

**T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Androctonus crassicauda* (Oliver, 1807) AKREP TÜRÜNÜN DIŞ
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN TARAMALI ELEKTRON
MİKROSKOPLA BELİRLENMESİ VE ZEHİRİNİN
BİYOKİMYASAL ANALİZİ**

Mehmet Ali DEMİR

**Danışman
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi**

**Dr. Öğr. Üyesi Zafer SANCAK
Dr. Öğr. Üyesi İbrahim KÜÇÜKBASMACI
Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

KASTAMONU – 2020

TEZ ONAYI

Mehmet Ali DEMİR tarafından hazırlanan “*Androctonus crassicauda* (Oliver, 1807) Akrep Türünün Dış Morfolojik Özelliklerinin Taramalı Elektron Mikroskopla Belirlenmesi ve Zehirinin Biyokimyasal Analizi” adlı tez çalışması **22/01/2020 tarihinde** aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Ana Bilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Dr. Öğr. Üyesi Zafer SANCAK
	Kastamonu Üniversitesi
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi İbrahim KÜÇÜKBASMACI
	Kastamonu Üniversitesi
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
	Çankırı Karatekin Üniversitesi

Enstitü Müdürü	Doç. Dr. Nur BELKAYALI
----------------	------------------------------

TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

Mehmet Ali DEMİR

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Androctonus crassicauda (Oliver, 1807) AKREP TÜRÜNÜN DIŞ MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOPLA BELİRLENMESİ VE ZEHİRİNİN BİYOKİMYASAL ANALİZİ

Mehmet Ali DEMİR
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Zafer SANCAK

Androctonus crassicauda Orta Doğu’da tıbbi öneme sahip olup Buthidae familyasının en tehlikeli türlerinden biridir. Türkiye coğrafyası içerisinde Güneydoğu’da yaygın olarak bulunup ülkedeki akrep sokmaları vakalarında en yüksek paya sahiptir. Bu çalışmada Şanlıurfa’da toplanan *Androctonus crassicauda* akrep türünün taramalı elektron mikroskobu ve stereo ışık mikroskobu ile morfolojik analizleri, zehrinin biyokimyasal analizleri ve ayrıca akrep-zehir aracılı altın nanopartikül sentezi ve uygulamaları yapılmıştır.

Akrep zehri insana enjekte edildiğinde şiddetli bir sistemik inflamasyona neden olan peptitler, serbest aminler, nükleotidler, lipitler ve diğer birçok biyoaktif bileşiklerin karışımlarını içerir. Buna karşın, akrep zehrinin seçimli olarak biyomedikal amaçlı kullanımı ile birçok metabolik ve otoimmün hastalığın tedavisine yönelik kullanımları gösterilmiştir. Akrep zehirlerinin metal nanoparçacıklar ile kullanımı ise zehirlerin biyolojik etkilerinin artırılması, biyosensör ve biyomedikal uygulamalar için yüzey tasarımı amaçlı kullanılabilmesini sağlamaktadır. Çalışmada altın nanopartikül sentezinde indirgenme adımı için şeker ligandları kullanıldı. Akrep venomunun derişimi sabit altın tuzu miktarına göre değiştirilerek sentezlenen venom-AuNPlerin yüzey plazmon, şekil ve boyut özellikleri kontrol edildi. Venom proteinlerinin AuNPler ile birlikte kullanımı onların biyolojik etkilerini artırma, hedef doku ve hücreye olan spesifikliğin maksimizasyonu, protein kararlılığının artırılması, sirküle olma süresinin optimizasyonunun sağlanmasında önemli katkılar sunmaktadır. Sentezlenen bu AuNPlerin yüzey plazmon özellikleri (SPR) UV-vis spektrofotometrisi ile, morfolojik özelliklerinin karakterizasyonu geçirgen elektron mikroskobu (TEM) ile gerçekleşirken, kristal karakterinin belirlenmesi ise X-ışınları kırınım kristalografisi (XRD) ile belirlenmiştir. Protein boyutunun nanopartikül şekillenmesi üzerine etki etmesi bilindiği için, *A. crassicauda* akrebinden sağılan zehrin içindeki proteinlerin boyut karakterizasyonu Agaroz Jel Elektrofrez yöntemiyle belirlenmiştir. Elektrofrez sonucuna göre zehir içeriğinde bulunan 15 kDa ve >180 kDa arasında elde edilmiştir. Sentezlenen nanoparçacıkların antimikrobiyal aktiviteleri ve bakterilerin biyofilm oluşumları üzerine etkilerini gözlemlemek için *Staphylococcus*

epidermidis, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella infantis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri ile çalışılmıştır.

İleriki çalışmalarda zehir proteinlerinin izole edilerek kullanılması ile AuNP sentezi çalışmaları ve antimikrobiyal, antikanser ve biyosensör uygulamaları amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Androctonus crassicauda*, venom, nanopartikül, XRD, SEM, TEM, UV-vis, Agaroza Jel Elektrophorezi

Yıl, 2020 sayfa 83

Bilim Kodu: 203

ABSTRACT

MSc. Thesis

DETERMINATION OF MORPHOLOGICAL PROPERTIES OF *Androctonus crassicauda* (Oliver, 1807) SCORPION SPECIES WITH SCANNING ELECTRON MICROSCOPE AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF VENOM

Mehmet Ali DEMİR
Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Zafer SANCAK

Androctonus crassicauda, one of the most dangerous species in Buthidae family, is medicinally important species in Middle East. Particularly it is responsible for highest prevalence of scorpion stings in Turkey, of where they locate mostly in South-east Turkey. In this study, *Androctonus crassicauda* species were collected from Şanlıurfa, and scanning electron microscopy and stereo light microscopy were used for morphological examinations along while biochemical analysis of their venom and venom-mediated gold nanoparticle formation and their applications were studied.

Injection of scorpion venom to human can cause systemic inflammation resulted from peptide, free amin, nucleotides, lipids and such other bioactive species contained within the venom. However, selective and targeted usage of the venom content is a strategy against autoimmune and metabolic diseases. Recently it has been shown that utilization of scorpion venom with metallic nanoparticles empower their biological performances and make them proper materials in biosensor and biomedical applications. In the current study, sugar-ligands were used to trigger gold nanoparticle (AuNP) synthesis, where venom proteins served as shape/size directing agent and stabilizing agent. Introduction of venom proteins on AuNPs carries potential to advance their biological effects through enhancing their cell and tissue-based specificity and circulation time. The synthesized AuNPs were characterized with UV-Vis spectrometer for their Surface-plasmon resonance (SPR) properties, Transmission electron microscopy (TEM) for morphological properties and X-ray Diffraction spectroscopy (XRD) for crystalline character. Due to the fact that proteins' size pose effect on AuNPs size and shape, agarose gel electrophoresis study was done to enlighten the protein sizes of the venom. The test revealed that the proteins were in the sizes of 15 kDa and >180 kDa. The synthesized AuNPs in comparison to the venom itself were tested for its antimicrobial performance (i.e. growth suppression and biofilm formation) using *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella infantis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* bacterial strains.

Key Words: *Androctonus crassicauda*, venom, nanoparticle, XRD, SEM, TEM, UV-vis, Agarose Gel Electrophoresis

Year, 2020 pages 83

Science Code: 203

TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans eğitimim süresince ve tez yazım sürecinde engin bilgi ve tecrübeleriyle sürekli beni destekleyen ve yönlendiren danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Zafer SANCAK'a ve ailesine şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmanın laboratuvar bölümü ve analizleri için her türlü destek ve yardımı veren Sayın Dr. Öğr. Üyesi İdris YAZGAN'a, akrep zehrinin biyokimyasal analiz kısmında bilgi ve tecrübeleriyle destek olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Aslı UĞURLU BAYARSLAN'a, başta Prof. Dr. Talip ÇETER olmak üzere Kastamonu Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerine ve tez savunma jürimde yer alan değerli hocaları Dr. Öğr. Üyesi İbrahim KÜÇÜKBASMACI ve Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL'a teşekkür ederim. Ayrıca arazi çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen; sevgili kardeşim Dr. Abdullah DEMİR ve kuzenim Ergün DEMİR'e, tezin şekil ve içerik açısından düzenlenmesinde yardımcı olan Uzman Biyolog Yasemin ÖZALP ve eşi Bilim Uzmanı M. Talha ÖZALP'e teşekkür ederim.

Kastamonu'da eğitimimi sürdürürken hiçbir yardımını esirgemeyen kuzenim Mustafa DEMİR'e, muhabbetini ve arkadaşlığını en samimi duygularıyla paylaşan Sevgili Sosun ÇETER'e ve hayatım boyunca maddi ve manevi destekleri ile her daim yanımda olan kıymetli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Mehmet Ali DEMİR
2020

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xiii
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Biyolojik Açıdan Altın Nanomalzemelerinin Uygulama Alanları.....	2
1.1.1. Antimikrobiyal Ajan Geliştirme Çalışmaları.....	2
1.1.2. Biyosensör ve Kemosensörler	2
1.1.3. Biyogörüntüleme Uygulamaları.....	2
1.2. Altın Nanoparçacık.....	3
1.3. Altın Nanoparçacık Sentez Yaklaşımları.....	3
1.3.1. Basit Au ^{III} Kimyasal İndirgeme ile Üretim	3
1.3.2. Çekirdek Aracılı Metot ile Üretim	4
1.3.3. Şablon Aracılı Üretim	5
1.4. Protein Aracılı Altın Nanoparçacık Sentezi.....	6
1.5. Akrepler Hakkında Genel Bilgiler.....	7
1.5.1. Akreplerin Yaşam Biçimleri.....	8
1.5.1.1. Ağaç yarıkları, ağaç kabukları ile taşların altında yaşayan akrepler.....	8
1.5.1.2. Toprak oyuk ve yarıklarında yaşamlarını sürdüren yer akrepleri	8
1.5.2. Akreplerde Beslenme	9
1.6. Akreplerde Üreme	11
1.7. Akreplerde Embriyonik Gelişim ve Gebelik	15
1.8. Akreplerde Doğum	15
1.9. Akrep Yavrularının Gelişimi.....	17
1.10. Yavru Akreplerin Anne Sırtındaki Konumlanma Şekilleri.....	19
1.10.1. Rastgele Yerleşim Gösteren Yavrular	19
1.10.2. Çapraz Yerleşim Gösteren Yavrular	19
1.10.3. Uzunlamasına Yerleşim Gösteren Yavrular	20
1.11. Akreplerde Gömlek Değişimi	20
1.12. Akreplerde Partenogenezis.....	22
1.13. Akreplerle Mücadele ve Korunma	22

1.14. Akrep Venomu Biyolojisi	23
1.14.1. Epidemiyoloji.....	24
1.14.2. Klinik Özellikler	25
1.14.2.1. Lokal belirtiler	25
1.14.2.2. Sistemik belirtiler	26
1.14.3. Yönetim	27
1.14.4. Lokal Tedavi	27
1.15. Akreplerin Genel Morfolojisi.....	28
1.16. Akreplerden Zehir Alma Yöntemleri.....	32
1.16.1. Maserasyon Yöntemi.....	32
1.16.2. Manuel Teknik	33
1.16.3. Elektrikle Sağım Yöntemi	33
2. LİTERATÜR İNCELEMESİ.....	34
3. MATERYAL VE METOD.....	40
3.1. Arazi Çalışmaları.....	40
3.1.1. Arazi Yapılırken Kullanılan Araç-Gereçler	40
3.1.2. Güney Doğu Anadolu Bölgesinin Coğrafi ve İklimsel Özellikleri.....	42
3.2. Akreplerin Sağılması	43
3.3. Bakteri Çalışmaları	44
3.3.1. Kullanılan Bakteriler	44
3.4. Akrep Venomunun Biyokimyasal Karakterizasyonu	45
3.5. Akrep Zehiri-Altın Nanoparçacık Sentezi	45
3.6. Altın Nanoparçacıklarının Karakterizasyonu.....	46
3.6.1. Ultraviyole Görünür Bölge (UV-Vis) Spektroskopisi	46
3.6.2. Yüksek Çözünürlüklü Geçirgen Elektron Mikroskobu (HR-TEM) Karakterizasyonu.....	46
3.6.3. X-Işınları Kırınım Kristalografisi (XRD) Analizleri	47
3.7. AuNPLerinin Antibakteriyel Özelliklerinin Karakterizasyonu	47
4. BULGULAR.....	48
4.1. Venom Proteinlerinin Boyut Karakterizasyonları.....	48
4.2. AuNPLerinin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu	49
4.3. Venom-AuNPLerinin Antibakteriyel Aktiviteleri	52
4.4. <i>Androctonus crassicauda</i> SEM Görüntüleri	54
4.5. <i>Androctonus crassicauda</i> Işık Mikroskobu Görüntüleri	64
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	74
6. ÖNERİLER.....	75
KAYNAKLAR.....	76
ÖZGEÇMİŞ.....	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

AuNP	Altın Nanopartikül
Cb-pAB	Sellobiyoz-Para amino benzoik asit
Da	Dalton
HAuCl ₄	Altın (III) Klorür trihidrat
NIR	Yakın Kızıl Ötesi
SPR	Yüzey Plazmon Rezonans

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Basit Au ^{III} Kimyasal İndirgenme ile Üretim	4
Şekil 1.2. Çekirdek Aracılı Metot ile büyük boyutlu AuNP üretimi	5
Şekil 1.3. Şablon aracılı AuNP sentezi	5
Şekil 1.4. Erkek akrepte genital operculum ve sperm kesesi (b) spermatophore....	12
Şekil 1.5. Akrelerin çiftleşme sırasında yaptıkları dans.....	12
Şekil 1.6. Akrelerde doğum pozisyonu	16
Şekil 1.7. Doğum gerçekleştiren akrebin yavrularını sırtına alması.....	16
Şekil 1.8. Anne akrebin yavrularını sırtına çıkarma davranışı	18
Şekil 1.9. Metasomada bulunan karinaların isimlendirilmesi	32
Şekil 3.1. Akrep venom-Altın nanoparçacık sentezi akış şeması.....	45

GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa
Grafik 4.1. Venom-AuNPlerin XRD görüntüleri	52

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	Sayfa
Fotoğraf 1.1. <i>Androctonus crassicauda</i> akrebi beslenmesi.....	11
Fotoğraf 1.2. Sexual sting	13
Fotoğraf 1.3. Keliser masajı	13
Fotoğraf 1.4. Erkek akrebin yere bıraktığı spermatophore	14
Fotoğraf 1.5. Yeni doğum yapmış <i>A. crassicauda</i> ve yavruları.....	17
Fotoğraf 1.6. İkinci instar evresini tamamlamış (juvenil) yavru akrep.....	18
Fotoğraf 1.7. <i>M. gibbosus</i> türü yavrularının rastgele konumlanmaları.....	19
Fotoğraf 1.8. <i>S. wupatkiensis</i> yavrularının uzunlamasına konumlanmaları.....	20
Fotoğraf 1.9. Yeni gömlek değiştirmiş <i>Androctonus crassicauda</i>	21
Fotoğraf 1.10. Yeni gömlek değiştirmiş <i>A. crassicauda</i> UV görüntüsü.....	21
Fotoğraf 1.11. <i>Androctonus crassicauda</i> akrebinin genel morfolojisi	30
Fotoğraf 1.12. Akrepteki yürüme bacaklarının görüntüsü	31
Fotoğraf 1.13. Akreplerin carapax carinalarının isimlendirilmesi	31
Fotoğraf 1.14. Metasomal segmentte bulunan karinaların isimlendirilmesi	32
Fotoğraf 3.1. UV ışık altında parlayan <i>A. crassicauda</i>	40
Fotoğraf 3.2. Laboratuvarı korunan akrepler.....	41
Fotoğraf 3.3. Un kurduyla beslenen <i>A. crassicauda</i>	41
Fotoğraf 3.4. Akrepler için düzenli olarak temin edilen un kurtları	42
Fotoğraf 3.5. <i>A. crassicauda</i> akrebinin sağım görüntüleri.....	43
Fotoğraf 4.1. Venom proteinlerinin boyut karakterizasyonu	48
Fotoğraf 4.2. Venom-AuNP UV spektrumları (A),digital kamera görüntüsü (B)..	49
Fotoğraf 4.3. Venom-AuNP TEM Görüntüleri.	50
Fotoğraf 4.4. Şeker ligantı ile sentezi gerçekleştirilmiş AuNPlar	51
Fotoğraf 4.5. Venom-AuNPlerinin ve venomun antibakteriyel etkileri.	53
Fotoğraf 4.6. Keliserin genel görüntüsü.....	54
Fotoğraf 4.7. Keliserin daha detaylı görünümü	54
Fotoğraf 4.8. Chelanın genel görüntüsü.....	55
Fotoğraf 4.9. Chelanın patella ile bağlantı yeri ve chela üzerinde bulunan setalar	55
Fotoğraf 4.10. Sabit ve hareketli parmaların manusa eklemlemeleri	56
Fotoğraf 4.11. Sabit ve hareketli parmağın genel görüntüsü.	56
Fotoğraf 4.12. Hareketli parmağın detaylı görüntüsü	56
Fotoğraf 4.13. Zehir iğnesinin genel görüntüsü	57
Fotoğraf 4.14. Telsonun üstünde bulunan kıllar ve trichobotriumların görüntüsü.	57
Fotoğraf 4.15. Zehir iğnesinin ucu.....	58
Fotoğraf 4.16. Tarak organının genel görüntüsü	58
Fotoğraf 4.17. Tarak organına yapılarının konumlanmaları	59
Fotoğraf 4.18. Tarak organı üzerinde bulunan setaların daha detaylı görüntüsü ...	59
Fotoğraf 4.19. Yürüme bacağı	60
Fotoğraf 4.20. Basitarsus ve Tarsusun birleşme yeri	60
Fotoğraf 4.21. Unguisin detaylı görüntüsü.....	60
Fotoğraf 4.22. Metasomal segment parçasının genel görüntüsü	61
Fotoğraf 4.23. Karapaks, median gözler ve çevresindeki karinaların görüntüsü. ..	61
Fotoğraf 4.24. Median gözler detaylı görüntüsü	62
Fotoğraf 4.25. Stigma oluklarının detaylı görüntüsü	62

Fotoğraf 4.26. Pedipalp üzerindeki Femur ve Tibianın birleşme yeri	62
Fotoğraf 4.27. Chela üzerinde bulunan tibianın genel görüntüsü.....	63
Fotoğraf 4.28. Chela detaylı görüntüsü.....	63
Fotoğraf 4.29. Keliser ile diş yapıları ve kıllarının ışık mikroskobu görüntüleri...	64
Fotoğraf 4.30. Yürüme bacağı; Coxa ve Torachanter ışık mikroskobu görüntüsü	64
Fotoğraf 4.31. Yürüme bacağı; Femur ışık mikroskobu görüntüsü.....	65
Fotoğraf 4.32. Yürüme bacağı; Patella ışık mikroskobu görüntüsü	65
Fotoğraf 4.33. Yürüme bacağı; Tibia ve Basitarsus ışık mikroskobu görüntüsü ...	65
Fotoğraf 4.34. Yürüme bacağı; Tarsus ve Unguis ışık mikroskobu görüntüsü.....	66
Fotoğraf 4.35. Karapaks görüntüsü.....	66
Fotoğraf 4.36. Mesosoma 1. ve 2. segmenti.....	67
Fotoğraf 4.37. Mesosoma 3. ve 4. Segmenti	67
Fotoğraf 4.38. Mesosoma 5. 6. ve 7. segmenti.....	67
Fotoğraf 4.39. Pedipalp Trochanter görüntüsü.....	68
Fotoğraf 4.40. Pedipalp Femur görüntüsü.....	68
Fotoğraf 4.41. Pedipalp Tibia görüntüsü.....	68
Fotoğraf 4.42. Pedipalp Manus görüntüsü	69
Fotoğraf 4.43. Pedipalp Sabit ve Hareketli Parmak görüntüsü	69
Fotoğraf 4.44. Tarak organı.....	69
Fotoğraf 4.45. Mesosomanın 3. Segmenti ve Kitapsı akciğerin stigma delikleri...	70
Fotoğraf 4.46. Mesosomanın 4. Segmenti ve Kitapsı akciğerin stigma delikleri...	70
Fotoğraf 4.47. Mesosomanın 5. Segmenti ve Kitapsı akciğerin stigma delikleri...	70
Fotoğraf 4.48. Mesosomanın 6. Segmenti ve Kitapsı akciğerin stigma delikleri...	71
Fotoğraf 4.49. Mesosomanın 7. Segmenti.....	71
Fotoğraf 4.50. Metasomal 1. Segment	71
Fotoğraf 4.51. Metasomal 2. Segment	72
Fotoğraf 4.52. Metasomal 3. Segment	72
Fotoğraf 4.53. Metasomal 4. Segment	72
Fotoğraf 4.54. Metasomal 5. Segment	73
Fotoğraf 4.55. Telson genel görüntüsü	73
Fotoğraf 4.56. Zehir iğnesinin ucu.....	73

1. GİRİŞ

Akrep zehirleri zengin bileşen kaynaklarıdır ve bu zehir, akrep türleri tarafından sokulmalarda insanda nörotoksik etkiler üzerinde temel bir rol oynamaktadır. Fakat bütün akrep türleri insanlar için tehlikeli değildir. Akrep zehri peptitlerinin hedefleri Sodyum (Na^+), Potasyum (K^+), Kalsiyum (Ca^{2+}) ve Klor (Cl^-) iyon kanalları olarak tanımlanmıştır. Akrepler memeliler için tehlikeli olan iki tip peptit içerir; bunlar normalde K^+ kanallarıyla uyarılabilen ve uyarılamayan hücreler ile 3 veya 4 disülfid köprüsü ile sıkı bağlanmış olan kısa peptit zinciri (21-40 aminoasit) ile genelde Na^+ kanallarını tanıyan 4 disülfid köprüsü ile çapraz bağlanan 60-76 amino asit kalıntılarıdır. *Androctonus crassicauda* Orta Doğu'da tıbbi öneme sahip olup Buthidae familyasının en tehlikeli türlerinden biridir. *A. crassicauda* Türkiye'nin güneydoğusunda yaygın olarak bulunup ülkedeki akrep sokmaları vakalarında en yüksek sayıya sahiptir. *A. crassicauda*'nın zehri solunum fonksiyonu bozukluklarına ve kalp dâhil olmak üzere şiddetli otonomik ve merkezi sinir sistemi anomalilerine neden olur. İnsanların bu tür tarafından sokulmaları tıbbi bakım gerektirirken bazen de sokulma vakaları ölümle sonuçlanabilir. Ancak *A. crassicauda*'nın güçlü bir zehri olmasına rağmen tüm zehrin peptid içeriği, biyokimyasal ve moleküler biyolojik yaklaşımlarla detaylı olarak çalışılmamıştır. *A. crassicauda*'nın çözünür zehrinden sadece Acra1 ve Acra2 adlı iki toksik peptid izole edilip karakterize edilmiştir. Bileşenlerin çeşitliliği hakkında bilgi; bu akrep türlerinin sokmalarında sebep olacak toksik etkiyi önleyebilmek için ilaç tasarımı veya moleküler etki mekanizmalarının yapı ve işlevini anlayıp olası spesifik antivenomların gelişimi için önemlidir (Çalışkan vd., 2012).

Nanoteknoloji üzerine yapılan çalışmalar her gün daha da yoğunlaşarak ve kapsamı artarak devam etmektedir (Santhoshkumar vd., 2017). Bu durum, yeni ve fonksiyonel nanoparçacıkların sentezlenmesini sağlamaktadır (Karaca ve Öner, 2015). Metal nanoparçacıkların sentezi ve uygulama alanları her geçen gün artmakta ve temel araştırma ve uygulama alanlarında eskiden gelen problemlerin çözümüne katkı sağlamaktadır. Bu yapılar içerisinde altın nanoparçacıkların tasarımlarının kolay olmaları, düşük toksisiteleri ve kontrol edilebilen yüzey kimyası ve optik

özellikleri nedeniyle hem biyolojik hem de temel kimya uygulamaları açısından etkin olmaları onların en yoğun çalışılan grup olmalarını sağlamıştır (Ahmad vd., 2017).

Altın nanoparçacıklar yarı devamlı elektronik yapıları sayesinde yerleşmiş yüzey plazmonlarının oluşmasını sağlarlar ve bu durum boyut, yüzey kimyası ve şekil ile sıkı ilişki göstermektedirler (Amendola vd., 2017). Altın nanomazelmelerinin uygulama alanları temel kimya uygulamalarından ilaç çalışmalarına kadar geniş bir yelpazededir.

1.1. Biyolojik Açıdan Altın Nanomalzemelerinin Uygulama Alanları

1.1.1. Antimikrobiyal Ajan Geliştirme Çalışmaları

Altın nanoparçacıkların yüzey kimyasının tasarlanması ile birlikte doğrudan antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaları mümkün olduğu gibi mevcut antibiyotiklerin *in vivo* performanslarının ve antimikrobiyal özelliklerinin güçlendirilmesi içinde kullanılabilirler. AuNPlar kontrollü ve hedeflenmiş ilaç salınımına imkân vereceği için büyük potansiyel sunmaktadırlar (Grace ve Pandian, 2007).

1.1.2. Biyosensör ve Kemosensörler

SPR ve elektron iletim özellikleri ve hedef analite spesifik yapıların multivalent yapı göstermeleri için kullanılabilirler. Fungusların spor ve hiflerinin seçimli olarak belirlenebileceği çalışmalar bunlara örnektir (Yazgan vd., 2018).

1.1.3. Biyogörüntüleme Uygulamaları

Altın nanoparçacıklar klasik biyogörüntüleme boyalarına oranla yüz bin ve daha yüksek yoğunlukta ışık saçılımı sağladığından biyogörüntüleme ajanı olarak kullanılabilme potansiyelleri vardır (Bodelon vd., 2017). Flüoresans karakterlerine ek olarak “Li vd. (2017)” ideal nanoparçacıklar dokunun en yüksek geçirgenliğe sahip olduğu NIR bölgesinde de SPR verebilmektedirler (Bodelon vd., 2017).

1.2. Altın Nanoparçacık

Altın nanoparçacık (AuNP) sentezi binlerce yıl öncesine kadar gitmektedir. Süs eşyalarının dekorasyonunda altın tuzu çözeltilerinin yüzeye eklenmesi ile sentezler gerçekleştirilmiştir. Modern manada AuNP sentezi ise 1850'li yıllarda Faraday'ın altın tuz çözeltisinden kolloidal altın yapılarının sentezi ile başlamıştır. En az iki boyutu 2-100 nm arasında olan ve yüzey-plazmon rezonans özelliği gösteren altın parçacıkları AuNP olarak adlandırılmaktadır.

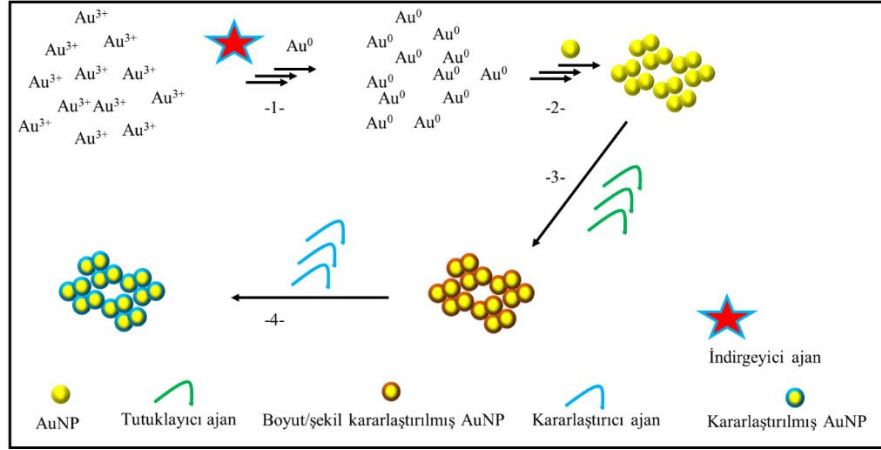
Günümüzde malzeme bilimi, biyomedikal uygulamalar, biyogörüntüleme, kontrollü ilaç salınımı ve yüzey kaplama gibi alarlarda yer edinmektedir. AuNP'lerinin kullanımı tıp ve mühendislik alanında geçmişten gelen pekçok sorunun çözümüne yönelik yeni fırsatlar sunmaktadır. AuNPların biyolojik ve fiziksel özellikleri onların şekil, boyut ve yüzey kimyası ile birebir ilişkilidir. Tüm bu nedenlerden ötürü AuNPlarının şekil, boyut ve yüzey kimyasının sıkı bir şekilde kontrol edilmesi üzerine uzun yıllardır kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır (Delehanty vd., 2010).

1.3. Altın Nanoparçacık Sentez Yaklaşımları

AuNP sentezinde pekçok yaklaşım mevcuttur. Bu yaklaşımlar nanoparçacık oluşum mekanizması yönüyle de ele alınarak 10'a ayrılabilir (Li vd., 2014). Bunlardan önemlileri aşağıdaki tartışılmıştır.

1.3.1. Basit Au^{III} Kimyasal İndirgeme ile Üretim

Bu yaklaşımda, su içerisinde çözündürülen HAuCl₄ tuzu indirgeyici bir ajan ile muamele edilerek altın nanoparçacık oluşumu sağlanır. Sentezi gerçekleştirilen bu AuNPların boyut ve şekillerinin kararlılığının sağlanması için kararlaştırıcı/tutuklayıcı ajanlar kullanılır. En yaygın kullanılan ajan setiltrimetilamonyum brom (CTAP) ajanıdır. Mevcut yaklaşımlar içerisinde en yaygın kullanılan metottur. Şekil 1.1'de bu metodun işleyişi gösterilmiştir.

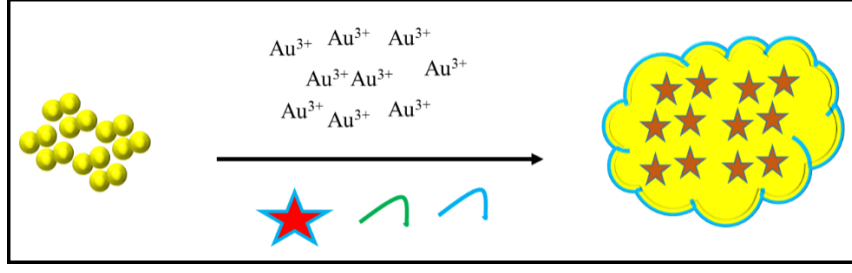


Şekil 1.1. Basit Au^{III} Kimyasal İndirgenme ile Üretim

İndirgeyici ajan aracılığıyla Au^{3+} 'nın Au^0 'a ve ardından AuNP oluşumu; 1. adımda ortamda bulunan indirgeyici ajan örneğin $NaBH_3$ ve sitrik asit Au^{3+} 'yı metalik (atomik) Au^0 a dönüştürür. 2. adımda ise bu oluşan A^0 atomlarından binlercesi (örneğin 5 bin ila 100 bin arasındaki) bir araya gelerek 2-100 nm arasında boyutlara sahip metalik çekirdekleri (AuNPleri) oluştururlar. 3. adımda ise ortama tutuklayıcı ajan eklenerek 2. adımda sentezi tamamlanmış AuNPlarının şekil ve boyutlarının değişmemesi için ortama amino asitler, proteinler ve deterjan gibi yapılar eklenebilir. 4. adımda ise boyut ve şekil kararlılığı sağlanmış AuNPlerin yüzey kimyasının korunması ve oksidasyona maruz kalmamaları veya yüzey kimya etkili olarak agregasyona uğramamaları için sisteme kararlaştırıcı ajanlar eklenir. Bunlar genellikle non-iyonik deterjanlardır (Li vd., 2014).

1.3.2. Çekirdek Aracılı Metot ile Üretim

Çekirdek aracılı metot ile üretimde ise hali hazırda sentezlenmiş bir AuNP'ün boyutu ve şeklinin kontrol edilerek daha büyük boyutlu AuNPler elde edilmesi amaçlanmaktadır. Sferik olmayan ve büyük boyutlu olan AuNPlerin sentezinde en yaygın olarak kullanılan metottur.

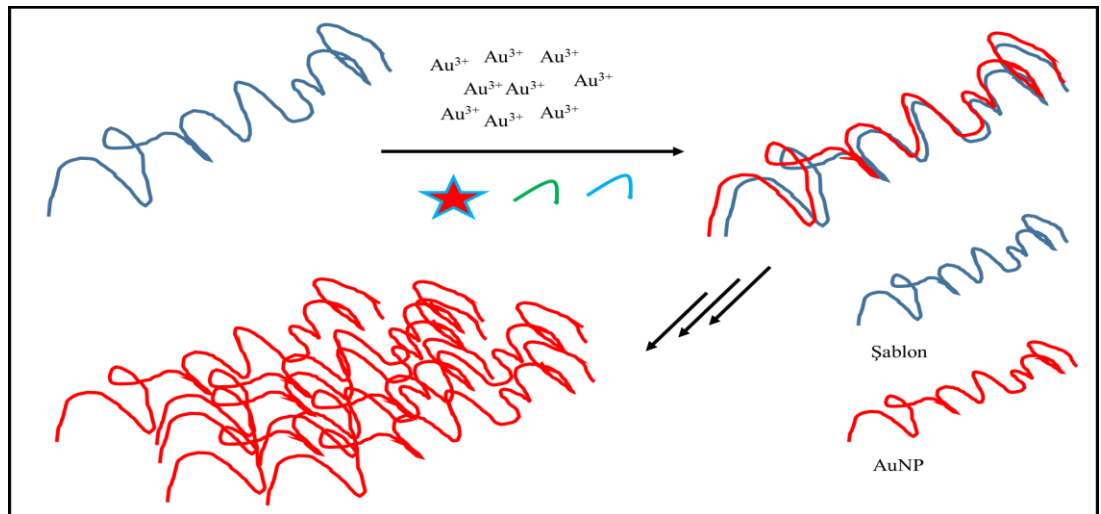


Şekil 1.2. Çekirdek Aracılı Metot ile büyük boyutlu AuNP üretimi

İlk adım olarak küçük boyutlu AuNP'lerinin üretimi (Şekil 1.1'deki 1.ve 2.adımlar) gerçekleştirilmesinin akabinde ortama aynı anda indirgeyici ajanlar, HAuCl_4 tuzu, indirgeyici ajan ve tutuklayıcı/kararlaştırıcı ajanlar eklenerek nanoparçacığın şekil ve boyutunun optimizasyonu gerçekleştirilir. Bu metot büyük boyutlu AuNP'lerinin şekil, boyut ve yüzey kimyasının optimizasyonunun sağlanması için yaygın olarak kullanılmaktadır (Kariuki vd., 2017).

1.3.3. Şablon Aracılı Üretim

Sferik olmayan ve büyük boyutlu AuNP'lerin üretiminde yaygın olarak kullanılan yaklaşımların başında gelmektedir. Şablon olarak kullanılan substratlar genellikle gözenek içeren zarlar, nükleik asit zincirleri, protein yapıları, sentetik polimerler ve mikroorganizmalardır (Bhattacharya vd., 2006; Liu vd., 2011; Zahr ve Blum, 2012). Bu metot ile üretilen AuNP'lerinin uzunluğu μm boyutuna erişirken genişlikleri genellikle $<100\text{ nm}$ 'dir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Şablon aracılı AuNP sentezi

Şekil 1.3.'te görüldüğü gibi şablon içeren ortama HAuCl_4 tuzu, indirgeyici ajan, tutuklayıcı/kararlaştırıcı ajan eklenerek şablon üzerinde AuNP gelişimi sağlanmaktadır. Oluşumu tamamlanan AuNP'ler şablondan ortam şartları içerisinde (örneğin sürekli karıştırma gibi) şablondan ayrılır ve yeni AuNP'lerin aynı şablon üzerinde gelişimi gerçekleşir. Bu metot ile 1D ve 2D nanoyapıların üretimi gerçekleştirilebilir (Liu vd., 2011; Zahr ve Blum, 2012).

1.4. Protein Aracılı Altın Nanoparçacık Sentezi

Proteinler sahip oldukları çeşitli ve spesifik 3D yapıları, nano-seviyedeki etkileşim ve konfigürasyonel özellikleri nedeniyle AuNP sentezinde giderek artan öneme sahip olmaktadır (Fan vd., 2010; Liu vd., 2011). Protein aracılı AuNP sentezinde izlenen yol Şekil 1.3'te tarif edildiği gibi şablon aracılı AuNP üretimidir. Protein dizisindeki amino asitlerin sahip oldukları yan gruplar sentezi gerçekleştiren AuNP'lerin kararlılığının sağlanmasında rol almaktadırlar. Sentez ile birlikte metalik çekirdek-protein şablonu birbirinden ayrılmak zorunda değildir ve hatta AuNP'ün fonksiyonunu yerine getirirken protein katmanı ile beraber bulunması AuNP kararlılığının sağlanmasına da katkı sağlayabilmektedir (Yang ve Burkhard, 2012; Hemmateenejad vd., 2014).

Protein sentez aracılı üretimi ile sentezlenen AuNP'lerin kullanımı temel olarak ikiye ayrılabilir. İlki protein kullanımı ile AuNP şekil ve boyut optimizasyonlarının yapılması ve kararlılığının uzun süreli sağlanabilmesidir. İkincisi ise proteinin sentezlenen AuNP karakteri üzerine katkı sağlamasına ek olarak protein kararlılığının sağlanmasında görev almaktadır (Fan vd., 2010; Chaudhari vd., 2011; Huggins vd., 2014).

Hayvan venomları özelinde bakıldığında birçok izole ya da karmaşık venomun AuNP'ler ile birlikte kullanılabildiği gösterilmiştir. Antimikrobiyal ve antikanser uygulamalar açısından gelecek vaat eden bu yaklaşımlar üzerine yapılan çalışmalar gittikçe artmaktadır. Yaygın olarak tercih edilen venom kaynakları yılanlar, akrepler ve kurbağalardır (Biswas vd., 2012). Modern manada venomlar üzerine yapılan çalışmaların tarihi 100 yıldan öncesine gitmektedir ve venom proteinlerinin

fizyolojik etkileri üzerine yapılmış çalışmalar ise yaklaşık 90 yıl öncesine dayanmaktadır (Rodriguez vd., 2010). Calmette (1933) yılan zehir bileşenlerinin farelerdeki kanser gelişimini engellediğini göstermiştir. Benzeri şekilde venomların çok farklı mikroorganizma üzerine toksik etkilerinin sistematik olarak gösterilişi onlarca yıl öncesine dayanmaktadır (Biswas vd., 2012). Akrep venomları onlarca ve hatta yüzlerce farklı protein içermektedirler (Rodriguez vd., 2010). Akrep venom bileşenlerinin antimalarial, antibakteriyel ve antikanser özellikleri gösterilmiştir. Örnek olarak *Pandinus imperator*'dan izole edilen 8350 Dalton ağırlığındaki proteinin yüksek anti *Plasmodium berghei* aktivitesi gösterdiği rapor edilmiştir (Rodriguez vd., 2010). Benzeri şekilde *Opisthophthalmus carinatus*'dan izole edilen peptitlerin yüksek antibakteriyel (örneğin *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis* IP 5832) ve antifungal aktivite (örneğin *Botrytis cinerea* MUCL 30158, *Fusarium culmorum* MUCL 30162 ve *Neurospora crassa* FGSC 2489) gösterdikleri tespit edilmiştir (Moerman vd., 2002).

Venom proteinlerinin AuNPlar ile birlikte kullanımı onların biyolojik etkilerini artırma, hedef doku ve hücreye olan spesifikliğin maksimizasyonu, protein kararlılığının artırılması, sirküle olma süresinin optimizasyonunun sağlanmasında önemli katkılar sunmaktadır (Granich vd., 2011). Bunlara örnek olarak NKCT1 kobra venom proteini-AuNP kompleksi *Ehrlich ascites* karsinomasının gelişimini ve metastazını NKCT1 venom proteininin yalnız olarak kullanıldığı durumlara göre daha başarılı olarak baskıladığı fare-model çalışmaları ile gösterilmiştir (Granich vd., 2011). Benzeri şekilde akrep venomlarının altın nanoparçacıkları ile birlikte kullanımı üzerine de çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bu çalışmalar ile venomun göstermiş olduğu mevcut aktivitenin maksimize edilmesi amaçlanmaktadır (Ortiz vd., 2015). Lakin akrep venom-nanoparçacık temelli çalışmalar henüz glioma hücrelerinin hedeflenmesi ile sınırlıdır (Utkin, 2017).

1.5. Akrepler Hakkında Genel Bilgiler

Yapılan fosil çalışmaları akreplerin varlığını günümüzden 420 milyon yıl öncesine dayandırmaktadır. 420 milyon yıl öncesi yaşamış akrepler Merostomata'dan (yengeç görünümüne, 2 metre boylarındaki deniz hayvanı) köken almıştır. Akreplerin karaya

çıkışları ise Silurian döneminde gerçekleşmiştir. Çok eski akreplerin yaşam biçimleri ve beslenmeler hakkında literatürde yeterli bilgi olmayıp bunların karada mı denizde mi yaşadıklarıyla ilgili de kesin bir ortak kanı yoktur. Modern akreplerin nesli Karbonifer döneminin sonunda yaklaşık 300 milyon yıl önce ortaya çıkmıştır ve bu modern nesil günümüze gelinceye kadar çok az değişiklik geçirmiştir. Günümüzde 16 akrep familyası bilinmekte olup neslini devam ettirmekte olan 1500 kadar tür tanımlanmıştır (Demirsoy vd., 2001; Bayar Taş, 2004; Özkan ve Karaer, 2004; Özkan vd., 2006; Özkan ve Karaer, 2007).

1.5.1. Akreplerin Yaşam Biçimleri

Genellikle ılık ve nemli ortamlarda yaşayan akrepler ekvatora doğru inildikçe hem tür çeşitliliğindeki sayı bakımından hem de vücut büyüklükleri olarak artmaktadır. Akrepler yaşam alanlarına göre iki gruba ayrılırlar (Dunlop ve Webster, 1999; Fet vd., 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

1.5.1.1. Ağaç yarıkları, ağaç kabukları ile taşların altında yaşayan akrepler

Genellikle ılık ve nemli iklimlerde yaşarlar. Muz, palmiye ve şeker kamışı gibi bitkilerin diplerinde hayatlarını sürdürürler. *Liocheles australiensis* akrep türünün (ağaç kazan tür olarakta bilinir) Avusturalya'daki *Araucoria huntsteinii* çam ağacında, 40 metre yükseklikte yaşadığı gözlemlenmiştir (Dunlop ve Webster, 1999; Fet vd., 2000; Demirsoy vd., 2001; Özkan ve Karaer, 2007).

1.5.1.2. Toprak oyuk ve yarıklarında yaşamlarını sürdüren yer akrepleri

Çok kurak iklimlerde yaşayan akrepler nemli ortam bulmak amacıyla yerin derinliklerine doğru oyuk kazarlar. Öyle ki *Alacran tartarus* türüne ait bireylere yerin 812 metre derinliğinde bile rastlanmıştır (Gordon vd., 1996; Fet vd., 2000).

Genel olarak tüm canlılar gibi akrepler de bulundukları fiziki çevreye uygun gelişim gösterirler. Örneğin *Uroplectes*, *Opisthopthalmus* ile *Parabuthus* taksonlarına ait akrepler Psammofilik (kum seven) akrepler olup yumuşak kumlu ortamlarda yaşar ve bu yaşamlarına göre de geniş tarsal tırnaklar ve birçok makro setae (sert uzun kıl)

taşılar. *Cheloctonus*, *Karasbergia* ile *Liposoma* taksonlarına ait türler fossorial (kazıcı- kazmaya yatkın) akrepler olup bu taksondaki akrepler yengeç benzeri çela, kısa-sert ve kuvvetli bacaklara sahiptir. Ayrıca litofilik (kaya yarıklarında yaşayan) ve arboreal (ağaç oyukları ile ağaç kabukları altında yaşayan) ortamlarda yaşamaya uyum sağlamış akreplerde vardır (Stewart ve Jackman, 1979).

Olağan üstü adaptasyon sağlayan akrepler de bilinmektedir. *Vaejovis janssi* türü akrebi Kaliforniyadaki Sorroca Yarımadası'nda bulunur. Bu türe balta girmemiş ormanlar, ağaçlar, bitkili ve bitkisiz topraklar, kum, taşların arası ve deniz kıyısı gibi hemen hemen bütün doğal ormanlarda rastlanılmıştır. *Scorpio maurus* türüne ise deniz seviyesinin üç metre altında ve Atlas Dağı'nda rastlanılmıştır. Donmaya karşı dayanıklı Vejovidae ile Chactidae familyasına ait bazı türlere 2000 metre yükseklikte rastlanılmıştır. Ayrıca *Orobothriuris crassimanus* akrep türüne de 5500 metre yükseklikte rastlanmıştır (Gordon vd., 1996).

Akrepler de diğer bazı eklem bacaklılar gibi insanların yaşamlarını idame ettikleri yerlerde veya yakınlarında yaşamlarını sürdürebilir. Evlerin içinde genellikle mutfak, tuvalet, odunlukları tercih ederler. Aynı zamanda perde araları, halı-kilim altları, katlanmış elbise, yorgan, döşek aralarında, halı ve kilim altlarında da bulunabilmektedir (Aycan vd., 2007; Özkan ve Karaer, 2007).

1.5.2. Akreplerde Beslenme

Akrepler soğukkanlı canlılar olup bu canlı grubu içerisinde metabolik hızları en düşük hayvanlardır. Bu sayede aylarca hatta yıllarca bir şey yemeden yaşayabilirler. En zor yaşam şartlarında hayatta kalma konusunda uzmanlaşmışlardır. Ayrıca besinlerinden aldıkları sıvılar sayesinde de susuzluğa karşı çok dirençlidirler (Fet vd., 2000; Özkan ve Karaer, 2007; Mullen ve Durden, 2009).

Akrepler aşırı sıcaklıklara karşı hassas oldukları ve yaşam alanlarında neme ihtiyaç duydukları için her zaman ılık ve ıslak yerlerde yaşamayı tercih ederler. Bu ihtiyaçlarını kuru iklimlerde çukur kazarak giderirler bunu da kısıkaçları yardımıyla yaparlar. Kazdıkları çukurları beslenmek için avlarına karşı tuzak olarak da kullanırlar. Akrepler genel olarak zamanlarının büyük bir çoğunluğunu yemeğe

ihtiyaç duymadan kazdıkları yuvalarında saklanarak geçirirler. Akreplerde özel bir kamufraj yeteneği yoktur bu nedenle gündelik yaşamlarını av olmamak için genellikle karanlık ve loş ortamlarda gizlenerek geçirirler. Yağmur ormanları gibi tropik yerlerde yaşayan akrepler ormanın karanlık yerlerinde gündüzleri de aktif olabilir ama orman örtüsü olmayan bölgelerde bulunan akrepler geceleri (nocturnal canlılar) aktiftir. Bu sayede yüksek sıcaklıklardan korunurlar ve kendilerinden büyük eklem bacaklılara ve çiftlik hayvanlarına (tavuk, horoz) yem olmaktan kaçınırlar (Stewart ve Jackman,1979; Höfer vd., 1996; Aycan vd., 2007; Özkan ve Karaer, 2007).

Dokunma duyuları son derece iyi gelişen akrepler ayrıca fiziksel etkenlere karşı da dirençlidirler. Akrepler yemek konusunda seçici ve çok iyi bir avcı değillerdir ama yine de yırtıcı yağmacı bir doğaları vardır. Avlarını yerde ve havada oluşturdukları titreşimler sayesinde algılayıp onların peşinden iz sürmek yerine bekleyip avlarının kendilerine gelmesini tercih ederler. Akrepler genellikle böcekler, örümcekler ve kırkayaklarla beslenirler. Ayrıca bazı büyük akrepler küçük yılanlar, kertenkele ile farelerle de beslenebilir ve akreplerde yamyamlık sıklıkla görülmüştür (Polis ve Farley, 1979; Stewart ve Jackman, 1979; Höfer vd., 1996; Demirsoy vd., 2001; Özkan ve Karaer, 2007).

Büyük kısıkaçlara sahip akrepler kendilerinden küçük ve zayıf avlarını güçlü kısıkaçlarını kullanarak öldürmeyi tercih ederken ince-zayıf kısıkaçlı akrepler ise avlarını etkin venomlarını kullanarak (telsonları yardımıyla avını sokup zehir enjekte ederler) felç edip öldürürler. Akrepler avlanırken, kısıkaçları, kuyruklarının sonunda bulunan zehir iğnelerini kullanırlar ayrıca akrepler bir avı soktuklarında ne kadar zehir enjekte edeceklerini ayarlayabilirler. Sahip oldukları bu güçlü venom birçok avlarını hemen öldürür (örneğin böcekler). Güçlü venomlarıyla etkisiz hale getirdikleri avlarını birinci bacaklarının altında karapaksın tam orta-ön kısmında bulunan keliserlerine yerleştirirler. Bu arada sahip oldukları sindirim enzimleri ve tükürük yardımıyla avlarındaki dokularının sıvılaşmasını beklerler ve sonunda oluşan bu sıvıyı emerler (Stewart ve Jackman, 1979; Gordon vd., 1996; Özkan ve Karaer, 2004; Akarsu vd., 2011).

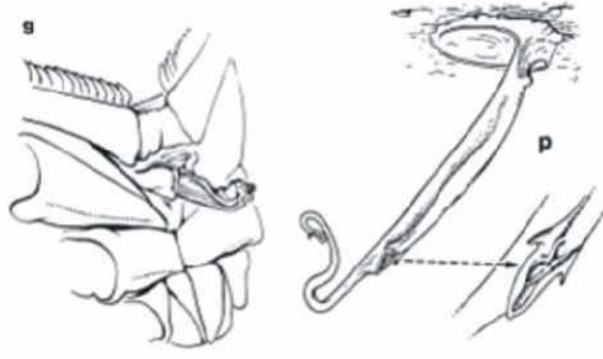


Fotoğraf 1.1. *Androctonus crassicauda* akrebi un kurduyla beslenirken.

Akrepler insanlar ve kendilerinden büyük hayvanları avlanmak amacıyla değil, rastgele karşılaşmalarda, üzerlerine basıldığında veya kendilerini tehlikede hissettikleri anlarda sokarlar. Ayrıca akreplerin geceleri ve sıcak mevsimlerde sokma istekleri daha yoğundur (Stewart ve Jackman, 1979; Özkan ve Kat, 2005; Özkan vd., 2006; Özkan ve Karaer, 2007; Özakkaya ve Cömert, 2008).

1.6. Akrelerde Üreme

Akreplerin üremeleri hakkında iki görüş mevcuttur. Akrepler çiftleşme güdülerıyla hareket edip yan yana gelmezler. Fakat ilkbahar aylarını içeren kısa dönemlerde erkekler üreme amacıyla bir dişi ararlar. Erkek akrelerde spermler bir kese içerisinde oluşur ve genellikle üremeye hazır bir şekilde eşey deliğinden dışarı çıkmış haldedir (Bücherl, 1971; Stewart ve Jackman, 1979; Merdivenci, 1981; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 1.4. Erkek akrepte genital operculum ve sperm kesesi (b) spermatophore (Lorurengo; 2000)

Erkek akrep bir dişiye bulduğu zaman onu oyalayarak ya da ansızın yakalayarak kesesinde taşıdığı spermleri kısıkaçlarını kullanarak dişinin eşey deliğine bırakır. Erkek akrep spermini dişi akrebe bıraktıktan sonra kaçmak zorundadır aksi durumda dişi akrep onu parçalayabilmektedir (Bücherl, 1971; Stewart ve Jackman, 1979; Merdivenci, 1981; Özkan ve Karaer, 2007).

Akrelerin üremeleri ile ilgili hakim olan ikinci görüş ise şöyledir. Erkek ve dişi akrepler pektin denen duyu organlarından salınan feromonlar aracılığı ile birbirlerini bulurlar. Karşılaşma anında üreme için ilk hareketi erkek akrep yapar, dişinin dikkatini çekmek için kur yapmaya başlar. Bu çiftleşme şeklinde üreme organları karşılaşmaz. Genellikle erkek dişinin kısıkaçlarından yakalar ve dişisiyle birbirlerini çekmeye başlarlar. Kısıkaçlarından birbirlerini yakalayan akrepler dönmeye başlar bu olay insanlardaki dansa benzetilir (Promenade a deux) (Bücherl, 1971; Hjelle, 1973; Polis ve Farley, 1979; Lourenço ve Cuellar, 1999; Lourenço, 2000; Demirsoy vd., 2001; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 1.5. Akrelerin çiftleşme sırasında yaptıkları dans (Lorurengo; 2000)



Fotoğraf 1.2. Sexual sting

Dans esnasında erkek akrep abdomenini bükerek kuyruğunu sırt tarafına doğru uzatır ve telsonunun ucundaki iğnesiyle dişi akrebin abdomen segmentlerinin arasında bulunan yumuşak membranı kaşırmış gibi yapar (sexuel sting). Bu dans sırasında akrepler ağız kısımlarını da karşılıklı dokundururlar. Bu dans şekli keliser masajı ya da öpüşme olarak adlandırılmıştır (Bullington, 1996; Gordon vd., 1996; Özkan ve Karaer, 2007).



Fotoğraf 1.3. Keliser masajı (Bookman, 2006)

Erkek akrep vücudunun alt tarafında bulunan tarak organını çiftleşme boyunca titretir. Dişi akreple kenetlenen erkek akrep dönme hareketlerini yaparken 15-40 cm²

alanı temizler ve temizlediği bu alana yapışkan haldeki sperm paketlerini bırakır (Özkan ve Karaer, 2007).



Fotoğraf 1.4. Erkek akrebin yere bıraktığı spermatophore (Brookman, 2006)

Temizlenmiş zemin üzerine sperm keselerini bırakan erkek akrep dişi akreple dönme hareketlerine devam ederken dişi akrebi bu sperm keselerinin üzerine çekmeye çalışır. Dişi akrep bu sperm keseleri üzerinde dönmeye devam ettikçe dişinin genital deliği yerdeki bu sperm keselerine değeri ve böylece yapışkan haldeki sperm keseleri dişinin genital deliğine yapışır. Dans devam ettikçe dişinin genital deliğine yapışan sperm keseleri patlar ve böylece spermiller genital açıklıktan içeriye girmiş olur. Bu çiftleşme yaklaşık 45 dk sürer ve sonunda erkek akrepler kaçmaya çalışır fakat erkek akrep dişiden küçükse bu kaçışlar pek başarılı olamayabilir ve erkek akrep dişi akrep tarafından öldürülür (Bücherl, 1971; Bullington, 1996; Aycan vd., 2007; Özkan ve Karaer, 2007).

Akrelerde çiftleşmenin daha çok geceleri yeni ay ya da ayın olmadığı vakitlerde olduğu gözlemlenmiştir. Yeni doğum yapmış bir dişi akrep tekrar çiftleşmeye hazır olabilir. Erkek akrepte birden fazla dişiyle farklı zamanlarda çiftleşme yeteneğine sahiptir bundan dolayı erkek akrep bir çiftleşmeden sağ kurtulabilmişse eğer hemen yeni sperm kesecikleri üretebilmektedir (Polis ve Farley, 1979; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

1.7. Akrelerde Embriyonik Gelişim ve Gebelik

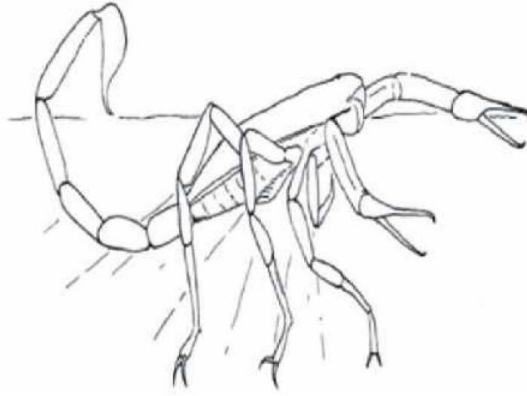
Dişi akrepler yumurtaları dölmek yerine spermleri depolayabilmektedirler. Örneğin *Isometrus maculatus* türünün tek bir çiftleşme ile birkaç doğum yaptığı bilinmektedir. Döllenmiş yumurta ve embriyolar dişi akrebin vücudundaki kuluçka odasında gelişir. Akrelerde embriyonik gelişim iki farklı yolla olabilmektedir. Apoikogenikal gelişim tipinde ovum ve kese bulunur ve yavrular kapalı bir zar içinde doğarlar. Katoikogenikal gelişim tipinde ise kese yoktur ve yavrular zarsız doğarlar. *Centruroides* taksonundaki türlerde apoikogenikal gelişim görülür ve yavru keseden beslenebile embriyo ihtiyaç duyduğu bazı besinlerini doğrudan annesinin sisteminden alır. Apoikogenik gelişim tipinde embriyo ovariterusla doğrudan bir temasa sahiptir ancak katoikogenik gelişim tipinde ise embriyo dişi ovariuterusdan uzanan özel bir divertikül kanal aracılığıyla besinlerini karşılar. Bazı kaynaklar apoikogenikal gelişim gösteren akrepleri ovovivipar (Yumurtalar vücut içinde gelişir fakat yavru annenin kan dolaşımından beslenmez. Yavru bir kese içinde doğar.) kabul eder ancak apoikogenik gelişim gösteren akreplerin embriyolarının bazı besinlerini anne sisteminden karşılamaları nedeniyle tüm akreplerin vivipar (Yumurtalar vücut içinde gelişir ve yavru göbek bağına benzeyen bir vasıtayla anneden beslenir.) olduğu düşünülmektedir (Gordon vd., 1996; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

Akrelerde gebelik süresi oldukça uzun olabilmektedir, birkaç ay süren gebeliklerde görülebildiği gibi bir yıldan fazla süren gebeliklerde görülmüştür. Ovaryumun içinde süren gelişimin ilk evresinde sekiz segmentten oluşan preabdomenin ilk yedi segmentinde sonradan kaybolacak ekstremite taslakları oluşur (Stewart ve Jackman, 1979; Lourenço, 2000; Demirsoy vd., 2001; Özkan ve Karaer, 2007).

1.8. Akrelerde Doğum

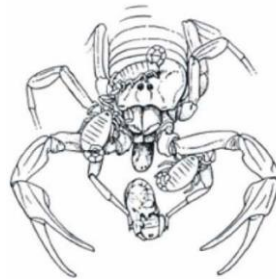
Annelerinin vücudunda ortalama 7-12 ay kalarak gelişimlerini tamamlayan akrepler genellikle ilkbahar ve yaz aylarında dünyaya gelir. Ancak tropik iklimlerde yaşayan türler yıl içinde kendi tercih ettikleri aylarda doğum yapabilmektedir. Doğumdan birkaç saat önce anne akrep doğum yapacağı duruş şekline hazırlanır. Bu doğum

pozisyonu türlere göre farklılık gösterebilmektedir. Ancak genellikle son iki çift bacaklar kullanılarak vücutlarını kaldırır. Böylece karın ve vücudun ön kısmı yerden yükseltilmiş olur. Bu esnada ilk iki bacak çifti havada serbest olarak durur. Kısaçlar vücuttan uzak ve bükük vaziyettedir. Dişi akrep doğum esnasında yürümek zorunda kalsa bile bu duruşunu korur (Hjelle, 1973; Lourenço ve Cuellar, 1995; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 1.6. Akrelerde doğum pozisyonu (Hjelle, 1973)

Akrelerde doğum süresi; yavru sayısına, yavruların büyüklüğüne ve akrebin türüne göre değişebilir ve bu süre, saatlerce hatta bazen günlerce sürebilmektedir. Doğum sepeti (birth basket) içerisindeki yavru akreplerin genital operkulumdan birer birer dışarı çıkmasıyla doğum olayı gerçekleşir. Doğan yavrular ilk önce bir zarla kaplıdır ve yavrular bu zardan ya annelerinin yardımıyla ya da kendi çabalarıyla kurtulurlar. Doğan her yavru doğum zarından kurtulduktan sonra daha doğum pozisyonunda olan annelerinin birinci çift bacaklarını kullanarak annelerinin sırtına çıkarlar (Hjelle, 1973; Polis ve Farley, 1979; Lourenço ve Cuellar, 1995; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 1.7. Doğum gerçekleştiren akrebin yavrularını sırtına alması (Lourenço, 2000)

Yavrular baş önde, kuyruk önde, sağ yan-sol yan geliş şeklinde doğabilirler. Ancak çoğunlukla yavrular baş önde, kuyruk önde ve sağ yan geliş şeklinde doğarlar. Doğan yavru sayıları türden türe değişiklik gösterebilir. Tek bir doğumda 34 ile 110 arasında yavru akrep dünyaya gelebilir. Doğan yavrular bir batında doğdukları için cinsiyet oranı genellikle 1:1 olur fakat bazı türlerde cinsiyet oranı 3:1 ya da 4:1 (dişi: erkek) olabilmektedir (Hjelle, 1973; Polis ve Farley, 1979; Stewart ve Jackman, 1979; Lourenço ve Cuellar,1995; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).



Fotoğraf 1.5. Yeni doğum yapmış *A. crassicauda* ve yavruları

1.9. Akrep Yavrularının Gelişimi

Yeni doğan akrepler annelerinin bacaklarını kullanarak annelerinin sırtına çıkarlar. Neonetal veya birinci instar evresindeki yavru akreplerin görünüşleri toplu beyaz cisimcikler gibidir. Bu dönemde annelerinin sırtından düşen akrepler tekrar annelerinin sırtına çıkamazlarsa su kaybından ölebilirler. Yavruların gelişimleri pro-juvenil ve juvenil dönem olarak ikiye ayrılmaktadır. Yavru akrepler ilk gömlek değişimlerini annelerinin sırtındayken geçirirler bu dönemdeki akrepler pro-juvenil dönemlerindedir. Projuvenil dönemindeki akreplerde sokma ve yeme özelliği bulunmaz (Bullington, 1996; Gordon vd., 1996; Fet vd., 2000; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

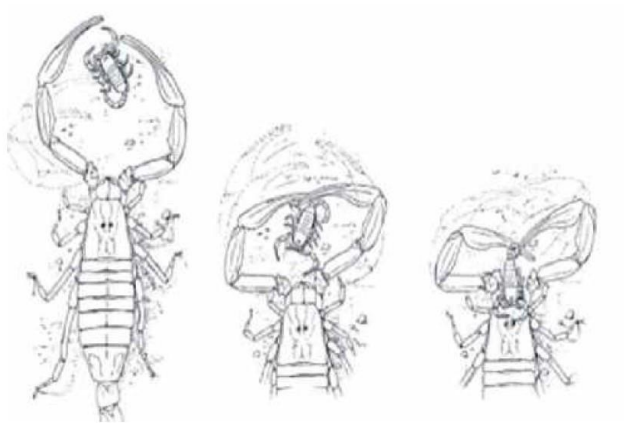
İlk gömlek değişimlerini yapan yavru akrepler artık juvenil dönemlerine geçmiş olurlar. İlk gömlek değişimlerinden sonra (ikinci instar evresindeki akrepler) yavru

akrepler pembe renkli olup ergin akreplerin minyatürü gibi görünürler ve kısa sürede renkleri grimsi kahverengiye dönüşür. Yavru akrepler bu aşamada da halen annelerinin sırtında kalmaya devam ederler (Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).



Fotoğraf 1.6. İkinci instar evresini tamamlamış (juvenil) yavru akrep (Özkan, 2005)

Doğduktan birkaç hafta sonra yavru akrepler çevrelerini keşfetmek amacıyla annelerinden ayrılıp kısa kısa gezilere çıkarlar. Bu gezilerden sonra yavru akrepler tekrar annelerinin sırtına dönerler (Benton, 1991; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 1.8. Anne akrebin yavrularını sırtına çıkarma davranışı (Lourenço, 2008)

Çevrelerini keşfetmek için yavru akrelerin yaptıkları geziler her geçen gün biraz daha uzar ve en nihayetinde yavru akrepler artık zamanlarının birçoğunu annelerinden uzakta geçirmeye başlarlar. Yetişkin akrepler bazen kendi yavrularına karşı bile yırtıcı davranabilir fakat *Scorpio maurus palmatus* türünün kendisinin olmayan yavrulara bile birkaç ay annelik yaptığı gözlemlenmiştir (Gordon vd., 1996; Özkan ve Karaer, 2007).

1.10. Yavru Akrelerin Anne Sırtındaki Konumlanma Şekilleri

Yavru akrepler türlerine göre annelerinin sırtında rastgele, uzunlamasına ve çapraz olarak yerleşmektedir.

1.10.1. Rastgele Yerleşim Gösteren Yavrular

Annelerinin sırtında grupsuz ve düzensiz olacak şekilde bir veya daha fazla kat oluşturarak yerleşirler. Buthidae familyasından *Centruroides exilicauda* (Wood) ile *Parabuthus hunteri* (Herbst), Euscorpiidae familyasından *Euscorpius italicus* (Herbst) ile *Megacornuus gertachi* (Diaz) ve Ischuridae familyasından *Hadogenes* cinsine ait türler rastgele yerleşim göstererek annelerinin sırtına yerleşirler (Özkan ve Karaer, 2007).



Fotoğraf 1.7. *M. gibbosus* (Brulle, 1832) türü yavrularının rastgele konumlanmaları (Özkan, 2005)

1.10.2. Çapraz Yerleşim Gösteren Yavrular

Yavru akrepler annelerinin sırtının uzun ekseni boyunca düzgün bir biçimde başları iç tarafa bakacak şekilde iki, üç veya daha fazla kat oluşturacak şekilde yerleşirler.

Diplocentridae familyasına ait *Diplocentrus whitei* (Gervais) türünün yavruları bu gruba örnek olarak verilebilir (Özkan ve Karaer, 2007).

1.10.3. Uzunlamasına Yerleşim Gösteren Yavrular

Yavru akrepler tek sıra halinde annelerinin vücudunun uzun eksenine doğrusal biçimde dizilir. Bu yerleşim şeklinde yavrular annelerinin sırtıyla direk temas halinde olup yüzleri öne bakacak şekilde dururlar. Örneğin Vaejovidae familyasına ait türler (Özkan ve Karaer, 2007).



Fotoğraf 1.8. *Serradigitus wupatkiensis* (Stahnke) yavrularının uzunlamasına konumlanmaları (Savary, 1996)

1.11. Akrelerde Gömlek Değişimi

Annelerinin sırtından inen yavru bireyler yaklaşık 67 ay kadar da annelerinin arkasından dolaşırlar. Akrelerin ortalama ömürleri 26 yıldır ve cinsel olgunluğa 13 yılda ulaşırlar. Bir akrep ömrü boyunca yaklaşık 69 kere gömlek değiştirir. Akrep ölümlerinin çoğu bu gömlek değişimleri sırasında gerçekleşir (Gordon vd., 1996; Demirsoy vd., 2001; Aycan vd., 2007; Özkan ve Karaer, 2007).



Fotoğraf 1.9. Yeni gömlek değiştirmiş *Androctonus crassicauda*



Fotoğraf 1.10. Yeni gömlek değiştirmiş *Androctonus crassicauda* UV görüntüsü

1.12. Akreplerde Partenogenezis

Akrelerde eşeysiz yani döllenmemiş yumurtalarla çoğalma ilk kez *Tityus serrulatus* türünde görülmüştür. Ayrıca *T. uruguayensis*, *T. columbianus* (Thorell), *Hottentota hottentota* (Fabricius), *Ananteris coineui*, *Liochelis australaise* (Fabricius), *T. trivittatus*, *T. metuendus* türlerinin de parthenogenesis üreme şekliyle çoğaldığı bilinmektedir (Lourenço ve Cuellar, 1995; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

Akrepler eşeysiz çoğalırken iki ayrı üreme tipi görülmektedir. Arrehenotoky tipi eşeysiz üreme şeklinde döllenmemiş yumurtalardan sadece erkek yavrular doğarken Thelytoky tipi eşeysiz üreme şeklinde ise döllenmemiş yumurtalardan sadece dişi yavrular doğar (Lourenço ve Cuellar, 1995; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

1.13. Akrelerle Mücadele ve Korunma

Akrepler de diğer zehirli canlılar gibi insanlardan uzakta yaşamlarını sürdürürler. Akrep sokması sonucu meydana gelen zehirlenmelerde; akrebin türü, beslenme durumu, zehrinin içeriği ve enjekte ettiği miktar, sokma sayısı ile hastanın hassasiyeti, yaşı, kilosu, sağlık durumu, bölgenin iklimi ve uygulanmış ilk yardım gibi değişik parametrelere bağlı olarak lokal ve sistemik belirtiler oluşmaktadır (Özkan ve Karaer, 2003; Özkan ve Kat, 2005).

Akreplerin zararlı etkilerinden korunmak mümkündür. İnsanlar yaşamlarını sürdürdükleri alanlarda bir takım önlemler alarak zararlı etkilerin önüne geçebilmektedir. Örneğin insanlar konutlarının etrafında akreplerin barınmalarını sağlayan ağaç, tahta kabukları, taş, kaya parçaları gibi akreplerin saklanmak ve yaşamak için tercih ettikleri fiziksel yapıları uzaklaştırabilir. Ayrıca konutlarının duvarlarında varsa eğer yarık ve çatlaklar kapatılabilir. Son olarak güncel insektisitler kullanarak hem akrepler hem de beslenme kaynakları elimine edilebilmektedir (Stewart ve Jackman, 1979; Özkan ve Karaer, 2003).

Evin içinde ve dışında bulunan duvarlarda oluşan çatlak ve yarıklarda sentetik piretroid grubu insektisitler kullanılabilir. Bu uygulama sürekli tekrarlanarak hatta

gerekirse olası bir direnç oluşturmaya karşı da kullanılan kimyasalın miktar artırılarak devam ettirilebilir. İlaçlama işlemi tercih edilecekse eğer evin içi ve dışı birlikte ilaçlanmalıdır. Akreplerle mücadelede yapışkan (silikajelli) tuzaklarda kullanılabilir. Bu yapışkan tuzaklar evin nemli yerleri ve kapı girişlerinde yerleştirilebilir. Evde keçi kılından yapılmış kilimler kullanmakta yararlı olacaktır. Keçi kılından yapılmış zeminlerde akreplerin yürümekte zorlandığı bilinmektedir. Akrepler dik duran düz-prüzsüz zeminlere de tırmanamazlar bundan dolayı evlerin sıvalarının da iyi olması gerekir. Akrepler güneşten ve kuraklıktan etkilendikleri için evlerin içinin yeterince güneş alması sağlanması da akreplerden korunmada etkindir. Akreplerin çok fazla görüldüğü yerlerde insanların dikkatli olmaları da önemlidir. Örneğin ayakkabılar ve elbiseler giyilmeden önce kesinlikle silkelenmelidir. Uyumadan önce yataklar kontrol edilebilir, çıplak ayakla dolaşmamaya özen gösterilmeli ve son olarak taşlar elle kaldırılmamalıdır (Stewart ve Jackman, 1979; Dunlop ve Webster, 1999; Özkan ve Karaer, 2003).

1.14. Akrep Venomu Biyolojisi

Akrepler zehir boşaltımlarını kontrollü yapabildiklerinden her sokma da zehirlenme vakası gerçekleşmez; akrep hiç zehir boşaltmayabilir (kuru sokma), zehrinin bir kısmını veya tamamını boşaltabilir. Telsonun (zehir vezikül bezi) çizgili kas tabakası ile çevrili olması zehir enjeksiyonunu düzenlemeyi kolaylaştırır, semptomların yoğunluk değişimi ile zehirlenmenin olmadığı (kuru sokmaları) açıklar. Akrep zehri, polipeptitler ve enzimler gibi çeşitli aktif maddelerin bir karışımıdır. Venom; Nörotoksin (solunum, vazomotor merkezi, sinir merkezleri ile çizgili ve çizgili olmayan kas plakalarının uçları üzerinde etkilidir), hemolizinerler, aglütinler, hemorajiler, lökositolisinerler, koagülinler, lesitin, kolesterol, kardiyotoksinler, nefrotoksinler, hiyalüronidazlar, fosfodiesterazlar, fosfolipazlar, glikozaminoglikanlar, histamin, triptofan ve sitokin salgılayıcılarından meydana gelir. Ayrıca bir dizi serbest aminoasitler ile serotoninde zehirden izole edilmiştir. Akrep zehri toksinlerinin en önemlileri nörotoksinlerdir ve bunlar sodyum kanallarını bloke eden (beta toksinler) peptitler içerirler. Sodyum nöronal kanallarının aktivasyonunun zehir tarafından geciktirilmesi ile dolaşımda katekolaminlerin yoğun salınımı olur. Akrep nörotoksinlerinin temel moleküler hedefleri; voltaj kapılı

sodyum kanalları ile kalsiyumla aktive edilmiş potasyum kanalları da dahil potasyum kanallarıdır. İberiotoksin ve tamulotoksin (*Mesobuthus tamulus* akrebinin zehrinden saflaştırılmış toksinlerdir) potasyum kanallarının seçici inhibitörleridir. Sodyum ve potasyum kanallarının akrep zehrinin toksinleri ile bloklanması otonom sinirlerin yoğun ve kalıcı depolarizasyonundan sorumlu sinerjik etkiler meydana getirip çok miktarda otonom nörotransmitterlerin serbest bırakılması ile ‘otonomik fırtına’ tepkisi uyandırır. Penil düz kasları besleyen nitrejik sinirlerin uyarılması şiddetli akrep zehirlenmelerinde gözlemlenen priapizmi açıklar (Bu sinirler vazodilatasyon için sempatik ve parasempatik yollar dışında beyinden omuriliğe penil düz kaslarına serbest olarak uzanırlar) (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012).

Akrep zehri sokma yerinde lokal ağrıya neden olabilen serotonin içerir. Çoklu toksinler mağdurda yalnızca bir akrep türünün zehrinden daha güçlü sinerjik etkiler oluşturabilir. *Tityus trinitatis*’in venomundaki Trinidad pankreas psödokistlerini geliştirmesiyle akut pankreatit, akut ödem veya hemorajik pankreatit gelişiminden sorumlu pankreatotoksiktir (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012).

1.14.1. Epidemiyoloji

Bilinen 1500 akrep türünün yaklaşık 30 türü tıbbi öneme sahiptir. Birbirinden farklı akrep türleri olmasına rağmen bunların çoğu benzer etkiler gösterir. Çoğu akrep türü insanlarda sadece küçük lokal reaksiyonlara neden olan zehir üretiyor ancak bazen akrep sokmaları Dünyanın bazı bölgeleri ile Hindistan’ın bazı bölgelerinde ciddi sağlık sorunlarına (ki bazen ölümlere bile) neden olmaktadır. Ölümcül sokmalara neden olabilecek akreplerin tümü Buthidae ve Scorpionidae familyalarına üyedir. *Hemiscorpius lepturus* hariç, tüm zehirli akrep türleri büyük Buthidae familyasının üyesidir. En ölümcül akrep türlerine örnek olarak; *Androctonus australis* (Kuzey Afrika ve Orta Doğu), *Androctonus crassicauda* (Türkiye, Orta Doğu ve Kuzey Afrika), *Buthus occitanus* (Akdeniz kıyı ülkeleri ve Orta Doğu), *Leiurus quinquestriatus* (Kuzey Afrika ve Orta Doğu), *Parabuthus* (Güney Afrika), *Tityus trinitatis* (Trinidad ve Venezuela), *Tityus bahiensis* (Brezilya, Arjantin),

Centruroides sculpturatus (Kaliforniya, New Mexico, Arizona ve Baja California) ve *Mesobuthus tamulus* (Hindistan) türleri verilebilir. Öldürücü olmayan akrep sokmaları tropiklerde yaygın görülür ancak ölümcül zehirlenmeler sadece Latin Amerika, Kuzey Afrika, Orta Doğu ve Hindistan'da sık görülür (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012).

1.14.2. Klinik Özellikler

Zehir sokulma gerçekleştiikten sonra deri altı dokuya derince yayılır, zehrin sokulma bölgesinden tamamen emilmesi hemen hemen 7-8 saat içinde gerçekleşir (kandaki maksimum zehir konsantrasyonunun %70'i ilk on beş dakikada gerçekleşir). Zehirlenmenin ciddiyeti hastanın yaşı (ki yüksek ölüm oranları çocuklarda görülür ve ölüm oranının %50'si dört yaş ve altı çocuklar görülür), akrebin büyüklüğü ve sokma zamanı ile ilgilidir (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012).

Klinik özellikler lokal belirtilere ve sistemik belirtilere ayrılabilir.

1.14.2.1. Lokal belirtiler

Sokma bölgesinde şiddetli, acı veren, lokal ağrılar ve vakalarında %35'inde görülen dermatoma (derinin lokal olarak şişmesi) tek klinik bulgudur. Şişme, kızarıklık, yanma ve bölgesel lenf nodu tutulumları gibi lokal bulgular hiçbir zaman kapsamlı değildir. Sokmalar görünür tipik bir cilt lezyonu oluşturmazlar ancak nadiren küçük kırmızı bir iz görülebilir. Lokal ödem, ürtiker, fasikülasyon ve altta yatan kasların spazmı serbest kalan serotonin ve ağrı reseptörlerinin sürekli uyarılması nedeniyle sokma yerinde nadiren görülür. Bazı hastalarda pozitif tap testi (parestezide dokunarak artış) mevcuttur. Ağrılar nedeniyle geçici bradikardi, kan basıncında geçici artış ve sıcak ekstremitelerde terleme olur. Akrep sokmalarının çoğu sistemik tutulum (tehlikesiz veya kuru sokmalarda), parestezi olmadan ve şiddetli küçük lokal ağrılara neden olur (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012).

1.14.2.2. Sistemik belirtiler

Akrep venomu nöronal sodyum kanallarının kapanmasını geciktirerek, endojen katekolaminleri dolaşım içine aniden bırakarak ‘otonom fırtına’ ya sebep olur. Sistemik semptomlar dakikalar içinde de gerçekleşebilirken 24 saate kadar da uzayabilir. Otonom sinir sistemini uyarma özellikleri geçici kolinerjik ve uzun süreli adrenerjik stimülasyonlardır. İlk parasempatik uyarılma; bir veya iki kere kusma, aşırı terleme (3-17saat boyunca deri akıntısı), buz gibi ekstremiteler, aşırı tükürük salgısı ve bronşiyal mukus bezlerinin uyarılmasına bağlı kalın mukus salgısı, lakrimasyon, pinpoint pupil (toplu iğne küçüklüğünde pupil ile karakterize edilen fiziki muayene bulgusu), ishal, karın şişkinliği, priapizm, bradikardi ve hipotansiyon olarak karakterize edilmiştir. Feokromositomada olduğu gibi uzun süreli katekolamin salınımı da huzursuzluk, piloereksiyon, belirgin taşikardi, midriyazis, hiperglisemi, hipertansiyon, toksik miyokardit, kalp yetmezliği ve akciğer ödemeine sebep olur. Tüm elektrokardiyografi (EKG) anormallikleri belirlenip not edilmiştir ki bunlara sinüs taşikardisi, ventriküler erken vuru ile şeritleri, geçici ventriküler taşikardi, nadiren ölümcül aritmiler ve ST-T değişikliklerinin doğuşsal QT interval sendromuna çok benzerdir. Katekolaminlerin salınması muhtemelen ST-T değişikliklerinin patogenezisinde büyük bir faktördür. Toksinin miyokard üzerindeki doğrudan etki olasılığı da göz ardı edilmemelidir. Başlıca belirtiler arasında hipertansif kriz ve hayati tehdit oluşturabilen akciğer ödemi vardır bunlar zamanında tedavi edilmezse ölümcül olabilir. Ayrıca endojen hiperkatekemi hiperglisemi ve bazı durumlarda da glikozüriyi açıklayabilir. Hemipleji ve diğer nörolojik lezyonların yayılmış intravasküler küagülasyondan kaynaklanan fibrin birikimiyle ilişkisi vardır (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012).

Klinik bulgular temelinde akrep zehirlenmeleri dört dereceyle sınıflandırılır:

Derece 1: Şiddetli, acı veren lokal ağrıların dermatomlara doğru yayılması, sistemik tutulum olmadan sokma bölgesinde hafif lokal ödem.

Derece 2: Parasempatik ve sempatik stimülasyon ile karakterize olan otonom fırtınasının belirtileri ve semptomları

Derece 3: Soğuk ekstremiteler, taşikardi, pulmoner ödemin eşlik ettiği hipotansiyon veya hipertansiyon

Derece 4: Taşikardi ve sıcak ekstremiteler olma durumunda hipotansiyon pulmoner ödemli olarak veya pulmoner ödemsiz olarak gelişebilir (Sıcak şok)

1.14.3. Yönetim

Akrep sokması olaylarında, ilgili türe bakılmaksızın yirmi dört saat boyunca hasta gözlemlenmedikçe sokma olayına iyi huylu denmemelidir. Patofizyoloji temelinde, terapötik müdahaleler otonom sinir sistemi aşırı uyarılmadan ve hipovolemi düzeltilerek zehre karşı uygulanmalıdır (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012).

1.14.4. Lokal Tedavi

Sokma bölgesindeki hafif ağrılar sokma yerine buz paketleri konularak kesilebilir. Şiddetli, güçlü lokal ağrılar, lignokain (adrenalin olmadan) halka bloku ile geçici olarak hafifletilebilir. Bununla birlikte, oral diazepam ve lignokain bloğu ile steroid olmayan antienflamatuar ilaçlar ağrıyı uzun süreli olarak geçirtebilir. Hastayı sakin tutmak, tampon pansuman uygulamak ve sokma bölgesine buz torbaları koymak zehrin emilimini azaltır. Sokma bölgesinde kesik, yara açmak (inzisyon) ya da turnike uygulamak tavsiye edilmez (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012).

Akrep sokmasından şüphelenilen hastalar en az on iki saat hastanede gözetim altında tutulup kardiyovasküler ve nörolojik sekellere karşı gözlemlenmelidir. Ölümcül olmayan akrep türleri sokmaları da en fazla buz torbası, analjezik ve antihistaminik müdahaleler gerektirmektedir (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012).

1.15. Akrelerin Genel Morfolojisi

Akrelerin vücutları prosoma (cephalotorax) ve opistosoma (abdomen) olmak üzere iki bölümden oluşur. Prosomanın üst tarafında kitinden meydana gelmiş sert yapılı carapax bulunur. Carapaksın medianında 2, her iki antero-lateral kenarda sayıları tür teşhisinde kriter olan 2-5 çift lateral gözler bulunur. Carapax üzerinde tür teşhisinde anahtar rol oynayan carinalar, oluklar ve granüller taşır (Fotoğraf 1.13) (Erkmen, 2012).

Abdomen (opisthoma), mesosoma ve metasoma olmak üzere iki bölüme ayrılır. Mesosoma vücudun prosoma ile metasoma arasında kalan bölümüne verilen isim olup yedi segmentten oluşur. Metasoma beş segmentten oluşup beşinci segmentin ucunda zehir kesesi ve zehir iğnesini içeren telson bulunur (Şekil 1.9). Metasomanın ventralinde beşinci segment ile telson arasında anal açıklık bulunur. Vücut segmentleri kitin plaklar ile örtülmüştür bu kitin plaklara dorsalde tergit ventralde ise sternit denir. Tergit ve sternit arasında bağlantıyı sağlayan lateraldeki plaklara ise pleurit denir (Erkmen, 2012).

Prosoma altı ekstremiteden meydana gelir. Bunlar; bir çift keliser, bir çift pedipalp ve dört çift yürüme bacağıdır. Birinci çift ekstremitelik keliser üç bölümden oluşur ve en uçtaki iki segment kısa olacak şekilde eklemlenmiştir. Kısa avları tutmaya ve ses çıkarmaya (birbirine sürterek) yarar. Keliserler familya ve bazı türlerde karakteristiktir (Erkmen, 2012).

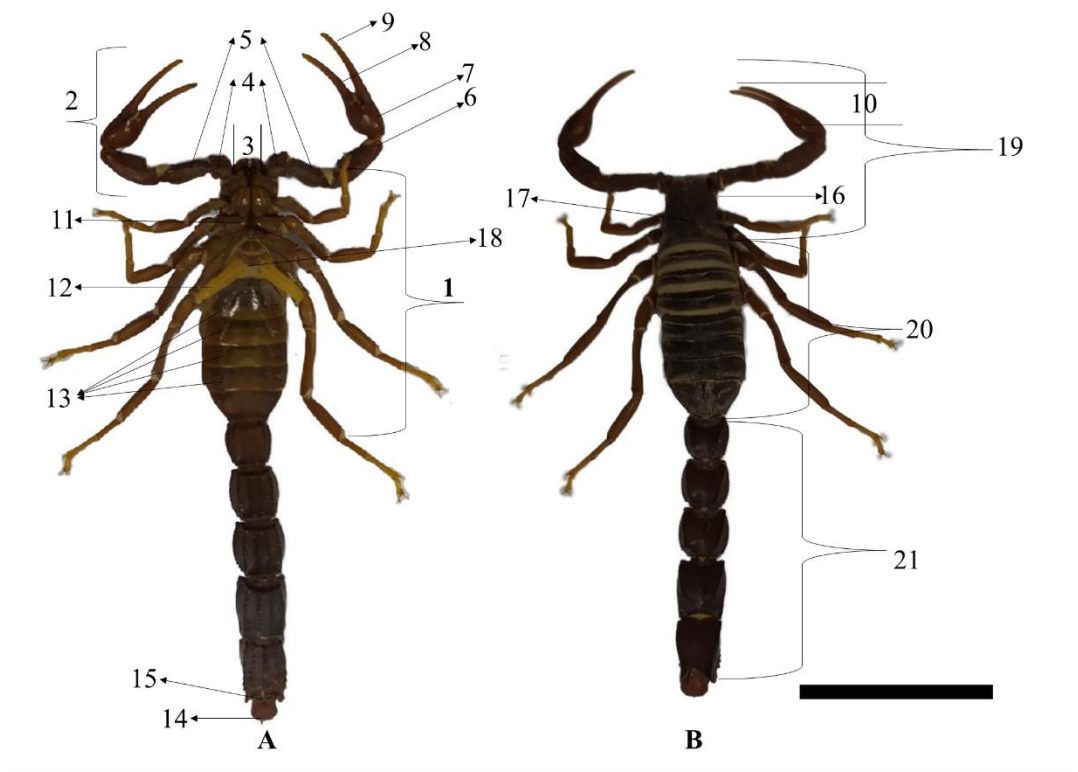
Prosmadaki ikinci çift ekstremitelere pedipalp denir. Her pedipalp altı segmentten oluşur. Pedipalplerin uçlarında özelleşmiş hareketli ve sabit parmak bulunur. Bu hareketli ve sabit parmağın iç kısımlarında iki sıra halinde dış sıraları bulunur. Avların yakalamasında görev alan pedipalplerin üzerinde dokunma organı olarak görev alan trichobotriler mevcuttur ayrıca manus ve sabit parmakta da trichobotriler mevcutken hareketli parmakta yoktur. Chela, femur ve patellanın üzerindeki trichobotriler sinir bağlantılarına sahip olup mekanoreseptör görevi görürler (bunlar hava sirkülasyonunu algılama ve akrebe yer tayinini yapmada işlev görürler) ve bunlar dış iskelette bulunan setalardan (kıllardan) daha farklı bir biçimde

özelleşmişlerdir. Akrepler de tür teşhisi için kullanılan parametreler arasında pedipalp, femur, chela ve patella üzerindeki carinalar ile hareketli ve sabit parmakların üzerinde konumlanmış granüllerin sıraları ile trichobotrilerin düzeni bulunur (Erkmen, 2012).

Akreplerde yürüme bacakları dört çift olup sekiz adettir ve her bir bacak yedi segmentten oluşur (Fotoğraf 1.12). Bunlar sırasıyla coxa, trochanter, femur, patella, tibia, basitarsus ile tarsus olarak isimlendirilir. Ayrıca tüm yürüme bacaklarının son segmentlerinin ucunda unguis denen hareketli bir çift tırnak bulunur (Erkmen, 2012).

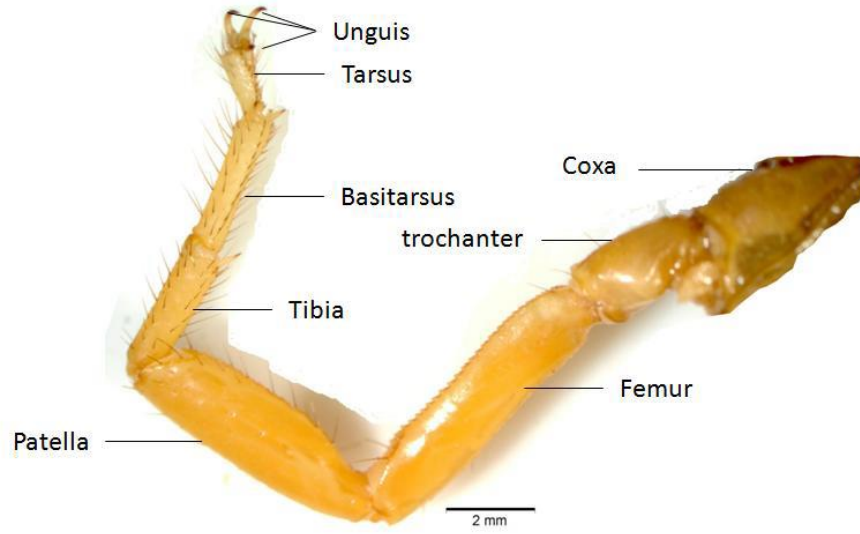
Opisthosoma üzerinde üye bulunmamaktadır. Birinci mesosomaldeki segmentin sterniti dardır ve bu segmentin ortasında genital operculum (genital açıklığı kapatmakta işlevseldir) bulunur. Erkek akreplerde genital operculum yapısının altında genital papiller bulunur. Genital operculumun önünde, şekli taksonların tanımlanmasında kriter olan sternum bulunur (Erkmen, 2012).

İkinci mesosomal sternitin üzerinde pekten (tarak organı) bulunur. Pecten organı akreplere özgü olup yerden gelen titreşimleri hissetme, çiftleşme döneminde eş bulma ve yer tayininde duyu organı olarak özelleşmiştir. Dişi bireylere nazaran pecten organı erkek bireylerde daha uzun olup çiftleşme sırasında hemispermatoforların uygun bir zemine bırakılmasında işlevseldir. Mesosomanın üçüncü, dördüncü, beşinci ve altıncı segmentlerinde bulunan sternitlerde akrebin solunum işlevini yerine getiren dört çift kitapsı akciğerin stigması mevcuttur (Erkmen, 2012). Genel olarak akrebin vücut bölümleri Fotoğraf 1.11'de de gösterilmiştir.

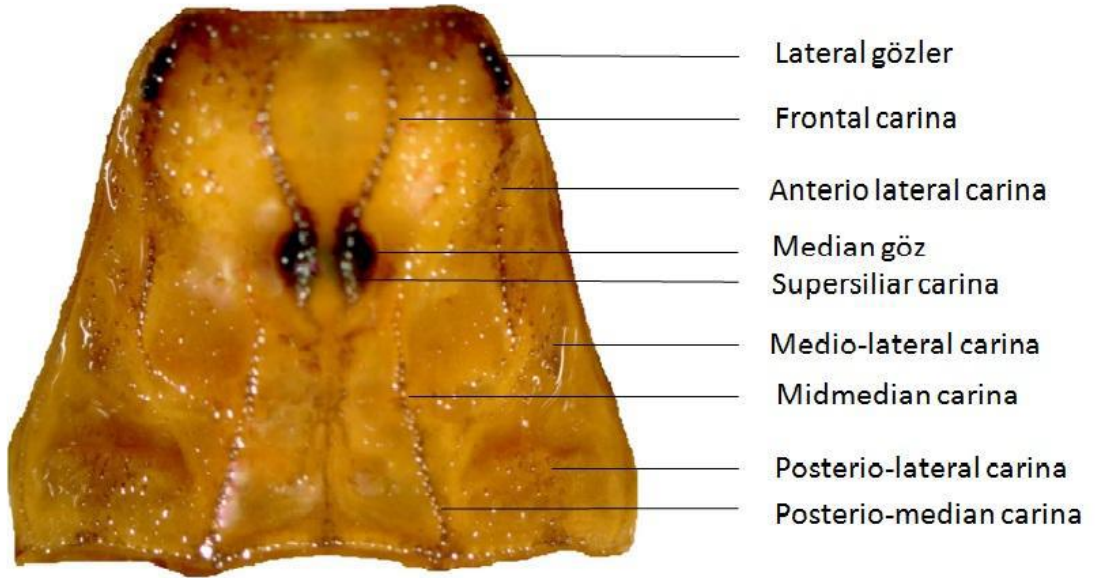


Fotoğraf 1.11. *Androctonus crassicauda* akrebinin genel morfolojisi

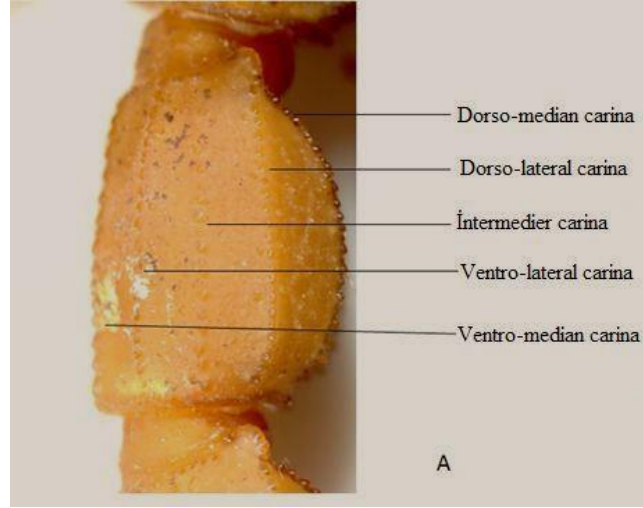
Fotoğraf 1.11’de A. Akrebin ventral görüntüsü B. Akrebin dorsal görüntüsü 1. Yürüme bacakları 2. Pedipalp 3. Keliser 4. Trochanter 5. Femur 6. Tibia 7. Manus 8. Sabit parmak 9. Hareketli parmak 10. Chela 11. Sternum 12. Pecten 13. Stigma 14. Telson 15. Anal açıklık 16. Lateral gözler 17. Median gözler 18. Genital operculum 19. Prosoma 20. Mesosoma 21. Metasoma (ölçek: 3cm) ifade etmektedir.



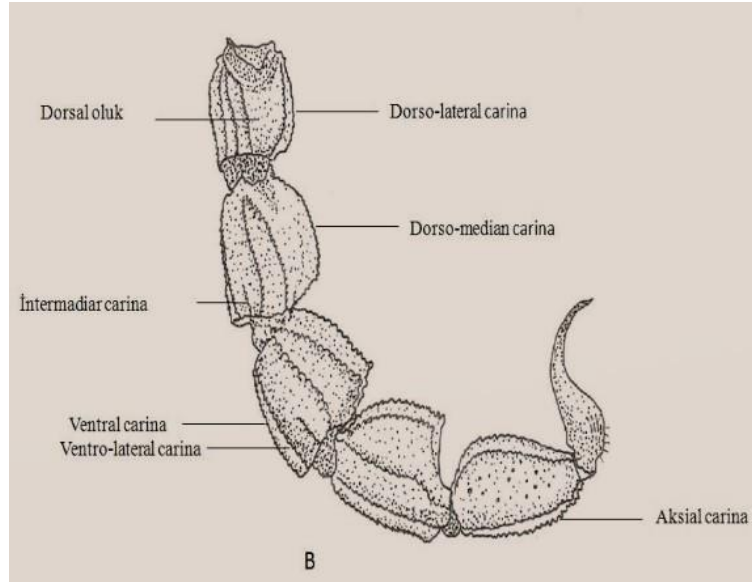
Fotoğraf 1.12. Akrepteki yürüme bacaklarının görüntüsü (Erkmen, 2012)



Fotoğraf 1.13. Akrelerin carapax carinalarının isimlendirilmesi (Erkmen, 2012)



Fotoğraf 1.14. Metasomal segmentte bulunan karinaların isimlendirilmesi (Erkmen, 2012)



Şekil 1.9. Metasomada bulunan karinaların isimlendirilmesi (Erkmen, 2012)

1.16. Akreplerden Zehir Alma Yöntemleri

1.16.1. Maserasyon Yöntemi

Bu yöntem zehir elde etmek için kullanılan eski metottur. Yeteri kadar zehir elde edebilmek için çok sayıda akrep öldürmek gerebilir bundan dolayı pek tercih edilmez (Özlü Ekmekcioğlu, 2019).

Bu yöntemle venom hazırlanışı: Eterle öldürülen akreplerden veya satın alınarak tedarik edilen telsonlar ilk önce havanda öğütülür. Boş bir şişeye alınan bu toza 10 ml %9'luk serum fizyoloji ilave edilir ve homojen bir şekilde karıştırılır daha sonra ağzı kapatılan bu homojen karışım +4 derecede üç gün boyunca maserasyona bırakılır. Üç günün sonunda 2000 rpm de 10 dk boyunca santrifüj edilir. Santrifüj işleminden sonra süpernatant kısım ayrılır ve dipte kalan pelte üzerine serum fizyolojik eklenerek son hacim 10 ml'ye tamamlanır (Özlü Ekmekcioğlu, 2019).

1.16.2. Manuel Teknik

Sivri bir iğne aracılığıyla akrebin venom kesesine girilir ve işaret ile başparmak yardımıyla venom sağılır. Bu yöntem akrebin zehir bezlerinde deformasyonlara sebep olabileceği için pek tercih edilmez (Özlü Ekmekcioğlu, 2019).

1.16.3. Elektrikle Sağım Yöntemi

Akrep, araştırmacının imkan ve becerisine göre ya bir zemine bantlamak suretiyle ya da özel bir kısaç sistemi içerisine alınarak sabitlenir. Akrebin telsonu uygun bir pens ya da maşa aracılığı ile kontrol altına alınır ve zehirin toplanacağı hazneye (saat camı, tüp ya da mikro kapiller tüp) uygun bir şekilde konumlandırılır. Akrebin metasoma bölgesindeki eklem aralarına 6V ya da 12V elektrik verilerek sağım işlemine başlanır. Elde edilen venom 10 ml %9'luk serum fizyoloji içerisinde çözdürülür. Bu metot maserasyon yöntemi ile manuel yöntemle göre daha hızlı ve kullanışlıdır. Ancak akrep elektriğe maruz bırakılırken kendisine zarar vermemesi için hassas olunmalıdır (Özlü Ekmekcioğlu, 2019).

2. LİTERATÜR İNCELEMESİ

Androctonus crassicauda akrebi dünyadaki en tehlikeli akreplerden biridir. *Androctonus crassicauda* Türkiye, İran, Yemen, Irak, Azerbaycan, Suriye, Ürdün, Suudi Arabistan, Mısır gibi geniş bir Kuzey Afrika ve Orta Doğu bölgesinde bulunur. Bu akrep zehrinin tipik etkilerinden bir tanesi de enjeksiyon bölgesinde ciddi nörolojik etkiye sahip olmasıdır. *Androctonus crassicauda* ile yapılan bir çalışmada SH-SY5Y (insan nöroblastomu) ve MCF-7 (meme kanseri) hücre hatlarında akrep zehrinin sitotoksik etkisi, hücre döngüsü üzerindeki etkileri ve anti-kanser etkileri araştırılmıştır. Akrep zehrine maruz bırakılan hücreler ile MTT yöntemi kullanılarak sitotoksikite hesaplanmıştır ve hesaplamaların neticesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca çalışmada akrep zehri, hücre döngüsünde S-fazını durdurarak proliferasyonun baskılanmasına sebep olmuştur. Artan nitrik oksit üretimi, mitokondriyal membranın depolarizasyonu ve artmış kaspaz-3 aktivitesi ile apoptoz indüksiyonuna yol açtığını göstermiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar nitrik oksidin, nöroblastom hücrelerinde apoptozu indüklediğini ortaya koymuştur. Apoptozun indüklenmesi ve DNA sentezinin durdurulması anti-kanser ilaçlarının gelişimi için kritik belirleyici faktörler olduğu için, bu özellikler *Androctonus crassicauda*'nın zehrini, anti-kanser aktivitesine sahip potansiyel bir etkili molekül kaynağı yapmaktadır (Zargan vd., 2011).

Akrep zehirlerinin bileşenleri insan da dâhil olmak üzere çeşitli organizmalar üzerinde toksik etki yapan düşük moleküllü zengin bir peptid kaynağıdır. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada *Androctonus crassicauda*'nın ham zehirinden izole edilen Acra3 peptidinin BC3H1 fare beyin tümörü hücreleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Akrep peptidlerinin çeşitli kanser hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği bilinmektedir. Çalışmanın sonucunda farklı Acra3 peptid konsantrasyonlarının çeşitli mekanizmalarla BC3H1 hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği ve güçlü sitotoksik etki gösterdiği gözlemlenmiştir (Caliskan vd., 2013).

Akrep türlerinden elde edilen zehirler karmaşık biyoaktif protein ve peptid karışımları içerir. Etki mekanizmaları bilinen izole edilmiş peptidlerin birçoğu klinik

denemelerde tıbbi ajan veya teşhis reaktifleri olarak kullanılmaktadır. *Androctonus crassicauda*'nın ham zehirinin yaklaşık olarak 276 Da ile 44,541 Da arasında değişen en az 80 farklı peptid kitle bileşiminden oluştuğu bildirilmiştir. Bugüne kadar yalnızca sekiz toksik peptid (Acra1 ile Acra8 arasında) tanımlanmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda akrep zehirlerinin interleukin (IL)-1, IL-6 ve tümör nekrozu gibi pro-enflamatuar tepkileri indüklemeye kapasiteleri nedeniyle toksisite ürettiğini göstermiştir. Buradan yola çıkarak yapılan bir çalışmada *Androctonus crassicauda*'dan izole edilen zehrin IL-12'nin ekspresyonuna/üretimine neden olma kapasitesi test edilmiştir. Çalışmaların sonucu, *Androctonus crassicauda* akrebinden elde edilen zehrin kısmen IL-12'nin ekspresyonunu tetikleyebilecek aktif bileşenleri içerdiğini göstermiştir (Saadi vd., 2015).

Türkiye'nin güneydoğusunda yaygın olarak bulunan *Androctonus crassicauda* ülkedeki en fazla sokmaya neden olan akreptir. Bu zehir, kalp ve solunum bozuklukları dâhil olmak üzere ciddi otonom ve merkezi sinir sistemi bozukluklarına neden olmaktadır. Bu türün soktuğu insanların bazıları ölümcül olabilen tıbbi yardım gerektirir. *Androctonus crassicauda*'nın güçlü bir zehiri olmasına rağmen, tüm zehrin peptid içeriği, biyokimyasal ve moleküler biyolojik yaklaşımlarla derinlemesine çalışılmamıştır. Buradan yola çıkarak yapılan bir çalışmada *Androctonus crassicauda*'nın zehrinden izole edilen peptid Acra3'ün farelerde şiddetli nörotoksik olaylara neden olduğu ve birkaç dakika içerisinde ölümüne neden olduğu anlaşılmıştır (Caliskan vd., 2012).

Androctonus crassicauda akrebinin sokması sonrası şiddetli ağrı, ödem ve kas fonksiyon bozuklukları oluşmakta ve bazen de ölüme sebep olmaktadır. Bunun yanı sıra *Androctonus crassicauda*'dan elde edilen ham zehirden izole edilen Acra4 peptidinin fareler üzerinde yapılan deneyler sonucu Na⁺ kanallarının işlevini etkilediği gösterilmiştir (Caliskan vd., 2013).

Akrepler 'yaşayan fosiller' olarak tanımlanmışlardır. Bunun sebebi de son 400 milyon yılda çok az değişiklik göstermiş olmalarıdır. Akrepler dünyanın tropikal, ılıman ve soğuk bölgelerine dağılmıştır. Şu ana kadar 1.500'den fazla akrep türü tanımlanmıştır ve sadece 50'si insanlar için tehlikeli olarak ifade edilmiştir.

Akrepler, gelişmekte olan ülkelerde, özellikle kent bölgelerinde gerçek bir sağlık sorunudur. Türkiye'deki öldürücü akrep türleri arasında *Androctonus*, *Leiurus* ve *Mesobuthus* gösterilmektedir. *Androctonus crassicauda* akrepçilik ve antivenom üretimi açısından Türkiye'deki en önemli akrep türüdür. Aynı türdeki zehirlerin bireysel ve coğrafi değişkenliği, etkili antivenomların üretimi ve hastaların klinik semptomlarının anlaşılması için son derece önemli hale gelmiştir. Son zamanlarda yeni akrep türlerinin veya alt türlerinin moleküler tekniklere dayalı olarak tanındığı bilinmektedir. *Androctonus crassicauda*, Orta doğu'daki tıbbi açıdan en önemli türlerden biridir ve ayrıca antivenom üretimi için kullanılmaktadır. Akrep sokmalarının belirti ve semptomları cins, yaş, tür, ağırlık, beslenme durumu ve akreplerin yapısı, ayrıca enjekte edilen zehir miktarı ve bölgenin iklimi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Genetik çeşitlilik, aynı zamanda bir yerden toplanan *Androctonus crassicauda* zehrinde bile çeşitliliğe yol açmaktadır. Akreplerle ilgili genetik bilgiyi artıracak ve akreplerle çalışan evrimsel taksonomistlere fayda sağlayabilecek çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar aynı zamanda akrep zehirlenmelerinde kullanılacak daha etkili antivenom gelişimi için akrep zehrinin genetik çeşitliliği ve bileşiminin araştırılmasını önemli hale getirmektedir (Ozkan vd., 2010).

Akrep sokmaları, az gelişmiş tropik ülkelerde özellikle Hindistan'ın kırsal kesimlerinde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Hastalarda genellikle hayatı tehdit eden komplikasyonlar gelişmektedir. Hafif lokal ağrılardan tüm vücudun dayanılmaz ağrılarına kadar hatta bazen ölüme neden olabilen ve hemen hemen tüm sistemleri etkileyen bir çeşitlilik göstermektedir. Akrep zehri suda çözünebilen heterojen bir karışımdır. Zehir, değişen konsantrasyonlarda nörotoksin, nefrotoksin, kardiyotosin, fosfodipazlar, histamin, serotonin ve sitokin saygılayıcılarından oluşmaktadır. En güçlü toksin nörotoksindir. Düşük moleküler ağırlığa sahiptir ve iyon değişim kanallarını değiştirerek sinirler, kaslar ve kalpte hücre bozulmasına neden olmaktadır. Yapılan çeşitli deneylerde ağırlık bazında akrep zehrinin yılan zehrinden daha toksik olduğu ancak akreplerin çok az zehir salgıladığı bulunmuştur. Genellikle akrep sokmalarında belirtiler birkaç dakika içerisinde ortaya çıkmakta ve giderek şiddetlenmektedir. Akrep sokmalarının belirtileri bölgeden bölgeye değişmektedir. Hindistan, Brezilya ve Meksika'da kalp belirtileri daha yaygın olmaktadır. İran'da doku nekrozları ve hemoliz, ABD ve Güney Afrika'da nörolojik bulgular daha

yaygın olmaktadır. Semptomların seyri, akrebin türüne, akrebin büyüklüğüne, zehirin miktarına, iğnenin derinliğine ve zehirin bileşimine göre değişmektedir (Deverbhavi ve Vasudeva, 2013).

Akrepler hastalık etkenleri barındırmazlar ancak çoğu zaman kendilerini korumak için insanları sokarak bir savunma geliştirmektedirler. Akrep sokmaları üzerine yapılan bir çalışmada semptomların ciddi merkezi sinir sistemi hasarına ve özellikle kardiyoya bağlı ölüm ve solunum yetmezliğine sebep olduğunu göstermektedir. İnsanlar için tehlikeli olduğu anlaşılan türlerin çoğu cinsleri Buthus, Parabuthus, Mesobuthus, Tityus, Leiurus, Androctonus, Buthidae Centruroides familyasına aittir. Bu türler arasında *Tityus serrulatus*, *Tityus baweensis* Güney Amerika'da özellikle de Brezilya'da yaygın ölümcül akrep türleridir. Meksika'da *Centruroides suffusus*, *Centruroides limpidus*, *Centruroides sculpturatus*, *Leiurus quinquestriatus*, *Androctonus crassicauda*, *Androctonus mauretaricus*, *Androctonus australis*, *Androctonus amoreuxi* türleri yaygın olarak görülmektedir. Coğrafi konumu, sosyoekonomik yapısı ve iklimi nedeniyle Türkiye'de akrepler ve insanların karşılaşma vakaları yaygındır. Akrep sokmaları tüm bölgelerde özellikle Güneydoğu Anadolu'da önemli bir sağlık sorunudur. Türkiye'de halk sağlığını tehdit eden en önemli akrepler; *Androctonus crassicauda*, *Leiurus quinquestriatus*, *Mesobuthus gibbosus* ve Buthidae familyasından *Mesobuthus eupeus*'tur (Ozkan vd., 2006).

Akrep sokmalarının yıllık sayısı 1,2 milyonu geçmekte olup, tıbbi olarak önemli sokmalara ve ölüme (% 0,27) yol açmaktadır. Akrep sokmaları yoğun lokal ağrı, eritem, karıncalanma veya yanma, bazen de nekrozdan oluşan lokal reaksiyon oluşturur (Aghabiklooei vd., 2014).

Akrep zehirleri vücuttaki iyon kanallarının mekanizmasına zarar vererek normal transmitter sinyal yolunu etkili bir şekilde bloke etmektedir. Olumsuz etkisinin yanı sıra zehirler de insanlar için bazı yararlı özelliklere sahiptirler. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda çeşitli kanser tiplerinde antikanser özellikleri sergiledikleri gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada akrep zehrinin kolorektal ve meme kanseri hücre hatlarındaki moleküler seviyelerdeki değişiklikler incelenmiş ve her iki kanser hücre hattında da hücre invazyonunda önemli bir azalma gözlenmiştir. Antiapoptotik

proteinlerin ekspresyonunda azalma, proapoptotik proteinlerin ekspresyonunda artma gözlenmiştir. Bu da akrep zehrinin kolorektal ve meme kanseri hücre hatlarına karşı bir antikanser ajan olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Genel olarak akrep zehri önemli bir sağlık tehlikesi olarak kabul edilmektedir fakat bununla birlikte çeşitli hastalık türleriyle savaşmak için doğru kullanılırsa büyük bir potansiyele sahiptir (Al-Asmari vd., 2018).

Androctonus crassicauda Suudi Arabistan'daki çeşitli yörelerde ve Arap Yarımadası'nın diğer bölgelerinde bulunan en tehlikeli akreplerden biri olarak kabul edilmektedir (Jarrar ve Al-Rowaily, 2008).

Akreplerle ilgili yapılan çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. On yıl önce sadece 9 tanınmış akrep familyası varken güncel literatürde (soyu tükenmiş cins veya tür de dâhil olmak üzere) 16 geçerli akrep familyasının olduğu bildirilmiştir. Son dönemlerde kaydedilen en önemli ilerleme mevcut akrep familyalarının yeniden değerlendirilmesidir. Yapılan bir çalışmada son 25 yıldaki mevcut akreplerin sınıflandırılması konusundaki çalışmalar özetlenmiş ve bazı türlerin artık soyu tükenmiş olduğu gösterilmiştir. Orta Doğu'nun akrep faunası ile ilgili bazı yeni çalışmalar yapılmıştır. 48 cinsi ve 500'den fazla türü olan Buthidae familyası, akrep familyasının en büyük ve en yaygın olanıdır. Arabistan'daki önceki akrep çalışmaları ve araştırmalar Buthidae familyasına ait El-Medine Al-Munawara Bölgesi'nde sadece iki türün (*Androctonus crassicauda* ve *Leiurus quinquestriatus*) varlığını doğrulamıştır. Suudi Arabistan'ın diğer yerlerinden *Buthacus leptochelys* ve *Vachonrolus minpectinibus* gibi diğer Buthidae türleri de bildirilmiştir. Jazan Bölgesi'nde yeni kaydedilen bir diğer tür de Buthidae familyasına ait olduğu tespit edilen *Hottentotta jayakari*'dir. Bu cinse ait diğer akrep türleri de *Hottentotta jayakari jayakari* ve *Hottentotta jayakari salei*'dir. Umman'dan kaydedilmiş ve dağılımları İsrail'e ve Türkiye'ye kadar uzatılmıştır (Al-Asmari vd., 2007).

Akrepler, Arachnida sınıfının zehirli eklembacaklılarıdır ve örümceklerin, kenelerin ve akarların akrabaları olarak kabul edilmektedirler. Dünyada yaklaşık olarak 1.500 akrep türü bulunmaktadır. Antivenom kullanımı haricinde, akrep envenomasyonu için spesifik bir tedavi mevcut değildir. Akrep zehrinin elde ediliş yöntemlerinin

karşılaştırılmasına dair yapılan bir çalışmada, elektrik stimülasyonu ve telsonların maserasyonu ile ekstrakte edilen *Androctonus crassicauda* zehrinin protein içeriği ve ölümcüllüğü karşılaştırılmıştır. Ölümcüllük ve protein seviyeleri ekstraksiyon yöntemine göre değişiklik göstermiştir. Maserasyon tekniği ile elde edilen zehir, elektrik stimülasyonu ile elde edilenden daha düşük toksisite göstermiştir. Hayvan zehirlerine karşı herhangi bir aşı veya başka etkili bir ajan bulunmadığından, envenomasyon tedavisinde hala yaygın olarak antivenom kullanılmaktadır. Bu nedenle, hem kamu hem de özel sektördeki 21 laboratuvarın temsilcileri antivenom üretmek için kullanılan metotları sunmuşlardır. Türkiye’de akrep zehri 1942’den bu yana Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi’nde telsonların maserasyonu yöntemiyle elde edilmektedir (Ozkan vd., 2007) .

Akrepler dünyadaki en eski canlılar arasındadır. Akreplerin habitatları sıcak ve kurak bölgelerdir. Akrep, kışın kış uykusuna yatan ve ılık mevsimlerde aktif olan bir gece hayvanıdır. Akrep sokması çeşitli bölgelerde yaygındır. Düzenli raporlama sistemlerinin eksik olduğu gelişmekte olan ülkelerde akrep sokmaları hakkındaki veriler tahminlere dayanmaktadır. 1960 ve 1970’lerde Suudi Arabistan, İsrail, Tunus, Mısır ve İran’da akreplerin sayısındaki artıştan kaynaklı yüksek ölüm oranları bildirilmiştir. Son yıllarda antivenom kullanımındaki başarı ile mortalitede belirgin bir azalma gözlenmiştir. 2008’de Chippaux ve Gayffon tarafından yayınlanan bir raporda tahmin edilen yıllık akrep sokması sayısı küresel olarak 1,2 milyonu aştığı belirtilmiştir. Orta Doğu ve Kuzey Afrika’daki akrep sokmalarının sayısının sırasıyla 46.500 ve 350.000 olduğu tahmin edilmektedir. Vaka-ölüm oranları ise sırasıyla %0.42 ve % 0.52 olarak tahmin edilmektedir (Brent vd., 2017).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Arazi Çalışmaları

Bu çalışma için 2017 yılı Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında Şanlıurfa'da 3 aylık arazi çalışması yürütüldü. Çalışma yürütülen lokasyonlar: 1) Dağeteği Mahallesi, Dağeteği Köyü Yolu Haliliye/Şanlıurfa (Rakım:622,58 metre) 2) Selman Mahallesi, Selman Köyü yolu Eyyübiye/Şanlıurfa (Rakım:407,00 metre) 3) Siverek/Şanlıurfadaki harabe ev, ahır ve yerler.

3.1.1. Arazi Yapılırken Kullanılan Araç-Gereçler

Çapa, uzun maşa, akrepleri tek tek saklayabileceğimiz küçük kaplar, UV el feneri

Arazi çalışmalarında yerel halktan alınan görüşler doğrultusunda uygun lokasyonlar keşfedildi, gündüz keşif arazileri yapıldı ancak akrepler geceleri aktif olan canlılar olduğu için UV el fenerleriyle akşam 20:00 ve 1:00 saatleri arasında arazi çalışmaları yürütüldü.



Fotoğraf 3.1. UV ışık altında parlayan *A. crassicauda*

Arazi alışmaları sonunda yetmişe yakın *A. crassicauda* türü akrep toplandı. Toplanan bu akrepler Kastamonu Üniversitesi Biyoloji Bölümü Zooloji Labratuvarında canlılıklarını devam ettirebilmeleri için uygun büyüklükte hava alabilen, doğal yaşam alanlarına göre simüle edilmiş kaplarda saklandı.



Fotoğraf 3.2. Laboratuvarda korunan akrepler

Yakalanan akreplerin besin ihtiyaları15 günde bir un kurtları ve su verilerek karşılandı.



Fotoğraf 3.3. Un kurduyla beslenen *A. crassicauda*



Fotoğraf 3.4. Akrepler için düzenli olarak temin edilen un kurtları

Arazide toplanan yetmişe yakın akrep labratuvarda korunma altına alındı fakat 2 yıllık çalışmalar süresinde elliye yakın akrebin, labratuvarda koruma altındayken yaşamları son buldu. Ölen akrepler alkol içinde korumaya alındı.

3.1.2. Güney Doğu Anadolu Bölgesinin Coğrafi ve İklimsel Özellikleri

İklimsel olarak Doğu Anadolu ile Akdeniz bölgesinin iklimleri arasında geçiş özelliği gösterir. Akdeniz ikliminin özellikleri bölgenin doğusuna gidildikçe kaybolur yerini karasallığa bırakır. Kış ayları Doğu Anadolu bölgesi kadar uzun ve sert geçmez ama yaz aylarında ise Akdeniz bölgesinin sıcaklıklarına ulaşılmasına rağmen doğal göl bulunmamasından dolayı nem oranı oldukça düşüktür. Yaz aylarında Türkiye'nin en yüksek sıcaklık değerleri Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nin Şanlıurfa ve Mardin illerinde ölçülür ama hissedilen sıcaklık genellikle daha yüksek olur (Çolak, 2014).

Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nin alçak bölgelerinde cılız bozkır hâkimdir. Bölgenin batısında kızılçam ormanlarına rastlanırken bölgenin yüksek yerlerinde meşe ormanları yaygınlaşmaya başlar. Genel olarak bölgede bozkır örtüleri hâkimdir ama bu bozkır örtüsü İç Anadolu bozkırlarına göre cılız ve fakirdir. Ayrıca insan

faaliyetleri sonucu oluşan bozkır örtüsüne de rastlamak mümkündür. Bölgenin en önemli 2 suyu kaynağı Fırat ile Dicle nehirleridir bu iki nehir arasında kalan bölgeye özel olarak Mezopotamya da denir. Her iki nehrin kaynakları ülkemizde doğar fakat ağız kısımları ülkemizin sınırları dışındadır (Çolak, 2014).

Bölgenin ana dağ kuşağı Güney Doğu Toros dağlarıdır. Güney Doğu Toros dağları Hakkâri’de ülkemizin en yüksek tortul kökenli dağlarıdır. Güney Doğu Toros dağları Fırat, Zap suyu (ülkemizin en temiz doğal su kaynağıdır.) ve Dicle’nin kolları tarafından dar ve derin vadilere bölünmüş haldedir. Bölgenin en yüksek yeri 1957 rakımla Siverek ile Diyarbakır arasında bulunan eski sönmüş volkanik dağ olan Karacadağ’dır. Ayrıca Karacadağ Türkiye’nin en yayvan dağıdır (Çolak, 2014).

3.2. Akrelerin Sağılması

Akrepler ATABA marka AT-618 model min:6V max:12V elektrik gücü verebilen elektroşok cihazı kullanılarak sağıldı. Sağılma sırasında pens, maşa, mikropiller tüp, koli bandı kullanılarak akrep sabitlenmiştir. Ayrıca iletkenliği artırması için elektrik uygulanacak bölgeye NaCl çözeltisi damlatılmıştır.



Fotoğraf 3.5. *A. crassicauda* akrebinin sağım görüntüleri

NaCl ve H₂SO₄·3H₂O Sigmaaldrich (Ankara, Türkiye) den temin edilmiştir. Kullanılan 18,2 MΩ saf su ise Humana Zeneer Saf su cihazı ile üretilmiştir (Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı).

3.3. Bakteri Çalışmaları

Mueller Hinton Broth ortamının hazırlanması: Mueller Hinton Broth (Sigma-Aldrich) litrede 21 g olacak şekilde hazırlanmıştır. Saf su içerisinde çözündürülen Broth , Otoklav aracılığı ile sterilize edilmiştir.

Mueller Hinton Agar ortamının hazırlanması: Mueller Hinton Agar litrede 34g olacak şekilde hazırlanmıştır. Katı ortamının, katılığını uzun süre muhafaza edebilmesi için ortama 5 g/1 L olacak şekilde Agar-agar eklenmiştir. Saf su içerisinde çözündürülen Broth, Otoklav aracılığı ile sterilize edilmiştir. Yeterince soğuyan nutrient agar cam ekim kaplarına yayılarak kurumaya bırakılmıştır. Kuruma sırasında UV ışık altında tutularak sterilizasyon gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Kullanılan Bakteriler

Staphylococcus epidermidis: Gram + pozitif, biyofilm oluşturabilir, metisiline karşı dirençlidir, bağışıklık sistemi zayıf insanlara zarar verebilir. Hastane enfeksiyonlarına sebebiyet verdiği rapor edilmiştir (Otto, 2009).

Staphylococcus aureus: Gram + pozitif, enfeksiyona neden olur ve bazı antibiyotiklere karşı direnç gösterir. Nötropeniya sebebiyet verebilmektedir ve ölümcül salgınlara neden olabilmektedir (McGuinness vd., 2016).

Pseudomonas aeruginosa: Gram - negatif, fırsatçı patojendir, bazı antibiyotiklere karşı direnç gösterir. İnsanda birden çok dokuda enfeksiyona sebep olabilmektedir (Nielsen vd., 1998).

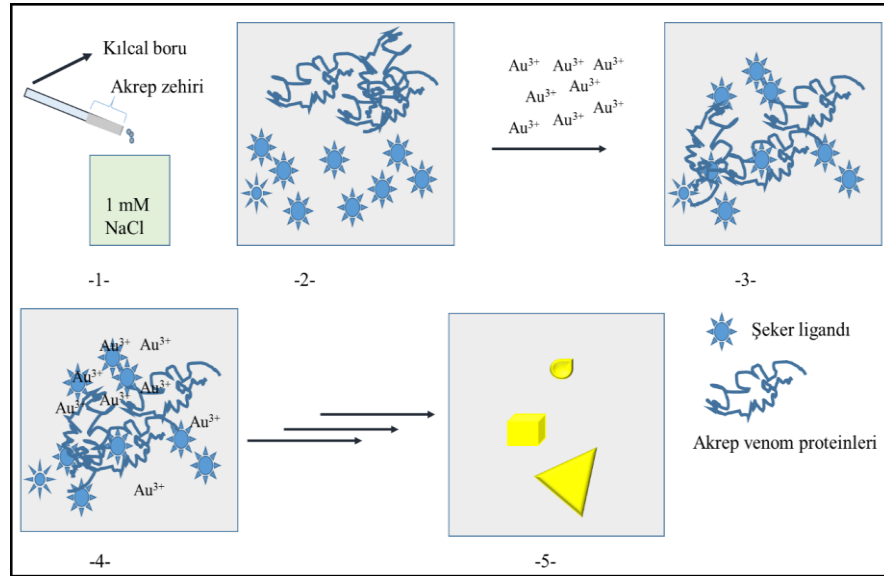
Salmonella infantis: Gram - negatif, enfeksiyona neden olur ve bazı antibiyotiklere karşı direnç gösterir örneğin tetrasiklin ve kloramfenikol (Ghoddusi vd., 2015).

Escherichia coli: Gram - negatif, bir bakteridir. Ürolojik sistemler başta olmak üzere pekçok dokuda enfeksiyonlara sebebiyet verir. Bazı türleri ölümcül olabilmektedir (Yazgan vd., 2014).

3.4. Akrep Venomunun Biyokimyasal Karakterizasyonu

Akrepten sağılan ~5 µL venomu 250 µL liziz tamponu içerisinde çözündürüldü. 2000g santrifüj altında çöktürme yaparak topaklanma oluşturmuş protein agregatlarının ortamdan uzaklaştırılması gerçekleştirildi. Thermo Scientific PageRuler 26616 protein standard kombinasyonu kullanılarak venom içerisindeki proteinlerin molekül boyut analizi (Agaroz Jel Elektroforez yöntemiyle) gerçekleştirildi.

3.5. Akrep Zehiri-Altın Nanoparçacık Sentezi



Şekil 3.1. Akrep venom-Altın nanoparçacık sentezi akış şeması.

Akrep venomunun hem şablon hemde tutuklayıcı/kararlaştırıcı ajan olarak sentez şeması Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Akrepten sağılan venom 5 mL lik 1 mM NaCl sulu çözeltide çözündürüldü (1.adım) ve akabinde şeker ligandı içeren ortama eklendi (2.adım). Kullanılan 5 mg şeker ligandı Sellobioz p-aminobenzoik asittir (CB-pAB) (şeker ligandı Dr. İdris Yazgan tarafından sağlanmıştır, Kastamonu Üniversitesi). 2.adımda venomun barındırdığı proteinlerin şeker ligandları ile

homojen olarak karışması gerekmektedir. Bu adım nanoparçacık oluşum kinetiğini etkilemektedir. 3.adımda ise ortama HAuCl_4 tuz çözeltisi eklenerek vorteksleme işlemi gerçekleştirilir ve 4.adım olarak oda sıcaklığında inkübasyon gerçekleştirilerek AuNP sentezi gerçekleştirilir. 5.adım olarak gerekli görüldüğü takdirde AuNPlar santrifügasyon ile ortamdan uzaklaştırılır ve karakterizasyona gönderilir. Sentezlenecek AuNPlerin boyut ve şekillerinin optimizasyonu eklenen venom miktarının Au^{3+} iyon miktarına oranı ile belirlenmektedir.

3.6. Altın Nanoparçacıklarının Karakterizasyonu

AuNPlerinin yüzey plazmon özellikleri (SPR) UV-vis spektrofotometrisi ile, morfolojik özelliklerinin karakterizasyonu geçirgen elektron mikroskobu (TEM) ile gerçekleştirirken, kristal karakterinin belirlenmesi ise X-ışınları kırınım kristalografisi (XRD) ile belirlenmiştir.

3.6.1. Ultraviyole Görünür Bölge (UV-Vis) Spektroskopisi

Sentezi gerçekleştirilen venom-AuNPlerinin yüzey plazmon özellikleri 210-1500 nm arasında ölçüm yapmaya imkân veren plastik küvetler ile gerçekleştirildi. Bu ölçümler için sentez ortamından 50 μL miktarında örnek alınarak 1000 μL ye saf su ile tamamlanarak ölçüm PG INSTRUMENTS marka, T60 model UV-Visible Spectrophometers cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.6.2. Yüksek Çözünürlüklü Geçirgen Elektron Mikroskobu (HR-TEM) Karakterizasyonu

200 mesh PELCO® TED PELLA gridleri üzerine sentezlenen AuNPlar eklenerek kurumaya bırakılmıştır. Gridler üzerine eklenen AuNP konsantrasyonu UV-Vis spektroskopisi yardımıyla belirlenmiştir. Absorbans değeri 0,8 au olan seyreltilmiş AuNP-venom karışımından 50 μL hazırlanarak yapılmıştır. Analizler FEI TALOS F200S TEM 200 kV cihazı kullanılarak (Bayburt Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı) gerçekleştirilmiştir.

3.6.3. X-Işınları Kırınım Kristalografisi (XRD) Analizleri

Kristalografi çalışmaları için AuNPler çözelti ortamından 5000 g 20 dk santrifüj ile çöktürülerek ardından liyofilizatörde kurutularak hazırlanmıştır. Hazırlan bu AuNP katıları Bruker D8 Advance (Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı) da 20-90 Θ arasında 1 ° lik aralıklarla yapılan ölçümler ile belirlenmiştir.

3.7. AuNPlerinin Antibakteriyel Özelliklerinin Karakterizasyonu

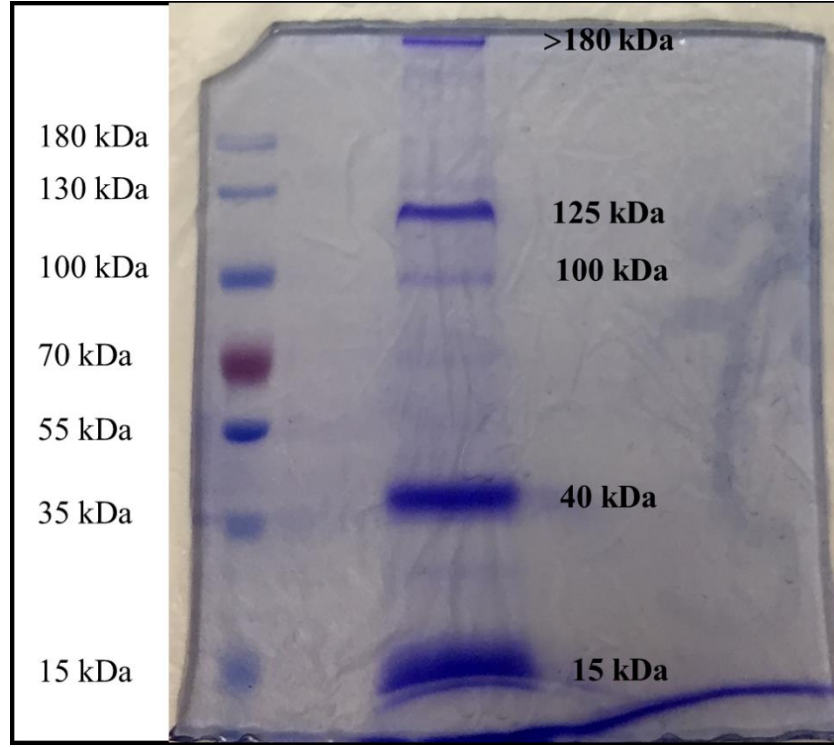
Antibakteriyel özelliklerin karakterizasyonu için sıvı ve katı besiyerleri kullanıldı. Stok olarak -20 °C saklanan bakteri kültürlerinden 10^3 cfu/mL alınarak taze hazırlanmış Muller Hinton Broth ortamına eklenerek 16 saat 37 °C de inkübe edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan bakterilerin logaritmik fazda olduğu kabul edilmiştir. Taze besi yeri ortamından alınan 10^5 cfu/mL bakteriler 20 μ L olarak hem katı ortamda hemde sıvı ortamda stoktan alınmış AuNP-venom ile ve yalnızca venom ile muamele edilerek antibakteriyel çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Akreplerin SEM görüntülerini elde etmek için Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarındaki FEI marka Quanta FEG 250 model SEM ile Cressington marka Sputter Coater 108 Auto model kaplama cihazı kullanıldı.

Akreplerin ışık mikroskobu görüntüleri için Kastamonu Üniversitesi Biyoloji Bölümü Parazitoloji Laboratuvarındaki LEICA marka S8AP0 model stereo mikroskop kullanılmıştır.

4. BULGULAR

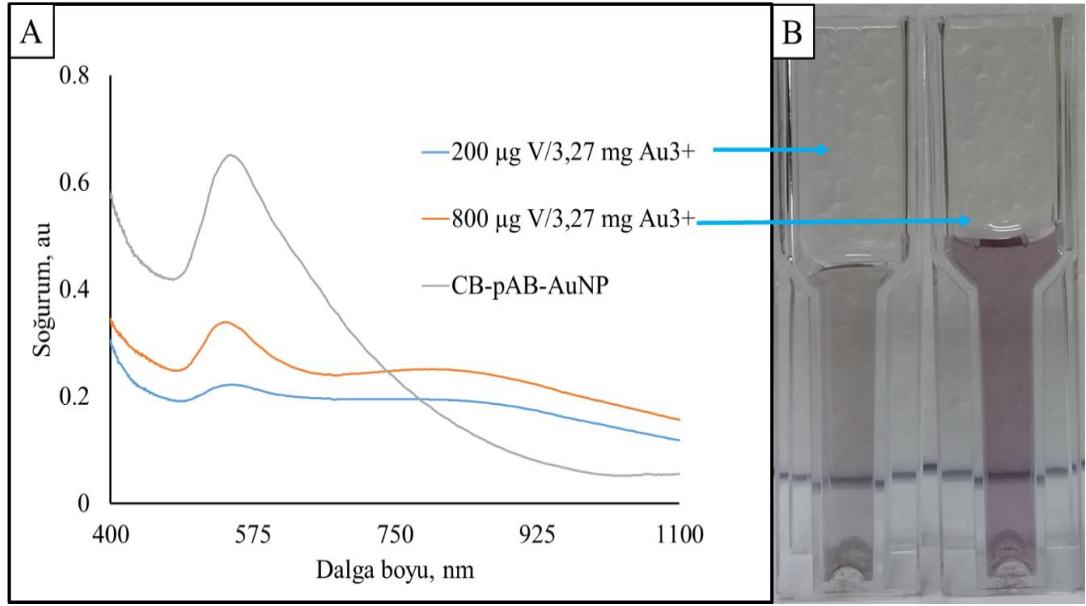
4.1. Venom Proteinlerinin Boyut Karakterizasyonları



Fotoğraf 4.1. Venom proteinlerinin boyut karakterizasyonu

Fotoğraf 4.1.'de görüldüğü gibi *Androctonus crassicauda* türünden elde edilen venom içeriğinde yoğunluklu olarak sırasıyla 15 kDa, 40 kDa, 125 kDa ve 100 kDa boyutunda protein yapıları mevcuttur. Jelin en üst kısmında gözüken protein izolatu ise kullanılan protein-merdiveni nedeniyle belirlenememiştir. Protein boyutunun sentezlenen AuNP yapısı üzerine etki ettiği bilinmektedir (Hart vd., 2017). O nedenle bu analiz bizlere sentezlenecek AuNPlerin gelişimi hakkında fikir verecektir.

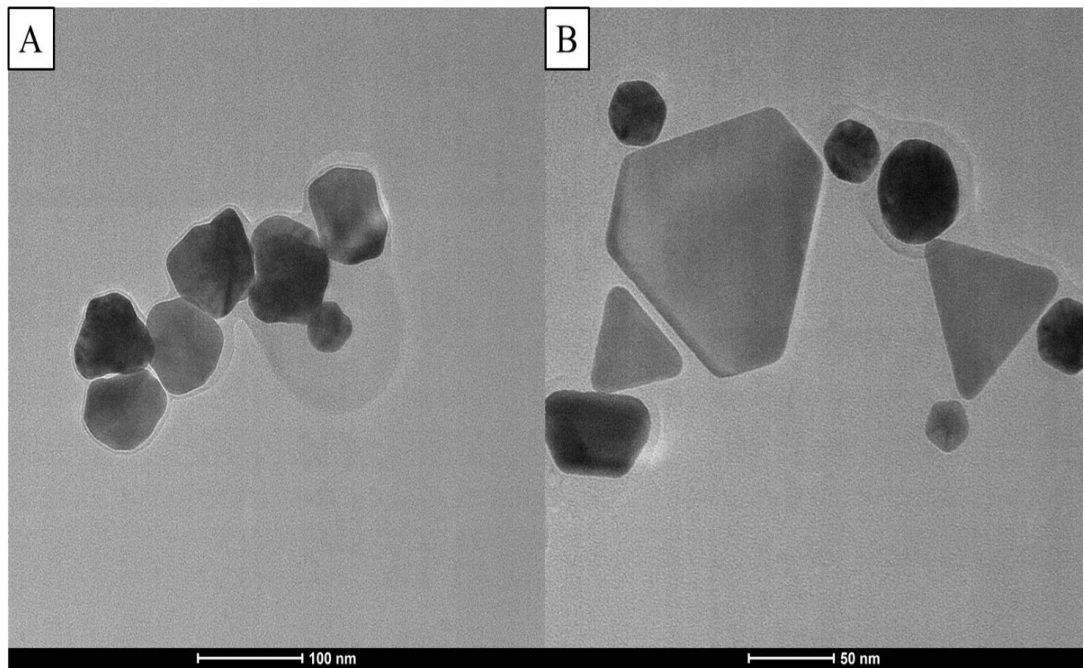
4.2. AuNPlerinin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu



Fotoğraf 4.2. Venom-AuNP UV spektrumları (A), dijital kamera görüntüsü (B).

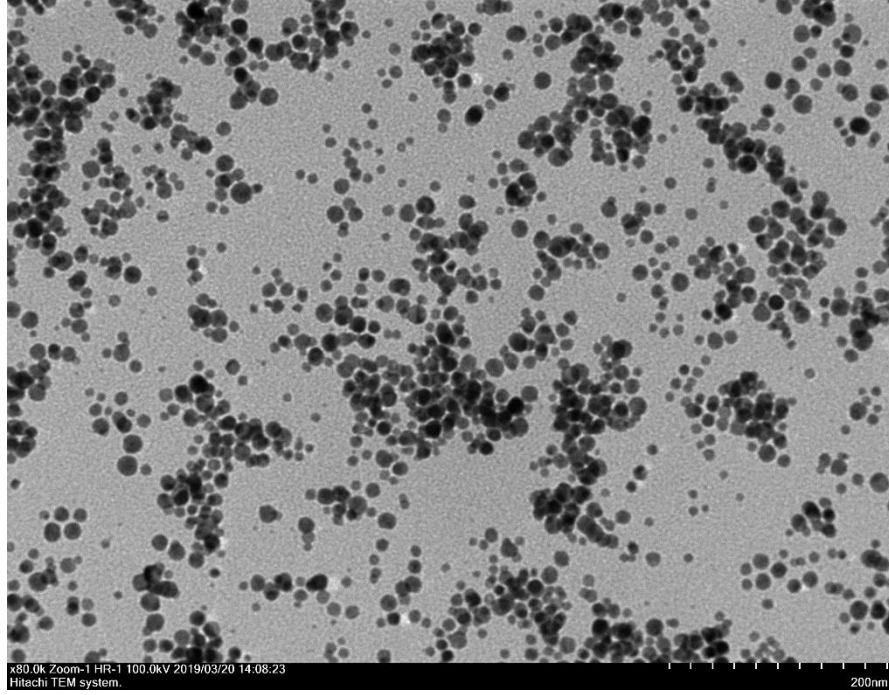
Fotoğraf 4.2.'de venom AuNPlerin ve CB-pAB ile sentezlenmiş AuNPlerine ait SPR tepe noktaları karşılaştırılması verilmiştir. CB-pAB'nin 5 mg/mL kullanıldığı durum için 3,27 mg Au³⁺ iyon derişimi kullanılmıştır. Açıkça görüldüğü gibi SPR spektrumları arasında bariz farklar vardır. CB-pAB kullanıldığı durumda keskin bir tepe noktasının varlığı Fotoğraf 4.4.'te gösterildiği gibi sferik AuNPlerin oluşumunu işaret etmektedir. Venom kullanımı ile ~ 560 nm civarında kendini gösteren SPR spektrumu keskinliğini kaybederek 680-1000 nm arasına yayılan SPR spektrumlarının varlığı belirginleşmeye başlamıştır. Bilindiği üzere sferik AuNPler boyuta bağlı olarak 600 nm ila 520 nm arasında SPR spektrumları vermektedir. 600 nm üzerinde elde edilen SPR spektrumları yakın kızıl ötesi (NIR) alan olarak kabul edilmektedir ve asimetric AuNPlerin oluşumunu işaret eder (Grace ve Pandian, 2007). Venom protein miktarının 3,27 mg Au³⁺ kullanıldığı durum için 800 µg dan 200 µg a indirilmesiyle ~ 550 civarındaki SPR spektrumunda düşüş buna karşın NIR bölgedeki SPR spektrumunda genişleme gözlemlenmiştir. Bu durum Fotoğraf 4.3.'te boyut ve şekil değişimi ile kendini gösterirken Fotoğraf 4.2B'de ise pembe renkten sarımtırak renge geçişle kendini göstermiştir.

AuNPlarına ait SPR spektrumlarının oluşumu nanoparçacık yüzeyinde serbest halde bulunan elektronların ışık ile etkileşim esasına bağlı olarak salınım göstermesidir. Bu etkileşim nanoparçacığın boyut, şekil ve yüzey kimyası ile ilişkilidir. Asimetrik AuNPlar birden fazla SPR spektrumları verebilmektedirler. AuNPların şekil ve boyutları onların renklerini de belirlemektedir; elde edilen renk soğurulan ışığın dalga boyu ile ilişkilidir (Grace ve Pandian, 2007). O nedenle Şekil 4.2A'da elde edilen UV-vis spektrumları ve Fotoğraf 4.3. ve Fotoğraf 4.4.'te elde edilen görüntüler komplementerdir.



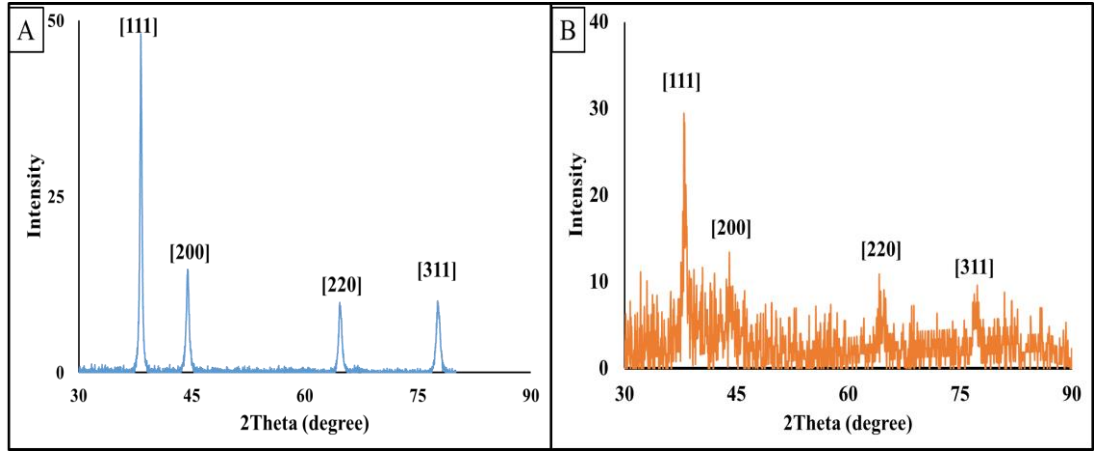
Fotoğraf 4.3. Venom-AuNP TEM Görüntüleri.

Venomun içeriğindeki proteinlerin AuNP sentezi için şablon görevi görmesi ile asimetrik ve mikropilake şeklinde AuNPlarının sentezi mümkün olmuştur (Fotoğraf 4.3). Fotoğraf 4.4.'te görüldüğü gibi şeker ligantlarının tek başına kullanılması ile sferik yapılu AuNPlar oluşmuştur. Asimetrik AuNPlar (Fotoğraf 4.3A) sferik nanopartillere göre daha farklı biyolojik aktivitelere sahiptirler. Bunlar arasında göze çarpan en önemlileri asimetrik AuNPların artmış antibakteriyel aktivitelere (Park vd., 2017). Literatür tarandığında çevreye zararsız yöntemlerin kullanımının hızla arttığı görülmektedir. Örneğin bitki ekstraktları, biyopolimerler ve fermentasyon temelli yaklaşımlar ön plana çıkmaktadır (Engelbrekt vd., 2009; Park vd., 2017; Vickers, 2017).



Fotoğraf 4.4. Şeker ligantı ile sentezi gerçekleştirilmiş AuNPlar (DAYTAM-Erzurum, Hitachi TEM ile görüntüleme yapılmıştır).

Mikroplaka AuNPlerin uygulama alanları daha çok hassass optik özelliklerin ya da yüksek elektron transferinin gerekli olduğu durumlarda öne çıkmaktadır. Mikroplaka AuNPlar genellikle 2D yapı göstermektedirler (Jun vd., 2017). 2D AuNPlerin sentezinde kullanılan klasik metotlar daha çok yüksek sıcaklık, toksik organik çözügen ve yüzey kararlaştırıcı deterjan temelli yapıların kullanımı ile mümkündür. Mevcut metotlar içerisinde organik-su immisible karışımlarının kullanımı yaygındır (Osonga vd., 2018). Venom aracılı olarak AuNP sentezinde sadece Venom/Au³⁺ oranının değiştirilerek bu yapılar elde edilmiştir (Fotoğraf 4.3B). Tamamen “green sentez teknolojisi” kullanılarak elde edilen bu yapılar göstermiş oldukları yüzey özellikleri nedeniyle sensör geliştirme çalışmaları için uygun gözükmemektedir.

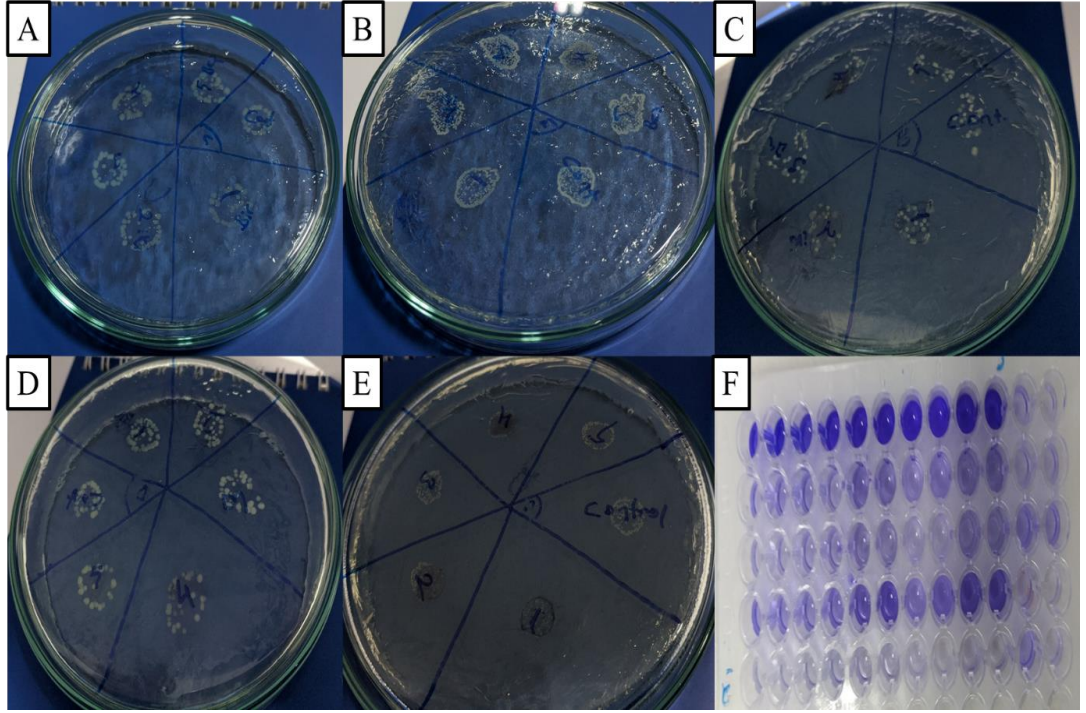


Grafik 4.1. Venom-AuNPlerinin XRD görüntüleri

Grafik 4.1 sentezi gerçekleştirilen venom-AuNPlerinin kristal karakterde olduğunu göstermektedir. Grafik 4.1A’da elde edilen piklerin Grafik 4.1B’ye göre daha keskin olması AuNPlerin daha büyük olması ile ilişkidir. Bununla birlikte her iki XRD spektrumları iki durumda da venom-AuNPlerinin face-centered cubic (FCC) karaktere sahip olduğunu göstermektedir (Osonga vd., 2018).

4.3. Venom-AuNPlerinin Antibakteriyel Aktiviteleri

AuNPlerin uygulama alanlarından birisi de antibakteriyel ajan geliştirmektir. Bu çalışmada, sentezlenen venom-AuNPlerin antibakteriyel uygulamaları Fotoğraf 4.5’te gösterilen şekliyle 5 farklı bakteri üzerinde denenmiştir. Elde edilen sonuçlar venom AuNPlerin salt venom kullanımına göre daha başarılı sonuçlar vermiştir.



Fotoğraf 4.5. Venom-AuNPlerin ve venomun antibakteriyel etkileri.

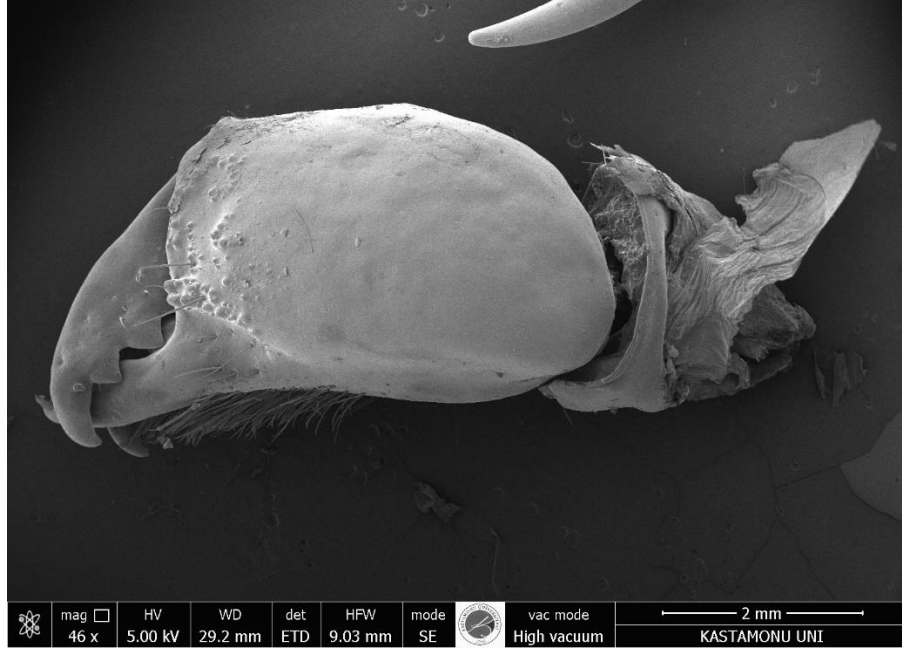
Fotoğraf 4.5.'te yer alan kodlar (A) *Staphylococcus epidermidis*, (B) *Staphylococcus aureus*, (C) *Salmonella infantis*, (D) *E.coli*, (E) *Pseudomonas aeruginosa*, (F) A-E de sırasıyla verilen bakterilere ait biyofilm oluşumunu açıklamaktadır.

Katı besiyeri üzerinde yapılan çalışmalar Fotoğraf 4.3A.'da gösterilen venom AuNPlerin *Salmonella infantis* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakteri gelişimini %50 oranında azalttığı buna karşın diğer test edilen bakterilere etki etmediği bulunmuştur. Buna karşın aynı venom-AuNP'ün biyofilm gelişimi olarak sadece *Pseudomonas aeruginosa* için pozitif sonuç verdiği bulunmuştur. Diğer taraftan Fotoğraf 4.3B'de gösterilen venom AuNPlerin *Staphylococcus aureus*, *Salmonella infantis* ve *E.coli* için biyofilm gelişimini neredeyse tamamen baskıladığı bulunmuştur. Buna karşın sadece *Pseudomonas aeruginosa* için büyümenin %50 civarında baskılanması bulunmuştur.

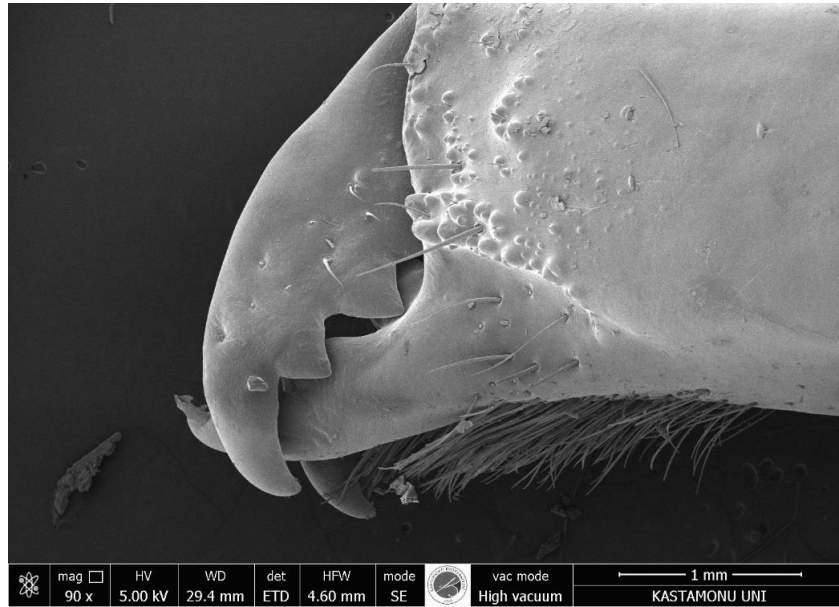
Her ne kadar sentezlenen venom AuNPlerin yüksek bir antibakteriyel potansiyeli olmasa da biyofilm baskılanmasında etkili sonuçlar bulunmuştur. Biyofilm gelişimi bakterilerin yüzeye tutunmaları ve nihayetinde enfeksiyonlara neden olmaları

hususunda önem arz etmektedir (Boyd ve Chakrabarty, 1994). Bu nedenle sentezlenen venom AuNPleri bu tür uygulamalar için gelecek vaat etmektedir.

4.4. *Androctonus crassicauda* SEM Görüntüleri

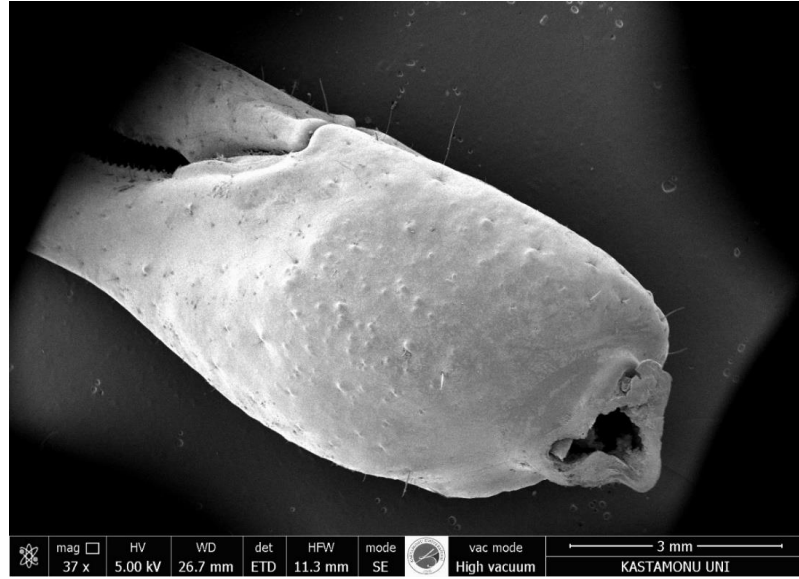


Fotoğraf 4.6. Keliserin genel görüntüsü. Kıskaç şeklindeki yapıları üzerindeki setaların konumlanmaları.

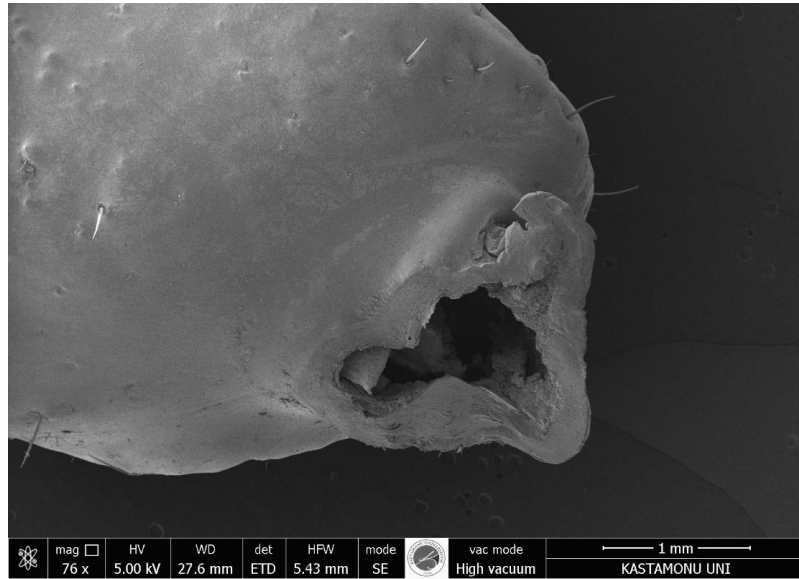


Fotoğraf 4.7. Keliserin daha detaylı görünümü. Keliserin üzerinde bulunan trichobotrim, setalar ve karinaların konumlanmaları

Keliser; coxa, tibia (sabit parmak) ve tarsus (hareketli parmak) olmak üzere pençe tırnaklı çeneler halinde eklemlenmiş üç segmentten oluşmuştur (Fotoğraf 4.6). Son iki segment olan tarsus ve tibia kısaçaklı bir makas oluşturacak şekilde birbirleriyle eklemlenmiştir. Coxa hareket edebilen parçadır ve ayrıca coxa yakalama işlemi için makası taşıyan segmenttir (Fotoğraf 4.7). Keliser akrelerde av hayvanlarını tutmaya ve gerektiğinde ses çıkartmaya (birbirine süreterek yapar) yarar.

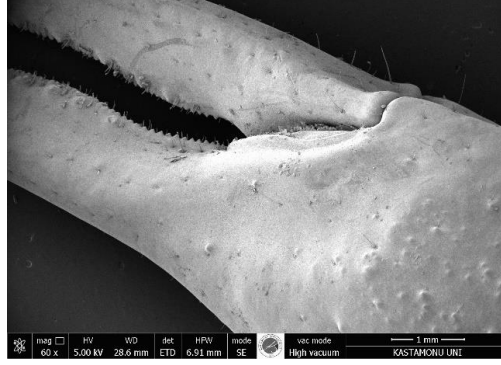


Fotoğraf 4.8. Chelanın genel görüntüsü

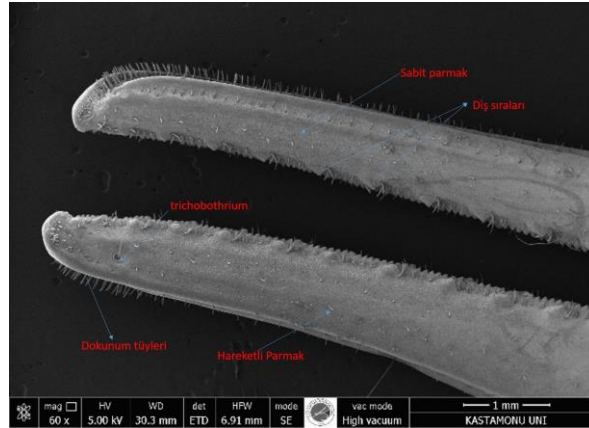


Fotoğraf 4.9. Chelanın patella ile bağlantı yeri ve chela üzerinde bulunan setalar

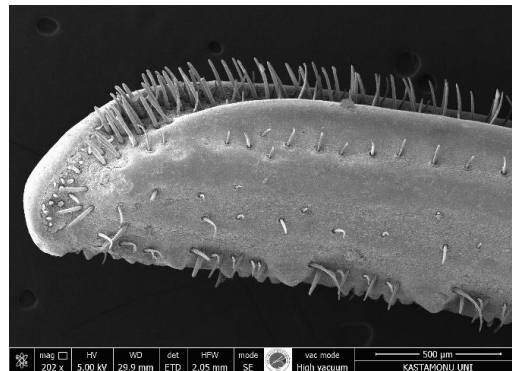
Chela, tibia (sabit parmak) ve tarsus (hareketli parmak) üzerinde taşır (Fotoğraf 4.8). Chela patella ile eklemlenerek tibia ve tarsus olarak çatallaşır. Chelanın patella ile eklemlendiği yer Fotoğraf 4.9 da gösterilmiştir. Ayrıca Fotoğraf 4.9 da chela üzerinde bulunan setalar ve carinalar SEM ile görüntülenmiştir.



Fotoğraf 4.10. Sabit ve hareketli parmaların manusa eklemlenmeleri

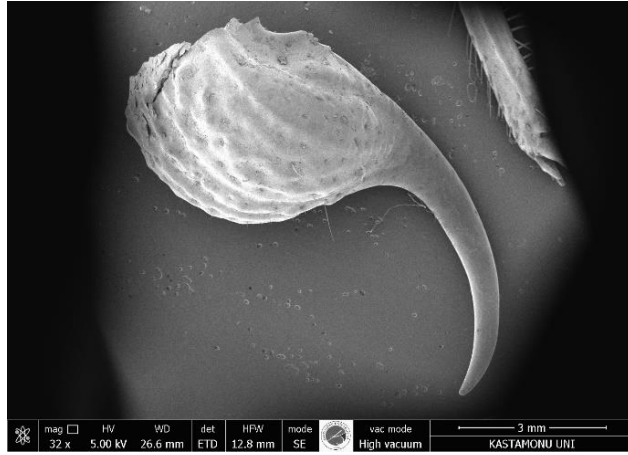


Fotoğraf 4.11. Sabit ve hareketli parmağın genel görüntüsü. Diş sıraları, Setalar ve Trichoboitriumların görüntüsü

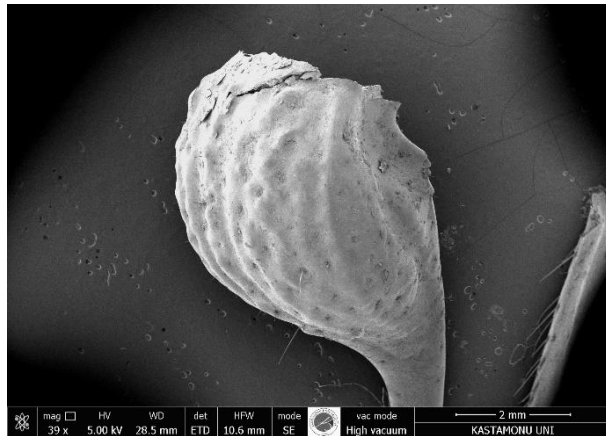


Fotoğraf 4.12. Hareketli parmağın detaylı görüntüsü

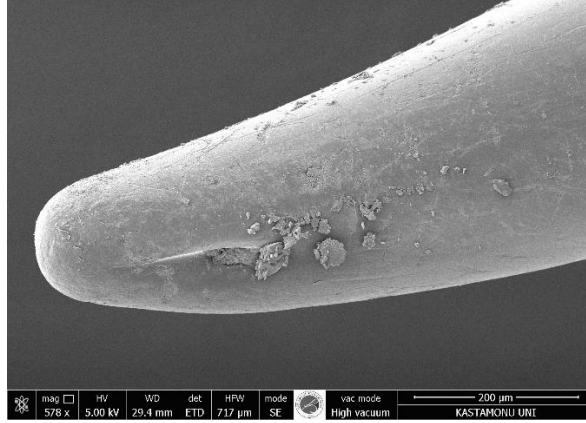
Chela tibia ve tarsus olarak çatallanır (Fotoğraf 4.10). Tibia ve tarsus üzerinde dişler, dokunum tüyleri (setalar) ve trichobothriumlar bulunur (Fotoğraf 4.11). Fotoğraf 4.12 de hareketli parmak olan tarsusun detaylı görüntüsü verilmiştir. Fotoğraf 4.12 de tarsus üzerinde konumlanmış diş sıraları ile küçük setalar daha detaylı görüntülenmiştir. Akreler pedipalplerini av hayvanlarını yakalama, yaralama ve ezmede kullanır. Hareketli parmağın açılıp kapanması cephalotoraxın dorso-ventral yönde kontraksiyonu ve buna bağlı olarak meydana gelen hidrostatik basıncın artmasıyla gerçekleşir.



Fotoğraf 4.13. Zehir iğnesinin genel görüntüsü

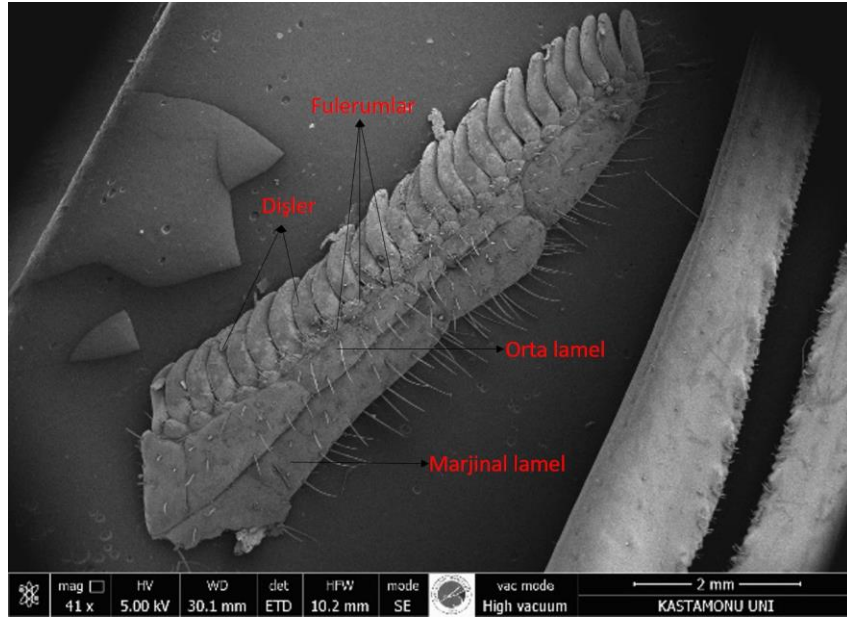


Fotoğraf 4.14. Telsonun üstünde bulunan kıllar ve trichobotriumların net görüntüsü

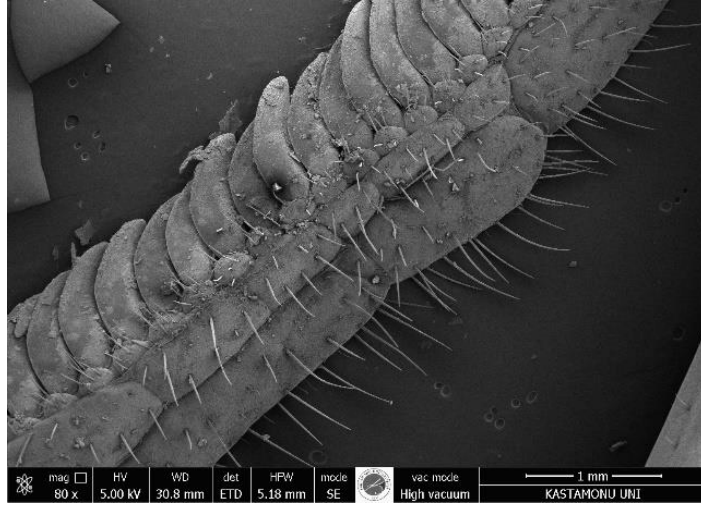


Fotoğraf 4.15. Zehir iğnesinin ucu.

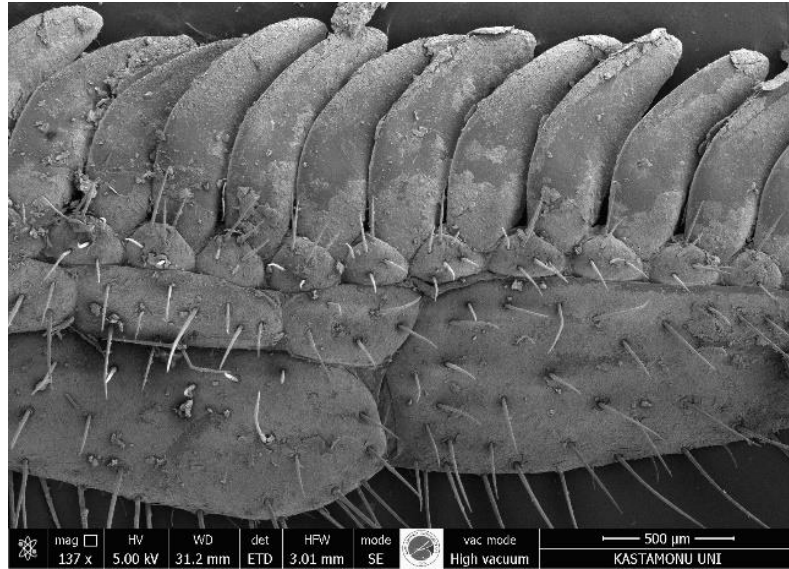
Diğer tüm akrepler gibi *A. crassicauda*'da zehirli bir canlıdır. Bu zehri metasomanın sonunda bulunan zehir bezi sayesinde salgılar (Fotoğraf 4.13). Fotoğraf 4.14 te zehir bezinin detaylı SEM görüntüsü verilmiştir. Sahip olduğu bu zehir tıbbi öneme sahiptir. Ayrıca akrep bu zehri sayesinde avlanıp beslenebilmektedir. Zehir enjeksiyonunu ise son derece sert olan telsonu aracılığıyla yapar (Fotoğraf 4.15). Fotoğraf 4.15'te de görüldüğü gibi enjeksiyon deliği telsonun tam ucunda yer almamaktadır. Biraz daha içerde yer almaktadır. Bunun sebebi enjeksiyon sırasında deliğin tıkanmasını önlemektir.



Fotoğraf 4.16. Tarak organının genel görüntüsü

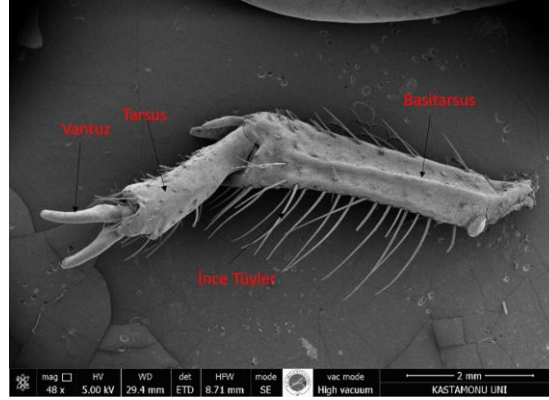


Fotoğraf 4.17. Tarak organına yapılarının bölümleri ve üzerindeki kıllar

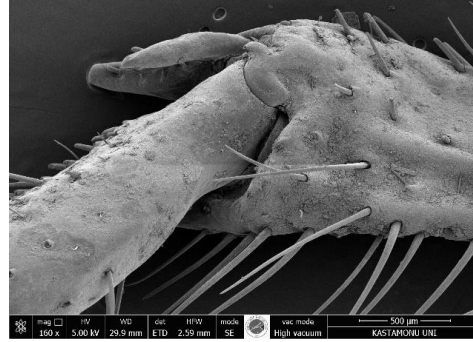


Fotoğraf 4.18. Tarak organı üzerinde bulunan seta (kılların) daha detaylı görüntüsü

Pecten (tarak organı) akreplere özgü bir organdır. Pecten marjinal lamel (Proksimal parça), orta parça ve orta parçanın uçlarında bulunan fulerumlar ve bunları takip eden diş sıralarından oluşur (Fotoğraf 4.16). Pecten organı 2. Sternitin üzerinde ekstremitelerin değişmesiyle meydana gelmiştir. Genital açıklığın ön tarafında bir çift tarak organı bulunur. Pecten organı üzerinde bulunan tarakların çiftleşme esnasında kemoreseptör olarak ve yüzey titreşimlerini algılamada ise mekanoreseptör olarak görev aldığı tahmin edilmektedir. Fotoğraf 4.17 ve Fotoğraf 4.18’de pecten organı üzerinde bulunan taraklar ve pecten organı üzerinde bulunan setaların detaylı SEM görüntüleri mevcuttur.



Fotoğraf 4.19. Yürüme bacağı bölümlerinden Basitarsus, Tarsus ve Unguis (tırnak) genel görüntüsü

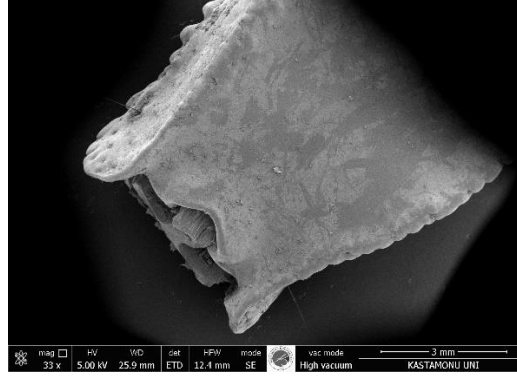


Fotoğraf 4.20. Basitarsus ve Tarsusun birleşme yeri ve üzerlerinde bulunan Setaların detaylı görüntüsü



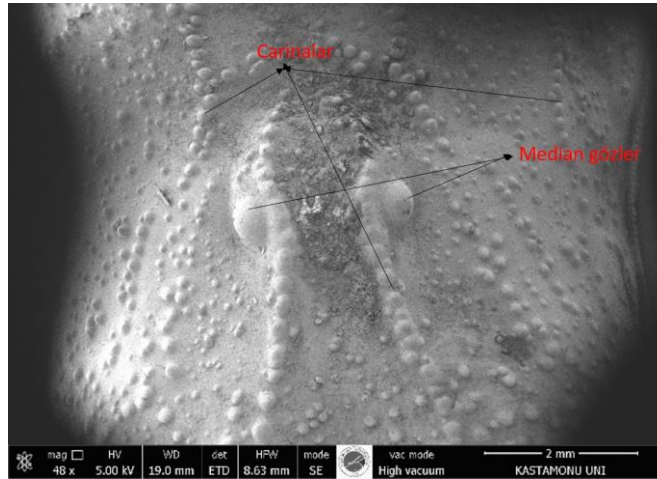
Fotoğraf 4.21. Unguisin detaylı görüntüsü

Akrelerde toplam 4 çift yürüme bacağı bulunur. Her bir yürüme bacağı coxa, trochanter, femur, patella, tibia, basitarsus ve tarsus bölümünden oluşur. Tarsusların ucunda tırnaklar (unguis) bulunur (Fotoğraf 4.21). Bacaklar üzerinde bulunan ince tüyler yerden gelen titreşimleri algılamaya yarar (Fotoğraf 4.19). Akreler bacaklarını yürüme ve kazma organı olarak kullanırlar.



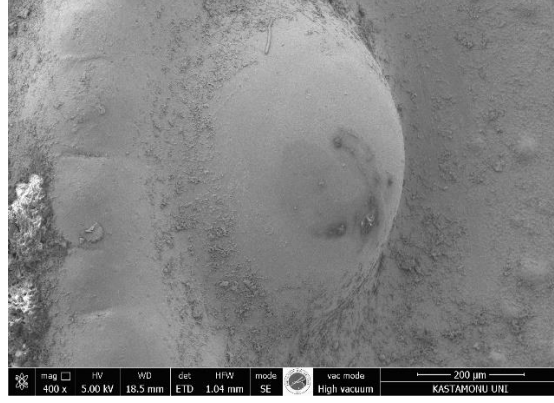
Fotoğraf 4.22. Metasomal segment parçasının genel görüntüsü. Dorsal oluk ve median carinalarının detaylı görüntüsü

Akrelerin vücutları sert ve kalın bir kitin tabakası ile kaplıdır. Bu durum onlara güçlü bir dayanıklılık ve ezilmelere karşı ciddi bir avantaj sağlar (Fotoğraf 4.22).

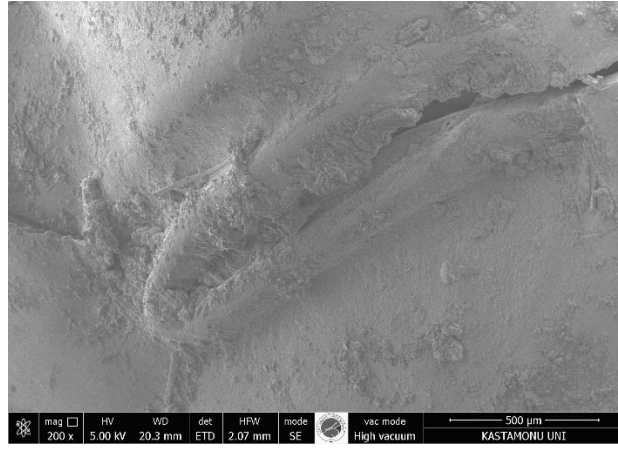


Fotoğraf 4.23. Karapaks, median gözler ve çevresindeki karinaların görüntüsü.

Karapaks tek parça sert bir kitin tabakadan meydana gelir. Akrelerde cephalotorax özellik görülür. Karapaks üzerinde median gözler ve carinalar bulunur (Fotoğraf 4.23). Median gözler oküler tümsek biçiminde olup karapaksın üstünde orta tarafta bir çift halinde bulunur (Fotoğraf 4.24)

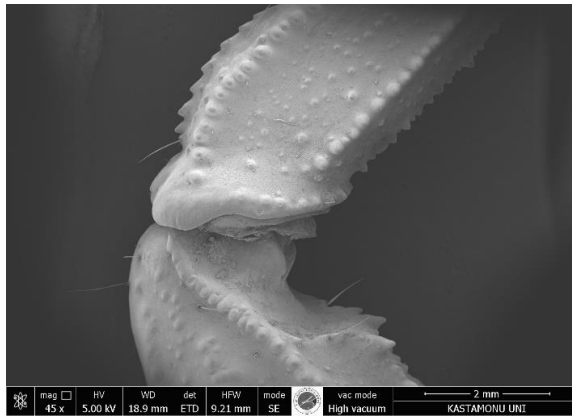


Fotoğraf 4.24. Median gözler detaylı görüntüsü



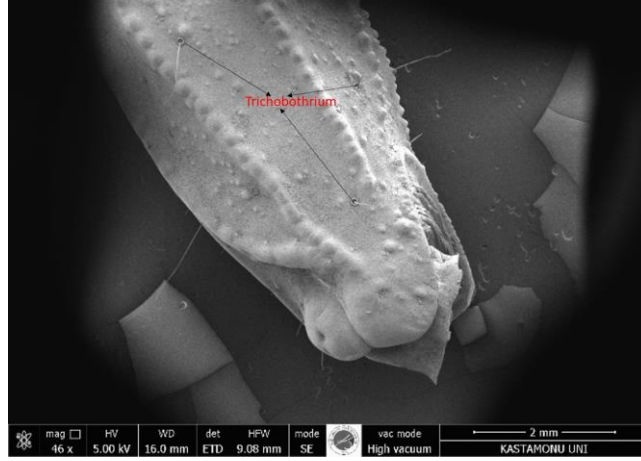
Fotoğraf 4.25. Stigma oluklarının detaylı görüntüsü

Akreplerde 3., 4., 5. ve 6. mesosomal sternitlerde stigma solunum delikleri bulunur. Stigma delikleri ana solunum organı olan kitapsi akciğere bağlıdır (Fotoğraf 4.25).

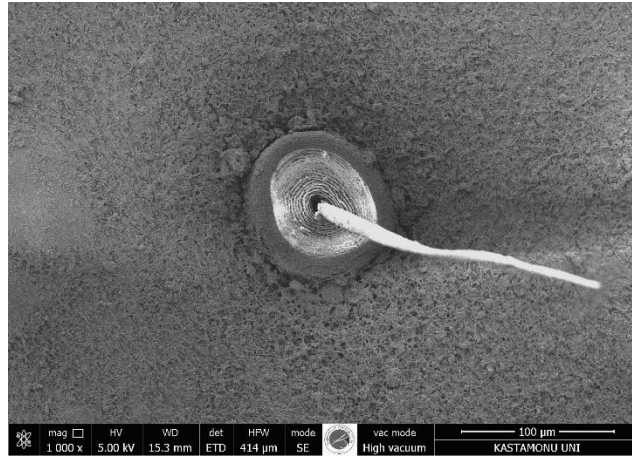


Fotoğraf 4.26. Pedipalp üzerinde bulunan Femur ve Tibianın birleşme yeri, carina ve kıllarının görüntüsü

Pedipalp segmentleri femur ve tibia'nın SEM görüntüsü Fotoğraf 4.26 da gösterilmiştir. Femur ve tibia üzerinde bulunan kıllar ve karinalar net bir şekilde görülmektedir.



Fotoğraf 4.27. Chela üzerinde bulunan tibia'nın genel görüntüsü



Fotoğraf 4.28. Chela üzerinde bulunan tibia'nın üzerinde konumlanmış Trichobothriumun detaylı görüntüsü

Chelanın tibia segmentinin genel görüntüsü Fotoğraf 4.27 de verilmiştir. Görüntüde karinalar ve trichobothrium olarak adlandırılan duyusal tüyler görülmektedir. Trichobothriumlar havadaki titreşimleri algılamaya yararlar. Trichobothriumların alt kısmı fincan gibi olup ince uzun tüylerdir. Fotoğraf 4.28 de trichobothriumların detaylı görüntüsü verilmiştir.

4.5. *Androctonus crassicauda* Işıık Mikroskobu Görüntüleri



Fotoğraf 4.29. Keliser ile diş yapıları ve kıllarının ışık mikroskobu görüntüleri



Fotoğraf 4.30. Yürüme bacağı; Coxa ve Torchanter ışık mikroskobu görüntüsü



Fotoğraf 4.31. Yürüme bacağı; Femur ışık mikroskobu görüntüsü



Fotoğraf 4.32. Yürüme bacağı; Patella ışık mikroskobu görüntüsü



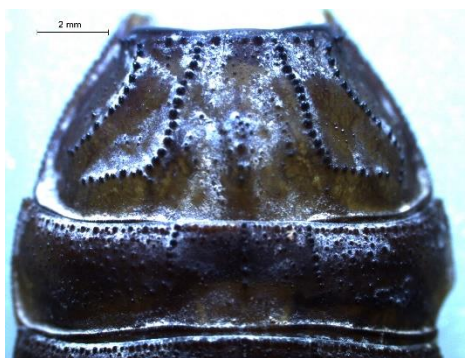
Fotoğraf 4.33. Yürüme bacağı; Tibia ve Basitarsus ışık mikroskobu görüntüsü



Fotoğraf 4.34. Yürüme bacağı; Tarsus ve Unguis ışık mikroskobu görüntüsü



Fotoğraf 4.35. Karakap görüntüsü; Median gözler, carinalar ve uçtaki lateral gözler



Fotoğraf 4.36. Mesosoma 1. ve 2. segmenti



Fotoğraf 4.37. Mesosoma 3. ve 4. Segmenti



Fotoğraf 4.38. Mesosoma 5. 6. ve 7. segmenti



Fotoğraf 4.39. Pedipalp Trochanter görüntüsü



Fotoğraf 4.40. Pedipalp Femur görüntüsü



Fotoğraf 4.41. Pedipalp Tibia görüntüsü



Fotoğraf 4.42. Pedipalp Manus görüntüsü



Fotoğraf 4.43. Pedipalp Sabit ve Hareketli Parmak görüntüsü



Fotoğraf 4.44. Tarak organı Tarak organı



Fotoğraf 4.45. Mesosomanın 3. Segmenti ve Kitapsı akciğerin stigma delikleri



Fotoğraf 4.46. Mesosomanın 4. Segmenti ve Kitapsı akciğerin stigma delikleri



Fotoğraf 4.47. Mesosomanın 5. Segmenti ve Kitapsı akciğerin stigma delikleri



Fotoğraf 4.48. Mesosomanın 6. Segmenti ve Kitapsı akciğerin stigma delikleri



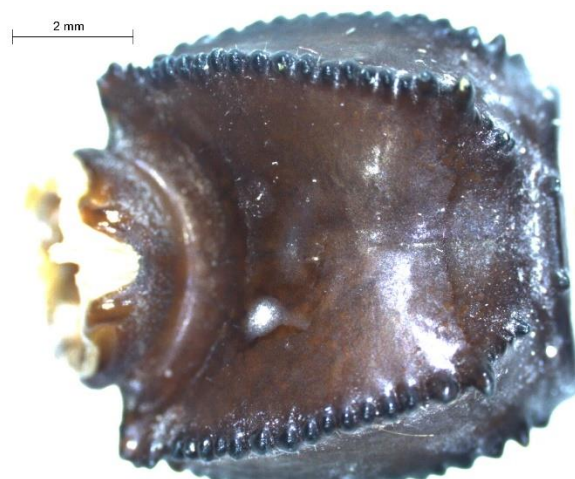
Fotoğraf 4.49. Mesosomanın 7. Segmenti



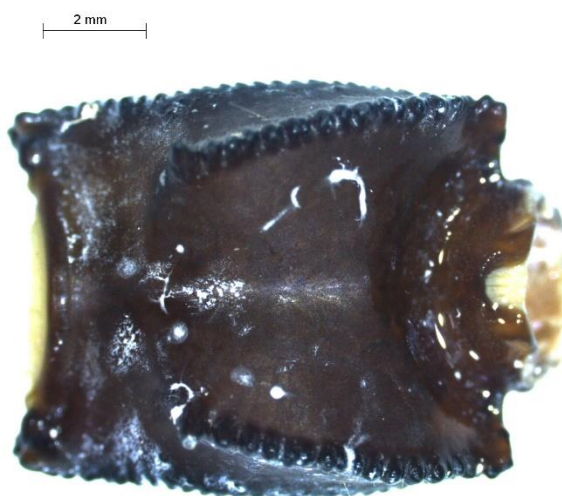
Fotoğraf 4.50. Metasomal 1. Segment



Fotoğraf 4.51. Metasomal 2. Segment



Fotoğraf 4.52. Metasomal 3. Segment



Fotoğraf 4.53. Metasomal 4. Segment



Fotoğraf 4.54. Metasomal 5. Segment



Fotoğraf 4.55. Telson genel görüntüsü



Fotoğraf 4.56. Zehir iğnesinin ucu

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada *Androctonus crassicauda* türü akrepten elde edilen venomlardan altın nanoparçacık sentezlenmesi, karakterizasyonu ve antibakteriyel uygulamaları gerçekleştirilmiştir. AuNPlarının sentezlenmesi esnasında şeker ligandları indirgeyici ajan olarak kullanılırken akrep zehiri ise tutuklayıcı/karalaştırıcı ajan olarak görev almıştır. Sentezlenen AuNPlar ~70 nm asimetrik nanoparçacık ve 25 ila 130 nm arasında nanoplakalar elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar *Androctonus crassicauda* venom proteinlerinin hem 0D hem de 2D AuNPlarının sentezlenebileceğini gösterilmiştir. Asimetrik AuNPlar ile yapılan çalışmalar sentezlenen AuNPlerin akrep zehirinin yalnız kullanımına göre daha etkin olarak anti *E.coli* ve anti *S.epidermidis* aktivitesi gösterdiği bulunmuştur.

Ayrıca bu çalışma sayesinde Agaroz Jel Elektroforeji yöntemiyle *Androctonus crassicauda* proteinlerinin boyutu ölçülmüştür. Ayrıca *Androctonus crassicauda* ile her ne kadar çalışmalar yapılmış olsa bile literatüre yeni bilgiler eklenmiştir. Ülkemizde ilk kez morfolojik incelemeleri böylesine detaylı çalışıldı.

Akrep zehri ve biyokimyasal analiz çalışmaları ise ilk kez biyoteknoloji ile bütünleşmiş edilerek venom çalışmalarına yeni bir bakış hatta literatürde yeni bir başlık kazandırılmaya çalışıldı. Gelişen dünya bilime ve insana sürekli daha yeni imkânlar sunmaktadır. Gelişen dünyanın insanoğluna sunduğu en yeni ve dinamik alan nanoteknolojidir. Nanoteknolojik çalışmalar sayesinde kanser, bakteriyel enfeksiyonlar ve viral enfeksiyonlara daha spesifik müdahaleler mümkün kılınmaktadır.

6. ÖNERİLER

Çalışma, venom proteinlerinin kullanımının AuNPlerin şekil ve boyutlarının yönlendirilmesinde etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir. Asimetrik 0D ve 2D nanoparçacık üretimi ile venom proteinlerinin antimikrobiyal özellikli AuNP üretimi ve biyosensör uygulamalarına yönelik olarak 2D mikropalakalarının sentezine imkân sunduğu gösterilmiştir.

Mevcut sonuçlar, ileride yapılacak çalışmalar ile AuNP sentezine ve kararlılığına katkı sağlayan proteinlerin yapı ve sekans karakterizasyonları yapılarak güçlendirilebilecektir. Ayrıca ileri vadede planlanan çalışmalar arasında venom proteinlerinin fraksiyonlanması ve doğal halleri ile izolasyonları yapılarak boyut ve yapı ilişkili olarak AuNP sentezine etkileri araştırılacaktır.

KAYNAKLAR

- Aghabiklooei, A., Zamani, N., & Hassanian-Moghaddam, H. (2014). Getting stung by black scorpion *Androctonus crassicauda*: A case report. *Human & experimental toxicology*, 33(10), 1081-1084.
- Ahmad, B., Hafeez, N., Bashir, S., & Rauf, A. (2017). Phytofabricated gold nanoparticles and their biomedical applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 414-425.
- Akarsu, G. A., Yaman, K., Güngör, Ç., & Altintas, K. (2011). Evaluation of Sabin-Feldman test results of Ankara University Medical Faculty Medical Parasitology laboratory between 1997-2007. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 35(1), 15.
- Al-Asmari, A. K., Al-Saif, A. A., & Abdo, N. M. (2007). Morphological identification of scorpion species from Jazan and Al-Medina Al-Munawara regions, Saudi Arabia. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 13(4), 821-843.
- Al-Asmari, A. K., Riyasdeen, A., & Islam, M. (2018). Scorpion Venom Causes Upregulation of p53 and Downregulation of Bcl-xL and BID Protein Expression by Modulating Signaling Proteins Erk1/2 and STAT3, and DNA Damage in Breast and Colorectal Cancer Cell Lines. *Integrative cancer therapies*, 17(2), 271-281.
- Amendola, V., Pilot, R., Frascioni, M., Marago, O. M., & Iati, M. A. (2017). Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 29(20), 203002.
- Aycan, Ö. M., Otlu, G. H., Karaman, Ü., Daldal, N., & Atambay, M. (2007). Çeşitli hasta ve yaş gruplarında *Demodex* sp. görülme sıklığı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31(2), 115-118.
- Bawaskar, H. S., & Bawaskar, P. H. (2012). Scorpion sting: update. *J Assoc Physicians India*, 60(1), 46-55.
- Bayar Taş, C. (2004). *Mesobuthus gibbosus* (Buthidae) Akrep Venomunun Saflaştırılması ve Bazı Fizyolojik Etkilerinin Belirlenmesi. Yayımlanmamış Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara
- Benton, T. G. (1991). The life history of *Euscorpius flavicaudis* (Scorpiones, Chactidae). *Journal of Arachnology*, 105-110.
- Bhattacharya, R., Patra, C. R., Wang, S., Lu, L., Yaszemski, M. J., Mukhopadhyay, D., et al. (2006). Assembly of gold nanoparticles in a rod-like fashion using proteins as templates. *Advanced Functional Materials*, 16(3), 395-400

- Biswas, A., Gomes, A., Sengupta, J., Datta, P., Singha, S., Dasgupta, A. K., et al. (2012). Nanoparticle-conjugated animal venom-toxins and their possible therapeutic potential. *Journal of venom research*, 3, 15.
- Bodelon, G., Costas, C., Perez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., & Liz-Marzan, L. M. (2017). Gold nanoparticles for regulation of cell function and behavior. *Nano Today*, 13, 40-60.
- Boyd, A., & Chakrabarty, A. Á. (1994). Role of alginate lyase in cell detachment of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60(7), 2355-2359.
- Brent, J., Burkhart, K., Dargan, P., Hatten, B., Megarbane, B., Palmer, R., et al. (2017). *Critical care toxicology: diagnosis and management of the critically poisoned patient*. Springer.
- Bullington, S. W. (1996). Natural history and captive care of the flat rock scorpion, *Hadogenes troglodytes* (Peters).
- Bücherl, W. (1971). Classification, biology and venom extraction of scorpions. *Venomous animals and their venoms. Venomous invertebrates*, 3, 317-47.
- Caliskan, F., Ergene, E., Sogut, I., Hatipoglu, I., Basalp, A., Sivas, H., et al. (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.
- Caliskan, F., García, B. I., Coronas, F. I., Restano-Cassulini, R., Korkmaz, F., Sahin, Y., et al. (2012). Purification and cDNA cloning of a novel neurotoxic peptide (Acra3) from the scorpion *Androctonus crassicauda*. *Peptides*, 37(1), 106-112.
- 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
- Chaudhari, K., Xavier, P. L., & Pradeep, T. (2011). Understanding the evolution of luminescent gold quantum clusters in protein templates. *ACS nano*, 5(11), 8816-8827.
- Çolak, M. (2014). Türkiye'nin Güneydoğu Bölgesinin Akrepleri (Arachnida: Scorpiones).Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Delehanty, J. B., Boeneman, K., Bradburne, C. E., Robertson, K., Bongard, J. E., & Medintz, I. L. (2010). Ther. Delivery, 2010, 1, 411–433;(b) DA Giljohann, DS Seferos, WL Daniel, MD Massich, PC Patel and CA Mirkin. *Angew. Chem., Int. Ed*, 49, 3280-3294.

- Demirsoy, A., Durmus, Y., & Akbulut, A. (2001). Türkiye scorpiones (akrep) faunasinin sistematik ve biyolojik yönden incelenmesi: Proje No: 1998 K 1001 40.
- Devarbhavi, P. K., & Vasudeva, M. C. (2013). Scorpion sting envenomation-An overview. *J Clin Biomed Sci*, 3(4), 159-66.
- Dunlop, J. A., & Webster, M. (1999). Fossil evidence, terrestrialization and arachnid phylogeny. *Journal of Arachnology*, 86-93.
- Engelbrekt, C., SØrensen, K. H., Zhang, J., Welinder, A. C., Jensen, P. S., & Ulstrup, J. (2009). Green synthesis of gold nanoparticles with starch–glucose and application in bioelectrochemistry. *Journal of materials Chemistry*, 19(42), 7839-7847.
- Erkmen, O. (2012). Türkiye’deki Mesobuthus gibbosus’un (Ordo:Scorpiones) Morfometirk Analizi. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Niğde.
- Fan, R., Chew, S. W., Cheong, V. V., & Orner, B. P. (2010). Fabrication of gold nanoparticles inside unmodified horse spleen apoferritin. *Small*, 6(14), 1483-1487.
- Fet, V., Sissom, W. D., Lowe, G., & Braunwalder, M. E. (2000). *Catalog of the scorpions of the world (1758-1998)*. New York Entomological Society.
- Ghoddusi, A., Fasaie, B. N., Karimi, V., Tamai, I. A., Moulana, Z., & Salehi, T. Z. (2015). Molecular identification of Salmonella Infantis isolated from backyard chickens and detection of their resistance genesby PCR. *Iranian journal of veterinary research*, 16(3), 293.
- Gordon, D., Martin-Eauclaire, M. F., Cestèle, S., Kopeyan, C., Carlier, E., Khalifa, R. B., et al. (1996). Scorpion toxins affecting sodium current inactivation bind to distinct homologous receptor sites on rat brain and insect sodium channels. *Journal of Biological Chemistry*, 271(14), 8034-8045.
- Grace, A. N., & Pandian, K. (2007). Antibacterial efficacy of aminoglycosidic antibiotics protected gold nanoparticles—A brief study. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 297(1-3), 63-70.
- Granich, R., Gupta, S., B Suthar, A., Smyth, C., Hoos, D., Vitoria, M., et al. (2011). Antiretroviral therapy in prevention of HIV and TB: update on current research efforts. *Current HIV research*, 9(6), 446-469.
- Hart, C., Abuladel, N., Bee, M., Kreider, M. C., CVitan, A. C., Esson, M. M., ... & Long, A. W. (2017). Protein-templated gold nanoparticle synthesis: protein organization, controlled gold sequestration, and unexpected reaction products. *Dalton Transactions*, 46(47), 16465-16473.

- Hemmateenejad, B., Shakerizadeh-shirazi, F., & Samari, F. (2014). BSA-modified gold nanoclusters for sensing of folic acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 199, 42-46.
- Hjelle, J. T. (1973). Observations on the birth and post-birth behavior of *Syntropis macrura* Kraepelin (Scorpionida: Vaejovidae). *Journal of Arachnology*, 221-227.
- Höfer, H., Wollscheid, E., & Gasnier, T. (1996). The relative abundance of *Brotheas amazonicus* (Chactidae, Scorpiones) in different habitat types of a central Amazon rainforest. *Journal of Arachnology*, 34-38.
- Huggins, K. N., Schoen, A. P., Arunagirinathan, M. A., & Heilshorn, S. C. (2014). Multi-Site Functionalization of Protein Scaffolds for Bimetallic Nanoparticle Templating. *Advanced Functional Materials*, 24(48), 7737-7744.
- Jarrar, B. M., & Al-Rowaily, M. A. (2008). Histology and histochemistry of the venom apparatus of the black scorpion *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807)(Scorpiones: Buthidae). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 14(3), 514-526.
- Jun, B. H., Murata, M., Hahm, E., & Lee, L. P. (2017). Synthesis method of asymmetric gold particles. *Scientific reports*, 7(1), 2921.
- Karaca, F., & Öner, M. A. (2015). Scenarios of nanotechnology development and usage in Turkey. *Technological Forecasting and Social Change*, 91, 327-340.
- Kariuki, V. M., Hoffmeier, J. C., Yazgan, I., & Sadik, O. A. (2017). Seedless synthesis and SERS characterization of multi-branched gold nanoflowers using water soluble polymers. *Nanoscale*, 9(24), 8330-8340.
- Li, D., Chen, Z., & Mei, X. (2017). Fluorescence enhancement for noble metal nanoclusters. *Advances in colloid and interface science*, 250, 25-39.
- Li, N., Zhao, P., & Astruc, D. (2014). Anisotropic gold nanoparticles: synthesis, properties, applications, and toxicity. *Angewandte Chemie International Edition*, 53(7), 1756-1789.
- Liu, C. L., Wu, H. T., Hsiao, Y. H., Lai, C. W., Shih, C. W., Peng, Y. K., et al. (2011). Insulin-directed synthesis of fluorescent gold nanoclusters: preservation of insulin bioactivity and versatility in cell imaging. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(31), 7056-7060.
- Lourenço, W. R. (2000). Reproduction in scorpions, with special reference to parthenogenesis. *European arachnology*, 2002, 71-85.

- Lourenço, W. R., & Cuellar, O. (1995). Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 1(2), 51-62.
- Lourenço, W. R., & Cuellar, O. (1999). A new all-female scorpion and the first probable case of arrhenotoky in scorpions. *Journal of Arachnology*, 149-153.
- McGuinness, W. A., Kobayashi, S. D., & DeLeo, F. R. (2016). Evasion of neutrophil killing by *Staphylococcus aureus*. *Pathogens*, 5(1), 32.
- Merdivenci, A. (1981). Medikal Entomoloji Ders Kitabı. *İ. Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İstanbul*, 135-160.
- Moerman, L., Bosteels, S., Noppe, W., Willems, J., Clynen, E., Schoofs, L., et al (2002). Antibacterial and antifungal properties of α -helical, cationic peptides in the venom of scorpions from southern Africa. *European journal of biochemistry*, 269(19), 4799-4810.
- Mullen, G. R., & Durden, L. A. (Eds.). (2009). *Medical and veterinary entomology*. Academic press.
- Nielsen, M. N., Sørensen, J., Fels, J., & Pedersen, H. C. (1998). Secondary metabolite-and endochitinase-dependent antagonism toward plant-pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64(10), 3563-3569.
- Ortiz, E., Gurrola, G. B., Schwartz, E. F., & Possani, L. D. (2015). Scorpion venom components as potential candidates for drug development. *Toxicon*, 93, 125-135.
- Osonga, F. J., Le, P., Luther, D., Sakhaee, L., & Sadik, O. A. (2018). Water-based synthesis of gold and silver nanoparticles with cuboidal and spherical shapes using luteolin tetraphosphate at room temperature. *Environmental Science: Nano*, 5(4), 917-932.
- Otto, M. (2009). *Staphylococcus epidermidis*—the 'accidental' pathogen. *Nature reviews microbiology*, 7(8), 555.
- Ozkan, O., & Kat, I. (2005). *Mesobuthus eupeus* scorpionism in Sanliurfa region of Turkey. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 11(4), 479-491.
- Ozkan, O., Adıgüzel, S., Yakıştıran, S., Cesaretli, Y., Orman, M., & Karaer, K. Z. (2006). *Androctonus crassicauda* (Olivier 1807) scorpionism in the Sanliurfa provinces of Turkey. *Head and Neck*, 6(2), 0.
- Ozkan, O., Ahmet, C., & Zafer, K. (2010). A study on the genetic diversity of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807; Scorpiones: Buthidae) from

Turkey. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 16(4), 599-606.

Ozkan, O., Kar, S., Güven, E., & Ergun, G. (2007). Comparison of proteins, lethality and immunogenic compounds of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807)(Scorpiones: Buthidae) venom obtained by different methods. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 13(4), 844-856.

Özkan, Ö., & Karaer, K. Z. (2003). Türkiye akrepleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 60, 55-62.

Özkan, Ö., & Karaer, K. Z., (2007). Akrelerin Biyolojisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 64(1), 51-60.

Özkan, Ö., & Karaer, K. Z., (2004). Akrelerin Vücut Yapıları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 28, 54-58.

Özkan, Ö., Adıgüzel, S., Yakıştıran, S., Cesaretli, Y., Orman, M., & Karaer, K. Z. (2006). *Androctonus crassicauda* (Olivier 1807) scorpionism in the Sanliurfa provinces of Turkey. *Head and Neck*, 6(2), 0.

Özkaya, F. D., & Cömert, M. (2008). Gıda zehirlenmelerinde etken faktörler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 65(3), 149-158.

Özlü Ekmekcioğlu, G. (2019). Çoklu İlaç Direncine Sahip Biyofilm Oluşturan Nozokominal Bakterilere Karşı Akrep (Scorpionidae) Zehrinin Etkileri. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kastamonu.

Park, J. S., Ahn, E. Y., & Park, Y. (2017). Asymmetric dumbbell-shaped silver nanoparticles and spherical gold nanoparticles green-synthesized by mangosteen (*Garcinia mangostana*) pericarp waste extracts. *International journal of nanomedicine*, 12, 6895.

Polis, G. A., & Farley, R. D. (1979). Behavior and ecology of mating in the cannibalistic scorpion, *Paruroctonus mesaensis* Stahnke (Scorpionida: Vaejovidae). *Journal of Arachnology*, 33-46.

Rodríguez, D. L. V. R., Schwartz, E. F., & Possani, L. D. (2010). Mining on scorpion venom biodiversity. *Toxicon: official journal of the international society on toxinology*, 56(7), 1155.

Saadi, S., Assarehzadegan, M. A., Pipelzadeh, M. H., & Hadaddezfali, R. (2015). Induction of IL-12 from human monocytes after stimulation with *Androctonus crassicauda* scorpion venom. *Toxicon*, 106, 117-121.

- Santhoshkumar, J., Rajeshkumar, S., & Kumar, S. V. (2017). Phyto-assisted synthesis, characterization and applications of gold nanoparticles: a review. *Biochem Biophys Rep* 11, 46–57.
- Shin, Y., Lee, C., Yang, M. S., Jeong, S., Kim, D., & Kang, T. (2014). Two-dimensional hyper-branched gold nanoparticles synthesized on a two-dimensional oil/water interface. *Scientific reports*, 4, 6119.
- Stewart, J. W., & Jackman, J. A. (1979). House and landscape pests: Scorpions. *Leaflet L-Texas Agricultural Extension Service*.
- Utkin, Y. N. (2017). Modern trends in animal venom research-omics and nanomaterials. *World journal of biological chemistry*, 8(1), 4.
- Vickers, N. J. (2017). Animal Communication: When I'm Calling You, Will You Answer Too?. *Current Biology*, 27(14), R713-R715.
- Viswanathan, S., & Prabhu, C. (2011). Scorpion sting nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation Plus*, 4(6), 376-382.
- Yang, Y., & Burkhard, P. (2012). Encapsulation of gold nanoparticles into self-assembling protein nanoparticles. *Journal of nanobiotechnology*, 10(1), 42.
- Yazgan, I., Noah, N. M., Toure, O., Zhang, S., & Sadik, O. A. (2014). Biosensor for selective detection of E. coli in spinach using the strong affinity of derivatized mannose with fimbrial lectin. *Biosensors and Bioelectronics*, 61, 266-273.
- Yazgan, I., Zhang, J., Kariuki, V., Akgul, A., Cronmiller, L. E., Akgul, A., et al. (2018). Selective Sensing and Imaging of *Penicillium italicum* Spores and Hyphae Using Carbohydrate–Lectin Interactions. *ACS Sensors*, 3(3), 648-654.
- Zahr, O. K., & Blum, A. S. (2012). Solution Phase Gold Nanorings on a Viral Protein Template. *Nano Letters*, 12(2), 629–633.
- Zargan, J., Sajad, M., Umar, S., Naime, M., Ali, S., & Khan, H. A. (2011). Scorpion (*Androctonus crassicauda*) venom limits growth of transformed cells (SH-SY5Y and MCF-7) by cytotoxicity and cell cycle arrest. *Experimental and molecular pathology*, 91(1), 447-454.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mehmet Ali DEMİR
Doğum Yeri ve Yılı : Şanlıurfa 18.07.1991
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : dmrmehtali@hotmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Mustafa Kemal Lisesi, 2010
Lisans : Kastamonu Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 2015