



**MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEMEDE KULLANILAN
GADOBUTROL VE GADOVERSETAMİD ETKEN MADDELERİNİN
İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİNDE GENOTOKSİK ETKİSİ**

Ece DİMİCİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2020

Ece DİMİCİ tarafından hazırlanan “MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEMEDE KULLANILAN GADOBUTROL VE GADOVERSETAMİD ETKEN MADDELERİNİN İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİNDE GENOTOKSİK ETKİSİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Fatma ÜNAL

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan : Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye : Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 11/03/2020

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ece DİMİCİ

11/03/2020

MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEMEDE KULLANILAN GADOBUTROL
VE GADOVERSETAMİD ETKEN MADDELERİNİN İNSAN PERİFERAL
LENFOSİTLERİNDE GENOTOKSİK ETKİSİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Ece DİMİCİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2020

ÖZET

Bu çalışmada, manyetik rezonans görüntüleme de kullanılan gadobutrol ve gadoversetamid etken maddelerinin insan lenfositlerinde *in vitro* genotoksik etkileri kromozom anormallikleri (KA), kardeş kromatit değişimi (KKD) ve mikronükleus (MN) testleri ile incelenmiştir. Her iki maddenin de beş farklı konsantrasyonu (7 000, 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL) kullanılmıştır. Her iki madde (çoğu konsantrasyonlarda), hem kromozom anormallikleri ve hem de KA/Hücre frekansında, negatif kontrole kıyasla artışa sebep olmuştur. Anormal hücre frekansındaki artış, hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamada, gadobutrolün 112 000 µg/mL ve gadoversetamidin bütün konsantrasyonlarında (7 000 µg/mL hariç) negatif kontrole kıyasla anlamlıdır. 24 saatlik uygulamada, KA/Hücre frekansındaki artış gadobutrolün 56 000 ve 112 000 µg/mL’lik konsantrasyonlarında, gadoversetamidin ise tüm konsantrasyonlarında (7 000 µg/mL hariç) istatistiksel açıdan anlamlıdır. 48 saatlik uygulamada, gadobutrol KA/Hücre düzeyinde anlamlı bir farklılık oluşturmazken, gadoversetamid, bütün konsantrasyonlarda (7 000 µg/mL hariç) anlamlı bir artış oluşturmıştır. KKD testinde, gadobutrolün 24 saatlik uygulamasında, tüm konsantrasyonlarda KKD/Hücre düzeyi artış göstermesine rağmen, negatif kontrole kıyasla sadece 112 000 µg/mL’de istatistiksel olarak anlamlıdır. Diğer taraftan, gadoversetamidin bütün konsantrasyonları (7 000 µg/mL hariç), KKD/Hücre düzeyinde anlamlı bir artış oluşturmıştır. 48 saatlik uygulamada, her iki kontrast ajan, KKD/Hücre düzeyinde artışa sebep olmuştur, fakat bu artışlar 56 000 ve 112 000 µg/mL’lik konsantrasyonlarda anlamlıdır. Ayrıca, gadoversetamidin 7 000 µg/mL’lik konsantrasyonu da KKD/Hücre sayısında anlamlı artış meydana getirmiştir. Bunların tersine, her iki ajan, mitotik indeksi (Mİ) hem 24 ve hem de 48 saatte, 56 000 ve 112 000 µg/mL’de negatif kontrole kıyasla istatistiksel olarak düşürmüştür. 48 saatlik uygulamada, gadoversetamidin 7 000 µg/mL’lik konsantrasyonu da Mİ’i anlamlı düzeyde azaltmıştır. MN testinde, her iki maddenin bütün konsantrasyonları (gadoversetamid, 7 000 µg/mL hariç), negatif kontrole kıyasla MN frekansında artış oluşturmıştır. Fakat bu artış, sadece gadoversetamidin 112 000 µg/mL’lik konsantrasyonunda anlamlıdır. Bu kontrast ajanların hiçbir konsantrasyonu replikasyon indeksi ve nükleer bölünme indeksini anlamlı şekilde etkilememiştir. Bütün bu veriler, gadoversetamidin, gadobutrole kıyasla daha sitotoksik ve genotoksik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Bununla beraber, bu kontrast ajanların genotoksik etkilerini tam olarak ortaya koyabilmek için daha detaylı *in vitro* ve *in vivo* araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Bilim Kodu : 20316
Anahtar Kelimeler : Manyetik rezonans görüntüleme, Kontrast ajan, Gadobutrol, Gadoversetamid, Genotoksisite, Kromozomal anormallik testi, Mikronükleus testi, Kardeş kromatit değişimi testi
Sayfa Adedi : 86
Danışman : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

GENOTOXIC EFFECTS OF GADOBUTROL AND GADOVERSETAMIDE ACTIVE SUBSTANCES USED IN MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN HUMAN LYMPHOCYTES

(M. Sc. Thesis)

Ece DİMİCİ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

March 2020

ABSTRACT

In this study, the genotoxic effects of gadobutrol and gadoversetamide, active substances used in magnetic resonance imaging (MRI), were investigated by chromosome aberrations (CA), sister chromatid exchange (SCE), and micronucleus (MN) tests. Human lymphocytes were treated with the same five different (7 000, 14 000, 28 000, 56 000, and 112 000 µg/mL) concentrations of both agents. Both substances led to an increase in abnormal cell and CA/Cell frequency (at most concentrations) compared to the negative control. However, at 24 h, increase in the frequency of aberration was statistically significant at 112 000 µg/mL for gadobutrol and at all the concentrations (except 7 000 µg/mL) for gadoversetamide. At 48 h treatment, the frequency of aberrations significantly increased at 112 000 µg/mL of gadobutrol and at all the concentrations (except 7 000 µg/mL) of gadoversetamide. In terms of CA/Cell frequency, at 24 h treatment, the increase was statistically significant compared to the negative control at 56 000 and 112 000 µg/mL of gadobutrol and 14 000, 28 000, 56 000, and 112 000 µg/mL of gadoversetamide. At 48 h treatment, while there was no statistically significant increase in CA/Cell for gadobutrol, all the concentrations (except 7 000 µg/mL) of gadoversetamide statistically increased the same parameter. In SCE assay, at 24 h treatment of gadobutrol, SCE/Cell increased in all the concentrations, but only the highest one was statistically significant compared to the negative control. On the other hand, all the concentrations (except 7 000 µg/mL) of gadoversetamide caused significant increase on SCE/Cell. At 48 h treatment, both agents led to an increase on SCE/Cell compared to control however only the two highest concentrations were statistically significant. In addition, SCE/Cell statistically increased at 7 000 µg/mL of gadoversetamide. In contrast, both active substances induced significant decrease on the mitotic index (MI) at 56 000 and 112 000 µg/mL concentrations compared to the negative control at both 24 and 48 hour applications. In addition, 7 000 µg/mL of gadoversetamide led to significant decrease in MI at 48 h. In the MN test, all the concentrations of both contrast agents (except 7 000 µg/mL of gadoversetamide) stimulated the frequency of MN formation compared to negative control, however, this increase was statistically significant only at 112 000 µg/mL of gadoversetamide. Any concentration of both contrast agents statistically affect the replication index and nuclear division index. All these results indicate that gadoversetamide has a stronger cytotoxic and genotoxic potential compared to gadobutrol in human lymphocytes. However, more comprehensive *in vitro* and *in vivo* examinations are required to determine the exact genotoxic effects of these substances.

Science Code : 20316

Key Words : Magnetic resonance imaging, Contrast agent, Gadobutrol, Gadoversetamide, Genotoxicity, Chromosomal aberration, Micronucleus, Sister chromatid exchange

Page Number : 86

Supervisor : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, tecrübesi ve bilgileri ile her zaman yardımcı olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Fatma ÜNAL'a, bilgi ve önerileri ile yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU'na, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımları ile bana destek olan laboratuvarda çalışan tüm lisansüstü öğrenci arkadaşlarıma katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca tüm yaşamım boyunca bana her konuda sonsuz destek veren her zaman yanımda olan annem Türkan DİMİCİ'ye, babam Ahmet DİMİCİ'ye, kardeşim Güldenur DİMİCİ'ye ve sevgisiyle desteğiyle her zaman varlığını hissettiğim nişanlım Yiğit Semih AKBAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez 05/2019-19 nolu BAP projesi ile desteklenmiştir. Katkılarından dolayı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Manyetik Rezonans Görüntülemeye Kullanılan Kontrast Ajanlar.....	3
2.1.1. Paramanyetik kontrast ajanlar	4
2.1.2. Süperparamanyetik kontrast ajanlar.....	8
2.2. Kontrast Ajanların Toksisitesi.....	10
2.2.1. Gadolinyum bazlı kontrast ajanların toksisitesi	10
2.3. Kontrast Ajanların Genotoksik Etkileri.....	14
2.3.1. Gadobutrol.....	16
2.3.2. Gadoversetamid.....	17
2.4. Genotoksisite Testleri.....	18
2.4.1. Kromozom anormallikleri testi	19
2.4.2. Kardeş kromatit değişimi testi	20
2.4.3. Mikronükleus testi	21
3. MATERYAL VE METOT.....	25

	Sayfa
3.1. Materyal	25
3.1.1. Kromozom incelemesi için materyal	25
3.1.2. Test materyalleri ve kullanılan kimyasallar	25
3.2. Metot	26
3.2.1. Çalışmada kullanılan konsantrasyonların belirlenmesi	26
3.3. Preparatların Hazırlanması.....	27
3.3.1. Kültüre alınmış insan lenfositlerindeki çalışmalar	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	31
4.1. Gadobutrol ve Gadoversetamidin Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkileri.	31
4.2. Gadobutrol ve Gadoversetamidin Kardeş Kromatit Değişimi, Mitotik İndeks ve Replikasyon İndeksi Üzerine Etkileri.....	38
4.3. Gadobutrol ve Gadoversetamidin Mikronükleus Oluşumuna Etkileri.....	45
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	85

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Gadobutrolün insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri üzerine etkisi	32
Çizelge 4.2. Gadoversetamidin insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri üzerine etkisi.....	33
Çizelge 4.3. Gadobutrolün kardeş kromatit değişimi, replikasyon ve mitotik indeks üzerine etkisi	40
Çizelge 4.4. Gadoversetamidin kardeş kromatit değişimi, replikasyon ve mitotik indeks üzerine etkisi.....	41
Çizelge 4.5. Gadobutrolün mikronükleus frekansı ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi.....	46
Çizelge 4.6. Gadoversetamidin mikronükleus frekansı ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi	46
Çizelge 5.1. Gadobutrol ve gadoversetamidin insan lenfositlerindeki etkileri.....	65

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. a. Hidrojen atomlarının manyetik alan yokluğunda, b. harici manyetik alan varlığında manyetik dipol yönleri	5
Şekil 2.2. Çeşitli eksenlerde T1 ve T2 gevşemeleri	5
Şekil 2.3. Gadolinyum şelatlarının sınıflandırılması ve yapıları	7
Şekil 2.4. Lineer-makrosiklik GBKA'ların, iyonik-nonyonik formlara göre kararlılıkları ve Gd+3 salınımı	8
Şekil 2.5. Kardeş kromatit değişimi	21
Şekil 2.6. Klastojen veya anojen ile hücrede mikronükleus oluşumu.....	22
Şekil 3.1. Gadobutrolün yapısı.....	25
Şekil 3.2. Gadoversetamidin yapısı	26
Şekil 4.1. 24 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin, anormal hücre frekansı üzerine etkisi	34
Şekil 4.2. 48 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin, anormal hücre frekansı üzerine etkisi	34
Şekil 4.3. 24 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin, hücre başına düşen anormallik sayısına etkisi.....	35
Şekil 4.4. 48 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin, hücre başına düşen anormallik sayısına etkisi.....	35
Şekil 4.5. 24 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin kardeş kromatit değişimine etkisi.....	42
Şekil 4.6. 48 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin kardeş kromatit değişimine etkisi.....	42
Şekil 4.7. 24 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin mitotik indekse etkisi	43
Şekil 4.8. 48 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin mitotik indekse etkisi	43
Şekil 4.9. 24 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin replikasyon indeksine etkisi	44

Şekil	Sayfa
Şekil 4.10. 48 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin replikasyon indeksine etkisi	44
Şekil 4.11. 48 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin mikronükleus frekansına etkisi.....	47
Şekil 4.12. 48 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin nükleer bölünme indeksine etkisi	47

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Gadobutrol etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu yapısal kromozom anormallikleri a) kromozom kırığı ve kardeş kromatitlerde birleşme b) kromozom kırığı ve disentrik kromozom c) fragment d) halka kromozom e) kromatit değişimi	36
Resim 4.2. Gadobutrol etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu sayısal kromozom anormallikleri a) endoreduplikasyon b) poliploidi	37
Resim 4.3. Gadoversetamid etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu yapısal kromozom anormallikleri a) kromatit kırığı ve disentrik kromozom b) kromozom kırığı ve halka kromozom c) fragment d) kromatit değişimi e) kardeş kromatitlerde birleşme.....	37
Resim 4.3. (devam) Gadoversetamid etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu yapısal kromozom anormallikleri a) kromatit kırığı ve disentrik kromozom b) kromozom kırığı ve halka kromozom c) fragment d) kromatit değişimi e) kardeş kromatitlerde birleşme.....	38
Resim 4.4. Gadoversetamid etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu sayısal kromozom anormallikleri a) endoreduplikasyon b) poliploidi.....	38
Resim 4.5. Etken maddelerin insan lenfositlerinde oluşturduğu kardeş kromatit değişimleri a) gadobutrol, b) gadoversetamid.....	45
Resim 4.6. Etken maddelerin oluşturduğu bir mikronükleuslu binükleat hücreler a) gadobutrol, b) gadoversetamid	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
µl	Mikrolitre
µg/mL	Mikrogram/Mililitre
°C	Santigrat derece
mL	Mililitre
rpm	Devir sayısı
mmol/kg	Milimol/kilogram
M	Molarite
mM	Milimol
mmol/mL	Milimol/mililitre
mg/mL	Miligram/mililitre
mg/petri	Miligram/petri
µg/ petri	Mikrogram/petri
mg/kg	Miligram/kilogram
nm	Nanometre
mm	Milimetre

Kısaltmalar	Açıklamalar
ATP	Adenozin trifosfat
BrdU	Bromodeoksiüridin
Ca ⁺²	Kalsiyum
CO ₃ ⁻²	Karbonat
Cr ⁺³	Krom
Cu ⁺²	Bakır
CHO	Çin hamsteri ovaryum hücreleri
DMSO	Dimetil sülfoksit

Kısaltmalar**Açıklamalar****DNA**

Deoksiribonükleik asit

Dy⁺³

Disprosyum

EMA

Avrupa İlaç Ajansı

FDA

ABD Gıda ve İlaç İdaresi

Fe⁺³

Demir

Fe₂O₃

Demir oksit

Fe₃O₄

Manyetit

GBKA

Gadolinium bazlı kontrast ajan

Gd⁺³

Gadolinium

GdCl₃

Gadolinium klorür

HPRT

Hipoksantin-guanin fosforibosil transferaz

KA

Kromozomal anormallik

KCl

Potasyum klorür

KKD

Kardeş kromatit değişimi

LD₅₀

Letal doz

Mİ

Mitotik indeks

MMC

Mitomycin-C

MN

Mikronükleus

Mn⁺²

Mangan

MPIO

Mikron demir oksit

MR

Manyetik rezonans

MRG

Manyetik Rezonans Görüntüleme

MTX

Metotreksat

NBİ

Nükleer bölünme indeksi

NSF

Nefrojenik sistemik fibroz

OECD

Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Teşkilatı

OH⁻

Hidroksil

PET

Pozitron emisyon tomografisi

PO₄⁻³

Fosfat

RE

Nadir yer

Rİ

Replikasyon indeksi

SPIO

Küçük süperparamanyetik demir oksit

Kısaltmalar**Açıklamalar****USPIO**

Ultra küçük süperparamanyetik demir oksit

UV

Ultraviyole

Zn⁺²

Çinko

1. GİRİŞ

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), günümüzde tüm dünyada yaygın bir kullanım alanı bulan, bilgisayarlı tomografi gibi iyonize radyasyon içermeyen ve bu nedenle daha güvenli olduğu bilinen bir radyolojik tekniktir (Fatahi, Reddig, Friebe, Reinhold ve Speck, 2017). MRG, doku ve organların detaylı kesitsel ve üç boyutlu anatomik görünümünün elde edilmesini sağlayan, çeşitli hastalıkların tanısında, teşhisinde ve tedavisinin izlenmesinde kullanılan önemli bir görüntüleme yöntemi olup merkezi sinir sistemi, baş ve boyun, karaciğer ve kas-iskelet sisteminin görüntülenmesi için en iyi radyolojik teknik olarak kabul edilmektedir (Majumdar, Roy, Sen ve Chakraborty, 2020: 731, 739; Nates ve Price, 2020: 1861, 1868). Bu nedenle, MRG'nin kullanım alanı, her geçen gün artış göstermektedir. Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Teşkilatı'nın (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD) 2013 verilerine göre Türkiye'de bir milyon kişiye düşen MRG cihazı sayısı 10,4 iken Japonya'da 46,9 ve Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 34,5'tir. Diğer yandan ABD'de bin kişiye yapılan manyetik rezonans tetkik sayısı 106,9 iken, Türkiye'de yapılan tetkik sayısı 118,3 ile OECD ülkeleri arasında en yüksek değere sahiptir (OECD, 2013; Yiğit, 2016).

MRG yüksek rezolüsyon ve yumuşak dokuları ayırt etme gibi avantajlara sahip olmasına rağmen, kontrastın tam olarak sağlanamadığı durumlarda kontrast ajanlar kullanılmaktadır (Geraldès ve Laurent, 2009). Günümüzde MR incelemelerinin %40-50'sinde kontrast ajanlar kullanılmaktadır (Bellin, 2006; Xiao, Paudel, Liu, Ma, Zhang ve Zhou, 2016). MRG'de kullanılan kontrast ajanlar genel olarak manyetik ve süperparamanyetik olmak üzere iki şekilde sınıflandırılırlar. Bunların yanı sıra kontrast maddeler, gadolinyum, mangan bazlı ve demir oksit bazlı olmak üzere çeşitli gruplara ayrılmaktadır. Kontrast ajanlar arasında en yaygın kullanılan grup gadolinyum bazlı olanlardır. Yapılan araştırmalara göre, MRG sırasında gadolinyum bazlı kontrast ajanların (GBKA'ların) dünya çapında 200 milyon üzerinde dozunun uygulandığı tahmin edilmektedir.

Kontrast ajanların toksik etkileriyle ilgili yapılan literatür taramalarında hem pozitif ve hem de negatif sonuçlar olduğu belirlenmiştir. Bu tez çalışmasının amacı, gadolinyum bazlı kontrast ajanlardan gadobutrol ve gadoversetamid etken maddelerinin insan lenfositlerinde *in vitro* genotoksik etkilerini, yönergeleri OECD tarafından yayınlanan kromozom

anormallikleri (KA) ve mikronükleus (MN) testleri ve ayrıca kardeş kromatit değişimi (KKD) testi ile incelemektir. Bu  alışma, iki farklı gadolinyum bazlı kontrast maddenin aynı konsantrasyonlarının insan lenfositlerindeki genotoksik etkilerinin karşılaştırılmal olarak incelendiği ilk araştırmadır. Bu incelemelerden elde edilecek sonu larla, hem gadobutrol ve gadoversetamidin tıp dünyasında insan sağlığı açısından daha güvenli bir şekilde kullanımına katkı sağlanacak ve hem de bu konuda büyük bir farkındalık oluşturulacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Manyetik Rezonans Görüntülemeye Kullanılan Kontrast Ajanlar

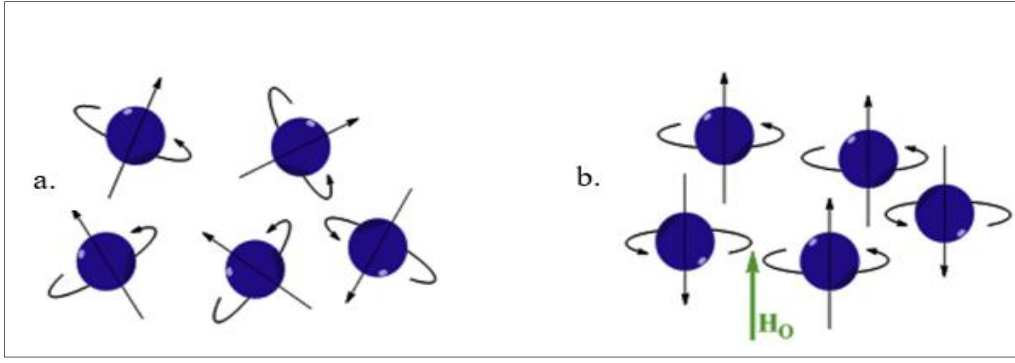
Kontrast ajanlar, dokuların MR-sinyal özelliklerini etkileyen paramanyetik veya süperparamanyetik metal iyonları içeren, hem MRG'nin görüntü kalitesini ve hem de vücudun iç yapısının görünürlüğünü arttıran tanısız farmasötik bileşiklerdir. Kontrast maddeler, doku kontrastını artırarak lezyonların karakterize edilmesinde ve perfüzyon ve akışla ilişkili neoplastik, inflamatuvar ve fonksiyonel anormalliklerin değerlendirilmesinde uygulanırlar (Bellin, 2006; Khairnar, More, Mounika ve Kapusetti, 2019; Xiao ve diğerleri, 2016). İdeal bir kontrast ajanın özellikleri arasında, dokuya spesifik olması, dokuda makul bir süre kalabilmesi ve böylece iyi bir kontrast sağlaması, görüntüleme sonrası hedef dokudan uygun bir şekilde atılması, uzun yarı-ömür, iyi bir kimyasal kararlılık, biyoyararlanım ve yüksek manyetik momente sahip olması gibi özellikler gösterilmektedir (Khairnar ve diğerleri, 2019; Ward, 2007).

Kontrast maddelerin insanlardaki ilk kullanımı 1981'de gastrointestinal sistemi görüntülemek amacıyla gerçekleştirilmiştir (Young, Clarke, Baffles, Pennock, Doyle ve Bydder, 1981). İlk kez, Runge, Stewart, Clanton, Jones, Lukehart, Partain ve James (1982) tarafından, Kuzey Amerika Radyoloji Derneği'nin (The Radiological Society of North America, RSNA) yıllık toplantısında, bakır (Cu^{2+}), krom (Cr^{+3}), demir (Fe^{+3}), mangan (Mn^{+2}) ve gadolinyum (Gd^{+3}) dahil olmak üzere paramanyetik iyonların ve bunların potansiyel komplekslerinin, MRG'de oral veya intravenöz kontrast madde olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Gadolinyum bileşiği, tanısız intravasküler MRG kontrast maddesi olarak ilk kez Carr, Brown, Weinmann, Speck, Thomas ve Young (1984) tarafından kullanılmıştır. 1988'de klinik kullanım için ilk onaylanan kontrast ajan gadopentetat dimeglumin (Gd-DTPA)'dir (Hao, Goerner, Hu, Runge ve Tweedle, 2012). Takiben, dünya çapında 8 adet gadolinyum içerikli kontrast ajan geliştirilmiş ve kullanım için onaylanmıştır. Bunlar, gadodiamid (Gd-DTPA-BMA), gadoversetamid (Gd-DTPA-BMEA), gadobenat dimeglumin (Gd-BOPTA), gadoksetik asit disodyum tuzu (Gd-EOB-DTPA), gadofosveset trisodyum (Gd-DTPA), gadoteridol (Gd-HP-DO3A), gadobutrol (Gd-BT-DO3A) ve gadoterat meglumin (Gd-DOTA)'dir (Thomsen, Marckmann ve Logager, 2007).

MRG kontrast maddeleri, manyetik özelliklerine, kimyasal bileşimlerine, metal atomunun varlığına veya yokluğuna, uygulanma şekline, biyolojik dağılımlarına ve manyetik rezonans görüntüsü üzerindeki etkilerine göre sınıflandırılmaktadır. Kimyasal bileşimleri ve manyetik özellikleri dikkate alındığında MRG kontrast ajanları paramanyetik ve süperparamanyetik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

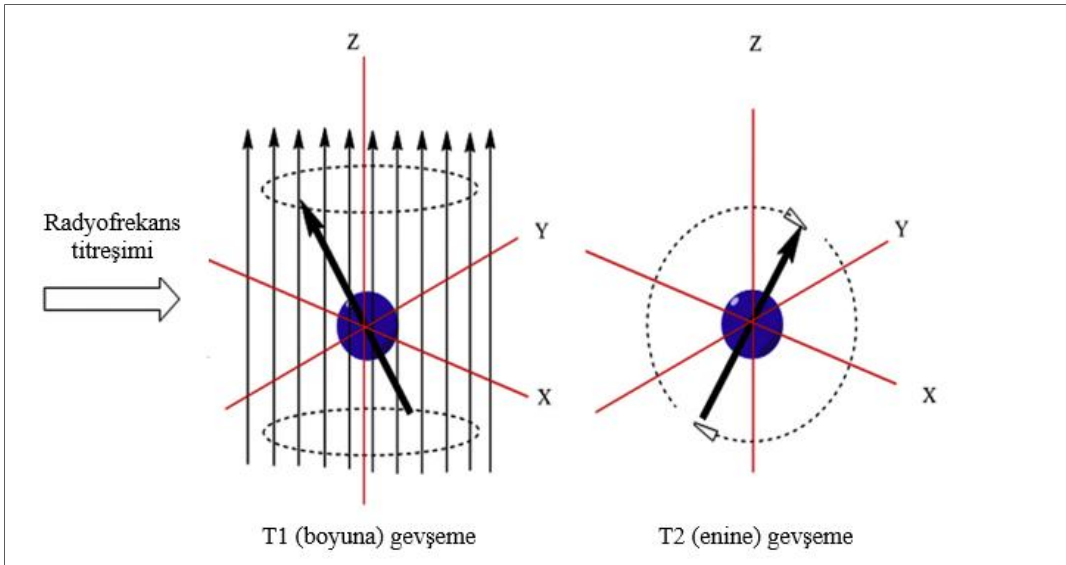
2.1.1. Paramanyetik kontrast ajanlar

Fornasiero, Bellen, Richmond ve Chatterton (1987) tarafından, MRG'nin, klinik uygulamalar için büyük avantajlara sahip olduğu ve ayrıca lezyonlar ile normal dokular arasındaki kontrastı iyileştirmek için paramanyetik maddelerin uygulanmasının gerekli olduğu belirtilmiştir. Önceki çalışmalarda, paramanyetik maddeler olarak eşlenmemiş değerlik elektronları nedeniyle nitroksit serbest radikalleri ve moleküler oksijen araştırılmış olmasına rağmen, bu maddelerin biyolojik özelliklerinin karmaşık olması ve daha büyük organik moleküller ile birleştiği takdirde biyolojik özelliklerinin manipüle edilmesi olasılığı göz önüne alınarak, kontrast ajanların paramanyetik metallere geliştirilmesinin gerekliliği vurgulanmıştır (Brasch, London, Wesbey, Tozer, Nitecki, Williams, Doemeny, Tuck ve Lallemand, 1983; Fornasiero, Bellen, Baker ve Chatterton, 1987; Geraldes ve Laurent, 2009). Sulu çözeltilerde, paramanyetik maddelerin atomunun elektronik manyetik momenti ile yakınındaki su moleküllerinin protonlarının çok daha küçük manyetik momenti arasında bir dipolar manyetik etkileşim bulunmaktadır. Hidrojen atomları doğal ortamda rastgele yönelmiş vaziyette bulurken, dipoller sıfıra yakın bir manyetik alan üretir, diğer yandan harici bir manyetik alan oluşturulduğunda, dipoller uygulanan manyetik alan yönünde hizalanarak pozitif alan üretmektedir (Şekil 2.1). Moleküler hareketler, dipolar manyetik etkileşim üzerinde rastgele dalgalanmalar meydana getirerek, su protonlarının hem boyuna (T1) ve hem de enine (T2) gevşeme sürelerini azaltmaktadır (Geraldes ve Laurent, 2009; Khairnar ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.1. a. Hidrojen atomlarının manyetik alan yokluğunda, b. harici manyetik alan varlığında manyetik dipol yönleri (Khairnar ve diğerleri, 2019)

Temel olarak, T1 faktörü, manyetik dipollerin (spinlerin) harici bir manyetik alanın varlığında mevcut protonların ve kontrast ajanların uygun bir şekilde hizalanması için gereken süreyi tarif etmektedir. Bu nedenle, T1 gevşemesi, manyetik alanın uzunlamasına yönde çıkarılmasından sonra, protonların gevşeme durumuna veya dengeye gelmelerini ifade etmektedir. Fiziksel olarak, T1 gevşemesi, Z ekseninde nükleer spinden komşu moleküllere enerji aktarım hızını ölçerken, benzer şekilde, T2 gevşemesi, uygulanan manyetik alana dik açı olan XY düzlemindeki manyetizmanın bozulma hızını ölçmektedir (Şekil 2.2). T2 gevşemesi sırasında, protonların ve kontrast ajanların manyetik dipolleri dipol-dipol etkileşimi ile bir manyetik etkileşim oluşturmaktadır (Bumb, Brechbiel ve Choyke, 2010; Khairnar ve diğerleri, 2019; Schuhle ve Caravan, 2013; 901, 932).



Şekil 2.2. Çeşitli eksenlerde T1 ve T2 gevşemeleri (Khairnar ve diğerleri, 2019)

MRG'de, temel olarak T1 ve T2 dizileri kullanılmaktadır. T1 ağırlıklı diziler, T1 relaksasyon süresini kısaltıp çok iyi bir yumuşak doku kontrastı ve boyutsal çözünürlük sağlayarak anatomik değerlendirmeye yardımcı olurken, T2 ağırlıklı diziler T2 relaksasyon süresini kısaltıp patolojik sinyal yoğunluğu değişikliklerinin kolayca ayırt edilebilmesini sağlar (Bittner ve Felix, 1998; Müller, 2002). Aynı zamanda T1 ağırlıklı görüntüler, yağ dokuyu parlak beyaz bir sinyal olarak gösterirken, su ve beyin omurilik sıvısını daha karanlık göstererek kontrast sağlamaktadır. T2 ağırlıklı görüntülerde ise, yağ doku gri iken kan, ödem ve beyin omurilik sıvısı beyaz bir sinyal olarak görünmektedir. Bu da, görüntülemenin yapılacağı doku veya organa göre, hangi dizinin kullanılacağını belirlemektedir (Hasebroock ve Serkova, 2009).

Fiziksel özellikleri nedeniyle T1 ve T2 gevşeme sürelerini etkili bir şekilde azaltabilen metaller, paramanyetik kontrast ajan olarak kullanılmaktadır (Gerald ve Laurent, 2009). Paramanyetik ajanlar, eşlenmemiş elektronları bulunan ve bu nedenle manyetik moment özelliğine sahip olan disprosyum (Dy^{+3}), lantanid metal gadolinyum (Gd^{+3}) veya geçiş metali mangan (Mn^{+2}) metalleri ile bu metallerin toksisitesini azaltmak amacıyla şelat adı verilen organik bileşiklerle ligand meydana getiren komplekslerden oluşmaktadır (Normann, Hustvedt, Storflor ve Hals, 1995, Shokrollahi, 2013; Xiao ve diğerleri, 2016). Günümüzde, MRG kontrast ajanlarında, bu metal atomları arasında en yaygın kullanılan gadolinyum (III) olup, diğer metallere kıyasla daha yüksek manyetik momente ve kararlı bir yapıya sahiptir (Xiao ve diğerleri, 2016).

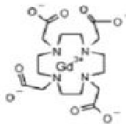
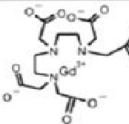
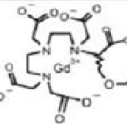
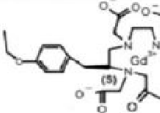
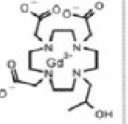
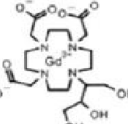
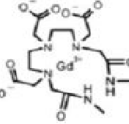
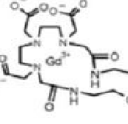
Gadolinyum bazlı kontrast ajanlar

Gadolinyum bazlı kontrast ajanlar (GBKA'lar) tıbbi görüntülemede yaygın olarak kullanılmaktadır. GBKA'lar, dünya çapında yılda yaklaşık 30 milyon, üretildiği ilk günden bugüne ise toplam 300 milyonun üzerinde dozu uygulanan maddelerdir. Gadolinyum, 1880'de Jean Charles de Marignac tarafından keşfedilmiş ve adını kimyager Johan Gadolin'den almış nadir bir yer elementidir. Gadolinyum, eşlenmemiş yedi elektrona sahip, oldukça paramanyetik bir ağır metaldir. GBKA'lardaki kimyasal bağlar, bir gadolinyum iyonundan ve bir taşıyıcı molekülden oluşmaktadır. Taşıyıcı molekül olan şelatlar, gadolinyumun hem kontrast özelliklerini korur ve hem de toksisitesini azaltarak kemik doku ve karaciğerde birikimini önleyerek dokuları nekrozdan korumaktadır. Gadolinyum bazlı

kontrast ajanlar hem tanısal MRG'nin ve hem de manyetik rezonans anjiyografinin detay ve netliğini arttırmak için intravenöz olarak uygulanmaktadır (Rogosnitzky ve Branch, 2016, Şen-Dokumacı, 2012).

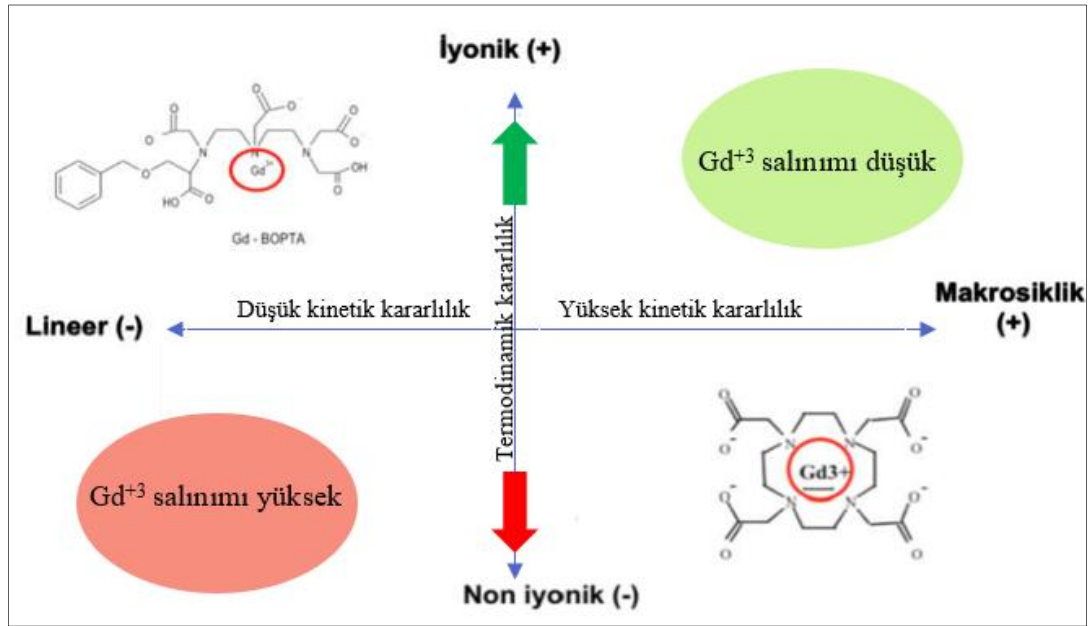
MRG sırasında dokuların, manyetik alan varlığında radyo frekansı ile titreştirilmesi sağlanır. Bu sayede, dokuların %63'ünü oluşturan su molekülleri içindeki protonların uyarılması teşvik edilir. Protonlar temel seviyeye geri döndüklerinde enerji serbest kalır ve bu fark kayıt altına alınarak MR görüntüsü oluşturulur. Değişen doku-sinyal yoğunluğu, T1 (boyuna) ve T2 (enine) olarak bilinen gevşeme süreleri ve proton yoğunluğu ile belirlenir. GBKA'lar, bir yandan dokuların sinyal yoğunluğunu artırırken bir yandan da gadolinyumun eşlenmemiş yedi elektronu sayesinde protonların gevşeme sürelerini azaltarak işlev görür (Oyar, 2008; Rogosnitzky ve Branch, 2016; Rozenfeld ve Podberesky, 2018).

GBKA'lar, iyonik-noniyonik ve makrosiklik-doğrusal olmak üzere iki şekilde sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.3).

	Makrosiklik		Doğrusal	
İyonik		Gd-DOTA, gadoterat meglumin, Dotarem		Gd-DTPA, gadopentetat dimeglumin, Magnevist
		Gd-BOPTA, gadobenat dimeglumin, MultiHance		Gd- EOB-DTPA, gadoksetik asit disodyum tuz, Primovist
Noniyonik		Gd-HP-DO3A, gadoteridol, ProHance		Gd-BT-DO3A, gadobutrol, Gadovist
		Gd-DTPA-BMA, gadodiamid, Omniscan		Gd-DTPA-BMEA, gadoversetamid, OptiMARK

Şekil 2.3. Gadolinyum şelatlarının sınıflandırılması ve yapıları (Idée, Port, Robic, Medina, Sabatou ve Corot, 2009)

GBKA'ların bu kategorilere ait şematları arasındaki en önemli farklılık, maddelerin kararlılıklarıdır. Makrosiklik bileşikler, kompleksin boşluğunda Gd^{+3} bulunan kafes benzeri yapılar oluşturdıklarından daha düşük ayrışma oranına sahiptir. Bu nedenle, makrosiklik ajanlar, doğrusal ajanlara göre daha yüksek bir kararlılığa sahipken, iyonik bileşikler de noniyonik bileşiklere göre daha yüksek bir kararlılığa sahiptir. GBKA'lar arasında termodinamik olarak en kararlı yapıya sahip olan ajan gadoterat meglumindir. Ancak iyonik-makrosiklik ve noniyonik-makrosiklik ajanlar arasında klinik olarak anlamlı bir kararlılık farkı yoktur (Hope, 2018: 41, 51; Şen-Dokumacı, 2012). Port ve diğerleri (2008), ajanların ayrışma sabitleri ne kadar yüksek olursa dokulara ve dolaşıma toksik serbest gadolinyum salınımının da bir o kadar yüksek olabildiğini belirtmiştir (Rogosnitzky ve Branch, 2016) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Lineer-makrosiklik GBKA'ların, iyonik-noniyonik formlara göre kararlılıkları ve Gd^{+3} salınımı (Çekdemir, 2016)

2.1.2. Süperparamanyetik kontrast ajanlar

Süperparamanyetik kontrast ajanlar, birkaç bin manyetik iyon içeren, boyutları 1-10 nm arasında değişen çok küçük kristalitlerden oluşan kolloid yapıdaki materyallerdir (Gerald ve Laurent, 2009). Süperparamanyetik materyaller, paramanyetizmaya benzer şekilde davranır, ancak her bir atomun harici bir manyetik alandan bağımsız olarak etkilenmesi yerine, tüm kristalitin manyetik momenti mevcut manyetik alanla hizalanma eğilimindedir.

Böylece, her bir iyonun manyetik momenti karşılıklı olarak hizalanarak kristalitlerin, tek bir gadolinyum şelatından çok daha büyük ve kalıcı bir manyetik momente sahip olması sağlanmaktadır (Laurent, Forge, Port, Roch, Robic, Vander Elst ve Muller, 2008; Muller, Vander Elst, Roch, Peters, Csajbok, Gillis ve Gossuin, 2005). Süperparamanyetik parçacıkların her biri, topaklanmayı önleyen dekstranlardan veya siloksanlardan oluşan bir kaplama içine gömülmüş bir veya daha fazla manyetik kristalitin çekirdeğinden yapılmaktadır. Kristalitler ise, stokiometrik (tam oranlı) olmayan demir oksitlerden oluşmaktadır. Bu yapıyı oluşturan çekirdeğin boyutu parçacık gevşemelerini belirlerken, genel parçacığın boyutu ise farmakokinetiğini yönetmektedir (Geraldès ve Laurent, 2009).

Partiküllerin toplam boyutuna göre; çapı 50 nm'den küçük olan ultra küçük süperparamanyetik demir oksit (USPIO) partikülleri, çapı 50 nm'den büyük olan küçük süperparamanyetik demir oksit (SPIO) partikülleri ve birkaç mikron çapında olan demir oksit (MPIO) parçacıkları olmak üzere üç çeşit süperparamanyetik demir oksit (SPIO) kullanılmaktadır. USPIO ve SPIO partikülleri intravenöz kullanıma uygunken, mikron boyutundaki süperparamanyetik demir oksit parçacıkları, akciğer alveollerinde tutunma riskinden dolayı ağız yoluyla uygulanabilmektedir (Geraldès ve Laurent, 2009; Şen-Dokumacı, 2012).

SPIO kontrast ajanları, ilk olarak 20 yıl önce kullanıma başlanan ve MRG sırasında uygulandığında, kontrast maddeyi absorbe eden dokulardaki T2 sinyallerinin yoğunluğunu azalttığı için, karaciğer tümör görüntülemelerinde başarılı sonuçlar elde edilen maddelerdir (Na, Song ve Hyeon, 2009; Nakamura, Ito, Kotake, Mizokami ve Matsuoka, 2000; Şen-Dokumacı, 2012; Xiao ve diğerleri, 2016). Feridex I.V., Resovist, Sinerem ve Clariscan gibi SPIO'lar ve USPIO'lar geçmişte kullanım için onaylanmış ancak şu anda kullanılmamaktadır. Günümüzde karaciğer, dalak ve lenf nodu görüntülemeleri için MRG'de kullanılan süperparamanyetik kontrast ajan Lumirem/GastroMARK'tır. Fe_3O_4 (manyetit) ve Fe_2O_3 (demir oksit) gibi süperparamanyetik nanopartiküller ise, diğer kontrast ajanlara kıyasla kimyasal kararlılıklarının daha yüksek, toksisite oranlarının daha az olması ve biyobozunurlukları gibi avantajları nedeniyle klinik uygulamada popüler bir şekilde kullanılmaktadır (Na ve diğerleri, 2009; Xiao ve diğerleri, 2016).

2.2. Kontrast Ajanların Toksisitesi

1970'lerin teknolojik görüntüleme devrimi manyetik rezonans görüntüleme, pozitron emisyon tomografisi (PET), tek foton emisyon tomografisi ve ultrasonografi gibi tekniklerin kullanımını da beraberinde getirmiştir. Bugün, tüm bu yöntemler klinik ortamda onkoloji, nöroloji ve kardiyoloji görüntülemeleri için rutin olarak kullanılmaktadır. Bu görüntüleme yöntemlerinin her birinin kendi avantajları olduğu gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Bu avantajlara örnek olarak MRG'nin yüksek bir çözünürlüğe sahip olması gösterilirken, lezyonların tanısında daha hassas görüntüleme gerektiğinde kontrast ajan kullanımına ihtiyaç göstermesi ve bu maddelerin bazı yan etkilerinin bulunması, dezavantaj olarak görülmektedir (Hasebroock ve Serkova, 2009). Bu yan etkiler arasında ürtiker, kusma, hipotansiyon, vagal reaksiyon, anafaksi benzeri reaksiyonlar, larinks ödemi ve bronkospastik reaksiyon gibi akut renal olmayan etkiler, kontrast nefropati gibi akut renal yan etkiler ve özellikle GBKA'lar için nefrojenik sistemik fibroz (NSF) gibi geç yan etkiler bulunmaktadır (Çekdemir, 2016; Runge, 2001; Şen-Dokumacı, 2012).

2.2.1. Gadolinyum bazlı kontrast ajanların toksisitesi

ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından kullanımı onaylanmış gadolinyum bazlı kontrast maddelerinin, önerilen doz seviyelerinde kullanıldığında son yirmi yıla kadar güvenli, vücutta iyi tolere edilen ve böbreklerden hızla ve tamamen atılan ajanlar olduğuna inanılmaktaydı. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalara göre, MRG sırasında GBKA'lara maruz kalan, normal böbrek fonksiyonuna sahip bireylerin kemik dokularında ve beyin ve böbrek gibi organlarında gadolinyum birikimi olduğu ve bu birikimin tekrarlanan GBKA maruziyeti ile ilişkili olduğunu gösteren veriler bulunmaktadır (Mathur, Jones ve Weinreb, 2020). Lighthouse Projesi olarak bilinen, hasta savunuculuğu grubu aracılığıyla elde edilen ve hastalar tarafından başlatılan bir anketin sonuçlarına göre, son kontrast ajan uygulanan MRG çekimlerini takip eden bir ay içinde, hastalarda nörolojik, kas-iskelet sistemi ve dermal dahil olmak üzere bir dizi semptomun geliştiği bildirilmiştir (Rogosnitzky ve Branch, 2016). Sağlıklı böbrek fonksiyonuna sahip hastalarda, dokuda kontrast ajan birikimi ile ilgili artan veriler göz önüne alındığında, FDA, Temmuz 2015'te, MRG çekimleri sırasında GBKA'lara dört kez veya daha çok maruz kalma öyküsü olan kişilerde, beyinde birikim riskinin araştırıldığını belirten bir güvenlik duyurusu yayınlamış ancak GBKA'lara bağlı bir yan etki

oluşmadığını bildirmiştir (FDA, 2017). FDA Aralık 2017’de, bu güvenlik duyurusunu güncelleyerek, doku ve organlarda gadolinyum birikiminin, normal böbrek fonksiyonu olan hastalarda olumsuz sağlık etkileri ile doğrudan ilişkili olmadığını ve onaylanan tüm GBKA’ların yararının potansiyel risklerinden daha fazla olmaya devam ettiği sonucuna varıldığını belirtmiştir. FDA aynı duyuruda, hastaların GBKA uygulanmadan önce, hasta-ilaç kılavuzunu dikkatlice okumaları gerektiğini ve GBKA üreticilerinin de, bu kontrast maddelerinin güvenliğinin daha fazla değerlendirilebilmesi için daha çok sayıda insan ve hayvan çalışmaları yürütmeleri gerektiğini talep ettiklerini bildirmiştir (FDA, 2018a). GBKA’lara maruz kalma sonrası meydana gelen tıbbi durumlar ve tekrarlayan GBKA maruziyeti ile ilgili retrospektif veya prospektif klinik kohort çalışmalarının eksikliği nedeniyle, sağlıklı böbrek fonksiyonlarına sahip hastalarda gadolinyum doku birikiminin klinik önemi tam olarak bilinmemektedir. Ancak, gadolinyumun toksisite potansiyeli, GBKA’ların biyokimyası ve çeşitli gadolinyum şelatlarının birbirinden farklı kararlılıkları, literatürde mevcut olan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalardan elde edilebilmektedir (Rogosnitzky ve Branch, 2016).

Nefrojenik sistemik fibroz

Nefrojenik sistemik fibroz (NSF) ilk olarak Cowper, Robin, Steinberg, Su, Gupta ve LeBoit tarafından (2000), 3 senedir renal diyaliz hastası olan 15 kişide gelişen el ve ayak derilerinin kalınlaşması ve sertleşmesi ile kendini gösteren skleromiksödem benzeri bir durum olarak tanımlanmıştır. NSF, öncelikle cildi ve eklemleri etkileyen ve daha az sıklıkla kalp, akciğer, karaciğer ve kasları etkileyebilen nadir fakat ciddi bir hastalıktır. NSF ve gadolinyum bazlı kontrast ajanlar arasındaki ilk bağlantı, Grobner tarafından (2006) bildirilmiş olup, son evre böbrek yetmezliği olan 5 hastada gadodiamid (Omniscan®) kontrastlı manyetik rezonans anjiyografi uygulandıktan 2-4 hafta sonra cilt semptomlarının geliştiği tespit edilmiştir. Daha sonraki vaka analizleri incelendiğinde, hastaların çoğunda, GBKA maruziyetinden 3-6 ay sonra NSF geliştiği belirlenmiştir (Broome, Girguis, Baron, Cottrel, Kjellin ve Kirk, 2007; Endrikat, Dohanish, Schleyer, Schwenke, Agarwal ve Balzer, 2018). Yapılan araştırmalara göre, GBKA’ların standart dozdan daha yüksek (>0.1 mmol/kg) uygulandığı takdirde de NSF geliştiği tespit edilmiştir (Mathur ve diğerleri, 2020).

NSF'nin patofizyolojisi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak, edinilen bilgilere göre, ağır böbrek yetmezliği olan hastalarda, normal bireylere nazaran, GBKA'ların vücuttan daha yavaş atıldığı ve bu nedenle dokularda birikebildiği bildirilmiştir. Diğer yandan, kullanılan GBKA eğer düşük kararlılık gösteren yani lineer/noniyonik kategorisinde bulunan bir ajansa, gadolinyum şelatlarının vücutta ayrılarak serbest gadolinyum salınımını gerçekleşmesinin, NSF patogenezinde önemli bir faktör olduğu fikrini ortaya çıkarmıştır (Rogosnitzky ve Branch, 2016; Thomsen, Morcos, Almén, Bellin, Bertolotto, Bongartz, Clement, Leander, Gertraud, Heinz-Peer, Reimer, Stacul, Molen ve Webb, 2013). FDA tarafından onaylanan 447 NSF vakasında, 283'ünün gadodiamid, 125'inin gadopentetat dimeglumin, 20'sinin gadoversetamid, 10'unun gadobenat dimeglumin ve 9'unun gadoteridol uygulamasını takiben hastalarda ortaya çıktığı, diğer GBKA uygulamalarından sonra ise herhangi bir NSF semptomunun görülmediği bildirilmiştir (Penfield ve Reilly, 2008; 129, 134). Ülkemizde de 2013 yılında, Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Risk Yönetimi İdaresi tarafından hazırlanan doktor bilgilendirme mektubunda, NSF gelişiminin GBKA'ların türüne bağlı olduğu, etken maddelerin risklerine göre üç kategoriye ayrıldığı ve çeşitli risk azaltma yöntemleri bildirilmiştir. Bu kategoriler aşağıdaki gibidir:

- Yüksek Risk Grubu: Gadopentetik asit, gadodiamid ve gadoversetamid
- Orta Derecede Risk Grubu: Gadobenik asit, gadoksetik asit ve gadofosveset
- Düşük Risk Grubu: Gadoterik asit, gadobutrol

Risk azaltma yöntemi olarak, GBKA'ların kullanımından önce tüm hastalara renal disfonksiyon taraması yapılması gerektiği vurgulanmıştır. Eğer hastalarda şiddetli böbrek yetmezliği varsa, yani glomerüler filtrasyon hızı (GFR) 30 mL/dak/1,73 m²'den azsa, bu hastalarda, yüksek risk grubundaki GBKA'ların kullanımının kontrendikeye neden olabileceği, diğer yandan orta dereceli böbrek yetmezliği olan hastalarda yani GFR 30-50 mL/dak/1,73 m²'de ise mümkün oldukça en düşük GBKA dozlarının uygulanması gerektiği şeklinde uyarılar belirtilmiştir.

Gadolinyumun dokularda birikmesi

Şelatlı Gd⁺³'nin, normal böbrek fonksiyonuna sahip bireylerde böbrekler tarafından hızla temizlendiği düşünülmektedir, ancak yapılan çalışmalar bunun aksine, hayvanlarda ve insanlarda hem serbest ve hem de şelatlı Gd⁺³'nin dokularda birikim gösterdiği yönündedir

(Rogosnitzky ve Branch, 2016). Ratlarda yapılan bir çalışmada, doğrusal ve makrosiklik GBKA'lara tekrarlanan maruziyet sonucunda, hem doğrusal ve hem de makrosiklik ajanların beyincikte biriktiği ve kalıcı T1 sinyal hiperintensitesi gözlenmiştir. Doğrusal ajanların meydana getirdiği birikim konsantrasyonunun, makrosiklik olanlara kıyasla daha fazla olduğu belirtilmiştir (Robert, Lehericy, Grand, Violas, Fretellier, Idée, Ballet ve Corot 2015). Kanda, Fukusato, Matsuda, Toyoda, Oba, Kotoku, Haruyama, Kitajima ve Furui tarafından (2015a) yürütülen bir araştırmada, herhangi bir böbrek hastalığı teşhisi konmamış deneklerin ölüm sonrası beyin dokularında gadolinyum birikimi değerlendirilmiş ve gadolinyumun beyinde özellikle dentat çekirdeğinde ve globus pallidusta biriktiği tespit edilmiştir. Bu birikimin hem uygulanan GBKA sınıfına ve hem de uygulanan doza bağlı olduğu tespit edilmiştir (Kanda, Ishii, Kawaguchi, Kitajima ve Takenaka, 2014; Kanda, Osawa, Oba, Toyoda, Kotoku, Haruyama, Takeshita ve Furui, 2015b; Radbruch, Weberling, Kieslich, Eidel, Burth, Kickingereder, Heiland, Wick, Schlemmer ve Bendszus, 2014). Normal böbrek fonksiyonuna sahip hastalarda gerçekleştirilen bir başka çalışmada, GBKA'ların nöronal dokuda özellikle en yoğun olarak dentat çekirdekte, doza bağlı şekilde gadolinyum birikimine ve T1 ağırlıklı sinyal yoğunluğuna neden olduğu tespit edilmiştir (R. McDonald, J. McDonald, Kallmes, Jentoft, Murray, Thielen, Williamson ve Eckel, 2015). Normal böbrek fonksiyonuna sahip ve GBKA uygulanmış hastalarda yapılan otopsi sonrasında, gadolinyumun beyin, kemik ve cilt dokusunda biriktiği, bu birikimin daha çok kortikal kemikte bulunduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada, makrosiklik ve doğrusal GBKA'ların gösterdiği birikim karşılaştırılmış ve doğrusal yapıdaki GBKA'ların daha fazla birikime sebep olduğu tespit edilmiştir (N. Murata, Gonzalez-Cuyar, K. Murata, Fligner, Dills, Hippe ve Maravilla, 2016). Tüm bu çalışmalar, gadolinyumun dokuda birikim göstermesinin böbrek fonksiyonuna bağlı olmadığını göstermektedir.

Transmetalasyon

Serbest Gd^{+3} *in vivo* koşullarda insanlar için oldukça toksiktir (Pasquini, Napolitano, Visconti, Longo, Romano, Tomà ve Espagnet, 2018). Bu metal için en yaygın oksidatif durum +3'tür ve atom yarıçapı neredeyse kalsiyum ile aynıdır. Bu nedenle, iki metal birçok biyolojik olayda ligand olarak rekabet edebilmektedir. Gd^{+3} 'nin toksik etkisinin, hem fizyolojik pH'de çözünme özelliğinin olmamasından ve hem de Ca^{+2} ile rekabetinden dolayı, voltaja bağlı kalsiyum kanallarının tıkanmasından ve sinir uyarılarının iletimi vb. gibi çeşitli

fizyolojik olayların engellenmesinden kaynaklandığı bilinmektedir (Idée, Port, Raynal, Schaefer, Le Greneur ve Corot, 2006). Transmetalasyon olarak bilinen bu durum, organometalik bir bileşikteki bir metalin başka bir metal ile yer değiştirmesi sonucunda meydana gelmektedir. Özellikle doğrusal GBKA'ların, kalsiyuma ek olarak, çinko (Zn^{+2}), bakır (Cu^{+2}) ve demir (Fe^{+3}) gibi endojen katyonlar ile *in vivo* olarak transmetalasyon gerçekleştirdiğine dair veriler de mevcuttur. Doğrusal GBKA'ların, bu katyonlarla daha sık transmetalasyon gerçekleştirmesinin nedeninin, makrosiklik ajanların %1'den daha az serbest Gd^{+3} içermesi, doğrusal ajanlarda ise bu oranın %20'nin üzerinde olmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir (Idée ve diğerleri, 2006). Serbest Fe^{+3} ve Cu^{+2} kanda çok az miktarda bulunurken ve Ca^{+2} organik ligandlara karşı düşük bir eğilime sahipken, kanda yüksek bir konsantrasyona sahip olan Zn^{+2} 'nin, diğer iyonlara göre Gd^{+3} ile daha fazla transmetalasyon gerçekleştirme eğilimi gösterdiği düşünülmektedir (Hao ve diğerleri, 2012; Tweedle, Hagan, Kumar, Mantha ve Chang, 1991). PO_4^{-3} , CO_3^{-2} ve OH^- gibi anyonların da katyonlara benzer etki gösterdiğini ve serbest gadolinyum ile transmetalasyon gerçekleştirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Hao ve diğerleri, 2012).

2.3. Kontrast Ajanların Genotoksik Etkileri

Endüstride, tarımda ve tıpta, nadir yer (RE) elementlerinin yaygın kullanımı nedeniyle insanların bu elementlere maruziyeti ve bunların çevreye salınması son otuz yılda önemli ölçüde artmıştır. Yapılan bir araştırmada, en yaygın kullanılan nadir yer elementlerinden Gadolinyum (III) ve Lantanum (III)'un insan periferik lenfositlerinde genotoksik etkileri incelenmiştir. Hem gadolinyumun ve hem de lantanumun 0,25 mM ve 0,65 mM konsantrasyonlarının, mikronükleus frekansını anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir. Bu da, gadolinyumun ve lantanumun insan lenfositlerinde mutajenik bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Yongxing, Xiaorong ve Zichun, 2000).

Kontrast ajanların insan lenfositlerinde meydana getirdiği potansiyel genotoksik etkileri komet tekniği ile araştıran Yıldız, Cece, Kaya, Çelik, Taşkın, Aksoy, Koçyiğit ve Eren (2011), 28 hastanın MRG'den hemen önce, kontrast ajansız MRG'lerinden sonra ve gadodiamid uygulamalı MRG'lerinden sonra kan örneklerini incelemiştir. Kontrastlı MRG'den sonra incelenen lenfositlerdeki DNA hasarının, MRG öncesi ve kontrastsız MRG sonrası incelenen lenfositlerdeki DNA hasarına kıyasla arttığı tespit edilmiştir. Bu

çalışmaların bulgularına göre, artmış DNA hasarının, GBKA uygulamalarıyla doğru orantılı olduğu belirtilmiştir. Bu durumun, gadolinyumun monositler üzerinde, interlökin-6 ve interlökin-8 gibi proinflamatuvar ve profibrotik sitokinlerin ekspresyonunu artırıcı etkisinden kaynaklanabileceği vurgulanmıştır (Rodier, Coppé, Patil, Hoeijmakers, Muñoz, Raza, Freund, Campeau, Davalos ve Campisi, 2009).

GBKA'ların doğrusal-iyonik sınıfından gadobenat dimegluminin genotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla, çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar yürütülmüştür. Bu amaçla, gadobenat dimegluminin çeşitli konsantrasyonları ile *Salmonella typhimurium* suşlarında Ames ve *Escherichia coli* suşlarında bakteriyel mutajenite testi, insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri, Çin hamsteri, V79 akciğer hücrelerinde hipoksantin-guanin fosforibosiltransferaz (HPRT) ve ratların kemik iliği hücrelerinde mikronükleus testleri uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarından elde edilen bilgiye göre, gadobenat dimegluminin hiçbir konsantrasyonunun, herhangi bir *in vivo* veya *in vitro* test sisteminde anlamlı düzeyde hasara sebep olmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, gadobenat dimegluminin mutajenik bir potansiyele sahip olmadığı belirtilmiştir (Morisetti, Bussi ve Tirone, 1999).

Kontrast ajanların kan damarında tutulmasını sağlamak için 2 strateji takip edilmektedir. Bunlardan ilki, ajanın endotelyumdan geçişini önlemek için makromolekülün boyutunu arttırmak, diğeri ise ekstrasvazasyonu sınırlandırmak için albümini hedeflemektir (Mandry, Pedersen, Odille, Robert, Corot, Felblinger, Grenier ve Claudon, 2005). Gadofosveset trisodyum, albümini hedefleyerek kanda tutulum gösteren bir GBKA'dır. Gadofosveset trisodyumun mutajenitesi Ames, Çin hamsteri ovaryum (CHO) hücrelerinde kromozom anormallikleri ve *in vivo* fare mikronükleus testleri ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmaların sonucuna göre, gadofosveset trisodyum, uygulanan test sistemlerinde herhangi bir mutajenik etki göstermemiştir (Steger-Hartmann, Graham, Müller ve Schweinfurth, 2006).

GBKA'ların prelinik değerlendirmelerinde, gadoksetik asidin iki farklı formülasyonu genotoksik açıdan incelenmiş olup, bunlardan biri, ticari olarak piyasaya sürülecek konsantrasyon olan 250 mM, diğeri ise 500 mM'lik konsantrasyonudur. Gadodiamidin ise 2,7-27 mmol/kg aralığında çeşitli konsantrasyonları çalışılmıştır. Hem gadoksetik asidin ve hem de gadodiamidin genotoksik potansiyelini belirlemek amacıyla, Ames testi, gadoksetik

asit için Çin hamster V79 hücrelerinde HPRT testi ve insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri testi, gadodiamid için CHO hücrelerinde kromozom anormallikleri testi ile her iki ajan için de farelerde *in vivo* mikronükleus testi uygulanmıştır. Tüm bu testlerde, kontrast ajanların, uygulandığı hücreler üzerinde genotoksik veya mutajenik bir etkiye sahip olmadığı, kısaca bunların genotoksik açıdan negatif olduğu tespit edilmiştir (Döhr, Hofmeister, Treher ve Schweinfurth, 2007; Harpur, Worah, Hals, Holtz, Furuham ve Nomura, 1993).

2.3.1. Gadobutrol

İlk olarak 1998'de İsviçre'de kullanım için onaylanmış olan Gadobutrol, şu anda tüm Avrupa Birliği ülkeleri, Avustralya, Kanada, Çin, Güney Afrika, Meksika, Yeni Zelanda, Türkiye ve birçok Doğu Avrupa ve Asya ülkesini içeren 63 ülkede pazarlanmakta olan bir GBKA'dır. 2011'de ABD'de kullanımı onaylanmış ve pazarlanmaya başlanmıştır (Wack, Steger-Hartmann, Mylecraine ve Hofmeister, 2012). MRG'de oldukça yaygın bir şekilde kullanılan gadobutrol, makrosiklik ve noniyonik formdaki yapısıyla kararlı yapıya sahip ajanlar arasında bulunmaktadır. Gadobutrol, diğer GBKA'lara kıyasla daha yüksek suda çözünürlük ve daha düşük ozmolaliteye sahiptir. Ayrıca, piyasadaki tüm GBKA'ların standart konsantrasyonu 0,5 mmol/mL iken, yalnızca gadobutrol 1 mmol/mL'lik formda bulunmaktadır. Bu nedenle, daha düşük enjeksiyon hacmi ile, daha hızlı bir enjeksiyon sağlanmaktadır. Gadobutrol, NSF açısından da düşük risk grubunda yer alması nedeniyle, birçok kroniyal ve spinal kontrast iyileştirmeli MRG'de perfüzyon görüntülemelerinde ve anjiyografide diğer GBKA'lara göre daha sık tercih edilmektedir (Wack ve diğerleri, 2012).

Gadobutrolün mutajenitesini belirlemek amacıyla yürütülen bir araştırmada, 0,1875-10 mg/petri konsantrasyonları ile çeşitli *Salmonella typhimurium* suşlarında Ames testi ve *Escherichia coli* suşlarında bakteriyel mutajenite testi, 0,3-6,05 mg/mL konsantrasyonları ile Çin hamster V79 hücrelerinde HPRT testi ve insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri testi ve 2-8 mmol/kg konsantrasyonları ile farelerde *in vivo* mikronükleus testi uygulanmıştır. Bu çalışmanın bulgularına göre, hem prokaryotik ve hem de ökaryotik test sistemlerinde gadobutrolün genotoksik veya mutajenik bir potansiyelinin olmadığı tespit edilmiştir (Wack ve diğerleri, 2012).

2.3.2. Gadoversetamid

Gadoversetamid, 1999 yılında OptiMARK ticari adıyla FDA tarafından kullanımı onaylanan, anormal kan-beyin bariyeri, anormal beyin damarları, merkezi sinir sistemi ve karaciğer MRG'lerinde kullanılan doğrusal-noniyonik bir GBKA'dır (FDA, 2018b; Wible JR, Troup, Hynes, Galen, Macdonald, Barco, Wojdyla, Periasamy ve Adams, 2001). Avrupa İlaç Ajansı'nın (European Medicines Agency, EMA) Farmakovijilans Risk Değerlendirme Komitesi (The Pharmacovigilance Risk Assessment Committee, PRAC) tarafından (2017), gadolinyumun insan vücudunda birikim gösterme riski nedeniyle, doğrusal şelatlı gadolinyum bazlı kontrast maddeler için bazı pazarlama yetkilerinin askıya alınması önerilmiştir. Bu öneriler son zamanlarda EMA'nın Tıbbi Ürünlerin İnsanda Kullanımı Komitesi (Committee for Medicinal Products for Human Use, CHMP) tarafından yeniden değerlendirilmiş ve EMA'nın nihai görüşü doğrulanmıştır (Dekkers, Roos ve van der Molen, 2018; EMA, 2017). Pazar desteği askıya alınan doğrusal GBKA'lar, gadodiamid, gadopentetat dimeglumin ve gadoversetamid etken maddelerini içeren ajanlardır. Diğer yandan, gadobenat dimeglumin de doğrusal bir GBKA olmasına rağmen, eklemlerin ve karaciğerin bazı spesifik görüntülemelerinde kullanılması zaruri olduğundan, düşük dozlarda kullanımı desteklenmeye devam etmektedir (EMA, 2017). Amerika Birleşik Devletlerinde, gadoversetamidin yerini, gadoterat megluminin alması beklenmektedir (Runge, 2017). Aslında FDA bu ajanların kullanımını kısıtlamamıştır ancak bunların güvenli kullanımları amacıyla çalışmaların yürütüldüğü belirtilmiştir (Chehabeddine, Saleh, Baalbaki, Saleh, Khoury ve Hannoun, 2019). EMA tarafından yapılan kısıtlamalara rağmen, doğrusal GBKA'ların MRG'de kullanıma devam edildiği bilinmektedir (Dekkers ve diğerleri, 2018).

Gadoversetamidin genotoksik ve mutajenik potansiyelini belirlemek amacıyla hem prokaryotik ve hem de ökaryotik test sistemleri kullanılarak bazı çalışmalar yürütülmüştür. Gadoversetamidin, Ames testi ve *Escherichia coli* suşlarında bakteriyel mutajenitesini değerlendirmek için 100-5 000 µg/petri aralığındaki konsantrasyonları incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, gadoversetamidin yalnızca en yüksek konsantrasyon olan 5 000 µg/petri'da pozitif sonuç verdiğini göstermektedir. L5178Y TK^{+/+} fare lenfoma mutajenez testinde gadoversetamidin 1 500-5 017 µg/mL konsantrasyonları çalışılmış ancak hiçbir konsantrasyonda anlamlı düzeyde bir mutasyon artışı tespit edilmemiştir. CHO hücrelerinde

gerçekleştirilen kromozom anormallikleri testinde, gadoversetamidin 630-5 000 µg/mL aralığında konsantrasyonları ile muamele edilen hücrelerde, 5 000 µg/mL’lik dozun 24 ve 48 saatlik uygulamalarını takiben, sayısal kromozom anormalliklerinde anlamlı düzeyde artış görülürken, 5 000 µg/mL’lik dozun 24 saatlik uygulamasının sonucunda yapısal kromozom anormalliklerinde de anlamlı düzeyde bir artış gözlenmiştir. Aynı çalışmada yürütülen bir diğer incelemede, gadoversetamidin 1 250-5 000 mg/kg konsantrasyonları ile fareler üzerinde *in vivo* mikronükleus testi gerçekleştirilmiş ve hiçbir konsantrasyonun mikronükleuslu polikromatik eritrositlerin sayısında anlamlı bir artışa sebep olmadığı bildirilmiştir. Bu araştırmanın bulgularına göre, gadoversetamid *in vivo* klastojenik bir etki göstermezken, kromozom anormalliklerinde özellikle yüksek konsantrasyonlarda artışa sebep olduğu için zayıf bir genotoksik potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir (Wible JR ve diğerleri, 2001).

2.4. Genotoksisite Testleri

Genetik materyalde DNA eklentileri, DNA zincir kırıkları, gen mutasyonları, yapısal ve sayısal kromozom anormallikleri gibi hasarlara sebep olabilecek UV ve radyasyon gibi fiziksel ajanlar ile ilaçlar, gıda katkı maddeleri ve çevre kirleticileri gibi kimyasal ajanların etkileri, genetik toksisite testleri ile incelenmektedir. Bu tür maddeler, kanser de dahil olmak üzere, çeşitli hastalıklarla ilişkili genomik kararsızlıklara ve çoklu mutasyonlara da sebep olabilmektedir. Genetik materyalde meydana gelen hasar, ökaryotik organizmaların somatik hücrelerinde kansere kadar varabilen hasarlara yol açabilirken, germ hücrelerinde üremeyi olumsuz etkileyebilmekte veya kalıtsal mutasyonlara neden olabilmektedir. Bu nedenle, genotoksisite araştırmaları yeni bir bileşiğin mutajen ve/veya kanserojen olup olmadığının ve güvenliğinin değerlendirilmesinde kısaca insan sağlığı için önemli araştırmalardır. Ayrıca, genetik toksisite çalışmaları, bu bileşiklerin farmasötik, tarımsal, endüstriyel ve tüketici kullanımı için geliştirilmesi ve pazarlanmasında da kritik bir rol oynamaktadır (Gollapudi ve Krishna, 2000; Phillips ve Arlt, 2009: 88, 110; Atlı Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Yüzbaşıoğlu, Ünal ve Zengin, 2014; Ren ve diğerleri, 2017). İnsanlar sürekli olarak çevrelerindeki farklı türde fiziksel ve kimyasal ajanlara maruz kaldıklarından, çeşitli maddelerin potansiyel risklerinin ve yan etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılan bu testler insan sağlığı açısından da giderek önem kazanmaktadır.

Günümüzde yaygın bir şekilde tercih edilen *in vivo* ve *in vitro* genotoksisite testleri arasında kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi ve mikronükleus testleri bulunmaktadır (Avuloğlu-Yılmaz ve diğerleri, 2020; Avuloğlu-Yılmaz ve diğerleri, 2017; Patra, K. Das, S. K. Das ve Thatoi, 2019; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2006).

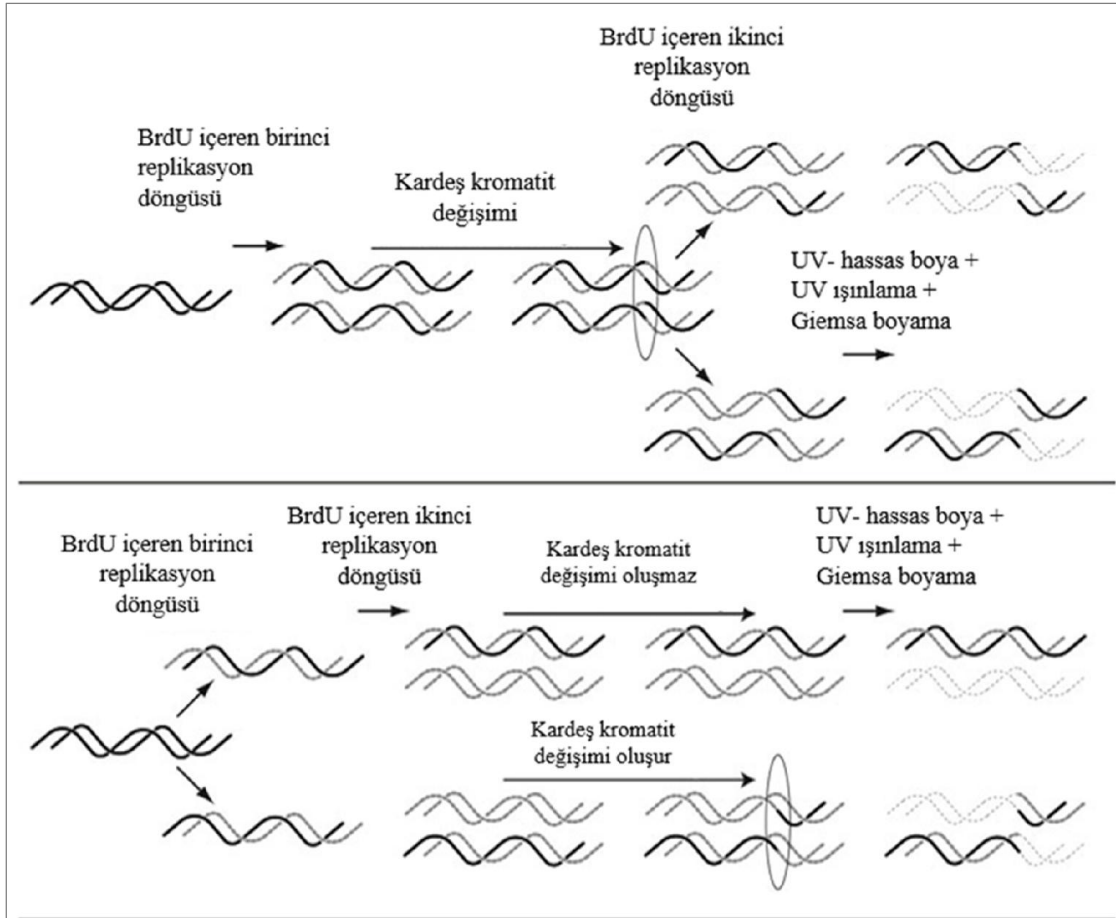
2.4.1. Kromozom anormallikleri testi

Kromozom anormallikleri (KA) testi, OECD (1997) tarafından yayınlanan yönergeye göre *in vitro* memeli hücreleri (OECD-473) ve *in vivo* memeli kemik iliği hücrelerinde (OECD-475) uygulanabilmektedir. Bu test ile çeşitli maddelerin oluşturabileceği kromozom kırığı, kromatit kırığı, fragment, disentrik kromozom, halka kromozom ve kardeş kromatitlerde birleşme gibi çeşitli yapısal anormallikler ile öploid gibi sayısal kromozom anormallikleri tespit edilebilmektedir. Kromozomal anormallikler, DNA seviyesindeki bir hasarın sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu DNA hasarlarının oluşum mekanizması ve bu hasarların kromozom hasarına dönüşüm mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, bu değişikliklerin hücre homeostazisinde de değişikliklere sebep olduğu, bu değişikliklerin de genomik kararlılıkta önem taşıdığı, ayrıca mutagenез ve kanserogenez olaylarının anlaşılmasında da kritik rol oynadığı bilinmektedir. Genelde, yapısal veya sayısal tipte ortaya çıkan kromozom anormalliklerinin her ikisi de hem yeni doğan bebeklerdeki doğumsal anormallikler ve hem de kanserde oluşan anormallikler nedeniyle, insan sağlığı ile yakından bağlantılıdır. Kromozomal kırıklar, DNA'daki onarılmamış çift zincir kırıkları nedeniyle meydana gelirken, yapısal olarak anormal kromozomlar ise zincirde meydana gelen kırıkların hatalı onarımı sonucunda oluşmaktadır. Yapılan araştırmalara göre, genotoksik maddelere maruz kalma sonucunda insan lenfositlerinde meydana gelen kromozomal anormalliklerindeki artış ile kanser riskindeki artış arasında pozitif bir bağlantı olduğu tespit edilmiştir (Avuloğlu-Yılmaz ve diğerleri, 2020; Güzel-Bayülken, Tüylü, Sinan ve Sivas, 2019; Hu, Maurais ve Ly, 2020; Yüzbaşıoğlu, Engüzel-Alperen ve Ünal, 2018).

2.4.2. Kardeş kromatit değişimi testi

Kardeş kromatit değişimi (KKD), kromatitler arasında homolog bölgelerin simetrik bir şekilde kırılıp yer değiştirmeleri sonucunda oluşmaktadır (Kontaş, Atlı-Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011). KKD'ler, S fazı sırasında, DNA eklentileri oluşturan veya DNA replikasyonunu bozan mutajenler tarafından oluşturulmaktadır. KKD oluşumu

rekombinasyonel onarım ile ve ayrıca nokta mutasyonları, gen amplifikasyonları ve sitotoksite ile de bağlantılıdır. KKD testi, kimyasal ajanların potansiyel kromozomal mutajenitesini belirlemek amacıyla 1970'lerden beri kullanılan bir test tekniğidir (Stults, Killen ve Pierce, 2014: 439, 455). KKD sayısı, mutajenlerin neden olduğu genetik hasarların sonucunda artabileceği gibi, DNA onarım mekanizmalarında hasar olan ve neoplazi oluşumuna yatkınlık gösteren Bloom sendromu, Fankoni anemisi, Ataksi-telanjektazi ve kseroderma pigmentosum gibi çeşitli kalıtsal hastalıklarda da artış göstermektedir. Bunların dışında, Werner sendromu, Cockayne sendromu, Duchenne Musküler Distrofi, Kronik myeloid lösemi ve hatta Down sendromlu hastalarda da KKD sayısında anlamlı artış olduğu rapor edilmiştir (Jasin ve Rothstein, 2013; Salawu, Wright, Al-Kathiri, Wyld, Reed ve Sisley, 2018). KKD'nin gözlebilmesi amacıyla, kültür ortamına ilave edilen 5-Bromo-2-deoksiuridin=Bromodeoksiüridin, hücre döngüsünün S evresinde timin analogu olarak replikasyona katılır ve bu sayede yeni sentezlenen DNA komplementer zincirine yerleşir. Kardeş kromatitlerdeki değişimler ise, ikinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerde yani DNA ipliğinin her iki sarmalına BrdU yerleştikten sonra tespit edilebilmektedir (Şekil 2.5).

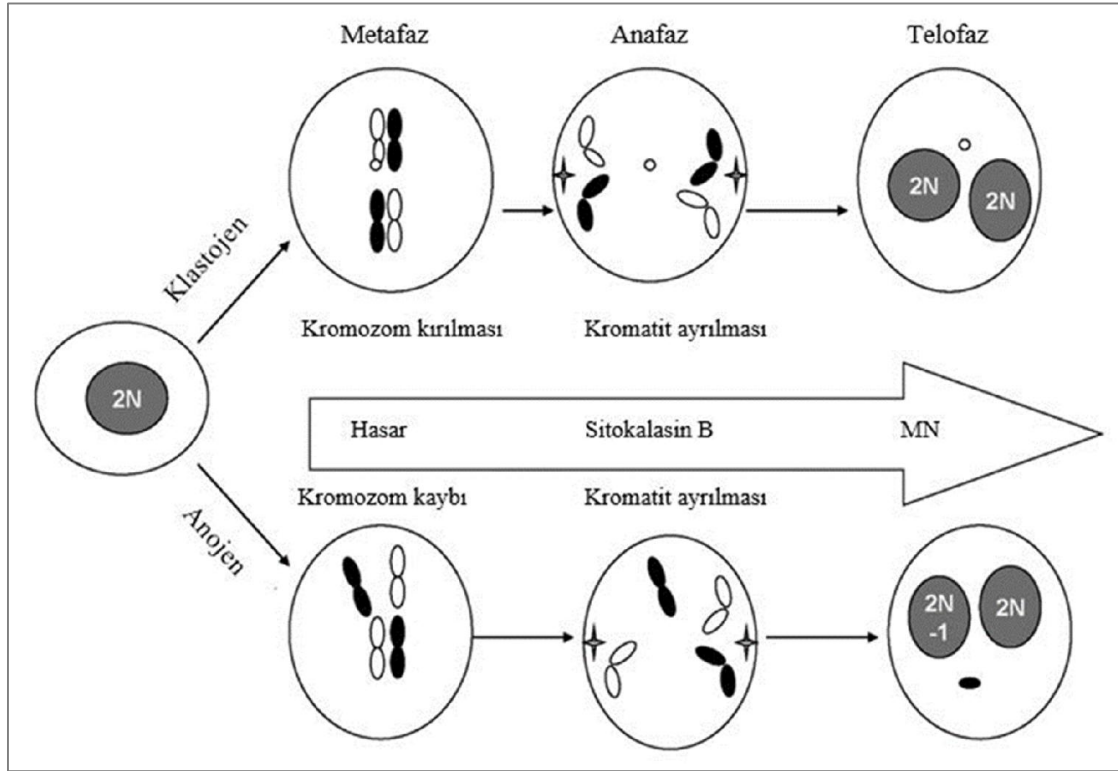


Şekil 2.5. Kardeş kromatit değişimi (Stults ve diğerleri, 2014)

2.4.3. Mikronükleus testi

Mikronükleus (MN), mutajenik ve/veya anöjenik etkilerin belirlenmesi için hızlı ve güvenilir bir test olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Fenech, 2000). Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Teşkilatının, fiziksel ve/veya kimyasal maddelerin olası genotoksik etkilerini belirlemek amacıyla mikronükleus testinin memeli hücrelerinde nasıl uygulanacağına yönelik detaylı bir yönergesi mevcuttur (OECD-487). Mikronükleus, hücre bölünmesi esnasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan, asentrik kromozom parçasından veya bütün bir kromozomdan köken alan yapılardır. MN, sitoplazma içerisinde, ana çekirdeğin dışında, çekirdek zarı ile sarılmış bir genetik materyaldir (Üstüner, 2011). MN analizi, *in vitro* koşullarda, metafaz kromozomlarını tek tek incelemekten ziyade, hücrelerin ana çekirdeklerinin dışında yer alan mikroçekirdeklerin varlığını değerlendirmektedir. MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom anormalliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ ipliklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak; klastojenler ise kromozom kırıkları oluşturarak sonuçta MN oluşumunu tetiklemektedir (Şekil 2.6). Bu nedenle, hücrelerde MN sayısında artış olduğunun belirlenmesi, somatik hücrelerdeki genomik kararsızlığın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. MN'ler, genellikle hücre çemberini kontrol eden genlerdeki hasarlardan, mitotik iğdeki hatalardan, kinetokordan veya mitotik aygıtın diğer parçalarından ve kromozomal hasarlardan kaynaklanabilir (Faqi, 2017; Kirsch-Volders ve Fenech, 2019).



Şekil 2.6. Klastojen veya anojen ile hücrede mikronükleus oluşumu (Nicolette, 2017)

Bu tez çalışmasının amacı, manyetik rezonans görüntülemenin kalitesini artırmak ve sağlıklı ve hasarlı dokular arasındaki farklılıkları daha belirgin bir şekilde ayırt etmek amacıyla son yıllarda tıbbi uygulamalarda yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanan gadolinyum bazlı kontrast ajanlardan gadobutrol ve gadoversetamidin insan lenfositlerindeki *in vitro* genotoksik etkilerini incelemektir. Bu amaçla GBKA'ların genotoksik etkileri, yönergeleri OECD tarafından da önerilen ve yayınlanan Kromozom Anormallikleri ve Mikronükleus testleriyle incelenmiştir. Ayrıca, OECD yönergelerinden çıkarılmış olmasına rağmen, uluslararası düzeyde birçok araştırmacı tarafından hala yaygın bir şekilde kullanılan Kardeş Kromatit Değişimi testi de uygulanmıştır. Bu çalışma ile gadobutrol ve gadoversetamidin

aynı konsantrasyonlarının insan lenfositlerinde herhangi bir genotoksik risk oluşturup oluşturmadığı ilk defa karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

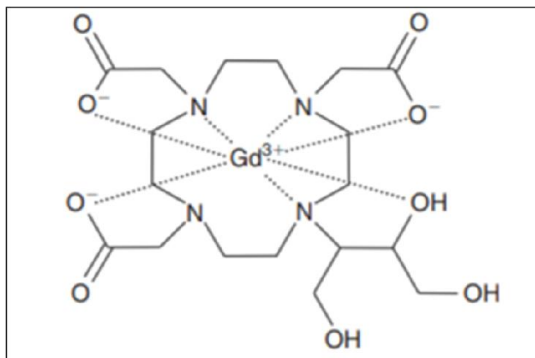
3.1.1. Kromozom incelemesi için materyal

Bu araştırmada, manyetik rezonans görüntüleme de kullanılan gadobutol ve gadoversetamid kontrast ajanlarının insan periferik lenfositlerinde *in vitro* koşullarda olası genotoksik etkileri incelenmiştir. Periferik kan örnekleri, sigara ve alkol tüketmeyen, herhangi bir sağlık problemi bulunmayan ve son aylarda herhangi bir genotoksik ajana maruz kalmamış, gönüllü olur formunu imzalayan, 20-30 yaşlarındaki 2 kadın ve 1 erkek (toplam 3) donörden alınmıştır. Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 24.09.2018 tarihinde 671 nolu kararla onaylanmıştır.

3.1.2. Test materyalleri ve kullanılan kimyasallar

Gadobutrol

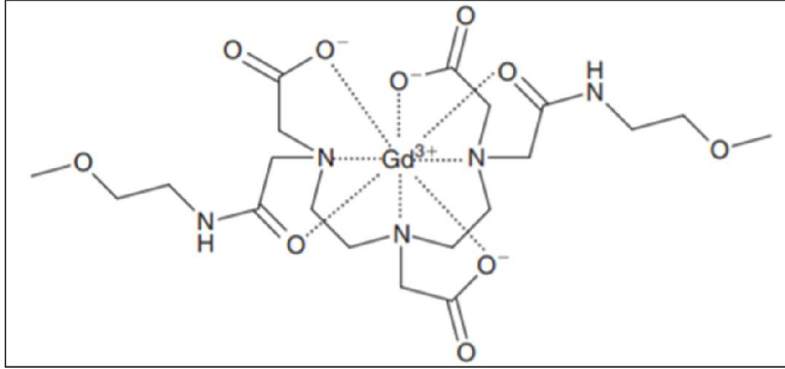
Bu çalışmada test materyali olarak kullanılan gadolinyum bazlı kontrast ajan gadobutrol olup, kimyasal formülü $C_{18}H_{31}GdN_4O_9$ ve IUPAC adı 2-[4,10-bis(karboksilatometil)-7-(1,3,4-trihidroksibütan-2-yl)-1,4,7,10-tetrazasiklododek-1-yl]asetat; gadolinyum(3+)'dur. Gadobutrolün yapısı Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Gadobutrolün yapısı

Gadoversetamid

Bu çalışmada diğer bir test materyali olarak kullanılan gadolinyum bazlı kontrast ajan gadoversetamiddir. Kimyasal formülü $C_{20}H_{34}GdN_5O_{10}$ olup IUPAC adı ise 2-[bis[2-[karboksilatometil-[2-(2-metoksietilamino)-2-oksoetill]amino]etil]amino]asetat; gadolinyum (3+)'dur. Gadoversetamidin yapısı Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Gadoversetamidin yapısı

Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar

Chromosome Medium B (Katalog No: F 5023), Glasiyal asetik asit (Katalog No: 64-19-7), Metil alkol (Katalog No: 67-56-1), Entellan (Katalog No: 1079610500), di-Sodyum hidrojen fosfat dodekahidrat (Katalog No: 10039-32-4), Potasyum dihidrojen fosfat (Katalog No: A585477452) ve Giemsa (Katalog No: HX947066) Merck'ten, Sitokalsin-B (Katalog No:14930-96-2), Mitomisin-C (Katalog No: 200-008-6), Bromodeoksiüridin (Katalog No: 59-14-3) ve Kolkisin (Katalog No:64-86-8) Sigma'dan temin edilmiştir. Diğer kimyasallar teknik formda bulunmaktadır.

3.2. Metot

3.2.1. Çalışmada kullanılan konsantrasyonların belirlenmesi

Test materyali olarak kullanılacak gadobutrol ve gadoversetamidin, insan lenfositlerine uygulanacak konsantrasyonlarının belirlenmesinde LD₅₀ ve insanlarda önerilen kullanım dozları dikkate alınmıştır. Daha önce yapılmış çalışmalardan elde edilen bilgilere göre gadobutrolün LD₅₀ değerinin rodentlerde 25 mmol/kg, gadoversetamidin ise farelerde 25

mmol/kg olduğu belirlenmiştir (Bellin ve diğerleri 2003; Wible JR ve diğerleri, 2001). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nden edinilen bilgiye göre, her iki kontrast ajanın da insanlarda önerilen intravenöz kullanım dozu 0,1 mmol/kg'dır (FDA, 2011; FDA, 2013). Bu araştırmada, gadobutrolün rodentlerdeki LD₅₀ değeri ve insanlarda önerilen kullanım dozu dikkate alınarak 0,875, 1 750, 3 500, 7 000, 14 000, 28 000, 56 000, 112 000 ve 604 000 µg/mL'lik konsantrasyonları ile bir ön deneme gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilere dayanarak, bu çalışmada kullanılmak üzere gadobutrolün 7 000, 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonları seçilmiştir. Gadoversetamidin de hem farelerdeki LD₅₀ değeri ve hem de insanlarda önerilen kullanım dozu göz önüne alınarak 1 750, 3 500, 7 000, 14 000, 28 000, 56 000, 112 000 ve 330 000 µg/mL'lik konsantrasyonları kullanılarak ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Bu ön deneme sonuçlarına göre, gadoversetamidin de 7 000, 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonları seçilmiştir. İnsan lenfositleri, gadobutrol ve gadoversetamidin seçilen bu konsantrasyonları ile, kullanılacak teste göre 24 ve/veya 48 saat kültüre edilmiştir.

3.3. Preparatların Hazırlanması

3.3.1. Kültüre alınmış insan lenfositlerindeki çalışmalar

Kromozom anormallikleri testi, Evans'ın (1984: 405, 427) yönteminde bazı değişiklikler ile (Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2006), kardeş kromatit değişimi testi ise Perry ve Wolff'un (1974) yönteminde bazı değişiklikler (Speit ve Haupter, 1985) yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu testler için, 2,5 mL Chromosome medium B besiyeri içeren tüplere, heparinli enjektörle donörlerden temin edilen periferik kandan 0,2 mL ilave edilmiştir. Aynı tüpe 10 µg/mL olacak şekilde BrdU (5-Bromo-2-deoksiüridin=Bromodeoksiüridin) eklenmiş ve tüpler 37°C'deki etüvde 72 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Gadobutrol ve gadoversetamidin 7 000, 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonları, kültürün son 24 ve/veya 48 saatinde her bir tüpe ayrı ayrı ilave edilmiştir. Uygulama gruplarına ek olarak, negatif kontrol grubuna distile su ve pozitif kontrol grubuna da 0,20 µg/mL'lik Mitomisin-C (MMC) ilavesi yapılmıştır. Kültür sonlanmadan 2 saat önce (kültürün 70. saatinde) tüplere 0,06 µg/mL olacak şekilde kolkisin eklenmiştir. İnkübasyonun 72. saatinde kültür sonlandırılmıştır. Etüvden alınan tüpler, 1 200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş, tüplerin üst kısmında kalan süpernatant atılmış ve dipte kalan hücre süspansiyonlarına 5 mL 0,075

M KCl çözeltisi ilave edilmiştir. Hücreler bu şekilde 37°C'lik etüvde 30 dakika inkübe edilmiş ve ardından 1 200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Daha sonra hücrelere soğuk 3:1 metanol:asetik asit çözeltisiyle 3 kez tespit işlemi uygulanmıştır. Yeniden santrifüj edilen tüplerdeki süpernatant atılmış ve tüplerin dibinde kalan, beyaz kan hücrelerini içeren süspansiyon homojenize edilerek lamlara yayılmıştır. Hazırlanan preparatlar oda sıcaklığında 1 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır.

Mikronükleus testi

Mikronükleus testi, Fenech'in (2000) yönteminde bazı değişiklikler (Kirsch-Volders ve diğerleri, 2011) uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Donörlerden, heparinli enjektörle temin edilen periferik kan, içinde 2,5 mL Chromosome medium B bulunan tüplere, 0,2 mL olacak şekilde ilave edilmiştir. Kültür tüpleri 37°C'deki etüvde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Hücre kültürünün 24. saatinde, tüplere hem gadobutrolün ve hem de gadoversetamidin 7 000, 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonları ilave edilmiştir. Negatif kontrol olarak distile su ve pozitif kontrol olarak Mitomisin-C (MMC) (0,20 µg/mL) kullanılmıştır. Sitokinezi bloke etmek amacıyla, inkübasyonun 44. saatinde, her bir tüpe 5,2 µg/mL Sitokalsin-B ilave edilmiştir. Kültürün 72. saatinde inkübasyon sonlandırılarak tüpler 1 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra süpernatant atılmış ve tüplerin dibinde kalan hücre süspansiyonuna 0,075 M KCl çözeltisi eklenmiştir. Takiben 1 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilen tüplerdeki süpernatant atılmış ve soğuk 3:1 metanol:asetik asit çözeltisi ile 3 kez hücrelerin fiksasyonu sağlanmıştır. Son fiksasyon çözeltisine %1'lik formaldehit eklenmiş ve tekrar santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Tüplerin dibinde kalan hücre süspansiyonu homojenize edilerek lamlara yayılmıştır. Hazırlanan preparatlar, oda sıcaklığında 1 gün süreyle kurumaya bırakılmıştır.

Preparatların boyanması

Kromozom anormallikleri, mikronükleus ve mitotik indeksin belirlenmesi için preparatlar Sorensen tamponu ile hazırlanan %5'lik Giemsa (pH 6,8) ile 15-25 dakika boyanmıştır. Kardeş kromatit değişimi ve replikasyon indeksinin değerlendirilmesi için preparatlar Speit ve Haupter'in (1985) yönteminde bazı değişiklikler yapılarak Floresan+Giemsa metoduna göre boyanmıştır. Boyamadan önce preparatlar Sorensen tamponunda (pH 6,8), 254 nm dalga boyunda 13 dakika ışınlanmış ve takiben 60°C'de 1xSSC'de (salin sodyum sitrat) 1

saat inkübe edilmiştir. Daha sonra preparatlar %5'lik Giemsa ile boyanmış, oda sıcaklığında kurutulmuş ve entellan ile daimi hale getirildikten sonra mikroskopik incelemeye alınmıştır.

Kromozom anormallikleri ve mitotik indeksin belirlenmesi

Kromozom anormalliklerinin belirlenmesi amacıyla her bir uygulama ve kontrol grubuna ait preparatlardan kromozomları iyi dağılmış olan toplam 300 metafaz (2 kadın ve 1 erkek donörün her birisinden 100 metafaz) değerlendirilmiştir. Bütün uygulama ve kontrol grupları için anormal hücrelerin yüzdesi ve hücre başına düşen kromozom anormalliği (KA/Hücre) sayısı tespit edilmiştir. Mitotik indeksin belirlenmesi için de her bir uygulama ve kontrol grubuna ait preparatlardan 3 000 (2 kadın ve 1 erkek donörün her birisinden 1 000) metafaz hücresi incelenmiştir. Mitotik indeks, bölünen hücre sayısının toplam hücre sayısına yüzde cinsinden oranı ile belirlenmiştir.

Kardeş kromatit değişimi ve replikasyon indeksinin belirlenmesi

Kültür ortamına ilave edilen BrdU ve takiben uygulanan ışınlama ve boyama işlemleri sonucunda kardeş kromatitler arasındaki parça değişimleri kolayca ayırt edilmiş ve değerlendirilmiştir. Bu amaçla, her bir uygulama ve kontrol grubu için, kromozomları iyi dağılmış ikinci mitozdaki 75 (2 kadın ve 1 erkek donörün her birinden 25) hücre incelenmiştir. Replikasyon indeksinin (RI) belirlenmesinde, her bir uygulama ve kontrol grubu için toplam 300 (2 kadın ve 1 erkek donörün her birinden 100) hücre değerlendirilmiştir. (RI)= $[1 \times (M1) + 2 \times (M2) + 3 \times (M3)] / N$ (N =incelenen toplam hücre sayısı) formülüyle hesaplanmıştır. Bu formüldeki M1: birinci, M2: ikinci ve M3: üçüncü mitoz bölünme evresindeki hücreleri göstermektedir.

Mikronükleus (MN) frekansının ve nükleer bölünme indeksinin (NBI) belirlenmesi

Mikronükleus frekansı, çekirdek bölünmesini tamamlamış ancak kültür ortamına ilave edilen Sitokalsin-B nedeniyle sitoplazmik bölünmeyi tamamlayamamış çift çekirdekli (binükleat) hücreler değerlendirilerek hesaplanmıştır. Her bir uygulama ve kontrol grubu için toplam 3 000 (2 kadın ve 1 erkek donörün her birinden 1 000) binükleat hücre değerlendirilmiştir. Bir mikronükleus (1MN), iki mikronükleus (2MN) ve 3 mikronükleus (3MN) taşıyan hücreler sayılmış ve $[1 \times (1MN) + 2 \times (2MN) + 3 \times (3MN + 4MN)] / N$ (N =

incelenen toplam hücre sayısı) formülü ile MN/hücre (hücre başına düşen MN sayısı) elde edilmiştir. Nükleer bölünme indeksi (NBİ) ise, her bir uygulama ve kontrol grubu için toplam 1 500 (2 kadın ve 1 erkek donörün her birinden 500) hücre kullanılarak değerlendirilmiştir. $NBI = [1x(1N) + 2x(2N) + 3x(3N + 4N)] / N$ (N= incelenen toplam hücre sayısı) formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Burada kullanılan 1N= bir çekirdekli hücreleri, 2N= iki çekirdekli hücreleri, 3N= üç çekirdekli hücreleri ve 4N= dört ve daha fazla çekirdekli hücreleri göstermektedir.

İstatistiksel analizler

Bu çalışmada kullanılan kontrast ajanlardan gadobutrol ve gadoversetamidin her bir uygulama konsantrasyonu ve uygulama süresinin kontrol gruplarıyla karşılaştırılması için mitotik indeks, anormal hücre frekansı, hücre başına düşen kromozom anormalliği, replikasyon indeksi, mikronükleus frekansı ve nükleer bölünme indeksi için z-testi; kardeş kromatit değişimlerinde t-testi kullanılmıştır. Ayrıca negatif kontrole kıyasla anlamlı değişim gözlenen uygulama grupları için doz-cevap ilişkisini saptamak amacıyla SPSS 15.0 bilgisayar programıyla regresyon analizi gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Gadobutrol ve Gadoversetamidin Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkileri

Gadobutrol ve gadoversetamidin kromozom anormallikleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla, lenfositler her iki maddenin 7 000, 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL olmak üzere beş farklı konsantrasyonu ile 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Hem gadobutrol ve hem de gadoversetamid lenfositlerde kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, disentrik kromozom, kardeş kromatidlerde birleşme ve halka kromozom olmak üzere 6 farklı yapısal kromozom anormalliği ile poliploidi ve endoreduplikasyon şeklinde 2 farklı sayısal kromozom anormalliği oluşturmuştur. Her iki etken maddede en sık görülen yapısal anormallik tipi kromatit kırığıdır. Gadobutrol için bu anormalliği sırasıyla kardeş kromatitlerde birleşme, kromozom kırığı, disentrik kromozom, fragment, kardeş kromatit değişimi ve halka kromozom takip ederken, gadoversetamid için sıralama kromozom kırığı, kardeş kromatitlerde birleşme, disentrik kromozom, fragment, kromatit değişimi ve halka kromozom şeklindedir. Gadobutrol %89 oranında yapısal anormallik oluştururken, %11 oranında sayısal anormallik oluşturmuştur. Diğer yandan gadoversetamid %51 oranında yapısal anormalliğe karşılık %49 oranında sayısal anormallik oluşturmuştur (Çizelge 4.1, Çizelge 4.2, Resim 4.1, Resim 4.2, Resim 4.3, Resim 4.4).

Hem gadobutrolün ve hem de gadoversetamidin tüm konsantrasyonları, 24 saatlik uygulamada, anormal hücre frekansında negatif kontrole kıyasla doza bağlı artışlara sebep olurken, bu artış gadobutrolde sadece en yüksek konsantrasyon olan 112 000 µg/mL’de ($r=1$), gadoversetamid uygulamasında ise en yüksek üç konsantrasyonda (28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL) ($r=0,83$) anlamlı düzeydedir. 48 saatlik uygulamada ise, gadobutrolün en yüksek üç konsantrasyonu (28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL) anormal hücre frekansında negatif kontrole kıyasla doza bağlı artışa sebep olurken ($r=0,9$), bu artışlardan sadece en yüksek konsantrasyonun anlamlı olduğu belirlenmiştir. 48 saatte, gadoversetamidin aynı konsantrasyonları da, anormal hücre frekansında negatif kontrole kıyasla doza bağlı artışlara sebep olmuştur ($r=1$). Bu artışların, en düşük konsantrasyon (7 000 µg/mL) dışındaki diğer tüm konsantrasyonlarda anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1, Çizelge 4.2, Şekil 4.1, Şekil 4.2).

Hücre başına düşen kromozom anormalliği frekansında hem gadobutrolün ve hem de gadoversetamidin 24 saatlik tüm uygulamaları negatif kontrole göre doza bağlı artışa sebep olurken, bu artışlar, gadobutrolde en yüksek 2 konsantrasyonda (56 000 ve 112 000 µg/mL) ($r=1$), gadoversetamidde ise en düşük konsantrasyon (7 000 µg/mL) dışındaki diğer tüm konsantrasyonlarda ($r=0,85$) anlamlı olduğu belirlenmiştir. 48 saatlik uygulamada, KA/Hücre sayısında, her iki etken maddenin tüm konsantrasyonlarda negatif kontrole kıyasla artışa neden olduğu, gadobutrol için bu artışların anlamlı olmadığı fakat gadoversetamidin 7 000 µg/mL’lik konsantrasyonu dışındaki diğer tüm konsantrasyonlarında anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($r=0,94$) (Çizelge 4.1, Çizelge 4.2, Şekil 4.3., Şekil 4.4).

Çizelge 4.1. Gadobutrolün insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Anormallikler										Anormal hücre ± SH (%)	KA/Hücre ± SH
	Süre	Konsantrasyon												
	(saat)	(µg/mL)	Yapısal					Sayısal						
			ktk	kzk	f	ds	kbb	ktd	h	p	er			
N.K.	24	0,00	2	1	-	-	2	-	-	2	-	2,33 ± 0,87	0,02 ± 0,01	
P.K (MMC)	24	0,20	4	8	3	3	3	6	-	1	-	9,33 ± 1,68***	0,09 ± 0,02***	
Gadobutrol	24	7 000	4	-	-	-	1	1	-	3	-	3,00 ± 0,98	0,03 ± 0,01	
	24	14 000	6	1	1	1	2	-	-	-	-	3,67 ± 1,09	0,04 ± 0,01	
	24	28 000	6	4	-	1	2	-	-	-	-	4,33 ± 1,18	0,04 ± 0,01	
	24	56 000	4	4	-	-	5	-	-	1	2	4,67 ± 1,22	0,05 ± 0,01*	
	24	112 000	3	3	-	1	6	1	-	-	1	5,67 ± 1,34*	0,06 ± 0,01*	
Anormallik %			40	21	1,8	5,3	28	3,5	0	57	43			
Yapısal % = 89; Sayısal % = 11														
N.K.	48	0,00	3	3	-	-	2	-	-	-	-	2,67 ± 0,93	0,03 ± 0,01	
P.K. (MMC)	48	0,20	8	8	-	4	4	6	-	5	-	11,00 ± 1,81***	0,12 ± 0,02***	
Gadobutrol	48	7 000	2	2	-	-	2	-	1	1	-	2,67 ± 0,93	0,03 ± 0,01	
	48	14 000	3	-	-	2	2	-	-	-	1	2,67 ± 0,93	0,03 ± 0,01	
	48	28 000	4	1	1	3	-	-	-	1	-	3,00 ± 0,98	0,03 ± 0,01	
	48	56 000	3	3	3	2	2	-	-	2	1	5,33 ± 1,30	0,05 ± 0,01	
	48	112 000	5	5	-	2	3	-	-	1	-	6,00 ± 1,37*	0,06 ± 0,01	
Anormallik %			33	21,6	7,8	17,6	17,6	0	2	71,4	28,6			
Yapısal % = 88; Sayısal % = 12														
Genel Toplam %			37	21	4,6	11	23	2	1	64	36			

ktk: kromatit kırığı, kzk: kromozom kırığı, f: fragment, ds: disentrik, kbb: kardeş kromatitlerde birleşme, ktd: kromatit değişimi, h: halka, p: poliploidi, er: endoreduplikasyon, SH: standart hata, N.K: negatif kontrol, P.K: pozitif kontrol-MMC

*Kontrolle göre $p<0,05$ düzeyinde anlamlı (z testi)

**Kontrolle göre $p<0,01$ düzeyinde anlamlı (z testi)

***Kontrolle göre $p<0,001$ düzeyinde anlamlı (z testi)

Çizelge 4.2. Gadoversetamidin insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri üzerine etkisi

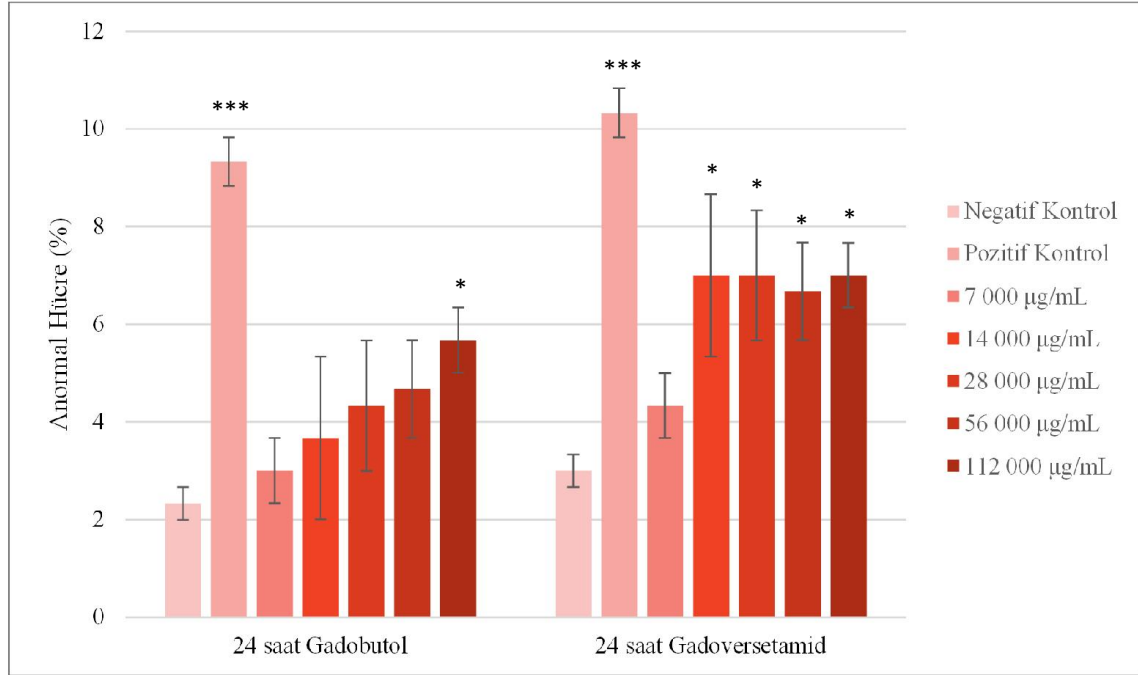
Test maddesi	Uygulama												Anormal hücre ± SH (%)	KA/Hücre ± SH
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	Anormallikler											
			Yapısal						Sayısal					
			ktk	kzk	f	ds	kkb	ktd	h	p	er			
N.K.	24	0,00	2	1	1	1	1	-	-	4	-	3,00 ± 0,98	0,03 ± 0,01	
P.K. (MMC)	24	0,20	2	11	-	3	4	4	-	10	-	10,33 ± 1,76***	0,11 ± 0,02***	
Gadoverse-	24	7 000	1	2	-	-	1	-	-	7	2	4,33 ± 1,18	0,04 ± 0,01	
tamid	24	14 000	7	3	-	-	-	-	-	8	3	7,00 ± 1,47*	0,07 ± 0,01*	
	24	28 000	5	2	-	-	1	-	-	8	5	7,00 ± 1,47*	0,07 ± 0,01*	
	24	56 000	3	4	1	-	2	-	-	3	1	6,67 ± 1,44*	0,07 ± 0,01*	
	24	112 000	3	7	-	1	-	-	-	7	3	7,00 ± 1,47*	0,07 ± 0,01*	
Anormallik %			44	42	2,3	2,3	9,3	0	0	70	30			
Yapısal % = 48; Sayısal % = 52														
N.K.	48	0,00	2	1	-	-	-	-	1	1	1	2,00 ± 0,81	0,02 ± 0,01	
P.K (MMC)	48	0,20	16	10	-	1	1	6	-	10	-	14,33 ± 2,02***	0,15 ± 0,02***	
Gadoverse-	48	7 000	2	2	-	-	-	-	1	3	-	2,67 ± 0,93	0,03 ± 0,01	
tamid	48	14 000	8	1	-	-	-	-	-	5	1	5,00 ± 1,26*	0,05 ± 0,01*	
	48	28 000	2	3	-	2	-	-	-	11	2	6,67 ± 1,44**	0,07 ± 0,01**	
	48	56 000	4	5	-	1	1	1	-	10	1	10,00 ± 1,73***	0,10 ± 0,02***	
	48	112 000	8	9	1	-	2	-	-	8	6	11,33 ± 1,83***	0,11 ± 0,02***	
Anormallik %			45,3	37,7	1,9	5,7	5,7	1,9	1,9	79	21			
Yapısal % = 50,5; Sayısal % = 49,5														
Genel Toplam			44,8	39,5	2	4	7,3	1	1	74	26			

ktk: kromatit kırığı, kzk: kromozom kırığı, f: fragment, ds: disentrik, kkb: kardeş kromatitlerde birleşme, ktd: kromatit değişimi, h: halka, p: poliploidi, er: endoreduplikasyon, SH: standart hata, N.K: negatif kontrol, P.K: pozitif kontrol-MMC

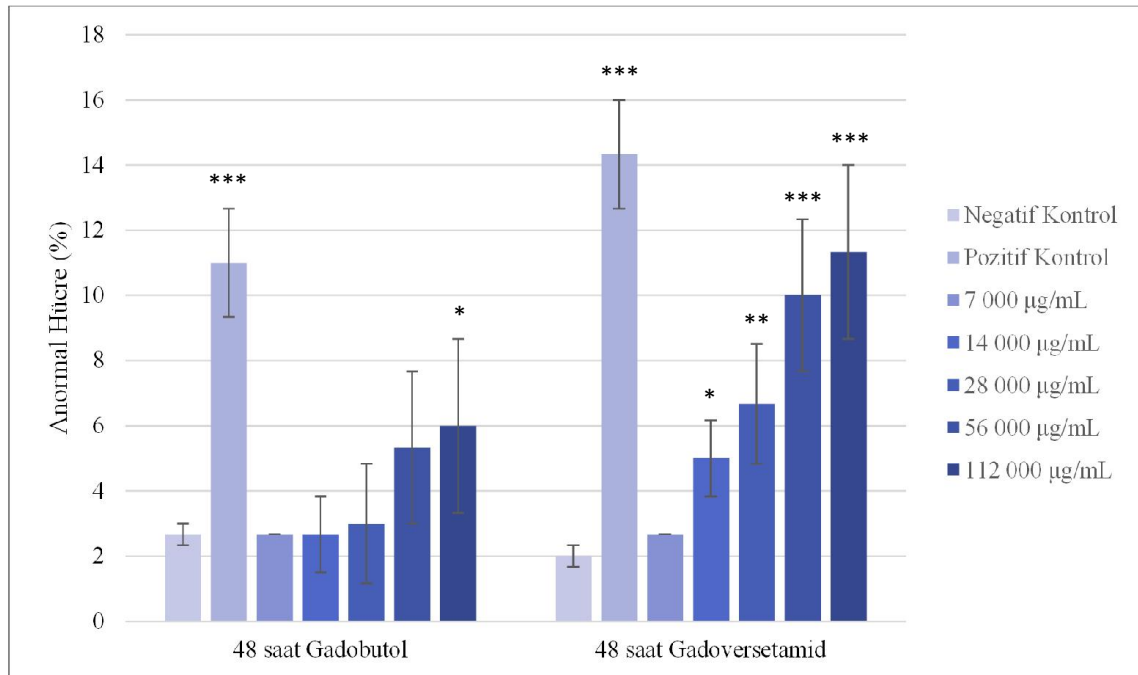
*Kontrolle göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z testi)

**Kontrolle göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z testi)

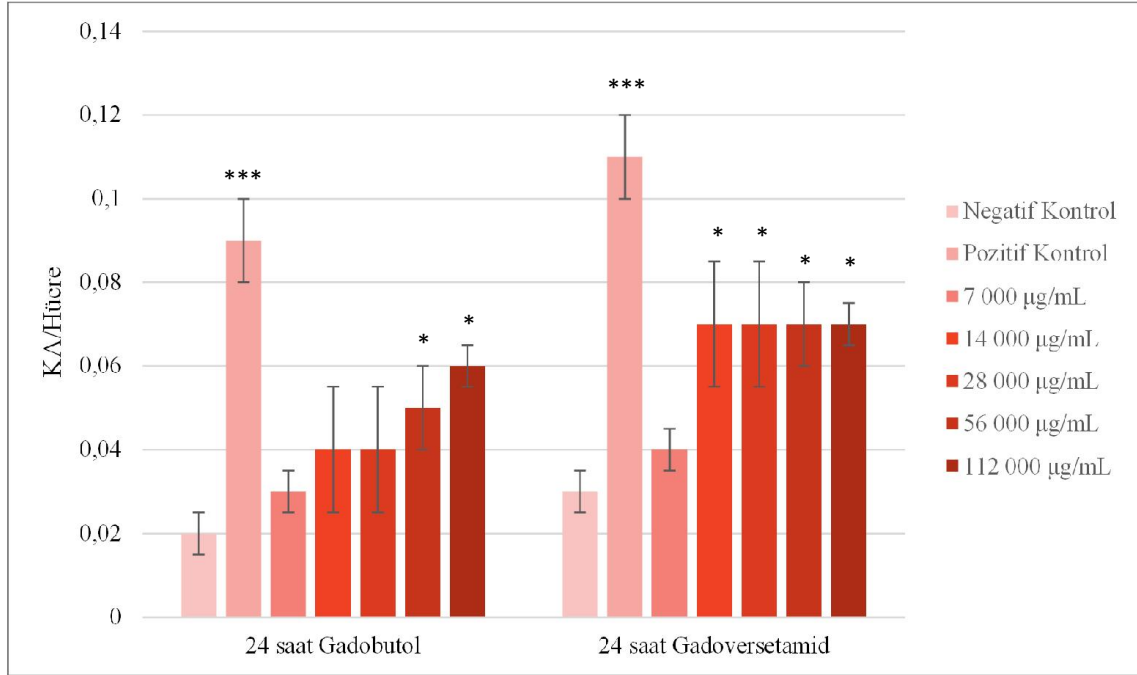
***Kontrolle göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z testi)



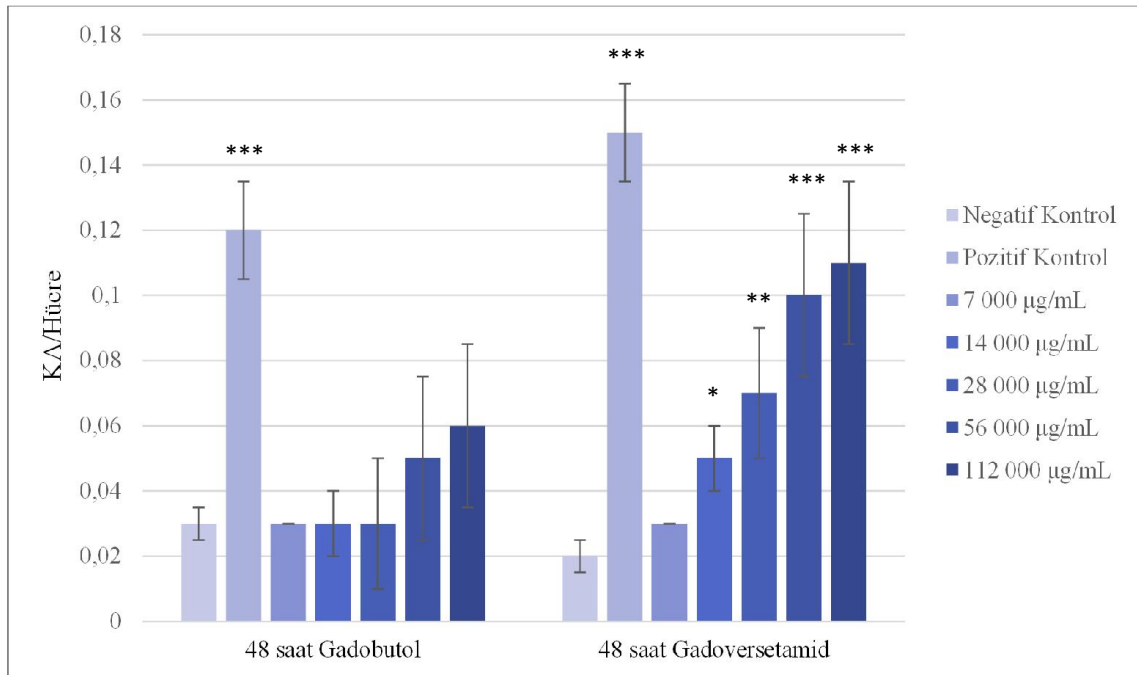
Şekil 4.1. 24 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin, anormal hücre frekansı üzerine etkisi



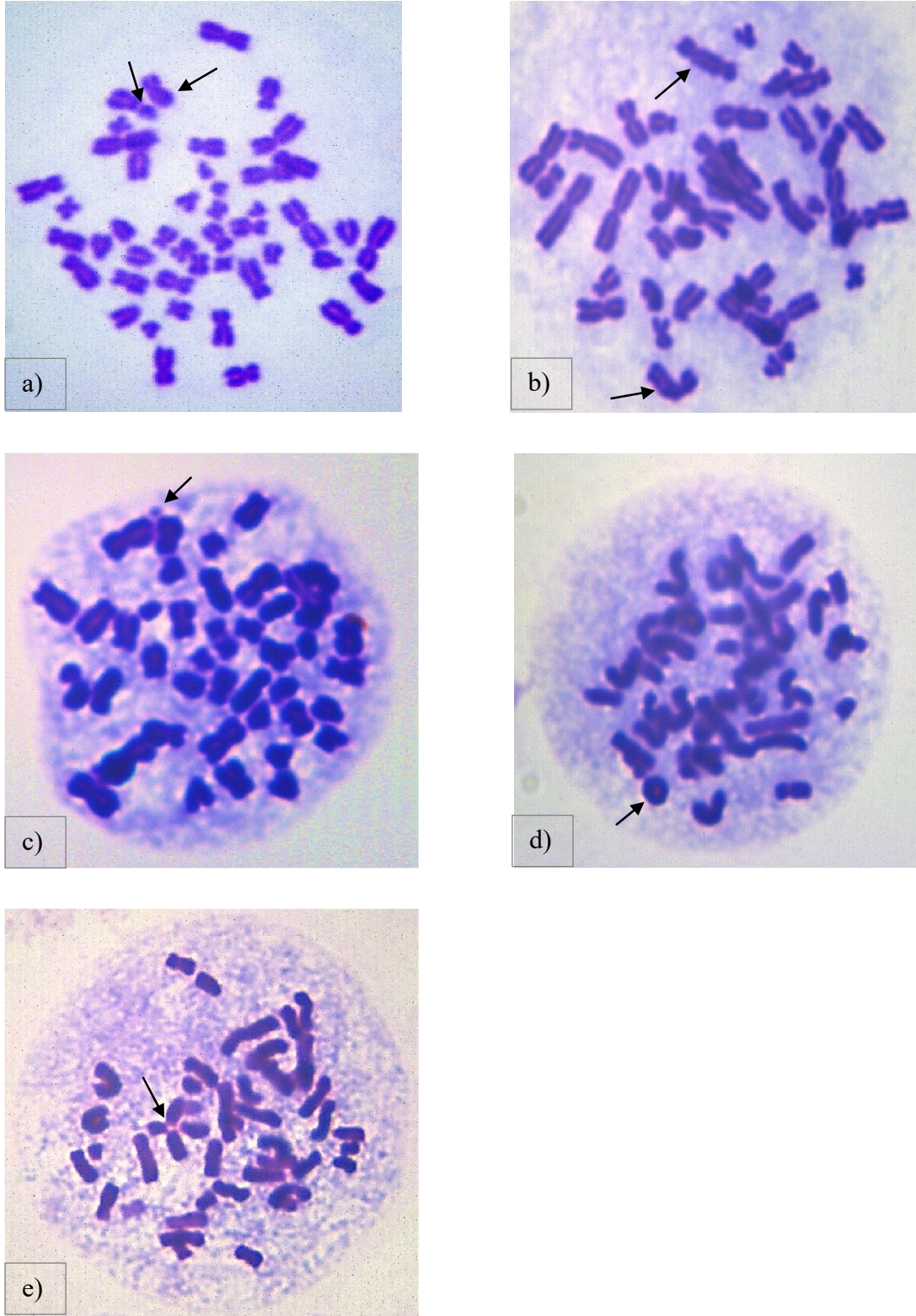
Şekil 4.2. 48 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin, anormal hücre frekansı üzerine etkisi



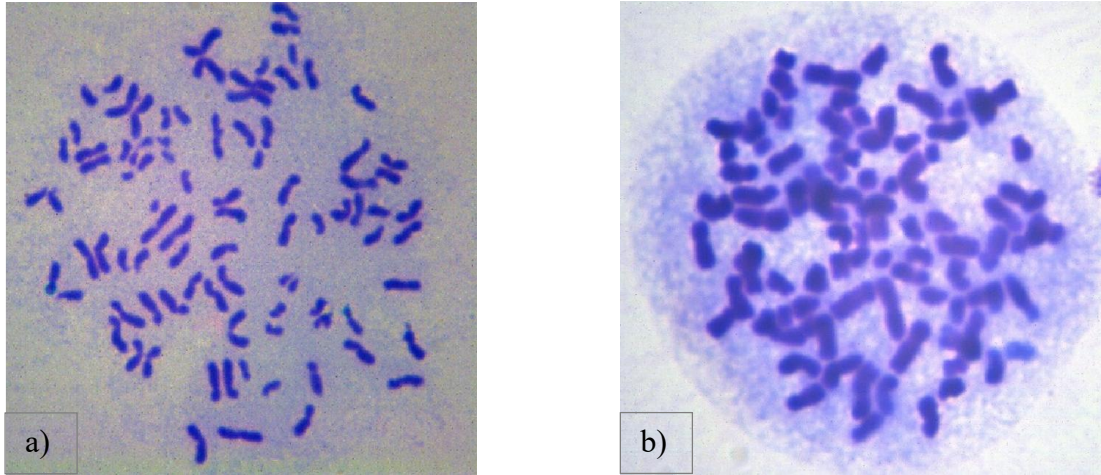
Şekil 4.3. 24 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin, hücre başına düşen anormallik sayısına etkisi



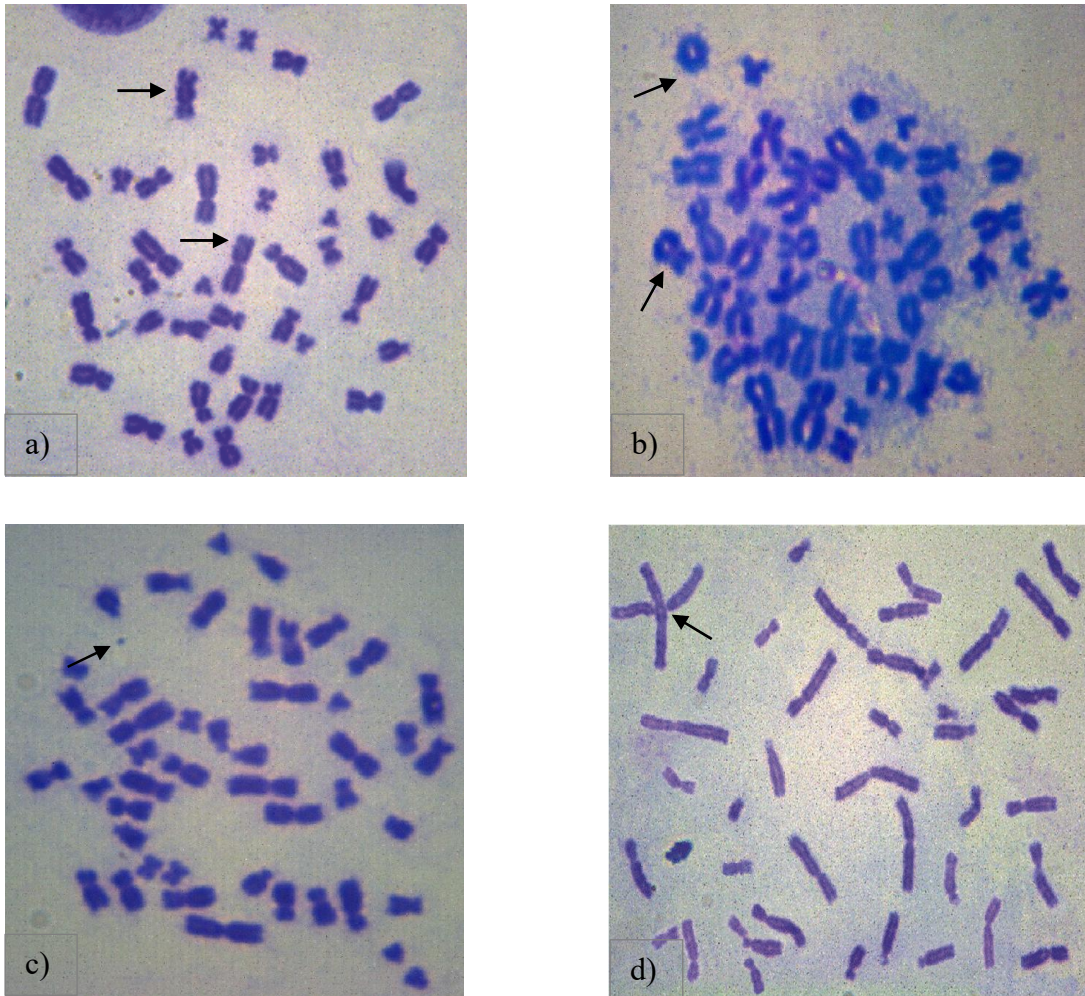
Şekil 4.4. 48 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin, hücre başına düşen anormallik sayısına etkisi



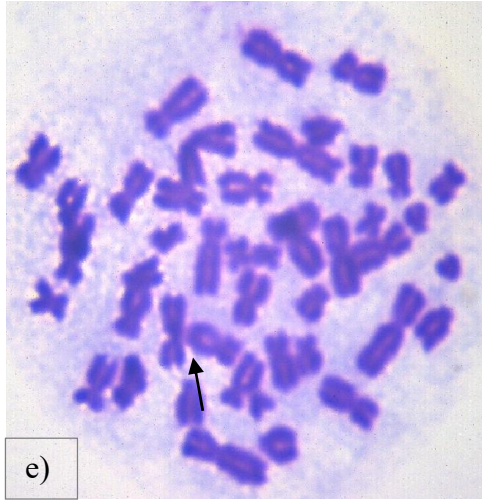
Resim 4.1. Gadobutrol etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu yapısal kromozom anormallikleri a) kromozom kırığı ve kardeş kromatitlerde birleşme b) kromozom kırığı ve disentrik kromozom c) fragment d) halka kromozom e) kromatit değişimi



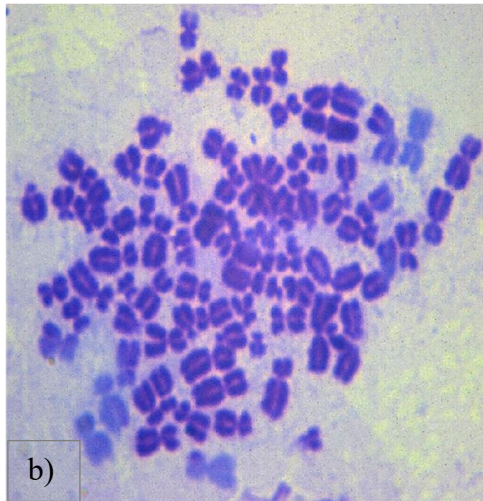
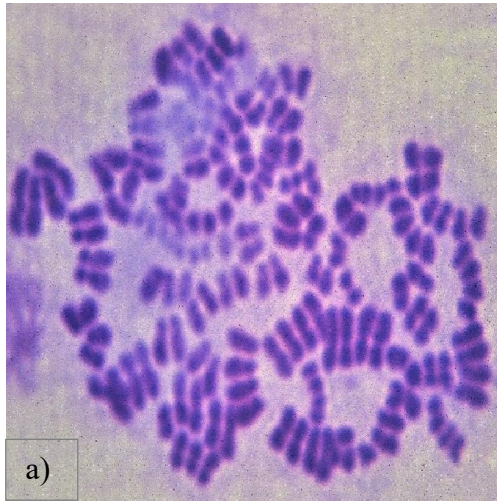
Resim 4.2. Gadobutrol etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu sayısal kromozom anormallikleri a) endoreduplikasyon b) poliploidi



Resim 4.3. Gadoversetamid etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu yapısal kromozom anormallikleri a) kromatit kırığı ve disentrik kromozom b) kromozom kırığı ve halka kromozom c) fragment d) kromatit değişimi e) kardeş kromatitlerde birleşme



Resim 4.3. (devam) Gadoversetamid etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu yapısal kromozom anormallikleri a) kromatit kırığı ve disentrik kromozom b) kromozom kırığı ve halka kromozom c) fragment d) kromatit değişimi e) kardeş kromatitlerde birleşme



Resim 4.4. Gadoversetamid etken maddesinin insan lenfositlerinde oluşturduğu sayısal kromozom anormallikleri a) endoreduplikasyon b) poliploidi

4.2. Gadobutrol ve Gadoversetamidin Kardeş Kromatit Değişimi, Mitotik İndeks ve Replikasyon İndeksi Üzerine Etkileri

Periferal insan lenfositlerinde, gadobutrol 1-12 arasında, gadoversetamid ise 1-15 arasında kardeş kromatit değişimi oluşturmuştur. Gadobutrolün 24 saatlik uygulamaları sonucunda, tüm konsantrasyonların, insan lenfositlerinde kardeş kromatit değişimini negatif kontrole kıyasla doza bağlı şekilde ($r=0,86$) artırdığı belirlenmiştir. Bu artışların sadece en yüksek konsantrasyon olan 112 000 $\mu\text{g/mL}$ 'de anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Gadoversetamidin

aynı konsantrasyonlarının 24 saatlik uygulamasında ise, gadobutrolden farklı olarak, 7 000 µg/mL’lik konsantrasyon haricinde diğer tüm konsantrasyonların kardeş kromatit değişiminde negatif kontrole kıyasla anlamlı bir artışa sebep olduğu belirlenmiştir ($r=0,90$) (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4. Şekil 4.5, Şekil 4.6, Resim 4.5).

48 saatlik uygulamada, gadobutrolün tüm uygulama konsantrasyonları, kardeş kromatit değişiminde negatif kontrole kıyasla doza bağlı bir artış göstermiştir ($r=0,90$), ancak bunlardan 56 000 ve 112 000 µg/mL’lik uygulamalar anlamlı düzeydedir. Gadoversetamidin 48 saatlik uygulamalarında da KKD/Hücre düzeyi, negatif kontrole kıyasla doza bağlı bir artış göstermiştir ($r=0,90$), ancak, 7 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL’lik konsantrasyonlardaki artışların, negatif kontrole göre anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4. Şekil 4.5, Şekil 4.6, Resim 4.5).

Kromozom anormalliklerinin gözlenmesinde kullanılan preparatlarda mitotik indeks değerleri de belirlenmiştir. Bu incelemelere göre, hem gadobutrolün ($r=-1$) ve hem de gadoversetamidin ($r=-0,90$) 24 saatlik uygulamasında, mitotik indekste, negatif kontrole kıyasla doza bağlı bir azalma meydana gelmiştir. Mitotiks indeksteki azalma, hem gadobutrol ve hem de gadoversetamidin 56 000 ve 112 000 µg/mL’lik konsantrasyonlarında negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeydedir (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Şekil 4.7). 48 saatlik uygulamada, gadobutrol, negatif kontrole kıyasla mitotik indekste doza bağlı bir düşüşe sebep olmuştur ($r=-1$). Gadobutrolün 56 000 ve 112 000 µg/mL’lik konsantrasyonlarındaki düşüş, negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeydedir. Aynı uygulama süresinde, gadoversetamidin de tüm konsantrasyonları, negatif kontrole kıyasla mitotik indekste doza bağlı düşüşlere sebep olduğu belirlenmiştir ($r=-0,90$). Bu düşüşler, 7 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL konsantrasyonlarda negatif kontrole göre anlamlıdır (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Şekil 4.8).

Bu çalışmada, gadobutrol ve gadoversetamidin 5 farklı konsantrasyonunun 24 ve 48 saatlik uygulamalarının, replikasyon indeksi üzerinde, negatif kontrole kıyasla anlamlı bir farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Şekil 4.9, Şekil 4.10).

Çizelge 4.3. Gadobutrolün kardeş kromatit değişimi, replikasyon ve mitotik indeks üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Min Maks KKD	KKD/Hücre ±SH	M ₁	M ₂	M ₃	Rİ± SH	Mİ ± SH %
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)							
N.K.	24	0,00	0-11	3,69±0,18	45	92	163	2,39±0,04	7,87±0,49
P. K (MMC)	24	0,20	9-34	17,99±0,65*	162	89	49	1,62±0,04	4,03±0,36***c
Gadobutrol	24	7 000	1-7	3,79±0,14	52	94	154	2,34±0,04	7,47±0,48
	24	14 000	2-7	4,13±0,13	67	85	148	2,27±0,05	6,77±0,46
	24	28 000	2-6	4,03±0,13	83	85	132	2,16±0,05	6,63±0,45
	24	56 000	3-8	4,15±0,12	97	89	114	2,06±0,05	6,23±0,44 ^a
	24	112 000	3-9	5,03±0,17*	117	85	98	1,94±0,05	5,93±0,43 ^{ab}
N.K.	48	0,00	1-6	3,81±0,16	42	92	166	2,41±0,04	7,40±0,48
P. K (MMC)	48	0,20	7-38	26,20±0,69*	160	93	47	1,62±0,04	3,73±0,35***c
Gadobutrol	48	7 000	1-9	4,11±0,17	53	85	162	2,36±0,04	6,60±0,45
	48	14 000	2-8	4,20±0,15	67	88	145	2,26±0,05	6,37±0,45
	48	28 000	3-8	4,23±0,14	88	94	118	2,10±0,05	6,17±0,44
	48	56 000	2-10	4,99±0,17*	105	83	112	2,10±0,05	5,63±0,42 ^{ab}
	48	112 000	3-12	5,77±0,19*	130	84	86	1,48±0,04	5,07±0,40***c

KKD: kardeş kromatit değişimi, M1: mitoz 1, M2: mitoz 2, M3: mitoz 3, Rİ: replikasyon indeksi, Mİ: mitotik indeks, SH: standart hata,

N.K: negatif kontrol, P.K: pozitif kontrol-MMC,

*Kontrolle göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (t testi)

^aKontrolle göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z testi)

^{ab}Kontrolle göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z testi)

^{abc}Kontrolle göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z testi)

Çizelge 4.4. Gadoversetamidin kardeş kromatit değişimi, replikasyon ve mitotik indeks üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Min Maks KKD	KKD/Hücre ±SH	M ₁	M ₂	M ₃	Rİ± SH	Mİ ± SH %
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)							
Negatif Kontrol	24	0,00	1-10	3,96±0,25	56	41	103	2,24±0,06	7,25±0,58
P. K (MMC)	24	0,20	4-25	13,28±0,92*	105	48	47	1,71±0,06	3,70±0,42***c
Gadoversetamid	24	7 000	1-9	3,86±0,25	67	48	87	2,12±0,06	6,30±0,54
	24	14 000	2-11	5,24±0,29*	72	51	77	2,03±0,06	6,40±0,55
	24	28 000	2-9	5,02±0,24*	80	49	71	1,96±0,06	6,55±0,55
	24	56 000	3-9	5,68±0,22*	93	50	57	1,82±0,06	5,60±0,51 ^a
	24	112 000	3-15	6,70±0,33*	100	50	50	1,75±0,06	4,40±0,46***c
Negatif Kontrol	48	0,00	1-10	4,24±0,28	47	55	98	2,26±0,06	7,85±0,60
P. K (MMC)	48	0,20	5-37	17,78±1,14*	106	52	42	1,68±0,06	3,85±0,43***c
Gadoversetamid	48	7 000	2-11	5,06±0,26*	57	45	98	2,21±0,06	6,25±0,54 ^a
	48	14 000	0-9	4,88±0,26	55	53	92	2,19±0,06	6,35±0,55
	48	28 000	2-9	4,68±0,27	70	42	88	2,09±0,06	6,40±0,55
	48	56 000	2-11	6,18±0,31*	106	35	59	1,77±0,06	5,05±0,49***c
	48	112 000	0-12	7,06±0,38*	113	40	47	1,67±0,06	4,20±0,45***c

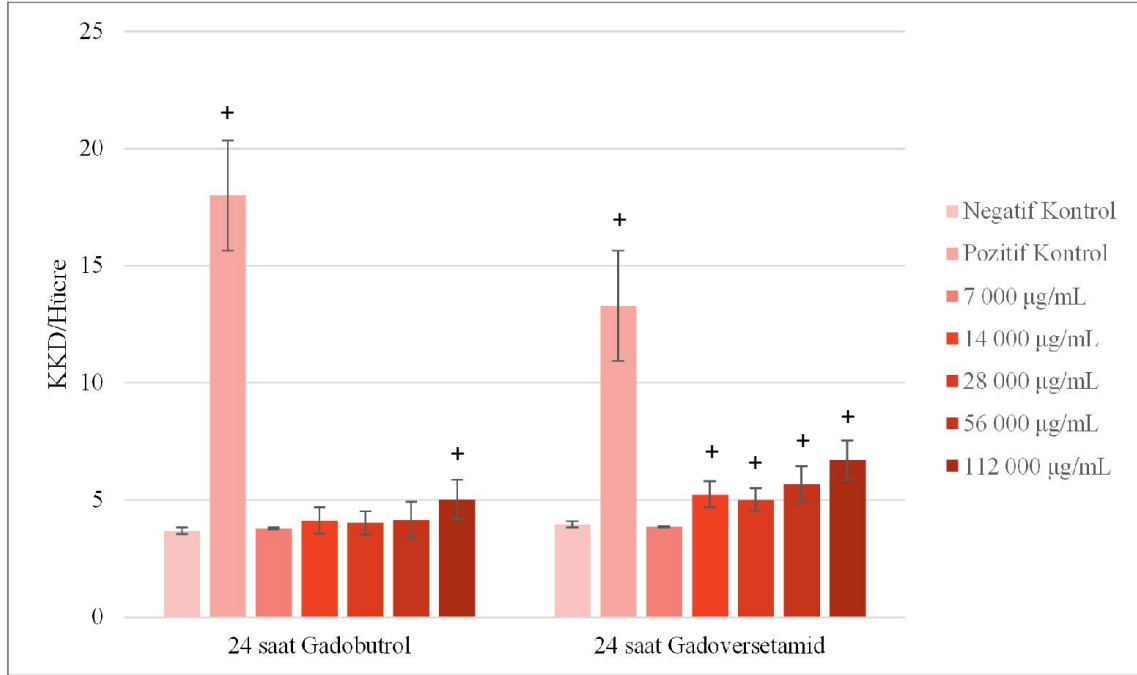
KKD: kardeş kromatit değişimi, M1: mitoz 1, M2: mitoz 2, M3: mitoz 3, Rİ: replikasyon indeksi, Mİ: mitotik indeks, SH: standart hata, N.K: negatif kontrol, P.K: pozitif kontrol-MMC,

*Kontrolle göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (t testi)

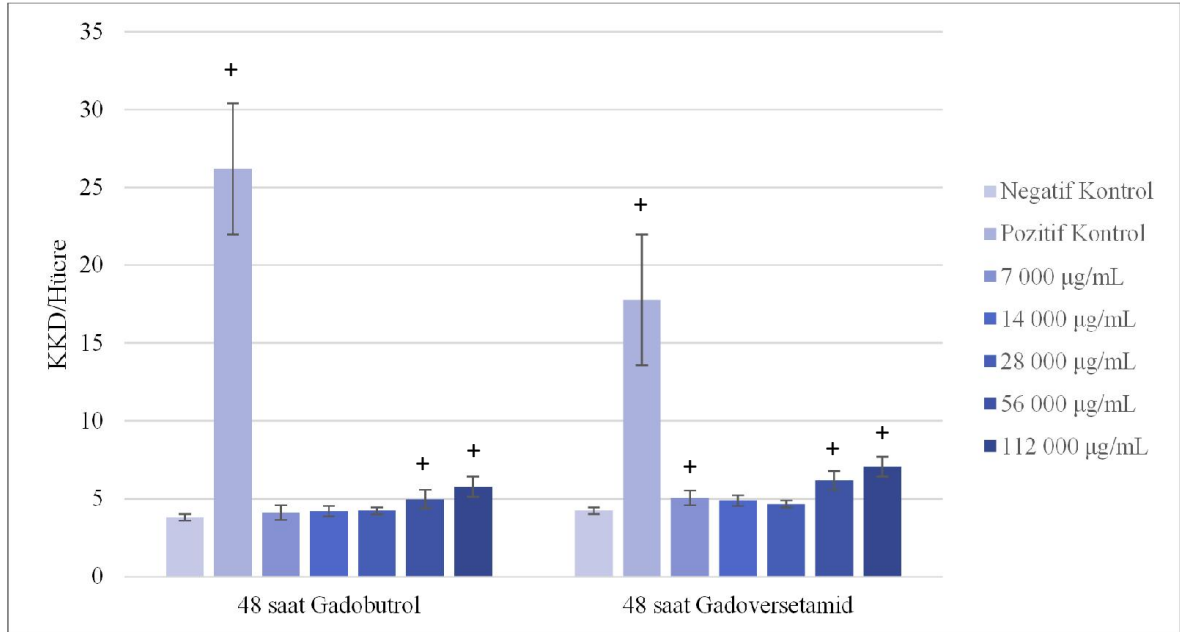
^aKontrolle göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z testi)

^{**b}Kontrolle göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z testi)

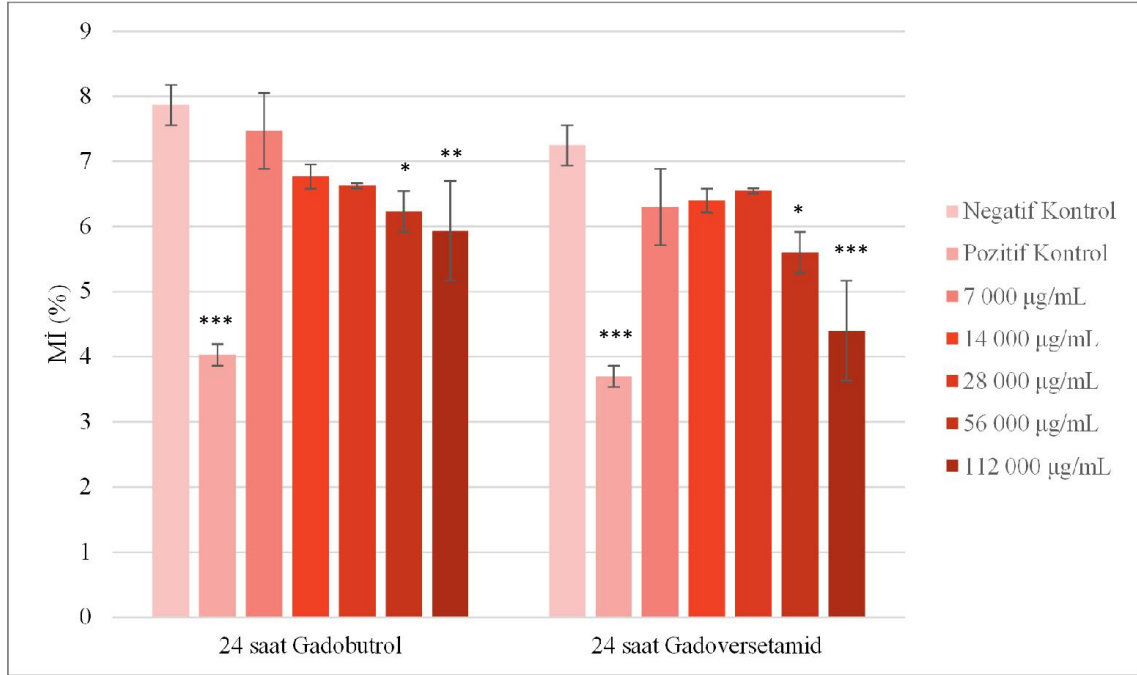
^{***c}Kontrolle göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z testi)



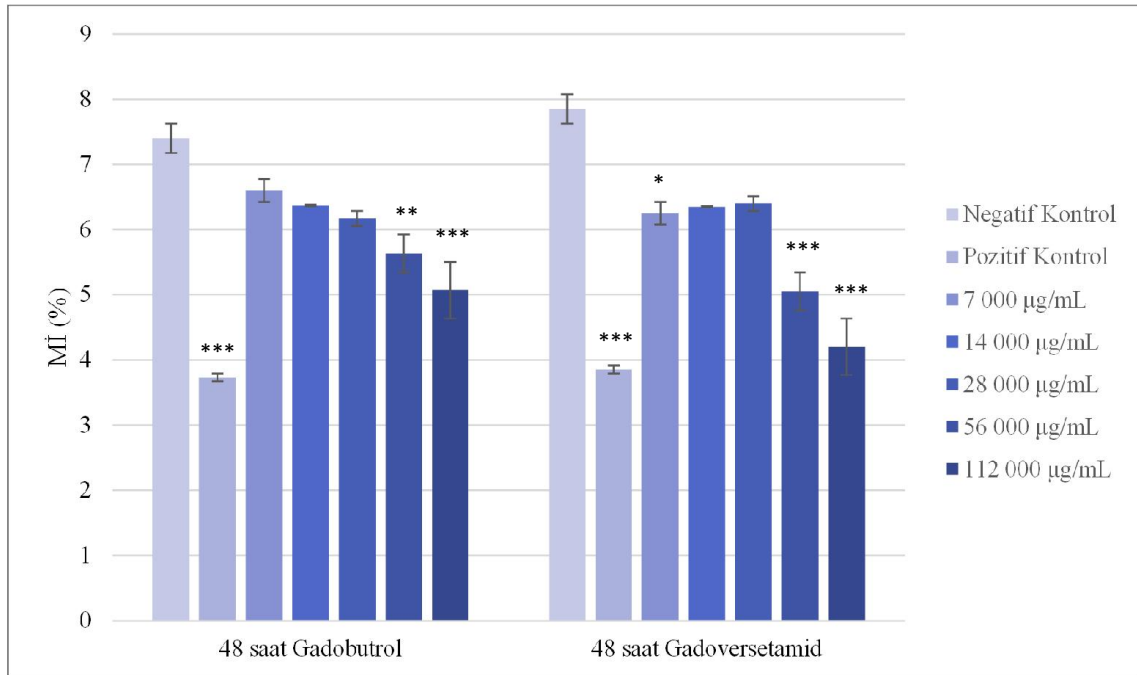
Şekil 4.5. 24 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin kardeş kromatit değişimine etkisi



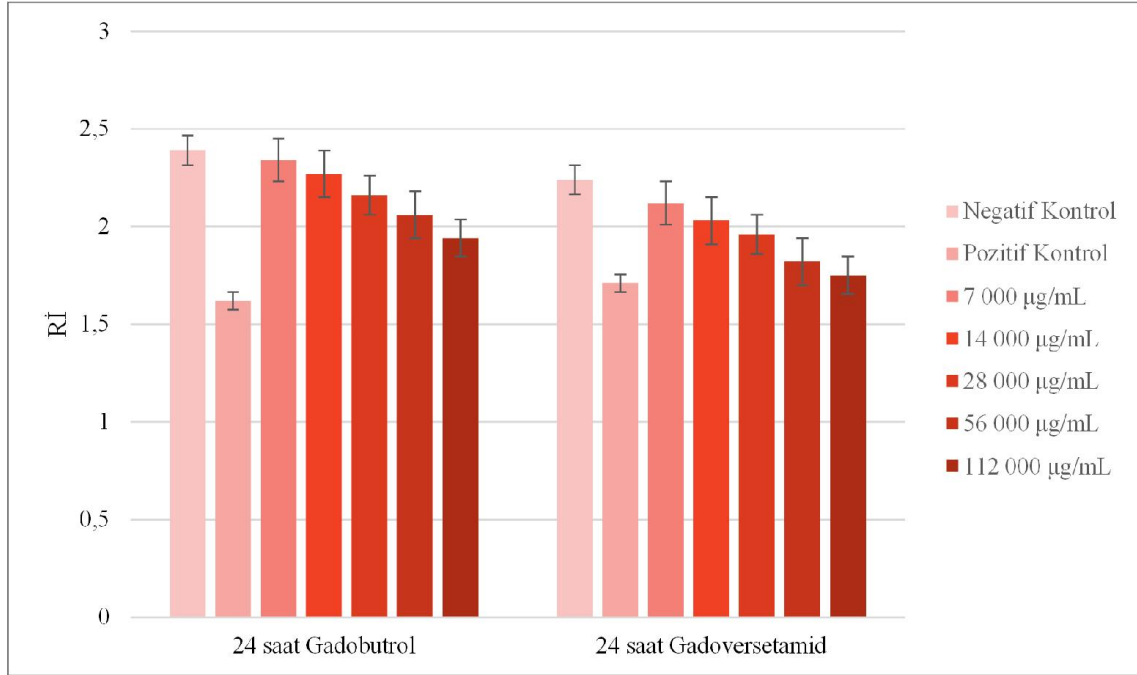
Şekil 4.6. 48 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin kardeş kromatit değişimine etkisi



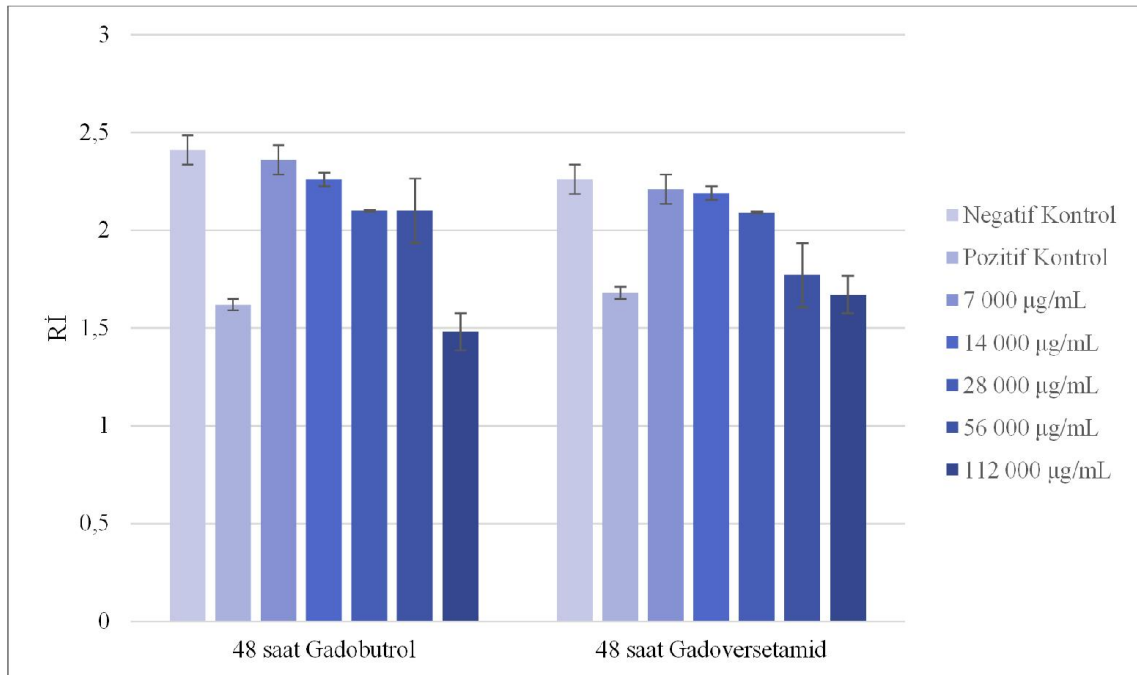
Şekil 4.7. 24 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin mitotik indekse etkisi



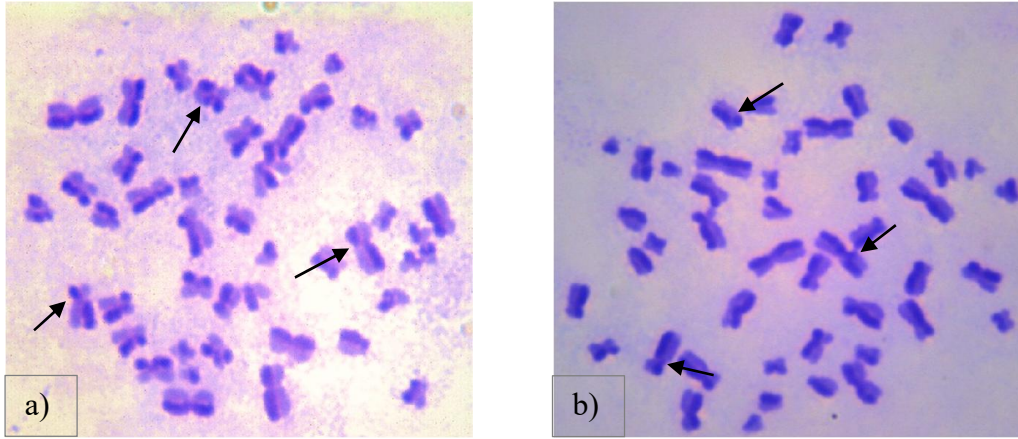
Şekil 4.8. 48 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin mitotik indekse etkisi



Şekil 4.9. 24 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin replikasyon indeksine etkisi



Şekil 4.10. 48 saatlik uygulamada gadobutrol ve gadoversetamidin replikasyon indeksine etkisi



Resim 4.5. Etken maddelerin insan lenfositlerinde oluşturduğu kardeş kromatit değişimleri
a) gadobutrol, b) gadoversetamid

4.3. Gadobutrol ve Gadoversetamidin Mikronükleus Oluşumuna Etkileri

Gadobutrol ve gadoversetamidin insan lenfositlerinde mutajenik ve/veya anöjenik etkilerini belirlemek amacıyla mikronükleus testi de kullanılmıştır. Binükleer hücrelerin incelenmesiyle yapılan analizlerde, gadobutrol ve gadoversetamidin her ikisinin de insan lenfositlerinde 1 mikronükleuslu binükleatlar oluşturduğu gözlenmiştir. Her iki etken maddenin de MN frekansında negatif kontrole kıyasla artışlara sebep olduğu (gadoversetamid, 7 000 $\mu\text{g/mL}$ hariç), ancak bu artışların sadece gadoversetamidin 112 000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonunda anlamlı düzeyde olduğu tespit edilmiştir ($r=0,80$). Diğer yandan, hem gadobutrol ve hem de gadoversetamid, nükleer bölünme indeksinde, negatif kontrole kıyasla azalmaya sebep olmuştur ancak bu azalmaların istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5, Çizelge 4.6, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Resim 4.6).

Çizelge 4.5. Gadobutrolün mikronükleus frekansı ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		İncelenen binükleat hücre sayısı	Binükleat hücrelerdeki mikronükleus sayısı (1)	MN $\pm$ SH %	NBİ $\pm$ SH
	Süre (saat)	Konsantrasyon (μ g/mL)				
N. K.	48	0,00	3000	6	0,17 $\pm$ 0,08	1,70 $\pm$ 0,33
P. K (MMC)	48	0,20	3000	28	0,93 $\pm$ 0,18***	1,50 $\pm$ 0,31
	48	7 000	3000	2	0,20 $\pm$ 0,08	1,67 $\pm$ 0,33
	48	14 000	3000	4	0,20 $\pm$ 0,08	1,64 $\pm$ 0,33
	48	28 000	3000	4	0,27 $\pm$ 0,09	1,24 $\pm$ 0,29
	48	56 000	3000	5	0,23 $\pm$ 0,09	1,47 $\pm$ 0,31
	48	112 000	3000	11	0,37 $\pm$ 0,11	1,36 $\pm$ 0,30

NBİ: nükleer bölünme indeksi, SH: standart hata, N.K: negatif kontrol, P.K.: pozitif kontrol-MMC

***Kontrolle göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z-testi)

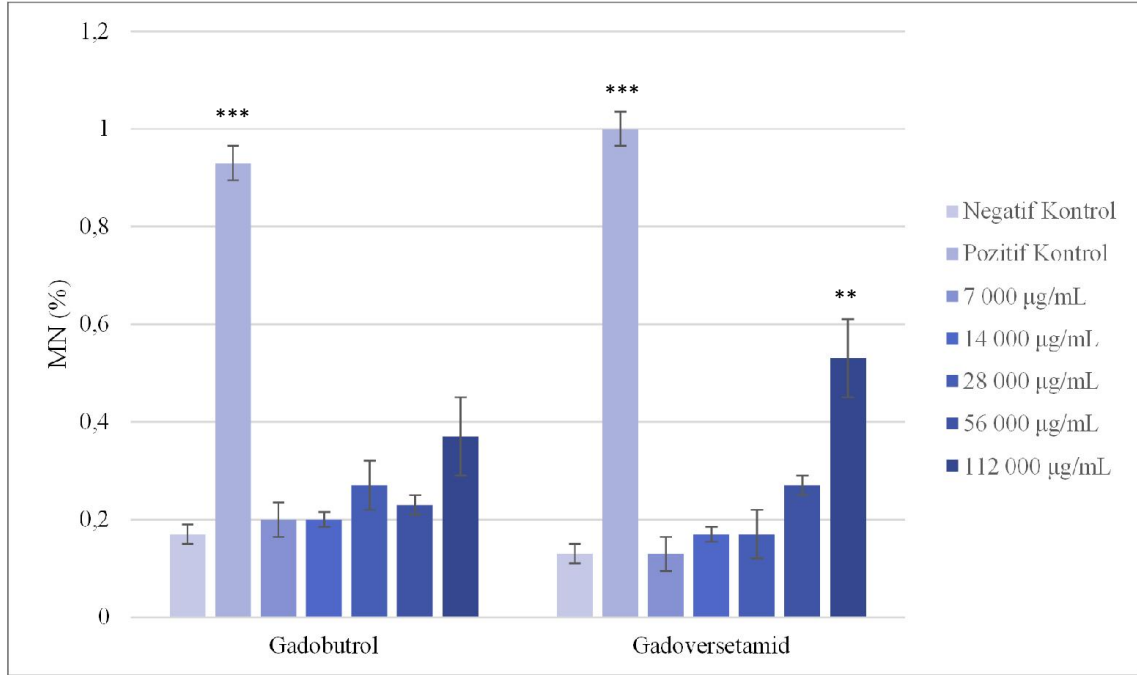
Çizelge 4.6. Gadoversetamidın mikronükleus frekansı ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		İncelenen binükleat hücre sayısı	Binükleat hücrelerdeki mikronükleus sayısı (1)	MN $\pm$ SH %	NBİ $\pm$ SH
	Süre (saat)	Konsantrasyon (μ g/mL)				
N. K.	48	0,00	3000	4	0,13 $\pm$ 0,07	1,69 $\pm$ 0,33
P. K (MMC)	48	0,20	3000	30	1,00 $\pm$ 0,18***	1,53 $\pm$ 0,32
	48	7 000	3000	4	0,13 $\pm$ 0,07	1,65 $\pm$ 0,33
	48	14 000	3000	5	0,17 $\pm$ 0,08	1,62 $\pm$ 0,33
	48	28 000	3000	5	0,17 $\pm$ 0,08	1,23 $\pm$ 0,28
	48	56 000	3000	8	0,27 $\pm$ 0,09	1,50 $\pm$ 0,31
	48	112 000	3000	16	0,53 $\pm$ 0,13**	1,31 $\pm$ 0,29

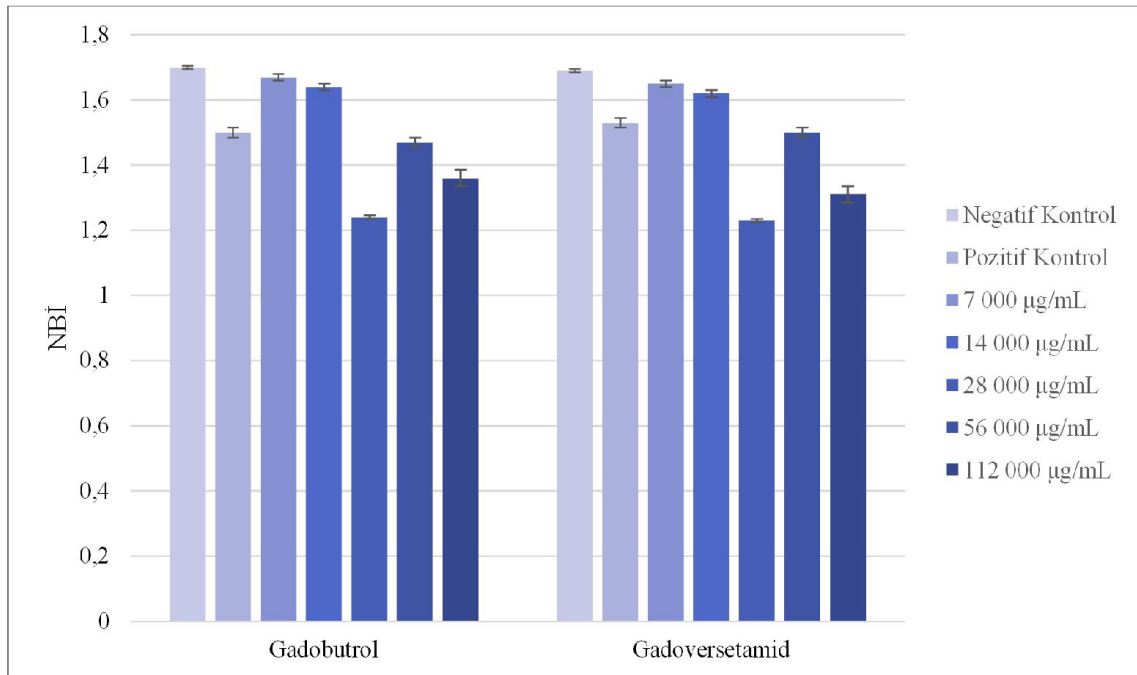
NBİ: nükleer bölünme indeksi, SH: standart hata, N.K: negatif kontrol, P.K.: pozitif kontrol-MMC

**Kontrolle göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z-testi)

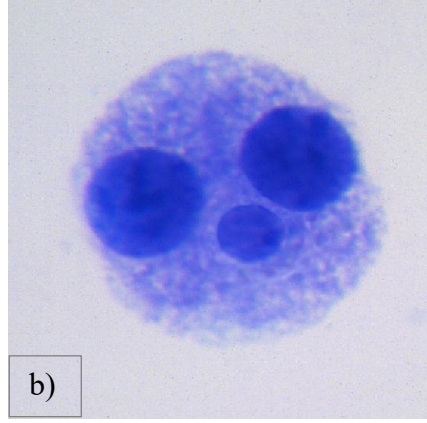
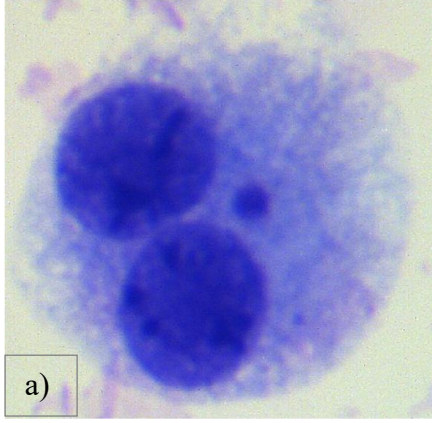
***Kontrolle göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z-testi)



Şekil 4.11. 48 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin mikronükleus frekansına etkisi



Şekil 4.12. 48 saatlik uygulamada, gadobutrol ve gadoversetamidin nükleer bölünme indeksine etkisi



Resim 4.6. Etken maddelerin oluşturduğu bir mikronükleuslu binükleat hücreler
a) gadobutrol, b) gadoversetamid

5. TARTIŞMA

Manyetik rezonans görüntülemede kullanılan kontrast ajanlar, görüntülerde daha iyi bir kontrast sağlanması ve sağlıklı dokuların patolojik dokulardan ayırt edilebilmesi ve böylece hastalıkların tanısının daha kesin bir şekilde yapılabilmesi amacıyla son yıllarda yaygın bir şekilde uygulanmaktadır (Geraldes ve Laurent, 2009). Günümüzde yapılan MRG incelemelerinin neredeyse yarısında kontrast maddeleri kullanılmaktadır. MR görüntülerinde daha yüksek bir kalite sunduğu için, bu maddelerin kullanımı her geçen gün daha da artmaktadır. Sağladıkları avantajlar nedeniyle, kontrast ajanlara duyulan ihtiyaç da artış gösterdiği için, sürekli olarak yeni kontrast maddeler araştırılmakta ve keşfedilmektedir (Xiao ve diğerleri, 2016). MRG sırasında en çok kullanılan kontrast ajanların başında gadolinyum bazlı kontrast ajanlar gelmektedir (Şen-Dokumacı, 2012). GBKA'lar, diğer ajanlara kıyasla daha yüksek bir manyetik momente sahip olduğundan ve MR görüntülerinin kalitesini büyük ölçüde artırdığından, son 30 yılda radyolojide yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Pullicino ve Das, 2017).

GBKA'ların, ilk yıllarda nispeten zararsız oldukları düşünülse de daha sonra nefrojenik sistemik fibroz ile ilişkili oldukları ve özellikle böbrek yetmezliği olan hasta gruplarında dikkatli kullanılması gerektiği anlaşılmıştır (Pullicino ve Das, 2017). Klinik kullanım için onaylanan tüm GBKA'ların, normal böbrek fonksiyonu olan hastalarda, nispeten düşük dozlarda (0,1-0,3 mmol/kg) uygulandığında güvenli olduğu düşünülmüştür. 2014'e kadar elde edilen güvenlik kayıtları incelendiğinde, tüm uygulamaların oldukça az bir kısmında, kabaca %0,03'ünde ciddi istenmeyen reaksiyonların meydana geldiği bildirilmiştir. Diğer yandan, 2014'ten bu yana yapılan çalışmalarda gadolinyumun sağlıklı bireylerin beyin dokularında birikerek önemli yan etkiler meydana getirebileceği tespit edilmiştir (Ramalho, Semelka, Nunes, Alobaidy ve Castillo, 2016). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, bu kontrast ajanların kullanımının, sağlam bir kan-beyin bariyeri olan hastalarda bile beyinde gadolinyum birikmesine neden olabildiği bildirilmiştir. Bu birikimin herhangi bir klinik etki ile ilişkili olduğu gösterilememesine rağmen, düzenleyici otoriteler tarafından dikkatli kullanılması gerektiği önerilmiştir (Pullicino ve Das, 2017).

Gadolinyumun insan vücudunda doku ve organlarda tutunup birikimini gösteren çalışmaların sayısı arttığı için, Avrupa İlaç Ajansı, Farmakovijilans Risk Değerlendirme

Komitesi (2017), doğrusal şelatlı gadolinyum bazlı kontrast maddelerinin kullanımının askıya alınmasını önermiştir. Buna karşılık, ABD Gıda ve İlaç İdaresi, bu ajanların kullanımında bir kısıtlama yapmamış ancak hastalarda kullanımlarıyla ilgili bir takım uyarılar yayınlamıştır (Chehabeddine ve diğerleri, 2019). Bu kısıtlama ve uyarılara rağmen, doğrusal GBKA'ların klinik tıbbi görüntülemelerde kullanımına devam edildiği belirtilmektedir (Dekkers ve diğerleri, 2018). Ancak, yapılan çalışmalar neticesinde, kontrast ajanların nefrojenik sistemik fibroz gibi ciddi bir hastalığa neden olduğu, Ca^{+2} ve Zn^{+2} gibi insan vücudunda bulunan iyonlarla transmetalasyon gerçekleştirerek bazı biyolojik aktivasyonları bloke ettiği tespit edilmiştir (Hazelton, Chiu ve Abujudeh, 2019). Kontrast maddelerin, her geçen gün artan bu kullanımı ve yukarıda bahsi geçen riskleri dikkate alındığında, insan sağlığı üzerinde büyük bir endişe uyandırmaktadır. Bu nedenle, günümüzde kontrast maddelerin hem toksik ve hem de özellikle genotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmaların sayısı artmaya başlamıştır.

Bu çalışmada, MRG'de görüntü kontrastını artırmak amacıyla kullanılan gadobutrol ve gadoversetamidin *in vitro* genotoksik etkileri kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi ve mikronükleus test sistemleriyle araştırılmıştır. İnsan periferik lenfositleri, hem gadobutrolün ve hem de gadoversetamidin 7 000, 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL konsantrasyonları ile, KA ve KKD testlerinde 24 ve 48 saat, MN testinde ise 48 saat muamele edilmiştir.

Bu çalışmada, 24 saatlik uygulamada, hem gadobutrolün ve hem de gadoversetamidin tüm konsantrasyonlarının anormal hücre frekansında negatif kontrole kıyasla artışa neden olduğu tespit edilmiştir. 24 saatlik uygulama süresinde hem gadobutrol ve hem de gadoversetamid muamelesinde, anormal hücre frekansında doza bağlı artış göstermiştir. Ancak, anormal hücre frekansındaki artışlar, gadobutrol muamelesinde, yalnızca 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonda negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde iken, gadoversetamid muamelesinde ise, en düşük konsantrasyon (7 000 µg/mL) dışındaki diğer tüm konsantrasyonlarda (14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL) anlamlı düzeydedir. Hücre başına düşen anormallik düzeyi (KA/Hücre) de, hem gadobutrol ve hem de gadoversetamidin 24 saatlik uygulamalarında, negatif kontrole kıyasla artışlar göstermiştir. Bu artışlar, gadobutrolün 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonlarında anlamlı düzeyde iken, gadoversetamidin tüm konsantrasyonlarında (7 000 µg/mL hariç) anlamlı

düzeydedir. 48 saatlik uygulamalarda ise, gadobutrolün 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonları, hücre başına düşen anormal hücre frekansını negatif kontrole kıyasla artırmakla birlikte bu artışlar anlamlı değildir. Gadoversetamidin 48 saat uygulamasında, tüm konsantrasyonların anormal hücre frekansını negatif kontrole göre artırdığı belirlenmiştir. Bu artışların en düşük konsantrasyon (7 000 µg/mL'lik) haricindeki diğer tüm dozlarda anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Kısaca, insan lenfositlerinde gerçekleştirilen kromozom anormallikleri testine göre, gadobutrolün sadece en yüksek konsantrasyonunun genotoksik potansiyele sahip olduğu gözlenirken, gadoversetamidin ise, en düşük konsantrasyonu dışındaki diğer tüm konsantrasyonlarda genotoksik olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 5.1).

Bu çalışmada, gadobutrol ve gadoversetamidin her ikisinin de en yüksek düzeyde oluşturduğu yapısal kromozom anormalliği kromatit kırığıdır. Gadobutrol uygulamalarında %37 düzeyinde kromatit kırığı görülürken, gadoversetamid muamelelerinde %44,8 kromatit kırığı tespit edilmiştir. Gadobutrol uygulamasında, ikinci düzeyde sık görülen yapısal anormallik %23 düzeyinde tespit edilen kardeş kromatitlerde birleşmedir. Gadoversetamidte en sık karşılaşılan ikinci yapısal anormallik, %39,5 olduğu tespit edilen kromozom kırığıdır. Gadobutrol muamelesinde, üçüncü ve dördüncü sıklıkta gözlenen yapısal anormallikler sırasıyla kromozom kırığı %21 ve disentrik kromozom %11'dir. Fragment %4,6, kromatit değişimi %2 ve halka kromozom %1 ise en düşük düzeylerde gözlenmiştir. Gadoversetamid uygulamasında 3. ve 4. sıklıktaki yapısal anormalliklerin sırasıyla kardeş kromatitlerde birleşme (%5,7) ve disentrik kromozom (%5,7) olduğu gözlenmiştir. Fragment (%1,9), kromatit değişimi (%1,9) ve halka kromozom (%1,9) en düşük frekansta gözlenen anormalliklerdir. Sonuç olarak, gadobutrol uygulamalarında %88,5 yapısal kromozom anormalliği tespit edilirken, gadoversetamid uygulamalarında %49,3 yapısal kromozom anormalliği belirlenmiştir. Bu durum, gadobutrolün gadoversetamide kıyasla daha çok yapısal kromozom anormalliği oluşturduğunu göstermektedir. Her iki etken maddenin yapısal kromozom anormallikleri üzerindeki etkisi kıyaslandığında, gadobutrolün daha klastojenik olduğu görülmektedir. Bu etken maddelerin sayısal kromozom anormallikleri üzerindeki etkileri incelendiğinde, gadobutrolün % 64 poliploidi ve %36 endoreduplikasyon olmak üzere %11,5 sayısal anormallik oluşumunu tetiklediği, gadoversetamidin ise, %74 poliploidi ve %26 endoreduplikasyon olmak üzere %50,8 sayısal anormallik oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu da, gadoversetamidin gadobutrole kıyasla, daha daha yüksek frekansta

sayısal kromozom anormallikleri oluşturduğunu ve insan lenfositlerinde iğ ipliği oluşumunda veya mitozda görevli enzimler üzerinde etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Kromozom anormallikleri testi ile belirlenen yapısal anormalliklerin oluşumunda, onarılmamış veya yetersiz onarılmış DNA çift zincir kırıkları ve telomerazda meydana gelen fonksiyon bozukluğu sonucunda telomerin kısalması gibi önemli faktörler rol almaktadır. Telomer kompleksi, hücresel mitotik saati düzenleyerek kromozomları ekzonükleolitik bozulmaya, DNA hasarına ve kromozomal kararsızlığa karşı korumaktadır. Telomer boyundaki kısaltmaların, periferik kan lenfositlerinde artan kromozomal aberasyonların sıklığı ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar gittikçe artmaktadır (Hemminki, Sivaramakrishna, Ludovit, Veronika, Erika, Asta, Vodickova, Buchancova, Vodicka ve Rajiv, 2015; Li, Hilmarsen, Hossain, Björk, Hansteen, Albin, Skgelbred ve Broberg, 2013). Telomerler, hücresel döngünün her bir replikasyon sürecinde kısalarak zayıf uçlu hale geldiği için, onarım mekanizmaları tarafından DNA çift zincir kırığı olarak tanınabilmektedir. Bu durum, uçtan uca kromozom füzyonlarının, kırılma-füzyon-kırılma döngülerinin başlamasının ve özellikle sayısal ve yapısal kromozom anormalliklerinin oluşumuna sebep olabilmektedir (Gostissa, Alt ve Chiarle, 2011). Bunlara ek olarak, hücrede oluşan serbest radikallerin de kromozom anormalliklerinin oluşumunda etkili olduğu belirtilmiştir (Bolzán ve Bianchi, 2018; Terzoudi, Hatzi, Donta-Bakoyianni ve Pantelias, 2011). Kromatit kırıkları ve fragment, hücre döngüsünün S evresinin sonlarında veya G₂ evresindeki DNA hasarından dolayı meydana gelirken, kromozom kırıkları ise DNA'da genotoksik hasardan kaynaklanan çift zincir kırıkları sonucunda G₀ veya G₁ evrelerinde meydana gelmektedir (Bignold, 2009; Durante, Bedford, Chen, Conrad, Cornforth, Natarajan, van Gent ve Obe, 2013; Lal, Begum, Bharadwaj, Lalitha, Vijayalakshmi, Paul ve Maddaly, 2019; Natarajan ve Palitti, 2008; Vodicka, Musak, Vodickova, Vodenkova, Catalano, Kroupa, Naccarati, Polivkova, Vymetalkova, Försti ve Hemminki, 2018). Disentrik kromozomlar, kırık olan iki ayrı kromozomun sentromerik parçaları arasında değişim gerçekleştiğinde ortaya çıkmaktadır. DNA zincir kırıklarının onarımı, iki kromozomun yanlış onarımı veya anormal kromozom replikasyonu gibi durumlar disentrik kromozomların oluşumuna yol açmaktadır (Agrawala, Adhikari ve Chaudhury, 2010). Kardeş kromatitlerin birleşmesi ise, kromozomların terminal bölgelerinde meydana gelen delesyonlardan kaynaklanmaktadır (Kayrayıldız ve Topaktaş, 2001; Yılmaz, Ünal, Yüzbaşıoğlu ve Aksoy, 2008). Kromatit değişimi, triradyal veya quadriradyal olmak üzere iki ayrı şekilde oluşabilen, kromozomlar arasındaki değişimlerden

meydana gelmektedir (Yılmaz, Ünal, Aksoy, Yüzbaşıoğlu ve Çelik, 2008). Halka kromozomlar, genellikle her iki kromozom kolundaki iki terminal bölgenin kırılıp kopmasının ardından, kırık uçların füzyonu ile veya kırık kromozom uçlarının başka bir kırık kromozomun uçlarıyla birleşmesiyle oluşan ve genetik materyal kaybıyla sonuçlanan bir anormalliktir (Sodré, Guilherme, Meloni, Brunoni, Juliano, Andrade, Belangero, Christofolini, Kulikowski ve Melaragno, 2010). Halka kromozomların oluşumunda etkili olan bir diğer mekanizma, subtelomerik dizi füzyonu veya genetik materyal kaybı olmadan gerçekleşen telomer-telomer füzyonudur (Henegariu, Pescovitz, Vance, Verbrugge ve Heerema, 1997; Le Caignec, Boceno, Jacquemont, Tich, Rival ve David, 2004: 289, 296; Sigurdardottir, Goodman, Rutberg, Thomas, Jabs ve Geraghty, 1999; Sodré ve diğerleri, 2010; Vermeesch, Baten, Fryns ve Devriendt, 2002). Kromozom anormallikleri testi ile belirlenebilen ve sayısal anormallik tipi olan poliploidi ve endoreduplikasyon, DNA topoizomeraz II enziminde meydana gelen fonksiyon bozukluğundan, DNA replikasyonundan sonra kromozomların segregasyonunda oluşan hatalardan ve genomda oluşan kararsızlıklardan kaynaklanmaktadır (Cortés ve Pastor, 2003; Jain, Singh, Dubey, Maurya ve Pandey, 2018: 69, 92; Komaki ve Plewa, 2017; Yılmaz ve diğerleri, 2008).

KA testinde belirlenen anormallikler, kullanılan test materyallerinin karsinojenik risklerinin belirlenmesinde önemli bir rol almaktadır (Hsu, Hewes, Stavitskaya ve Kruhlak, 2018; Jain ve diğerleri, 2018). Bir kimyasalın kromozom anormalliklerine sebep olma potansiyeli, özellikle çoğu ilaç adayı için erken ilaç adayı seçimi, ürün geliştirme ve yasal inceleme sırasında bir güvenlik endişesi yaratmaktadır. Bu nedenle, KA testinden elde edilen sonuçlar kimyasalların genotoksik potansiyellerini belirmeye yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda ilaç adayı olan materyallerin güvenilirliğini belirlemeye de yardımcı olmaktadır (Hsu ve diğerleri, 2018). Klinik öncesi araştırmalarda, insan lenfositlerinde, metabolik aktivasyon varlığında ve yokluğunda, 0,61-6,05 mg/mL konsantrasyonlardaki gadobutrolün kromozom anormallikleri testi ile incelenmesi neticesinde, bu ajanın kromozom anormalliklerinde anlamlı bir artışa sebep olmadığı ve sonuçta genotoksik bir etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir (Wack ve diğerleri, 2012). Bu tez çalışmasında ise, MRG’de sıkça kullanılan bu kontrast ajanın yukarıdaki prelinik araştırmaya kıyasla daha yüksek konsantrasyonları incelenmiş olup, anormal hücre frekansında, hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamalarda en yüksek konsantrasyon olan 112 000 µg/mL’de, KA/Hücre frekansında ise 24 saatlik uygulamada en yüksek iki konsantrasyon olan 56 000 ve 112 000 µg/mL’de

anlamli bir artifa sebep olmuřtur. Bu sonuřlar, gadobutroluń oězellikle yuėsek konsantrasyonlarda genotoksik bir potansiyele sahip olabileceėini gostermektedir. Bu farklılık, kullanılan konsantrasyonların farklılıėından kaynaklanmış olabilir.

MRG’de kontrast ajan olarak kullanılan ve bu tez çalışmasında genotoksik etkileri incelenen gadoversetamid etken maddesinin, klinik oěncesi araştırmalarında, CHO hucrelerinde kromozom anormallikleri testi uygulanmıştır. Gadoversetamidin 630-5 000 µg/mL aralığındaki konsantrasyonları ile muamele edilen hucrelerde, 5 000 µg/mL’de, hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamalarda, sayısal kromozom anormalliklerinde oězellikle endoreduplikasyon sayısında anlamli artış meydana gelmiştir. Yine 5 000 µg/mL’lik konsantrasyonun 24 saatlik uygulamasında çeşitli yapısal kromozom anormalliklerinde anlamli artış olduğu belirtilmiştir (Wible JR ve diğerleri, 2001). Bu tez çalışmasında, *in vitro* koşullarda insan lenfositlerine uygulanan gadoversetamidin 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL’lik konsantrasyonları, hem anormal hucre frekansında ve hem de KA/Hucre frekansında anlamli artışlar meydana getirerek, preklinik çalışmalardan elde edilen sonuşlarla uyumluluk gostermiştir.

MRG’de kullanılan kontrast ajanlardan, gadofosveset trisodyumun (Vasovist®), gadoksetik asidin (Primovist®), gadodiamidin (Omniscan®) ve gadobenat dimegluminin (MultiHance®) de, preklinik araştırmalarda KA testi ile genotoksik potansiyelleri değerlendirilmiştir. CHO hucrelerinde KA testi ile değerlendirilen gadofosveset trisodyum ve gadodiamidin herhangi bir genotoksik etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Gadoksetik asidin ve gadobenat dimegluminin insan lenfositlerinde yuğruteğlen KA testlerinde, diğer kontrast ajanlara benzer şekilde, negatif sonuçlar oluşturduğu için genotoksik etkili olmadıkları bildirilmiştir (Dohr ve diğerleri, 2007; Harpur ve diğerleri, 1993; Morisetti ve diğerleri, 1999; Steger-Hartmann ve diğerleri, 2006). Gadobenat dimegluminin, preklinik araştırmalarının haricinde, insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri testi ile incelendiği bir araştırmada, 2,5-10 mM aralığındaki konsantrasyonları ile çalışılmış ve hiçbir konsantrasyonda KA frekansında anlamli bir artış olmadığı ve bu nedenle gadobenat dimegluminin genotoksik bir etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir (Toritsuka, Daimon, Sawada, Sagami, Tirone, Morisetti, Bussi ve Adams, 1999).

Gadopentetat dimegluminin, genotoksik etkisinin olup olmadığını değerlendirmek amacıyla farelerin kemik iliği hücrelerinde kromozom anormallikleri testi uygulanmıştır. Yapılan araştırmada, hem gadopentetat dimegluminin tek başına 0,6 mg/kg'lık konsantrasyonu ve hem de kematörapatik bir ilaç olan metotreksat (MTX) ile kombine şekilde etkileri incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda, fare kemik iliği hücrelerinde hem 24 saat ve hem de 48 saatlik uygulamalarda, gadopentetat dimegluminin hem tek başına ve hem de MTX ile beraber uygulanması sonucunda, kromozom aberasyonlarında, negatif kontrole kıyasla anlamlı bir artış oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, gadopentetat dimegluminin fare kemik iliği hücrelerinde genotoksik bir etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir (Maleek ve Gheni, 2015).

Bu tez çalışmasında, gadobutrol ve gadoversetamid etken maddelerinin genotoksik etkileri ikinci bir test olarak kardeş kromatit değişimi testi ile de incelenmiştir. KKD testi, kimyasal ajanların potansiyel kromozomal mutajenitesini belirlemek amacıyla 1970'lerden beri kullanılan bir testtir. DNA'daki hasarı belirlemede kromozom anormallikleri testi kadar hassas olmamakla birlikte, iki özdeş kardeş kromatit arasındaki genetik materyal değişimini belirleyen ve mutajenik ajanlardan önemli ölçüde etkilenen bir yöntemdir (Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu, Özçelik, Ersan ve Ünal, 2017; Azab, Alassaf, Abu-Humdan, Dardas, Almousa, Alsalem, Khabour, Hammad, Saleh ve Awidi, 2019; Perry ve Evans, 1975; Stults ve diğerleri, 2014; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2018). Kardeş kromatitlerde görülen parça değişimlerinin, çeşitli ajanlara maruziyet sonucunda arttığı ve böylece DNA'da meydana gelen hasarın etkilerini gösterdiği bilinmektedir (Mamur, Ünal, Yılmaz, Erikel ve Yüzbaşıoğlu, 2020; Mourelatos, 2016). Bu tez çalışması kapsamında, gadobutrol ve gadoversetamidin insan lenfositlerine uygulanan aynı konsantrasyonlarının etkileri KKD testi ile incelendiğinde, her iki ajanın da hem 24 saatlik (gadoversetamid, 7 000 µg/mL hariç) ve hem de 48 saatlik uygulamalarda, KKD sayısında kontrole kıyasla artışlara sebep olduğu gözlenmiştir. Bu artışların, 24 saatlik uygulamada, gadobutrolde sadece 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonda, gadoversetamid uygulamasında ise 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda negatif kontrole kıyasla anlamlı olduğu tespit edilmiştir. 48 saatlik uygulamalarda ise, gadobutrolün iki yüksek konsantrasyonu olan 56 000 ve 112 000 µg/mL'de, gadoversetamidin 7 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda, KKD/Hücre sayısında negatif kontrole kıyasla artışlara sebep olduğu belirlenmiştir. İki etken maddenin hem 24 saatlik ve hem de 48 saatlik uygulamasında, aynı konsantrasyonların insan

lenfositlerinde oluşturduğu KKD/Hücre frekansları karşılaştırıldığında, gadoversetamidin daha genotoksik olduğu görülmektedir (Çizelge 5.1). Yapılan araştırmalarda, KKD'nin artan frekansında, topoizomeraz II enziminin etkili olduğu belirlenmiştir. DNA topoizomeraz II enzimi, DNA zincirlerini bağlayan bir kompleks oluşturarak DNA'nın kararlı yapısını oluşturmaktadır. Topoizomeraz II enziminin yapısı bozulduğunda, bu enzimin katalitik etkisi azalmakta ve DNA zincirlerini bir arada tutan kompleks oluşamamaktadır. Böylece, DNA'da çift zincir kırıkları meydana gelmektedir. Bu nedenle, KKD'nin hücre döngüsünün S fazına bağlı gerçekleştiği tespit edilmiştir (Akyil, Konuk, Eren, Liman ve Sağlam, 2017; Pommier, Zwelling, Kao-Shan, Whang-Peng ve Bradley, 1985).

Bu tez çalışmasında, KA testi için hazırlanan preparatlarda, kontrast ajanların mitotik indeks üzerine etkisi ve KKD testi için hazırlanan preparatlarda da replikasyon indeksi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Mİ, hücre bölünme oranındaki artış ve azalmaya bağlı olarak canlı organizmalarda sitotoksiteyi ölçmek için yaygın bir şekilde kullanılan bir parametredir (Graña, 2018; Holland, Duramad, Rothman, Figgs, Blair, Hubbard ve Smith, 2002; Smaka-Kincl, Stegnar, Lovka ve Toman, 1996). Rİ ise, kültüre edilmiş hücrelerdeki sitokinetiklerin bir belirteci olarak kullanılmaktadır. Rİ, hücrelerin ne kadarının bir, iki, üç veya daha fazla şekilde ardışık olarak hücresel döngüyü gerçekleştirdiğini değerlendiren bir parametredir. Rİ'deki sapmalar, DNA sentezinin inhibisyonunu gösteren bir belirteç olarak kullanılmaktadır (Çelik ve Aras-Ateş, 2006; Holland ve diğerleri, 2002; Lazutka ve Margolin, 1991). Bu tez çalışmasında, hem 24 saatlik ve hem de 48 saatlik uygulamalarda, her iki kontrast ajanın tüm konsantrasyonları, negatif kontrole kıyasla mitotik indekste düşüşlere sebep olmuştur. Bu azalma, iki kontrast ajanda da, hem 24 ve hem de 48 saatlik muamelede, konsantrasyona bağlı bir şekilde gerçekleşmiştir. Mİ'de gözlenen düşüşlerin, hem gadobutrolde ve hem de gadoversetamidde, 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde olduğu belirlenmiştir. Gadoversetamidde ayrıca, 7 000 µg/mL'de de Mİ'in anlamlı düşüş gösterdiği tespit edilmiştir. Her iki etken maddenin hem 24 saatlik ve hem de 48 saatlik uygulamalarının sonuçları kıyaslandığında, gadoversetamid uygulamalarının mitotik indeksi, gadobutrole kıyasla daha çok azalttığı belirlenmiştir (Çizelge 5.1). Bu nedenle gadoversetamid gadobutrole kıyasla daha kuvvetli bir antimitotik ve sitotoksik etkilidir. Mitotik indeksteki azalmalar, çeşitli mekanizmalardan kaynaklanabilir. Bunlardan biri, hücre siklusunun G₂ evresinin bloke edilmesi dolayısıyla hücrenin mitoza girmesinin engellenmesidir. Hücrenin

enerji üretiminin baskılanması veya ATP seviyesinde meydana gelen azalma da Mİ'te düşüşlere sebep olabilir. İğ ipliklerinin oluşmasını ve kromozomlara bağlanmasını düzenleyen mekanizmalardaki bozulmaların, DNA polimeraz gibi hücre döngüsüne özgü ve DNA sentezinde görev yapan enzimlerin inhibisyonu da Mİ'de azalmalara sebep olabilir (Epel, 1963; Hidalgo, Gonzalez-Reyes, Navas ve Garcia-Herdugo, 1989; Jain ve Andsorbhoy, 1988; Rencüzoğulları, Parlak ve Basri İla, 2008; Van't Hof, 1968; Yılmaz, Aksoy, Ünal, Çelik ve Yüzbaşıoğlu, 2008). Bu çalışmada, replikatif indeks te değerlendirilmiştir. Hem gadobutrol ve hem de gadoversetamidin, hem 24 saatlik ve hem de 48 saatlik uygulamalarında, replikatif indekste gözlenen azalmaların, negatif kontrole kıyasla hiç birinin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 5.1).

Yapılan bir çalışmada, manyetik rezonansın (manyetik alan ve radyofrekans) ve gadopentetat dimeglumin kontrast ajanının, insan periferik lenfositlerinde kardeş kromatit değişimi üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, hem GBKA'nın tek başına etkisi ve hem de her birinin kombine şekilde etkisi incelenmiştir. Gadopentetat dimegluminin 1,25 mM, 12,2 mM ve 100 mM'lik konsantrasyonları ile muamele edilen hücrelerde, tüm konsantrasyonların negatif kontrole kıyasla KKD frekansını artırdığı tespit edilmiştir. Gadopentetat dimegluminin, hem 100 mM'lik konsantrasyonunun tek başına uygulamasında ve hem de 30 dakika MR (manyetik alan+radyofrekans) varlığında KKD frekansını negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde artırdığı, 12 mM'lik konsantrasyonunun da sadece MR varlığında KKD frekansını anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Başlangıçta sadece MR ile muamele edilen ve ardından gadopentetat dimegluminin 1,25 mM konsantrasyonunun ortama ilave edildiği hücrelerdeki incelemede, sadece MR uyguladığında KKD artışı görülmezken, kontrast ajan muamelesinden sonra KKD frekansının anlamlı düzeyde arttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada, gadopentetat dimegluminin ham maddesi olan şelatlı gadolinyumun kendi etkisini saptayabilmek amacıyla $GdCl_3$ de KKD testine tabi tutulmuş ve bu uygulamanın sonucunda MR+1,25 mM gadopentetat dimeglumin muamelesiyle aynı etkiyi göstererek, KKD frekansını anlamlı düzeyde artırdığı belirlenmiştir. Bu da, şelatlı gadolinyumun, şelatlı gadolinyum içeren en düşük konsantrasyonlu gadopentetat dimeglumin ile aynı genotoksik etkiyi oluşturabildiğini göstermiştir. Ancak, gadopentetat dimegluminin KKD artışı gösteren konsantrasyonlarının, klinikte uygulanan dozdan (0,1 mmol/kg $\approx$ 1,25 mM) daha yüksek olduğu ve klinikte uygulanan dozun da, bu çalışmada KKD değerinde önemli bir artış göstermediği ve

klastojenik bir etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir (Yamazaki, Matsubara ve Yamada, 1993).

Yamazaki, Matsubara, Fukuda ve Shibuya (1996) tarafından yapılan bir çalışmada, gadopentetat dimegluminin KKD oluşumunda tetikleyici olmasının nedeninin, hidroksil radikallerinin oluşumu tetikleyerek ve böylece DNA'ya hasar vererek KKD sayısını artırdığı şeklinde yorumlanmıştır. Bu nedenle, radyoprotektif bir kimyasal olan dimetil sülfoksit (DMSO) varlığında ve yokluğunda gadopentetat dimegluminin oluşturduğu KKD frekansının azalıp azalmadığı da test edilmiştir. Gadopentetat dimegluminin 1,25, 12,2 ve 100 mM konsantrasyonları ile, DMSO'nun da 0,1; 0,01; 0,001 ve 0,0001 M konsantrasyonları ile çalışılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, gadopentetat dimegluminin tüm konsantrasyonlarında, negatif kontrole kıyasla KKD frekansını artırdığı ancak bu artışlardan 12,2 ve 100 mM'nin anlamlı düzeyde olduğu belirtilmiştir. DMSO'nun KKD frekansına olan etkisi tek başına değerlendirilmiş ve 0,1 M uygulamasının yüksek derecede ısı meydana getirdiği için sonuç vermediği, diğer konsantrasyonların negatif kontrole kıyasla KKD'yi anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Gadopentetat dimegluminin tüm konsantrasyonları, hem 0,001 M ve hem de 0,0001 M DMSO ile muamele edildiğinde ise, tüm konsantrasyonların, ayrı ayrı tek başına uygulandığında meydana getirdiği KKD frekanslarında anlamlı düzeyde düşüşler meydana getirdiği bildirilmiştir. Böylece, DMSO'nun, gadopentetat dimegluminin KKD oluşumundaki etkisini azalttığı saptanmıştır. Hidroksil radikalleri hücre zarının yapısını ve işlevini ve ayrıca enzim aktivasyonunu etkileyerek DNA'ya zarar verdiği bilinen moleküllerdir. DMSO, bu çalışmada hidroksil temizleyicisi işlevi görmüş ve gadopentetat dimegluminin KKD'yi artıran etkisini inhibe ettiği ifade edilmiştir. Gadopentetat dimeglumin (Gd-DTPA), kanda az miktarda da olsa şelatlı yapısı bozularak serbest Gd^{+3} ve DTPA (diethylenetriaminpentasetat) salınımı gerçekleştirebilir. Serbest kalan DTPA, kandaki hemoglobin ve/veya transferrinden demir iyonlarını çıkarabilmektedir. Demir iyonları ise gerekli oksidasyon durumuna sahip olduğundan, kanda hidroksil radikalleri dahil serbest radikalleri oluşturabilmektedir. Bu mekanizma ile, uygulanan GBKA'nın kanda hidroksil radikallerinin oluşumunu tetikleyerek DNA hasarına yol açabildiği bildirilmiştir (Magerstädt, Gansow, Brechbiel, Colcher, Baltzer, Knop, Girton ve Naegele, 1986; Wedeking ve Tweedle, 1988; Wedeking, Kumar ve Tweedle, 1992; Yamazaki ve diğerleri, 1996).

Bu tez çalışmasında uygulanan bir diğer test, mikronükleus testidir. Güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği, kimyasal ve fiziksel ajanların genotoksik, sitotoksik ve karsinojenik mutajenitesini belirlemede hassas olması nedeniyle, insan ve memeli hücrelerinde yaygın şekilde kullanılan testlerden biri haline gelmiştir (Aristizabal-Pachon ve Castillo, 2020; Erikel, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2019; Fenech, 2007; Şekeroğlu ve Atlı-Şekeroğlu, 2011). Özellikle, ilaçların hem klinik öncesi güvenlik araştırmalarında ve hem de bu ilaçları kullanan hastalar üzerindeki genotoksik potansiyellerinin tespitinde MN testi kullanılmaktadır (Şekeroğlu ve Atlı-Şekeroğlu, 2011). MN frekansı, kanser riskinin belirlenmesinde de prediktif bir biyogösterge olarak kullanılmaktadır (Avuloğlu-Yılmaz ve diğerleri, 2020; Bonassi, Znaor, Ceppi, Lando, Chang, Holland, Kirsch-Volders, Zeiger, Ban, Barale, Bigatti, Bolognesi, Cebulska-Wasilewska, Fabianova, Fucic, Hagmar, Joksic, Martelli, Migliore, Mirkova, Scarfi, Zijno, Norppa ve Fenech, 2007). Bu tez çalışması kapsamında, gadobutrol ve gadoversetamid etken maddelerinin genotoksik potansiyelleri MN testi ile değerlendirildiğinde, hem gadobutrolün ve hem de gadoversetamidin, negatif kontrole kıyasla MN frekansında artışa neden olduğu belirlenmiştir. Bu artışlar, gadobutrol uygulamalarında anlamlı değilken, gadoversetamid uygulamalarında sadece en yüksek konsantrasyon olan 112 000 µg/mL’de anlamlı düzeyde olduğu tespit edilmiştir. MN testinde, sitotoksik etkilerin belirlenmesi amacıyla nükleer bölünme indeksi de incelenmiş olup, her iki kontrast ajan da negatif kontrole kıyasla NBI’nde düşüşlere sebep olmuştur. Ancak NBI’de görülen bu azalmaların hiçbirinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı görülmüştür. Elde edilen sonuçlar, her iki etken maddenin de MN testinde güçlü klastojenik ve/veya anojenik etkili olmadığını, sadece gadoversetamidin en yüksek konsantrasyonunda (112 000 µg/mL) anlamlı bir MN frekansı oluşturduğunu ve dolayısıyla gadobutrole kıyasla biraz daha güçlü klastojenik ve/veya anojenik olduğunu göstermektedir (Çizelge 5.1).

Farklı iki preklinik araştırmada, gadobutrol ve gadoversetamidin farelerde *in vivo* klastojenik veya anojenik etkilerini belirlemek amacıyla MN testleri uygulanmıştır. Bu testlerde fareler, gadobutrolün 2, 4 ve 8 mmol/kg’lık konsantrasyonları, gadoversetamidin ise 1 250, 2 500 ve 5 000 mg/kg’lık konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. Gadobutrolün de gadoversetamidin de hiçbir konsantrasyonda mikronükleuslu polikromatik eritrosit sayısında değişiklik oluşturmadığı belirtilmiştir (Wack ve diğerleri, 2012; Wible JR ve diğerleri, 2001). Bu tez çalışmasında elde ettiğimiz bulgular, yukarıdaki çalışma sonuçlarıyla

benzer şekilde olup, çalışmamızda sadece gadoversetamidin 112 000 µg/mL'lik yüksek konsantrasyonu MN testinde pozitif sonuç vermiştir.

Klinik öncesi çalışmaları yapılan diğer GBKA'ların da mutajenik potansiyelleri MN testi ile değerlendirilmiştir. Bu GBKA'lar gadofosveset trisodyum, gadoksetik asit ve gadobenat dimeglumindir. Gadofosveset trisodyumun 1 000, 2 000 ve 4 000 mg/kg konsantrasyonları, gadoksetik asidin 1, 2 ve 4 mmol/kg konsantrasyonları ve gadodiamidin 2,7, 9 ve 27 mmol/kg konsantrasyonları farelerde *in vivo*, gadobenat dimegluminin ise 5 mmol/kg konsantrasyonu ratlarda *in vivo* MN testi ile incelenmiştir. Tüm bu kontrast ajanların, MN testinde negatif sonuç verdiği ve bu nedenle herhangi bir mutajenite kanıtı bulunmadığı belirtilmiştir (Döhr ve diğerleri, 2007; Harpur ve diğerleri, 1993; Morisetti ve diğerleri, 1999; Steger-Hartmann ve diğerleri, 2006).

MRG çekimlerinde en çok kullanılan ajanlardan biri de gadolinyum bazlı gadopentetat dimeglumindir. Gadopentetat dimegluminin (Magnevist®) genotoksik potansiyelini belirlemek amacıyla yürütülen bir çalışmada, bu ajanın 0,2 mg/kg, 0,4 mg/kg ve 0,6 mg/kg konsantrasyonlarının farelerin kemik iliği hücreleri üzerindeki etkileri MN ve KA testleri ile incelenmiş ve ayrıca mitotik indeksteki etkileri de değerlendirilmiştir (Kadhim, 2015). Kullanılan konsantrasyonların tamamının, hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamasının, negatif kontrole kıyasla KA ve MN frekansında artışa sebep olduğu, ancak bu artışlardan sadece 0,6 mg/kg'lık konsantrasyonun hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamada anlamlı olduğu bildirilmiştir. Mİ sonuçlarına göre ise, yine tüm uygulama konsantrasyonları, hem 24 ve hem de 48 saatlik sürelerde, negatif kontrole kıyasla Mİ'de düşüşe sebep olmuş, bu düşüşlerden sadece 0,6 mg/kg'lık konsantrasyonun her iki uygulama süresinde anlamlı düzeyde olduğu belirtilmiştir. Gadopentetat dimegluminin en yüksek konsantrasyonun gösterdiği bu etkilerin, hidroksil radikallerinin oluşumu nedeniyle DNA'da hasar meydana gelmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Kim, Park, Cebulski ve Nili, 2009; Yamazaki ve diğerleri, 1996). Hidroksil radikalleri ile DNA bazları arasına, pirimidinlerin C5-C6 bölgesi ile pürinlerin N7-C8 bölgesi arasında bulunan pi bağları eklenerek reaksiyon meydana geldiği ve deoksiriboz karbonundan hidrojen koparıldığı belirlenmiştir (Balasubramanian, Pogozelski ve Tullius, 1998; Steenken, 1989). Takiben, moleküler oksijen ile etkileşime giren hidroksil radikallerinin, peroksil radikallerini oluşturduğu ve tamir enzimlerine

dirençli mutajenik deoksiribonolakton meydana getirerek mutajenik ve letal bir abazik bölge oluştuğu ifade edilmiştir (Lhomme, Constant ve Demeunynck, 1999).

Gadobenat dimeglumin ile yapılan bir çalışmada, bu kontrast ajanın mutajenik potansiyelini tespit etmek için ratların kemik iliği hücrelerinde MN testi uygulanmıştır. Gadobenat dimegluminin 5 mmol/kg konsantrasyonu ile 18, 42 ve 66 saat muamele edilen hücrelerin analizinde, negatif kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde mutajenik bir etki görülmediği bildirilmiştir (Toritsuka, Daimon, Sawada, Sagami, Tirone, Morisetti, Bussi ve Fassio, 1999).

MRG’de kontrast ajan olarak kullanılan ultra küçük süperparamanyetik demir oksit (USPIO) partiküllerinden oluşan ferumokstran-10’un, prelinik araştırmalarda mutajenitesini belirlemek amacıyla metabolik aktivasyon varlığında ve yokluğunda Ames, CHO hücrelerinde kromozom anormallikleri ve farelerde *in vivo* mikronükleus testleri çalışılmıştır. Ferumokstran-10 uygulamalarının, hiçbir test sisteminde negatif kontrole kıyasla istatistiksel bir farklılık göstermediği ve bu nedenle uygulanan bu test sistemlerinde mutajenik bir etkisinin bulunmadığı rapor edilmiştir (Bourrinet, Bengèle, Bonnemain, Dencausse, Idee, Jacobs ve Lewis, 2006).

Kanser hücrelerini hedeflerken bir yandan da sağlıklı dokuları koruma özelliği gösteren nanopartiküller, kemoterapötik taşıyıcılar olarak önemli bir uygulama platformu sağlamaktadır. Gelişen nanoteknoloji ile, nanopartiküller MRG’de de kontrast ajanı olarak kullanılan materyallerdir. Nanopartiküllerin üreme sistemine ilişkin sitotoksosite ve genotoksosite üzerindeki etkisini ele almak için, Pöttler, Staicu, Zaloga, Unterweger, Weigel, Schreiber, Hofmann, Wiest, Jeschke, Alexiou ve Janko (2015) tarafından, süperparamanyetik demir oksit nanopartiküllerin (SPION) yumurtalık fonksiyonu ve dışı doğurganlığı için önemli olan granüloza hücreleri üzerindeki etkisi akış sitometrisi ile, MN tekniği uygulanarak incelenmiştir. Yürütülen bu çalışmada, insan granüloza hücreleri, sadece laurik asit ile kaplanmış (SEON^{LA}), sığır serum albümini ve laurik asit ile kaplanmış (BSA; SEON^{LA-BSA}) veya dekstran ile kaplanmış (SEON^{DEX}) SPION’ların 50, 100 ve 150 µg/mL konsantrasyonları ile 48 ve 72 saat süreyle muamele edilmiştir. SEON^{LA-BSA} ve SEON^{DEX}, in, kontrol gruplarına kıyasla MN frekansında anlamlı bir farklılık oluşturmadığı ancak SEON^{LA},’nın en yüksek konsantrasyonunun negatif kontrole kıyasla %12 daha fazla

MN oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, granüloza hücrelerine penetrans göstermeyen, bu hücrelerde toksik bir etki meydana getirmeyen ve kanda diğer ajanlara nazaran daha uzun süre kalabilen SEON^{DEX}'in, MRG'de kullanılabilecek uygun bir kontrast ajan olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, SEON^{LA-BSA}'nın da toksik bir etkisi bulunmadığından, hem manyetik ilaç hedeflemeye ve hem de kanser ve ateroskleroz gibi hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir. Nanopartikül yüzeylerinin yüksek katalitik özellikleri nedeniyle, kaplamaları bir bariyer işlevi görerek toksik potansiyellerini azaltabilmektedir (Nel, Xia, Mädler ve Li, 2006; Zhang, Ji, Xia, H. Meng, Low-Kam, Liu, Pokhrel, Lin, Wang, Liao, M. Wang, Li, Rallo, Damoiseaux, Telesca, Mädler, Cohen, Zink ve Nel, 2012). Yürütülen bu çalışma ile MRG'de kullanılan nanopartiküllerin biyouyumluluk sağlamaları ve daha az toksik etkiye sahip olmaları için demir oksit nanoparçacıklarının uygun materyallerle kaplanması gerekli olduğu gösterilmiştir (Pöttler ve diğerleri, 2015). Bu çalışmada yüksek konsantrasyonun gösterdiği pozitif sonucun, nanopartiküllerin sekonder mekanizmasından kaynaklanıp kaynaklanmadığı bilinmemekle beraber, literatürde nanopartiküllerin sekonder genotoksik mekanizmayla hidroksil radikal oluşumunu tetiklediği ve hücrede oksidatif stres meydana getirip DNA bazlarının oksitlenmesine ve DNA'da hasar oluşumuna neden olduğuna dair veriler bulunmaktadır (Kryston, Georgiev, Pissis ve Georgakilas, 2011; Zhang ve diğerleri, 2012).

Bu tez çalışmasında, MRG'de kullanılan gadobutrol ve gadoversetamid etken maddelerinin genotoksik etkileri, insan periferel lenfositlerinde kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi ve mikronükleus testleri ile incelenmiştir. Elde edilen bulgularda, 24 saatlik uygulamalarda, gadobutrol 56 000 µg/mL'lik konsantrasyonda KA/Hücre oranında, 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonda ise hem anormal hücre frekansı ve KA/Hücre frekansında ve hem de KKD oranında negatif kontrole kıyasla anlamlı bir artış oluşturmuştur. Gadoversetamidin 24 saatlik uygulamalarında ise 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonlarının anormal hücre frekansı, KA/Hücre ve KKD oranında anlamlı artış oluşturduğu tespit edilmiştir. 48 saatlik uygulamalarda, gadobutrol 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonda anormal hücre frekansını ve KKD oranını anlamlı düzeyde artırmış, 56 000 µg/mL'lik konsantrasyonda ise sadece KKD'de negatif kontrole kıyasla anlamlı bir artış meydana getirmiştir. Gadoversetamidin 48 saatlik uygulamalarında, 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonların anormal hücre ve KA/Hücre

frekansını anlamlı derecede artırdığı tespit edilmiştir. Gadoversetamidin 48 saatlik KKD bulgularında, 7 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL konsantrasyonlarının KKD oranını anlamlı düzeyde artırdığı belirlenmiştir. Mİ değerlendirmelerinde, iki etken madde de benzer etkiler göstermiş olup, hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamalarda negatif kontrole göre düşüşler göstermiş fakat bunlardan sadece en yüksek iki konsantrasyon olan 56 000 ve 112 000 µg/mL'deki düşüşlerin anlamlı olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, gadoversetamidde 7 000 µg/mL'deki düşüşün de anlamlı olduğu belirlenmiştir. MN testinde ise, gadobutrol negatif kontrole kıyasla tüm konsantrasyonlarda MN frekansını artırmakla beraber, bu artışlar anlamlı değildir. Gadoversetamid ise, 14 000, 28 000, 56 000 ve 112 000 µg/mL konsantrasyonlarda MN frekasında artışa neden olmuş ancak bu artışlardan sadece 112 000 µg/mL'lik konsantrasyonunun anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlar, *in vitro* insan lenfositlerinde gadobutrolün zayıf klastojenik, DNA kırıkları üzerinde zayıf mutajenik ve zayıf sitotoksik olduğunu göstermektedir. Gadoversetamid ise neredeyse tüm konsantrasyonlarda klastojenik, DNA üzerinde mutajenik ve özellikle yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik bir etki göstermiştir. İki kontrast ajanın etkileri karşılaştırıldığında, gadoversetamid gadobutrole kıyasla daha güçlü bir mutajenik ve genotoksik etki oluşturmuştur. Gadolinium bazlı kontrast ajanlar kimyasal yapılarına göre makrosiklik ve doğrusal olarak sınıflandırılmaktadır. Her iki kontrast ajan da GBKA'ların non-iyonik sınıfında olmasına rağmen, gadobutrol makrosiklik yapıda ve daha kararlı bir ajan iken, gadoversetamid ise doğrusal yapıda olup, daha kararsız bir ajandır. Makrosiklik ajanlar %1'den daha az serbest Gd^{+3} içerir. Doğrusal ajanlarda ise bu oran %20'nin üzerine çıkmaktadır. Diğer yandan, doğrusal ajanların dokularda meydana getirdiği birikim konsantrasyonunun, makrosiklik olanlara kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir (Idée ve diğerleri, 2006). Otopsi sonrasında da, doğrusal GBKA'ların beyinde daha fazla biriktiği tespit edilmiştir (Murata ve diğerleri, 2016). Bu çalışma verilerine göre, gadoversetamidin gadobutrole kıyasla daha genotoksik ve sitotoksik olması, GBKA'ların sınıflandırılma sisteminde de gösterildiği gibi, gadobutrolün makrosiklik yapıda ve daha kararlı olması, diğer yandan gadoversetamidin doğrusal yapıda ve daha kararsız olması ile, içerdikleri serbest Gd^{+3} düzeyi ile, ayrıca dokularda birikim düzeyleri ile de benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması ile, gadobutrol ve gadoversetamid etken maddelerinin, aynı konsantrasyonlarının insan lenfositlerindeki genotoksik etkileri ilk defa karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve gadoversetamidin hem DNA'da ve hem de kromozomlarda daha fazla

hasar oluşturduğu belirlenmiştir. Literatürde çeşitli kontrast ajanların da hem mutajenik ve genotoksik etkiye sahip olabileceği ve hem de bu etkileri göstermediğine dair veriler bulunmaktadır. Bütün bu bulgulara göre, MRG’de kullanılan kontrast ajanların genotoksik ve mutajenik potansiyellerinin belirlenmesi için daha kapsamlı ve çeşitli *in vitro* ve aynı zamanda *in vivo* test sistemleriyle araştırılmaları gerekmektedir.

Çizelge 5.1. Gadobutrol ve gadoversetamidin insan lenfositlerindeki etkileri

Gadobutrol		Anormal Hücre Yüzdesi	KA/Hücre	KKD/Hücre	Mİ	MN
24 saat	7 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	
	14 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	
	28 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	
	56 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	
	112 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	
48 saat	7 000 µg/mL	-	-	↑	↓	↑
	14 000 µg/mL	-	-	↑	↓	↑
	28 000 µg/mL	↑	-	↑	↓	↑
	56 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↑
	112 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↑
Gadoversetamid						
24 saat	7 000 µg/mL	↑	↑	↓	↓	
	14 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	
	28 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	
	56 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	
	112 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	
48 saat	7 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	-
	14 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↑
	28 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↑
	56 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↑
	112 000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↑

↑ Negatif kontrole göre anlamlı artış

↑ Negatif kontrole göre anlamsız artış

↓ Negatif kontrole göre anlamlı azalış

↓ Negatif kontrole göre anlamsız azalış

- Negatif kontrole göre aynı

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tıbbi görüntülemelerde her geçen gün daha çok kullanılmaya başlanan manyetik rezonans görüntüleme tekniği günümüzde oldukça popüler hale gelmiştir. MRG, yüksek çözünürlüğe sahip olması, iyonize radyasyon içermemesi, hamilelerde ve çocuklarda güvenilir bir şekilde kullanılması gibi birçok avantaja sahiptir. MR görüntülerinde yeteri kadar rezolüsyon sağlanamadığında, normal dokularla lezyonlar arasında kontrast meydana getirerek görüntünün netleşmesini sağlayan kontrast ajanlar, MRG incelemelerinin neredeyse %40-50'sinde kullanılmaktadır. Patolojik dokularla sağlıklı dokuların ayrımını yapmada büyük kolaylık sağlayan ve hastalıkların tanı ve teşhisinde de büyük rol oynayan bu ajanlar, radyologların sıklıkla tercih ettiği görüntü iyileştirici bileşiklerdir. MRG'de en çok tercih edilen kontrast ajanlar yüksek manyetik özelliğine sahip gadolinyum bazlı ajanlardır. Başlangıçta son derece güvenilir bulunan bu ajanlar, çalışmalar arttıkça eski güvenilirliğini yitirmiş ve birçok yan etkiye sebep olduğu ortaya çıkmıştır. Bunlardan en ciddi olanı nefrojenik sistemik fibroz hastalığıdır. GBKA uygulamalarını takiben gadolinyumun, birçok doku ve organda özellikle beyinde birikebildiği ve yıllar sonra bile dokularda varlığının kanıtlandığına dair veriler bulunmaktadır. Bunlara ek olarak, gadolinyumun vücutta bulunan anyon ve katyonlarla transmetalasyon gerçekleştirerek bazı biyolojik olayların inhibisyonuna neden olduğu da bilinmektedir. Tüm bu etkileri göz önüne alındığında, GBKA'ların eskisi kadar güvenilir olmadığı ve MRG'de çok yaygın bir şekilde kullanılan bu kontrast ajanların insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerinin endişe uyandırdığı bir gerçektir. Bu nedenle, bu maddelerin toksisitesi ve özellikle genotoksitesisi konusunda araştırmalar yapılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, MRG'de kullanılan gadobutrol ve gadoversetamidin *in vitro* genotoksik etkileri, insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri, kardeş kromatit değişimi ve mikronükleus test sistemleriyle araştırılmıştır. Gadobutrol, kromozom anormallikleri testi sonucunda yalnızca en yüksek konsantrasyon için negatif kontrole kıyasla anlamlı bir artışa neden olurken, gadoversetamid, en düşük konsantrasyon hariç diğer tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir artış göstermiştir. KKD testinde, negatif kontrolle karşılaştırıldığında gadobutrolün yüksek konsantrasyonları anlamlı bir artış meydana getirmiş, gadoversetamidin ise tüm konsantrasyonları KKD'de anlamlı artışlar oluşturmuştur. Mİ değerlendirmelerinde, her iki kontrast ajanın da yüksek konsantrasyonları sitotoksik etki

göstermiş ve Mİ'de negatif kontrole kıyasla anlamlı azalmalara neden olmuştur. Diğer yandan gadobutrol MN frekansını anlamlı düzeyde değıştirmezen, gadoversetamidin en yüksek konsantrasyonu MN frekansında negatif kontrole kıyasla anlamlı artışa neden olmuştur. Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlara göre, uygulanan testlerden bazılarında pozitif sonuçlar elde edildiğı için, bu maddelerin genotoksik risk taşıyabileceğı görölmektedir. Bu nedenle tıbbi alanlarda dikkatli kullanılması gerektiğı görölmektedir. Ancak, daha sağlıklı bir değerlendirme yapmak için, bu etken maddelerin daha farklı konsantrasyonlarının farklı test sistemleri ile hem *in vitro* ve hem de *in vivo* şartlarda incelenmesi gerekmektedir. Böylece, bir yandan teknolojiden daha yüksek fayda sağlanırken, insan sağlığı açısından da en az zararla en fazla bilgi elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

- Agrawala, P. K., Adhikari, J. S. and Chaudhury, N. K. (2010). Lymphocyte chromosomal aberration assay in radiation biodosimetry. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2(3), 197.
- Akyil, D., Konuk, M., Eren, Y., Liman, R. and Sağlam, E. (2017). Mutagenic and genotoxic effects of Anilofos with micronucleus, chromosome aberrations, sister chromatid exchanges and Ames test. *Cytotechnology*, 69(6), 865-874.
- Aristizabal-Pachon, A. F. and Castillo, W. O. (2020). Genotoxic evaluation of occupational exposure to antineoplastic drugs. *Toxicological Research*, 36(1), 29-36.
- Atlı-Şekeroğlu, Z. ve Şekeroğlu, V. (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229.
- Avuloglu Yilmaz, E., Unal, F. and Yuzbasioglu, D. (2017). Evaluation of cytogenetic and DNA damage induced by the antidepressant drug-active ingredients, trazodone and milnacipran, in vitro. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(1), 57-66.
- Avuloglu-Yilmaz, E., Yuzbasioglu, D. and Unal, F. (2020). In vitro genotoxicity assessment of monopotassium glutamate and magnesium diglutamate. *Toxicology in Vitro*, 65, 104780.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbaşıoğlu, D., Özçelik, A. B., Ersan, S. and Ünal, F. (2017). Evaluation of genotoxic effects of 3-methyl-5-(4-carboxycyclohexylmethyl)-tetrahydro-2H-1, 3, 5-thiadiazine-2-thione on human peripheral lymphocytes. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1228-1233.
- Azab, B., Alassaf, A., Abu-Humdan, A., Dardas, Z., Almousa, H., Alsalem, M., Khabour, O., Hammad, H., Saleh, T. and Awidi, A. (2019). Genotoxicity of cisplatin and carboplatin in cultured human lymphocytes: a comparative study. *Interdisciplinary Toxicology*, 12(2), 93-97.
- Azimi, S., Mozdarani, H. And Mahmoudzadeh, A. (2017). Induction of DNA damage, apoptosis and micronuclei in peripheral blood lymphocytes following injection of contrast media in patients with abdominal CT scan. *International Journal of Radiation Research*, 15(2), 149-155.
- Balasubramanian, B., Pogożelski, W. K. and Tullius, T. D. (1998). DNA strand breaking by the hydroxyl radical is governed by the accessible surface areas of the hydrogen atoms of the DNA backbone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(17), 9738-9743.
- Bellin, M. F. (2006). MR contrast agents, the old and the new. *European Journal of Radiology*, 60(3), 314-323.

- Bellin, M. F., Vasile, M. and Morel-Precetti, S. (2003). Currently used non-specific extracellular MR contrast media. *European Radiology*, 13(12), 2688-2698.
- Bignold, L. P. (2009). Mechanisms of clastogen-induced chromosomal aberrations: A critical review and description of a model based on failures of tethering of DNA strand ends to strand-breaking enzymes. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 681(2-3), 271-298.
- Bittner, R. C. and Felix, R. (1998). Magnetic resonance (MR) imaging of the chest: state-of-the-art. *European Respiratory Journal*, 11(6), 1392-1404.
- Bolzán, A. D. and Bianchi, M. S. (2018). DNA and chromosome damage induced by bleomycin in mammalian cells: An update. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 775, 51-62.
- Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, W. P., Holland, N., Kirsch-Volders, M., Zeiger, E., Ban, S., Barale, R., Bigatti, M. P., Bolognesi, C., Cebulska-Wasilewska A., Fabianova, E., Fucic, A., Hagmar, L., Joksic, G., Martelli, A., Migliore, L., Mirkova, E., Scarfi, M. R., Zijno, A., Norppa, H. and Fenech, M. (2007). An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*, 28(3), 625-631.
- Bourrinet, P., Bengel, H. H., Bonnemain, B., Dencausse, A., Idee, J. M., Jacobs, P. M. and Lewis, J. M. (2006). Preclinical safety and pharmacokinetic profile of ferumoxtran-10, an ultrasmall superparamagnetic iron oxide magnetic resonance contrast agent. *Investigative Radiology*, 41(3), 313-324.
- Brasch, R. C., London, D. A., Wesbey, G. E., Tozer, T. N., Nitecki, D. E., Williams, R. D., Doemeny, J., Tuck, L. D. and Lallemand, D. P. (1983). Work in progress: nuclear magnetic resonance study of a paramagnetic nitroxide contrast agent for enhancement of renal structures in experimental animals. *Radiology*, 147(3), 773-779.
- Broome, D. R., Girguis, M. S., Baron, P. W., Cottrell, A. C., Kjellin, I. and Kirk, G. A. (2007). Gadodiamide-associated nephrogenic systemic fibrosis: why radiologists should be concerned. *American Journal of Roentgenology*, 188(2), 586-592.
- Bumb, A., Brechbiel, M. W. and Choyke, P. (2010). Macromolecular and dendrimer-based magnetic resonance contrast agents. *Acta Radiologica*, 51(7), 751-767.
- Carr, D. H., Brown, J., Bydder, G. M., Weinmann, H. J., Speck, U., Thomas, D. J. and Young, I. R. (1984). Intravenous chelated gadolinium as a contrast agent in NMR imaging of cerebral tumours. *The Lancet*, 323(8375), 484-486.
- Chehabeddine, L., Al Saleh, T., Baalbaki, M., Saleh, E., Khoury, S. J. and Hannoun, S. (2019). Cumulative administrations of gadolinium-based contrast agents: risks of

- accumulation and toxicity of linear vs macrocyclic agents. *Critical Reviews in Toxicology*, 49(3), 262-279.
- Cortés, F. and Pastor, N. (2003). Induction of endoreduplication by topoisomerase II catalytic inhibitors. *Mutagenesis*, 18(2), 105-112.
- Cowper, S. E., Robin, H. S., Steinberg, S. M., Su, L. D., Gupta, S. and LeBoit, P. E. (2000). Scleromyxoedema-like cutaneous diseases in renal-dialysis patients. *The Lancet*, 356(9234), 1000-1001.
- Çekdemir, Y. E. (2016). *Gadolinium Bazlı Kontrast Maddelerle Çok Sayıda Beyin Mrg Çekimi Yapılmış Olan Hastalarda Beyinde Bazal Ganglionlarda Sinyal İntensite Değişikliklerinin Saptanması*. Uzmanlık Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, İzmir, 19-20.
- Çelik, A. and Aras Ateş, N. (2006). The frequency of sister chromatid exchanges in cultured human peripheral blood lymphocyte treated with metronidazole in vitro. *Drug and Chemical Toxicology*, 29(1), 85-94.
- Dekkers, I. A., Roos, R. and van der Molen, A. J. (2018). Gadolinium retention after administration of contrast agents based on linear chelators and the recommendations of the European Medicines Agency. *European Radiology*, 28(4), 1579-1584.
- Döhr, O., Hofmeister, R., Treher, M. and Schweinfurth, H. (2007). Preclinical safety evaluation of Gd-EOB-DTPA (Primovist). *Investigative Radiology*, 42(12), 830-841.
- Durante, M., Bedford, J. S., Chen, D. J., Conrad, S., Cornforth, M. N., Natarajan, A. T., van Gent, D.C. and Obe, G. (2013). From DNA damage to chromosome aberrations: joining the break. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 756(1-2), 5-13.
- Endrikat, J., Dohanish, S., Schleyer, N., Schwenke, S., Agarwal, S. and Balzer, T. (2018). 10 years of nephrogenic systemic fibrosis: A comprehensive analysis of nephrogenic systemic fibrosis reports received by a pharmaceutical company from 2006 to 2016. *Investigative Radiology*, 53(9), 541-550.
- Epel, D. (1963). The effects of carbon monoxide inhibition on ATP level and the rate of mitosis in the sea urchin egg. *The Journal of Cell Biology*, 17(2), 315-319.
- Erikel, E., Yüzbaşıoğlu, D. and Ünal, F. (2019). In vitro genotoxic and antigenotoxic effects of cynarin. *Journal of Ethnopharmacology*, 237, 171-181.
- Evans, H.J., In Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C. (1984). Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*. Amsterdam: Elsevier Sciences, 405-427.

- Faqi, A. S. (Editor). (2017). *Genetic Toxicology Testing*. United States: Academic Press, 136-137.
- Fatahi, M., Reddig, A., Friebe, B., Reinhold, D. and Speck, O. (2017). MRI and genetic damage: an update. *Current Radiology Reports*, 5(6), 20.
- Fenech, M. (2000). The *in vitro* micronucleus technique. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1), 81-95.
- Fenech, M. (2007). Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature protocols*, 2(5), 1084.
- Fornasiero, D., Bellen, J. C., Baker, R. J. and Chatterton, B.E. (1987). Paramagnetic complexes of manganese (II), iron (III), and gadolinium (III) as contrast agents for magnetic resonance imaging. The influence of stability constants on the biodistribution of radioactive aminopolycarboxylate complexes. *Investigative Radiology*, 22(4), 322-327.
- Geraldes, C. F. and Laurent, S. (2009). Classification and basic properties of contrast agents for magnetic resonance imaging. *Contrast Media & Molecular Imaging*, 4(1), 1-23.
- Gollapudi, B. B. and Krishna, G. (2000). Practical aspects of mutagenicity testing strategy: an industrial perspective. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1-2), 21-28.
- Gostissa, M., Alt, F. W. and Chiarle, R. (2011). Mechanisms that promote and suppress chromosomal translocations in lymphocytes. *Annual Review of Immunology*, 29, 319-350.
- Graña, E. (2018). Mitotic index. *Advances in Plant Ecophysiology Techniques*. Springer, Cham, 231-240.
- Grobner, T. (2006). Gadolinium—a specific trigger for the development of nephrogenic fibrosing dermopathy and nephrogenic systemic fibrosis? *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21(4), 1104-1108.
- Güzel-Bayülken, D., Ayaz Tüylü, B., Sinan, H. and Sivas, H. (2019). Investigation of genotoxic effects of paraben in cultured human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(4), 349-356
- Hao, D., Ai, T., Goerner, F., Hu, X., Runge, V. M. and Tweedle, M. (2012). MRI contrast agents: basic chemistry and safety. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 36(5), 1060-1071.

- Harpur, E. S., Worah, D., Hals, P. A., Holtz, E., Furuham, K. and Nomura, H. (1993). Preclinical safety assessment and pharmacokinetics of gadodiamide injection, a new magnetic resonance imaging contrast agent. *Investigative Radiology*, 28, S28-S43.
- Hasebroock, K. M. and Serkova, N. J. (2009). Toxicity of MRI and CT contrast agents. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 5(4), 403-416.
- Hazelton, J. M., Chiu, M. K. and Abujudeh, H. H. (2019). Nephrogenic systemic fibrosis: a review of history, pathophysiology, and current guidelines. *Current Radiology Reports*, 7(2), 5.
- Hemminki, K., Sivaramakrishna, R., Ludovit, M., Veronika, V., Erika, H., Asta, F., Vodickova, L., Buchancova, J., Vodicka, P. and Rajiv, K. (2015). Telomere length in circulating lymphocytes: Association with chromosomal aberrations. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 54(3), 194-196.
- Henegariu, O., Pescovitz, O. H., Vance, G. H., Verbrugge, J. and Heerema, N. A. (1997). A case with mosaic di-, tetra-, and octacentric ring Y chromosomes. *American Journal of Medical Genetics*, 71, 426-429.
- Hidalgo, A., Gonzalez-Reyes, J. A., Navas, P. and Garcia-Herdugo, G. (1989). Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by protham and chlorprotham. *Cytobios*, 57(228), 7-14.
- Holland, N. T., Duramad, P., Rothman, N., Figgs, L. W., Blair, A., Hubbard, A. and Smith, M. T. (2002). Micronucleus frequency and proliferation in human lymphocytes after exposure to herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid in vitro and in vivo. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 521(1-2), 165-178.
- Hope, T. A. and Veit-Haibach, P. (editors) (2018). MRI Contrast Agents. Iagaru, MRI Contrast Agents. *PET/MRI in Oncology*. Springer, Cham, 41-51.
- Hsu, C. W., Hewes, K. P., Stavitskaya, L. and Kruhlak, N. L. (2018). Construction and application of (Q) SAR models to predict chemical-induced in vitro chromosome aberrations. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 99, 274-288.
- Hu, Q., Maurais, E. G. and Ly, P. (2020). Cellular and genomic approaches for exploring structural chromosomal rearrangements. *Chromosome Research*, 1-12.
- Idée, J. M., Port, M., Raynal, I., Schaefer, M., Le Greneur, S. and Corot, C. (2006). Clinical and biological consequences of transmetallation induced by contrast agents for magnetic resonance imaging: a review. *Fundamental & clinical pharmacology*, 20(6), 563-576.
- Idée, J. M., Port, M., Robic, C., Medina, C., Sabatou, M. and Corot, C. (2009). Role of thermodynamic and kinetic parameters in gadolinium chelate stability. *Journal of*

Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 30(6), 1249-1258.

İnternet: European Medicines Agency (EMA). (July, 2017). EMA's final opinion confirms restrictions on use of linear gadolinium agents in body scans. Web: https://www.ema.europa.eu/en/documents/press-release/emas-final-opinion-confirms-restrictions-use-linear-gadolinium-agents-body-scans_en.pdf adresinden 29 Şubat 2020'de alınmıştır.

İnternet: T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu. (Eylül, 2013). Gadolinium içeren kontrast madde kullanımı ile nefrojenik sistemik fibrozis gelişme riski. Web: https://www.istanbuleczaciodasi.org.tr/upload/pdf/20130923_ek2.pdf adresinden 26 Şubat 2020'de alınmıştır.

İnternet: US-Food & Drug Administration. (May, 2017). FDA Drug Safety Communication: FDA evaluating the risk of brain deposits with repeated use of gadolinium-based contrast agents for magnetic resonance imaging (MRI). Web: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-evaluating-risk-brain-deposits-repeated-use-gadolinium-based> adresinden 25 Şubat 2020'de alınmıştır.

İnternet: US-Food & Drug Administration. (December, 2017). FDA Drug Safety Communication: FDA identifies no harmful effects to date with brain retention of gadolinium-based contrast agents for MRIs; review to continue <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-identifies-no-harmful-effects-date-brain-retention-gadolinium> adresinden 26 Şubat 2020'de alınmıştır.

İnternet: US-Food & Drug Administration. (May, 2018a). FDA Drug Safety Communication: FDA warns that gadolinium-based contrast agents (GBCAs) are retained in the body; requires new class warnings. Web: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-warns-gadolinium-based-contrast-agents-gbcas-are-retained-body> adresinden 26 Şubat 2020'de alınmıştır.

İnternet: US-Food & Drug Administration. (April, 2018b). Information on Gadolinium-Based Contrast Agents: OptiMARK (gadoversetamide). Web: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/020937s028,020975s029,020976s030lbl.pdf adresinden 28 Şubat 2020'de alınmıştır.

İnternet: US-Food & Drug Administration. (March, 2011). Information on Gadolinium-Based Contrast Agents: Gadavist (gadobutrol injection). Web: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/201277s000lbl.pdf adresinden 9 Şubat 2020'de alınmıştır.

İnternet: US-Food & Drug Administration. (August, 2013). OptiMARK Prescribing Information. Web:

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/020937s022lbl.pdf
adresinden 9 Şubat 2020’de alınmıştır.

- Jain, A. K. and Andsorbhoy, R. K. (1988). Cytogenetical studies on the effects of some chlorinated pesticides. *Cytologia*, 53(3), 427-436.
- Jain, A. K., Singh, D., Dubey, K., Maurya, R. and Pandey, A. K. (2018). Chromosomal Aberrations. *Mutagenicity: Assays and Applications*. Academic Press, 69-92.
- Jasin, M. and Rothstein, R. (2013). Repair of strand breaks by homologous recombination. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(11), 1-18.
- Kanda, T., Fukusato, T., Matsuda, M., Toyoda, K., Oba, H., Kotoku, J. I., Haruyama, T., Kitajima, K. and Furui, S. (2015). Gadolinium-based contrast agent accumulates in the brain even in subjects without severe renal dysfunction: evaluation of autopsy brain specimens with inductively coupled plasma mass spectroscopy. *Radiology*, 276(1), 228-232.
- Kanda, T., Ishii, K., Kawaguchi, H., Kitajima, K. and Takenaka, D. (2014). High signal intensity in the dentate nucleus and globus pallidus on unenhanced T1-weighted MR images: relationship with increasing cumulative dose of a gadolinium-based contrast material. *Radiology*, 270(3), 834-841.
- Kanda, T., Osawa, M., Oba, H., Toyoda, K., Kotoku, J. I., Haruyama, T., Takeshita, K. and Furui, S. (2015b). High signal intensity in dentate nucleus on unenhanced T1-weighted MR images: association with linear versus macrocyclic gadolinium chelate administration. *Radiology*, 275(3), 803-809.
- Kayraldiz, A. and Topaktas, M. (2001). Indirect genotoxic effect of gamma rays in human peripheral lymphocytes. *Cytologia*, 66(1), 25-31.
- Khairnar, S., More, N., Mounika, C. and Kapusetti, G. (2019). Advances in Contrast Agents for Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. *Journal of Medical Imaging and Radiation Sciences*, 1-15.
- Kim, J. K., Park, T. W., Cebulski, W. A. and Nili, M. (2009). Radioresponse of human lymphocytes pretreated with boron and gadolinium as assessed by the comet assay. *International Journal of Radiation Research*, 7(2), 63-68.
- Kirsch-Volders, M. and Fenech, M. (2019). Micronucleus Assays with Human Lymphocytes for in Vitro Genetic Toxicology Testing. *The Micronucleus Assay in Toxicology*. RCS Publishing, 157-168.
- Kirsch-Volders, M., Plas, G., Elhajouji, A., Lukamowicz, M., Gonzalez, L., Looock, K. V. and Decordier, I. (2011). The *in vitro* MN assay in 2011: origin and fate, biological

- significance, protocols, high throughput methodologies and toxicological relevance. *Archives of Toxicology*, 85(8), 873-899.
- Komaki, Y. and Plewa, M. J. (2017). Investigation of nuclear enzyme topoisomerase as a putative molecular target of monohaloacetonitrile disinfection by-products. *Journal of Environmental Sciences*, 58, 231-238.
- Kontaş, S., Şekeroğlu, Z. A. ve Şekeroğlu, V. (2011). Kardeş kromatid değişimi testi ve kullanım alanları. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(4), 226-234.
- Kryston, T. B., Georgiev, A. B., Pissis, P. and Georgakilas, A. G. (2011). Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 711(1-2), 193-201.
- Lal, A. S., Begum, S. K., Bharadwaj, S. S., Lalitha, V., Vijayalakshmi, J., Paul, S. F. and Maddaly, R. (2019). Bleomycin-induced genotoxicity in vitro in human peripheral blood lymphocytes evidenced as complex chromosome-and chromatid-type aberrations. *Toxicology in Vitro*, 54, 367-374.
- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L. and Muller, R. N. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chemical Reviews*, 108(6), 2064-2110.
- Lazutka, J. R. and Margolin, B. H. (1991). Replication index in cultured human lymphocytes: methods for statistical analysis and possible role in genetic toxicology. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 17(3), 188-195.
- Le Caignec, C., Boceno, M., Jacquemont, S., Tich, S. N. T., Rival, J. M. and David, A. (2004, July). Inherited ring chromosome 8 without loss of subtelomeric sequences. *Annales de genetique*. Elsevier Masson, 289-296.
- Lhomme, J., Constant, J. F. and Demeunynck, M. (1999). Abasic DNA structure, reactivity, and recognition. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 52(2), 65-83.
- Li, H., Hilmarsen, H. T., Hossain, M. B., Björk, J., Hansteen, I. L., Albin, M., Skgelbred, C. F. and Broberg, K. (2013). Telomere length and LINE1 methylation is associated with chromosomal aberrations in peripheral blood. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 52(1), 1-10.
- Magerstädt, M., Gansow, O. A., Brechbiel, M. W., Colcher, D., Baltzer, L., Knop, R. H., Girton, M. E. and Naegele, M. (1986). Gd (DOTA): an alternative to Gd (DTPA) as a T1, 2 relaxation agent for NMR imaging or spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine*, 3(5), 808-812.

- Majumdar, S., Roy, R., Sen, M. and Chakraborty, M. (2020). Review Article on Magnetic Resonance Imaging. *Emerging Technology in Modelling and Graphics*. Singapore: Springer, 731-739.
- Maleek, M.I. and Gheni, D.A. (2015). Cytogenetic effects of magnevist and methotrexate on mice bone marrow. *Journal of Wassit for Science & Medicine*, 8(2), 115-127.
- Mamur, S., Ünal, F., Yılmaz, S., Erikel, E. and Yüzbaşıoğlu, D. (2020). Evaluation of the cytotoxic and genotoxic effects of mycotoxin fusaric acid. *Drug and Chemical Toxicology*, 43(2), 149-157.
- Mandry, D., Pedersen, M., Odille, F., Robert, P., Corot, C., Felblinger, J., Grenier, N. and Claudon, M. (2005). Renal functional contrast-enhanced magnetic resonance imaging: evaluation of a new rapid-clearance blood pool agent (p792) in Sprague-Dawley rats. *Investigative Radiology*, 40(5), 295-305.
- Mathur, M., Jones, J. R. and Weinreb, J. C. (2020). Gadolinium Deposition and Nephrogenic Systemic Fibrosis: A Radiologist's Primer. *RadioGraphics*, 40(1), 153-162.
- McDonald, R. J., McDonald, J. S., Kallmes, D. F., Jentoft, M. E., Murray, D. L., Thielen, K. R., Williamson, E. E. and Eckel, L. J. (2015). Intracranial gadolinium deposition after contrast-enhanced MR imaging. *Radiology*, 275(3), 772-782.
- Morisetti, A., Bussi, S. and Tirone, P. (1999). Toxicological safety evaluation of gadobenate dimeglumine 0.5 M solution for injection (MultiHance), a new magnetic resonance imaging contrast medium. *Journal of Computer Assisted Tomography*, 23, S207-S217.
- Mourelatos, D. (2016). Sister chromatid exchange assay as a predictor of tumor chemoresponse. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 803, 1-12.
- Muller, R. N., Vander Elst, L., Roch, A., Peters, J. A., Csajbok, E., Gillis, P. and Gossuin, Y. (2005). Relaxation by metal-containing nanosystems. *Advances in Inorganic Chemistry*, 57, 239-292.
- Murata, N., Gonzalez-Cuyar, L. F., Murata, K., Fligner, C., Dills, R., Hippe, D. and Maravilla, K. R. (2016). Macrocyclic and other non-group 1 gadolinium contrast agents deposit low levels of gadolinium in brain and bone tissue: preliminary results from 9 patients with normal renal function. *Investigative Radiology*, 51(7), 447-453.
- Müller, N. L. (2002). Computed tomography and magnetic resonance imaging: past, present and future. *European Respiratory Journal*, 19(35Supplement), 3-12.
- Na, H. B., Song, I. C. and Hyeon, T. (2009). Inorganic nanoparticles for MRI contrast agents. *Advanced Materials*, 21(21), 2133-2148.

- Nakamura, H., Ito, N., Kotake, F., Mizokami, Y. and Matsuoka, T. (2000). Tumor-detecting capacity and clinical usefulness of SPIO-MRI in patients with hepatocellular carcinoma. *Journal of Gastroenterology*, 35(11), 849-855.
- Natarajan, A. T. and Palitti, F. (2008). DNA repair and chromosomal alterations. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 657(1), 3-7.
- Nates, J. L. and Price, K. J. (Editors). (2020). Magnetic Resonance Imaging (MRI) for the Acute Care Oncology Patient. *Oncologic Critical Care*. Switzerland: Springer, Cham, 1861-1868.
- Nel, A., Xia, T., Mädler, L. and Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761), 622-627.
- Nicolette, J. (2017). Genetic toxicology testing. In *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development*. Academic Press, 129-154.
- Normann, P.T., Hustvedt, S.O., Storflor, H. and Hals, P.A. (1995). Preclinical safety and pharmacokinetic profile of gadodiamide injection. *Clinical MRI*, 5, 95-101.
- OECD. (2013). *Health at a Glance 2013: OECD Indicators*. Paris: OECD Publishing, 209.
- Oyar, O. (2008). Magnetik Rezonans Görüntüleme (Mrg)'nin Klinik Uygulamaları Ve Endikasyonları. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 5, 31-40.
- Pasquini, L., Napolitano, A., Visconti, E., Longo, D., Romano, A., Tomà, P. and Espagnet, M. C. R. (2018). Gadolinium-based contrast agent-related toxicities. *CNS Drugs*, 32(3), 229-240.
- Patra, J. K., Das, S. K., Das, G. and Thatoi, H. (2019). Genotoxicity and Toxicological Studies. *A Practical Guide to Pharmacological Biotechnology*. Springer, Singapore, 55-75.
- Penfield, J. G. and Reilly, R. F. (2008). Nsf: What We Know and What We Need to Know: Nephrogenic Systemic Fibrosis Risk: Is There a Difference between Gadolinium-Based Contrast Agents? *Seminars in dialysis*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., 129-134.
- Perry, P. and Evans, H. J. (1975). Cytological detection of mutagen–carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature*, 258(5531), 121-125.
- Perry, P. and Wolff, S. (1974). New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature*, 251, 156-158.

- Phillips, D. H., and Arlt, V. M. (2009). Genotoxicity: damage to DNA and its consequences. *Molecular, clinical and environmental toxicology*. Switzerland: Birkhäuser Basel, 88-110.
- Pommier, Y., Zwellig, L. A., Kao-Shan, C. S., Whang-Peng, J. and Bradley, M. O. (1985). Correlations between intercalator-induced DNA strand breaks and sister chromatid exchanges, mutations, and cytotoxicity in Chinese hamster cells. *Cancer Research*, 45(7), 3143-3149.
- Port, M., Idée, J. M., Medina, C., Robic, C., Sabatou, M. and Corot, C. (2008). Efficiency, thermodynamic and kinetic stability of marketed gadolinium chelates and their possible clinical consequences: a critical review. *Biometals*, 21(4), 469–490.
- Pöttler, M., Staicu, A., Zaloga, J., Unterweger, H., Weigel, B., Schreiber, E., Hofmann, S., Wiest I., Jeschke, U., Alexiou, C. and Janko, C. (2015). Genotoxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in granulosa cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26280-26290.
- Pullicino, R. and Das, K. (2017). Is it safe to use gadolinium-based contrast agents in MRI?. *Journal of The Royal College of Physicians of Edinburgh*, 47(3), 243-246.
- Radbruch, A., Weberling, L. D., Kieslich, P. J., Eidel, O., Burth, S., Kickingeder, P., Heiland, S., Wick, W., Schlemmer, H. P. and Bendszus, M. (2015a). Gadolinium retention in the dentate nucleus and globus pallidus is dependent on the class of contrast agent. *Radiology*, 275(3), 783-791.
- Ramalho, J., Semelka, R. C., Ramalho, M., Nunes, R. H., AlObaidy, M. and Castillo, M. (2016). Gadolinium-based contrast agent accumulation and toxicity: an update. *American Journal of Neuroradiology*, 37(7), 1192-1198.
- Ren, N., Atyah, M., Chen, W. Y. and Zhou, C. H. (2017). The various aspects of genetic and epigenetic toxicology: testing methods and clinical applications. *Journal of Translational Medicine*, 15(1), 110.
- Rencüzoğulları, E., Parlak, S. and İla, H. B. (2008). The effects of food protector biphenyl on sister chromatid exchange, chromosome aberrations, and micronucleus in human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 31(2), 263-274.
- Robert, P., Lehericy, S., Grand, S., Violas, X., Fretellier, N., Idée, J. M., Ballet, S. and Corot, C. (2015). T1-weighted hypersignal in the deep cerebellar nuclei after repeated administrations of gadolinium-based contrast agents in healthy rats: difference between linear and macrocyclic agents. *Investigative Radiology*, 50(8), 473.
- Rodier, F., Coppé, J. P., Patil, C. K., Hoeijmakers, W. A., Muñoz, D. P., Raza, S. R., Freund, A., Campeau, E., Davalos, A. R. and Campisi, J. (2009). Persistent DNA damage

- signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nature Cell Biology*, 11(8), 973-979.
- Rogosnitzky, M. and Branch, S. (2016). Gadolinium-based contrast agent toxicity: a review of known and proposed mechanisms. *Biometals*, 29(3), 365-376.
- Runge, V. M. (2001). Safety of magnetic resonance contrast media. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 12(4), 309-314.
- Runge, V. M. (2017). Critical questions regarding gadolinium deposition in the brain and body after injections of the gadolinium-based contrast agents, safety, and clinical recommendations in consideration of the EMA's pharmacovigilance and risk assessment committee recommendation for suspension of the marketing authorizations for 4 linear agents. *Investigative Radiology*, 52(6), 317-323.
- Runge, V. M., Stewart, R. G., Clanton, J. A., Jones, M. M., Lukehart, C. M., Partain, C. L. and James Jr, A. E. (1983). Work in progress: potential oral and intravenous paramagnetic NMR contrast agents. *Radiology*, 147(3), 789-791.
- Salawu, A., Wright, K., Al-Kathiri, A., Wyld, L., Reed, M. and Sisley, K. (2018). Sister chromatid exchange and genomic instability in soft tissue sarcomas: potential implications for response to DNA-damaging treatments. *Hindawi*, 2018, 1-8.
- Schuhle, D. T. and Caravan, P. (2013). Metal-based MRI contrast agents. *Comprehensive Inorganic Chemistry II*. The Netherlands: Elsevier, 901-932.
- Shokrollahi, H. (2013). Contrast agents for MRI. *Materials Science and Engineering: C*, 33(8), 4485-4497.
- Sigurdardottir, S., Goodman, B. K., Rutberg, J., Thomas, G. H., Jabs, E. W. and Geraghty, M. T. (1999). Clinical, cytogenetic, and fluorescence in situ hybridization findings in two cases of "complete ring" syndrome. *American Journal of Medical Genetics*, 87: 384-390
- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M. and Toman, M. J. (1996). The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 368(3-4), 171-179.
- Sodré, C. P., Guilherme, R. D. S., Meloni, V. F., Brunoni, D., Juliano, Y., Andrade, J. A., Belangero, S. I. N., Christofolini, D. M., Kulikowski, L. D. and Melaragno, M. I. (2010). Ring chromosome instability evaluation in six patients with autosomal rings. *Genetics and Molecular Research*, 9(1), 134-143.
- Speit, G. and Haupter, S. (1985). On the mechanism of differential giemsa staining of bromodeoxyuridine-substituted chromosomes. *Human Genetics*, 70(2), 126-129.

- Steenken, S. (1989). Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e-and OH adducts. *Chemical Reviews*, 89(3), 503-520.
- Steger-Hartmann, T., Graham, P. B., Müller, S. and Schweinfurth, H. (2006). Preclinical safety assessment of Vasovist (Gadofosveset trisodium), a new magnetic resonance imaging contrast agent for angiography. *Investigative Radiology*, 41(5), 449-459.
- Stults, D. M., Killen, M. W. and Pierce, A. J. (2014). The sister chromatid exchange (SCE) assay. *Molecular Toxicology Protocols*. New York: Humana Press, 439-455.
- Şekeroğlu, V. ve Atlı-Şekeroğlu, Z. (2011). Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68(4), 241-252.
- Şen Dokumacı, D. (2012). Manyetik rezonans görüntüleme kontrast maddeleri ve yan etkileri. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(3), 119-125.
- Terzoudi, G. I., Hatzi, V. I., Donta-Bakoyianni, C. and Pantelias, G. E. (2011). Chromatin dynamics during cell cycle mediate conversion of DNA damage into chromatid breaks and affect formation of chromosomal aberrations: biological and clinical significance. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 711(1-2), 174-186.
- Thompson, L. H. (2005). Unraveling the Fanconi anemia–DNA repair connection. *Nature Genetics*, 37(9), 921-922.
- Thomsen, H. S., Marckmann, P. and Logager, V. B. (2007). Nephrogenic systemic fibrosis (NSF): a late adverse reaction to some of the gadolinium based contrast agents. *Cancer Imaging*, 7(1), 130-137.
- Thomsen, H. S., Morcos, S. K., Almén, T., Bellin, M. F., Bertolotto, M., Bongartz, G., Clement, O., Leander, P., Heinz-Peer, G., Reimer, P., Stacul, F., Molen, A. and Webb, J. (2013). Nephrogenic systemic fibrosis and gadolinium-based contrast media: updated ESUR Contrast Medium Safety Committee guidelines. *European Radiology*, 23(2), 307-318.
- Toritsuka, N., Daimon, H., Sawada, S., Sagami, F., Tirone, P., Morisetti, A., Bussi, S. and Adams, K. (1999). Mutagenicity Study Of Gadobenate Dimeglumine Formulation (E7155)(2): Chromosome Aberration Test with Human Lymphocytes in Culture. *The Journal of Toxicological Sciences*, 24(Supplement I), 95-101.
- Toritsuka, N., Daimon, H., Sawada, S., Sagami, F., Tirone, P., Morisetti, A., Bussi, S. and Fassio, F. (1999). Mutagenicity study of gadobenate dimeglumine formulation (E7155)(3)--Micronucleus test in rat bone marrow cells. *The Journal of Toxicological Sciences*, 24(Supplement I), 103-106.

- Tweedle, M. F., Hagan, J. J., Kumar, K., Mantha, S. and Chang, C. A. (1991). Reaction of gadolinium chelates with endogenously available ions. *Magnetic Resonance Imaging*, 9(3), 409-415.
- Üstüner, D. (2011). Kromozom kırıkları ve mikronükleus-apoptoz bağlantısı. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(1), 64-69.
- Van't Hof, J. (1968). The action of IAA and kinetin on the mitotic cycle of proliferative and stationary phase excised root meristems. *Experimental Cell Research*, 51(1), 167-176.
- Vermeesch, J. R., Baten, E., Fryns, J. P. and Devriendt, K. (2002). Ring syndrome caused by ring chromosome 7 without loss of subtelomeric sequences. *Clinical genetics*, 62(5), 415-417.
- Vodicka, P., Musak, L., Vodickova, L., Vodenkova, S., Catalano, C., Kroupa, M., Naccarati, A., Polivkova, Z., Vymetalkova, V., Försti, A. and Hemminki, K. (2018). Genetic variation of acquired structural chromosomal aberrations. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 836, 13-21.
- Wack, C., Steger-Hartmann, T., Mylecraine, L. and Hofmeister, R. (2012). Toxicological safety evaluation of gadobutrol. *Investigative Radiology*, 47(11), 611-623.
- Ward, J. (2007). Use of contrast agents for liver MRI. *Radiography*, 13, e54-e72.
- Wedeking, P. and Tweedle, M. (1988). Comparison of the biodistribution of ¹⁵³Gd-labeled Gd (DTPA) 2-, Gd (DOTA)-, and Gd (acetate) n in mice. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part B. Nuclear Medicine and Biology*, 15(4), 395-402.
- Wedeking, P., Kumar, K. and Tweedle, M. F. (1992). Dissociation of gadolinium chelates in mice: relationship to chemical characteristics. *Magnetic Resonance Imaging*, 10(4), 641-648.
- Wible Jr, J. H., Troup, C. M., Hynes, M. R., Galen, K. P., MacDonald, J. R., Barco, S. J., Wojdyla, J. K., Periasamy, M. P. and Adams, M. D. (2001). Toxicological assessment of gadoversetamide injection (OptiMARK®), a new contrast-enhancement agent for use in magnetic resonance imaging. *Investigative Radiology*, 36(7), 401-412.
- Xiao, Y. D., Paudel, R., Liu, J., Ma, C., Zhang, Z. S. and Zhou, S. K. (2016). MRI contrast agents: Classification and application. *International Journal of Molecular Medicine*, 38(5), 1319-1326.
- Yamazaki, E., Matsubara, S. and Yamada, I. (1993). Effect of Gd-DTPA and/or magnetic field and radiofrequency exposure on sister chromatid exchange in human peripheral lymphocytes. *Acta Radiologica*, 34(6), 607-611.

- Yamazaki, E., Matsubara, S., Fukuda, H. and Shibuya, H. (1996). Induction of sister chromatid exchange in the presence of gadolinium-DTPA and its reduction by dimethyl sulfoxide. *Investigative Radiology*, 31(5), 284-287.
- Yıldız, S., Cece, H., Kaya, İ., Çelik, H., Taşkın, A., Aksoy, N., Koçyiğit, A. and Eren, M. A. (2011). Impact of contrast enhanced MRI on lymphocyte DNA damage and serum visfatin level. *Clinical Biochemistry*, 44(12), 975-979.
- Yılmaz, S., Aksoy, H., Ünal, F., Çelik, M. and Yüzbaşıoğlu, D. (2008). Genotoxic action of fungicide Conan 5FL (hexaconazole) on mammalian cells in vivo and in vitro. *Russian Journal of Genetics*, 44(3), 273-278.
- Yılmaz, S., Ünal, F., Aksoy, H., Yüzbaşıoğlu, D. and Çelik, M. (2008). Cytogenetic effects of citric acid and benzoic acid on allium chromosomes. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17, 1029-1037.
- Yılmaz, S., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D. and Aksoy, H. (2008). Clastogenic effects of food additive citric acid in human peripheral lymphocytes. *Cytotechnology*, 56(2), 137-144.
- Yiğit, V. (2016). Manyetik Rezonans Görüntüleme Sağlık Teknolojisinin Yayılımı. *Türkiye Klinikleri Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(1), 38-46.
- Yongxing, W., Xiaorong, W. and Zichun, H. (2000). Genotoxicity of lanthanum (III) and gadolinium (III) in human peripheral blood lymphocytes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(4), 611-616.
- Young, I. R., Clarke, G. J., Baffles, D. R., Pennock, J. M., Doyle, F. H. and Bydder, G. M. (1981). Enhancement of relaxation rate with paramagnetic contrast agents in NMR imaging. *Journal of Computed Tomography*, 5(6), 543-547.
- Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M., Yılmaz, S., Ünal, F. and Aksoy, H. (2006). Clastogenicity of the fungicide afugan in cultured human lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 604(1), 53-59.
- Yüzbaşıoğlu, D., Enguzel-Alperen, C. and Ünal, F. (2018). Investigation of in vitro genotoxic effects of an anti-diabetic drug sitagliptin. *Food and Chemical Toxicology*, 112, 245-241.
- Yüzbaşıoğlu, D., Zengin, N. ve Ünal, F. (2014). Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. *The Journal of Food*, 39(3), 179-186.
- Zhang, H., Ji, Z., Xia, T., Meng, H., Low-Kam, C., Liu, R., Pokhrel, S., Lin, S., Wang, X., Liao, Y., Wang, M., Li, L., Rallo, R., Damoiseaux, R., Telesca, D., Mädler, L., Cohen, Y., Zink, J. I. and Nel, A. E. (2012). Use of metal oxide nanoparticle band gap to develop a predictive paradigm for oxidative stress and acute pulmonary inflammation. *ACS Nano*, 6(5), 4349-4368.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DİMİCİ, Ece
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 18.05.1993, Kastamonu
 Medeni hali : Bekâr
 Telefon : 0 (553) 225 38 05
 e-mail : ecedimici@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi	Devam Ediyor
Lisans	Orta Doğu Teknik Üniversitesi	2016
Lise	Çankaya Bahçelievler Anadolu Lisesi	2011

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2017-Halen	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Ana Bilim Dalı	Araştırma Görevlisi
2016-2016	L.E.S. Mikrogen Genetik Tanı Merkezi	Moleküler Biyolog

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Dimici, E., Yüzbaşıoğlu, D. and Ünal, F. (2019, 15-17 November). *Evaluation of Genotoxic Effects of Gadoversetamide in Cultured Human Lymphocytes by Sister Chromatid Exchange Test*. 7th International Symposium on Academic Studies in Science, Engineering and Architecture Sciences, Ankara/Turkey.
2. Dimici, E., Yüzbaşıoğlu, D. And Ünal, F. (2019, 15-17 November). *Gadolinium Based Contrast Agents Used in Magnetic Resonance Imaging and Toxicity*. 7th International

Symposium on Academic Studies in Science, Engineering and Architecture Sciences,
Ankara/Turkey.

Hobiler

Yüzme, tenis, tiyatro



GAZİ GELECEKTİR...