

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***HYDROPHILINAE (COLEOPTERA: HYDROPHILIDAE) ALT
FAMİLYASINAAİT BAZI BÖCEK TÜRLERİNDEN ELDE
EDİLECEK PROTEİN EKSTRAKTLARININ ANTİ KANSER
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ***

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEHER ÖZCAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Bülent KAYA

BİNGÖL-2019



T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**HYDROPHILINAE (COLEOPTERA: HYDROPHILIDAE) ALT FAMILİYASINA
BAZI BÖCEK TÜRLERİNDEN ELDE EDİLECEK PROTEİN
EKSTRAKTLARININ ANTİ KANSER VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Dr. Öğr. Üyesi Bülent KAYA danışmanlığında, Seher ÖZCAN tarafından hazırlanan bu çalışma 27/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından BİYOLOJİ Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Abdullah MART

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Bülent KAYA

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ekrem DARENDELİOĞLU

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun// tarih ve/
nolu kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Bu çalışma projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: BAP-FEF.2017.00.004

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirilerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans Tezi olarak takdim ettiğim çalışmamın deneysel kısmını Bingöl Üniversitesi,Merkezi Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiş bulunmaktayım. Çalışmamda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve çalışmanın her aşamasında her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü öğretim üyelerinden danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bülent KAYA'ya derin minnet ve şükranlarımı sunarım. Çalışmamızda kullandığımız böcek türlerinin toplanması ve teşhisinde gerekli yardım ve kolaylığı sağlayan Prof. Dr. Aptullah MART'a ve çalışmamın her aşamasında katkı ve desteklerini esirgemeyen Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Ekrem DARENDELİOĞLU' na tüm hocalarıma, arkadaşlarıma ve öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak sürekli yanımda olan aileme ve ayrıca Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne, Bübap birimine teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISATMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1. Materyal	16
3.1.1. Malzemeler.....	16
3.2. Metod	16
3.2.1. Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi	16
3.2.1.1. DPPH Aktivitesinin Belirlenmesi	16
3.2.1.2. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi	17
3.2.2. Anti Kanser Aktivitesinin Belirlenmesi	18
3.2.2.1. Hücreler.....	18
3.2.2.2. Medyum Hazırlama.....	18
3.2.2.3. Hücre Kültürü.....	18
3.2.2.3. WST-1 ile Hücre Canlılığı Analizi.....	18
3.2.3. Protein Özütünün Hazırlanması	19

4. BULGULAR VE TARTIŞMA	20
4.1. Antioksidan Test Sonuçları	20
4.1.1. DPPH Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi	20
4.1.2. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi	21
4.2. Antikanser Test Sonuçları	22
4.2.1. Bradford Yöntemi İle Total Protein Tayini.....	22
4.2.2. WST-1 ile Hücre Canlılık Analizi.....	23
4.2.3. Western Blot Tekniği ile Hedef Proteinlerin Analizi.....	24
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	28
KAYNAKLAR	30
ÖZGEÇMİŞ	33

SİMGELER VE KISATMALAR LİSTESİ

Mm	: Milimetre
Ca ₃ (PO ₄) ₂	: Kalsiyum fosfat
HGB	: Hemoglobin
Guanidin-HCl	: Protein denatürasyon maddesi
DNA	: Deoksiribonüklerik asit
°C	: Santigrat derece
X-Ray	: Organik ve inorganik maddelerin ayrımını yapan cihaz.
CT	: Bilgisayarlı tomografi
Gr	: Kilogramın binde biri olan kütle birimi
Mg	: Miligram
pH	: Power of Hydrogen
FBS	: Fetal bovine serum
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
TCA	: Trikloroasetik asit
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Media
DMSO	: Dimetilsülfoksit
WST-1	: 2-[4-iodophenyl]-3-[4-nitrophenyl]-5-[2,4-disulfophenyl]-2Htetrazolium monosodium salt
PBS	: Phosphate Buffered Saline
Cm	: Uzunluk birimi
ml	: Mililitre
µg	: Mikrogram
PC-3	: Prostate Cancer Cells
PCa	: Prostat kanseri
RPM	: Revolutions Per Minute

μl	: Mikrolitre
nm	: Nanometre
PVDF	: Polivinilidenflorit veya polivinilidene diflorit
CO_2	: Karbondioksit
TBS-T	:Tris-Buffered Saline-Tween

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	DPPH giderme aktivitesi	20
Şekil 2.	Metal Şelatlama Aktivitesi	21
Şekil 3.	Bradford protein tayini için standart kalibrasyon grafiği	23
Şekil 4.	H.aquaticus türüne ait farklı konsantrasyonların hücre inhibisyonu üzerine etkisini gösteren	24
Şekil 5.	H.syriacus türüne ait farklı konsantrasyonların hücre inhibisyonu üzerine etkisini gösteren	25
Şekil 6.	Western Blot tekniği ile protein analizi A. Proteinlerin Jel üzerindeki fotoğrafları B. Protein oranlarının Çizelgeleri.....	26

HYDROPHILINAE (COLEOPTERA: HYDROPHILIDAE) ALT FAMİLYASINAAİT BAZI BÖCEK TÜRLERİNDEN ELDE EDİLECEK PROTEİN EKSTRAKTLARININ ANTİ KANSER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada *hydrophilinae* (Coleoptera: Hydrophilidae) Alt Familyasının *Hydrochara dichroma* ve *Hydrophilus piceus* türlerinin protein özütlerinin elde edilmesi yolunda hareket edilmiştir. Elde edilen Protein miktarları Bradford yöntemi ile hesaplanmış ve *Hydrochara dichroma* türünün absorbans değeri 0,4144 mg iken, *Hydrophilus piceus* türünün ise absorbans değeri 0,3411mg. olarak belirlenmiştir. Hazırlanan bu örnekler hücre kültürüne alınarak prostat kanser hattı hücrelerinde (PC3) WST-1 ile hücre canlılık testi yapılmıştır. Test sonucu incelendiğinde çalışılan iki tür içinde protein ekstratlarının hücre inhibisyonun'da düşmeye sebebiyet verdiği gözlemlenmiştir. En yüksek hücre inhibisyonu 1000 mg/ml böcek protein ekstraktı eklenmiş örneklerde gözlemlenmiştir. Daha sonra etkin doz bulunmuş olup western blot tekniği ile protein ürünlerine bakılmıştır. Bu çalışmanın sonucu olarak diyebiliriz ki western blot tekniğinde böcek proteinlerinin hücre ölümünü sağlayacak olan proteinlerin üretimini desteklediği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Hydrophilinae, protein, western blot, CYT-c, kaspaz-3, hücre ölümü, kanser.

INVESTIGATION OF ANTI-CANCER PROPERTIES OF PROTEIN EXTRACTS OBTAINED FROM SOME INSECT SPECIES OF HYDROPHILINAE SUBFAMILY (COLEOPTERA: HYDROPHILIDAE)

ABSTRACT

In this study, we aimed to obtain protein extracts of *Hydrochara dichroma* and *Hydrophilus piceus* from *HYDROPHILINAE* (COLEOPTERA: Hydrophilidae). The amount of protein obtained was calculated by Bradford method and the absorbance value of *Hydrochara dichroma* was 0.4144 mg, while the absorbance value of *Hydrophilus piceus* was 0.3411mg. as determined. Cell viability test was performed with WST-1 in prostate cancer line cells (PC3). When the test result was examined, it was observed that protein extracts caused decrease in cell inhibition in the two species studied. The highest cell inhibition was observed in samples with 1000 mg / ml insect protein extract added. Then the effective dose was found and protein products were examined by western blot technique. As a result of this study, we can say that the western blot technique has been shown to support the production of insect proteins that will enable cell death.

Keywords: Hydrophilinae, protein, western blot, CYT-c, caspase-3, cell death, cancer.

1. GİRİŞ

Ekoloji'nin mühim bir kısmı olan böceklerin dünya üzerinde yaklaşık 10 milyon türünün var olduğu fakat bu böceklerin takribi 1 milyonunun tarif edilebildiği ve her yıl 10,000 kadar yeni türün literatüre eklendiği, yeryüzündeki böcek sayısının ise katrilyon (10×10^{18}) değerinde olduğu ve bu sonuçla da hayvan türlerinin büyük bir çoğunluğunu yani %95'nin böcek türlerinden oluştuğu beyan edilmiştir (Anonim 2015a). Dünya üzerinde sayıca fazla olmaları ve yayılış olarak çok çeşitlilik göstermeleri, böceklerle insanların temas içerisinde olmalarını kaçınılmaz kılmıştır. Bununla birlikte birçok bitkinin üremesinde görev almaları, hayvan ve bitki atıklarının yapı taşlarına ayrılmasını sağlamaları, bazı yapı materyallerinin giyim ve gıda endüstrisinde kullanılması, adli vakaların açığa çıkarılmasına olanak sağlamaları ve hastalıkların iyileştirilmesinde kullanılmaları insanlar açısından sağlanan faydalar arasında sayılabilir (Lawal and Banjo 2002).

Böceklerin ürettikleri birçok ürünler veya bizzat kendileri insanlar için benzeri bulunmaz besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu böceklerden en önemlisi arılardır. Arının salgıladığı bal, işçi arıların ürettiği oldukça sağlıklı olan arısütü ve çiçek tozu (polen); aminoasitler, vitaminler (özellikle C vitamini), çeşitli proteinler, karbonhidrat, su, yağ, elementler ve mineraller bakımından zengin olduğundan tam bir besin kaynağıdır. İpekböceği ise İnsanların yaşamında çok kıymetli bir ürün üreten diğer bir böcektir. Kimyasal ve fiziksel özgülüklerinden dolayı liflerin en değerlisi olarak rastlanılan ipek lifi; çok fazla alanda kullanılmaktadır. Hoş görünümlü, dokunulduğunda sert olmayan, dayanıklı, renk olarak parlak olan seri ve düzgün boya emebildiği için ipek lifi güzelliğine güzellik katılabilen bir yapıya sahiptir. Bu sebeplerden dolayı 4 bin yıldan fazla bir zamandan beri dünya ekonomisinde önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca; Avustralya'da yaşayan insanlar linaritoksit maddesini karıncaların yaşadığı yerlerden

elde ederek giyim endüstrisinde ürünlere yeşil rengini verebilmek için kullanmışlardır (Tuğtas 2003).

Böcek yiyerek besin ihtiyacını karşılama fikri şimdiki zamanda ve geçmiş zamanlarda birçok insan tarafından hoş karşılanmamıştır. Lakin birçok kültürde böcekler ve diğer eklembacaklılar günlük besin olarak kullanılmaktadır. Böcekler tüketildikleri ilk dönemlerde beslenme amacıyla tüketildikleri daha sonra ise tedavi edici özelliklerinin fark edildiği tahmin edilmektedir. Böcekleri besin olarak kullanma alışkanlığı az gelişmiş topluluklarda daha fazla görülmüş ve şimdiki zamanlarda dahi Afrika, Güney Amerika ve Güney Asya,'nın daha az insanın yaşadığı kırsal bölgelerinde günümüzde dahi devam ettiği görülmektedir.

Entomoterapi kavramı, böceklerin veya böceklerden elde edilen ürünlerin ve benzeri materyallerin tıbbi yani iyileştirme amacıyla değerlendirilmesi olarak tanımlanmaktadır (Costa-Neto 2005). Şimdiki dönemlerde hastalıkları iyileştirmek nedeniyle tüketilen ilaçlara farklı nedenlerle erişemeyen bölgelerde, eski kadim doğa hekimliği ile böceklerle hastalıkları iyileştirmenin devam edildiği bilinmektedir. Oldukça uzun zamandan bu yana böcekler ve onların türevlerinden elde edilen numuneler özellikle Afrika ile Güney Amerika ve Doğu Asya,'nın birçok bölümünde tedavi amaçlı olarak tıpta kullanılmaktadır. Bu zamanlarda dünyanın geniş bir coğrafyasında böcekler, insanların günlük diyetinin bir kısmını oluşturmaktadır. Bunun temel nedenlerine bakılacak olursa, böceklerin karbonhidrat, protein, vitaminler ve mineral gibi günlük diyetinde bulunması gereken besinleri miktarsal oranda çok fazla bulunduran ancak buna karşın yağ oranı incelendiğinde düşük bir oranla karşılaşılması bu nedenle de iyi bir besin olmaları, basit yollarla elde edilir olmaları ve az yer kaplamaları olarak düşünülmektedir. Böceklerin besin değerleri incelendiğinde geleneksel olarak sürekli tükettiğimiz etlerden çok daha değerli oldukları görülmüştür. Dünya'nın farklı ülkelerinde böcek tüketerek beslenen insanlar böceklerin tat olarak yenilebilir olduklarını ve lezzet açısından bütün insanlara böcek yemeyi önerdikleri görülmüştür. (Posey 1986; Dossey 2010).

Şimdiki dönemlerde 14 takım ve 63 familyaya ait 300'den çok böcek türünün geleneksel tedavi etme yöntemlerinin Çin tedavisinde kullanıldığı saptanmıştır. En çok kullanılan böcek takımları Orthoptera, Hymenoptera, Coleoptera ve Homoptera'dır. Tedavi amaçlı kullanılan bu böceklerin %92,6'sının dahiliye hastalıklarının iyileştirilmesinde kullanıldığı belirtilmiştir (Conconi and Pino 1988).

Yeryüzünde yerel toplumların geçmişten gelen tedavi edici bilgileri bu böceklerden elde edilen materyallerin öncelikle geleneksel tedavi etme yöntemlerinde böcek vücutları, yumurta kabukları, yumurtaları, salgıları ve derisi gibi ticari olarak da değerli bir meta olarak bilinmesinde önemli rol oynamıştır. Lakin bu bilgilerin ve uygulama biçimlerinin kuşaktan kuşağa sözlü anlatımla geçmesi çoğu tedavi şeklinin yok olmasına sebebiyet vermiştir (Costa-Neto 2005). Şimdiki dönemlerde halen Meksika'nın bazı rüstik yerlerinde böceklerle iyileştirme yöntemleri kullanılmakta ve bazı satış noktalarına ağrı kesici, idrar söktürücü, anestezik, olarak böcek ve böcek materyalleri satışa sunulmaktadır.

Coleoptera (Kıncanathılar) takımı, hayvanlar aleminin en büyük takımı olup halen tanımlanmamış türler ile birlikte muhtemel tür sayısının 1-12 milyon arasında değiştiği düşünülmektedir. Coleoptera; Diğer böcek takımları ile kıyas edildiğinde en çok tanımlanmış tür sayısına sahip olarak 170 familya ve 350.000 tür ile varlığını kanıtlanamaktadır (Nilsson 1996). Hydrophiloidea; neredeyse tüm zoocoğrafik bölgelerde yayılış gösteren Coleoptera takımının sulak topluluklarının önemli bir bölümünü oluşturduğu bilinmektedir (Hansen 1991). Tür çeşitliliği bakımından Hydrophiloidea üst familyasının büyük bir kısmını meydana getiren Hydrophilidae ve Helophoridae, ülkemizdeki sulak kıncanathıların önemli öncüleri arasında belirtilmektedir. (Mart 2009; Fikáček 2010; Polat 2010). Coleoptera yeryüzünde emsalsiz tür çeşitliliğine sahip bir takımdır. Coleoptera takımına bağlı böceklerle alakalı en eski fosiller paleozoik zamanın altınca alt bölümü olarak permiyen kayaç sistemlerinin olduğu jeolojik zaman dilimindeki döneme aitlerdir. Bu alt permiyen döneminden sonra Coleoptera takımı çok farklı biçimlere ayrılarak türleşme ve dallanmalar göstermiştir. Coleoptera takımı içerisinde bulunan böcekleri diğer böceklerden ayıran ayırt edici en önemli özellik kanatlarının yumuşak halini kaybederek kın biçimindeki örtüyü yani

elitra'yı oluşturmalarıdır. Elitra karın bölgesinin üst bölgesini, zarif ve ince olan zarımsı alt kanadı korumakta ve uçuş anında ince olan alt kanattan ayrılarak uçuş görevine yardımcı olmaktadır. Bunun haricinde diğer bir ayırt edici özellik ise yalın bir göğüs iskeleti ve incelenebilir yapıda basit göğüs kaslarına sahip olmalarıdır. (Madison 2002).

Hydrophilidae familyası, yeryüzünde belirlenmiş 172 cins ve aşağı yukarı 2716 tür ile kendini göstermektedir ve üst familyanın en yoğun topluluğunu oluşturmaktadır (Mart 2009; Fikacek 2010; Polat 2010). Hydrophilidae türleri Horelophopsinae; Hydrophilinae ; Horelophinae ve Sphaeridiinae olmak üzere dört altfamilya altında tetkik edilmektedir (Hansen 1999; Komarek 2003; Short and Hebauer 2006; Hebauer, 2007; Jach and Balke 2008). Avrupa,Asya,Kuzey Afrika bölgelerinde bu dört altfamilyadan yalnızca ikisinin kaydı bulunmaktadır. Dünya'da; Hydrophilinae genellikle sulak bölgelerde yaşayan türlerden oluşan aşağı yukarı 57 cins ve 1784 tür ile Sphaeridiinae ise çoğunlukla sulak olmayan karasal bölgelerde yaşayan türlerden oluşan 929'dan fazla tür ile temsil edilmektedir (Komarek 2003; Jach and Balke 2008; Karaca 2009; Mart 2009; Fikacek 2010). Hydrophilidae, Avrupa, Asya, Kuzey Afrika bölgelerinde toplam 34 cins ile dağılım göstermektedir. Ülkemiz'in belirli bölgelerinde yaşayan hayvanların tümü uluslararası araştırmacıların yapmış oldukları çeşitli çalışmalar ile sürekli gelişmekte olup, iki altfamilyaya ait belirlenmiş 19 cins, 95 tür ve 4 alt tür ile tanımlanmaktadır (Gentili 2000; Gentili and Whitehead 2000; İncekara 2003; Kıyak 2006; Komarek 2003; İncekara 2009; Mart 2006; İncekara 2009; Mart 2009; Mart 2010; Darılmaz ve Kıyak 2010; Darılmaz ve İncekara 2011).

Hydrophilidler, dış görünüşlerinin beyzi olması ayrıca pronotum ve elitra arasındaki çok ince bir şekilde görülen kesinti ile kolaylıkla teşhis edilebilirler (Komarek 2003; Hansen 1991). Vücut boyları çok çeşitli olmasının yanı sıra çoğunlukla 1,3-50 mm arasında değişmektedir. Genel biçimlerinden, anten segmentlerinin sayısına; gözlerin, klipeusun, pronotum ve elitranın biçiminden maxillar palplerin boyunun uzunluğunun yanı sıra vücut kısımlarında fazla miktarda varyasyon gözlenmektedir (Komarek 2003). Baş ve pronotum üzeri granülsüzdür ve sıklıkla ince yapılı noktalanmalar görünmektedir. Baş, sıklıkla zayıftır veya gözlerin önünde birden incelmektedir (Hansen 1991). Antenler; dokuz veya yedi segmentlidir en son üç segment yuvarlak halini almıştır (Hansen 1987).

Pronotum, çoğunlukla tamamen konveks nadiren de yana doğru düz bir şekilde yayılmaktadır. Ancak bazı az rastlanan türlerde pronotumda yarıklar bulunmaktadır. Skutellum un boyunda farklılık olabilirken daima üçgen şeklinde gözlenmektedir (Hansen, 1991). Karın bölgesi, beş adet görünebilir segmentli olup bazen de dört veya altı segment bulundurmaktadır. Elitra, sarı renginden koyu kahverengi ve siyaha kadar farklılık göstererek çizgili veya nokta sıralı şekline karşımıza çıkabilir. Tarsuslar sıklıkla beş segmentli olarak karşımıza çıkmasına rağmen yalnızca Cymbiodyta cinsinin meso ve metatarsusları ile Berosus cinsinin protarsusları dört segmentli olarak karşımıza çıkabilmektedir (Hansen 1987; 1991; Komarek 2003). Ergin Hydrophilidler, sucul ve karasal olarak iki farklı habitatlarda bulunabilirler. Karasal türler, Sphaeridiinae altfamilyasında bulunmakta olup çeşitli çürükçül organik moleküllerin altında hayatlarını geçirirler. Sucul ve yarı sucul türler çok fazla değişik habitatları yaşam alanı olarak seçebilirken, istekleri sıklıkla kalıcı veya geçici su birikintileri ile göl ve göletlerin sığ kenarları gibi kirliliğe maruz kalmış durgun sular şeklinde olmaktadır (Mart 2006). Bazı türleri, durgun kirli suları ya da bataklıklardaki tuzlu suları barınmak için seçmektedir. Birçok hydrophilid larvası suculdur nemli alanların yanında su içinde yaşamayı sevmektedir. Bu gibi larvalar sucul ortama abdominal hava keseleri ile uyum sağlarlar sonrasında ise solunum trakeal solungaçlar vasıtasıyla gerçekleştirilir (Hansen 1987).

Proteinler, yapıtaşları olan aminoasitlerin belirlenmiş sayıda, türde ve diziliş şeklinde tipik düz zincirde birbirleriyle peptid bağ kurmasıyla var olmuş bir aminoasit zinciridir. Proteinler, aminoasitlerin oluşturduğu uzun zincirli moleküllerdir yani proteinler aminoasitlerin biyopolimerleridirler. Yirmi standart aminoasit, protein yapısını anlatan belirli parçalar olarak düşünülebilir; sonunda çok farklı sayıda protein kompozisyonu oluşabilir. Doğada var olan canlılardaki protein türlerinin tahmini olarak 1 milyon kadar olduğu söylenilebilmektedir. Proteinler, tüm hücrelerde ve hücrelerin kısımlarında bulunurlar; bir bakteri hücresinde yaklaşık olarak 4000 farklı tür protein bulunmaktadır. Proteinler, birçok yerde işlev görürler; hayatsal bütün olaylar proteinlerle ilişkilidir. Enzimler ve uzun zincirli hormonlar, anabolik ve katabolik olayların düzenlenmesinde önemlidirler. Kastaki kontraktıl yani kasılabilen proteinler canlının hareket etmesini sağlarlar. Kemikte, kollajen yani hareket sisteminin yapı taşı olan kemik, kıkırdak, lif ve eklemleri oluşturan önemli proteinleri oluştururken aynı zamanda kalsiyum fosfat

kristallerinin depolanmasını sağlarlar. Kanda albümin ve HGB taşıma görevi yaparken; immünoglobülinler yani B lenfositlerinin ürettiği antikorlar bakteri ve virüslerin yıkılmasında görev alırlar (Anonim 2019a).

Proteinlerin özelliklerine değinilirse proteinler, çeşitli etkilerle sekonder, tersiyer ve kuaterner yapılarının bazı fiziksel ve kimyasal dış etkilerle bozularak primer yapıya dönüşürler yani denatüre olurlar. Bir proteinin denatürasyonu, molekülündeki yan bağların kırılması ile uzun zincirli polipeptit yapılarının katlarının açılması, aminoasit kalıntılarının bulunduğu yerlerde rastgele katlanma yapısına dönüşmesi, sonra yeni bir biçimde yeniden katlanması olayıdır. Bir proteinin denatürasyonu, tersiyer yapısının bozulması, sekonder ve primer yapısının aynı kalması biçiminde olursa reversibl (geri dönüşümlü)'dür. Denatüre olmuş bir proteinin başlangıçta ki yapısına dönmesine renatürasyon denir. Bir proteinin denatürasyonu, proteinin tersiyer ve sekonder yapısının bozulması, sadece primer yapısının değişmemesi biçiminde olursa irreversibl (geri dönüşümsüz)'dür. Bir proteinin denatüre olmasıyla fiziksel ve kimyasal özelliklerinde değişimler gözlenir. Proteinin çözünürlüğü çok azalır, biyolojik etkinliği kaybolur. Bir proteinin denatürasyonu, çoğu kez hidrojen bağlarını kopartan etkilerle olur. Bir proteinin denatürasyonuna sebep olan etkiler ise: sıcaklık, X-ışını ve morötesi ışınlar, ultrason, hızlı ve uzun süren çalkalamalar, üst üste dondurup eritmeler, asit tesiri, alkali tesiri, organik çözücülerin tesiri, derişik üre ve guanidin-HCl tesiri, salisilik asit tesiri, dodesil sülfat benzeri deterjanların tesiri (Anonim 2019b).

Proteinler görevlerine göre sınıflandırılırlar. Katalitik proteinler: Biyokimyasal tepkimeleri katalize eden enzimler, fazlaca özelleşmiş proteinlerdir. Amilaz, pepsin, lipaz belirli katalizleyici protein veya enzim örnekleridirler. Taşıyıcı proteinler (transport proteinleri): özgül molekülleri veya iyonları bir araya getirip organdan organa veya hücre zarının bir bölümünden diğer bölümüne transfer eden proteinlerdir. Serum albümin, çok fazla karşılaşılan transport proteindir; bilirubin, kalsiyum, yağ asitleri ve bir hayli ilaç serum albümine tutunarak transport edilir. Hemoglobin, oksijen taşıyan; lipoproteinler, lipid taşıyan; transferrin, demir taşıyan sıkça rastlanan transport proteinlerdir. Tüm organizmaların plazma zarlarında ve hücre içi zarlarında gözlenen transport proteinler, glukoz, aminoasitler ve diğer maddeleri bağlarlar; bunları zarın bir bölümünden bir başka

bölümüne transport ederler. Besleyici ve depo proteinler: Yumurta akının proteinini oluşturan ovalbümin, sütün esas proteini kazein besleyici yapıdaki proteinlerdir. Kontraktil proteinler: Kasılabilen veya kendi kendine hareket etme yeteneğine sahip olan proteinlerdir. Miyozin ve aktin, iskelet kaslarının kontraktil sisteminde görev görür. Tubulin, hücre iskelet elemanlarını oluşturan proteindir. Yapısal proteinler: kırılgan ve kıkırdağın temel kısmını, gerilebilen kollajen oluşturmıştır.

Ligamentler, gerilme özelliğine sahip yapısal bir protein olan elastin içerirler. Saç, tırnak ve tüyler, keratin özelliği bulundurlar. İpek liflerinin ve örümcek ağlarının temelinde fibroinler vardır. Savunma proteinleri: canlıları başka popülasyonlar tarafından ele geçirilmesine karşı koruyan, canlıyı hasardan koruyan proteinlerdir. İmmüoglobülinler, omurgalıların renksiz kan hücreleri tarafından yapılan, özgülleşmiş proteinlerdir; canlının vücudunu kontrol altına alan bakterileri, virüsleri ya da başka popülasyona ait tanınmayan proteinleri tanıyabilirler ve uzaklaştırılabilirler. Fibrinojen ve trombin kan pıhtılaşmasında görev alan proteinleri, damarsal sistem bir zarar gördüğünde zarar gören yerin trombositler ile kapatılarak kan kaybının önlenmesini sağlarlar. Düzenleyici proteinler: hücresel yapılanma veya fizyolojik aktiviteye yardımcı olan proteinlerdir. İnsülin, büyüme hormonu düzenleyici hormonlara örnek verilebilirler. Hormonal sinyal için hücresel cevaba, sıklıkla G proteinler denen, GTP-bağlayan proteinler sınıfı yardımcı olur. Bazı düzenleyici proteinler, DNA'yı sarar; diğer proteinler: Görevleri henüz fazla bilinmeyen ve basit bir şekilde sınıflandırılmayan proteinlerdir (Anonim 2019c).

Kanser çağımızda giderek önemi artan bir sağlık sorunu durumundadır. Ölüm sebebi olarak, kalp ve damar hastalıklarından dolayı ölümlerin hemen ardından gelmektedir. Batı toplumlarında bir yılda 250-350 kişiden biri kanser hastası olmaktadır. 60 yaşın üzerindeki kişilerde kanser hastası olma durumu sıklığını artırmaktadır 300 kişide 4-5 kişi sayısına yükselmektedir. Ülkemizde kesin istatistikler bulunmamaktadır her yıl hasta olanların popülasyonuna eklenen yeni vakaların göstergesi bu sayıların yarısı kadar olduğu tahmin edilmektedir. Kanser, bazı faktörlerle değişime uğramış hücrelerin, lokal ve uzak bölgelerde kontrolsüz olarak çoğalıp büyümelerinin sonucunda oluşan habis hastalıklar grubudur. Normalde hücreler kontrol altında, gerek duyulduğu kadar bölünerek çoğalırlar. Hücreler programlı ölüm yani "apoptoz" ile yok olurken aynı

zamanda büyüme faktörlerinin hücre üzerindeki etkisiyle çoğalırlar. Büyüme faktörleri DNA'daki farklı genlerin etkisiyle oluşan proteinlerdir. Bu genler mutasyona uğrayarak hücrelerin çok fazla büyümesine neden olunursa, kanser oluşur ve bu genlere de "onkogen" denir (Anonim 2018a)

Kanser, var olması uzun süren bir hastalıktır. Kanserın başlangıç dönemlerinde fark edilip teşhis edilmesi tedavisinde kolaylık sağlar. Hücrelere, mutasyonun erken dönemlerine müdahale edilebilirse kanser çoğalmadan gelişimi durdurulabilir (Auyang 2006). Kanserın tanımlanmasında kullanılan bilinen yöntemlerde, X-Ray veya CT taramalar ile organlardaki gelişmeler ve değişimlerin varlığı tespit edilir. Kuşkulu durumlarda biyopsi yapılarak kanserin varlığı netleştirilir. Bu yollarla erken tanı çok mümkün değildir. Pek çok durumda tümör/ur 1cm çapa ya da yaklaşık 1 gr ağırlığa ulaştığında ancak görünür hale gelebilir. Bu durumda kanserli hücre sayısı yaklaşık olarak 108'dir. Kanserli hastaların 2/3'si ancak ölümcül duruma geldiğinde varlığı belirlenmiştir (Wang 2004). Alışılmış hastalığı teşhis etme yollarında karşılaşılan problemler, bu yolların verimliliğini azaltır. (Ehdaie 2007)

Prostat ceviz büyüklüğünde bir salgı bezidir ve erkeklerde idrar torbasının (mesanenin) hemen altında bulunur. İdrar kanalının üst kısmı, prostatın ortasından geçer. Prostat bezinde sıvı bir kısım üretilir, bu sıvı ejakülasyon sırasında meniyle temas kurarak spermilerin hareketli kalmasını sağlar. Prostat basit yapıli beze dokusundan oluşmuştur. Bu dokularda prostat kanseri oluşabilir. İsviçre'de yılda bir aşağı yukarı 5600 erkek prostat kanseriyle karşı karşıya kalmaktadır. Hasta olan kişilerin sayısı prostat kanserinin çok fazla rastlanan kanser türü olduğunu göstermektedir: Kanser hastalığına yakalanan erkek bireylerin %30'u prostat kanseridir. Bu kanser türü çoğunlukla yaşlı bireylerde görülen tipik bir yaşlılık kanseridir. Hastaların çoğunluğu 50 yaş üzerindedir, 70 yaşından büyük olan hastaların oranı %60'a kadar ulaşır. Bu oranlara bakılarak söylenilebilir ki 75 yaşından büyük olan erkeklerin aşağı yukarı yarısında prostat kanseri bulunmaktadır.

Lakin hastaların çoğunluğu tümörün varlığını hiç hissetmez, çünkü tümör rahatsızlık verebilecek kadar büyük değildir. Prostat bezinde oluşan tümörlerin birçoğu, uzun zaman rahatsızlık vermez ya da çok az rahatsızlık verir. Bundan ötürü prostat kanseri hastaların

büyük çoğunluğu hasta henüz rahatsızlık hissetmiyorken, erken teşhis muayeneleri sırasında fark edilmektedir. Tümör eğer idrar kanalına baskı yapacak kadar büyükse, idrar yapmada zorlanma görülebilir. Yaşlı erkeklerde prostat kanseri olmadan da bu belirtilere benzer sıkıntılar sürekli ortaya çıkmaktadır. Çoğu zaman bu sıkıntılara iyi huylu bir prostat büyümesi yol açar (Anonim 2018b)

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Posey et al. (1986), Milattan önce 16.yy.'da bulunan papirüs olarak bilinen böceklerin tıpta iyileştirici nedenle kullanıldıklarından söz edilmiştir. Bu nedenden dolayı yazılan en eski kayıtlar Çin'dedir. Çinliler takriben 3000 yıldır böcekleri insanların rahatsızlıklarını iyileştirebilmek için kullanmaktadırlar.

Feng et al. (2009), Geleneksel tıpta böcek yapıları, yumurtaları, yumurta korteksleri, böceğin derisi ve salgıları hastalıkların iyileştirilmesinde kullanılabilmektedir. Şimdiki ekosistemde 14 takım ve 63 familyaya ait 300'den çok böcek popülasyonunun geleneksel Çin tıbbında tedavi etmek amacıyla kullanıldığı saptanmıştır. Tüm dünyanın yerel topluluklarında tıpta kullanılan böceklerden tespit edilen maddelerin tecimsel olarak kullanılmasında mühim bir rol oynamıştır. Fakat bu bilgilerin ve uygulama biçimlerinin kuşaktan kuşağa sözlü anlatımla geçmesi bazı tedavi edici yöntemlerin körelerek yok olmasına neden olmuştur.

Costa-Neto et al. (2005), Uzun yıllardan beri varlığı bilinen böcekler ve bu böceklerden elde edilen özgün moleküller özellikle Doğu Asya, Afrika ve Güney Amerika'nın çok fazla kısmında hastalıkları iyileştirmek maksadıyla kullanılmaktadır.

Oudhia (2002), Hindistan'da geleneksel tedavi edici yöntemlerle uğraşan insanlarla yapılan bir çalışmada, kanamalı yaralanma olaylarında kanamayı durdurmak için bir tür bitkisel karışımın iyileştirmek amacı ile kullanıldığı ve bu karışımın temel maddesinin canlı olarak elde edilen ve ezilerek kullanılan ateş böceklerinin oluşturduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, sıklıkla kullanılan başka bir yöntem ise çocuklarda fazlaca rastlanan soğuk havaların sebep olduğu kulak ağrılarının tedavisi için kullanılması da dikkat çekmiştir. Ezilen ateş böceklerinin üzerine yalancı tespih ağacı yaprağının sıvısı konularak ağrıyan kulağa uygulandığı belirtilmiştir.

Costa-Neto (2005), 17. yy. Avrupa'sında Mayıs böceği [*Melolontha vulgaris* Linnaeus (Coleoptera, Scarabaeidae)] larvasının vücut suyunun bölgesel olarak romatizmal ağrıların tedavi edilmesinde, yara ve sıyrıkların iyileştirilme sürecinde kullanıldığı bildirilmiştir. Bunların yanında, olgunlarının şarap içerisine batırılarak tüketildiğinde kansızlığa iyi geldiği saptanmıştır.

Meyer-Rochow (2013), Kuzey Kore'de Mayıs böceği [*Melolontha vulgaris* Linnaeus (Coleoptera, Scarabaeidae)] yumurtalarından yeni çıkmış larvaların epilepsi hastalığının iyileştirilmesi ilk etapta kızartılıp daha sonra ezilerek yemeklerden önce günde 2–3 kez yenildiği bildirilmiştir.

Costa-Neto (2005), Cezayir, Anadolu ve Avrupa'da uzun zaman süresince yaraların iyileştirilmesinde, özellikle Scarites cinsinde var olduğu bilinen böceklerin mandibulalarından, açık yaraların birbirlerine tutturulmasında bir nevi dikiş gibi faydalandığı bilinmektedir. Ayrıca, mandibular sıvılar bakterileri fiziksel ya da kimyasal tesirle öldüren mühim bir etken olduğundan açık yaraların enfeksiyon kapmalarını da engellediği saptanmıştır.

Dossey (2010), Avrupa ve Çin'de alışkanlık edilen ve tıpta eski zamanlardan beri kullanılan en iyi bilinen numune İspanyol sineğidir [*Lytta vesicatoria* Linnaeus (Coleoptera: Meloidae)]. Bu böceklerin vücut sularında, insanların derilerinin kabarmasını sağlayan ve tahriş eden kantaridin isimli bir madde bulundurmaktadır. Bu böcekler huzursuz edildiklerinde zararlardan korunmak amacıyla tahriş edici vücut sıvılarını bacaklarındaki eklem boşluklarından dış ortama salarak zarar verici etkiyi uzaklaştırmaya çalışırlar.

Costa-Neto (2005), Kantaridin maddesi omurgalı hayvanların ürogenital işleyişlerinde etkilere sahip bir madde olduğundan dolayı geçmiş zamanlar da afrodisyak olarak kullanıldığı saptanmıştır. Hipokrat'ın vücudunda ödem barındıran hastalarının ödemlerini uzaklaştırabilmek için bu böceği kullandığı bilinmektedir. Lakin kantaridin maddesi çok zehirli bir maddedir. Vücuda alındığında önemli bağırsak, mide ve böbrek iltihaplarına sebep olmakta ve hatta 30 mg kadar olan çok az bir miktarı bile ölümcül olabilmektedir.

Tüm bu zarar verici etkilere rağmen İspanyol sineği hala Meksika’da kurutularak kullanılmak amacıyla satılmaktadır.

Dossey et al. (2010), Böcekler ürettikleri zehir etkisi sağlayacak toksik maddeler ve ilaç için referans teşekkül etmeleri nedeniyle oldukça önemlidirler. Avcılarını kendilerinden uzağa göndermeleri ya da avlarına inme inmesi gibi etkileri kullandıkları bu maddeler insanlar üzerinde bazı fizik yapılarında etkilere sahiptir. Örneğin hücreler üzerinde özel tahrip edici etkisi olan zehirli maddelerin hücre öldürme özelliğine sahip olduğu saptanmıştır. Meloidae familyasına ait böceklerden elde edilen zehirli maddelere en güzel örnek kantaridin verilebilir. Kantaridinin sebebiyet verdiği derideki alerjik durumlar bu molekülün münasebet kurduğu yerlerdeki hücreleri yok etmesinden dolayı tayin edilmiştir. Bu spesifik özelliklerinden dolayı hala kanser tedavilerinde kullanılmaktadırlar.

Conconi and Pino (1988), Meksika’da *Aegiale hesperiaris* Walker (Lepidoptera, Hesperidae)’in yumurtalarından çıkan larvaların canlı yenilerek mide hastalıkları ve romatizmal rahatsızlıkların iyileştirilmesinde kullanıldığı saptanmıştır. *Phasus* spp. (Hepialidae) larvalarının çocuklarda görülen dizanteri gibi baş gösteren mide ve bağırsak hastalıklarının iyileştirilme sürecinde kullanıldığı bunun yanında bir tür krem yapılarak vücut açılmalarına ve deri kurumalarına karşı kullanıldığı anlatılmıştır.

Oudhia (2002), Hindistan’da yapılan bir çalışmada *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) yumurtadan çıkan larvalarının 50’den fazla hastalığın iyileştirilmesinde kullanılan bitkisel droglara eklendiği belirlenmiştir. Bu larvaların içerisindeki su kurutularak ezildikten sonra ateş, halsizlik ve sinir bozukluğu gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bunun yanında, vücut sıvılarının kanamalı yaralarda kanamanın durdurulmasında ve saç sağlığını düzenlemede ve tamirinde kullanıldığı tasrih edilmiştir.

Singh et al. (2002), İpek böceği [*Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera:Bombycidae)]’nin 3000 yıldır Çin de rahatsızlıkların alışkanlık edilmiş tedavi sürecinde kullanıldığı, bilhassa doğal olarak dünya boyunca topraklarda büyüyen ve çeşitli böcek türlerinde parazit olarak görev yapan bir mantar türü olan *Beauveria bassiana* Balsamo-Crivelli

(Hypocreales, Cordycipitaceae) enfekte durumundaki İpek böceği yumurta larvalarının yüz inmesi, bronşial astım ve inmeli hastaların iyileştirilmesinde kullanıldığı belirtilmiştir.

Ranjit Singh et al. (2004), Hindistan'da Kadife karıncaların [*Dasymutilla occidentalis* Linnaeus (Hymenoptera, Mutillidae)] nemi alınarak yani kurutulup toz haline getirilerek sakinleştirici ve spazm çözücü olarak kullanıldığı belirtilmiştir. Aynı zamanda, kurutulmuş böcek tozunun balla karıştırılarak inme inmiş hastaların tedavisinde aynı zamanda ruhsal hastalıkların tedavisinde de kullanıldığı belirtilmiştir. Yuvalarını kurumuş yapraklardan oluşturan dokumacı karıncaların [*Oecophylla smaragdina* Fabricius (Hymenoptera, Formicidae)] yumurtalarının kazıklı humma, şiddetli ateş ve malarya gibi hastalıkların iyileştirilmesi için kullanıldığı belirtilmiştir.

Conconi et al. (1988), Arılardan elde edilen bal, arı zehiri, balmumu ve propolis uzun senelerden beri istimal edilen mühim deva kaynaklarındandır. Bunların içerisinde en çok kullanılanı münakaşasız baldır. Bal krem şeklinde ciltteki yara ve kızarıklıkların iyileştirilmesinde kullanıldığı gibi gözü enfekte etmiş mikrobun tedavisi içinde alternatif tıpta kullanılmıştır. Bununla beraber, anjin, bronşit, nezle, öksürük, boğaz enfeksiyonu, verem ve akciğer hastalıklarının iyileştirilmesinde de baldan önemli oranda yarar sağlandığı belirtilmiştir.

Costa-Neto (2005), Eklembacaklılardan olan arıların kovanlarını tamir edebilmek için dış çevreden topladıkları propolis çok uzun yıllardır insanlarca natural bir iyileştirme yolu olarak kullanılmıştır. Yara ve yanıklar için mikropları kırma özelliği ve yangı yapımını durdurucu bir etmen olarak kullanılması en bilinenidir. Diğer bir arı eseri olan balmumunun yakılmasıyla ortaya çıkan dumanının mühim bir iyileştirici madde olduğu, bu dumanla iyileşmek isteyen kişilerin banyo yaptırıldığı diğer bir yolda ise dumanı nefesle içine çektikleri bildirilmiştir.

Oudhia et al. (2002), Sinek yumurtalarından çıkan larvaların uzun zamanlardan beri yaraların iyileşmesinde yardımcı olarak kullanılmıştır. Bu sinek larvalarının yarada bulunan ölü hücrelerden oluşan dokuları hızlı bir şekilde temizleyip bununla beraber hastalığa yol açan mikroplara karşı koruma sağladığı saptanmıştır. Hindistan'da ev sineği

[*Musca domestica* Linnaeus (Diptera, Muscidae)]'nin bazı bitkilerle harmanlanarak soğuk ateşin ve kelliğin iyileştirilmesinde değerlendirilebileceği bildirilmiştir.

Hou L. et al. (2007), Ev sineği (*M. domestica*) yumurtalarından çıkan larvalarından elde edilen etken maddelerin gram boyama tekniğinde kullanıldığı gram pozitif ve gram negatif bakterilere etki ettiği saptanmıştır. Coleoptera ve Hymenoptera takımına ait kimi böceklerde belirlenen içeriklerde bakteriler ve küfler gibi mikropların varlığını azaltma gücüne sahip özelliklerinde var olduğu belirlenmiştir. Arıların kovanları onarabilmek için ürettikleri propolis bu duruma örnek verilebilir. Arılar ve karıncalar gibi aktif böceklerin yuva yapımında kullandıkları salgılarının da bakteriler ve küfler gibi mikropların varlığını azaltma gücüne sahip özelliklerinde oldukları belirtilmiştir.

Valachova et al. (2013), İyileşmeyen yaralar yeryüzündeki canlılarda büyük bir sağlık sorunudur. Bu denli iyileşmeyen yaralarda birden fazla mikrop cinsinin sebep olduğu ve bu durumun yaranın iyileşmesini geciktirdiği bilinen bir doğru olmuştur. Şimdiki dönemde iyileşmeyen yaraları tedavi etmeye karşı izlenen yol antibiyotik olmuştur. Ancak bakterilerin antibiyotiğe dayanmalarından ötürü etkili olmadığı görülmüştür. Bu gibi benzer durumlarda kurtçuklarla tedavinin güzel ve iyileştirici sonuçlar vermesi bu yöntemin araştırılması artırmıştır.

Whitaker et al. (2007), Günümüzde kullanılan modern tıbbın sağlıklı sonuçlar vermediği durumlarda insanlar genellikle yıllar önceki çağlardan şimdiki zamana kadar kullanılan geleneksel tıp uygulamalarına yönelmektedirler. Bu tıp yöntemlerinden birisi de kurtçuklar kullanılarak yapılan tedavi yöntemidir. Fazlaca zarar görmüş dokuların sinek kurtçukları kullanılarak vücuttan uzaklaştırılması işlemine larval terapi denilmektedir. Bu tedavi edici yöntemin tesirli, emniyetli ve kolay olması neden bu yöntemin kullanıldığı hakkında bilgi vermektedir. Larval tedavi sürecinde fazla kullanılan sinekler *L. sericata*'nın da dahil olduğu calliphoridlerdir.

Tuğcu vd. (2009), Larval tedavi yolu yöntemi yara etrafına yaranın büyüklüğüne göre gerekli sayıda yerleştirilen mikroplardan arındırılmış *L. sericata* larvaları ile yara temizliği temelinden beslenen bir yöntemdir. Mikroptan arındırılmış bir bölgede yetiştirilen larvalar, nekroz görünümünde olan ve enfekte olmuş açık yara bölgesine

yerleştirilip, yaranın üzeri sıvı ile temas ettiğinde jelleşen ve yaraya nemli ortam sağlayan örtü ile kapatılır. Daha sonra günlük muayene edilir ve gerektiğinde larva değişimleri nekroz görünümünde olan yaranın bitimine kadar tedaviye devam edilir.

Parnes et al. (2007), Nekrotik ve enfekte yara dokusu üzerine konulan larvalar hastalıklı yara dokusunu temizlemek için bir enzim salgılar. Bu enzim kurumuş ve çürümüş hatalıklı dokunun azda olsa sulu bir ortam haline dönüşmesini bu sayede de larvalar tarafından sindirilebilir hale dönüştürülmesini sağlar. Larvaların, kendilerini hastalık yapıcı etkilere karşı savunmak için kullandıkları vücutlarında bulunan bakteriler ve küfler gibi mikropların varlığını azaltma gücüne sahip maddeleri beslenme sırasında ağız salgılarıyla yara dokusuna salarlar. Böylelikle yara bakteriler virüsler ve parazitlere karşı korunmuş olur. Ağız salgısından salgılanan maddeler yara bölgesinin pH'sını değiştirerek alkali hale getirirler böylelikle bakteri çoğalmasının engellendiği düşünülmektedir.

Medhi vd. (2008), Balı, insanlar öncelikle beslenmek amacıyla tüketmektedirler fakat beslenme amacından daha çok bir ilaç olarak düşünülmüştür. Bugün balın Bakterilerin yaşamasını durduran veya üremesini önleyen kimyasal madde özelliği, yara ve yanıkların iyileştirilmesinde değerlendirilmesi bu özellikleri sayesinde bir kez daha önem kazanmıştır. Örneğin bal ve limon karışımının boğaz ağrılarını iyileştirici bir etki sağladığı bilinmektedir. İlmi olarak yapılan araştırmalarda limonda bulunan C vitamininin bedenin savunma sistemini güçlendirdiğini dış etkilere karşı direnç gösterdiğini, boğaz ağrısına neden olan bazı bakterilerin *Streptococcus pyogenes* gelişiminin engellenmesi de balın sağladığı önemli bir etki olduğu belirtilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Malzemeler

Sample buffer, running buffer, transfer buffer, marker, %12'lik jel, RIPA lizis buffer, Nitroselüloz membran, kurutma kağıdı, yağsız süt tozu, sekonder antibody, ECL, peroksit solüsyonu, TBS, Tween20, Ac./Bis, %10 APS, TEMED, Tris-CI, NaCl, KCl, Tripsin-EDTA, Tripa-blue, WST-1 canlılık ve yayılım maddesi, Penisilin streptomisin solüsyonu, FBS (fetal bovine serum), SDS, %10' luk TCA (Trikloroasetik asit), DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Media), %70'lik ve %95'lik etil alkol, metanol, DMSO (Dimetil sülfoksit), PBS, (Phosphate buffer saline), antikorlar (GABDH, Caspase-3 ve CYT-c), 15 ml santrüfjü tüpleri, 50 ml santrüfjü tüpleri, çeşitli ebatlarda edendorf tüpleri, çeşitli ebatlarda otomatik pipetler, Homojenizatör (Hücre parçalama tüpü). Thoma lamı, 25 cm ve 75 cm'lik flasklar, çeşitli ebatlarada serolojik pipetler, 96-kuyucuklu plateler,

3.2. Metod

3.2.1. Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

3.2.1.1. DPPH Aktivitesinin Belirlenmesi

1 mg/ml yoğunluğunda hazır hale getirdiğimiz böcek protein özütlerinin (0,3 ml) içeşisine, litrede 6×10^{-5} mol olacak şekilde hazırlanan DPPH radikali içeren 2,7 ml metanolik solusyon elde edildi. Elde edilen bu solusyon güçlü bir şekilde karıştırılarak 60 dakika ışık görmeyen bir bölgede bekletildi. DPPH radikalının azalması 517 nm'de

absorbsiyonunun ölçülmesi ile belirlendi. Bu radikalın etkinliğinin giderilmesi çalışmaları çeşitli araştırmacıların daha önce ortaya koydukları yöntemleri takip ederek yapıldı. Radikalın etkinliğinin giderilmesi için böcekten elde edilen ekstarkt ile radikal karıştırılarak spektrofotometrik olarak okuma yapıldı ve bu okuma sonucunda DPPH'nın renginin giderilmesi ile etkinliğin miktarı hesaplandı (Hatano et al. 1988).

3.2.1.2. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Metal şelatlama aktivitesine demir şelatlama özelliği üzerinden bakıldı. Dinis, Madeira ve Almeidam (1994) metoduna göre yapıldı. , bu metoda göre özellik belirlenmesi kısaca; her bir 0,5 ml ekstrakt'a 1,6 ml deiyonize su ve 0,05 ml 2 mM FeCl₂'den eklenerek başlandı. 30 saniye sonrasında 5 mM Ferrozine'den 0,1 ml eklendi. Ferrozine iki değerlikli demir ile rekasiyona girdiğinde suda çok iyi çözünür hale geldi. (Kimyasal olarak tepkime verdiğiinden dolayı küçük patlamalar il reaksiyon verdi) Bunu takiben 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi karışımın Fe⁺² Ferrozine kompleksinin absorbansı 562 nm.'de ölçüldü. Böylelikle ekstraktın demiri şelatlama aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (Yu, et al. 2004).

$$\text{Şelatlama Oranı} = (A_0 - A_1) / A_0 \times \%100;$$

Burada **A₀** kontrol ya da körün absorbansı, **A₁** ise ekstraktın varlığında ölçülen absorbans değeridir.

3.2.2. Anti Kanser Aktivitesinin Belirlenmesi

3.2.2.1. Hücreler

PC3 hücre hattı Bingöl üniversitesi merkezi laboratuvarında -80°C den temin edildi.

3.2.2.2. Medyum Hazırlama

500 ml DMEM, 50 ml Fetal Bovine Serum, 5 ml, penicilin-streptomisin medium içinde bulunduğu kapta iyice karıştırıldı. Gerek duyuldukça aynı oranda gerekli maddeler karıştırıldı böylelikle medium hazırlandı.

3.2.2.3. Hücre Kültürü

-80°C de saklanılan PC3 hücreleri DMEM besiyeri içerisinde, %5 CO₂'li Etüvde 37°C'de 2 veya 3 günde bir pasajlanarak çoğaltıldı.

3.2.2.3. WST-1 Tuzu ile Hücre Canlılığı Analizi

Diğer 96 kuyucuklu plate alınarak ters mikroskopta incelendi ve bu hücrelerin yeterince çoğaldığından emin olunduktan sonra her bir kuyucuğa böcek protein ekstraktlarından 5-100 µg/ml arası konsantrasyonlarda her kuyucuğa eklendi ve 48 saat inkübe edildi. Kontrol olarak sadece medium hücrelere uygulandı. 48 saat sonunda her bir kuyucuğa 15 µl WST-1 maddesi eklendi. Hücreler %5 CO₂'li inkübatörde 37°C 4 saat inkübe edildi. 4 saat inkübasyondan sonra 96 gözlü plate ELISA reader cihazına yerleştirildi ve her bir kuyucuğun 450-630 nm deki absorbans değerleri alındı ve kaydedildi. WST-1 toksisite testinde yaşayan hücreler sarı renk oluşturdu ve ölü hücrelerde renk oluşumu gözlenmedi. Elde edilen toksik etki aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\% \text{İnhibisyon} = [1 - (\text{Test-MI}) / (\text{MO-MI})] \times 100.$$

3.2.3. Protein Özütünün Hazırlanması

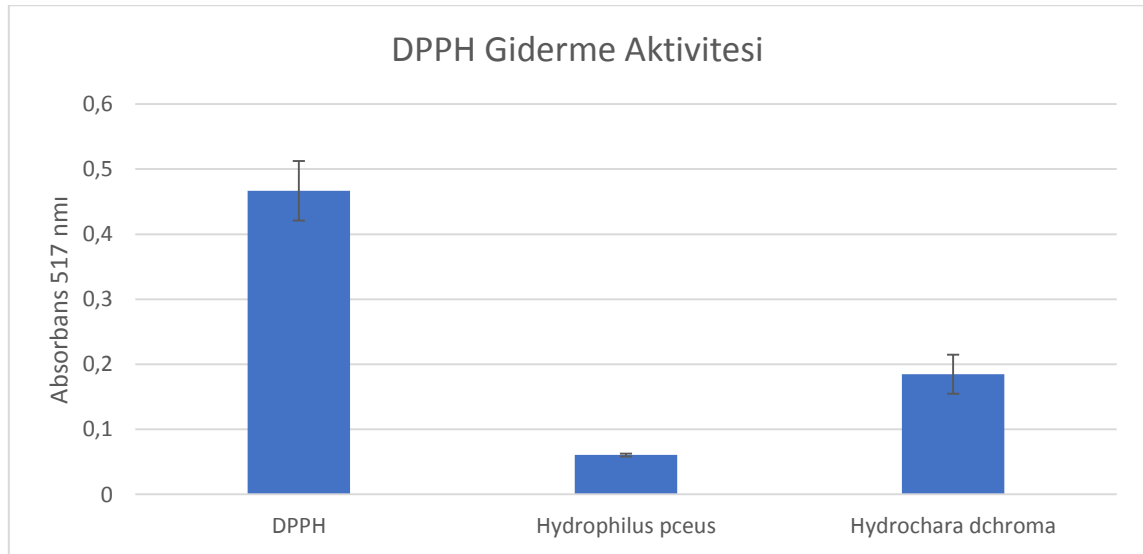
Hydrochara dichroma ve *Hydrophilus piceus* böcek türleri -80°C'den alınarak 2 gr olacak şekilde tartıldı ve havan içerisinde büyük parçalar kalmayacak şekilde ezildi bir sonraki aşamada falkonların içerisine alınarak üzerine 4 ml %10'luk TCA eklenerek homojenizatör (Hücre parçalama tüpü) de iyice parçalandı. Daha sonra üzerine 1 ml daha %10'luk TCA eklenerek 50 dk 4,000 RPM'de soğutmalı santrifüj de santrifüjlendi. Süpernatant kısmı çekilerek atıldı ve pellet kısmı 3'er tekrar 10 dk boyunca 3,500 RPM'de dönerek 5 ml %95'lik etil alkolle yıkandı ve suyunu tamamen kaybetmesi için 37 °C'de etüvde bekletildi. Suyunu tamamen kaybederek kuruyan numune havanda iyice ezildi ve üzerine 2 ml saf su konuldu 15 dk 37 °C'de etüvde bekletildi ve 15 dk 4,500 RPM'de santrifüj edildi. 100µl'si bradford için kullanıldı. Kalanının üzerine 2 ml %95'lik etil alkol eklendi ve 1 gece 37°C'de bekletildi. Bir sonraki gün santrifüj de 1 saat 4,500 RPM'de santrifüjlendi alkolden tamamen kurtulmak için ve protein özütlerinin kuruması için 37°C'de bekletildi. Alkolden tamamen kurtulan çökelti bir sonraki aşamada ince bir spatül yardımıyla tüp içerisinde dövülerek toz haline getirildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Antioksidan Test Sonuçları

4.1.1. DPPH Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

DPPH Ticari olarak elde edilebilen kararlı organik nitrojen radikalidir. Ekstraktların antioksidan kapasitesini ölçmede kullanılan bir yöntemdir. Antioksidan tarafından DPPH serbest radikale proton transferi reaksiyonu 517 nm’de absorbansın azalmasına sebep olur. Bu metot görünür alanda spektrofotometre ile absorbans sabitlenene kadar devam eden bir yönleme dayanmaktadır (Okan vd. 2013).



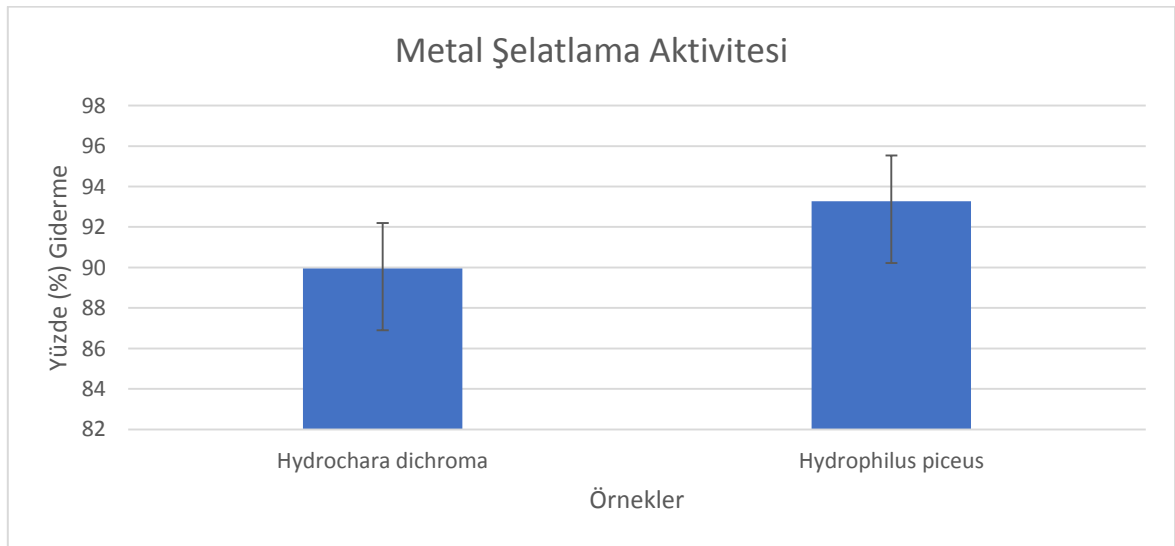
Şekil 1. DPPH giderme aktivitesi’ni gösteriri çizelge

4.1.2. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Metal şelatlama aktivitesine demir şelatlama özelliği üzerinden bakıldı. Dinis, Madeira ve Almeida (1994) metoduna göre yapıldı. ,bu metoda göre özellik belirlenmesi kısaca; her bir 0,5 ml ekstrakt'a 1,6 ml deiyonize su ve 0,05 ml 2 mM FeCl_2 'den eklenerek başlandı. 30 saniye sonrasında 5 mM Ferrozine'den 0,1 ml eklendi. Ferrozine iki değerlikli demir ile rekasiyona girdiğinde suda çok iyi çözünür hale geldi. (Kimyasal olarak tepkime verdiğiinden dolayı küçük patlamalar il reaksiyon verdi) Bunu takiben 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi karışımın Fe^{+2} Ferrozine kompleksinin absorbansı 562 nm.'de ölçüldü. Böylelikle ekstraktın demiri şelatlama aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Şelatlama Oranı} = (A_0 - A_1) / A_0 \times \%100;$$

Burada A_0 kontrol ya da körün absorbansı, A_1 ise ekstraktın varlığında ölçülen absorbans değeridir.

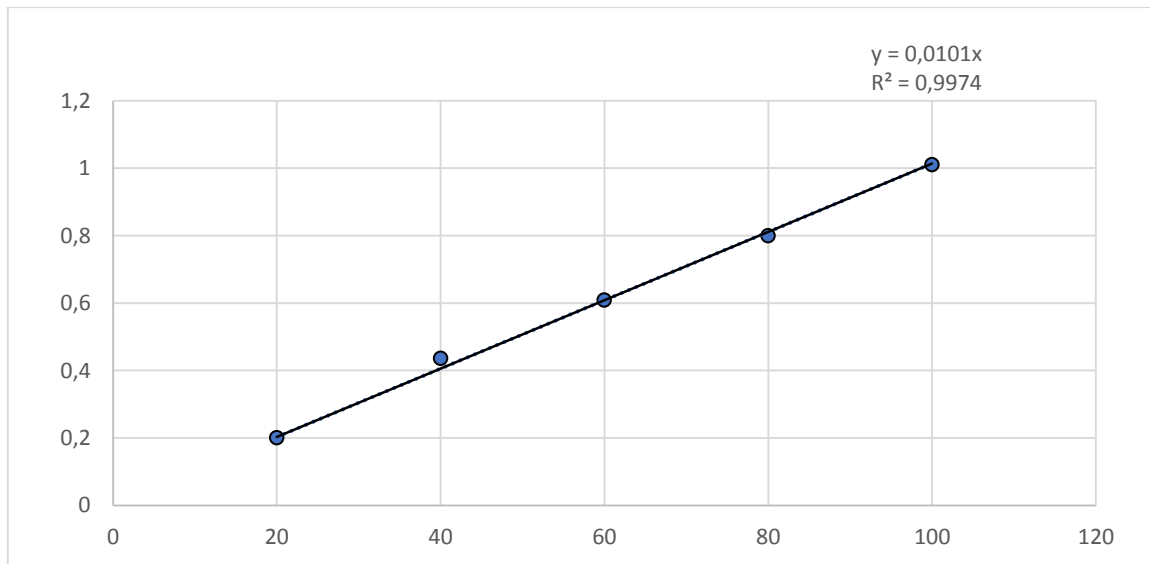


Şekil 2. Metal Şelatlama aktivitesini gösterir çizelge

4.2. Antikanser Test Sonuçları

4.2.1. Bradford Yöntemi İle Total Protein Tayini

Bradford protein tayin yöntemi, Coomassie Brilliant Blue G-250 boya molekülünün, proteinin bulunduğu ortamlarda ve asidik ortamda, absorbans kaymasına dayanmaktadır. Bu absorbans kayması yani ışık demetinin bir maddeden geçerken ışığın madde tarafından emilen kısmı, diğerlerine göre daha kırmızı yapıdaki boyanın, var olan proteinlere bağlanmasıyla mavi hale dönüşüne dayanır. Burada boya öncelikle eşlenmemiş elektronlarını proteinin iyonlaşabilen gruplarına vererek proteinin hidrofobik bölgelerini ön plana çıkarır. Bu esnada proteinin hidrofobik bölgeleri, van der Waals kuvvetleriyle boyanın apolar uçlarına bağlanarak, oluşan mavi kompleksi sağlamlaştırır. Artan protein miktarıyla, oluşan mavi renk artar.. Bu yolda temel olay, boya normal şartlarda 465 nm’de maksimum absorbans verirken, protein ile bağlandığında 595 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermesidir. Sığır serum alümin (BSA) çözeltisi belirli konsantrasyonlarda hazırlanarak, standart çözeltiler hazırlandı. Standart çözeltilerin hepsi spektrofotometrede okutuldu ve absorbans değerleri elde edildi. Bu değerlere göre standart eğri çizildi.



Şekil 3. Bradford protein tayini için standart kalibrasyon grafiği

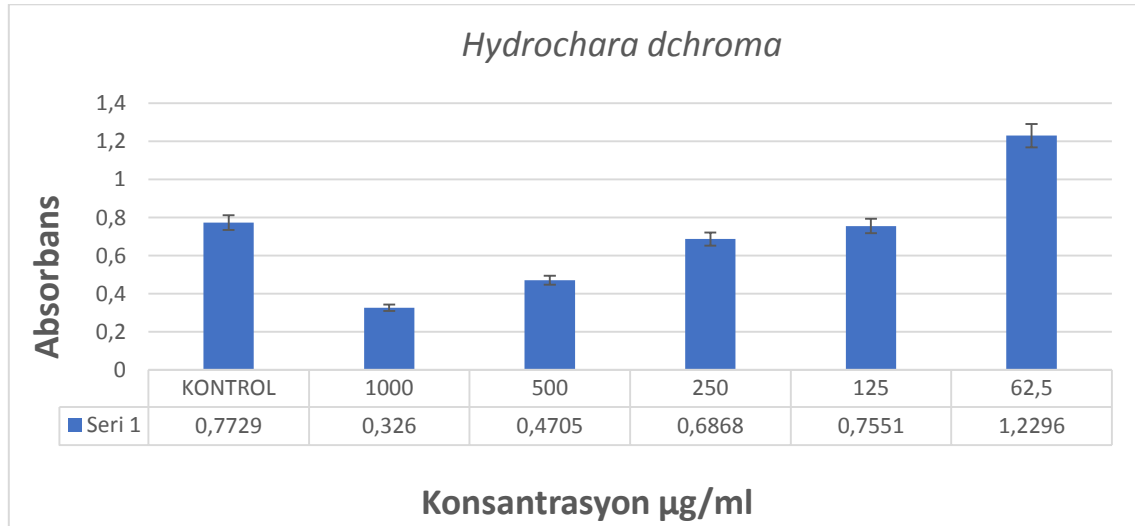
Önceden hazır hale getirilmiş $+4^{\circ}\text{C}$ 'de korunan böcek örneklerinin, spektrofotometrede absorbansları itina ile ölçüldü. Böcek numunelerinin protein miktarları, okunan absorbansların bu regresyon denkleminde yerine konulmasıyla hesaplandı.

Hydrochara dichroma 595 nm'de okunan absorbans değeri 0,4144 nm'dir. Absorbansın regresyon denkleminde yerine konulmasıyla total protein miktarı 41,44 mg/ml olarak hesaplanmıştır.

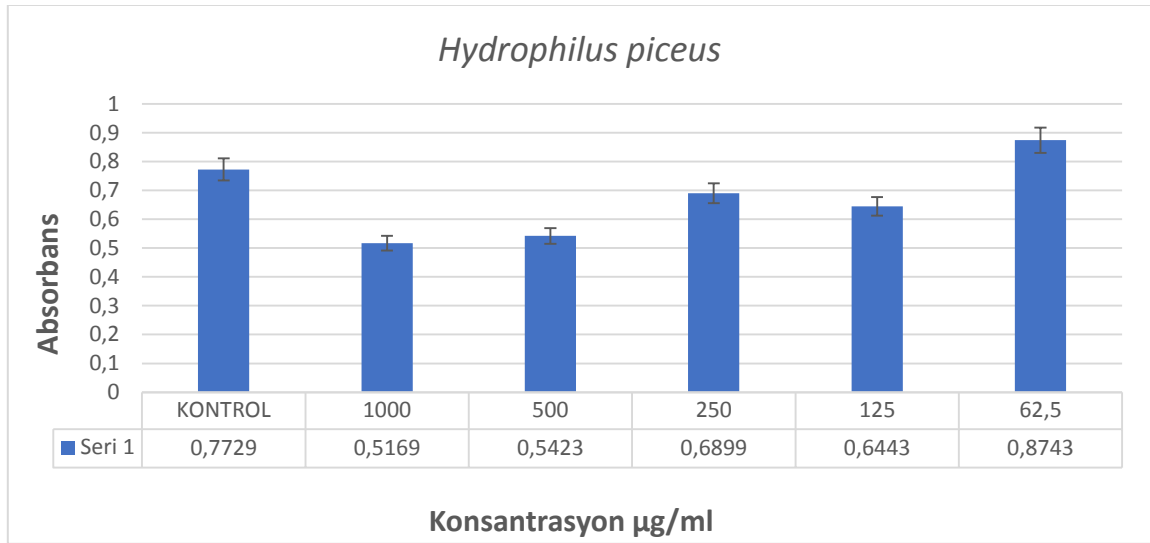
Hydrophilus piceus 595 nm'de okunan absorbans değeri 0,3411 nm'dir. Absorbansın regresyon denkleminde yerine konulmasıyla total protein miktarı 34,11 mg/ml olarak hesaplanmıştır.

4.2.2. WST-1 Tuzu ile Hücre Canlılık Analizi

En yüksek inhibisyon 1000 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda görülmüştür. Bu konsantrasyonu takiben 500 $\mu\text{g/ml}$, 250 $\mu\text{g/ml}$, 125 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonların da inhibisyon görülmüştür.



Şekil 4. *Hydrochara dichroma*'nın farklı konsantrasyonlarda WST-1 tuzu ile yapılan hücre canlılık analizi



Şekil 5. *Hydrophilus piceus*'nin farklı konsantrasyonlarda WST-1 tuzu ile yapılan hücre canlılık analizi

Hydrophilus piceus en yüksek inhibisyon 1000 µg/ml konsantrasyonunda görülmüştür. Bu konsantrasyonları takiben 500 µg/ml, 250µg/ml ve 125 µg/ml konsantarsyonlarda inhibisyon görülmüştür.

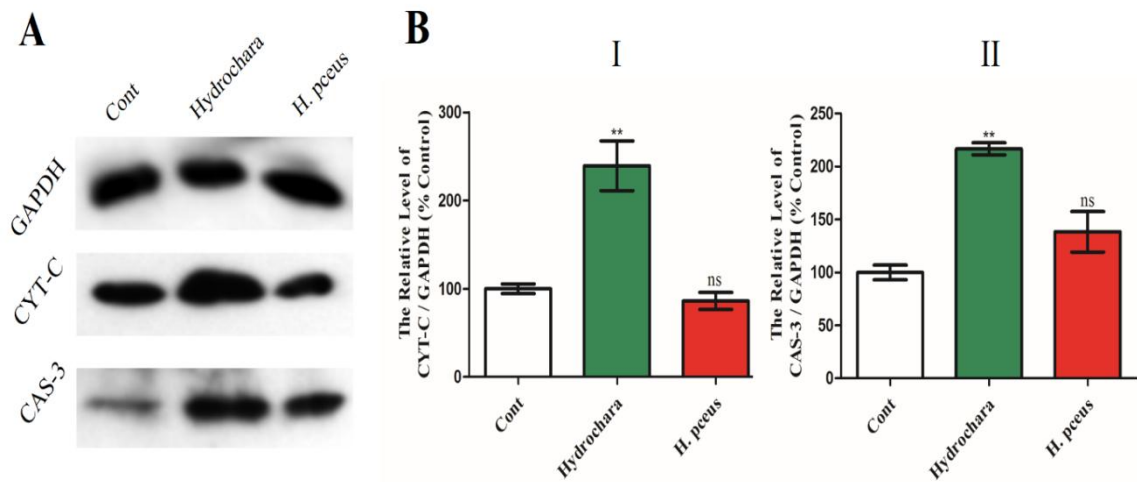
Bu çalışmanın sonucunda konsantrasyonların tümü karşılaştırıldığında en etkin konsantarsyon olarak 1000 µg/ml belirlenmiştir.

4.3. Western Blot Tekniği ile Hedef Proteinlerin Analizi

Prostat kanseri hücreleri olan PC-3 hücreleri 75 cm²'lik flasklara ekilerek hücrelerin flask içinde 3-4x10⁶ olacak kadar çoğalması beklenilerek böcekten elde edilmiş protein ekstraktları 1 mg/ml konsantrasyonda muamele edildikten sonra PBS ile yıkanıp santrifüj edilerek protein izolasyonu için hazır hale getirildi. Takribi olarak 3-4x10⁶ hücre 1:5 (w/v) oranında protein izolasyon kiti yardımıyla soğuk ortamda homojenize edildi. Proteinlerin proteaz aktivitesi ile bozulmalarını engellemek amacıyla homojenizasyon işlemleri esnasında hem proteaz inhibitör kokteyli (PIC) ve PMSF kullanılıp hem de tüm işlemler buz içerisinde yapıldı. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4°C'de 20 dk süreyle 14000 RPM'de santrifüj edilerek ve elde edilen süpernatantlar mikrosantrifüj tüplere alınarak Bradford yöntemi kullanılarak her bir örnek içerisindeki protein

miktarları tayin edildi. Daha sonra western blot deneyleri yapılncaya kadar -80°C 'de saklandı.

Hücre kültürüne ait protein lizatları SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi) tekniği ile %12 konsantrasyondaki jelde yürüterek, devamında kaspaz 3, sitokrom C ve housekeeping olarak GAPDH için Western blot tekniği kullanılarak PVDF membrana aktarıldı ve %5'lik BSA ile 1 saat süresince blotlama işlemi gerçekleştirildi. Sonrasında membranda sabitlenen proteinlere ait bantlar uygun primer antikolar aracılığıyla 3 saat süresince inkübe edilip 5x5 dk olacak şekilde TBS-T (Tris Buffer Saline-Tween20 %0,1) ile yıkama gerçekleştirildi ve primere uygun sekonder ile 1,5 saat inkübe edilip 5x5 dk TBS-T ile yıkama gerçekleştirildi. Daha sonra membran ECL tamponu ile yaklaşık 3-4 dk inkübe edilip membrandaki ışıma sayesinde medikal X-Ray görüntü sabitleme cihazında protein bantları X-Ray filmlere sabitlendi. Daha sonra bu bantların komputeze yazılım programı aracılığıyla sentezlenme miktarları hesaplandı (Image Lab, Bio Rad). Hesaplamada kullanılan yöntem, hedef genlerin housekeeping gen olan beta aktin ile normalize edilmesi ve kontrole göre yüzde değişimi olacak şekilde gerçekleştirildi.



Şekil 6. A. Protein fotoğrafları B. Protein fotoğraflarına göre istatistik analizi yapılmış proteinlerin oransal ifadesi

Western Blot tekniği ile hücrede hücre ölümünü gerçekleştiren protein ürünlerinin analizi gerçekleştirildi. Western Blot tekniğinde yapılan analiz ile kontrol grubuna göre *Hydrochara dichroma* ve *Hydrophilus piceus*'da protein miktarları karşılaştırıldı.

Housekeeping protein olarak GAPDH kullanıldı. GAPDH'e oranla hücre inhibisyonu ve hücre ölümü sağlayan CYT-C ve CAS-3 oranları bilgisayar destekli program ile hesaplandı ve çizelgeye fotoğrafları ile birlikte aktarıldı.

Apoptoz geçiren hücrelerde genel olarak, sitokrom c'nin serbest bırakılmasını takiben mitokondriyal dış zarının geçirgenliğinin (MOMP) artmasını teşvik ile kaspazların salınımını tetiklemektedir. Kaspazlar hücre ölümünde apoptoz için daha çok aracılık etmesine rağmen, kaspaz inhibisyonun sağlanması mitokondriyal dış zarının geçirgenliğinin (MOMP) sonrası hücrenin hayattta kalmasını sağlamak açısından yeterli olmamaktadır. Böylelikle hücrelerde hücre ölümü artık "kaspazdan bağımsız bir hücre ölümü" (CICD) ile gerçekleşebilmektedir. Bu açıdan baktığımızda eğer, MOMP gerçekleşmişse bu durum artık hücre ölümüne gidişi gerçekleştirmiştir. Bu çalışma da CYT-C'nin miktarının artması ve mitokondriden sızması hücrenin apoptoz yoluna girmesine neden olmaktadır (Colell, Ricci et al. 2007).

Kaspazlar olarak adlandırılan proteinler, programlanmış hücre ölümünün (apoptoz) en önemli kritik anahtarıdır. Kaspazlar arasında, kaspaz-3, apoptozda birçok önemli hücre proteininin özel bölgelerinden parçalanmasını kataliz eden, ve böylelikle hücre ölümü aktive eden bir ölüm proteazıdır. Bununla birlikte, apoptozdaki bu (veya başka herhangi bir) kaspazın spesifik gereklilikleri bugüne kadar büyük ölçüde bilinmemektedir. Kaspaz-3 aktivasyonuna giden yollar, mitokondriyal sitokrom-c salımına ve kaspaz-9 fonksiyonuna bağlı veya bunlardan bağımsız olarak tanımlanmıştır. Kaspaz-3 normal beyin gelişimi için gereklidir ve dikkate değer bir doku, hücre tipi veya ölüm uyarıcısına özgü bir şekilde diğer apoptotik senaryolarda önemlidir. Kaspaz-3 ayrıca bazı tipik apoptoz belirteçleri için de gereklidir ve incelenen tüm hücre tiplerinde apoptotik kromatin yoğunlaşması ve DNA fragmentasyonu için vazgeçilmezdir. Bu nedenle kaspaz-3, hücrenin sökülmesi ve apoptotik cisimlerin oluşumu ile bağlantılı bazı işlemler için şarttır (Porter and Jänicke 1999).

Grafikten görüldüğü üzere *Hydrochara dichroma*'ın CYT-C/GAPDH'e oranında bakıldığında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 2,5 katı olarak gerçekleşmiştir. Bu durum bize CYT-C oranı GAPDH'e oranı bakılınca burada yüksek bir CYT-C (sitokrom C) salınımı görülmektedir. Bu mitokondri dış zarlarının geçirgenliğinin artması ile hücre ölümün indüklemektedir ve apoptozis'in oluşumunu açıklamaktadır. Kaspaz'ların indüklenmesi Şekil 6B-II' de gösterilmiştir. Yine Burada CAS3/GAPDH oranı yine kontrol grubu ile kıyaslandığında yaklaşık olarak 2,5 kadar olması bu teoriyi güçlendirmektedir. Bu durumda hücre'nin kendi yollarıyla hücre ölümüne gittiğini açıklmaktadır. Bu apoptoz yolağına uygun bir yapı ile hücre ölümünün gerçekleştirmiş olacağını teorik olarak açıklamaktır.

Hydrophilus piceus'da ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CYT-C'nin GAPDH'e oranı kontrolün CYT-C'nin GAPDH oranına göre yaklaşık %95'i kadar bulunmuştur. Bu oranın düşük çıkmasına rağmen kontrol grubuna (yani böcek proteini eklenmemiş aynı şartlar altında aynı zamanda çoğaltılmış hücreler) kıyasla CYT-C'nin *Hydrochara dichroma*'dan daha düşük miktarda salındığını ve daha az etkin olarak görülmüştür. Ancak kaspaz-3 açısından değerlendirildiğinde *Hydrochara dichroma*'a göre Kaspaz-3 miktarı daha yüksek olduğu muhtemelen hücre ölümünün CICD ile değil MOMP (mitokondriyal dış zarının geçirgenliğinin) artması ile hücre ölümünün gerçekleştiğini göstermektedir. Bu yolağın hücre ölümünü desteklemiş olacağını hücre canlılık testi ile karşılaştırıldığında açıklamaktadır. Ancak proje çevresinde farklı yollarla ilgili çalışma planlanmadığından, bunun kesin kanıtları için DNA fragmentasyon, real time pcr gibi yöntemler ile desteklenmesi gerekmektedir. Ancak bu çalışmanın bütçesi ve kapsamı bunu kapsamamaktadır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu sonuçlar göstermektedir ki; çalışılan her iki türe ait veriler değerlendirildiğinde PC-3 kanser hücre hattında hücre ölümünün kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede gerçekleştiğini WST-1 hücre canlılık testi ile belirlenmiştir. Bu durumu açıklamak için yapılan Western Blot ile protein düzeyleri ile bu ölümün nasıl gerçekleştiği açıklanmaya çalışılmıştır. Her iki türün protein değerlerine bakıldığında protein salınımı ile değerlendirildiğinde her iki türde de farklı bir yolak ile hücre ölümünün gerçekleştiği düşünülmektedir. *Hydrochara dichroma* türüne bakıldığında protein salınımı ile kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Sitokrom c (CYT-C) /GAPDH ve Kaspaz 3 (CAS-3) /GAPDH aktivitesi olarak *Hydrophilus piceus*’ a oranla yüksek bulunmuştur. Bu durum bu türe ait protein ekstraksiyonun hücre yi hem sitokrom c, hem de kaspaz 3 yolağı ile hücre ölümünü desteklemektedir. *Hydrophilus piceus* için ise kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda ise kaspaz-3 (CAS 3)/ GAPDH oranı kontrol grubuna göre yüksek çıkmıştır ancak Sitokrom C(CYT-C) / GAPDH kontrol’den düşük çıkmıştır. Ancak WST-1 Canlılık testinden gördüğümüz üzere bu türe ait protein ekstraksiyonu ile hücre ölümü Kaspaz-3 ve CYT-C aktivitelerine bakarak protein düzeyinde de gözlemlenmiş bulunmaktadır.

Bu çalışma bir yüksek lisans tez çalışması olduğundan dolayı ve BÜBAP’tan desteklenmiştir. Ancak proje çerçevesi içinde gerekli çalışmalar tamamlanmıştır. Hücre ölümü belirlemek için gerekli olan ek çalışmalar için gerekli olan bütçe eksikliği ve süre kısıtlaması ile birlikte konunun genişliği açısından değerlendirildiğinde çalışmanın devamı doktora olarak planlanmış olmasıyla hücre ölümünün hangi mekanizma ile gerçekleştiği, daha farklı antikorlar kullanılarak hangi proteinin daha aktif olduğu ve proteinlerin hangi gen seviyeleri ile olduğu ve hangi yolların etkin olduğu bulunabilir.

Yaptığımız çalışmanın hedefine ulaştığı anlaşılmaktadır. Üzerinde yapılacak daha ayrıntılı çalışmalar ile mekanizmalar açığa çıkartıldıktan sonra doktora çalışmasında model organizma ile in vivo olarak çalışmalara devam edilmesi ile kanser çalışmalarına yardımcı olacağı önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Anonim (2015a) <http://www.entomon.net/insect-facts-and-information.shtml#01>

Anonim (2019a) http://content.lms.sabis.sakarya.edu.tr/Uploads/49144/46358/proteinler_ders_notu.pdf

Anonim (2018a) <https://kanser.org/saglik/toplum/pdf/knadir.pdf>

Anonim (2018b) <https://www.krebsliga.ch/beratung/unterstuetzung/infomaterial/informationen-in-weiteren-sprachen/-dl/fileadmin/downloads/sheets/prostat-kanseri-kanserli-prostat-tumoru.pdf>

Auyang YS (2006) Cancer Causes and Cancer Research on Many Levels of Complexity 2-3

Colell A, Ricci JE, Tait S, Milasta S, Maurer U, Bouchier-Hayes L, Fitzgerald P, Guio-Carrion A, Waterhouse NJ, Li CW, Mari B, Barbry P, Newmeyer DD, Beere HM, Green DR (2007) GAPDH and Autophagy Preserve Survival after Apoptotic Cytochrome c Release in the Absence of Caspase Activation Cell 129(5): 983-997

Conconi JRE, Pino JM (1988) The utilization of insects in the empirical medicine of ancient Mexicans. Journal of Ethnobiology 8: 195–202

Costa-Neto EM (2005) Entomotherapy, Or The Medicinal Use Of Insects. Journal of Ethnobiology 25(1): 93–114

Darılmaz MC, Kiyak S, Short AEZ (2010) Discovery of the water scavenger beetle genus *Brownepphilus* Mouchamps in Turkey (Coleoptera, Hydrophilidae, Hydrophilini). ZooKeys 53: 13–16

Darılmaz MC, İncekara Ü (2011) Checklist of Hydrophiloidea of Turkey (Coleoptera: Polyphaga). Journal of Natural History 45: 685-735

Dinis TCP, Madeira VMC, Almeida LM (1994) Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and peroxyl radicals scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics 315: 161–169

Dossey AT (2010) Insects and their chemical weaponry: New potential for drug discovery. Natural Products Report 27(12): 1737–1757

- Ehdaie B (2007) Application of Nanotechnology in Cancer Research: Review of Progress in the National Cancer Institute's Alliance for Nanotechnology, *International Journal of Biological Sciences* 3: 108–110
- Fikáček M (2009) Order Coleoptera, family Helophoridae. *Arthropod fauna of the UAE* 2: 142–144
- Gentili E, Whitehead P (2000) A new species of *Laccobius* (Col., Hydrophilidae) from Lycia, Turkey. *The Entomologist's Monthly Magazine* 136: 73-76
- Gentili E (2000) Distribuzione del genere *Laccobius* (Coleoptera: Hydrophilidae) in anatolia a problemi relativi. *Biogeographia* 21: 173-214
- İncekara Ü, Mart A, Erman O (2003) Checklist of the Hydrophilidae (Coleoptera) species of Turkey and a new record for the Turkish fauna. *Turkish Journal of Zoology* 27: 47-53
- Hansen M (1987) The Hydrophilidae (Coleoptera) of Fennoscandia and Denmark. *Fauna of Entomologia Scandinavica Denmark* 18: 1-253
- Hansen M (1991) The Hydrophiloid Beetles. Phylogeny, Classification and A Revision of the Genera (Coleoptera, Hydrophiloidea). *The Royal Danish Academy of Science and Letters, Biologiske Skrifter* 40: 368-369
- Hansen M (1999) World Catalogue of Insects Hydrophiloidea (Coleoptera). *Apollo Books* 2: 416-418
- Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, Okuda T (1988) 2 new flavonoids and other constituents in licorice root-their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmacological Bulletin* 36: 2090–2097
- Jäch MA, Balke M (2008) Global diversity of water beetles (Coleoptera) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 419–442
- Kıyak S, Canbulat S, Salur A, Darılmaz MC (2006) Additional notes on aquatic Coleoptera fauna of Turkey with a new record (Helophoridae, Hydrophilidae). *Munis Entomology&Zoology* 1(2): 273-278
- Komarek A (2003) I. Checklist and key to palearctic and oriental genera of aquatic Hydrophilidae. *Water Beetles of China* 3: 383-395
- Lawal OA, Banjo AD (2002) Survey for the usage of arthropods in traditional medicine in Southwestern Nigeria. *Journal of Entomology* 4(2): 104-112
- Maddis DR (2002) Tree of Life Web Project. <http://tolweb.org/tree?group=Coleoptera&=Endopterygota> (22.12.2018) 32-35
- Mart A, İncekara Ü, Karaca H, (2010a) A new species and new records of Hydrophilidae (Coleoptera) from Turkey. *Turkish Journal of Zoology* 34(3): 297-303

Mart A (2009) Water scavenger beetles (Coleoptera: Hydrophilidae) provinces of Central Black Sea region of Turkey. *Journal of The Entomological Reserch Society* 11(1): 47-70

Mart A, İncekara Ü, Hayat R, (2006) Two new records of Hydrophilid (Coleoptera: Hydrophilidae) species of the Turkish fauna. *Turkish Journal of Zoology* 30(3): 267-269

Nilsson AN (1996) *Aquatic Insects of North Europe A Taxonomic Handbook*. Apollo Books 1: 274-269

Oudhia P (2002) Traditional medicinal knowledge about Fireflies, *Photuris* sp. (Coleoptera: Lampyridae) in Chhattisgarh (India). *Insect Environment* 8(1): 2-25

Okan TO, Varlıbaş H, Öz M, Deniz İ (2013) Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler. *Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi* 13(1): 48-59

Porter AG and Jänicke RU (1999) Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death And Differentiation* 6: 99-145

Posey DA (1986) Topics and issues in ethnoentomology with some suggestions for the development of hypothesisgeneration and testing in ethnobiology. *J. Ethnobiol* 6(1): 99-120

Ranjit Singh AJA, Padmalatha C (2004) Ethno-entomological practices in Tirunelveli district, Tamil Nadu. *Indian Journal of Traditional Knowledge* 3(4): 442-446

Short AEZ, Hebauer F (2006) World catalogue of Hydrophiloidea—additions and corrections, 1 (1999–2005) (Coleoptera). *Koleopterologische Rundschau* 76: 315–35

Singh KP, Jayasomu RS (2002) *Bombyx mori*—A Review of its Potential as a Medicinal Insect. *Pharmaceutical Biology* 40(1): 28-32

Tuğtas FO (2003) Kozadan kumaşa ipekbocekçiliği. Bursa
http://www.turkiyeevteksder.com /33_62.htm

Yu W, Zhao Y, Shu B (2004). The radical scavenging activities of radix puerariae isoflavonoids: A chemiluminescence study. *Food Chemistry* 86: 525–529

Wang LV (2003–2004) Ultrasound-Mediated Biophotonic Imaging: A Review of Acousto-Optical Tomography and Photo-Acoustic Tomography, *Disease Markers* 19: 123-138

Whitaker IS, Twine C, Whitaker MJ, Welck M, Brown CS, Shandall A (2007) Larval therapy from antiquity to the present day: mechanisms of action, clinical applications and future potential. *Postgrad Med J* 83: 409–413

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Diyarbakır’da doğdu. İlkokulu ve ortaokulu Saray içi ilk öğretim okulu ve liseyi İMKB Bingöl lisesinde tamamladı. 2010 yılında Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2015 yılında Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2016 yılında Bingöl Kredi Yurtlar Kurumu Kız Öğrenci Yurdunda lokanta kantin bölümünde Biyolog ve İşletici Vekili olarak çalıştı. 2017 yılında Bingöl Pusula Dershanesinde Biyoloji Öğretmeni olarak çalıştı. 2018 yılında İstanbul Doğru Cevap eğitim kurumlarında Biyoloji Öğretmeni olarak çalıştı ve halen çalışmaktadır. Evlidir.