışı temsil etmediğini fark edilmiştir. Si-QAC-3-% 300, 35 gen yukarı-regüle edilmiş ve 1 gen (*Fancd2*) ifadesi herhangi bir değişik göstermemiştir. Bu nedenle, çapraz bağlar onarım (ICR) mekanizması dışında tüm DNA onarım mekanizmalarının indüklendiğini düşündürmektedir. Si-QAC-4-% 300, 24 gen yukarı-regüle edilmiş ve 5 gen aşağı-regüle edilmiştir. Si-QAC-3-% 25, 19 gen yukarı-

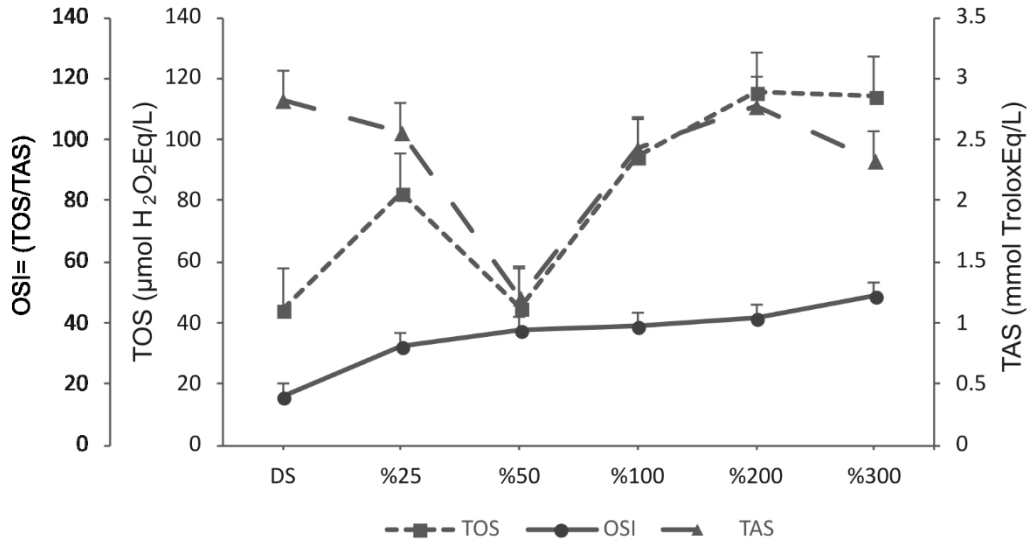
regüle edilmiş ve 10 gen aşağı-regüle edilmiştir. Hem Si-QAC-4-% 300 hem de Si-QAC-3-% 25, farklı mekanizmalardan bazı genler dahil olduğu için belirli bir etki modeline sahip değildir. İkinci küme, çoğu gen aşağı regüle edilmiş Si-QAC'yi temsil etmiştir. Si-QAC-1-% 300 aşağı-regüle edilmiş genler daha çok etkilemiş ama belirli bir desen kaydedilmemiştir. Ancak, DNA onarımının tüm mekanizmalarına dahil olan tüm genler aşağı-regüle edilmiştir. Si-QAC-5-% 300, Si-QAC-5-% 25, Si-QAC-4-% 25, Si-QAC-1-% 25, Si-QAC-2-% 300 çoğunlukla DNA onarımında yer alan genleri aşağı doğru regüle etmişlerdir.

4.4.7. *Drosophila* TAS/TOS deneyi sonuçları

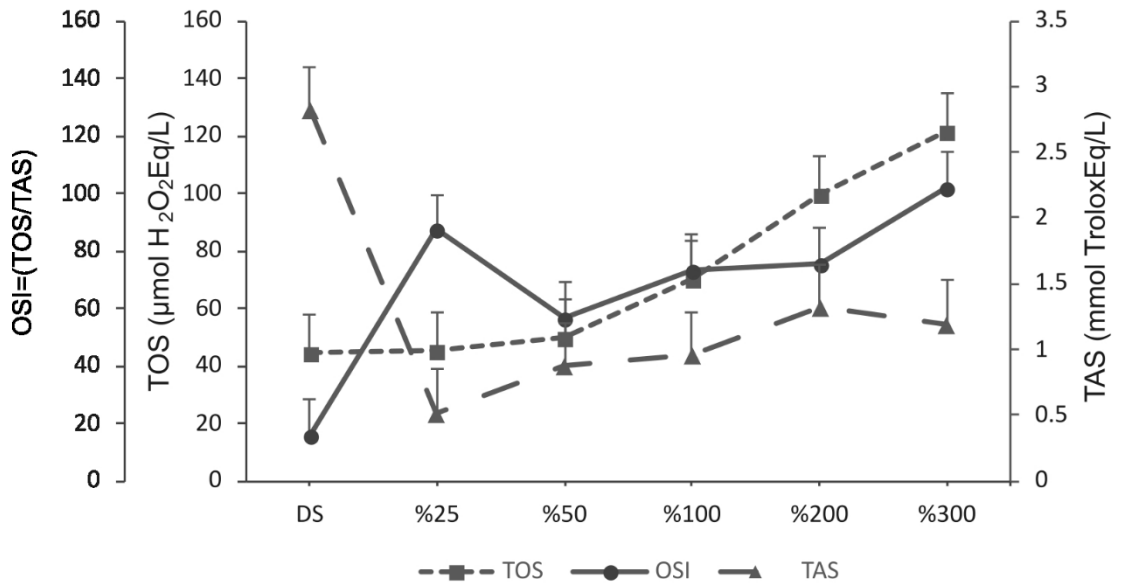
Tüm Si-QAC'lerde negatif kontrole kıyasla TOS seviyesi artarken, TAS seviyesi azalmıştır. Ek olarak, tüm Si-QAC'lerde OSI seviyesi negatif kontrole kıyasla artmıştır (Şekil 4.24-4.28). Bununla birlikte, Si-QAC-2 OSI seviyesinin negatif kontrole kıyasla fazla bir artış kaydedilmemiştir (Şekil 4.25).



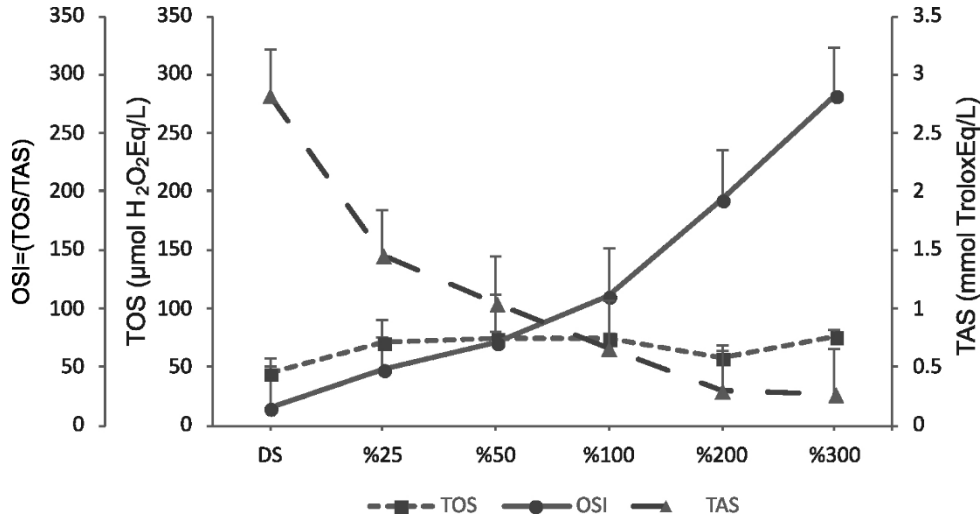
Şekil 4.24. Si-QAC-1'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI). DS, distile su; TAS, toplam antioksidan durumu; TOS, toplam oksidan durumu



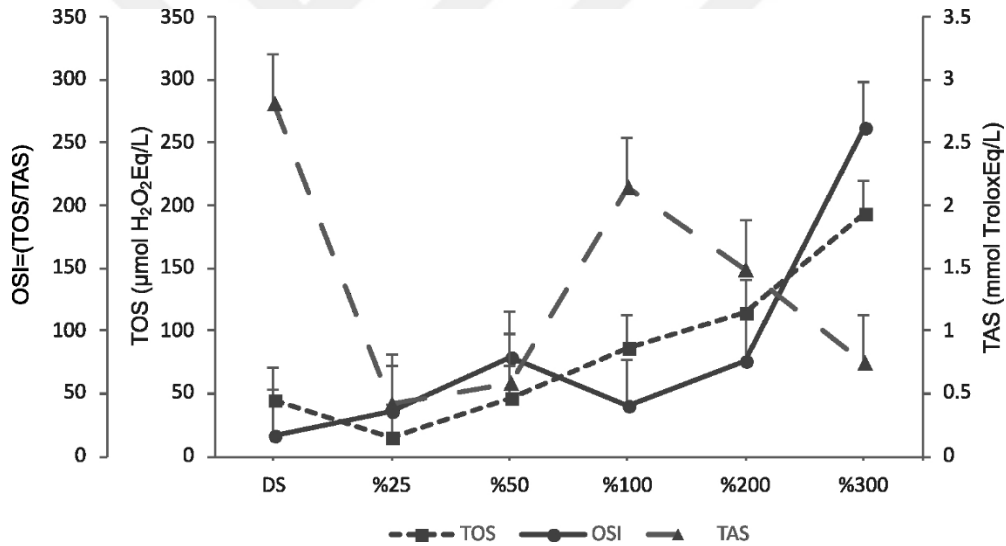
Şekil 4.25. Si-QAC-2'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI). DS, distile su; TAS, toplam antioksidan durumu; TOS, toplam oksidan durumu



Şekil 4.26. Si-QAC-3'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI). DS, distile su; TAS, toplam antioksidan durumu; TOS, toplam oksidan durumu



Şekil 4.27. Si-QAC-4'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI). DS, distile su; TAS, toplam antioksidan durumu; TOS, toplam oksidan durumu



Şekil 4.28. Si-QAC-5'e maruz kalan larvalarda oksidatif stres indeksi (OSI). DS, distile su; TAS, toplam antioksidan durumu; TOS, toplam oksidan durumu

4.4.8. Davranışsal Toksisite Analizleri

4.4.8.1. *Drosophila* larva hareketi deneyi sonuçları

Larvanın yürüme mesafesi, bir dakika içinde kat ettiği yol hesaplanarak ölçülmüştür (Şekil 4.29). Si-QAC-3'ün % 300 konsantrasyonunda yürüme mesafesinde negatif kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu nedenle, *Drosophila* Si-QAC-3'ün % 300 konsantrasyonunun sinir sistemini uyarabildiği düşünülmektedir. Kalan Si-QAC'ların hiçbir konsantrasyonunda anlamlı bir istatistiksel değişiklik kaydedilmemiştir.

4.4.8.2. *Drosophila* pupa pozisyon deneyi sonuçları

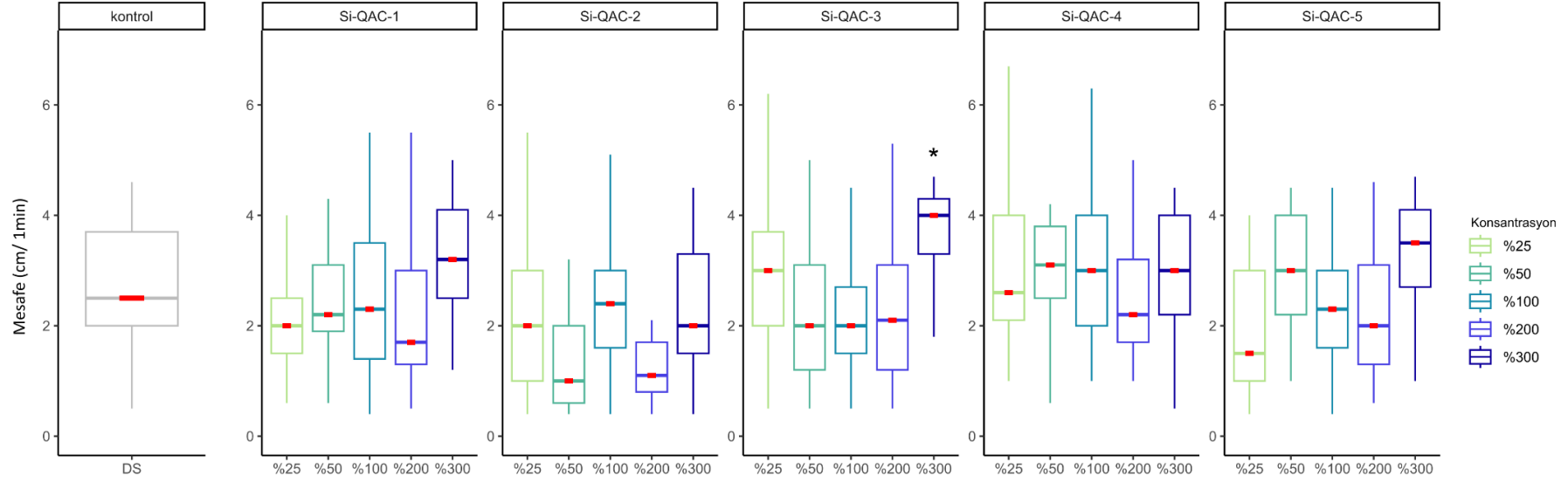
Pupa pozisyon çalışması için 50 mL'lik Falkon tüp uygulama tüpü üzerinde 4 farklı bölgeye ayrılmıştır: (1) besinden 1 cm'nin üzerindeki alana konumlandırılmış pupalar, (2) besinden 1 cm'ye kadar konumlandırılmış pupalar, (3) besinin biraz üzerine yerleştirilmiş pupalar, (4) besin içinde bulunan pupalar. Genellikle pupa besine yakın bir yerde yerleştirmekte ve bir bileşik zehirli olduğunda ondan uzak durmaya çalışmaktadır. Dördüncü bölgede hiçbir pupa kaydedilmemiştir. Negatif kontrol grubu (distile su), pupa yaklaşık yarısı ikinci bölgede, diğer yarısı üçüncü bölgede bulunmuştur (Şekil 4.30). Si-QAC-2, 3 ve 4 pupa üçüncü bölgede yerleştirilmiştir. Ancak Si-QAC-5 pupa ikinci bölgede yerleştirilmiştir. Si-QAC-1 (% 25, % 50, % 100 ve % 200) konsantrasyonu pupa birinci bölgede daha yaygındır. Larvanın bu konsantrasyonlarda Si-QAC-1 içerdiği besinden kaçınmasını sağlayacak bazı özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir.

4.4.8.3. *Drosophila* negatif jeotaksis testi

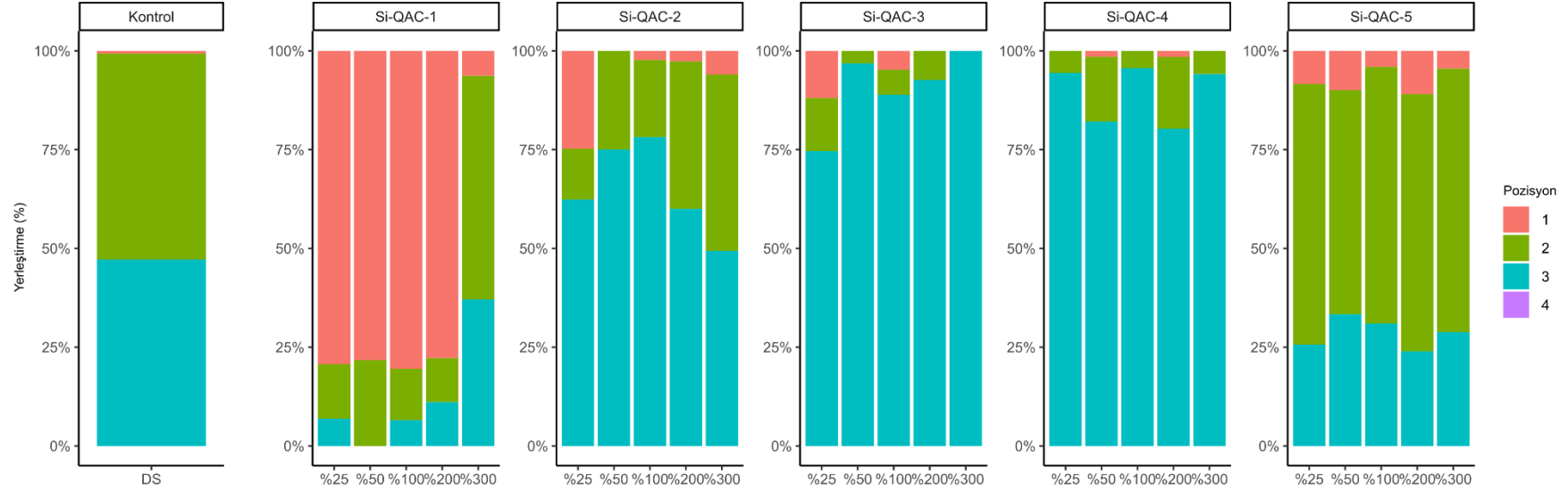
Negatif jeotaksis testi ergin bireylerin nöronal sisteminde hasar olup olmadığını değerlendirmektedir. Tüm Si-QAC'larda negatif kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı hiçbir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.31).

4.4.8.4. *Drosophila* duyarlılık testleri sonuçları

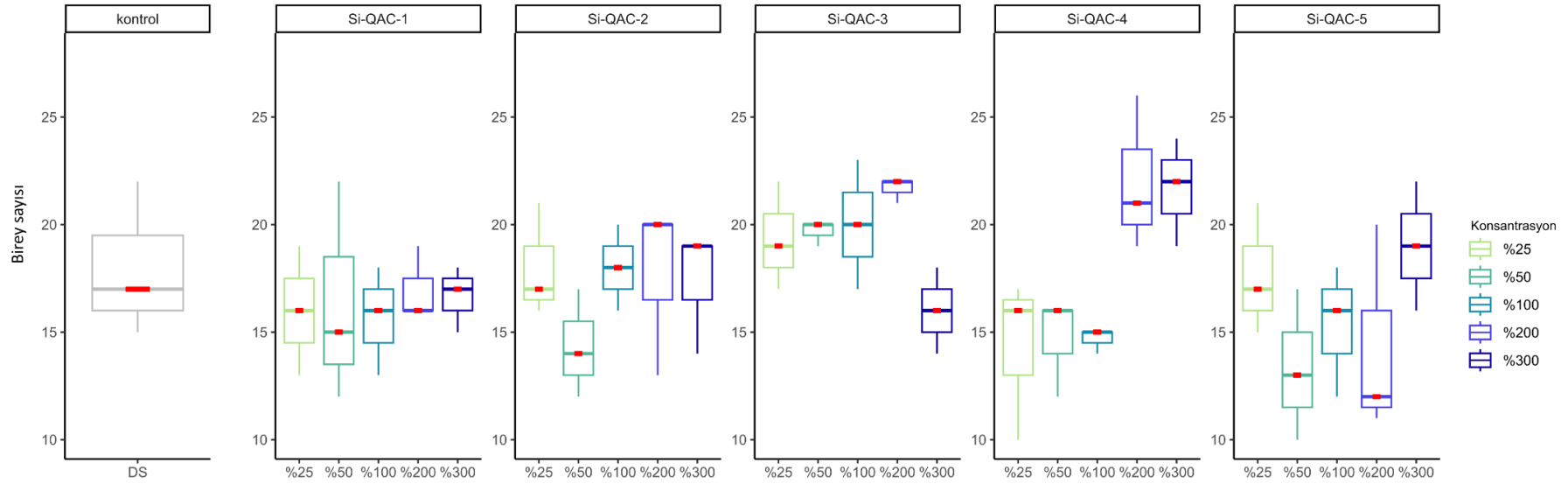
Termal duyarlılık testinde petri plakasının kapağına tırmanan larvalar, petri plakasına daha duyarlı olarak kabul edilmiştir. Si-QAC-1 (% 25), Si-QAC-2 (% 25, % 50, ve % 200) ve Si-QAC-3'ün tüm konsantrasyonlarında duyarlılık gösteren larva sayısında istatistiksel önemde bir artış kaydedilmiştir (Şekil 4.32). Si-QAC-4 ve Si-QAC-5 duyarlanan larva sayısında bir değişiklik gözlenmemiştir. *Drosophila* soğuğa duyarlılık testinde larvalar yavaş hareket etmektedir. Si-QAC-1 ve Si-QAC-4'ün tüm konsantrasyonlarında larvalar hiç hareket etmemiştir. Si-QAC-2 (% 100, % 200, ve % 300), Si-QAC-3 (% 50, % 100, % 200, ve % 300), ve Si-QAC-5'in tüm konsantrasyonlarında negatif kontrole göre tırmanan larva sayısında düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.33).



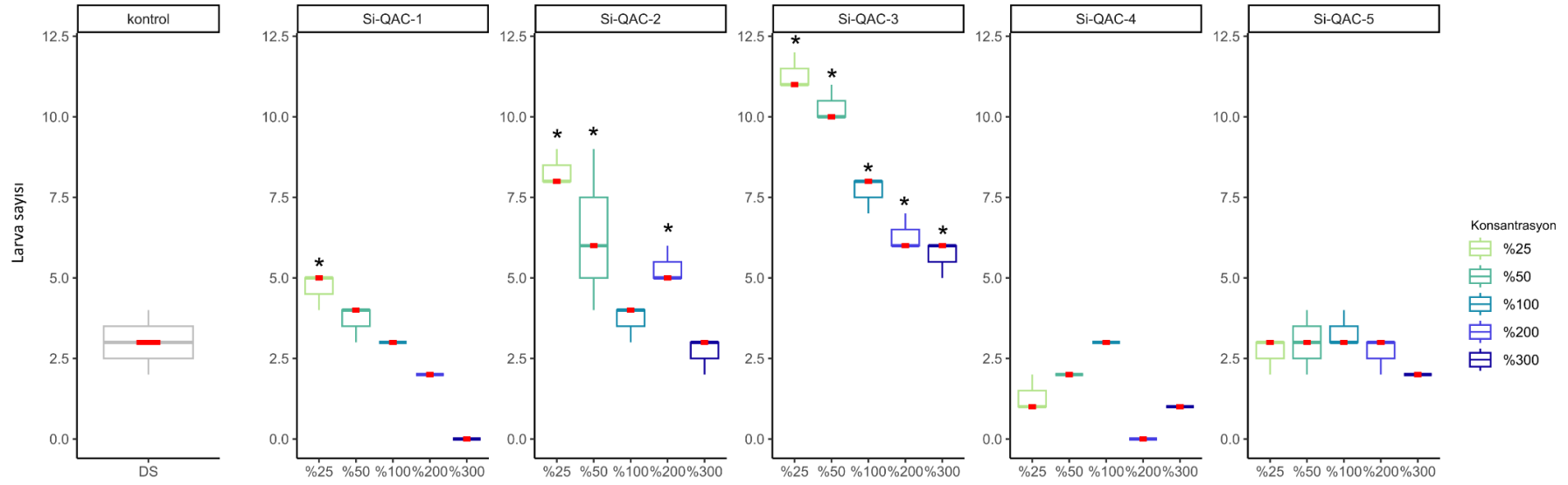
Şekil 4.29. Larva hareketi sonuçları ($n=15$; 3x tekrar). Kırmızı çizgi medyanyı temsil etmektedir. DS, distile su. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p < 0.05$)



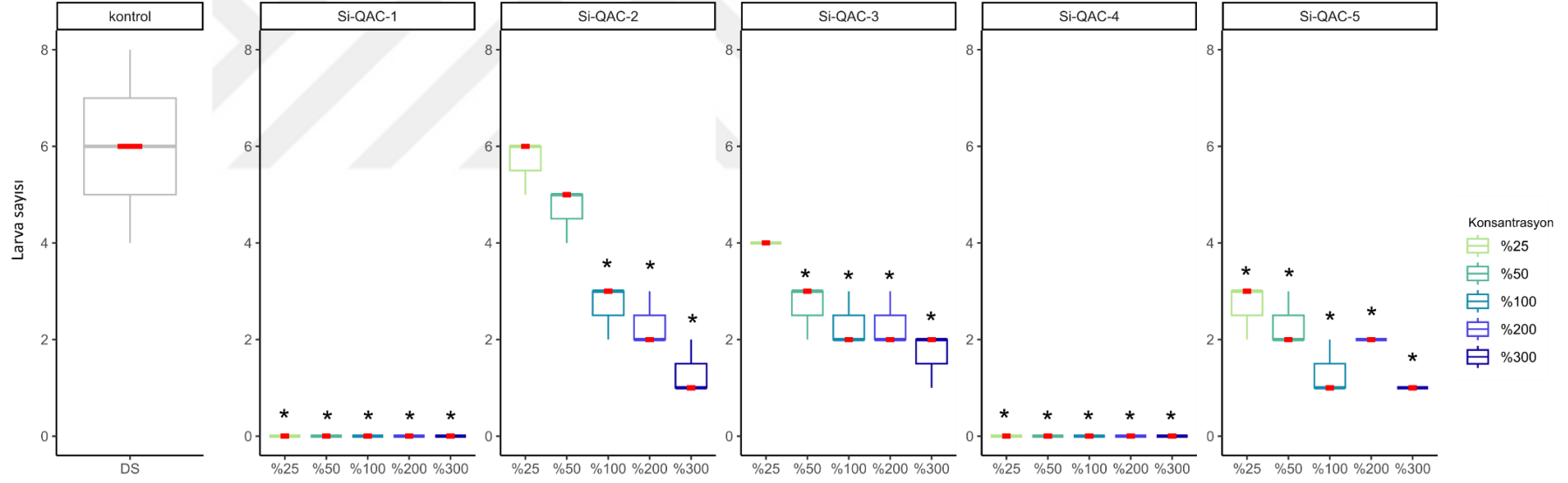
Şekil 4.30. Pupa pozisyon sonuçları ($n=50$; 3x tekrar). Kırmızı çizgi medyanı temsil etmektedir. DS, distile su. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p<0.05$)



Şekil 4.31. Negatif jeotaksis sonuçları ($n=30$; 3x tekrar). Kırmızı çizgi medyanı temsil etmektedir. DS, distile su. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p<0.05$)



Şekil 4.32. Termal duyarlılık sonuçları ($n=15$; 3x tekrar). Kırmızı çizgi medyanı temsil etmektedir. DS, distile su. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p<0.05$)



Şekil 4.33. Soğuğa duyarlılık sonuçları ($n=15$; 3x tekrar). Kırmızı çizgi medyanı temsil etmektedir. DS, distile su. Tüm sonuçlar negatif kontrole göre karşılaştırılmıştır (* $p < 0.05$).

5. TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü'nün SARS-CoV-2 enfeksiyonunu hafifletme stratejilerinden biri el dezenfektanlarının mümkün olduğunca sık kullanılması olarak belirlenmiştir (Kratzel vd. 2020). COVID-19 sırasında QAC'lerin tüketimi artmıştır (Frantz 2023). Bu nedenle, QAC'lerin toksisitelerini değerlendirme ihtiyacı da artmıştır. QAC dezenfektanları tarihsel olarak düşük toksisiteye sahip olarak görülmektedir. Ancak, QAC'lere maruz kalma nedeniyle astım, kontakt dermatite, göz iltihabı ve aşırı duyarlılık gibi problemlere neden olmaktadır (Suneja ve Belsito 2008; Hong ve Bielory 2009). QAC'lerin kaza ile aşırı dozlarda alınımı ile insan ölümlerine neden olduğu da bilinmektedir (Chataigner vd. 1991).

Kronik QAC toksisitesi ancak yakın zamanda tanımlanmıştır. Hem insan hem de fare hücre hatları üzerinde *in vitro* çalışmalar kullanarak, QAC'lerin inflamasyonu artırdığını, mitokondriyal işlevi bozduğunu, östrojen sinyalini değiştirdiğini ve kolesterol sentezini engellediğini bulunmuştur (Herron vd. 2016; Datta vd. 2017). QAC'lere maruz kalma, oksidatif stres, apoptoza neden olan hücre zarının bozulması ve endoplazmik retikulum stresi yoluyla suda yaşayan organizmalarda ölümcül etki veya büyüme inhibisyonu göstermiştir (Christen vd. 2017; Qian vd. 2022).

Mevcut dezenfektan sınırlamaları ve şu anda ideal bir dezenfektan bulunmadığı gerçeği göz önüne alındığında, yeni bir dezenfektan aramaya ihtiyaç duyulmaktadır. Si-QAC'lerin kullanımı sonucu oluşan çevresel ve insan toksisitesi ile ilişkili dezavantajların üstesinden gelebileceği umulmaktadır. Daha önceki çalışmalar, mutasyon dahil genetik ve moleküler mekanizmalar yoluyla alkol bazlı dezenfektanlara ve hatta QAC'lere toleranslı hale gelen bakteriyel patojenlerin ortaya çıkışını göstermiştir (Pidot vd. 2018; Jia vd. 2022).

Dezenfektanlar atık su arıtma sistemleri yoluyla suya salınmakta ve geri kalanı doğrudan çevreye boşaltılmaktadır. Ayrıca çamurda emilerek atık sudan uzaklaştırmaktadır. Bununla birlikte, arıtma suyu çamuru genellikle gübre olarak kullanılmaktadır. Bitkiler dezenfektanı almakta ve gıda ürünlerinde kalıntılara neden olmaktadır (Tezel ve Pavlostathis 2015; Zhang vd. 2015; Xiang vd. 2016). Bu nedenle insanlar potansiyel olarak gıda ve su kaynakları yoluyla ayrıca temizlik ürünleriyle doğrudan temas ve sprey ürünler tarafından üretilen aerosol haline getirilmiş damlacıkların solunmasından etkilenmektedir. Ağızdan alım en yüksek riske sahiptir, ardından inhalasyon ve dermal temas gelmektedir. Solunum yolu ile QAC maruziyetinden kaynaklanan sistemik toksisiteyi araştıran çalışmalar sınırlıdır (Hrubec vd. 2021). Tüm bu faktörler dikkate alındığında, bu çalışmanın planlama sürecinde bireylerin dezenfektan kullanım alışkanlıkları ve maruz kalma şekilleri de hesaba katılmıştır. Bu bağlamda oral maruziyette dahil bir çok maruziyet yöntemi dikkate alınarak araştırma planı yapılmıştır.

Genel olarak, QAC'lerin, n = 12-14 zincir uzunluğuna sahip olanları Gram (+) bakterilere karşı maksimum aktivite gösterirken, n = 14-16 zincir uzunluğuna sahip olanlar ise Gram (-) bakterilere karşı maksimum aktivite gösterilmektedir (Bazina vd. 2019). Bu çalışmada, Si-QAC-1 (C12), MİK testi sonuçlarına göre, iki Gram (+) bakteride uygulanan 28 ppm dozda antibakterial etkisi göstermiş ancak *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı (Gram (-), 112 ppm) ve *E.coli*'ye karşı (Gram (-), 28 ppm) herhangi

bir antibakteriyal etki kaydedilmemiştir. Si-QAC-2 (C14), Gram-pozitif bakterilere karşı düşük MİK değerini rapor etmiştir (13 ve <16 ppm), ancak Gram-negatif bakterilere karşı daha yüksek MİK değerine sahiptir (218 ve 436 ppm). Bu anlamda sonuçlarımız, n = 12-14 zincir uzunluğunun Gram (+) bakterilere karşı daha etkili olduğunu göstermiştir. Bu, QAC ile ilgili önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir. Zincir uzunluğu C16-18 sahip olan Si-QAC-3, 4 ve 5 Gram (-) bakterilere karşı maksimum aktivite değeri zincir uzunluğuna C12-14'e göre daha düşüktür. Dolayısıyla, Si-QAC-3, 4, 5 (C16-18)'in Gram (-) bakterileri üzerinde Si-QAC-1 ve 2 (C12-14)'ten daha etkili olduğunu göstermektedir.

Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART), *Drosophila*'nın kanat hücrelerindeki trikomların fenotipik analizine dayanan bir testir. SMART, Graf vd. (1984) tarafından geliştirilmiştir. Bu testi amacı, mutasyon (delesyon, nokta mutasyon, ve ayrılma) veya rekombinasyon süreçleri yoluyla işaret genlerinin heterozigotluğunun kaybolması sonucunda fenotipik farklılıkların gözlenmesi ve genetik hasarın tanımlanması esasına dayanmaktadır (Graf ve van Shaick 1992, Kaya vd. 2022).

Memeli lenfositlerinin eşdeğeri olan *Drosophila*'nın hemositleri, spesifik maruziyetlerle ilişkili genotoksik riskin değerlendirileceği genel bir hücre modelini temsil etmektedir. 2011'de, Komet testinin DNA hasarını değerlendirme amacıyla hücre hedefi olarak hemositlere uygulanması başlamıştır (Carmona vd. 2011). DNA kırıkları, genel bir DNA hasarı şekli olarak kabul edilebilmektedir (Collins vd. 2023).

Örnek olarak, farelere sırasıyla 600 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon, 800 mg/kg oral uygulama ile benzil klorürün (BAC, QAC'ın bir türü, dezenfektan olarak kullanılmakta) uygulaması yapılmıştır. Çalışma sonucunda kemik iliğinde mikronükleusta bir artış gözlenmemiştir (Danford ve Parry 1982). Ayrıca, 0,5, 1 ve 2 mM konsantrasyonlarda BAC ile beslenen *Drosophila* larvaları ile eşeye bağlı resesif letal mutasyon testi ve anormal pigmentli göz sektörleri testi yapılmıştır. Test edilen tüm konsantrasyonlarda somatik hücre mutasyonları gözlenirken, germinal X kromozomu mutasyonları sadece test edilen en yüksek konsantrasyonda indüklenmiştir (2 mM) (Fahmy ve Fahmy 1982). Başka bir çalışmaya göre, gökkuşağı alabalığı solungaç hücrelerinin (RTG-2) 0,12 mg/L BAC'ye maruz kalması, DNA hasarının indüklenmesine neden olmuştur (Sánchez-Fortún vd. 2005). Komet testi sonuçlarına göre gökkuşağı alabalığının 0,18 mg/L BAC'ye kronik olarak maruz kalmasıyla, genotoksisite indüklenmiştir (Antunes vd. 2016).

Primer sıçan hepatositlerine BAC uygulandığı çalışmada genotoksik etki Komet testi ile belirlenmiş ve inkübasyon süresi 60 dakika ile sınırlı olmasına rağmen 1 mg/L'lik derişimde istatistiksel olarak anlamlı bir etki tespit edilmiştir (Ferk vd. 2007). İnsan lenfositleri ve *Vicia faba* kök ucu hücreleri kullanılarak mikronükleus yöntemi ile yapılan araştırmada sırasıyla 1 mg/L ve 10 mg/L'de istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur. İnsan solunum epitel hücrelerinde Komet testi ile yapılan çalışmada BAC, DNA anlamlı düzeyde kırıklarına neden olmuştur (Deutschle vd. 2006). İnsan kornea epitel hücreleri BAC'ye maruz bırakılmış (0,5 mg/L) ve oluşan genotoksisitenin Komet testi ile araştırıldığı çalışmada DNA kırıklarının istatistiksel önemde artışı tespit edilmiştir (Wu vd. 2011).

BAC, hem *Daphnia magna* (0,4 ng/L) hem de *Ceriodaphnia dubia* (4 ng/L) üzerinde 24 saatlik maruziyetten sonra Komet testi kullanılarak DNA hasarı belirlenmiştir (Lavorgna vd. 2016).

Muhtemelen BAC'nin genotoksik mekanizması DNA'da çift ve tek kırıkların üretimi ile ilişkili değildir. BAC DNA hasarı, miyozin hafif zincirinin fosforilasyonuna yol açan genomik olmayan bir yoldan kaynaklandığı söylenebilmektedir. Dolayısıyla bu durum mitotik için olası kararsızlığıdır (Guo vd. 2007).

Tüm Si-QAC-1 konsantrasyonlarının küçük tek tip klonunda, toplam *mwh* klonunda, ve toplam klonlarda istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, Si-QAC-1'in mutajenik bir etkisi varsayılmaktadır. Si-QAC-2 sadece en yüksek konsantrasyonda (% 300) küçük klon, toplam *mwh* klonun, ve toplam klon zayıf pozitif etkiye sahiptir, bu nedenle potansiyel mutajenik bir etki riski vardır. Kalan Si-QAC-3,4 ve 5, çalışılan tüm konsantrasyonlarda dikkate alınan bütün kategoriler için herhangi bir genotoksik etki belirlenmemiştir. İkiz klonların rekombinasyon sonucu ortaya çıktığı düşünüldüğünde, çalışılan tüm Si-QAC'ler için ikiz klonlarda istatistiksel anlamda pozitif sonucun olmaması çalışmada kullanılan Si-QAC'ler rekombinojenik etkiye sahip olmadığını göstermektedir. Komet analizini değerlendirmek için üç parametre vardır, ancak kuyruk yoğunluğu DNA hasarını değerlendirmek için en uygun parametre olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmada, Si-QAC-1(% 100), Si-QAC-3 (% 25, % 50, % 100, ve % 200), Si-QAC-4 (% 50, % 200, ve % 300), ve Si-QAC-5 (% 50, % 100, % 200, ve % 300) istatistiksel olarak anlamlı DNA kırıkları gözlenmiştir. Si-QAC-2'nin tüm konsantrasyonlarında kontrole göre istatistiksel önemde DNA hasarı artışı tespit edilmemiştir.

Hem SMART hem de Komet'in sonuçlarını karşılaştırınca, Si-QAC-2 (% 300) tarafından kaydedilen potansiyel mutasyon riskinin muhtemelen DNA kırıkları kökeniyle değil, başka bir kökenle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Si-QAC-3,4,5'te mutajenik etki göstermiş olsa da, ayrıca aynı kimyasalın Komet testi sonuçlarına göre DNA hasarına neden olmuş ancak muhtemelen DNA onarım mekanizmalarının aktivitesi ile gerçekleşen mutasyonların fenotipe yansımadağı düşünülmektedir.

D. melanogaster'da apoptozun düzenleyici mekanizmaları iyi karakterize edilmiştir. DİAP-1'i (apoptoz proteininin memeli inhibitörleri) antagonize eden proapoptotik genler *rpr*, *hid* ve *grim*'in (RHG) transkripsiyonel yukarı regülasyonu için çeşitli apoptotik uyarılara dönüştürülmektedir. Bu, Dronc'un (memeli Kaspaz-9) Dark (memeli Apaf-1) ile kompleksleşmesiyle apoptozom oluşumuna yol açar, böylece efektör kaspazlarının, Drice ve Dcp-1'in (memeli Kaspaz-3/6/7) aktivasyonu için bir proteolitik kaskada başlatılmakta ve son olarak apoptoza yol açmaktadır. Drice, apoptozu indüklemeye en etkili kaspazdır (Shinoda vd. 2019). Dredd (memeli Kaspaz-8), bir başlatıcı kaspaz ve *Drosophila* hücrelerinde apoptoz için gereklidir (Chen vd. 1998). Bir tür QAC olan BAC, zebra balığının model organizma olarak kullanıldığı çalışmada karaciğer hücrelerinde kaspaz 3 ifadesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (Christen vd. 2017).

Bu çalışmada, kaspaz 3 için Si-QAC-1 (% 50) hariç, tüm konsantrasyondaki kalan Si-QAC için tüm kaspazlar, negatif kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir. Elde edilen bu sonuç bize apoptoz mekanizmasının aktive olduğunu düşündürmektedir, ancak *Drosophila*'da birkaç kaspaz fonksiyonu olduğu için böyle bir sonuç kesin değildir. Ayrıca, oksidatif strese veya inflamasyona yanıt olarak hücreler, "sınırlı apoptoz" veya "ölümcül olmayan kaspaz aktivasyonu" adı verilen bir işlemle hasarlı organelleri veya proteinleri çıkarmak gibi belirli işlevleri yerine getirmek için

kaspazları aktive edebilmektedir (Hyman ve Yuan 2012). Bunu belirlemek için oksidatif stresi değerlendirmek gerekmektedir, çünkü inflamasyon genellikle oksidatif strese neden olmaktadır. Ayrıca apoptozun indüklenip indüklenmediğinden emin olmak amacıyla RT²-PCR DNA tamiri Panel ile apoptozda yer alan bazı genlerin aktivitelerindeki değişimler incelenmiştir. *Sirt2* geni, apoptoz sinyalizasyonu ve anti-apoptotik gen olarak yer aldığı bulunan bir gen olarak tespit edilmiştir. Si-QAC-4 (% 300) veya Si-QAC-5 (% 300) maruz kalan larvalarda *Sirt2* gen ifadelerinde herhangi bir değişiklik kaydedilmemiştir. Ancak, Si-QAC-1 (% 25) ve Si-QAC-3 (% 300) maruz kalan larvalarda *Sirt2* gen ifadesinde artış gözlemlenirken, aynı genin ifadelerinde Si-QAC-1 (% 300), Si-QAC-2 (% 25, % 300), Si-QAC-3 (% 25), Si-QAC-4 (% 25) ve Si-QAC-5 (% 25) maruz kalan larvalarda azalma rapor edilmiştir. Dolayısıyla, kaspaz aktivasyonunun sadece apoptozla değil, aynı zamanda oksidatif strese de bağlı olduğu sonucuna ulaştırılabilir.

Larvaların bağırsağındaki sitoksisiteyi değerlendirmek için tripan mavisi deneyi kullanmıştır. Yapılan deney sadece ölü hücrelerin tripan mavisi ile boyanması esasına dayanmaktadır. Böylece ölü hücreler canlı hücrelerden ayırt edilebilmektedir. Si-QAC-2 hariç, tüm Si-QAC'ler sitotoksisite rapor edilmiştir. Sonuç olarak, uygulanan yüksek konsantrasyonlar bağırsak hasarına neden olabilmektedir. DNA hasarının indüklenmesi, apoptoz ve hücre döngüsü pertürbasyonu genellikle sitotoksik aktiviteye yol açmaktadır.

Kromozom ve gen onarımı hakkındaki ilk araştırmalar, iyonlaştırıcı radyasyon ve hardal gazı tarafından üretilen mutasyonların özellikleri *Drosophila* üzerine yapılmıştır. *Drosophila*, baz eksizyon onarımı, nükleotid eksizyon onarımı, yanlış eşleşme onarımı ve çapraz bağlantı onarımı gibi ana onarım yollarını kullanarak hasar tamiri gerçekleştirilmektedir (Sekelsky 2017).

DNA hasar kontrol noktası sinyal yolu, DNA hasar sensörleri, sinyal dönüştürücüler ve efektör proteinlerden oluşur ve bu sisteminin özünde dönüştürücü kinazlar *ATM* (mutasyona uğramış ataksi telanjiektazi, *Drosophila tefu*), *ATR* (*ATM* ve *Rad3* ile ilgili, *Drosophila mei-41*) bulunmaktadır. Bunlar, hücre döngüsü kontrolüne, DNA onarım yollarına ve apoptoza katılan efektör proteinleri fosforile etmekten sorumludur. *ATM*, DNA çift kırıkları onarımında yer alırken, *ATR*, DNA replikasyonu sırasında çeşitli hasarlarla aktive edilmektedir. *RAD9-RAD1-HUS1* (9-1-1), hücre döngüsü ilerlemesinin durdurulmasında rol oynayan kontrol noktası kinaz 1 (*Chk1*) gibi efektör proteinleri fosforile eden *ATR*'yi tamamen aktive eden *TOPBP1* (*Drosophila mus101*)'in işe alınmasını desteklemektedir (Kumagai vd. 2006; Mordes vd. 2008).

DNA çift kırıkları, homolog rekombinasyon (HR) ve homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ) ile onarılabilen potansiyel zararlı lezyonlardır (Rodgers ve McVey 2016). *RAD50*, *NBN* ve *MRE11*'den oluşan kompleks, bir DNA çift kırıklarını tanıyan ve bölgeye zarar vermek için *ATM*'yi aktive eden sensördür (Lee ve Paull 2005). Aktive edilmiş *ATM*, hücre döngüsünün durmasını, yaşlanmayı ve apoptozu düzenleyen *CHK2* ve *p53*'ü fosforile etmektedir (Ciccio ve Elledge 2010). DNA çift kırıkları onarım yolunun seçimi hücre döngüsü aşamasına bağlıdır. S ve G2 fazlarında HR aktive edilir ancak G1'de ise NHEJ ile tamir gerçekleştirilmektedir (Sartori vd. 2007; Panier ve Boulton 2014, Tan vd. 2023).

S fazı sırasında hücreler ayrıca DNA replikasyon kontrol noktası adı verilen ve replikasyon çatallarını bloke eden veya yavaşlatan hakaretlerle meydana getirdiği bir

kinaz kaskadından oluşan bir kontrol mekanizması sağlamaktadır. DNA hasarı kontrol noktaları, hücre döngüsünün birden çok aşamasında çeşitli DNA hasarı biçimlerine yanıt verirken, DNA replikasyon kontrol noktaları, hücre döngüsünün S fazı sırasında DNA replikasyon sürecini spesifik olarak kontrol etmektedir (Hustedt vd. 2013).

Baz eksizyon onarımı ile, küçük DNA lezyonlarını (örneğin oksidasyonun neden olduğu lezyonları) düzeltilmektedir. Onarımın da farklı aşamalarda gerekli olan ana proteinler, başlatıcı bir DNA glikosilaz, AP-endonükleaz APE1, DNA polimeraz β (Pol β) ve DNA ligaz I veya III'tür (Krokan ve Bjoras 2013).

Nükleotid eksizyon onarımı (NER), ultraviyole hasarları gibi sarmal bozan DNA lezyonlarını onaran bir yoldur (Martejin vd. 2014). NER, iki alt yolla meydana gelebilecek hasar tanıma ile başlar: genomun her yerindeki lezyonları tespit eden küresel genom onarımı (GG-NER) ve transkripsiyona bağlı onarım (TC-NER), transkripsiyona tabi aktif gen dizisindeki hasarları tanımaktadır. GG-NER'de algılama, XPC kompleksinin bağlanmasıyla gerçekleşmektedir (Mu vd. 2018).

Replikasyon hataları, homolog rekombinasyon sırasında ve DNA hasarının bir sonucu olarak ortaya çıkan yanlış eşleşmiş bazları hedeflemektedir (Schofield ve Hsieh 2003). DNA çapraz bağları, DNA çift sarmalının her iki ipliğini kovalent olarak birbirine bağlayan ve ipliklerin ayrılmasını önleyen bir DNA hasarı türüdür. Bu onarım, çoklu DNA onarım yollarını içeren karmaşık ve koordineli süreçler gerektirmektedir. Bu çalışmada üzerinde durduğumuz ana yol Fanconi Anemi yoludur. Bu yoldaki anahtar genler arasında FANCD2 bulunmaktadır (Deans ve West 2011).

Bu çalışmada DNA tamiri mekanizmasını değerlendirmek amacıyla farklı görevlere sahip 36 gen insan genleri homoloji oranına göre seçilmiştir. DNA tamir genleri görevlerini FlyBase'den (veritabanı) alınmıştır. Çalışan genlerin apoptoz, baz eksizyon onarımı, DNA hasarı kontrol noktaları, çift zincir kırıklarının onarımı, hücre döngüsü, çapraz bağlar onarımı, yanlış eşleşme onarımı, nükleotit eksizyon onarımı ve DNA replikasyon kontrol noktaları, farklı mekanizmalar üzerinde görev almaktadır.

Bu çalışmada DNA tamir genlerinden bazıları yukarı regüle edildiği, bazılarının ise aşağı regüle edildiği iki küme belirlenmiştir. Oksidatif stres ve genotoksik stres altında, DNA onarım mekanizması, hasarlı DNA'nın verimli onarımını kolaylaştırmak için çeşitli DNA onarım genlerinin yukarı-regülasyonunu tetiklemektedir. Bununla birlikte, hücrel stres, onarım kapasitesini aşan sürekli DNA hasarına yol açarsa, DNA onarım genlerinin düzenleyici bölgelerindeki geri bildirim mekanizmalarının veya kaynak sınırlamalarının (enerji) normal ekspresyonu bozabilmesi nedeniyle bazı DNA onarım genleri aşağı-regüle edilebilmektedir (Huang ve Zhou 2021). Ayrıca mutasyonlar, işlevsel olmayan veya daha az aktif transkripsiyon faktörü bağlanma bölgelerinin oluşmasına yol açarak bu genlerin ekspresyonunu azaltabilmektedir (Huang ve Zhou 2021). Bu nedenle, ikinci kümenin (Si-QAC-1 (% 25, % 300), Si-QAC-2 (% 300), Si-QAC-4 (% 25), Si-QAC-5 (% 25, % 300)) ilk kümeden (Si-QAC-2 (% 25), Si-QAC-3 (% 25, % 300), Si-QAC-4 (% 300)) daha fazla DNA hasarına neden olduğunu düşünülmektedir. Ayrıca, aşağı-regüle edilmiş genlerin ifadesini daha yoğun olduğu için Si-QAC-1 (% 300)'ün diğer Si-QAC'lere kıyasla daha fazla DNA hasarına neden olduğunu düşündürmektedir.

Birinci kümede, Si-QAC-2 (% 25), için özellikle çift kırıkların onarımında görev alan genler olmak üzere çoğu genler yukarı-regüle edilmiş, ama apoptoz ile ilgili genin ekspresyonlarında herhangi bir artış kaydedilmemiştir. Diğer taraftan SMART ve Komet sonuçlarına göre ne mutasyon ne de DNA çift kırıkları tespit edilmemiştir. Ayrıca tüm kaspaz aktivitelerinde bir artış belirlenmiştir. Bazı durumlarda, yüksek kaspaz aktivitesi ve baskılanmış apoptoz gen ekspresyonu, hücresel strese veya işlev bozukluğuna bir yanıt olabilmektedir. Hücre, çevresine uyum sağlamak için bir hayatta kalma tepkisi veya başka bir hücre ölüm mekanizması etkinleştirmektedir. Muhtemelen çift iplik kırıkları onarım genlerinin yukarı-regülasyonu, DNA onarım yolları arasındaki çapraz etkileşim ile ilgilidir. DNA onarımı yolları birbiri ile koordineli olarak çalışmaktadır. Bir onarım yolunun aktivasyonu, diğerlerinin aktivitesini etkileyebilmektedir. DNA çift kırıkları Komet testi tarafından tespit edilmese bile, başka bir onarım yolunun aktivasyonu dolaylı olarak çift kırıkları onarım geninin yukarı regülasyonuna yol açabilmektedir (Oh ve Myung 2022).

Si-QAC-3 (% 300) için, çoğu genler (35 gen) yukarı-regüle edilmiş, ancak SMART ve Komet sonuçlara göre herhangi bir genotoksik etki belirlenmemiştir. Muhtemelen DNA onarımı yolları aktivasyonu oksidatif strese bağlıdır. Kalan Si-QAC'ler DNA onarım aktivasyonunun spesifik bir yolu takip etmemiştir.

Oksidatif stres, hücrelerde ve dokularda oksijen reaktif türlerin (ROS) üretimi ve birikmesi arasındaki dengesizliğin ve biyolojik bir sistemin bu reaktif ürünleri antioksidanlar yoluyla detoksifiye etme yeteneğinin neden olduğu bir olgudur (Pizzino vd. 2017). Bu oksidatif stres, DNA baz modifikasyonları, tek ve çift kırıkları ve apurinik/apirimidinik lezyonların oluşumu, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu ile sonuçlanmaktadır (Salmon vd. 2004). Bu çalışmada, TOS, TAS ve ardından OSI ölçümü, tüm Si-QAC'nin oksidatif strese neden olduğu gösterilmiştir. Si-QAC-2'deki oksidatif stres seviyesi, negatif kontrole kıyasla fazla bir artış kaydedilmemiştir. Muhtemelen, Si-QAC'lerde kaydedilen DNA hasarı ve kaspaz aktivasyonu kısmen oksidatif stresle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Trigeminal ganglion hücrelerinde BAC (% 0,001) ile yapılan çalışmada nöritlerde önemli bir azalma meydana gelmiştir (Sarkar vd. 2012). SH-SY5Y İnsan nöroblastom hücresinin ve astrosit ko-kültür çalışması ile birlikte kültüre edildiği bir çalışmada, bu kültür 2,7 µM BAC'ye maruz kaldığında nörit büyüme test sonuçlarına göre nörit büyümesinin inhibisyonu meydana gelmiştir (Oh vd. 2022). BAC'nin kan-plasenta bariyerini geçtiği ve nörogelişimi etkilediği gelişmekte olan fare beynine girdiği de gösterilmiştir (Herron vd. 2019).

Sinekler karmaşık bir sinir sistemine sahiptir ve bu da onları bu açıdan evrimsel olarak memelilere daha yakın olmalarını sağlamaktadır (larvada~10.000 nöron) (Heimbeck vd. 1999). *Drosophila* larvaları son zamanlarda lokomasyonun nöral regülasyonunu incelemek için güçlü bir model sistem olarak ortaya çıkmıştır (Heckscher vd. 2012). Birincil lokomotor paterni, arkadan ön segmentlere (ileri hareket) veya önden arkaya (geri hareket) segmentlere yayılan dalga benzeri kas kasılmalarından oluşmaktadır (Heckscher vd. 2012).

İlerlemek amacıyla, her segmentteki kaslar sırayla kasılmakta ve gevşemektedir. Her segment, ileriye doğru dalga yayılımını destekleyen bir uyarıcı ve inhibe edici internöron zinciri tarafından kontrol edilmektedir. Gövde önündeki segmentler (baş ve toraks) farklı hareket etmektedir (Dixit vd. 2008; Heckscher vd. 2012). Larva ileriye doğru hareket etmekte (% 99,8), ancak başta duyuusal uyarılara yanıt olarak artan sıcaklık veya belirli kısıtlı koşullarda geriye doğru hareket edebilmektedir (Kernan vd. 1994; Berni vd. 2012).

Drosophila larvaları farklı hızlarda hareket edebilir, ancak rahatsız edilmeden kendiliğinden sürünürken hız aynıdır (Berni vd. 2012; Heckscher vd. 2012). Si-QAC-3 (% 300) uygulamasında yürüme mesafesi artmış ancak sürünme hızı da artmıştır. Dolayısıyla, ileriye doğru dalga yayılımını destekleyen uyarıcı ve inhibe edici internöronların etkilendiğini düşünülmektedir (Berne vd. 2023).

Drosophila'da, besin ortamında beslenen larvalar 3 larval evreden sonra uygun bir pupa bölgesi bulmak için besin ortamından çıkarak kuru bir yer bulup pupa oluşturma aşamasına geçmektedirler (Denlinger ve Zdarek 1994). Larvaların davranışı farklı kimyasal özelliklerine göre değişmektedir. Bir çalışmaya göre, β -N-metilamino-L-alanin (BMAA, 500 μ M), nörotoksik bir bileşik, pupa pozisyonunun besin seviyesindeki veya altındaki pozisyonlardan besin kaynağından daha uzakta bulunan pozisyonlara kaymasına neden olmaktadır. Bu davranış larva nöromüsküler sistem bozukluğu için güçlü bir göstergedir (Cabrita vd. 2021).

Yapılan bütün çalışmalar % 60 bağıl nem ve 25 ± 1 °C sabit sıcaklık altında 12:12 aydınlık-karanlık koşullarında *Drosophila* iklim odasında gerçekleştirilmiştir. Böylece uygulama dışında diğer kaynakların yol açabileceği farklı etmenler safdışı bırakılmıştır. Tüm Si-QAC uygulaması yapılan grupların aynı paterni izlediği tespit edilmiştir, ancak Si-QAC-1 uygulamasında ilk bölgesinde diğer bölgelere kıyasla daha fazla sayıda pupa kaydedilmiştir. Si-QAC-1'in diğer Si-QAC'lerden daha fazla uzaklaştırıcı ('repellent') etkiye sahip olduğu bu yüzden larvalar ortamdan olabildiğince uzaklaşmaya çalıştıkları düşünülmektedir.

1970'lerde motor fonksiyonunu değerlendirmek amacıyla en yaygın kullanılan test, negatif jeotaksis testidir (Ganetzky ve Flanagan 1978). *Drosophila* modeli, yaşa bağlı lokomotor bozukluğunun genetik temelini anlamak için güçlü bir sistem olduğu kanıtlanmıştır (Grotewiel vd. 2005). Bu test, insanlarda ve sineklerde yaşlanmanın korunmuş bir özelliği olarak lokomotor hızındaki yaşa bağlı azalmaları vurgulamaktadır (Tower 2023). Bu şekilde düşük tırmanma performansı motor fonksiyon bozukluğunun göstergesidir (Dinter vd. 2016). Bu çalışmada, tüm Si-QAC'ler için lokomotor bozukluk testleri bakımından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak herhangi bir fark kaydedilmemiştir.

Drosophila nispeten basit nöronal bir yapıya sahiptir ve genetik izlenebilirlik, onları sıcaklık şoku altında yatan davranışsal ve moleküler mekanizmaları incelemek için çekici bir model haline getirmektedir. Erginler, yaşama ortamı olarak 24 ° C'yi tercih ederken, larvalar 18 – 24 ° C aralığını tercih etmektedir. Nosisepsiyon, zararlı bir uyarının (gerçek veya potansiyel bir dokuya zarar veren olay anlamına gelir) kodlanması ve onu tespit etmek ve önlemek için elektrik sinyallerine dönüştürülmesidir (Frias ve Merighi 2016). Nosiseptif tepkiler, *Drosophila*'nın aşırı sıcaklıklar, zararlı mekanik uyarılar ve tehlikeli

kimyasallar gibi potansiyel olarak ölümcül duyuşsal saldırılara çok hızlı tepki vermelerini sağlamak için gereklidir (Himmel vd. 2021).

Larvalar, zararlı sıcaklıklar veya güçlü mekanik stimölasyon ile uyarıldığında, nosifansif kaçış lokomasyon tepkisi olarak adlandırılan yuvarlanma ve kıvranma davranışı sergilemekte ve bu davranış TRPA1 ve ağrısız ('painless') kanallar tarafından kontrol edilmektedir (Zhong vd. 2012). Zararlı soğuğa yanıt olarak *D. melanogaster* larvaları, baş ve kuyruğun orta hatta doğru sıkıştığı iki taraflı kasılma tepkisi uygulamaktadır (Turner vd. 2016).

Termal duyarlılık testinde Si-QAC-1 (% 25), Si-QAC-2 (% 25, % 50, ve % 200) ve Si-QAC-3'ün tüm konsantrasyonlarında istatistiksel olarak duyarlanan larva sayısında bir artış kaydedilmiştir. Ancak soğuğa duyarlılık testinde Si-QAC-1 ve Si-QAC-4'ün tüm konsantrasyonlarında larvalar hiç hareket etmemiştir. Si-QAC-2 (% 100, % 200, ve % 300), Si-QAC-3 (% 50, % 100, % 200, ve % 300), ve Si-QAC-5'in tüm konsantrasyonlarında negatif kontrole göre tırmanan larva sayısı daha düşük gözlenmiştir. Bu iki test karşılaştırılınca , Si-QAC-1 (% 25), Si-QAC-2 (% 200) ve Si-QAC-3 (% 50, % 100,% 200 ve % 300) hem termal hem de soğuk hisleri etkilenmiştir.

Monotonik olmayan yanıt demek düşük ve yüksek konsantrasyonlarda azalmış yanıtlara sahip ters U şeklinde bir eğri veya düşük ve yüksek konsantrasyonlarda gelişmiş yanıtlara sahip J şeklinde bir eğri göstermektedir (Calabrese 2005). Calabrese ve Baldwin (2001) tarafından yapılmış olan çalışmada, bilinen toksikanlar spektrumunda monotonik olmayan doz yanıtının genel sıklığının yaklaşık % 40 olduğunu belirlenmiştir (Calabrese ve Baldwin 2001). Ayrıca, bir toksik maddeye düşük bir konsantrasyonda maruz kalındığında, vücut kendini iyileştirmeye çalışırken ilk hasarı telafi etmek için dengeleyici bir tepkiye neden olduğu gösterilmiştir. BAC'ın asetilkolin muskarinik reseptörüne ve ayrıca östrojen reseptörüne bağlandığı bulunmuştur (Takeuchi vd. 1993; Datta vd. 2017). Muskarinik ve östrojen reseptörlerini içerenler de dahil olmak üzere birçok reseptör aracılı sinyal sistemi, bifazik otomonik olmayan bir konsantrasyon yanıtına sahiptir. Bir agonist tarafından iki zıt etkili reseptöre diferansiyel reseptör bağlanması, bu bifazik tepkiler için bir mekanizma olarak tanımlanmıştır (Calabrese 2005). Sentezlenen Si-QAC'lerde, bifazik yanıt sonuçları kaydedilmemiştir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada, 5 farklı Si-QAC, 5 farklı konsantrasyonlarda (% 25, % 50, % 100, % 200, ve % 300) *D. melanogaster* üzerinde genotoksik, sitotoksik, apoptotik ve nörotoksik potansiyelleri belirlenmek amacıyla kullanılmıştır.

Sentezlenen Si-QAC'ler farklı yapılara ve zincir uzunluklarına (12 C-18 C) sahiptir. Si-QAC'lerin antimikrobiyal aktivitesi MİK testi kullanılarak incelenmiştir. Si-QAC-1 (C12) ve Si-QAC-2 (C14)'ün Gram (+) bakterilere karşı daha etkili olduğunu görülmüştür. Ancak zincir uzunluğu C16-18 sahip olan Si-QAC-3, 4 ve 5'in Gram (-) bakterileri üzerinde C12-14'ten daha etkili olduğunu görülmüştür. Antimikrobiyal aktivite açısından en iyi Si-QAC'yi belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Mutasyon ve/veya rekombinasyonu belirlemek amacıyla SMART (Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi) kullanılmıştır. Si-QAC-1'in tüm konsantrasyonlarda bir mutasyon riski tespit edilmişken sadece Si-QAC-2 (% 300) konsantrasyonunda bir mutasyon riski kaydedilmiştir. Si-QAC-3, 4 ve 5'e maruz kalan *Drosophila* bir mutasyon riski kaydedilmemiştir.

DNA kırıklarını tespit etmek amacıyla Komet testi kullanılmıştır. Si-QAC-1 (% 100), Si-QAC-3 (% 25, % 50, % 100, ve % 200), Si-QAC-4 (% 50, % 200, ve % 300), ve Si-QAC-5 (% 50, % 100, % 200, ve % 300) DNA hasarı tespit edilmiş ama Si-QAC-2'de istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir. Dolayısıyla, Si-QAC-2 DNA hasarına neden olmamaktadır.

Tripan mavisi testi kullanılarak sitotoksik potansiyel *Drosophila* larva bağırsağı üzerinde incelenmiştir. Si-QAC-1'in (% 200 ve % 300), Si-QAC-3'ün (% 100, % 200, % 300), Si-QAC-4'ün (% 100 ve % 200), ve Si-QAC-5'in (% 300) konsantrasyonlarında anlamlı hasarlar kaydedilmiştir. Ancak, Si-QAC-2 için larva bağırsağında bir hasar kaydedilmemiştir.

Kaspaz aktiviteleri (Kaspaz 3/7, 8, ve 9) apoptotik potansiyel değerlendirme amacıyla kullanılmıştır. Si-QAC-1 (% 50) hariç tüm konsantrasyonlarda tüm Si-QAC'lerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

DNA onarım mekanizmasını anlamak amacıyla, RT²-PCR kullanılarak farklı DNA onarım yollarında yer alan 36 genin ekspresyonu ölçülmüştür. Si-QAC-2 (% 25) ve Si-QAC-3 (% 300) DNA onarımında yer alan genlerin çoğunu yukarı-regüle ederken, Si-QAC-1 (% 300) ana genleri aşağı-regüle etmiştir.

Oksidatif stres değerlendirmek amacıyla TAS/TOS testi kullanılmıştır. Tüm Si-QAC'ler oksidatif strese artışa neden olmuştur.

Si-QAC'lerin nörotoksik potansiyelini değerlendirmek amacıyla *Drosophila* üzerinde larva hareketi deneyi, pupa pozisyonu deneyi, negatif jeotaksis testi ve duyarlılık testleri gerçekleştirilmiştir. Si-QAC-3'e (% 300) maruz kalan larvaların yürüme mesafesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Tüm kalan Si-QAC'lerde anlamlı bir değişiklik bildirilmemiştir. Negatif jeotaksis deneyinde, tüm Si-QAC'ler için anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Termal duyarlılık deneyinde Si-QAC-1 (% 25), Si-

QAC-2 (% 25, % 50, ve % 200) ve Si-QAC-3'ün tüm konsantrasyonlarında istatistiksel olarak duyarlanan larva sayısında bir artış tespit edilmiştir. Ancak soğuğa duyarlılık deneyinde Si-QAC-1 ve Si-QAC-4'ün tüm konsantrasyonlarında larvalar hiç hareket etmemiştir.

Sonuç olarak, Si-QAC-2 umut verici bir dezenfektan olarak değerlendirilebilmektedir; ancak, en yüksek konsantrasyonlarda belirli bir zarara yol açabilmektedir. Bununla birlikte, ürünün piyasaya sürülmeden önce tüketicilerin güvenliğini sağlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.



7.KAYNAKLAR

- Adams, M. D., et al. 2000. The Genome Sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461), 2185–2195.
- Agathokleous, E., Barceló, D., Iavicoli, I., Tsatsakis, A., Calabrese, E. J. 2022. Disinfectant-induced hormesis: An unknown environmental threat of the application of disinfectants to prevent SARS-CoV-2 infection during the COVID-19 pandemic? *Environmental Pollution*, 292, 118429.
- Agathokleous, E., Kitao, M., Calabrese, E. J. 2020. Hormesis: Highly Generalizable and Beyond Laboratory. *Trends in Plant Science*, 25(11), 1076–1086.
- Aldaz, S., Escudero, L. M., Freeman, M. 2010. Live imaging of *Drosophila* imaginal disc development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(32), 14217–14222.
- Anderson, S. E., Shane, H., Long, C., Lukomska, E., Meade, B. J., & Marshall, N. B. 2016. Evaluation of the irritancy and hypersensitivity potential following topical application of didecyldimethylammonium chloride. *Journal of Immunotoxicology*, 13(4), 557–566.
- Antunes, S. C., Nunes, B., Rodrigues, S., Nunes, R., Fernandes, J., Correia, A. T. 2016. Effects of chronic exposure to benzalkonium chloride in *Oncorhynchus mykiss*: Cholinergic neurotoxicity, oxidative stress, peroxidative damage and genotoxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 45, 115–122.
- Arnold, W. A., Blum, A., Branyan, J., Bruton, T. A., Carignan, C. C., Cortopassi, G., Datta, S., DeWitt, J., Doherty, A.-C., Halden, R. U., Harari, H., Hartmann, E. M., Hrubec, T. C., Iyer, S., Kwiatkowski, C. F., LaPier, J., Li, D., Li, L., Muñiz Ortiz, J. G., Zheng, G. 2023. Quaternary Ammonium Compounds: A Chemical Class of Emerging Concern. *Environmental Science & Technology*, 57(20), 7645–7665.
- Artasensi, A., Mazzotta, S., Fumagalli, L. 2021. Back to Basics: Choosing the Appropriate Surface Disinfectant. *Antibiotics*, 10(6), 613.
- Bapat, R. A., Parolia, A., Chaubal, T., Yang, H. J., Kesharwani, P., Phaik, K. S., Lin, S. L., Daood, U. 2022. Recent Update on Applications of Quaternary Ammonium Silane as an Antibacterial Biomaterial: A Novel Drug Delivery Approach in Dentistry. *Frontiers in Microbiology*, 13, 927282.
- Bazina, L., Maravić, A., Krce, L., Soldo, B., Odžak, R., Popović, V. B., Aviani, I., Primožič, I., & Šprung, M. 2019. Discovery of novel quaternary ammonium compounds based on quinuclidine-3-ol as new potential antimicrobial candidates. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 163, 626–635.
- Becker, L. C., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D., Marks, J. G., Shank, R. C., Slaga, T. J., Snyder, P. W., Andersen, F. A. 2012. Safety Assessment of Trimoniums as Used in Cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 31(6_suppl), 296S–341S.
- Becker, L. C., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Klaassen, C. D., Hill, R., Liebler, D., Marks, J. G., Shank, R. C., Slaga, T. J., Snyder, P. W., Andersen, F. A. 2010. Final Report of the Amended Safety Assessment of Quaternium-15 as Used in Cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 29(3_suppl), 98S–114S.

- Beira, J. V., and Paro, R. 2016. The legacy of *Drosophila* imaginal discs. *Chromosoma*, 125(4), 573–592.
- Berne, A., Zhang, T., Shomar, J., Ferrer, A.J., Valdes, A., Ohyama, T., Klein, M. 2023. Mechanical vibration patterns elicit behavioral transitions and habituation in crawling *Drosophila* larvae. *eLife* 12, e69205.
- Berni, J., Pulver, S. R., Griffith, L. C., Bate, M. 2012. Autonomous Circuitry for Substrate Exploration in Freely Moving *Drosophila* Larvae. *Current Biology*, 22(20), 1861–1870.
- Bonesvoll, P., and Gjermo, P. (1978). A comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque-inhibiting effect in the human mouth after mouth rinses. *Archives of Oral Biology*, 23(4), 289–294.
- Boyce, J.M. 2023. Quaternary ammonium disinfectants and antiseptics: tolerance, resistance and potential impact on antibiotic resistance. *Antimicrob Resist Infect Control* 12, 32.
- Brischigliaro, M., Fernandez-Vizarra, E., Viscomi, C. 2023. Mitochondrial Neurodegeneration: Lessons from *Drosophila melanogaster* Models. *Biomolecules*, 13(2), 378.
- Brown, J. B., et al. 2014. Diversity and dynamics of the *Drosophila* transcriptome. *Nature*, 512(7515), 393–399.
- Butterworth, B. E. 2006. A classification framework and practical guidance for establishing a mode of action for chemical carcinogens. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 45(1), 9–23.
- Cabrita, A., Medeiros, A. M., Pereira, T., Rodrigues, A. S., Kranendonk, M., Mendes, C. S. 2022. Motor dysfunction in *Drosophila melanogaster* as a biomarker for developmental neurotoxicity. *IScience*, 25(7), 104541.
- Cahill, J., and Nixon, R. 2005. Allergic contact dermatitis to quaternium 15 in a moisturizing lotion. *Australasian Journal of Dermatology*, 46(4), 284–285.
- Calabrese, E. J. 2005. Paradigm lost, paradigm found: The re-emergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences. *Environmental Pollution*, 138(3), 378–411.
- Calabrese, E. J., and Baldwin, L. A. 2001. The frequency of U-shaped dose responses in the toxicological literature. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 62(2), 330–338.
- Campesan, S., Green, E. W., Breda, C., Sathyasaikumar, K. V., Muchowski, P. J., Schwarcz, R., Kyriacou, C. P., Giorgini, F. 2011. The Kynurenine Pathway Modulates Neurodegeneration in a *Drosophila* Model of Huntington's Disease. *Current Biology*, 21(11), 961–966.
- Carmona, E. R., Guecheva, T. N., Creus, A., Marcos, R. 2011. Proposal of an in vivo comet assay using haemocytes of *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 52(2), 165–169.

- Celniker, S. E., et al. 2002. Finishing a whole-genome shotgun: Release 3 of the *Drosophila melanogaster* euchromatic genome sequence. *Genome Biology*, 3(12), research0079.1.
- Chataigner, D., Garnier, R., Sans, S., Efthymiou, M. L. 1991. [Acute accidental poisoning with hospital disinfectant. 45 cases of which 13 with fatal outcome]. *Presse Medicale (Paris, France: 1983)*, 20(16), 741–743.
- Chen, B., Han, J., Dai, H., Jia, P. 2021. Biocide-tolerance and antibiotic-resistance in community environments and risk of direct transfers to humans: Unintended consequences of community-wide surface disinfecting during COVID-19? *Environmental Pollution*, 283, 117074.
- Chen, P., Rodriguez, A., Erskine, R., Thach, T., Abrams, J. M. 1998. Dredd, a Novel Effector of the Apoptosis Activators Reaper, Grim, and Hid in *Drosophila*. *Developmental Biology*, 201(2), 202–216.
- Christen, V., Faltermann, S., Brun, N. R., Kunz, P. Y., Fent, K. 2017. Cytotoxicity and molecular effects of biocidal disinfectants (quaternary ammonia, glutaraldehyde, poly(hexamethylene biguanide) hydrochloride PHMB) and their mixtures in vitro and in zebrafish *eleuthero-embryos*. *Science of The Total Environment*, 586, 1204–1218.
- Ciccia, A., & Elledge, S. J. 2010. The DNA Damage Response: Making It Safe to Play with Knives. *Molecular Cell*, 40(2), 179–204.
- Clark, M. Q., Zarin, A. A., Carreira-Rosario, A., Doe, C. Q. 2018. Neural circuits driving larval locomotion in *Drosophila*. *Neural Development*, 13(1), 6.
- Clausen, P. A., Mørck, T. A., Jensen, A. C. Ø., Schou, T. W., Kofoed-Sørensen, V., Koponen, I. K., Frederiksen, M., Detmer, A., Fink, M., Nørgaard, A. W., Wolkoff, P. 2020. Biocidal spray product exposure: Measured gas, particle, and surface concentrations compared with spray model simulations. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 17(1), 15–29.
- Cohen, B., Simcox, A. A., Cohen, S. M. 1993. Allocation of the thoracic imaginal primordia in the *Drosophila* embryo. *Development*, 117(2), 597–608.
- Collins, A., et al. 2023. Measuring DNA modifications with the comet assay: A compendium of protocols. *Nature Protocols*, 18(3), 929–989.
- Cox, M. M. 2013. Proteins pinpoint double strand breaks. *ELife*, 2, e01561.
- Danford, N., and Parry, J. M. 1982. The effects of 4CMB, 4HMB and BC in the micronucleus test. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 100(1–4), 353–356.
- Daood, U., Parolia, A., Matinlinna, J., Yiu, C., Ahmed, H. M. A., Fawzy, A. 2020. Properties of a modified quaternary ammonium silane formulation as a potential root canal irrigant in endodontics. *Dental Materials*, 36(12), e386–e402.
- Datta, S., He, G., Tomilov, A., Sahdeo, S., Denison, M. S., Cortopassi, G. 2017. *In Vitro* Evaluation of Mitochondrial Function and Estrogen Signaling in Cell Lines Exposed to the Antiseptic Cetylpyridinium Chloride. *Environmental Health Perspectives*, 125(8), 087015.

- Deans, A. J., and West, S. C. 2011. DNA interstrand crosslink repair and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 11(7), 467–480.
- Denlinger, D. L., and Zdarek, J. 1994. Metamorphosis Behavior of Flies. *Annual Review of Entomology*, 39(1), 243–266.
- Deutschle, T., Porkert, U., Reiter, R., Keck, T., Riechelmann, H. 2006. In vitro genotoxicity and cytotoxicity of benzalkonium chloride. *Toxicology in Vitro*, 20(8), 1472–1477.
- Dewey, H. M., Jones, J. M., Keating, M. R., Budhathoki-Uprety, J. 2022. Increased Use of Disinfectants During the COVID-19 Pandemic and Its Potential Impacts on Health and Safety. *ACS Chemical Health & Safety*, 29(1), 27–38.
- Dhama, K., Patel, S. K., Kumar, R., Masand, R., Rana, J., Yatoo, Mohd. I., Tiwari, R., Sharun, K., Mohapatra, R. K., Natesan, S., Dhawan, M., Ahmad, T., Emran, T. B., Malik, Y. S., Harapan, H. 2021. The role of disinfectants and sanitizers during COVID-19 pandemic: Advantages and deleterious effects on humans and the environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(26), 34211–34228.
- Dhar, G., Mukherjee, S., Nayak, N., Sahu, S., Bag, J., Rout, R., Mishra, M. 2020. Various Behavioural Assays to Detect the Neuronal Abnormality in Flies. In M. Mishra (Ed.), *Fundamental Approaches to Screen Abnormalities in Drosophila* (pp. 223–251). Springer US.
- Dillon, M. E., Wang, G., Garrity, P. A., Huey, R. B. 2009. Thermal preference in *Drosophila*. *Journal of Thermal Biology*, 34(3), 109–119.
- Dinter, E., Saridaki, T., Nippold, M., Plum, S., Diederichs, L., Komnig, D., Fensky, L., May, C., Marcus, K., Voigt, A., Schulz, J. B., Falkenburger, B. H. 2016. Rab7 induces clearance of α -synuclein aggregates. *Journal of Neurochemistry*, 138(5), 758–774.
- Dixit, R., VijayRaghavan, K., Bate, M. 2008. Hox genes and the regulation of movement in *Drosophila*. *Developmental Neurobiology*, 68(3), 309–316.
- Dixon, K., and Koprass, E. 2004. Genetic alterations and DNA repair in human carcinogenesis. *Seminars in Cancer Biology*, 14(6), 441–448.
- Domagk, G. 1935. Eine neue Klasse von Desinfektionsmitteln. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 61(21), 829–832.
- ECHA. 2015. *Directive 98/8/EC concerning the placing biocidal products on the market, Inclusion of active substances in Annex I to Directive 98/8/EC, Assessment Report, Alkyl (C12-16) dimethylbenzyl ammonium chloride*.
- EPA (U.S. Environmental Protection Agency). 2021. List N Tool: COVID-19 Disinfectants.
- Erel, O. 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103–1111.
- Ertuğrul, H., Yalçın, B., Güneş, M., Kaya, B. 2020. Ameliorative effects of melatonin against nano and ionic cobalt induced genotoxicity in two *in vivo Drosophila* assays. *Drug and Chemical Toxicology*, 43(3), 279–286.

- Fahmy, M. J., and Fahmy, O. G. 1982. Genetic activities of 4-chloromethylbiphenyl, the 4-hydroxy derivative and benzyl chloride in the soma and germ line of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 100(1–4), 339–344.
- Ferk, F., Misik, M., Hoelzl, C., Uhl, M., Fuerhacker, M., Grillitsch, B., Parzefall, W., Nersesyan, A., Micieta, K., Grummt, T., Ehrlich, V., Knasmüller, S. 2007. Benzalkonium chloride (BAC) and dimethyldioctadecyl-ammonium bromide (DDAB), two common quaternary ammonium compounds, cause genotoxic effects in mammalian and plant cells at environmentally relevant concentrations. *Mutagenesis*, 22(6), 363–370.
- Filipiak, M., Tylko, G., & Pyza, E. 2012. Zinc induces caspase-dependent mitochondrial pathway of the programmed cell death in haemocytes of *Drosophila melanogaster*. *BioMetals*, 25(3), 507–516.
- FlyBase. 2023. A Database of *Drosophila* Genes & Genomes.
- Fowler, M. A., and Montell, C. 2013. *Drosophila* TRP channels and animal behavior. *Life Sciences*, 92(8–9), 394–403.
- Frank, D. D., Jouandet, G. C., Kearney, P. J., Macpherson, L. J., Gallio, M. 2015. Temperature representation in the *Drosophila* brain. *Nature*, 519(7543), 358–361.
- Frantz, A.L. 2023. Chronic quaternary ammonium compound exposure during the COVID-19 pandemic and the impact on human health. *Toxicol. Environ. Health Sci.* 15, 199–206.
- Frei, H., and Würigler, F. E. 1988. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 203(4), 297–308.
- Fuentes, E., Sivakumar, N., Selvik, L.-K., Arch, M., Cardona, P. J., Ioerger, T. R., Dragset, M. S. 2022. *Drosophila melanogaster* is a powerful host model to study mycobacterial virulence [Preprint]. Microbiology.
- Furniss, B. S., and Vogel, A. I. 2009. *Vogel's textbook of practical organic chemistry* (New. ed., 5. ed., rev. [Nachdr.]). Pearson/Prentice Hall.
- Gallio, M., Ofstad, T. A., Macpherson, L. J., Wang, J. W., Zuker, C. S. 2011. The Coding of Temperature in the *Drosophila* Brain. *Cell*, 144(4), 614–624.
- Ganetzky, B., and Flanagan, J. R. 1978. On the relationship between senescence and age-related changes in two wild-type strains of *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 13(3–4), 189–196.
- Gargano, J., Martin, I., Bhandari, P., Grotewiel, M. 2005. Rapid iterative negative geotaxis (RING): A new method for assessing age-related locomotor decline in. *Experimental Gerontology*, 40(5), 386–395.
- Gilbert, P., and Moore, L. E. 2005. Cationic antiseptics: Diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology*, 99(4), 703–715.
- Golin, A. P., Choi, D., Ghahary, A. 2020. Hand sanitizers: A review of ingredients, mechanisms of action, modes of delivery, and efficacy against coronaviruses. *American Journal of Infection Control*, 48(9), 1062–1067.

- Gonzalez, M., Jégu, J., Kopferschmitt, M.-C., Donnay, C., Hedelin, G., Matzinger, F., Velten, M., Guilloux, L., Cantineau, A., de Blay, F. 2014. Asthma among workers in healthcare settings: Role of disinfection with quaternary ammonium compounds. *Clinical & Experimental Allergy*, 44(3), 393–406.
- Graf, U., and Singer, D. 1992. Genotoxicity Testing of Promutagens in the Wing Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 8(1): 15-27.
- Graf, U., and van Schaik, N. 1992. Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 271(1), 59–67.
- Graf, U., Würgler, F. E., Katz, A. J., Frei, H., Juon, H., Hall, C. B., Kale, P. G. 1984. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental Mutagenesis*, 6(2), 153–188.
- Greenaway, R. E., Ormandy, K., Fellows, C., Hollowood, T. 2018. Impact of hand sanitizer format (gel/foam/liquid) and dose amount on its sensory properties and acceptability for improving hand hygiene compliance. *Journal of Hospital Infection*, 100(2), 195–201.
- Grotewiel, M. S., Martin, I., Bhandari, P., Cook-Wiens, E. 2005. Functional senescence in *Drosophila melanogaster*. *Ageing Research Reviews*, 4(3), 372–397.
- Guo, Y., Satpathy, M., Wilson, G., Srinivas, S. P. 2007. Benzalkonium Chloride Induces Dephosphorylation of Myosin Light Chain in Cultured Corneal Epithelial Cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48(5), 2001.
- Hay, B. A., and Guo, M. 2006. Caspase-Dependent Cell Death in *Drosophila*. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 22(1), 623–650.
- Heckscher, E. S., Lockery, S. R., Doe, C. Q. 2012. Characterization of *Drosophila* Larval Crawling at the Level of Organism, Segment, and Somatic Body Wall Musculature. *The Journal of Neuroscience*, 32(36), 12460–12471.
- Heckscher, E. S., Long, F., Layden, M. J., Chuang, C.-H., Manning, L., Richart, J., Pearson, J. C., Crews, S. T., Peng, H., Myers, E., Doe, C. Q. 2014. Atlas-builder software and the eNeuro atlas: Resources for developmental biology and neuroscience. *Development*, 141(12), 2524–2532.
- Heimbeck, G., Bugnon, V., Gendre, N., Häberlin, C., Stocker, R. F. 1999. Smell and Taste Perception in *Drosophila melanogaster* Larva: Toxin Expression Studies in Chemosensory Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 19(15), 6599–6609.
- Held, L.J. 2005. Imaginal discs. Cambridge University Press
- Herron, J. M., Hines, K. M., Tomita, H., Seguin, R. P., Cui, J. Y., Xu, L. 2019. Multiomics Investigation Reveals Benzalkonium Chloride Disinfectants Alter Sterol and Lipid Homeostasis in the Mouse Neonatal Brain. *Toxicological Sciences*, 171(1), 32–45.
- Herron, J., Reese, R. C., Tallman, K. A., Narayanaswamy, R., Porter, N. A., Xu, L. 2016. Identification of Environmental Quaternary Ammonium Compounds as Direct Inhibitors of Cholesterol Biosynthesis. *Toxicological Sciences*, 151(2), 261–270.

- Himmel, N. J., Letcher, J. M., Sakurai, A., Gray, T. R., Benson, M. N., Donaldson, K. J., & Cox, D. N. (2021). Identification of a neural basis for cold acclimation in *Drosophila* larvae. *IScience*, 24(6), 102657.
- Hoffman, P. N., Bradley, C., Ayliffe, G. A. J., Ayliffe, G. A. J. 2004. *Disinfection in healthcare* (3rd ed). Blackwell Pub.
- Hong, J., and Bielory, L. 2009. Allergy to ophthalmic preservatives. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology*, 9(5), 447–453.
- Hora, P. I., Pati, S. G., McNamara, P. J., Arnold, W. A. 2020. Increased Use of Quaternary Ammonium Compounds during the SARS-CoV-2 Pandemic and Beyond: Consideration of Environmental Implications. *Environmental Science & Technology Letters*, 7(9), 622–631.
- Hrubec, T. C., Melin, V. E., Shea, C. S., Ferguson, E. E., Garofola, C., Repine, C. M., Chapman, T. W., Patel, H. R., Razvi, R. M., Sugrue, J. E., Potineni, H., Magnin-Bissel, G., Hunt, P. A. 2017. Ambient and Dosed Exposure to Quaternary Ammonium Disinfectants Causes Neural Tube Defects in Rodents: Neural Tube Defects From QAC Exposure. *Birth Defects Research*, 109(14), 1166–1178.
- Hrubec, T. C., Seguin, R. P., Xu, L., Cortopassi, G. A., Datta, S., Hanlon, A. L., Lozano, A. J., McDonald, V. A., Healy, C. A., Anderson, T. C., Musse, N. A., Williams, R. T. 2021. Altered toxicological endpoints in humans from common quaternary ammonium compound disinfectant exposure. *Toxicology Reports*, 8, 646–656.
- Huang, R., and Zhou, P.-K. 2021. DNA damage repair: Historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 254.
- Hunter, I., Coulson, B., Zarin, A. A., Baines, R. A. 2021. The *Drosophila* Larval Locomotor Circuit Provides a Model to Understand Neural Circuit Development and Function. *Frontiers in Neural Circuits*, 15, 684969.
- Hustedt, N., Gasser, S., & Shimada, K. 2013. Replication Checkpoint: Tuning and Coordination of Replication Forks in S Phase. *Genes*, 4(3), 388–434.
- Hyman, B. T., and Yuan, J. 2012. Apoptotic and non-apoptotic roles of caspases in neuronal physiology and pathophysiology. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(6), 395–406.
- Imazato, S., Torii, M., Tsuchitani, Y., McCabe, J. F., Russell, R. R. B. 1994. Incorporation of Bacterial Inhibitor into Resin Composite. *Journal of Dental Research*, 73(8), 1437–1443.
- Inácio, Â. S., Mesquita, K. A., Baptista, M., Ramalho-Santos, J., Vaz, W. L. C., Vieira, O. V. 2011. In Vitro Surfactant Structure-Toxicity Relationships: Implications for Surfactant Use in Sexually Transmitted Infection Prophylaxis and Contraception. *PLoS ONE*, 6(5), e19850.
- Jacobs, W. A., and Heidelberger, M. 1915. On a New Group of Bactericidal Substances Obtained from Hexamethylenetetramine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1(4), 226–228.

- Jacobs, W. A., Heidelberger, M., Amoss, H. L. 1916. The bactericidal properties of the quaternary salts of hexamethylenetetramine. *Journal of Experimental Medicine*, 23(5), 569–576.
- Jia, Y., Lu, H., Zhu, L. 2022. Molecular mechanism of antibiotic resistance induced by mono- and twin-chained quaternary ammonium compounds. *Science of The Total Environment*, 832, 155090.
- Jiang, H., Kimura, T., Hai, H., Yamamura, R., Sonoshita, M. 2022. *Drosophila* as a toolkit to tackle cancer and its metabolism. *Frontiers in Oncology*, 12, 982751.
- Jiang, N., Naz, S., Ma, Y., Ullah, Q., Khan, M. Z., Wang, J., Lu, X., Luosang, D.-Z., Tabassum, S., Chatha, A. M. M., Basang, W.-D. 2023. An Overview of Comet Assay Application for Detecting DNA Damage in Aquatic Animals. *Agriculture*, 13(3), 623.
- Jing, J. L. J., Pei Yi, T., Bose, R. J. C., McCarthy, J. R., Tharmalingam, N., Madheswaran, T. 2020. Hand Sanitizers: A Review on Formulation Aspects, Adverse Effects, and Regulations. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(9), 3326.
- Kastenbaum, M. A., and Bowman, K. O. 1970. Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 9(5), 527–549.
- Kaufman, T. C. 2017. A Short History and Description of *Drosophila melanogaster* Classical Genetics: Chromosome Aberrations, Forward Genetic Screens, and the Nature of Mutations. *Genetics*, 206(2), 665–689.
- Kaya, B. 2000. Bazi Pestisitlerin *Drosophila melanogaster* Hatlarında Mutajenik ve Rekombinojenik Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 134 ss., Antalya.
- Kaya, B., Yalçın B., Güneş, M. 2022. *Drosophila* somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART). Genetik toksikoloji. Nobel Akademik Yayıncılık, 522 sayfa.
- Kernan, M., Cowan, D., Zuker, C. 1994. Genetic dissection of mechanosensory transduction: Mechanoreception-defective mutations of *Drosophila*. *Neuron*, 12(6), 1195–1206.
- Kietz, C., and Meinander, A. 2023. *Drosophila* caspases as guardians of host-microbe interactions. *Cell Death & Differentiation*, 30(2), 227–236.
- Kietz, C., Mohan, A. K., Pollari, V., Tuominen, I.-E., Ribeiro, P. S., Meier, P., Meinander, A. 2022. Drice restrains Diap2-mediated inflammatory signalling and intestinal inflammation. *Cell Death & Differentiation*, 29(1), 28–39.
- King, R. C. 1975. The Cell Cycle and Cell Differentiation in the *Drosophila* Ovary. In J. Reinert & H. Holtzer (Eds.), *Cell Cycle and Cell Differentiation* (Vol. 7, pp. 85–109). Springer Berlin Heidelberg.
- Klein, M., Afonso, B., Vonner, A. J., Hernandez-Nunez, L., Berck, M., Tabone, C. J., Kane, E. A., Pieribone, V. A., Nitabach, M. N., Cardona, A., Zlatic, M., Sprecher, S. G., Gershow, M., Garrity, P. A., Samuel, A. D. T. 2015. Sensory determinants of behavioral dynamics in *Drosophila* thermotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(2).

- Kratzel, A., Todt, D., V'kovski, P., Steiner, S., Gultom, M., Thao, T. T. N., Ebert, N., Holwerda, M., Steinmann, J., Niemeyer, D., Dijkman, R., Kampf, G., Drosten, C., Steinmann, E., Thiel, V., Pfaender, S. 2020. Inactivation of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 by WHO-Recommended Hand Rub Formulations and Alcohols. *Emerging Infectious Diseases*, 26(7), 1592–1595.
- Krokan, H. E., Bjoras, M. 2013. Base Excision Repair. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(4), a012583–a012583.
- Kumagai, A., Lee, J., Yoo, H. Y., Dunphy, W. G. 2006. TopBP1 Activates the ATR-ATRIP Complex. *Cell*, 124(5), 943–955.
- Kwon, D., Kwon, J.-T., Lim, Y.-M., Shim, I., Kim, E., Lee, D.-H., Yoon, B.-I., Kim, P., Kim, H.-M. 2019. Inhalation toxicity of benzalkonium chloride and triethylene glycol mixture in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 378, 114609.
- Kwon, Y., Shen, W. L., Shim, H.-S., Montell, C. 2010. Fine Thermotactic Discrimination between the Optimal and Slightly Cooler Temperatures via a TRPV Channel in Chordotonal Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 30(31), 10465–10471.
- Lavorgna, M., Russo, C., D'Abrosca, B., Parrella, A., Isidori, M. 2016. Toxicity and genotoxicity of the quaternary ammonium compound benzalkonium chloride (BAC) using *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia* as model systems. *Environmental Pollution*, 210, 34–39.
- Lawrence, P. A., Morata, G. 1992. Lighting up *Drosophila*. *Nature*, 356(6365), 107–108.
- Lee, J.-H., and Paull, T. T. 2005. ATM Activation by DNA Double-Strand Breaks Through the Mre11-Rad50-Nbs1 Complex. *Science*, 308(5721), 551–554.
- Leulier, F., Rodriguez, A., Khush, R. S., Abrams, J. M., Lemaitre, B. 2000. The *Drosophila* caspase Dredd is required to resist Gram-negative bacterial infection. *EMBO Reports*, 1(4), 353–358.
- Lewis, E. B. 1960. A new standard food medium. *Drosophila Information Service*, 34, 118–119.
- Li, D., Sangion, A, Li, L. 2020. Evaluating consumer exposure to disinfecting chemicals against coronavirus disease 2019 (COVID-19) and associated health risks. *Environment International*, 145, 106108.
- Li, K., and Gong, Z. 2017. Feeling Hot and Cold: Thermal Sensation in *Drosophila*. *Neuroscience Bulletin*, 33(3), 317–322.
- Lindahl, T., and Barnes, D. E. 2000. Repair of Endogenous DNA Damage. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 65(0), 127–134.
- Lindsley, D. L., and Zimm, G. G. 1992. GENES. In *The Genome of Drosophila melanogaster* (pp. 1–803). Elsevier.
- Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods*, 25(4), 402–408.
- Luz, A., DeLeo, P., Pechacek, N., Freemantle, M. 2020. Human health hazard assessment of quaternary ammonium compounds: Didecyl dimethyl ammonium chloride and

- alkyl (C12–C16) dimethyl benzyl ammonium chloride. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 116, 104717.
- Magdolenova, Z., Collins, A., Kumar, A., Dhawan, A., Stone, V., Dusinska, M. 2014. Mechanisms of genotoxicity. A review of *in vitro* and *in vivo* studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 8(3), 233–278.
- Maillard, J.Y., Centeleghe, I. 2023. How biofilm changes our understanding of cleaning and disinfection. *Antimicrob Resist Infect Control* 12, 95.
- Marcos, R., and Carmona, E. R. 2013. The Wing-Spot and the Comet Tests as Useful Assays Detecting Genotoxicity in *Drosophila*. In A. Dhawan & M. Bajpayee (Eds.), *Genotoxicity Assessment* (Vol. 1044, pp. 417–427). Humana Press.
- Marteijn, J. A., Lans, H., Vermeulen, W., Hoeijmakers, J. H. J. 2014. Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and ageing. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 15(7), 465–481.
- Mattson, M. P. 2008. Hormesis defined. *Ageing Research Reviews*, 7(1), 1–7.
- McDonnell, G., and Russell, A. D. 1999. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147–179.
- Melin, V. E., Melin, T. E., Dessify, B. J., Nguyen, C. T., Shea, C. S., Hrubec, T. C. 2016. Quaternary ammonium disinfectants cause subfertility in mice by targeting both male and female reproductive processes. *Reproductive Toxicology*, 59, 159–166.
- Melin, V. E., Potineni, H., Hunt, P., Griswold, J., Siems, B., Werre, S. R., Hrubec, T. C. 2014. Exposure to common quaternary ammonium disinfectants decreases fertility in mice. *Reproductive Toxicology*, 50, 163–170.
- Mishima-Kimura, S., Yonemitsu, K., Ohtsu, Y., Sasao, A., Tsutsumi, H., Furukawa, S., Nishitani, Y. 2018. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection of benzalkonium chloride (BZK) in a forensic autopsy case with survival for 18 days post BZK ingestion. *Legal Medicine*, 32, 48–51.
- Mishra, M., Barik, B. K. 2018. Behavioral Teratogenesis in *Drosophila melanogaster*. In L. Félix (Ed.), *Teratogenicity Testing* (Vol. 1797, pp. 277–298). Springer New York.
- Mishra, P. K., Ekielski, A., Mukherjee, S., Sahu, S., Chowdhury, S., Mishra, M., Talegaonkar, S., Siddiqui, L., Mishra, H. 2019. Wood-Based Cellulose Nanofibrils: Haemocompatibility and Impact on the Development and Behaviour of *Drosophila melanogaster*. *Biomolecules*, 9(8), 363.
- Mo, L.-Y., Liu, Y.-A., Zhu, J., Qin, L.-T., Liang, Y.-P., Zeng, H.-H. 2020. Benefits from hazards, benefits from nothing, and benefits from benefits: The combined effects of five quaternary ammonium compounds to *Vibrio qinghaiensis* Q67. *Environmental Sciences Europe*, 32(1), 35.
- Mohapatra, S., Yutao, L., Goh, S. G., Ng, C., Luhua, Y., Tran, N. H., Gin, K. Y.-H. 2023. Quaternary ammonium compounds of emerging concern: Classification, occurrence, fate, toxicity and antimicrobial resistance. *Journal of Hazardous Materials*, 445, 130393.

- Mordes, D. A., Glick, G. G., Zhao, R., Cortez, D. 2008. TopBP1 activates ATR through ATRIP and a PIKK regulatory domain. *Genes & Development*, 22(11), 1478–1489.
- Mu, H., Geacintov, N. E., Broyde, S., Yeo, J.-E., Schärer, O. D. 2018. Molecular basis for damage recognition and verification by XPC-RAD23B and TFIIH in nucleotide excision repair. *DNA Repair*, 71, 33–42.
- Muller, J., Decordier, I., Hoet, P. H., Lombaert, N., Thomassen, L., Huaux, F., Lison, D., Kirsch-Volders, M. 2008. Clastogenic and aneugenic effects of multi-wall carbon nanotubes in epithelial cells. *Carcinogenesis*, 29(2), 427–433.
- Murphy, M. P., and Smith, R. A. J. 2007. Targeting Antioxidants to Mitochondria by Conjugation to Lipophilic Cations. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 47(1), 629–656.
- Myers, E. W., et al. 2000. A Whole-Genome Assembly of *Drosophila*. *Science*, 287(5461), 2196–2204.
- Nabi, G., Wang, Y., Hao, Y., Khan, S., Wu, Y., Li, D. 2020. Massive use of disinfectants against COVID-19 poses potential risks to urban wildlife. *Environmental Research*, 188, 109916.
- Naves, M. P. C., de Moraes, C. R., de Freitas, V., Ribeiro, D. L., Lopes, D. S., Antunes, L. M. G., de Melo Rodrigues, V., de Rezende, A. A. A., Spanó, M. A. 2021. Mutagenic and genotoxic activities of Phospholipase A2 Bothropstoxin-I from *Bothrops jararacussu* in *Drosophila melanogaster* and human cell lines. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1602–1610.
- Ni, L. 2021. The Structure and Function of Ionotropic Receptors in *Drosophila*. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13, 638839.
- Ni, L., Klein, M., Svec, K. V., Budelli, G., Chang, E. C., Ferrer, A. J., Benton, R., Samuel, A. D., Garrity, P. A. 2016. The Ionotropic Receptors IR21a and IR25a mediate cool sensing in *Drosophila*. *ELife*, 5, e13254.
- Ogilvie, B. H., Solis-Leal, A., Lopez, J. B., Poole, B. D., Robison, R. A., Berges, B. K. 2021. Alcohol-free hand sanitizer and other quaternary ammonium disinfectants quickly and effectively inactivate SARS-CoV-2. *Journal of Hospital Infection*, 108, 142–145.
- Oh, H.-N., Park, S., Lee, S., Chun, H.-S., Shin, W.-H., Kim, W.-K. 2022. In vitro neurotoxicity evaluation of biocidal disinfectants in a human neuron–astrocyte co-culture model. *Toxicology in Vitro*, 84, 105449.
- Oh, J.-M., and Myung, K. 2022. Crosstalk between different DNA repair pathways for DNA double strand break repairs. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 873, 503438.
- Ohnuma, A., Yoshida, T., Horiuchi, H., Fukumori, J., Tomita, M., Kojima, S., Takahashi, N., Fukuyama, T., Hayashi, K., Yamaguchi, S., Ohtsuka, R., Kashimoto, Y., Kuwahara, M., Takeda, M., Kosaka, T., Nakashima, N., Harada, T. 2011. Altered pulmonary defense system in lung injury induced by didecyldimethylammonium chloride in mice. *Inhalation Toxicology*, 23(8), 476–485.

- Olive, P. L., Banáth, J. P., Durand, R. E. 1990. Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the “comet” assay. *Radiation Research*, 122(1), 86–94.
- Ostling, O., and Johanson, K. J. 1984. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123(1), 291–298.
- Panier, S., and Boulton, S. J. 2014. Double-strand break repair: 53BP1 comes into focus. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1), 7–18.
- Paris, C., Ngatchou-Wandji, J., Luc, A., McNamee, R., Bensefa-Colas, L., Larabi, L., Telle-Lamberton, M., Herin, F., Bergeret, A., Bonnetterre, V., Brochard, P., Choudat, D., Dupas, D., Garnier, R., Pairon, J.-C., Agius, R. M., Ameille, J., the members of the RNV3P. 2012. Work-related asthma in France: Recent trends for the period 2001–2009. *Occupational and Environmental Medicine*, 69(6), 391–397.
- Pereira, B., and Tagkopoulos, I. 2019. Benzalkonium Chlorides: Uses, Regulatory Status, and Microbial Resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(13), e00377-19.
- Peyneau, M., de Chaisemartin, L., Gigant, N., Chollet-Martin, S., & Kerdine-Römer, S. (2022). Quaternary ammonium compounds in hypersensitivity reactions. *Frontiers in Toxicology*, 4, 973680.
- Pidot, S. J., et al. 2018. Increasing tolerance of hospital *Enterococcus faecium* to handwash alcohols. *Science Translational Medicine*, 10(452), eaar6115.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A. 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1–13.
- Prajapati, P., Desai, H., Chandarana, C. 2022. Hand sanitizers as a preventive measure in COVID-19 pandemic, its characteristics, and harmful effects: A review. *Journal of the Egyptian Public Health Association*, 97(1), 6.
- Qian, Y., He, Y., Li, H., Yi, M., Zhang, L., Zhang, L., Liu, L., Lu, Z. 2022. Benzalkonium chlorides (C12) inhibits growth but motivates microcystins release of *Microcystis aeruginosa* revealed by morphological, physiological, and iTRAQ investigation. *Environmental Pollution*, 292, 118305.
- Ribeiro, C., and Brehélin, M. 2006. Insect haemocytes: What type of cell is that? *Journal of Insect Physiology*, 52(5), 417–429.
- Rock, K. L., and Kono, H. 2008. The Inflammatory Response to Cell Death. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 3(1), 99–126.
- Rodgers, K., and McVey, M. 2016. Error-Prone Repair of DNA Double-Strand Breaks: error-prone repair of DNA DSBs. *Journal of Cellular Physiology*, 231(1), 15–24.
- Rosa, R., and Sturzenberger, O. P. (1976). Clinical Reduction of Gingivitis through the Use of a Mouthwash Containing Two Quaternary Ammonium Compounds. *Journal of Periodontology*, 47(9), 535–537.

- Rosenzweig, M., Kang, K., Garrity, P. A. 2008. Distinct TRP channels are required for warm and cool avoidance in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(38), 14668–14673.
- Salmon, T. B. 2004. Biological consequences of oxidative stress-induced DNA damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Research*, 32(12), 3712–3723.
- Sánchez-Fortún, S., Llorente, M. T., Castaño, A. 2005. Genotoxic effects of selected biocides on RTG-2 fish cells by means of a modified Fast Micromethod Assay. *Aquatic Toxicology*, 73(1), 55–64.
- Sarkar, J., Chaudhary, S., Namavari, A., Ozturk, O., Chang, J.-H., Yco, L., Sonawane, S., Khanolkar, V., Hallak, J., Jain, S. 2012. Corneal Neurotoxicity Due to Topical Benzalkonium Chloride. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(4), 1792.
- Sartori, A. A., Lukas, C., Coates, J., Mistrik, M., Fu, S., Bartek, J., Baer, R., Lukas, J., Jackson, S. P. 2007. Human CtIP promotes DNA end resection. *Nature*, 450(7169), 509–514.
- Schofield, M. J., Hsieh, P. 2003. DNA Mismatch Repair: Molecular Mechanisms and Biological Function. *Annual Review of Microbiology*, 57(1), 579–608.
- Schrank, C. L., Minbiole, K. P. C., Wuest, W. M. 2020. Are Quaternary Ammonium Compounds, the Workhorse Disinfectants, Effective against Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2? *ACS Infectious Diseases*, 6(7), 1553–1557.
- Seguin, R. P., Herron, J. M., Lopez, V. A., Dempsey, J. L., Xu, L. 2019. Metabolism of Benzalkonium Chlorides by Human Hepatic Cytochromes P450. *Chemical Research in Toxicology*, 32(12), 2466–2478.
- Sekelsky, J. 2017. DNA Repair in *Drosophila*: Mutagens, Models, and Missing Genes. *Genetics*, 205(2), 471–490.
- Shinoda, N., Hanawa, N., Chihara, T., Koto, A., Miura, M. 2019. Dronc-independent basal executioner caspase activity sustains *Drosophila* imaginal tissue growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(41), 20539–20544.
- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., Schneider, E. L. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175(1), 184–191.
- Slimani, K., Féret, A., Pirottais, Y., Maris, P., Abjean, J.-P., Hurtaud-Pessel, D. 2017. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry multiresidue method for the analysis of quaternary ammonium compounds in cheese and milk products: Development and validation using the total error approach. *Journal of Chromatography A*, 1517, 86–96.
- Sokabe, T., and Tominaga, M. 2009. A temperature-sensitive TRP ion channel, Painless, functions as a noxious heat sensor in fruit flies. *Communicative & Integrative Biology*, 2(2), 170–173.
- Sreevidya, V. S., Lenz, K. A., Svoboda, K. R., Ma, H. 2018. Benzalkonium chloride, benzethonium chloride, and chloroxylenol—Three replacement antimicrobials are more toxic than triclosan and triclocarban in two model organisms. *Environmental Pollution*, 235, 814–824.

- Steinkjer, B. 1998. Contact dermatitis from cetyl pyridinium chloride in latex surgical gloves. *Contact Dermatitis*, 39(1), 29–30.
- Suito, T., Nagao, K., Kai, M., Juni, N., Sokabe, T., Umeda, M. 2022. Measurement of Thermoregulatory Behavior in *Drosophila melanogaster*. In D. Yamamoto (Ed.), *Behavioral Neurogenetics* (Vol. 181, pp. 77–91). Springer US.
- Suneja, T., and Belsito, D. V. 2008. Occupational dermatoses in health care workers evaluated for suspected allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis*, 58(5), 285–290.
- Szabad, J., Soós, I., Polgár, G., Héjja, G. 1983. Testing the mutagenicity of malondialdehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mosaic and the sex-linked recessive lethal tests. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 113(2), 117–133.
- Takeoka, G., Dao, L., Wong, R. Y., Lundin, R., Mahoney, N. 2001. Identification of Benzethonium Chloride in Commercial Grapefruit Seed Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3316–3320.
- Takeuchi, N., Takikawa, Y., Shibuya, N. 1993. Actions of benzalkonium chloride as a potent depressant at the neuromuscular junction. *Neuropharmacology*, 32(4), 377–385.
- Tan, J., Sun, X., Zhao, H., Guan, H., Gao, S., Zhou, P. 2023. Double-strand DNA break repair: molecular mechanisms and therapeutic targets. *MedComm* 4, e388.
- Taylor, M. J., and Tuxworth, R. I. 2019. Continuous tracking of startled *Drosophila* as an alternative to the negative geotaxis climbing assay. *Journal of Neurogenetics*, 33(3), 190–198.
- Trotta, V., Pertoldi, C., Rudoy, A., Manenti, T., Cavicchi, S., Guerra, D. 2010. Thermal plasticity of wing size and shape in *Drosophila melanogaster*, *D. simulans* and their hybrids. *Clim. Res.* 43, 71–79.
- Tezel, U., & Pavlostathis, S. G. (2015). Quaternary ammonium disinfectants: Microbial adaptation, degradation and ecology. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 296–304.
- Tower, J. 2023. Markers and mechanisms of death in *Drosophila*. *Front. Aging* 4, 1292040.
- Turner, H. N., Armengol, K., Patel, A. A., Himmel, N. J., Sullivan, L., Iyer, S. C., Bhattacharya, S., Iyer, E. P. R., Landry, C., Galko, M. J., Cox, D. N. 2016. The TRP Channels Pkd2, NompC, and Trpm Act in Cold-Sensing Neurons to Mediate Unique Aversive Behaviors to Noxious Cold in *Drosophila*. *Current Biology*, 26(23), 3116–3128.
- Tyrrell, J. J., Wilbourne, J. T., Omelchenko, A. A., Yoon, J., Ni, L. 2021. Ionotropic Receptor-dependent cool cells control the transition of temperature preference in *Drosophila* larvae. *PLOS Genetics*, 17(4), e1009499.
- Ugur, B., Chen, K., Bellen, H. J. 2016. *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases. *Disease Models & Mechanisms*, 9(3), 235–244.

- Valerie A. MD. 2017. Evaluating Immunotoxicity of Quaternary Ammonium Compounds. Master of Science in biological sciences. Virginia Polytechnic Institute and State University. 114p
- Vereshchagin, A. N., Frolov, N. A., Egorova, K. S., Seitkalieva, M. M., & Ananikov, V. P. (2021). Quaternary Ammonium Compounds (QACs) and Ionic Liquids (ILs) as Biocides: From Simple Antiseptics to Tunable Antimicrobials. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6793.
- Weatherly, L. M., and Gosse, J. A. 2017. Triclosan exposure, transformation, and human health effects. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 20(8), 447–469.
- Wu, H., Zhang, H., Wang, C., Wu, Y., Xie, J., Jin, X., Yang, J., Ye, J. 2011. Genoprotective effect of hyaluronic acid against benzalkonium chloride-induced DNA damage in human corneal epithelial cells. *Molecular Vision*, 17, 3364–3370.
- XiaoZhi, L. 2020. Do we know enough about the safety of quat disinfectants?. *Chemical & Engineering News*
- Xian, Y., Dong, H., Wu, Y., Guo, X., Hou, X., Wang, B. 2016. QuEChERS-based purification method coupled to ultrahigh performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UPLC–MS/MS) to determine six quaternary ammonium compounds (QACs) in dairy products. *Food Chemistry*, 212, 96–103.
- Xiang, L., Sun, T.-F., Zheng, M.-J., Li, Y.-W., Li, H., Wong, M.-H., Cai, Q.-Y., Mo, C.-H. 2016. Sorption of dodecyltrimethylammonium chloride (DTAC) to agricultural soils. *Science of The Total Environment*, 560–561, 197–203.
- Yamamoto, S., et al. 2014. A *Drosophila* Genetic Resource of Mutants to Study Mechanisms Underlying Human Genetic Diseases. *Cell*, 159(1), 200–214.
- Yamanaka, T., Bannai, H., Tsujimura, K., Nemoto, M., Kondo, T., Matsumura, T. 2014. Comparison of the Virucidal Effects of Disinfectant Agents Against Equine Influenza A Virus. *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(5), 715–718.
- Zhang, C., Cui, F., Zeng, G., Jiang, M., Yang, Z., Yu, Z., Zhu, M., Shen, L. 2015. Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment. *Science of The Total Environment*, 518–519, 352–362.
- Zhang, Y., Chen, Y., Hu, Y., Huang, F., Xiao, Y. 2018. Quaternary ammonium compounds in dental restorative materials. *Dental Materials Journal*, 37(2), 183–191.
- Zhao, Y., Ye, X., Xiong, Z., Ihsan, A., Ares, I., Martínez, M., Lopez-Torres, B., Martínez-Larrañaga, M.-R., Anadón, A., Wang, X., Martínez, M.A. 2023. Cancer Metabolism: The Role of ROS in DNA Damage and Induction of Apoptosis in Cancer Cells. *Metabolites* 13, 796.
- Zheng, G., Filippelli, G. M., Salamova, A. 2020. Increased Indoor Exposure to Commonly Used Disinfectants during the COVID-19 Pandemic. *Environmental Science & Technology Letters*, 7(10), 760–765.
- Zheng, G., Webster, T. F., Salamova, A. 2021. Quaternary Ammonium Compounds: Bioaccumulation Potentials in Humans and Levels in Blood before and during the Covid-19 Pandemic. *Environmental Science & Technology*, 55(21), 14689–14698.

- Zhong, L., Bellemer, A., Yan, H., Honjo, K., Robertson, J., Hwang, R. Y., Pitt, G. S., Tracey, W. D. 2012. Thermosensory and Nonthermosensory Isoforms of *Drosophila melanogaster* TRPA1 Reveal Heat-Sensor Domains of a ThermoTRP Channel. *Cell Reports*, 1(1), 43–55.
- Zineldeen, D. H., Shafik, N. M., Li, S. F. 2017. Alternative Chk1-independent S/M checkpoint in somatic cells that prevents premature mitotic entry. *Medical Oncology*. 34(4), 70.



ÖZGEÇMİŞ

GHADA TAGORTI

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2019- 2024	Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans	Kartaca Üniversitesi
2016-2017	Tunus Ulusal Tarım Enstitüsü, Tunus
Lisans	Manuba Üniversitesi
2008-2014	Ulusal Veterinerlik Okulu, Tunus

ESERLER

Ulusal ve Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- Tagorti, G.**, Yalçın, B., Güneş, M., Burgazlı, A.Y., Kuruca, T., Cihanoğlu, N., Akarsu, E., Kaya, N., Marcos, R., Kaya, B. (2024). Alcohol-free synthesis, biological assessment, *in vivo* toxicological evaluation, and *in silico* analysis of novel silane quaternary ammonium compounds differing in structure and chain length as promising disinfectants. *Journal of Hazardous Materials* 466, 133470
- Yalçın, B., Güneş, M., Kurşun, A.Y., **Tagorti, G.**, Golal, E., Kaya, B. (2023). Investigation of Genotoxic and Larval Development Effects of Tetramethrin on *Drosophila melanogaster*. *KSU J. Agric Nat*.
- Güneş M., Yalçın B., Burgazlı A.Y., **Tagorti G.**, Yavuz E., Akarsu E., Kaya N., Marcos R., Kaya B. (2023). Morphologically different hydroxyapatite nanoparticles exert differential genotoxic effects in *Drosophila*. *Science of The Total Environment* 904, 166556.
- Tagorti G.**, Yalçın B., Güneş M., Burgazlı A.Y., Kaya B. (2023). Comparative evaluation of natural and artificial sweeteners from DNA damage, oxidative stress, apoptosis, to development using *Drosophila melanogaster*. *Drug Chem Toxicol*. 1-12.
- Tagorti G.**, Yalçın B., Güneş M., Burgazlı A.Y., Kaya B. (2023). Computational assessment of the biological response of curcumin to type 2 diabetes mellitus induced by metal exposure. *Toxicology*. 491:153531.
- Güneş M., Yalçın B., Kurşun A.Y., **Tagorti G.**, Yavuz E., Akarsu E., Kaya N., Kaya B. (2023). The Effects of Rod and Round-Like Nanohydroxyapatites on *Allium cepa* Root Meristem Cells. *Gazi University Journal of Science* 1–1.

7. **Tagorti G.**, Yalçın B., Güneş M., Kurşun A.Y., Kaya B. (2022). Genotoxic and genoprotective effects of phytoestrogens: a systematic review. *Drug and Chem Toxicology*. 1-13.
8. Burgazlı A.Y., Yalçın B., Güneş M., **Tagorti G.**, Kaya B. (2022). *Drosophila melanogaster*'in somatik hücrelerinde kobalt nanopartiküllerinin indüklediği genotoksisiteye karşı Resveratrol'ün antigenotoksik etkisi. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*. 5(2): 50-55.
9. **Tagorti, G.**, Kaya, B. (2022). Publication trends of somatic mutation and recombination tests research: a bibliometric analysis (1984–2020). *Genomics Inform* 20, e10.
10. **Tagorti, G.**, Kaya, B. (2022). Genotoxic effect of microplastics and COVID-19: The hidden threat. *Chemosphere* 286, 131898.
11. Kurşun, A.Y., Yalçın, B., Güneş, M., **Tagorti, G.**, Kaya, B. (2021). MgO Nanopartiküllerinin *Drosophila melanogaster* Üzerindeki Davranışsal Toksisitesinin Değerlendirilmesi. *Afyon Kocatepe University Journal of Sciences and Engineering* 21, 1283–1294.
12. **Tagorti, G.** (2019). Disease prevalence among young dogs in Grand Tunis, Tunisia: A retrospective study. *Vet World* 12, 489–495.
13. **Tagorti, G.** (2018). Prevalence of canine parvovirus infection in Grand Tunis, Tunisia. *J Adv Vet Anim Res* 5, 93.