



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BOR BİLEŞİKLERİNİN COVID-19 HÜCRE
GİRİŞİNDE ROLÜ OLAN TRANSMEMBRAN SERİN PROTEAZ
2 (TMPRSS2) ÜZERİNE ETKİSİNİN AKCİĞER FİBROBLAST
HÜCRELERİNDE İNCELENMESİ**

SERAP YILDIRAK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN MEHMET KORKMAZ

MANİSA

2023



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BOR BİLEŞİKLERİNİN COVID-19 HÜCRE
GİRİŞİNDE ROLÜ OLAN TRANSMEMBRAN SERİN PROTEAZ
2 (TMPRSS2) ÜZERİNE ETKİSİNİN AKCİĞER FİBROBLAST
HÜCRELERİNDE İNCELENMESİ**

SERAP YİLDİRAK
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DANIŞMAN MEHMET KORKMAZ

Prof. Dr. MEHMET KORKMAZ
Doç. Dr. BURCU ERBAYKENT
Doç. Dr. SEDA SABAH ÖZCAN

(Tez Danışmanı)
(Jüri Üyesi)
(Jüri Üyesi)

MANİSA

2023

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim sürecimde yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen sayın hocam ve tez danışmanın Prof. Dr Mehmet KORKMAZ'a, çalışmamda bana yön gösteren, bilgi birikimini paylaşarak her zaman destek olan Doç. Dr. Burcu ERBAYKENT'e, tüm yüksek lisans sürecinde hep yanımda olan, beni yüreklendiren doktora öğrencisi sevgili Rehime YAPAR'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Anabilim Dalı öğretim üyelerimiz Prof. Dr. Nuray Altıntaş, Prof. Dr Fethi Sırrı ÇAM ve Doç.Dr Seda Sabah ÖZCAN'a teşekkür ederim.

Yalnızca eğitim hayatıma değil tüm yaşamıma dokunan değerli, hayat boyu öğretmenim Aysun YILMAZ ve eşi Arif YILMAZ'a teşekkürü borç bilirim. Hep yanımda olan, maddi manevi desteklerini esirgemeyen aileme, arkadaşlarıma ve özellikle canım kardeşim Betül Yildirak'a çok teşekkür ederim.

Serap YİLDİRAK

Manisa, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLOLAR DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
1.ÖZET	1
2.ABSTRACT.....	2
3.GİRİŞ VE AMAÇ	3
4.GENEL BİLGİLER.....	4
4.1 KORONAVİRÜS AİLESİ VE HASTALIKLAR	4
4.1.1 SARS-CoV	5
4.1.2 MERS-CoV.....	6
4.2 SARS-CoV-2.....	6
4.2.1 Genom ve Yapısı	7
4.2.2 Hücreye Giriş ve Patogenez.....	10
4.2.3 Epidemiyoloji	14
4.2.4 Bulaşma- Vaka fatalite hızı.....	15
4.2.5 Prognoz ve Semptomlar.....	17
4.2.6 Laboratuvar Bulguları.....	18
4.2.7 Radyolojik Bulgular.....	20
4.2.8 Tanı.....	21
4.2.9 Tedavi	22
4.3 BOR	24
4.3.1 Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	24
4.3.2 Kullanım Alanları	26
4.3.3 Bor Alımı, Metabolizması ve Toksik Etkileri.....	27
4.3.4. İnsan Sağlığı İçin Bor Alım Miktarı ve Kaynağı.....	29
4.3.5. Borun Hücresel Fonksiyonları ve İnsan Sağlığı Üzerinde Etkileri.....	30
4.3.6. Bor ve Serin Proteaz İlişkisi	32
4.3.7 Bor Esterleri.....	33
4.3.8 Sentez.....	34
5.GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
5.1. GEREÇ	36
5.1.1 Hücre Dizisi	36
5.1.2 Kimyasal Maddeler.....	36
5.1.3. Malzemeler	36
5.1.4. Aygıtlar.....	37
5.2 YÖNTEM	37

5.2.1. Sterilizasyon	38
5.2.2. Tampon ve Solüsyonların Hazırlanması	38
3.2.3. Hücre Kültürü	39
5.2.4. MTT Proliferasyon Testi.....	42
5.2.5 Madde Uygulanması.....	43
5.2.6 PCR Analizi	44
Hücre Kültüründen İzolasyon.....	44
RNA İzolasyonu	44
cDNA Sentezi	45
5.2.7. İstatik Analiz.....	46
6.BULGULAR.....	47
6.1 BOR MALAT VE BOR SİTRAT BİLEŞİKLERİNİN HÜCRE CANLILIĞINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ	47
6.2 BOR SİTRAT VE BOR MALAT BİLEŞİKLERİNİN mRNA GEN EKSPRESYON DÜZEYLERİNE	
ETKİLERİ.....	47
7.TARTIŞMA.....	51
8.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	57
9.KAYNAKLAR	58
10.EKLER	74
EK 1: TEZ KONUSU ONAYI	74
EK 2: TEZ ORJİNALLİK RAPORU.....	75
11.ÖZGEÇMİŞ	76

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO 1: KORONAVİRÜS AİLESİ.....	4
TABLO 2: İNSANLARI ENFEKTE EDEN KORONAVİRÜSLER.....	5
TABLO 3 : YAPISAL OLMAYAN VE YAPISAL KORONAVİRÜS PROTEİNLERİN GÖREVLERİ (MEMİKOĞLU & GENÇ, 2020).....	8
TABLO 4: SİTOKİN FIRTINASINDA YER ALAN SİTOKİNLER VE BİYOLOJİK ETKİLERİ	13
TABLO 5: COVID-19 İÇİN ÖNERİLEN RAPORLAMA DİLİ (MEMİKOĞLU & GENÇ, 2020)	21
TABLO 6: BORUN ATOMİK ÖZELLİKLERİ	24
TABLO 7: BORUN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ	25
TABLO 8: BORUN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ	25
TABLO 9: BOR TÜREVLERİNİN HAZIRLANMASI	39
TABLO 10: RT-PCR SANUCUNDA HESAPLANAN GEN KAT DEĞİŞİMLERİ	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 1 A. SARS-CoV-2 HÜCRE YAPISI	7
ŞEKİL 2 SARS-CoV-2 YAŞAM DÖNGÜSÜ	11
ŞEKİL 3 : SARS-CoV-2 VE SİTOKİN FIRTINASI.....	14
ŞEKİL 4 : COVID-19 İNFEKSİYONU SIRASINDA VİRAL YÜK DAĞILIMI VE PCR TESTLERİNİN POZİTİFLİĞİ ARASINDAKİ İLİŞKİ	16
ŞEKİL 5: KLİNİK SEYRİ.....	18
ŞEKİL 6: COVID-19 PROGRESYON VE ŞİDDETİNİ GÖSTEREN BİYOKİMYASAL VE HEMATOLOJİK BELİRTEÇLER (MEMİKOĞLU & GENÇ, 2020).....	19
ŞEKİL 7: COVID-19 PNÖMONİSİNE AİT BCO GÖRÜNÜMÜ (MEMİKOĞLU & GENÇ, 2020)	20
ŞEKİL 8: BORUN KULLANIM ALANLARI(KURU & YARAT, 2017)	26
ŞEKİL 9: BOR METABOLİZMASI (KURU & YARAT, 2017).....	27
ŞEKİL 10: KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN BOR TÜREVLERİ VE YAPILARI (ROMERO- AGUILAR ET AL., 2019).....	32
ŞEKİL 11: BOR-SİTRAT DİESTER (EQ. 2) VE BOR-MALAT DİESTER (EQ. 3) SODYUM TUZLARININ SENTEZ REAKSİYONLARI	35
ŞEKİL 12: BOR BİLEŞİKLERİNİN MRC-5 HÜCRE CANLILIĞINA 48 SAATLİK % ETKİSİ .	47
ŞEKİL 13: BOR BİLEŞİKLERİNİN IL-1A, IL-1B VE IL-6 EKSPRESYON DÜZEYLERİNDE GÖSTERDİĞİ KAT DEĞİŞİKLİKLERİ.....	48
ŞEKİL 14: BOR BİLEŞİKLERİNİN ACE2, TMPRSS2, CAT S, CAT B EKSPRESYON DÜZEYLERİNDE GÖSTERDİĞİ KAT DEĞİŞİKLİKLERİ.....	49
ŞEKİL 15: BOR BİLEŞİKLERİNİN NFkB-p50, NFkB-p65, İkB EKSPRESYON DÜZEYLERİNDE GÖSTERDİĞİ KAT DEĞİŞİKLİKLERİ.....	50

KISALTMALAR VE SİMGELER

(B(OH) ₃)	Borik asit
(B(OH) ₄)	Borat anyonu
°C	Santigrat
ACE2	Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2
AGTR1A	Ang-2 reseptörüne
ALT	Alanin Transaminaz
Ang 1-7	Anjiotensin 1-7
ang-2	Anjiotensin 2
APN	aminopeptidaz N
ARDS	Akut solunum yolu sendromu sıkıntısı (Acute respiratory distress syndrome)
atm	Atmosfer basıncı
B	Bor
BA	Borik asit
bat-SL-CoVZC45	bat SARS-like koronavirüs
BCO	Buzlu cam görünümü
BNCT	Bor Notron Yakalama Tedavisi
bp	baz çifti
BT	Bilgisayarlı tomografi
Cat B	Katepsin B
Cat L	Katepsin L
CFB	Kalsiyum Fruktoborat
Cm	Santimetre
CoV	Koronavirüsler
CRP	C-reaktif protein
DPP-4	dipeptidil peptidaz-4
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
E	envelope-zarf proteini
EFSA	European Food Safety Authority
FAK	Fokal Adhezyon Kinaz
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
HRT	Hormon replasman tedavisini

IBV	İnfeksiyöz bronşitis
IC-50	Yarı-maksimum inhibisyon konsantrasyon
IFN	İnterferon
IFN-beta	İnterferon beta
IL-10	İnterlökin 10
IL-1B	İnterlökin 1B
IL-1 α	İnterlökin 1 α
IL-1 β	İnterlökin 1 β
IL-6	İnterlökin 6
IL-7	İnterlökin 7
IL-8	İnterlökin 8
IL-9	İnterlökin 9
I κ B	kabba B kinaz
K	Kelvin
Kg	Kilogram
L	Litre
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LOEL	Gözlenebilir en düşük olumsuz etki düzeyi
M	Membran proteini
MCP-1	Monosit Kemoatraktan Protein 1
MERS-CoV	Orta Doğu Solunum Yetmezliği Sendromu
mg	Miligram
MHV	Murin hepatitis virüsü
mRNA	mesajcı ribonükleik asit
MTT	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür
N	nucleocapsid proteini
NaBC1	sodium coupled borate co-transporter
NF- κ B	Nükleer faktör kabba B
NLR	Nötrofil-lenfosit oranı
NOAEL	Herhangi bir yan etki izlenmeyen düzey
ORF1ab	Genomik açık okuma çerçevesi 1ab
Pa	Pascal
PBA	fenilboronik asit
PLR	Trombosit-lenfosit oranı

R0	Basic reproduction number, hastalığın bulaştırma katsayısı
RAS	Renin-Anjiyotensin sisteminde
RBD	Reseptör bağlanma domaini
RNA	Ribonükleik asit
RNP	ribonükleoprotein
RT-PCR	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
S	Spike
SARS CoV	Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu
TKS	Tam kan sayımı
TMPRSS	Transmembran serin proteazlar
TMPRSS2	Transmembran Serin Proteaz 2
TNF- α	Tümör nekroz factor-alfa
α -CoV	Alfacoronavirus
β -CoV	Betacoronavirus
γ -CoV	Gammacoronavirus
δ -CoV	Deltacoronavirus

**Bazı Bor Bileşiklerinin Covid-19 Hücre Girişinde Rolü Olan Transmembran
Serin Proteaz 2 (TMPRSS2) Üzerine Etkisinin Akciğer Fibroblast
Hücrelerinde İncelenmesi**

Öğrencinin Adı: Serap Yildirak

Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Korkmaz

Anabilim Dalı: Tıbbi Biyoloji

1.ÖZET

Amaç: Bor sitrat ve Bor malatın MRC-5 hücre hattı üzerinde, Covid -19'un hücre girişinde önemli rolü olan TMPRSS2'ye olan ve anti-enflamatuvar yolak üzerindeki etkilerinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Bor bileşiklerinin MRC-5 hücre hattındaki sitotoksik etkisi MTT yöntemi ile ölçülmüştür. Hücreleri stimüle etmek için TNF- α kullanılmış ve RT-PCR ile gen ekspresyon düzeyleri ölçülmüştür. Elde edilen veriler Microsoft Excel programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: MTT analizinde kullanılan konantrasyonların hiçbirinde, MRC-5 hücrelerine, bor bileşiklerinin herhangi bir negatif veya toksik etkisi görülmemiştir. Bor sitrat ve Bor malat TMPRSS2, CatS, CatB IL-1 β ve IL-1 α gen seviyesini inhibe etmiştir. Bor malat ACE2'yi inhibe ederken, Bor sitrat ve bor malatın IL-6 ve NF κ B-p50 gen ekspresyon seviyesini arttırdığı NF κ B-p65, I κ B seviyesini azalttığı görüldü.

Sonuçlar: S protein aracılıklı hücre füzyonunun engellenmesinde bor malatın, bor sitrata göre daha etkili olabileceği anlaşılmaktadır. Yeni çalışmalar ile ACE2 inhibitörünün potansiyelinin değerlendirilmesi önerilir. Covid-19 pandemisi ile mücadelede bor malat ve bor sitratın potansiyel ajanlar olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Covid-19, Serin proteaz, Bor türevleri, anti-enflamatuvar ajan

Investigation of the Effect of Some Boron Compounds on Transmembrane Serine Protease 2 (TMPRSS2), Which Has a Role in Covid-19 Cell Entry, in Lung Fibroblast Cells

Student's Name: Serap Yildirak

Advisor: Prof. Dr. Mehmet Korkmaz

Department: Medical Biology

2.ABSTRACT

Aim: To examine the effects of boron citrate and boron malate on the MRC-5 cell line, on TMPRSS2, which has an important role in cell entry of Covid -19, and on the anti-inflammatory pathway.

Materials and Methods: Cytotoxic effects of boron compounds on MRC-5 cell line were measured by MTT method. TNF- α was used to stimulate cells and gene expression levels were measured by RT-PCR. The obtained data were evaluated using Microsoft Excel program.

Results: There was no negative or toxic effect of boron compounds on MRC-5 cells in any of the concentrations used in the MTT analysis. Boron citrate and Bor malate inhibited TMPRSS2, CatS, CatB IL-1 β and IL-1 α gene levels. Boron malate inhibited ACE2, boron citrate and boron malate increased IL-6 and NF κ B-p50 gene expression levels and decreased NF κ B-p65, I κ B levels.

Conslusions: It is understood that boron malate may be more effective than boron citrate in inhibiting S protein-mediated cell fusion. It is recommended to evaluate the potential of the ACE2 inhibitor with new studies. Boron malate and boron citrate were thought to be potential agents in the fight against the Covid-19 pandemic.

Keywords: Covid-19, Serine protease, Boron derivatives, anti-inflammatory agent

3.GİRİŞ ve AMAÇ

Covid-19 hastalığı pandemi ilan edilmiş ve sebebinin SARS-Cov-2 virüsü olduğu tespit edilmiş ciddi bir hastalıktır (Hirano & Murakami, 2020). Aşı çalışmalarının devam etmesiyle birlikte henüz kesin bir tedavi ortaya konulamamıştır. Ayrıca SARS-Cov-2 mutasyona uğramış ve uğramaya devam etmektedir (Shi et al., 2020). Bu nedenle virüsün hücre içine girişini ve/veya hücre içine girdikten sonra ortaya çıkardığı etkileri ortadan kaldıracak ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bor bileşenlerinin bazılarının anti enflamatuvar ve immünmodulator özelliklerinin yansira serin proteaz inhibitörü olduğu da bilinmektedir (Hunt, 1998; Naghii et al., 2011).

Çalışmamızda, SARS-Cov-2 hücreye girişindeki rolünü saptamak için bor bileşiklerinin serin proteazlar ile enflamatuvar yolak ve belirteçleri üzerine etkisi iki basamakta incelenmiştir. Bu amaçla, sentetik bor bileşeni olan bor sitrat ve bor malat tuzlarının akciğer fibroblast hücre hattı olan MRC-5 üzerinde TMPRSS2, Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 [ACE2], nükleer faktör kabba B [NFκB], kabba B kinaz [IκB], Cathepsin S [CATS], Cathepsin B [CATB], interlökin 1β [IL-1β], interlökin 1α [IL-1α], interlökin 6 [IL-6] gen ekspresyonlarına etkisi RT-PCR yöntemi ile değerlendirilmiştir.

4.GENEL BİLGİLER

4.1 KORONAVİRÜS AİLESİ ve HASTALIKLAR

Coronaviridae olarak adlandırılan koronavirüs ailesi iki alt aile, 5 cins, 23 alt cins ve yaklaşık 40 türden oluşmaktadır. Orthocoronavirinae alt ailesine ait olan Koronavirüsler [CoV'lar]; Alfacoronavirus [α -CoV], Betacoronavirus [β -CoV], Gammacoronavirus [γ -CoV] ve Deltacoronavirus [δ -CoV] olmak üzere dört cinstir (H. Li et al., 2020). Letovirinae ikinci alt ailedir ve üyesi Alphaletovirustür (Https://talk.ictvonline.org/taxonomy, 2022). Koronavirüs alt ailesi ve üyeleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1:Koronavirüs Ailesi

<i>Coronaviridae</i>	Orthocoronavirinae	<i>Alphacoronavirus</i>
		<i>Betacoronavirus</i>
		<i>Deltacoronavirus</i>
		<i>Gammacoronavirus</i>
	Letovirinae	<i>Alphaletovirus</i>

Koronavirüs ailesi 2 alt aile 5 cinsten oluşmaktadır.

Koronavirüs ailesi başlangıçta kuş, yarasa, fare, tavuk, domuz, sığır ve ineklerde enfeksiyona sebep olurken bu konaklardan farklı hayvanlara ve insanlara geçmiştir. α -CoV ve β -CoV sadece memelileri enfekte ederken, γ -CoV ve δ -CoV çoğunlukla kuşları enfekte etmiştir. İnsanları enfekte ettiği bilinen 7 adet koronavirüs tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2: İnsanları Enfekte Eden Koronavirüsler

İnsan koronavirüsü 229E [HCoV-229E]
İnsan koronavirüsü OC43 [HCoV-OC43]
SARS-CoV
İnsan koronavirüsü NL63 [HCoV-NL63, Haven koronavirüsü]
İnsan koronavirüsü [HKU1]
MERS koronavirüsü [MERS-CoV]
Yeni koronavirüs [COVID-19]

Koronavirüs ilk defa 1937’de tavuklarda infeksiyöz bronşitis [IBV] etkeni olarak saptanmış ve izole edilmiştir. 1960’larda soğuk algınlığı olan bir hastadan nazal sürüntü ile alınıp kültüre edilen virüse B814 adı verilmiştir. Yeni virüsün IBV HCoV-229E ile aynı özellikte olup diğer solunum yolu virüsleriyle benzerlik göstermediği tespit edilmiştir. (Almeida & Tyrrell, 1967; Tyrrell & Bynoe, 1965). Bugün insanları enfekte ettiği bilinen 7 adet koronavirüs bulunmaktadır. Bunlardan HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1 hafif-orta solunum yolu semptomlarına neden olan düşük patojeniteye sahip virüslerdir. Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu [SARS CoV], Orta Doğu Solunum Yetmezliği Sendromu [MERS-CoV] ve Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu -2 [SARS-CoV-2] ise ciddi solunum yolu enfeksiyonlarına yol açarak ölüme sebep olabilen β -CoV ailesine ait virüslerdir (Fehr & Perlman, 2015).

4.1.1 SARS-CoV

2002 yılında şiddetli akut solunum yolu sendromuna sebep olan virüs ilk olarak Çin’de bildirilmiş ve SARS-CoV olarak adlandırılmıştır. Hastalığın ilk kaynağının vahşi hayvan satışı gerçekleştirilen pazarlardaki misk kedisi (Paguma Larvata) olduğu düşünülmüştür. Yarasaların birçok enfeksiyona kaynaklık ettiği düşünülerek yapılan çalışmalarda ise Rhinolopuıs yarasalarında saptanan bat SARS-like koronavirüs [bat-SL-CoVZC45]’ün SARS-CoV ile %92 oranda genom benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir. Hayvandan insana ve damlacık yolu ile insandan insana bulaşan SARS-CoV’un inkübasyon süresi 4-6 gün olup ve % 9-10.8’lik ölüm oranına ulaşmıştır (H. Li et al., 2020; Mirae Park et al., 2020; L. F. Wang & Eaton, 2007).

4.1.2 MERS-CoV

Orta Doğuda ortaya çıkarak solunum yetmezliği sendromuna sebep olan virüs MERS-CoV olarak adlandırılmıştır. İlk olarak 2012 yılında Suudi Arabistan'da ortaya çıkmış 2019'a kadar devam ederek 861 kişinin ölümüne neden olmuştur. Vakaların çoğunluğu Arap yarımadasında görülmüş ve tek hörgüçlü deve türlerinin rezervuar olduğu tespit edilmiştir (Alagaili et al., 2014). MERS, SARS'a göre daha ağır ilerlemiş ve çoklu organ yetmezliği gibi ciddi semptomlara sebep olmuştur. Ölüm oranı %35-40 olarak tespit edilmiştir (Perlman & Netland, 2009).

4.2 SARS-CoV-2

Çin Wuhan Şehrinde 26 Aralık 2019'da 41 yaşında bir erkek ateş, solunum zorluğu, kuru öksürük ve halsizlik şikayetleri ile hastaneye başvurmuş ve ilk etapta hastalığa neden olan etken saptanamamıştır. Yapılan araştırmada hastanın yabani hayvan satışı da yapılan et ürünleri marketinde çalıştığı öğrenilmiştir. Aynı zaman aralığında sebebi bilinmeyen akut solunum yolu enfeksiyonlarında hızlı bir artış görülmüştür. Dünya Sağlık Örgütü [DSÖ] 7 Ocak 2020 tarihinde yeni bir koronavirüs türünün ortaya çıktığını açıklamıştır. Genomik açık okuma çerçevesi lab [ORF1ab] içinde yedi kotunmuş alanın aminoasit sekansları Sars-CoV ile %94,6 özdeş olan bu yeni etkenin (Shi et al., 2020) yeni bir koronavirüs olduğu gösterilmiş ve SARS-CoV-2 olarak adlandırılmıştır.(F. Wu et al., 2020) SARS-CoV-2'nin sebep olduğu hastalık ise Covid-19 olarak adlandırılmış ve kısa sürede tüm dünyaya yayılmasının ardından 11 Mart 2020'de DSÖ tarafından pandemi ilan edilmiştir.

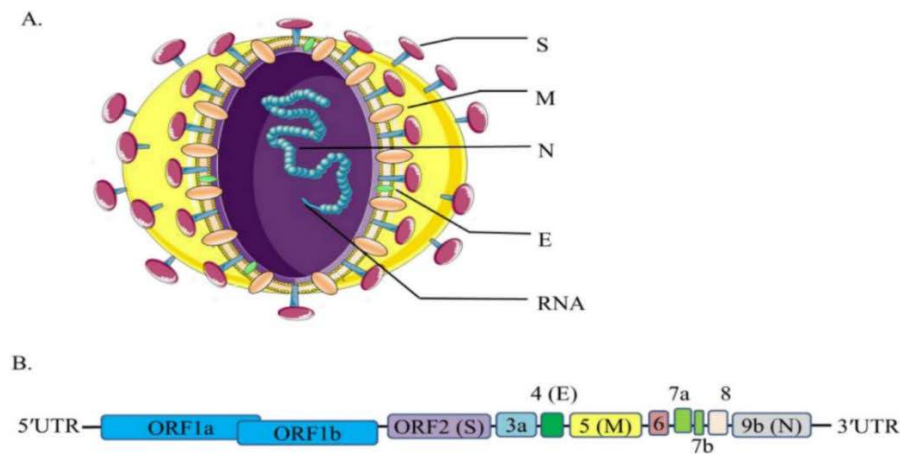
Yeni koronavirüsün diğer koronavirüslerle benzerliği ve kökenini anlamak üzere hızla çalışmalar yapılmıştır. Yapılan genetik analizler ile yeni koronavirüsün SARS CoV ile %79, MERS CoV ile %51 ve bat-SL-CoVZC45 ile %87,6-%89 oranında nükleotid benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca hücre girişinde ortak kullanılan proteinler olduğu tespit edilmiştir. Spike [S] protein gen analizinde ise CoV türleri ile %82,3 ve SARS-CoV ile %77,2 oranında benzer olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yeni koronavirüsün SARS-CoV ile benzer şekilde Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 [ACE-2] reseptörüne bağlandığı ve N-terminal aminoasit

diziliminin daha çok SARS-CoV ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır (Chan et al., 2020; S. E. Park, 2020; F. Wu et al., 2020).

4.2.1 Genom ve Yapısı

Yüzeyinde çubuk şeklinde uzantılara sahip olan virüs latince kökenli koronavirüs (taçlı virüs) adını almıştır. Çapı 80-120 nm arasındadır ve sferik veya polimorfik şekilde olabilir, yapısı Şekil 1A'da şematize edilmiştir. Koronavirüs 26,2-31,7 kb'lık tek zincirli, pozitif polariteli ribonükleik asit [RNA] genomu ile virüs aileleri içinde en büyük RNA genomuna sahip ailedir. Genomu Şekil 1B'de gösterilmiştir. Genom büyüklüğünden dolayı konakçı bağımlılığı düşük olsa da pozitif polariteye sahip olması ile konak tarafından direkt kalıp olarak kullanılabilir (Fung & Liu, 2019).

6 ile 10 genden oluşan genom yapısal ve yapısal olmayan proteinleri kodlar. CoV'in genomunun üçte birini oluşturan ORF bölgelerinde dört ana yapısal protein kodlanmaktadır. Bunlar; spike (S) proteini, envelope-zarf (E) proteini, membran (M) proteini ve nucleocapsid (N) proteini şeklindedir (Şekil1). Bazı türlerde 4 yapısal proteine ek olarak, virüse özgü HE (Hemagglütinin esteraz) proteini, 3a/b proteini, 4a/b proteini gibi yapısal ve aksesuar proteinler de kodlanmaktadır (Perlman & Netland, 2009; Song et al., 2019). Yapısal ve yapısal olmayan proteinler ile görevleri Tablo 3 de gösterilmiştir.



Şekil 1 A. Sars-Cov-2 Hücre Yapısı Spike (S) proteini, envelope-zarf (E) proteini, membran (M) proteini ve nucleocapsid (N) proteini B. Sars-Cov-2 Genomu Açık okuma çerçeveleri (ORF1a, 1b) ile yapısal-yapısal olmayan proteinleri kodlayan alanlar (Https://Talk.Ictvonline.Org/Taxonomy, 2022)

N proteini nükleokapsidi oluşturur ve ana proteindir. Yapısal olarak tüm ailede benzerdir. Viral RNA'yı ribonükleoprotein [RNP] kompleksine paketlemede ve RNA genomuna bağlanmada işlev görür. Bazı türlerde N proteini ekspresyonu ile virüs benzeri partiküllerin üretimi artmaktadır (Ulasli et al., 2010). SARS-CoV-2 ile enfekte olan kişilerde N proteine karşı antikorlar tespit edilmiştir (X. Liu et al., 2004).

Spike (S) protein koronavirüse taç yapısını kazandıran proteindir. Konakçıya bağlanma ve hücre füzyonunda rol oynar (X. Liu et al., 2004). Glikoprotein yapıda olup S1 (reseptöre bağlanan subunit) ve S2 (membran füzyon subuniti) olmak üzere 2 alt üniteden oluşur (Cheng et al., 2007). N terminalde bulunan S1 alt birimi ACE-2'ye bağlanmaya aracılık ederken, C-terminal S2 alanı ile virüs-konakçı membran füzyonu desteklenir (Hofmann & Pöhlmann, 2004). S proteinin hücre üzerindeki hedef reseptörlere bağlanmasıyla viral enfeksiyon gerçekleşir. SARS-CoV reseptör olarak ACE2'yi kullanırken MERS-CoV dipeptidil peptidaz-4 [DPP-4]'ü reseptör olarak kullanmaktadır (Fung & Liu, 2019). Fakat S proteinin reseptöre bağlanabilmesi için öncelikle argininler R667 ve R797 de bulunan alanlardan kesilme gereklidir. Kesilme işlemi hücresel serin proteazlar tarafından gerçekleştirilir. Covid-19 hücre füzyonu sırasında spike (S) proteinin alt birimi olan S1'in hücre membran reseptörüne bağlanmasına ve hücredeki proteazlar tarafından işlenerek S1/S2 klivajına ihtiyaç duyar. S proteinin proteazlar tarafından işlenmesi virüsün hücreye girişinde kritik rol oynar. TMPRSS2 (Glowacka et al., 2011; Matsuyama et al., 2010) ve CatB/L (Simmons et al., 2005) serin proteazlarının bu klivajı gerçekleştiren moleküller olduğu bildirilmiştir. Katepsin L [Cat L], Katepsin B [Cat B], tripsin, elastaz, transmembran serin proteazlar (TMPRSS) ve faktör Xa bölünme işlemini gerçekleştiren moleküllerdir. Hoffmann et al. 293T hücreleri (TMPRSS-) ve Caco-2 (TMPRSS+) hücre hatlarında SARS-CoV-2 virüs enfeksiyonu araştırmışlardır. Sonuç olarak TMPRSS- hücrelerde amonyum klorid (CatB/L bloker) ile muamele sonrası SARS-CoV-2 hücre girişinin bloke olduğunu tespit edilmiştir (Hoffmann et al., 2020). Iwata-Yoshikawa ve ark. Yaptığı çalışmada TMPRSS2 yetmezliği olan farelerin akciğerinde viral kinetik zayıflaması gözlemlenmiş ve TMPRSS2 knockout farelerde ise inflamatuvar kemokin ve/veya sitokin cevabın zayıfladığını kanıtlanmıştır (Iwata-Yoshikawa et al., 2019). Elde edilen bu sonuçlar SARS-CoV-2'nin serin proteaz olarak TMPRSS2 ve CatB/L kullandığını göstermiştir.

Tablo 3 : Yapısal Olmayan ve Yapısal Koronavirüs Proteinlerin Görevleri (Memikoğlu & Genç, 2020)

Yapısal Olmayan Protein	Görevi
nsp1	hücrel mRNA degradasyonu IFN sinyalinin inhibisyonu
nsp2	Bilinmiyor
nsp3	Konağın doğal bağışıklık sistemin baskılanması sitokin ekspresyonunun artışı
nsp4	membranda vezikül oluşumu
nsp5	IFN sinyalizasyonunun inhibisyonu
nsp6	otofagozom büyümesinin sınırlanması
nsp7	nsp8 ve nsp12 ile kofaktör
nsp8	nsp7 ve nsp12 ile kofaktör
nsp9	Dimerizasyon ve RNA bağlanması
nsp10	nsp14 ve nsp16 için destek proteini
nsp11	Bilinmiyor
nsp12	RNA bağımlı RNA polimeraz
nsp13	RNA hlikaz, 5'trifosfataz
nsp14	Ekzoribonükleaz, N7metiltransferaz
nsp15	Endoribonükleaz
nsp16	2'-O-Mtase: MDA5 tanımasından kaçmak, Doğal bağışıklığın olumsuz yönde etkilenmesi
Yapısal Protein	Görevi
S Protein	Konak Hücrede Reseptöre bağlanma Membran Füzyonu Konak hücre tropizminin blirlenmesi ACE2 rseptörüne bağlanması
M Protein	Viriyonun şekillenmesi Virüs salınımı Nükleokapsit proteininin stabilizasyonu nükleokapsit-RNA kompleksi oluşumuve devamının sağlanması IFN-beta yolağının aktivasyonu
E proteini	Viral parçaların biraya getirilmesi virüs salınımı
N proteini	Viriyonun Şkillenmesi virüs salınımı IFN antagonisti
Hemagglütinin Esteraz proteini	Sialik asit içeren reseptörlere tutunma

Viral zarfın şekillenmesinde görevli M proteini hücre zarında yeni viral partiküllerin oluşumunu sağlayarak virüsün salınımını yönetir. Toll-like reseptör bağımlı mekanizma ile interferon beta [IFN-beta] yolağını aktive eder. Füzyon sırasında konak hücrenin membran proteinlerini viral zarftan uzak tutarak virüsün bütünleşmesine destek olmaktadır.

Viral patogeneizde görevli transmembran E proteini boyut olarak CoV'un en küçük bileşenidir. E proteini virüs çoğalması ve olgunlaşmasında görevlidir. Küçük bir kısmı virion zarfına dâhil olurken büyük kısmı virüs parçalarının bir araya getirilmesinde rol oynar (Fak et al., 2020). Endoplazmik retikulum ve golgi arası bölgede veya bunların üzerlerinde bulunan, virionların serbest kaldığı hidrofobik transmembran bölge içermektedir (Ulasli et al., 2010).

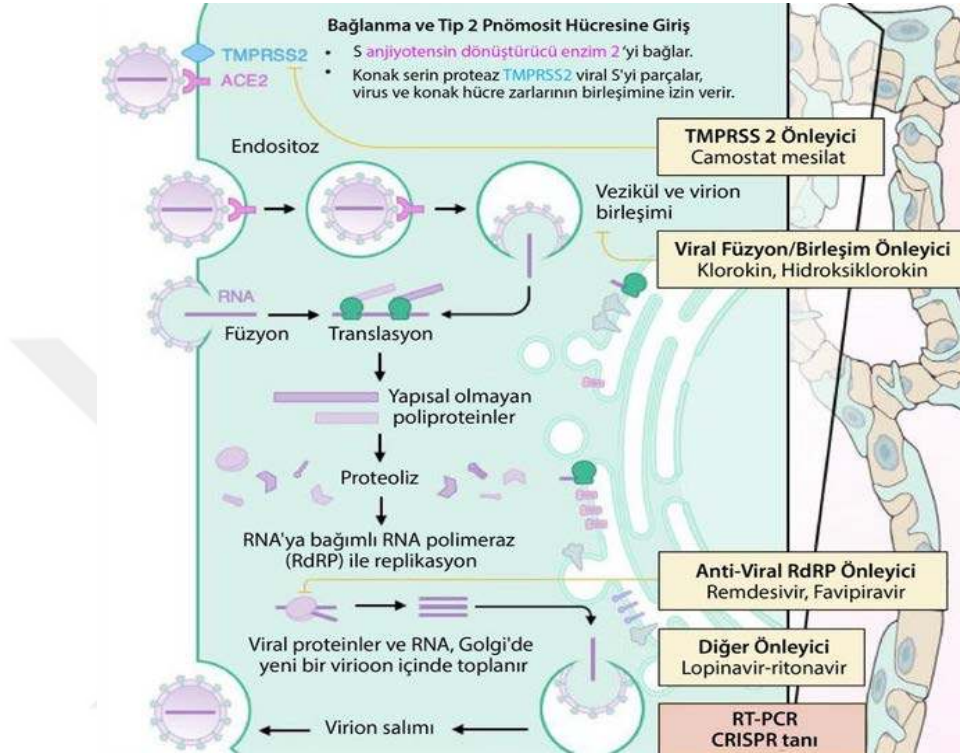
4.2.2 Hücreye Giriş ve Patogeneiz

Sars-CoV-2'nin konakçı hücredeki hayat döngüsü bağlanma adımı ile başlayıp sırasıyla penetrasyon, biyosentez, olgunlaşma ve salınım ile devam eder. Hücreye girişte görevli S proteinleri diğer virüslere kıyasla birçok farklı proteaz tarafından aktive edilmektedir. Katepsin L, tripsin, elastaz, TMPRSS ve faktör Xa bölünme işlemini gerçekleştiren moleküllerdir.

Sars-Cov-2 ACE2 ve TMPRSS2'yi kullanarak endositoz ile hücreye girer ve penetrasyon gerçekleşmiş olur. Yaşam döngüsü sırasıyla biyosentez, olgunlaşma ve salınım ile devam eder.

Konak hücrede yer alan Tip 2 Transmembran Serin Proteaz [TMPRSS2], anjiotensin dönüştürücü enzim-2 [ACE-2] reseptörünü böler ve ACE-2 ile etkileşime geçen S proteini hücreye bağlanır ardından endositoz ve membran füzyonu yolu ile penetrasyon gerçekleşir. Spike proteinin S1 bölgesi içerisinde yer alan reseptör bağlanma domaini [RBD], SARS-CoV ve SARS-CoV-2'de S1 bölgesi C terminalinde bulunmaktadır. Hücreye girişi tamamlanan virüsün RNA'sı replikasyon için konakçı nükleusuna gider. Virüs mesajcı ribonükleik asit [mRNA]'sı viral proteinlerin sentezi için kullanılır ve olgunlaşan virüsün salınımı gerçekleşir. SARS-CoV-2 yaşam döngüsü şeması şekil 2'de yer almaktadır. Şekil 2'de ayrıca Sars-Cov-2 virion salınımını engelleyecek anti ajanlar ve etki edecekleri basamaklar gösterilmiştir.

Serin proteaz ailesinin bir üyesi olan transmembran Serin Proteazlar [TMPRSS] solunum yolu epitel hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilir bundan dolayı olası virüs-hücre bağlantıları için uygun konumdadır. TMPRSS, SARS-CoV-2 S proteinini birden fazla bölünme alanından keserek aktive ettiği böylece katepsin bağımsız hücre girişine izin verdiği gösterilmiştir.



Şekil 2 SARS-CoV-2 Yaşam Döngüsü

(<https://www.drozdogan.com/search.php?q=covid>)

Covid-19 hasta oranında erkek-kadın oranı birbirine yakın olsa da erkek hastalar daha ağır geçirmekte ve yoğun bakım ihtiyacı daha fazla olmaktadır. Bu durumun ortaya çıkmasında TMPRSS2 gen promotörünün 15 bplik androjen yanıt elementine sahip olması dolayısıyla androjen reseptörü aracılığıyla upregüle edilmesinin payı olduğu düşünülmektedir (Ragia & Manolopoulos, 2020).

Covid-19'un hücreye girişinde etken olabileceği belirtilen ikinci proteaz CatB lizozomal proteazdır (Hoffmann et al., 2020). CatB over ekspresyonu birçok malignite (beyin, akciğer, prostat, göğüs ve kolorektal) ile ilişkilendirilmiştir. Bu yüzden CatB kanser tedavisi için birçok çalışmada hedeflenmiştir (Gondi, 2013).

Hücreye girişte kullanılan serin proteaz ile reseptörler virüsler arasında değişkenlik gösterirken SARS-CoV ve SARS-CoV-2 genellikle aynı molekülleri kullanmaktadır. α koronavirüs ailesinin birçok üyesi aminopeptidaz N [APN]

reseptörünü, MERS-CoV virüsü dipeptidil peptidaz 4 [DPP4] isimli reseptörü, SARS-CoV ve SARS-CoV-2 ACE-2'yi kullanarak konakçıyı enfekte etmektedir. (De Wit et al., 2016; Hoffmann et al., 2020; Satija & Lal, 2007)

Renin-Anjiyotensin sisteminde [RAS] denge, zıt görev yapan ACE ve ACE-2 hormonlarının vücuttaki oranı ile sağlanır. ACE'nin vücuttaki etkileri inflamasyonun uyarılması, vazokontrüksiyon, fibrozis şeklindedir ve durum akciğerlerde akut solunum yolu sendromu sıkıntısı (Acute respiratory distress syndrome [ARDS])'ye doğru ilerlemektedir. ACE-2 ise Anjiotensin 2 [ang-2]'yi Anjiotensin 1-7 [Ang 1-7]'ye dönüştürerek kan basıncında düşüş, vazodilatasyon ve inflamasyonda azalma ile ACE'ye tam ters etkiler gösterir. ACE-2 reseptörleri ekspresyonu yüksek miktarda akciğer, kalp, ileum, böbrek ve mesanede gerçekleşmektedir. Akciğerlerde ise en fazla tip 2 alveolar epitelyal hücrelerde eksprese edilmektedir (M. Li et al., 2020).

ACE-2'nin SARS-CoV-2 viral penetrasyonunun gerçekleşmesinin ardından gerçekleşen negatif feedback döngüsü ile ACE-2 gen ekspresyonunun down regüle olduğu bildirilmiştir (Kuba et al., 2005). ACE-2'nin azalmasını takiben Ang-2 seviyesi artmaktadır. Ang-2 reseptörüne [AGTR1A] bağlanan anjiyotensin, pulmoner vasküler geçirgenliği artırır ve SARS-CoV-2'ye patojenik özellik kazandırır sonuç olarak akciğer yetmezliği tablosu şiddetlenir (Nicholls & Peiris, 2005). Anjiotensin reseptör inhibitörlerinin kullanımı ile ACE-2'nin upregüle olarak SARS-CoV-2'ye karşı artmış duyarlılığa neden olabileceği düşünülmektedir (Fosbøl et al., 2020; Mancia et al., 2020).

ARDS ile bağışıklık hücreleri ve diğer hücreler büyük miktarlarda proinflamatuvar sitokin salgılar ve “sitokin fırtınaları” meydana gelir. Ölümcül olabilen sitokin fırtınalarının genel özelliği: ateş, solunum zorluluğu, C-reaktif protein [CRP], ferritin, interlökin 6 [IL-6], ile diğer inflamatuvar göstergelerin yüksekliğidir. Nükleer faktör kabba B [NF-κB] yolağının hiper aktivasyonu aracılığı ile interlökin-6 [IL-6], tümör nekroz faktör-alfa [TNFα] ve kemokinler dâhil olmak üzere çeşitli pro-inflamatuvar sitokinlerin indüklenmesine yol açmaktadır. Daha sonra makrofaj ve nötrofillerin aktivasyonunu takiben hızla akciğer dokularına göç ortaya çıkar. SARS-CoV-2'nin hücreye girişi ve sitokin fırtınasının oluşumu şekil 3'te şematize edilmiştir. Covid-19 hastalarında interlökin 1B [IL-1β], interlökin 7 [IL-7], interlökin 8 [IL-8], interlökin 9 [IL-9], interlökin 10 [IL-10] IFN-gamma, Monosit Kemoatraktan Protein 1 [MCP-1] gibi sitokin ve kemokinlerin de miktarı artmış

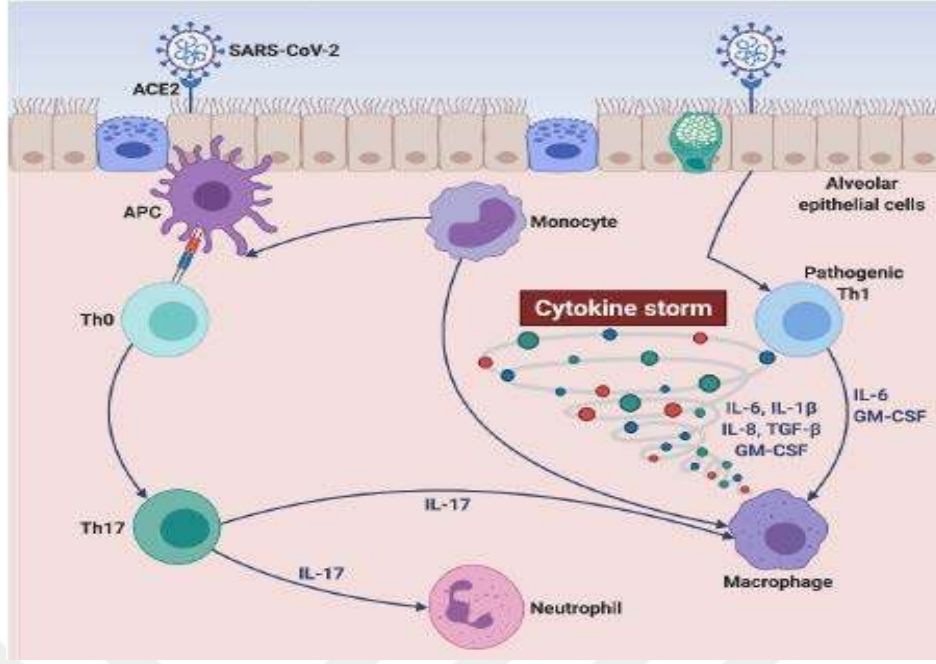
durumdadır (Atak yücel, 2020; Huang et al., 2020; Shi et al., 2020). Sitokin fırtınasında miktarı artan bu moleküllerin biyolojik etkileri tablo 4’te gösterilmiştir. Sars-CoV-2, T lenfositleri enfekte ederek lenfopeniye neden olur inflamatuvar cevap lenfosit apoptozisini arttırır (Fosbøl et al., 2020; Mancia et al., 2020).

Hem IL 1 α hem de IL-1 β reseptöre bağlandıktan sonra NF- κ B yoluğı üzerinden inflamatuvar sitokin ve endotelial hücrelerden TNF- α salınımını indükler. IL-1 salınımı; ateş, hiperferritinemi, vazodilatasyon, hemotopoezin baskılanması yanı sıra sitokinler, akut faz proteinleri, adhezyon molekülleri ve kemokinlerin salınımına neden olur (Memikoğlu & Genç, 2020). IL 1 α inhibitörleri inflamasyonu durdurmak için kullanılmaktadır. IL 1 α ile NF- κ B pozitif feedback döngüsü ile karşılıklı olarak indükleyici görev alırlar. IL-1 β hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozda rol oynar.

Tablo 4: Sitokin Fırtınasında Yer Alan Sitokinler ve Biyolojik Etkileri



Sitokin fırtınasında yer alan sitokinlerin oluşturduğu biyolojik etkiler tabloda gösterilmiştir. (Memikoğlu & Genç, 2020)



Şekil 3 : SARS-CoV-2 ve Sitokin Fırtınası: SARS-Cov-2'nin hücreye girişi sonrasında bağışıklık sistemi cevabı olarak sitokin fırtınasının oluşumu şematize edilmiştir. (<https://www.drozdogan.com/search.php?q=covid>)

4.2.3 Epidemiyoloji

26 Aralık 2019'da Çin Wuhan Şehrinde 41 yaşında bir erkek ateş, solunum zorluğu, kuru öksürük ve halsizlik şikayetleri ile hastaneye başvurmuş ve ilk etapta hastalığa neden olan etken saptanamamıştır. Artan solunum yolu enfeksiyonlarının dikkat çekici şekilde artışı ve sebebi bilinmeyen akut solunum yolu sendromlarının araştırılması ile yeni bir etken olarak SARS-CoV-2 tespit edilmiştir (F. Wu et al., 2020). DSÖ tarafından 7 Ocak 2020 tarihinde yeni bir koronavirüs türü (novel koronavirüs 2019-nCov) ortaya çıktığını açıklamıştır. Yapılan araştırmada ilk vakanın yabani hayvan satışı da yapılan et ürünleri marketinde çalıştığı öğrenilmiş SARS-CoV'a benzer şekilde SARS-CoV-2'nin de canlı-yabani hayvan satışının yapıldığı marketle bağlantılı olarak virüsün ortaya çıktığı düşünülmüştür (X. Li et al., 2020).

Wuhan canlı hayvan pazarı ile ilişkilendirilmesine rağmen etkenin kaynağının kesin olarak belirlenmesine yönelik birçok yabani hayvanı kapsayan araştırmaların sonucunda yeni etkenin bat-CoV ile %92,86 ve pangolin-CoV ile %90 benzerlik taşıdığı görülmüştür (M. Li et al., 2020). Bu sonuçlar değerlendirildiğinde etkenin taşıyıcı vektör olan yarasa ile pangolinden insana geçtiği sanılmaktadır. Covid-19

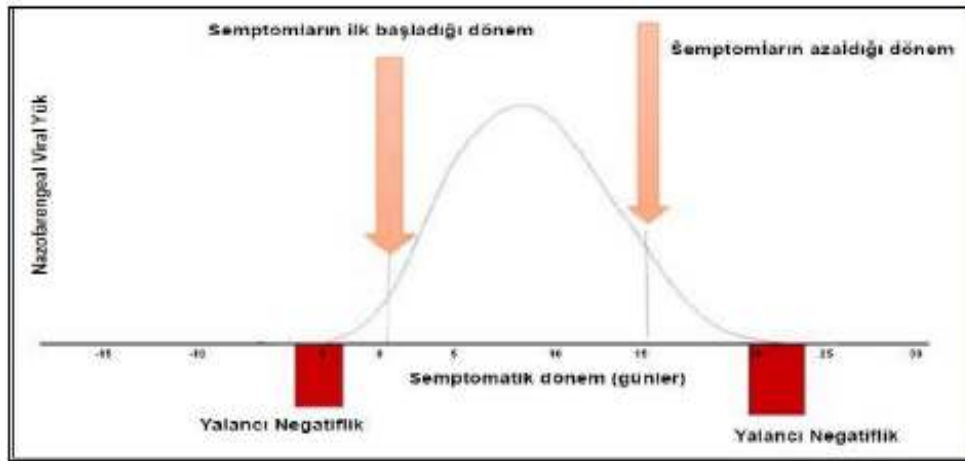
salgını 30 Ocak'ta "uluslararası boyutta halk sağığı acil durumu" şeklinde sınıflandırılmış, 113 ülkede vakaların görölmesi, yayılımı ve şiddeti sebebiyle 11 Mart'ta pandemi (küresel salgın) olarak ilan edilmiştir.

Türkiye'de görölün ilk vaka da 11 Mart olarak kaydedilmiştir (T.C. Sağıık Bakanlığı, 2020). Tüm dünyada alınan tedbirlere rağmen hızla yayılan Covid-19 30 Kasım 2022 tarihine kadar Türkiye'de hastalığı 16,9 milyon Konfirme vaka ve 101 bin ölüme sebep olmuştur. Saptanan vakalar değeriendirildiğinde hastalığın tüm yaş gruplarını etkilediğini fakat en çok etkilenen grubun 30 yaş üzeri olup ileri yaşlar ve kronik hastalıkların etkisiyle hastalığın daha ağır geçirildiğı bildirilmiştir. Çocuk ve gençlerde ise vakalar asemptomatik ve düşük enfeksiyon oranıyla ilerlediğı bildirilmiştir. Sars-CoV-2 birden fazla mutasyon geçirmiş ve halen geçirmeye devam etmektedir. Mutasyonlar, hastalığın bulaşıcılık ve seyrini etkilemiştir.

4.2.4 Bulaşma- Vaka fatalite hızı

Temel kaynağının yarasa olduğı düşünölün Sars-CoV-2 zoonotik bir ajan olup, insanları ve hayvanları birlikte enfekte edebilmektedir. Solunum yollarından damlacık yoluyla insandan insana ve kontamine yüzeylere temas yoluyla bulaşmaktadır. Virüsün havada aktif olarak 3 saat, plastik-metal yüzeylerde ise yaklaşık 72 saat canlı kaldığı bildirilmiştir (Hammett, 2020; H. Li et al., 2020). Diğer taraftan hasta çevrelerinden alınan hava örneklerinin incelendiğı çalışmada virüse rastlanmamıştır (Faridi et al., 2020). Sars-CoV-2 ilk olarak solunum sekresyonlarında izole edilmiş daha sonra virüs RNA'sı nazofarengeal sürüntüde, idrarda, dışkıda, serumda ve tükürükte gösterilmiştir (S. E. Park, 2020).

Yapılan çalışmalarla inkübasyon süresinin ortalama 5,2 gün olduğı ortaya konmuştur. Üst solunum yollarındaki viral yükün hastalığın ilerleyen evrelerine kıyasla erken döneminde daha fazla olduğı tespit edilmiştir. Semptomatik kişiler dışında asemptomatik ve pre-semptomatik kişiler de solunum yollarında virüs taşıdıklarından bulaştırıcı kabul edilmektedir. Semptomlar gelişmeden 1-3 gün önce pre-semptomatik kişilerden bulaşma gerçekleştiğı tespit edilmiş ve Çin'de asemptomatik kişilerin bulaştırıcılık oranı %12,6 olarak belirlenmiştir (Du et al., 2020; Q. Li et al., 2020).



Şekil 4 : COVID-19 enfeksiyonu sırasında viral yük dağılımı ve PCR testlerinin pozitifliği arasındaki ilişki (Bozkurt & Keleş, 2021)

Viral dökülmeler COVID-19 semptomlarının çıkış döneminde pik yapmakta ve 7-14. Günlerde düşüşe geçmektedir. Nadir de olsa 14. Günden sonra ağır vakalarda nazofarengeal sürüntü ve dışkı örneklerinde viral atılımın devam ettiği saptanmıştır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2020). Viral yük ile semptomatik dönem arasındaki ilişki şekil 4’te gösterilmiştir. Çok merkezli olarak yürütülen çalışmada, Ağır hastalarda nazofarengeal sürüntü ve dışkı örneklerinde 37. Güne kadar viral yük tespit edilebilmiş ve en uzun viral atılım süresi 37 gün ortalama viral atılım süresi 20 gün olarak saptanmıştır. Solunum yollarından saptanan viral yükün, hastalığın ilk evrelerinde, ilerleyen evrelere kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Hastalığın ağır seyrettiği vakalarda viral yük 60 kat daha fazladır. Viral dökülmenin başlamasının ardından 20 gün içerisinde ölümle sonuçlanan vakalarda viral dökülmenin sona erdiği tespit edilmiştir (Zhou et al., 2020).

Hastalığın bulaştırma katsayısı olarak tanımlanan R_0 [Basic reproduction number, hastalığın bulaştırma katsayısı] bulaşmada önemli bir faktördür. 12 çalışmalı meta analizde Sars-CoV-2 için R_0 ’ın 1,44-6,49 arasında değişken olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Y. Liu et al., 2020). Türkiye’de ise R_0 değeri pandeminin başında 9,6 iken 45. Günde 1.30 şeklinde hesaplanmıştır (Bulut & Kato, 2020). Bulaş oranının azaltılması için “maske, mesafe, hijyen” üçlemesi ile 2 metre sosyal mesafe, maske kullanımı ve el hijyeninin önemi sürekli olarak vurgulanmıştır. Yurtdışı seyahatleri sonrası ve pozitif kişilerle temas sonrası karantina uygulaması yapılmıştır. Vaka fatalite hızı test sayısı, asemptomatik vakaların yakalanabilmesi, kronik hastalığı olan popülasyon ile yaşlı nüfus yoğunluğu gibi parametrelere bağlı olarak değiştiğinden ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Türkiye’de vaka

fatalite hızı %2 civarındadır ve bu oranla Avrupa ve Amerika ortalamasının altındadır (Bulut & Kato, 2020).

Hastalığın mortalitesi yaş ile artmaktadır. Türkiye’de mortalite oranı Mayıs 2020 itibariyle Sağlık Bakanlığı tarafından %2,6 olarak bildirilmiştir. Toplam vaka sayısından kadın erkek oranı eşit olsa bile yoğun bakım ihtiyacı ile ölüm oranının erkeklerde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Birçok ülkeden toplanan veriler doğrultusunda yayınlanan raporda, erkek hastalarda mortalite oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Zoralioglu, 2020). Toplumdaki belirli oranda bireyin herhangi bir enfeksiyon hastalığına karşı bağışık hale gelmesi durumunda, tüm toplumun o hastalığa karşı korunması toplumsal bağışıklık düzeyi (Herd Immunity) olarak adlandırılır. Türkiye için R_0 2,2 alındığında toplumsal bağışıklık düzeyi Covid-19’da %60 olarak hesaplanmıştır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2020).

4.2.5 Prognoz ve Semptomlar

Covid-19 hastalarında en sık görülen semptomlar ateş, öksürük, halsizlik, kas ve boğaz ağrısı olmuştur. Baş ağrısı, ishal-bulantı ve burun tıkanıklığı, hapşırık ise seyrek olarak görülen semptomlardır. Şiddetli tutulum gösteren hastalarda nefes darlığı ve göğüste sıkışma hissi de görülmüştür. Ayrıca hafif tutulumlu hastalar da dahil olmak üzere koku ve tat bozuklukları ortaya çıkmıştır. Şekil 5’te ortaya çıkan semptomlar ve görülme yüzdeleri gösterilmiştir. Erkek cinsiyet, 65 üstü yaş, sigara kullanımı, kronik hastalıklar önemli risk faktörlerini oluşturmuştur. Hastalığı daha ağır geçiren kişilerde diyabet, hipertansiyon, kronik akciğer hastalığı, iskemik kalp rahatsızlığının hafif geçirenlere oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca bu kişilerde Sars-Cov-2 ile enfekte olma riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2020; Zheng et al., 2020). Hastalığın seyri asemptomatik enfeksiyon, solunum yetmezliği ve beraberinde septik şok, çoklu organ yetmezliğine kadar çeşitli klinik tablolar ortaya koyabilmektedir.



Şekil 5: Klinik Seyri Covid-19'un klinik seyrinde ortaya çıkan semptomlar ve semptom çıkış oranları gösterilmiştir.

Klinik şiddet ve organ tutulumları göz önüne alınarak hafif (%81), şiddetli (%14) ve kritik (%5) olmak üzere 3 farklı grupta sınıflandırılmıştır (Z. Wu & McGoogan, 2020). Tüm olguların yaklaşık olarak %19-20'sini ağır pnömoni ve solunum yetmezliği, çoklu organ yetmezliği oluşturmaktadır. Hastalığın ağır seyrettiği kişilerde ARDS gelişebilmektedir (Bitnun et al., 2003). Hastaların %20'den fazlasını oluşturan asemptomatik vakalar Sars-CoV-2 'nin yayılımında birincil kaynak olmuştur. Asemptomatik vakalar ile semptomatik vakaların üst solunum yollarında benzer viral yük saptanmış ve asemptomatiklerin %50 si için toraks bilgisayarlı tomografi [BT] ile akciğer tutulumu saptanmıştır (Kronbichler et al., 2020).

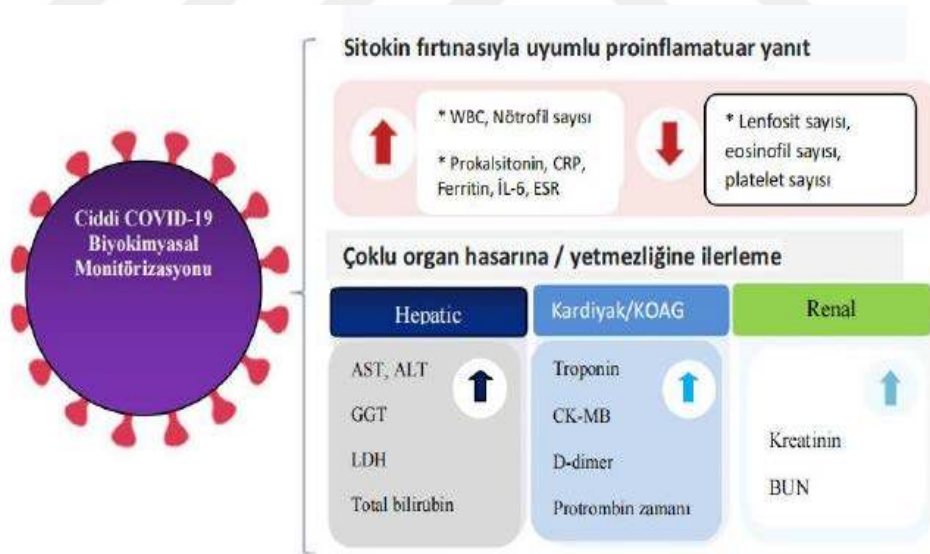
4.2.6 Laboratuvar Bulguları

Covid-19 hastaları için tam kan sayımı [TKS], pıhtılaşma ve fibrinoliz kaskadları (PT, aPTT, D-Dimer) testleri ve inflamasyon parametleri (ESR, CRP, ferritin, prokalsitonin) rutin olarak bakılmaktadır. Biyokimya parametrelerinin analiz edilerek organ fonksiyonlarının değerlendirilmesi SARS-CoV-2 gibi çoklu organ hasarına neden olabilecek bir virüs için önemlidir.

Artmış Laktat Dehidrogenaz [LDH], Alanin Transaminaz [ALT], toplam bilirubin düzeyi ile azalmış albümin düzeyi ciddi Covid-19 enfeksiyonu olan hastaların ayırt edilmesinde kullanılan parametrelerdir (Bozkurt & Keleş, 2021). Birçok vakada lenfopeni gelişmiş ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Anti-inflamatuvar sitokinlerin hastalık boyunca aşırı salınımının lenfosit apoptozunu

indükleyerek lenfopeniye neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. 138 hastanın retrospektif olarak dahil edildiği çalışmada en belirgin laboratuvar anomalisinin lenfopeni olduğu saptanmıştır (D. Wang et al., 2020; Zoralioglu, 2020).

Nötrofili, sitokin fırtınası ve hiperinflamatuvar durumun belirteci olarak görülmektedir. Trombositopeni şiddetli enfeksiyonu olan hastaların %57,7'sinde tanımlanmış ve kötü prognoz için $150 \times 10^9/L$ sınır değeri olarak belirlenmiştir. Yüksek nötrofil-lenfosit oranı [NLR] ve trombosit-lenfosit oranı [PLR] Covid-19 hastaları için tablonun ağırlaşacağını göstergesi olduğu düşünülmektedir. İnflamatuvar biyomarkerlar hastalığın şiddeti ile orantılı ve önemli ölçüde mortalite ile ilişkili bulunmuştur. Ağır şekilde ilerleyen vakalarda sitokin fırtınasının multi organ yetmezliğine ilerleyebileceği düşünülmektedir. CRP değeri artmış ve hastalığın şiddeti ile orantılıdır. Ex olan vakalarda değeri 125 mg/L olarak saptanmıştır. Sepsis ve septik şokta görülen yüksek prokalsitonin seviyesi organ disfonksiyonu ile ilişkilidir. COVID-19 progresyon ve şiddetini gösteren biyokimyasal ve hematolojik belirteçler Şekil 6'da şematize edilmiştir.



Şekil 6: COVID-19 progresyon ve şiddetini gösteren biyokimyasal ve hematolojik belirteçler (Memikoğlu & Genç, 2020)

Hastalığın ilk evrelerinde prokalsitonin seviyesi referans aralık içerisindedir. Tanısal değere sahip olan ferritin düzeyi sitokin fırtınasına bağlı olarak çok fazla yükselmiş ve kötü prognoz göstergesidir. Yüksek ferritin seviyesi makrofajları aktive edecek ardından artan proinflamatuvar sitokin salgılanması ile organ hasarına sebep

olan enflamasyon ortaya çıkacaktır. Ferritin ile IL-6 seviyesi hayatını kaybeden hastaların klinik seyirleri boyunca yüksek saptanmıştır. ARDS'ye ilerleyen vakalarda IL-6 seviyesi normalden 2,9 kat yüksek bulunmuştur (Bozkurt & Keleş, 2021).

4.2.7 Radyolojik Bulgular

Covid-19 testi pozitif veya orta-yüksek risk grubunda olan hastalara görüntüleme önerilmektedir. BT bulguları, bilateral, bazallerde ve periferde yerleşimli buzlu cam görünümü [BCO] olmuştur. BT bulgusu ile Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu [RT-PCR] yöntemlerinin Covid-19 tanısı koymada sensitivitelerinin araştırıldığı 1014 hasta ile yürütülen çalışmada BT'nin %97 RT-PCR'ın %60-70 sensitive gösterdiği görülmüştür (Ai et al., 2020). PCR testi pozitif çıkan hastaların BT incelemeleri karşılaştırıldığında, BCO (%91), periferik dağılım (%80), vasküler kalınlaşma (%59), ince retiküler opaklaşma (%56) bulguları görülmüştür (Bai et al., 2020). BCO görünümü şekil 7'de gösterilmiştir. Radyolojik görüntülemeler sonrasında bt bulgularına karşı kullanılacak örnek raporlama diline ait örnek tablo 5'te gösterilmiştir.



Şekil 7: COVID-19 pnömonisine ait BCO görünümü (Memikoğlu & Genç, 2020)

Tablo 5: Covid-19 için önerilen raporlama dili (Memikoğlu & Genç, 2020)

COVID-19 BT Bulguları için Önerilen Raporlama Dili			
COVID-19 pnömonisi görüntüleme sınıflaması	Açıklama	BT Bulguları	Önerilen Raporlama Dili
Tipik görünüm	COVID-19 pnömonisi için sıklıkla bildirilmiş, özgüllüğü yüksek görüntüleme özellikleri	Periferik, bilateral BCO* (konsolidasyon veya "kaldırım taşı" görünümü ile birlikte veya değil) Yuvarlak şekilli multifokal BCO (konsolidasyon veya "kaldırım taşı" görünümü ile birlikte veya değil) Ters halo işareti ya da organize pnömoninin diğer bulguları (hastalığın ilerleyen dönemlerinde görülür)	"COVID-19 pnömonisinin sıklıkla bildirilen görüntüleme özellikleri mevcuttur. İnfluenza pnömonisi ile ilaç toksisitesi ve bağ doku hastalıklarıyla birlikte görülebilen organize pnömoni benzer görüntü paternine sebep olabilir."
Belirsiz (indetermine) görünüm	COVID-19 pnömonisi için spesifik olmayan görüntüleme özellikleri	Tipik özelliklerin olmaması VE aşağıdakilerin varlığı: Spesifik dağılım paterni göstermeyen, yuvarlak şekilli olmayan veya periferik olmayan, multifokal, difüz, perihiler veya tek taraflı BCO (konsolidasyon ile birlikte veya değil) Yuvarlak şekilli olmayan ve periferik dağılım göstermeyen az sayıda çok küçük BCO	"COVID-19 pnömonisinde görülebilen görüntüleme bulguları mevcuttur ancak bulgular nonspesifiktir ve çeşitli enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz süreçlerde de görülebilir."
Atipik görünüm	COVID-19 pnömonisi için nadir bildirilmiş ya da hiç bildirilmemiş görüntüleme özellikleri	Tipik veya belirsiz özelliklerin olmaması VE aşağıdakilerin varlığı: BCO olmadan izole lobar veya segmental konsolidasyon Ayrık küçük nodüller (sentrilobüler, "tomurcuklanmış ağaç") Kavite Plevral efüzyon ile birlikte düzgün interlobüler septal kalınlaşma	"Görüntüleme özellikleri COVID-19 pnömonisi için atipiktir veya nadiren bildirilmiştir. Alternatif tanımlar düşünülmelidir."
Pnömoni açısından negatif	Pnömoni bulgusunun olmaması	Pnömoniyi dışlandıran BT bulgusunun olmaması	"Pnömoniyi işaret eden BT bulgusu saptanmamıştır (COVID-19'un erken döneminde BT'nin negatif olabileceği akıldan tutulmalıdır)"

*BCO = bronşit camı opasitesi

4.2.8 Tanı

Covid-19 semptom ve bulgularının diğer üst solunum yolu enfeksiyonlarından ayırt edilmesi gereklidir. Temas öyküsü, klinik semptomlar, laboratuvar bulguları ile radyolojik bulgular Covid-19 tanısı konulmasında önemli parametrelerdir. RT-PCR yöntemi ile viral RNA'nın saptanması Covid-19 için altın standart tanı yöntemidir. Fakat PCR testinin negatif çıkması covid-19 hastalığının kesin olarak olmadığını söylemede yeterli değildir. Çünkü PCR testi sensitivitesi %60-70 civarında olmakla birlikte bazı vakalarda iki-üçüncü testlerde pozitifleşme de görülmektedir. Sağlık bakanlığı tarafından yayınlanan rehberde alınan örnek miktarı, örneğin alınmış olduğu dönem, işlem prosedürlerinde ortaya çıkmış olabilecek sapmalar ve teknik nedenlere bağlı olarak negatif sonuç alınmasına sebep olduğu belirtilmiştir. Covid-19 tanısı için serolojik testlerde yapılmaktadır. Ancak antikor cevabının (IgM, IgA

ve IgG) oluşması belirli bir süreden sonra olduğundan erken dönemde tanı için kullanılmaz. Çoğu hastada antikor pozitifliği belirtilerin başlamasından 10 gün sonra gelişmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2020).

4.2.9 Tedavi

Pandeminin başında hızlı tedavi rejimi oluşturmak için hali hazırda FDA tarafından sitokin salınımı sendromu tedavisinde onay almış olan Tocilizumab kullanılmıştır. Romatoid Artrit tedavisinde kullanılan Tocilizumab IL-6 reseptörlerini hedefleyen bir monoklonal antikordur. Covid-19 hastalarında IL-6'yı baskılamada başarılı olsa da daha sonra hastanede yatan hastalarla yapılan klinik çalışmada mortaliteyi veya entübasyon oranını azaltmada etkisiz olduğu gösterilmiştir (Izda et al., 2021; Tanaka et al., 2014). Tocilizumab Geleneksel oksijen tedavisi gerektiren hipoksemili yatan hastalarda kullanımı önerilmektedir (NIH, 2021). IL-1 α reseptörü blokeri olarak otoinflamatuar ve periyodik ateş sendromlarında kullanılan anakinra sitokin fırtınasına karşı kullanılmış ve beklenen sonuçlar alınmıştır (NIH, 2021).

Güncel tedavi olarak kullanılan ajanlardan yalnızca remdesivir hastanede yatan hastalarda iyileşme süresini kısalttığı gösterilmiştir. Remdesivir bir adenozin nükleotid analogudur ve RNA polimerazı inhibe ederek viral RNA sentezini durdurur. Ebola tedavisi için geliştirilmiş olan ilaç SARS-CoV ve MERS-CoV tedavisinde de etkili olmuştur (Zoralioglu, 2020). Antiviral tedavi ile viral krilens üzerinde anlamlı bir etki görülmezken, hafif seyreden vakalarda durumun ağırlaşmasını engelleyebileceği öne sürülmüştür (Z. Hu et al., 2020). Bundan dolayı antiviral tedavinin yansıra anti enflamatuvar tedavi de önemlidir.

Hastalığın ilerlemesinin ana nedeninin sitokin fırtınası ve birlikte ortaya çıkan semptomlar olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle SARS-CoV-2 tedavisinde kortikosteroidler ve immünmodülatör ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Kortikosteroidler, bağışıklık aracılı akciğer hasarını modüle edebilir düşüncesiyle on güne kadar günde bir kez verilen 6 mg deksametazon içeren bir klinik araştırma yapılmıştır. Sunulan ön rapora göre Deksaametazon, invaziv mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda 28 günlük mortaliteyi % 35 azaltırken solunum desteği almayan hastalar için bir fayda görülmemiştir (Horby et al., 2020). Hastaneye yatan hastalarda, 72 saat içinde 0,5 mg /kg prednizon eşdeğeri kortikosteroid tedavisi

planlanan, çalışmaya dahil edilen hastaların %33'ünde başlanan ve hastaların %98'inin 48 saatin üzerinde kortikosteroid tedavisi aldığı bir başka çalışmada sonuçlar değerlendirildiğinde daha düşük mortalite ile ilişkili bulunmamış diğer kortikostreoid çalışmalarının yüksek doz sebebiyle mortalitede düşüşe neden olabileceği belirtilmiştir (Bartoletti et al., 2020). Ciddi hastalıkta kortikosteroid kullanımının yan etkilerine karşı savunmada olumsuz etkilerine karşı klinikte kortikosteroidlerin şiddetli hastalık aşamasından önce kullanılması daha uygun görülmektedir (Z. Hu et al., 2020).

Hiperinflamatuvar yanıt tedavisinde glukokortikoidlerin kullanımı pandeminin erken dönemlerinde zorunlu kalınmadığı sürece önerilmemekte zorunlu durumlarda 0,5-1 mg/kg dozlarını aşmayacak prednizolon eşdeğeri dozda kullanılması önerilmektedir. Randomize kontrollü çalışmaların verileri doğrultusunda glukokortikoid tedavileri sağkalımı arttırmak ve hastaneye yatış süresini kısaltmak için tedavi rehberlerine dahil edilmiştir (T. C. Sağlık Bakanlığı Bilimsel Danışma Kurulu, 2020).

Klorokin/hidroksiklorikin romatizmal hastalıklar ve sıtma için kullanılan antienflamatuvar etkileri olan ilaçlardır. Sitokin salınımını baskılar böylelikle doku hasarı ve endotel inflamasyon engellenir. Zayıf bazik özelliği ile asidik organellerin pH düzeyini yükselterek virüsün hücre içine girişini engeller T ve B hücre reseptörlerini inhibe eder, IL-1 ve IL-6 sitokin üretimini azaltır. Ayrıca ACE-2 terminal glikozilasyonu bozar bu şekilde S proteinin reseptöre tutunması engellenir. Uzun dönem kullanılması retinal toksisite ve yüksek doz kullanılması fatal aritmiler ortaya çıkabilmektedir (Zoralioglu, 2020).

İnfluenza ve arenavirüs, bunyavirüs, flavivirüs ve filovirüs türleri üzerinde etkili olan favipiravir antiviral bir ajandır. RNA virüslerinde, RNA bağımlı RNA polimeraz (RdRp) enzimini inhibe eder. Covid-19 tanısı almış 80 hasta ile yürütülen çalışmada favirapir ve interferon [IFN] kombinasyonunun lopinovir/ritonovir ve IFN kombinasyonuna kıyasla daha kısa sürede viral RNA negatifleşmesi ile BT toraks görüntüleme bulguları incelendiğinde daha hızlı iyileşme saptanmıştır.(Cai et al., 2020)

4.3 BOR

İnsanlar ve hayvanlar için eser element olan bor, eşsiz kimyası ile yaşamın her noktasında bulunan bir elementtir. Periyodik tabloda 5. Element olan Bor [B] ile sembolize edilir. 3A grubu elementi olan B değişken yarı metal özellikte ve yarı iletkenidir. Elementel halde, kahverengi toz halinde amorf bor ve koyu renkli kristal bor formları bulunmaktadır. Borun atomik özellikleri tablo 6’da gösterilmiştir. Doğada oksijen-bor bileşikleri şeklinde bulunur. Organizmada ise çoğunlukla borik asit [BA] ile borat anyonu olarak metabolize edilir (Bakirdere et al., 2014).

Tablo 6: Borun Atomik Özellikleri

Özellik	Değer
Atomik Çapı	1,17 Å
Atomik Hacmi	4,6 cm ³ /mol
Kristal yapısı	Rhombohedral
Elektron Konfigürasyonu	1s ² 2s ² p ¹
İyonik Çapı	0.23 Å
Elektron Sayısı (yüksüz)	5
Nötron Sayısı	6
Proton sayısı	5
Valans Elektronları	2s ² p ¹

<https://boren.tenmak.gov.tr/tr/calisma-alanlari/bor-elementi.html> son erişim:

21.05.2022

4.3.1 Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Güçlü bir Lewis asidi olan bor, boş bir p- orbitaline sahiptir ve elektrofiliktir. Boş p- orbitali aracılığıyla koordinat kovalent bağ oluşturabilir. Bu sayede bor bileşikleri biyolojik aktiviteleri güç kazanmıştır. Yaşamın temeli karbon ve nitrojen elementleriyle aynı periyodda bulunan bor, ilaç tasarımlarında yüksek potansiyele sahiptir. Enzim kalıntıları, karbonhidratlarda ve nükleik asitlerde bulunan hidroksil ve amin grupları gibi biyolojik nükleofillerle bir çift bağ (koordinat kovalent bağlar) oluşturabilir. Borun kimyasal özellikleri tablo 7’de özetlenmiştir.

Tablo 7: Borun Kimyasal Özellikleri

Özellik	Değer
Elektrokimyasal Eşdeğer	0,1344 g/amp-hr
Elektronegativite	2,04 Ec
Füzyon Isısı	50,2 kJ/mol
İyonizasyon Potansiyeli	Birinci: 8,298 İkinci: 25,154 Üçüncü: 37,93
Valans Elektron potansiyeli	190 -eV

<https://boren.tenmak.gov.tr/tr/calisma-alanlari/bor-elementi.html> son erişim:

21.05.2022

Nükleofillerle kolaylıkla bağ yapmasıyla yüksüz trigonal yapıyı (nötr trigonal düzlemsel sp²'den) anyonik tetrahedral yapıya (tetrahedral sp³ hibridizasyonuna) dönüştürebilir (Fernandes et al., 2019). Karbon ve nitrojen elementleri ile aynı periyotta yer alan bor terapötik potansiyele sahip bileşikler oluşturur. Borun fiziksel özellikleri tablo 8 de gösterilmiştir.

Tablo 8: Borun Fiziksel Özellikleri

Özellik	Değer
Atomik Kütlesi	10,811
Kaynama Noktası	4 002°C
Termal Genleşme Katsayısı	0,0000083 cm/cm/°C (0°C)
Yoğunluk	2,34 g/cc @ 300K
Görünüş	Sarı-Kahverengi Ametal Kristal
Buharlaştırma Isısı	489,7kJ/mol
Erime Noktası	2 300°C
Molar hacmi	4,68 cm ³ /mole
Fiziksel Durumu	(20°C & 1 atm): Katı
Buhar Basıncı	0,348 Pa @ 2 300°C

<https://boren.tenmak.gov.tr/tr/calisma-alanlari/bor-elementi.html> son erişim:

21.05.2022

4.3.2 Kullanım Alanları

Bor elementinin keşfi 1808 yılında Thenard, Gay-Lussac ve Davy tarafından eş zamanlı olarak yapılmıştır (Kuru & Yarat, 2017). Çok geniş bir kullanım yelpazesine sahip olan borun kullanıldığı alanlar ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Bor kullanımının ilk kez 4 000 yıl önce Tibette, sağlık alanında ilk kullanımının ise 875 yılında Araplar tarafından ilaç yapımında kullanılması ile gerçekleştiği düşünülmektedir (<https://boren.tenmak.gov.tr/tr/calisma-alanlari/bor-elementi.html> son erişim: 21.05.2022).

Dünyada en yüksek bor rezervi olan ülke Türkiye'dir. Bor rezervi yüksek olan diğer ülkeler şu şekilde sıralanabilir: Rusya, Güney Amerika ve Amerika. Dünyanın bor üretim kapasitesi 2017 yılında 5,7 milyon ton olarak belirlenmiştir. Kullanım alanının yaygınlaşması ve ham madde kaynaklarının tükeniyor olması ile borun önemi giderek artmaktadır. Sektörel kullanım dağılımında %47 oranı ile cam gelmektedir (MADEN, 2022) <https://www.etimaden.gov.tr/dunyada-bor> erişim 29.03.2022.



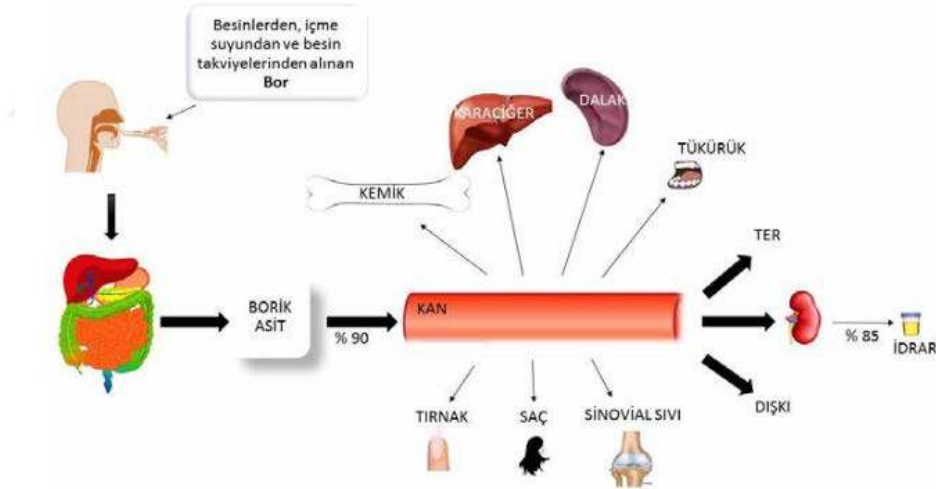
Şekil 8: Borun Kullanım Alanları(Kuru & Yarat, 2017)

Bor genellikle kimyasallar olarak kullanılsa da uzay teknolojisi, otomotiv, elektronik, metalürji, tarım, sağlık-tıp, nanoteknoloji, deterjan ve cam-seramik gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Son yıllarda biyolojik önemi anlaşılan borun, tıp-sağlık alanındaki çalışmaları artmıştır. Şekil 8'de borun kullanım alanları görselleştirilmiştir. Tıp alanında; osteoporoz tedavilerinde, alerjik hastalıklarda,

psikiyatride, kemik gelişiminde ve romatoid artrit tedavisinde, menopozda, Bor Notron Yakalama Tedavisi [Boron Neutron Capture Therapy, BNCT] ile beyin tümörlerinin iyileştirilmesinde, yara iyileşmesinde, antiseptik özelliği açısından lens solüsyonlarında ve gargaralarda, yara iyileştirme yönüyle merhemlerde kullanıldığı görülmektedir. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi [Food and Drug Administration, FDA] tarafından onaylı Bortezomib multiple myelom tedavisinde kullanılmaktadır (Q. Hu et al., 2014; WHO, 2009).

4.3.3 Bor Alımı, Metabolizması ve Toksik Etkileri

İçme suyu ve besinler, organizmaya bor alımının ana kaynağıdır. Temizlik ve kozmetik ürünlerini kullananlar ve üretim tesislerinde çalışanlar çeşitli bor bileşiklerine maruz kalmaktadır. Ayrıca bor madenlerinin bulunduğu bölgelerde insanlar solunum, deriden temas şeklinde de bor bileşiklerine maruz kalmaktadırlar (Kuru & Yarat, 2017).



Şekil 9: Bor metabolizması (Kuru & Yarat, 2017)

İnsanlarda borun tamamına yakını (%90), genellikle borik asit olarak bağırsak epitelyumundan emilmektedir (Aas Jansen et al., 1984). Emilen BA metabolize edilmeden pasif difüzyon yolu ile vücut sıvılarına yayılmaktadır şekil 9 da şematize edilmiştir (Korkmaz ve ark. 2010). Boratlar ise emilim sırasında mukozal yüzeylerde ve fizyolojik pH'ta borik aside dönüştürülerek metabolize edilmektedir. Vücudumuzda çoğunlukla % 98,4 oranında borik asit ($B(OH)_3$) ve % 1,6 oranında borat anyonu ($B(OH)_4^-$) olarak metabolize edilir (Smallwood et al., 2010). BA

zardan pasif difüzyonla geçerken borat özel borat taşıyıcıları örneğin sodium coupled borate co-transporter [NaBC1] ile taşınmaktadır (Meeyoung Park et al., 2005; I. R. Scorei, 2013).

Böbrek tarafından kontrol edilen homeostasis mekanizma ile bor, kan ve dokuda sabit seviyede tutulur. (Nielsen & Meacham, 2011, Korkmaz et al., 2007, Bakirdere et al., 2014). Borun yarılanma ömrü yaklaşık 21 saattir ve büyük çoğunluğu idrar yolu ile atılırken %2 lik kısmı dışkı ve çok azı da ter, nefes, safra yoluyla atılmaktadır (Khaliq et al., 2018; Samman et al., 1998). Bor bileşiklerinin metabolize edilmesi için bor-oksijen bağının kırılmasında harcanan yüksek enerjiden dolayı büyük kısmının atıldığı ileri sürülmüştür (Jay Murray, 1998). Günlük alınan borun %85'nin idrar ile atıldığı hesaplanmıştır ve bor alımı ölçümleri idrardaki bor miktarı üzerinden belirlenmektedir (Korkmaz et al., 2007). Toksisite çalışmalarında kullanılan borik asit ve inorganik boratları elementer bor ile karşılaştırmak için bor eşdeğer dozları moleküler ağırlıkları dönüştürme faktörleri aracılığıyla hesaplanmaktadır (WHO, 1998). Bor Yumuşak dokuda birikmemesine karşın kemik dokuda birikmektedir (Korkmaz et al., 2007). Bor sadece kemik dokuda biriktiği ve fazlası vücuttan atıldığı için yüksek dozlarda alındığında ancak toksik etki gösterebilir. (Draize & Kelley, 1959, Sutherland et al., 1998) Yapılan çeşitli çalışmalarda düşük dozların toksisite oluşturmadığı ancak yüksek dozlarda toksik etkinin ortaya çıktığı görülmektedir. Ayrıca Yüksek dozlardaki bor bileşiğinin toksik olmasına rağmen kanserojen veya mutajen olmadığı gösterilmiştir (Fail, Patricia a; Chapin, Robert E; Price, Catherine J; Heindeli, 1998). Sıçanlarda yapılan çalışmada 40 mg/L borun dalak dokusunu iyileştirebileceği fakat 80 mg/L ve üzerindeki dozlarda dalak dokusunu zarar verdiği ve artan konsantrasyonla birlikte hasarın arttığı belirtilmiştir (Q. Hu et al., 2014). Vücutta birikmemesi ve düşük toksisitesi boru kanser tedavisinde çekici bir ajan olarak düşündürmektedir fakat mekanizmasının net olmaması potansiyel kullanımını engellemektedir. (Bradke et al., 2008, McAuley et al., 2011) Borun akut toksik etkisi ancak 15-30 gr boraks veya 2-5 gr borik asit doğrudan vücuda alınırsa ortaya çıkmaktadır. Kronik etkisi açısından günde 3 gr. borik asit veya 5 gr boraksın etkisinin olmadığı, 5-10 gr boraksın sadece protein metabolizmasını etkilediği ve idrardaki azot miktarını arttırdığı gözlenmiştir (Moseman, 1994). 18 ile 20 g arasında bir yetişkin dozunun ölümcül olduğu

gösterilmesine rağmen, bor sebebiyle ölüm nadir görülmektedir ve hatta bazı yetişkinler 80-297 g boru tolere edebilmektedir (von Burg, 1992)

4.3.4. İnsan Sağlığı İçin Bor Alım Miktarı ve Kaynağı

Bor doğada genellikle borat formunda bulunmaktadır. yer kabuğunda, atmosferde, denizde, toprakta, kömürde, yeraltı ve yerüstü sularında yüksek oranda bulunmaktadır (Rainey et al., 1999). 1980 yılından 1996 yılına kadar eser element olarak tanımlanan bor, 1996'de DSÖ tarafından "insan sağlığı için olası elementler" sınıfına dâhil edilmiştir (WHO, 1998). İnsanda borun ana kaynağı su ve besinlerdir. Besinlerden alınan borun %35'i meyveler tarafından karşılanır. Meyve, sebze, tohum ve kuruyemişler şeker-borat bileşiklerini içerir. Doğal besinlerle alınan bor miktarı ülkelere ve cinsiyetlere göre değişmektedir. Ayrıca çevre yoluyla da bora maruziyet söz konusu olabilmektedir. Fakat bor vücutta birikmediği için uzun yıllar maruziyetin olması direk toksik etki oluşturan bir etmen olarak değerlendirilmemektedir.(Korkmaz et al., 2007)

WHO tarafından günlük güvenli bor alımının 1-13 mg arasında olabileceği ve günlük alımın 28 mg/gün değerini aşmaması gerektiği önerilmektedir (Nielsen & Meacham, 2011) Ayrıca "içme suyu parametre işbirliği" kapsamında DSÖ, 1 mg/L olan içme suyu bor konsantrasyonunu 2,4 mg/L'ye yükseltmiştir Ayrıca bor için gözlenebilir en düşük olumsuz etki düzeyi [LOEL] 13,3 mg/gün ve herhangi bir yan etki izlenmeyen düzey [NOAEL] ise 9,6 mg/gün olarak hesaplanmıştır(Caroli et al., 1994; Romero-Aguilar et al., 2019; WHO, 2009)

Günlük güvenli bor alım miktarına meyve, sebze, fındık ve baklagillerin tüketimi içeren diyetle ulaşılabilir (Nielsen & Meacham, 2011). Gıda endüstrisinde farklı biçimlerde bor içeriği kullanılmaktadır. Gıda desteği olarak bor içeren bazı ürünler şu şekildedir; bor sitrat formunu içeren "Calcium Magnesium Plus Boron" (Solgar, ABD, New Jersey) ve sodyum borat şeklinde "Boron" (Holland&Barrett, Nuneaton, United Kingdom) (Kuru & Yarat, 2017)

Eti Maden işletmeleri %99 saflıkta borik asit üretmekte ve kapsül haline getirerek insan kullanımına sunabilmektedir. European Food Safety Authority [EFSA] erişkin insanlarda borik asit alımını 10mg /gün şeklinde tanımlamıştır. Gıda Tarım Orman Bakanlığı da aynı miktarı besin destek ürünü olarak tanımlamıştır. 1994 yılında besin destek ürünü olarak patentlenen bor sitrat formunun 2014 de

patentli koruması bitmiştir. Ulusal bor Enstitüsü tarafından üretime hazır hale getirilen Bor sitrat için izin başvuruları bakanlığa yapılmıştır (<http://www.etimaden.gov.tr/saglik>).

4.3.5. Borun Hücresel Fonksiyonları ve İnsan Sağlığı Üzerinde Etkileri

Yapılan çalışmalar, bor elementinin organizmada birçok önemli göreve sahip olduğunu düşündürmektedir. Enzim aktivitesinin düzenlenmesi, insülin metabolizması ve aktivitesi, bağışıklık sistemi, kemik ve diş yapısı, tiroit hormon metabolizması borun rol aldığı alanlardandır. (Korkmaz, 2020)

Bor elementinin, proteoglikan, kolajen ve proteinlerin salınımını artırır ve ekstraselüler matriksin sentezini etkiler. Ayrıca kolajen sentezi ve TNF- α salınımını uyarır (M. Benderdour et al., 2000; M. Benderdour et al., 1997). Bu bulgular dezenfektan ve antiseptik özelliği bilinen borun yara iyileşmesinde de etkin rol aldığını göstermektedir. BA'in doza bağlı olarak HS-2 hücre hattında yara iyileşmesi hızını arttırdığı gösterilmiştir. %3'lük BA solüsyonuyla tedavinin, derin yaraların iyileşmesini önemli derecede arttırmıştır (Cao et al., 2008; Tepedelen et al., 2016, Erbaykent ve ark. 2016, Cao ve ark. 2008). Yara iyileşmesi ve doku onarımında önemli rol aldığı gösterilmesinin ardından yapılan çalışmada bor uygulaması ile miyokardiyal fibröz ve apoptozda belirgin azalma tespit edilmiştir.(Blech et al., 1990; Bouchareb et al., 2020)

Bor ve magnezyum ilişkisine dayanan birkaç çalışma vardır. Bor Mg'nin kemikte emilimini artırır ve bor eksikliğiyle birlikte Mg eksikliği de görülmektedir. Yapılan bir çalışmada hareketsiz kadınlara verilen bor takviyesinin serumda Mg konsantrasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Meacham et al., 1995; Nielsen et al., 1987). Borun magnezyum üzerindeki etkileri göz önüne alındığında kardiyovasküler sistem üzerinde de etkili olabileceği düşünülmüştür. 2015 de Rogoveanu ve ark. yaptığı çalışmada 112 mg Kalsiyum Fruktoborat [CFB] ve plasebo uygulaması yapılmış ve uygulama öncesi ve sonrasında kan glikoz seviyesi, lipid profili ve bazı enflamatuvar belirteçler değerlendirilmiştir. Kardiyovasküler sistem için olumlu sonuçlar elde edilmesinin yanında, LDL-kolesterol, trigliseritler, toplam kolesterol, IL-1 β , IL-6 ve CRP seviyelerinin düştüğü görülmüştür (Rogoveanu et al., 2015).

Bor kadınlarda menopoz sonrası steroid hormonların düzenlenmesinde görev alır ve antioksidan özelliğe sahiptir (Korkmaz, 2011; Müezzinoğlu et al., 2011)

Steroid hormon metabolizmasını araştıran aynı çalışmada ayrıca vitamin D, kalsiyum ve magnezyum ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Magnezyum ve kalsiyum metabolizmasında yer almasından dolayı romatoid artirit ve osteoartrit tedavisinde de kullanılmaktadır. Çünkü bor eksikliğinde osteoporoz ve osteoartrit riskinin attığı gösterilmiştir. (Nielsen et al., 1987; Nielsen & Shuler, 1992)

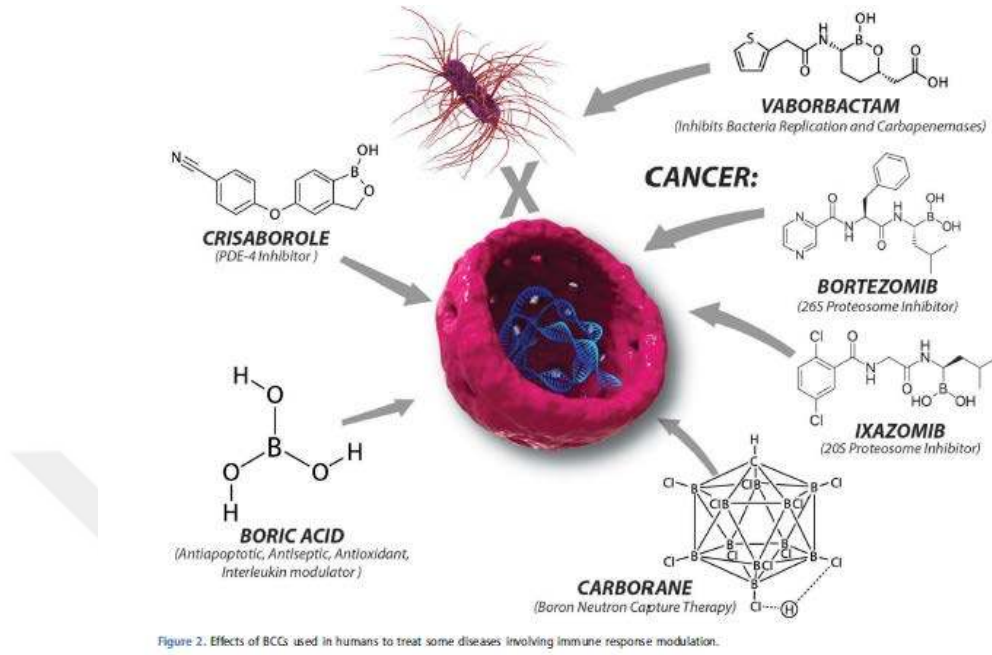
Bor alımının sperm üzerinde olumsuz etkileri olduğu öne sürülmüştür Fakat yüksek bor maruziyetinde ($14,45 \pm 6,57$ mg/gün) kalan bireylerde, kana göre seminal sıvıda daha yüksek seviyede bor miktarı tespit edilmiş ancak bu birikimin herhangi bir yan etkisi olmadığı gözlenmiştir (Duydu et al., 2011).

Bor çeşitli kanser türleri üzerinde koruyucu ve tedavi edici etkiler göstermektedir. Borun kanser türleri üzerindeki etkileri epidemiyolojik çalışmalar ve hayvan çalışmalarıyla incelenmiştir ve borun anti kanserojen özellikte olabileceği gösterilmiştir. Kadınlarda bor alımı ve akciğer kanseri arasında ters bir ilişki olduğu bildirilmiş düşük düzeyde bor alan kadınlar ve hormon replasman tedavisini [HRT] kullanmayan kişilerdeki akciğer kanseri oranların önemli derecede artış gösterdiği saptanmıştır (Mahabir et al., 2008).

BA uygulaması yapılan DU145 hücrelerinde adezyon, migrasyon ve metastaz yetenekleri azalmış ve F-aktin değişiklikleri ile metastatik potansiyeli azalmıştır (Barranco & Eckhert, 2006). Bor hücre içi D3-vitamini konsantrasyonunu arttırarak, apoptozu indükler ve metastazı inhibe eder. Bir boronik asit türevi olan fenilboronik asit [PBA] in vivo da prostat ve meme kanseri hücrelerinin migrasyonunu azaltmıştır (I. R. Scorei, 2013). D vitamini ile prostat kanseri gelişimini yavaşlatma potansiyeline sahiptir. DU-145 hücre hattında borik asidin uygulanmasıyla hücre büyümesinin tamamen inhibe edildiği görülmüştür (Barranco & Eckhert, 2006). Yine DU-145 prostat kanseri hücre hattı üzerinde disodyum pentaborat dekahidratın hücre büyümesini inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Korkmaz et al., 2014). Kanser tedavisinde kullanılan bor türevleri ve kimyasal yapıları şekil 10'da şematize edilmiştir.

Borik asitin Fokal Adhezyon Kinaz [FAK] değişikliklerine neden olarak meme ve prostat kanseri hücre hatlarında apoptozu indüklediği düşünülmektedir. FAK kanser hücrelerinde yüksek seviyede eksprese edilmekte ve hücre göçü, anjiyogenez, enflamasyon ve yara iyileşmesinde rol oynamaktadır. BA uygulanan kanser hücrelerinde FAK fosforilasyonu 4 kat azalış göstermiş ve kaspaz-3 aktivitesi

artmıştır. Bu durum BA'nın kanser hücrelerinde apoptotik etkiyi artırdığını göstermektedir (Nielsen & Meacham, 2011).



Şekil 10: Kanser tedavisinde kullanılan bor türevleri ve yapıları (Romero-Aguilar et al., 2019)

4.3.6. Bor ve Serin Proteaz İlişkisi

Serin proteazlar (kimotripsin, katepsin, elastaz, hepsin gibi) hidrolazların bir alt sınıfıdır ve aktif lökositler tarafından salınan en önemli proteolitik enzimlerdir. Salınan reaktif oksijen türlerinin yanı sıra bu enzimler bağ doku yapılarını, membran bileşenlerini ve çözünür proteinleri proteoliz ile parçalayarak enflamasyon yanıtı artırmaktadırlar. Dolayısıyla bor, enflamasyon sürecinde artan enzimatik aktiviteleri azaltacak bir represyon sinyali olarak fonksiyon göstermekte ve enflamatuvar hastalıklara yakalanma riskini azaltmaktadır (Hunt ve ark. 1999).

Hunt, borun enzimatik aktiviteyi geri dönüşümlü olarak inhibe ederek düzenleyebileceğini öne sürmüştür (Hunt, 1998). Suzuki birleştirme reaksiyonları için yapı taşı ve/veya ara madde olarak görev yapan boronik asitler, serin proteazlar gibi hidrolitik enzimleri inhibe ederler. Aktif serin kalıntısı hidroksil yan zinciri ile kompleks oluşturur. Oluşturulan yan zincir tetrahedral ara maddeyi taklit eder ve aktif serin-histidin kalıntıları ile kovalent eklentiler oluşturur. Serin proteazların

olağan inhibisyon mekanizmasının bu şekilde olduğu düşünülmektedir (Fernandes et al., 2019; Hall, 2006).

Bor bileşiklerinin biyolojik aktivitesi güçlü lewis asidi olup boş p orbitali ile nükleofillerle çift bağ kurabilmesinden gelmektedir (Fernandes et al., 2019). Boronik esterler, serin / treonin proteazlar tarafından katalize edilen reaksiyonlarda ara ürün olarak davranırlar. Borun geçiş durumu analogları oluşturarak ve NAD veya FAD için rekabet sonucu aktivitelerini tersine çevrilebilme özelliğinden dolayı, serin proteazlar veya oksidoredüktazlar için inhibe edici özellikte olabileceği düşünülmektedir (Devirian & Volpe, 2003). Kettner & Shenvi tarafından Kimotripsin ve subthilaisien serin proteazların aromatik boronik asitler tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (Kettner & Shenvi, 1984).

Yeni sentezlenen bor bileşiklerinin iyi huylu prostat büyümesinde anti-proliferatif ve anti-enflamatuvar etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda bazı bor bileşiklerinin, serin proteaz inhibisyonu (Hepsin/TMPRSS1, PRSS8 ile Cathepsin S/CatS) ve NF- κ B yolağının inaktivasyonu aracılığıyla IL-8 ve IL-6 gibi sitokinlerin salınımını ve dolayısıyla enflamasyonu engelleyerek prostat hiperplazisi ve prostat iltihabı gibi hastalıkların tedavisinde potansiyel olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Naghii et al., 2011). Ayrıca bazı bor bileşenlerinin prostat kanser hücrelerinde TMPRSS1 gibi serin proteazları inhibe ettiği bildirilmiştir. Bir başka bor bileşiği olan kalsiyum fruktoborat (CaFB) takviye ürün olarak 216 g boyutunda 5,6 mg bor tüketimine eş değerde üretilmiş ve piyasada bulunmaktadır (Hunter et al., 2019). Kalsiyum fruktoborat veya sodyum tetraboratın plasebo grupla karşılaştırıldığı çalışmada 60 gün süreyle romatoid artrit hastalarına destekleyici tedavi uygulanmıştır. Bor bileşenlerini kullanan her iki grupta plasebo grubuna göre enflamatuvar yanıtın anlamlı düzeyde azaldığı ve ağrılarının hafiflediği gözlemlenmiştir (Hussain et al., 2017). Borun enflamatuvar hastalıklarda düzenleyici rol oynadığı ve anti-enflamatuvar etki gösterdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bor sıçan artrit modelinde 2mg/kg/gün doz uygulandığında elde edilen sonuçlar borun antienflamatuvar özelliğini desteklemektedir (Romero-Aguilar et al., 2019).

4.3.7 Bor Esterleri

Hayvan çalışmalarında vücuda alınan borun hidrolize edilerek ince bağırsakta borik aside dönüştüğü ve çoğunun metabolize olmadan önce idrarla hızla atıldığı

görülmüştür. Kemik ve dalak gibi vücut dokularında küçük bir miktar rol oynayabilir (da Silva, F.J., Williams, 1991; Hunt, 1998; Murray, F.J., 1995). Bor, genellikle çeşitli besinleri birleştiren vitamin D, kalsiyum, magnezyum, soya izoflavonları, kondroitin sülfat, glukozamin, kurkumin, boswellia, jelatin, ipriflavon gibi takviyelerde bulunur. Kemik iliği yerine dokularda birikme gibi nedenlerle bilinen bor takviyesi formları (borik asit, boraks vb.) bir süre sonra sorgulanmaya başlandı. Bor esterleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Literatürde son zamanlarda yapılan çalışmalar bu eksikliği gidermeye çalışmaktadır ((Köse et al., 2011; Köse & Zümreoglu-Karan, 2012; Zümreoglu-Karan & Kose, 2015).

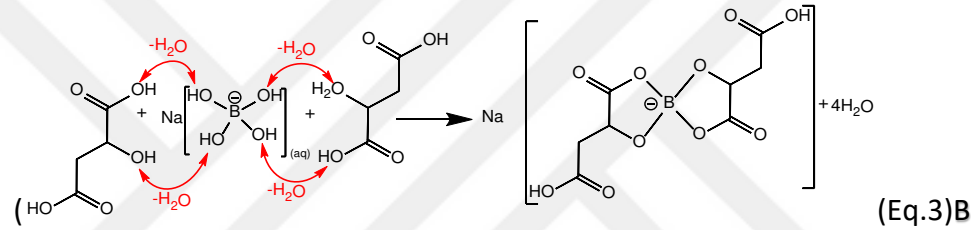
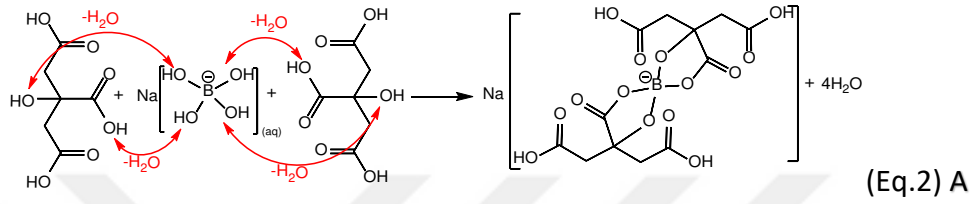
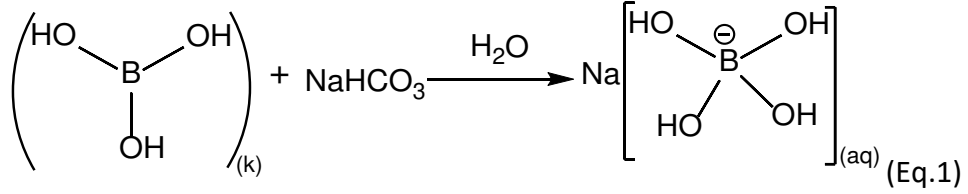
Sitrik asit karboksilik asittir ve renksiz, kokusuz organik bileşiktir. Hücre içi metabolizmanın ana substratlarından biri olan sitratın seviyesi kanda stabildir. (Mycielska et al., 2015) Sitrat vücutta asit-baz dengesini düzenler (Perut et al., 2020), böbrekte yeni taş oluşumunu azaltır ve taş stabilitesi üzerine etkilidir (Heilberg & Goldfarb, 2013), mtDNA ilişkili hastalıklarda destekleyici tedavi olarak kullanılır (Phillips R, Hanchanale VS, Myatt A, Somani B, Nabi G, 2015; Thorburn et al., 2021).

Dikarboksilik asit olan malik asit, bir çeşit meyve asididir. Hayvanlar ile yapılan toksisite çalışmalarında toksik olmadığı görülmüştür. FDA tarafından ilerlemiş renal hücreli karsinom ve gastrointestinal stromal tümörlerin tedavisinde onaylanan Sunitinib malat çok hedefli tirozin kinaz inhibitörüdür (Andersen, 2001). Bir diğer malat türevi olan Kalsiyum sitrat malat (CCM) böbrek taşı riskini arttırmadan çocuk ve ergenlerde kalsiyum tutulmasını ve kemik birikimini kolaylaştırır (Motzer et al., 2006).

4.3.8 Sentez

Borik asit, birden fazla hidroksil grubu (bunlardan biri asidik) (cis-diol) içeren bileşikler veya şelat sistemine müdahale etmeyen sterik bir konumda bir karboksil grubu içeren ve tetrahedral anyonik ester kompleks yapıları oluşturan bir esterleşme reaksiyonu verir (Böesecken, 1949; Shao et al., 2001; Tepedelen et al., 2017; Zittle C., 1951). Bu bileşiklerle kısmi esterleştirme, mono-şelat (1: 1 kompleks) veya bis-şelat (1: 2 kompleks) yapılar oluşturabilir (Militaru et al., 2013). Komplekleşme reaksiyonu basitçe, borik asidin sulu ortamda çözünmesi sonucu oluşan $B(OH)_4^-$ anyonunun $-OH$ grupları ile cis-diol pozisyonundaki organik ligandın $-OH$ grupları

arasındaki esterleşme reaksiyonu ile su elimine edilmesine dayanır. Bor merkezinin negatif yükü nedeniyle bu anyonik ester yapılarını stabilize etmek için karşı iyon olarak metal katyonlar kullanılır (Köse et al., 2010, 2014).



Şekil 11: Bor-sitrat diester (Eq. 2) ve bor-malat diester (Eq. 3) sodyum tuzlarının sentez reaksiyonları

A. Bor Diester Malik Asit Sodyum Tuzu $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{B}_2\text{O}_{10}\text{Na}$ Ma:284g

B. Bor Sitrat Diester Sodyum Tuzu $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{B}_2\text{O}_{14}\text{Na}$ Ma:414,01g

Bor türevlerinin insan sağlığındaki rolü gün geçtikçe aydınlanmaktadır. Serin proteaz aktivitesi bulunan borun sitrik asit ve malik asit ile bir arada sentezlendiğinde Sars-Cov-2 üzerindeki etkileri merak uyandırmıştır. Yeni sentezlenen bor malat (Bor Diester Malik Asit Sodyum tuzu, şekil 11A) ve bor sitrat (bor sitrat diester sodyum tuzu, şekil 11B) bu bağlamda incelenmiştir.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. GEREÇ

5.1.1 Hücre Dizisi

- MRC-5 akciğer fibroblast hücre hattı kullanılmıştır.
-

5.1.2 Kimyasal Maddeler

- Tripan mavisi solüsyonu (SIGMA, T-6146)
- RPMI-1640 (GIBCO, 52400-025)
- Tripsin-EDTA (GIBCO 3103382)
- Fetal Bovine Serum (FBS), Biowest, S1810-500

5.1.3. Malzemeler

- 1-10, 20-200 ve 100-1000 µl otomatik pipetler (Brand)
- 1,5-2 ml Eppendorf tüpler (Isolab)
- 1-10, 20-200 ve 100-1000 µl mikropipet ucu (VERTEX)
- Steril cam pipetler (ISOLAB)
- Hücre kültürü plate, 96 kuyucuklu (Sarstedt , Almanya)
- Hücre kültürü plate, 6 kuyucuklu (Sarstedt , Almanya)
- Doku kültürü kabı 100×20mm (Sarstedt , Almanya)
- Doku kültürü kabı 60×15mm (Sarstedt , Almanya)
- Doku kültürü kabı 35×10mm (Sarstedt , Almanya)
- Filtreli pipet ucu, steril (5ml), Ratiolab, 3105011
- Kryo tüp Steril, 1 ml, Clearline, N40.3677
- Filtreli pipet ucu, steril, 10µL, Ratiolab, 1760010
- Filtreli pipet ucu, steril, 100µL, Ratiolab, 1760200
- Filtreli pipet ucu steril, 1000µL, Ratiolab, 1761000
- Pasteur Pipeti, steril, 1000ad/kutu, tek tek steril, FL Medica
- Enjektör Filtre 0,22, 50ad/kt, Sarstedt, 83.1826
- Santrifüj tüpü steril 15mL, Sarstedt, 62.554.502
- Santrifüj tüpü steril 50mL, Sarstedt, 62.547.254

5.1.4. Aygıtlar

- II güvenlik kabini (Esco)
- CO₂'li inkübatör (Esco)
- Floresan ekli invörted ışık mikroskobu (Leica DMIL)
- Soğutmalı santrifüj (Sigma- B6916)
- Ultrasaf su cihazı(ELGA PURELAB Q)
- pH metre (METTLER TOLEDO)
- Manyetik karıştırıcı (M TOPS)
- ETÜV (NÜVE)
- Nitrojen tankı ve aktarma ünitesi (Chart, MVE, Cleveland)
- Su banyosu (NÜVE BATH)
- Vakum pompası(VACUUM PUMP)
- Vortex (Dragonlab MX-S)
- Hassas Terazı (SARTORIUS)
- Sonikatör (Bandelin Sonopuls UW 2070)
- Soğutmalı santrifüj, (SIGMA, B6916)
- Santrifüj (Eppendorf, centrifuge, 5415 D)
- Blok ısıtıcı (WEALTEC HB-2)
- Microplate Reader (Biotek FLx800)
- Hemositometre (Neubauer)
- Çalkalayıcı (Biosan Shaker-Rocker MR-12)
- +4° buzdolabı (ARÇELİK)
- -20° derin dondurucu (ARÇELİK)
- -86° derin dondurucu (NEW BRUNSWICK)

5.2 YÖNTEM

Deneyler ve çalışmalar Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

5.2.1. Sterilizasyon

Plastik, cam ve bazı sıvı malzemeler (PBS ve dH₂O) 121 °C’de 45 dakika otoklavlandı. Otoklavlamaya uygun olmayan sıvı maddeler 0,22 µm por çapında mikrobiyolojik filtrelerden geçirilerek sterile edildi. Hücre kültürü kabini kullanımdan önce ve sonra ultraviyole ışık ile sterile edildi ve %70 alkol ile silindi. Malzemeler %70 alkol ile silindikten sonra kabin içerisine alındı. Hücre kültürü laboratuvarı yüzeyleri düzenli olarak %70 alkolle silindi.

5.2.2. Tampon ve Solüsyonların Hazırlanması

Bor Bileşiklerinin Sentezi

Çalışmamızda kullanılan bor bileşiklerinin sentezi Hitit Üniversitesi Kimya Bölümünden Prof.Dr Dursun Ali Köse tarafından gerçekleştirilmiştir. İlk olarak 150 ml sulu çözeltisi hazırlanan 0,02 mol (1,24 g) borik asidin (H₃BO₃) üzerine, dengeleyici metal katyon kaynağı olarak sodyum bikarbonat (NaHCO₃) (1,68 g) ilave edildi (Şekil 11, Eq. 1). Son olarak esterleşme reaksiyonu için borik asit miktarına göre stokiyometrik oranı 1:2 olacak şekilde sitrik asit (7,68 g) veya malik asit (5,36 g) reaksiyon kabına eklendi. Her iki organik ligandın asidik ve komşu -OH grupları ile, tetraborat anyonunun -OH gruplarının esterleşme reaksiyonu ile dört molekül su eliminasyonu gerçekleştirerek meydana gelen reaksiyon sonucunda bor-sitrat diester sodyum tuzu {Na[B(cit)2]} (Şekil 11, Eq. 2) ve bor-malat diester sodyum tuzu {Na[B(mal)2]} (Şekil 11, Eq. 3) bileşikleri elde edilmiştir. Son ürünün çöktürülmesi için evaporatörde yoğunluğu arttırılan çözelti soğuk aseton vasıtasıyla çöktürülerek ürünler alınmıştır. Çökelti / kristaller, vakumlu filtrasyondan sonra nem emilimini önlemek için hemen desikatöre alınmıştır. Reaksiyonlarda ultra saf su kullanılmış olup, aynı zamanda ultra saf su 2 saat kaynama sıcaklığına yakın sıcaklıkta içerisinden nitrojen gazı geçirilerek kullanıma hazır duruma getirildi. Çeşitli kimyasal ve spektroskopik analiz teknikleri ile moleküllerin yapısal karakterizasyonları irdelenmiştir.

Bor Türevlerinin Hazırlanması

Tablo 9: Bor Türevlerinin Hazırlanması

Bor Türevi	Moleküler Ağırlığı
Bor Sitrat Distester sodyum tuzu	414,01g/mol
Bor Malat Dister sodyum tuzu	284 g/mol

- 500mM Bor sitrat için 0,0207 gr tartıldı ve 100 ul hazırlandı.
- 500mM Bot malat için 0,0142 gr tartıldı ve 100 ul hazırlandı.

Hücre Dondurma Medyumu

- %90 Fetal Bovine Serum (FBS)
- %10 DMSO
-

3.2.3. Hücre Kültürü

- Tez çalışmasında MRC-5 akciğer Fibroblast hücre hattı kullanıldı.
- Oda sıcaklığındaki %90 RPMI içerisine %10 Fetal Bovine Serum (FBS) eklenerek besiyeri hazırlandı.
-

Hücrelerin Medyum Değişimi

- Medyum Steril cam pastör pipetleri kullanarak vakum pompası kullanılarak uzaklaştırıldı.
- Su banyosunda önceden 37°C 'de ısıtılmış RPMI-1640 'den hücre yoğunluğuna uygun miktarda yavaşça eklendikten sonra 37°C'de %5 CO₂'li inkübatöre kaldırıldı.
- Medyum değişimi pazartesi-çarşamba-cuma günleri gerçekleştirildi.

Hücrelerin Pasajlanması ve Tripsinizasyon İşlemi

- Hücrelerin besinleri düzenli olarak haftada 3 kez değiştirildi ve %90 ve üzeri konfluasyona ulaştıklarında pasajlama işlemi yapıldı.
- Laminar kabin içerisinde Steril cam pastör pipetleri kullanarak vakum pompası yardımıyla ortam uzaklaştırıldı.
- Kültür yüzeyi Ca^{2+} ve Mg^{2+} içermeyen steril PBS ile bir kez yıkandı.
- 2 ml Tripsin/EDTA (0,05%/0,02%) eklendi.
- 37°C’de %5 CO_2 ’li inkübatörde 3-4 dakika hücreler yüzeyden kalkana kadar bekletildi.
- Hücreler inverted mikroskop altında incelenerek hücrelerin yüzeyden ayrılıp ayrılmadığı kontrol edildi. Tam olarak ayrılmayan hücrelerin tutundukları yüzeyden kalkmaları için hücre kültür kabına nazikçe birkaç kez dokunuldu.
- Tam olarak yüzeyden ayrılan hücreler, içerisinde 15 ml taze besiyeri içeren santrifüj tüplerine aktarıldı.
- 1 000 Rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant dökülerek tripsin uzaklaştırıldı.
- Dipte kalan hücre çökeltisinin üzerine 3 ml besiyeri konularak homojenize edildi.
- İçerisinde 4 ml taze besiyeri olan 3 tane hücre kültür kabının her birine bu hücre içeriğinden 1ml koyularak 1:3 oranında pasaj işlemi gerçekleştirildi.
- İşlem sonunda hücreler inverted mikroskop altında incelenerek 37°C’de CO_2 ’li etüvde inkübasyona bırakıldı. Yeterli hücre sayısına ulaşabilmek için pasaj işlemine 2 hafta boyunca devam edildi.

Hücrelerin Dondurulması ve Çözdürülmesi

Hücre stoklarının uzun süre saklanabilmesi için kısa süreli -86°C dondurucuda veya uzun süreli – sıvı azot tankında 130°C’in altında tutulacağı dondurma işleminin uygulanması gerekmektedir. Dimetilsülfoksit (DMSO) gibi kryoprotektan ajanlar kullanılarak dondurma işlemi sırasında hücrelerin korunması sağlanır. kryoprotektan suda eriyebilen maddelerdir, donma sürecinde oluşan buz kristali miktarını kontrol eder ve optimal değerlerin üzerine çıkmasını engeller.

Dondurma İşlemi

- Steril cam pastör pipetleri kullanarak vakum pompası yardımıyla ortam uzaklaştırıldı.
- Kültür yüzeyi Ca^{2+} ve Mg^{2+} içermeyen steril PBS ile bir kez yıkandı.
- PBS uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml tripsin-EDTA solüsyonu ilave edildi ve 37°C 'de %5 CO_2 'li inkübatörde 3-4 dakika hücreler yüzeyden kalkana kadar bekletildi.
- Hücreler üzerine 3-4 ml besi ortamı eklenerek hücreler pipetleme ile homojen hale getirildi.
- 1 000 Rpm'de 5 dk santrifüjlenerek elde edilen hücre peleti üzerine %90 FBS ve %10 DMSO ilave edildi ve hücre peleti pipetlenerek homojen hale getirildi. Daha sonra hücreler 1ml hacimde kriyo tüplere aktarılarak -86°C derin dondurucuda ve/veya -196°C 'de sıvı azot içerisinde saklandı.

Çözdürme İşlemi

- Stoklanmış hücrelerden çözdürülerek yeni kültürler hazırlanabilir. Çözdürülecek olan hücreler saklandığı yerden alınmadan önce hücre kültür kabına 37°C 'ye ısıtılmış ortam konuldu ve hücrelerin eklenmesine hazır halde tutuldu.
- Dondurulmuş hücreler çıkarıldıktan hemen sonra 37°C su banyosunda çözdürüldü.
- Ardından hücre kültür kabı üzerine dikkatlice ilave edildi ve sekiz hareketi yaparak hücrelerin eşit dağılması sağlandı.

Hücre Sayımı

Hücre sayımı, hücre yoğunluğunun saptanması için yapılır. Hücre pasajlaması sırasında hemositometride sayım yapılarak yeni kültüre istenen miktarda hücre alabilmek için yapılmaktadır.

- Steril cam pastör pipetleri kullanarak vakum pompası yardımıyla kültür kabındaki ortam uzaklaştırıldı.
- Kültür yüzeyi Ca^{2+} ve Mg^{2+} içermeyen steril PBS ile bir kez yıkandı.

- PBS uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml tripsin-EDTA solüsyonu ilave edildi ve 37°C’de %5 CO₂’li inkübatörde 3-4 dakika hücreler yüzeyden kalkana kadar bekletildi.

- Hücreler üzerine 3-4 ml besi ortamı eklenerek hücreler pipetleme ile homojen hale getirildi.

- 1 500 rpm’de 5 dk santrifüjlenerek elde edilen hücre peleti 1 ml ortamda homojen hale getirildi.

- Sayım için hücre süspansiyonundan 10 µl alınıp tripan mavisile 100 µl’ye tamamlandı.

- Karışım pipetle homojenize edildi.

- Hemositometre üzerine bir lamel koyulur ve sayılacak hücre süspansiyonu bu ikisi arasına pipetle kenardan verildi.

- Hücreler görülen 9 büyük karede sayıldı.

- Mililitredeki hücre sayısını (hücre sayısı/ml) belirlemek için aşağıdaki formülden yararlanılır:

$$\text{Hücre sayısı/ml} = \text{Sayılan hücre miktarı} \times \text{Dilüsyon oranı} (10 \times 10^4) / 9$$

5.2.4. MTT Proliferasyon Testi

MTT testi hücre proliferasyonunu indirekt olarak değerlendirmeyi amaçlayan ve hücre kültürü temeline dayanan bir ilaç/etken madde duyarlılığı testidir. Teste kullanılan MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide), kültür ortamındaki canlı hücrelerin mitokondrilerindeki süksinat-dehidrogenaz enzimlerine spesifiktir. MTT suda çözünen bir tetrazolium tuzudur ve absorbe edildiğinde tetrazolium halkası, canlı hücrelerin mitokondrisinde yer alan süksinat-dehidrogenaz enzimleri ile parçalanarak suda çözünmeyen mor renkli formazan tuzlarına dönüşmektedir. Oluşan bu formazan tuzları bir çözücü yardımı ile tekrar suda çözülebilir hale getirilir ve meydana gelen renk değişimi spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir. Ölçülen değer kültürdeki canlı hücrelerin metabolik aktivitelerini göstermektedir.

- MTT stok solüsyonu steril PBS tamponu ile 5 mg/ml olarak hazırlanmaktadır.

- MTT stok solüsyonu kullanımdan hemen önce 1:10 oranında medyum ile dilue edilerek 0,5 mg/ml oranında hazırlandı.
- Bor diester malik asit sodyum tuzu ve bor sitrat diester sodyum tuzu distile su kullanılarak çözündürülmüştür.
- MTT analizi için 96 göz paletlere 5 000~10 000/göz hücre ekilmiştir, 24 saat inkübasyon yapılarak tutunmaları sağlanmıştır.
- Sentetik bor bileşenleri sırayla 500 uM-400 uM-300 uM-200 uM-100 uM-50uM-25uM-10uM dozlarda besi ortamı içerisinde hazırlanmıştır.
- Hücreler farklı konsantrasyonlarda madde içeren ortamda 48 saat inkübe edilmiştir.
- 48 saat sonra madde içeren ortam vakum pompası ile uzaklaştırıldı.
- Kuyucuk başına 200µL MTT (0.5 mg/ml) eklendi.
- Negatif kontrol için DMSO (Dimetil sülfoksit), pozitif kontrol için starsporine (S) kullanıldı.
- MTT ışıktan etkilenmemesi için alüminyum folyo ile sarılıp 37°C’de %5 CO₂’li inkübatörde 4 saat inkübe edildi.
- MTT içeren besi ortamı uzaklaştırılarak karanlık ortamda her kuyucuğa 200 ul %100 DMSO eklendi.
- Platelere tekrar folyoya sarıldı ve mor renkli formazan kristallerinin çözünmesi için oda sıcaklığında 10 dk boyunca çalkalayıcıda bekletildi.
- 595 nm dalga boyunda mikroparka okuyucu (Biotek ELx800) ile oluşan mor renkteki formazan miktarı ölçüldü.

5.2.5 Madde Uygulanması

- Hücre kültür kaplarından toplanan ve sayımı gerçekleştirilen hücrelerden 6 gözlü platelere ekim yapıldı.
- 48 saat 37°C’de %5 CO₂’li inkübatörde tutuldu.
- 48 saat sonunda platelerden hücre ortamı uzaklaştırıldı.
- Örnek başına 500uM 3 uL madde uygulaması gerçekleştirildi.
- 48 saatin ardından enflamatuvar ortam oluşturmak için TNF- α uygulaması kuyucuk başına 2,5 uL olacak şekilde uygulama yapıldı.
- 1 saat 37°C’de %5 CO₂’li inkübatörde tutuldu.

- Kontrol grubu için hiçbir uygulama yapılmadı. Bir guruba yalnızca TNF- α uygulaması yapıldı.
- Bor türevleri için karşılaştırılma yapılabilmesi için sadece bor türevi ve bor türevi + TNF- α şeklinde uygulama yapıldı.

5.2.6 PCR Analizi

Hücre Kültüründen İzolasyon

- Madde uygulaması yapılan platelerden RNA izolasyonu için pelet elde edildi.
- Steril cam pastör pipetleri kullanarak vakum pompası yardımıyla kültür kabındaki ortam uzaklaştırıldı.
- 0,8 ml tripsin-EDTA solüsyonu ilave edildi ve 37°C’de %5 CO₂’li inkübatörde 3-4 dakika hücreler yüzeyden kalkana kadar bekletildi.
- Hücrelerin Üzerine 2 ml ortam eklenerek tripsin inaktive edildi ve plateki sıvı toplanarak falcon tüpe aktarıldı.
- Plate 2 ml ortam daha eklenerek yıkama yapıldı ve sıvı falcona aktarıldı.
- 2 000 rpm de 5 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında süpernatant uzaklaştırıldı.
- Hücrelerin üzerine 500 ul 1X PBS eklendi. Homojenize edilerek ependorfa aktarıldı.
- Soğutmalı santrifüj 10 000 RCF +4 °C’de 1 dk boyunca santrifüj edildi.
- Pelet üzerindeki sıvı uzaklaştırıldı.
- Soğutmalı santrifüj 10 000 RCF +4 °C’de 1 dk boyunca tekrar santrifüj edildi.
- Pelet üzerindeki sıvı uzaklaştırıldı ve pelet -80 °C’de saklandı.

RNA İzolasyonu

- RNA izolasyonu kit kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm adımlar protokole uygun şekilde yapıldı.
- %1 B-merkaptonal eklenen lizis bufferdan 350 uL eklendi.
- %70 etanolden 350 uL eklendi ve viskozite giderilene kadar pipet lup-down yapıldı.

- RNA bağlama kolonu 2 ml santrifüj tüpüne geçirildi. Elde edilen homojenizat kolona aktarıldı.
- 14 000 rpm de 30 sn santrifüj yapıldı. Süzüntü döküldü ve kolon tekrar santrifüj tüpüne geçirildi.
- High Wash solüsyon (5X) %100 etanol ile Low wash solüsyona (1X) düşürüldü.
- 700 ul Low wash solüsyondan (1X) kolona eklendi.
- 14 000 rpm de 30 sn santrifüj yapıldı. Süzüntü döküldü ve kolon tekrar santrifüj tüpüne geçirildi.
- DNaseI lyophilize üzerine 250 ul 10Mm Tris Ph 7,5 eklendi.
- Örnek başına 5ul DNaseI + 75ul DNase solüsyon mix hazırlandı ve kolona eklendi.
- Oda sıcaklığında 15 dk inkübe edildi.
- High Wash solüsyon (5X) 700 ul kolona eklendi.
- 14 000 rpm de 30 sn santrifüj yapıldı. Süzüntü döküldü ve kolon tekrar santrifüj tüpüne geçirildi.
- Kolon 14 000 rpm de 2 dk santrifüj yapıldı.
- Kolon 1,5 ml kapaklı santrifüj tüpüne geçirildi.
- 40 ul elüsyon buffer eklendi. 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Kolon 14 000 rpm de 2 dk santrifüj yapıldı.
- Elde edilen RNA örnekleri buz üzerine alındı ve nanodorop ile miktar ve saflık ölçümleri yapıldı.

cDNA Sentezi

- cDNA sentezi için hazırlık aşamaları buz üzerinde ve kit protokolüne (BIORAD # 170-8840) uygun şekilde tamamlanmıştır.
- Nanodrop ölçümü yapılan RNA örneklerinden 800 ng alınacak şekilde hesaplama yapıldı.
- Hacim Dnase free H₂O kullanılarak 15 ul'ye tamamlandı.
- Örnekler üzerine 4ul 5x iscript mix ve 1 ul reverse transkriptaz eklendi.
- PCR tüpleri içerisinde yer alan örnekler 15 dk 25 °C de bekletildi.
- Ardından ısı bloğu kullanılarak sırasıyla 30 dk 42 °C de ve 5 dk 90 °C tutuldu.

- cDNA'lar için nanodrop ile ölçüm yapıldı ve örnekler -20 °C ye kaldırıldı.

Kontrol olarak TBD gen ekspresyonu kullanıldı. TMPRSS2, ACE2, NFκB, IκB, CATS, CATB, IL-1β, IL-1α, IL-6 genlerinin ekspresyon seviyeleri incelendi.

5.2.7. İstatik Analiz

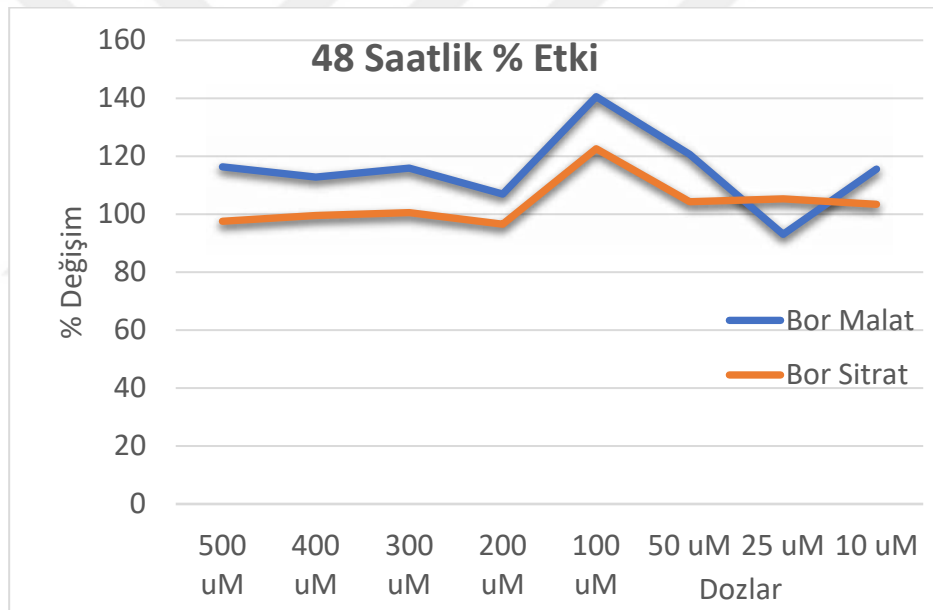
RT-PCR ile yapılan analiz sonucunda elde edilen CT değerleri kullanılarak deney gruplarında katsayısı değişiklikleri hesaplanmıştır. Hesaplama yapılırken housekeeping TBD'e göre normalize edilmiştir ve $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ değeri kullanılmıştır. Microsoft Excel programı kullanılarak hesaplamalar ve grafik çizimleri yapılmıştır.



6.BULGULAR

6.1 Bor Malat ve Bor Sitrat Bileşiklerinin Hücre Canlılığına Etkisinin İncelenmesi

Bor sitrat ile bor malatın MRC-5 hücre hattı canlılığına etkisi belirlenen konsantrasyonlara (250 MM, 200 MM, 150 MM, 100 MM, 50 MM, 25 MM, 12,5 MM) bağlı olarak 48 saatlik süreçte analiz edildi. Kullanılan konsantrasyonların hiçbirinde normal sağlık fibroblast hücre hattı olan MRC-5 hücrelerine bor bileşiklerinin herhangi bir negatif veya toksik etkisi görülmemiştir ve şekil 13'te gösterilmiştir.



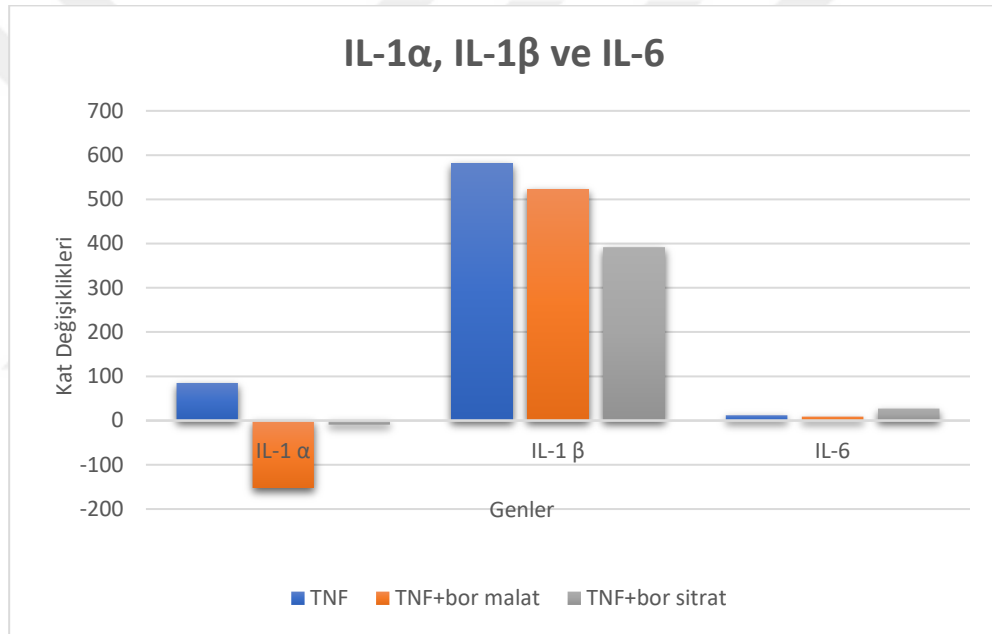
Şekil 12: Bor Bileşiklerinin MRC-5 Hücre Canlılığına 48 saatlik % etkisi

6.2 Bor Sitrat ve Bor Malat Bileşiklerinin mRNA Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkileri

Bor Sitrat ve Bor Malat bileşiklerinin MRC-5 normal akciğer fibroblast hücre hattında CatS, CatB, TMPRSS2, ACE2, NFκB-p50, NFκB-p65, IκB, IL-1β, IL-1α, IL-6 genlerinin mRNA ekspresyon düzeyi RT-PCR ile yapıldı. Pozitif kontrol olarak TNF-α ve referans gen olarak TBD housekeeping geni kullanılmıştır. Gen Ekspresyon değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ile hesaplandı. RT-PCR sonucuna göre belirlenen kat değişimleri tablo 10'da gösterilmiştir.

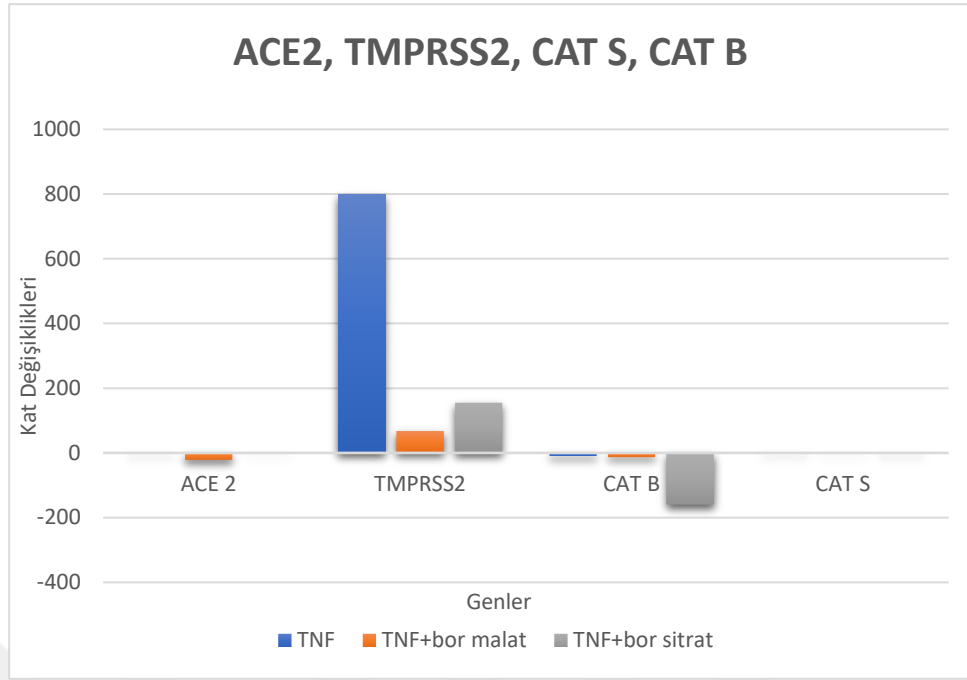
Tablo 10: RT-PCR sonucunda hesaplanan gen kat değişimleri

	Bor malat	Bor sitrat	TNF	TNF α +bor malat	TNF α +bor sitrat
IL-1 α	41,96	-12,64	85,07	-152,40	-8,61
IL-1 β	87,55	2,54	581,79	523,37	391,53
IL-6	1,15	-193,33	11,75	8,94	27,15
NFKB p50	-1,25	-22,77	36,01	1,54	3,26
IKB α	11,07	-2030,46	-11,55	-1,88	-88595,39
NFKB p65	-2,34	-107,63	-1,65	-3,32	-1,36
ACE 2	34,38	1,82	-1,91	-21,21	-1,03
TMPRSS2	32,48	4171,00	797,91	67,98	155,23
CAT B	47,54	-279,07	-9,12	-12,61	-159,70
CAT S	1,34	-63,59	1,90	-1,20	-2,00



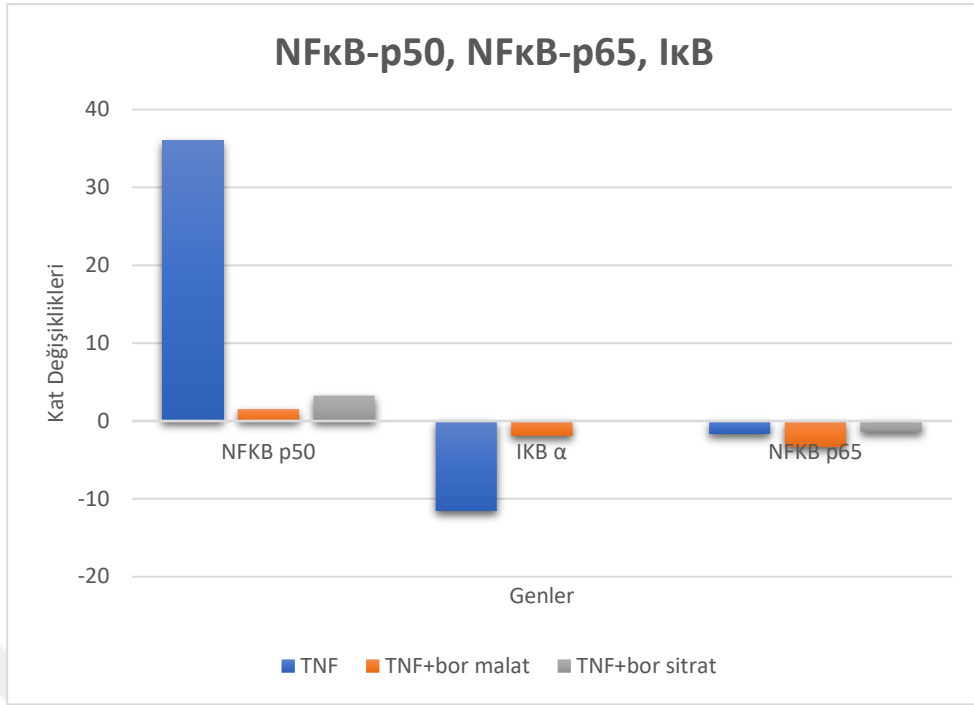
Şekil 13: Bor bileşiklerinin IL-1 α , IL-1 β ve IL-6 ekspresyon düzeylerinde gösterdiği kat değişiklikleri

Bor sitrat ve bor malatın, TNF- α indüksiyonu sonrasında oluşan enflamatuvar yanıtta etkisi IL-1 α , IL-1 β ve IL-6 gen düzeylerinde incelenmiş ve şekil 14'te gösterilmiştir. MRC-5 hücre hattında TNF- α + bor malat uygulandığında IL-1 α ekspresyonunda 152 katlık azalma, IL-1 β ekspresyonunda 523 kat artış ve IL-6 ekspresyonunda 8 kat artış olduğu belirlendi. TNF- α + Bor Sitrat uygulandığında ise IL-1 α ekspresyonunda 8,6 katlık azalma, IL-1 β ekspresyonunda 391 kat artış ve IL-6 ekspresyonunda 27,1 kat artış olduğu belirlendi.



Şekil 14: Bor bileşiklerinin ACE2, TMPRSS2, CAT S, CAT B ekspresyon düzeylerinde gösterdiği kat değişiklikleri

Bor sitrat ve bor malatın, TNF- α indüksiyonu sonrasında oluşan enflamatuvar yanıtta virüsün hücreye girişinde rol oynayan moleküller üzerindeki etkisi ACE2, TMPRSS2, CAT B, CAT S gen düzeylerinde incelenmiş ve Şekil 15'te gösterilmiştir. MRC-5 hücre hattında TNF- α + Bor Malat uygulandığında ACE2 ekspresyonunda 21,2 katlık azalma, TMPRSS2 ekspresyonunda 67 kat artış görüldü. CAT B ekspresyonunda 12,6 katlık azalış ve CAT S 1,2 kat azalış olduğu belirlendi. TNF- α +Bor Sitrat uygulandığında ise ACE2 ekspresyonunda 1,03 katlık azalış, TMPRSS2 ekspresyonunda 155,2 kat artış, CAT B ekspresyonunda 159,7 katlık azalış ve CAT S 2 kat azalış olduğu belirlendi.



Şekil 15: Bor bileşiklerinin NFκB-p50, NFκB-p65, IκB ekspresyon düzeylerinde gösterdiği kat değişiklikleri

Bor sitrat ve bor malatın, TNF- α indüksiyonu sonrasında oluşan enflamatuvar yanıtta NFκB-p50, NFκB-p65, IκB gen düzeyleri incelenmiş ve şekil 16'da gösterilmiştir. MRC-5 hücre hattında TNF- α +Bor Malat uygulandığında NFκB-p50 ekspresyonunda 1,54 kat artış, NFκB-p65 ekspresyonunda 3,3 kat azalış ve IκB ekspresyonunda 1,88 kat azalış olduğu belirlendi. TNF- α +Bor Sitrat uygulandığında ise NFκB-p50 ekspresyonunda 3,2 kat artış, NFκB-p65 ekspresyonunda 1,3 kat azalış ve IκB ekspresyonunda 88 595 kat azalış olduğu belirlendi.

7.TARTIŞMA

Çalışmamızda, MTT analizinde kullanılan konstantrasyonların hiçbirinde, normal sağlıklı fibroblast hücre hattı olan MRC-5 hücrelerine, bor bileşiklerinin herhangi bir negatif veya toksik etkisi görülmemiştir. Bor sitrat ve Bor malat TMPRSS2'yi inhibe etmiştir. Bor malat ACE2'yi inhibe ederken, Bor sitrat uygulamasında önemli bir değişiklik olmamıştır. TNF- α ile indüklenen hücrelerde bor sitrat ve bor malat bileşiklerinin her ikisinin de CatS ve CatB gen seviyesini inhibe ettiği bulunmuştur. Bor sitrat ve bor malat bileşiklerinin IL-1 β ile IL-1 α gen ekspresyon seviyelerini inhibe ettiği ve IL-6 gen ekspresyon seviyesini arttırdığı görüldü. Bor malatın ve bor sitrat NF κ B-p50 ekspresyonunu artırdığı fakat NF κ B-p65, I κ B gen ekspresyon düzeylerini azalttığı saptanmıştır.

Covid-19 hücre füzyonu sırasında spike (S) proteinin alt birimi olan S1'in hücre membran reseptörüne bağlanmasına ve hücredeki proteazlar tarafından işlenerek S1/S2 alt birimlerine kesilmesine ihtiyaç duyar. S proteinin proteazlar tarafından işlenmesi virüsün hücreye girişinde kritik rol oynar. TMPRSS2 (Glowacka et al., 2011; Matsuyama et al., 2010) ve CatB/L (Simmons et al., 2005) serin proteazlarının bu kesilme işlemini gerçekleştiren moleküller olduğu bildirilmiştir. CatS sistein katepsin proteaz ailesinin üyesidir ve MHC Sınıf II sunucudur. Hastalık tedavilerinde ideal hedef olarak görülmektedir. Otoimmün hastalıklar, alerjik inflamasyon ve astım, diyabet ve obezite, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, kistik fibrozda CatS hedeflenerek tedavi oluşturma çalışmaları devam etmektedir. Ayrıca dokularda farklı seviyelerde ekspresyonu nedeniyle belirteç olarak da kullanılabileceği düşünülmektedir (Wilkinson et al., 2015).

Hoffmann et al. 293T hücreleri (TMPRSS⁻) ve Caco-2 (TMPRSS⁺) hücre hatlarında SARS-2-S virüs enfeksiyonu araştırmışlardır. Sonuç olarak TMPRSS2⁻ hücrelerde amonyum klorid (CatB/L bloker) ile muamele sonrası SARS-2-S hücre girişin bloke olduğunu tespit edilmiştir (Hoffmann et al., 2020). Iwata-Yoshikawa ve ark. yaptığı çalışmada TMPRSS2 yetmezliği olan farelerde akciğerde viral kinetik zayıflaması gözlemlenmiş ve TMPRSS2 knockout farelerde ise inflamatuvar kemokin ve/veya sitokin cevabın zayıfladığını kanıtlanmıştır (Iwata-Yoshikawa et al., 2019).

Yeni sentez bor bileşiklerinin iyi huylu prostat büyümesinde anti-proliferatif ve anti-enflamatuvar etkileri Korkmaz lab tarafından araştırılmıştır. BPH-1 hücre

hattında serin proteaz inhibisyonu (Hepsin/TMPRSS1, PRSS8 ile Cathepsin S/CatS) ve NF- κ B yolağının inaktivasyonu aracılığıyla IL-8 ve IL-6 gibi sitokinlerin salınımını ve dolayısıyla enflamasyonu engelleyerek prostat hiperplazisi ve prostat iltihabı gibi hastalıkların tedavisinde potansiyel olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Hepsin/TMPRSS1 ve PRSS8 ile CTSS/Cathepsin S seviyesinin sentetik bor bileşikleri varlığında azaldığı gösterilmiştir. CatB Sars-Cov-2'nin hücreye girişinde etkili olabileceği düşünülen lizozomal proteazdır (Hoffmann et al., 2020). CatB overekspresyonu birçok malignite ile ilişkilendirildiği için birçok çalışmada hedeflenmiştir (Gondi, 2013).

Bu çalışmada TMPRSS2 gen seviyesindeki değişiklikler incelendiğinde her iki bileşiğin TMPRSS2'yi inhibe ettiği fakat bor malatın daha etkin olduğu görülmüştür. TMPRSS2'nin hedeflendiği çalışmalar göz önüne alındığında gen ekspresyonunun inhibe edilmesinin sitokin yanıtı ve enflamasyonu azalttığı görülmüştür. Bu bağlamda bor malat başta olmak üzere her iki bileşiğin de SARS-Cov-2 hücre girişini engellemede ve buna bağlı olarak virüs bulaşıcılığını azaltmada etkileri olabileceği ortaya konmuştur. Covid-19 pandemisi ile mücadelede bor malat ve bor sitratın potansiyel bir ajanlar olabileceği ön görülmektedir.

Elde edilen sonuçlar TNF- α ile indüklenen hücrelerde bor sitrat ve bor malat bileşiklerinin her ikisinin de CatS ve CatB gen seviyesini inhibe ettiğini göstermiştir. Bor sitrat ve bor malatın Sars-Cov-2 hücre girişinde alternatif rol oynadığı düşünülen proteazların gen seviyelerini inhibe ediyor olması, virüsün hücreye girişini engellemede kullanılabilecek ajan olma potansiyellerini güçlendirmiştir.

ACE2 sadece SARS-CoV'nin invazyonunu ve hızlı replikasyonunu kolaylaştırmakla kalmaz, aynı zamanda hücre zarı tarafından da kullanılır, böylece anjiyotensin II'ye zarar verir ve bu da akciğer dokularında akut hasarla sonuçlanır. Muchtaridi ve ark. ACE2'nin reseptör bağlanma bölgelerini göz önüne alarak yaptıkları çalışmada ACE2 inhibitörleri için kritik kalıntılar belirlemiş ve inhibitör aracılığıyla ACE2 ile SARS-Cov-2 etkileşiminin önüne geçilebileceği belirtilmiştir (Muchtaridi et al., 2020). ACE2 kalpte yüksek oranda eksprese edilir. Ferrario ve Mullick'in Toronto'da yaptığı çalışmada Sars-Cov'dan dolayı ölen hastaların otopsi kalp örneklerinde Sars-Cov tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu örneklerde artmış makrofaj infiltrasyonu, miyokard hasarı ve ACE2 ekspresyonunda önemli bir azalma tespit edilmiştir (Ferrario & Mullick, 2017). ACE2, Covid-19'un hücreye girişinde kapı görevi görmesinin yanında akciğer hasarının gelişmesi ile

ilişkilidir. Kuba ve ark. RAS sinyal yolunun bloke edilmesinin Sars-Cov-2'nin neden olduğu ARDS'yi hafifletebileceğini göstermiştir (Kuba et al., 2005). ACE2, RAS'ın tersiniri olarak çalışır ve şiddetli pulmoner ödem ve ARDS'in iyileştirilmesinde rol oynar (S. ren Li et al., 2020). Huentelman ve ark. ACE2'yi hedef alacak ajanları hedeflemek için moleküler docking ile ACE2 ve Sars-Cov-2 etkileşiminde anahtar rol oynayan aminoasitler belirlemişlerdir. Li ve ark., Huentelman ve ark'nın belirlediği aminoasitlerden S protein aracılıklı hücre füzyonunu inhibe etmeye uygunluklarını araştırmışlardır. Li ve ark. Yaptığı çalışmanın sonunda yeni bir ACE2 inhibitörü olarak NAAE keşfedilmiştir fakat ilacın etkili olup olmadığı henüz teyit edilememiştir (Huentelman et al., 2004; Li et al., 2020).

Bu çalışmada bor malat ve bor sitrat bileşiklerinin ACE2 gen ekspresyon seviyesini azalttığı görüldü. S protein aracılıklı hücre füzyonunun engellenmesinde bor bileşiklerinin ACE2 inhibitörü olarak potansiyelinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

TNF- α , enflamatuvar yanıt sırasında sitokinez kaskatını başlatmakta ve düzenlemekte görevlidir. Birincil rolü bağışıklık hücrelerinin düzenlenmesi olan TNF- α aktif makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, eozinofiller, CD4+ hücreleri lenfositleri gibi birçok hücre tipi tarafından üretilir (Tekeli et al., 2021).

Covid-19 hastalık seyrinde sitokin fırtınası önemli rol oynar. Temel özelliği ateş, solunum zorluğu, CRP, ferritin, özellikle IL-6 ve IL-1 β , IL-7, IL-8, IL-9, IL-10 gibi inflamatuvar göstergelerin yüksekliğidir. Tanıda sitokin fırtınasının belirlenmesi için IL-6 seviyesi ölçülmektedir (Atak yücel, 2020). IL-6 fibroblast, endotel hücreler ve monositlerden salgılanır. IL-1 ve TNF- α ile, inflamatuvar yanıtın önemli bir aracısı olarak kabul edilir (Tekeli et al., 2021). IL-6 seviyesinin yükselmesiyle ateş, hızlı ilerleyen böbrek hasarı, anemi, akut faz proteinlerinde artış gibi yanıtlar ortaya çıkmaktadır. Covid-19 hastalarında, hastalığın seyrinin kötüleşmesinde sitokin fırtınasının da rolü bulunmaktadır. Sitokin fırtınasının engellenmesi ve/veya seyrinin hafifletilmesinin mortalite üzerinde olumlu etkileri olabilir.

Tocilizumab, romatoid artrit tedavisinde kullanılan IL-6 reseptörlerinin hedefleyen monoklonal antikordur. 2017 yılında FDA tarafından sitokin salınım sendromu tedavisi için onaylanmıştır. Covid-19 'da artan mortalite IL-6 seviyeleri ile ilişkilendirilince Tocilizumab covid-19 tedavisi olarak kullanılmıştır Izda ve ark. Hastaneye yatan vakalarla yaptıkları klinik araştırmada IL-6'yı baskılamada başarılı

olan tocilizumabın mortaliteyi veya entübasyon oranını azaltmada etkisiz olduğu gösterilmiştir (Izda et al., 2021; Tanaka et al., 2014).

IL-1 α ateş ve sepsisi teşvik eder, iltihaplanmada rol alır. Aktif makrofaj, nötrofiller ve epitel hücreleri tarafından salgılanır. Akut faz proteinlerinin salgılanması için hepositleri uyarır ve bağışıklık tepkilerinin düzenlenmesinde rol alır. IL-1 β hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozda rol alan inflamatuvar sitokindir. Enflamatuvar yanıtın önemli bir aracısıdır. Hem IL-1 α hem de IL-1 β reseptöre bağlandıktan sonra NF- κ B yolağı üzerinden inflamatuvar sitokin ve TNF- α salınımını uyarırlar (Tekeli et al., 2021).

IL 1 α reseptörü blokeri olan anankira otoinflamatuvar ve periyodik ateş sendromlarında rutinde kullanılan tedavidir ve covid-19 tedavisinde de kullanılmıştır. Sespisli hastalarda sağkalım yararı ve tocilizumabın MASlı erişkinlerde başarısızlığından sonra sitokin fırtınasının tersine çevrilmesinde kullanılmış ve olumlu yanıtlar alınmıştır (NIH, 2021). Bozkurt vd. IL-1 β , IL-8 IL-17, IL 10 üzerinde borik asidin etkilerini incelemiş ve IL-1 β ve IL-17 mRNA ekspresyonlarında anlamlı şekilde azalma ($P<0,01$) ve IL-10 ve IL-8 mRNA ekspresyonlarında anlamlı şekilde artış gözlemişler ve insan dental pulpa-mezenkimal kök hücrelerinde borik asidin sitokin profilini modüle ettiğini belirtmişlerdir (Korkmaz, 2020).

Rogoveanu ve ark kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri incelemek üzere CFB ile yapılan çalışmada bazı enflamatuvar belirteçler de değerlendirilmiştir. CFB'nin LDL-kolesterol, trigliseritler, toplam kolesterol, IL-1 β , IL-6 ve CRP seviyelerinin düşürdüğü görülmüştür (Rogoveanu et al., 2015).

Scorei ve Rotaru ise LPS (Lipopolisakkarit) ile uyarılan RAW264.7 makrofaj hücrelerine CFB uygulamış ve sonuç olarak IL-1 β , IL-6 ve nitrik oksit salınımının azaldığını göstermişlerdir (R. I. Scorei & Rotaru, 2011).

Hussain ve ark. kalsiyum fruktoborat veya sodyum tetraboratın plasebo grupla karşılaştırıldığı çalışmada 60 gün süreyle romatoid artrit hastalarına destekleyici tedavi uygulamıştır. Bor bileşenlerini kullanan her iki grupta plasebo grubuna göre IL-1 α ve IL-6 seviyelerinin düştüğü, enflamatuvar yanıtın anlamlı düzeyde azaldığı ve ağrılarının hafiflediği gözlemlenmiştir (Hussain et al., 2017).

Routray ve Ali tarafından LPS ile stimüle edilen BALB/c farelerinde sodyum tetraboratın (boraks) oral olarak verildiği çalışmada TNF- α , IL-6, IL-1 β , NO salgılanmasını doza bağımlı olarak değiştirdiği gözlemlenmiştir. En belirgin etki 4.6 mg/kg doz seviyesinde ve TNF- α , IL-6, IL-1 β , NO salınımının artması şeklinde ölçülmüştür (Routray & Ali, 2016).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ise bor sitrat ve bor malat bileşiklerinin IL-1 β ile IL-1 α gen ekspresyon seviyelerini inhibe ettiği görülmüştür. Rogoveanu ve ark. ile Hussain ve ark. yaptıkları çalışmalardan elde edilen sonuçlar da CFB nin, IL-1 β ile IL-1 α seviyelerini azalttığını göstermiştir. Routray ve Ali tarafından yapılan çalışmada ise IL-1 β 'nın sodyum tetraborat varlığında yükseldiği gösterilmiştir.

Yine bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar bor sitrat ve bor malat bileşiklerinin IL-6 gen ekspresyon seviyesini arttırdığını göstermiştir. Rogoveanu ve ark. ile Hussain ve ark. yaptıkları çalışmalardan elde edilen sonuçlar ise CFB varlığında IL-6 seviyesinin azaldığını göstermişlerdir. Routray ve Ali tarafından yapılan çalışmada ise IL-6'nın sodyum tetraborat varlığında yükseldiği gösterilmiştir.

Turkez ve ark. Glioblastoma hücre hatlarında yaptıkları çalışmada borik asit (BA) maruziyetinin IL-1 α ve IL-6 seviyelerindeki değişimleri belirlenmiştir. Sadece U-87MG hücre hattında IL-1 α seviyesinin %19 ve IL-6 seviyesinin %10 azaldığı görülmüştür. Ayrıca TNF- α seviyesinin de aynı şartlarda %36 düştüğü görülmüştür (Turkez et al., 2021).

NF- κ B sinyal yolu proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu teşvik eder. NF- κ B inflamatuvar yanıtın yansıra hücre büyümesi ve apoptoz işlevlerini düzenler, kanser ve sinir sistemi işlevlerinde rol oynar. çeşitli uyaranlara yanıt veren NF- κ B virüsler tarafından da kullanılır (Su et al., 2021). İnhibitör özellikte olan I κ B, NF- κ B ile bağlı bulunur ve fosforillenmesinin ardından NF- κ B aktif hale gelir. Bundan dolayı I κ B'nin bozulmasına yol açmak da dolaylı yoldan NF- κ B inaktivasyonunu sağlamış olur.

NF- κ B aracılı sitokin üretimi ile artan enflamasyon Covid-19 hastalarında klinik seyrinin ağırlaşmasında rol oynar. D vitaminin TNF- α 'nın aşağı akış hedeflerini azalttığı, bağışıklık hücrelerinde NF- κ B aktivitesini doğrudan modüle ettiği bildirilmiştir (Hariharan et al., 2021).

DeDiego ve ark. modife SARS-CoV-MA15 ve rSARS-CoV-MA15- Δ E (E protein geni silinmiş) virüs genleri ile enfekte edilen fare ve fare hücrelerinde yaptıkları kültür çalışmasında tedavi olarak dört farklı NF- κ B inhibitörü (CAPE,

resveratrol, Bay11-7082 ve parthenolide; 20mg/kg vücut ağırlığı/gün dozunda tek başına veya %1,2 dimetil sülfoksit [DMSO] ve %2,5 Tween 20 içeren fosfat tamponlu salin [PBS] içerisinde verilmiştir.) ile tedavinin hücre canlılığını etkilemeden NF- κ B aktivasyonunun azalttığı tespit etmişlerdir. CAPE ve parthenolide enfeksiyondan sonra fare sağkalımını artırmış ve akciğerlerde proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azaltmıştır. Ayrıca iki inhibitörün birlikte kullanımı daha yüksek oranda sağkalımı sağlamıştır (DeDiego et al., 2014).

Su ve ark. HeLa hücrelerinde lüsiferaz raportör tahlili kullanılarak Sars-Cov-2 proteinlerinin NF- κ B aktivasyonu üzerindeki rolünü incelemişler ve ORF3a, M, ORF7a ve N proteinlerinin NF- κ B aktivatörü olduğunu tespit etmişleridir. Bu durum doğrudan virüsün enflamatuvar yanıtı tetiklediğini ve proinflamatuvar sitokinlerin aşırı ekspresyonu ile ARDS dahil ciddi klinik sonuçlara sebep olabileceğini göstermiştir (Su et al., 2021).

Elde ettiğimiz sonuçlar incelendiğinde bor malatin ve bor sitrat NF κ B-p50 ekspresyonunu artırdığı fakat NF κ B-p65, I κ B gen ekspresyon düzeylerini azalttığı görülmüştür. Hastalığın patolojinin artmasına neden olarak klinik tabloyu ağırlaştıran ARDS'nin ortaya çıkmasına engel olmakta NF κ B'nin inhibe edilmesi potansiyel tedavi yöntemi olarak düşünülmüştür. Farklı araştırma ekipleri tarafından potansiyel NF κ B inhibitör arayışı ortaya çıkmıştır. Bu çalışma elde ettiğimiz sonuçlar göz önüne alındığında bor bileşiklerinin NF κ B inhibitör potansiyeli taşıdığı ayrıca I κ B'nin düzenlenmesinde rol olarak NF κ B miktarını düzenleyebileceği düşünülmüştür.

Akbari ve ark. Covid-19 tanısı alan 40 hasta ile randomize çift kör çalışma yapmışlardır. 4 farklı gruba ayrılan hastalara günde iki kez 5mg bor sitrat, günde iki kez 200 mg oleoiletanolamid, her iki çalışma ilacı, ilaç olmadan rutin tedavi (1:1:1:1) verilmiştir. Bor sitrat tek başına ve kombinasyon halinde O₂ doygunluğu, solunum hızında iyileşme, lenfosit sayısında artış gözlemlenmiştir. Ayrıca bor sitrat CRP ve IL-1 β konsantrasyonlarında önemli azalmalara sebep olmuştur. IL-6 seviyeleri için dört grup karşılaştırıldığında anlamlı değişiklik bulunmamıştır. Akbari ve ark. Tek başına veya kombinasyon halinde bor sitrat takviyesinin Covid-19 hastalarında bazı parametreleri iyileştireceğini öne sürmüşlerdir (Akbari et al., 2022).

8.SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak borun serin proteaz özelliği TMPRSS2 ve ACE2 gen ekspresyonlarını inhibe etmesi ile Sars-Cov-2 hücre girişini engellemede potansiyel ajan olabileceği düşünülmüştür. NFκB ve IκB için inhibitör olma potansiyeli ile hastalığın klinik tablosunu hafifletme potansiyeli bulunmaktadır. Bor bileşikleri ile yapılan çalışmalarda IL-1 β , IL-1 α ve IL-6 için farklı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Borik asit, kalsiyum fruktoborat, sodyum tetra borat, bor sitrat, bor malat vs. şeklinde sentezlendiğinde antienflamatuvar sitokinler üzerinde farklı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Bunun bir sebebinin yan grup olarak eklenen bileşiklerin borik asit metabolizması üzerine yaptığı etkiler olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada kullanılan bor sitrat diester sodyum tuzu ve bor malat diester sodyum bileşikleri yeni sentez bileşiklerdir.

S protein aracılıklı hücre füzyonunun engellenmesinde bor malatın bor sitrata kıyasla daha etkili olabileceği düşünülmektedir ve ileri çalışmalar ile ACE2 inhibitörü olarak potansiyelinin değerlendirilmesi yerinde olacaktır. Covid-19 pandemisi ile mücadelede bor malat ve bor sitratın potansiyel ajanlar olabileceği görülmektedir.

9.KAYNAKLAR

Aas Jansen, J., Schou, J. S., & Aggerbeck, B. (1984). Gastro-intestinal absorption and in vitro release of boric acid from water-emulsifying ointments. *Food and Chemical Toxicology*, 22(1), 49–53. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(84\)90052-8](https://doi.org/10.1016/0278-6915(84)90052-8)

Ai, T., Yang, Z., Hou, H., Zhan, C., Chen, C., Tao, wenzhi lv qian, Sun, Z., & Xia, L. (2020). Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases Tao. *Radiology*, 296(2). <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200642>

Akbari, N., Ostadrahimi, A., Tutunchi, H., Pourmoradian, S., Farrin, N., Soleimanzadeh, H., Kafil, B., & Mobasser, M. (2022). Possible therapeutic effects of boron citrate and oleoylethanolamide supplementation in patients with COVID-19: A pilot randomized, double-blind, clinical trial. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 71(February), 126945. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2022.126945>

Alagaili, A. N., Bries, T., Mishra, N., Kapoor, V., Sameroff, S. C., de Wit, E., Munster, V. J., Hensley, L. E., Zalmout, I. S., Kapoor, A., Epstein, J. H., Karesh, W. B., Daszak, P., Mohammed, O. B., & Ian Lipkin, W. (2014). Middle east respiratory syndrome coronavirus infection in dromedary camels in Saudi Arabia. *MBio*, 5(2), 1–6. <https://doi.org/10.1128/mBio.00884-14>

Almeida, J. D., & Tyrrell, D. A. (1967). The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *The Journal of General Virology*, 1(2), 175–178. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-1-2-175>

Andersen, F. A. (2001). Final report on the safety assessment of Benzyl Alcohol, Benzoic Acid, and Sodium Benzoate. *International Journal of Toxicology*, 20(SUPPL. 3), 23–50. <https://doi.org/10.1080/10915810152630729>

Arlette, N., & Wouatsa, V. (2015). Biomedical Applications of Natural Proteins. *SpringerBriefs in Biochemistry and Molecular Biology*, 8(Chapter 7 Role of Protein Interleukin 8 (IL-8) in Human Life), 79–88. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2491-4>

Atak yücel, A. (2020). Sitokin Fırtınası ve COVID-19. *Türkiye Klinikleri, İmmünoloji ve Covid-19*, 15–21.

Bai, H. X., Hsieh, B., Xiong, Z., Halsey, K., Choi, J. W., Tran, T. M. L., Pan, I., Shi, L. B., Wang, D. C., Mei, J., Jiang, X. L., Zeng, Q. H., Egglin, T. K., Hu, P. F., Agarwal, S., Xie, F. F., Li, S., Healey, T., Atalay, M. K., & Liao, W. H. (2020). Performance of Radiologists in Differentiating COVID-19 from Non-COVID-19 Viral Pneumonia at Chest CT. *Radiology*, 296(2), E46–E54. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200823>

Bakirdere, S., Orenay, S., & Korkmaz, M. (2014). Effect of Boron on Human Health. *The Open Mineral Processing Journal*, 3(1), 54–59. <https://doi.org/10.2174/1874841401003010054>

Barranco, W. T., & Eckhert, C. D. (2006). Cellular changes in boric acid-treated DU-145 prostate cancer cells. *British Journal of Cancer*, 94(6), 884–890. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603009>

Bartoletti, M., Marconi, L., Scudeller, L., Pancaldi, L., Tedeschi, S., Giannella, M., Rinaldi, M., Bussini, L., Valentini, I., Ferravante, A. F., Potalivo, A., Marchionni, E., Fornaro, G., Pascale, R., Pasquini, Z., Puoti, M., Merli, M., Barchiesi, F., Volpato, F., ... Viale, P. (2020). *Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information . January.*

Benderdour, M., Van Bui, T., Hess, K., Dicko, A., Belleville, F., & Dousset, B. (2000). Effects of boron derivatives on extracellular matrix formation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 14(3), 168–173. [https://doi.org/10.1016/S0946-672X\(00\)80006-1](https://doi.org/10.1016/S0946-672X(00)80006-1)

Benderdour, Mohamed, Hess, K., Gadet, M. D., Dousset, B., Nabet, P., & Belleville, F. (1997). Effect of boric acid solution on cartilage metabolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 234(1), 263–268. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.6621>

Bitnun, A., Allen, U., Heurter, H., King, S. M., Opavsky, M. A., Ford-jones, E. L., Matlow, A., Kitai, I., Tellier, R., Richardson, S., Manson, D., & Babyn, P. (2003). Illness in Toronto. *October*, 112(4), 261–268.

Blech, M. F., Martin, C., Borrelly, J., & Hartemann, P. (1990). Treatment of deep wounds with loss of tissue. Value of a 3 percent boric acid solution. *Presse Medicale (Paris, France : 1983)*, 19(22), 1050–1052. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2141160>

Böesecken, J. (1949). The use of Boric Acid for the Determination of the Configuration of Carbohydrates. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, 4, 189–210. [https://doi.org/10.1016/S0096-5332\(08\)60049-1](https://doi.org/10.1016/S0096-5332(08)60049-1)

Bouchareb, R., Katz, M., Saadallah, N., Sassi, Y., Ali, S., & Lebeche, D. (2020). Boron improves cardiac contractility and fibrotic remodeling following myocardial infarction injury. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73864-w>

Bozkurt, İ., & Keleş, G. T. (2021). COVID- 19 Hastalığı Tanı ve Tedavisinde Kullanılan Laboratuvar Testleri. *CBU-SBED*, 8(2), 380–387. <https://doi.org/10.34087/cbusbed.865763>

Bradke, T. M., Hall, C., Carper, S. W., & Plopper, G. E. (2008). Phenylboronic acid selectively inhibits human prostate and breast cancer cell migration and decreases viability. *Cell Adhesion & Migration*, 2(3), 153–160. <https://doi.org/10.4161/cam.2.3.6484>

Bulut, C., & Kato, Y. (2020). Epidemiology of covid-19. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 50(SI-1), 563–570. <https://doi.org/10.3906/sag-2004-172>

Cai, Q., Yang, M., Liu, D., Chen, J., Shu, D., Xia, J., & Liao, X. (2020). Experimental Treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. *Engineering (Beijing)*, 6, 1192–1198. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.03.007>

Cao, J., Jiang, L., Zhang, X., Yao, X., Geng, C., Xue, X., & Zhong, L. (2008). Boric acid inhibits LPS-induced TNF- α formation through a thiol-dependent mechanism in THP-1 cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 22(3), 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2008.03.005>

Caroli, S., Alimonti, A., Coni, E., Petrucci, F., Senofonte, O., & Violante, N. (1994). The Assessment of Reference Values for Elements in Human Biological Tissues and Fluids: A Systematic Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 24(5–6), 363–398. <https://doi.org/10.1080/10408349408048824>

Chan, J. F. W., Kok, K. H., Zhu, Z., Chu, H., To, K. K. W., Yuan, S., & Yuen, K. Y. (2020). Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerging Microbes and Infections*, 9(1), 221–236. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1719902>

Cheng, V. C. C., Lau, S. K. P., Woo, P. C. Y., & Kwok, Y. Y. (2007). Severe

acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4), 660–694. <https://doi.org/10.1128/CMR.00023-07>

da Silva, F.J., Williams, R. J. (1991). The biological chemistry of the elements: The inorganic chemistry of life. *Oxford University Press*, 58–63.

De Wit, E., Van Doremalen, N., Falzarano, D., & Munster, V. J. (2016). SARS and MERS: Recent insights into emerging coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 14(8), 523–534. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>

DeDiego, M. L., Nieto-Torres, J. L., Regla-Nava, J. A., Jimenez-Guardeño, J. M., Fernandez-Delgado, R., Fett, C., Castaño-Rodriguez, C., Perlman, S., & Enjuanes, L. (2014). Inhibition of NF-κB-Mediated Inflammation in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-Infected Mice Increases Survival. *Journal of Virology*, 88(2), 913–924. <https://doi.org/10.1128/jvi.02576-13>

Devirian, T. A., & Volpe, S. L. (2003). The Physiological Effects of Dietary Boron. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(2), 219–231. <https://doi.org/10.1080/10408690390826491>

Draize, J. H., & Kelley, E. A. (1959). The urinary excretion of boric acid preparations following oral administration and topical applications to intact and damaged skin of rabbits. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1(3), 267–276. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(59\)90111-5](https://doi.org/10.1016/0041-008X(59)90111-5)

Du, Z., Xu, X., Wu, Y., Wang, L., Cowling, B. J., & Meyers, L. A. (2020). Serial interval of COVID-19 among publicly reported confirmed cases. *Emerging Infectious Diseases*, 26(6), 1341–1343. <https://doi.org/10.3201/EID2606.200357>

Duydu, Y., Başaran, N., Üstündağ, A., Aydin, S., Ündeğer, Ü., Ataman, O. Y., Aydos, K., Düker, Y., Ickstadt, K., Waltrup, B. S., Golka, K., & Bolt, H. M. (2011). Reproductive toxicity parameters and biological monitoring in occupationally and environmentally boron-exposed persons in Bandırma, Turkey. *Archives of Toxicology*, 85(6), 589–600. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0692-3>

Fail, Patricia a; Chapin, Robert E; Price, Catherine J; Heindeli, J. J. (1998). Toxicity of Boronated Compounds. *Health (San Francisco)*, 12(1), 1–18.

Faridi, S., Niazi, S., Kaveh, S., Naddafi, K., Yavarian, J., & All, E. (2020). A field indoor air measurement of SARS-CoV-2 in the patient rooms of the largest hospital in Iran. *Science of the Total Environment*, 725. <https://doi.org/doi:10.1016/j.scitotenv.2020.138401>

Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. In H. J. M. et Al. (Ed.), *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1282, Issue 1). Springer Science+Business Media. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1

Fernandes, G. F. S., Denny, W. A., & Dos Santos, J. L. (2019). Boron in drug design: Recent advances in the development of new therapeutic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 179, 791–804. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.092>

Ferrario, C. M., & Mullick, A. E. (2017). Renin Angiotensin Aldosterone Inhibition in the Treatment of Cardiovascular Disease. *Pharmacol Res.*, 125, 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.05.020>

Fosbøl, E. L., Butt, J. H., Østergaard, L., Andersson, C., Selmer, C., Kragholm, K., Schou, M., Phelps, M., Gislason, G. H., Gerds, T. A., Torp-Pedersen, C., & Køber, L. (2020). Association of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor or Angiotensin Receptor Blocker Use with COVID-19 Diagnosis and Mortality. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 324(2), 168–177. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.11301>

Fung, T. S., & Liu, D. X. (2019). *Human Coronavirus : Host-Pathogen Interaction*. 529–560.

Glowacka, I., Bertram, S., Muller, M. A., Allen, P., Soilleux, E., Pfefferle, S., Steffen, I., Tsegaye, T. S., He, Y., Gnirss, K., Niemeyer, D., Schneider, H., Drosten, C., & Pohlmann, S. (2011). Evidence that TMPRSS2 Activates the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein for Membrane Fusion and Reduces Viral Control by the Humoral Immune Response. *Journal of Virology*, 85(9), 4122–4134. <https://doi.org/10.1128/jvi.02232-10>

Gondi, C. S. J. S. R. (2013). Cathepsin B as a Cancer Target Christopher. *Expert Opin Ther Targets.*, 281–291. <https://doi.org/10.1517/14728222.2013.740461.Cathepsin>

Hall, D. G. (2006). Structure, Properties, and Preparation of Boronic Acid Derivatives. Overview of Their Reactions and Applications. In *Boronic Acids: Preparation and Applications in Organic Synthesis and Medicine*. <https://doi.org/10.1002/3527606548.ch1>

Hammett, E. (2020). How long does Coronavirus survive on different surfaces? *BDJ Team*, 7(5), 14–15. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41407-020-0313-1>

Hariharan, A., Hakeem, A. R., Radhakrishnan, S., Reddy, M. S., & Rela, M. (2021). The Role and Therapeutic Potential of NF-kappa-B Pathway in Severe COVID-19 Patients. *Inflammopharmacology*, 29(1), 91–100. <https://doi.org/10.1007/s10787-020-00773-9>

Heilberg, I. P., & Goldfarb, D. S. (2013). Optimum Nutrition for Kidney Stone Disease. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 20(2), 165–174. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2012.12.001>

Hirano, T., & Murakami, M. (2020). COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. *Immunity*, 52(5), 731–733. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.04.003>

Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>

Hofmann, H., & Pöhlmann, S. (2004). Cellular entry of the SARS coronavirus. *Trends in Microbiology*, 12(10), 466–472. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.08.008>

Horby, P., Lim, W. S., Emberson, J., Mafham, M., Bell, J., Linsell, L., Staplin, N., Brightling, C., Ustianowski, A., Elmahi, E., Prudon, B., Green, C., Felton, T., Chadwick, D., Rege, K., Fegan, C., Chappell, L. C., Faust, S. N., Jaki, T., ... Landray, M. J. (2020). Effect of dexamethasone in hospitalized patients with COVID-19 – Preliminary report. *The New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1101/2020.06.22.20137273>

<https://talk.ictvonline.org/taxonomy>. (2022). *Virus Metadata Resource (VMR) Virus Taxonomy*. <https://web.archive.org/web/20200320103754/>

Hu, Q., Li, S., Qiao, E., Tang, Z., Jin, E., Jin, G., & Gu, Y. (2014). Effects of boron on structure and antioxidative activities of spleen in rats. *Biological Trace Element Research*, 158(1), 73–80. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-9899-5>

Hu, Z., Lv, Y., Xu, C., Sun, W., Chen, W., Peng, Z., Chen, C., Cui, X., Jiao, D., Cheng, C., Chi, Y., Wei, H., Hu, C., Zeng, Y., Zhang, X., & Yi, Y. (2020). Clinical Use of Short-Course and Low-Dose Corticosteroids in Patients With Non-severe COVID-19 During Pneumonia Progression. *Frontiers in Public Health*, 8(July). <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00355>

Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu,

J., Gu, X., & et all. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(January), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)

Huentelman, M. J., Zubcevic, J., Hernández Prada, J. A., Xiao, X., Dimitrov, D. S., Raizada, M. K., & Ostrov, D. A. (2004). Structure-based discovery of a novel angiotensin-converting enzyme 2 inhibitor. *Hypertension*, 44(6), 903–906. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000146120.29648.36>

Hunt, C. D. (1998). Regulation of Enzymatic Activity. *Biological Trace Element Research*, 66, 205–224. <https://doi.org/DOI: 10.1007/BF02783139>

Hunter, J. M., Nemzer, B. V., Rangavajla, N., Biță, A., Rogoveanu, O. C., Neamțu, J., Scorei, I. R., Bejenaru, L. E., Rău, G., Bejenaru, C., & Mogoșanu, G. D. (2019). The Fructoborates: Part of a Family of Naturally Occurring Sugar–Borate Complexes—Biochemistry, Physiology, and Impact on Human Health: a Review. *Biological Trace Element Research*, 188(1), 11–25. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1550-4>

Hussain, S. A., Abood, S. J., & Gorial, F. I. (2017). The adjuvant use of calcium fructoborate and borax with etanercept in patients with rheumatoid arthritis: Pilot study. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6(1), 58–64. <https://doi.org/10.5455/jice.20161204021549>

Iwata-Yoshikawa, N., Okamura, T., Shimizu, Y., Hasegawa, H., Takeda, M., & Nagata, N. (2019). TMPRSS2 Contributes to Virus Spread and Immunopathology in the Airways of Murine Models after Coronavirus Infection. *Journal of Virology*, 93(6), 1–15. <https://doi.org/10.1128/jvi.01815-18>

Izda, V., Jeffries, M. A., & Sawalha, A. H. (2021). COVID-19: A review of therapeutic strategies and vaccine candidates. *Clinical Immunology*, 222(108634).

Jay Murray, F. (1998). A Comparative Review of the Pharmacokinetics of Boric Acid in Rodents and Humans. *Biological Trace Element Research*, 66, 331–341.

Kettner, C. A., & Shenvi, A. B. (1984). Inhibition of the serine proteases leukocyte elastase, pancreatic elastase, cathepsin G, and chymotrypsin by peptide boronic acids. *Journal of Biological Chemistry*, 259(24), 15106–15114. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)42521-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)42521-x)

Khaliq, H., Juming, Z., & Ke-Mei, P. (2018). The Physiological Role of Boron on Health. *Biological Trace Element Research*, 186, 31–51.

Korkmaz, M. (2011). Boron: Environmental exposure and human health. In N.

JO (Ed.), *Encyclopedia of Environmental Health* (pp. 442–445). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63951-6.00376-4>

Korkmaz, M. (2020a). Bor ve İnsan Sağlığı. In Mehmet Korkmaz (Ed.), *Bor Ve İnsan Sağlığı* (pp. 47–61).

Korkmaz, M. (2020b). *Bor ve İnsan Sağlığı* (Mehmet Korkmaz (ed.)). Boren yayınları.

Korkmaz, M., Avcı, C. B., Gunduz, C., Aygunes, D., & Erbaykent-Tepedelen, B. (2014). Disodium pentaborate decahydrate (DPD) induced apoptosis by decreasing hTERT enzyme activity and disrupting F-actin organization of prostate cancer cells. *Tumor Biology*, 35(2), 1531–1538. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-1212-2>

Korkmaz, M., Şayli, U., Şayli, B. S., Bakirdere, S., Titretir, S., Ataman, O. Y., & Keskin, S. (2007). Estimation of human daily boron exposure in a boron-rich area. *British Journal of Nutrition*, 98(3), 571–575. <https://doi.org/10.1017/S000711450770911X>

Köse, D. A., & Zümreoglu-Karan, B. (2012). Mixed-ligand complexes of boric acid with organic biomolecules. *Chemical Papers*, 66(1), 54–60. <https://doi.org/10.2478/s11696-011-0108-0>

Köse, D. A., Zümreoglu-Karan, B., & Hökelek, T. (2011). A comparative examination of mono- and bis-chelate salicylatoborate complexes and the crystal structure of layered magnesium bis-salicylatoborate. *Inorganica Chimica Acta*, 375(1), 236–241. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2011.05.012>

Köse, D. A., Zümreoglu-Karan, B., Hökelek, T., & Ahin, E. (2010). Boric acid complexes with organic biomolecules: Mono-chelate complexes with salicylic and glucuronic acids. *Inorganica Chimica Acta*, 363(14), 4031–4037. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2010.08.001>

Köse, D. A., Zümreoglu-Karan, B., Sahin, O., & Büyükgüngör, O. (2014). Boric acid complexes with thiamine (vitamin B1) and pyridoxine (vitamin B6). *Inorganica Chimica Acta*, 413, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2013.12.045>

Kronbichler, A., Kresse, D., Yoon, S., Lee, K. H., Effenberger, M., & Shin, J. Il. (2020). Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information website . *International Journal of Infectious Diseases*, 98, 180–186.

<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.06.052>

Kuba, K., Imai, Y., Rao, S., Gao, H., Guo, F., Guan, B., Huan, Y., Yang, P., Zhang, Y., Deng, W., Bao, L., Zhang, B., Liu, G., Wang, Z., Chappell, M., Liu, Y., Zheng, D., Leibbrandt, A., Wada, T., ... Penninger, J. M. (2005). A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nature Medicine*, 11(8), 875–879. <https://doi.org/10.1038/nm1267>

Kuru, R., & Yarat, A. (2017). Boron and a Current Overview of its Effects On Health. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 7(3), 107–114. <https://doi.org/10.5152/clinexphealthsci.2017.314>

Li, H., Liu, S., Yu, X., Tang, S., & Tang, C. (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Zhejiang, China: an observational cohort study. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5), 105951.

Li, M., Li, L., Zhang, Y., & Wang, X. (2020). An Investigation of the Expression of 2019 Novel Coronavirus Cell Receptor Gene ACE2 in a Wide Variety of Human Tissues. 1–7. <https://doi.org/10.21203/rs.2.24751/v1>

Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K. S. M., Lau, E. H. Y., Wong, J. Y., Xing, X., Xiang, N., Wu, Y., Li, C., Chen, Q., Li, D., Liu, T., Zhao, J., Liu, M., ... Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*, 382(13), 1199–1207. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001316>

Li, S. ren, Tang, Z. jian, Li, Z. han, & Liu, X. (2020). Searching therapeutic strategy of new coronavirus pneumonia from angiotensin-converting enzyme 2: the target of COVID-19 and SARS-CoV. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 39(6), 1021–1026. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03883-y>

Li, X., Zai, J., Zhao, Q., Nie, Q., Li, Y., Foley, B. T., & Chaillon, A. (2020). Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2. *Journal of Medical Virology*, 92(6), 602–611. <https://doi.org/10.1002/jmv.25731>

Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF-κB signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2(April). <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>

Liu, X., Shi, Y., Li, P., Li, L., Yi, Y., Ma, Q., & Cao, C. (2004). Profile of Antibodies to the Nucleocapsid Protein of the Severe Acute Respiratory Syndrome

(SARS)-Associated Coronavirus in Probable SARS Patients. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 11(1), 227–228. <https://doi.org/10.1128/CDLI.11.1.227-228.2004>

Liu, Y., Gayle, A. A., Wilder-Smith, A., & Rocklöv, J. (2020). The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *Journal of Travel Medicine*, 27(2), 1–4. <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa021>

MADEN, Et. (2022). *Dünyada Bor*. <https://www.etimaden.gov.tr/dunyada-bor>

Mahabir, S., Spitz, M. R., Barrera, S. L., Dong, Y. ., Eastham, C., & Forman, M. R. (2008). Dietary Boron and Hormone Replacement Therapy as Risk Factors for Lung Cancer in Women. *Am J Epidemiol*, 167(9), 1070–1080. <https://doi.org/10.1093/aje/kwn021>.Dietary

Mancia, G., Rea, F., Ludergnani, M., Apolone, G., & Corrao, G. (2020). Renin–Angiotensin–Aldosterone System Blockers and the Risk of Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 382(25), 2431–2440. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2006923>

Matsuyama, S., Nagata, N., Shirato, K., Kawase, M., Takeda, M., & Taguchi, F. (2010). Efficient Activation of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein by the Transmembrane Protease TMPRSS2. *Journal of Virology*, 84(24), 12658–12664. <https://doi.org/10.1128/jvi.01542-10>

McAuley, E. M., Bradke, T. A., & Plopper, G. E. (2011). Phenylboronic acid is a more potent inhibitor than boric acid of key signaling networks involved in cancer cell migration. *Cell Adhesion and Migration*, 5(5), 382–386. <https://doi.org/10.4161/cam.5.5.18162>

Meacham, S. L., Taper, L. J., & Volpe, S. L. (1995). Effect of boron supplementation on blood and urinary calcium, magnesium, and phosphorus, and urinary boron in athletic and sedentary women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 61(2), 341–345. <https://doi.org/10.1093/ajcn/61.2.341>

Memikoğlu, K. O., & Genç, V. (2020). *COVID-19*. Ankara Üniversitesi Basımevi.<http://www.medicine.ankara.edu.tr/wpcontent/uploads/sites/121/2020/05/COVID-19-Kitap.pdf>

Militaru, C., Donoiu, I., Craciun, A., Scorei, I. D., Bulearca, A. M., & Scorei, R. I. (2013). Oral resveratrol and calcium fructoborate supplementation in subjects with stable angina pectoris: Effects on lipid profiles, inflammation markers, and quality of life. *Nutrition*, 29(1), 178–183. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2012.07.006>

Moseman, R. F. (1994). Chemical disposition of boron in animals and humans.

Environmental Health Perspectives, 102(SUPPL. 7), 113–117.
<https://doi.org/10.1289/ehp.94102s7113>

Motzer, R. J., Hoosen, S., Bello, C. L., & Christensen, J. G. (2006). Sunitinib malate for the treatment of solid tumours: A review of current clinical data. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 15(5), 553–561.
<https://doi.org/10.1517/13543784.15.5.553>

Muchtaridi, M., Fauzi, M., Ikram, N. K. K., Gazzali, A. M., & Wahab, H. A. (2020). Natural Flavonoids as Potential Angiotensin-Converting Enzyme 2 Inhibitors for Anti-SARS-CoV-2. *Molecules*, 25(17).
<https://doi.org/10.3390/molecules25173980>

Müezzinoğlu, T., Korkmaz, M., Neşe, N., Bakırdere, S., Arslan, Y., Ataman, O. Y., & Lekili, M. (2011). Prevalence of prostate cancer in high boron-exposed population: A community-based study. *Biological Trace Element Research*, 144(1–3), 49–57. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9023-z>

Murray, F.J. (1995). A human health risk of boron (boric acid and borax) in drinking water. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 22, 221–230.

Mycielska, M., Milenkovic, V., Wetzel, C., Rümmele, P., & Geissler, E. (2015). Extracellular Citrate in Health and Disease. *Current Molecular Medicine*, 15(10), 884–891. <https://doi.org/10.2174/1566524016666151123104855>

Naghii, M. R., Mofid, M., Asgari, A. R., Hedayati, M., & Daneshpour, M. S. (2011). Comparative effects of daily and weekly boron supplementation on plasma steroid hormones and proinflammatory cytokines. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25(1), 54–58. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2010.10.001>

Nicholls, J., & Peiris, M. (2005). Good ACE, bad ACE do battle in lung injury, SARS. *Nature Medicine*, 11(8), 821–822. <https://doi.org/10.1038/nm0805-821>

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. *The FASEB Journal*, 1(5), 394–397. <https://doi.org/10.1096/fasebj.1.5.3678698>

Nielsen, F. H., & Meacham, S. L. (2011). Growing Evidence for Human Health Benefits of Boron. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 16(3), 169–180. <https://doi.org/10.1177/2156587211407638>

Nielsen, F. H., & Shuler, T. R. (1992). Studies of the interaction between boron and calcium, and its modification by magnesium and potassium, in rats - Effects on growth, blood variables, and bone mineral composition. *Biological Trace Element*

Research, 35(3), 225–237. <https://doi.org/10.1007/BF02783768>

NIH. (2021). *Immunomodulators Under Evaluation for the Treatment of Colchicine*. 180–250. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/> on

Park, Meeyoung, Li, Q., Shcheynikov, N., Muallem, S., & Zeng, W. (2005). Borate transport and cell growth and proliferation: Not only in plants. *Cell Cycle*, 4(1), 24–26. <https://doi.org/10.4161/cc.4.1.1394>

Park, Mirae, Thwaites, R. S., & Openshaw, P. J. M. (2020). COVID-19: Lessons from SARS and MERS. *European Journal of Immunology*, 50(3), 308–311. <https://doi.org/10.1002/eji.202070035>

Park, S. E. (2020). Epidemiology, virology, and clinical features of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2; coronavirus disease-19). *Pediatric Infection and Vaccine*, 27(1), 1–10. <https://doi.org/10.14776/piv.2020.27.e9>

Perlman, S., & Netland, J. (2009). Coronaviruses post-SARS: Update on replication and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, 7(6), 439–450. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2147>

Perut, F., Graziani, G., Columbaro, M., Caudarella, R., Baldini, N., & Granchi, D. (2020). Citrate supplementation restores the impaired mineralisation resulting from the acidic microenvironment: An in vitro study. *Nutrients*, 12(12), 1–24. <https://doi.org/10.3390/nu12123779>

Phillips R, Hanchanale VS, Myatt A, Somani B, Nabi G, B. C. (2015). Citrate salts for preventing and treating calcium containing kidney stones in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 10. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010057.pub2>. Copyright

Ragia, G., & Manolopoulos, V. G. (2020). Inhibition of SARS-CoV-2 entry through the ACE2/TMPRSS2 pathway: a promising approach for uncovering early COVID-19 drug therapies. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 76(12), 1623–1630. <https://doi.org/10.1007/s00228-020-02963-4>

Rainey, C. J., Nyquist, L. A., Christensen, R. E., Strong, P. L., Dwight Culver, B., & Coughlin, J. R. (1999). Daily Boron Intake From The American Diet. In *Journal of American Dietetic Association* (Vol. 99, Issue March, pp. 335–340).

Rogoveanu, O. C., Mogoşanu, G. D., Bejenaru, C., Bejenaru, L. E., Croitoru, O., Neamţu, J., Pietrkowski, Z., Reyes-Izquierdo, T., Biţă, A., Scorei, I. D., & Scorei, R. I. (2015). Effects of Calcium Fructoborate on Levels of C-Reactive Protein, Total

Cholesterol, Low-Density Lipoprotein, Triglycerides, IL-1 β , IL-6, and MCP-1: a Double-blind, Placebo-controlled Clinical Study. *Biological Trace Element Research*, 163(1–2), 124–131. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0155-9>

Romero-Aguilar, K. S., Arciniega-Martínez, I. M., Farfán-García, E. D., Campos-Rodríguez, R., Reséndiz-Albor, A. A., & Soriano-Ursúa, M. A. (2019). Effects of boron-containing compounds on immune responses: review and patenting trends. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 29(5), 339–351. <https://doi.org/10.1080/13543776.2019.1612368>

Routray, I., & Ali, S. (2016). Boron induces lymphocyte proliferation and modulates the priming effects of lipopolysaccharide on macrophages. *PLoS ONE*, 11(3), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150607>

Samman, S., Naghii, M. R., Lyons Wall, P. M., & Verus, A. P. (1998). The nutritional and metabolic effects of Boron in humans and animals. *Biological Trace Element Research*, 66(1–3), 227–235. <https://doi.org/10.1007/BF02783140>

Satija, N., & Lal, S. K. (2007). The molecular biology of SARS coronavirus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1102, 26–38. <https://doi.org/10.1196/annals.1408.002>

Scorei, I. R. (2013). Boron-containing Compounds, Regulation of Therapeutic Potential. In R. . Kretsinger, V. . Uversky, & E. . Permyakov (Eds.), *Encyclopedia of Metalloproteins* (p. 482). springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1533-6>

Scorei, R. I., & Rotaru, P. (2011). Calcium fructoborate-potential anti-inflammatory agent. *Biological Trace Element Research*, 143(3), 1223–1238. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-8972-6>

Shao, C., Matsuoka, S., Miyazaki, Y., & Yoshimura, K. (2001). Studies on the Complexation of Boric Acid with Polyhydroxyl Compounds. *Analytical Sciences*, 17, 1475–1478.

Shi, Y., Wang, G., Cai, X., Deng, J., Zheng, L., Zhu, H., Zheng, M., Yang, B., & Chen, Z. (2020). An overview of COVID-19. 21(5), 343–360.

Simmons, G., Gosalia, D. N., Rennekamp, A. J., Reeves, J. D., Diamond, S. L., & Bates, P. (2005). Inhibitors of cathepsin L prevent severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(33), 11876–11881. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505577102>

Smallwood, C. L., Lipscomb, J., Swartout, J., & Teuschler, L. (2010).

Toxicological Review of Boron and Compounds. *U.S. Environmental Protection Agency*, 39(110), 759–786. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22050403>

Song, Z., Xu, Y., Bao, L., Zhang, L., Yu, P., Qu, Y., Zhu, H., Zhao, W., Han, Y., & Qin, C. (2019). From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. *Viruses*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/v11010059>

Su, C. M., Wang, L., & Yoo, D. (2021). Activation of NF- κ B and induction of proinflammatory cytokine expressions mediated by ORF7a protein of SARS-CoV-2. *Scientific Reports*, 11(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92941-2>

Sutherland, B., Strong, P., & King, J. C. (1998). Determining human dietary requirements for Boron. *Biological Trace Element Research*, 66(1–3), 193–204. <https://doi.org/10.1007/BF02783138>

T. C. Sağlık Bakanlığı Bilimsel Danışma Kurulu. (2020). COVID-19 (SARS-CoV-2 Enfeksiyonu) antistokin-antiinflamatuar tedaviler, koagülopati yönetimi. *Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü*, 19(COVID-19 (SARS-CoV-2 ENFEKSİYONU)). <https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/39296/0/covid-19rehberiantistokin-antiinflamatuartedavilerkoagulopatiyonetimipdf.pdf>

T.C. Sağlık Bakanlığı, . (2020). Covid-19 Genel bilgiler, epidemiyoloji ve tanı. *Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü*, 19(COVID-19 (SARS-CoV-2 ENFEKSİYONU)), 1–32.

Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). *IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease*. 6(Kishimoto 1989), 1–16.

Tekeli, H., Sevri, G., Asıcı, E., & Bildik, A. (2021). *Anti-inflammatory effect of boric acid on cytokines in ovariectomy-induced rats*. 6(5).

Tepedelen, B. E., Korkmaz, M., Tatlisumak, E., Uluer, E. T., Ölmez, E., Değerli, İ., Soya, E., & İnan, S. (2017). A Study on the Anticarcinogenic Effects of Calcium Fructoborate. *Biological Trace Element Research*, 178(2), 210–217. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0918-6>

Tepedelen, B. E., Soya, E., & Korkmaz, M. (2016). Boric Acid Reduces the Formation of DNA Double Strand Breaks and Accelerates Wound Healing Process. *Biological Trace Element Research*, 174(2), 309–318. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0729-9>

Thorburn, D. R., Rahman, J., & Rahman, S. (2021). *Mitochondrial DNA-Associated Leigh Syndrome and NARP Summary Genetic counseling GeneReview Scope*.

Turkez, H., Arslan, M. E., Tatar, A., & Mardinoglu, A. (2021). Promising potential of boron compounds against Glioblastoma: In Vitro antioxidant, anti-inflammatory and anticancer studies. *Neurochemistry International*, 149(February), 105137. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105137>

Tyrrell, D. A. J., & Bynoe, M. L. (1965). Cultivation of a Novel Type of Common-cold Virus in Organ Cultures. *British Medical Journal*, 1(5448), 1467–1470. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5448.1467>

Ulasli, M., Verheije, M. H., de Haan, C. A. M., & Reggiori, F. (2010). Qualitative and quantitative ultrastructural analysis of the membrane rearrangements induced by coronavirus. *Cellular Microbiology*, 12(6), 844–861. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2010.01437.x>

von Burg, R. (1992). Toxicology Update. *Journal of Applied Toxicology*, 12(1), 73–74. <https://doi.org/10.1002/jat.2550120116>

Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F., Liu, X., Zhang, J., Wang, B., Xiang, H., Cheng, Z., Xiong, Y., Zhao, Y., Li, Y., Wang, X., & Peng, Z. (2020). Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(11), 1061–1069. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1585>

Wang, L. F., & Eaton, B. T. (2007). Bats, civets and the emergence of SARS. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 315, 325–344. https://doi.org/10.1007/978-3-540-70962-6_13

WHO. (1998). *ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA FOR BORON*. World Health Organization.

WHO. (2009). Boron in drinking-water. In *WHO, Geneva, Switzerland*. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:N-Nitrosodimethylamine+in+drinking-water+Background+document+for+development+of+WHO+Guidelines+for+Drinking-water+Quality#0>

Wilkinson, R. D. A., Williams, R., Scott, C. J., & Burden, R. E. (2015). Cathepsin S: Therapeutic, diagnostic, and prognostic potential. *Biological Chemistry*, 396(8), 867–882. <https://doi.org/10.1515/hsz-2015-0114>

Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., Hu, Y., Tao, Z. W., Tian, J. H., Pei, Y. Y., Yuan, M. L., Zhang, Y. L., Dai, F. H., Liu, Y., Wang, Q. M., Zheng, J. J., Xu, L., Holmes, E. C., & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus

associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265–269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>

Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(13), 1239–1242. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>

Zheng, Z., Peng, F., Xu, B., Zhao, J., Liu, H., Peng, J., Li, Q., Jiang, C., Zhou, Y., Liu, S., Ye, C., Zhang, P., Xing, Y., Guo, H., & Tang, W. (2020). Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis. *Journal of Infection*, 81(2), e16–e25. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.021>

Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., Guan, L., Wei, Y., Li, H., Wu, X., Xu, J., Tu, S., Zhang, Y., Chen, H., & Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*, 395(10229), 1054–1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)

Zittle C. (1951). Reaction of borate with substances of biological interest. *Adv. Enzymology*, 12, 493–527.

Zoralioglu, M. (2020). Covid- 19 tanisi ile interne edilen 30 - 50 yaş arası hastalarda cinsiyetin prognoz üzerine etkisi ve bunu etkileyen diğer faktörler. In *Tıpta Uzmanlık Tezi*.

Zumreoglu-Karan, B., & Kose, D. A. (2015). Boric acid: A simple molecule of physiologic, therapeutic and prebiotic significance. *Pure and Applied Chemistry*, 87(2), 155–162. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-0909>

10.EKLER

EK 1: Tez konusu Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 01/07/2020-E.49300



T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



Sayı : 28233352-302.14.01-
Konu : Serap YILDIRAK Tez Konusu Hk.

SBE TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Enstitümüzün 29.06.2020 tarih ve 21/23 sayılı Yönetim Kurulu Toplantısında, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Serap YILDIRAK'ın tez konusunun, etik kurul onayı ile birlikte (etik kurul gerekli ise) "Bazı Bor Bileşiklerinin Covid-19 Hücre Girişinde Rolü Olan Transmembran Serin Proteaz 2 (TMPRSS2) Üzerine Etkisinin Akciğer Fibroblast Hücrelerinde İncelenmesi" olarak belirlenmesine OY BİRLİĞİ ile karar verildi.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Ömer TETİK
Enstitü Müdürü

EK 2: Tez Orijinallik Raporu

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu

Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanlığı'na

Bazı Bor Bileşiklerinin Covid-19 Hücre Girişinde Rolü Olan Transmembran Serin Proteaz 2 (TMPRSS2) Üzerine Etkisinin Akciğer Fibroblast Hücrelerinde İncelenmesi

Tezime ilişkin 12/12/2022 tarihinde yapılan Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 18'tir.

Belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı : Serap Yıldırak
Öğrenci No :191353001
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Programı : Tıbbi Biyoloji Yüksek lisans Programı

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

(Unvan, Ad Soyad, İmza)

Açıklamalar

1- Tez Çalışması Orijinallik Raporu (TÇOR), TURNITIN İntihal Tespit Programı kullanımı için kişisel hesap alma hakkı bulunan tez danışmanları, Enstitülerde görevlendirilen personeller, Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı'nda görevlendirilen Kütüphaneçiler tarafından alınır.

2- Sayfa sayısı 400'den az olan tezler için tez savunmasından önce ve başarıyla olmasında durumunda düzeltmelerden sonra ikinci kez TÇOR alınır.(400 sayfadan fazla olan tezler 400 ve üstleri şeklinde bölünerek Turnitin veri tabanına yüklenmesi gerekmektedir. Bu gibi durumlarda benzerlik oranının hesaplanmasına ilişkin detaylı formu, Kütüphane web sayfasında bulunan Turnitin kullanım kılavuzlarının altında erişilebilir.)

3-TÇOR, her iki yalınca Kapak Sayfası, Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan tamamı tek bir dosya olarak intihal tespit programına yüklenmesi ile alınır.

Programa yükleme yapılırken Dosya Başlığı (document title) olarak tez başlığının tamamı, Yazar Adı (author's first name) olarak öğrencinin adı, Yazar Soyadı (author's last name) olarak öğrencinin soyadı bilgisi yapılır.

4- TURNITIN İntihal tespit programına yüklenen dosyanın süzülmesinde, ilgili programdaki filtreleme seçenekleri aşağıdaki şekilde ayarlanır: - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - 5 kelimeden daha az örneğe içeren metin kısmını hariç (Limit match size to 5 words)

5-İntihal başlı açılar ile tanımlanır; "Ödevleri parça gönder?" sorusuna evetliktir (DPO: YOK) şeklinde işaretlenmelidir; aksi durumda aynı tezi ikinci kez yüklenmesi durumunda benzerlik % 100 olacaktır ve depodan tezi silmek çok uzun süre gerektirecektir.

6- Raporlaması işlemi tamamlandıktan sonra, kaydedilmiş olan ekranın görüntüsünü sağ üst köşesinde yazar olarak belirtilen "benzerlik oranı," raporlamaya tabi tutulmuş olan dosyanın "toplam sayfa sayısı" ve raporlaması işlemi ile yapıldığı "tarix" bilgisi, "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu" formuna işlenir.

7- Benzerlik oranında tüm sorumluluk öğrenciye aittir.

8- Tez savunma süreci sonrasında başarıyla bulunan öğrenci, tez savunma süreci tarihi sonrasında teze yaptığı muhtemel değişiklikleri içeren dosya kullanılarak alınan ikinci bir intihal raporundaki bilgiler kullanılarak hazırlanmış ve tez danışmanı tarafından onaylanarak imzalanmış ikinci bir "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu"na Enstitüye teslim etmelidir. Enstitüye teslim etme ile yükümlüdür.

9-Turnitin hakkında bilgiler: <http://kutuphane.dcu.edu.tr/turnitin/3070.tr.html>

11.ÖZGEÇMİŞ

Adı	SERAP	Soyadı	YİLDİRAK
------------	-------	---------------	----------

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Manisa Celal Bayar üniversitesi / Tıbbi Biyoloji	Devam ediyor
Lisans	Yıldız Teknik Üniversitesi / Fen Edebiyat Fakültesi / Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2018

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Klinik Araştırma Saha Koordinatörü	MEDEX SMO	2020- devam

Yabancı Dil

İngilizce		
Okuma : iyi	Konuşma : orta	Yazma: orta

Bilgisayar Bilgisi

Microsoft Office	CorelDraw	
------------------	-----------	--

Eğitim Sınav Sonuçları

ALES SAYISAL	84
YÖKDİL SAĞLIK	60
LİSANS MEZUNİYET	4.00 / 3.00



