



BOR DERGİSİ

JOURNAL OF BORON

<https://dergipark.org.tr/boron>



Boraks pentahidrat'ın glioblastoma multiforme hücre hattındaki tedavi potansiyelinin araştırılması

Burak Çelik¹, Ezgi Ersöz², Mehmet Korkmaz^{3*}

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 45030, Manisa, Türkiye, ORCID ID orcid.org/0000-0001-9804-8691

²Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 45030, Manisa, Türkiye, ORCID ID orcid.org/0000-0002-4403-0338

³Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 45030, Manisa, Türkiye, ORCID ID orcid.org/0000-0003-1058-5586

MAKALE BİLGİSİ

Makale geçmişi:

İlk gönderi 09 Temmuz 2019
Revize gönderi 23 Mart 2020
Kabul 24 Mart 2020
Online 29 Mart 2020

Araştırma Makalesi

DOI: [10.30728/boron.589644](https://doi.org/10.30728/boron.589644)

Anahtar kelimeler:

Apoptoz,
Boraks pentahidrat,
Glioblastoma multiforme,
Otofaji,
U-87 MG.

ÖZET

Doğal ve sentetik bor bileşikler ile yapılan son dönemdeki araştırmalar bu bileşiklerin kanserden korunma ve tedavisinde etkin olabileceğini işaret etmektedir. Bu bağlamda, sentetik bir bor bileşiği olan Boraks pentahidrat (BPH)'in dördüncü evre beyin kanserini temsil eden glioblastoma multiforme (GBM) modeli U-87MG hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi ile apoptoz ve otofaji indüksiyonu yönünden sınanması amaçlanmıştır. BPH'in belirlenmiş IC₅₀ dozu ile muamele edilmiş çalışma grubunun apoptoz ve otofaji oranlarındaki değişimler floresan temelli mikrokapiller sitometri cihazına uygun kitler (Muse® Annexin V & Hücre Ölümü ve Muse® Otofaji LC3-antikor temelli) aracılığı ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler, GraphPad Prism 5 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Sitotoksikite yönünden BPH'in U-87 MG hücre hattındaki IC₅₀ değeri 2454 µM olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan kontrol grubuna oranla BPH ile muamele edilmiş grupta apoptoz oranı 12,79 kat iken otofaji oranının ise 1,2 kat arttığı saptanmıştır. Bu veriler ışığında, BPH'in GBM'ye model oluşturan U-87 MG hücrelerine sitotoksik etkisi belirlenirken, hücre ölümü biçiminin otofaji yerine apoptoz üzerinden gerçekleştiği anlaşılmaktadır. Bütün bunlarla birlikte, BPH'in yeni araştırmalarla desteklenerek GBM tedavisinde kullanılabilecek alternatif bir ajan olabileceği düşünülmektedir.

Investigation of the therapy potential of borax pentahydrate in glioblastoma multiforme cell line

ARTICLE INFO

Article history:

Received 09 July 2019
Received in revised form 23 March 2020
Accepted 24 March 2020
Available online 29 March 2010

Research Article

DOI: [10.30728/boron.589644](https://doi.org/10.30728/boron.589644)

Keywords:

Apoptosis,
Borax pentahydrate,
Glioblastoma multiforme,
Autophagy,
U-87 MG.

ABSTRACT

Recent studies with natural and synthetic boron compounds suggest that these compounds may be effective in the prevention and treatment of cancer. In this context, a synthetic boron compound, Borax pentahydrate (BPH), is aimed to be tested for cytotoxic effect on the glioblastoma multiforme (GBM) model U-87MG cell line representing fourth stage brain cancer in terms of induction of apoptosis and autophagy. Changes in apoptosis and autophagy rates of the research group treated with the specified IC₅₀ dose of BPH were determined by fluorescence-based microcapillary cytometry kit (Muse® Annexin V & Cell Death and Muse® Autophagy LC3-antibody based kit). The data obtained were evaluated using GraphPad Prism 5 statistical program. The IC₅₀ value of BPH in the U-87MG cell line was determined to be 2454µM for cytotoxicity. On the other hand, apoptosis rate was determined as increased 12.79 folds in the BPH treated group compared to the control group, while elevation of autophagy rate is determined as 1.2 folds. In the light of these data, while the cytotoxic effect of BPH on U-87MG cells, which is a model for GBM, is designated, it is understood that cell death pattern occurs through apoptosis instead of autophagy. In addition to these, it is thought that with the support of other new studies BPH may be an alternative agent that can be used in the treatment of GBM.

*Sorumlu yazar: mehmet.korkmaz@cbu.edu.tr

1. Giriş (Introduction)

Malign glioma erişkinlerde en sık görülen birincil beyin kanseridir. Yoğun araştırma ve geliştirme çalışmalarına karşın, glioblastoma multiforme (GBM) tedavisi en zor hastalıklardan biri olmaya devam etmektedir [1,2]. Beyin tümörleri akciğer, meme ve böbrek gibi periferik kanserlerin metastatik lezyonlarından oluşur. Bu tümörler buldukları bölgeye göre primer ve metastatik beyin tümörleri olarak sınıflandırılmaktadır. Primer beyin tümörlerinden biri olan gliomlar; astrositoma, oligodendroglioma ve oligoastrocitoma gibi tümörleri kapsayan bir alt sınıftır. Bu tümörler arasında görülmeye sıklığı en fazla olan astrositomalardır. Astrositoma Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 4 evrede sınıflandırılmaktadır. GBM ise bu sınıflandırma içerisindeki en agresif formdur. GBM için sağ kalım süresi 12-15 ay arası olarak belirlenmiştir. Bu sürenin uzatılmasının sebebi, çoklu ilaç direnci ve uygulanan tedavi sırasında kullanılan ilaçların kan-beyin bariyerini geçmemesidir [3,4].

Bor, periyodik cetvelin 5. sırasında ve 3A grubunda yer alan tek metal olmayan elementtir. Doğada kolemanit ve tinkal gibi bileşikler halinde bulunmaktadır. Oksijen ile de bileşik oluşturabilmektedir ve bu bileşikler borat olarak adlandırılmaktadır [5,6]. Yapılan çalışmalarda Bor içeren bileşiklerin genel olarak canlılar üzerinde herhangi bir karsinojenik veya mutajenik etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir [7,8]. Sağlık alanında Bor'un insan vücudunda; mineral ve steroid hormon metabolizmasını düzenlediği [9,10], kemik gelişimini desteklediği [11], yara iyileşmesini hızlandırdığı ve yara üzerinde ajanların neden olduğu DNA çift iplikli kırılmaların oluşumunu azalttığını [12,13], enerji metabolizmasını düzenlediği [14], kansere yakalanma riskini azalttığı belirlenmiştir [15,16]. Deneysel olarak prostat kanseri hücre hatlarında yapılan birçok çalışmada ise doza, maruziyet süresine bağlı olarak Bor bileşiklerinin anti-proliferatif ve anti-kanserojen etki gösterdiği belirlenmiştir [17,18].

Apoptoz ve otofaji, genetik olarak düzenlenmiş, hücre kaderini düzenleyen evrimsel olarak korunmuş süreçlerdir [19]. Hem apoptoz hem de otofaji, gelişimde, normal fizyolojide ve çok çeşitli hastalıklarda önemlidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bu iki süreç arasındaki belirgin farklılıklara rağmen, düzenlemelerinin yakından bağlantılı olduğunu ve aynı düzenleyicilerin bazen hem apoptozu hem de otofajiyi kontrol edebildiklerini göstermektedir [19].

Apoptoz, potansiyel olarak mutasyona uğramış hasarlı hücrelerin ortamdaki kaldırılmasını sağladığı için kansere karşı en güçlü savunma mekanizmalarından biridir. Artan kanıtlar, anti tümör ajanların etkinliğinin, bu ajanlara apoptoz ile cevap vermek için hedef tümör hücrelerinin kendine özgü özellik olduğunu göstermiştir [20]. Öte yandan, Otofaji ile kanser araştırmalarından elde edilen sonuçların oldukça farklı ve zıt olduğu

görülmektedir. Günümüze değin yapılan araştırmaları değerlendirdiğimiz de, bir kısım verilerin otofajinin kanserde etkisinin olmadığı, bir kısmının ise tümör oluşumunu uyardığı hatta tam tersine bazı verilerin tümör baskılayıcı işlevi olduğu gösterilmiştir [21]. Genel olarak Apoptoz, kemoterapi ajanlarının uyardığı hücre ölüm tiplerinin ilk biçimi olmasına karşın, son zamanlarda otofajik hücre ölümü biçimi de anti-kanser ilaçlarıyla uyarılabilen alternatif bir ölüm yolu olarak iddia edilmektedir [22].

Yukardaki bilgilerin ışığı altında BPH'nin GBM'ye model oluşturan U-87 MG hücre hattı üzerinde sitotoksik etkisinin konsantrasyon ve zamana bağlı olarak belirlenmesi birlikte bu etkiyi hangi hücre ölüm mekanizması üzerinden gerçekleştirdiğinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmanın ilk sonucu, BPH'nin yeni araştırmalarla desteklenerek, GBM'nin tedavisinde kullanılabilir alternatif bir ajan olabileceğini düşündürmüştür.

2. Malzemeler ve yöntemler (Materials and methods)

2.1. Hücre kültürü (Cell culture)

İnsan GBM hücre hattı olan U-87 MG, ATCC'den (American Type Culture Collection, Wesel, Germany) temin edildi. Hücreler %10 FBS (Hyclone, A.B.D), %1 L-glutamin (Capricorn, Ebsdorfergrund, Germany) ve %1 penisilin-streptomisin (Gibco, A.B.D) içeren MEM (Minimum Essential Medium Eagle, Capricorn, Ebsdorfergrund, Germany) besiyeri içerisinde %5 CO₂ içeren nemli havadaki 37°C'de inkübatörde kültüre edildi.

Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü'nden temin edilmiş toz haldeki BPH son konsantrasyonu 0,1 M olacak şekilde saf su içerisinde çözülerek hazırlandı. Çözelti, her bir deney için taze olarak hazırlanarak kullanıldı.

2.2. MTT aracılığı ile sitotoksikite tayini (Cytotoxicity determination by MTT)

BPH'nin hücreler üzerindeki sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla hücreler, 96 kuyucuklu mikropalakalara 10⁴ hücre/200 µl besiyeri olacak şekilde ekildi. Hücrelerin mikropalaka tabanına tutunabilmeleri için, kültür kapları 24 saat süre ile inkübatörde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin ardından besiyeri kuyucuklardan uzaklaştırıldı ve kuyucuklara son hacim 200 µl olacak şekilde BPH'nin artan konsantrasyonları (1 µM - 10 µM - 100 µM - 500 µM - 1000 µM - 2500 µM - 5000 µM - 7500 µM -10000 µM) eklendi. 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonların ardından hücre canlılığı MTT testi (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide, Sigma, A.B.D) ile ölçüldü. Toz halinde bulunan MTT'nin stok solüsyonu (5mg/ml) PBS içerisinde hazırlandı. Stok MTT solüsyonu kuyucuklara 1:10 oranında seyreltilerek son hacim 200 µl olacak şekilde eklendi. Mikropalakalar, MTT solüsyonunun ışığa duyarlılığından ötürü alüminyum folyo ile ışık almayacak

şekilde kaplandı ve 4 saat süresince 37°C ve %5 CO₂'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin ardından kuyucuklardan uzaklaştırılan MTT yerine 200 µl saf dimetilsülfoksit (DMSO) ilave edildi ve oluşan mor renkli formazan kristallerinin çözünmesi için mikropalaklar 15 dakika süre ile çalkalandı. Oluşan mor renkteki formazan miktarı 570-690 nm dalga boyu aralığında okuyucu (Biotek ELx800, ABD) ile ölçüldü. Çalışmamızda, hücrelerin BPH'ın artan konsantrasyonlarına bağlı canlılık oranları beş kez tekrarlanarak hesaplandı

2.3. Mikrokapiller mikropalaka sitometri düzeneği ile apoptoz analizi (Apoptosis analysis with microcapillary cytometry instrument)

BPH'ın U-87 MG hücre hattı üzerindeki apoptotik etkisini belirlemek amacıyla 10⁵ hücre 6 kuyucuklu mikropalaklara ekildi ve 72 saat süresince BPH'ın IC₅₀ konsantrasyonu ile muamele edildi. Apoptoz oranı, Muse Annexin V and Death Cell Kit (Millipore, Almanya) prosedürü doğrultusunda Muse hücre analiz cihazında (Millipore, Almanya) değerlendirildi. Çalışma grubu kontrol grubuyla kıyaslanarak aradaki kat değişimi belirlendi.

2.4. Mikrokapiller sitometri düzeneği ile otofaji analizi (Autophagy analysis with microcapillary cytometry instrument)

Otofaji oranını değerlendirmek amacıyla, 10⁵ hücre 96 kuyucuklu mikropalaklara ekildi ve 72 saat süresince BPH'ın IC₅₀ konsantrasyonu ile muamele edildi. Otofaji oranı Muse Autophagy LC-3 Antikor Bazlı Kit (Millipore, Almanya) üreticisinin talimatlarına göre, Muse hücre analizi cihazında (Millipore, Almanya) değerlendirildi. Çalışma grubu kontrol grubuyla kıyaslanarak aradaki kat değişimi belirlendi.

2.5. İstatistik Analiz (Statistical analysis)

Analiz, GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, inc.) kullanılarak yapıldı ve ortalama değerler ± standart sapma (SD) veya ortalama değerler ± S.E.M. olarak

ifade edildi. Gruplar arasındaki önem tek yönlü varyans analizi (ANOVA), ardından Dunnett'in çoklu karşılaştırma sonrası testi ile analiz edildi. *: p <0.01; **: p <0,001

3. Sonuçlar ve tartışma (Results and discussion)

3.1. MTT aracılığı ile BPH'ın sitotoksik etkisini (Cytotoxicity determination of BPH by MTT)

BPH'ın U-87 MG hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi hem artan konsantrasyona (1µM, 10 µM, 100 µM, 500 µM, 1000 µM, 2500 µM, 5000 µM, 7500 µM, 10000 µM) hem de zamana (24, 48, 72 saat) bağlı olarak analiz edildi (Şekil 1). BPH'ın özellikle 24. saatten sonra doza ve zamana bağlı olarak hücre canlılığına etki ettiği belirlendi ve analizler sonucunda IC₅₀ değeri 72. saatte 2454 µM olarak hesaplandı.

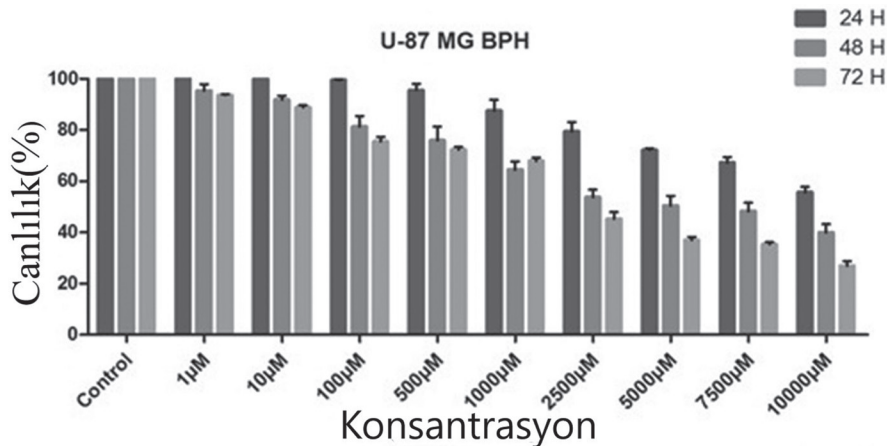
3.2. Apoptoz analizi (Analysis of apoptosis)

BPH'ın U-87 MG hücre hattındaki apoptotik etkisini belirlemek amacıyla hücreler 72 saat süresince BPH'ın IC₅₀ değeri ile muamele edildi. Hücre canlılığı kontrol ve çalışma gruplarında sırasıyla %96,1 ve %57,3 olarak saptandı. Apoptoz oranı ise sırasıyla %3,2 ve %40,95 olarak belirlendi. Kontrol grubuna kıyasla çalışma grubunda gözlenen apoptoz oranında 12,79 katlık artış bulundu (Şekil 2).

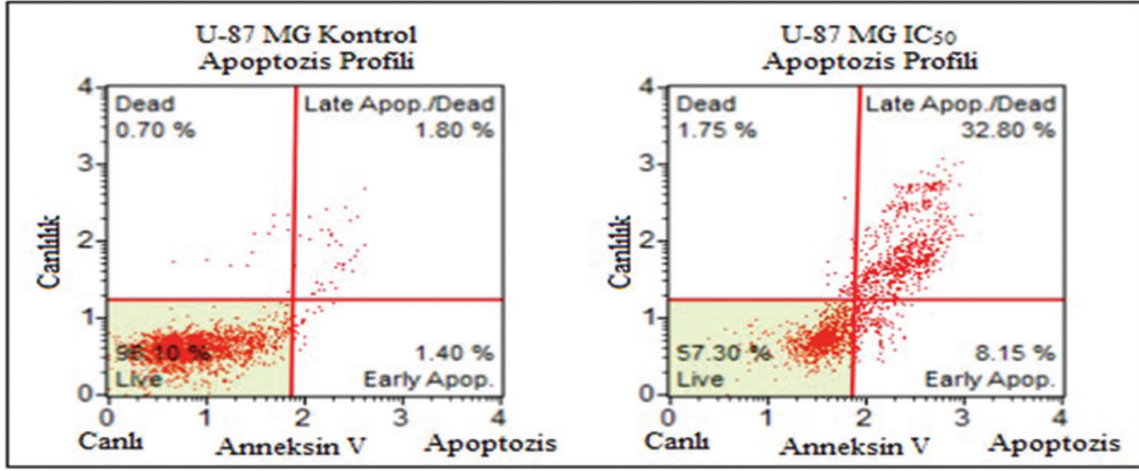
3.3. Otofaji analizi (Analysis of autophagy)

BPH'ın U-87 MG hücre hattındaki otofajik etkisini belirlemek amacıyla hücreler 72 saat süresince BPH'ın IC₅₀ değeri ile muamele edildi. Total hücre sayısına göre ortalama otofaji yoğunluğu kontrol grubunda 60,1 ve IC₅₀ uygulanan grupta 73,8 olarak ölçüldü. Otofaji indüksiyon oranı kontrol grubunda 1,0 olarak belirlenirken çalışma grubunda 1,2 olarak ölçüldü, fakat bu gözlem belirgin bir fark olarak değerlendirilmedi (Şekil 3).

Literatürde apoptoz yoluyla gerçekleşen hücre ölümünün hastalığa karşı koruyucu bir etkisinin olduğu



Şekil 1. U-87 MG hücre hattının BPH'ın artan konsantrasyonlarında 24, 48, 72. Saatlerindeki hücre canlılıklarının MTT yöntemi ile belirlenmesi (*p<0.01, **p<0.001) (Determination of cell viability of the U-87 MG cell line at increasing concentrations of BPH at 24, 48, 72 hours by MTT method (* p <0.01, ** p <0.001)).

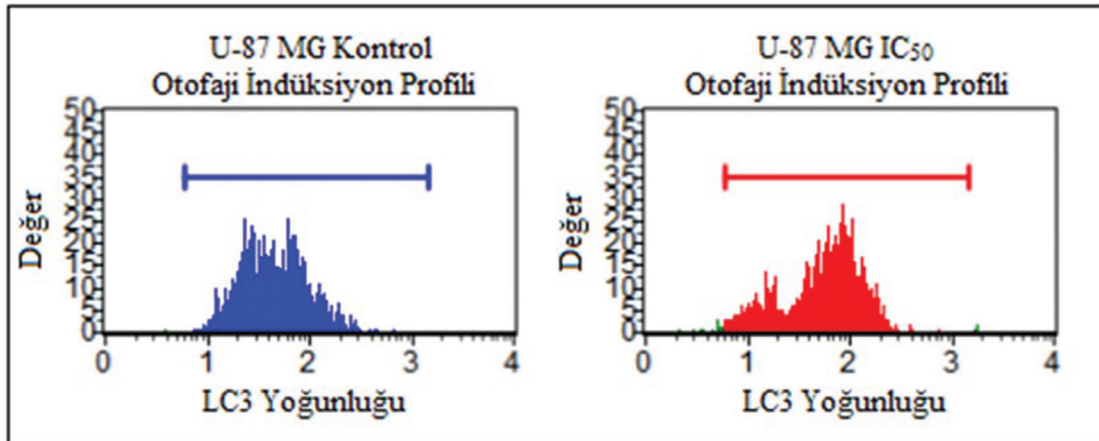


Şekil 2.GBM hücre kültüründe BPH'nin IC₅₀ konsantrasyonu ile (IC₅₀ : 2454 µM) 72 saat muamele edilen U-87 MG hücrelerinin canlı ve apoptotik evreleri (Viable and apoptotic phases of U-87 MG cells treated for 72 hours with IC50 concentration (IC50: 2454 µM) of BPH in GBM cell culture).

vurgulanmaktadır [23]. Otofaji yoluyla gerçekleşen hücre ölümünün de karsinogenezde apoptoz kadar etkili olabileceği düşünülmektedir. Fakat, rolü tam olarak tespit edilememiştir [24]. Yaptığımız çalışmada, U-87 MG hücre hattına uygulanan BPH bileşiğinin sitotoksik etkisinin IC₅₀ değeri 2454 µM olarak hesaplandı. Barranco ve Eckher't in prostat kanseri üzerine yaptıkları bir çalışmada borik aside maruz kalan tüm prostat kanseri hücre hatlarında doza bağlı olarak bir anti-proliferatif etki görülmüş ve hormondan bağımsız DU145 hücre hattının borik aside karşı en yüksek duyarlılığı gösterdiğini saptanmıştır. Belirlenen dozlarda (100 µM - 250 µM - 500 µM - 1000 µM) muamele edilen hücreler 8. günde DU145 belirlenen dozların sırasıyla %32-62-87-98 oranında; LNCaP belirlenen dozların sırasıyla %40-51-59-77 oranında proliferasyonu baskıladığı gözlemlenmiştir. PC-3 hücre hattında 500-1000 µM konsantrasyonlarında sırasıyla %29-52 oranında proliferasyonu baskıladığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma bizim yaptığımız çalışmayı proliferasyonun baskılanması yönünden desteklemektedir. Yine aynı çalışmada,

RWPE-1 hücre hattında, 8 günlük borik asit (500-1000 µM) maruziyetinin ardından hücre proliferasyonunun sırasıyla %26-76 oranında anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir [25].

Kahraman ve arkadaşlarının bazı bor bileşiklerinin bazı hücre hatları üzerinde sitotoksik ve genotoksik etkilerini değerlendirdikleri çalışmada BPH'nin CCL-62 hücreleri üzerinde 1000 µM dozda 5. gün %60 seviyesinde bir sitotoksite saptanmıştır. Aynı çalışmada yapılan Borik asit (BA) ve Disodyum pentaborat dekahidrat (DPD) bileşikleriyle gerçekleştirilmiştir. BA'nin herhangi bir sitotoksik bir etki göstermediği ancak DPD'in 500 µM ve 1000 µM uygulanarak 3 ve 5. Günde %30 değerinde bir sitotoksik etki gösterdiği saptanmış ve bu bor bileşiklerinin genotoksik etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir [26]. Murmu ve ark.larının yaptığı benzer bir çalışmada akut lenfoblastik lösemi (ALL) ve kronik miyeloid lösemi (KML) hastalarından izole edilen lösemi hücreleri ve miyeloid lösemi hücre hatları (HL 60 ve U-937) 3 farklı bor bileşiği [dihidroksi (oksibiguanido)



Şekil 3. GBM'nin hücre kültüründe BPH'nin IC₅₀ konsantrasyonu ile (2454 µM) muamele edilen U-87 MG hücrelerinin otofaji indüksiyon oranı ve ortalama otofaji yoğunluğu (Autophagy induction rate and mean autophagy intensity of U-87 MG cells treated with IC50 concentration (2454 µM) of BPH in cell culture of GBM).

boron (iii) hidroklorürmonohidrat (HB), guanidinbikorik asit katkısı (GB) ve hidrososalisilhidrosomboron (iii) (SHB)] ile muamele edildiklerinde apoptoz ile gerçekleşen bir sitotoksik etkinin gerçekleştiği tespit edilmiştir [27]. Korkmaz ve arkadaşlarının benzer çalışmasında DPD bileşiğinin DU145 hücre hattı üzerinde belirlenen doz aralığında (0,25 mM - 0,5 mM - 0,75 mM - 1 mM - 2,5 mM - 5 mM - 7 mM - 10 mM) uygulanmış IC_{50} değeri 3,5 mM olarak hesaplanmış ve telomeraz aktivitesini azaltarak sitotoksik bir etkiye sahip olduğu saptanmış ve ayrıca 7 mM DPD tedavisinin DU145 hücre hattında 24 - 48 - 72 saatlik ölçümlerinde sırasıyla %8-14-41 seviyelerinde apoptotik bir etkinliğinin olduğu tespit edilmiştir [28]. Bu çalışmada apoptotik etki üzerinden bor bileşiklerinin etkili olduğu ve bizim çalışmamızı destekler nitelikte olduğu gözlemlenmektedir. Cantürk ve arkadaşlarının lösemi hücre hatları ile yaptıkları bir çalışmada BA ve Sodyum tetraborat kullanılmış ve 500 uM BA ve Sodyum tetraborat konsantrasyonunda ölü hücreler olduğunu belirlemişlerdir (sırasıyla %50 ve %40). Normal lenfositlerde ve HL-60 (akut lösemi hücreleri) hücrelerinde 1000 uM konsantrasyonda (sırasıyla %2,5 ve %8,8) apoptotik bir etki bulunmuştur [29]. Tepedelen ve arkadaşlarının Kalsiyum fruktoborat (CaFB)'in MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında özellikle 50 uM ile yapılan tedavide önemli ölçüde anti proliferatif bir etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca 10 uM'lık CaFB tedavisinde caspase 9 seviyesini arttırarak apoptoza sürüklediğini keşfetmişlerdir [18].

4. Sonuçlar (Conclusions)

Yapılan hücresel çalışmaların bor bileşiklerinin kanser hücreleri üzerinde bir sitotoksik etkisinin olduğunu ve bu etkinin apoptoz mekanizması üzerinden gerçekleştiğini görmekteyiz. Bizim çalışmamızdaki yeni bor bileşiği BPH'in aynı şekilde potansiyel tedavi edici özelliğinin bu etki mekanizması üzerinden olduğu için yapılan çalışmaları destekler niteliktedir. Belirlenen IC_{50} değeri aynı şekilde otofaji mekanizmasının araştırmasında Muse® Hücre Analiz cihazı kitleri kullanılmıştır. Verilerimizden de anlaşılacağı üzere kontrole göre BPH grubunda otofajik olarak belirgin bir artış gözlenmemiştir. Al-Ali ve Gonzalez-Sarmiento'nun yaptığı bir çalışmada 5mM BA maruziyeti sonrası H1299 ve COR-L23p ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hatları (NSCLC) üzerinde herhangi bir otofajik etkiye rastlanılmamıştır [30].

Sonuç olarak bu veriler ışığında, BPH'in GBM'ye model oluşturan U-87 MG hücrelerine sitotoksik etkisi belirlenirken, hücre ölümü biçiminin otofaji yerine apoptoz üzerinden gerçekleştiği anlaşılmaktadır. Otofaji yönünden anlamlı bir gözlem bulunmamaktadır. Bütün bu sonuçlar, BPH'in yeni araştırmalarla desteklenmesi kaydıyla, GBM'nin tedavisinde kullanılabilecek alternatif bir ajan olabileceğini düşündürmektedir.

Teşekkür (Acknowledgment)

Bu çalışma 113S700 numaralı TÜBİTAK 1001 projesi ile desteklenmiştir.

Kaynaklar (References)

- [1] Mrugala M. M., Advances and challenges in the treatment of glioblastoma: A clinician's perspective, *Discov. Med.*, 15 (83), 221-230, 2013.
- [2] Krakstad C., Chekenya M., Survival signalling and apoptosis resistance in glioblastomas: Opportunities for targeted therapeutics, *Mol. Cancer*, 9, 135, 2010.
- [3] Hubbard J. A., Binder D. K., Astrocytes and epilepsy chapter, 2 - Astrocytes in the mammalian brain, 39-51, 2016.
- [4] Louis D. N., Perry A., Reifenberger G., Von Deimling A., Figarella-Branger D., Cavenee W. K., Ohgaki H., Wiestler O. D., Kleihues P., Ellison D. W., The 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system: A summary, *Acta Neuropathol.*, 131 (6), 803-20, 2016.
- [5] Demirtaş A. Bor'un insan beslenmesi ve sağlığı açısından önemi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 41 (1), 75-80, 2010.
- [6] Bilgiç M., Dayık M., Borun özellikleri ve tekstil endüstrisinde kullanımıyla sağladığı avantajlar, *Taşıt Teknolojileri Elektronik Dergisi* 7(2), 2013.
- [7] Murray F. J., A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans, *Biol. Trace Elem. Res.*, 66, 331-41, 1998.
- [8] Fail P. A., Chapin R. E., Price C. J., Heindel J. J., General, reproductive, developmental, and endocrine toxicity of boronated compounds, *Reprod. Toxicol.*, 12 (1) 1-18, 1998.
- [9] Naghii M. R., Mofid M., Asgari A. R., Hedayati M., Daneshpour M. S., Comparative effects of daily and weekly boron supplementation on plasma steroid hormones and proinflammatory cytokines, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 25 (1), 54-58, 2011.
- [10] Hakki S. S., Malkoc S., Dundar N., Kayis S. A., Hakki E. E., Hamurcu M., Dietary boron does not affect tooth strength, micro-hardness and density, but affect stooth mineral composition and alveolar bone mineral density in rabbits fed a high-energy diet, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 29, 208-15 2015.
- [11] Hakki S. S., Bozkurt B. S., Hakki E. E., Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1), *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 24, 243-50, 2010.
- [12] Nzietchueng R. M., Dousset B., Franck P., Benderdor M., Nabet P., Hess K., Mechanism simplicated in the effects of boron on wound healing, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 16 (4), 239-244 2002.
- [13] Tepedelen E. B., Soya E., Korkmaz M., Boric acid reduces the formation of DNA double strand breaks and accelerates wound healing process, *Biol. Trace Elem. Res.*, 174 (2), 309-318, 2016.
- [14] Hunt C. D., Herbel J. L., Boron affects energy metabo-

- lism in the streptozotocin-injected, Vitamin D~ 3-Dep-
rived Rat., Magnesium and trace elements, 10, 374-
374, 1991.
- [15] Cui Y., Winton M. I., Zhang Z. F., Rainey C., Marshall
J., De Kernion J. B., vd., Dietary boron intake and
prostate cancer risk, *Oncol. Rep.*, 11, 887–92, 2004.
- [16] Korkmaz M., Uzgören E., Bakırdere S., Aydın F., Ata-
man O. Y., Effects of dietary boron on cervical cytopat-
hology and on micro nucleus frequency in exfoliated
buccal cells, *Environ. Toxicol.*, 22, 17–25, 2007.
- [17] Barranco W. T., Hudak P. F., Eckhert C. D., Evaluation
of ecological and in vitro effects of boron on prostate
cancer risk (United States), *Cancer Causes Control*,
18, 71–7, 2007.
- [18] Tepedelen E. B., Korkmaz M., Tatlisumak E., Uluer E.
T., Ölmez E., Değerli İ., Soya E., İnan S., A study on
the anti carcinogenic effects of calcium fructoborate,
Biol. Trace Elem. Res., 178 (2), 210-217, 2017.
- [19] Thorburn A., ApoptosisandAutophagy: Regulatory
connections between two supposedly different proces-
ses, *Apoptosis*, 13 (1), 1-9, 2008.
- [20] Reed J. C., Dysregulation of apoptosis in cancer, *Can-
cer J. Sci. Am.*, 4 (Suppl 1), S8–14, 1998.
- [21] Sung B., Chung H. Y., Kim N.D., Role of apigenin in
cancer prevention via the induction of apoptosis and
autophagy, *J. Cancer Prev.*, 21 (4), 216-226, 2016.
- [22] Ding Q., Bao J., Zhao W., Hu Y., Lu J., Chen X., Natu-
ral autophagy regulators in cancer therapy: A review,
Phytochem. Rev., 14 (1), 137–154, 2015.
- [23] Bursch W., Oberhammer F. Schulte-Hermann R., Cell
death by apoptosis and its protective role against di-
sease, *Trends Pharmacol. Sci.*, 13 (6), 245-51, 1992.
- [24] Russo M., Russo G. L., Autophagy inducers in cancer,
Biochem. Pharmacol., 2018.
- [25] Barranco W. T., Eckhert C. D., Boric acid inhibits hu-
man prostate cancer cell proliferation, *Cancer letters*,
216 (1), 21-29, 2004.
- [26] Kahraman E., Gürhan İ.D., Korkmaz M., Investigation
of possible genotoxic and cytotoxic effects of differen-
tial boron compounds in ccl 62 (hela contaminant) hu-
man amniotic epithelial cell line, *Med. Sci.*, 2 (1), 2013.
- [27] Murmu N., Ghosh P., Gomes A., Mitra S., Das M.,
Besra S. E., Majumdar J., Bhattacharya S., Sur P., Ve-
dasiromoni J. R., Anti neoplastic effect of new boron
compounds against leukemic cell lines and cells from
leukemic patients, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, CR, 20
(4), 511-515, 2002.
- [28] Korkmaz M, Avcı C. B., Gündüz C., Aygüneş D., Er-
baykent-Tepedelen B., Disodium pentaborate decahy-
drate (DPD) induced apoptosis by decreasing HTERT
enzyme activity and disrupting F-actin organization
of prostate cancer cells, *Tumor Biology*, 35 (2), 1531-
1538, 2014.
- [29] Cantürk Z., Tunali Y., Korkmaz S., Gülbaş Z., Cytotoxic
and apoptotic effects of boron compounds on leukemia
cell line, *Cytotechnology*, 68 (1), 87-93, 2016.
- [30] Al-Ali R., Gonzalez-Sarmiento R., High concentrations
of boric acid induce autophagy in cancer cell lines, Bi-
oRxiv, 193441, 2017.