



T.C
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**ANDROCTONUS CRASSICAUDA (OLIVER 1807) AKREP
TÜRÜNÜN HAM ZEHRİNİN İNSAN PANKREAS KANSERİ
HÜCRE HATTI (CAPAN-1) ÜZERİNE SİTOTOKSİK,
APOPTOTİK VE NEKROTİK ETKİLERİ**

**GÜLER ARSLAN
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN**

KIRIKKALE-2022



T.C
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

***ANDROCTONUS CRASSICAUDA* (OLIVER 1807) AKREP
TÜRÜNÜN HAM ZEHRİNİN İNSAN PANKREAS KANSERİ
HÜCRE HATTI (CAPAN-1) ÜZERİNE SİTOTOKSİK,
APOPTOTİK VE NEKROTİK ETKİLERİ**

**GÜLER ARSLAN
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN**

KIRIKKALE-2022

Güler ARSLAN tarafından hazırlanan “*ANDROCTONUS CRASSICAUDA* (OLIVER 1807) AKREP TÜRÜNÜN HAM ZEHRİNİN İNSAN PANKREAS KANSERİ HÜCRE HATTI (CAPAN-1) ÜZERİNE SİTOTOKSİK, APOPTOTİK VE NEKROTİK ETKİLERİ” adlı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN

Biyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

İmza.....

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

Başkan: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Biyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

İmza.....

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

Üye: Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL

Biyoloji Anabilim Dalı, Çankırı Karatekin Üniversitesi

İmza.....

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

Tez Savunma Tarihi: 11/02/2022

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

Prof. Dr. Recep ÇALIN

Fen Bilimler Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYANI

Kırıkkale 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.

İmza

Güler ARSLAN

11 / 02 / 2022

ÖZET

ANDROCTONUS CRASSICAUDA (OLIVER 1807) AKREP TÜRÜNÜN HAM ZEHİRİNİN İNSAN PANKREAS KANSERİ HÜCRE HATTI (CAPAN-1) ÜZERİNE SİTOTOKSİK, APOPTOTİK VE NEKROTİK ETKİLERİ

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN

Şubat 2022, 57 Sayfa

Akrep zehirlerinin uzun yıllardan beri Çin geleneksel tıbbında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Zehirler, türe özgü olup heterojen karışımlardır. Çalışmamızda kullanılan akrep *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807) Orta Doğu coğrafyasında yaygın bulunmaktadır. Ülkemizde, *A. crassicauda* Güney Doğu Anadolu, özellikle Şanlıurfa ve Mardin'de akrep sokmalarında diğer türlerden çok daha önemlidir. Bu çalışmada, *A. crassicauda* akreplerinden elektrositimülasyon tekniği ile elde edilen ham zehir kullanılmıştır. Zehrin kanser hücrelerine etkisini araştırmak için zehir insan pankreas adenokarsinomu (Capan-1) hücrelerine ve normal fibroblast (L929) hücrelerine kültür ortamında uygulanmıştır. Sitotoksik aktivite MTT testi kullanılarak, apoptotik ve nekrotik hücre ölümü ikili boyama yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Aynı zamanda, zehir uygulanmış hücrelerdeki morfolojik değişiklikler farklı mikroskop teknikleri kullanılarak gösterilmeye çalışılmıştır. Hoechst 33342 ve PI ikili boyama yöntemi ile akrep ham zehrinin pankreas hücre hattındaki apoptotik ve nekrotik etkileri değerlendirilmiştir. Hoechst 33342 ve PI ikili boyama yöntemi ile apoptotik etki gözlemlenememiştir fakat fibroblast hücre hattında ise nekrotik etki gözlemlenebilmiştir. Hemotoksilen-Eozin boyaması sonucunda; pankreas kanser hücrelerinde küçülme veya sitoplazmik küçülme, kromatinin yoğunlaşması, nükleusun küçülmesi veya parçalara bölünmesi şeklinde değişiklikler ve bozunmalar gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler; *A. crassicauda* zehrinin pankreas kanser hücrelerini öldürdüğünü ancak sağlıklı fibroblast hücrelerine daha az etki gösterdiği görülmüştür. Ancak, *A. crassicauda* ham zehrinin pankreas kanseri üzerine etkili olduğu söylemek için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807), akrep zehri, insan pankreas kanseri, apoptoz, nekroz, sitotoksite

ABSTRACT

CYTOTOXIC, APOPTOTIC, AND NECROTIC EFFECTS OF THE CRUDE VENOM OF SCORPION *ANDROCTONUS CRASSICAUDA* (OLIVER 1807) IN HUMAN PANCREAS CANCER CELL LINE (CAPAN-1)

Kırıkkale University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology, M.Sc.
Thesis Supervisor: Prof. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN
February 2022, 57 pages

The venoms are species-specific and heterogeneous mixtures. It is known that scorpion venoms have been used in Chinese traditional medicine for many years in the treatment of various diseases. Recently studies show that the toxins found in scorpion venom can be used in the treatment of various diseases, especially cancer. The scorpion *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807) used in our study is common in the Middle East geography. In our country, *A. crassicauda* is much more important than other species in scorpion stings in Southeastern Anatolia, especially in Şanlıurfa and Mardin. In this study, the crude venom obtained by electrostimulation technique from *A. crassicauda* scorpions was used. To investigate the effect of *A. crassicauda* venom on cancer cells, it was applied to human pancreatic adenocarcinoma (Capan-1) cells and normal fibroblast (L929) cells in culture. Cytotoxic activity was evaluated using the MTT test, and apoptotic and necrotic cell death was evaluated using Hoechst 33342 and PI double staining method. At the same time, morphological changes in venom treated cells were tried to be demonstrated using different microscope techniques. According to the results of the cytotoxicity test, scorpion crude venom is more cytotoxic to pancreatic cancer cells than normal fibroblasts. With the double staining method, it was observed that scorpion crude venom caused intense apoptotic effect on pancreatic cell line and necrotic effect on fibroblast cell line. As a result of hematoxylin-eosin staining; In pancreatic cancer cells, changes and degradation were observed in the form of shrinkage or cytoplasmic shrinkage, condensation of chromatin, shrinkage of the nucleus or fragmentation. The data obtained from this study; It has been observed that the venom of *A. crassicauda* death pancreatic cancer cells, but has less effect on normal fibroblast cells. However, more detailed studies are needed to say that the crude venom of *A. crassicauda* is effective on pancreatic cancer.

Keywords: *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807), Scorpion venom, Human pancreas adenocarcinoma (Capan-1), Cytotoxicity, Apoptosis, Necrosis

TEŞEKKÜR

Tezin hazırlanmasında bilgi ve tecrübeleriyle ile her zaman bana ışık olan desteğini hiçbir zaman eksik tutmayan beni bilimsel kaynaklar konusunda destekleyen her türlü yönlendirmeyi bilgilendirmeyi eksiksiz sağlayan her alanda kendime örnek aldığım danışmanlık aldığım sayın hocam Prof. Dr. Nazife YİĞİT KAYHAN'a teőekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmamızda kullandığımız hücre hatlarını temin ettiğimiz Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdür Yardımcısı sayın Prof. Dr. Mustafa TÜRK hocama ve çalışmaları yaptığımız hücre kültür laboratuvar ekibine teşekkür ederim.

Tüm hayatımda olduğu gibi tez yazarken de maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen tüm bilgilere ulaşabilmem için ellerinden geleni yapan canım annem ve babama motive olmamı sağlayan ve hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen ablalarım ve ağabeyime de yürekten teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Zehirli Hayvanların Zehirleri	4
1.2. Zehrin Kullanım Amaçları	4
1.2.1. Predasyon (Avlanma).....	5
1.2.2. Savunma	6
1.2.3. Türler Arası Rekabet	7
1.2.4. Üreme	8
1.3. Akrep Zehirleri.....	8
1.3.1. Akrep Zehrinin Bileşenleri.....	9
1.4. Akrep Zehirlerinin Tedavi Amaçlı Kullanımı.....	10
1.4.1. Antimikrobiyal Etki	11
1.4. 2. Antisıtma Etki	12
1.4.3. Antiosteoporoz Etki	13
1.4.4. Antiviral Etki.....	13
1.4.5. Antiağrı Kesici Etki.....	14
1.4.6. Antiepileptik Etki	15
1.5. Kanserde İyon Kanalları ve Terapotik Akrep Zehirleri	16

1.5.1. Potasyum K ⁺ Kanalları	16
2.MATERYAL VE METOT	19
2.1. Akreplerin Toplanması Ve Sağıma Hazır Hale Getirilmesi	19
2.2. Akreplerden Elektrositimülasyon Tekniği ile Zehir Eldesi	19
2.3. Hücre Kültürü.....	19
2.4.Kullanılan Malzemeler	20
2.5. Yapılan Sitotoksite Testler	25
2.5.1.MTT Testi Protokolü.....	25
2.5.2.İkili Boyama Yöntemi Test Protokolü	25
2.5.3. Hemotoksilen -Eozin Boyama Test Protokolü.....	26
2.5.4. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) İçin Hücrelerin Hazırlanması.....	26
3. BULGULAR	27
3.1. Yapılan Sitoksite Testleri Sonuçları.....	27
3.1.1. MTT Testi Sonuçları	27
3.1.2. İkili Boyama Testi Sonuçları	29
3.1.3. Hemotoksilen-Eozin Boyama Sonuçları	30
3.1.4.Taramalı Elektron Mikroskopu (Sem) Sonuçları	32
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	35
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ.....	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

1.1. Antisıtma Peptitlerin Terapötik Rolü	13
1.2. Antiviral Aktivite ve Antiviral Peptitler	14
1.3. Akrep Zehir Peptilerinden Bazılarının Analjezik Etkileri.....	14
1.4. Akrep Zehrinin Sıçanlarda Epilepsi Nöbetleri Üzerine Etkisi	16



ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİLLER	Sayfa
1.1. Akrep Zehir İçeriği.....	10
1.2. Akrep Zehrin Potansiyel Terapotik Etkileri.....	11
1.3. Antimikrobiyal Peptitlerin Sınıflandırılması.....	12
2.1. İnvitrogen Marka /Model Hücre Sayım Cihazı.....	21
2.2. Esco Classil Marka/Model Lamina Flow Kabin.....	21
2.3. Binder Marka/Model CO2 İnkübatör.....	22
2.4. Nuve Marka/Model Santrifüj.....	22
2.5. Spectro Star Nano Marka/Model Mikro Plaka Okuyucu.....	23
2.6. Flaaster Tüpler Cam Pipetler.....	23
2.7. Jeoljm 5600 Marka/Model Taramalı Elektron Mikroskop.....	24
2.8. Kırıkkale Üniversitesi 5600 Marka/Model Taramalı Elektron Mikroskopunun Görüntüsü.....	24
3.1. Fibroblast (L929) için Hesaplanmış Yüzde Canlılık.....	28
3.2. Pankreas Hücre Hattı için Hesaplanmış Yüzde Canlılık.....	29
3.3. Zehirle Muameleden Sonra İkili Boyama ile Pankreas Hücre Hattında ve Fibroblast Hücrelerinde Apoptoz ve Nekrozun Gösterilmesi.....	30
3.4. Akrep Zehri ile Muamelenin Ardından Hemotoksilen -Eozin Boyama ile Pankreas Hücre Hattının Morfolojik Görüntüsü.....	31
3.5. Akrep Zehri ile Muamelenin Ardından Fibroblast (L929) Hücre Hattında Hemotoksilen -Eozin Boyama Sonucunda Morfolojik Görüntüsü.....	32
3.6. Akrep Zehri ile Muamelenin Ardından Pankreas Hücre Hattının SEM Mikroskop Görüntüsü.....	33
3.7. Akrep Zehri ile Muamelenin Ardından Fibroblast L929 Hücre Hattının SEM Mikroskop Altındaki Görüntüsü.....	33

KISALTMALAR DİZİNİ

<i>A.crassicauda</i>	<i>Androctonus crassicauda</i>
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
NDPS	Disülfid köprüsü içermeyen peptitler grubu
DBPS	Disülfid köprüsü içeren peptitler grubu
µm	Mikrometre
NA	Sodyum
K	Potasyum
Cl	Klor
AMP	Antimikrobiyal peptit
Capan 1	Pankreas hücre kültürü (ATC C® CCL185)
BmK AGAP	<i>Buthus Martensi Karsh</i> türüne özgü soydum kanal nörotoksini
CITx	Kalsiyum kanal toksini
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
EAG	Voltaj bağımlı potasyum kanalı
FBS	Fetal sığır serum
KTx	Potasyum kanal toksin
L929	Fare fibroblast hücre hattı
NaTx	Sodyum kanal toksini
PBS	Fosfat buffer tamponu

1. GİRİŞ

Tıp tarihinde yer alan bir grup hastalık var ki gerçek doğaları hala tam anlamı ile anlayamayan ve tatmin edici bir tedaviye sahip olamadığımız bu grup hastalıklardan biri olan kanser içinde durum böyledir. Kanser geçmişten günümüze kadar geçen süre zarfında insanları ve toplumları her zamankinden daha fazla tehdit etmektedir [1].

Hastalıklar tarihi incelendiğinde kanserin insanlarda ve hayvanlarda görülen en önemli sağlık problemlerinden biri olduğu görülmektedir. Yaygın ve her dönem için problem olan kanser ile ilgili en eski kayıtlara M.Ö. 3000 yılına ait olan kaynaklarda rastlanmaktadır [2]. Yukarıda belirtildiği gibi kanserli hastalar geçmişte de günümüzde de yaşam yılları açısından klinik, sosyal ve ekonomik olarak büyük bir yüküdür. Kansere yakalanan 0 - 74 yaşları arasındaki insanların oranı % 20'dir bu oran kadınlarda % 18,2 erkekler % 22,4'dır. 2018 yılında en sık görülen kanser türü akciğer kanseridir. Kanser dünyada bilinen ölüm nedenleri arasında 8,97 milyon ile ikinci sırada gelmektedir.

Kanserin 2060'lı yıllarda ise ilk ölüm nedeni olacağı düşünülmektedir. Yemek borusu, karaciğer ve pankreas kanserleri ölüm oranları en yüksek kanser türleridir bu kanser türleri için durum hiç iç açıcı değildir 5 yılda sağ kalım sadece % 20'dir [3]. Sağlık bakanlığı yürüttüğü çalışmalar ile Türkiye de yılda kanserin bin kişide görülme olasılığının tahminini olarak yüz binde yüzeli olduğunu varsayılmıştır. Bu veriler ışığında kanserin toplumu oluşturan tüm insanlar için ciddi bir sağlık problemi olduğu açıktır [4].

Kanser hücreleri mutasyonla oluşmakta ve doğal öldürücü mekanizmalar ile aynı oranda öldürülmektedir. Her ne sebeple olursa olsun kanser hücresi öldürücü mekanizmadan kurtulursa vücut organlarında çoğalmaya başlar ve aşırı hızlı bölünme özellikleriyle de organda tümörleşirler ve sağlıklı hücrelerden farklılaşmaları ile karakterize edilirler [5].

Kanser hücresi ile sağlıklı hücre arasındaki bazı farklılıklar;

- Kanserleşmiş hücreler kontrolsüz olarak çoğalmayı sağlamak için kendi sinyal sistemlerini oluştururlar.
- Sağlıklı hücreler yanındaki hücre ile fiziksel olarak temas ettiğinde bölünmeyi durdururlar, fakat kontrolden çıkan kanser hücresi yanındaki hücre ile fiziksel olarak temas etse bile bölünmeyi durdurmaz ve aktif olarak çoğalmaya devam eder.
- Kanser hücresi hızlı çoğaldığı için oksijen ve besine çok fazla ihtiyaç duyar bu ihtiyacı karşılamakta yetersiz kalan damar sistemlerine yeni damar sistemleri ekler ve bu damarlardan besin ve oksijen sağlamayı amaçlar.
- Kanserleşmiş hücreler telomerazın uzunluğunu sabitleyerek sonsuz bir biçimde durmadan çoğalabilirler.
- Kanserleşmiş hücre dolaşım sistemine katılarak bulunduğu noktadan daha uzak bir noktaya gidip burada da kanserleşmeyi sağlayabilmektedirler [2].

Kanser tedavisinde bazı yaklaşımlar kemoterapi, cerrahi, radyo terapidir.

Kemoterapi ilaçlarının (antineoplastitler) kanser tedavisindeki yeri ve amacı sağlıklı hücrelerin korunmasını sağlayarak tümör boyutunun küçülmesini sağlamak ve tümör hücrelerini yok etmektir [4]. Kemoterapi ilaçlarının çoğunun kanserli hücreye karşı ayırt ediciliği yoktur ve aktif olarak hızlı çoğalmakta olan hücrelerde de önemli hasarlara sebep olmaktadır [6]. Kemoterapi ilaçlarının kanserli hastayı tedavi etme oranı enfeksiyon ajanı bulaşmış hastayı ilaçlarla tedavi etme oranından oldukça azdır ayrıca kemoterapinin ilaçlarının yan etkileri de fazladır. Kemoterapi ilaçlarının yan etkilerinden biride bağışıklık sisteminin baskılanmasıdır bu durumda da enfeksiyon hastalıklarına yakalanma oranında artış meydana gelir.

Ayrıca mutasyona sebep olabilen etkileri ve karsinojenik etkileri de mevcuttur. Karsinojenik etki tedavinin geç yan etkisi olan ikincil kanser tanısı alma olasılığında da artışa neden olur.

Kemoterapi ilaçlarının;

- Düşük başarı oranı
- Yüksek nüks riski
- Zararlı yan etkileri mevcuttur [4].

Kanserin tedavisi, en az yan etkisi olan veya hiç olmayan biyolojik moleküller kullanılarak kemoterapiden biyoterapiye değiştirilmelidir. Kanser hücrelerini seçici

bir şekilde sağlıklı hücre popülasyonuna zarar vermeden kanserli hücreyi öldürme özeliğine sahip olan biyolojiklerin kanser tedavisinde tanımlanması ile biyoterapi uygulamalarının kemoterapi uygulamasını değiştireceği açık bir gerçektir [5]. Yeni ve etkili stratejilerin geliştirilmesi kanser tanısı ve tedavisi için son derece gereklidir. Alternatif yaklaşımlardan biri de akrep gibi zehirli hayvanların zehrinde bulunabilecek etkili peptitleri bulmak ve bu peptitleri üretmektir [7]. Kansere karşı özgül ilaç üretmek için peptitler iyi bir kaynak konumundadır. Zehir içeriğinde yer alan peptitlerin kanserde teşhisten tedaviye birçok çalışma alanı vardır. Peptitlerin küçük ve hücre zarından kolay geçmeleri de sentetik peptit üretimini akla getirmektedir. Zehirden izole edilen peptitler proteomik alanındaki ilerleme ve genomik yaklaşım ile antikanser ilaç üretimi için önemli bir kaynak konumundadır. Kanserle savaşta mızrağın başının akrep zehrinden elde edilen peptitler olabileceği açıktır. Tek bir akrep türü bile binlerce aktif peptit içermektedir [8]. Akrep zehir içeriği kanserli hücreyi sitotoksik aktivite göstererek etkilediği gibi hücre yüzeyindeki reseptörlerle veya iyon kanalları ile etkileşime girerek anti tümör etkide gösterebilirler. Peptit yapısına sahip zehirlerin içinde bulunan bileşiklerin bir etki mekanizması da kanser hücrelerini durdurmak için canlının bağışıklık sisteminin aktifleşmesini sağlayarak bağışıklık yanıtının oluşmasını sağlamaktır. Kansere karşı aşılama stratejilerinin geliştirilmesinde bağışıklık sistemi üzerinde zehrin oluşturduğu etkiler önem taşımaktadır [9].

Zehirli hayvanlardan elde edilen peptitlerinden başarılı ilaç örnekleri geliştirildi. Akrep zehir peptitleri nispeten küçük boyutlu oluşları ve zengin disülfid içermelerinden kaynaklı olarak dayanıklı olmaları ile ilaç adayları içinde üst sıralarda yer almaktadırlar.

Brezilya Engeriğinin zehir peptine dayalı *Captopril* hipertansiyonu tedavi etmek için kullanılmaktadır.

Glia kertenkelesi zehrinden elde edilen peptite dayalı *Exenatide* diyabeti tedavi etmek için kullanılmaktadır.

Koni salyangozu *Conus magus*'dan elde edilen *zikonotid* kronik ağrıyla tedavi etmek için kullanılmaktadır [10].

Zehir bileşenlerinin büyük çapta incelenmesi ve karakterizasyonu için yeni metotların ortaya çıkmasıyla, akrep zehirlerinde toksinlerle birlikte birçok başka

peptidin de mevcut olduğu ortaya çıktı. Bu peptitlerin birçoğu biyolojik olarak aktiftir ve birçok önemli hastalığın tedavisinde kullanılabilecek ilaçların geliştirilmesi için değerli kaynaklar olduğu kanıtlanmıştır [11].

Bu tez çalışmasının amacı: Ülkemiz sınırları içinde de bulunan ve büyük oranda akrep sokması ve zehirlenmesinden sorumlu olan akrep *Androctonus crassicauda*'nın zehrinin pankreas kanser hücre hattı üzerindeki biyolojik etkileri incelenmeye çalışılmıştır.

1.1. Zehirli Hayvanların Zehirleri

İnsanlık tarihi boyunca, zehirli hayvanlar insanlarda korku, hayranlık, ilgi uyandırmışlardır. Zehirli hayvanlar son zamanlarda birçok bilimsel çalışmanın konusu haline gelmişlerdir. Bu araştırmalar iki alana yoğun olarak odaklanmışlardır. Bu alanlardan ilki büyük ölçüde tıbbi çalışmaların yapıldığı kısım olmuştur epidemiyoloji, zehirlenme, toksikolojik etkiler klinik tedavi yoğun olarak incelenmiştir. Bu alanlardan ikincisi ise, daha çok zehrin tipik olarak çeşitli toksinlerden oluştuğunun anlaşılması ile oluşmuştur.

Zehrin spesifik güçlü fizyolojik olaylarda yapı fonksiyon ilişkileri toksin gelişimi ve zehrin ön planda tutulduğu zehir toksinlerinin moleküller yapıları üzerine birçok araştırma yapılmıştır (örn. Proteomik ve transkriptomik çalışmalar) [12].

1.2. Zehrin Kullanım Amaçları

Yukarıda anlatıldığı gibi zehrin genellikle avlanma ve savunmada işlev gördüğü kabul edilir [13]. Bazı literatür de zehrin kullanımına rekabet ek olarak ilave edilmiştir [14,15]. Hayvanlar zehri farklı işlevler içinde kullanmaktadırlar fakat her işlev için zehir aynı oranda kullanılmamaktadır. Hayvan ekolojilerinin evrimi ile farklı zehir işlevleri de ortaya çıkmıştır. Zehir hayvanlara birçok potansiyel fayda sağlamaktadır. Sonuç olarak, bu bölüm, hayvanlarda bulunan zehir işlevlerinin çeşitliliğini vurgulayacaktır çünkü bu, doğrudan zehirlerin evrimini yönlendiren seçim baskılarıyla ortaya çıkmıştır. Unutulmaması gereken önemli bir nokta, aşağıdaki işlevlerin birbirini engellememiş olmasıdır: Zehir, (bir işlev yine de ana evrimsel itici güç olabilir). Örneğin, yılan zehirlerinin evrimi, öncelikle avcılıkta kullanılması [16,17]. Zehrin genellikle kişi için yıkıcı sonuçlara yol açan çok etkili

bir anti-avcı savunma olarak kullanılmalarını engellemez [18, 19, 20]. Zehrin ana itici gücü dışında başka bir amaçla birlikte kullanılması örneğine ek olarak, bazı hayvanlar özellikle koni salyangozları gibi ayrı yırtıcı ve savunma bileşenleri içeren "çift amaçlı" bir zehir sistemleri geliştirmişlerdir [21].

1.2.1. Predasyon (Avlanma)

Zehirlerin evriminde muhtemelen avlanma fonksiyonu en yaygın kullanılan birincil itici gücüdür [14]. Aynı zamanda yılanlar, örümcekler ve akrepler gibi daha iyi bilinen zehirli hayvanların çoğunda zehrin ana işlevidir. Bununla birlikte, zehirlerin avlanmaya yardım etmek için kullanılabileceği çeşitli yollar vardır. En dolaysız olanı aynı zamanda en bariz olanı zehirli avcının avını yemesine izin vermek için aciz, zayıf bırakmaktır. Buradaki işlevin avı etkisiz hale getirmek olduğunu, ille de öldürmek olmadığını unutmayın. Avı öldürmek, genellikle güçsüzlükten daha fazla zehir gerektirir; zehrin üretilmesi enerjik olarak pahalı olduğu için ve güçsüzleştirilmiş av, tüketim için öldürülen av kadar yararlı olduğundan evrim tarafından tercih edilme olasılığı düşüktür. Bu, standart bir yırtıcı taktik olarak avı öldürmenin yaygın olmadığı anlamına gelmez, aslında birçok iş göremezlik mekanizmasının daha fazla zamanla öldürebileceği, ancak öldürmenin avcının zehir işlevlerinin önemli bir parçası olmadığı anlamına gelmez [22, 23].

Avda tipik olarak iki ana semptom sınıfına neden olan birçok yırtıcı zehrin toksikolojik etkilerine yansır:

- Sinir hareketine müdahale ederek felce (ve genellikle daha sonra ölüme) neden olmak ve kan ve kan damarlarını değiştirmek kan kaybına ve buna bağlı şoka neden olur.

Örneğin, uzman karınca örümcekler (*Zodarion*) yemekten önce avı gerçekten öldürmeye gerek kalmadan felç edici zehir kullanarak daha fazla avı avlayabilirler [24]. Ayrıca, Komodo monitörünün (*Varanus komodoensis*), kıvrık, tırtıklı derin bir yara verdiğini gösterdi. Dişler ve zehrini, şokun başlangıcı yoluyla avda hızla bilinç kaybına neden olmak için kullanır. Aynı yazarlar, nesli tükenmiş *Varanus priscus*'un muhtemelen benzer bir strateji kullandığını öne sürdüler [25].

Zehrin bir başka etkisinin de proteolitik toksinlerin yardımı ile av tüketilirken sindirimin hızını artırmaya yardımcı olduğu düşünülmektedir. Bu durum nispeten daha yüksek proteolitik aktivitelere sahip engerek yılanlarda tartışılır. *Crotalus atrox*

çingiraklı yılanı ile yapılan çalışmada zehrin sindirim performansı üzerindeki işlevine bakıldı ve sonuçta sindirim üzerine bir etki bulunamadı. Ancak McCue (2007), Thomas ve Pough'da (1979) araştırmacılar daha yüksek sıcaklıklarda (25-30 C) deneyler gerçekleştirdi. Zehrin daha düşük sıcaklıklarda önemli olduğunu buldular (15 C). [26]. Bu, *Andrallus spinidens* böcekleri gibi bazı diğer türlerin zehrinin sağladığı gelişmiş sindirim verimliliğine dair bazı kanıtlarla birleştiğinde, böyle bir işlevin çalışılan taksonlarda tamamen göz ardı edilemeyeceğini göstermektedir ve kesinlikle çoğu zehirli hayvanda iyi çalışılmamış makul bir işlevdir [27].

Parazitlik hayvanlarda zehrin başka bir işlevi daha vardır keneler, vampirler yarasalar gibi kanla beslenen hayvanlar antikogulan zehirler üretirler. Böylece kan akışını koruyarak daha uzun süre beslenme sağlanır [28, 29].

Ayrıca parazitlerde diğer zehirli hayvanlardan daha ilginç bir durum söz konusudur avlanma zehri enjekte eden organizma tarafında değil daha sonraki tarihte yavruları tarafından yapılır. Asobara parazitoid eşekarısı arılarında zehir, yaban arısı tarafından yumurtlama sırasında konağı felç edip onu öldürmeden önce felç eder sonraki tarih yumurtadan çıktıklarında larvalar için sabit ve depolanabilir bir besin kaynağı sağlanmaktadır [30]. Parazitoid yaban arısı *Nasonia vitripennis* üzerinde daha ayrıntılı transkriptomik çalışma, bu türün zehrinin konakta gen ekspresyonunda çeşitli değişiklikleri indüklediğini ortaya çıkarmıştır [31]. Bu eşek arısının zehri, konağın gelişimsel tutukluğa girmesine neden olur ve ayrıca, larvalar yumurtadan çıkıp konağı tüketene kadar (canlı fakat hareketsiz) konağın bozulmasını önlemeye yardımcı olan bazı antimikrobiyal peptitleri düzenler.

1.2.2. Savunma

Zehirlerin avlanma dışında savunmada özellikle de antipredatör savunması için kullanması en yaygın ve birincil işlevidir. Zehirleme potansiyeli olan zehirli hayvanlardan yılanlar zehrin asıl rolü avcılık olsa bile zehirlerini savunmada da kullanacaklardır. Bazı zehirli hayvanlar zehirlerini öncelikle olarak savunmada kullanacaklardır örneğin deniz kestanesi, arılar, tüküren kobra gibi.

Zehirlerin işlevsel amaçları çeşitliliğine rağmen, savunma ve avcılıkta kullanılan zehirler karşılaştırıldığında savunmada kullanılan zehirler için birkaç genelleme yapılabilmektedir. İlk olarak savunma için kullanılan zehirler avcılıkta kullanılan zehirler göre daha basit olma eğilimindedir [14]. İkicisi ise savunma zehirleri tüküren

kobralar gibi veya belirli akrepler gibi püskürtülen zehrin uzaktan da etkili olarak kullanılana bilmesidir [32].

Bu tür zehirler avcıdan uzak durumdayken bile kendini savunmayı sağlar, ama dış yüzeyler (çoğunlukla gözler veya mukoza zarlarına) temas edebilen kimyasal etkileşim gerektirir.

Üçüncü olarak savunmada kullanılan zehirlerin hızlı bir biçimde etki eden toksinler içermesi muhtemeldir. Sinir sistemi üzerindeki tahribat ile oluşan etkiye bağlı olarak yırtıcının eylemlerindeki gecikme hayvanı öldürmede yeterli zamanı sağlar.

Sonuç olarak: Bir savunma zehri nöromusküler reseptörleri bloke ederek hızlı bir şekilde felce neden olan veya ağrı reseptörlerini hedef alarak anlık ve yoğun ağrıya neden olan toksinler içerir [33, 21, 34, 35].

Zehirler antipredatör savunması için çok önemlidir. Bazı zehirlerin bir başka önemli işlevi de bağışıklık ve antiparazitik savunmada ki rolleridir.

Örneğin hymenopteranlarda zehir diğer bireylerin kütüküllerine ve yuva peteklerine yayılır böylece zehrin içeriğinde bulunan antimikrobiyal peptitler yoluyla enfeksiyonların prevalansında azalma gerçekleşir [36]. Mantarla enfekte olan grup arkadaşlarına aktif olarak zehir uygularlar ve bu da mantarı ortadan kaldırmaya yardımcı olur [37].

1.2.3. Türler Arası Rekabet

Çok az zehrin tür içi rekabetçi etkileşimlerde belirgin bir işlevi var gibi görünmektedir, ancak bu, birkaç memeli türünde, yani ornitorenk (*Ornithorhynchus anatinus*) ve yavaş loris türlerinde (*Nycticebus*) bilinmektedir. Bu grupların her ikisinin de zehirlerini savunmada ve muhtemelen başka işlevlerde kullanmaları, ancak yine de büyük ölçüde rekabet için zehir kullanmaları dikkat çekicidir. Ornitorenk zehri bezleri, erkeklerde üreme mevsimi boyunca boyut olarak artar ve envenomasyonlardan kaynaklanan yara izleri genellikle erkeklerde bulunur; her ikisi de, zehirlerinin evriminde itici bir güç olarak dişiler için cinsel rekabetin baskın olduğunu vurgulamaktadır [38]. Echidnas (*Tachyglossus* ve *Zaglossus*) Bir zamanlar aynı zamanda zehirli olduğu ve gerçekten de ornitorenke benzer bezlere sahip olduğu düşünülmüyordu, ancak "zehir" sistemi oldukça dejenere olmuş ve salgılar artık koku iletişiminde çalışıyor gibi görünüyor zehirden ziyade üreme mevsimi

kullanılmaktadır [39]. Yavaş loris zehri, ısırık yaralarının vahşi doğadaki sıklığına, düzenine ve sonuçlarına bağlı olarak tür içi rekabette de kullanılıyor gibi görünmektedir lorises ve esaret altındaki gözlemler [40].

1.2.4. Üreme

Hadogenes cinsi akrelerde diğer akrelerden potansiyel olarak farklı bir özellik dikkat çekmektedir. Bu akrelerde zehrin benzersiz bir işlevi daha bulunmaktadır. Bu türler zehri avlanma (pedipalplerine güvenerek) veya savunmada kullanmak konusunda son derece isteksizdir, ancak kur sırasında erkekler, yatıştırıcı ve belki de afrodisyak etkiler yaratıyor gibi görünen yan taraftaki dişileri sokacaktır.

Diğer akrelerin zaman zaman kur yapma sırasında battığı görülmüştür, ancak benzer davranışsal tepkiler gözlenmemiştir ve Hadogenes ayrıca erkeklerin bu davranışı kolaylaştıran çok daha uzun kuyruklara sahip olduğu belirgin cinsel dimorfizme sahiptir. Bu nedenle, Hadogenes, cinsel seçilim (zehir aparatının cinsel dimorfizmi dahil), toksin çalışmaları için ilginç bir cinsi temsil eder.

Evrim ve potansiyel olarak yeni farmasötik ilaçların kaynağıdır, çünkü benzersiz işlev benzersiz toksinlerle ilişkilendirilebilir. Bununla birlikte, cinsin zehri son derece yetersiz çalışılmıştır ve ayrıntılar hakkında neredeyse hiçbir şey bilinmemektedir [41].

1.3. Akrep Zehirleri

Halk sağlığı verilerine göre, dünya çapında her yıl 2.000-3.000 ölümlü sonuçlanan yaklaşık 1,5 milyon akrep zehirlenmesi kaydedilmektedir [42,43]. Kuzey Yarımküre'deki Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Avrupa ve Rusya gibi büyük bölgeler ve Güney Yarımküre'deki Avustralya gibi büyük bölgeler şiddetli akrep zehirlenmeleri görülmez [44]. Afrika'da iki milyardan fazla insan yaşamaktadır, Güney Afrika, Yakın ve Orta Doğu, güney Hindistan, doğu And Dağları, Meksika ve Güney Amerika bölgeleri ise akrepler tarafından sokulma riski yüksektir [42]. İklim değişikliği, kentsel genişleme ve bu alanların çoğunda yetersiz şehir temizliği, hijyen yönetimi ile birlikte akreplerle karşılaşma olasılığı artmıştır. Örneğin, sadece Brezilya'da, akreplerle ilgili ölümcül vakalar, 2012'den bu yana yıllık 64.000'den 124.000'e neredeyse iki katına çıkmıştır [45].

Bugüne kadar 2.000'den fazla akrep türü tanımlanmıştır. İnsanlar için tehlikeli olan akrep türlerinin büyük çoğunluğu Buthidae familyasına aittir [46]. Ancak Scorpionidae ve Hemiscorpiidae familyalarındaki bazı türler de tehlikeli olarak sınıflandırılmıştır [47,48]. Tıbben önemli olan bu türlerin çoğunun coğrafi dağılımları, lokal olarak akrelerin yaygınlığı ile ilişkilidir. Bu nedenle, tehlikeli türlerin yoğunluğu özellikle Kuzey Afrika, İran, Suudi Arabistan, Brezilya, Meksika ve Venezuela'da yüksektir [44, 49, 50].

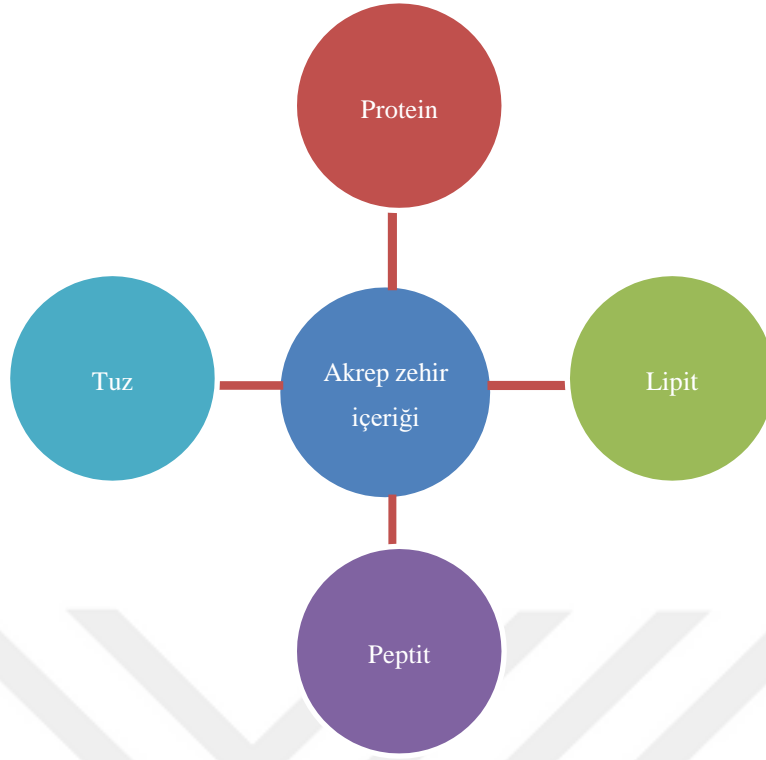
Lokal ağrı, genellikle bir sokma meydana geldikten birkaç dakika sonra ortaya çıkabilen akrep zehirlenmesinin ilk belirtisidir. Akrep türüne bağlı olarak semptomlar, birkaç saat içinde ciddi komplikasyonlara ilerleyebilir.

Akrep zehri nörotoksinleri, büyük miktarda nörotransmitter salınımına neden olarak genellikle terleme, bulantı, kusma, hipersalivasyon, huzursuzluk ve daha ciddi vakalarda aritmi, bilinç kaybı ve ölüme yol açabilen kalp yetmezliğine neden olur [51].

1.3.1. Akrep Zehrinin Bileşenleri

Akrepler kendilerini savunmak ya da avlarını yakalamak için zehir üretirler. Akrep zehir içeriği karmaşık bir tuz karışımıdır zehir içeriği incelendiğinde nükleotitler, lipitler, nörotoksinler, peptitler ve proteinler içermektedir. Akrep zehirlerinin içeriği genel olarak Şekil 1.1.'de gösterilmiştir. Peptitler farmakolojik etkileri kaynaklı en çok çalışılan akrep bileşenleri olmaktadır [52].

Akrep zehir içeriğinde bulunan nükleotit, protein, peptit, nörotoksin, lipitler türden türe göre yoğunluk bakımından farklılık göstermektedir. Akreplerin yaşı, fizyolojisi, beslenme durumu gibi faktörler de akrep zehir toksitesini belirler. Akreplerin yaşam koşullarında yapılan değişiklik zehir toksite ve bileşimini değiştirir. Akreplerin karnı uyarıldığında salgıladığı zehir ile daha büyük uyaran uyarıldığında salgıladığı zehir arasında farklar vardır. Karnı uyarıldığında daha şeffaf ve daha az toksik zehir verir bu zehir ön zehirdir içeriğinde tuzlar ve çeşitli kimyasal ve fiziksel içeriği ile farklıdır [53].



Şekil 1.1. Akrep zehir içeriği

Akrep zehirleri temel de peptitlerin rol oynadığı çeşitli farmakolojik özelliklere sahip biyoaktif bileşenlerin karmaşık karışımlarını içerir. Akrep zehirleri hücrelerin iyon kanallarını bloke eden ya da değiştiren yüksek affiniteye sahip 100'den fazla peptit bileşeni içerebilir [54].

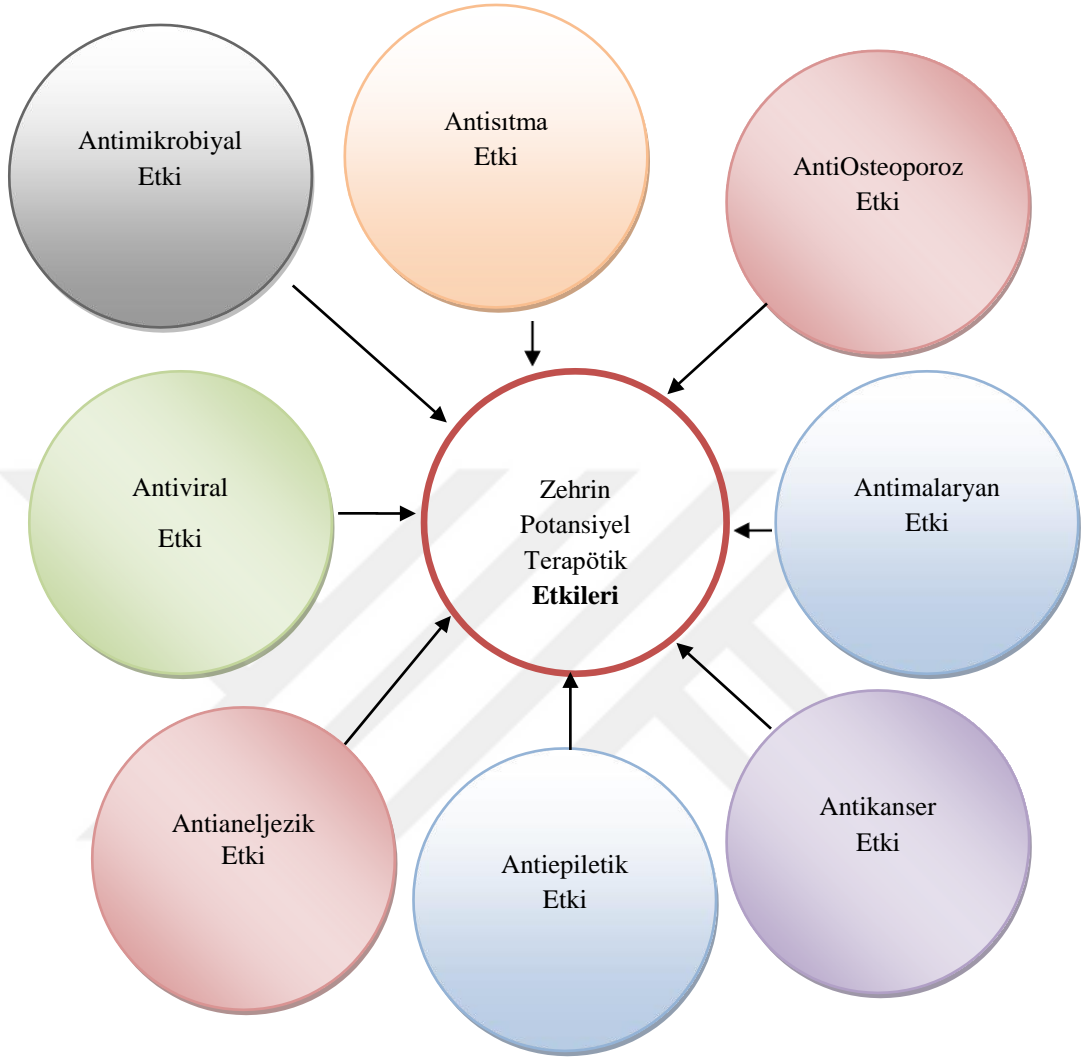
1. Disülfid köprüsü içermeyen peptitler grubu (NDPS)
2. Disülfid köprüsü içeren peptitler grubu (DBPS)

(NDPS) disülfür köprüsü içermeyen peptitler iyon kanallarını tanıyabilir ve özel olarak Sodyum (Na), Potasyum (K), Klor (Cl) kanallarının aktivitesini bloke eden ya da değiştire bilen peptitlerdir [55]. Akrep zehirlenmesi sırasında nörotoksik etkilerden sorumlu akrep zehir bileşenidir.

1.4. Akrep Zehirlerinin Tedavi Amaçlı Kullanımı

Biyomedikal bilimdeki ilerlemeler ile birlikte akrep zehrinde bulunan peptitleri farmasötik kullanıma uygun hale getirme çabaları devam etmektedir. Peptitler ile yapılan çalışmalar ile tıp biliminde özellikle de ilaç geliştirmede canlanma

sağlanabilmektedir [5]. Peptitler ile yapılan çalışmalardan bazıları şekil 1.2. de akrep zehrin potansiyel terapötik etkileri belirli başlık altında toplanmıştır.



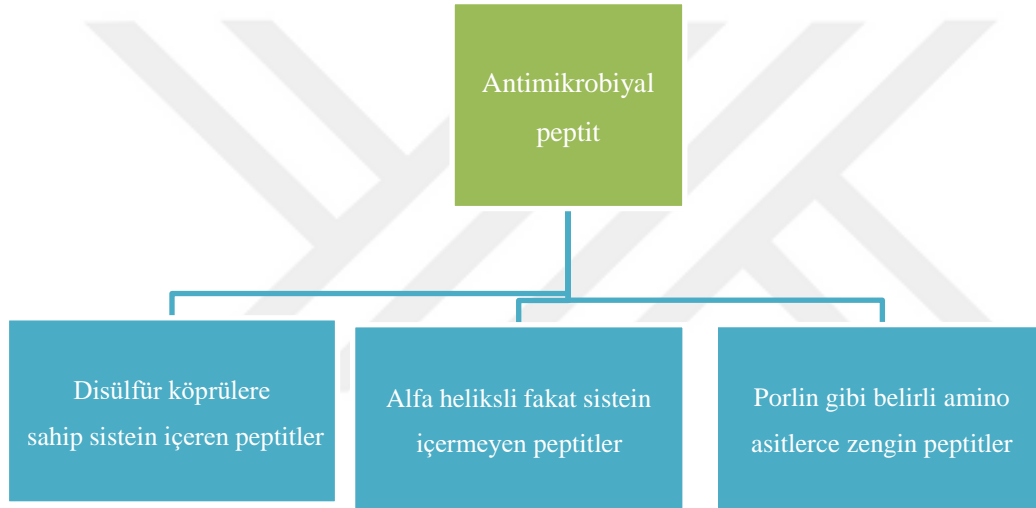
Şekil 1.2. Akrep zehrin potansiyel terapötik etkileri (Shrin vd., 2020)

1.4.1. Antimikrobiyal Etki

Son yıllarda bilim insanları akrep zehrin de bulunan peptitlerin antimikrobiyal potansiyellerini terapötik olarak kullanmaya çalışmaktadırlar. Araştırmacılar akrep zehrinde bulunan ve antimikrobiyal etki gösterdiği düşünülen antimikrobiyal peptit (AMP) üzerine yoğunlaşmışlardır.

Mevcut durum da antibiyotik dirençli bakteri şuşları küresel bir sağlık sorunudur. Antibiyotiklerin uzun vade kullanımı ile birlikte belirli antibiyotik grubuna dirençli şuşlar gelişmektedir.

Yeni ve etkili antimikrobiyal arayışı vardır. Amp'ler başarılı bir biçimde bakterilerin hücre membranlarının da gözenekler oluşturarak bakterileri öldürürler. *Androctonus crassicauda* akrep ile yapılan çalışmada *A. crassicauda* zehrinin gram negatif bakterilerin çoğalma ve öldürme üzerinde gram pozitif bakterilere göre daha fazla etkili olduğu ortaya çıktı [56]. Antimikrobiyal peptitler (AMP)'ler direkt olarak mikropların direkt olarak membran yapısını bozdukları için mikroplar direnç gösteremezler, antimikrobiyal peptitler (AMP)'lerin akrep zehir bezinde bakteri ve diğer toksinlere karşı bazı koruma özelliği de vardır [57]. Antimikrobiyal peptitlerin sınıflandırılması Şekil 1.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Antimikrobiyal peptitlerin sınıflandırılması (Harrison vd., 2014)

1.4. 2. Antisıtma Etki

Sıtma hastalığı sivrisinekler yolu ile bulaşan *plasmod'* umun neden olduğu parazitsel bir hastalıktır. Sıtma endemik olarak bilinen bir hastalık olmakla birlikte yüzlerce tropik ülkede görülmektedir. Sıtma hastalığı 2000 yıla kadar ölüm oranları azalan bir hastalık olarak bilinmekteydi.

Yapılan çalışmada akrep zehri peptit olan NDBP den elde edilen meucin 24 ve meucin 25 peptitleri hiçbir toksite olmaksızın ve seçici olarak *plasmod falciparuma* karşı beklenen etkiyi gösterdi. Çizelge 1.1.'de antisıtma etki ve terapötik rolü gösterilmeye çalışılmıştır [56].

Çizelge 1.1. Antisıtma peptitlerin terapötik rolü (Uzair vd.2018)

Anti sıtma peptit	Akrep türü	Terapötik rolü
Mecuin 24	<i>Mesobuthus eupeus</i>	Sıtmayı inhibe edici etki
Mecuin 25	<i>Mesobuthus eupeus</i>	Sıtmayı inhibe edici etki

1.4.3. Antiosteoporoz Etki

Akrep zehri ile yapılan çalışmalardan birinde akrep *heterometrus bengalensis*in zehri kullanıldı bu çalışmada yumurtalıkları alınan sıçana zehir verildi ardından sıçan da değişiklikler kaydedildi sıçanın kemiklerin de anlamlı derecede mineral yoğunluğu artışı tespit edildi. Kızıl derili akrep zehrinin de osteoporoz ağrılarını hafiflettiği dolayısıyla anti artirit faaliyetlerin doğrulanmasına ve artiritit durumunda değişikliğe yol açtığı kayıt edilmiştir [56].

1.4.4. Antiviral Etki

Ortaya çıkan viral hastalıklar küresel olarak ölümlerin ve hayat standartlarının düşmesine yönelik büyük tehdit oluşturmaktadır. Patojenleri ortadan kaldırmak için bir dizi yöntem denmektedir.

Aşılama da patojenler ile savaşta etkili bir yöntemdir fakat aşı bulunmayan patojenler hala tehdit durumundadır. Böylece viral enfeksiyonları yönetmek için minimal yan etki ve virüsler üzerinde maksimum öldürme gücüne sahip terapötik ajanlara ihtiyaç vardır. Bu ajanlardan biri olduğu düşünülen akrep zehir peptitlerinin antiviral etki çalışmaları devam etmektedir. Uzair ve arkadaşlarının (2018) yaptığı çalışmada antiviral aktivite ve antiviral peptitler çizelge 1.2.'de gösterilmiştir [56].

Çizelge 1.2. Antiviral aktivite ve antiviral peptitler (Uzair vd., 2018)

Antiviral peptit	Antiviral aktivitesi
Cationicalpha particles	Antiviral ilaç geliştirilebilir
HP1090	Viral partiküler ile etkileşim

1.4.5. Antiagrı Kesici Etki

Anti analjezikler iki grupta toplanabilir: Steroid ve opioidler. Çeşitli ağrı durumlarında etkili olmalarına rağmen spesifik olmayan yan etkileri ve yüksek bağımlılık geliştirilebilir olmaları sebebiyle klinik olarak daha etkili ve daha az yan etkili analjeziklere ihtiyaç vardır. Çok sayıda kanıt ağrının nikotinic asetilkolin reseptörlerinin antagonistlerinin beyin sapında bulunan ağrı yollarını aktive etmesi ile oluştuğunu göstermektedir.

Doğu Asya da yaygın olarak bulunan akrep *Buthus mantensii* Karch zehrinden elde edilen peptit bmk as1 böcekler ve fareler üzerinde hiperalajesi (uyarılmış ağrı) periferik ağrı (periferik sinirlerin zarar görmesi ile oluşan ağrı) üzerinde anti analjezik etki göstermiştir. Çizelge 1.3. de akrep zehir peptitlerinin bazılarının analjezik etkileri gösterilmiştir [57].

Çizelge 1.3. Akrep zehir peptitlerinden bazılarının analjezik etkileri (Rajendra vd., 2004)

Peptitin Kaynağı	Peptitin Adı	Aktivitesi
Akrep	BmK AS1	Güçlü anti nonsisepatif (baş, bel, eklem ağrısı) analjezik
Akrep	BmK ITAP	Böcek toksini ve analjezik
Akrep	Bmk AGAP	Anti tümör ve analjezik etkili

1.4.6. Antiepileptik Etki

Epilepsi kadın, erkek, çocuk, bebekleri etkileyebilen ve nörogelişimsel hastalık grubuna dahil edilen bir hastalıktır. Epilepsi normal süreçten farklı olarak ani nöron ateşlenmesi ile ortaya çıkmakta ve hastanın beyinin de geçici olarak beyin işlev bozukluklarına sebep olmaktadır. Nöbet geçirme ile karakterize edilen epilepsi nöbet sıklığındaki artışa bağlı olarak bilişsel bozukluklar ve hatta ölüm ile sonuçlanabilir. Epilepsi nüfusun yaklaşık % 0,5 ile % 1 etkileyebilmektedir. Tıp bilimindeki ilerlemelerin sonucu olarak Antiepileptik ilaç sayısında artış meydana gelmesine rağmen epilepsi hastalarının 3 'de 1 hala nöbet geçirmektedir. Antiepileptik ilaçların amacı epilepsi hastalarının nöbetlerini kontrol altına almak ve nöbet sonuncunda görülen etkileri en aza indirmek ve hastaların günlük yaşantısına aktif olarak devam etmesini sağlamaktır. Anti epilepsi ilaçları ilaca dirençli epilepsi hastaları için nöbetleri kontrol altına almakta yetersiz kalmaktadır.

İlaça dirençli epilepsi hastaları % 30 civarındadır ve hayli yüksek bir oranla tedavi edilmeyi beklemektedirler. Ayrıca epileptik ilaçların ciddi yan etkileride vardır.

Çin halk tıbbında epilepsili hastalar spazmolit (akrep ve kırkayak karışımı) bileşimi ile tedavi edilmekte ve bu tedavi ile hastalar olağanüstü bir biçimde iyileşmişlerdir [59].

Sıçanlar üzerinde yapılan deney ile akrep zehirinin anti epileptik etkisi araştırılmaya çalışılmıştır. BkM AEP (akrep mançur) zehrinden elde edilen bir nöro toksin yaklaşık 190 ile 210 gramlık *Sprague dawley* cinsi sıçanı rast gele iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu 9 sıçan ve test grubu 8 sıçan olarak belirlendi. Sıçanlara elektrokortigram kaydı için iki elektrot ve ilaç enjeksiyonu için her sıçanın kafatasına ameliyat ile tüp yerleştirildi. Test grubu sıçanlarına 0,057 mg BMK AEP kontrol grubuna ise %0,09'luk NACI enjekte edildi. Enfeksiyonu önlemek için de antibiyotik başlandı. Sıçanların davranışları dikkatle gözlemlendi ve nöbetlerin süresi ve derecesi elektrogramlar ile kayıt altına alındı ve çalışmadan bazı bilgiler çizelge 1.4. de verildi [60].

Çizelge 1.4.Akrep zehrinin sıçanlarda epilepsi nöbetleri üzerine etkisi (Wang vd., 2001)

Grup	Sıçan sayısı	Doz	Nöbet oranı	Gizli Dönem (dk)	Nöbet süresi (dk)
Kontrol	9	% 0,9 NaCl	100	10.22 ± 1.39	2.25 ± 0.2
Deney	8	BmK AEP (0,057 µg·g ⁻¹)	50	40.00 ± 10.33	1.06 ± 0.29

1.5. Kanserde İyon Kanalları ve Terapotik Akrep Zehirleri

1.5.1. Potasyum K⁺ Kanalları

Potasyum K⁺ kanalları nörotransmitter salınımı, nöral uyarı, hücre içi pH düzenlenmesi, hücre çoğalması, sinyal iletimi gibi bazı hayatı konuları düzenlerler [61].

Kanserli hücrelere antitümöral etki gösteren bir mekanizmada zehirli hayvanların zehirlerin içeriğinde bulunan zehir bileşenleri ile kanserleşmiş hücrelerin yüzeyinde bulunan protein yapıdaki iyon kanalları ile zehrin etkileşmesidir. Kanserleşmiş olgularda Seçici olarak K⁺ kanalının işlevini önleyen bileşikler terapötik olabilirler. hERG geni tarafından aşırı miktarda uyarılan K⁺ kanalları birbirinden farklı tümör yapılarında da ortaya çıkmaktadır. hERG geni tarafından aşırı olarak uyarılan K⁺ kanallarını seçici olarak bloke edici ajanlar birçok kanser türü için terapötikolarak kabul edilebilirler. Herg geni ilişkili K⁺ kanalını seçici olarak bloke eden akrep zehri kaynaklı ErgTX ve BeKM iyi bir terapötik kaynak konumundadır. Bir diğer kanal olan voltaj bağımlı K⁺ kanalları (EAG) da hücrenin hem yaşam döngüsünde hemde onkolojik faaliyetlerinde görev alır. Her iki kanalda sağlıklı yaşamda sadece beyin dokusunda ve miktarı sınırlanmış olarak bulunurlar ancak malign transformasyon (genetik olarak değişikliğe uğramış primer kanser hücresi) oluşması durumunda voltaj bağımlı K⁺ kanalının artık beyin dokusu dışında da eksprese edildiği görülür. Böylece bu kanalların sayısal olarak bir artış meydana gelir bu

artışın neticesinde hücrelerin çoğalmalarında farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Artık sağlıklı hücrelerden farklı olarak diğer hücreler ile fiziksel olarak temas etse bile çoğalmayan devam eden ayrıca büyüme faktörüne olan bağımlılıklarını yitirmelerine neden olur [62].

Sonuç olarak voltaj bağımlı K⁺ kanallarının farklı habis tümöral kütlelerde aşırı miktarda eksprese olduğu ancak zehir bileşeni ile K⁺ kanalları inhibe edildiğinde DNA sentezi ve hücre çoğalması yavaşlamıştır.





2.MATERYAL VE METOT

2.1. Akrelerin Toplanması Ve Sağıma Hazır Hale Getirilmesi

Bu çalışmada akrep *Androctonus crassicauda* 12 adet dişi 12 adet erkek olmak üzere araziden canlı olarak toplanmış ardından hızlı bir şekilde laboratuvara getirilerek belirli saat aralıkları ve belirli sayıdaki un kurdu ile beslenmiştir. Zehir sağımına hazır olan akrepler Elektrositimülasyon tekniği ile sağılmıştır. Zehir sağım işleminin hemen ardından sağılan zehir uygun koşullarda saklanmıştır.

2.2. Akrelerden Elektrositimülasyon Tekniği ile Zehir Eldesi

Laboratuvarda bakımı ve beslenmesi yapılan canlı akreplerin zehir sağımından beş gün önce zehir sağımı için beslenmesi kesildi. Akrelerden zehir sağımı için elektrositimülasyon tekniği kullanıldı. Elektrositimülasyon tekniği, ile zehir eldesi: bir kişi pens yardımı ile akrebin kuyruk kısmından akrebe zarar vermeden akrebi sabitledi % 0,9'luk tuz çözeltisi ile ıslatılmış elektrotları (12V'luk elektrik akım) akrebin sefalotoraksına dokundurdu. Elektrik ile uyarılan akrep zehir vermeye başladı verilen zehir mikro pipet yardımı ile toplandı. Bu işlem her bir akrep için on beş günde bir tekrarlandı. Alınan zehir tüpler için de -20 derecede dondurucuda deneyler de kullanılana kadar bekletildi.

2.3. Hücre Kültürü

Çalışmamızda, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Uygulamalar ve Araştırmalar Merkezi (KÜBTUAM) Hücre Kültür Koleksiyonuna ait pankreas hücre kültürü (ATCC® CCL-185) ve normal fibroblast L929 hücre serisi kullanıldı. Hücrelerin üretildiği besiyeri DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) içeren şişelere, L-glutamin, % 10 FCS ve % 1 antibiyotik (penisilin-streptomisin) ilave edilerek hazırlandı ve hücrelerin yerleştirildiği şişeler 37°C'de % 5 CO₂ ile ortamında CO₂ inkübatöründe 48 saat süreyle inkübe edildi.

2.4.Kullanılan Malzemeler

Kullanılan Kimyasallar

- % 0,9'luk tuz çözeltisi
- Pankreas hücre kültürü (ATC C® CCL-185) adonokarsinom (capan 1)
- Normal fibroblast L929 hücre hattı
- Hücrelerin üretildiği besiyeri DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium
- % 10 L-glutamin
- % 1 antibiyotik (penisilin-streptomisin)
- MTT solventi (izo propanol)
- Hoechst boyası 33342
- Pbs (fosfat tamponlu tuz çözeltisi)
- Azalan oranda alkol
- FBS (Fetal sığır serumu)
- Propodium İodide
- Hemotoksilen boya
- Eozin boya

Kullanılan Cihazlar

- Spectro star nano marka/model mikro plaka okuyucu
- Leica DMI6000B marka/model inverted mikroskop
- İnvitrogen marka/model hücre sayım cihazı
- Nuve nf 400 marka/model santrifüj
- Testo 662marka/model sıcaklık ve nem sensörü
- Bınder marka/model CO₂ İnkübatör.
- Elisa plate okuyucu
- Floresan mikroskop
- Esco Classil BSC marka/model Lamina flow kabin
- Kırıkkale Üniversitesi Elektron Mikroskop Laboratuvarında JEOLJSM 5600 marka/model taramalı elektron mikroskop
- Sem için lamalar Polaron SC 500 kaplama marka/model cihazı kullanılarak kaplandı.
- Kullanılan Flaster, tüpler, pipetler



Şekil 2.1. İnvitrogen marka /model hücre sayım cihazı



Şekil 2.2. Esco classil marka/model lamina flow kabin



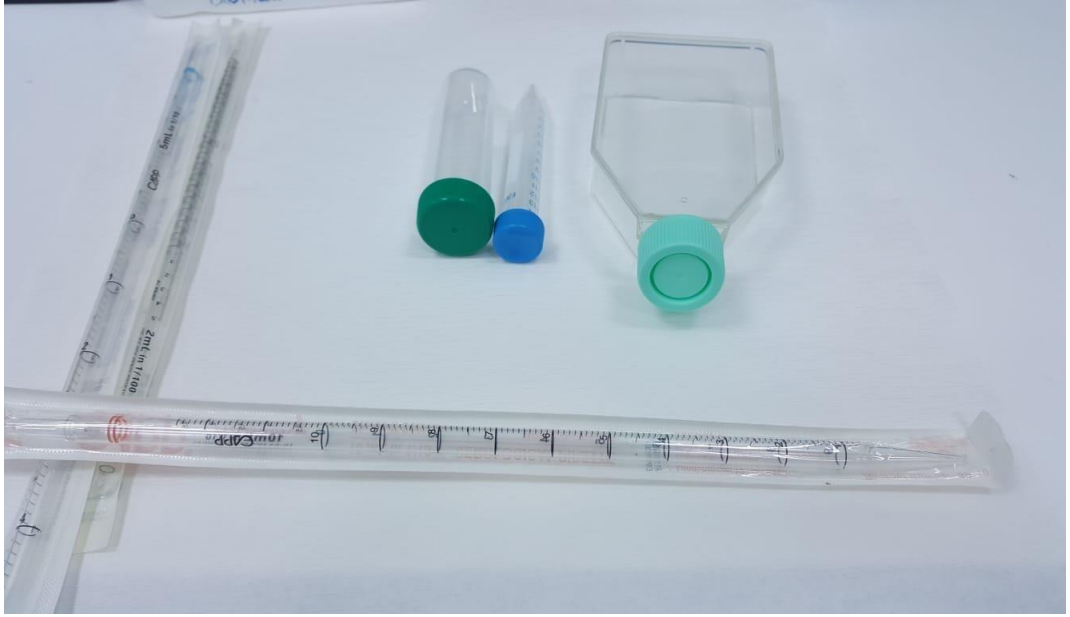
Şekil 2.3. Binder marka/model C02 inkübatör



Şekil 2.4. Nuve marka/model santrifüj



Şekil 2.5. Spectro star nano marka/model mikro plaka okuyucu



Şekil 2.6. Flaaster tüpler cam pipetler



Şekil 2.7. Jeoljm 5600 marka/model taramalı elektron mikroskop



Şekil 2.8. Kırıkkale üniversitesi 5600 marka/model taramalı elektron mikroskopunun görüntüsü

2.5. Yapılan Sitotoksite Testler

- İkili Boyama Testi
- MTT Testi
- Hemotoksilen -Eozin Testi
- Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Testi

2.5.1. MTT Testi Protokolü

Fibroblast (L929) ve pankreas kanser hücreleri 48 kuyucuklu platlere her bir kuyucuğa 5.000 hücre olacak şekilde ekildi. Hücreler 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. A. crassicauda ham zehir örnekleri uygulanıp, 24 saat inkübe edildi. Örnekler 2 tekrarlı olarak çalışıldı. Kontrol grubuna sadece besiyeri kullanıldı. 24 saat sonunda kuyucuklardaki vasatlar atılarak her kuyucuğa 50 µl MTT çözeltisi ilave edildi.

MTT çözeltisinin ışıktan etkilenmemesi adına ışsız ortamda çalışıldı. Plate inkübatöre alınmadan öncede alüminyum folya ile sarıldı. 37°C'de 2 saat inkübasyondan sonra kuyucuklara 100 µl MTT solventi (izopropanol) eklenerek çalkalandı ELISA plate okuyucuda 570 nm'de okutuldu. Kontrol grupları baz alınarak % canlılık hesaplandı.

2.5.2. İkili Boyama Yöntemi Test Protokolü

Pankreas hücre hattı ve fibroblast (L929) hücreleri L-glutamin, % 10 FCS ve % 1 antibiyotikli DMEM içeren 96 adet kuyucuklu platlere her bir kuyucuğa 5.000 hücre olacak şekilde ekildi. Hücreler 37°C'de % 5 CO₂ ile ortamında CO₂ inkübatöründe 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Hücreler platlerin tabanına tutunduktan sonra önceden farklı dozlarını hazırladığımız akrep ham zehir örnekleri uygulanıp, tekrar aynı şartlarda 24 saat inkübe edildi. Kontrol grubu hücreleri sadece hücre kültürü medyumu ile muamele edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki medyum boşaltıldı ve her kuyucuğa 50 µl ikili çalışma solüsyonu (Hoechst boyası 33342 (2 mg/ml), PI (2 µg / ml) ve DNase içermeyen RNase (100 µg/ml) solüsyonu eklendi, 96 kuyucuklu plate ışık almayacak bir şekilde iyice kapatılıp 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra, 10-50 µl hücre süspansiyonu floresan mikroskobu ile (Leica, Almanya) inceleme yapmak için kullanıldı.

2.5.3. Hemotoksilen -Eozin Boyama Test Protokolü

Pankreas ve L929 hücreleri L-glutamin, % 10 FCS ve % 1 antibiyotikli DMEM içeren plakelere her bir kuyucuğa 5.000 hücre olacak şekilde ekildi. Hücreler 37 °C'de % 5 CO₂ ile ortamında CO₂ inkübatöründe 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Hücreler plakelerin tabanına tutunduktan sonra önceden farklı dozlarını hazırladığımız akrep ham zehir örnekleri uygulanıp, tekrar aynı şartlarda 24 saat inkübe edildi. Hücre kültürü % 96, %80, %70, %60 azalan alkol oranında ayrı ayrı olacak şekilde 5 dakika bekletilip pbs (fosfat tamponlu tuz çözeltisi) ile yıkandı. Yıkandıktan hemen sonra hemotoksilen boya (300 µl) hücrelerin yüzeyini kaplayacak kadar eklendi. 3'er kez 5 dk beklenip pbs ile yıkandı.

Yıkanan hücrelere eozin boya eklenip 30 saniye bekletildi. Pbs ile 3'er kez 5 dk beklenip yıkandı. % 96, %80, %70, %60 azalan alkol oranında ayrı ayrı olacak şekilde 3 dakika bekletilip pbs ile yıkandı. En son üzerine pbs eklenip mikroskop altında apoptotik nekrotik hücrelerin değerlendirilmesi yapıldı.

2.5.4. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) İçin Hücrelerin Hazırlanması

Pankreas kanser hücrelerinden 1.000 adet hücre lam üzerine aktarıldı. Lama yapışan hücrelere 10 µl zehir uygulandı ve 24 saat CO₂ inkübatöründe 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonra hücreler %60, %70, %80, % 96 alkol oranında ayrı ayrı olacak şekilde 3 dakika bekletilip pbs ile yıkandı. Lamlar 24 saat etüvde kurutmaya bırakıldı. Kuruyan lamlar Polaron SC 500 model kaplama cihazı kullanılarak ince bir altın tabakasıyla kaplandı. Altın ile kaplanan lamlar alüminyum stublar üzerine çift taraflı bant ile yapıştırıldı ve Kırıkkale Üniversitesi Elektron Mikroskop Laboratuvarında JEOL JSM 5600 model taramalı elektron mikroskop kullanılarak incelendi.

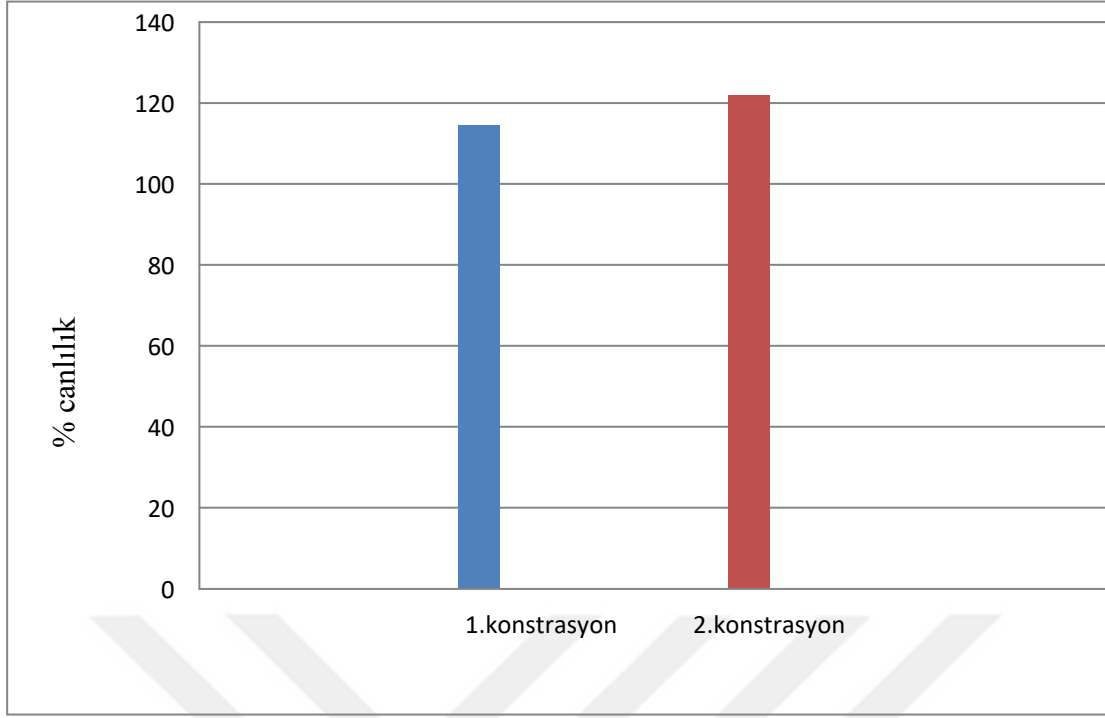
3. BULGULAR

3.1. Yapılan Sitoksite Testleri Sonuçları

3.1.1. MTT Testi Sonuçları

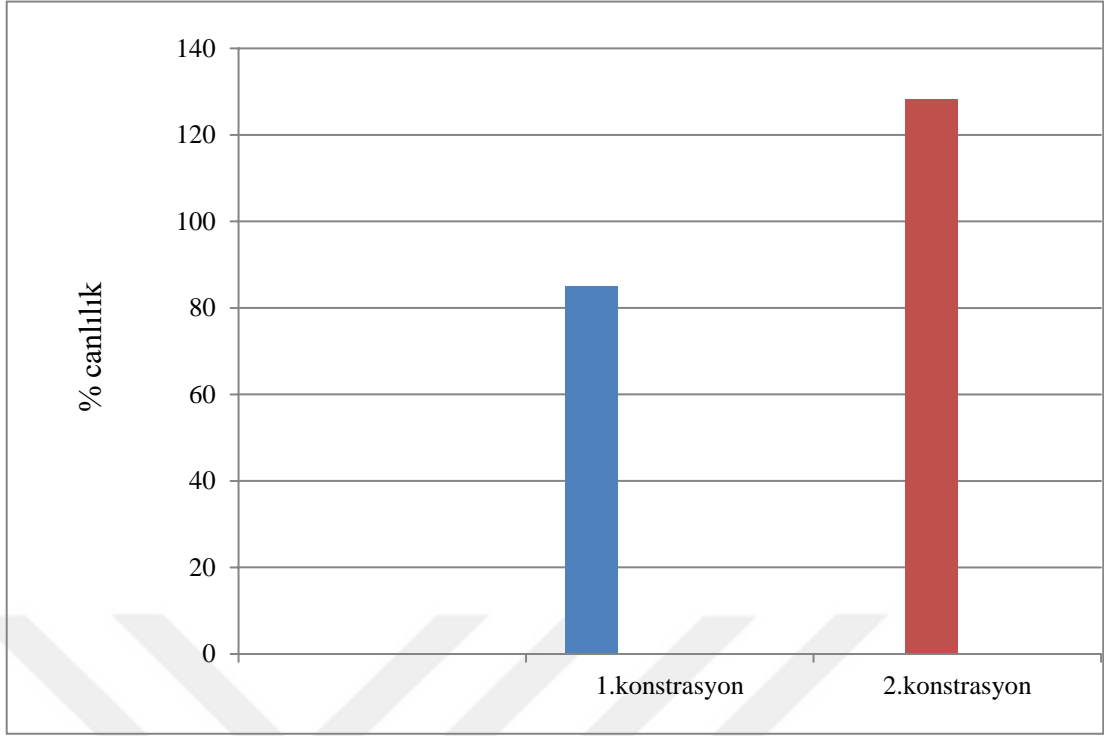
Pankreas hücre hattı ve sağlıklı L929 fibroblast hücre hattı üzerine *A. crassicauda* ham zehrinin sitotoksik etkisinin belirlenmesi için MTT testi kullanıldı. ELISA plate okuyucuda çıkan absorbans değerleri hesaplandı. Çalışmada iki farklı konsantrasyon denendi. Birinci konsantrasyonda (5,6 µg/ml ham zehir örneği) ikinci konsantrasyonda (2,53 µg/ml zehir) uygulanmış ve fibroblast hücrelerinin canlılığı birinci konsantrasyon için % 114,44 ikinci konsantrasyon için 121,83 bulunmuştur (Şekil 3. 1).

Aynı şekilde pankreas kanser hücre hattında birinci konsantrasyonda canlılık % 85 ikinci konsantrasyonda 128,17 bulunmuştur (Şekil 3.2). Bu sonuçlarına göre, *A. crassicauda* ham zehri pankreas kanser hücrelerine karşı sağlıklı fibroblastdan daha fazla sitotoksiktir.



Şekil 3.1. Fibroblast (L929) için hesaplanmış yüzde canlılık

Fibroblast (L929) için ELISA Plate Okuyucuda Çıkan Absorbans Değerlerine Excelde Hesaplanmış % Canlılık Birinci Konsantrasyonda 5,6 µg/ml Zehir; İkinci Konsantrasyonda 2,53 µg/ml Zehir Uygulanmıştır.



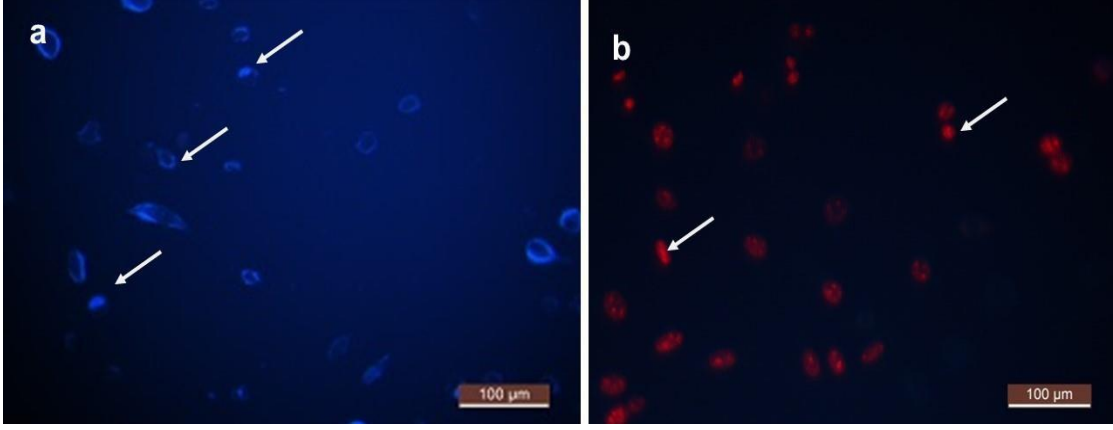
Şekil 3.2. Pankreas hücre hattı için hesaplanmış yüzde canlılık

Pankreas kanser hücre hattı için ELISA plate okuyucuda çıkan absorbans değerlerine Excelde hesaplanmış % canlılık birinci konsantrasyonda 5,6 ml zehir; ikinci konsantrasyonda 2,53 ml zehir uygulanmıştır

3.1.2. İkili Boyama Testi Sonuçları

Hoechst PI boyası ile gerçekleştirilen ikili boyama metodu, hücrelerin çekirdeklerini işaretleyerek boyamakta ve bu sayede kültür ortamında apoptotik ve nekrotik hücreleri belirlemede kullanıldı. Zehirle muameleden sonra ikili boyama ile pankreas kanser hücre hattında apoptoz ve nekrozun gösterilmesi için apoptotik hücreleri göstermek için mikroskopta Hoechst 33342 DAPI filtresinde görüntülenmektedir. Nekrotik hücreler için Propodiumiodide FITC filtresinde görülmektedir.

Pankreas kanser hücre hattında apoptotik etki gözlenmemiş, fibroblast L929 ise nekrotik etki yoğun bir biçimde gözlenmiştir. Şekil 3.3'te hücre hatlarında apoptoz ve nekroz gösterilmiştir.



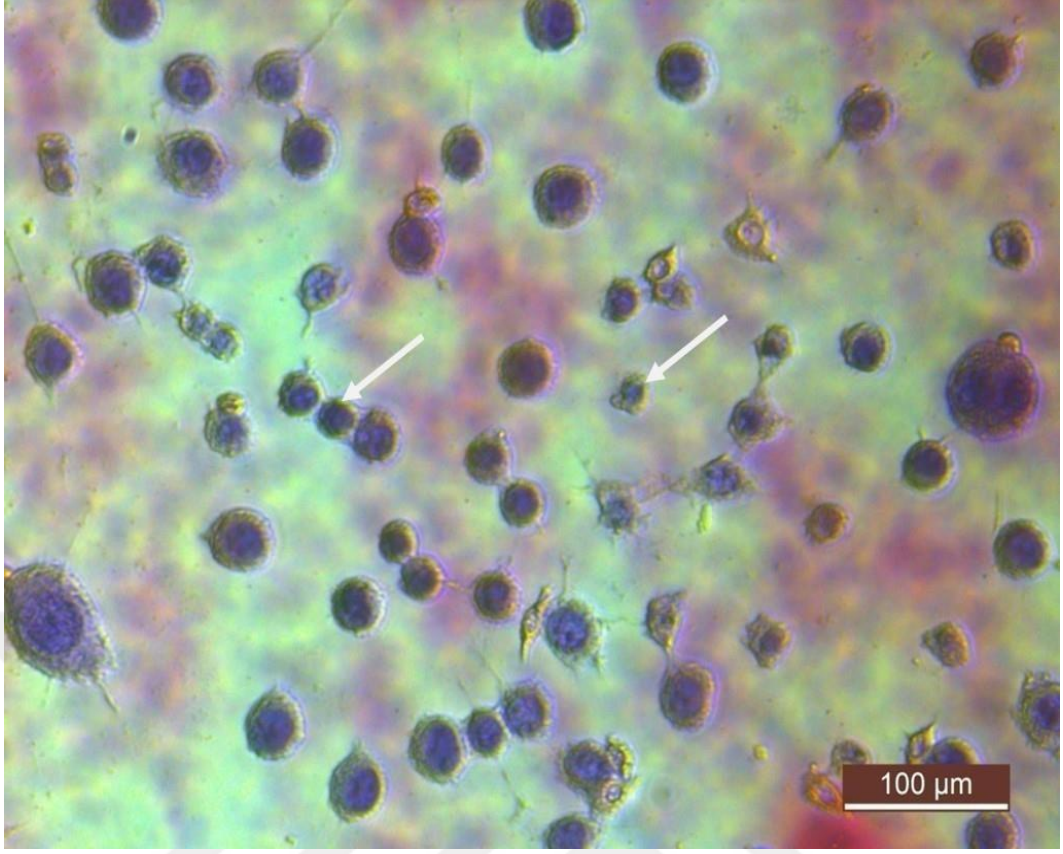
Şekil 3.3. Zehirle muameleden sonra ikili boyama ile pankreas hücre hattında ve fibroblast hücrelerinde apoptoz ve nekrozun gösterilmesi

a; Hoechst 33342 DAPI filtresinde görüntülenmektedir. Apoptotik hücreler okla gösterilmiştir.

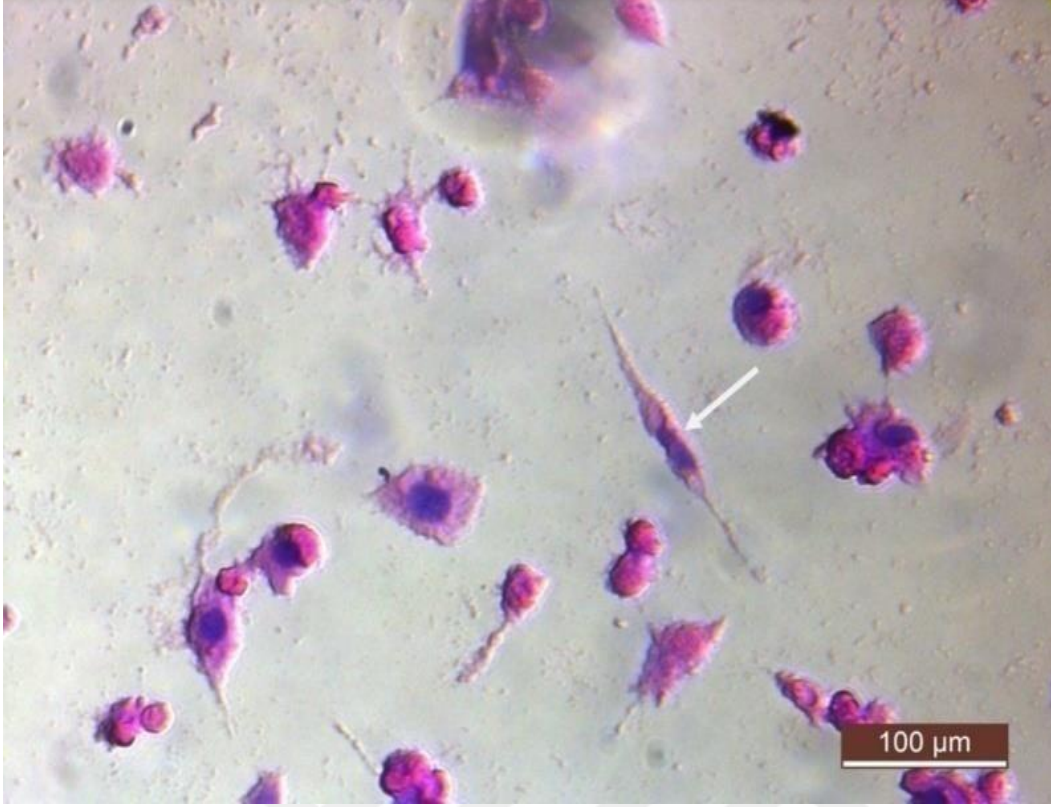
b; Propodiuimiodide FITC filtresinde görülmektedir. Nekrotik hücreler okla gösterilmiştir.

3.1.3. Hemotoksilen-Eozin Boyama Sonuçları

Akrep ham zehir örnekleri (5,6 mg/ml; 2,53 mg/ml) ile muameleden sonra hemotoksilen-eozin boyama yapılmıştır. HE boyamada, hemotoksilen boyası kromatini boyadığından apoptotik hücreler nükleus morfolojisine göre değerlendirildi. Gözlenebilen değişiklikler şunlardır; Hücre küçülmesi veya sitoplazmik küçülme, kromatinin kondanse olması ve nükleus zarının periferin de toplanması, nükleusun küçülmesi veya parçalara bölünmesinin şeklindedir. Bu veriler zehirle muamele edilmiş hücrelerin yoğun apoptoza yöneldiğinin işaretidir. Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te hemotoksilen-eozin boyama sonuçları gösterilmiştir.



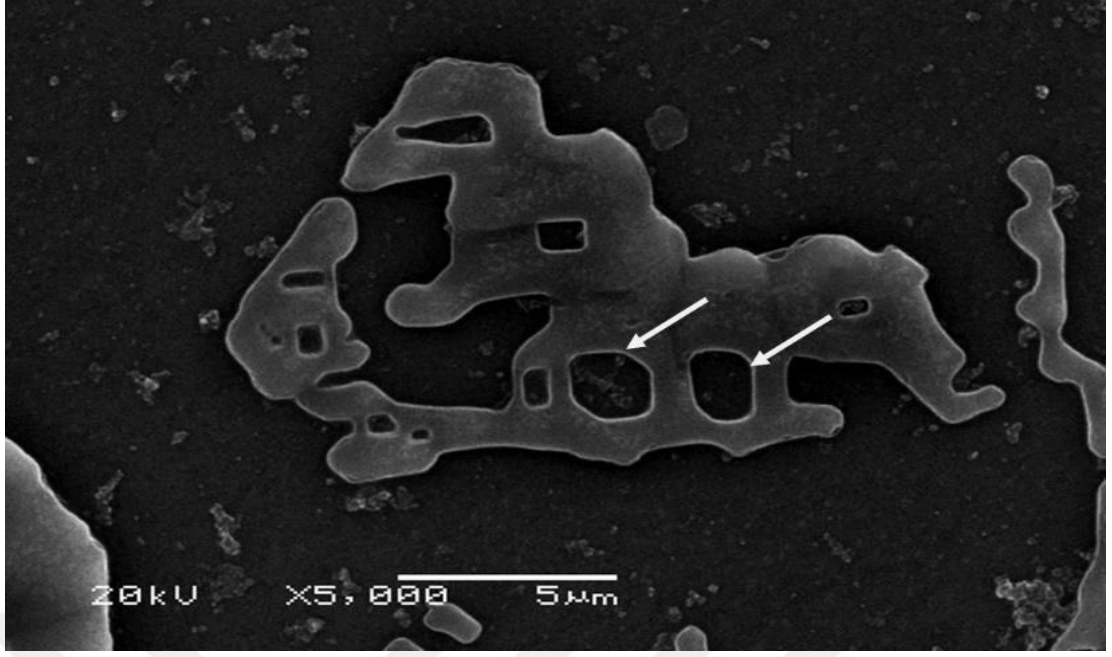
Şekil 3.4. Akrep zehri ile muamelenin ardından hemotoksilen -eozin boyama ile pankreas hücre hattının morfolojik görüntüsü



Şekil 3.5. Akrep zehri ile muamelenin ardından fibroblast (L929) hücre hattında hemotoksilen -eozin boyama sonucunda morfolojik görüntüsü

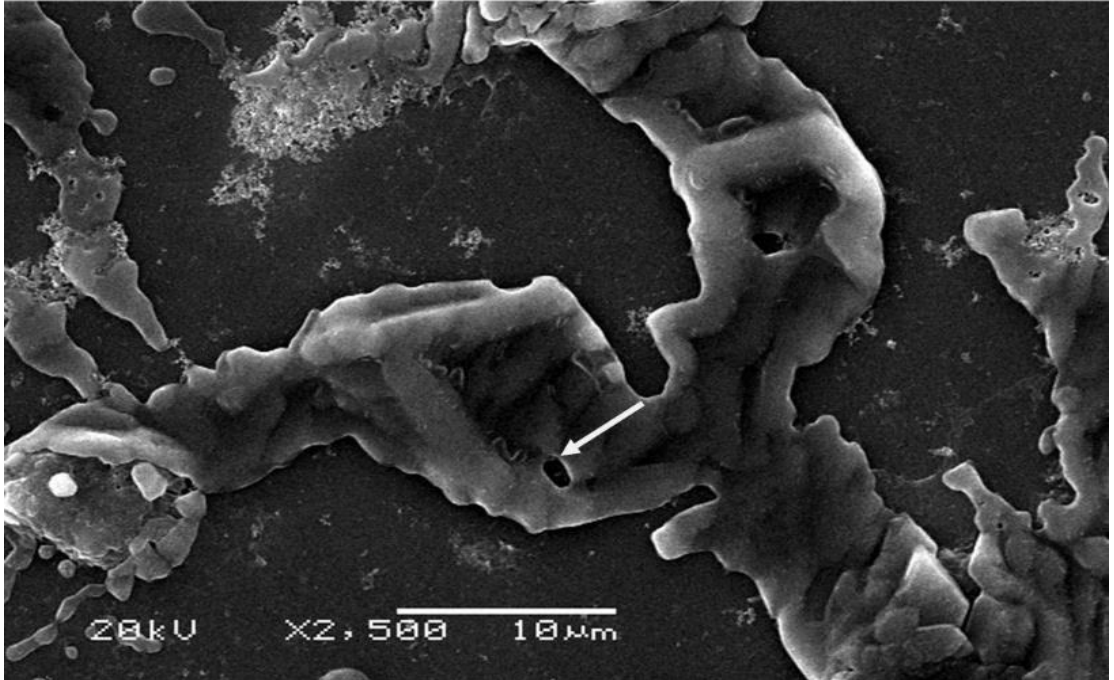
3.1.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (Sem) Sonuçları

Zehirle muamele edilmiş hücrelerdeki morfolojik değişiklikleri ve hücre zarındaki bozulmaları görmek için SEM kullanıldı. Zehirle muamele edilmiş pankreas kanser hücrelerinin hücre şekli bozulmuş, hücre membranında porlar ve parçalanmalar görülmüştür. Normal fibroblast hücrelerini morfolojik değişiklikleri daha az görülmüş ve membranda görülen porlarda daha küçüktür. Şekil 3.6 ve Şekil 3.7’de SEM mikroskop görüntüleri verilmiştir.



Şekil 3.6. Akrep zehri ile muamelenin ardından pankreas hücre hattının SEM mikroskop görüntüsü

Oklar Membrandaki Porları İşaret Etmektedir.



Şekil 3.7. Akrep zehri ile muamelenin ardından fibroblast L929 hücre hattının SEM mikroskop altındaki görüntüsü

Oklar membrandaki porları işaret etmektedir.



4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, *A. crassicauda* ham zehrini pankreas kanser hücre hattı ve sağlıklı fibroblast hücre hattına kültürüne *in vitro* olarak denedik ve sitotoksik etkileri ve hücre morfolojilerindeki değişiklikleri mikroskoplarda kullanarak gözlemledik. Kanser hücre hattı olarak pankreas hücre hattı seçtik. Pankreas kanseri, kanserler arasında mortalitesi ilk sıralarda yer almaktadır. Bu kanser türünün tedavisinde kullanılan kemoterapi ilaçları yaşam kalitesini ve sağ kalım süresini iyileştirmede yetersiz kalmaktadır. Sağ kalım süresi teşhisten sonra oldukça kısadır. Çeşitli kemoterapiklerin hastaya verilmesi hastalarda ciddi yan etkilere sebep olmaktadır. Diğer kanser türleri gibi pankreas kanseri içinde selektif olarak kanser hücreleri üzerine etki gösteren sağlıklı hücreler üzerinde çok az yada hiç yan etkisi olmayan terapötiklere ihtiyaç vardır [63].

Elde edilen verilere bakıldığında, *A. crassicauda* ham zehri pankreas kanser hücreleri sağlıklı fibroblast hücrelerinden daha fazla etkilenmiştir. Hücrelerde küçülme ve membranlarında por oluşumu gözlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmada, *A. crassicauda*'dan elde edilen zehir peptidi Acra3 (66 amino asit), fare beyin tümörü hücreleri (BC3H1) üzerine uygulanmış ve hem nekrotik hem de apoptotik yollarla belirgin sitotoksik etkiye (IC50 değeri 5 µg/ml) sahip olduğu belirtilmiştir [64] Bu sonuçlarda bizim bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

Farklı akrep türlerinden elde edilen zehir ve zehir toksinleri farklı kanser türlerine etkilerine açıklamaya çalışmıştır. Wang ve Ji (2005) Buthidae familyasında yer alan bir akrep türünün zehrinden elde edilen bir peptit olan *Bmk*'nin malign glioma hücrelerini iyon kanallarını bloke ederek *invitro* ortamda hücre proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği ayrıca malign glioma hücrelerinin ölümünü indüklediği belirtildi [65].

Başka bir çalışmada, akrep zehrinde bulunan klotoksin seçici ve özgül olarak glioma hücrelerine bağlandığı, sağlıklı hücrelerde çok az yada hiç etki göstermediği belirtilmiştir. Bu toksinin glioma tedavisinde kullanılabileceği belirtilmektedir [66].

Mısır akrebi *Androctonus amoreuxi* zehri, in vitro ve in vivo olarak fare meme kanser hücrelerine uygulanmıştır. Çalışma sonunda, bu akrep zehrinin kanser hücrelerine sitotoksik, anti-proliferatif, apoptotikve anti-anjiyojenik aktiviteler yoluyla tümör hücreleri üzerindeki toksik potansiyelini göstermişlerdir [67].

Kanserin önümüzdeki yıllarda da dünya çapında önemli bir sağlık problemi olmaya devam edeceğini göstermektedir. Mevcut tedavi yöntemleri birçok kanser türlerinde etkili olmuş ve hayatta kalma oranını artırmıştır. Ancak bu yöntemlerin bazı kanser türlerinde etkisiz olmaları ve etkili olanlarının da ciddi yan etkilerinin bulunması ise hala çözülmesi gereken önemli sorunlardır. Yeni, seçici etkili ve yan etkileri az ya da hiç olmayan tedavi edici moleküllere ihtiyaç vardır. Bu maksatla, zengin moleküler içeriği nedeniyle hayvan zehirleri araştırılmaktadır. Zehir içeriklerinde bulunan moleküllerin kanserle ilgili sinyal yolları üzerindeki aktivitesi, onları kanser tedavisi için umut verici ajanlar olarak ön plana çıkartmaktadır. Ancak zehirlerde bulunan toksinlerin etki mekanizmaları hala tam olarak bilinmemektedir. Bunların aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Zehir ve zehir bileşenlerinin veya ajanlarının moleküller yapılarının tanımlanması ve etki mekanizmalarının belirlenmesi kanser tedavisinde kullanılabilecek yeni moleküllerin keşfine yardımcı olacaktır. Bu sayede daha yüksek seçicilik ve daha az yan etki gösterebilen moleküllerin kanser tedavisi için kullanılacak yeni ilaçlar üretilebileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- [1]. Sigerist, H. E. (1932). Annual Graduate Fortnight:“Tumors”, October 17 to 28, 1932: The Historical Development of the Pathology and Therapy of Cancer. Bulletin of the New York Academy of Medicine, 8(11), 642, (1932).
- [2]. Baykara, O, (2016). Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Balıkesir sağlık bilimleri dergisi*, 5(3), 154-165.
- [3]. Mattiuzzi, C, & Lippi, G. (2019). Current cancer epidemiology. *Journal of epidemiology and global health*, 9(4), 217-222.
- [4]. Kayaalp, S.O (2012)Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, cilt 1, 8.basım, Feryal Matbaacılık, Ankara, S:332
- [5]. Lipps, B. V. (1999). Novel snake venom protein scytolytic to cancer cells in vitro and in vivo systems. *Journal of Venomous Animals and toxins*, 5(2), 172-183
- [6].Chidambaram, M., Manavalan, R., & Kathiresan, K. (2011). Nano therapeutics to over come conventional cancer chemotherapy limitations. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*, 14(1), 67-77.
- [7]. Salem, M. L., Shoukry, N. M., Teleb, W. K., Abdel-Daim, M. M., & Abdel-Rahman, M. A. (2016). In vitro and in vivo antitumor effects of the Egyptian scorpion *Androctonus amoreuxi* venom in an Ehrlich ascites tumor
- [8].Ma, R., Mahadevappa, R., & Kwok, H. F. (2017). Venom-based peptide therapy: Insights into anti-cancer mechanism. *Oncotarget*, 8(59), 100908
- [9]. Kelle, İ. (2007). Kanser tedavisinde biotoksinler. *Dicle Tıp Dergisi*, 34(3), 226-232.
- [10]. Verdes, A., Anand, P., Gorson, J., Jannetti, S., Kelly, P., Leffler, A., ... & Holford, M. (2016). From mollusks to medicine: A venomics approach for the discovery and characterization of therapeutics from Terebridae peptide toxins. *Toxins*, 8(4), 117
- [11]. Ortiz, E., Gurrola, GB, Schwartz, EF ve Possani, LD (2015). İlaç geliştirme için potansiyel adaylar olarak Akrep zehiri bileşenleri. *Toxicon* 93, 125-135.
- [12]. Fry BG. (2005); From genome to ‘venome’: molecular origin and evolution of the snake venom proteome inferred from phylogenetic analysis of toxin sequences and related body proteins. *Genome Res.* 2005; 15: 403–20
- [13]. Edstrom A. (1992) Venomous and poisonous animals. Florida: Krieger Publishing Company;

- [14] Casewell NR, Weuster W, Vonk FJ, Harrison RA, Fry BG. (2013) Complex cocktails: the evolutionary novelty of venoms. *Trends Ecol Evol.*; 28:21
- [15]. Fry BG. *Venomous reptiles and their toxins: evolution, pathophysiology and bio discovery*. Oxford: Oxford University Press; 2015
- [16]. Barlow A, Pook CE, Harrison RA, Weuster W. Coevolution of diet and prey-specific venom activity supports the role of selection in snake venom evolution. *Proc R Soc B*. 2009; 276:2443–9.
- [17]. Daltry JC, Weuster W, Thorpe RS. Diet and snake venom evolution. *Nature*. 1996; 379:537–40.
- [18]. Boyer L, Alagón A, Fry BG, Jackson TNW, Sunagar K, Chippaux J-P. Signs, symptoms, and treatment of envenomation. In: Fry BG, editor. *Venomous reptiles and their toxins: evolution, pathophysiology and biodiscovery*. Oxford: Oxford University Press; 2015
- [19]. Chippaux J-P. (2006) *Snake venoms and envenomations*. Florida: Krieger Publishing Company;
- [20]. Mackessy SP. (2009) *Handbook of venoms and toxins of reptiles*. Boca Raton: CRC Press; 2009 Dutertre S, Jin A-H, Vetter I, Hamilton B, Sunagar K, Lavergne V,
- [21]. Dutertre V, Fry BG, Antunes A, Venter DJ, Alewood PF, Lewis RJ. Evolution of separate predation- and defence-evoked venoms in carnivore ooscone snails. *Nat Commun*. 2014; 5:3521.
- [22]. McCue MD. Cost of producing venom in three North American pit viper species. *Copeia*. 2006; 2006:818–2
- [23]. Morgenstern D, King GF. The venom optimization hypothesis revisited. *Toxicon*. 2013; 63:120–8.
- [24]. Pekár S, Šedo O, Líznavá E, Korenko S, Zdráhal Z. David and Goliath: potent venom of an ant-eating spider (Araneae) enables capture of giant prey. *Naturwissenschaften*. 2014; 101:533–40.
- [25]. Fry BG, Wroe S, Teeuwisse W, van Osch MJP, Moreno K, Ingle J, McHenry C, Ferrara T, Clausen P, Scheib H, Winter KL, Greisman L, Roelants K, van der Weerd L, Clemente CJ, Giannakis E, Hodgson WC, Luz S, Martelli P, Krishnasamy K, Kochva E, Kwok HF, Scanlon D, Karas J, Citron DM, Goldstein EJC, McNaughtan JE, Norman JA. A central role for venom in predation by *Varanus komodoensis* (Komodo dragon) and the extinct giant *Varanus (Megalania) priscus*. *Proc Natl Acad Sci*. 2009b; 106:8969–74.
- [26]. Drabeck DH, Dean AM, Jansa SA. Why the honey badger don't care: convergent evolution of venom targeted nicotinic acetylcholine receptors in mammals that survive venomous snake bites. *Toxicon*. 2015; 99:68–72.
- [27]. Zibae A, Hoda H, Fazeli-Dinan M. Role of proteases in extra-oral digestion of a predatory bug, *Andrallus spinidens*. *J Insect Sci*. 2012; 12:51.

- [28]. Cabezas-Cruz A, Valdés JJ. Are ticks venomous animals? *Frontier Zool.* 2014; 11:4
- [29]. Low DHW, Sunagar K, Undheim EAB, Ali SA, Alagon AC, Ruder T, Jackson TNW, Gonzalez SP, King GF, Jones A, Antunes A, Fry BG. Dracula's children: molecular evolution of vampire bat venom. *J Proteomics.* 2013; 89:95–111.
- [30] Moreau SJM, Vinchon S, Cherqui A, Prévost G. Components of Asobara venoms and their effects on hosts. *Adv Parasitol.* 2009; 70:217–3
- [31]. Martinson EO, Wheeler D, Wright J, Alini M, Siebert AL, Werren JH. *Nasonia vitripennis* venom causes targeted gene expression changes in its fly host. *Mol Ecol.* 2014; 23:5918–30.
- [32]. Nisani Z, Hayes WK. Venom-spraying behavior of the scorpion *Parabuthus transvaalicus* (Arachnida:Buthidae). *Behav Processes.* 2015; 115:46–52.
- [33]. Bohlen CJ, Chesler AT, Sharif-Naeini R, Medzihradzsky KF, Zhou S, King D, Sánchez EE, Burlingame AL, Basbaum AI, Julius D. A heteromeric Texas coral snake toxin targets acid-sensing ion channels to produce pain. *Nature.* 2011; 479:4104.
- [34]. Inceoglu B, Lango J, Jing J, Chen L, Doymaz F, Pessah IN, Hammock BD. One scorpion, two venoms: pre-venom of *Parabuthus transvaalicus* acts as an alternative type of venom with distinct mechanism of action. *Proc Natl Acad Sci.* 2003; 100:922–7.
- [35]. Siemens J, Zhou S, Piskorowski R, Nikai T, Lumpkin EA, Basbaum AI, King D, Julius D. Spider toxins activate the capsaicin receptor to produce inflammatory pain. *Nature.* 2006; 444:208–12.
- [36]. Baracchi D, Francese S, Turillazzi S. Beyond the antipredatory defence: honey bee venom function as a component of social immunity. *Toxicon.* 2011; 58:550–7
- [37]. Tragust S, Mitteregger B, Barone V, Konrad M, Ugelvig LV, Cremer S. Ants disinfect fungus-exposed brood by oral uptake and spread of their poison. *Curr Biol.* 2013; 23:76–82
- [38]. Whittington CM, Koh JMS, Warren WC, Papenfuss AT, Torres AM, Kuchel PW, Belov K. Understanding and utilising mammalian venom via a platypus venom transcriptome. *J Proteomics.* 2009; 72:155–64.
- [39]. Wong ESW, Nicol S, Warren WC, Belov K. Echidna venom gland transcriptome provides insights into the evolution of monotreme venom. *PLoS One.* 2013; 8, e79092.
- [40]. Nekaris KAI, Moore RS, Rode EJ, Fry BG. Mad, bad and dangerous to know: the biochemistry, ecology and evolution of slow loris venom. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2013; 19:21
- [41]. Leeming J. *Scorpions of southern Africa.* South Africa: Struik Publishers; 2003.

- [42]. Chippaux J.-P., Goyffon M. Epidemiology of scorpionism: A global appraisal. *Acta Trop.* 2008; 107:71–79.
- [43]. WHO. Report of the Eleventh Meeting of the WHO Strategic and Technical Advisory Group for Neglected Tropical Diseases. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2018. pp. 1–28.
- [44]. Chippaux J.-P. Emerging options for the management of scorpion stings. *Drug Des. Dev. Ther.* 2012;6: 165–173.
- [45]. Reckziegel G.C., Pinto V.L., Reckziegel G.C., Pinto V.L. Scorpionism in Brazil in the years 2000 to 2012. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 2014; 20:46. doi: 10.1186/1678-9199-
- [46]. Laustsen A.H., Solà M., Jappe E.C., Oscoz S., Lauridsen L.P., Engmark M. Biotechnological Trends in Spider and Scorpion Antivenom Development. *Toxins.* 2016;8:226. doi: 10.3390/toxins8080226.
- [47]. Lourenço W.R. The evolution and distribution of noxious species of scorpions (Arachnida: Scorpiones) *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 2018: 24.
- [48]. Hauke T.J., Herzig V. Dangerous arachnids—Fake news or reality? *Toxicon.* 2017;138:173–183. doi: 10.1016/j.toxicon.2017.08.024.
- [49]. Mullen G., Durden L. Medical and Veterinary Entomology. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2019;3 doi: 10.1179/000349809X12459740922219.
- [50]. Ward M.J., Ellsworth S.A., Nystrom G.S. A global accounting of medically significant scorpions: Epidemiology, major toxins, and comparative resources in harmless counterparts. *Toxicon.* 2018;151:137–155. doi: 10.1016/j.toxicon.2018.07.007.
- [51]. Petricevich V.L. Scorpion Venom and the Inflammatory Response. [(accessed on 12 January 2020)]; Available online: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2010/903295/>
- [52]. Akef, H. M. (2019) Anticancer and antimicrobial activities of scorpion venoms and their peptides. *Toxin Reviews*, 38(1), 41-53. *model. Springer Plus*, 5(1), 570.
- [53]. Ghosh, A., Roy, R., Nandi, M., & Mukhopadhyay, A. (2019). Scorpion venom–toxins that aid in drug development: a review. *International journal of peptide research and therapeutics*, 25(1), 27-37.
- [54]. Caliskan, F., Quintero-Hernández, V., Restano-Cassulini, R., Coronas-Valderrama, F. I., Corzo, G., & Possani, L. D. (2013). Molecular cloning and biochemical characterization of the first Na⁺-channel α -type toxin peptide (Acra4) from *Androctonus crassicauda* scorpion venom. *Biochimie*, 95(6), 1216-1222.
- [55]. Zeng, X. C., Corzo, G., & Hahin, R. (2005). Scorpion venom peptides without disulfide bridges. *UBMB life*, 57(1), 13-21. 25(7), 702-708.

- [56].Uzair, B., Bint-e-Irshad, S., Khan, B. A., Azad, B., Mahmood, T., Rehman, M. U., & Braga, V. A. (2018). Scorpion venom peptides as a potential source for human drug candidates. *Protein and peptide letters*, 25(7), 702-708
- [57]. Harrison, P. L., Abdel-Rahman, M. A., Miller, K., & Strong, P. N. (2014). Antimicrobial peptides from scorpion venoms. *Toxicon*, 88, 11
- [58]. Rajendra, W., Armugam, A., & Jeyaseelan, K. (2004). Toxins in anti-nociception and anti-inflammation. *Toxicon*, 44(1), 1-17.
- [59]. Rong, P., Fu, Q., Zhang, X., Liu, X., Yang, J., Wang, X., ... & Ma, R. (2021). Chinese herbal compounds containing scorpion in the treatment of epilepsy: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 100(10).
- [60]. Wang, C. G., He, X. L., Shao, F., Liu, W., Ling, M. H., Wang, D. C., & Chi, C. W. (2001). Molecular characterization of an anti-epilepsy peptide from the scorpion *Buthus martensi* Karsch. *European journal of biochemistry*, 268(8), 2480-2485.
- [61]. Mustafa, E. M. R. E. Potasyum İyon Kanallarının Yapısı ve Genel Özellikleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 29(4), 276-290.
- [62].Kelle, İ. (2007). Kanser tedavisinde biotoksinler. *Dicle Tıp Dergisi*, 34(3),226232
- [63]. Kaya, K., İyiöz, S., Kayacan, B., Hatice, A., Şenyiğit, Ş. C., Özbalcı, F. İ., & Gürbüz, N. (2019). Pankreas Kanseriinde Hedefsel Nanopartikül Tedavisi ve Klinik Denemeler. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(4), 506-511
- [64]. Çalışkan, F., Ergene, E., Söğüt, I., Hatipoğlu, I., Başalp, A., Sivas, H., & Kanbak, G. (2013). Biological assays on the effects of Acra3 peptide from Turkish scorpion *Androctonus crassicauda* venom on a mouse brain tumor cell line (BC3H1) and production of specific monoclonal antibodies. *Toxicon*, 76, 350-361.
- [65].Heinen, T E.,& da Veiga, A. B. G. (2011). Arthropod venoms and cancer. *Toxicon*, 57(4), 497-511
- [66]. Güleş, Ö.,& Ülker, E. R. E. N. (2008). Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(2), 73-78
- [67]. Salem, M. L.,Shoukry, N. M., Teleb, W. K., Abdel-Daim, M. M., &Abdel-Rahman, M. A. (2016). In vitro and in vivo anti tumor effects of the Egyptian scorpion *Androctonus amoreuxi* venom in an Ehrlichascites tumor Kanallarının Yapısı ve Genel Özellikleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 29(4), 276-290.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : ARSLAN GÜLER

Doğum Tarihi

Yabancı Dil : İNGİLİZCE

Eğitim Durumu : (Kurum ve Yıl)

Lisans : Kırıkkale Üniversitesi Biyoloji

Yüksek Lisans : Kırıkkale Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl/ Yıllar :

Yayımları (SCI) :

Yayımları (Diğer) : in appreciations for her/his contribution and participation in the 3rd INTERNATIONAL 5 OCAK CONGRESS ON APPLIED SCIENCES held in Adana, TURKEY, on January 04-05, 2022.

Androctonus Crassicauda (Oliver 1807) Akrep Türünün Ham Zehrinin İnsan Pankreas Kanseri Hücre Hattı (Capan-1) Üzerine Sitotoksik, Apoptotik Ve Nekrotik Etkileri Sözlü Sunumu

Araştırma Alanları :