

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

**BORON TAŞIYAN HİYALÜRONİK ASİT BAZLI DOKU  
İSKELETLERİNİN HÜCRE ÜZERİNE SİTOTOKSİK,  
GENOTOKSİK VE PROLİFERATİF ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Alzamka M. A. ALMABRUK**

**Danışman  
Jüri Üyesi  
Jüri Üyesi**

**Yrd. Doç. Dr. Nejdet GÜLTEPE  
Prof. Dr. Savaş CANBULAT  
Yrd. Doç. Dr. Şennan YÜCEL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**


**KASTAMONU – 2017**

## TEZ ONAYI

**Alzamka M. A. ALMABRUK** tarafından hazırlanan "**Boron Taşıyan Hiyalüronik Asit Bazlı Doku İskeletlerinin Hücre Üzerine Sitotoksik, Genotoksik Ve Proliferatif Etkilinin Araştırılması**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Nejdet GÜLTEPE  
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Savaş CANBULAT  
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Şennan YÜCEL  
Sinop Üniversitesi



31/03/2017

Enstitü Müdür V.

Prof. Dr. Temel SARIYILDIZ



## TAAHHÜTNAME

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

Alzamka M. A. ALMABRUK



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BORON TAŞIYAN HİYALÜRONİK ASİT BAZLI DOKU İSKELETLERİNİN HÜCRE ÜZERİNE SİTOTOKSİK, GENOTOKSİK VE PROLİFERATİF ETKİLİNİN ARAŞTIRILMASI

Alzamka M. A. ALMABRUK

Kastamonu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nejdet GÜLTEPE

Yapılan bu araştırmada; sitotoksosite, genotoksosite, hiyalüronik asit ve metabolizmada kullanımı, ayrıca bor ve borun canlılardaki kullanımı detayları ile değerlendirilmiştir.

Yapılan değerlendirme neticesinde ise borun toksisitesinin zaten memeliler açısından düşük olması ve sağlık alanında bir çok hastalığın tedavisinde halihazırda kullanılıyor olması ve aynı zamanda kanser hastalığının tedavisinde yeni uygulamalarda kullanılması borun sitotoksik, genotoksik veya proliferatif etkisinin olmayacağı yönünde bir hipotez geliştirmemizi sağlamıştır.

Yine aynı yaklaşımla immünojenik olmayan ve kanser gibi proliferatif olan bir yapıda olmaması ve malignant tümörlerin yapısına girmemesi nedenleri ile hiyalüronik asidin herhangi bir şekilde sitotoksik, genotoksik veya proliferatif etkisinin olmayacağı yönünde bir diğer hipotez geliştirmemizi sağlamıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada; sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etkilerinin olmayacağı yönünde hipotez geliştirdiğimiz bor ve hiyalüronik asidin, aynı yapı içerisinde bulunması durumunda da sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etkilerinin olmayacağı yani boron taşıyan hiyalüronik asit bazlı doku iskeletlerinin hücre üzerinde herhangi bir şekilde sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etkisi olmayacağı konusunda bir değerlendirmeye varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Bor, hiyalüronik asit, sitotoksosite, genotoksosite

**2017, 27 sayfa**

**Bilim Kodu: 923**

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### INVESTIGATION OF CYTOTOXIC, GENOTOXIC AND PROLIFERATIVE EFFECTS OF BORON CARRYING HYALURONIC ACID BASED SCAFFOLDS ON CELLS

Alzamka M. A. ALMABRUK  
Kastamonu University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Genetics and Bioengineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Nejdet GÜLTEPE

**Abstract:** In this research, it has been evaluated cytotoxicity, genotoxicity, hyaluronic acid and its metabolism, as well as the use of boron in living organisms.

As a result of the evaluation, we have developed a hypothesis that toxicity is already low for mammals and it is already being used in the treatment of many diseases in the field of health, at the same time the use of new applications in the treatment of cancer disease will not result in cytotoxic, genotoxic or proliferative effect.

We have also developed another hypothesis that the hyaluronic acid will not have any cytotoxic, genotoxic or proliferative effect due to its non-immunogenic and proliferative nature with the same approach and its absence in the structure of malignant tumors.

According to this study; Boron and hyaluronic acid which we have hypothesized that there would not be cytotoxic, genotoxic and proliferative effects of boron-bearing hyaluronic acid-based tissue skeletons on the cell in any way, evaluation has been reached.

**Key Words:** Boron, hyaluronic acid, cytotoxicity, genotoxicity

**2017, 27 pages**

**Science Code: 923**

## TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalışmam boyunca her türlü desteğini esirgemeyen tez danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Nejdet GÜLTEPE'ye teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim muhterem babam Mohamed ALSANOSE, kıymetli annem Karima MOUSA ve sevgili kardeşlerim Hameida, Fauzia, Safiya, Fatema, Sharifa, Salleha, Khaled, Nouh, Emsaid, Zaid, Mahdi, Taib ve Ahmed'e teşekkür ederim.

Türkiye'de kaldığım süre içerisinde Nusa SEBAIHY ve Sara MOGHALLESS'e arkadaş olarak verdikleri destekten dolayı teşekkür ederim.

Türkiye'de eğitim almam için imkan sağlayan Libya Devleti'ne, Libya Devleti Türkiye Büyükelçiliği'ne ve Türkiye Cumhuriyeti Devleti'ne şükranlarımı sunarım.

Alzamka M. A. ALMABRUK  
Kastamonu, Mart, 2017

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ .....	x
TABLolar DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
2. SİTOTOKSİSİTE.....	5
3. GENOTOKSİSİTE .....	11
4. HİYALÜRONİK ASİT VE METABOLİZMADA KULLANIMI.....	15
5. BOR VE BORUN CANLILARDA KULLANIMI.....	18
6. SONUÇ .....	22
KAYNAKLAR .....	24
ÖZGEÇMİŞ .....	27

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	Adenozin trifosfat
B	Bor
BNCT	Bor nötron yakalama tedavisi.
Ca	Kalsiyum
CD44	Hyalüronik asit reseptörü
DNA	Deoksiribo nükleik asit
HA	Hyalüronik asit
HAYAL-1	Hyalüronidaz-1
HAYAL-2	Hyalüronidaz-2
INT	2-(p-iodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-fenil tetrazolium klorid
Mg	Magnezyum
MTS	(3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-5-(3-carboksimetoksifenil)-2 (4-sülfofenil)-2H- tetrazolium)
MTT	(3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl] 2,5-difeniltetrazolyumbromid) testi
P	Fosfor
RAHAMM	Hyalüronan aracılıkla hareketlilik reseptörü
XTT	(2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolium-5 karboksanilid) testi.



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1. Toksisitenin fazları .....	2
Şekil 1.2. Endokrin sistemin temel çalışma mekanizması .....	3
Şekil 2.1. Nekroz metabolizması .....	5
Şekil 2.2. Apoptoz esnasındaki morfolojik değişiklikler .....	6
Şekil 2.3. Apoptoz metabolizması .....	7
Şekil 2.4. Nekroz ve apoptoz arasındaki farklılıklar.....	7
Şekil 2.5. MTT testi kimyasal dönüşüm mekanizması .....	9
Şekil 2.6. Sitotoksisite test sistemleri.....	10
Şekil 3.1. Kromozomal sapmalar (Down Sendromu) .....	12
Şekil 3.2. Mutasyon .....	13
Şekil 4.1. Hyalüronik asit (HA) .....	15
Şekil 5.1. Bor ürünlerinin şematik gösterimi .....	20

## FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Fotoğraf 3.1. Mikronükleus genel görünümü .....	12
Fotoğraf 3.2. Comet testi.....	14
Fotoğraf 4.1. Diz osteoartriti için intraartiküler HA enjeksiyonu.....	16
Fotoğraf 5.1. Kristal bor.....	18
Fotoğraf 5.2. Amorf bor .....	19



## TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 5.1. Dünya Bor Kurulu Kapasitelerin Bölgelere Göre Dağılımı .....	<b>Sayfa</b> 20
---	--------------------



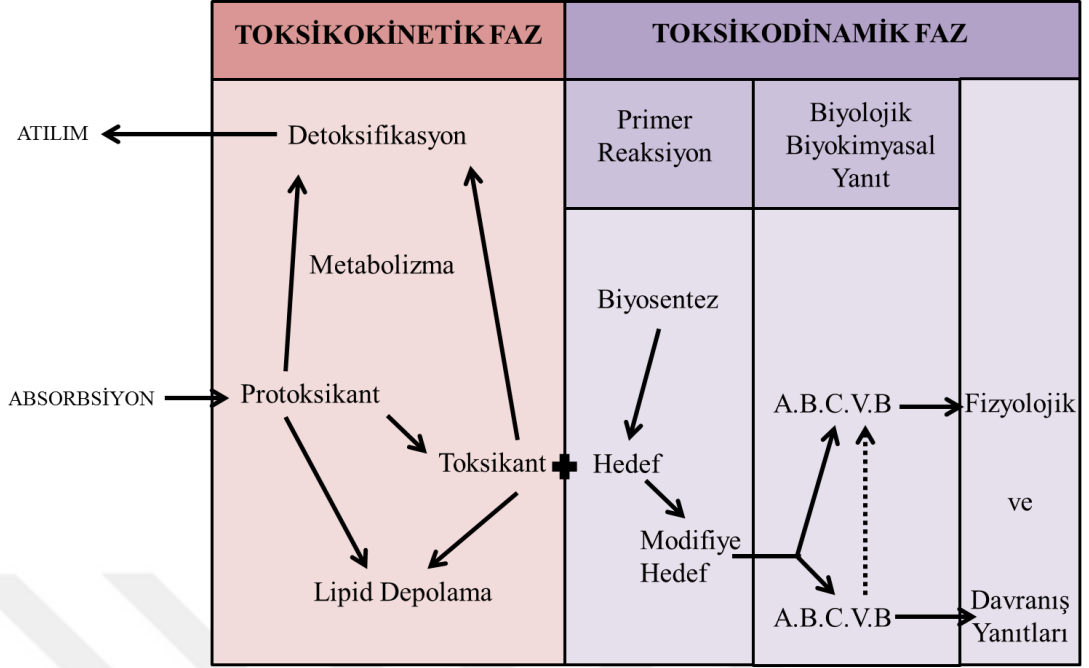
## 1. GİRİŞ

Genel bir tanımlama ile zehir bilimi olarak adlandırabileceğimiz toksikoloji, kimyasalların canlılar üzerindeki negatif etkilerini araştıran bir bilim dalıdır. Ana hatları ile canlılar için zehir etkisi yapan maddeler ile bu maddelerin canlıların fizyolojik, biyokimyasal ve patolojik olarak görülen etkilerini ve etki mekanizmalarını araştıran bilim dalıdır (Parlak, Çakal Arslan, Boyacıoğlu & Karaslan, 2009).

Kainatta bulunan her maddenin bir kimyasal yapısı vardır ve bu bakış açısı ile herşeyi kimyasal madde olarak nitelendirebilmemiz mümkündür. İşte bu kimyasalların olumsuz etkileri toksikoloji bilimi ile araştırılmaktadır. Canlı vücudunun dörtte üçünü oluşturan suyun, yine vücudun temel yapı taşı olan proteinin, metabolizmada önemli görevleri olan vitaminlerin bile zehir etkisi yaptığı gerçeğinden yola çıkılarak kainattaki her şeyin zehir olduğunu düşünebiliriz. Burada dikkatten kaçırılmaması gereken durum kimyasal maddelerin zehir etkisi yaptıkları miktarı, başka bir deyişle dozudur. Bir kimyasal maddenin zehir etkisi yapma miktarına ve zarar verme kapasitesine bağlı olarak sebep olduğu biyolojik zarar toksisite ve bu kimyasal da toksik madde olarak adlandırılır.

Vücuda toksik bir madde alındığında ve/veya vücuttaki bir madde toksik olabilecek sınıra ulaştığında hücre içerisinde yapısal değişikliklere, doku ve organlarda solunum veya osmoregülasyonda fizyolojik bozukluklara neden olur. Fizyolojik bozukluk başlayan canlı ölecek ve böylece canlı topluluğunda popülasyon bakımından gerileme sözkonusu olacaktır.

Toksik madde vücutta toksikokinetik ve toksikodinamik iki fazdan geçmektedir. Tokiskokinetik fazda maddenin vücut içerisindeki hareketi yani dolaşım sistemine girişi, dolaşım sistemi aracılığı ile dokulara dağılması ve vücuttan atılması, tokiskodinamik fazda ise maddeye maruz kalan ve maddeden etkilenen molekül ve doku üzerindeki etki gücü incelenir. Herhangi bir maddeden kaynaklanan toksisitenin toksikokinetik ve toksikodinamik fazları, işlem basamakları ile Şekil 1.1’de verilmiştir (Parlak vd., 2009).

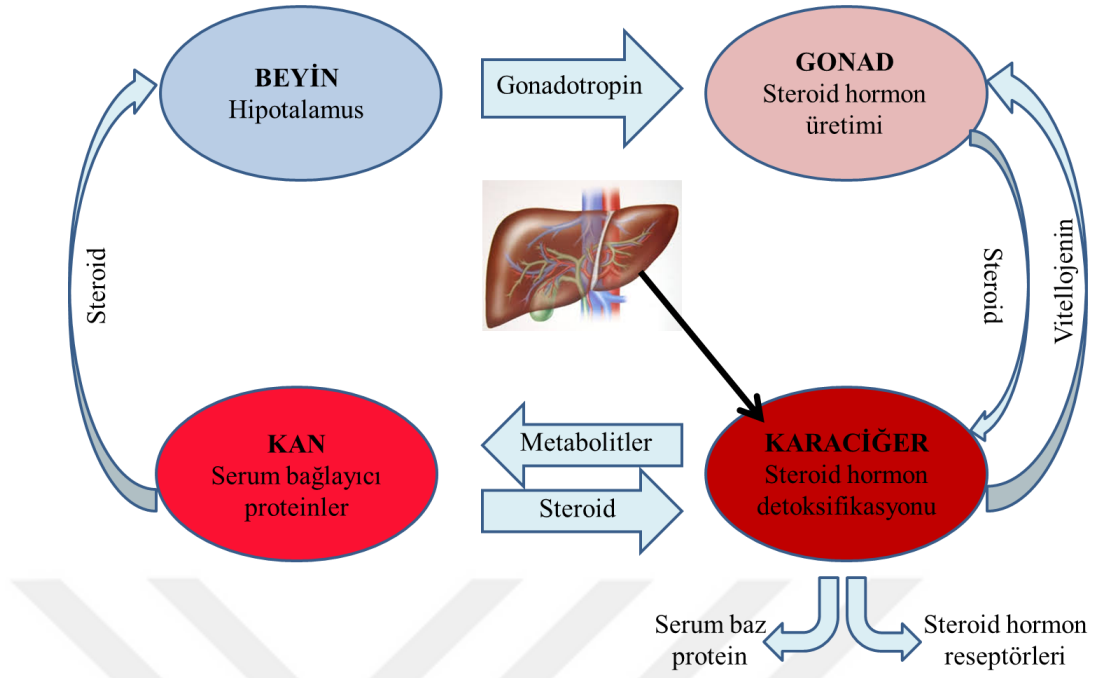


Şekil 1.1. Toksisitenin fazları

Toksisitenin daha iyi anlaşılabilmesi için öncelikle endokrin sistem hakkında yeterli bilgiye sahip olmak gerekir. Endokrin sistem; büyüme, gelişme, üreme ve homeostazide etkin görevi olan hormon salgılayan hücreler, dokular ve salgı bezlerinin bütünü olarak tanımlanır. Canlı organizmada gerçekleşen metabolizma faaliyetlerinin koordinasyonu ve düzenini sağlayan sinir sistemi ve endokrin sistemidir. Sinir sistemi reaksiyonları hızlı bir şekilde vermesine rağmen endokrin sistem kimyasalların dolaşım sistemine aktarılması ve buradan alınan geri dönüş nedeni ile daha yavaş reaksiyon verir (Kay, 1998). Omurgalılarda endokrin bezler:

1. Cinsiyet bezi
2. Adrenal bez
3. Paratroid bezi
4. Troid bezi
5. Hipofiz bezi
6. Pankreas
7. Hipotalamus
8. Pineal bez şeklindedir.

Endokrin sistemin temel çalışma mekanizması Şekil 1.2’de verilmiştir.



Şekil 1.2. Endokrin sistemin temel çalışma mekanizması

Kimyasal maddeler endokrin sistemde hormon, beyin ve enerji sinyallerinde etkili olup vücudun hemeostatik dengesini bozmaktadırlar. Böylece toksisite, kanser ve iltihap gibi hastalıkların yanında vücudumuzdaki birçok olumsuz etkilerde de önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle toksisitenin ve toksik madde etkinliğinin belirlenmesinde testler ve bu testlerin doğruluk derecesi önem kazanmaktadır (Weyermann, Lochmann & Zimmer, 2004).

Canlılar üzerinde toksisite testlerinin yapılmasında en önemli etken maruz kalmaya bağlı olarak, maruz kalınan kimyasalın dozu ve bu duruma metabolizmanın verdiği tepkidir. Metabolizmanın verdiği tepki akut bir şekilde gerçekleşebileceği gibi kronik olarak da gerçekleşebilir. Bu nedenle toksisite testleri;

1. Letal toksisite testleri
2. Subletal toksisite testleri olarak iki grupta yapılır.

Letal toksisite testlerinde çalının ölüm oranının değerlendirilmesi, subletal toksisite testlerinde ise canlıda olan biyokimyasal değişiklikler, patolojik olgular ve genetik etkiler gibi metabolizma içerisindeki birçok farklılık değerlendirilir.

Subletal toksisite testleri, canlının bütün ve/veya kısmi hayat döngüsü kullanılarak yapılabileceği gibi canlı vücudunda toksik aksiyon mekanizmalarını ortaya koymak üzere de yapılabilir (Parlak vd., 2009).

Bütün bu bilgiler ışığı altında metabolizmada var olan ve sistemsel olarak işleyen boron taşıyan hyalüronik asit bazlı doku iskeletlerinin hücre üzerine sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etkileri konusunda bir ön değerlendirme çalışması yapılmış ve ana başlıklar altında sunulmuştur.

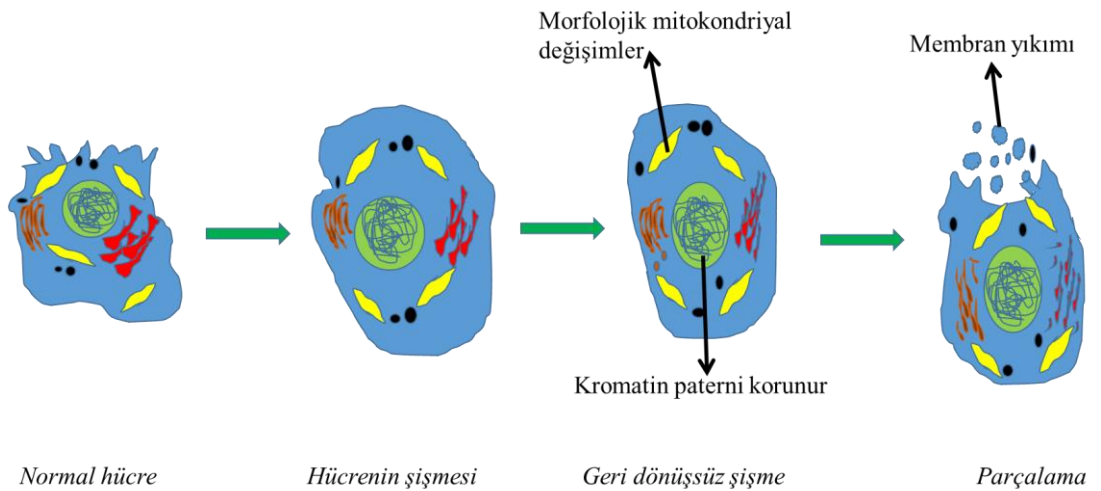


## 2. SİTOTOKSİSİTE

Sitotoksisite; kararlı kimyasalların veya ara hücrelerin, hücreleri yok etme kabiliyetini ifade eder. Sitotoksik olan herhangi bir bileşiğin kullanılması ile sağlıklı canlı hücrelerde nekroz ya da apoptoz oluşabilir (Riss & Moravec, 2004). Bu nedenle, farmasötik ürün araştırmalarında kullanıcıların güvenliğini sağlamak çok önemlidir. Sitotoksisitedeki mekanizmaları anlamak için normal ve anormal ölümle ilgili biyolojik süreçler hakkında daha teferruatlı bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

Organizmaların yaşam döngüleri doğum, büyüme, üreme, yaşlanma ve ölüm şeklindedir. Yaşam döngüsünün dengeli bir şekilde devam etmesinin, kanser ilaçları, radyasyon, ölüm reseptörlerinin aktivasyonu, sitotoksik T lenfositler ise apoptoza neden olmaktadır.

Nekroz, bir veya daha fazla sayıda hücrenin, dokunun ya da organın geri dönüşümsüz olarak hasar görmesi sonucu görülen patolojik ölümdür. Hücre veya dokulardaki nekroz; hücre lisizine sebep olan enfeksiyon ve toksinler gibi dış ajanların etkileri sonucunda oluşur. Nekrozun genel metabolizması Şekil 2.1'de verilmiştir.



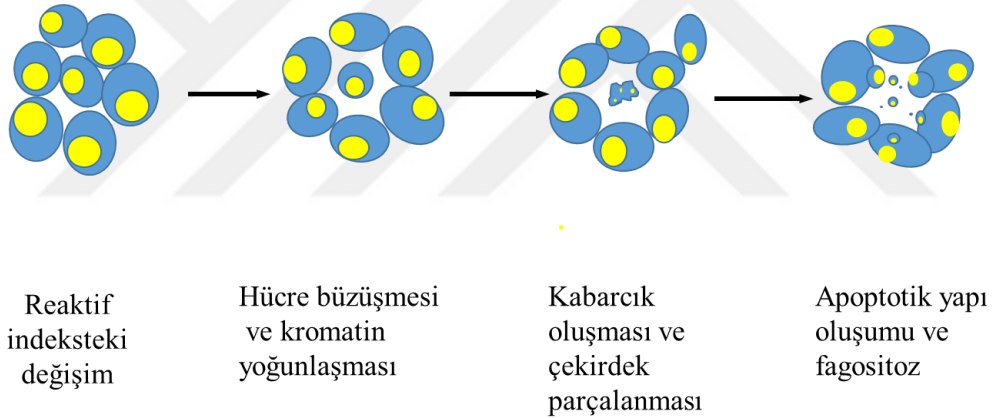
Şekil 2.1. Nekroz metabolizması



Hücrelerde olan şişme iki yolla gelişir. Birinci yol; hücrede kabarcık oluşmasının başlamasını piknoz takip eder ve böylece nükleer küçülme/büzülme başlar. Nihayetinde bu yolun son adımı olarak çekirdek sitoplazmada çözünür ve bu olaya karyoliz denir.

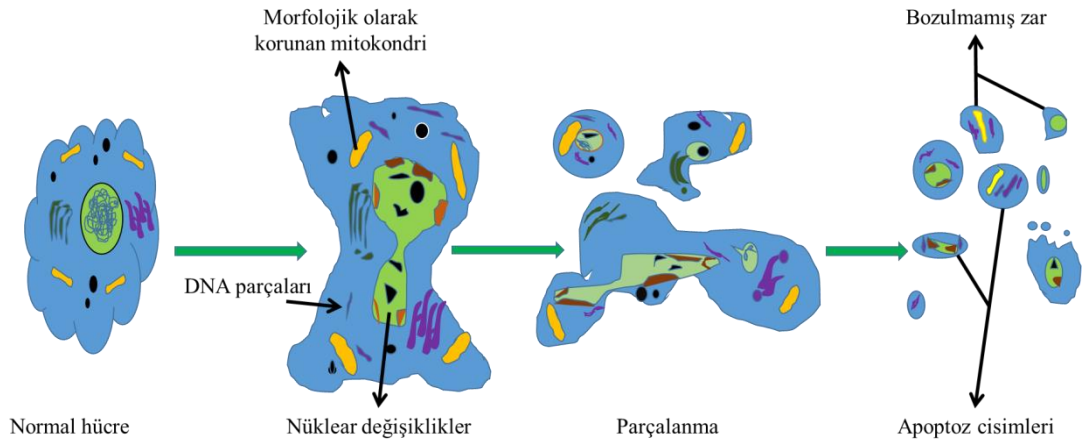
İkinci yol; apoptoz ve tomurcuklanmadan sonra görülen ve ortaya çıkan nekrozun sekonder formudur. Nekrozun hücresel değişiklikleri, apoptozun bu sekonder formunda ortaya çıkar ve bu aşamada çekirdek parçalara bölünür bu olaya karyoreksis adı verilir (Proskuryakov, Konoplyannikov & Gabai, 2003).

Morfolojik olarak apoptoz; sitoplazmik küçülme, nükleer yoğunlaşma ve DNA'nın düzenli olarak parçalara ayrılması gibi sitolojik ve moleküler olarak tanımlanabilen, hücrede olan değişikliklerdir (Şekil 2.2).



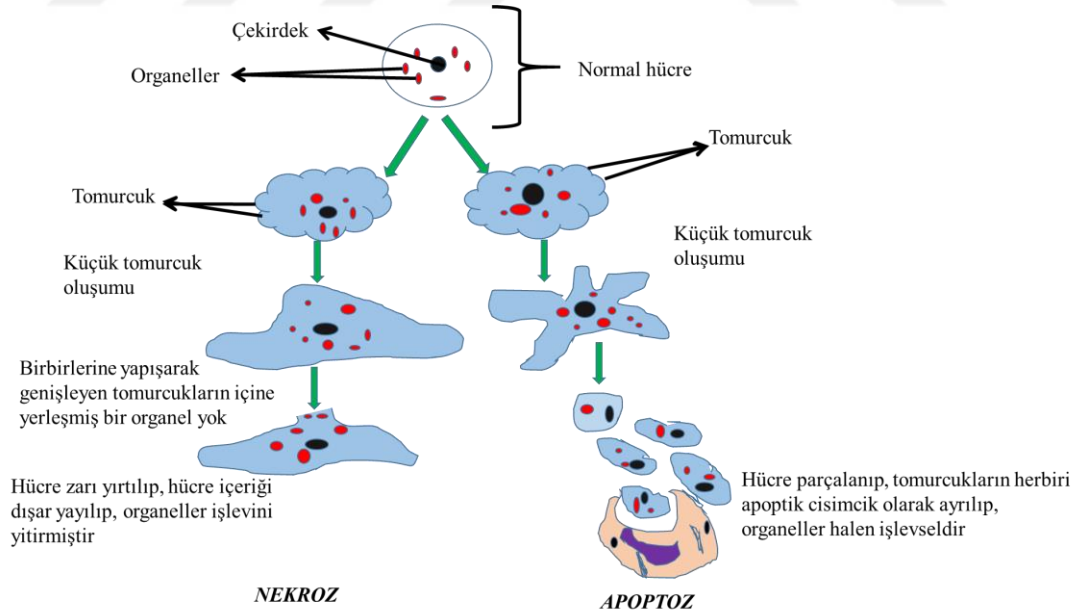
Şekil 2.2. Apoptoz esnasındaki morfolojik değişiklikler

Apoptoz, intrinsek yol ve ekstrinsek yol olmak üzere iki yolla yapılır. İntrensek yolda kas hücrelerini kullandığı için, ekstrinsek yolda ise diğer hücrelerden sinyal aldığı için hücre kendi kendini öldürür (Douglas, 2011). Normal bir hücrede apoptoz metabolizması Şekil 2.3'de verilmiştir.



Şekil 2.3. Apoptoz metabolizması

Apoptoz ve nekroz arasında hem metabolik olarak hem sonuç olarak bir takım farklılıklar mevcuttur. Temel fark; nekrozda parçalanan hücrenin içeriği yırtılan zardan dışarıya yayılır ve organeller işlevlerini kaybeder, apoptozda ise hücre parçalar halinde dağılır ve organeller işlevlerini devam ettirirler. Nekroz ve apoptoz arasındaki farklılıklar Şekil 2.4’te verilmiştir.



Şekil 2.4. Nekroz ve apoptoz arasındaki farklılıklar

Sitotoksitenin belirlenmesinde birçok farklı test kullanılmaktadır. Kullanılan testler değerlendirildiğinde en önemli konu testlerin doğruluk derecesidir ve testlerin

doğruluk dereceleri hücrenin durumuna bağlı olarak değişebilir. Testlerin doğruluk dereceleri; katalizör hareketi, hücre zarı geçirgenliği, hücre aderansı, ATP oluşturma, ko-enzim oluşturma ve nükleotid alım hareketi gibi hücrenin farklı kapasiteleri ile belirlenebilir. Bunların birçoğu için; nötral kırmızı, ATP, LDH salınımı, asit fosfataz aktivitesi, tetrazolium tuzları, INT, MTT, MTS salınımı ve XTT içeren teknikler, sülfhodamin B sitotoksitesite testi, resazurin test sistemi, kenasit mavisi testi ve protein testi (Decker & Lohmann-Matthes, 1988; Putnam, Bombick & Doolittle, 2002; Weyermann vd., 2004; Fotakis & Timbrell, 2006) geliştirilmiştir.

Genel değerlendirme analizlerine alternatif olarak 1989 yılında **nötral kırmızı testi** (3-amino-m-dimetilamino-2-metilfenazine hidroklorid) geliştirildi. Bu yöntem hücre kültürlerinde sitotoksitesitenin göstergesi olarak kimyasal maddeler ve kozmetik ürünlerin kabul edilebilir toksisitesinin belirlenmesi için uzun zamandır kullanılmaktadır. Bu yöntem hücre zarı üzerinde özellikle toksik etkinin devamlılığı konusunda etkin bir değerlendirme aracıdır. Bu testle boron gibi kimyasallara maruz kalan lizozomları vasıtasıyla nötral kırmızı rengi absorbe eden hücreler tanımlanır. Lizozomal membranları tahrip eden ve böylelikle hücrelerin enerjisini zayıflatan kimyasalın, hücrenin nötral kırmızı rengi veya nötral kırmızı konsantrasyonunda azalma olacaktır (Putnam vd., 2002; Weyermann vd., 2004).

**Adenozin trifosfat (ATP) testi**, ATP ve lüsiferinden bir katalizör olacak şekilde enzim lüsiferazını uyararak yayılan ışığın şiddetinin ölçülmesine dayanmaktadır (Putnam vd., 2002).

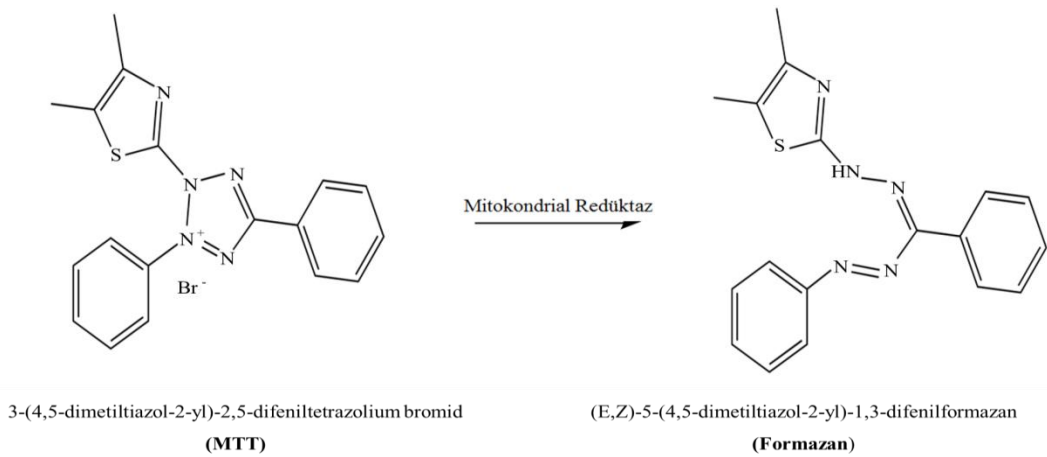
**Laktat dehidrojenaz (LDH) testi**, basit ve hızlı olan enzimatik bir testtir. Testin çalışma mekanizması, teste tabi tutulacak olan kimyasal madde ilave edildikten sonra hücre zarından kültür ortamına akan laktat dehidrojenaz (LDH) miktarını ölçme esasına dayanır. Normal bir hücrede sitotoksik bir etki olmaz ise akıntı olmaz. Akıntı hücre zarının hasar görmesi sonucu olur ve hücre zarındaki bu işlevsel kayıp zamanla hücre ölümüne neden olur (Decker & Lohmann-Matthes, 1988; Putnam vd., 2002).

**Asit fosfataz testi**, hücre sayısını ölçerek kimyasal maddenin sitotoksisiteyi gösteren substrat değişim miktarını ölçer. Testte hücre zarına bağlı asit fosfataz ve ayrılan substrat ölçülür (Putnam vd., 2002).

**MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl] 2,5-difeniltetrazolyumbromid) testi**, temeli mitokondrinin aktivitesinin ölçülmesine dayanan bir test olup hücrenin bunun dışında kalan kısmı ile alakalı değildir. Suda çözünebilen tetrazolyum tuzu kullanılarak; test edilecek materyalin sitotoksisite derecesini belirlemek için sitotoksisite derecesini gösteren mitokondri içerisinde, tetrazolyum halkasının süksinat dehidrojenaz tarafından mitokondriye aktarılması ile çözülmeyen mor formazana dönüşümünü belirler. MTT testi sırasında olan kimyasal dönüşüm Şekil 2.5'te verilmiştir.

**XTT (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolium-5-karboksanilid) testi**, çalışma prensibi MTT testi ile aynı olup daha yüksek hassasiyet ve daha yüksek bir dinamik aralık sunması nedeni ile MTT testinin yerine planlanmış bir testtir.

MTT ve XTT testlerinin temeli kolorimetrik analiz yapmak üzere çalışır ve canlı metabolizmayı ölçer (Putnam vd., 2002; Weyermann vd., 2004; Fotakis & Timbrell, 2006).



Şekil 2.5. MTT testi kimyasal dönüşüm mekanizması

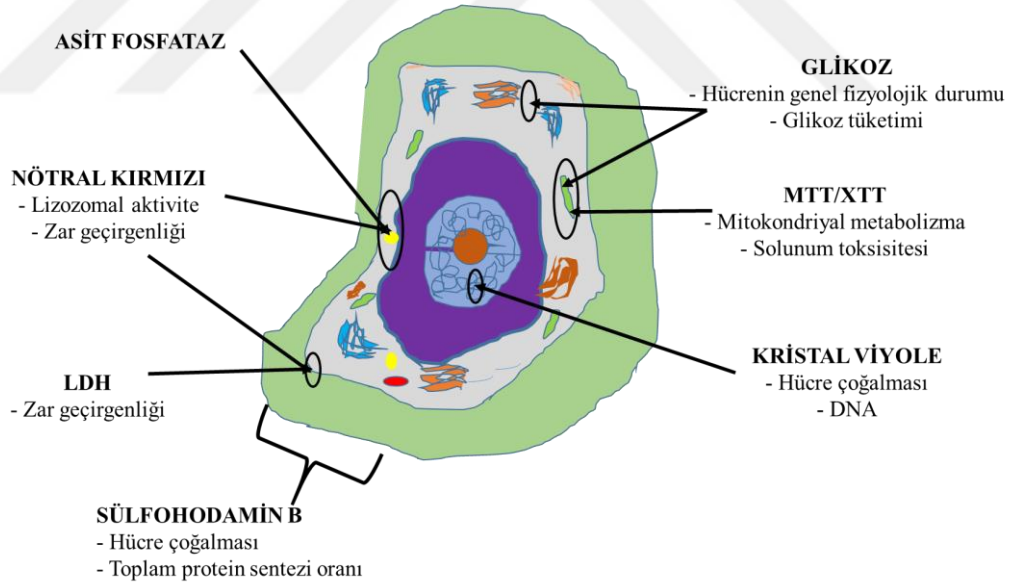
**Sülfhodamim B sitotoksisite testi**, hücrenin içinden merkez dışına çıkan protein miktarının ölçülmesi esasına dayanır. Proteinler sülfhodamim B boyasını bağlar ve

daha sonra TRİS çözeltisi ile hücreden çıkarılır. Sülfhodamim B sitotoksisite testi kolorimetrik metotlardan biridir (Putnam vd., 2002).

**Resazurin test sistemi**, kimyasala maruz kalmış hücrelerin resazurin boyası ile boyanması ile test yapılır. Boyama sonucunda normal hücreler koyu mavi renkte olup, toksisiteye maruz kalmış hücrelerin rengi kırmızıya döner (Putnam vd., 2002).

**Kenasit mavisi testi**, kenasit mavi boyası ile boyanan hücreler tarafından tutulan boya miktarının ölçülmesi esasına dayanan bir testtir. Toplam hücresel protein miktarın belirlenir ve bunun kuru miktarı sitotoksisite derecesini gösterir (Putnam vd., 2002).

**Protein testi**, kimyasal ile muamele edildikten sonra hücredeki proteinin rezidü miktarı kantitatif olarak ölçülür, bu nedenle hücrenin canlılığının göstergesidir (Fotakis & Timbrell, 2006).



Şekil 2.6. Sitotoksisite test sistemleri

Genel hatları ile sitotoksisite test sistemleri, örnekleme ve reaksiyon özellikleri test yapılan hücre kısımları ile birlikte Şekil 2.6'da verilmiştir.

### 3. GENOTOKSİSİTE

Mutajenite, hücrelerin veya organizmaların genetik materyal yapısında ve/veya miktarında kalıcı ve aktarılabilen değişikliklerdir. Genetik materyalde meydana gelen bu yapı ve/veya miktar değişikliklerine ise mutasyon denir (Parlak vd., 2009). Mutasyona sebep olan faktör mutajen, mutasyona uğrayan yapıya (gen, kromozom, hücre, birey) mutant, mutajenin mutant üzerinde göstermiş olduğu etkiye ise mutajenik etki denilmektedir. Mutasyonlar;

1. Kromozom sayısında ve yapısında,
2. Gen sayısında ve yapısında olmaktadır.

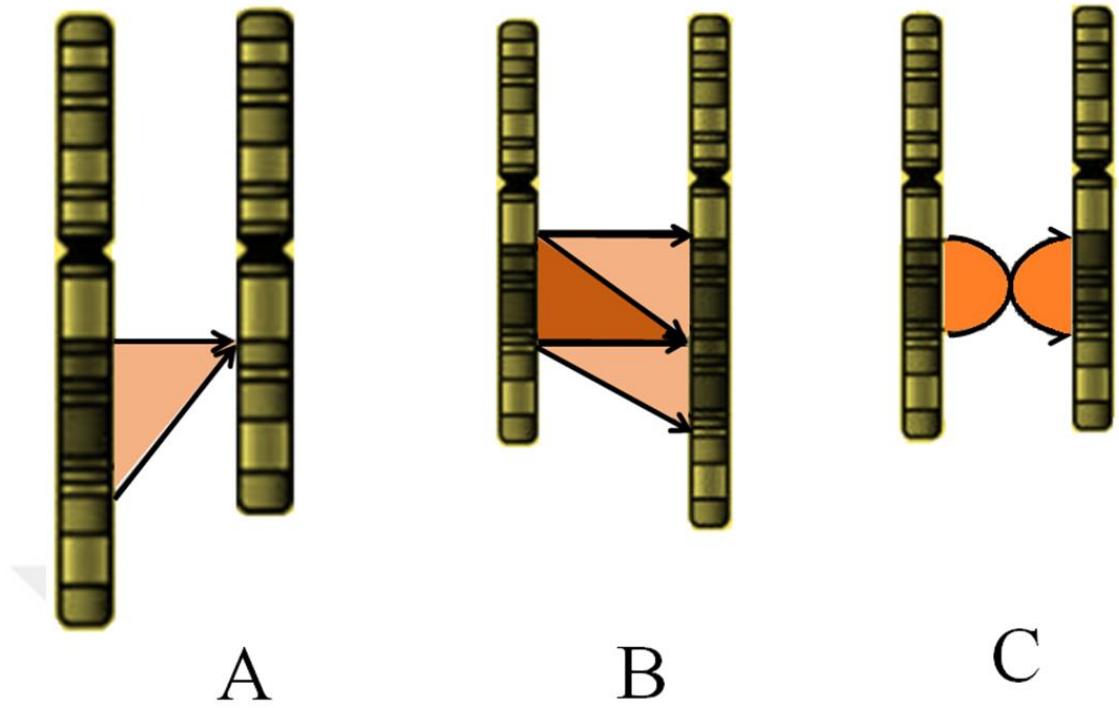
Birey doğuştan mutasyona sahip olabileceği gibi, daha sonra da bu özelliği kazanabilir. Mutasyonlar, genin normal fonksiyonunu veya ürünlerini etkiledikleri zaman soruna yol açarlar.

Bu tanımlama üzerinden bakıldığında genetik hastalıklar; mutasyonların neden olduğu spesifik hastalıklardır. Genetik hastalıklar;

1. Bir gende meydana gelen mutasyonlar
2. Çoklu gen bozuklukları
3. Mitokondriyal bozukluklar
4. Kromozom anormallikleri şeklinde sınıflandırılabilir.

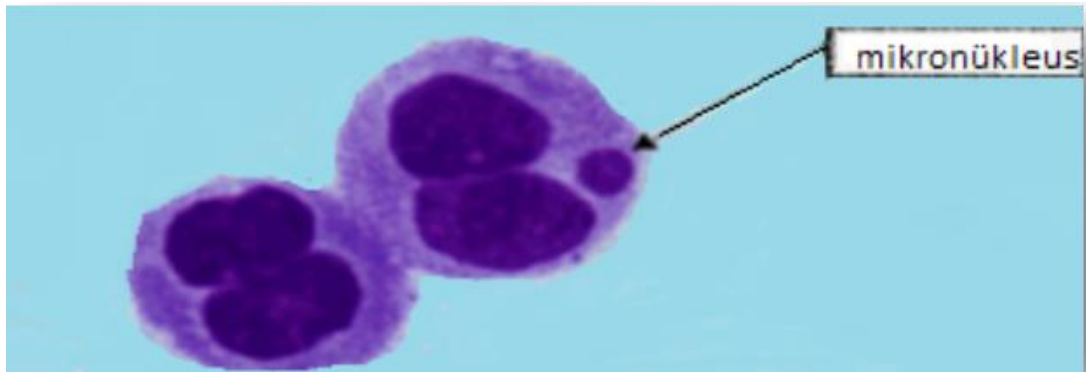
Genotoksisite, mutasyona neden olan bir hücre içindeki genetik zararlı kimyasal maddelerin özelliklerini tanımlar. Bunlar kromozomal sapmalar olarak bilinen kromozom sayısındaki farklılıklardır ve Down sendromunda olduğu gibi ciddi doğum hasarlarına sebep olur (Kolle, 2012).

Down sendromu durumunda görülen kromozomal sapmalar Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Kromozomal sapmalar (Down Sendromu)

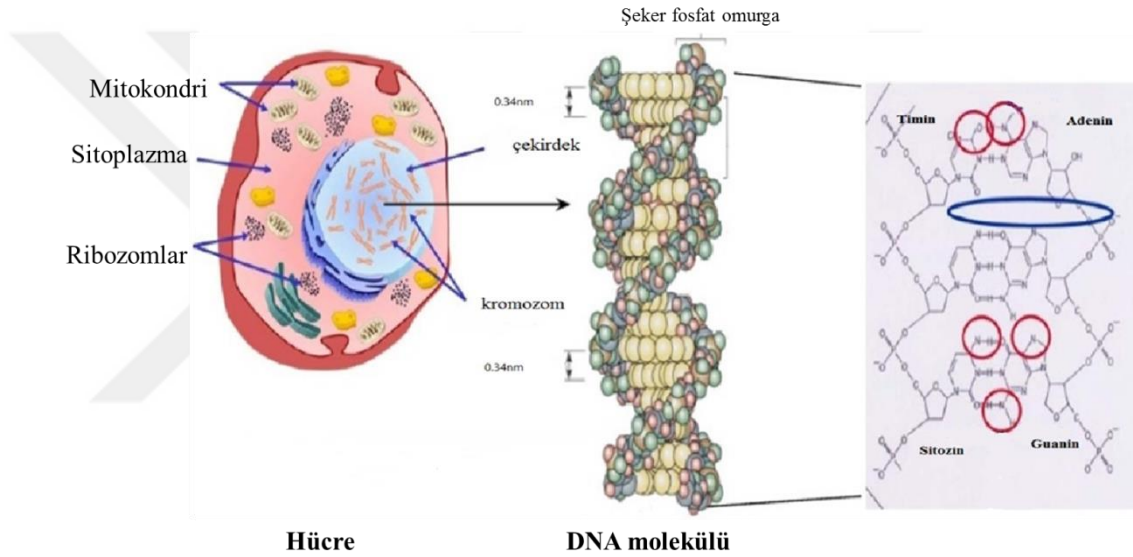
Mikronükleus, mitoz bölünmenin metafaz safhasından anafaz safhasına geçişinde bir mikronükleus oluşur. Mikronükleus, kromozom kaybına veya kırılmadan sonra sonuçtaki çekirdek ile birleşmeyen bir kromozomdan ayrılan asentrik fragmana neden olabilir. Bu duruma sebep olan aktif metabolitler daha çok bitki hücrelerinde bulunur, hayvan ve insanlar için zehirlidir. Aktif metabolitler DNA ile etkileşime girdiğinde, DNA hasarına neden olurlar ve bu da kanser veya doğum kusuruna neden olabilir (Kirkland, Reeve, Gatehouse & Vanparys, 2011). Mikronükleusun genel görünümü Şekil 3.2’de verilmiştir.



Fotoğraf 3.1. Mikronükleus genel görünümü

Genel olarak genotoksisite, mutajenite ile karıştırılır. Mutasyon hücre bölünmelerinde tutulan DNA sekansında değişikliklere neden olurken (Şekil 3.3) mutajenite kimyasal ya da fiziksel bir ajanın mutasyona yani kalıtsal değişime neden olma kapasitesini gösterir.

Genotoksinler, DNA'ya zarar verir ve hücre ölümüne veya mutasyona neden olan zararlara yol açar. Tüm mutajenler genotoksiktir, ancak genotoksinlerin hepsi mutajenler değildir, hasar her zaman mutajeneze yol açacak şekilde kararlı olmayabilir. DNA diziliminde değişmeden kalmalarına neden olamazlar.



Şekil 3.2. Mutasyon

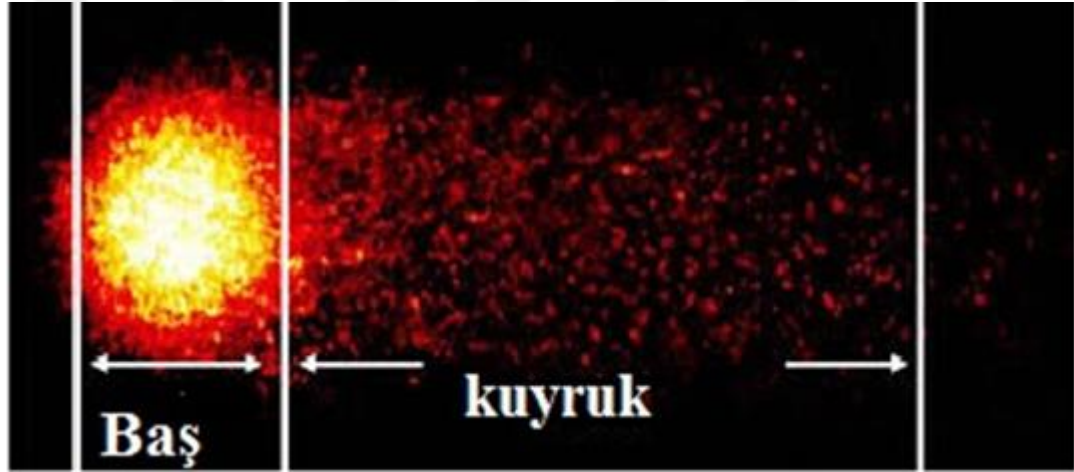
Ames testi, *in vitro* ve *in vivo* toxicology testleri ve comet testi, kromozom sapma testi ve mikronükleus testi gibi birçok genotoksik test mevcuttur. Genotoksisite testlerinin amacı, bir maddenin genetik maddeyi etkileyip etkilemeyeceğini veya kanserojen özelliğe sahip olup olmadığını tanımlamaktır. Bu testler aracılığı ile duyarlı organizmalar için genotoksik maddelere erken müdahale etme imkanı oluşmaktadır.

***In vitro ames testi***, kimyasalların DNA'da mutasyona neden olup olmadığını taramak için kullanılır. Kanser çoğunlukla mutasyonla bağlantılı olduğundan ve bu testin kullanımı ile herhangi bir kimyasalın kanserojen özelliği gösterip göstermemesi belirlenir. *In vitro* ames testinde mutasyona neden olabilecek kimyasalları belirlemek



için *Salmonella typhimurium* bakterisi suşları kullanılır ve negatif sonuç veren kimyasalların mutasyona neden olmadığı şeklinde değerlendirme yapılır. *In vitro* Ames testinin ucuz olması ve kısa zamanda sonuç vermesi en önemli avantajlarıdır (URL-3).

**Comet testi**, test edilen kimyasalın bireysel olarak hücrelerde DNA hasarını indükte etmesi esasıyla genotoksik olma ihtimalini değerlendiren bir testtir. Bu testte kuyruklu yıldızın kuyruğuna benzer bir şekilde DNA hasarının özellikleri görülmektedir (Fotoğraf 3.1). Görüntülenen kuyruk kısmının uzunluğu ve parçacıklar DNA hasarı miktarıyla orantılı olmaktadır (Tice, Agurell, Anderson, Burlinson, Hartmann, Kobayashi, Miyamae, Rojas, Ryu & Sasaki, 2000).



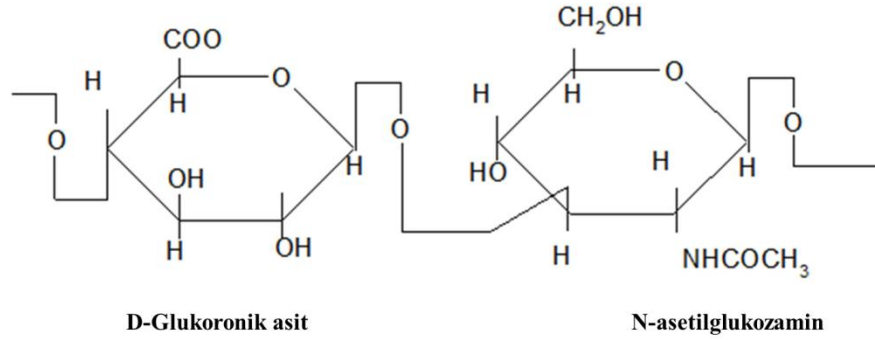
Fotoğraf 3.2. Comet testi

*In vivo* comet tarama testi, farmasötik ürünler için ICH S2 (R1) yönünde kapsamlı bir testtir. Aynı zamanda bir mikronükleus tahlili ve tekrarlama doz toksisite çalışmaları ile birleştirilerek daha detaylı sonuçlar elde etmemizi sağlayabilir.

*In vivo* testlerin başlıca avantajları, kromozom yapısını etkileyebilen DNA hasarı olasılığını tanımlamak veya kromozom sayılarını değiştiren mitotik aparatı incelemek ve ayrıca *in vitro* testlerde atlanan genotoksik faktörleri saptamak olarak karşımıza çıkmaktadır.

#### 4. HYALÜRONİK ASİT VE METABOLİZMADA KULLANIMI

Hiyalüronik asit (HA); N-asetil-D-glukozamin, glukoronik asit ve çok tekrarlanan disakkarit [(1→3)-β-d-GlcNAc-(1→4)-β-d-GlcA-] yapısında olan yüksek molekül ağırlığına sahip doğal glikozaminoglikan olan karbonhidrat türüdür (Liu, Liu, Li, Du & Chen, 2011). Hiyalüronik asitin genel formülü (C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>11</sub>)<sub>n</sub> olarak gösterilmektedir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Hyalüronik asit (HA)

Normal olarak hiyalüronik asit (HA), hücre dışı matriste ve periselüler (hücre etrafında) matris içinde bulunur ve ayrıca hücre içinde de vardır (Necas, Bartosikova, Brauner & Kolar, 2008). Hiyalüronik asit sinovyal kompleks bir sıvıdır. Daha çok bağ dokularında yaygın olup, insanda, hayvanda ve bakteriler de dahil olmak üzere tüm canlı organizmalarda mevcuttur. Örneğin; göz vitreusunda, horoz tarağında, dermişte, arter duvarlarında ve *Streptococcus* sp. gibi bakterilerin kapsüllerinde bulunabilmektedir (Chong, Blank, McLaughlin & Nielsen, 2004). Buralardan elde edilen hiyalüronik asit tıp sektöründe, ilaç sanayisinde ve kozmetik sanayisinde kullanılan hiyalüronik asidin temel kaynağını oluşturmaktadır.

Hiyalüronik asit biyouyumluluğu olan ve çok rahatlıkla birçok hayvan çalışmalarında kullanılan zehirli ya da genotoksik özelliği olmayan bir maddedir. Ayrıca immünojenik olmadığı gibi kanser ve malignant tümörlerin yapısında da yer almaz.

Hiyalüronik asitin malignant yapıların çoğunda arttığına bilinmesine rağmen, meme kanserinde tümör belirleyici marker olarak kullanılır. HA immünojenik ve toksik olmadığından dolayı göz ilaçları, göz damlası, oftalmik cerrahi, osteoartrit (Fotoğraf 4.1), yara iyileşmesi gibi kullanıldığı çok fazla klinik uygulama vardır. HA cilt mekanizmasında nemlendirici olarak kullanıldığı gibi ciltteki kuruluk ve kırışıklıklar içinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Cilt dokusu hiyalüronidaz ile parçalanır ve riboflavin, ultraviyole ışık ve su ile birleşip bir kırışık yumuşatma etkisi oluşturur (Saranraj & Naidu 2013).



Fotoğraf 4.1. Diz osteoartriti için intraartiküler HA enjeksiyonu

HA, diz osteoartritinin tedavisinde ayrıca diz ve kalça gibi eklemlerde oluşan artritlerde eklem sıvısı tedavisinde kullanılır. Artritte eklemlerdeki sinoviyal sıvının viskozitesi azalır ve kırıldak yastığı azalarak kemikleşir. HA enjekte edilen eklemlerde ağrı ve sızı azalır, sinoviyal sıvının visko elastisitesini artırır. Bunun yanı sıra sinoviyal sıvının artan visko elastisitesi sayesinde patolojik olgulardan kaynaklanan hareket problemleri de azaltılmış ve/veya ortadan kaldırılmış olur (Dennis, 2000; Rutjes, Jüni, da Costa, Trelle, Nüesch & Reichenbach, 2012).

HA, hücrelerin proliferasyonu, göçü ve farklılaşmasında görülen CD44, RAHAMM gibi spesifik reseptörlere sahiptir. Metabolizması; HA hücre yüzeyinde bulunan

CD44 hiyalüronan, HAYAL-1, HAYAL-2 hiyalüronidaz reseptörlerine ve B-glukronidase ve B-N-asetilglukozaminidaz lizozomal enzimlerine sahip olması ile karakterizedir (Stern, 2004).



## 5. BOR VE BORUN CANLILARDA KULLANIMI

Bor; kimyasal sembolü B, atom numarası 5 olan yarı metal özelliğinde bir elementtir. Güneş sistemi ve yer kabuğunda düşük miktarda bulunan bor elementi karbona (C6) benzer (Fotoğraf 5.1) özellikte olup doğada borat mineralleri formunda ve borat minerallerinin suda çözünme özelliğinden kaynaklı olarak lokal alanlarda yüksek miktarda bulunur (Hammond, 2009).



Fotoğraf 5.1. Kristal bor

Bor; cam ve seramik, temizleme ve beyazlatma, alev geciktiriciler, tarım, metalürji, enerji, sağlık ve çimento sanayilerinde kullanılmaktadır. Bor, canlılar açısından iz oranda gerekli olan ve hücrelerde sentezlenemediği için esansiyel olan bir elementtir. Canlı metabolizmada kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve fosfor (P) dengesinde etkili olması nedeni ile sağlıklı kemik dokusu oluşumunda, kasların ve beyin fonksiyonlarının gelişmesinde önemlidir. Ayrıca sağlık alanında bir çok tedavide kullanılmasının yanı sıra yeni bir tedavi şekli olan bor nötron yakalama tedavisi

(BNCT) ile sağlıklı hücelere zarar vermeden kanserli hücelerin imha edilmesini sağladığı için kanser tedavisi bakımından önem kazanmıştır (URL-1).

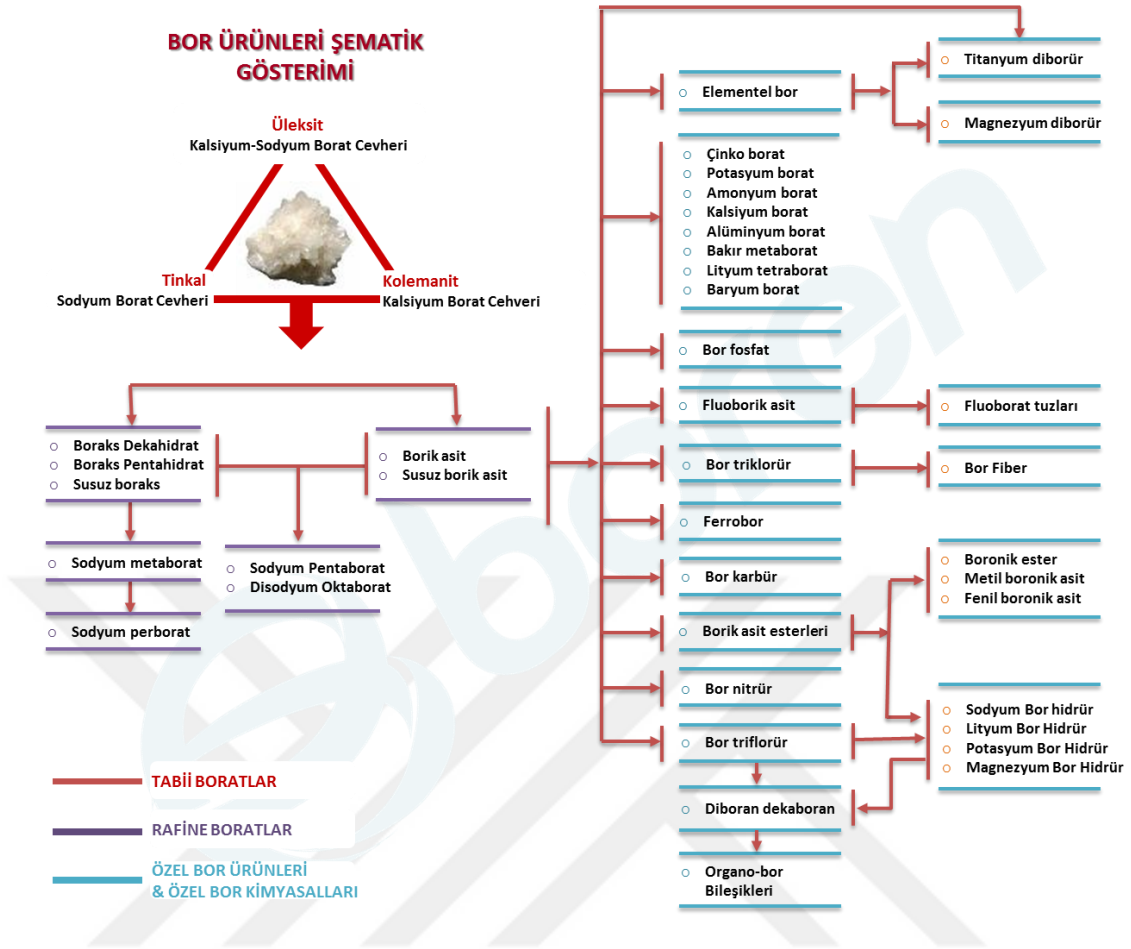
Bor kristal ve amorf olmak üzere iki yapıdadır. Amorf bor kahverengi renkte, kristal bor ise siyah renktedir (Delaplane, Dahlborg, Graneli, Fischer & Lundstrom, 1988; Delaplane, Dahlborg, Howells & Lundstrom, 1988). Amorf bor Fotoğraf 5.2’de verilmiştir.



Fotoğraf 5.2. Amorf bor

Bor elementi yiyeceklerden fasulye, fındık, avokado, portakal, üzüm ve palmye türlerinde bulunmaktadır. Bor ayrıca meteorlarda az miktarda bulunan bir ametaloittir.

Karbon (C6) karışımı olarak bulunması nedeni ile çok düşük miktarda üretilir ve doğada en fazla bulunduğu yer Türkiye olması nedeni ile Türkiye en büyük ve stratejik bor üreticisi konumundadır.



Şekil 5.1. Bor ürünlerinin şematik gösterimi (URL-1)

Bor kullanım alanları ve özellikleri bakımından stratejik bir üründür. Dünyada 2014 yılı verileri ile bor üretimin kurulu kapasitelere göre dağılımı Tablo 5.1’de verilmiştir (URL-1).

Tablo 5.1. Dünya Bor Kurulu Kapasitelerin Bölgelere Göre Dağılımı

ÜLKELER	Kurulu Kapasite (bin ton B <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )
Avrupa (Türkiye)	1.086
Kuzey Amerika (ABD)	645
Güney Amerika (Arjantin, Şili, Peru, Bolivya)	396
Asya (Rusya, Çin, Hindistan)	460
<b>TOPLAM</b>	<b>2.587</b>

Bor memeliler için düşük toksisiteye sahiptir fakat eklem bacaklılar için toksisitesinin yüksek olması nedeni ile karıncalar ve pireler gibi birçok canlı türüne karşı pestisit olarak da kullanılmaktadır (Klotz, Moss, Zhao, Davis & Patterson, 1994).

Bitkilerin hücre duvarlarında rol oynaması nedeni ile bitki yetiştiriciliğinde önemli bir bitki besin elementidir. Ayrıca farmasotik olarak elde edilen bor, antimikrobik ve antibiyotik olarak kullanılmıştır. İlk olarak *Streptomyces sp.*'den izole edilen boromisin yüzme havuzlarına ilave edilmiş *Candida albicans* gibi mantar türlerine karşı antifungal özellik göstermiştir (Irschik, Schummer, Gerth, Höfle & Reichenbach, 1995).

Bor vücut pH'sının dengelenmesine yardımcı olur ve beyin fonksiyonlarını zenginleştirerek artırır. Sağlıklı kadın ve erkeklerde östrojen seviyesi de dahil olmak üzere altı hormonun seviyesini artırma kabiliyetine sahiptir. Vücuttaki kasları, kemikleri ve iskelet sistemini güçlendirir. Osteoporozun önlenmesinde ve artrit tedavisinde de etkili olan borun eksiklik durumunda kas ve kemik erimesi ile vücutta ağrılar olur (Nielsen, Hunt, Mullen & Hunt, 1987) .

İnsanlarda olduğu gibi hayvanlarda da bor, kalsiyum (Ca) metabolizması bakımından önemlidir. Kalsiyumun eklem kıkırdağı haline getirilmesinde ve vücuttaki kalsiyumun kombinasyonlarında rol oynamaktadır; bu da eklem bozulmalarını önlemeye yardımcı olur. Yapılan bir çalışmada bor içermeyen bir yem ile beslenen farelerde osteoporotik artış olmuş ve kemikler zayıflayarak erimeye başlamıştır (Samman, Naghii, Lyons & Verus, 1998).

Artrit için bor kullanımı, kalsiyum düzeylerini en yüksek seviyede ve etkili bir şekilde düzenlemesinden dolayı başarılı bir tedavi seçeneği olarak tercih edilebilir. Bor, alerjik ve iltihabik artrit azaltır ve ayrıca osteoporozis ve artrit riskinin azalmasında etkili olur. Diğer taraftan ise kandaki magnezyum miktarını arttırıp, fosfor miktarını azaltma yoluyla kanın mineral metabolizmasına yardımcı olarak kemik gelişimine yardımcı olur.

Bütün bu değerlendirmeler borun birçok sektörde olduğu gibi sağlık sektöründe de canlıların sağlığı açısından çok önemli olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.



## 6. SONUÇ

Yapılan araştırmada; sitotoksisite, genotoksisite, hiyalüronik asit ve metabolizmada kullanımı, ayrıca bor ve borun canlılardaki kullanımı detayları ile değerlendirilmiştir. Hücrelerin toksik durumlardaki davranışları ve ne gibi etkilere maruz kaldığı ve bunun nasıl tespit edildiğı kapsamlı olarak verilmiştir. Aynı şekilde nesilden nesile aktarılabilecek veya mutasyona neden olabilecek toksik etkilerin değerlendirilmesi bakımından genotoksisite ile mutajenite benzerlik ve farklılıkları ile sunulmuştur.

Çalışmada hiyalüronik asidin genel olarak metabolik işlevinin yanı sıra özellikle eklem bölgelerinde tedavi amaçlı kullanımı anlatılmıştır. Vücutta zaten var olan hiyalüronik asidin sağlık alanında kullanılmasının en önemli nedeni ise herhangi bir şekilde toksik etkisinin olmaması yani sitotoksisiteye ve/veya genotoksisiteye neden olmamasıdır. Aynı zamanda hiyalüronik asidin immünojenik olmaması, kanser ve malignant tümörlerin yapısında bulunmaması sağlık alanındaki kullanımını daha da ön plana çıkarmıştır.

Türkiye'nin dünyanın en fazla üretim ve rezervine sahip olduğu bor elementinin memelilerde düşük oranda toksisiteye sahip olduğu eklem bacaklılarda ise yüksek toksisiteye sahip olduğuna literatürde rastlanılmıştır. Eklem bacaklılardaki yüksek toksisitesi nedeni ile pestisit olarak tercih edilen bor elementi, memelilerde düşük toksisitesi ve kanser araştırmalarındaki yeni metotlarda kullanılabilme imkanının ortaya çıkması nedenleri ile sağlık alanında tercih edilen bir madde olarak karşımıza çıktığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda bazı gıda maddelerinde de mevcut olan bora vücudun ihtiyaç duyduğu ve başta iskelet sistemi ve kemik hastalıkları olmak üzere birçok hastalıkta tedavi edici olarak kullanıldığı belirlenmiştir.

Literatürde boron taşıyan hiyalüronik asit bazlı doku iskeletleri üzerine çalışmaya rastlanılmadığı gibi bunların sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etkileri konusunda da herhangi bir çalışma bulunamamıştır.

Yapılan değerlendirme neticesinde ise borun toksisitesinin zaten memeliler açısından düşük olması ve sağlık alanında bir çok hastalığın tedavisinde halihazırda

kullanılıyor olması ve aynı zamanda kanser hastalığının tedavisinde yeni uygulamalarda kullanılması borun sitotoksik, genotoksik veya proliferatif etkisinin olmayacağı yönünde bir hipotez geliştirmemizi sağlamıştır. Yine aynı yaklaşımla immünojenik olmayan ve kanser gibi proliferatif olan bir yapıda olmaması ve malignan tümörlerin yapısına girmemesi nedenleri ile hiyalüronik asidin herhangi bir şekilde sitotoksik, genotoksik veya proliferatif etkisinin olmayacağı yönünde bir diğer hipotez geliştirmemizi sağlamıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada; sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etkilerinin olmayacağı yönünde hipotez geliştirdiğimiz bor ve hiyalüronik asidin, aynı yapı içerisinde bulunması durumunda da sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etkilerinin olmayacağı yani boron taşıyan hiyalüronik asit bazlı doku iskeletlerinin hücre üzerinde herhangi bir şekilde sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etkisi olmayacağı konusunda bir değerlendirmeye varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Bellamy, C.O.C., Malcomson, R.D.G., Harrison, D.J. & Wyllie, A.H., 1995. Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Seminar in Cancer Biology*, 6, 3-16.
- Chong, B., Blank, L.R., McLaughlin, R. & Nielsen, L.K., 2004. Microbial hyaluronic acid production. *Applied Microbiology Biotechnology*, 66, 341-351.
- Coşkun, G. & Özgür, H., 2011. Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *Arşiv*, 20, 145-158.
- Decker, T. & Lohmann-Matthes, M., 1988. A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. *Journal of Immunological Methods*, 155(1), 61-69.
- Delaplane, R.G, Dahlborg, U., Graneli, B., Fischer, P. & Lundstrom, T., 1988. A neutron diffraction study of amorphous boron. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 104 (2-3), 249-252.
- Delaplane, R.G., Dahlborg, U., Howells, W. & Lundstrom, T., 1988. A neutron diffraction study of amorphous boron using a pulsed source. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 106, 66-69.
- Dennis, Y., 2000. Intra-articular hyaluronic acid injections for knee osteoarthritis. *American Family Physicia*, 62(3), 565-570.
- Douglas,R., 2011. Means to an End: Apoptosis and Other Cell Death Mechanisms. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Ellis, R.E., Yuan, J. & Horvitz, H.R., 1991. Mechanisms and functions of cell death. *Annual Review of Cell Biology*, 7, 663-698.
- Fotakis, G. & Timbrell, J.A., 2006. In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology Letters*, 160(2), 171-177.
- Hammond, C. R., 2004. Boron: Statistics and Information. USGS, The Elements, in Handbook of Chemistry and Physics (81st ed.).
- Irschik, H., Schummer, D., Gerth, K., Höfle, G. & Reichenbach, H., 1995. The tartrolons, new boron-containing antibiotics from a myxobacterium, *Sorangium cellulosum*. *The Journal of Antibiotics*, 48(1), 26-30.
- Kay, I., 1998. Endocrine Function, Introduction to Animal Physiology, BIOS Scientific Publishers Ltd.

- Kirkland, D., Reeve, L., Gatehouse, D. & Vanparrys, P., 2011. A core in vitro genotoxicity battery comprising the Ames test plus the in vitro micronucleus test is sufficient to detect rodent carcinogens and in vivo genotoxins. *Mutation Research*, 721, 27–73.
- Klotz, J.H., Moss, J.I., Zhao, R., Davis, Jr. & Patterson, R.S., 1994. Oral toxicity of boric acid and other boron compounds to immature cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Economic Entomology*, 87 (6), 1534-1536.
- Liu, L., Liu, Y., Li, J., Du, G. & Chen, J., 2011. Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. *Microbial Cell Factories*, 10, 99.
- Necas, J., Bartosikova, L., Brauner, P. & Kolar, J., 2008. Hyaluronic acid (hyaluronan). *Veterinarni Medicina Reviews*, 53, 397-411.
- Nielsen, F.H., Hunt, C.D., Mullen, L.M. & Hunt, J.R., 1987. Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *FASEB Journal*, 1(5), 394-7.
- Parlak, H., Çakal Arslan, Ö., Boyacıoğlu, M. & Karaslan, M.A., 2009. Ekotoksikoloji, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 79, Ders Kitabı Dizini No: 39, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir.
- Proskuryakov, S.Y., Konoplyannikov, A.G. & Gabai, V.L., 2003. Necrosis: a specific form of programmed cell death. *Experimental Cell Research*, 283(1), 1-16.
- Putnam, K.P., Bombick, D.W. & Doolittle, D.J., 2002. Evaluation of eight in vitro assays for assessing the cytotoxicity of cigarette smoke condensate. *Toxicology in Vitro*, 16: 599–607.
- Riss, T.L. & Moravec, R.A., 2004. Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell based cytotoxicity assays. *ASSAY and Drug Development Technologies*, 2(1), 51-62.
- Rutjes, A.W., Jüni, P., da Costa, B.R., Trelle, S., Nüesch, E. & Reichenbach, S., 2012. Viscosupplementation for osteoarthritis of the knee: a systematic review and metaanalysis. *Annals of Internal Medicine*, 157(3), 180-191.
- Samman, S., Naghii, M.R., Lyons, P.M. & Verus, A.P., 1996. The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. *Biological Trace Element Research*, 66(1-3), 227-35.
- Saranraj, P. & Naidu, M.A. 2013. Hyaluronic acid production and its applications. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 4(5), 853-859.

- Stern, R ., 2004. Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway. *European Journal of Cell Biology*, 83(7), 317-325.
- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C. & Sasaki, Y.F., 2000. Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35, 206-221.
- URL-1. BOREN (Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü), 10.02.2017 tarihinde [www.boren.gov.tr/tr/bor/bor-uretimi](http://www.boren.gov.tr/tr/bor/bor-uretimi) adresinden alınmıştır.
- URL-2. Kolle, S.. Genotoxicity and Carcinogenicity. BASF The Chemical Company. 14.03.2016 tarihinde <http://www.basf.com> adresinden alınmıştır.
- URL-3. Končar, H. In Vitro Genotoxicity Testing. National Institute of Biology. 14.03.2016 tarihinde <https://web.archive.org> adresinden alınmıřtır.
- Weyermann, J., Lochmann, D. & Zimmer, A., 2004. A practical note on the use of cytotoxicity assays. *International Journal of Pharmaceutics*, 288(2005), 369-376.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Alzamka M. A. ALMABRUK  
Doğum Yeri ve Yılı : Albiyda-Libya 10.05.1984  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : Türkçe, İngilizce  
E-posta : [miss.ayes@yahoo.com](mailto:miss.ayes@yahoo.com)



### Eğitim Durumu

Lise : Alestqlal Lisesi, Albiyda -Libya  
Lisans : Ömer Muhtar Üniversitesi, Fen Fakültesi Fizik Bölümü,  
Albiyda-Libya.  
Medikal Teknolojileri Yüksek Enstitüsü, Tıbbi Laboratuvar  
Bölümü, Albiyda-Libya.

### Mesleki Deneyim

İş Yeri : 2010-2011, Alrazi Laboratuvar A.Ş., Albiyda-Libya  
2011-2014, Tiba Laboratuvar A.Ş., Shahat-Albiyda-Libya  
2012-2013, Devlet Sağlık Laboratuvarı, Albiyda-Libya