

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GRİSEOFULVİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* (DIPTERA:
DROSOPHILADAE) IN ERGİN EVRESİNDEKİ OKSİDATİF ETKİSİ**

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARDELEN DALGAN

HAZİRAN 2022

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GRİSEOFULVİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* (DIPTERA:
DROSOPHILADAE) IN ERGİN EVRESİNDEKİ OKSİDATİF ETKİSİ**

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kardelen DALGAN

DANIŞMAN

: Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

ZONGULDAK

Haziran 2022

KABUL:

Kardelen DALGAN tarafından hazırlanan “Griseofulvinin *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophiladae) ın Ergin Evresindeki Oksidatif Etkisi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 28/06/2022

Danışman: Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Üye: Doç. Dr. İbrahim ARMAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Üye: Doç. Dr. Yafes YILDIZ

Bartın Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği Bölümü

ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

..../..../20....

Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Kardelen DALGAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GRİSEOFULVİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* (DIPTERA: DROSOPHILADAE) IN ERGİN EVRESİNDEKİ OKSİDATİF ETKİSİ

Kardelen DALGAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

Haziran 2022, 39 sayfa

Drosophila melanogaster, laboratuvar ortamında kültürünün devamının kolay olması, farklı ekolojik koşullara adaptasyon gösterebilmesi, kısa sürede ve fazla sayıda yavru döller vermesi gibi avantajları sebebiyle en çok tercih edilen model organizmalardandır. Model organizmaların laboratuvar ortamında yapay besinler kullanılarak kültüre alınması ve bu kültürlerin devamlılığının sağlanması önemlidir. Önceki çalışmalar, yapay besin ortamına eklenen antibakteriyel, antifungal ve antihelmintik maddelerin, mikrobiyal kontaminasyonun önlenmesi ve laboratuvar koşullarında sağlıklı bireyler elde edilmesi için kullanıldığını göstermektedir. Bu çalışmada kullanılan griseofulvin antifungal bir madde olup, 50, 100, 200, 400 ve 800 mg/L konsantrasyonları *D. melanogaster* yapay besinine eklenerek böceğin larva, pup ve ergin evrelerinin yaşama oranı ve gelişme süresine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca *D. melanogaster* ergin bireylerine aynı griseofulvin konsantrasyonları uygulanmıştır. Bu uygulama sonucu ergin bireylerde oksidatif stres belirteçleri olan protein karbonil (PCO) miktarı, malondialdehit (MDA) miktarı ve detoksifikasyonda görevli bir enzim olan glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesi ölçülmüştür.

ÖZET (devam ediyor)

Uygulanan tüm konsantrasyonlar, kontrole oranla, larva, pup ve ergin evrelerin tümünde yaşama oranının düşmesine; 200, 400 ve 800 mg/L konsantrasyonlar, gelişme süresinin uzamasına sebep olmuştur. MDA miktarı, griseofulvinin en yüksek konsantrasyonları olan 400 mg/L ve 800 mg/L’de kontrol ile karşılaştırıldığında önemli derecede yükselmiş, bu konsantrasyonlarda GST aktivitesinde artış olduğu gösterilmiştir. 50, 100 ve 200 mg/L griseofulvin konsantrasyonunda ise PCO miktarının kontrole oranla arttığı gösterilmiştir.

Bu sonuçlara göre, böcek üzerinde griseofulvinin özellikle denenen en yüksek konsantrasyonlar olan 200,400 ve 800 mg/L’de olumsuz etkisi olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, oksidatif stres, yaşama oranı, gelişme süresi, glutatyon S-tansferaz

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

THE OXIDATIVE EFFECT OF GRISEOFULVINE ON ADULT OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* (DIPTERA: DROSOPHILADAЕ)

Kardelen DALGAN

**Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology**

Thesis Advisor: Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

June 2022, 39 pages

Drosophila melanogaster is one of the most preferred model organisms due to its advantages such as being able to continue its culture in the laboratory condition, adapting to different ecological conditions and producing a large number of offspring in short time. It is important to culture model organisms using artificial diets in the laboratory conditions and to ensure the continuity of these cultures. Previous studies show that antibacterial, antifungal and anthelmintic substances added to artificial diet media are used to prevent microbial contamination and to obtain healthy individuals under laboratory conditions. Griseofulvin, an antifungal agent used in this study, was added to the artificial diet of *D. melanogaster* at concentrations of 50, 100, 200, 400 and 800 mg/L to investigate the effects of larvae, pupae and adult stages on survival rate and development time of the insect. Additionally, the same griseofulvin concentrations were exposed to *D. melanogaster* adult individuals. As a result of this, the oxidative stress markers, the amount of protein carbonyl (PCO), the amount of malondialdehyde (MDA) and the activity of glutathione-S-transferase (GST), which an enzyme involved in detoxification, were measured in adults.

ABSTRACT (continued)

All concentrations resulted in reduced survival rate in all larval, pup and adult stages compared to the control; 200, 400 and 800 mg/L griseofulvin concentrations are resulted in a prolonged development time. The amount of MDA was significantly increased at the highest concentrations of griseofulvin, 400 mg/L and 800 mg/L, compared to the control and GST activity was shown to increase at these concentrations. It was shown that the amount of PCO increased at 50, 100 and 200 mg/L griseofulvin concentrations compared to the control.

According to these results, it was observed that griseofulvin had a negative effect on the insect, especially at the highest concentrations tested, 200, 400 and 800 mg/L.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, oxidative damage, survival rate, developmental time, glutathione S-transferase

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesi için, bana laboratuvarının kapısını sonuna kadar açan, bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL ve Sayın Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e saygılarımı sunarak içtenlikle teşekkür ederim.

Laboratuvarda lisansüstü eğitimimizi birlikte devam ettirdiğimiz Uzm. Moleküler Biyolog Çağrı ALKAN'a, Öğr. Gör. Gökçe ÜSTÜNDAĞ'a, Öğr. Gör. Dr. Volkan KELEŞ'e ve Öğr. Gör. Cihat ÇELİK'e çalışmalarına yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

Karşıma çıkan zorluklarda gerek mental gerekse duygusal anlamda bana her zaman destek olan, vizyonlarıyla bana yol gösteren sevgili arkadaşlarım Arş. Gör. Utku Can ATILGAN ve Arş. Gör. Aycan ÇELİK'e çok teşekkür ederim.

Her zaman isteklerime saygı duyan ve bana olan güvenlerinden bir an bile kuşku etmediğim sevgili annem Türkan DALGAN ve babam Mehmet DALGAN'a; zorlu süreçleri birlikte atlattığımız ablalarım Saniye DALGAN ERTÜRK ve Burcu HASIRCI'ya çok teşekkür ediyorum.



İÇİNDEKİLER

KABUL:.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOD.....	11
2.1 <i>Drosophila melanogaster</i> Stok Kültürünün Devamı.....	12
2.2 Griseofulvinin Uygulanması.....	12
2.3 Yaşama Oranı ve Gelişim Süresi Deneyleri	12
2.3 Biyokimyasal Analizler İçin Homojenatların Hazırlanması	13
2.4 Malondialdehit Miktar Analizi	13
2.5 PCO Miktarının Ölçülmesi.....	13
2.6 GST Aktivitesinin Ölçülmesi	14
2.7 Toplam Protein Miktarının Ölçülmesi.....	14
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi.....	14
BÖLÜM 3 ARAŞTIRMA BULGULARI.....	15
BÖLÜM 4 TARTIŞMA	27
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	31
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ	39



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 <i>D. melanogaster</i> Oregon R soyu dişi ve erkek bireyler	2
Şekil 1.3 Ksenobiyotikler	5
Şekil 1.4 Oksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması	6
Şekil 1.5 Ksenobiyotiklerin neden olduğu oksidatif hasar	7
Şekil 2.1 Yapılan deneylerin şematik olarak özeti	11
Şekil 3.1 Griseofulvinin <i>D. melanogaster</i> pup yaşama oranlarına etkisi	17
Şekil 3.2 Griseofulvinin <i>D. melanogaster</i> pup yaşama oranlarına etkisi	18
Şekil 3.3 Griseofulvinin <i>D. melanogaster</i> ergin yaşama oranına etkisi	19
Şekil 3.4 Griseofulvinin <i>D. melanogaster</i> 3. evre larva gelişim süresine etkisi.	20
Şekil 3.7 Griseofulvinin <i>D. melanogaster</i> GST aktivitesine etkisi	23
Şekil 3.8 Griseofulvinin <i>D. melanogaster</i> MDA miktarına etkisi.	24
Şekil 3.9 Griseofulvinin <i>D. melanogaster</i> PCO miktarına etkisi	25



ÇİZELGELER DİZİNİ

No

Sayfa

Çizelge 1. Griseofulvinin <i>Drosophila melanogaster</i> larva, pupa ve erginlerinin yaşama oranı ve gelişme süresine etkisi.	16
--	----





SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

%	: Yüzde
mg	: Miligram
L	: Litre
ml	: Mililitre
μ	: Mikro
χ^2	: Ki-kare
g	: Gram
dk	: Dakika
s	: Saniye
nm	: Nanometre

KISALTMALAR

4-HNE	: 4-hidroksinonenal
8-OHdG	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
ANOVA	: Analysis of Variance
BHT	: Bütilli hidroksi tolen
BSA	: Bovine serum Albumin
CAT	: Katalaz
CDNB	: 1-chloro-2,4-dinitrobenzen
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNP	: Dinitrofenol
DNPH	: Dinitrofenilhidrazin

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

DOPA	: Dihidroksifenilalanin
DTT	: Ditiyotritol
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GRx	: Glutaredoksin
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon S-Transferaz
H	: Hidrojen
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
IR	: İyonize radyasyon
K₂HPO₄	: Dipotasyum hidrojen fosfat
KCl	: Sodyum klorür
LOO•	: Lipid peroksil
LOOH	: Lipit hidropeksit
LSD	: Least Significant Difference
M	: Molar
MDA	: Malondialdehit
mM	: Milimolar
Na₂HPO₄	: Disodyum hidrojen fosfat
NaCl	: Sodyum klorür
NADP⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
O₂•	: Süperoksit radikali
OH•	: Hidroksil radikali
PCO	: Protein Karbonil
pH	: Power of Hydrogen
PMSF	: Fenilmetilsülfanil florit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

ROS/ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TBA	: Tiyoarbutirik asit
TBARS	: Tiyoarbutirik asit reaktif ürünler
TCA	: Trikarboksilik asit
UV	: Ultraviyole
W	: Watt





BÖLÜM 1

GİRİŞ

İnsan Genom Projesi (Human Genome Project, HGP) ile ilişkili geniş ölçekli genomik dizilemenin ortaya çıkışından bu yana, "model organizma" terimine hemen her alanda rastlanmaktadır. Model organizmalar, bir dizi biyolojik olayı anlamak için kapsamlı bir şekilde incelenen türler olup, modelin kullanılması yoluyla oluşturulan veri ve teoriler, model organizmadan daha karmaşık yapıları organizmalara ve özellikle insanlara uygulanabilmektedir (Ankeny and Leonelli 2021). Kalıtım, gelişim, fizyoloji, hücresel ve moleküler süreçler hakkındaki bilgilerin oldukça büyük bir kısmı model organizmalar ile yapılan çalışmalardan elde edilmektedir. Yaşamın büyük çeşitliliğine rağmen, deneysel çalışmalara uygunluklarına göre seçilen birkaç yaşam formu incelenerek bir ortak ilkeler temeli elde edilebilir (Müller and Grossniklaus 2010).

Böcekler, doğal ekosistemlere, tarıma ve insan sağlığına hem fayda sağlayan hem de zarar veren türlere sahip, yüksek derecede çeşitlilik gösteren bir hayvan grubunu oluşturmaktadır (Elston et al. 2022). Böceklerin ekolojik denge içinde büyük bir yere sahip olması, besin içeriklerinin direkt olarak kontrol altında tutulabilmesi, besine eklenecek maddelerin kolay uygulanabilir olması gibi sebeplerle böcekler beslenme deneylerinde sıkça tercih edilmektedir (Güneş 2016). Ekonomik olarak önemli bir böcek olan ipekböceği *Bombyx mori* (L.) (Lepidoptera: Bombycidae) ile yapılan genomik çalışmalar, bazı ipekböceği genlerinin, insan kalıtsal hastalığı ile ilgili belirli genlere yüksek oranda homolog olduğunu ve bu nedenle insan hastalıklarını incelemek için aday bir model olduğunu göstermiştir (Meng et al. 2017). *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) hızlı büyüme, yüksek doğurganlık ve kısa yaşam döngüsü gibi avantajlara sahip bir böcek olup bu özellikler iyi model organizmalar tarafından karşılanması gereken özelliklerdir; bu nedenle, patojen deneyleri için model organizma olarak *G. mellonella* ile yapılan araştırmaların sayısı yıldan yıla artmaktadır (Mikulak et al. 2018).

Drosophila cinsi, Thomas Hunt Morgan ve meslektaşlarının bir asır önce bu böceklerle çalışmalarından bu yana çekici ve etkili bir genetik model organizma olmuştur (Hales et al. 2015). *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae), kanserin başlaması ve ilerlemesi, steroid hormon fizyolojisinin anlaşılması, beslenme çalışmaları, immüne-nanotoksisite çalışmaları, insanda beyin hastalıkları, obezite ve metabolik hastalıkların anlaşılması için yapılan çalışmalarda model olarak kullanılmıştır (Ou et al. 2016, Chatterjee and Deng 2019, Staats et al. 2018, Ng et al. 2019, Jeibmann and Paulus 2009, Musselman and Kühlein 2018).

Tez çalışmasında kullanılan *Drosophila melanogaster*, Oregon R soyu (Diptera: Drosophilidae) olup bu böcek uzun kanatlı, kahverengi vücutlu, göz rengi kırmızı olan ve herhangi bir mutasyon taşımayan yabani tiptir. *D. melanogaster*, ABD'nin Oregon adlı eyaletinden köken almıştır ve ilk kez Thomas Hunt Morgan tarafından kullanılmıştır (Fernández-Moreno et al. 2007).



Şekil 1.1 *D. melanogaster* Oregon R soyu dişi ve erkek bireyler

Sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir:

- Domain (Üst alem): Eukarya
- Regnum (Alem): Animalia
- Phylum (Şube): Arthropoda
- Subphylum (Alt Şube): Mandibulata-Antennata. Bu böcekler, antene sahiptirler ve mandibulları kuvvetlidir.

- Classis (Sınıf): Insecta-Hexapoda (Böcekler- Altı bacaklılar). Vücutları; baş, thorax (gövde) ve abdomen olmak üzere üç bölümden meydana gelmiştir. Baş kısmında bir çift bileşik göz ve bir çift anten bulunmaktadır. Gövde üç kısımdan oluşmaktadır ve her kısımda bir çift bacak bulunur.
- Subclassis (Alt sınıf): Pterygota (Kanatlı böcekler).
- Ordo (Takım): Diptera (İki kanatlılar). Thorax bölgesinden bir çift kanat çıkar.
- Alt takım (Subordo): Brachycera (Böcekler-Kısa antenliler).
- Familia (Familya): Drosophilidae. Sirke böcekleri-Meyve böcekleri. Çürümekte olan meyvelerin ve sirke, meyve suyu gibi bazı sıvıların kokusuna pozitif kemotaksi göstermektedirler.
- Genus (Cins): *Drosophila*
- Species (Tür): *Drosophila melanogaster*

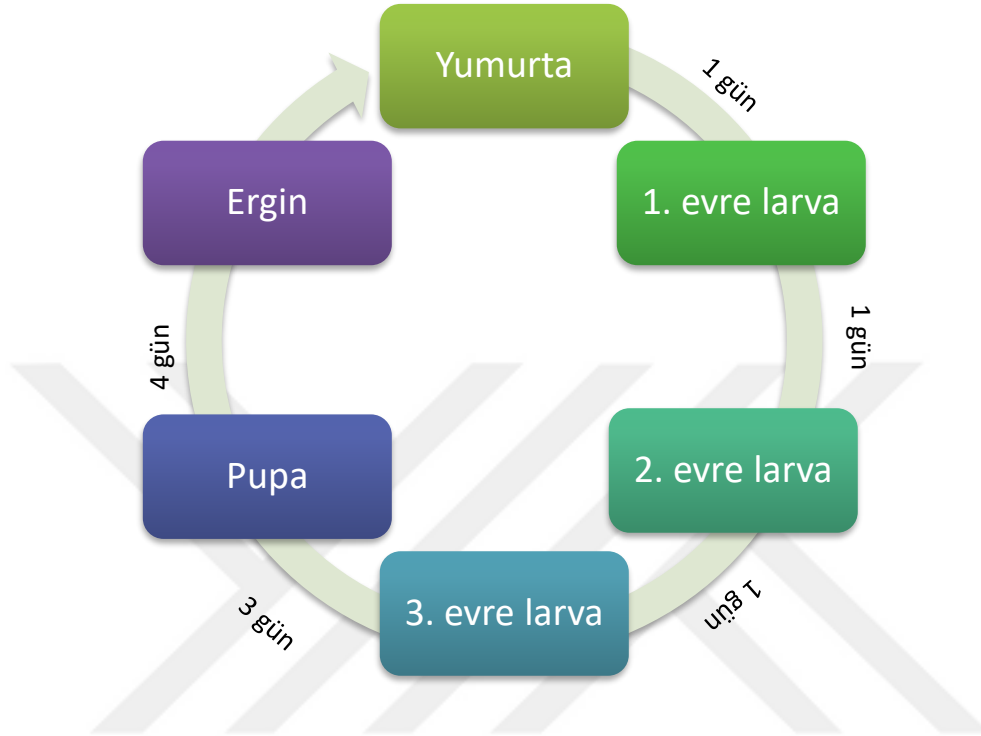
D. melanogaster,

- doğal veya yapay varyasyonların fenotipik özelliklerinin kolayca gözlemlenebilmesi,
- kısa bir hayat devrine sahip olması,
- bir defada çok sayıda yavru döl elde edilebilmesi ve bu sayede deneylerde elde edilen verilerin doğruluğunun ve güvenilirliğinin yüksek olması,
- laboratuvar ortamında kültürünün devamının basit ve ucuz olması sebebiyle kullanımı yaygın bir model organizmalardandır (Yi 2021).

Drosophila'dan memelilere birçok farklı organizmalarda oksidatif stres ve bunlara verilen antioksidan cevap mekanizmasının korunması sebebiyle kısa bir yaşam döngüsüne ve genetik manipülasyonun avantajlarına sahip köklü bir model organizma olarak *D. melanogaster*, antioksidanların işlevlerini in vivo değerlendirmek için de giderek daha fazla kullanılmaktadır. *D. melanogaster* genetik, biyokimyasal ve moleküler analizler için özellikle tercih edilen bir böcek türüdür (Yi 2021).

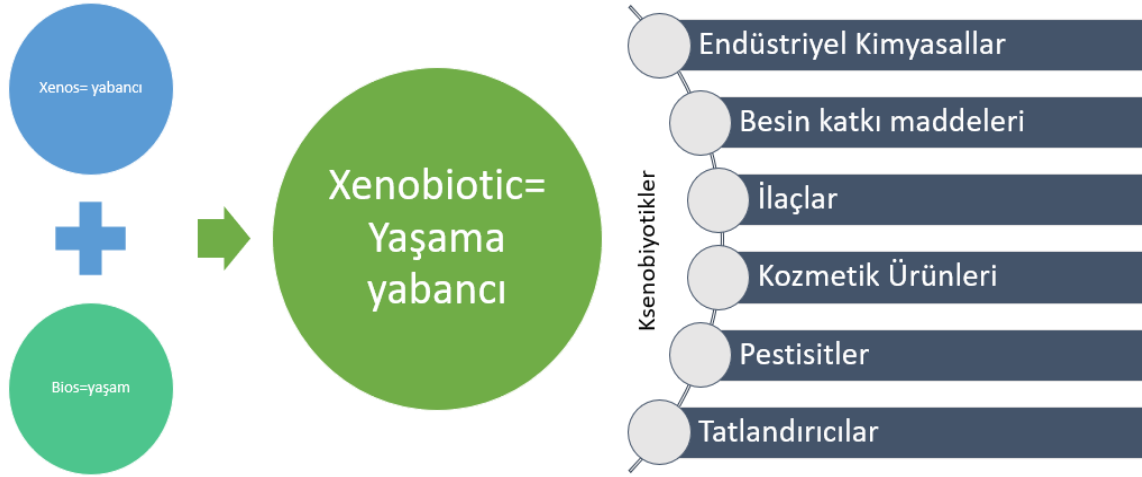
Laboratuvarda, *D. melanogaster* genellikle 18 veya 25°C'de kültürlenir (18°C esas olarak stokların saklanması için tercih edilmektedir). Dölllenmiş yumurtadan ergine kadar üreme süresi yaklaşık 10 gün olup maksimum yaşam süresi ise kültür koşullarına bağlı olarak 60 ile 80 gün arasında değişmektedir. *D. melanogaster*, holometabol bir böcek olup yaşam döngüsü embriyo, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört evrede incelenebilmektedir (Fernández-Moreno et al. 2007).

Ergin yumurta bıraktıktan 1 gün sonra birinci evre larvaya; 2 gün sonra ikinci evre larvaya; 3 gün sonra üçüncü evre larvaya ulaşmaktadır. Larval evrenin tamamlanmasıyla üçüncü evre larva 3 gün sonra pupa evresine ulaşır. Pupa ise 4 gün sonra ergin olarak bir yaşam döngüsü tamamlanmış olur (Alloca et al. 2018).



Şekil 1.2 *D. melanogaster* yaşam döngüsü

Ksenobiyotik Yunanca xenos (yabancı) ve bios (yaşam) kelimelerinden türetilmiştir ve ‘yaşama yabancı’ anlamına gelmektedir (Grace et al. 2008, Knapp 2003). Ksenobiyotikler, bir organizmaya dışarıdan alınarak maruz bırakılan, normal metabolizmanın dışında olan kimyasallar olarak tanımlanmıştır (Croom 2012). Bu terim doğada bulunmayan sentetik kimyasallar için tanımlanmıştır. Ksenobiyotikler doğada bulunmamakta ya da nadir bulunmaktadır bunun yanında, doğal oluşumlu olmayan bir yapıyla birlikte bulunabilirler. Canlılarda dışarıdan alınan veya normalden çok daha yüksek konsantrasyonlarda bulunan kimyasallardır (Grace et al. 2008). Bazı araştırmacılar, doğada bulunmayan bir konsantrasyon anlamına gelen ‘ksenobiyotik konsantrasyon’ terimini de kullanmaktadır. Bu tür bir konsantrasyon, örneğin bir petrol sızıntısı veya endüstriyel atık su deşarjının bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (Knapp and Bromley-Challoner 2003).



Şekil 1.3 Ksenobiyotikler

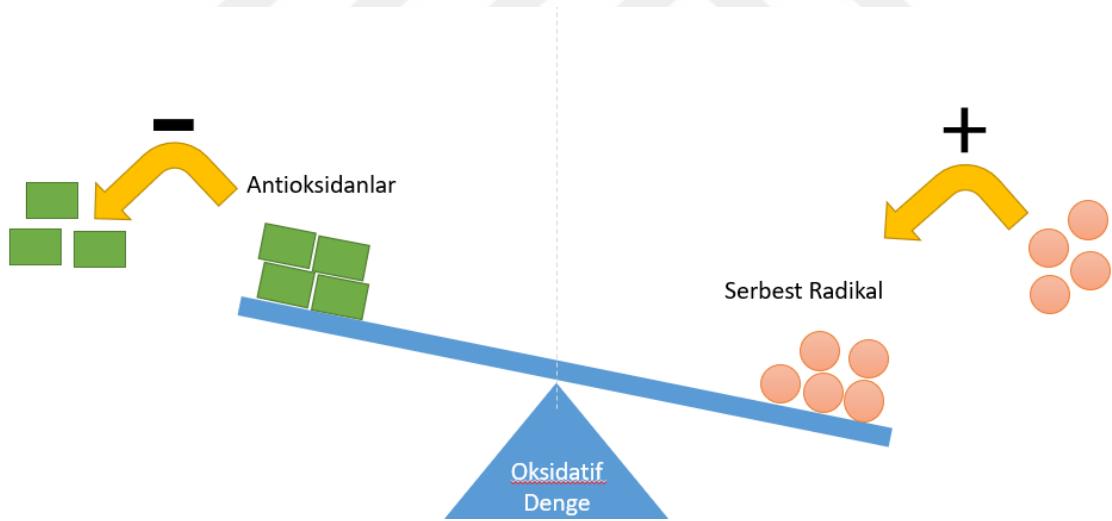
Çalışmada kullanılan griseofulvin, *Penicillium spp*'nin metabolik bir ürünüdür. Dermatofitozların tedavisi için mevcut ilk oral ajandır (Develoux 2001). Griseofulvin fongistatiktir ve etkisi nükleik asit bağlanması ile ilişkilendirilmiş ve kolşisine benzer bir şekilde mitozu müdahale ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, griseofulvinin tübüline bağlanarak tübülün polimerizasyonunu inhibe ederek mikrotübül dinamiklerini bozar, ancak deneyler, tübüline bağlanmanın düşük afiniteye sahip olduğunu ve genellikle fungistatik etkisinin daha yüksek oranda meydana geldiğini göstermektedir (Petersen et al. 2014).

Griseofulvin, gastrointestinal sistemden zayıf bir şekilde emilmekte ve uygulandıktan hemen sonra stratum corneumun (boynuzsu tabaka) dış tabakasında tespit edilir, hücre dışı sıvıdan yayılır. Ayrıca yüksek dozlarda kullanıldığında anti-inflamatuvar özelliklere ve bazı doğrudan vazodilatör etkilere sahiptir. Karaciğer mikrozomal enzim sistemi tarafından metabolize edilir ve idrarla atılır. Yarı ömrü 9 ile 21 saattir (Develoux 2001).

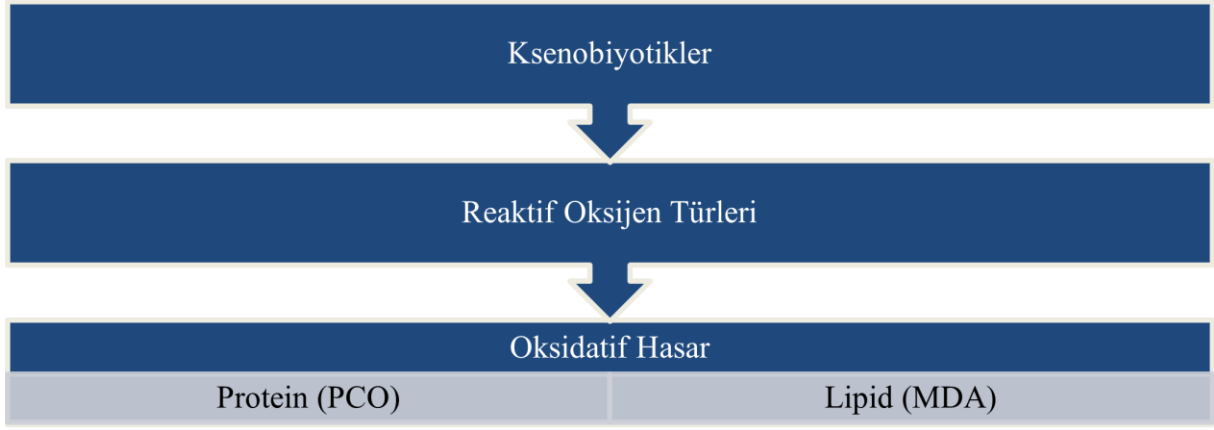
Canlı organizmalar sürekli olarak metabolizmanın yan ürünleri, solunum ve ksenobiyotiklerin oksidasyonu veya bir dizi hastalığa eşlik eden stres sonucu oluşan reaktif oksijen türlerine (ROT) maruz kalırlar (Anraku et al. 2018, Gülçin 2020). Serbest radikaller en dış yörüngede bir paylaşılmamış elektrona sahip kimyasallar olarak tanımlanabilirler. Bu radikaller iki yolla oluşabilirler; bunlardan ilki radikal olmayan bir molekülden ya da atomdan bir elektron çıkması, ikincisi ise atom ya da moleküle bir elektron eklenmesidir. Oluşan bu radikaller yüksek reaktiviteye sahip olup stabil değildirler. Diğer moleküllere elektron verebilmesi ve onlardan elektron alabilmesi dolayısıyla indirgeyici veya yükseltgeyici olabilmeleri mümkündür (Çaylak 2011).

Endojen ve eksojen kaynaklar tarafından reaktif oksijen türlerinin üretimi ayrıca, inflamatuvar yanıt sırasında iyonlaştırıcı radyasyon (IR), UV, sitokinler, büyüme faktörleri, kemoterapötik ilaçlar ve çevresel toksinler dahil olmak üzere çok sayıda eksojen ajan ve olaya maruz kalma yoluyla da gerçekleşir (Salmon et al. 2004).

Birkaç milyon yıl önce, denizlerdeki ilkel tek hücreli organizmalar çevreye yeni bir toksik ajan atmaya başlamış ve evrimsel uyum yeteneği ile bu toksik maddeyi avantajlarına döndürmenin yollarını bulmuşlardır. Birçok organizma, arkaik, fakat doğası gereği daha güvenli olan metabolik yollara tutunurken, gıda maddelerinden enerji eldesini artırmak için bu toksik ajanı kullanma yeteneğini geliştirmiştir. Zamanla, bu toksik maddenin faydaları, varlıkları tümüyle ilkel akrabalarının zayıf atık yönetimi uygulamalarına bağlı olan yeni türlerin ortaya çıkmasına izin vermiştir. İşte bu toksik madde oksijendir. (Davies 2000). Bu şekilde, zorunlu aerobların oksijensiz yaşayamaması ve oksijenin son derece tehlikeli bir ajan olması ikilemi ‘Oksijen Paradoksu’ diye bilinmeye başlamıştır (Davies 1995, Davies 2000). Oksijenle yaşamak bu temelde güvensizdir. “Pro-oksidan/antioksidan sistemlerde oksidanlar lehine bir bozulma oksidatif stres olarak gösterilebilir” denilmiştir (Özcan vd. 2015).



Şekil 1.4 Oksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması



Şekil 1.5 Ksenobiyotiklerin neden olduğu oksidatif hasar

Hücre içi reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu oksidatif stres, DNA baz modifikasyonlarına, hücre membranı yağ asitlerine etki ederek lipid peroksidasyonuna, proteinlerle reaksiyona girerek karbon merkezli radikaller ve sülfür radikallerinin oluşmasına ve kümülatif bir etki ile hücre disfonksiyonuna veya ölümüne sebep olduğu bilinmektedir. (Ryter et al. 2007, Salmon et al. 2004, Süleyman vd. 2018).

Reaktif oksijen türleri DNA’da tek ve çift zincir kırılmalarına ve birçoğu toksik ve/veya mutajenik olan apuridik/apirimidinik lezyonların oluşumuna sebep olur (Salmon et al. 2004). DNA baz mutasyonları arasında en iyi bilinen 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)’dir. Guanin bazının sekizinci pozisyonunun hidroksil radikallerinin (OH•), etkileşimi sonucu bu hasar meydana gelmektedir. Oksidatif stresin DNA yapısı üzerine bir diğer etkisi de oluşan baz radikallerin proteinlerin aromatik aminoasitleri ile kombine olarak “DNA-protein” çapraz bağları oluşturmasıdır. Bunun yanında hidroksil radikalleri DNA üzerindeki şeker rezidülerinden (deoksiriboz) hidrojen atomu kopararak şeker modifikasyonlarına ve zincir kırılmalarına da yol açmaktadır. Sonuç olarak hücrelerin hidrojen peroksit veya diğer oksidan maddelere maruz kalması, replikasyon ve transkripsiyon üzerine etki etmekte ve aynı zamanda DNA tamir mekanizmalarını baskılayarak DNA hasarını arttırabilmektedir (Özcan vd. 2015).

Reaktif oksijen türlerinin hasar verdiği bir diğer molekül olan lipidler ise hücrede özellikle membran yapısında bulunması ve bununla birlikte sinyal yollarında önemli rol almaktadır (Ayala et al. 2014). Lipidlerde oksidatif hasar, doymamış yağ asitleri, glikolipidler, kolesterol ve esterlerinde lipid peroksidasyonu şeklinde meydana gelir. Peroksidasyon, karbon-karbon çift bağlarından veya çoklu çift bağlardan oluşan lipidlerin oksidatif parçalanmasıdır (Mathew

2012). Lipid peroksidasyonunun başlıca birincil ürünleri lipid hidroperoksitlerdir (LOOH). Lipid peroksidasyonu sırasında ikincil ürünler olarak oluşabilen birçok farklı aldehit türevidir. Malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (4-HNE), heksanal ve propanal aldehit türevlerine örnek olarak verilebilir (Ayala et al. 2014).

Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun en önemli ürünlerinden biri olması sebebiyle oksidatif hasarın boyutunu göstermektedir. Uzun yıllardır, tiyobarbitürik asit (TBA) ile kolaylıkla reaksiyona girmesi sebebiyle omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin peroksidasyonu için uygun bir biyobelirteç olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Xiong et al. 2018, Ayala et al. 2014).

Protein oksidasyonu, ROT ($OH^\cdot$, H_2O_2 gibi) ile doğrudan veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu sonucu dolaylı olarak indüklenen, proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır (Gülbahar 2007). Serbest radikal veya radikal olmayan bir oksidan ile oluşan oksidatif protein modifikasyonlarının biyokimyasal sonuçları; yeni reaktif türlerin oluşumu (DOPA, peroksit), yan zincir gruplarının oksidasyonu, omurganın fragmentasyonu fazla miktarda radikal oluşumu ve zincir reaksiyonu şeklinde devam ettirilmesi, proteinin normal katlanması bozulması veya konformasyon değişimi, protein yada amino asitlerde dimerleşme, çökme, yapısal bozulmaya bağlı işlevsel kayıp, gen düzenlenmesinin ve ifadesinin değişimi, enzim gibi işlevsel proteinlerin çevirim sayısının değişmesi, apoptoz ve nekrozun uyarılması, sinyal yollarında modifikasyon, çapraz bağlanmalar, yanlış katlanmalar, konformasyon ve hidrofobik yapıda değişiklikler ve proteolitik enzimlerde aktivite kaybı olarak sıralanabilir (Hawkins and Davies 2001).

Protein karbonil türevleri oksidatif protein hasarının belirlenmesinde sık kullanılan ve uzun süre dolaşımda bulunan belirteçlerden biridir. Protein karbonil türevleri glutamil rezervlerinin oksidasyonu, lizin, arjinin, prolin ve treonin amino asitlerinin direkt oksidasyonu veya proteinlerin α -amidasyon metabolik yoluyla bölünmesi sonucu oluşmaktadır. Aynı zamanda proteinlerin lizin bakiyelerinin 4-hidroksi-2-onenal gibi lipid peroksidasyon metabolitleri, ketoaminler, indirgen karbohidratlar ya da bukarbohidratların oksidasyon ürünleri gibi diğer reaktif karbonil türevleri ve enzimatik olmayan reaksiyonu sonucu da protein karbonil türevleri oluşur (Ceballos et al. 1992, Buyukguzel 2013).

Oksidatif hasarın azalması için aerobik organizmalar çok sayıda antioksidan enzim ve protein sentezlerler (Davies 2000). Hücre içerisinde ve membranında, serbest radikallerin zararlı etkilerini engelleyen olan oldukça fazla korunma mekanizması gelişmiştir. Bu mekanizmalar

serbest radikal üretimini engelleyerek veya oluşan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırarak etki gösterebilmektedirler (Süleyman vd. 2018).

Antioksidan savunmada tokoferoller (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), ürik asit, glutatyon, beta-karotan, tiyoller ve seruloplazmin sayılabilir (Davies 2000, Grizanova et al. 2018). Tokoferoller (E Vitamini) yağda çözünen vitaminlerdir ve canlı organizmayı özellikle vücut hücrelerini serbest radikallerin ve ROT'un neden olduğu hasarlardan korumak için antioksidan özelliklere sahiptir (Gulcin 2020). Tiyoller hücreyi hidroksil radikalının (OH•), nitroksilin (NO⁻), ve süperoksit radikalının (O₂•) verdiği hasardan korumaktadırlar (Grizanova et al 2018).

Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) ve (GST) glutatyon-s transferazlar canlı dokularda iyi şekilde çalışılmış, önemli enzimatik antioksidanlardır (Süleyman vd. 2018).

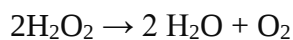
SOD (EC 1.15.1.1), çeşitli prostetik gruplar içeren melloenzimlerin bir grubunu teşkil etmekte olup süperoksit radikalini (O₂•) hidrojen peroksit (H₂O₂) dönüştürmektedir (Çaylak 2011):



GPx (EC 1.11.1.9), glutatyonu oksitleyerek hidrojen peroksiti (H₂O₂) suya (H₂O) indirgemektedir (Reaksiyon 1). Ardından glutatyonun okside formunun (GSSG) tekrar indirgenmesi (Reaksiyon 2) ise glutatyon redüktaz (GR) ile katalizlenir (Grizanova et al. 2018, Çaylak 2011):



CAT (EC 1.11.1.6) ise hidrojen peroksit adaptif yanıtta çok önemli bir rol oynamakta olup bu rolünün bir şekilde glutatyon peroksidaza yardımcı olduğu öne sürülmüştür (Çaylak 2011). Hidrojen peroksitin su ve oksijene degrade olmasını sağlar (Alfonso-Prieto et al. 2009):



Bunların yanında enzimatik savunmada rol alan glutatyon S-transferazlar (GST, EC 2.5.1.18) glutatyonun sisteinin sülfür atomu üzerinden çeşitli elektrofille aktarılmasını sağlayan faz II detoksifikasyon enzimlerindendir (Wilce and Parker 1994, Pickett and Lu 1989).

Glutatyonun çok çeşitli elektrofilik substratlara konjugasyonunu katalize etmeleri ile GST'ler, hücre bütünlüğünü, oksidatif stresin hasarlarını ve DNA hasarını korumada önemli rol oynamaktadırlar (Chatterjee and Gupta 2018). Genellikle kanserojenler, çevresel toksinler ve oksidatif stres ürünleri ve ilaçlar gibi reaktif metabolitler, glutatyon (GSH) ile konjugasyon yoluyla GST'ler tarafından detoksifiye edilir (Dasari et al. 2021).

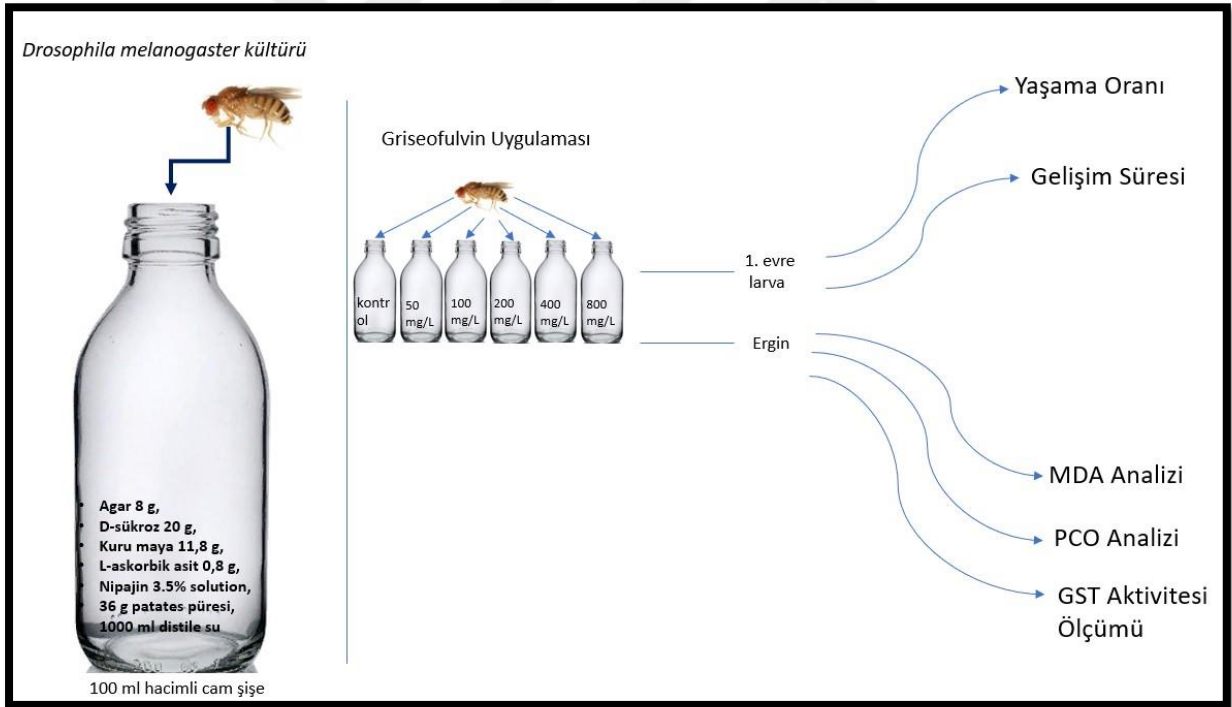
Böceklerdeki GST'ler 50 yıldan uzun süredir ilgi görmektedir. *Drosophila* GST'leri başlangıçta amino asit dizi analizine göre altı sınıfa ayrılmıştır: delta, epsilon, omega, teta, zeta ve sigma GST'lerdir. Delta ve epsilon sınıfları yalnızca böceklerde bulunmaktadır, filogenetik analizin yanı sıra dizi hizalaması ile en yakından ilişkili sınıflardır (Kettermann et al. 2011, Eneyati et al. 2005). Delta ve epsilon GST'ler böceklerde pestisit duyarlılığını etkilemektedir (Shi et al. 2012). Böceklerde ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu için önemli dokular olan yağ doku ve orta bağırsakta oldukça yüksek GST aktivitesine rastlanmıştır (Eneyati et al. 2005).

Bu çalışmada, *Drosophila melanogaster* (Meigen)'in Oregon R soyu (Diptera: Drosophilidae) erginleri yapay besiyerinde yetiştirilmiş, yapay besin ortamlarına 50, 100, 200, 400 ve 800 mg/L griseofulvin eklenerek deneyler gerçekleştirilmiştir. Besine griseofulvin eklenmeden (kontrol grubu) ve eklenerek (deney grubu) yetiştirilen bu ergin böceklerin yaşama oranı-gelişme süresi parametreleri ile GST aktivitesi, MDA ve PCO miktarları ölçülmüştür.

BÖLÜM 2

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada yapılan tüm deneyler için Oregon R soyu *Drosophila melanogaster* stok kültürünün devamı sağlanmıştır. Yaşama oranı ve gelişim süresinin saptanabilmesi için kültür devam ederken birinci evre larvalar griseofulvin içeren (50, 100, 200, 400, 800 mg/L) ve içermeyen (kontrol grubu) yapay besin ortamına alınmıştır. MDA miktarı, PCO miktarı ve GST aktivitesi ölçümü için ise ergin bireyler kullanılmıştır.



Şekil 2.1 Yapılan deneylerin şematik olarak özeti

2.1 *Drosophila melanogaster* Stok Kùltürünün Devamı

D. melanogaster stok kùltürü Zonguldak Bùlent Ecevit Üniversitesini, Bùcek Kùltür Laboratuvarından temin edilmiş olup deneylerde kullanılan òrnekler %60-70 baēıl nem, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot ve 25 ± 2 °C sıcaklıkta olan laboratuvar ortamında yetiştirilmiştir.

Bùceklerin yetiřtirileceēi besin ortamı (Lesch et al. 2007) hazırlanması için ilk olarak 250 ml saf su, 2 g agar, 5 g sakkaroz, 2,945 g kuru maya ve 9 g patates püresi kullanılmıştır. Besinin sıcaklıēı vùcut ısısına yaklaşmaya başlayınca içerisine 0,2 g askorbik asit ve 1,95 ml nipajin çòzeltisi ilave edilip 100 ml'lik şişelere 50 ml besin aktarılmıştır.

Řiřelerdeki besinin sıcaklıēının oda sıcaklıēına ulaşması beklenmiş ve ardından ergin bùceklerin besine aktarımı gerçekleştirilmiştir. Son olarak şişelerin aēzı pamuk ile kapatılmıştır. Bu işlem her hafta tekrarlanarak stok kùltürün devamı saēlanmıřtır.

2.2 Griseofulvinin Uygulanması

Bu çalışmada griseofulvin, bùcek kùltürünün devamı için kullanılan yapay besine karıştırılarak uygulanmıştır.

Denenecek olan konsantrasyonların belirlenmesi için griseofulvin ile ön beslenme deneyleri yapılmıştır. *D. melanogaster* için ergin evreye gelene kadar gelişim evrelerini tamamladıēı konsantrasyon aralıēı belirlenmiştir. Griseofulvin, yapay besin içine kontrol grubu hariç olmak üzere 50, 100, 200, 400 ve 800 mg/ L konsantrasyonlarda ilave edilmiştir.

Bùceēin yumurtadan ergin evreye kadar tüm evrelerinde yaşama oranı ve gelişim süresi; ergin evrelerinde MDA, PCO miktarı ve antioksidan enzimlerden GST aktivitesine etkisi incelenmiştir.

2.3 Yaşama Oranı ve Gelişim Süresi Deneyleri

Drosophila melanogaster'de yaşama oranı ve gelişim süresinin griseofulvin varlıēında deēiřimini tayin etmek için gerçekleştirilen deneylerde ilk olarak belirlenen konsantrasyonlarda griseofulvin içeren ve griseofulvin içermeyen besinler hazırlanmıştır. Besinler 15ml'lik cam şişelere eēit miktarlarda daēıtılmıřtır. Yumuşak uçlu fırça ile griseofulvin içermeyen kontrol grubuna ve belirlenmiş olan 50 mg/L, 100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L ve 800 mg/L griseofulvin bulunan besin ortamlarının her birine 25 adet 1.evre larvaları bırakılmıştır. Yaşama oranının belirlenmesi için birinci evreden üçüncü evreye, pup ve ergin evreye ulaşan birey oranı olarak hesaplanmıştır. Gelişim süresinin tayini için ise birinci evreden üçüncü evre larva, pup ve ergin evrelere ulaşma süresi hesaplanmıştır.

Deneyler dört tekrar şeklinde laboratuvarında böceğin kültürünün yapıldığı 25 ± 2 °C %60-70 bağıl nemde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyotta gerçekleştirilmiştir.

2.3 Biyokimyasal Analizler İçin Homojenatların Hazırlanması

Griseofulvin uygulanan ve kontrol grubunda bulunan böceklerden 25'er ergin birey toplanmış ve bu işlem dört kez tekrarlanmıştır. Toplanan böcekler %1,15'lik KCl (Potasyum klorür), 25 mM K_2HPO_4 (Di-potasyum hidrojen fosfat), 5 mM EDTA (Etilendiamin tetra asetik asit), 2 mM PMSF (Fenilmetilsülfonil florid), 2 mM DTT (Ditiyotiretol), pH: 7,4) içerisinde ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany) kullanılarak (30 W) ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat, GST tayini için 16000 x g'de 20 dk santrifüjlenmiştir. MDA miktarı ve PCO miktarı tayini için örnekler ultrasonik homojenizatörden (10 s, 30 W) geçirilerek kullanılmıştır. Araştırmanın bu aşamasında griseofulvinin belirlenen konsantrasyonları ile yetiştirilen ergin bireylerde MDA, PCO miktarı ve GST aktivitesi belirlenmiştir.

2.4 Malondialdehit Miktar Analizi

MDA analizi için hazırlanan homojenatlardan 200 µl alınıp üzerine 800 µl fosfat tamponu (pH: 7,4) (18 mM NaCl, 18 mM Na_2HPO_4), 25 µl 0,04 M bütilhidroksitoulen (BHT) ve 500 µl %30' luk trikloroasetik asit (TCA) ilave edilmiş ve tüpler, vorteksleme işlemi ardından 2 saat buz içinde karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra örnekler 15 dk + 4 °C, 2000 x g'de santrifüjlenmiş ve elde edilen süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 0,1 M'lık EDTA ve %1'lik tiyobarbitürük asit (TBA) eklenerek 45 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletilmiştir. TBA ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonun son ürünü MDA spektrofotometrede (Shimadzu 1700, UV/VIS Spectrophotometer, Kyoto, Japan) 532 nm'deki absorbans değeri okunarak MDA miktarı hesaplanmıştır. MDA miktarı $1,56 \times 10^5$ M-1cm-1 kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verilmiştir (Jain and Levine 1995).

2.5 PCO Miktarının Ölçülmesi

Protein karbonil tayini Levine et al. (1994)'in metodu temel alınıp bir miktar değişiklikler yapılarak (Krishnan and Kodrik 2006) kuvvetli asit ortamda (2 M HCl) proteindeki karbonil gruplarının 2,4 dinitrofenil hidrazin (DNPH) ile kararlı bir 2,4 dinitrofenil (DNP) hidrozon oluşturmaları ve bu ürünlerin 370 nm'de absorbanslarının ölçülmesi temeline dayanarak yapılmıştır. PCO miktarı $22,000$ m-1cm-1 kat sayısı ile nmol/mg protein olarak verilmiştir.

2.6 GST Aktivitesinin Ölçülmesi

Habig et al. (1974) tarafından geliştirilen metod GST (EC 2.5.1.18) aktivitesi ölçülmesinde kullanılmıştır. GST aktivite ölçümü için 3 ml'lik cam küvetlere 200 µl 20 mM redükte glutatyon, 2,5 ml 50 mM fosfat tamponu ve 150 µl süpernatant eklenmiştir. Bu karışıma 150 µl 25 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) eklenip enzimatik reaksiyon başlatılmış ve 2 dakika süresince absorbans değerleri okunmuştur. Enzim aktivitesi 340 nm'de (ϵ_{340} : 0,0096 $\mu\text{M}\cdot\text{cm}^{-1}$) süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına 1 dakikada oluşturulan tioether miktarı olarak ölçülmüştür. Enzimin spesifik aktivitesi ise nmol/mg protein/dk'dır.

2.7 Toplam Protein Miktarının Ölçülmesi

MDA miktarını ve GST aktivitesini hesaplamak için homojenatlardan total protein tayini deneyi yapılmıştır. Örneklerin protein miktarının tayin edilebilmesi için farklı konsantrasyonlarda bovin serum albumin (BSA) çözeltileri hazırlanarak yapılan ölçümler ile standart grafik oluşturulmuş ve bu grafik üzerinden toplam protein miktarları hesaplanmıştır (Lowry et al. 1951). PCO miktarının hesaplanması için de total protein tayini yapılmıştır. Örneklerin 280 nm dalgaboyundaki absorbansları spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. 6 M guanidin hidroklorür ile BSA standart çözeltileri hazırlanmış ve standart grafik oluşturularak total protein miktarı hesaplanmıştır (Pajot 1976).

2.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmada gelişme süresi, MDA, PCO miktarları, GST aktiviteleri verilerinin değerlendirilmesi için tek yönlü "Varyans Analizi" (ANOVA) (IBM SPSS 2021 version 28.0 for Windows; SPSS Inc., Chicago, IL, USA), ortalamalar arasındaki farkın öneminin saptanması için "LSD Testi" (IBM SPSS 2021 version 28.0 for windows; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Yaşama oranı bulgularının değerlendirilmesinde ise " χ^2 (Chi square) Testi" kullanılmıştır (Snedecor and Cochran 1989). 0,05 olasılık seviyesinde ortalamaların önemi değerlendirilmiştir.

BÖLÜM 3

ARAŞTIRMA BULGULARI

Yapılan deneylerden elde edilen araştırma bulgularına göre:

Yaşama oranının kontrole oranla yükselen konsantrasyonların tamamında larva, pup ve ergin olmak üzere tüm evrelerde istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı (Çizelge 1, Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3) gelişme süresinin kontrole oranla larva, pup, ergin olmak üzere tüm evrelerde 200 mg/L, 400 mg/L ve 800 mg/L konsantrasyonlarda (en yüksek 3 konsantrasyon) istatistiksel olarak önemli derecede arttığı (Çizelge 1, Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6) GST aktivitesinin kontrole oranla 200, 400 ve 800 mg/L konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli derecede yükseldiği (Şekil 3.7), MDA miktarının kontrole oranla 200, 400 ve 800 mg/L konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli derecede yükseldiği (Şekil 3.8), PCO miktarının kontrole oranla 50, 100 ve 200 mg/L konsantrasyonlarda yükseldiği (Şekil 3.9) tespit edilmiştir.

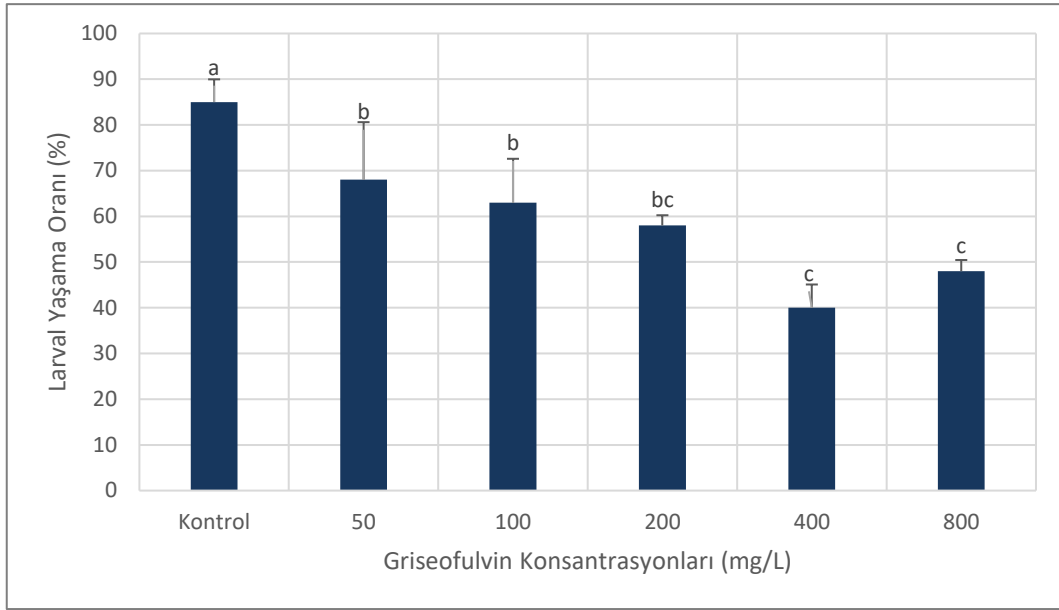
Çizelge 1. Griseofulvinin *Drosophila melanogaster* larva, pupa ve erginlerinin yaşama oranı ve gelişme süresine etkisi.

	3. evreye ulaşan	3. evreye ulaşma	Pup olma	Pup olma	Ergin olma	Ergin olma
Griseofulvin (mg/L)	larva oranı (%)	süresi (gün)	oranı (%)	süresi (gün)	oranı (%)	süresi (gün)
	(Ort* $\pm$ S.H) [†]	(Ort* $\pm$ S.H) [†]	(Ort* $\pm$ S.H) [†]	(Ort* $\pm$ S.H) [†]	(Ort* $\pm$ S.H) [†]	(Ort* $\pm$ S.H) [†]
0,000 [§]	85 $\pm$ 4,97a	3,09 $\pm$ 0,007a	85 $\pm$ 4,97a	4,16 $\pm$ 0,11a	85 $\pm$ 4,97a	8,65 $\pm$ 0,46a
50	68 $\pm$ 12,16b	3,20 $\pm$ 0,13a	63 $\pm$ 9,83b	4,41 $\pm$ 0,14a	59 $\pm$ 7,66b	8,64 $\pm$ 0,47a
100	63 $\pm$ 9,59b	3,16 $\pm$ 0,11a	58 $\pm$ 7,54bc	4,79 $\pm$ 0,22a	49 $\pm$ 7,53bc	8,78 $\pm$ 0,41a
200	58 $\pm$ 2,23bc	4,09 $\pm$ 0,22b	56 $\pm$ 3,16b	6,18 $\pm$ 0,24b	38 $\pm$ 3c	10,48 $\pm$ 0,31ab
400	40 $\pm$ 5,09c	3,88 $\pm$ 0,12b	40 $\pm$ 5,09c	6,45 $\pm$ 0,19bc	15 $\pm$ 4,76d	12,47 $\pm$ 1,37bc
800	48 $\pm$ 2,44c	4,00 $\pm$ 0,34b	45 $\pm$ 4,09c	7,06 $\pm$ 0,36c	14 $\pm$ 6,08d	12,91 $\pm$ 0,36c

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 larva kullanıldı.

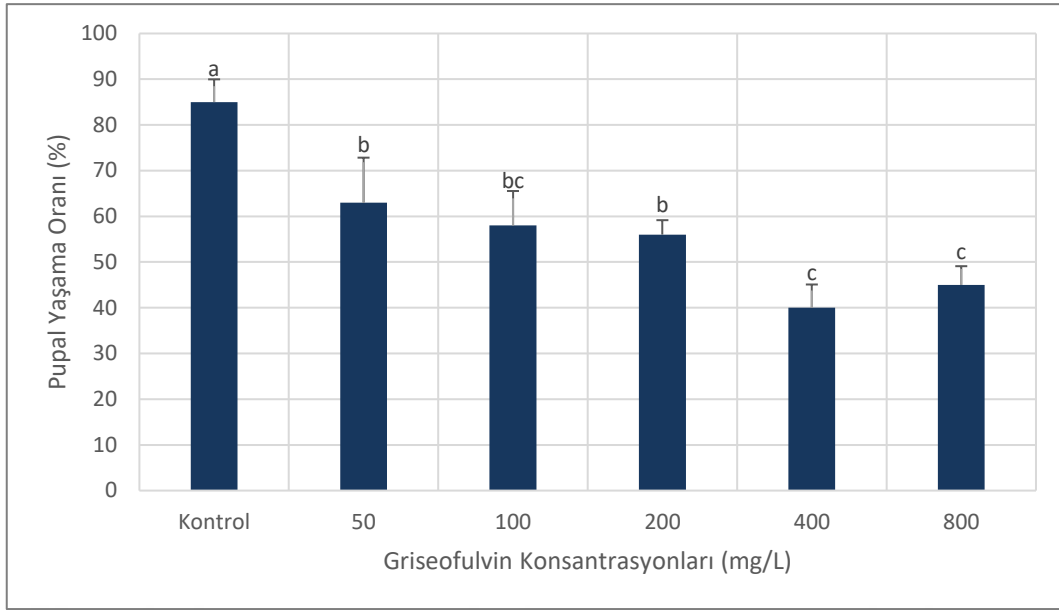
[†]Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P> 0,05 (χ^2 testi, LSD Testi).

[§]Kontrol besini (Griseofulvin içermeyen)



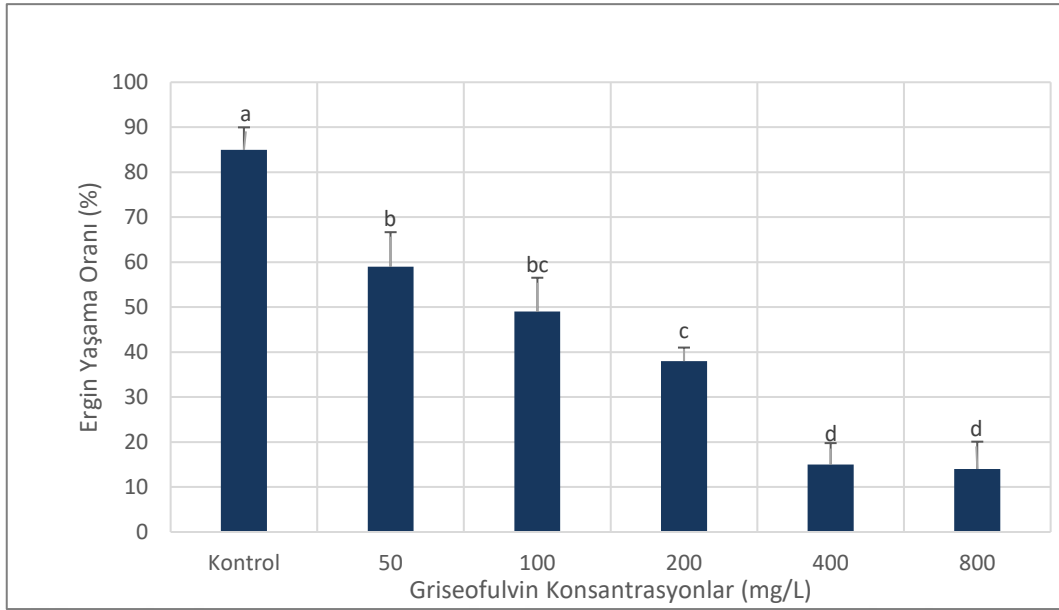
Şekil 3.1 Griseofulvinin *D. melanogaster* pup yaşama oranlarına etkisi. Her bir sütun 25 bireyden oluşan 4 tekrarın ortalamasını göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirtir, $P > 0.005$ (X^2 test)

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $85 \pm 4,97$ olan 3. evre larval yaşama oranı 50 mg/L griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunda $68 \pm 12,16$, 100 mg/L konsantrasyonda $63 \pm 9,59$, 200 mg/L konsantrasyonda $58 \pm 2,23$, 400 mg/L konsantrasyonda $40 \pm 5,09$ ve en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L konsantrasyonda $48 \pm 2,44$ olarak hesaplanmış ve denen tüm bu konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli derecede düşüş saptanmıştır (Şekil 3.1).



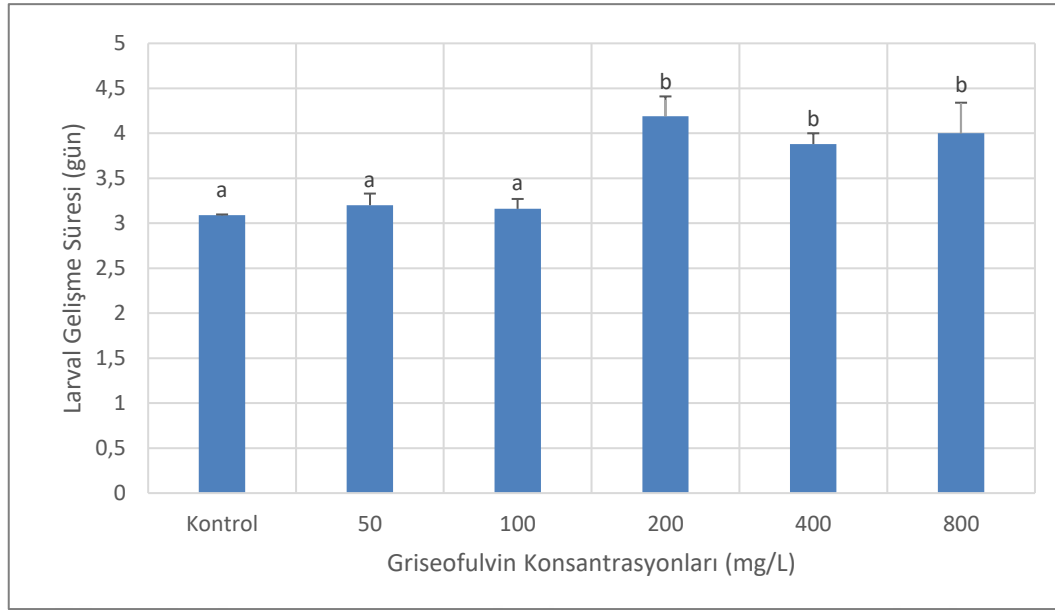
Şekil 3.2 Griseofulvinin *D. melanogaster* pup yaşama oranlarına etkisi. Her bir sütun 25 bireyden oluşan 4 tekrarın ortalamasını göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirtir, $P > 0.005$ (X^2 test)

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $85 \pm 4,97$ olan pup yaşama oranı 50 mg/L griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunda $63 \pm 12,16$, 100 mg/L konsantrasyonda $58 \pm 9,83$, 200 mg/L konsantrasyonda $55 \pm 7,54$, 400 mg/L konsantrasyonda $40 \pm 5,09$ ve en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L konsantrasyonda $45 \pm 4,09$ olarak hesaplanmış ve denenen tüm konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli derecede düşüş saptanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.3 Griseofulvinin *D. melanogaster* ergin yaşama oranına etkisi. Her bir sütun 25 bireyden oluşan 4 tekrarın ortalamasını göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirtir, $P > 0.005$ (X^2 test)

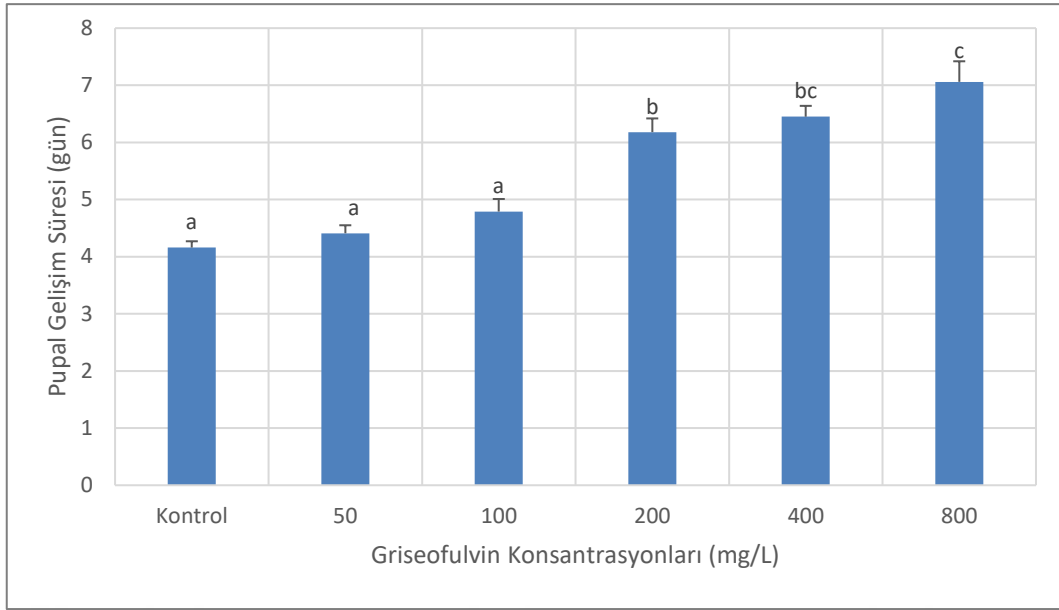
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $85 \pm 4,97$ olan ergin oranı 50 mg/L griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunda $59 \pm 7,66$, 100 mg/L konsantrasyonda $49 \pm 4,53$, 200 mg/L konsantrasyonda 38 ± 3 , 400 mg/L konsantrasyonda $15 \pm 4,76$ ve en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L konsantrasyonda $14 \pm 6,08$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak önemli derecede düşüş saptanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.4 Griseofulvinin *D. melanogaster* 3. evre larva gelişim süresine etkisi. Her bir sütun 25 bireyden oluşan 4 tekrarın ortalamasını göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirtir, $P > 0.005$ (LSD test)

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $3,09 \pm 0,007$ gün olan larval gelişme süresi 50 mg/L griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunda $3,20 \pm 0,13$ gün, 100 mg/L konsantrasyonda $3,16 \pm 0,11$ gün olarak gözlemlenmiş ve belirgin bir fark hesaplanmamıştır (Şekil 3.4).

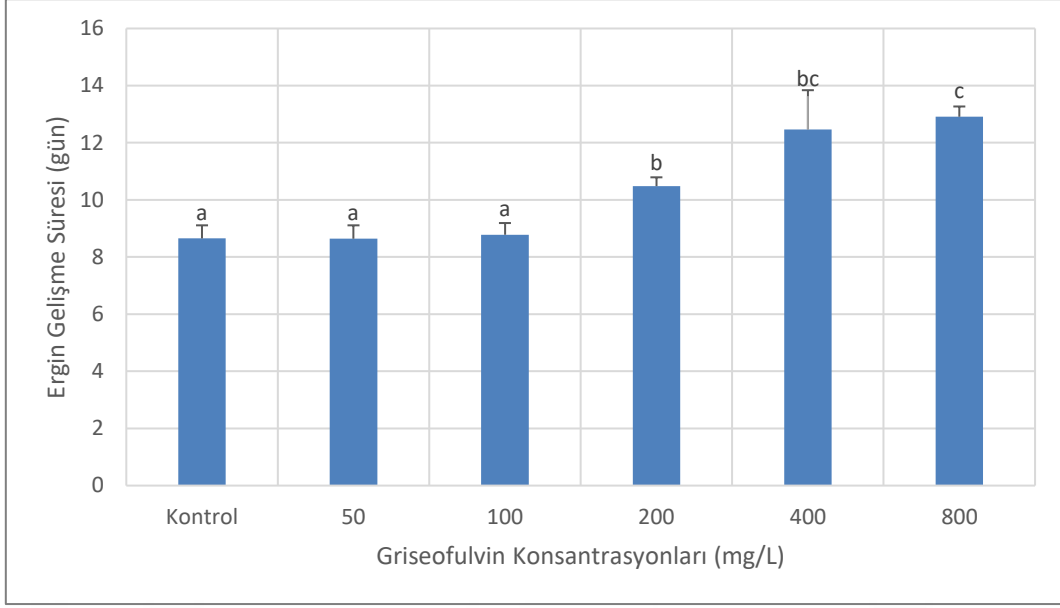
200 mg/L konsantrasyonda $4,09 \pm 0,22$ gün, 400 mg/L konsantrasyonda $3,88 \pm 0,12$ gün, en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L konsantrasyonda $4 \pm 0,34$ gün olarak gözlemlenmiş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında bu konsantrasyonlarda gelişme süresinde istatistiksel olarak belirgin bir artış hesaplanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.5 Griseofulvinin *D. melanogaster* pup gelişim süresine etkisi. Her bir sütun 25 bireyden oluşan 4 tekrarın ortalamasını göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirtir, $P > 0.005$ (LSD test)

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $4,16 \pm 0,11$ gün olan pupal gelişme süresi 50 mg/L griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunda $4,41 \pm 0,14$ gün, 100 mg/L konsantrasyonda $4,19 \pm 0,17$ gün olarak gözlemlenmiş ve belirgin bir fark hesaplanmamıştır (Şekil 3.5).

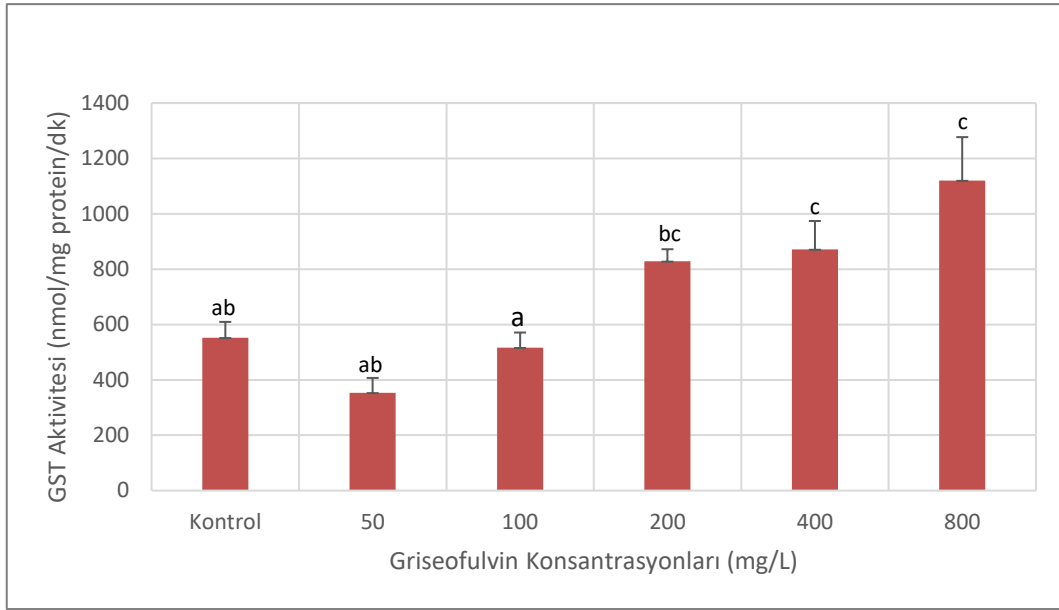
200 mg/L konsantrasyonda $6,18 \pm 0,24$ gün, 400 mg/L konsantrasyonda $6,45 \pm 0,19$ gün ve n yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L konsantrasyonda $7,06 \pm 0,36$ gün olarak gözlemlenmiş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında bu konsantrasyonlarda gelişme süresinde istatistiksel olarak belirgin bir artış hesaplanmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.6 Griseofulvinin *D. melanogaster* ergin gelişim süresine etkisi. Her bir sütun 25 bireyden oluşan 4 tekrarın ortalamasını göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirtir, $P > 0.005$ (LSD test)

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $8,65 \pm 0,46$ gün olan ergingelişme süresi 50 mg/L griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunda $8,64 \pm 0,47$ gün, 100 mg/L konsantrasyonda $8,78 \pm 0,41$ gün olarak gözlemlenmiş ve belirgin bir fark hesaplanmamıştır (Şekil 3.6).

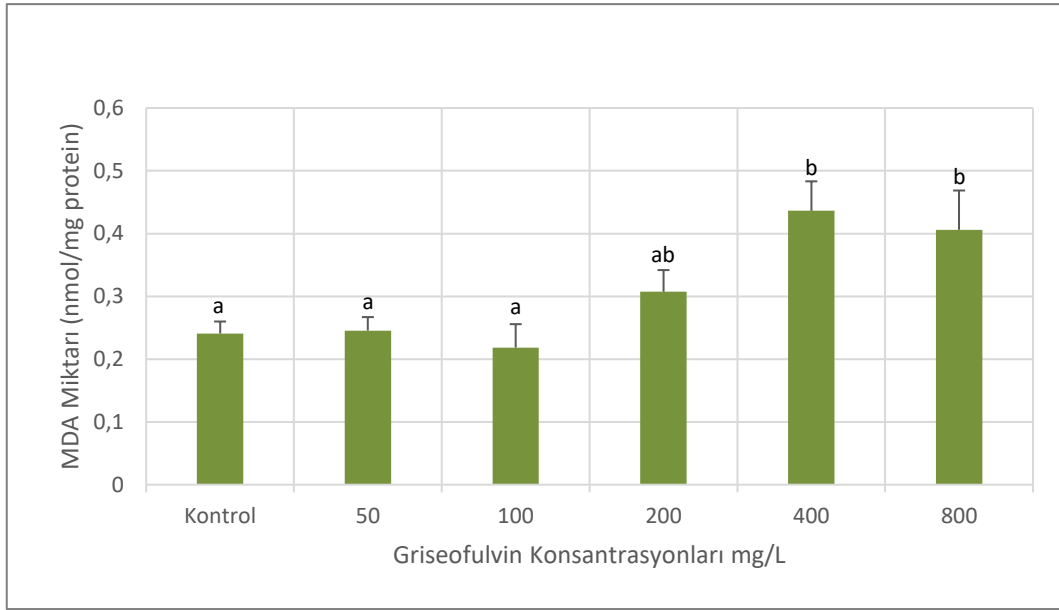
200 mg/L konsantrasyonda $10,48 \pm 0,31$ gün, 400 mg/L konsantrasyonda $12,47 \pm 1,37$ gün ve en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L konsantrasyonda $12,91 \pm 0,36$ gün olarak gözlemlenmiş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında bu konsantrasyonlarda gelişme süresinde istatistiksel olarak belirgin bir artış hesaplanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.7 Griseofulvinin *D. melanogaster* GST aktivitesine etkisi. Her bir sütun 25 bireyden oluşan 4 tekrarın ortalamasını göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirtir, $P > 0.005$ (LSD test)

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $552 \pm 57,5$ nmol/mgprotein/dk olarak ölçülen GST aktivitesi 50 mg/L griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunda 353 ± 54 nmol/mgprotein/dk, 100 mg/L konsantrasyonda 516 ± 55 nmol/mgprotein/dk olarak ölçülmüş ve önemli bir fark hesaplanmamıştır.

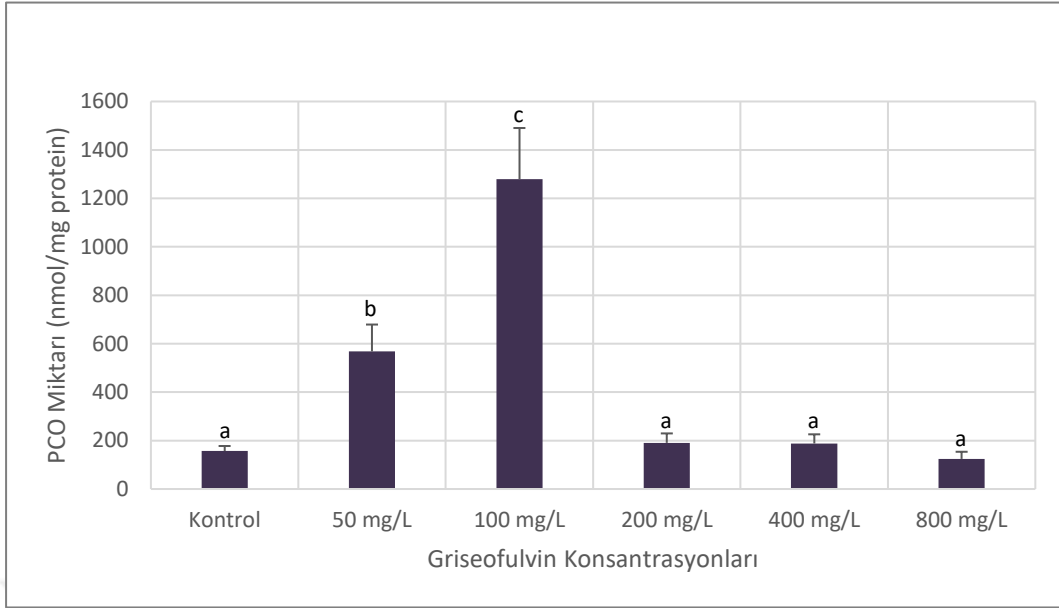
Kontrol grubu ile kıyaslandığında GST aktivitesi 200 mg/L konsantrasyonda 828 ± 44 nmol/mgprotein/dk, 400 mg/L konsantrasyonda 871 ± 103 nmol/mgprotein/dk ve en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L konsantrasyonda 1120 ± 157 nmol/mgprotein/dk olarak ölçülmüş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında bu konsantrasyonlarda GST aktivitesinde istatistiksel olarak önemli derecede artış hesaplanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.8 Griseofulvinin *D. melanogaster* MDA miktarına etkisi. Her bir sütun 25 bireyden oluşan 4 tekrarın ortalamasını göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirtir, $P > 0.005$ (LSD test)

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $0,240 \pm 0,01$ nmol/mgprotein olarak ölçülen MDA miktarı, 50 mg/L griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunda $0,245 \pm 0,02$ nmol/mgprotein, 100 mg/L konsantrasyonda $0,218 \pm 0,03$ nmol/mgprotein ve 200 mg/L konsantrasyonda $0,307 \pm 0,03$ nmol/mgprotein olarak ölçülmüş ve önemli bir fark hesaplanmamıştır (Şekil 3.8).

MDA miktarı 400 mg/L konsantrasyonda $0,436 \pm 0,04$ nmol/mgprotein ve en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L konsantrasyonda $0,406 \pm 0,06$ nmol/mgprotein olarak ölçülmüş istatistiksel olarak önemli ölçüde bir artış hesaplanmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.9 Griseofulvinin *D. melanogaster* PCO miktarına etkisi. Her bir sütun 25 bireyden oluşan 4 tekrarın ortalamasını göstermektedir. Aynı harfler gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirtir, $P > 0.005$ (LSD test)

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $156,5 \pm 21$ nmol/mgprotein olarak ölçülen PCO miktarı, 50 mg/L griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunda 568 ± 111 nmol/mgprotein, 100 mg/L konsantrasyonda 1279 ± 211 nmol/mgprotein olarak ölçülmüş ve PCO miktarında istatistiksel olarak önemli bir yükselme hesaplanmıştır (Şekil 3.9).

PCO miktarı 200 mg/L konsantrasyonda $190,5 \pm 39$ nmol/mgprotein, 400 mg/L konsantrasyonda $187,7 \pm 38$ nmol/mgprotein ve en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L konsantrasyonda $124,2 \pm 29,5$ nmol/mgprotein olarak ölçülmüş ve belirgin bir fark hesaplanmamıştır (Şekil 3.9)



BÖLÜM 4

TARTIŞMA

Yapılan çalışmada bir antifungal olan griseofulvinin, model organizma *D. melanogaster*'in yaşama oranı ile gelişme süresi üzerine etkisi ve böceğin ergin evresindeki MDA miktarı, PCO miktarı ve GST aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Alınan sonuçlara göre yaşama oranının kontrole oranla yükselen konsantrasyonların tamamında larva, pup ve ergin olmak üzere tüm evrelerde azaldığı ve bununla birlikte gelişme süresinin de kontrole oranla larva, pup, ergin olmak üzere tüm evrelerde 200 mg/L, 400 mg/L ve 800 mg/L konsantrasyonlarda (en yüksek 3 konsantrasyon) arttığı tespit edilmiştir. Daha önce Kılıç vd. (2015) yaptığı bir çalışmada farklı konsantrasyonlarda triklabendazolün *Galleria mellonella* larvaları üzerine etkileri incelenmiş olup, bizim çalışmamızla benzer şekilde yaşama oranının düştüğü ve gelişme süresinin yükseldiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar besine doğal olmayan bir kimyasal eklendiğinde besin kalitesinin düşmesine bağlı olarak larvaların beslenme davranışlarının değiştiği ve böceğin biyolojik özelliklerinin olumsuz etkilendiği şeklinde yorumlanmıştır. Griseofulvinin *D. melanogaster* yaşama ve gelişme parametleri üzerindeki olumsuz etkisinin nedeni besin kalitesini azaltması ve böceğin biyolojik özellikleri üzerine olumsuz etkisi olabilir. Sefer ve Büyükgüzel (2017) yine *G. mellonella* besinine piperazin uygulanıp böceğin biyolojik aktivitesi üzerinde benzer sonuçları elde etmişler ve sonuçların beslenme davranışlarının değişmesine dayandığını ileri sürülmüştür. Büyükgüzel ve Kayaoğlu (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, niklozamidin etkisi *G. mellonella* larvaları üzerinde araştırılmış ve niklozamidin 7. evre larva, pupa ve erginlerin yaşama oranlarını büyük ölçüde azalttığı ve en yüksek niklozamid konsantrasyonu (%1) larva gelişimini 5 gün, pupa gelişimini 4 gün ve ergin evresini 6 gün geciktirdiği gösterilmiştir.

Benzer bir çalışma da Silva Cruz et al. (2009) tarafından yapılmıştır *Apis mellifera* (L.) kültürüne 2,5 ve 7,5 (mg/g diyet) oranında eklenen borik asitin işçi larvalarında kontrol grubuna göre ölüm oranını arttırdığı ve 2,5 mg borik asit uygulamasının öldürüldüğü tespit edilmiştir. 5. ve 6. günlerde larva %100, 4. günde 7,5 mg doz ile ölüm oranı %100 olmuştur.

Tüm bu çalışmaların yanında yapılan pek çok çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiş besin içeriğinin kalite değişiminin serbest radikal oluşumuna sebep olabileceği ileri sürülmüştür (Büyükgüzel and Kalender 2007, Büyükgüzel and Kalender 2008, Kastamonuluoğlu et al. 2020, Aslan et al. 2019, May et al. 2015, Ustundag et al. 2019).

MDA miktarının kontrole oranla 200, 400 ve 800 mg/L konsantrasyonlarda yükseldiği gösterilmiştir. Griseofulvin, reaktif oksijen türleri oluşumunu indükleyerek lipid peroksidasyonuna yol açmış olabilir. Farklı çalışmalarda araştırmacılar, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA seviyesindeki artışın reaktif oksijen türlerinden lipidlerin kolaylıkla etkilenmesi dolayısıyla oluşabileceği, bir oksidatif stres belirtici olması, MDA'nın özellikle aldehitler üzerinde etkili olmasını sebebiyle oksidatif hasara sebep olabileceği üzerinde durulmuştur (Akalin et al. 2007, Sochaski et al. 2002, Del Rio et al. 2005 Choi et al. 2010, Aslantürk et al. 2011).

Yapılan çalışmada GST aktivitesinin kontrole oranla 200, 400 ve 800 mg/L konsantrasyonlarda yükseldiği gösterilmiştir. Kastamonuluoğlu vd. (2020) yaptığı bir çalışmada model organizma olarak *G. mellonella* kullanarak griseofulvin gibi antifungal bir madde olan terbinafini farklı konsantrasyonlarda böceğin besinine ilave edilmiştir. Tüm konsantrasyonlarda yaşama oranının düşmesinin yanısıra düşük terbinafin konsantrasyonunda (0,1 g) PCO miktarı önemli derecede yükselmiş, konsantrasyona bağlı olarak MDA miktarı ve GST aktivitesinde önemli ölçüde yükselme olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar yükselen MDA ve PCO miktarlarının yaşama oranındaki düşüşten sorumlu olabileceğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca GST aktivitesindeki bu yükselişin, besindeki terbinafin konsantrasyonuna bağlı olarak gelişen oksidatif hasarın önlenmesi için olabileceğini ileri sürmüşlerdir. GST'nin antioksidan bir enzim olduğu, hücrel lipid peroksidasyon ürünleri detoksifiye ettiği bilinmektedir (Dubovskiy et al. 2008). Ayrıca bu tez çalışmasında GST enzim aktivitesinin 400 mg/L ve 800 mg/L konsantrasyonda yükseldiği, aynı konsantrasyonlarda MDA miktarının da arttığı görülmüştür.

MDA miktarı ve GST aktivitesinin birlikte artışı Aslan vd. (2019) çalışmasında da rapor edilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçları GST enziminin, reaktif oksijen türlerinin ve lipid peroksitlerin detoksifikasyonu ile oksidatif hasarın yok edilmesinde önemli etkiye sahip oluşu ile ilgili olabileceği belirtilmiştir. Benzer bir sonuç, Büyükgüzel (2006) tarafından, *P. turionellae* erginlerinde süperoksit dismutaz aktivitesindeki ve uzun ömür parametrelerindeki artışların, böceğin öldürücü olmayan organofosforlu insektisit dozlarına verdiği bir tepki olarak kabul edildiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada rapor edilen yüksek MDA ve PCO içeriğinin gösterdiği gibi, organizmada artan biyomoleküler hasar nedeniyle yükselen detoksifikasyon kapasitesinin, böcek tarafından oksidatif strese karşı gelişmiş olan adaptif bir tepkiye yol açmış olduğu ifade edilmiştir. Güneş ve Büyükgüzel (2017) *D. melanogaster*'in üçüncü evre larva, pupa, ergin ve yumurtalarında oksidatif stresin önemli indikatörleri olan MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesi üzerine etkisi incelemişlerdir. Farklı konsantrasyonlarda borik asit içeren yapay besinlerde yetiştirilen *D. melanogaster* üçüncü evre larvalarının MDA miktarı önemli derecede artmıştır. 300 mg/L borik asit içeren besin ile 10 gün süreyle beslenen erginlerin kontrol besinine göre MDA ve PCO miktarları önemli derecede artmıştır. Dişilerin yumurtalarındaki MDA miktarı, PCO miktarı ve GST aktivitesinin önemli derecede arttığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar araştırmacılar tarafından enzimin seviyesindeki bu artışın borik asit veya oksidan gibi davranan ve serbest radikal üretimini hızlandıran ve böylece larvalarda oksidatif strese neden olan metabolik ürünler nedeniyle olabileceği ileri sürülmüştür. Bununla birlikte özellikle 200 ve 300 mg/L borik asidin, ergin erkeklerde GST aktivitesini kontrol besine kıyasla sırasıyla yaklaşık 2,5 ve dört kat artırdığını göstermişler ve *Drosophila* erkeklerindeki direnç mekanizması nedeniyle nispeten dirençli bireyler olabileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca bu besinle yetiştirilen pupa ve ergin erkeklerde MDA düzeyinin dişilere göre yaklaşık 10 kat daha fazla artmasının da bu görüşü desteklediğini, borik asidin oksidatif stress belirteci olan MDA ve PCO düzeylerinde ve önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST'nin aktivitesinde değişikliklere neden olduğunun çalışmalarında açıkça görülmekte olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yapılan tez çalışmasında da MDA ve PCO miktarındaki artış griseofulvinin yol açtığı oksidatif stres sebebiyle oluşmuş, GST aktivitesindeki artış bu oksidatif hasarın detoksifiye edilmesi için oluşmuş olabilir.

Piccoli et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada *D. melanogaster*'e ninilkloroheksen (VCH) ve metilcıva (MeHg^+) uygulanmıştır. Uygulama, böceklerin yumurtadan çıkmasından sonra farklı sürelerde uygulanmış ve sonuçta yaşama oranı üç gün boyunca VCH ve MeHg^+ 'ya birlikte maruz kalan böceklerde azaldığı görülmüştür.

VCH'ye bir günlük maruz kalma, MeHg⁺'ye ise üç günlük maruziyet, böceğin baş segmentinde GST aktivitesinde bir artışa neden olmuştur. Tüm vücutta ise tüm uygulamalarda bir günlük maruziyetten sonra GST aktivitesini artmış, ancak sadece MeHg⁺'ya maruz kalan böceklerde, üç günlük maruziyetten sonra GST aktivitesinde bir artış gözlenmiştir. Araştırmacılar bu sonuçları GST'lerin, VCH metabolitlerinin GSH ile konjugasyonunu katalize ederek hedef proteinlerle etkileşimlerini önlediği ve GST aktivitesindeki bu artışın VCH'ye özgü elektrofil toksisitesine karşı koyan adaptif bir yanıtla ilgili olabileceği şeklinde yorumlamışlardır. Çalışmamızda görülen GST aktivitesindeki artış, griseofulvinin sebep olduğu toksisiteye karşı adaptif bir yanıt olabilir. Konuş (2015), bir tarım zararlısı olan *Tuta absoluta* ile çalışma yapmıştır. Çalışmada laboratuvarında yetiştirilen böcekler ile Adana ve Antalya'daki domates tarlalarından alınan böceklerin GST aktiviteleri kıyaslanmıştır. Tarlalardan alınan böceklerdeki GST aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Araştırmacılar tarla popülasyonunun daha fazla insektisite maruz kalmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir. GST aktivitesinin artan oksidatif stres nedeniyle yükselebileceğini çünkü birçok insektisit toksik etkisini, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu indükleyip oksidatif stres oluşturarak gösterebileceğini öne sürmüşlerdir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bir antifungal madde olan griseofulvinin iyi çalışılmış ve kabul gören bir model organizmada olan *D. melanogaster*'e farklı konsantrasyonlarda uygulanması sonucunda, bir lipit peroksidasyon ürünü olan MDA'nın yükselen konsantrasyonlarda artması ve bununla doğru orantılı olarak lipit peroksidasyon ürünleri üzerinde özellikle etkili olduğu bilinen detoksifikasyon enzimi GST'nin aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ile yapılan önceki çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde griseofulvinin bir ksenobiyotik olarak organizmada ROT oluşumunu tetiklediği ve oksidatif strese neden olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçların yanında tüm evrelerde ve konsantrasyonlarda azalan yaşama oranı ve en yüksek üç konsantrasyonda uzayan gelişme süresi griseofulvinin böcek üzerinde olumsuz etkisinin olduğunu göstermektedir.

Farklı enzimatik (SOD, CAT vb.) veya enzimatik olmayan (C vitamini, E vitamini vb.) antioksidanların aynı böcek ve griseofulvin konsantrasyonlarında denenerek oksidatif stres ile ilgili daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun yanı sıra griseofulvinin denenen en düşük konsantrasyonunun besin kalitesini arttırmak ve kontaminasyonu önlemek amacıyla kullanılan maddelere alternatif olabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Akalın F A, Baltacıoğlu E, Alver A and Karabulut E** (2007) Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 34: 558-565.
- Alfonso-Prieto M, Biarnés X, Vidossich P and Rovira C** (2009) The Molecular Mechanism of the Catalase Reaction. *Journal of the American Chemical Society* 131 (33), 11751-11761.
- Allocca M, Zola S and Bellosta P** (2018) *The Fruit Fly, Drosophila melanogaster: The Making of a Model (Part I)*. In (Ed.), *Drosophila melanogaster - Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics*. IntechOpen.
- Ankeny R and Leonelli S** (2021) Model Organisms. *Elements in the Philosophy of Biology*. ISBN: 2515-1118. Cambridge: Cambridge University Press.
- Anraku M, Gebicki JM, Iohara D, Tomida H, Uekama K, Maruyama T, Hirayama F and Otagiri M** (2018) Antioxidant activities of chitosans and its derivatives in in vitro and in vivo studies. *Carbohydrate Polymers* 199:141–149.
- Aslan N, Büyükgüzel E and Büyükgüzel K** (2019) Oxidative Effects of Gemifloxacin on Some Biological Traits of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Environmental entomology*, 48(3), 667–673.
- Aslanturk A, Kalender S, Uzunhisarcıklı M and Kalender Y** (2011) Effects of Methidathion on Antioxidant Enzyme Activities and Malondialdehyde Level in Midgut Tissues of *Lymantria dispar* (Lepidoptera) larvae. *Journal of the Entomological Research Society*. 13. 27-38.
- Ayala A, Muñoz M F and Argüelles S** (2014) Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, Article ID: 360438, 31 sayfa.
- uyukguzel E** (2013) Protein oksidasyonun biyokimyasal ve moleküler mekanizması. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3(1), 40-51.
- Büyükgüzel E and Kalender Y** (2007) Penicillin-induced oxidative stress: effects on antioxidative response of midgut tissues in instars of *Galleria mellonella*. *Journal of Economic Entomology*, 100: 1533–1541.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Büyükgüzel E and Kalender Y** (2008) *Galleria mellonella* (L.) survivorship, development and protein content in response to dietary antibiotics. *Journal of Entomological Science*, 43: 27–40.
- Büyükgüzel E and Kayaoğlu S** (2014) The effect of niclosamide on some biological and physiological aspects of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Turk Journal of Entomology*, 38: 83-99.
- Büyükgüzel K** (2006) Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: effect on adult emergence, longevity, fecundity, oxidative and antioxidative response of the *Pimpla turionellae*. *Journal of Economic Entomology* 99: 1225–1234.
- Ceballos P I, Trivier J M and Nicole A** (1992) Age- correlated modification of copper – zinc superoxide dismutase and glutathione related enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry*, 38: 66-70.
- Chatterjee A and Gupta S** (2018) The multifaceted role of glutathione S-transferases in cancer. *Cancer letters*, 433: 33–42.
- Chatterjee D and Deng W M** (2019) Drosophila Model in Cancer: An Introduction. *Advances in experimental medicine and biology*, 2019;1167:1-14.
- Choi E Y, Jang J Y and Cho Y O** (2010) Coffee intake can promote activity of antioxidant enzymes with increasing MDA level and decreasing HDL-cholesterol in physically trained rats. *Nutrition research and practice*. 4: 283-9.
- Croom E** (2012) Metabolism of xenobiotics of human environments. *Progress in molecular biology and translational science*, 112: 31-88.
- Çaylak E** (2011) Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tip Araştırmaları Dergisi*, 9(1), 73-83.
- D Grace, S Abraham, A Varghese and S Sathianarayanan** (2008) Absorption And Metabolism Of Xenobiotics: An Overview. *The Internet Journal of Nutrition and Wellness*. Volume 7 Number 1.
- Davies K J A** (1995) Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochemical Society symposium*, 61: 1–3.
- Davies K J A** (2000) Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems. *IUBMB Life*, 50: 279-289.
- Del Rio D, Stewart A J and Pellegrini N** (2005) A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 15: 316–328.
- Develoux M** (2001) Griseofulvin. *In Annales de dermatologie et de venerologie*, 128: 1317-1325.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Dubovskiy I M, Martemyanov V V, Vorontsova Y L, Rantala M J, Gryzanova E Vand Glupov V V** (2008) Effect of bacterial infection on antioxidant activity and lipid peroxidation in the midgut of *Galleria mellonella* L. larvae (Lepidoptera, Pyralidae). *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology : CBP*. 148: 1–5a.
- Elston K M, Leonard S P, Geng P, Bialik S B, Robinson E and Barrick J E** (2022) Engineering insects from the endosymbiont out. *Trends in Microbiology*, 30(1):79-96.
- Enayati A A, Ranson H and Hemingway J** (2005) Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Molecular Biology*, 14(1), 3–8.
- Fernández-Moreno MA, Farr CL, Kaguni LS, and Garesse R** (2007) *Drosophila melanogaster* as a model system to study mitochondrial biology. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 372: 33–49.
- Grizanova E V, Semenova A D, Komarov D A, Chertkova E A, Slepneva I A, Dubovskiy I M** (2018) Maintenance of redox balance by antioxidants in hemolymph of the greater wax moth *Galleria mellonella* larvae during encapsulation response. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 2018; 98: e21460.
- Gulcin İ** (2020) Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651–715.
- Gülbahar Ö** (2007) Protein oksidasyonun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilgisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 10 (1): 43-48.
- Güneş E** (2016) Besinler ve Beslenme Çalışmalarında *Drosophila*. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 19(3),236-243. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ksudobil/issue/25008/264046>
- Güneş E and Büyükgüzel E** (2017) Oxidative effects of boric acid on different developmental stages of *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera: Drosophilidae). *Turkish Journal of Entomology*, 41 (1), 3-15.
- Habig W H, Pabst M J and Jakoby W B** (1974) Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249:7130-7139.
- Hales K G, Korey C A, Larracuenta A M and Roberts DM** (2015) Genetics on the Fly: A Primer on the *Drosophila* Model System. *Genetics*. 2015 Nov;201(3):815-42.
- Hawkins CL, Davies MJ** (2001) Generation and propagation of radical reactions on proteins. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1504 (2-3): 196-219.
- Jain SK, SN Levine** (1995) Elevated lipid peroxidation and Vitamin E quinine levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 18: 337-341.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kastamonuluoğlu S, Büyükgüzel K, Büyükgüzel E** (2020) The Use of Dietary Antifungal Agent Terbinafine in Artificial Diet and Its Effects on Some Biological and Biochemical Parameters of the Model Organism *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of economic entomology*, 113(3), 1110–1117. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa039>
- Ketterman AJ, Saisawang C, and Wongsantichon J** (2011). Insect glutathione transferases. *Drug metabolism reviews*, 43(2), 253–265. <https://doi.org/10.3109/03602532.2011.552911>
- Kılıç A, Büyükgüzel K, Büyükgüzel E** (2015) Antihelmintik triklabendazolun yapay besin ile beslenen *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının yaşama ve gelişimine etkisi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg. (J. Fac. Vet. Med. Kafkas Univ.)*. 21(6): 841- 847 (DOI: 10.9775/kvfd.2015.13731).
- Knapp JS and Bromley-Challoner KCA** (2003) Recalcitrant organic compounds. *Handbook of water and wastewater microbiology*, 559-595.
- Konuş M** (2015). Effects of oxidative stress on xenobiotic metabolizing enzymes in *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Turkish Journal of Biochemistry*; 40(2):175–180 doi: 10.5505/tjb.2015.91069
- Krishnan N and Kodrík D** (2006) Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): Are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress? *Journal of Insect Physiology*, 52: 11-20.
- Lesch C, A Goto, M Lindgren, G Bidla, M S Dushay and U Theopold** (2007) A role for Hemolymph in coagulation and immunity in *Drosophila melanogaster*. *Developmental and Comparative Immunology*, 31: 1255-1263.
- Lowry O H, Rosebrough N L, Farr A L and Randall R J** (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 19: 265.
- Mathew B** (2012). Lipid peroxidation: mechanism, models and significance, *International Journal of Current Science*, 3, 11-17.
- May CM, Doroszuk A, Zwaan BJ** (2015) The effect of developmental nutrition on life span and fecundity depends on the adult reproductive environment in *Drosophila melanogaster*. *Ecology and evolution*, 5(6), 1156–1168.
- Meng X, Zhu F, Chen K** (2017). Silkworm: A Promising Model Organism in Life Science. *Journal of Insect Science*. 2017 Sep 1;17(5):97.
- Mikulak E, Gliniewicz A, Przygodzka M and Solecka J** (2018). *Galleria mellonella* L. as model organism used in biomedical and other studies. *Przegl Epidemiol.* 2018;72(1):57-73. PMID: 29667381.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Musselman L P and Kühnlein R P** (2018) *Drosophila* as a model to study obesity and metabolic disease. *J Exp Biol.* 2018 Mar 7;221(Pt Suppl 1):jeb163881. doi: 10.1242/jeb.163881. PMID: 29514880.
- Müller B and Grossniklaus U** (2010) Model organisms--A historical perspective. *J Proteomics.* 2010 Oct 10;73(11):2054-63. doi: 10.1016/j.jprot.2010.08.002. Epub 2010 Aug 19. PMID: 20727995.
- Ng C T, Yu L E, Ong C N, Bay B H and Baeg G H** (2019) The use of *Drosophila melanogaster* as a model organism to study immune-nanotoxicity. *Nanotoxicology.* 2019 May;13(4):429-446.
- Ou Q, Zeng J, Yamanaka N, Brakken-Thal C, O'Connor M B and King-Jones K** (2016) The Insect Prothoracic Gland as a Model for Steroid Hormone Biosynthesis and Regulation. *Cell Rep.* 16(1):247-262.
- Özcan O, Erdal H, Çakırca G ve Yönden Z** (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations,* 6(3), 331-336.
- Pajot P** (1976). Fluorescence of Proteins in 6-M Guanidine Hydrochloride. *European Journal of Biochemistry,* 63: 263-269.
- Petersen A B, Rønne M H, Larsen T O and Clausen M H** (2014) The chemistry of griseofulvin. *Chemical reviews,* 114(24), 12088-12107.
- Piccoli B C, Segatto A, Oliveira C S, D'Avila da Silva F, Aschner M and da Rocha, J.** (2019) Simultaneous exposure to vinylcyclohexene and methylmercury in *Drosophila melanogaster*: biochemical and molecular analyses. *BMC pharmacology & toxicology,* Dec 19;20(Suppl 1)
- Pickett C B and Lu A Y** (1989) Glutathione S-transferases: gene structure, regulation, and biological function *Annual review of biochemistry,* 58: 743-764.
- Ryter S W, Kim H P, Hoetzel A, Park J W, Nakahira K, Wang X and Choi A M** (2007) Mechanisms of cell death in oxidative stress. *Antioxidants & redox signaling,* 9(1), 49-89.
- Salmon T B, Evert B A, Song B and Doetsch P W** (2004) Biological consequences of oxidative stress-induced DNA damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic acids research,* 32(12), 3712-3723.
- Sefer N E and Büyükgüzel K** (2018) Piperazin'in *Galleria mellonella*'nın Yaşama ve Gelişimi Üzerine Etkisi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi,* 8(1), 365- 372.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Shi H, Pei L, Gu S, Zhu S, Wang Y, Zhang Y, Li B** (2012). Glutathione S-transferase (GST) genes in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, and comparative analysis with five additional insects. *Genomics*. 2012 Nov;100(5):327-35.
- Silva Cruz A, Silva Zacarin E C, Bueno O C and Malaspina O** (2009) Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honey bee (*Apis mellifera*) larvae. *Cell biology and toxicology*, 26: 165-76.
- Snedecor G S and Cochran W G** (1989) Statistical methods, 8th edn., *Iowa State University Press*, Ames, IA.
- Sochaski M, Bartfay W J, Thorpe S R, Baynes J W, Bartfay E, Lehotay D C and Liu P P** (2002). Lipid peroxidation and protein modification in a Mouse model of chronic iron overload. *Metabolism: clinical and experimental*, 51(5), 645–651.
- Dasari S, Ganjari M S, Yellanurkonda P, Basha S and Meriga B** (2018) Role of glutathione S-transferases in detoxification of a polycyclic aromatic hydrocarbon, methylcholanthrene, *Chemico-Biological Interactions*, Volume 294, Pages 81-90, ISSN 0009-2797.
- Staats S, Lüersen K, Wagner A E and Rimbach G** (2018) *Drosophila melanogaster* as a Versatile Model Organism in Food and Nutrition Research. *Journal of Agricultural Food Chemical*. 2018 Apr 18;66(15):3737-3753.
- Süleyman H, Gül V and Erhan E** (2018) Oksidatif Stres ve Doku Hasarı. *Erzincan Tıp Dergisi*, 1(1): 1-4.
- Ustundag G, Buyukguzel E and Buyukguzel K** (2019) The Effect of Niclosamide on Certain Biological and Biochemical Properties of *Drosophila melanogaster*. *European Journal of Biology*, 78(1): 29-38.
- Wilce M C and Parker M W**. Structure and function of glutathione S-transferases. *Biochimica et biophysica acta*. 1994; 1205: 1–18.
- Xiong G, Tong X, Yan Z, Hu H, Duan X, Li C, Han M, Lu C and Dai F** (2018) Cuticular protein defective Bamboo mutant of *Bombyx mori* is sensitive to environmental stresses, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Volume 148, Pages 111-115, ISSN 0048-3575.
- Yi Y, Xu W, Fan Y and Wang H X** (2021) *Drosophila* as an emerging model organism for studies of food-derived antioxidants. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 143, 110307.

ÖZGEÇMİŞ

Kardelen DALGAN İzmir’e bağlı Ödemiş ilçesinde ilköğretim ve lise eğitimini burada tamamlamıştır. Lise eğitimini Ödemiş Hulusi Uçaçelik Anadolu lisesinde tamamlamış olup 2018 yılında lisans eğitimini Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesinde tamamlamıştır. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında araştırmalarına devam etmektedir.