

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

***Leirus abdullahbayrami* AKREP ZEHRİNİN
SIÇANLARDA LETHAL DOZ (LD₅₀) SEVİYESİNİN
BELİRLENMESİ**

**BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

İsmail ADIGÜZEL

Aralık 2013

***Leirus abdullahbayrami* AKREP ZEHRİNİN
SIÇANLARDA LETHAL DOZ (LD₅₀) SEVİYESİNİN
BELİRLENMESİ**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Yar. Doç. Dr. M. İsmail VAROL

İsmail ADIGÜZEL

Aralık 2013


GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: ***Leirus abdullahbayrami* akrep zehrinin sıçanlarda Lethal Doz (LD₅₀) seviyesinin Belirlenmesi**

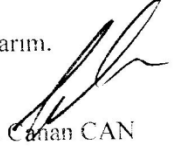
Öğrencinin, Adı Soyadı : İSMAİL ADIGÜZEL

Tez Savunma Tarihi : 19.12.2013


Fen Bilimleri Enstitüsü onayı


Doç. Dr. Metin BEDİR
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.


Prof. Dr. Canan CAN
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.


Yrd. Doç. Dr. İsmail VAROL
Tez Danışmanı

İkinci Tez Danışmanı (varsa)

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

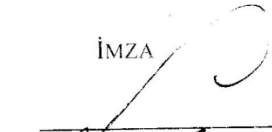


Jüri Üyeleri:
(ÜNVANI, ADI VE SOYADI)

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU

Prof. Dr. Canan CAN

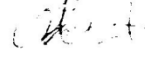
Yrd. Doç. Dr. İsmail VAROL

İMZA

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

İsmail ADIGÜZEL



ÖZET

Leirus abdullahbayrami AKREP ZEHRİNİN SIÇANLARDA LETHAL DOZ (LD 50) SEVİYESİNİN BELİRLENMESİ

ADIGÜZEL, İsmail

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Danışman: Yar. Doç. Dr.M. İsmail VAROL

Aralık 2013, 41 sayfa

Bu çalışmada Güneydoğu Anadolu Bölgesinden ilk kez kayıt edilen *Leirus abdullahbayrami* türü akrebin, medyan letal dozunu (LD₅₀) belirlenmesi için, Gaziantep'in Nizip ilçesinden 20 adet örnek, Haziran – Temmuz 2011 tarihlerinde toplanmıştır. Gaziantep Üniversitesi, Yerel Etik Kurulundan ilgili izin alındıktan sonra, 155 adet fare Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilerek denemeler gerçekleştirilmiştir.

Elektriksel Uyarım ve Maserasyon Metotları kullanılarak akreplerden zehir alınmıştır. Ayrıca her metotta, LD₅₀ hesaplamaları için Trevan (1927), Behrens ve Karber (1935), Miller ve Tainter (1944) ve Randhawa (2009) yöntemleri kullanılmıştır.

Sonuç olarak *Leirus abdullahbayrami* akrep türünün LD₅₀ değerleri maserasyon metodu için, Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre LD₅₀ = 5.75 mg/kg, Randhawa Yöntemi'ne göre LD₅₀ = 6,16±0,14 mg/kg, % 95 güven aralığı ise 6,02 – 6,3; elektriksel uyarım metodu, Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre LD₅₀ = 3.94 mg/kg, Randhawa Yöntemi'ne göre LD₅₀ = 4,17±0,1 mg/kg, % 95 güven aralığı ise 4,07 – 4,27 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Skorpcionizm, *Leirus abdullahbayrami*, medyan letal doz.

ABSTRACT

Scorpion venom *Leirus abdullahbayrami* determining the level of lethal doses (LD₅₀) in rats

ADIGÜZEL, İsmail

M.Sc. In Department of Biology

Supervisor: Asist. Prof. Dr. M. İsmail VAROL

December 2013, 41 pages

In this study, the median lethal dose (LD₅₀) of the scorpion species, *Leirus abdullahbayrami* that was a first record from the Southeastern Anatolia Region, was determined. A total of 20 samples were collected from June to July 2011 in Gaziantep province, Nizip district. Primarily, related permissions from the Local Ethics Committee on University of Gaziantep was obtained. Experiments were conducted on 155 mice provided from the Animal Experimental Laboratory-Medicine Faculty of Gaziantep University.

Electrical Stimulation and maceration methods were used to obtain the poison from the scorpion. In addition, LD₅₀ calculations of each methods were done according to Trevor (1927), Behrens and Karber (1935), Miller and Tainter (1944) and Randhawa (2009).

Consequently, in the case of maceration method, LD₅₀ values of scorpion venom of *Leirus abdullahbayrami* were 5.75 mg/kg and 6,16±0,14 mg/kg with Behrens-Karber and Randhawa calculations, respectively. The 95% confidence interval was 6,02 – 6,3. Electrical stimulation method resulted LD₅₀ values of 3.94 mg/kg and 4,17±0,1 mg/kg for Behrens-Karber and Randhawa calculations, respectively. The 95% confidence interval was 4,07 – 4,27.

Key words: Scorpionism, *Leirus abdullahbayrami*, the median lethal dose

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde yardımlarından ötürü Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölüm Başkanı Prof.Dr Mehmet SÖNMEZ'e Matematik Bölümü ğretim yelerinden Yrd. Doç. Dr Abdullah KABLAN'a ve Biyoloji Bölümü'nden Arş. Gör. Fatih YAYLA'ya teşekkür ederim.

İsmail ADIGÜZEL

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SEMBOLLER ve KISALTMALAR.....	xii
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ.....	1
1.1. Akrelerin Genel Özellikleri.....	2
1.1.1. Sistematik.....	3
BÖLÜM 2.....	5
LİTARETÜR ARAŞTIRMALARI.....	5
BÖLÜM 3.....	8
MATERYAL ve METOD.....	8
3.1. Materyal.....	8
3.2. Metod.....	9
3.2.1. Venomların hazırlanması.....	10
3.2.2. Letal Doz (LD50) Hesaplanması.....	10
BÖLÜM 4.....	15
BULGULAR.....	15
4.1. Sınır tespit ve ön denemeleri.....	15
4.2. Letal Doz Tespit Çalışmaları.....	15
4.2.1. Maserasyon Metodu.....	15
4.2.2. Elektriksel Uyarım Metodu.....	20
4.3. Zehirlenme belirtileri ve Letal Doz.....	25

BÖLÜM 5	26
TARTIŞMA VE SONUÇ	26
ÖNERİLER	28
KAYNAKLAR	30
Ek 1.	33

TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1. Probitlerin yüzde ölüm değerlerine dönüştürülmesi için kullanılan sabit değer tablosu (Randhawa vd., 2009)	14
Tablo 4.1. <i>Leurus abdullahbayrami</i> türü akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin Trevan Yöntemi'ne göre hayvanlara verilen dozları ve yüzde değerleri	16
Tablo 4.2. Akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin hayvanlara verilen dozlarının Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre düzenlen tablosu	17
Tablo 4.3. Akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin, ölüm yüzdelerine bazında Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre düzenlen tablosu	18
Tablo 4.4. Akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin, logaritmik doz, düzeltilmiş değerler ve probit karşılıklarını içeren, Randhawa'ya göre düzenlen tablo	19
Tablo 4.5. <i>Leurus abdullahbayrami</i> türü akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin Trevan Yöntemi'ne göre hayvanlara verilen dozları ve yüzde değerleri	21
Tablo 4.6. Akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin hayvanlara verilen dozlarının Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre düzenlen tablosu	22
Tablo 4.7. Akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin, ölüm yüzdeleri bazında Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre düzenlen tablosu	22
Tablo 4.8. Akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin, logaritmik doz, düzeltilmiş değerler ve probit karşılıklarını içeren, Randhawa'ya göre düzenlen tablosu	24

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Leiurus abduallahbayrami</i>	4
Şekil 3.1. Akrelerin labortauvar ortamına alıştırma kapları	8
Şekil 3.2. Fare üretim odası	9
Şekil 3.3. Akrebin uygulama yapılan kuyrum bölümü	9
Şekil 3.4. Elektriksel uyarım için kullanılan 24 V'luk güç kaynakları.	10
Şekil 3.5. Fareler için uygulam kapları.	11
Şekil 4.1. <i>Leurus abduallahbayrami</i> türü akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin Trevan Yöntemi'ne göre histogramı	16
Şekil 4.1. <i>Leurus abduallahbayrami</i> türü akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin Trevan Yöntemi'ne göre histogramı	14
Şekil 4.2. Akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin, ölüm yüzdelerine göre Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre Log doz-probit regresyon doğrusu	18
Şekil 4.3. <i>Leurus abduallahbayrami</i> türü akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin Trevan Yöntemi'ne göre histogramı	21
Şekil 4.4. Akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin, ölüm yüzdelerine göre Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre Log doz-probit regresyon doğrusu	23

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

Semboller

μg	miligram
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
\pm	bir sayını eşit uzaklıktaki değerleri
$^{\circ}$	enlem ve boylamda derece
'	enlem ve boylamda dakika

Kısaltmalar

ip	periton boşluğu	intraperitoneal
sc	deri altı	subcutaneous
iv	damar içi	intravenoz
m	mortalite	
n	her bir gruptaki hayvan sayısı	
vd	ve diğerleri	
log	logaritma	
NNS	normal standart sapma	
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	
LD ₅₀	median letal doz	
SE	standart hata	
mL	mililitre	
V	volt	
rpm	saniyede devir sayısı	

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Türkiye'nin coğrafik şartları, iklim koşulları ve karakteristik yapısı nedeniyle birçok canlı türüne ev sahipliği yapmaktadır. Ülkenin sosyo-ekonomik yapısı nedeniyle akrep zehirlenmeleri (skorpionizm) vakaları başta Güneydoğu Anadolu bölgesi olmak üzere tüm bölgelerde sağlık sorunlarından birini teşkil etmektedir.

Akrepler, hayvanlar aleminin Arthropoda şubesi, Chelicerata alt şubesi, Arachnida sınıfı, Scorpiones takımında yer alan, üzerlerinde kalın bir kitin tabakası ile kaplı ve morfolojik yapıları nedeniyle çok kolay tanınan, uzunlukları 12-225 mm arasında değişen eklembacaklılardır.

Akrepler çoğu zaman kendileri korumak ve avları öldürmek için zehirlenme ve ölümlere sebep olabilirler. Ülkemizde bazı akrepler türleri, insanları öldürecek düzeyde zehire sahiptir. Akrep zehirinin etki mekanizması çoğunlukla nörotoksik ve sitotoksiktir yapıdadır. Nörotoksin yapısındakiler daha tehlikeli türlerdir. Zehirleri genellikle histimin, serotonin, enzimler ve enzim inhibitörleri içerirler.

Akrep zehir maserasyon, manuel teknik ve elektriksel uyarım yöntemleri kullanılarak elde edilebilir.

Maserasyon yöntemi kullanılan en eski yöntemlerden ve uygulaması en kolay olanıdır. Basit olarak akreplerin telsonları koparılarak fizyolojik suya (serum) bırakılır; manuel yöntemde ise hipodermik bir iğne ile zehir bezine girilerek baş parmak ve işaret parmağı ile sıkıştırılarak zehirin sağılması sağlanır. Eelektiksel yöntem ise telsona ve venom kesesine elektrik uyarımı verilerek zehirin sağılması şeklinde olur. Bu üç uygulamalardan maserasyon yöntemi yeterli düzeyde zehir elde etmek için çok sayıda akrep öldürülmesi gerektirmesi, manuel yöntemde ise hayvanın stres altına girmesi ve travmatik davranışları venomun alınamaması ve miktarının azalmasına sebep olmaktadır. Günümüzde kullanılan en güvenli yöntem ise elektriksel uyarım olup bütün gelişmiş laboratuvarlarda başarıyla uygulanmaktadır.

1.1.Akreplerin Genel Özellikleri

Vücutları, prosoma (sefalotoraks), mesosoma (karın) ve metasoma (kuyruk) olmak üzere üç bölümden oluşur. Prosomada cepal (baş) ve thoraks (göğüs) kaynaşmış olarak bulunur. Baş üzerinde 2 medyan ve 2-5 çift lateral göz bulunur. Karın bölümünde yedi segment bulunur ve tüm genişliğiyle göğüse bağlıdır. Akreplerde dahil olmak üzere araknitlerin hepsinde sırtta tergit, karında sternit ve yanlarda plevra simi verilen kitin plaklar bulunur.

Kuyruk bölümünde beş segment bulunmakta ve en sondaki segmentten bir öncekinde anal açıklık bulunur. Son segmentte ise zehir iğnesi vardır. Zehir iğnesi telsonun içinde bulunan iki zehir bezine bağlıdır. Zehir bezinden salgılanan toksin, zehir bezlerinin çevresindeki düz kasların sıkıştırılmasıyla dışarı doğru fişkırtılır.

Tüm bacaklar (dört çift) prosomaya bağlıdır. Ayrıca ağız parçası olarak iki çift üye daha vardır. Bunlardan ilki keliserlerdir. Keliserler üç parçadan oluşurlar (hareketli, hareketsiz parça ve manus). Hareketli parça üsttedir ve şekli “Y” harfine benzer. Alttaki parça hareketsizdir. Keliserler çoğunlukla beslenirken kullanılır. İkinci çift ağız parçaları ise pedipalplerdir. Diğer tüm üyelerden daha büyük ve makas şeklindedir. Altı segmentten oluşur (coxa, trochanter, femur, patella, tibia ve tarsus). Tibia ve Tarsus segmentleri makası oluşturur ve chela denilir. Keliserlerin aksine üstteki değil, alttaki parça hareketlidir. Üzerindeki trichobothri adı verilen uzun, ince kıllar vardır ve hava basıncındaki değişimleri algılayacak özelliktedir.

Yürüme bacakları sekiz segmentten oluşur (I. Koksa, II. Trohanter, III. Femur, IV. Patella, V. Tibia, VI. Basitarsus, VII. Telotarsus, VIII. Pretarsus). Ayrıca son segmentin ucunda unguis denilen küçük bir çift tırnak bulunur.

Abdomenin ilk segmenti olan Preabdomenin I. segmenti dar sternitlidir. Ortasında kenarları yuvarlak ve ortası yarı bir kapak olan genital operkulum (eşeyssel açıklık) bulunur. Genital operkulumun önünde taksonomik karakter olarak kullanılan üçgen yada beşgenimsi olan plak (sternum) bulunur.

Abdombinal II. segmentte, sadece akreplerde görülen, üyelerin değişmesiyle meydana gelmiş olan, tarak (pektin), duyu organıdır. Her tarak diliminde üç sıra kitin plakada oluşmuş bir eksen ve dışarı doğru uzanan tarak dişleri şeklindeki uzantılar vardır.

Cephalonda iki loblu bir ganglion ayrıca thoraksda büyük bir göğüs ganglionu ve abdominal VII ve VIII. segmentte ganglionlar vardır. Dolaşım sisteminin merkezini oluşturan kalp, dorsalde tüm mesosoma boyunca uzanır. Solunum organları preabdomenin III. ve VI. segmentlerinde yer alan dört çift kitapsı akciğerlerdir. Bunların her biri bir solunum açıklığı (stigma) ile dışarı açılır. Ayrıca, adominal III, IV, V, VI segmentlerin sternitlerde kitapsı akciğer açıkları bulunur. Sindirim sistemi önce emici bir yutak ile başlar, daha sonra tükruk bezlerinin açıldığı kısa yemek borusu ile devam eder, dar ve uzun orta bağırsak, kısa bir son bağırsak ve en son anüs ile sonlanır. Boşaltımı sistemi ise Malpighi tüpleri ve koksal bezlerdir.

Duyu organı olarak vücudun hemen her yerinde görülebilecek olan kıl, diken ve trichobotrialardır. Abdomenin II. sternitinde taraklar, pedipalp ve yürüme bacaklarında duyu yarıkları, toraksın dorsalinde iki büyük medyan göz ve posteriorde iki veya beş çift halde lateral gözlerdir. Akrepler ayrı eşeylidirler. Erkeklerde bir çift testis olmasına karşın dişilerde, ortabağırsak bezleri arasında bir tek yumurtalık taşırlar.

Akrepler genellikle kurak ve sıcak habitatlarda yaşarlar, ancak yinede nemli yerleri tercih edenleri de bulunur. Genellikle gececil (nocturnal)'dirler. Gündüzleri ve kış uykusu sürecinde toprak altına yaptıkları yuvalarda yaşarlar. Yassı bir vücut yapısına sahip oldukları için taş, yaprak döküntüsü altlarında, ağaç kabuğu aralıklarına veya duvar yarıkları içinde yaşayabilmektedirler. Ömür uzunluğu genellikle bir, altı yıl kadardır.

1.1.1. Sistematik

Akrepler sistematik olarak Arthropoda Şubesinin, Chelicerata Altşubesinde, ve Arachnida sınıfında yer alan bir takımdır. Akreplerin Dünya üzerinde bilinen 17 familyası ve yaklaşık 1752 türü vardır (Wikimedia, 2013). Bu tez kapsamında bu tür akrep üzerinde toksin değerleri çalışılmıştır.

Alem	: Arthropoda
Subphylum	: Chelicerata
Classis	: Arachnida
Ordo	: Scorpionida
Familia	: Buthidae
Species	: <i>Leiurus abduallahbayrami</i> (Yağmur vd, 2009)

Leiurus abduallahbayrami'nin ayırt edici özellikleri; metasoma V. segmenti büyük ve loblarla çevrilidir. Pedipalpin sabit parmağındaki trichobothria db, trichobothria est ve esb arasında konumlanmıştır (Yağmur vd, 2009). Beş 5 lateral göz bulunur. Karapaksta postero-medyan ve medio-lateral karinalar birleşiktir. Kuyruk son segmenti açıkca diğerlerinden koyu siyah renktedir (Şekil 1.1). Sıcak ve kurak steplerde yaşarlar. Gündüzcül bir form olup çoğunlukla böcekler olmak üzere pek çok omurgasız hayvan üzerinden beslenirler. Endemik bir tür olup yurdumuzda Hatay, Şanlıurfa, Gaziantep, Kilis, Kahramanmaraş ve Adıyaman illerinde yayılış gösterir (Sissom, 1998; Fet vd., 2000; Karataş, 2000; Yağmur vd, 2009).



Şekil 1.1. *Leiurus abduallahbayrami*.

Türkiye ve bölgemizde mevcut zehirli hayvanlarla ilgi karşılaşılan zehirleneme vakalarında, öncelikle sağlık kuruluşlarında panzehir uygulaması yapılması yasal bir zorunluluktur. Bu tez çalışmasını amacı Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yayılış gösteren *L. abduallahbayrami* akrep türlerinin sıçanlarda LD₅₀ değerini tespit etmektir.

BÖLÜM 2

LİTARETÜR ARAŞTIRMALARI

İlk olarak akreplerden kayıt veren Linnaeus (1758)'dur. *Scorpio* cinsinden beş tür araştırmıştır. Takım ismini (*Scorpiones* Koch, 1850) Koch vermiştir (Birula, 1917a, 1917b). Fet vd., daha sonra akreplerin 16 familya, 155 cins ve 1259 türünü isimlendirmişler veya liste oluşturmuşlardır (2000a). Türkiye akrepler konusunda ilk çalışmaları Pavesi (1876) ve Birula (1898, 1903) gerçekleştirmiştir. Ayrıca, *Iurus kraepelini* türü ilk olarak Toros Dağları'nda tanımlanmıştır (Ubisch, 1922). Schenkel (1947) ise *Mesobuthus gibbosus anatolicus*'yı tanımlamıştır. Adıyaman'dan *Leiurus quinquestriatus* türü için yayılış gösteren Tulga (1960) olmuştur.

Yurt dışı araştırmacılarından Crucitti ve Cicuzza (2001), Gaziantep'de sadece üç akrep türünün (*Androctonus crassicauda*, *Mesobuthus eupeus*, *Scorpio maurus*) varlığından bahsetmektedir.

Fet eserinde, *Mesobuthus eupeus*, *Scorpio maurus*, *Androctonus crassicauda*, *Leiurus quinquestriatus* ve *Compsobuthus matthiesseni* türlerinin Gaziantep'de bulunduğunu fakat yayılışlarının net olmadığını ifade etmektedir (2000). Fet vd., *Compsobuthus matthiesseni* türü için Elazığ'da yayılış bildirmişlerdir (2000a).

Karataş, Karataş vd, bazı türler için Türkiye'den yayılışlar bildirmiştir. Bu türler; *Leiurus quinquestriatus* (Adıyaman, Diyarbakır, Hatay, Kilis), *Androctonus crassicauda* (Güneydoğu Anadolu), *Mesobuthus eupeus* (Doğu ve Güneydoğu Anadolu), *Mesobuthus gibbosus* (İç, Batı, Güney ve Anadolu), *Scorpio maurus* (Güneydoğu Anadolu ve Doğu Akdeniz bölgesi), *Compsobuthus matthiesseni* (Güneydoğu Anadolu'da birkaç lokalitede), *Calchas nordmanni* (Antalya, Artvin, Şanlıurfa, Diyarbakır, Malatya, Siirt) (Karataş, 2000; Karataş vd, 2001, 2003).

Yağmur (2005) Gaziantep ilinde akrep faunası üzerine tez çalışması gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada *Leiurus quinquestriatus*, *Androctonus crassicauda*, *Mesobuthus eupeus*, *Mesobuthus gibbosus*, *Mesobuthus nigrocinctus*, *Compsobuthus*

matthiesseni, *Calchas nordmanni* ve *Scorpio maurus* türlerini bölgeden kayıt vermiştir.

Yağmur vd., (2009) Gaziantep, Hatay, Adıyaman, Kilis ve Mardin illerinde yayılış göstermekte olan yeni bir tür kaydı (*Leiurus abduallahbayrami*) vermişlerdir. Bu tür, daha önce *L.quinquestriatus* olarak bilinen türün yeni deskripsiyonu olarak sunulmuştur. Ayrıca *L.quinquestriatus*'un yayılış alanı olarak Yemen ve Sudi Arabistan olduğu ifade edilmektedir.

Daha sonra Ozkan vd., (2011) *L. abduallahbayrami* türünde medyan letal doz ve zehirinin protein içeriği çalışılmıştır. Çalışmada bu türün $LD_{50} = 0.19$ mg/kg olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca zehirde diğer protein bantlara göre daha güçlü ağırlığa sahip 4 ve 6 kDa olan iki protein varlığından bahsedilmektedir.

Zehir akrelerden elektriksel akım yöntemi ile alınmıştır. Behrens ve Karber yöntemi kullanılarak 0,5 mL fizyolojik su (0.85% NaCl) ile dilüsyon yapılmıştır. Farelere belirli oranlarda enjeksiyon yapılmıştır. Çalışmalarında enjeksiyondan sonra farelerde aşırı heyecanlanma, saldırgan davranışlar, homurdanma ve kavga, kasılma, zayıflık, felç ve koma şeklinde zehirlenme belirtileri bildirilmiştir.

L. quinquestriatus türünün $LD_{50} = 0.25$ mg/kg olduğu daha önceki çalışmalarda ortaya konduğu, bu tür için Dünyada en zehirli akrelerden biri yapacak değer olduğu, çalışmaları ile *L. abduallahbayrami*'nin *L. quinquestriatus*'dan daha zehirli olduğu ifade edilmektedir (Özkan vd., 2011). Hatta Türkiye'de yayılış gösteren akrelerde en yüksek toksin düzeyi olarak *L. quinquestriatus*'un gösterileceği belirtilmiştir.

Özkan ve Filazi (2004) *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807) akrebin farklı yöntemler kullanarak, farelerde akut LD_{50} değerlerini belirlemişlerdir. Çalışmalarında örnekler Şanlıurfa'dan toplanmış ve intraperitoneal çalışılmıştır.

Maserasyon yönteminde akrelerin telsonları ayrı ayrı havana toz haline getirilmiş sonra 10 ml % 0.85'lik fizyolojik su ile homojenize edilmiş. + 4°C 'de 72 saat maserasyona bırakılmış. Karışımlar 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve fizyolojik tuzlu su ile 10 ml'ye tamamlanmış. Elektriksel uyarım yöntemi 24 V'luk güç kaynağı kullanılarak zehir sağımı yapılmış ve 10 ml % 0.85'lik fizyolojik tuzlu

su ile homojenize edilmiş. Behrens ve Karber yöntemi kullanılmış. Ayrıca üçüncü grup olarak ötenazi edilen akreplerin telsonlarından maserasyonla elde edilen venom ile uygulama yapılmış.

Sonuç olarak, satın alınan telsonlarla maserasyon yöntemi ile $LD_{50} = 8$ ml/kg, ötenazi edilen akreplerden elde edilen telsonlardan hazırlanan venomlarla $LD_{50} = 3.46$ ml/kg ve elektrik uyarımı ile sağılan venomlarla $LD_{50} = 1.5$ ml/kg olarak belirlendiği ifade edilmiştir (Özkan ve Filazi, 2004).

Paramveer vd., (2010) LD_{50} düzeylerinin belirlenmesinde, deney hayvanlarında kullanılan sayıyı minimum düzeye indirmek için etkili alternatif yöntemler üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir. Pek çok Avrupa ülkesinde oral LD_{50} deneylerinin yasaklanmış olduğu ancak OECD tarafından 2001 yılında bu yasağın kaldırıldığı ve üç metod üzerinde denemelerin yapılmasının uygun olduğu (1.Sabit Doz Prosedürü (FDP)-OECD TG 420, 2. Akut Toksik Sınıf yöntemi (ATC)-OECD TG 423 ev 3. Aşağı yukarı-ve-Prosedürü (UDP)-OECD TG 425) bildirilmiştir. Bu yöntemlerde, sadece ölüm yerine toksisite belirtilerinin araştırılmasının, alternatif yöntemlerle deney hayvanlarında en az seviyede kullanımın öngörülmesi gereği vurgulanmıştır.

Randhawa (2009) genç araştırmacılar için, Miller ve Tainter yöntemi revize edilerek, LD_{50} değerinin hesaplanmasında yeni bir açılım getirmişlerdir. Çalışmalarında Deneysel Farmakoloji Temelleri (Ghosh, 1984) eserinden metotları baz alarak, örnekle açıklamalarda bulunmuşlardır. Buna göre Miller ve Tainter yönteminde kullanılan Probit değer baz alınmış, % 0 ve % 100 ölüm değerleri ile logaritmik bir grafik elde edilmiştir. Ayrıca probit değerleri, yüzde ölüm dozları, logaritmik dozlar, % düzeltilmiş değerlerden hazırlanan tablo ve probitlerin yüzde ölüm değerlerine dönüştürülmesi için kullanılan sabit değer tablosundan yararlanılmıştır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Akrepler Gaziantep, Nizip ilçesi ve Keçikuyusu köyünden (1 km güney) Haziran – Temmuz 2011 tarihleri arasında toplanmıştır (37°67' D, 36°97' K, 728 m). Ortalama 170-200 mg ağırlığında 20 adet akrep (*Leirus abduallahbayrami*)'den farklı metodlarla (Maserasyon ve Elektriksel uyarım) zehirler alındı. Örnekler oda sıcaklığında (22-24 °C) ve belli bir nem oranında (%50±10), cam kaplarda (150x150x150 mm) yaşatıldı. Akreplere haftada bir defa canlı besin (çekirge, peygamber devesi, örümcek) verilmiştir. Akrepler en az bir ay ortama uyum için beslenmiştir. Bu süre zarfında hayvanları iki gruba ayırarak maserasyon ve elektriksel uyarıma hazır hale getirilmiştir.



Şekil 3.1. Akreplerin labortauvar ortamına alıştırma kapları.

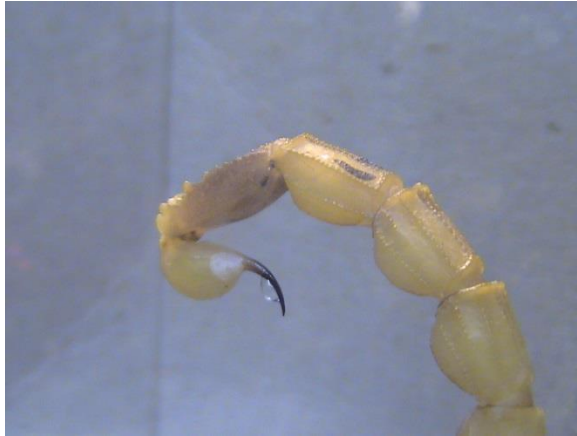
Letal doz (LD₅₀) belirlenmesi için swiss tip albino fareler Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, deney hayvanları laboratuvarından temin edilmiştir. Fareler yaklaşık 20 gr ağırlığındadır ve 155 adet denek kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Fare üretim odası.

3.2. Metod

Öncelikle laboratuvar ortamında yaşamaya alıştıırılan akreplerden zehir alındı. Çalışmada maserasyon ve elektriksel uyarım metotları kullanılmıştır (Ozkan ve Filazi, 2004; Randhawa, 2009; Paramveer vd., 2010). Maserasyon yöntemi için; akrepler ayrı ayrı kaplarda eterle ötenazi edilerek oda sıcaklığında saklanıp telsonları, postabdomenlerinden ayrılmıştır. Elektriksel uyarım yöntemi için; elektriksel sağım için korunmuş ve beslenmiştir.



Şekil 3.3. Akrebin uygulama yapılan kuyruk bölümü.

3.2.1. Venomların hazırlanması

Maserasyon yöntemi için eter veya karbondioksit ile bayılarak ötenazi uygulanan akrelerin telsonlarının son boğumları ayrılmış ve daha sonra etüvde kurutulmuştur. Havanda dövülerek un haline getirilmiş, üzerine 10 ml fizyolojik su eklenerek homojenize olması sağlanmıştır. Bu karışım boş bir kapa konularak ağzı kapalı olacak şekilde etüvde + 4 °C'de, 72 saat maserasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda karışım alınarak boş bir deney tüpüne konulmuş ve 3000 rpm'de 7 dakika santrifüj edilerek çökelti ayrılmıştır. Süpernatant kısmı alınıp üzerine 10 ml'ye kadar fizyolojik su tamamlanmış ve stok venom çözeltisinin hazırlanmıştır.

Elektriksel uyarım yöntemi için akrebin telson kısmına elektrik akımı verilerek venom sağılmıştır (Gopalakrishnakone vd., 1995). Temin edilen 24 V'luk güç kaynağının katot ve anot uçları 10 mm'lik bakır kablolar bağlanmıştır. Cam kaplarda tutulan akrepler bir pens yardımı ile alınarak bir uygun bir sehpa üzerinde telson dışarıda kalacak şekilde kapatılmış ve hareketsiz bırakılmıştır. Telsona elektrik akımı verilerek salgılatılan venom deney tüplerine alınmıştır. Bu şekilde 10 akrepten alınan venom deney tüpünde toplanarak üzerine 10 ml fizyolojik su tamamlanarak stok venom çözeltisi hazırlanmıştır.



Şekil 3.4. Elektriksel uyarım için kullanılan 24 V'luk güç kaynakları.

3.2.2. Letal Doz (LD50) Hesaplanması

Maserasyon ve elektriksel uyarım metodu ile hazırlanan stok venom çözeltilerinden (%0.85) fizyolojik su ile beraber farklı dozlarda (maserasyon 5.3mg/kg - 6.8mg/kg; elektriksel uyarım 3.6mg/kg - 4.8mg/kg) seyreltilerek 0.5 ml deri altına (sc) farelere

enjekte edilmiştir. Kontrol grubundaki farelere sadece fizyolojik su enjektör yardımı 0.5 ml deri altına uygulanmıştır. Zehrin uygulanma şekli olarak periton boşluğu [intraperitoneal (ip)], periton boşluğu [subcutaneous (sc)] veya damar içi [intravenoz (iv)] yollarından biri kullanılabilir. Literatürde ip ve sc uygulamaları bulunmaktadır (Ozkan ve Filazi, 2004; Dökmeci ve Dökmeci, 2005; Randhawa, 2009; Paramveer vd., 2010; Ozkan vd., 2011).



Şekil 3.5. Fareler için uygulama kapları.

Stok çözeltilerinin uygulanmasını takiben fareler 48 saat boyunca izlenerek metabolik değişiklikler ve ölüm sayıları kaydedilmiştir. Her iki metotla da hesaplamalar yapılırken 1) Trevan, 2) Behrens ve Karber ve 3) Miller ve Tainter Yöntemleri kullanılmıştır (Ghosh, 1984; Trevan, 1935; Miller ve Tainter, 1944; Dökmeci ve Dökmeci, 2005; Randhawa, 2009).

Trevan Yöntemi

LD₅₀ değerinin bulunması için ordinatın % 50 noktasından absise paralel giden doğrunun Trevan eğrisine kestiği noktadan inilen dikin çizilmesi Trevan eğrisini ortaya koymaktadır.

Behrens ve Karber Yöntemi

Trevan yönteminde LD₅₀ yaklaşık olarak hesap edilmesine karşın Behrens ve Karber Yönteminde tam bir sayıya ulaşılabilmektedir. Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre düzenlenen tabloda iki grup arasındaki farklar baz alındığı için a, b ve ab değerleri üst sütünün ortalarına gelecek şekilde düzenlenir. Gruplardaki ölüm sayıları yerine, yüzde değerlerden hesaplamalar yapılmaktadır. Tablodan elde edilen değerler, Behrens ve Karber formülüne göre hesap edilir. LD₅₀ için farelerin %50'si öldüren doz miktarı hesaplanmıştır (Denklem 3.1). Kullanılan formül aşağıdaki gibidir.

Denklem 3.1.

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{ab + \dots + ab}{n}$$

Not: a: birbirini izleyen 2 doz arasındaki fark; b: birbirini izleyen 2 dozdan ileri gelen ölümlerin aritmetik ortalaması; m: mortalite; n: her bir gruptaki hayvan sayısı (Behrens ve Karber, 1935).

Miller ve Tainter Yöntemi

Zehire karşı tepkiyi tüm popülasyon üzerinde denemenin imkansız olmasından dolayı, deneme grupları oluşturulduktan sonra logaritmik derece aracılığıyla artırılan ve görülen ölümlere göre yüzdeler hesaplanır. Elde edilen yüzde değerler 'probits'e dönüştürülür ve grafikte eğilim çizgisi eklenir. Bu eğri kullanılarak denek grubunun % 50'sini öldüren dozun (probit 5) logaritması elde edilir.

Grafik üzerinde, her yüzde yanıt için ± 3 normal standart sapma (NNS) değeri olarak gösterilir. Standart sapmanın ' $x > -1$ ' olması durumunda probit bir alt değer olan '4' olarak, ' $x < +1$ ' olması durumunda probit bir üst değer olan '6' olarak kabul edilir. Standart sapmanın ' $-0,99 > x < +0,99$ ' aralığında ise probit 5 olarak kabul edilir. Grafik için 'log doz-probit' regresyon doğrusu gösterilir. LD₁₆ ve LD₈₄ (=LD₁₀₀) değerlerinin karşılığı belirlenerek standart sapma ve standart hata hesap edilir (Denklem 3.2).

Denklem 3.2.

$$S = \frac{\%84 \text{ lethal doz} - \%16 \text{ lethal doz}}{2}$$

$$\text{standart hata} = \frac{S}{\sqrt{2n}}$$

Randhawa Yöntemi

Miller ve Tainter yöntemi revize edilerek, LD₅₀ değerinin hesaplanmasında yüzde ölüm değerlerinden yola çıkılarak önce düzeltilmiş yüzdeler ve doz aralıklarına göre uyarlanmış Probitler hesaplanır. Düzeltilmiş yüzdeler için, % 0 ve % 100 ölüm noktaları her bir örneklemede kullanılan denek sayıları ile hesap edilen formül kullanılır (Denklem 3.3).

Denklem 3.3

$$\%0 \text{ ölüm için} = 100 \left(0, \frac{25}{n}\right)$$

$$\%100 \text{ ölüm için} = 100 \left(n - \left(\frac{0,25}{n}\right)\right)$$

Tablo verilerinden, probitler ve log doz kullanılarak logaritmik bir grafik elde edilir. Çalışmamızda ise, Randhawa'nın oluşturduğu logaritmik grafik üzerinden karşılık değerlere ulaşmada hata payı yüksek olduğundan bu noktada farklı bir yöntem kullanılmıştır. Zira doğrusal grafiklerde istenilen karşılık nokta bulunabilir. Ancak Randhawa'nın grafiği logaritmiktir. Bu amaçla % düzeltilmiş probit değerler tablosu baz alınarak oluşturulan lineer interpolasyon denklem kullanılmıştır. Excel ortamında hazırlanan denklemde probit değerler X1 ve X2 yerine ve bunlara karşılık gelen Log dose değerlerini de Y1 ve Y2 değerlerinin yerine konulmaktadır. Böylece log LD₅₀ sonucuna ulaşılmaktadır. log LD₅₀ sonucunun antilogu alınarak mg/kg birimli son değer elde edilmektedir.

Ayrıca probit değerleri, yüzde ölüm dozları, logaritmik dozlar, % düzeltilmiş değerlerden hazırlanan tablo ve probitlerin yüzde ölüm değerlerine dönüştürülmesi için kullanılan sabit değer tablosundan (Tablo 3.1) yararlanıldı.

Tablo 3.1. Probitlerin yüzde ölüm değerlerine dönüştürülmesi için kullanılan sabit değer tablosu (Randhawa vd., 2009)

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

Randhawa Yönteminde, Probit 5'in karşılığı olan log doz gösterilmiş olur ve standart sapma sınırlı ifade edilir. Probitin normal değerden (probit 5) yüksek veya düşük seviyeleri göstermesi standart sapmanın, test üzerindeki karşılığı şeklinde yorumlanır. Sonuç 'Güven Aralığını' göstermektedir.

Tez kapsamındaki deneysel araştırmalar için, Gaziantep Üniversitesi, Yerel Etik Kurulundan ilgili izin alınmıştır (Bkz. Ek.1).

Örneklerin teşhis çalışmaları LEICA marka EZ4D model stereo mikroskop, Mikro 200 marka Hettich Zentrifügan 2400 model soğutmalı santrifüj, görüntüleme NIKON marka P5100 model ve Fuji Film marka S602 model fotoğraf makinaları kullanılmıştır. Elektrik akımı için Mustang marka bir çift 12 V ve 500 mA adaptör kullanılmıştır.

Bu çalışma, Maserasyon ve elektriksel uyarım metoduna göre gerçekleştirilen Trevan Yöntemi, Behrens ve Karber Yöntemi, Miller ve Tainter Yöntemi ile Randhawa Yöntemi için denemeler, üç tekrar yapılarak tamamlanmıştır.

BÖLÜM 4

BULGULAR

Akrepler öldürücü zehirleri ile ürkütücü ve korkutucu canlılar olarak bilinirler. Hatta bu korku insanların bilinçaltında, onların araknofobi geliştirmelerine sebep olmuştur. Ekosistemde ise en az diğer canlılar kadar besin zincirinde önemli yer tutmuşlardır. Bu çalışma Güneydoğu Anadolu Bölgesinde endemik olarak yayılış gösteren *Leurus abdullahbayrami* türü akrebin letal dozunu belirleme amacıyla, yaşam alanlarından toplanan ve laboratuvar ortamına alıştırılan 20 adet örnek, 155 adet fare kullanılarak çalışıldı.

4.1. Sınır tespit ve ön denemeleri

Öncelikle farelerde Minimal Mortal Doz (MMD) seviyesinin belirlenmesiyle başlanmıştır. Bu amaçla deneğe enjekte edilen total sıvı hacminin dolaşım kapasitesinin geçmemesine dikkat edilerek, hayvanda mortalite görülene kadar madde verilmiştir. Maserasyon metodu için 8 mg/kg ve elektriksel uyarım metodu 5 mg/kg dozlarda sonuca varılmıştır.

4.2. Letal Doz Tespit Çalışmaları

4.2.1. Maserasyon Metodu

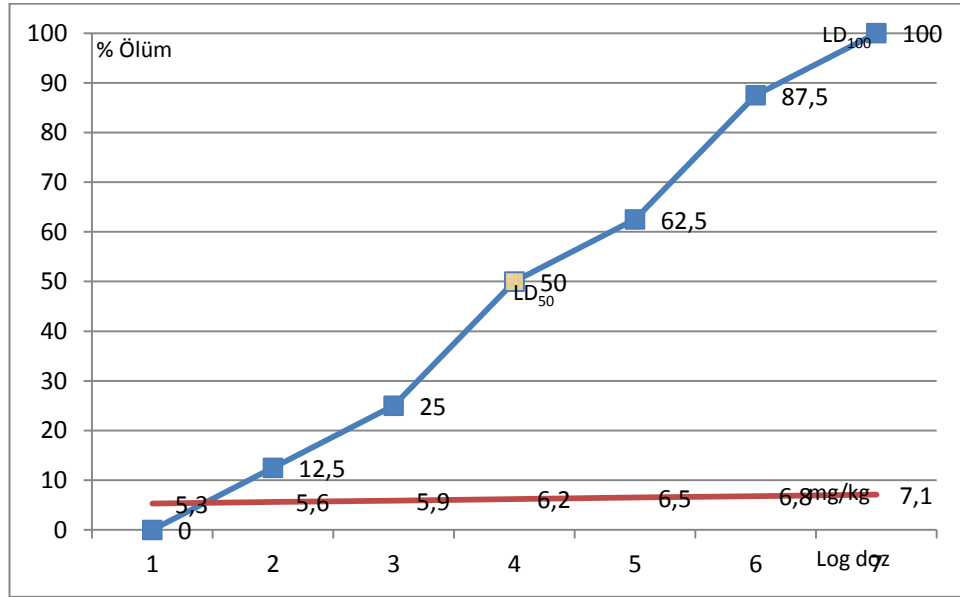
4.2.1.1. Trevan Yöntemi

Bu yöntem, LD₅₀ tayininde, en alt doz seviyesi olarak değerlendirilir. Dozlar tüm deneme grubundaki hayvanlar ölene kadar artırılmaya devam edildi. Çalışmada Maserasyon metoduyla alınan zehir için 5.3 mg/kg başlanarak dozlar 0,3 mg/kg artırılarak devam edilmiştir. Her deneme için sekiz denek kullanıldı. Seçilen seyreltme katsayılarında beklentiler doğrultusunda, tüm deneklerin öldüğü ve hiç ölmediği değerler bulunmuştur (Tablo 4.1). Deneme grubu 0, kontrol grubu olarak seçilmiştir. Toplam üç deneğe diğer uygulamalarda olduğu gibi 0.5 ml fizyolojik su deri altına uygulanmış ve sonuçta hiç ölüm görülmemiştir.

Tablo 4.1. *L. abdullahbayrami* türü akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin Trevan Yöntemi'ne göre hayvanlara verilen dozları ve yüzde değerleri

Deneme grupları	Doz mg/kg	Hayvan sayısı	Ölüm sayısı	Ölüm Yüzdesi
0	0	8	0	0
1	5,3	8	0	0
2	5,6	8	1	12,5
3	5,9	8	2	25
4	6,2	8	4	50
5	6,5	8	5	62,5
6	6,8	8	7	87,5
7	7,1	8	8	100

Trevan Yöntemi'ne göre dozları ve yüzde değerler tablosundan oluşturulan histogramda ordinatın % 50 noktasından absise paralel giden doğrunun, Trevan eğrisine kestiği noktadan inilen dikin absiste kestiği nokta 5,9 ve 6,2 mg/kg arasında bir değer olduğu görülür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *L. abdullahbayrami* türü akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin Trevan Yöntemi'ne göre histogramı

4.2.1.2. Behrens ve Karber Yöntemi

Behrens ve Karber tablosunda, orjinaline bağlı kalarak, ölüm sayıları yerine, yüzde değerlerden kullanılmıştır. Her örneklemede sekiz denek kullanılmıştır. Kullanılan

'b' değerinin artan zehir seviyelerine bağlı olarak görülen ölüm değerlerine paralellik göstererek yükselen bir tablo göstermiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Akrelerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin hayvanlara verilen dozlarının Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre düzenlen tablosu

	1	2	3	4	5	6	7
Dozlar	5,3	5,6	5,9	6,2	6,5	6,8	7,1
Ölüm (%)	0	12,5	25	50	62,5	87,5	100
N	8	8	8	8	8	8	8
A	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
B	6,25	18,75	37,5	56,25	75	93,75	
Ab	1,875	5,625	11,25	16,875	22,5	28,125	

Hesaplama:

$$LD_{50} = 7,1 - \frac{1,875 + 6,25 + 11,25 + 16,875 + 22,5 + 28,125}{8} = 5,7523$$

Deneme sonucunda *L. abdullahbayrami* türü akrelerde, fare üzerinde, Maserasyon metodu ile alınan zehirin Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre medyan letal dozu $LD_{50} = 5.75$ mg/kg olarak tespit edilmiştir.

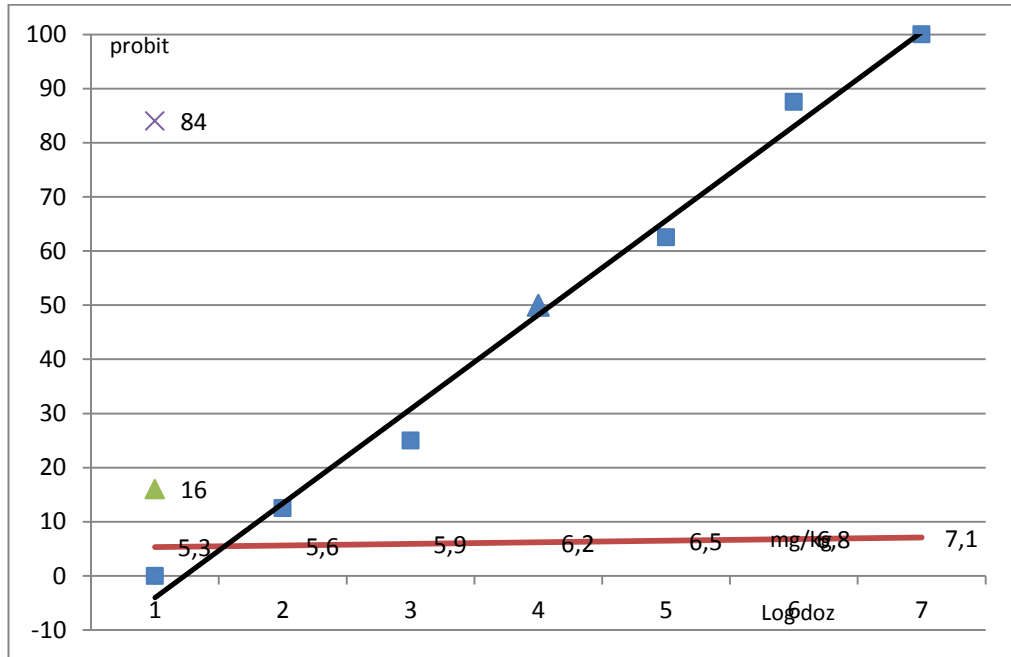
4.2.1.3. Miller ve Tainter Yöntemi

Miller ve Tainter tablosunu oluşturmak için, Trevan Yöntemi'ne göre oluşturulan tabloda, yüzde değerler kullanılarak NSS sıfırdan artı ve eksi artırma şeklinde derecelendirmeyle gösterilmiştir. Yöntemin orjinaline bağlı kalınarak, ölümün % 50 olduğu değer NSS için 0 ve probit ise 5 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Akrelerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin, ölüm yüzdeleri bazında Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre düzenlen tablosu

Yanıt (%)	NSS	Probit
0	-3	2
12,5	-2	3
25	-1	4
50	0	5
62,5	1	6
87,5	2	7
100	3	8

Miller ve Tainter Yöntemine göre hazırlanan grafikte, uygulanan dozlar, logaritmik karşılıkları, ölümlerin yüzde değerleri kullanılmıştır. Grafik eğilim çizgisi şeklinde seçilmiştir. Grafik üzerinde LD_{16} (5,68 mg/kg) ve LD_{84} (6,7 mg/kg) noktalarını ifade eden % ölüm noktalarına belirtilmiş ve karşılık gelen değerler hesaplanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Akrelerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin, ölüm yüzdelerine göre Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre Log doz-probit regresyon doğrusu

Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre LD₅₀'sinin standart sapması için, LD₁₆= 5,68 mg/kg ve LD₈₄ = 6,7 mg/kg noktaları baz alınmıştır. Buna göre, Maserasyon metodu ile alınan zehirin, Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre Log doz-probit regresyon doğrusundan, standart sapma S = 0,51 ve standart hata sh = 2,8 olarak hesap dılmıştır. Standart sapmanın S = 0,51 değerinde ve '-0,99 > x < + 0,99' aralığında olduğundan, probit = 5 olarak gösterilmiştir (Tablo 3).

Hesaplama:

$$S = \frac{6,70 - 5,68}{2} = 0,51$$

$$\text{Standart Hata: } \frac{0,51}{\sqrt{2 * 8}} = 0,13$$

4.2.1.4. Randhawa Yöntemi

Randhawa'ya göre ratlarda ip ile LD₅₀'nin belirlenmesi için, Miller ve Tainter yöntemi'ne göre düzenlen tablo verilerinden probit değerleri ve yüzde ölüm dozlarına ilaveten uygulanan mg/kg dozlar ve bunların logaritmik doz karşılıkları, % düzeltilmiş değerler ve sabit değer tablosu (bkz. Tablo 3.1) kullanılarak probit karşılıkları bulunarak tablo hazırlanmıştır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Akreplerden Maserasyon metodu ile alınan zehirin, logaritmik doz, düzeltilmiş değerler ve probit karşılıklarını içeren, Randhawa'ya göre düzenlen tablo

Doz mg/kg	log doz	% ölüm	Düzeltilmiş %	Probit
5,3	0,72	0	3,125	3,23
5,6	0,75	12,5	12,5	3,845
5,9	0,77	25	25	4,33
6,2	0,79	50	50	5
6,5	0,81	62,5	62,5	5,32
6,8	0,83	87,5	87,5	6,155
7,1	0,85	100	96,875	6,85

Tablodan LD50 değerinin hesaplanması için, yüzde 50 ölüm görüldüğü, yüzde 50 düzeltilmiş değer ve probit 5'in olduğu satırda log doz, $\text{LogLD}_{50} = 0,79$ 'dur. Bununda antilog karşılığı 6,16 mg/kg'dır.

SE göre LD₅₀ için probit 5'in bir alt ve üst değerleri probit 4,33 – 5,32'dir (karşılık gelen log doz değerleri 0,6 – 0,64). Probit 5'e en yakın değerler tablo 4.4'e göre probit 4 ve 5 olduğu için, bu değerlerin Lineer interpolasyon denklemi kullanılarak karşılığı 0,76 – 0,80 olarak bulunur. Bunların antilog karşılığı 5,75 - 6,31'dir. Elde edilen verilerden SE göre LD₅₀ hesaplanması için 'denklem 3.2' kullanılır (= 0,14). Median letal doz LD₅₀ = 6,16±0,14 mg/kg'dır. % 95 güven aralığı ise 6,02 – 6,3 olarak hesap edilir.

Hesaplama:

$$\text{SE of LD } 50 = \frac{6,31 - 5,75}{\sqrt{2 * 8}} = 0,14$$

4.2.2. Elektriksel Uyarım Metodu

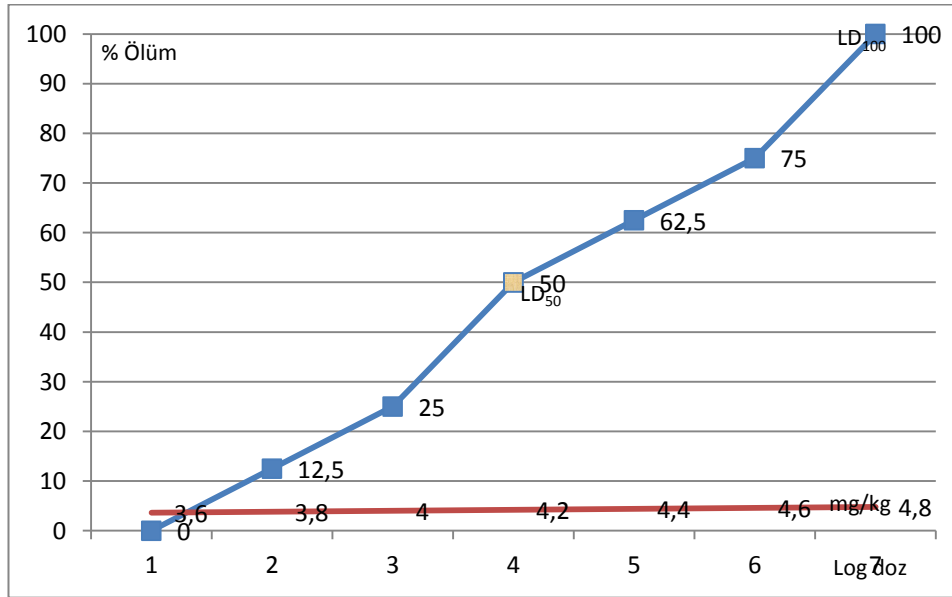
4.2.2.1. Trevan Yöntemi

Çalışmada Maserasyon metoduyla alınan zehir için 3,6 mg/kg başlanarak dozlar 0,2 mg/kg artırılarak devam edilmiştir. Her deneme için sekiz denek kullanılmış. Seçilen seyreltme katsayılarında beklentiler doğrultusunda, tüm deneklerin öldüğü ve hiç ölmediği değerler bulunmuştur (Tablo 4.5). Deneme grubu 0, kontrol grubu olarak seçilmiştir. Toplam üç deneğe diğer uygulamalarda olduğu gibi 0.5 ml fizyolojik su deri altına uygulanmış ve sonuçta hiç ölüm görülmemiştir.

Tablo 4.5. *L.abdullahbayrami* türü akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin Trevan Yöntemi'ne göre hayvanlara verilen dozları ve yüzde değerleri

Deneme grupları	Doz mg/kg	Hayvan sayısı	Ölüm sayısı	Ölüm Yüzdesi
0	0	8	0	0
1	3,6	8	0	0
2	3,8	8	1	12,5
3	4	8	2	25
4	4,2	8	4	50
5	4,4	8	5	62,5
6	4,6	8	6	75
7	4,8	8	8	100

Treva Yöntemi'ne göre, dozları ve yüzde değerler tablosundan oluşturulan histogramda ordinatın % 50 noktasından absise paralel giden doğrunun, Treva eğrisine kestiği noktadan inilen dikin absiste kestiği nokta 4,1 ile 4,2 mg/kg arasında bir değere olduğu görülür (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *L. abdullahbayrami* türü akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin Treva Yöntemi'ne göre histogramı

4.2.2.2. Behrens ve Karber Yöntemi

Behrens ve Karber tablosunda, orjinaline bağlı kalarak, ölüm sayıları yerine, yüzde değerlerden kullanılmıştır. Her örneklemede sekiz denek kullanılmıştır. Kullanılan

'b' değerinin artan zehir seviyelerine bağlı olarak görülen ölüm değerlerine paralellik göstererek yükselen bir tablo göstermiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin hayvanlara verilen dozlarının Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre düzenlen tablosu

	1	2	3	4	5	6	7
Dozlar	3,6	3,8	4	4,2	4,4	4,6	4,8
Ölüm (%)	0	12,5	25	50	62,5	75	100
n	8	8	8	8	8	8	8
a	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
b	6,25	18,75	37,5	56,25	68,75	87,5	
ab	1,25	3,75	7,5	11,25	13,75	17,5	

Hesaplama:

$$LD_{50} = 4,8 - \frac{1,25 + 3,75 + 7,5 + 11,25 + 13,75 + 17,5}{8} = 3,9406$$

Deneme sonucunda *L. abdullahbayrami* türü akreplerde, fare üzerinde, Elektriksel uyarım metodu ile alınan zehirin Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre medyan letal dozu $LD_{50} = 3.94$ mg/kg olarak tespit edilmiştir.

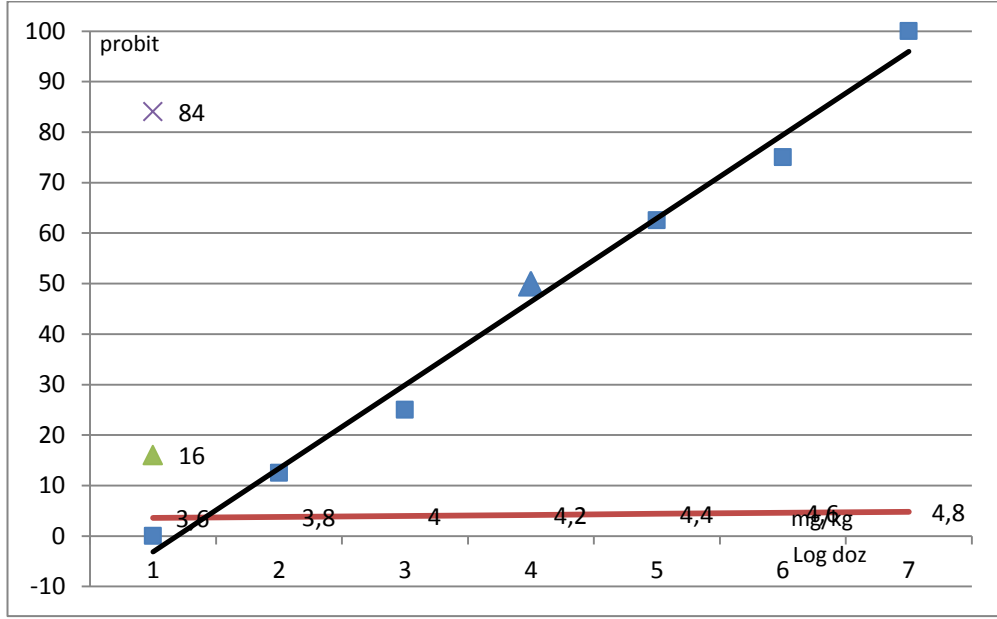
4.2.2.3. Miller ve Tainter Yöntemi

Miller ve Tainter tablosunu oluşturmak için, Trevan Yöntemi'ne göre oluşturulan tabloda, yüzde değerler kullanılarak NSS sıfırdan artı ve eksi artırma şeklinde derecelendirmeye gösterilmiştir. Yöntemin orjinaline bağlı kalınarak, ölümün % 50 olduğu değer NSS için 0 ve probit ise 5 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Akreplerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin, ölüm yüzdeleri bazında Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre düzenlen tablosu

Yanıt (%)	NSS	Probit
0	-3	2
12,5	-2	3
25	-1	4
50	0	5
62,5	1	6
75	2	7
100	3	8

Miller ve Tainter Yöntemine göre hazırlanan grafikte, uygulanan dozlar, logaritmik karşılıkları, ölümlerin yüzde değerleri kullanılmıştır. Grafik eğilim çizgisi şeklinde seçilmiştir. Grafik üzerinde LD₁₆ (3,90 mg/kg) ve LD₈₄ (4,65 mg/kg) noktalarını ifade eden % ölüm noktalarına belirtilmiş ve karşılık gelen değerler hesaplanmıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Akrelerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin, ölüm yüzdelere göre Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre Log doz-probit regresyon doğrusu

Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre LD₅₀'sinin standart sapması için, LD₁₆= 3,90 mg/kg ve LD₈₄ = 4,65 mg/kg noktaları baz alınmıştır. Buna göre, Maserasyon metodu ile alınan zehirin, Miller ve Tainter Yöntemi'ne göre Log doz-probit regresyon doğrusundan, standart sapma $S = 0,37$ ve standart hata $sh = 2,12$ olarak hesap edilmiştir. Standart sapmanın $S = 0,37$ değerinde ve $'-0,99 > x < + 0,99'$ aralığında olduğundan, probit = 5 olarak gösterilmiştir (Tablo 6).

Hesaplama:

$$S = \frac{4,65 - 3,90}{2} = 0,37$$

$$\text{Standart Hata} = \frac{0,37}{\sqrt{2 * 8}} = 0,092$$

4.2.2.4. Randhawa Yöntemi

Randhawa'ya göre ratlarda ip ile LD₅₀'nin belirlenmesi için, Miller ve Tainter yöntemi'ne göre düzenlen tablo verilerinden probit değerleri ve yüzde ölüm dozlarına ilaveten uygulanan mg/kg dozlar ve bunların logaritmik doz karşılıkları, % düzeltilmiş değerler ve sabit değer tablosu (bkz. Tablo 3.1) kullanılarak probit karşılıkları bulunarak tablo hazırlanmıştır (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Akrelerden Elektriksel Uyarım metodu ile alınan zehirin, logaritmik doz, düzeltilmiş değerler ve probit karşılıklarını içeren, Randhawa'ya göre düzenlen tablosu

Doz mg/kg	log doz	% ölüm	Düzeltilmiş %	Probit
3,6	0,56	0	3,125	3,23
3,8	0,58	12,5	12,5	3,845
4	0,6	25	25	4,33
4,2	0,62	50	50	5
4,4	0,64	62,5	62,5	5,32
4,6	0,66	75	75	5,67
4,8	0,68	100	96,875	6,85

Tablodan LD₅₀ değerinin hesaplanması için, yüzde 50 ölüm görüldüğü, yüzde 50 düzeltilmiş değer ve probit 5'in olduğu satırda log doz, LogLD₅₀ = 0,62'dir. Bununda antilog karşılığı 4,17 mg/kg'dır.

SE göre LD₅₀ için probit 5'in bir alt ve üst değerleri probit 4,33 – 5,32'dir (karşılık gelen log doz değerleri 0,77 – 0,81). Probit 5'e en yakın değerler tablo 4.4'e göre probit 4 ve 5 olduğu için, bu değerlerin Lineer interpolasyon denklemi kullanılarak karşılığı 0,59 – 0,63 olarak bulundu. Bunların antilog karşılığı 3,89 – 4,26'dır. Elde edilen verilerden SE göre LD₅₀ hesaplanması için 'denklem 3.2' kullanıldı (= 0,1).

Median letal doz $LD_{50} = 4,17 \pm 0,1$ mg/kg'dır. % 95 güven aralığı ise 4,07 – 4,27 olarak hesap edilir.

Hesaplama:

$$SE \text{ of } LD_{50} = \frac{4,26 - 3,89}{\sqrt{2 * 8}} = 0,1$$

4.3. Zehirlenme belirtileri ve Letal Doz

Hayvanlara zehirin uygulanmasından sonra, doz farkı da dikkate alınarak yapılan gözlemlerde titreme, arka bacaklarda felç, hızlı soluk alıp verme, sıçrama, birbiri üzerine çıkma, kaçma gibi davranışlar görülmektedir. Uygulamanın yapıldığı ilk 15-20 dakikada bu hareketler sıklıkla görülmektedir. İlk 30 dakikadan sonra hareketlerde yavaşlama, nefes alıp vermenin azaldığı ve neticede ölümler gerçekleşmiştir.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Maserasyon ve Elektrik Uyarımla metotları ile alınan venomların, fareler üzerinde toksisite dozları araştırılmıştır. Kullanılan tüm akrepler doğal yaşam alanlarından toplanmıştır. Her iki metotta venom deri altına verilmiştir. Metotlarda benzer klinik septomlar görülmüş ancak elektrik uyarımı ile elde edilen venomun uygulamasının maserasyona göre daha kısa sürede cevap verdiği belirlendi.

Leurus abduallahbayrami akrep türünün maserasyon metodu, Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre $LD_{50} = 5.75$ mg/kg, Randhawa Yöntemi'ne göre $LD_{50} = 6,16 \pm 0,14$ mg/kg, % 95 güven aralığı ise 6,02 – 6,3; elektriksel uyarım metodu, Behrens ve Karber Yöntemi'ne göre $LD_{50} = 3.94$ mg/kg, Randhawa Yöntemi'ne göre $LD_{50} = 4,17 \pm 0,1$ mg/kg, % 95 güven aralığı ise 4,07 – 4,27 olarak tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasının sonuçları 'Klinik Toksikoloji Derneği XVII. Kongresi'sinde sunulmuştur (Adıgüzel vd., 2012). Bu türle ilgili benzer bir çalışma daha yapılmıştır (Özkan vd., 2011). Özkan vd.,'nın tarafından yayınlanan çalışmada *L. abduallahbayrami* türünden zehir, elektriksel uyarım metodu ile alınmış, deri altına uygulama yapılmış ve Swiss albino fareler denek olarak kullanılarak medyan letal dozu hesaplandığı görülmektedir. Ayrıca zehirin protein içeriğide belirlenmiştir (0,513 mg protein / mL).

Özkan vd.,'nın *L. abduallahbayrami* akrep zehirinin medyan letal dozunun $LD_{50} = 0.19$ mg/kg olduğu ifade edilmektedir. Bu Türkiye'de akrepler için en yüksek toksin değeri anlamına gelmektedir. Halbuki, Türkiye'de ve içinde bulunduğumuz Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde zehirlenme vakalarında öne çıkan akrep türü *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807)'dir. Farklı bir çalışmada, *Androctonus crassicauda* akrep zehirinin letal dozunun $LD_{50} = 0.40 - 0.50$ mg/kg olduğu gösterilmiştir (Özkan vd., 2007).

Özkan vd., (2011) *L. abduallahbayrami* türü akrep zehirinin, elektriksek uyarımla alınan zehirinin deri altı yolla swiss farelere uygulamasında medyan letal dozu 0.19 mg/kg olarak hesap ederken, bu tez kapsamında aynı şartlarda sonuç 3,94-4,17 mg/kg aralığında tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması ile *Leiurus abduallahbayrami* akrebin orta düzeyde bir zehire sahip olduğu belirlenmiştir.

ÖNERİLER

Doğayı koruma veya ekolojik bakış açısıyla, diğer canlılarla beraber kullandığımız çevremizi koruma ve geliştirme bilinci giderek yaygınlaşmaktadır. Öyleki, gelişmekte olan ülkeler ve gelişmemiş ülkelere, diğer milletler tarafından koruma planları başlığı altında destek verilmektedir. Teknoloji ve sanayinin son hızlı geliştiği 21.yy'da hayvansal zehirlenmelerde tedavi yolları her ne kadar gelişmiş olsa bile tam anlamıyla her noktada etkili ve doğru sağlık müdahalelerin yerine getirilememektedir. Bunların temel sebepleri, halkları zehirli hayvanlar konularında tam olarak bilinçlendirilmemiş olması, kırsal alanlarada acil müdahaleye hazır ekipman ve personelin bulunmayışı veya idarecilerin zehirlenmelere karşı gerekli tedarikleri zamanında yerine getirmemiş olmaları v.s. sebepler sayılabilir.

Türkiye'de pek çok zehirli yılan, akrep, örümcek, çiyen ve deniz ürünlerinin henüz letal doz düzeyleri çalışılmamıştır. Aslında insanlar için ölüm tehlikesi oluşturacak hayvan sayısı çok yüksek değildir. Ve bu türlerin sistematik ve faunistik alanları belli bir ölçüye getirilmiş olmakla birlikte, bazı türlerde yayılış alanları konularında daha çok araştırmaya ihtiyaç vardır.

Yayılış alanları belirlendikten sonra zehirli türlerin letal doz oranları araştırılmalıdır. Daha sonra bu türler için panzehir üretim yolları aranmalıdır. Düşünüldüğünde bu türler için yurt dışı literatürde letal doz oranlarının araştırıldığı ve panzehir üretim yollarının belirlendiği fikri gelebilir. Önemli olan bölgemizdeki zehirli türlere karşı, ortak panzehir metotlarının ortaya konmasıdır. Zira panzehirler tek türden ziyade birkaç, hatta yedi, dokuz v.s. türler için ortak olan, tek dozda verilebilecek şekilde üretilmektedir. Bu şekilde üretimin ekonomik olması, sıkça rastlandığı şekilde sokma vakalarında hayvan türünden emin olunmaması gibi durumlarda mümkün olduğu kadar bölgeye yönelik ortak hazırlanmış panzehirlere tedavi için oldukça etkili olabilmektedir.

Bölgelere yönelik ortak panzehir üretim yollarının ortaya konmasından sonrada, üretim için gerekli alt yapının oluşturulması gereklidir. Özel kuruluşların yeterli olmadığı noktalarda devlet kuruluşları buna önderlik etmesi halk sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Letal doz çalışılırken OECD tarafından ortaya konulan kriterler dikkate alınmalıdır. Önerilen yöntemler kullanılmalı, sadece ölüm yerine toksisite belirtileri araştırılmalı, alternatif yöntemlerle deney hayvanlarında en az seviyede kullanmanın yolları, önceden hesap edilmelidir.

Letal doz çalışılırken, hesaplamalara dikkat edilmelidir, gerekirse birkaç kere üzerinden geçerek hatalar en az oranda tutulmasının yolları aranmalıdır. Bu konularda multidisipliner bir anlayışla, istatistik veya matematik bölümlerinden yardım alınmalıdır.

Her hangi bir maddeye karşı, Letal doz araştırmalarında elde olan yöntem ve metotlarla yetinilmemeli, bunu yerine hayvanları korumaya yönelik ve güncel metotlar aranmalıdır.

KAYNAKLAR

- Adıgüzel, İ., Varol, İ., Uysal, İ. 2012. Akrep zehirinin sıçanlarda letal doz (Ld₅₀) seviyesinin belirlenmesi. Klinik toksikoloji derneği XVII. Kongresi. 17-20 Mayıs 2012, Mardin s. 57.
- Behrens, N., Karher, C. (1935): Wie sind reihenversuehefür biologisehe auswertungen am zweckmassigsten anzuordnen. *Arch. exp. Path. Pharmak* **177**: 379-387.
- Birula, A. A. (1898). Ein Beitrag zur Kenntniss der Skorpionenfauna Kleinasiens, *Horae Soc. Ent. Ross.*, **33** (1-2): 132-140.
- Birula, A. A., 1917a. Arthrogastric Arachnids of Caucasia, I: Scorpions, Ann. Caucasian Museum, Tiflis, A 5, 253 pp. [in Russian], English translated by J. Salkind, Edited by E. Rabinovitz, *Israel Program for Scientific Translation*, No. 1206, Jerusalem, 1964, 170 p.
- Birula, A. A., 1917b. Fauna of Russia and Adjacent Countries: Arachnoidea, Vol. I, Scorpions, No. 1, in:., Petrograd, xx+224 pp. [in Russian], English translated by B. Munitz, Edited by E. Rabinovitz, *Israel Program for Scientific Translation*, Jerusalem, 1965, xix+154 p.
- Birula, A.A. 1903. Miscellanea scorpiologica V. Ein Beitrag zur Kenntnis der Scorpionenfauna der Insel Kreta, Ann. Mus. Zool. St. Petersburg.
- Crucitti, P., Ciccuzza, D. 2001. Scorpions of Anatolia: Ecological patterns
- Fet, V., Selden, PA. 2001. Scorpions. In Memoriam Gary A. Polis. Burnham Beeches, Bucks: British Arachnological Society.
- Dökmeci, İ., Dökmeci, AH. 2005. Toksikoloji, zehirlenmelerde tanı ve tedavi. Nobel Tıp Kitabevi s. 674.

- Fet, V. (2000). Scorpions (Arachnida, Scorpiones) from the Balkan Peninsula in the collections of the National Museum of Natural History, Sofia, *Historia Naturalis Bulgarica*, **11**: 47-60.
- Fet, V., Sissom, WD., Lowe, G., Braunwalder, M.E. 2000a. The Catalog of Scorpions, New York Entomological Society, 680 p.
- Ghosh MN. 1984. In Statistical Analysis, Fundamentals of Experimental Pharmacology, 2nd ed, Scientific Book Agency Calcutta,. 187 p.
- Karataş, Ay. ve Karataş, A. 2001. First record of *Mesobuthus eupeus* (C.L. Koch, 1839) from central Anatolia (Scorpiones: Buthidae), 299 p.
- Fet, V. & P.A. Selden (eds.). Scorpions 2001. In Memoriam Gary A. Polis. Burnham Beeches, Bucks: British Arachnological Society.
- Karataş, Ay. ve Karataş, A. (2003). *Mesobuthus eupeus* (C.L. Koch, 1839) (Scorpiones: Buthidae) in Anatolia, *Euscorpius*, **7**: 1-7.
- Karataş, Ay., 2000, Doğu Akdeniz Akrep (Scorpiones) Faunası, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 93s.
- Linnaeus, C. 1758. Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species cum characteribus differentiis, synonymis, locis. Editio decima, reformata. Holmiae, 821 p.
- Miller LC, Tainter ML. (1944). Estimation of LD50 and its error by means of log-probit graph paper. Proc Soc Exp Bio Med **57**:261.
- Özkan , O., Yagmur EA., Ark, M. (2011). A newly described scorpion species, *Leiurus abduallahbayrami* (Scorpion: Buthidae), and the letal potency and *in vivo* effects of its venom. *The Journal of Venomous Animals and Toxins*. **17** (4): 414-421.
- Özcan, Ö., ve Filazi, A. (2004). *Androctonus crassicauda* (Oliver, 1807) türü akreplerden değişik yöntemlerle elde edilen venomların farelerde akut LD₅₀ miktarlarının belirlenmesi. *Türkiye patoloji dergisi* **28** (1): 50–53.

- Paramveer DS., Chanchal MK., Paresh M, Rani A., Shrivastava B, Nema RK. (2010). Effective alternative methods of LD₅₀ help to save number of experimental animals. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **2** (6): 450-453.
- Pavesi, P. (1876). Gli Aracnidi Turchi. *Atti Soc. Ital. Sci. Nat.*, **19**: 50-74.
- Randhawa, MA. (2009). Colculation of LD₅₀ values from the methods of Miller and Tainter, 1944. *J Ayup Med Coll Abbottabad* **21**(3): 184-185.
- Schenkel, E. (1947). Einige Mitteilungen über Spinnentiere, *Rev. Suisse Zool.*, **54** (1): 13-16.
- Trevan JW., Schlossmann. H. 1935. Abderhalden's handbueh der biologisehen arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 7B. Berlin, 1716 p.
- Tulga, T. (1960). Türkiyede varlığı ilk defa tespit edilen bir akrep türü (*Buthus quinquestriatus*) ile *Prionurus crassicauda* ya karşı hazırladığımız akrep serumları arasında çapraz proteksiyon deneyleri, *Türk İj. Tec. Biol. Derg.*, **20** (1): 191-203.
- von Ubisch, M. (1922). Über eine neue Jurus-Art aus Kleinasian nebst einigen Bemerkungen über die Funktion der Kämme der Scorpione, *Zool. Jahrb., Abt. Syst.*, **44** (1-2): 503-515.
- Yağmur, E. A. 2005. Gaziantep akrepleri (Ordo: Scorpiones) ve zoocoğrafik dağılışları. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep. (Yüksek Lisans Tezi), 136 p.
- Yağmur, EA., Koç, H., Kunt, KB. (2009). Description of a new species of *Leiurus Ehrenberg, 1828* (Scorpiones: Buthidae) from Southeastern Turkey. *Euscorpius* **85**:1-19.
- Wikimedia Foundation, Inc., profit organization. <http://en.wikipedia.org/wiki/Scorpion>

EK 1.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
UNIVERSITY OF GAZİANTEP, ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHICS COMMITTEE
GAZİANTEP-TÜRKİYE

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL NO	54				
	ARAŞTIRMA ADI	Leiurus Abdullahbayrami Akrep Zehrinin Sıçanlarda Lethal Doz (LD50) Seviyesinin Belirlenmesi				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI/ADI/BİRİMİ	Yrd.Doç.Dr.M.İsmail VAROL GAÜN Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl.				
	DiĞER ARAŞTIRICILARIN UNVANI/ADI/BİRİMİ	Biyolog İsmail ADIGÜZEL Arş.Gör.Adile AKPINAR				
	KOORDİNATÖR MERKEZ					
DESTEKLEYİCİ						
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	No/ Tarih				
	DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKAS					
	BAŞVURU TAAHHÜTNAMESİ					
ÇALIŞMA ESASI	İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARI KLAVUZU					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 28.11.2011/54-4		Tarih: 28.11.2011			
	Üniversitemiz Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. yapılması planlanan ve yukarıda adı geçen hayvan deneyleri araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgelerin araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak 28.11.2011 tarihli Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul toplantısında incelenmesi sonucunda, adı geçen araştırmanın yapılmasının uygunluğuna oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı /Adı/ Soyadı Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr.Celalettin CAMCI Başkan	Tıbbi Onkoloji	Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof.Dr.Tuncay DEMİRYÜREK Başkan Yardımcısı	Farmakoloji	Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr.Şükran YAĞCI YÜCEL Üye	Biyoloji	Fen-Ed.Fak. Biyoloji Bölümü	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr.Ahmet ERBAĞCI Üye	Üroloji	Tıp Fakültesi Üroloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr.Neşe KIZILKAN Üye/Eğitim Sorumlusu	Anatomi	Tıp Fakültesi Anatomi A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr.Ayhan ERALP Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr.Oral SÖKÜCÜ Üye/Raportör	Diş Hekimliği	Diş Hekimliği Fakültesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Avukat Murat GÜNERİ Üye	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
M.Celal ÖZSÖYLER Üye	Sivil Üye	Sivil Üye	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	KATILMADI

* Araştırma ile İlişki