

# TEKNOFEST

## HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

### BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

#### PROJE DETAY RAPORU

#### FİKİR KATEGORİSİ

**PROJE ADI:** ANADOLU BAL ARISI (*Apis Mellifera Anatoliaca*) ZEHRİNİN  
KANSER ARAŞTIRMALARINDA BİYOTEKNOLOJİK KULLANIM POTANSİYELİ

**TAKIM ADI:** JÜPİTER

**TAKIM ID:** T3-12435-156

**DANIŞMAN ADI:** Zerrin Benal Hepsöğütlü

## İçindekiler

### 1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Çalışmamızda “Yıpratıcı ve ölümcül bir hastalık olan kanseri yenmek için immün sistemi güçlendirmesiyle bilinen Anadolu bal arısı zehri başka yönleriyle de doğal ve etkili bir kaynak olabilir mi?” sorusuna yanıt aradık ve arı zehrinin kanserle mücadele konusunda alternatif bir tedavi yöntemi olabileceğini göstermeyi hedefledik. Çalışmamızda farklı konsantrasyonlardaki Anadolu bal arısı zehirlerini melanom deri kanseri (SK-MEL) ve sağlıklı insan böbrek (HEK293) hücre hatlarına uygulayarak belirli dozlarda kanser hücrelerini öldürüp öldürmediklerini inceledik.

Sonuçlar incelendiğinde ülkemizdeki en yaygın arı cinsi olan *Apis mellifera anatoliaca* (Anadolu bal arısı) zehrinin SK-MEL deri kanseri hücreleri üzerinde düşük dozlarda bile öldürücü bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra sağlıklı böbrek hücre hattı olan HEK293 hücrelerinde öldürücü dozların daha yüksek olduğu anlaşılmıştır.

Yaptığımız deneyler sonucunda aldığımız verilere göre ülkemizde oldukça yaygın olarak bulunan Anadolu bal arısı zehri deri kanseri (melanoma) tedavisi için umut vaat etmektedir, bu verilerin ışığında Anadolu bal arısının zehri üzerinde daha fazla çalışma yapılarak başta deri kanseri olmak üzere diğer kanser türlerinde ülkemiz ve dünya tıp sektörüne büyük katkılar yapılabilir.

### 2. Problem/Sorun:

Kanser vücudumuzun çeşitli bölgelerindeki hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla oluşan yüzden fazla hastalık grubudur. Çok çeşitli kanser tipleri olmasına rağmen hepsi anormal hücrelerin kontrol dışı çoğalmasıyla başlar. Tedavi edilmediği takdirde ölüme neden olabilir. Birçok kanser türü mevcuttur. Kanser akciğerlerde, memede, kalın bağırsakta ve kanda başlayabilir. Kanser çeşitleri büyüme ve yayılma açısından farklılık gösterirler. Bazı kanserler daha hızlı büyür ve yayılır. Kanser hücreleri vücudun diğer bölümlerine yayılabilir. Kanser türleri tedavilere de farklı şekilde yanıt verirler. Dünyada her yıl 14 milyon kişiye kanser tanısı konuluyor ve 32 milyonun üzerinde kişi kanserle yaşamını sürdürüyor. Ülkemizde de her yıl yaklaşık 150 bin kişiye kanser tanısı konuluyor. Ayrıca kanser her ülkede yıllık %1-2 oranında artış gösteriyor.

Kanser tedavisinde radyoterapi, kemoterapi, hedefe yönelik akıllı ilaçlar, immünoterapi ve cerrahi gibi tedavi yöntemleri kullanılmaktadır fakat her hastanın bu tedavileri karşılayacak maddi gücü olmadığı gibi tedavi süreci de çok yıpratıcı olabilmektedir. Yapılan bu çalışmada kanser türü olarak cilt kanseri (melanoma) seçilmiştir. Cilt (Deri) kanseri bütün kanserler arasında en sık görülen kanserlerdendir. Vücudu mikrop, bakteri ve zararlı ışıklardan koruma, sıvı kaybını önleme, D vitamini alımını sağlama, gibi birçok görevi olan derinin kanserleşmesi insan için büyük sorunlar yaratabilmektedir. Cilt kanserinin bir türü olan melanoma, deriye rengini veren melanosit adlı hücrelerin kontrolsüzce büyüüp çoğalması ile meydana gelir, bu büyüme kötücül (malignant) olarak adlandırılır. Ülkemizde melanoma, son 30 yılda %237 oranında bir artış göstermiştir. Ayrıca bu kanser çeşidi cilt kanserleri arasında çok sık görülmesine de cilt kanserine bağlı ölümlerin %75'ine sebep olmaktadır.

Cilt kanserine sebep olan başlıca faktörler UV, UVA, UVB ışınları; solaryum, benler, metal işleri ile uğraşmak ve fototerapidir. Melanoma, deri üzerinde doğuştan var olan veya yaş ilerledikçe oluşan benler üzerinde oluşabilir ve saç derisi, ayak tabanı da dahil olmak üzere derinin herhangi bir bölümünde meydana gelebilir. Melanom cilt kanseri, kadınlarda daha çok boyun, yüz ve bacaklarda, erkeklerde ise sırt ve boyunda oluşmaktadır. Fakat kanser bu bölgeler dışında tırnak içi, avuç içi, ayak tabanında da gelişebilir. Bütün bunların yanında çok sık rastlanmamakla birlikte kanserli lezyon göz, ağız veya genital bölgede de oluşabilmektedir. Erken evrede teşhis edildiğinde tedavi edilebilir bir kanser türü olan melanom teşhis için geç kalındığında tedavi şansını düşüren bir kanser türü haline gelebilir.



Resim 1: Kanser Hastası

Resim 2: Melanoma

Resim 3: Melanoma

### 3. Çözüm

Çalışmamızda farklı konsantrasyonlardaki Anadolu bal arısı zehirlerini melanom deri kanseri (SK-MEL) ve sağlıklı insan böbrek (HEK293) hücre hatlarına uygulayarak belirli dozlarda kanser hücrelerini öldürüp öldürmediklerini inceledik. Sonuçlar incelendiğinde ülkemizdeki en yaygın arı cinsi olan *Apis mellifera anatoliaca* (Anadolu bal arısı) zehrinin SK-MEL deri kanseri hücreleri üzerinde düşük dozlarda bile öldürücü bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra sağlıklı böbrek hücre hattı olan HEK293 hücrelerinde öldürücü dozların daha yüksek olduğu anlaşılmıştır.

Yaptığımız deneyler sonucunda aldığımız verilere göre ülkemizde oldukça yaygın olarak bulunan Anadolu bal arısı zehiri deri kanseri (melanoma) tedavisi için umut vaat etmektedir,

### 4. Yöntem

Kullanılacak 2,6 mg arı zehri 1,6 ml su içerisinde sonikasyon işlemi ile çözüldü. Saf su içerisinde çözülen zehir 0.22µm'lik şırınga filtresi kullanılarak sterilize edildi. Örneklerin bir miktarı protein analizi için ayrıldı. Konsantrasyonu 1mg/1ml olacak şekilde seyreltme işlemi yapıldı. BCA protein analizi kiti kullanılarak hazırlanan standartların ve 25µl ve 12,5µl'lik arı zehrinin boyama işlemi gerçekleştirildi. 30 dakikalık inkübasyon süresinden sonra spektrofotometre ile analiz edildi, sonuçlar bilgisayar ortamına aktarıldı. Standartlarla çıkartılan grafik üzerinden arı zehrindeki protein miktarı aşağıdaki gibi hesaplandı:



Zehir miktarı	Protein miktarı (µg/ml)
25 µl kovan içi venom	650
12.5 µl kovan içi venom	344,6

Resim 4: Protein Analizi

Laboratuvar stoklarında bulunan SKMEL (melanom) ve HEK 293 (insan sağlıklı böbrek hücre hattı) hücre hatları azot tankından çözdürüldü. Çözdürme işlemi için şu aşamalar izlendi: Hücrelerin azot tankından çıkarıldı, 37°C de su banyosu içerisinde bir süre bekletilip erimesi sağlandı, kabin içerisinde kriyotüpe 2 ml besin ortamı eklenilerek pipetleme yardımıyla karıştırıldı, hücreler santrifüj tüpüne aktarıldı, 5 dk boyunca 1000 rpm'de santrifüj yapıldı, dibe çöken hücreler süpernatat kısmı atılarak 25 cm<sup>2</sup>'lik flaska aktarıldı, üzerlerine 4 ml ortam koyularak inkübasyona bırakıldı.

Çalışma boyunca hücrelerin gerekli zaman aralıklarıyla pasajlama ve besin ortamı değişimi işlemleriyle bakımları yapıldı. Besin ortamı olarak DMEM -F12 ortamı içerisinde hücreler inkübe edildi. Flasklarda üretilen SKMEL ve HEK293 hücre hatlarına ait hücreler monolayer olarak üredikleri için pasajlama işlemlerinde tripsin edta enzimi kullanılarak flask yüzeyinden kaldırıldı. 3 ml besin ortamıyla hücreler flasktan toplandı. Toplanılan hücrelerin 10µl'si 90 µl PBS üzerine eklenerek sayım tüpü hazırlandı. Geri kalan hücreler santrifüj tüpünde 5 dk 1000 rpm'de santrifüj edildi. 96'lık pleyt içerisinde hücre ekimi yapılması için belirlenen 10<sup>5</sup> hücre/ml konsantrasyonunu sağlamak için hemositometre ile mikroskop yardımıyla sayım yapıldı. Santrifüj sonrası hücre konsantrasyonu 10<sup>5</sup> hücre/ml olacak şekilde kontrol gruplarına her göze 100µl, zehir eklenecek olan gruplara 90µl olacak şekilde hücre ekimi gerçekleştirildi. Ekimi gerçekleştirilen hücreler 24 saat boyunca inkübe edildi.

24 saatlik inkübasyon sonrasında 0,5µg/ml, 5µg/ml, 50µg/ml konsantrasyonlarında ve 2 tekrarlı olacak şekilde her göze 10 µl arı zehri hücrelere eklendi. Pozitif kontrol olarak zehir eklenmeyen hücreler, negatif kontrol olarak 0,2 µg/ml, 2 µg/ml, 20 µg/ml konsantrasyonlarında kemoterapi ilacı olan doxorobucin kullanıldı. Zehrin eklenmesinden sonra hücreler 48 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrasında mikroskopik gözlem yapılarak hücreler fotoğraflandı ve MTT maddesini ekleme aşamasına geçildi.

Her göze 20µl olacak şekilde MTT maddesi eklendi. Hücreler 4 saat inkübasyona bırakıldı. 4 saatin sonunda gözlerin içerisi boşaltıldı. MTT maddesi ile oluşan formazan kristallerinin çözdürülmesi amacıyla her göze 150µl olacak şekilde DMSO eklendi. Spektrofotometre kullanılarak ölçüm yapıldı. Hücrelerin maddelerle birlikte 48 saat inkübasyonundan sonra yapılan mikroskopik gözlemlerde arı zehrinin HEK293 hücre hattı üzerinde 50µg/ml'lik konsantrasyonda etki ettiği gözlemlenirken SKMEL hücre hattı üzerinde 5µg/ml'lik konsantrasyondan itibaren kontrol hücrelerine kıyasla hücre ölümleri olduğu gözlemlendi.



Resim 5: Zehri eklenmemiş HEK293 hücre hattı kontrol grubu



Resim 6: 50µg/ml zehri eklenmiş HEK293 hücre hattı



Resim 7: Zehri eklenmemiş SKMEL hücre hattı kontrol grubu



Resim 8: 5µg/ml zehri eklenmiş SKMEL hücre hattı

Sonuçlar için Graphpad programı kullanılarak hücrelerin yüzde 50'sini öldüren dozlar (IC50 değerleri) hesaplandı ve canlılık grafikleri çıkartıldı. Hesaplanan değerlerin mikroskopik gözlemlerle de paralel olarak kanser hücreleri üzerinde etkili olan dozların sağlıklı hücrelerde öldürücü etkisi olmadığı, sağlıklı hücreler için IC50 değerlerinin daha yüksek olduğu görüldü.

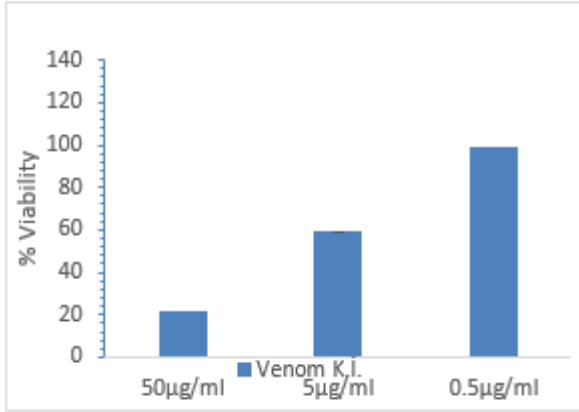
Örnekler	SKMEL(µg/ml)	HEK293(µg/ml)
Venom Kovan İçi	1,81 ± 0,221	8,29 ± 1,22

Resim 9: IC50 değerleri tablosu

Hücrelerin 3 farklı dozdaki arı zehri için (0,5µg/ml, 5µg/ml, 50µg/ml) zehir eklenmeyen kontrol grubuna kıyasla yüzde canlılıkları hesaplanarak grafik haline getirildi. Her 3 dozda da yüzde canlılıkların sağlıklı HEK293 hücre hattında daha yüksek oranlarda olduğu gözlemlendi.

%Canlılık	Venom K.İ.
50µg/ml	21,640
5µg/ml	58,998
0.5µg/ml	98,861

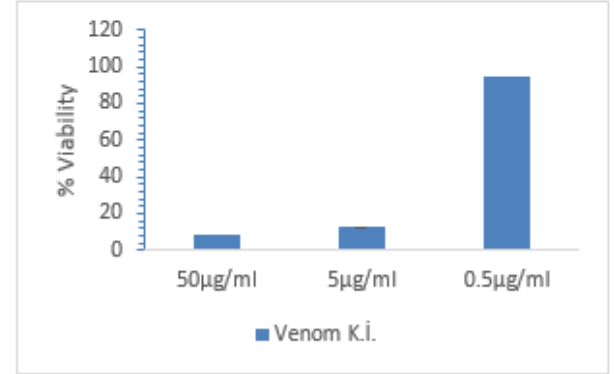
Resim 10: HEK293 hücre hattı % canlılık oranları



Resim 12: HEK293 hücre hattı % canlılık grafiği

%Canlılık	Venom K.İ.
50µg/ml	8,629
5µg/ml	12,284
0.5µg/ml	94,822

Resim 11: SKMEL hücre hattı % canlılık oranları



Resim 13: SKMEL hücre hattı % canlılık grafiği

Sonuçlar incelendiğinde ülkemizdeki en yaygın arı cinsi olan *Apis mellifera anatoliaca* (Anadolu bal arısı) zehrinin SK-MEL deri kanseri hücreleri üzerinde düşük dozlarda bile öldürücü etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra sağlıklı böbrek hücre hattı olan HEK293 hücrelerinde öldürücü dozların daha yüksek olduğu anlaşılmıştır.

## 5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Literatür taramaları sonucunda Anadolu bal arısı zehrinin kanser hücreleri üzerindeki etkilerinin test edildiği bir çalışma bulunmadığı görülmüştür, bu da projemizin alanında özgün bir çalışma olduğunu kanıtlamaktadır.

Günümüzde kullanılan kanser tedavi yöntemlerinin (kemoterapi, radyoterapi, cerrahi müdahale, akıllı ilaçlar...) hastalar üzerinde fiziksel, mental ve ekonomik olarak ciddi olumsuz etkileri vardır. Kemoterapi ve radyoterapi sağlıklı hücrelerde de hasara yol açmakta ve ileri ki dönemlerde başka hastalıklara sebep olabilmektedir. Aynı zamanda bu tedavilerden dolayı vücudu ve bağışıklık sistemi yorgun düşen hastalar için basit enfeksiyonlar bile ölümcül hale gelebilmektedir. Cerrahi müdahale ve akıllı ilaçlar ise ekonomik yönden karşılanması zor tedavilerdir ve bu tedavilere ulaşamadığı için hayatını kaybeden hastalar vardır.

Biz deneylerimiz sonucunda Anadolu bal arısı zehrinin doğal ve kolay ulaşılabilir olması sebebiyle var olan tedavilere kıyasla çok daha az yan etkiye sahip ve ucuz bir tedavi yöntemi olabileceğine inanıyoruz. Anadolu bal arısının zehri üzerinde daha fazla çalışma yapılarak kanser tedavisinde yeni bir dönem başlayabilir, başta deri kanseri olmak üzere diğer kanser türlerinde ülkemiz ve dünya tıp sektörüne büyük katkılar yapılabilir.

## 6. Uygulanabilirlik

İleri ki aşamalarda Anadolu bal arısı zehrinin diğer kanser hücreleri üzerindeki etkileri de test edilebilir ve alınan sonuçlar doğrultusunda tıp ve farmakoloji alanlarının yardımıyla bu zehirden uygun formda bir ilaç geliştirilerek kanser tedavisinde ucuz ve etkili bir yöntem olarak kullanılabilir. Anadolu bal arısı ülkemizde en yaygın bulunan arı ırkı olduğu için arılara zarar vermeden üretmeye devam ettikleri zehrin bir kısmı kolay bir şekilde toplanabilir, bu da proje fikrimizin uygulanabilirliğine önemli bir katkı sağlamaktadır. Bunun yanı sıra her ilaçta olduğu gibi bu ilaca da alerjisi olan hastalar bulunması gayet normaldir, arı zehrine duyarlılığı olan kişiler belirlenerek bu kişilere yönelik tedavi özelleştirilebilir veya başka yöntemler ele alınabilir. Ülkemizde arı sokmasına bağlı ciddi yaygın reaksiyon gelişme riski %2,2 olarak saptanmıştır dolayısıyla diğer tedavi yöntemleriyle kıyaslandığında komplikasyon yaşanma riski oldukça düşüktür.

## 7. Proje Fikrinin Hedef Kitlesi (Kullanıcılar):

Proje fikrinin hedef kitlesi şu an için bütün kanserler arasında en sık görülen kanserlerden biri olan deri kanserine (melanoma) sahip olan hastalardır. Çalışmaların devamında yapılan testlerle Anadolu bal arısı zehrinin diğer kanser türlerinde de öldürücü etkisi olduğu görüldüğü takdirde hedef kitleyi genişletebileceğimizi düşünüyoruz.

## 8. Proje Ekibi

**Takım Lideri:** İldem Akgün

Adı Soyadı	Projedeki Görevi	Okul	Projeyle veya problemle ilgili tecrübesi
İdil Bildirici	Takım üyesi	İzmir Atatürk Lisesi	Projeyi yürütme
İldem Akgün	Takım lideri	İzmir Atatürk Lisesi	Projeyi yürütme
Zerri Benal Hepsöğütü	Danışman Öğretmen	İzmir Atatürk Lisesi	Üyelere danışmanlıkta bulunma

Resim 14: Proje ekibi



## 9. Kaynaklar

1. Ankara Akupunktur 2016; 4 (1): 8-14, BAL ARISI ZEHİRİNİN TAMAMLAYICI TIPTAKİ GÜNCEL YERİ, İbrahim TEKEOĞLU1, Mehmet AKDOĞAN
2. Atatürk Üni. Zir.Fak.Der. 21 (2), 84 - 100, 1990 BAL ARISI (Apismellifera L.) ZEHİRİ Hikmet ÖZBEK
3. Benton, A.W., 1968. Venom Toxicity and Proteins of Genus Apis. J. Apicultural Res. 7, 113-114
4. Bogdanov, S., 2012. Bee venom: Composition, health, medicine: A review. Peptides 44: 18-22.
5. Habermann, E., 1972. Bee and Wasp Venoms, Science 177: 314-322.
6. Hegazi AG, Abd Raboh FA, Ramzy NE, Shaaban DM, Khader DY. Bee venom and propolis as new treatment modality in patients with localized plaque psoriasis. Int Research J Med and Med Sci 2013; 1(2): 27-33
7. <http://atlasgeneticsoncology.org/Tumors/OralMelanomaID6647.html>
8. <https://hsgm.saglik.gov.tr/kanser-nedir-belirtileri> 04.07.2019
9. <https://neolife.com.tr/cagin/hastaligi/kanser/nedir>
10. <https://www.acibadem.com.tr/hayat/bilgi/kanser>
11. <https://ahmetinci.com/orta-anadolu-bal-arisi-projesi>
12. <https://sinirbilim.org/kanser-hucreleri/>
13. <https://www.aricilik.com.tr/anadolu-arisi>
14. <https://www.maybir.org.tr/bal-arisinin-taksonomisi>
15. <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/skin-cancer/multimedia/melanoma/sls-20076095>
16. <https://www.medicalpark.com.tr/melanoma-cilt-kanseri-nedir-belirtileri-ve-tedavi-yontemleri-nelerdir/hg-1808>
17. <https://www.memorial.com.tr/saglik-rehberleri/cilt-deri-kanseri-belirtileri-tedavisi-ve-korunma-yontemleri/>
18. <https://www.organicfacts.net/bee-venom.html>
19. <https://www.saglik.gov.tr/Eklenti/8635,kanser-istatistikleridocx>
20. <https://www.verywellhealth.com/how-to-treat-a-bee-sting-1298219>
21. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
22. Kandemir, I., Kence, A., 1995. Allozyme Variation a Central Anatolian Honeybee (Apismellifera L.) Population. Apidologie. 26: 503-510
23. Kim HW, Kwon YB, Ham TW, Roh DH, Yoon SY, Kang SY, et al. General pharmacological profiles of bee venom and its water-soluble fractions in rodent models. J Vet Sci 2004, 5(4), 309-318
24. King ve Guralnick, 2004; White, 2000
25. Kwon YB, Lee HJ, Han HJ, Mar WC, Kang SK, Moon OB, et al. The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats. Life Scies 2002, 71(12), 191-204.



26. Lee MS, Pittler MH, Shin BC, Kong JC, Ernst E. Bee Venom Acupuncture for Musculoskeletal Pain: A Review. *J Pain* 2008, 9(4):289-297
27. Oršolić, N., 2012. Bee venom in cancer therapy. *Cancer and Metastasis Reviews* 31(1-2): 173-194
28. Öder, E., 1987. İç Anadolu Arılarının Islahının Olanak ve Koşulları. Türkiye 1. Arıcılık Kongresi (22-24 Ocak 1980). Tar. Orm. ve Köyişleri Bak. Gen. Yay. No: 154. Sayfa 30- 36. Ankara.
29. Pursley, R.E., 1973. Stinging Hymenoptera, *Amerikan Bee J.* 113: 131-135
30. Ramadan, M.F., Al-Ghamdi, A., 2012. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods* 4(1): 39-52
31. Riches, H.R.C., 1982. Hypersensitivity to Bee Venom. *bee World* 63: 7-22
32. Ruttner, F., 1988. *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer Verlag. Berlin.
33. Smith, D. R., Slaymaker, A., Palmer, M., Kaftanoğlu, O., 1997. Turkish Honeybees Belong to the East Mediterranean Lineage. *Apidologie*. 28: 269-274
34. U. Arı Drg. Kasım 2017, 17 (2): 82-92 / U. Bee J. November 2017, 17 (2): 82-92 Anadolu Arısı (*Apis mellifera anatoliaca*)'nın Bazı Önemli Özellikleri Recep SIRALI , Şeref CİNBİRTOĞLU , Zeynep Şebnem DEVELİ
35. World Health Organization - Cancer Country Profiles, 2014
36. Yakup ŞİRİN1, Hilal Ebru ÇAKIR1, Zehra CAN2, Oktay YILDIZ3, Sevgi KOLAYLI1 BAL ARISI ZEHRİNİN KARAKTERİZASYONUNDA SDS-PAGE
37. Zong, Q.S., Wu, J.Y., 2014. A new approach to the synthesis of royal jelly acid. *Chemistry of Natural Compounds* 50(3): 399-401.

