

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

BAL ARISI (*Apis mellifera*) ZEHRİNİN
ANTIİNFLAMATUAR, ANTİNOSİSEPTİK VE
ANTİPİRETİK ETKİSİ

Hazırlayan
Sevim KATIPOĞLU

Danışman
Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

Doktora Tezi

Ağustos 2025
KAYSERİ

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

BAL ARISI ZEHRİNİN (*Apis mellifera*)
ANTIİNFLAMATUAR, ANTİNOSİSEPTİK VE
ANTIPIRETİK ETKİSİ
(Doktora Tezi)

Hazırlayan
Sevim KATİPOĞLU

Danışman
Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FDK-2023-12376 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Ağustos 2025
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Sevim KATİPOĞLU

“Bal Arısı (*Apis mellifera*) Zehrinin Antiinflamatuvar, Antinosiseptif ve Antipiretik Etkisi” adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Sevim KATİPOĞLU

Danışman

Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

Tarımsal Biyoteknoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Semih YILMAZ

TEŞEKKÜR

Bana çalışmalarım süresince her türlü yardımı ve fedakârlığı sağlayan, bu akademik yolculukta, bilgisizliğin karanlığında bana ışık olarak yol gösteren, çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Sibel SİLİCİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme süresince tezin daha iyi olabilmesi için verdikleri bilgi ve destekler için sayın hocalarım Doç. Dr. Osman İBİŞ ve Prof. Dr. Mehmet Ulaş ÇINAR hocalarıma ve tez jüri üyelerim Prof. Dr. Meral KEKEÇOĞLU ve Dr. Duran ÖZKÖK hocalarıma teşekkürlerimi borç bilirim. Ayrıca doktora tezimin histolojik analizlerinin yapılması ve değerlendirilmesinde her türlü bilgi ve tecrübelerini aktaran Doç. Dr. Züleyha DOĞANYİĞİT hocama teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde, FDK-2023-12376 proje kodu ile maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Eğitim hayatımda destek olarak bana çok değerli katkıları olan; halam Serap RIEDEL'e, halam Seval KALELİ'ye; ve Yurter ÖZCAN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çok küçük yaşımdan beri bilime olan hayranlığımı ve ilgimi büyük bir şevkatle destekleyen babam Ahmet Cihat DEMİRAY'a ve annem Saliha DEMİRAY'a; bu zorlu yolculuğun hüznü zamanlarında duygularıma yuva olan canım kız kardeşim Sevgican CEZVECİ'ye; her anımda yanımda olarak beni her zaman destekleyen değerli eşim Anıl Aydın KATİPOĞLU'na ve ailesine; küçük yaşına rağmen, bu süreçteki yoğunluğumu anlayışla karşılayan biricik kızım Tülay Ece KATİPOĞLU'na en kalbi teşekkürlerimi sunarım. En çok da tüm zorluklara göğüs gererek, vazgeçmeden; büyük bir bilim aşkıyla bu yola devam eden kendime teşekkür ederim.

Sevim KATİPOĞLU

Ağustos 2025, KAYSERİ

**BAL ARISI (*Apis mellifera*) ZEHRİNİN ANTIİNFLAMATUAR,
ANTİNOSİSEPTİF VE ANTİPİRETİK ETKİSİ**

Sevim KATIPOĞLU

**Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Doktora Tezi, Ağustos 2025
Danışman: Prof. Dr. Sibel SİLİCİ**

ÖZET

Bu çalışmada, arı zehrinin (0.05, 0.2, 0.5 ve 1 mg/kg dozlarda) sıçanlarda oluşturulan inflamasyon, nosisepsiyon ve hipertermi modelleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Arı zehrinin kimyasal içeriği HPLC yöntemi ile analiz edilmiş ve zehrin % 47.70 melittin, %15.33 fosfolipaz A₂ ve %1.90 apamin içerdiği tespit edilmiştir. Akut inflamasyon modeli, %1'lik karragenan ile oluşturulmuş ve ödem hacmi % inhibisyon oranı, kanda CRP ve ESR düzeyleri ile birlikte proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeyleri ölçülmüştür. Arı zehri, 0.5 mg/kg ve üzerindeki dozlarda, indometazine benzer şekilde %50'nin üzerinde ödem inhibisyonu sağlamıştır (P<0.001). 0.05 mg/kg dozdan itibaren CRP düzeylerinde anlamlı düşüş (P<0.001) belirlenirken, ESR düzeylerinde anlamlı fark görülmemiştir. IL-1 β ; 0.2 ve 0.5 mg/kg arı zehri dozlarında, TNF- α ise 1mg/kg dozda baskılanmıştır. Nosiseptif etkinlik; mekanik, kimyasal ve termal testlerle değerlendirilmiştir. Arı zehri, 0.2 mg/kg ve üzeri dozlarda ağrı davranışlarını anlamlı (P<0.001) şekilde azaltmıştır. Bira mayası enjeksiyonu ile indüklenmiş hipertermi modelinde arı zehrinin antipiretik etkisi değerlendirilmiştir. Ateş düşürücü etki 0.05 mg/kg dozdan itibaren gözlenmiş; en güçlü yanıt 4. saatin sonunda standart ajana göre etkinliğini hala koruyan 1 mg/kg dozda elde edilmiştir. Sonuçlar, bal arısı zehrinin hem inflamasyon, hem ağrı, hem de ateş gibi fizyopatolojik süreçlerde terapötik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Tespit edilen etkinin doza bağlı olduğu ve 1 mg/kg dozlarda karaciğerde doku hasarına neden olabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Arı zehri, antiinflamatuvar, antinosiseptif, antipiretik

ANTI-INFLAMMATORY, ANTINOCICEPTIVE AND ANTIPRETIC EFFECTS OF HONEY BEE (*Apis mellifera*) VENOM

Sevim KATIPOĞLU

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
PhD Thesis, August 2025
Supervisor: Prof. Dr. Sibel SİLİCİ

ABSTRACT

In this study, the effects of bee venom (0.05, 0.2, 0.5 and 1 mg/kg doses) on inflammation, nociception and hyperthermia models induced in rats were investigated. The chemical composition of bee venom was analyzed by HPLC and it was found to contain 47.70% melittin, 15.33% phospholipase A₂ and 1.90% apamin. An acute inflammation model was induced with 1% carrageenan and the % inhibition of edema volume, blood CRP and ESR levels, as well as proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF- α levels were measured. Bee venom at doses of 0.5 mg/kg and above inhibited edema by more than 50%, similar to indomethacin (P<0.001). A significant decrease in CRP levels was observed starting from the 0.05 mg/kg dose (P<0.001), while no significant difference was observed in ESR levels. IL-1 β was suppressed at 0.2 and 0.5 mg/kg bee venom doses, and TNF- α was suppressed at 1 mg/kg. Nociceptive efficacy was evaluated by mechanical, chemical, and thermal tests. Bee venom significantly (P<0.001) reduced pain behaviors at doses of 0.2 mg/kg and above. The antipyretic effect of bee venom was evaluated in a brewer's yeast injection-induced hyperthermia model. Antipyretic effect was observed starting from the 0.05 mg/kg dose; the strongest response was obtained at the 1 mg/kg dose, which still maintained its efficacy compared to the standard agent at the end of the 4th hour. The results indicate that honeybee venom has therapeutic potential in pathophysiological processes such as inflammation, pain, and fever. It has been determined that the effect detected is dose-dependent and may cause tissue damage in the liver at doses of 1 mg/kg.

Keywords: Bee venom, anti-inflammatory, antinociceptive, antipyretic

İÇİNDEKİLER

BAL ARISI (*Apis mellifera*) ZEHRİNİN ANTIİNFLAMATUAR, ANTİNOSESİPTİK VE ANTİPİRETİK ETKİSİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	ii
KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR.....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xv
GİRİŞ	1

1.BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. İnflamasyon	2
1.1.1. İnflamasyonda Etkili Temel Medyatorlar	4
1.1.2. Reaktif Oksijen ve Azot Türleri (ROS ve RNS) ve İnflamasyondaki Rolü	6
1.1.3.Önemli İnflamasyon Yolakları.....	7
1.1.3.1. NF-κB (Nükleer Faktör kappa B) Sinyal Yolağı.....	7
1.1.3.2.MAPK (Mitojenik Aktivite Protein Kinaz) Sinyal Yolağı	8
1.1.3.3.JAK-STAT3 (Janus Kinaz / Transkripsiyon Aktivatörü 3) Sinyal Yolağı.....	9
1.1.3.4. Diğer İnflamasyon Yolakları	10
1.1.4.1. NF-KB Yolağının İnhibisyonu.....	11
1.1.4.3. JAK-STAT3 Yolağının Baskılanması	12
1.1.4.4. Sitokin, Kemokin ve Lipid Medyator Düzeylerinin Azaltılması	12
1.1.5. Arı Zehrinin Reaktif Oksijen ve Azot Türleri Üzerine Etkisi.....	13
1.1.6. İnflamasyonda Kullanılan İlaç Grupları ve Etki Mekanizmaları	13
1.2.Ağrı, Ağrının Tanımı ve Sınıflandırılması	14

1.2.1. Ağrının Kaynağına Göre Sınıflandırılması.....	15
1.2.2. Ağrının Süresine Göre Sınıflandırılması.....	16
1.2.3. Ağrının Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması	16
1.2.4. Nosisepsiyonda Etkili Temel Medyatörler	17
1.2.5. Nosisepsiyon Sinyal Yolakları ve Nosisepsiyon Mekanizmaları	18
1.2.6. Arı Zehrinin Nosisepsiyon Yolaklarını Baskılayan Moleküler Mekanizmaları	21
1.2.7. Antinosiseptif Etkili Farmakolojik Ajanlar.....	22
1.3. Yüksek Ateş.....	23
1.3.1. Yüksek Ateşte Rol Oynayan Medyatörler	24
1.3.2. Yüksek Ateş ile İlişkili Hücrel Sinyal Yolakları.....	24
1.3.3. Geri Besleme Mekanizmaları	25
1.3.4. Arı Zehrinin Yüksek Ateş Yolakları Üzerindeki Muhtemel Antipiretik Etkisi.....	26
1.3.5. Antipiretik Etkili Farmakolojik Ajanlar	26
1.4. C-Reaktif Protein (CRP) ve Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESR) 'nın Sitokinlerle İlişkisi.....	27
1.5. Bal Arısı (<i>Apis Mellifera</i>).....	28
1.6. Bal Arısı Zehri.....	32
1.6.1. Protein ve Peptitler	33
1.6.2. Enzimler ve Diğer Bileşenler	37
1.6.3. Bal Arısı Zehrinin Biyoaktivitesi.....	39

2.BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal	54
2.2. Yöntem	55
2.2.1. Arı Zehrinin İçeriğinin HPLC İle Belirlenmesi.....	55
2.2.2. Arı Zehrinin Saflaştırılması	55
2.2.3. Deney Hayvanı Çalışmaları.....	55
2.2.3.1. Ratlarda İnflamasyon Modeli.....	56
2.2.3.1.1. % 1'lik Karagenan Solüsyonunun Hazırlanması	56

2.2.3.1.2. Il-1 β , Il-6, TNF- α , Sedimantasyon (ESR) Ve C-Reaktif Protein (CRP) Modölatörlerinin Belirlenmesi	57
2.2.3.1.3. Histolojik Analizler	58
2.2.3.2. Ratlarda Nosisepsiyon Modelleri.....	59
2.2.3.2.1. Mekanik Uyaranın Kullanıldığı Test Modeli	59
2.2.3.2.2. Kimyasal Uyaranın Kullanıldığı Test Modeli.....	60
2.2.3.2.3. Termal Uyaranın Kullanıldığı Test Modeli (Hot plate testi)....	61
2.2.3.3. Ratlarda Hiperpireksi Modeli	62
2.2.4.İstatistiksel Analizler	63

3.BÖLÜM

BULGULAR

3.1.HPLC Bulguları	65
3.2.Ratlarda İnflamasyon Modeli Bulguları	66
3.2.1. Histolojik Bulgular	75
3.3. Ratlarda Nosisepsiyon Test Modelleri Bulguları	77
3.4.Hiperpireksi Modeli Bulguları	80

4.BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1.Arı Zehinin HPLC Analizinin Değerlendirilmesi	85
4.2.Arı Zehrinin Antiinflamatuvar Etkisinin Değerlendirilmesi	87
4.2.1. Histolojik Bulguların Değerlendirilmesi	87
4.2.2. İnflamatuvar Sitokinlerin Değerlendirilmesi	89
4.2.3.Farklı Hayvan Zehirlerinde Antiinflamatuvar Etki	97
4.3.Arı Zehrinin Antinosiseptif Etkisinin Değerlendirilmesi	98
4.3.1.Mekanik Uyaran (Kuyruk Sıkıştırma) Testi	98
4.3.2.Kimyasal Uyaran (Formalin) Testi	99
4.3.3.Termal Uyaran (Hot Plate) Testi	101
4.3.4.Farklı Hayvan Zehirlerinde Antinosiseptif Etki	103
4.4.Arı Zehrinin Antipiretik Etkisinin Değerlendirilmesi	104
4.4.1.Farklı Hayvan Zehirlerinde Antipiretik Etki	105
KAYNAKÇA.....	108

EKLER.....	163
EK 1. Hiperpireksi modeli rat çalışması etik kurul raporu.....	163
EK 2. İnflamasyon modeli rat çalışması etik kurul raporu	164
EK 3. Nosisepsiyon modeli rat çalışması etik kurul raporu.....	165
ÖZGEÇMİŞ	166



KISALTMALAR

CRP: C-reaktif protein
ESR: Eritrosit sedimantasyon oranı
ROS: reaktif oksijen türleri
RNS: reaktif nitrojen türleri
DAMP: Hasar ile ilişkili moleküler örüntüler
PAMP: patojen ile ilişkili moleküler örüntüler
LPS: Lipopolisakkarit
IL-1 β : İnterlökin 1beta
IL-6: İnterlökin 6
TNF- α : Tümör nekroz faktörü alfa
NF-KB: Nükleer faktör kapa B
MAP-K: Mitojenik aktivite protein kinaz
JAK-STAT3: Janus Kinaz / Transkripsiyon Aktivatörü 3
TLR: Toll benzeri reseptör
sTNFR: Çözünür TNF reseptörü
COX-2: Siklooksijenaz-2
LOX: Lizin oksidaz
GSH: Glutatyon
GPx: Glutatyon peroksidaz
İNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
ERK1/2: Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz
JNK: Jun-N terminal kinaz
RTK: Reseptör tirozin kinaz
PGE₂: Prostaglandin E2
INF: İnterferon
NSAİİ: Nonsteroit antiinflamatuvar ilaç
LTB4 Lökotrien B4
ICAM-1: Hücrelerarası adhezyon molekülü
MCP: Monosit kemotaktik protein
vCAM: Vasküler hücre yapışma molekülü

AP: Aktivatör protein
CLL2: Kemokin ligand-2
SAA: Serum amiloid A
MMP-9: Matrix metalloproteinaz-9
HT22: Hipocampal tümör 22
Nrf2: Nükleer faktör eritroid 2 ilişkili faktör 2
DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
NMDA: N-metil-D-aspartat
MMP9: Matriks metalloproteinaz-9
EP: E-Prostanoid reseptör
5-HT: 5-Hidroksitriptamin
cGAS-STING: Döngüsel GMP-AMP sentaz - interferon genlerinin uyarıcısı
RANTES: Aktivasyonla düzenlenen normal T hücresi ekspresyonu ve salgılanması
IASP: Uluslararası Ağrı Çalışmaları Derneği
DRG: Dorsal kök ganglion
TRPV1: Isıya bağlı ağrıyı ve yanma hissini algılayan iyon kanalı
TRPM8: Geçici reseptör potansiyeli melastatin 8
TRPA1: Geçici reseptör potansiyeli ankirin 1
ASIC: Asit algılayan iyon kanalı
ATP: Adenozin trifosfat
DNA: Deoksiribonükleik asit
CIA: Kolajen kaynaklı artrit
AZ: Arı zehri
SF: Serum fizyolojik
PLA₂: Fosfolipaz A2
HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
kg: Kilogram
ml: Mililitre
µg: Mikrogram
µL: Mikrolitre

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. İnflamasyon markörlerinin başlıca etkileri.....	5
Tablo 2. Sinyal yolları ve inflamasyon yanıtları.....	11
Tablo 3. Arı zehri tarafından bloke edilen yollarla ilgili çalışmalar	12
Tablo 4. Arı zehrinin nosisepsiyon yollarına etkileri.....	22
Tablo 5. % İnflamasyon inhibisyonunun istatistiksel karşılaştırması.....	67
Tablo 6. Kan inflamasyon markörleri CRP ve ESR değerlerinin istatistiksel karşılaştırması	69
Tablo 7. Karaciğer doku örneklerinde gözlenen hasar oranları	76
Tablo 8. Mekanik, kimyasal ve termal uyaranlara karşı çeşitli tepki sürelerinin karşılaştırması.....	78
Tablo 9. Mekanik, kimyasal ve termal uyaranların %inhibisyon oranları.....	79
Tablo 10. Farklı zaman aralıklarında rektal sıcaklık ölçümleri.....	82
Tablo 11. Farklı zaman aralıklarında kontrol grubuna göre rektal sıcaklık farkları.....	83

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Lambda karagenan ile indüklenmiş pençe ödemi.....	57
Şekil 2. Arka ayağın ventral yüzeyine formalin enjeksiyonu	60
Şekil 3. Termal uyarının kullanıldığı sıcak plaka test modeli	62
Şekil 4. Hipertermi indüklenmiş ratlarda rektal ölçüm.....	63
Şekil 5. Arı zehrine ait temel biyoaktif bileşenlerin yüzde grafiği.....	66
Şekil 6. Gruplara ait antiinflamatuvar etkinin % inhibisyon bar grafiği gösterimi	68
Şekil 7. Eritrosit sedimentasyon değerleri grafiği	69
Şekil 8. C-reaktif protein değerleri grafiği	70
Şekil 9. İnterlökin 1 β (IL-1 β) düzeyleri	71
Şekil 10. İnterlökin 6 (IL-6) düzeyleri	72
Şekil 11. TNF- α düzeyleri.....	72
Şekil 12. TNF- α için absorbens eğrisi	73
Şekil 13. IL-1 β için absorbens eğrisi	74
Şekil 14. IL-6 için absorbens eğrisi	75
Şekil 15. Karaciğer dokusunda histopatolojik bulgular	76
Şekil 16. Farklı uyarılarda test edilen antinosiseptif etkinin % inhibisyon verileri.....	76
Şekil 17. Gruplarda zamana bağlı sıcaklık farkları	84

GİRİŞ

Dünya’da ve Türkiye’de sağlık hizmetlerinde geleneksel ve tamamlayıcı tıp (GETAT) uygulamalarına giderek artan ilgi gözlemlenmektedir [1]. Dünya Sağlık Örgütü’ne (DSÖ) göre geleneksel tıp; çeşitli kültürlerin inançları ve deneyimlerine dayalı, sağlığın korunması, hastalıkların teşhisi ve tedavisinde kullanılan bilgi ve uygulamaların tümü, tamamlayıcı tıp terimleri ise; ülkenin kendi geleneği ile ilgili olmayan, mevcut sağlık sistemine henüz entegre edilmemiş uygulamaların tamamı olarak tanımlanmıştır [2]. Tüm Dünya’da özellikle gelişmiş ülkelerde (Kanada, Çin, Amerika, vb.) nüfusun neredeyse yarısının GETAT uygulamaları kullandığı bilinmektedir [3]. Türkiye’de ise 2014 yılında GETAT uygulamaları yönetmeliği yayınlanmış; akupunktur, apiterapi, hipnoz, fitoterapi, ozon uygulaması, osteopati, sülük uygulaması, homeopati, kayropratik, kupa uygulaması, larva uygulaması, mezoterapi, proloterapi, refleksoloji ve müzikterapi gibi geleneksel ve tamamlayıcı tıp yöntemlerinin uygulanmasına izin verilmiştir [4].

Tamamlayıcı tıp yöntemlerinden biri olan apiterapi, insan ve hayvanlarda sağlık sorunlarının tedavisi veya önlenmesi için bal arısı (*Apis mellifera*) ürünlerinin kullanımını ifade eder [5]. Bal arısı ürünleri, esas olarak bitkilerden elde edilenler (nektar, polen ve reçineler arılar tarafından toplanıp salgılarıyla işlenerek bal, arı poleni, perga ve propolis son ürününe dönüşür), arılar tarafından bezlerinde sentezlenenler (arı sütü ve arı zehri gibi) ve arı larvaları dahil olmak üzere çeşitli ürünleri kapsar [6],[7].

Apiterapi tüm bu ürünlerin oral, transdermal ve enjektabl uygulamalarını içermektedir. Bu ürünler den arı zehrinin bilinen farmakolojik etkileri son derece önemlidir. Arı zehri tedavisinin yara iyileşmesini desteklemek, sırt ağrısı, cilt hastalıkları ve romatizmayı tedavi etmekle birlikte multiple skleroz, artrit, merkezi ve çevresel sinir sistemi hastalıkları, göğüs hastalıkları, gastroenterolojik hastalıklar, kalp ve damar hastalıkları, göz hastalıkları, deri hastalıkları, üroloji, endokrinoloji, kanser, astım, epilepsi, inflamasyon, yüksek ateş ve sıtmaya kadar çok sayıda hastalığın tedavisinde etkili bir şekilde kullanıldığı belirtilmektedir [8],[9]. Bu bağlamda arı zehrinin; ağrı, inflamasyon

ve ateş gibi fizyolojik yanıtlar üzerine etkisiyle ilgili çalışmalar sınırlıdır. Ağrı, inflamasyon ve ateş gibi fizyolojik yanıtlar organizmanın zararlı uyarılara karşı koruyucu mekanizmaları arasında yer alır. Ancak kronikleşmeleri veya aşırı tepkiler, ciddi sağlık sorunlarını beraberinde getirir [10]. Bu nedenle, bu süreçlerin düzenlenmesi ve tedavisinde yeni ve etkili ajanların keşfi günümüzde önemli bir araştırma alanıdır.

Hayvansal zehirlerin biyolojik aktiviteleri, özellikle antinösetif, antipiretik ve antiinflatuar etkilerine ilgi giderek artmaktadır [11]. Arı zehri (*Apis mellifera*), kompleks peptid ve enzim içerikleriyle bu açıdan öne çıkan doğal ürünlerden biridir. Melittin, apamin ve fosfolipaz A2 gibi bileşenleri, inflamatuvar medyatörlerin salınımını düzenleyerek ve nösetif sinyalleri modüle ederek ağrı ve inflamasyon süreçlerini etkileyebilir [12].

Son yıllarda yapılan çalışmalar, arı zehrinin farklı dozlarının mekanik, kimyasal ve termal uyarılara karşı antinösetif etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur [13]. Ayrıca, arı zehrinin çeşitli inflamasyon modellerinde CRP ve sedimentasyon gibi biyobelirteçleri düşürerek antiinflatuar etkilerini destekleyen bulgular mevcuttur [14]. Benzer şekilde, arı zehrinin ateş düzenleyici etkileri, özellikle maya ile indüklenen pirojenik reaksiyonlarda vücut sıcaklığını düşürmesiyle tespit edilmiştir [15]. Ancak arı zehrinin etkileri, doz ve uygulama süresine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bu durum, bileşenlerin kompleks yapısı ve doz-yanıt ilişkilerinin detaylı incelenmesini gerektirmektedir [16].

Bu tezde, arı zehrinin farklı dozlarının inflamasyon göstergeleri olan CRP ve sedimentasyon parametreleri ve IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeyleri üzerinden antiinflatuar etkileri; mekanik (kuyruk çekme testi), termal (sıcak plaka; sıcak plakatesti) ve kimyasal (formalin testi) uyarılara karşı antinösetif etkileri ve maya kaynaklı ateş modelinde antipiretik etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın amacı, arı zehrinin doza bağlı farmakolojik etkilerini detaylı olarak değerlendirmek ve potansiyel klinik uygulama alanlarına katkı sağlamaktır.

1.BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1.İnflamasyon

İnflamasyon, dokularda fiziksel, kimyasal veya patojenik etkenlerin yol açtığı hasar, yara veya doku yıkımına karşı sitokinler, medyatörler, aktivatörler ve inhibitörler gibi birçok biyomolekülün rol aldığı karmaşık bir fizyolojik yanıttır [17],[18]. İnflamatuvar yanıt, öncelikle dokunun korunmasını ve iyileştirilmesini amaçlamaktadır [19],[20]. Ancak bu sürecin uzaması ve kronikleşmesi durumunda inflamasyon artık koruyucu değil, hastalığın patogeneze katkı sağlayan bir yapı haline gelebilmektedir [21],[22]. Bu patolojik süreç, özellikle nörodejeneratif ve otoimmün hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynar [23],[24]. İnflamasyon sürecinin yalnızca antijen-antikor reaksiyonlarıyla sınırlı kalmadığı, aynı zamanda polimorfonükleer lökositlerin (PNL) de bu sürece dahil olduğu bilinmektedir [20],[25]. PNL'ler; granülositler, monositler ve lenfositler gibi birçok farklı hücreyi içermektedir [26]. Bu hücrelerden granülositler (bazofil, eozinofil, nötrofil) en yaygın lökosit türleri arasında yer alırken, monositler makrofajların öncülleri olarak dokularda farklılaşır [27]. Lenfositler ise doğal bağışıklık sisteminde doğal katil hücreleri, kazanılmış bağışıklıkta ise T ve B hücreleri olarak görev alırlar [28]. Bu hücrelerin büyük bölümü kemik iliğinde sentezlenip dolaşıma katılır ve timus ile lenf bezlerinde olgunlaşma süreçlerini tamamlarlar [29],[30]. İnflamasyonda sayıları hızla artar ve etkilenen dokulara göç ederler [20],[25]. Bu hücrelerin salgıladığı proinflamatuvar ajanlar, reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS), enzimler ve lipid medyatörler inflamatuvar yanıtın oluşmasında önemli rol oynar [31]. Sonuç olarak inflamasyon; ödem, kızarıklık, ağrı, ateş ve hareket kısıtlılığı

gibi klasik bulgularla kendini gösterir [20],[32]. Kronik inflamasyon sürecinde ise fibroblastlar tarafından üretilen yüksek miktarda kollajen, fibrozis gelişimine yol açabilir [33].

İnflamatuvar yanıtın başlamasında çok sayıda moleküler yapı görev alır. Hasar ile ilişkili moleküler örüntüler (DAMP), patojen ile ilişkili moleküler örüntüler (PAMP), ROS, RNS, lipopolisakkarit (LPS), sitozolik DNA, RNA, viral RNA, nükleotidler ve çeşitli sitokinler (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) bu süreci tetikleyen başlıca bileşenlerdir [18],[20]. Bu moleküller, hücre zarı reseptörlerinden olan PPR, TLR, NOD ve TNFR üzerinden sinyal iletirler ve bu sinyaller sonucunda hücre içinde NF- κ B, MAPK, JAK-STAT3 gibi birçok yolağın aktive olduğu görülür [34]. Bu sinyal yolları proinflamatuvar sitokinlerin, enzimlerin ve lipid yapılı medyatörlerin (prostaglandinler, lökotreinler gibi) üretimini sağlar ve aynı yolaklar bazen antiinflamatuvar regülasyon mekanizmalarını da aktive ederek, sürecin çözülmesinde rol oynarlar [35].

1.1.1. İnflamasyonda Etkili Temel Medyatörler

İnflamasyon sürecinde çeşitli medyatörler önemli roller üstlenir (Tablo 1). Sitokinler, bağışıklık hücreleri arasındaki sinyal iletimini sağlayarak inflamasyonun başlatılması (pro inflamatuvar), sürdürülmesi ve sonlandırılmasında(antiinflamatuvar) kritik işlev görürler. Özellikle TNF- α , damar endotel hücrelerinde yapışma moleküllerinin ekspresyonunu artırarak lökosit göçünü kolaylaştırır ve ateş gibi sistemik inflamatuvar yanıtları tetikler [36],[37]. Benzer şekilde, IL-1 β , prostaglandin sentezini uyararak inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu destekler ve ateş oluşumunda rol oynar [38]. IL-6 ise akut faz proteini üretimini başlatmakta ve kronik inflamasyon süreçlerinde etkili olmaktadır [39]. Öte yandan, inflamasyonun sınırlandırılmasında görev alan IL-10, anti-inflamatuvar özellik gösterir [40]. İnflamatuvar bölgeye hücre göçünü sağlayan ve kemotaksi işinden sorumlu olan kemokinler arasında, monosit ve makrofajları çeken CCL2 kemokini önemli bir yere sahiptir [41]. IL-8 kemokini ise, özellikle nötrofillerin kemotaksisini ve aktivasyonunu sağlar [42]. Ayrıca CCL5 kemokini, T hücreleri ve eozinofiller gibi farklı bağışıklık hücrelerinin inflamasyon bölgesine yönlendirilmesinde rol oynar [43].

Lipit yapılı medyatörler ise inflamasyonun erken evresinde hızla sentezlenip etkilerini gösterirler. Proinflamatuvar olan ve araşidonik asitten köken alarak COX-2 ve LOX tipi

enzimlerce sentezlenen lipid yapılı medyatörlerden Prostaglandin E₂ (PGE₂), damar genişlemesi ve artan vasküler geçirgenlik ile hedef dokularda ağrı ve ateş oluşumunu tetikler [44]. Lökotrien B₄ (LTB₄), nötrofil kemotaksisini artırarak inflamasyonun devamını destekler [45]. Bunun yanı sıra, inflamasyonun sonlanmasını teşvik eden Lipoksin A₄ gibi antiinflamatuvar lipid medyatörleri de bulunmaktadır [46].

Tablo 1. İnflamasyon markörlerinin başlıca etkileri

Medyatör	Tipi	Başlıca Etkileri	Kaynak
IL-1β	Pro-inflamatuvar	Ateş, akut faz yanıtı, nötrofil aktivasyonu	[47]
TNF-α	Pro-inflamatuvar	Kapiller permeabilite artışı, sitokin salınımı, hücre ölüm sinyali	[48]
IL-6	Pro-inflamatuvar	Akut faz proteinlerinin sentezi, ateş	[49]
IFN-γ	Pro-inflamatuvar	Makrofaj aktivasyonu, antijen sunumu artırımı	[50]
IL-8 (CXCL8)	Pro-inflamatuvar	Nötrofil kemotaksisi	[51]
PGE₂ (Prostaglandin E₂)	Pro-inflamatuvar	Ateş, ağrı duyarlılığı, damar genişlemesi	[52]
LTB₄ (Lökotrien B₄)	Pro-inflamatuvar	Lökosit migrasyonu ve aktivasyonu	[53]
Histamin	Pro-inflamatuvar	Vazodilatasyon, ödem, kaşıntı	[54]
Bradikinin	Pro-inflamatuvar	Ağrı, damar geçirgenliğinde artış	[55]
NO (Nitrik Oksit)	Pro-inflamatuvar	Vazodilatasyon, serbest radikal üretimi	[56]
IL-10	Antiinflamatuvar	IL-1, IL-6 ve TNF- α üretimini baskılar	[40]
IL-4	Antiinflamatuvar	M2 makrofaj farklılaşması, alerjik yanıt düzenlemesi	[57]
IL-13	Antiinflamatuvar	Eozinofil fonksiyonu düzenlemesi, makrofaj modülasyonu	[58]
TGF-β	Antiinflamatuvar	Hücrel	[59]

		proliferasyon ve bağışıklık yanıtının baskılanması	
Lipoksin A4	Antiinflamatuvar	Nötrofil göçünü baskılar, inflamasyonun çözünmesini başlatır	[60]
Resolvin D1	Antiinflamatuvar	İnflamasyonun çözünmesi ve doku homeostazının korunması	[61]
Protectin D1	Antiinflamatuvar	Apoptozun indüksiyonu, lökosit infiltrasyonunun azaltılması	[62]
IL-1Ra	Antiinflamatuvar	IL-1 β ile yarışarak bağlanır, IL-1 sinyalini engeller	[63]
sTNFR	Antiinflamatuvar	TNF- α 'nın etkisini bağlayarak nötralize eder	[64]
Endojen kortikosteroidler	Antiinflamatuvar	NF- κ B baskılanması, sitokin ekspresyonunun inhibisyonu	[65]

1.1.2.Reaktif Oksijen ve Azot Türleri (ROS ve RNS) ve İnflamasyondaki Rolü

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS), oksijen ve azot içeren ve yüksek reaktiviteye sahip moleküllerdir. Bu moleküller normal hücrel metabolizma sırasında düşük düzeylerde üretilirken, inflamasyon gibi stres durumlarında üretimleri belirgin şekilde artar [66].

ROS terimi, başlıca süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH) gibi oksijen türevlerini kapsar. RNS'ler ise nitrik oksit (NO) ve onun türevlerinden oluşan peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi molekülleri içerir [67]. Bu moleküller hem antimikrobiyal savunmada hem de inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde çift yönlü roller üstlenir.

Akut inflamasyon sırasında makrofajlar ve nötrofiller, ROS ve RNS üretimini artırarak fagositoz sonrası patojenleri yok etmeye çalışır [31]. Bununla birlikte, bu türlerin aşırı

üretimi dokularda oksidatif stres oluşturarak lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein modifikasyonuna yol açabilir. Bu da inflamasyonun kronikleşmesine, hücre ölümüne ve hatta otoimmün yanıtların gelişimine neden olabilir [68].

Özellikle ROS'lar, inflamatuvar genlerin ekspresyonunu artıran NF- κ B ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederek inflamatuvar süreci güçlendirebilir [66]. RNS'ler ise nitrasyon yoluyla protein fonksiyonlarını bozabilir ve hücresel yanıtları modifiye edebilir [69].

Bu zararlı etkilerin dengelenmesi için hücrelerde antioksidan sistemler gelişmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit anyonunu hidrojen peroksite dönüştürürken, katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) bu molekülü suya indirger [70]. Ayrıca, glutatyon (GSH) gibi düşük moleküllü antioksidanlar serbest radikalleri doğrudan nötralize eder.

Sonuç olarak, ROS ve RNS türleri, inflamatuvar yanıtın hem etkili hem de potansiyel olarak zararlı bileşenleridir. İnflamasyonun şiddeti ve süresi, bu moleküllerin üretimi ile antioksidan sistemlerin denge içinde çalışmasına bağlıdır.

1.1.3.Önemli İnflamasyon Yolakları

1.1.3.1. NF- κ B (Nükleer Faktör kappa B) Sinyal Yolağı

NF- κ B (Nükleer faktör kappa B) hücresel stres, enfeksiyon, proinflamatuvar sitokinler ve reaktif oksijen türleri gibi uyaranlara karşı verilen yanıtları düzenleyen bir transkripsiyon faktörü ailesi olmakla beraber bu yolak, bağışıklık yanıtı, hücre proliferasyonu, apoptozun inhibisyonu ve inflamatuvar süreçlerde önemli rol oynar. NF- κ B, inaktif haldeyken inhibitör protein I κ B ile sitoplazmada tutulur. Dış uyaranlar tarafından aktive edilen I κ B kinaz (IKK) kompleksi, I κ B'nin fosforilasyonunu sağlar ve böylece fosforile I κ B, ubiquitin–proteazom sistemi ile yıkılır ve serbest kalan NF- κ B (genellikle p65/p50 heterodimeri), nükleusa geçerek hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır. Bu hedef genler arasında TNF- α , IL-6, COX-2 ve çeşitli anti-apoptotik proteinler yer alır [71].

NF- κ B yolağı, inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde merkezi bir rol oynar. Hücre dışı tehlike sinyalleri (LPS, TNF- α , IL-1 β) bu yolağı aktive ederek başta proinflamatuvar

sitokinler olmak üzere birçok hedef genin ekspresyonunu başlatır ve bu yolak aracılığıyla başlıca TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinlerin yanı sıra COX-2, iNOS, ICAM-1 gibi adhezyon molekülleri ve MCP-1 gibi kemokinlerin üretimi artar. Bu gen ürünleri inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu, dokuya göçü ve inflamasyonun sürdürülmesinde kritik rol oynar [72].

TNF- α ve IL-1 β , damar endotelyumunda vasküler endotelial cadherin bağlantılarını bozarak damar geçirgenliğini artırır. Böylece plazma proteinleri ve immün hücreler inflamasyon bölgesine geçebilir. Bu, inflamasyonu karakterize eden ödemin ve kızarıklığın temel nedenidir [73].

NF- κ B aracılığıyla artan ICAM-1, VCAM-1 gibi adhezyon molekülleri, nötrofillerin endotele tutunmasını ve dokulara geçişini sağlar [72]. IL-1 β ve TNF- α , hipotalamusta prostaglandin E₂ (PGE₂) üretimini artırarak ateşe yol açar. Aynı prostaglandinler sinir uçlarını duyarlılaştırarak hiperaljezi (ağrı eşiğinin düşmesi) oluşturur [74].

1.1.3.2. MAPK (Mitojenik Aktivite Protein Kinaz) Sinyal Yolağı

MAPK sinyal iletim sistemi, hücrelerin büyüme faktörleri, sitokinler, UV ışığı, oksidatif stres gibi çeşitli dışsal sinyallere verdiği yanıtı koordine eden çok basamaklı bir kinaz kaskadıdır. MAPK ailesi üç ana yoldan oluşur: ERK1/2 (ekstrasellüler sinyal-düzenleyici kinaz), JNK (c-Jun N-terminal kinaz) ve p38 MAPK. Bu kaskadlar sırasıyla MAPKKK; MAPKK; MAPK şeklinde ilerler. Örneğin, büyüme faktörlerinin bağlandığı reseptör tirozin kinazlar (RTK'lar) aracılığıyla Ras proteini aktive olur; Ras, Raf kinazını; Raf ise MEK ve ardından ERK'yi fosforile eder. Fosforile ERK, nükleusa geçerek transkripsiyon faktörlerini aktive eder. ERK, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında; JNK ve p38 ise hücre stres yanıtları, inflamasyon ve apoptozda etkindir [75].

MAPK sinyal yolları özellikle p38 MAPK ve JNK inflamatuvar uyaranlara karşı verilen yanıtların düzenlenmesinde görev alır [7]. Bu yollar, proinflamatuvar genlerin transkripsiyonunu aktive eden transkripsiyon faktörlerini fosforile ederek, başta IL-6, IL-8, TNF- α gibi sitokinlerin üretimini uyarır. Ayrıca MMP'ler (matrix metalloproteinazlar), COX-2 gibi moleküller de bu yolak aracılığıyla sentezlenir. p38

MAPK yolağı özellikle monosit ve makrofajlarda IL-1 β ve TNF- α ekspresyonunu artırır [77].

Ayrıca p38 MAPK, COX-2 ekspresyonunu artırarak PGE₂ üretimini yükseltir. PGE₂, hem ateşe hem de periferik sinir uçlarının duyarlılığının artmasına neden olarak inflamatuvar ağrıyı tetikler [72] ve p38 MAPK, makrofajlarda TNF- α , IL-1 β , IL-8 üretimini artırarak nötrofil ve monositlerin inflamasyon bölgesine yönlendirilmesini sağlar [77]. MAPK yoluyla aktive olan MMP'ler, özellikle kronik inflamasyonda doku yıkımı ve yeniden yapılanma süreçlerinde etkilidir [76].

1.1.3.3.JAK-STAT3 (Janus Kinaz / Transkripsiyon Aktivatörü 3) Sinyal Yolağı

JAK-STAT3 yolağı, sitokin ve büyüme faktörü reseptörlerine bağlanan ligandların ardından aktive olan, doğrudan transkripsiyonel değişikliklere neden olan bir sinyal yoludur. Özellikle IL-6, IL-10 gibi sitokinler bu yol üzerinden hücre içi etkilerini gösterir. Ligand bağlanmasının ardından, reseptöre bağlı Janus kinazlar (JAK1, JAK2, TYK2) aktive olur ve reseptörün sitoplazmik bölgelerini fosforile eder. Bu fosforilasyon, STAT3 proteininin reseptöre bağlanmasını ve ardından JAK tarafından fosforile edilerek dimerleşmesini sağlar. Dimerleşmiş STAT3, nükleusa girerek anti-apoptotik, proliferatif (Cyclin D1) ve anjiogenik genlerin ekspresyonunu başlatır. Kronik aktivasyonu özellikle kanser, inflamatuvar hastalıklar ve otoimmün hastalıklarla ilişkilidir [79].

JAK-STAT3 yolağı, özellikle IL-6 ve IL-10 gibi sitokinler tarafından aktive edilir ve akut faz yanıtında önemli görevler üstlenir [80]. Bu yolun aktivasyonu, başta CRP (C-reaktif protein), serum amyloid A, fibrinojen gibi akut faz proteinlerinin karaciğer tarafından sentezlenmesine yol açar. STAT3 ayrıca Bcl-xL, Cyclin D1 gibi hücre hayatta kalma ve proliferasyonu ile ilişkili genlerin ekspresyonunu da destekler. Kronik STAT3 aktivasyonu, inflamasyonun sürekliliği ve tümör mikro çevresinin oluşumunda da rol oynar [81].

STAT3 aktivasyonu ile karaciğerde CRP, serum amiloid A gibi akut faz proteinleri sentezlenir. Bu proteinler dolaşımda inflamatuvar hücrelere sinyal gönderir, opsonizasyonu kolaylaştırır ve lokal inflamasyonu sistemik hale getirir [80]. STAT3, vasküler endotelial geçirgenlik faktörlerinin üretimini artırarak vasküler geçirgenliği ve

anjyogenezi destekler. Bu durum, inflamasyon bölgesine daha fazla immün hücre erişimini kolaylaştırır [79]. Uzun süreli STAT3 aktivasyonu, anti-apoptotik genlerin ekspresyonunu artırarak inflamatuvar hücrelerin hayatta kalmasını sağlar, böylece kronik inflamasyonu ve ilişkili hastalıkları (kanser, fibrozis) besler [82].

1.1.3.4. Diğer İnflamasyon Yolakları

NLRP3 Inflammasomu Yolağı

NOD-benzeri reseptör ailesi pirin domain 3 (NLRP3) inflammasomu, özellikle patojenlere (PAMP) ve hücre hasarına (DAMP) yanıt verir. Bu yolak, kaspaz-1 aktivasyonu aracılığıyla pro-IL-1 β ve pro-IL-18'i aktif formuna dönüştürerek IL-1 β ve IL-18 salınımına neden olur. Bu sitokinler, inflamatuvar yanıtı ve ateşi artırır [83].

TLR (Toll-benzeri reseptör) Sinyallemesi

Toll-benzeri reseptörler, mikrobiyal bileşenleri tanıyarak hem NF- κ B hem de IRF yolaklarını aktive eder. TLR4, özellikle lipopolisakkarit (LPS) aracılığıyla aktive olur ve hem proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-6) hem de tip I interferonların (IFN- α , IFN- β) üretimini başlatır [84].

PI3K/Akt Yolağı

Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K)/Akt yolu, genellikle inflamasyonun negatif düzenleyicisi olarak bilinir; ancak bazı durumlarda proinflamatuvar etkileri de olabilir. Özellikle IL-8, MMP-9 ve COX-2 üretimini artırabilir. Ayrıca NF- κ B aktivasyonunu da destekleyebilir [85].

cGAS-STING Yolağı (Sitokin/IFN Yanıtı)

cGAS-STING sistemi, hücre içi DNA algısı sonucunda tip I interferon (IFN- α , IFN- β) ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini uyarır. Özellikle viral enfeksiyonlar ve bazı otoimmün inflamasyonlarda rol alır [86].

Araşidonik Asit ve Lipid Medyator Yolakları (COX/LOX)

Araşidonik asit metabolizması, inflamasyonda lipid türevli medyatorların (örn. prostaglandinler, lökotrienler) üretimini sağlar. COX (siklooksijenaz) yolağı: PGE₂,

PGI₂ üretimi yoluyla ateş, ağrı, vazodilatasyon ortaya çıkarken; LOX (lipooksijenaz) yolağı ile LTB₄, LTC₄ üretimi yoluyla nötrofil göçü, damar geçirgenliği ortaya çıkar [46].

Tablo 2. Sinyal yolları ve inflamasyon yanıtları

Yolak	Ana Ürünleri	Temel Etkileri	Önemli Olduğu Durumlar	Kaynak
NF-κB	TNF-α, IL-1β, IL-6, ICAM-1	Sitokin üretimi, damar geçirgenliği, hücre adezyonu	Akut inflamasyon, enfeksiyon, immün aktivasyon	[71]
MAPK (p38, JNK)	COX-2, PGE ₂ , MMP-9, IL-8	Ağrı, ateş, doku yıkımı, kemotaksi	İnflamatuar ağrı, romatizmal hastalıklar	[77]
NLRP3 Inflammasomu	IL-1β, IL-18	Ateş, damar geçirgenliği, inflammatuar hücre aktivasyonu	Kristal artrit, otoimmün hastalıklar	[83]
JAK-STAT3	IL-6, CRP, SAA	Akut faz yanıtı, kronik inflamasyon, anti-apoptoz	Kronik inflamasyon, kansere bağlı inflamasyon	[87]
TLR (özellikle TLR4)	TNF-α, IL-6, IFN-β	PAMP/DAMP algısı, sitokin fırtınası	Sepsis, bakteriyel enfeksiyonlar	[84]
PI3K/Akt	IL-8, MMP-9, COX-2	Hücre göçü, doku yeniden yapılanması, kemotaksi	Tümör mikrositesi, yara iyileşmesi	[85]
cGAS-STING	IFN-β, IL-6	Antiviral savunma, otoimmün yanıt	Lupus, viral enfeksiyonlar	[86]
COX/LOX (lipid yolağı)	PGE ₂ , LTB ₄ , LTC ₄	Ateş, ağrı, damar geçirgenliği, nötrofil kemotaksisi	NSAID hedefi, inflammatuar semptomlar	[46]

1.1.4. Bal Arısı Zehrinin Anti-inflamatuar Etkisi ve Sinyal Yolları Üzerindeki Düzenleyici Rolü

Bal arısı zehrinin anti-inflamatuar etkisi ve sinyal yolları üzerindeki düzenleyici rolü hala araştırılmaya devam edilmektedir (Tablo 2; Tablo 3).

1.1.4.1. NF-κB Yolağının İnhibisyonu

Melittin, arı zehrinin ana bileşeni olarak, NF-κB'nin p65 alt biriminin nükleusa translokasyonunu engelleyerek ve IKK kinaz enziminin difülfidril gruplarına bağlanarak

bu yolağı inhibe eder [88]. Böylece TNF- α , IL-6, IL-1 β gibi proinflatuar sitokinlerin ekspresyonu azaltılır. Bu etki, akut inflamasyonda damar geçirgenliğini ve lökosit göçünü sınırlayarak ödem ve ağrıyı azaltır [89].

1.1.4.2.MAPK Yolağı Üzerindeki Etkisi

Arı zehri, özellikle p38 ve JNK MAPK kollarını fosforilasyon yoluyla inhibe ederek, COX-2 ve PGE₂ üretimini düşürür. Bu mekanizma, ağrı hissinin, ateşin ve vasküler değişikliklerin baskılanmasında önemli rol oynar [90].

1.1.4.3.JAK-STAT3 Yolağının Baskılanması

Melittin'in IL-6 ile aktive olan STAT3 yolunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu durum, hepatik akut faz yanıtı ve kronik inflamasyonda rol alan genlerin ekspresyonunu azaltır [91]. Bu yolla, sistemik inflamatuvar yanıt ve kronik hastalık progresyonu baskılanabilir.

1.1.4.4.Sitokin, Kemokin ve Lipid Medyatör Düzeylerinin Azaltılması

Arı zehrinin hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda, TNF- α , IL-1 β , IL-6 gibi proinflatuar sitokinleri, ayrıca MCP-1 ve RANTES gibi kemokinleri anlamlı düzeyde azalttığı gösterilmiştir [92]. Aynı zamanda COX-2 ve 15-LOX enzimlerinin inhibisyonu ile prostaglandin ve lökotrien üretimini de baskılar [93].

Tablo 3. Arı zehri tarafından bloke edilen yollarla ilgili çalışmalar

Etkilenen Yolak	Arı Zehri Bileşeni	Sonuç
NF- κ B	Melittin	TNF- α , IL-6 azalır; vasküler geçirgenlik ve ödem baskılanır
MAPK (p38/JNK)	Melittin, Apamin	COX-2 ve PGE ₂ azalır; ağrı ve ateş baskılanır
JAK-STAT3	Melittin	IL-6 ve CRP azalır; sistemik inflamasyon baskılanır
COX/LOX	Melittin, PLA ₂	PGE ₂ , LTB ₄ üretimi azalır; inflamatuvar semptomlar geriler

* [94], [95], [96]. [97].

1.1.5. Arı Zehrinin Reaktif Oksijen ve Azot Türleri Üzerine Etkisi

Arı zehri, başta melittin olmak üzere birçok biyolojik olarak aktif peptid içerir ve bu bileşenlerin oksidatif stresle ilişkili hastalıklar üzerindeki etkileri son yıllarda yoğun şekilde araştırılmaktadır. Özellikle inflamatuvar süreçlerde aşırı şekilde üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS), hücre membranı, DNA ve protein yapılarında geri dönüşü olmayan hasarlara neden olabilmekte ve inflamasyonun ilerlemesine katkı sağlamaktadır [68], [66], [69].

Melittin, bu zararlı türlerin üretimini baskılayarak oksidatif stresin azaltılmasına katkı sunmaktadır. Örneğin, HT22 nöron hücrelerinde yapılan bir çalışmada, indüklenmiş oksidatif strese karşı melittin tedavisi, ROS üretimini anlamlı düzeyde düşürmüş ve Nrf2/HO-1 yolunu aktive ederek hücre içi antioksidan savunmayı artırmıştır [98]. Aynı şekilde, scopolaminle oluşturulan hafıza bozukluğu modelinde melittin uygulaması, hipokampusta Nrf2'nin nükleer translokasyonunu artırmış ve HO-1 ekspresyonunu güçlendirerek oksidatif hasarı azaltmıştır [99].

Hayvan modelleriyle yürütülen başka bir çalışmada ise, melittin uygulamasının gamma ışınlamaya bağlı olarak yükselen 8-oxo-2'-deoksiguanosin seviyelerini azalttığı ve aynı zamanda SOD, GPx, katalaz gibi endojen antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı gösterilmiştir. Bu da melittinin sadece ROS üretimini baskılamakla kalmadığını, aynı zamanda antioksidan sistemleri de uyardığını ortaya koymaktadır [100]. Tüm bu bulgular, arı zehrinin inflamasyonla ilişkili oksidatif stres üzerinde çift yönlü koruyucu etkisi olduğunu; hem ROS/RNS üretimini baskılayarak hem de hücresel antioksidan savunmaları güçlendirerek anti-inflamatuvar potansiyel taşıdığını göstermektedir.

1.1.6. İnflamasyonda Kullanılan İlaç Grupları ve Etki Mekanizmaları

İnflamasyon, vücudun zararlı uyaranlara karşı geliştirdiği koruyucu bir yanıt olsada, bu sürecin kontrolsüz veya kronik hale gelmesi durumunda doku hasarı ve çeşitli hastalıkların gelişimi söz konusu olabilir. Bu nedenle inflamasyonun kontrol altına alınması amacıyla farklı ilaç grupları geliştirilmiştir. Bu ilaçlar; nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'ler), glukokortikoidler, immünsupresanlar, biyolojik ajanlar (monoklonal antikorlar) ve antioksidanlar gibi gruplara ayrılır [20], [101].

NSAİİ'ler, siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2) enzimlerini inhibe ederek prostaglandin üretimini azaltır. Prostaglandinler, ağrı, ateş ve damar geçirgenliğinin artmasında görevli medyatörlerdir. Bu ilaçlar semptomatik rahatlama sağlasa da, uzun süreli kullanımda gastrointestinal, renal ve kardiyovasküler yan etkilere neden olabilir [102], [103].

Glukokortikoidler, nükleer glukokortikoid reseptörüne bağlanarak NF- κ B ve AP-1 gibi inflamatuvar transkripsiyon faktörlerini baskılar. Böylece IL-1 β , TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu azalır. Ayrıca lipokortin-1 aracılığıyla fosfolipaz A2'yi inhibe ederek araşidonik asit yolunu bloke ederler [65].

İmmüsupresif ajanlar olan ilaçlar ise, özellikle otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılır. Örneğin, metotreksat, folat antagonistidir ve DNA sentezini baskılayarak lenfosit proliferasyonunu azaltır. Siklosporin ve takrolimus ise kalsinörin inhibitörleri olarak T-hücre aktivasyonunu baskılar [104].

Monoklonal antikorlar olan biyolojik ajanlar, özelleşmiş sitokinleri veya reseptörlerini hedef alır. Örneğin, adalimumab ve infliximab, TNF- α 'yı nötralize ederek aşırı inflamatuvar yanıtı durdurur. Tocilizumab, IL-6 reseptörüne karşı etkili bir monoklonal antikordur ve özellikle romatoid artrit tedavisinde oldukça etkilidir [105].

İnflamasyon sırasında aşırı miktarda üretilen reaktif oksijen ve azot türleri (ROS/RNS) hücre hasarına neden olur. N-asetilsistein gibi antioksidanlar, glutasyon düzeylerini artırarak bu türleri nötr hale getirir. Ayrıca bazı polifenoller NF- κ B aktivitesini inhibe ederek inflamatuvar gen ekspresyonunu azaltır [67].

1.2.Ağrı, Ağrının Tanımı ve Sınıflandırılması

Ağrı, somatik duyunun bir alt biçimi olarak, “gerçek veya algılanan doku hasarı tarafından tetiklenen ve belirli otonomik, psikolojik ve davranışsal tepkilerle kendini gösteren hoş olmayan duyusal, duygusal ve bilişsel deneyimlerin karmaşık bir durumu” olarak tanımlanmıştır [106].

Ağrı, uyarının biçimine ve yerine bağlı olarak farklı niteliklere ve zamansal özelliklere sahip olarak tanımlanır: ilk ağrı, bıçak saplanır gibi veya batıcı olarak tanımlanır; ikinci ağrı daha yaygındır ve yanma, zonklama, kırımp ve sızlama gibi semptomlarla ortaya

çıkar [107]. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IASP), ağrıyı; vücudun herhangi bir bölgesinden kaynaklanabilen, gerçek ya da olası bir doku hasarına bağlı olabilecek ya da olmayabilecek şekilde, bireylerin geçmiş deneyimlerine dayanarak ortaya çıkan, hoş olmayan duygusal duyular ve davranış biçimleri olarak tanımlamaktadır [108], [109]. Ağrı, kişiden kişiye değişkenlik gösterebilen öznel bir algı olmakla beraber; nesnel ölçümlerle doğrudan değerlendirilmesi mümkün değildir [110]. Ağrı, klinik değerlendirme, tedavi yaklaşımı ve fizyopatolojik ayırım açısından şu şekilde sınıflandırılır [111], [112], [113].

1.2.1. Ağrının Kaynağına Göre Sınıflandırılması

Ağrı, kaynaklandığı anatomik yapı temel alınarak sınıflandırıldığında, genellikle somatik, viseral, sempatik ve bazı durumlarda periferik ağrı olarak kategorize edilir ve bu sınıflama, ağrının kaynağını ve duyusal karakterini anlamak açısından klinik pratikte oldukça önemlidir [114].

Somatik ağrı, kaslar, kemikler, bağ dokuları, cilt ve diğer dış yapılar gibi somatik yapılardan kaynaklanır. Bu ağrı türü genellikle iyi lokalizedir ve keskin, sızlayıcı ya da zonklayıcı bir karakter taşır. Yüzeysel somatik ağrı, deri veya mukozalardan; derin somatik ağrı ise kas, kemik ve eklem gibi daha derin yapılardan kaynaklanır [115]. Örneğin, kas incinmeleri ya da kırıklar somatik ağrının tipik nedenlerindendir.

Buna karşılık viseral ağrı, iç organlardan (örneğin mide, bağırsak, kalp) kaynaklanır ve genellikle diffüz, derin, baskılayıcı ya da kolik tarzda hissedilir [116]. Viseral yapılar daha az noziseptör içerdiğinden, ağrı kötü lokalizedir ve genellikle uzak bölgelere yansıyabilir; ayrıca otonomik belirtiler (bulantı, terleme, tansiyon değişikliği gibi) viseral ağrıya eşlik edebilir [117].

Sempatik kökenli ağrı, doğrudan doku veya organ hasarından değil, sempatik sinir sistemi disfonksiyonundan kaynaklanır. Bu tür ağrılar genellikle kompleks bölgesel ağrı sendromu (CRPS) gibi klinik tablolarla ilişkilidir. Sempatik sinir sisteminin aşırı ya da anormal aktivitesi, duyusal sinirlerle çapraz etkiler oluşturarak ağrıya yol açabilir [118]. Bu ağrı tipi sıklıkla yanıcı, sürekli ve otonomik değişikliklerle birlikte seyreder.

Periferik ağrı ise, periferik sinir sisteminin herhangi bir düzeyindeki irritasyon, baskı veya zedelenmeye bağlı olarak gelişebilir ve bu sınıflandırma doğrudan anatomik kökene değil, sinir iletim yollarına dayalıdır. Bu nedenle nöropatik ağrı kapsamında değerlendirilen periferik sinir hasarları da burada yer alabilir [110]. Örneğin, sinir sıkışma sendromları veya travmaya bağlı periferik sinir hasarları bu gruba dahil edilebilir.

1.2.2.Ağrının Süresine Göre Sınıflandırması

Akut ağrı aniden başlar ve genellikle keskin niteliktedir. Bir hastalık uyarısı veya vücut için bir tehdit sinyallerini gösterme görevine sahiptir [119], [120]. Akut ağrı hafif olabilir ve sadece bir an sürebilir veya şiddetli olup haftalar ve aylarca sürebilir. Çoğu durumda; cerrahi ağrı, travmatik ağrı, doğum ağrısı ve iskemik ağrı gibi akut ağrılar 3 aydan uzun sürmez ve ağrının altında yatan neden tedavi edildiğinde veya iyileştiğinde kaybolur [121].

Kronik ağrı, üç aydan uzun süren, genellikle altta yatan bir neden ortadan kalksa bile devam eden ağrıdır. Nöroplastik değişimlere bağlı olarak ağrı, hastalık halini alabilir [122]. Kronik ağrı genellikle; nöropatik ağrı, artritik ağrı ve fibromiyalji gibi hastalıklarda karakteristik olarak bulunur [123].

1.2.3.Ağrının Mekanizmalarına Göre Sınıflandırması

Nosiseptif ağrı, sağlam bir sinir sistemi varlığında, doku hasarı veya inflamatuvar süreçler sonucu ortaya çıkan fizyolojik bir yanıttır. Bu tür ağrıda zararlı uyaranlar, nosiseptör adı verilen özel duyu nöronları tarafından algılanır ve merkezi sinir sistemine iletilerek ağrı hissine neden olur [124]. Nosiseptif ağrı genellikle somatik (kas-iskelet sistemi ve deri kaynaklı) ya da viseral (iç organ kökenli) olabilir. Somatik ağrı iyi lokalize edilebilirken, viseral ağrı genellikle yaygındır ve otonomik belirtilerle birliktelik gösterir [115].

Buna karşın, nöropatik ağrı, periferik ya da santral sinir sisteminin doğrudan hasarı veya disfonksiyonu sonucu oluşur ve genellikle yanıcı, batıcı ya da elektrik çarpması benzeri duyumlarla tanımlanır [125]. Sinir liflerinin dejenerasyonu veya ektopik sinyal üretimi

bu tür ağrının temelini oluşturur. Diyabetik nöropati, postherpetik nevralji ve spinal kord lezyonları buna örnek teşkil eder [126].

Deafferentasyon ağrısı, bir sinirin kökünden kopması, kesilmesi ya da ilgili duyuşal yolun tamamen devre dışı kalması sonucunda gelişen, çoğunlukla kalıcı nitelikte bir ağrıdır [127]. Sinir iletiminin kesilmesine rağmen beyindeki ağrı algısı devam eder ve sıklıkla fantom uzuv ağrısı veya omurilik lezyonları sonrası görülür [128].

Reaktif ağrı (sekonder ağrı), doku hasarına yanıt olarak gelişen inflamatuvar süreçlerin sinir sistemi üzerinde oluşturduğu ikincil etkilerle ilişkilidir ve özellikle çevre dokularda oluşan sensibilizasyon ve hiperaleji ile karakterizedir. Bu ağrı tipi bazen hem noisepatif hem de nöropatik olabilir [129].

Son olarak, psikojenik kökenli ağrı, altta yatan belirgin bir fiziksel patoloji olmaksızın, psikolojik süreçlerin etkisiyle ortaya çıkmakla beraber; somatoform bozukluklarda, anksiyete ve depresyon gibi duygudurum bozukluklarında görülür ve ağrı genellikle klinik bulgularla açıklanamaz [130]. Psikojenik ağrı, hastanın öznel deneyimine dayandığı için değerlendirilmesi ve tedavisi karmaşıktır [131].

1.2.4.Nosisepsiyonda Etkili Temel Medyatörler

Nosisepsiyon sürecinde, zararlı uyaranlara karşı periferik sinir uçlarının aktivasyonu, başta inflamatuvar medyatörler olmak üzere birçok kimyasal bileşimin etkisiyle şekillenir [132]. Hücresel hasar veya inflamasyon sonucu, çevredeki mast hücreleri, makrofajlar, trombositler ve hasarlı dokular tarafından çeşitli medyatörler salınır. Bu moleküller, noisepörlerde yer alan reseptör ve iyon kanallarını uyarak ağrı sinyalinin başlamasını kolaylaştırır [115].

Bradikinin, plazma kininojenlerinden kallikrein enzimi aracılığıyla üretilir ve B2 reseptörlerine bağlanarak ağrıya duyarlılığı artırır [133]. Bu reseptör aktivasyonu, G-protein aracılığıyla hücre içi sinyal yollarını uyarır ve prostaglandin sentezini tetikler ve böylece prostaglandin E₂ (PGE₂), siklooksijenaz (COX) yoluyla araşidonik asitten üretilir ve EP reseptörleri üzerinden noisepörlerin membran eşiğini düşürerek aşırı duyarlılık yani hiperaleji oluşturur [134]. ATP, hücre hasarı sonrası ekstrasellüler ortama salınır ve P2X3 iyon kanalı aracılığıyla hızlı depolarizasyonu başlatır [135].

Histamin, özellikle mast hücrelerinden salınır ve H1 reseptörleri üzerinden nosiseptör duyarlılığını artırır [136]. Serotonin (5-HT) ise trombositlerden salınarak 5-HT₃ reseptörleri üzerinden direkt olarak iyon kanallarını uyarabilir [137]. Substance P ve CGRP (Calcitonin Gene-Related Peptide) gibi nöropeptidler, sinir uçlarından salınarak vazodilatasyon ve plazma sızıntısını artırır, aynı zamanda diğer inflamatuvar hücrelerin aktivasyonuna katkı sağlar [138]. Bunların yanı sıra, asit ortam (düşük pH), TRPV1 ve ASIC gibi asit-duyarlı iyon kanallarını aktive ederek ağrı sinyalinin başlatılmasına neden olur ve genellikle kimyasal medyatörlerin çoğu birbiriyle etkileşim hâlinde çalışarak nosiseptif yanıtın gücünü ve süresini belirler [139].

Nosisepsiyonun moleküler düzeydeki temel mediyatörleri arasında TRPV1, ASIC, P2X, Nav1.7, Nav1.8, ve Nav1.9 gibi iyon kanalları da yer alır. Bu reseptörler, zararlı ısı, düşük pH veya ATP gibi sinyalleri algılayarak nosiseptörleri aktive eder [132]. Nosiseptif yolların plastisitesi, özellikle kronik ağrı gelişiminde kritik rol oynar. Sürekli uyarım sonrası, spinal kordda santral sensitizasyon gelişebilir; bu durum, normalde ağrı yaratmayan uyarıların bile ağrılı hissedilmesine (alodini) veya ağrının şiddetinin artmasına neden olur [129].

1.2.5. Nosisepsiyon Sinyal Yolakları ve Nosisepsiyon Mekanizmaları

Nosisepsiyon, organizmanın zarar verici ya da potansiyel olarak zararlı uyarılara karşı verdiği temel sinirsel yanıttır. Bu süreç, ağrının fizyolojik altyapısını oluşturmakta ve ağrının algılanmasından farklı olarak yalnızca zararlı uyarıların sinir sistemi aracılığıyla algılanmasını ve iletimini kapsar [132]. Nosiseptif süreç; transdüksiyon, iletim, modülasyon ve algılama şeklinde dört temel aşamadan oluşur.

İlk aşama olan transdüksiyon, fiziksel (ısı, mekanik basınç) veya kimyasal (asidik ortam, bradikinin, prostaglandin gibi inflamatuvar medyatörler) uyarıların, periferik uçlardaki nosiseptörler tarafından elektriksel sinyallere dönüştürülmesini ifade eder. Bu nosiseptörler, genellikle serbest sinir uçlarıdır ve zararlı uyarılar karşısında aktif hale gelir [115].

TRP Kanalı Yolakları: Transient reseptör potansiyel (TRP) ailesine ait kanallar, zararlı sıcaklık, mekanik kuvvet ve kimyasal maddelerin algılanmasında rol oynar. TRPV1, TRPA1 ve TRPM8 gibi kanallar, ağrılı uyarıların ilk algılandığı nosiseptör hücre

zarında bulunur. Örneğin TRPV1, yüksek ısıya ve kapsaisin gibi maddelere karşı duyarlıdır ve Ca^{2+} ile Na^+ iyonlarının hücre içine girişine olanak tanır [140]. Bu iyon akışı, nosiseptör membranında depolarizasyona ve aksiyon potansiyelinin başlamasına neden olur.

Purinerjik Yolaklar: Hücre hasarı sırasında salınan ATP, P2X3 ve P2Y reseptörlerini aktive eder. Bu reseptörlerin aktivasyonu hızlı iyon hareketlerine yol açarak nosiseptörleri uyarır [135]. P2X reseptörleri ligand kapılı iyon kanallarıyken, P2Y reseptörleri G-protein bağımlı metabotropik reseptörlerdir.

Bradikinin ve Prostanoid Yolakları: Bradikinin, B2 reseptörlerine bağlanarak PLC (fosfolipaz C) yolunu aktive eder, bu da IP3 (inositol trifosfat) ve DAG (diasilgliserol) aracılığıyla kalsiyum salınımını uyarır. Prostaglandin E2 ise EP reseptörleri üzerinden adenilat siklazı aktive ederek cAMP düzeyini artırır ve PKA (protein kinaz A) aktivasyonu ile ağrı duyarlılığını artırır [102].

MAPK (Mitojen-Active edici Protein Kinaz) Yolakları: Zararlı uyaranların tekrarlı iletimi sonucunda dorsal kök gangliyonlarında ve omurilik arka boynuzundaki nöronlarda MAPK ailesine ait p38, ERK ve JNK gibi kinazlar aktive olur. Bu aktivasyon, sinaptik plastisiteyi artırarak merkezi duyarlılığı güçlendirir [141].

NF- κ B Yolağı: Nükleer faktör kappa B (NF- κ B), inflamatuvar yanıtları yöneten önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Nosiseptörlerdeki çeşitli reseptörlerin (örneğin TNF reseptörü) aktivasyonu sonucunda bu yolak devreye girer ve proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , TNF- α) sentezini artırır. Bu durum hem periferik hem merkezi duyarlılığı artırarak ağrı hissini pekiştirir [142].

JAK-STAT3 Yolağı: Özellikle kronik inflamasyonda aktif olan JAK-STAT3 sinyal yolu, sitokin reseptörlerinin uyarılmasıyla aktive olur. STAT3'ün nükleer translokasyonu sonucunda çeşitli ağrıya duyarlı genlerin transkripsiyonu sağlanır ve bu mekanizma genellikle nöropatik ve kronik inflamatuvar ağrılarda gözlenir [143].

Medyatörler, nosiseptörlerin hücre zarındaki özgül reseptör ve iyon kanallarına bağlanarak membran geçirgenliğinde değişikliklere yol açar [144]. Örneğin TRPV1 kanalı ısıya, P2X3 reseptörü ATP'ye, ASIC kanalları asidik ortama, Piezo2 kanalı ise

mekanik basınca duyarlıdır ve bu uyarılara yanıt olarak hücre içerisine Na^+ ve Ca^{2+} iyonlarının girişine izin verir [132]. Bu iyon akışı, nosiseptör membranında depolarizasyona neden olur ve hücre içi potansiyelin eşik değeri aşması halinde bir aksiyon potansiyeli oluşur [124]. Bu aksiyon potansiyeli, sinir lifleri aracılığıyla spinal gangliona ve daha sonra omuriliğe iletmek üzere nosiseptörden ayrılır [132]. Böylece, çevresel bir tehdit ya da hasar, merkezi sinir sistemine iletilecek şekilde elektriksel sinyale dönüştürülmüş olur [144]. Bu süreç, ağrının algılanmasında temel belirleyici olan periferik aktivasyonun başlangıç noktasıdır.

İkinci aşama olan iletim, bu elektriksel sinyallerin periferik sinirler aracılığıyla merkezi sinir sistemine taşınmasını içerir. Bu süreçte üç nöronlu bir yolak görev alır:

Birinci nöron nosiseptörlerden dorsal root ganglion (DRG)'daki hücre gövdesine ulaşır.

İkinci nöron, omuriliğin arka boynuzunda (substantia gelatinosa) başlar ve çapraz yaparak talamusa kadar yükselir.

Üçüncü nöron, talamustan serebral kortekse uzanarak ağrının bilinçli algısını sağlar [145].

Nosisepsiyonun merkezi sinir sistemindeki işlenişi, başlıca iki temel sinyal yoluyla gerçekleşir:

-Spinocerebellar ve spinotalamik yollar üzerinden ağrı ve ısı duyusu taşınır.

-Özellikle spinotalamik yolak, lamina I ve lamina V gibi dorsal boynuz bölgelerinden başlar ve zararlı uyarıyı talamusun ventroposterolateral çekirdeğine iletir [146].

Bu merkezi yollara ek olarak, ağrı modülasyonu iniş yolları (descendent pathways) aracılığıyla gerçekleşir. Periaqueductal gray (PAG), rostral ventromedial medulla (RVM) ve locus coeruleus, ağrının baskılanmasında görevli beyin yapılarıdır. Bu yapılar, spinal kord düzeyindeki nosiseptif sinyalleri inhibe ederek antinoseptif etki göstererek ağrı hissini azaltabilirler [147].

1.2.6. Arı Zehrinin Nosisepsiyon Yolaklarını Baskılayan Moleküler Mekanizmaları

TRPV1 Kanal Aktivasyonunun Modülasyonu: Melittin, TRPV1 iyon kanalını doğrudan aktive edebilse de, bazı çalışmalarda bu etkiye bağlı olarak uzun vadede TRPV1 desensitizasyonu tespit edilmiştir (Tablo 4). Bu şekilde, başlangıçta ağrıyı uyaran sinyaller zamanla baskılanabilir; ayrıca, melittin'in fosfolipaz A₂'yi aktive ederek prostaglandin üretimini tetiklemesi sonrası gelen geri besleme mekanizmalarıyla ağrı hissi azalabilir [148].

Aşağı Yollardaki Noradrenerjik Modülasyon: Arı zehri, özellikle α_2 -adrenerjik reseptörler aracılığıyla aşağı giden yollardaki ağrı baskılama sistemlerini aktive eder. Bu, noradrenalin ve serotonin içeren yollarda sinaptik substans P salınımını azaltarak ağrı iletimini zayıflatır [149], [150], [151].

MAPK/ERK Yolaklarının İnhibisyonu: Hayvan modellerinde melittin ile yapılan uygulamalarda, omurilikte ve arka kök gangliyonunda p38, ERK, JNK kinazlarının aktivite seviyelerinde düşüş gözlenmiştir. Bu durum, özellikle santral sensitizasyon ve sinaptik plastisitede azalmaya neden olur [152], [153].

NF- κ B Aktivasyonunun Baskılanması: Arı zehrindeki bvPLA₂ ve diğer peptidler, NF- κ B yolağının çekirdek transpozisyonunu engelleyerek proinflamatuvar genlerin (TNF- α , IL-1 β , COX-2) ifadesini azaltır. Bu, periferik inflamasyonu ve dolaylı olarak ağrı eşiğini düşürür [152], [153], [154].

SK Kanal (Ca²⁺ Bağımlı K⁺ Kanal) Etkisi: Apamin Mekanizması Arı zehrindeki apamin, küçük iletkenlikli Ca²⁺-bağımlı K⁺ (SK) kanallarını seçici şekilde bloke eder. Bu blok, nöronların elektriksel uyarılabilirliğini azaltabilir ve spinal düzeyde ağrı eşiğini yükseltebilir [84], [155].

Dolaylı P2X (pürinerjik) Kanal Modülasyonu: Spesifik çalışmalarda arı zehrinin P2X3 gibi purinerjik iyon kanallarını doğrudan etkilediğine dair veri olmasa da, melittin ve bvPLA₂ üzerinden inflamasyonun azalması, bu kanalların duyarlılığında dolaylı düşüslere yol açabilir [150], [156], [157].

Tablo 4. Arı zehrinin nosisepsiyon yollarına etkileri

Mekanizma	Etki Noktası	Sonuç
Melittin-TRPV1	TRPV1 desensitizasyonu	Elektriksel duyarlılığı azaltır
PLA ₂ -adrenerjik modülasyon	İnen ağrı modülasyon yolları	Substans P salınımını baskılar
Melittin/PLA ₂ -MAPK yolları (p38, ERK, JNK)	Dorsal kök ganglionu ve spinal kord	Santral sensitizasyonu azaltır
Melittin/PLA ₂ -NF-κB inhibisyonu	İnflamatuar gen ekspresyonu	Proinflamasyon azalır
Apamin-SK kanal blokajı	SK Ca ²⁺ -bağımlı K ⁺ kanalları	Nöronal uyarılabilirlik düşer
Melittin-Dolaylı purinerjik etkiler	P2X/ASIC kanalları	irritasyon azalır

*[156], [157], [148], [155], [149], [150], [89].

1.2.7. Antinosiseptif Etkili Farmakolojik Ajanlar

Ağrı kontrolü, nosisepsiyonun çeşitli aşamalarını hedef alan antinosiseptif farmakolojik ajanlarla sağlanmaktadır. Bu ilaçlar, periferik ya da santral sinir sistemi düzeyinde etkili olabilir ve genellikle hedefledikleri reseptörler veya sinyal yollarına göre sınıflandırılır [158].

Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'ler), çevresel inflamatuvar süreçleri baskılayarak prostaglandin sentezini inhibe eder ve bu sayede nosiseptörlerin aktivasyonunu azaltır. Özellikle siklooksijenaz (COX) enzimlerinin inhibisyonu ile ağrının başlangıç mekanizmasında etkili olurlar [102], [159].

Opioidler, merkezi sinir sisteminde yer alan μ , κ ve δ opioid reseptörleri üzerinde etkili olup, ağrı sinyallerinin dorsal boynuz seviyesinde iletimini engelleyerek güçlü analjezi

oluşturur. Bu ilaçlar, yalnızca nosiseptif değil, aynı zamanda nöropatik ağrılarda da etkilidir [160], [161].

Antikonvülsanlar (örneğin gabapentin ve pregabalin), özellikle nöropatik ağrının tedavisinde kullanılan ve voltaj kapılı kalsiyum kanallarını inhibe ederek sinaptik nörotransmitter salınımını azaltan ajanlardır [162]. Bu şekilde, santral sensitizasyonun önüne geçilir.

Antidepresanlar, özellikle serotonin-norepinefrin geri alım inhibitörleri (duloksetin, venlafaksin) ve trisiklik antidepresanlar (amitriptilin), spinal inhibisyonu artırarak ağrı iletimini azaltır [163]. Bu ajanlar, ağrı kontrolünde özellikle kronik ve nöropatik komponenti olan olgularda tercih edilmektedir [164].

NMDA reseptör antagonistleri, merkezi duyarlılaşmayı ve sinaptik plastisiteyi azaltarak santral sinir sisteminde ağrı iletimini baskılar. Bu ajanlar, özellikle opioid toleransı gelişmiş hastalarda alternatif veya tamamlayıcı bir seçenektir [165].

Bunların yanı sıra, lokal anestezipler (lidokain gibi), voltaj kapılı sodyum kanallarını bloke ederek periferik sinir iletimini durdurur. Bu etki, hem akut hem de bazı kronik ağrı durumlarında terapötik olarak kullanılmaktadır [166].

Ayrıca, kanabinoid agonistleri, endokanabinoid sistem üzerinden CB1 ve CB2 reseptörleri aracılığıyla hem santral hem de periferik düzeyde analjezik etki gösterebilmektedir. Bu ajanların nosiseptif ve nöropatik ağrılarda etkinliği üzerine çalışmalar artmaktadır [167].

1.3. Yüksek Ateş

Yüksek ateş, vücut sıcaklığının normal fizyolojik sınırların üzerine çıkarak genellikle 38,5 °C ve üzerinde olması durumudur [168]. Bu artış, organizmanın enfeksiyon, inflamasyon veya diğer patolojik süreçlere karşı geliştirdiği koruyucu bir yanıt olarak ortaya çıkar. Klinik pratikte, 38 °C'den büyük dış sıcaklık, 38,4°C'den büyük iç sıcaklık üzerindeki sıcaklıklar, özellikle 3 aylıktan büyük çocuklar ve yetişkinler için anlamlı kabul edilmekte ve bu değer, hastalıkların değerlendirilmesinde önemli bir referans noktası olarak kullanılmaktadır [169], [170].

Bu durum çoğunlukla ağır enfeksiyonlar, ilaç reaksiyonları, merkezi sinir sistemi bozuklukları veya ısıya bağlı hastalıklar sırasında organizmayı korumaya yönelik olarak ortaya çıkar. Ateşten farklı olarak, yüksek ateş termoregülatuar merkezde bir sapma değil, çoğunlukla termoregülasyonun tamamen bozulmasıyla ilişkilidir [171]. Ayrıca, sepsis ve nörolojik hastalıklar gibi klinik tablolarda, yüksek ateş, mortaliteyle yakından ilişkili bir prognostik belirteç olarak da kabul edilmektedir [172].

1.3.1. Yüksek Ateşte Rol Oynayan Medyatörler

Yüksek ateş patofizyolojisinde sitokinler, prostaglandinler ve nükleer transkripsiyon faktörleri gibi çeşitli medyatörler önemli rol oynar. Bu medyatörler genellikle pirojenik uyarılara karşı merkezi sinir sisteminde hipotalamusu etkileyerek termoregülatuar değişimlere neden olur.

Interlökin-1 β (IL-1 β) ve Interlökin-6 (IL-6), periferik bağışıklık hücreleri tarafından sentezlenerek kan-beyin bariyerini geçebilir ya da vagal sinyalle hipotalamik endotel hücrelerini uyarabilir. Bu hücreler prostaglandin E₂ (PGE₂) sentezleyerek ateş ve yüksek ateşyi başlatır [173].

Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), pirojenik sinyallerin başlatılmasında etkili olan diğer bir proinflamatuvar sitokindir ve sıklıkla IL-1 β ile sinerjistik etki gösterir [174].

Prostaglandin E₂ ise, hipotalamusta EP3 reseptörlerini aktive ederek vücut sıcaklık set noktasını artırır ve hipertermiye neden olur. PGE₂, siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimi aracılığıyla sentezlenir [175].

1.3.2. Yüksek Ateş ile İlişkili Hücresel Sinyal Yolakları

Yüksek ateş sürecinde yukarıda sayılan medyatörlerin etkilerini hücre içinde sürdürebilmesi için bir dizi sinyal yolakları devreye girer:

Nükleer Faktör kappa B (NF- κ B) yolu: Bu yol, IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinlerin ekspresyonunu artırır. Lipopolisakkarit (LPS) gibi pirojenik uyarılar, Toll-benzeri reseptörler (TLR) üzerinden NF- κ B'yi aktive eder ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini tetikler [176].

Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) yolakları: Bu yol, hücre dışı sinyalleri çekirdeğe ileterek sitokin üretimini düzenler. Özellikle p38 MAPK ve ERK1/2, PGE₂ sentezini artıran COX-2 ekspresyonunu uyarır [177].

JAK/STAT3 yolu: IL-6 sinyali aracılığıyla aktive edilen bu yolak, astrositlerdeki ve hipotalamustaki glial hücrelerde inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde rol oynar ve STAT3 aktivasyonu, COX-2 ve mPGES-1 gibi enzimlerin üretimini destekleyerek PGE₂ sentezine katkıda bulunur [178].

1.3.3.Geri Besleme Mekanizmaları

Glukokortikoidler (kortizol) çekirdekte NF- κ B ve diğer inflamasyona yol açan transkripsiyon faktörlerinin hedef genlere bağlanmasını engeller. Dekametazon gibi glukokortikoid uygulamaları, NF- κ B hedef genlerinin (örneğin TNFAIP3, NFKBIA, IRAK3) ekspresyonunu azaltarak inflamasyon yanıtı kontrol eder [179].

IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinler, makrofajlarda inflamatuvar sitokin üretimini direkt olarak baskılar. Bu sayede IL-1 β , TNF- α ve IL-6 gibi medyatörlerin salınımı azalır [40].

NSAID'ler, COX-1 ve özellikle inflamasyona özgü COX-2 enzimini inhibe ederek araşidonik asitten PGE₂ üretimini bloke eder. Bu blok, hipotalamustaki EP3 reseptörlerinin uyarılmasını engeller ve böylelikle ateşin düşmesine neden olur. Ayrıca yüksek dozlarda NF- κ B aktivitesini kısmen inhibe ederek ek antiinflamatuvar etki sağlar [44].

Yüksek ateş, organizmanın enfeksiyöz, inflamatuvar ya da travmatik uyaranlara karşı verdiği savunma amaçlı fizyolojik bir yanıttır. Bu yanıt, merkezi sinir sisteminde yer alan hipotalamusun preoptik alanında bulunan termoregülatuar merkez aracılığıyla yürütülür. Normal şartlarda hipotalamus, vücut sıcaklığını sabit bir seviyede tutmak için çevresel ve içsel sinyalleri dengeler. Ancak bazı patojenik uyaranlar, bu dengeyi bozarak ateşin ortaya çıkmasına yol açar [180]. Ateş süreci, genellikle ekzojen pirojenler (örneğin bakteriyel lipopolisakkaritler) ile başlar. Bu moleküller bağışıklık sistemi hücreleri tarafından tanınarak, başta interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) olmak üzere çeşitli endojen pirojenlerin salınımını tetikler. Bu sitokinler dolaşım yoluyla beyne ulaşır ya da periferik sinir sistemi

üzerinden vagal afferent lifler aracılığıyla hipotalamusu bilgilendirir [181]. Hipotalamusa ulaşan bu pirojenik sinyaller, endotel hücrelerinde siklooksijenaz-2 (COX-2) enziminin aktivasyonunu başlatarak prostaglandin E₂ üretimini artırır. PGE₂, hipotalamik EP3 reseptörlerini uyararak termoregülatuar set noktasını yükseltir. Böylece organizma mevcut vücut sıcaklığını yetersiz olarak algılar ve ısı üretimini artırma (titreme) ve ısı kaybını azaltma (vazokonstriksiyon) gibi fizyolojik yanıtlar geliştirerek daha yüksek bir sıcaklığa ulaşır [182]. Bu sürecin sonunda, ateşli bireyde istemsiz kas kasılmaları, davranışsal değişiklikler ve metabolik hız artışı gözlenir.

1.3.4.Arı Zehrinin Yüksek Ateş Yolakları Üzerindeki Muhtemel Antipiretik Etkisi

Arı zehrinin antipiretik etkisi, büyük ölçüde inflamasyonun düzenlenmesi ve termoregülasyonun modülasyonu yoluyla gerçekleşir. Arı zehrinin başlıca biyolojik bileşenleri olan melittin, fosfolipaz A2 ve adolapin, proinflatuar sitokinlerin üretimini baskılayarak inflamatuar yanıtı azaltır [15], [153]. Bu sitokinlerin düşüşü, hipotalamustaki prostaglandin E₂ sentezinin azalmasına yol açar ki bu da vücut sıcaklığının artışı tetikleyen temel mekanizmalardan biridir [183], [184]. Ayrıca, arı zehri bileşenlerinin NF-κB ve MAPK sinyal yolakları üzerindeki inhibe edici etkileri, inflamatuar gen ekspresyonunun baskılanmasını sağlar [185]. Muhtemel bu yolla arı zehri, hipotalamustaki termoregülatuar merkezlerin aşırı uyarılmasını önleyerek ateşin düşürülmesine katkıda bulunur.

1.3.5.Antipiretik Etkili Farmakolojik Ajanlar

Ateşin kontrolünde kullanılan antipiretik ajanlar, vücut sıcaklığının yükselmesine yol açan inflamatuar süreçleri hedef alarak termoregülasyonu yeniden düzenler. En yaygın antipiretikler arasında asetaminofen (parasetamol), non-steroid anti-inflatuar ilaçlar (NSAID'ler) ve bazı steroid olmayan ajanlar yer alır [173], [186], [187], [188], [189], [190]. Bu ilaçlar, özellikle hipotalamusta sentezlenen prostaglandin E₂ üretimini inhibe ederek ateşin yükselmesini engeller [191]. NSAID'ler, siklooksijenaz (COX) enzimlerini bloke ederek hem COX-1 hem de özellikle inflamasyonla ilişkili COX-2 izoformunu hedefler; böylece inflamatuar medyatörlerin üretimini azaltır [192]. Parasetamol ise özellikle merkezi sinir sisteminde etkili olup, COX aktivitesini sınırlı bir şekilde inhibe ederek analjezik ve antipiretik etkisini gösterir [193]. Ayrıca, güncel çalışmalar bazı doğal bileşenlerin ve bitkisel ajanların da inflamasyonu ve ateşi

düzenleyici potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur [194]. Bu farmakolojik ajanlar, ateşin altında yatan nedenler dikkate alınarak uygun doz ve sürede kullanıldığında, vücudun savunma mekanizmalarını bozmayacak şekilde ateşin kontrolünü sağlar.

1.4.C-Reaktif Protein (CRP) ve Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESR) ‘nın Sitokinlerle İlişkisi

CRP ve ESR, inflamatuvar süreçlerin klinik takibinde yaygın kullanılan biyobelirteçlerdir ve bu parametrelerin yükselmesi genellikle inflamatuvar sitokinlerin artışıyla ilişkilidir. İnflamasyon sırasında özellikle IL-6, IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler karaciğerde CRP üretimini tetikler [195]. IL-6, CRP sentezinin ana düzenleyicisi olarak kabul edilir ve bu sitokinin kan düzeyindeki yükselme, CRP seviyelerinin hızlı ve belirgin biçimde artmasına neden olur [196], [197], [198].

Benzer şekilde, IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinler, akut faz proteinlerinin üretimini(CRP) ve dolayısıyla eritrositlerin agregasyonunu artırarak ESR’nin yükselmesine katkıda bulunur [199]. Bu sitokinler, inflamatuvar yanıtın sistemik belirtilerini oluşturur ve kırmızı kan hücrelerinin plazma içinde daha hızlı çökmesine yol açan fibrinojen gibi proteinlerin üretimini artırır [200].

Bu nedenle CRP ve ESR, sitokinlerin aracılık ettiği sistemik inflamasyonun göstergeleri olarak kabul edilir ve özellikle kronik inflamatuvar hastalıklar, enfeksiyonlar ve otoimmün durumlarda sitokin düzeylerindeki değişikliklere paralel olarak izlenir [201]. Ancak CRP, ESR’ye kıyasla inflamasyona daha hızlı yanıt verdiği için özellikle akut inflamasyonun değerlendirilmesinde tercih edilir [202].

C-reaktif protein (CRP), karaciğer tarafından sentezlenen akut faz proteinlerinden biridir ve inflamasyonun önemli bir biyobelirteci olarak kabul edilir [202]. Vücutta enfeksiyon, doku hasarı veya inflamatuvar süreçler başladığında CRP düzeyleri hızla artar ve sistemik inflamasyonun şiddetini yansıtabilir [203]. CRP ölçümü, klinik uygulamalarda inflamasyonun varlığını ve şiddetini değerlendirmek, enfeksiyonların takibi ve tedavi etkinliğinin izlenmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır [204]. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) veya sedimentasyon hızı, kan örneğinde kırmızı kan hücrelerinin belirli bir süre içinde düşme hızını ölçer. Artan inflamasyon durumlarında,

plazmadaki fibrinojen ve diğer akut faz proteinlerinin yükselmesi eritrositlerin daha hızlı çökmesine neden olur [205]. ESR, CRP'ye kıyasla daha az spesifik ve daha yavaş değişen bir parametredir; bu nedenle bazı durumlarda tek başına yetersiz kalabilir [205].

CRP ve ESR genellikle birlikte değerlendirilerek inflamasyonun varlığı ve derecesi hakkında daha kapsamlı bilgi sağlanır [203]. Her iki parametrenin yükselmesi, enfeksiyon, otoimmün hastalıklar, maligniteler ve travmatik doku hasarı gibi çeşitli patolojik durumları işaret edebilir [204]. Ancak bu parametrelerin spesifik hastalık tanısı koymada tek başına kullanımı sınırlıdır ve klinik bulgularla birlikte yorumlanmalıdır.

1.5. Bal Arısı (*Apis Mellifera*)

Arılar, yüzyıllardır insanlık için hayati bir rol oynamış, doğanın en önemli rollerinden biridir [206]. Bal arıları günümüzden 100 milyon yıl önce evrimleşmiş ve erken Kretase döneminde, devasa dinozorların hala etrafta dolaştığı ve çiçekli bitkilerin yeni yeni ortaya çıkmaya başladığı dönemde yaşamış bir vejetaryen yaban arısı ata türünden gelmektedirler [207]. Arıcılığa ait tarihsel ilk bulgular ise İspanya'nın Valencia şehrinde Cuevas de la Arena'daki kazılarda ortaya çıkmış ve arılarla insanların bilinen temasının milattan önce 7000 yıllarına dayandığı tesbit edilmiştir. 3000 yıllık firavun mezarlarında bal kalıntılarına rastlanmıştır ve Sümerlerin balı ilaç olarak kullandığı bilinmektedir [208].

Bal arıları, Hymenoptera takımının Apidae familyasında *Apis* cinsi altında sınıflandırılır. *Apis* cinsi altında ise günümüze kadar 10 tür tanımlanmıştır [209]. Bu türler arasında *Apis florea*, *Apis dorsata*, *Apis cerana*, *Apis nuluensis*, *Apis laboriosa*, *Apis koshevnikovi*, *Apis nicrocincta*, *Apis andreniformis*, *Apis binghami* ve *Apis mellifera* yer almaktadır [210], [211].

Bal arıları (*Apis mellifera*), ekosistemlerin sürdürülebilirliği ve tarımsal üretimin devamlılığı için hayati öneme sahiptir [212]. Bal arıları bitkilerin yaşam döngüsünde de önemli bir yer tutmaktadır. Dünya çapında önde gelen 115 tarım ürününün %75'inden fazlası hayvanların tozlaştırma faaliyetlerine bağımlıdır ve bal arıları bunların başında gelmektedir. Arılar (Apoidea), dünya çapındaki tüm mahsul türlerinin yaklaşık %70'inin tozlaşmasından sorumludur [213].

Bal arısının gelişimi aşamasında tam başkalaşım görülür [214], [215], [216]. Bal arıları; yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere 4 evrede gelişirler. Yumurta dönemi 3 gün sürer ve sonrasında larva ortalama 5.5-6.5 gün; pupa dönemi 7-14.5 gün sürer ve ergin döneme geçilir [217]. Larvaların gelişiminde arı sütünün miktarı verilen larva türüne göre değişmekle birlikte en yüksek miktarda ve en kaliteli arı sütü kraliçe arı larvalarına verilir. Bu dönemde beslenmedeki miktar farklılığından dolayı kraliçe arı veya işçi arı gibi farklı tipte bireyler gelişir [218]. Yumurtanın petek hücreğine bırakıldıktan sonra; erkek arılar 24 günde, kraliçeler için 16 günde ve işçi arılar için 21 günde ergin hale geçer [219].

Kolonilerde bir adet ana arı, birkaç yüz kadar erkek arı ve binlerce işçi arı bulunur ve bu sosyal organizasyon, koloninin sürdürülebilirliğini sağlamak için görevlerin bireyler arasında paylaşılmasına dayanır [207]. İşçi arılar arasında görev dağılımı, arıların yaşlarına ve fizyolojik durumlarına göre değişiklik gösterir. Genç işçiler kovan içinde çalışırken, yaşlı işçiler dış kaynak toplama işlerini üstlenir [220]. Dans dili ve feromonlar aracılığıyla, koloni içindeki iletişim (Örneğin; arıların kaynakların yönü ve uzaklığı hakkında bilgi vermek için dansı) sağlanır [221]. Feromonlar ise koloninin birliğini ve düzenini sağlar [207].

Kraliçe arı olarak da bilinen ana arı, yenilenme zamanı dışında kolonide sadece bir tane bulunur. Kovanda cinsel olgunluğa ulaşan tek dişi arıdır [222]. Larva halindeyken işçi arılar tarafından seçilir ve belirli bir cinsel olgunluğa ulaşana kadar arı sütü ile beslendiği için diğer türlerden ayrılır [223]. Kolonideki kraliçe arı herhangi bir nedenle yok edilirse ve kraliçe gelişemezse, işçi arılardan birkaçının yumurtalıkları gelişerek kısır yumurtalardan sahte kraliçe oluşturur. Kraliçe arı beslenmesini ve temizliğini işçi arılarla sağlar [224]. Kendisi beslenemez, işçi arılar kraliçeyi ağzına arı sütü vererek beslerler. Kraliçe yaşamı boyunca sadece çiftleşmek için kovandan çıkar. Kraliçe arının yaşam süresi 3 ile 7 yıl arasındadır ve yaş ilerledikçe yumurtlama sayısı azalır. Kolonideki rolü; bunlar, polen toplamaktan sorumlu işçi arıları teşvik etmek, kolonideki su ihtiyacını karşılamak, yumurtlayarak yeni arıların oluşumunu sağlamak ve neslin devamını sağlamak olarak sıralanabilir. Ana arı, koloninin tek doğurgan dişisidir ve salgılarıyla işçi arılar üzerinde düzenleyici bir etkiye sahiptir [220]. Bu kontrol, feromon adı verilen hormonal salgı ile gerçekleştirilir [225]. Kraliçe arı bulunduğu petek gözden ayrıldıktan 6-7 gün sonra uygun koşullarda (güneşli, rüzgarsız hava) çiftleşme uçuşuna

çıkar ve feromon salgılar, erkek arılar bu yolla kraliçeyi takip eder [226]. Uçuş sırasında 8-10 erkek arı ile çiftleşen kraliçe, çiftleşme sırasında erkek arıdan milyonlarca sperm hücresi alır [223]. Çiftleşme tamamlanmışsa kovana döner ve 7 gün sonra yumurtlamaya başlar ve çiftleşmesini tamamlayamayan kraliçe arı, sonraki günlerde birkaç çiftleşme uçuşu daha yapar. Kraliçenin feromonları, kolonide kraliçe varken yeni bir kraliçenin oluşmasını engeller [224]. Günlük 1500-2000 arasında yumurta bırakabilen ana arı, koloninin devamlılığını sağlar [207]. Kraliçe arının kanatları, işçi ve erkek arıların karın bölgesinin ötesine uzanan kanatlarının aksine, karnına göre kısadır ve yaşamı boyunca, onun doğurganlık kapasitesini artıran arı sütüyle beslenir [227]. Kraliçe arı, birden fazla erkek arı ile çiftleşerek döllenmiş yumurtalarını spermatekasında saklar ve bu sayede uzun süre boyunca yumurtlama kapasitesini korur [221]. Erkek arıların kraliçeyi tespit etmek için büyük gözleri, mükemmel uçuş becerileri ve bir endophallusu vardır, ayrıca spermatozoa, erkek arıdan kopan endophallus ile kraliçeye aktarılır [228].

Erkek arılar ya da diğer adıyla dronlar, döllenmemiş yumurtalardan gelişir ve temel görevleri ana arıyla çiftleşmektir [207]. Erkek arılar oldukça büyük, dolgun hatları ve iri gözleriyle ayırt edilirler. Genellikle yaklaşık 19 mm uzunluğundadırlar [229]. Ömürleri 21-30 gün civarında olup, gelişimlerini 24 günde tamamlarlar. İğneleri olmadığından kendilerini savunamazlar. Erkek arı havada kraliçe ile çiftleşir ve çiftleşme sonucunda erkek arı ölür [220]. Dilleri kısa olduğu için çiçeklerden nektar ve polen alamazlar. Kolonide uygun çevre koşulları sağlandığında erkek arılar nisan ve mayıs aylarında daha sık görülürken, sürü halinde uçuş mevsiminde de sayıca fazladırlar. Kraliçe ve işçi arılardan daha büyük, kraliçe arıdan ise daha kısadır [230]. Kış aylarında kolonide bulunmaz ve yaz aylarında kolonide çoğalır. İklim şartlarına veya koloni şartlarına bağlı olarak sayıları 500-2000 arasında değişmektedir [231]. İşçi arılar bir süre sonra kolonideki besin eksikliğini ve kolonideki erkek arı sayısını düzenlemek için erkek arıları kovandan dışarı atarlar, kovandan dışarı atılan erkek arılar ise açlıktan ölürlər. Gün içerisinde en çok uçtukları saatler havaların sıcak olduğu 14.00-16.00 arası olup, hava sıcaklığı 18-20°C'ye ulaşmadan kovayı terk etmezler. 5-7 günlük olan erkek arı yumurtaları artık uçabilir ve uçarak dışkılama, çevreyi tanıma ve çiftleşme işlevlerini yerine getirebilir [231]. Yine çiftleşme mevsiminin sonlanmasıyla birlikte de dronlar ya

da erkek arılar, kovanın kaynaklarını tüketmemeleri için işçi arılar tarafından kovandan uzaklaştırılır [221].

Kovanın en büyük nüfusuna sahip olan işçi arıların ise, dişi olmalarına rağmen üreme yetenekleri yoktur [220]. İşçi arıların ortalama uzunluğu 15 mm'dir [229]. Kolonideki en küçük birey olmalarına rağmen döllenmiş yumurtalardan oluşan dişi arılardır. Larva evresinde ilk üç günden sonra kraliçe arınınkinden daha düşük kalitede polen-bal karışımı ile beslenir. Gelişimini 21 günde tamamlar ve petek gözünden çıkan işçi arıların görevleri başlar [224]. Her kolonide mevsim koşullarına bağlı olarak 20.000-80.000 işçi arı bulunur ve yaz aylarında işçi arı sayısı artar [232]. *Apis mellifera*, kraliçelerin ortalama ömrü 1-2 yılken, yumurtlama hariç kolonideki tüm görevleri üstlenen işçi arıların ise yazın ortalama ömrü 15-38 gün, kışın ise 140 gündür [220], [233]. İşçi arıların yaşam döngülerine bağlı olarak görevleri değişiklik gösterir. İlk 20 gün kovan içinde, 20 günden sonra ise kovan dışında çalışan işçi arılara tarla arısı, kovan içinde çalışan işçi arılara ise kovaniçi arısı denir [231]. Kraliçe arının bakımını ve beslenmesini yapmak, yavruların bakımını ve beslenmesini sağlamak; propolisi, nektarı, polen ve suyu kovana taşıyarak balı olgunlaştırmak, bal mumu salgısıyla petek oluşturmak, arı sütü salgılamak, kovan girişini korumak ve kovan içinde olmayan arıları kovana almamak gibi görevleri vardır [207]. Kanatlarıyla havayı dolaştırarak kovanın temizliğini yapmak, sıcaklığını ve nemini ayarlamak gibi birçok görevi üstlenirler [227]. Bu görevler işçi arıların yaşlarına göre dağılır. İşçi arılar; dikenli iğnelere sahiptirler ve bir canlıyı soktuklarında iğnelerini o canlıya bırakıp bir süre sonra ölürler [234]. Bal arılarının biyolojik özellikleri ve koloni organizasyonları, onların ekosistemlerdeki hayati rollerini anlamamızı sağlar. *Apis mellifera*'nın sosyal yapısı, görev dağılımı ve iletişim yöntemleri, bu türün başarılı bir şekilde hayatta kalmasını sağlayan temel faktörlerdir [234].

Bal arılarının vücutları baş, göğüs ve karın olmak üzere üç ana bölgeden oluşur. Baş bölgesinde beyin, antenler, birleşik gözler ve çiğneme-emme tipi ağız parçaları yer alır [227]. Antenler, koku ve tat alma duyularında özelleşmiş olup, çevresel sinyalleri algılamada önemli bir rol oynar [220]. Birleşik gözler, geniş bir görsel alan sağlayarak çevredeki ışık değişimlerini algılar [207]. Göğüs bölgesinde üç çift bacak ve iki çift kanat bulunur. Bacaklar, polen toplama ve kovan içi temizlik gibi görevlerde kullanılırken, kanatlar uçuş ve kovanın havalandırılmasını sağlar [221]. İşçi arılar,

balmumu bezleriyle petek üretirken, iğneleriyle koloniyi savunur [220]. Karın bölgesi, sindirim, üreme ve savunma organlarını barındırır.

1.6. Bal Arısı Zehri

Birçok böcek türünde dişi böceğin genital organını oluşturan ovipozitör değişikliğe uğrayarak savunma organı halini almıştır [235], [236]. Savunma organı durumundaki ovipozitörde yardımcı bezler değişikliğe uğrayarak zehir bezi oluşur. İğne, tergum ve sternumda yer alıp içeri çekilmiş vaziyettedir [236]. Tehlike anında mandibulalarıyla sokmak istedikleri hayvan ya da insana tutunarak abdomenin sonundaki dört köşeli tabakaları kaldırıp iğneyi dışarı çıkararak sokarlar [237]. Zehir torbasındaki kasların kasılması ile zehir doku içerisine akıtılır [212]. Arı zehri, asidik pH'lı (4,5 ila 5,5) proteinlerin hidrolitik bir karışımı olan kokusuz ve şeffaf bir sıvıdır [238]. Arı zehrinin bir damlası, %88 su ve sadece 0,1 µg kuru zehirden oluşur [239]. Arı zehri; enzimler (fosfolipaz A2, lizofosfolipaz, hiyaluronidaz, asit fosfomonoesteraz; α-glukozidaz, dipeptidil peptidaz IV ve vitellogenin), peptidler (melittin, apamin, mast hücresi degranüle edici, mastositolitik peptid, sekapin, adolapin, minimin; apidaesin; tertiapin; melittin F; kadiopep; prokamin A, B, pamin ve proteaz inhibitörleri), biyolojik aminler (histamin, dopamin, noradrenalin, norepinefrin, nörotransmitterler) ve amino asitler (γ-aminobütirik asit, α-amino asitler), karbonhidratlar (glikoz, fruktoz), feromonlar (izo-pentil asetat, n-bütil asetat, izo-pentanol, n-hekzil asetat, n-oktil asetat, 2-nonanol, n-desil asetat, benzil asetat, benzil alkol ve 2-11-eikosen-1-ol) ve mineraller (P, Ca ve Mg) içermektedir [240], [241], [242], [243], [244]. Bu bileşikler arasında, melittin, kuru ağırlığın %40 ila %60'ını temsil eden arı zehrinin ana terapötik bileşenidir [16].

Arı zehri ile tedavi, ikinci yüzyıldan beri Doğu Asya'da tedavi edici bir yöntem olarak kabul edilmiştir. Çin, Kore ve Japonya gibi ülkelerde arı zehri, doğrudan akupunktur uygulamasına benzer bir uygulamayla ya da inflamatuvar bozukluklarda kullanıldığı gibi enjeksiyon yoluyla da uygulanmıştır [245]. Arı zehri alerjisi, anafilaktik reaksiyonlar ve bağışıklık sistemi ile ilgili hastalıklarda arı zehri immünoterapisinin uygulanması ve faydalı sonuçları ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır [246], [247], [248], [249]. [250]. Arı zehrinin hayvan modellerinde patolojik hastalıkların tedavisinde başarıyla kullanımı sonucu Avrupa ve Amerika'daki doktorlar arasında giderek daha fazla kullanılmaya ve kabul görmeye başlamıştır [251], [252], [253], [254], [255], [256].

Günümüzde arı zehri tedavisinin yara iyileşmesini desteklemek, sırt ağrısı, cilt hastalıkları ve romatizmayı tedavi etmekle birlikte multiple skleroz, artrit, astım, epilepsi ve sıtmaya kadar çok sayıda hastalığın tedavisinde etkili bir şekilde kullanıldığı belirtilmektedir.

1.6.1. Protein ve Peptitler

İki büyük peptit olan melittin ve apamine ek olarak, arı zehri mast hücresi degranülasyon (MCD) peptidi, adolapin, tertiapin, secapin, ve kardiyopep gibi birçok peptidi içerir [257], [258]. Bazıları hücreye nüfuz eden peptitler ve hücre lizisini ortaya çıkarırken diğerleri sinir sistemini etkileyen nörotoksinlerdir [259].

Melittin, arı zehrinin ana biyoaktif bileşenidir [212]. 26 amino asit içeren küçük bir peptittir; yapısındaki ilk 20 amino asit ağırlıklı olarak hidrofobiktir ve molekülün C-terminal kısmı pozitif yüklüdür [260]. Kristal halinde her melitin polipeptit zinciri, birbirine yaklaşık 120° hizalanmış iki α -helis içerir ve genel şekli bükülmüş bir çubuktur [261]. Melittin'in amfipatik özelliği, hem monomerik hem de tetramerik formlarında suda çözünür olmasını sağlar. Ayrıca, hem doğal hem de sentetik fosfolipid çift katmanlarını bozarak melittinin zarlara kolayca sokulmasını sağlar [262]. Melittin zarlara monomerler olarak bağlanır ancak zar üzerinde kapsayıcı bir şekilde etki eder ve konsantrasyona bağlı olarak, bu biyopeptit geçici veya kararlı gözenekleri indükleyebilir [263]. Geçici bir gözenek oluştuğunda, yalnızca iyonlar zardan difüze olabilir. Ancak, kararlı gözenek oluşumu durumunda, hücre zarı, glikoz gibi nispeten büyük moleküllere geçirgen hale gelir [264]. Melittin tarafından indüklenen gözenek oluşumu, hemolitik, anti-mikrobiyal, anti-fungal ve antitümör aktivitelerinden sorumludur [265], [266]. [267]. Son zamanlarda, melittinin ağrı sinyali yolları boyunca nosiseptör hücrelerinin aktivasyonu ve duyarlılığı yoluyla nöroplastik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Mekanizma, mitogenle aktive olan protein kinazların (MAPK) fosforilasyonunu ve TRPV1 (geçici reseptör potansiyeli vanilloid reseptörü 1), ATP kapılı P2X ve P2Y purinerjik reseptörler gibi termal nosiseptif kanalların aktivasyonunu içerir ve benzer şekilde, melittin PLA₂'nin bir aktivatörü olarak hareket edebilir [268]. Melittinin, PLA₂'yi, bir peptit-enzim kompleksi aracılığıyla aktive ederek sinerjik olarak hareket ettiği bilinmektedir [269]. Ayrıca, hastanın akupunktur noktasına

uygulandığında anti-nosiseptif, anti-inflamatuar ve anti-artritik etkiler üreten arı zehrinin'nin başlıca biyolojik olarak aktif maddesidir [153].

Melittinin hayvan modellerinde hidrokortizolden 100 kat daha güçlü olduğu bildirilmiş olup, çok etkili bir antiinflamatuvar ajandır [270], [271]. Bu bileşiğin antiinflamatuvar aktivitesi akne, nöroinflamasyon, ateroskleroz, artrit ve karaciğer inflamasyonu dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda araştırılmıştır [94]. Lipid hücre zarlarını parçalama ve antimikrobiyal özellikleri de özellikle ilaç dirençli enfeksiyonların tedavisi için büyük ilgi görmüştür [272]. Ayrıca melittinin hem zarflı hem de zarfsız virüslerin çoğalmasını önemli ölçüde engellediği ve yüzey yükü etkileşimi yoluyla enfeksiyözlüklerini azalttığı tespit edilmiştir [273]. Melittin, apoptotik yolların (hem kaspaz bağımlı hem de kaspaz bağımsız) ve PLA₂ yollarının aktivasyonu yoluyla diğer mekanizmaların yanı sıra kanser hücrelerine karşı sitotoksiktir [244]. Melittinin büyümeyi inhibe etme potansiyeli ve tümör metastazını baskılama kapasitesi, karaciğer, böbrek, prostat, meme, akciğer, mesane, mide ve lösemi gibi çeşitli kanser hücre tiplerinde tespit edilmiştir ve bu, kemoterapide kullanılacak güçlü bir ajan olabileceğini düşündürmektedir [265], [274]. Melittinin ayrıca, nosiseptör hücrelerinin duyarlılığı ve aktivasyonu yoluyla ağrı sinyali yollarında nöroplastik değişiklikler indüklediği gösterilmiştir [239]. Farmakolojik ve biyoteknolojik alanlardan büyük ilgi gören ümit verici özelliklerine rağmen, Melittin, dioleoylphosphatidilcholine içeren yapay lipid çift katmanlarını dengesizleştiren ve değiştiren dimerik bir forma dönüşebilir [275]. Bu nedenle, melittin, kanser hücrelerinin yanı sıra kırmızı kan hücreleri ve insan periferik kan lenfositlerinin lizisini indükleyebilen seçici olmayan bir sitolitik peptit olduğundan, doza bağlı bir şekilde morfolojik değişikliklere neden olabilir [276]. Düşük dozlarda melittin, antiinflamatuvar etkilere sahipken, daha yüksek dozlarda inflamasyon, kaşıntı, tahriş ve lokal ağrıya neden olabilir [267]. Literatüre göre, bu bileşik sırasıyla 0,5 mg/ml, 1 mg/ml ve 2 mg/ml'nin üzerindeki konsantrasyonlarda hafif, orta ve şiddetli tahrişe neden olabilir [275]. Toksisitenin altında yatan mekanizma, mast hücrelerinin lizisine ve lizozomal enzimler, histamin ve serotonin gibi bileşiklerin salınmasına yol açan fosfolipid çift katmanlarının bozulmasına dayanır ve bu da ağrı ve inflamasyonu tetikler. Bu nedenle, melittin, hiyaluronidaz ve PLA₂ ile birlikte, zar hücrelerini parçalayan ve sitotoksik etkilerini artıran zehir alerjenik özelliklerinden sorumludur [277]. Bu yan etkilerden kaçınmak için melittinin fosforilasyonu yoluyla girişimlerde bulunulmuş; 18 Serin

aminoasitinde fosforile edilen peptit, doğal melitin ile karşılaştırıldığında daha düşük alerjenik tepkiler ortaya çıkarmıştır [278]. Ayrıca melittinin, spesifik olmayan litik aktivitesini azaltmak için nanopartiküllere melittin yüklenmesi üzerine çalışmalar vardır [16].

Apamin, zehrin kuru ağırlığının %2-3'ünü oluşturan 18 amino asitli [242], [243] bir oktadekapeptid olarak, kan-beyin bariyerini geçerek motor hipereksitabilitesi üreten bir nörotoksindir [279]. Apamin, iki molekül içi disülfid köprüsü ve amide edilmiş bir C-terminal karboksil grubu ile yapıya atfedilen, son derece kararlı bir moleküldür ve çevresine duyarsızdır [279]. Ek olarak apamin, helisel bölgenin ve bitişik arginin-14'ün merkezinde bulunan arginin-13 ile α -helisel bir çekirdeğe sahiptir ve bu iki tortu nörotoksik aktivitenin korunması için gereklidir [280]. Apamin, kalsiyumla aktive olan K^+ kanallarını bloke ederek, hücre zarının potasyum iyonlarına (K^+) karşı geçirgenliğini de etkileyebilir. Vasküler düz kasta, toksin, Akt ve Erk sinyal yolları aracılığıyla vasküler düz kas hücresi çoğalmasını ve göçünü inhibe edebilir [281]. Bu, apaminin ateroskleroz tedavi stratejilerinde potansiyelini vurgulamaktadır [282]. Başka bir çalışma, K^+ kanallarının apamine duyarlılığının, hamile olmayan kadınlarda miyometriyumun kendiliğinden kasılma aktivitesinin NO kaynaklı gevşemesini inhibe edebileceğini göstermiştir [283].

Mast Hücresi Degranülasyon (MCD) Peptidi, peptit 401 olarak da bilinir, apamin ile benzer yapıya sahip 22 aminoasit içeren bir polipeptittir [284]. Apamin gibi, MCD peptidi de iki molekül içi disülfid köprüsü ve amide edilmiş bir C-terminal karboksil grubuna sahip benzer yapıda son derece baziktir [285]. Arı zehrinin kuru ağırlığının %1'ini oluşturur [286]. Yüksek çözünürlüklü iki boyutlu nükleer manyetik rezonansa (NMR) göre, MCD peptit, bir N-terminal β -dönüşü ve iki sıkı dönüş ile bağlanan bir C-terminal α -heliksi ile bir uyumluluğa sahiptir [287]. Mast hücrelerinden histamin salınımında rol oynar. Arı zehrinin kendisi sadece az miktarda histamin içerdiğinden, MCD peptidi, granül zarlarının mast hücre membranı ile füzyonu ve mast hücrelerinin liziz olmadan granül içeriğinin ekzositozu ile mast hücre granüllerinden serbest bırakılmasıyla ilave histamine katkıda bulunur [288]. Bu nedenle, MCD peptidi, alerjik reaksiyon için sayısız kimyasalın büyük ölçüde salınmasını sağlamak için hücreye bağlı spesifik IgE ile reaksiyona giren bir ana arı zehri alerjenidir [289]. Epileptojenik bir nörotoksindir, K^+ kanallarının önemli bir inhibitörüdür ve rat çalışmalarında kan

basıncında önemli bir azalmaya neden olduğu görülmüştür [292]. MCD'nin bazı biyolojik aktivitelerinin farklı mekanizmalara sahip olduğu görülmektedir [293]. Çalışmalar MCD'yi güçlü bir anti-inflamatuar ajan olarak tanımlamaktadır ve mast hücreleri, bazofiller ve lökositler gibi inflammatuar hücrelerin salgılama mekanizmalarının incelenmesi için potansiyel bir adaydır ve terapötik uygulamalara sahip bileşiklerin tasarlanmasını sağlayabilir [294].

Adolapin ilk olarak; Shkenderov ve Koburova tarafından izole edilmiş ve adlandırılmıştır [295]. Adolapin, 103 aminoasit kalıntısına sahip temel bir polipeptit olup arı zehrinin kuru ağırlığının %1'ine karşılık gelir [239]. Araştırmacılar, adolapinin prostaglandin sentezini bloke ederek ve siklooksijenaz aktivitesini inhibe ederek anti-inflamatuar, anti-nosiseptif ve antipiretik etkilere sahip olduğunu göstermiştir [296]. Adolapin, insan trombositlerinden lipoksijenazı inhibe edebilir ve analjezik bir etki gösterebilir [297]. Adolapin, diğer nonsteroid analjeziklere benzer olarak ortalama sıcaklık artışını engelleyerek antipiretik bir etki gösterebileceği ve insan trombositlerinde lipooksijenaz aktivitesini inhibe ettiği belirtmiştir [298].

Tertiapin, 2.460 Da moleküler ağırlığa sahip 21 aminoasitten oluşur ve bal arısı zehrinin yaklaşık % 0.1'ini içerir [299]. Polipeptit zinciri içindeki dört sistein, iki disülfür bağı oluşturur [300]. Tertiapinin inward-rektifyer potasyum kanallarını bloke ettiği bulunmuştur [301]. Bu açıdan, tertiapin inward-rektifyer potasyum kanallarını inhibe ederek asetilkolin kaynaklı tam-kalp bloğunu önlemiştir. Tertiapin, epitel hücrelerde, kalpte ve MSS'deki potasyum kanallarını bloke ederek etkileşime girer. Bu kanallar miyositlerde önemlidir ve sinüs düğümü disfonksiyonu (SAD) ile ilişkilidir [302]. Tertiapin, aminoasit dizisinde oksidasyonla yönlendirilen kimyasal değişiklikler üreten bir metionin içerir. Bu sorunu önlemek için, metioninin glutaminle değiştirildiği ve tertiapinin tüm biyolojik aktivitelerini korurken oksidasyonla yönlendirilen kimyasal değişiklikler üretmeyen sentetik bir molekül olan tertiapin-Q tasarlanmıştır [303].

Sekapin, büyük oranda prolin ve bir disülfid köprüsü içeren 24 aminoasitli bir peptittir ve temel olarak toksik değildir, ancak farelerde yüksek dozda belirgin hipotermi ve sedasyon belirtileri üretir [304]. Secapinin, anti-fibrinolitik, anti-elastolitik ve anti-mikrobiyal aktiviteler gösteren bir serin proteaz inhibitörü benzeri özellikler gösterdiği bildirilmiştir [94].

Kardiyopep, bir kromatografik kolon üzerinde izole edildiğinde bütün arı zehirinin yaklaşık % 0.7'sini içerir [305]. Kardiyopep, güçlü, toksik olmayan beta-adrenerjik benzeri bir karaktere sahip olduğu ve anti-aritmik özelliğe sahip olduğu için kardiyoeaktif polipeptit için bir kısaltmadır [306].

Son olarak, arı zehrinin üzerinde başka peptitler de bildirilmiştir. Prokaminler, 5 aminoasitli küçük peptitlerdir; Başlıca, her ikisi de C-terminalinde histamin varlığı ile karakterize edilen prokamin A ve prokamin B vardır [307]. Minimin, 48-52 aminoasitli ve 6000 Da moleküler ağırlığı olan bir peptittir; biyolojik aktivitesi hala bilinmemektedir [308]. Apideacin, bakteriyostatik bir süreçle bakterileri öldüren, 18 aminoasitli, prolin açısından zengin antibakteriyel bir peptittir [309].

1.6.2. Enzimler ve Diğer Bileşenler

Bal arısı zehirindeki enzimler arasında fosfolipaz A₂ (PLA₂), fosfolipaz B (PLB), sitotoksisite gösteren hiyaluronidaz, fosfataz ve α -glukozidaz gibi toksik olmayan hidrolitik enzimler bulunur.

Fosfolipaz A₂, (PLA₂) veya Api m1, 15-18 kDa ağırlığında, 134 aa kalıntısı olan bir polipeptittir. Bu enzim beş disülfür bağına sahiptir [310]. Doğada PLA₂'nin geniş bir çeşitliliği vardır, bu nedenle bu enzimler 16 gruba ayrılmıştır [311]. Özellikle arıdan türetilen PLA₂, III. gruba aittir ve bu enzim grubu kalsiyuma bağımlı, katalitik aktiviteye sahiptir; ayrıca, PLA₂ oldukça korunmuş bir Ca²⁺ bağlanma halkasına ve katalitik bir His/Asp diyadına sahiptir [312]. PLA₂'nin başlıca katalitik aktivitesi, yağ asitlerinin ve lizofosfolipitlerin serbest kalmasıyla sonuçlanan membran gliserol-3-fosfolipitlerinin sn-2 yağ asil ester bağının hidrolizidir [313]. Bu katalitik aktivite hücre zarı bileşenlerini hidrolize eder ve sindirir, onu dengesizleştirir ve çökmeye veya daha fazla bozulmaya yatkın hale getirir [314]. PLA₂, zar bozulması yoluyla kanser hücrelerine karşı yüksek sitotoksik aktivite gösterdi [313]. Zarların bozulması ayrıca PLA₂'ye antimikrobiyal aktivite kazandırır [315]. Dahası, PLA₂ endoplazmik retikulumdan türetilen lipid çift katmanlı zarflara sahip virüslere karşı antiviral aktivite gösterir [316]. Dahası, PLA₂ belirli reseptörler için bir ligand olarak da hareket edebilir. Bu anlamda, PLA₂ belirli zar reseptörlerine bağlanabilir ve enzimatik aktivitelerinden bağımsız olarak hücresel sinyaller üretebilir [94]. Ek olarak, PLA₂ için tanımlanmış M ve N tipi iki tip reseptör vardır. M tipi reseptörler iskelet kas hücrelerinde bulunurken

[317] N tipi reseptörler sıçan beyin zarında bulundu [318]. N tipi reseptörler PLA₂'nin nörotoksik aktivitesiyle ilişkilidir [319].

PLA₂ genellikle arı zehrinin başlıca alerjeni olarak kabul edilir ve Foxp3 ekspresyonunu artırabilir ve böylece PGE₂ salınımı ile düzenleyici T (Treg) hücre farklılaşmasını destekleyebilir. Bu yetenek, PLA₂'yi anti-inflamatuar etkilere aracılık ettikleri için nöroinflamatuvar hastalıklar için alternatif bir tedavi olarak önermektedir [320]. Bu Treg ekspresyonunun apoptotik sinyalleme modüle ettiği ve bu nedenle immünomodulator özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir [321]. Bu arada, PLA₂, T hücrelerinde MyD88 ekspresyonuna bağlı bir T yardımcı tip-2 tepkisi indükleyerek gelecekteki arı zehri maruziyetine karşı bir bağışıklık koruyucu tepki indükleyebilir [322]. Son olarak, diğer çalışmalar PLA₂'nin homologlarını, örneğin memeli PLA₂G₃'ü araştırmış ve fibroblast lipokalin tipi PGD sentazına (L-PGDS) bağlandıklarında, mast hücresi olgunlaşmasını kolaylaştıran ve anafilaksiyi indükleyen tip-1 PGD reseptörüne bağlanan bir lipid mediatörü (bu durumda PGD₂) ürettikleri tespit edilmiştir [323].

Fosfolipaz B, ilk olarak son derece termostabil [324] olarak karakterize edilen PLB (Fosfolipaz B), bakterilerden memelilere kadar bulunur. PLB, diasilfosfolipitlerin hem sn-1 hem de sn-2 ester bağlantısının deasilasyonunu katalize ederek yağ asitlerini yeniden modüle eder. Nispeten büyük bir moleküler kütle ile PLB'nin in vivo PLA₂'den daha geniş rollere sahip olduğu bilinmektedir [324].

Hiyaluronidaz veya Api m₂, bir disülfür köprüsüne sahip 350 aminoasitten oluşur. Bu proteinin ana aktivitesi, farklı dokuların ekstraselüler matrisindeki hyaluronik asidin parçalanması yoluyla zehir bileşenlerinin kan dolaşımına nüfuz etmesine yardımcı olmaktır [325]. Bu kapasite, proteine, zehrin yayılmasına yardımcı olmak için "yayılma faktörü" genel adını verir. Ayrıca, hyaluronidazın gözenek oluşumu, membran bozulması ve mast hücresi degranülasyonu gibi zehir etkisiyle ilgili diğer aktiviteleri vardır [326]. Hyaluronidaz, bağ dokusunun ana glikozaminoglikanı olan hyalüronanın bölünmesini indükler ve zehir bileşenlerinin dokulara ve kan dolaşımına difüzyonunu kolaylaştırır ve sistemik envenomasyona neden olur [327].

Asit fosfataz veya Api m₃, dört glikozilasyon bölgesine sahip bir glikoproteindir [328], [329]. Defosforilasyon işleminde öne çıkan hidrolaz olarak asit fosfataz, bir fosfat grubunu hidroliz yoluyla organik bir bileşikten çıkarır. Bu nedenle, arı zehrinde

bulunan asit fosfataz, vasküler endotelyal büyüme faktörü gibi belirli bir büyüme faktörünün fosforilasyonunu bloke ederek tümör anjiyogenezini ve metastazını inhibe eder. Ayrıca, asit fosfataz, histamin salınımına neden olur ve immünoterapide kullanılabilen spesifik IgE üretir [328]. Asit fosfatazın, duyarlılaştırılmış insan bazofillerinden güçlü bir histamin salıcı olduğu bilinmektedir [329].

Dipeptidil peptidaz IV (DPIV) veya Api m₅, 102 kDa'lık bir molekül ağırlığına sahiptir [330]. protoksinlerin aktif formlarına dönüştürülmesinde rol alır [326], [330].

Vitellogenin veya Api m₁₂, arı zehrinde en yüksek molekül ağırlığına sahip olan 200 kDa'dır [326]. Ayrıca, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteler göstermiştir [331].

a-Glukosidaz, substratın indirgenmeyen uç tarafından d-glikoz salarak nişasta hidrolizleme aktivitesine sahiptir [285], [332].

Histamin, arı zehri kuru ağırlık maddesinin %0,5-2'sini oluşturur ve biyogenik aminler kategorisinin ana bileşenidir [274]. Arı zehri alerjisi sırasında, histamin, esas olarak mast hücresi degranülasyon peptidi tarafından aracılık edilen, deride hemen salınan başlıca inflamatuvar araçtır. Bu amin kılcal sızıntıyı teşvik eder, kaşıntıya, şişmeye ve ağrıya neden olur [242].

Dopamin ve noradrenalin, arı zehrinde bulunan ve kuru ağırlık maddesinin %1'inden azını oluşturan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir [242]. Bu bileşikler iyonotropik ajanlardır ve proteaz inhibitörleri oldukları, hemostazda rol oynadıkları ve anti-inflamatuvar ajan olarak hareket ettikleri belirtilmiştir [333].

1.6.3. Bal Arısı Zehrinin Biyoaktivitesi

Dünya çapında artan araştırmaların bir sonucu olarak, arı zehrinin çeşitli hastalıklar üzerindeki biyoaktif özellikleri, in vitro ve in vivo çalışmalarla belirlenmiştir. Arı zehrinin; multipl skleroz, parkinson hastalığı [334], demans [335], ateroskleroz [267], osteoartrit [336], insan immün yetmezlik virüsü (HIV) [337], periodontitis [338], diyabet [328], ve romatoid artrit [153] gibi hastalıklar üzerinde başarılı etkileri olduğu bilinmektedir. Arı zehrinin ve izole edilmiş biyoaktif bileşiklerinin etkileri ayrıca meme, yumurtalık, mesane, akciğer, karaciğer ve prostat gibi çeşitli kanser türlerinde ve hematolojik malignitelerde etkileri belirlenmiştir [243]. Ayrıca antibakteriyel, anti-

fibrozis, prenatal süreçte protektif etkiler, antinosiseptif etkileri de tanımlanmıştır [311], [339], [340]. Arı zehrinin en iyi bilinen etkilerinden biri, özellikle melittinden kaynaklanan güçlü anti-inflamatuar aktivitesidir [94]. Arı zehri yüksek dozlarda verildiğinde lokal inflamasyona neden olabilse de, kontrollü konsantrasyonlarda kullanıldığında, endojen kortizol üretimini etkileyerek; tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve interlökin 1- β gibi inflammatuar medyatörleri baskılayarak güçlü anti-inflamatuar etkilere sahiptir [94]. Bu özellik, kardiyovasküler hastalıklar, obezite ve diyabet, astım, otoimmün bozukluklar, inflammatuar bağırsak hastalığı ve nörolojik hastalıklar gibi çok çeşitli durumların patogeneğinde kronik inflamasyonun önemli rolünü hesaba kattığımızda çok önemlidir ve ayrıca, yaşlanma karşıtı özellikleri nedeniyle arı zehri, kozmetik ürünlerin üretiminde giderek daha fazla kullanılmaktadır [341].

Arı Zehrinin Antiinflammatuar Etkileri

İnflamasyon, vücudun zararlı uyaranlara yanıt olarak verdiği koruyucu bir süreçtir. Kronik hale gelmiş bir inflamasyon, romatoid artrit, diyabet, kardiyovasküler hastalık, obezite, astım, cilt hastalıkları ve parkinson, alzheimer ve amyotrofik lateral skleroz gibi merkezi sinir sistemi hastalıklarının gelişmesine yol açabilir [342]. Arı zehri içindeki melittin, yüksek dozlarda uygulandığında lokal ağrı, kaşıntı ve inflamasyona neden olmasına karşın; düşük dozları geniş anti-inflamatuar etkilere sahiptir [94]. Birçok çalışma, RA ve ALS gibi farklı hastalıklarda melittinin anti-inflamatuar mekanizmalarını araştırmıştır [239] [343]. Arı zehri inflamasyon sinyal yollarını etkileyerek ve pro-inflamatuar gen ifadesinin inhibisyonunu indükleyerek, geniş anti-inflamatuar özellikler sağlar. Arı zehri, interlökin-6 (IL-6), IL-8, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interferon- γ (IFN- γ) gibi inflammatuar sitokinleri inhibe ederek etki eder [156]. Dahası, melittin, *Porfiromonas gingivalis* lipopolisakkaridi (PgLPS) ile tedavi edilen insan keratinositlerinde nükleer faktör-kappa B (NF- κ B), protein kinaz Akt ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK1/2) dahil olmak üzere inflammatuar sitokinleri aktive eden sinyal yollarını azaltır [344]. Bu bulgular, melittinin birincil sinyal yollarını bloke ederek inflammatuar sitokinleri inhibe edip; cilt, karaciğer, eklem ve nöronal dokuda inflamasyonun azalmasına yol açtığını göstermektedir [344].

Son çalışmalarda, arı zehrinin en yaygın alerjik kronik inflammatuar cilt hastalığı olan atopik dermatite karşı topikal uygulama yoluyla anti-inflamatuar aktiviteye sahip

olduğu gösterilmiştir [345]. Anti-inflamatuar etki, IgE seviyesinin, sitokin salınımının ve NF-kB ve MAP kinaz aktivitelerinin azalmasıyla oluşur [95]. NF-kB ve MAPK aktivitelerinin azalması, lipopolisakkaritlerin (LPS) neden olduğu inflammatuar yanıtların ve TNF- α /IFN- γ 'ye bağlı olarak gerçekleşen inflammatuar yanıtın inhibisyonunu sağlar [346]. Üstelik, MAPK aktivitesindeki azalma, sitokin salınımında ve COX-2 ve iNOS gibi her ikisi de inflammatuar genler olan genlerin ifadesinde değişiklikler üreten NF-kB sinyallerinin düzenlenmesini etkiler ve bu nedenle, inflamasyondaki azalma, atopik dermatitin ürettiği cilt hasarını azaltır [345]. Melittin'in anti-inflamatuar aktivitesi akne vulgaris, nöroinflamasyon, amiyotrofik lateral skleroz, ateroskleroz, artrit ve karaciğer inflamasyonuna karşı da test edilmiştir [94]. İnflamatuar cilt hastalıklarıyla ilişkili olarak, *Cutibacterium acnes*, TNF- α , IL-1 β , IFN-g ve IL-8 gibi sitokin ve kemokinlerin salınımını üreten TLR2 ve TLR4'ün aktivasyonunu yoluyla inflamasyon sürecini indükler. TLR'ler, inflammatuar gen ekspresyonunda yer alan NF-kB ve MAPK sinyal yollarının aktivasyonunu düzenler [347]. NF-kB yolları, konak bağışıklık ve inflammatuar yanıtında kritik aktivitelere sahip bir grup indüklenebilir transkripsiyon faktörü tarafından belirlenir [154]. Öte yandan, MAPK yolları, inflamasyon süreciyle de ilişkili olan hücrelerin çoğalması, hayatta kalması ve farklılaşmasında rol oynar [348]. Melittin ile yapılan tedaviler TLR yollarının aktivasyonunu düzenler ve inflammatuar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe eder [344]. In vitro olarak melittin, nükleer NF-kB p65'in aktivasyonunu baskılayabilir ve p38 MAPK sinyalini inhibe edebilir [349]. Bu nedenle, bu fonksiyon NF-kB sinyalleme ve p38 yoluyla anti-inflamatuar aktivite üretir.

Bal Arısı Zehrinin Antioksidan Aktivitesi

Bal arısı zehrinde antioksidan aktiviteye sahip bileşenler vardır. Bu aktivitenin etkinliği genellikle melittin, PLA₂ ve apamin konsantrasyonuyla ilişkilidir. Antioksidan etkiler, bu bileşiklerin lipid peroksidasyon sürecini engelleme ve süperoksidadiz dismutaz aktivitesini artırma kapasitesinden kaynaklanabilir [350]. Ancak, bunların dışında, arı zehrinde antioksidan aktiviteye sahip başka bileşenler de vardır. Örneğin, vitellogenin, hücreyi oksidatif strese karşı doğrudan kalkanlama mekanizmasıyla memeli hücrelerinde antioksidan aktivite gösterir ve hücrelere reaktif oksijen türlerine karşı koruma sağlar [331]. İn vitro deneylerle ilgili olarak, bir çalışmada arı zehrinin antioksidan aktivitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) temizleme aktivitesi, indirgeyici güç, β -karoten ağartma inhibisyonu ve tiyobarbiturik asit reaktif maddeler

(TBARS) inhibisyonu gibi farklı yöntemlerle değerlendirilmiş ve sonuçlar, herhangi bir bireysel bileşikle bağlantılı olmamasına rağmen arı zehrinin antioksidan potansiyelini göstermiştir [350]. Başka bir çalışmada, farklı *Apis* türlerini karşılaştırarak DPPH, demir indirgeyici/antioksidan güç (FRAP) ve 2, 20-azinobis 3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) deneyleri ile antioksidan kapasitesi değerlendirilmiş, tüm zehir özütlerinin DPPH inhibisyonu gösterdiği bildirilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite *Apis dorsata* zehrinde görülürken onu *Apis mellifera* takip etmiştir [275]. Son zamanlarda, arı zehrinin erkek tavşanlar üzerindeki etkileri incelenmiştir. Tavşanlar, 20 haftalık bir süre boyunca haftada iki kez deri altına enjeksiyon yoluyla tavşan başına 0.1, 0.2 ve 0.3 mg ile tedavi edilmiştir [351]. Antioksidan aktivitedeki olası değişiklikleri bulmak için deney sırasında toplam antioksidan kapasite (TAC), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon içeriği (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA) ve TBARS ölçülmüş, tedavi edilen tavşanlarda GST ve GSH'de bir artış olduğunu gözlenmiştir. Dahası, arı zehrinin tavşanlardaki antioksidan aktivitesiyle yakından ilişkili olarak, üreme performanslarında iyileşme tespit edilmiştir [351]. Koçyiğit ve arkadaşları 2019'da plazma toplam antioksidan durumunu (TAS), toplam oksidan durumunu (TOS) ve oksidatif stres indeksini (OSI) ölçerek RA'lı sıçanlarda arı zehrinin antioksidan aktivitesini incelemiş ve arı zehri ile tedavi edilen RA'lı sıçanların TAS seviyelerinin arttığını ve TOS ve OSI seviyelerinin azaldığını göstermiştir [352]. Dahası, antioksidan aktivite sıçanlarda indüklenen gastrik ülserasyonda gösterilmiştir. Arı zehri ile tedavi edilen havyaların verileri, asetilsalisilik asit (ASA) ile tedavi edilen hayvanlarla karşılaştırıldığında, her iki grupta da lipid peroksidasyonunun ve antioksidan enzim aktivitesinin zayıfladığı tespit edilmiştir [351].

Bal Arısı Zehrinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Arı zehrinin antimikrobiyal aktivitesi, antibakteriyel antiviral ve antifungal aktiviteleri içermektedir [354]. Zehrin içeriğindeki melittin'in temel etki mekanizması, biyolojik zarları parçalayarak hücre lizisine neden olmasıdır. Ayrıca PLA₂'de antimikrobiyal özellikler gösterir [355]. Ayrıca, vitellogenin de bakterilerin hücre zarlarında hasara neden olan bir antimikrobiyal peptit görevi görür [331]. Arı zehrinin ana bileşeni olan melittin, hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı geniş bir antibakteriyel aktivite spektrumu sergilemiştir [356]. Ayrıca *Candida* cinsine ait bazı

suşlara karşı da antifungal etkiler göstermiştir [331]. Zehir içeriğindeki secapın gibi bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal etkileri olduğu bilinmektedir [357].

Melittinin, hücre zarlarını parçalama ve hücrelerin yüzeysel molekülleriyle etkileşime girme kapasitesi, antiviral aktivitesinden sorumludur [358]. Arı zehri ve melittin, çok sayıda zarflı virüslere (veziküler stomatit virüsü, influenza A virüsü, herpes simpleks virüsü, vb.) ve zarfsız virüslere (enterovirüs-71 ve coxsackie virüsü) karşı in vitro antiviral aktivite göstermiştir [359]. Çalışma ayrıca melittinin ölümcül dozlarda influenza A H1N1 virüsüne maruz kalan fareleri koruduğunu göstermiştir. Arı zehri ve içeriğindeki melittinin antiviral ajanlar olarak etki ettiği kesin etki mekanizması henüz net olmamakla birlikte, arı zehrinin doğrudan viral yüzeyle etkileşime girdiği doğrulanmıştır. Ayrıca, arı zehri ve bileşenlerinin, tip I interferonu (IFN) uyarabildiği ve bu nedenle konak hücrede viral replikasyonu baskılayabildiği tespit edilmiştir [360].

Hayvan ve bitki virüsleri üzerinde yapılan çalışmalar, arı zehrinin potansiyel antiviral aktivitesini göstermiştir [311]. Arı zehri, yeşil floresan proteinle birleştirilmiş veziküler stomatit virüsüne (VSV-GFP) karşı değerlendirilmiş ve arı zehrinin virüsün çoğalmasını engellediği gösterilmiştir [311]. Melittin, influenza A virüsüne (PR8), veziküler stomatit virüsüne (VSV), solunum sinsitiyal virüsüne (RSV) ve *Herpes simpleks* virüsüne (HSV) karşı antiviral etkiler göstermiştir [361]. Ayrıca, melittin enterovirüs-71 (EV-71) ve coxsackie virüsü (H3) gibi viral bir zarı olmayan virüslere karşı da antiviral etkiler göstermiştir [354]. Arı zehri ile yapılan ön tedavilerde, virüs replikasyonunun daha düşük olduğu ve bunun da büyük bir I-IFN üretimine bağlandığı tespit edilmiştir [359]. Son olarak, *Trypanosoma brucei brucei* ve *Plasmodium falciparum* gibi bazı organizmalara karşı tedavide antiparaziter ajan olarak arı zehri ve özellikle içeriğindeki PLA₂'nin aktivitesinin etkinliği tespit edilmiştir [362].

Bal Arısı Zehrinin Nörolojik Hastalıklar Üzerindeki Nöroprotektif Ve Terapötik Etkileri

Çalışmalar, arı zehrinin anti-nöroinflamatuvar bir ajan olarak olası terapötik etkilerini araştırmıştır. Arı zehri, bazı ilaçların nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde etkinliğini artırabilecek ve aynı zamanda olumsuz etkilerini en aza indirebilecek bir kimyasal olarak incelenmiştir [252]. Nörodejeneratif bozukluklar, glia hücreleri ve mikroglianin kronik aktivasyonunun nöroinflamasyonu ile bağlantılıdır ve en önemli nöronal hastalıklardan bazıları parkinson, Alzheimer ve amiyotrofik lateral sklerozdur [335]. Arı

zehrinin PLA₂ ve apamin gibi bazı bileşenlerin, nörodejeneratif bozukluklara karşı bazı ilaçların etkinliğini artırmak için anti-nöroinflamasyon ajanlar olarak çalıştığı tespit edilmiştir [363].

Parkinson Hastalığı

Parkinson, hastalarda ilerleyici sakatlığa yol açan dejeneratif bir hareket bozukluğudur. Hastalığın patolojik ayırt edici özellikleri, substantia nigra'daki (insan beyninde bulunan bir bazal ganglion yapısı) dopaminerjik nöronların ilerleyici kaybı ve beyinde yaygın olarak dağılmış bir protein olan alfa-sinüklein agregalarını içeren Lewy cisimlerinin varlığıdır [364]. [365]. Anormal mikrogial aktivasyon, parkinson dahil olmak üzere farklı nörodejeneratif hastalıklarda da patolojik bir işarettir [366]. Birçok klinik öncesi çalışma, arı zehrinin hayvan ve hücresel modellerde lökositlerin göçü veya mikrogial aktivasyon üzerindeki etkisini araştırmıştır. Çalışma, bal arısı zehri akupunktur tedavisinin, parkinson fare modellerinde, rotenon kaynaklı oksidatif strese, nöroinflamasyona ve apoptoza karşı nöroprotektif potansiyelini değerlendirmiştir [367]. Rotenon, parkinsonda rol oynayan patofizyolojik mekanizmaları etkileyebilen bir pestisittir [367]. İlginç bir şekilde, arı zehri, rotenon uygulamasından sonra dopamin tükenmesini önleme yeteneğini kanıtlamıştır. Ayrıca, parkinson fare modellerine arı zehri uygulandıktan sonra lokomotor aktivite yeniden kurulmuştur. Tedavi, DNA hasarını etkili bir şekilde baskılamış ve parkinsonlu farelerin beyindeki apoptotik Bax, Bcl-2 ve kaspaz-3 genlerinin ifadesini engellemiştir. Bu bulgular, arı zehrinin tüm apoptotik ve nöroinflamatuvar belirteçleri normalleştirdiğini ve rotenon hasarından sonra beyin nörokimyasını geri kazandırdığını göstermektedir [368]. Ayrıca, arı zehrinin deneysel parkinson modellerinde dopaminerjik nöronları, dejenerasyondan koruyabildiği gösterilmiştir. Bu bulguyla birlikte, arı zehri ile alt arka bacakların akupunktur noktası stimülasyonunun parkinsonun MPTP (1-Metil-4-Fenil-1,2,3,6-TetrahidroPiridin) fare modelinde koruyucu olduğu tespit edilmiştir [369].

Alzheimer

Alzheimer, beta-amiloid (A β) peptitlerinin birikimi ve nöroinflamasyonla tetiklenen en yaygın nörodejeneratif hastalıktır [370]. Apamin, Sprague-dawley sıçanlarında CA1 hipokampus nöronal uyarılabilirliğini ve sinaptik plastisiteyi artırabilir ve alzheimer hastalığında potansiyel bir uygulama olduğunu düşündürmektedir [371]. Gu ve

arkadaşları, LPS kaynaklı hafıza kaybı olan farelerde arı zehrinin beyinde ve kültür hücrelerinde NF- κ B sinyal yolunu inhibe ederek amiloidogenez ve nöroinflamasyon yanıtını önemli ölçüde inhibe ettiğini bulmuşlardır [372]. 3xTg alzheimer farelerinde, Ye ve arkadaşları, arı zehrinin önemli bir bileşeni olan PLA₂'nin (0.2 ve 1 mg/kg), mikrogliya inaktivasyonunu ve CD4+T hücre infiltrasyonunu azaltarak bilişsel işlevi artırabileceğini göstermiştir [373]. Bu sonuçlar, arı zehrinin nöroinflamasyonu baskılayarak beyni koruyabileceğine dair kanıtlar sunmaktadır.

Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS)

Motor nöronların ölümüne neden olan bir MSS hastalığıdır [374]. ALS'nin önemli bir özelliği, mutant SOD1 (mtSOD1) protein agregatlarının anormal birikimidir [375]. Glisin ile Alanin ikamesi (SOD1G93A) olan mutasyona uğramış mtSOD1 genini taşıyan bir ALS fare modeli, Jaarsma ve arkadaşları tarafından karakterize edilmiş ve ALS etiolojisinin anlaşılması kolaylaştırılmıştır [376]. Mutant SOD1 transgenik fareleri kullanan hem in vitro hem de in vivo çalışmalar, motor nöronlarda protein yanlış katlanması, mitokondri işlev bozukluğu ve nörofilament birikimi gibi çeşitli hücresel patojenik olayları göstermiştir [376]. İlginç bir şekilde, arı zehri bu hastalığa karşı koymada bir miktar potansiyel göstermiştir. Aslında, ALS ilerlemesinin kesin ve semptomatik bir aşamasında arı zehrinin uygulanması, SOD1G93A mutant farelerde motor aktivitede bir artışa ve yaşa eşleştirilmiş kontrol fareleriyle karşılaştırıldığında yaşam sürelerinde uzamayı da sağlamıştır [377]. Başka bir çalışma, ST36'daki arı zehri akupunkturunun, TLR4, CD14 ve TNF- α gibi inflamatuvar proteinlerin seviyelerini önemli ölçüde azaltarak semptomatik ALS farelerinin omuriliğindeki nöroinflamasyonu engellediğini göstermiştir [378].

Multiple Skleroz (MS)

MS, merkezi sinir sisteminde inflamasyon, demiyelinizasyon ve aksonal dejenerasyon ile karakterize kronik bir nörolojik hastalıktır. Arı zehri tedavisi Japonya, Güney Kore, Tayvan ve diğer Uzak Doğu ülkelerindeki hastanelerde MS'e karşı yaygın olarak kullanılmaktadır [379]. Castro ve arkadaşları, ilerleyici MS formları olan hastalar için potansiyel bir tedavi olarak arı zehri özütünün güvenliğini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışma yürütmüştür. Bu ön çalışma güvenliği göstermektedir, ancak incelenen hasta sayısının az olması nedeniyle etkinlik konusunda kesin sonuçlara varılamamıştır. Sonuç

olarak, MS tedavisinde bal arısı zehrinin kullanımını destekleyecek çok az kanıt ortaya çıkmıştır [380]. Arı sokması tedavisi, hastalığı stabilize edebileceği veya iyileştirebileceği inancıyla multiple skleroz (MS) hastalarını tedavi etmek için giderek daha fazla kullanılmaktadır. Randomize çapraz geçişli bir çalışma, tekrarlayan multipl sklerozlu hastalarda arı sokması tedavisinin hastalık aktivitesini, sakatlığı veya yorgunluğu azaltmadığını ve bu hastaların yaşam kalitesini iyileştirmediğini bildirmiştir [381]. Karimi, arı zehri enjeksiyonunun MS hayvanlarında, arka bacakların felcini azalttığını ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu ve serum TNF- α ve nitrat seviyesini azaltarak demiyelinizasyon sürecinin patolojik değişikliklerini baskıladığını göstermiştir [382].

Antitümör Etkileri

Antitümör özelliklere sahip doğal ürünler arayışı son yıllarda çok yoğun olmuştur [311]. Çeşitli çalışmalar, arı zehri ve bileşenlerinin apoptoz indüksiyonu, nekrozu ve farklı tümör hücrelerinin büyümesinin inhibisyonu gibi bazı özelliklere sahip olduğunu bildirmiştir [383], [384], [385], [386], [387], [388] [389].

Arı zehrinde antitümör etki gösteren ana bileşenler melittin ve PLA₂'dir. Dahası, bunlar arasındaki etkileşimler antitümör aktivite üretir [390]. Kansere karşı apoptotik aktivite, tümör hücresi büyümesini azaltmak için önemli bir aktivitedir. Melittin, tümör hücrelerine karşı daha yüksek sitotoksik aktiviteye sahip arı zehri bileşenidir. Melittinin kanser karşıtı etkisini gösteren ilk çalışma, kanser hücrelerinin apoptozunun, lösemik hücrelerde kalmodulinin inhibisyonuyla üretildiğini göstermiştir. Bu inhibisyon, Ca²⁺ kanallarının pompa aktivitesinin Ca²⁺ konsantrasyonunda büyük bir artışa neden olması ve bunun sonucunda hücre ölümünün indüklenmesiyle meydana gelmiştir [391]. Bu keşiften bu yana, melittinin antitümör etkilerini ve etki mekanizmalarını araştırmak için farklı tipteki tümör hücre hatlarıyla çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Arı zehri ve melittin, prostat kanserinde kanser hücresi büyümesinin inhibe edici aktivitesini göstermiştir. Bu etki, Bcl-2, XIAP, iNOS ve COX-2 gibi antiapoptotik gen ürünlerinin aşağı düzenlenmesiyle meydana gelmiştir [384], [392]. Bu nedenle, bu aşağı düzenleme, apoptotik hücre ölümüyle ilişkili olan NF- κ B'nin transkripsiyonel aktivitesinin inhibisyonunu üretmiştir. NF- κ B sinyallemesinin inaktivasyonu, p50 ve p65 translokasyonunun inhibisyonuyla I κ B α fosforilasyonunun bozulmasıyla meydana

gelmiştir [384]. Arı zehri ve melittin kaynaklı apoptozun başka bir yolu yumurtalık kanseri hücrelerinde incelenmiştir. Bu çalışmada, melittin ölüm reseptörlerinin indüksiyonu ve JAK2/STAT3 yolunun inhibisyonu yoluyla antikanser etki göstermiştir [393]. Yumurtalık kanseri hücrelerinin büyümesini azaltmadaki ana etki, STAT3'ün inaktivasyonu ve ölüm reseptörleri DR3, DR4 ve DR6'nın aşırı ekspresyonudur. Bu DR'lerin ekspresyonu kaspaz-8'e bağlı aktivasyon apoptozu üretmiştir [393]. Alternatif olarak, apoptoz melittin tarafından kansere karşı kullanılan tek yol değildir. Kanında fare Lewis akciğer karsinomu bulunan farelerde melittin, apoptoz olmaksızın tümör hücrelerinin çoğalmasını azaltmıştır. Melittin tedavisi, tümör stromasındaki tümör ilişkili makrofajların (TAM), özellikle CD206+ M2 benzeri TAM'ların sayısını azaltmıştır. CD206+ M2 benzeri TAM'lardaki azalma nedeniyle tümör dokularındaki VEGF+ ve CD31+ hücre sayısı azalmıştır. Bu gerçek, melittinin anti-anjiyojenik etkisini göstermektedir [394]. Kanser hücresi ölümüne neden olan diğer mekanizmalar, melittinin fosfolipidik zarlarla etkileşime girme yeteneğiyle ilişkilidir. Bu etkileşim, hücre zarını çökertebilen ve hücrelerin lizisine yol açabilen gözenekler oluşturur [395], [396]. Bu kapasite, mide ve kolorektal kansere karşı incelenmiştir. 20 µg/mL'lik bir melittin dozuyla, kanser hücrelerinin in vitro reaksiyonu çok hızlı olmuş; melittinin granülasyon, kabarcıklanma ve hücre şişmesi oluşturması yalnızca bir dakika içinde gerçekleşmiştir. Dahası, tedavinin başlamasından 15 dakika sonra tam ölüm meydana geldi [397]. Ancak, bu litik etki kanser hücrelerine özgü değildir ve diğer sağlıklı hücrelerin lizisine neden olabilir. Bu anlamda, bir çözüm, melittinin hedef hücrelerdeki etkisini sınırlamak için nanopartiküller gibi taşıyıcıların kullanılmasıdır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, melittinin nanografen oksit ve melittinin nanoelmaslarla ilişkisi meme kanserine karşı incelenmiştir [398]. Bu ilişki, melittinin tek başına kullanımına kıyasla kanser hücreleri üzerindeki toksik etkide artışa neden olmuştur. Dahası, melittinin nanoelmaslarla birlikte kullanımı, sağlıklı hücreleri melittinin litik etkisine karşı koruyabilmiştir. Dahası, nekroz seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir [398].

Antidiyabetik aktivite

Alloksan ile diyabetik arı zehri verilmiş sıçanlar üzerinde yapılan önemli bir deneyde, arı zehrinin serum glikoz seviyesinde azalma ve insülin seviyesinde önemli bir artış sağladığı görülmüştür [379]. Arı zehri indüksiyonu ile malondialdehit (MDA), kolesterol, trigliseritler, kreatinin ve aminotransferazların (ALT ve AST)

metabolizması, hayvan modelinde önemli bir homeostaz sonucuyla gerçekleştirilmiştir. Alloksan ile diyabetik sıçanlarda toplam antioksidan kapasite (TAC), glutatyon (GSH) içeriği ve katalaz (CAT) aktivitesi, arı zehri dozuyla iyileşmiştir [399].

Nevralji

51 yaşında bir erkekte arı sokmalarının ağrılı post-herpetik nevralji üzerindeki etkilerini açıklayan bir vaka raporu bulunmaktadır. Hasta üç arı tarafından sokulmuş ve arı sokmalarından bir gün sonra hastanın ağrılı post-herpetik nevraljisi tamamen rahatlamış ve rahatlama 1 buçuk ay sürmüştür. Araştırmacılar daha sonra arı zehrinin tedavisinin post-herpetik nevralji için potansiyel bir tedavi yöntemi olarak daha fazla araştırılması gerektiğini önermişlerdir [400]. Kore Orient Tıp Enstitüsü'ndeki araştırmacılar tarafından yapılan bir çalışma, seyreltilmiş arı zehrinin siyatik sinir kronik daralma hasarı (CCI) sıçanlarında nöropatik ağrıyı azalttığını göstermiştir. Spinal adrenerjik reseptörlerin bu etkilere aracılık ettiği düşünülmektedir [401].

HIV

Melittin, arı zehrinde bulunan güçlü bir toksindir. İnsan immün yetmezlik virüsünü ve diğer virüsleri çevreleyen koruyucu viral zarftaki deliklere nüfuz edebilir. Yeterince büyük miktarlarda serbest melittin önemli hasara yol açabilir. Washington Üniversitesi Tıp Fakültesi'ndeki araştırmacılar, arı zehri toksini melitini içeren nanopartiküllerin AIDS'e neden olan HIV virüsünü yok edebileceğini göstermiştir. Yeni bir çalışma, nanopartiküllerdeki melitin viral zarflarla birleştiğini ve küçük gözenek benzeri saldırı kompleksleri oluşturduğunu göstermektedir [402].

Artrit

Arı zehri, artrit hastalarına yeni bir umut sunuyor gibi görünüyor. Arı zehrinin anti-artrit etkisinde iki mekanizma yer alır. Bunlardan ilki muhtemelen antijen rekabeti yoluyla bağışıklık tepkisinin değişmesidir ve diğeri kortikosteroidler veya henüz belirlenmemiş bir mekanizma yoluyla anti-inflamatuar etki göstermesidir [403], [404]. Kronik artritli bir hayvan modelinde, belirli bir akupunktur noktasına yapılan arı zehri enjeksiyonlarının anti-nosiseptif etkisini değerlendirmek için bir çalışma yapılmıştır [405]. Akupunktur noktasına yapılan arı zehri enjeksiyonunun sıçanlarda Freund'un

adjuvan kaynaklı artrit modeli üzerinde hem anti-inflamatuar hem de antinötrofik etkileri olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, arı zehrinin romatoid artrit tedavisi için umut verici bir alternatif tedavi olabileceği olasılığını ortaya koymaktadır [406].

Osteoartrit (OA)

OA, herhangi bir eklemden meydana gelebilen ancak genellikle elleri, dizleri, kalçaları veya omurgayı etkileyen en yaygın eklem hastalığı türüdür. Diz OA'lı hastaların ağrısını hafifletmek için arı zehri tedavisini geleneksel iğne akupunkturuyula karşılaştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Çalışma, arı zehri akupunktur alan deneklerin önemli ölçüde daha yüksek bir oranının geleneksel iğne akupunktur tedavisi alanlara kıyasla önemli ölçüde ağrı kesici olduğunu göstermiştir [407]. Deneysel bir tavşan modelinde osteoartritin eklem tedavisinde arı zehri ve hyaluronik asit (HA) kullanımını araştırmak için başka bir analiz yapılmıştır. Bu çalışmanın yazarları, deneysel bir osteoartrit modeli için HA ve arı zehrinin eklem içi uygulamasının tedaviden sonra iyileşme üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur [408].

Romatoid Artrit (RA)

RA, vücudun eklemlerdeki dokuyu yabancı bir nesne olarak algıladığı ve bağışıklık tepkisi yoluyla dokuyla savaştığı bir otoimmün hastalıktır [409], [410]. Arı zehrinin artrite karşı tıbbi özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir [411]. Romatoid artrit indüklenmiş artritli sıçanlarda, 15 gün boyunca deri altına uygulanan 2 mg/kg arı zehri ile tedavi edilen grup romatoid artritin gerilediği tespit edilmiştir [406]. Bu arı zehri dozu karaciğer ve böbrek fonksiyonunu değiştirmemiştir. Arı zehri ile tedavi edilen grup, pozitif kontrole kıyasla daha düşük IL-1 β , IL-6, TNF- α ve TGF- β 1 gibi inflammatuar sitokin seviyeleri göstermiştir. Proinflammatuar sitokinlerdeki bu azalma, PLA₂'nin RA'daki ana inflammatuar tetikleyicilerden biri olduğunu göstermektedir [406]. Arı zehri ile ilgili yapılan RA çalışmaları, arı zehrinin, sabah tutukluğunu, hassas eklem sayısını, şişmiş eklem sayısını önemli ölçüde azaltabileceğini ve hastaların yaşam kalitesini iyileştirebileceğini göstermiştir [412]. Ayrıca, arı zehri ilaçların toksik etkilerini azaltabilir ve diğer ilaçlarla birleştirildiğinde etkiyi artırabilir. Darwish ve ark. tarafından yapılan bir çalışma arı zehri ve metotreksat kombinasyonunun metotreksatın anti-artrit etkilerini güçlendirdiğini ve metotreksat tarafından indüklenen hepatotoksisiteyi bastırdığını gözlemlemiştir [413]. Lin ve ark. tarafından yapılan bir

çalışma ayrıca ST-36'da arı zehri ile tedavinin, pençenin enjekte edilen tarafındaki pençe ödemi önemli ölçüde engellediğini, nosiseptif davranışları azalttığını ve lomber omuriliğin yüzeysel tabakasındaki Fos ekspresyonunu azalttığını bulmuştur [414]. Huh ve arkadaşları, ST-36'da bilateral 0,1 ml arı zehri enjeksiyonunun, serum proinflatuar sitokinleri $\text{TNF-}\alpha$ 'yı önemli ölçüde azalttığını ve CIA modelinde lenfosit infiltrasyonunu engellediğini göstermiştir [414]. Ayrıca, Suh ve arkadaşları, arı zehrinin (5 mikrol/100 g) sitoplazmik, lizozomal ve matris proteaz aktivitesini önemli ölçüde baskılayarak ve tip II CIA sıçanlarında ROS seviyesini azaltarak doku hasarını önlediğini gözlemlemiştir [416]. Kolajen kaynaklı artritli sıçan hayvan modelinde, Kim ve arkadaşları, 20 mg/100ml arı zehrinin (intraperitoneal enjeksiyon, 14 gün boyunca günde bir kez) kasık lenf nodu hücrelerinden, IL-1, IL-2, IL-6, $\text{TNF-}\alpha$ ve interferon- γ gibi T hücre sitokinlerinin üretimini, önemli ölçüde engellediğini gözlemlemiştir [417].

Karaciğer Fibrozu

Karaciğer fibrozu, alkolik hepatit, viral hepatit ve primer sklerozan kolanjit gibi çeşitli karaciğer hastalıklarında kronik karaciğer hasarından kaynaklanan ilerleyici bir patolojik süreçtir [418]. Ortaya çıkan kanıtlar, arı zehrinin in vivo ve in vitro anti-inflatuar ve anti-apoptotik mekanizma yoluyla karaciğer hasarına karşı koruduğunu göstermektedir [419]. Bir çalışmada, melittinin nükleer faktör ($\text{NF-}\kappa\text{B}$) sinyal yolu aracılığıyla proinflatuar sitokinlerin ekspresyonunu baskıladığı ve mekanizması $\text{NF-}\kappa\text{B}$ sinyal yolunun kesintiye uğraması olan karaciğer iltihabını ve fibrozunu inhibe ederek TAA kaynaklı karaciğer fibrozunu önlediği bildirilmiştir. Bu sonuçlar, melittinin karaciğer fibrozunu önlemede aktif bir ajan olarak işlev görebileceğini göstermektedir [420].

2010 yılında Kim, Karbon tetraklorür (CCl_4) ve etanol ile tedavi edilen hepatositler (ETH) ile indüklenen hepatik fibroz fare modellerinde arı zehrinin anti-fibrozis etkilerini araştırmıştır [421]. arı zehrinin (0,05-0,5 mg/kg) proinflatuar sitokinleri ($\text{TNF-}\alpha$, IL-1 β) ve fibrojenik geni (TGF- β 1, düz kas aktini ve fibronektin) baskılayarak serum aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferazı (ALT) önemli ölçüde inhibe ettiği tespit edilmiştir. Başka bir çalışma, PLA_2 'nin parasetamol enjekte edilmiş karaciğer hasarı farelerinde antiinflatuar sitokin üretimi ve proinflatuar sitokin inhibisyonu yoluyla karaciğer hasarını önleyebileceğini göstermiştir. 0,2 mg/kg PLA_2

ile tedavi, serum AST, ALT, proinflamatuvar sitokinler ve NO seviyelerini önemli ölçüde azaltmış ve IL-10 seviyesini artırmıştır [422]. Ayrıca, arı zehrinin akut karaciğer yetmezliği fare modelinde karaciğer hasarını önleyebildiği tespit edilmiştir. Park ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma melittinin (0,1 mg/kg) GalN/LPS ile indüklenen akut karaciğer yetmezliği hayvan modellerinde NF- κ B aktivasyonunu ve kaspaz ve bax protein seviyelerinin yanı sıra sitokrom kreleaz ekspresyonunu inhibe ederek akut karaciğer yetmezliğine karşı koruduğunu göstermiştir [423].

İn vitro yapılan çalışmalarda, TGF- β 1 ile indüklenen hepatositlerde, melitinin optimal dozunun, mitokondriyal apoptoz yolunun inhibisyonu yoluyla hepatosit apoptozuna karşı koruma sağlayabildiği tespit edilmiştir [424]. Düşük doz melitin (0,5 ve 1 μ g/ml), hepatositleri DNA hasarından önemli ölçüde korumuş, kaspaz protein aktivasyonunu baskılamıştır. Bir başka çalışmada, 12 hafta boyunca melittin (0,1 mg/kg) uygulanmasının karaciğer fibrozunu önlediği ve tiyoasetamid (TAA) kaynaklı karaciğer fibrozunda NF- κ B sinyal yolunu hedef alarak hepatik yıldız hücre aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir [425].

Ateroskleroz (AS)

AS, lipidler, monositler ve arter duvarı hücreleri arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan arterlerin iltihaplanması sonucu oluşan kronik bir inflamatuvar hastalıktır [426]. Vasküler düz kas hücrelerinin (VSMC) iltihabı ve proliferasyonu, AS lezyonlarının ilerlemesinde önemli bir rol oynar [427]. Araştırmacılar ayrıca arı zehrinin AS üzerindeki etkisini in vitro ve in vivo olarak araştırdılar. Aterosklerotik fare modelinde, hem arı zehri (0,1 mg/kg) hem de melittin (0,1 mg/kg), aorttaki proinflamatuvar sitokinleri (TNF- α ve IL-1 β), yapışma moleküllerini (VCAM-1, ICAM-1) ve fibronektin TGF- β 'yi baskılayarak toplam kolesterol ve trigliserit düzeyini düşürebilir [428], [429]. Kim ve arkadaşları, apaminin ayrıca serumdaki lipidleri, TNF- α ve Ca⁺² seviyelerini önemli ölçüde azaltabileceğini ve aterosklerotik farelerde inen aortta VCAM-1, ICAM-1, fibronektin ve TGF- β ekspresyonunu azaltabileceğini göstermiştir [282]. Ayrıca, apaminin mitokondri ile ilişkili apoptotik yolla makrofaj apoptozunu inhibe ederek, hücre içi lipid birikimini önleyebileceğini tespit etmişlerdir. Proapoptotik genler Bax, kaspaz-3 ekspresyonu ve PARP protein seviyelerini azaltarak ve

antiapoptotik genler Bcl-2 ekspresyonu ve Bcl-xL protein seviyelerini artırarak apoptotik makrofajları önemli ölçüde azaltmıştır [282].

İyi Huylu Prostat Hiperplazisi (BPH)

Bir çalışmada arı zehri, iltihabı azaltmak ve yaşlanan erkeklerde yaygın bir rahatsızlık olan BPH'nin gelişimiyle ilişkili olan prostat hücresi çoğalması ve hücre ölümü arasındaki dengesizliği düzeltmek için kullanılmıştır. Arı zehrinin testosteron kaynaklı BPH sıçanlarına karşı etkinliği, tedavi edilmeyen gruba kıyasla prostat ağırlığını azaltmış olması ile tespit edilmiştir. Ayrıca arı zehri, serum dihidrotestosteron konsantrasyon seviyelerini ve histolojik analizde çoğalan hücre nükleer antijen seviyelerini baskılamıştır. Bu sonuçlar arı zehrinin iyi huylu prostat hiperplazisini tedavi etmek için iyi bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir [430].

Arı zehri immünoterapisi

Zehir immünoterapisi (VIT), alerjik reaksiyona neden olan alerjenlere karşı duyarlılığı önlemek veya azaltmak için kullanılır. VIT tedavisi, küçük ancak önemli bir sistematik reaksiyon riski taşır ve Hymenoptera (testere sinekleri, eşek arıları, arılar ve karıncaları içeren en büyük böcek takımlarından biri) zehrine karşı sistemik alerjik reaksiyonları (SAR) olan hastaların tedavisinde oldukça etkilidir [431]. VIT, insanlarda alerjik duyarlılığı azaltmada oldukça etkilidir ve arı sokması alerjisi olan kişilerde sistematik reaksiyon riskini %95'ten fazla azalttığı gösterilmiştir. Arı zehrinin bu immünoterapisi, vakaların büyük çoğunluğunda sokmalardan kaynaklanan olumsuz (veya alerjik) reaksiyonlara karşı koruma sağlayabilir [432].

Arı Zehri Toksik Dozu

İnsanlarda arı zehrinin ortalama öldürücü dozu (LD₅₀) kilogram başına 2.8 mg olarak bildirilmiştir [271], [433]. Bu değer göz önüne alındığında, 60 kg ağırlığındaki bir kişinin toplamda 168 mg arı zehrine maruz kalması durumunda hayatta kalma şansı %50 olarak hesaplanmaktadır [271]. Tek bir işçi arı, sokma sırasında yaklaşık 0.15 ila 0.30 mg arasında zehir enjekte edebildiğinden, bu miktar yaklaşık 560 arı sokmasına karşılık gelmektedir. Bununla birlikte, ölümlerin büyük bir kısmı zehrin toksik dozuna ulaşmaktan değil; anafilaktik şok, kalp durması ya da boğaz ve ağız çevresindeki

şırmeye bağlı solunum yolu tıkanıklığından kaynaklanmaktadır [271]. olarak, arı zehri teorik olarak yüksek dozlarda toksik olsa da, kontrollü kullanımda oldukça güvenli kabul edilmektedir [434].



2.BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan bal arısı (*Apis mellifera*) zehri, 2024 yılı Ağustos ayında arıların zehir verimliliğinin en yüksek olduğu dönemde, İzmir Esen arıcılık tarafından toplanarak temin edilmiş ve ilgili analizleri ve deney hayvanı çalışmalarını yapmak üzere, soğuk zincirde, Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji bölümü laboratuvarına getirilmiştir. Bal arısı (*Apis mellifera*) zehri, Benton'a göre, elektroşok veren bir cihaz yardımıyla toplanmıştır. Zehir toplama plakası, arı kolonisinin kuluçka odasının altına oturtulmuş ve her koloni 5 dakika sağılmıştır. Sistem, 6 mm çelik tellerin, aralıklarla gerilerek bir çerçeveye montajı olarak tespit edilmiştir. Teller dönüşümlü olarak topraklanır ve 33 volta kadar şarj edilir. Bir zamanlayıcı, devreyi 3-4 saniyede bir kesmiş ve 1 gr zehir elde etmek için ortalama 20 kovan sağılmıştır. Optimum koşullar altında bu miktarda zehir 10.000 işçi arı tarafından üretilir. Tellerle birlikte bulunan cam plakanın üzerine biriken zehir, kazıma aparatı ile kazınarak amber renk şişeye alınmış; ardından hemen liyofilize edilerek Benton'a göre 20°C'de muhafaza edilmiştir [435].

Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışma DEKAM'da (Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi) gerçekleştirilmiştir. Çalışma, Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Başkanlığı'nın Etik Kurul onayları 07.12.2022 tarih ve 22/250; 22/251; 22/252 no'lu kararlar ile alınarak veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirilmiştir. Araştırmada toplam 168 adet sağlıklı Wistar albino erkek rat kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Arı Zehrinin İçeriğinin HPLC İle Belirlenmesi

Bal arısı (*Apis mellifera*) zehrinin ana bileşenleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlenmiştir. Ana zehir bileşiklerini test etmek için, çalışmada, Supelcosil lc-318 5 µm, 4.6 × 250 mm kolon (Supelcosil HPLC Products), ayırma sıcaklığı 25°C, akış hızı 1.0 ml/dk., gradyan elüsyon koşullarında (%5B - %80B, 30 dk), 40 µL enjeksiyon hacminde kullanılmıştır. Kromatografik ayırma, su içinde A-%0.1 trifloroasetik asit (TFA), asetonitril içinde B-%0.1 TFA: su (80:20) mobil fazlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrılan zehir bileşiklerinin tahlilleri, 220 nm dalga boyunda UV detektörü kullanılarak yapılmıştır. Arı zehiri numuneleri, ana fraksiyon bileşikleri (melittin, fosfolipaz A2 ve apamin) için analiz edilmiştir [436].

2.2.2. Arı Zehrinin Saflaştırılması

Amber renkli şişede muhafaza edilen toz haline getirilmiş arı zehrinden 10 mg tartılarak 1 ml distile su içerisinde çözündürülmüştür, 14.000 rpm'de 4°C'de 30 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve üst faz alınarak liyofilizasyon cihazında kurutulmuştur. Sonrasında liyofilizasyondan çıkarılan saflaştırılmış total arı zehri, 1 ml'de 1 mg olacak şekilde distile suda çözündürülmüş ve 10 adet 1 ml stok çözelti hazırlanmıştır.

2.2.3. Deney Hayvanı Çalışmaları

In vivo deneyler için erkek yetişkin Wistar albino sıçanlar (200-220 g) kullanılmıştır. Hayvanlar yaklaşık 25°C'de ve % 60-70 bağıl nemde 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde tutulmuş; yem ve su ad libitum olarak verilmiştir. Hayvanlar, deneylere başlamadan önce en az iki hafta süreyle ortama alıştırmıştır. Tüm çalışmalar, her grupta altı hayvan kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm hayvan deneyleri, ERÜ HADYEK (Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu) tarafından onaylanan (EK1, EK2, EK3) etik normlara göre gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.1. Ratlarda İnflamasyon Modeli

2.2.3.1.1. % 1'lik Karagenan Solüsyonunun Hazırlanması

Solüsyon Nipate ve Bhandarkar (2020)'a göre hazırlanmıştır [437]. 10 ml serum fizyolojik içerisine 100 mg lambda-karagenan eklenerek % 1'lik karagenan stok solüsyonu elde edilmiştir. Hafif çalkalama ile karagenan jöle kıvamı alacak şekilde serum fizyolojik içerisinde çözdürülmüştür.

Çalışmada 36 adet wistar albino rat kullanılmıştır. Altı gruba ayrılan hayvanlar; kontrol grubu, arı zehri doz grupları ve standart ilaç grubundan oluşmuştur. Güç analizine göre (TURCOSA), her grupta 6 hayvan olacak şekilde gruplandırılmıştır. Kontrol grubuna 0.5 ml hacimde serum fizyolojik (%0.9 NaCl) verilirken, arı zehri doz gruplarına daha önce stok olarak hazırlanmış olan arı zehrinden 0.5 ml hacimde serum fizyolojik içerisinde 0.05; 0.2; 0.5 ve 1 mg/kg arı zehri verilmiştir. Standart ajan olarak indometazin 5 mg/kg dozda 1 ml hacimde gavaj yoluyla oral olarak verilmiştir. İndometazin grubunda 60 dakika, diğer gruplarda 30 dakika beklenerek, hazırlanan %1'lik lambda karagenan solüsyonu (serum fizyolojik içinde) 0.1 ml hacimde sıçanların sağ arka pençe subplantar alanına subkutan olarak uygulanmıştır (Şekil 1). Vücut ağırlığı 200 ± 20 gr olan her bir sıçana aynı miktarda karagenan solüsyonu verilmiştir.

Deney grupları;

1.Grup: Kontrol (salin. % 0.9 NaCl)

2.Grup: 0.05 mg/kg arı zehri

3.Grup: 0.2 mg/kg arı zehri

4.Grup: 0.5 mg/kg arı zehri

5.Grup: 1 mg/kg arı zehri

6.Grup: 5 mg/kg indometzin



Şekil 1. Lambda karagenan ile indüklenmiş pençe ödemi

Deneyin başlangıcından itibaren pençe volümünün ölçülmesi; 300.dk'da pletismometre aracılığıyla Lanhers'e göre yapılmıştır [438]. Pletismometre bir inflamasyon durumunda sağ arka pençedeki hacim değişikliğini bulmak amacıyla kullanılmıştır. Hayvanların sağ arka pençesine çizilen bir çizgi yardımıyla belirlenen alanın hacmi, enjeksiyonların öncesinde de ölçülmüştür.

Oluşan inflamasyonun hesaplaması : $\% I = [1 - (dt / dc)] \times 100$ (% I: inhibisyon yüzdesi; dt: İlaç uygulanan gruptaki pençe ödemi değişimi; dc: Kontrol grubundaki pençe ödemi değişimi) formülüne göre yapılmıştır [439].

2.2.3.1.2. IL-1 β , IL-6, TNF- α , Sedimentasyon (ESR) Ve C-Reaktif Protein (CRP) Modülatörlerinin Belirlenmesi

Proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeylerinin belirlenmesi amacıyla enzim bağlı immünosorbent test (ELISA) yöntemi kullanılmıştır. Ödem oluşturulduktan 6 saat sonra, hayvanlara ketamin (60 mg/kg) ve ksilazin 10mg/kg intraperitoneal yolla verilmiş, kan örnekleri toplanmış ve daha sonrasında yüksek dozlarda anestezi verilerek hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Her sitokin için ticari olarak temin edilmiş, yüksek duyarlılığa sahip rat spesifik ELISA kitleri tercih edilmiştir. Örnekler ve standartlar, üretici firmanın yönergelerine uygun şekilde, mikrotitre plakalarına yerleştirilmiş ve belirtilen inkübasyon sürelerine göre işlenmiştir. Ardından, uygun kromojen substrat

ilavesiyle reaksiyon başlatılmış ve durdurucu solüsyon eklenmesinin ardından optik yoğunluk, 450 nm dalga boyunda mikropilaka okuyucu ile ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerlerinden, standart eğri kullanılarak sitokin konsantrasyonları (pg/mL) hesaplanmıştır. Bu yöntem, deneysel inflamasyon ve bağışıklık tepkilerini değerlendirmede yaygın olarak kullanılmakta olup daha önce de çeşitli çalışmalar tarafından güvenilirliğini kanıtlamıştır [440].

Deneysel inflamasyonun sistemik düzeyde değerlendirilmesi amacıyla, kan örneklerinde eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri analiz edilmiştir. Protokol, ilgili üniversitenin hastane laboratuvarında, standart klinik biyokimya analiz birimi koşullarında gerçekleştirilmiştir. ESR ölçümü, antikoagülan (EDTA) içeren tüplere alınan tam kan örneklerinde, klasik Westergren yöntemi esas alınarak yapılmıştır. Örnekler, standart kalibreli sedimentasyon tüplerine aktararak, 1 saatlik süre sonunda eritrositlerin çökme yüksekliği (mm/saat) kaydedilmiştir. Bu parametre, Brigden, (1999)'e göre sistemik inflamatuvar süreçlerin dolaylı bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir [196]. CRP düzeylerinin tayini ise, ticari olarak temin edilen rat-spesifik ELISA kitleri ile gerçekleştirilmiştir. Plazma örnekleri, üretici firmanın önerdiği protokol doğrultusunda analiz edilmiş; reaksiyon sonrası mikrotitre plakalarda 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar pg/mL cinsinden hesaplanmıştır. Yöntem, klinik inflamasyon belirteçlerinin hassas tayini için uygun kabul edilmektedir [202].

2.2.3.1.3. Histolojik Analizler

Deney sonunda alınan karaciğer doku örnekleri önce %10'luk formaldehit solüsyonunda bekletilerek tespit edilmiştir. Tespit işleminden sonra dokular gece boyu akar suda bırakılmıştır. Ardından artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%70, %80, %96, %100) dehidrate edilmiştir. Ksilen ile şeffaflandırılan dokular temiz parafine gömülmüştür.

Hematoksilen ve Eozin Boyama

Parafine gömülmüş karaciğer dokularından alınan 5µm kalınlığındaki kesitler Harris hematoksilen ve eozin ile boyanmıştır. Histopatolojik değerlendirme için ışık mikroskobu (Zeiss Axioscope 5 Colibri 3) altında incelenmiş ve görüntülenmiştir. Elde

edilen görüntülerde karaciğer dokusunda sinüsoidal genişleme, hemoraji, hasarlı hepatosit ve inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu değerlendirilmiştir [441]. Her kategori için hasar oranları şu şekilde puanlanmıştır: 3 şiddetli; 2 orta; 1 hafif ve 0 gözlenmedi. Kantifikasyon iki araştırmacı tarafından rastgele ve kör olarak yapılmıştır.

2.2.3.2. Ratlarda Nosisepsiyon Modelleri

Çalışmada mekanik, kimyasal, ve termal uyaranların baz alındığı hayvan modelleri kullanılmıştır.

2.2.3.2.1. Mekanik Uyaranın Kullanıldığı Test Modeli

Kuyruk sıkıştırma testi Randall ve Selitto (1957)'e göre yapılmıştır [442]. İşlemden önce standart analjezik olarak 300 mg/kg parasetamol [441] 1 ml distile suda çözündürülerek gavaj yoluyla, salin ve arı zehri-salin çözeltisi 0.05; 0.2 ve 0.5 mg/kg ve 1 mg/kg dozlarda 0.5 ml hacimde intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Enjeksiyonlardan 45 dk. sonra gavajdan 60 dk. sonra bir arter klempı yardımıyla mekanik uyaran hayvanın kuyruğuna uygulanmıştır. Analjezik etkinin ölçümü için klemp maksimum 15 sn. boyunca kuyrukta bırakılmıştır. Klempı ısırma çalışma tepkisinin verilme süresi kaydedilerek analjezik etki incelenmiştir.

Deney grupları;

1.Grup: Kontrol (salin, % 0.9 NaCl)

2.Grup: 0.05 mg/kg arı zehri

3.Grup: 0.2 mg/kg arı zehri

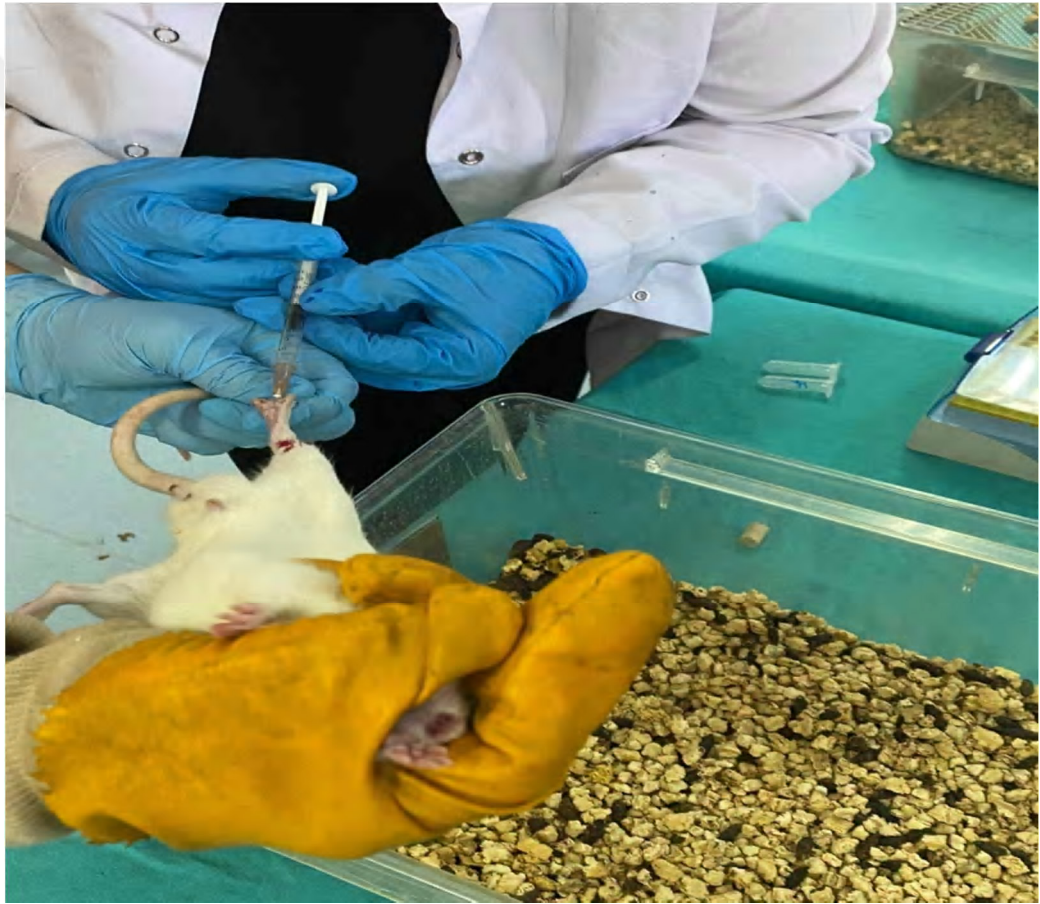
4.Grup: 0.5 mg/kg arı zehri

5.Grup: 1 mg/kg arı zehri

6.Grup: 300 mg/kg parasetamol

2.2.3.2.2. Kimyasal Uyaranın Kullanıldığı Test Modeli

Formalin testi, 1977’de Dubuisson ve Dennis’e göre yapılacak olup; kedi ve sıçanlar için geliştirilmiştir [444]. Öncelikle serum fizyolojik, serum fizyolojik içinde 0.05, 0.2, 0.5 ve 1 mg/kg arı zehri ve 0.5 ml hacimde intraperitoneal yolla, 300 mg/kg parasetamol, gavaj yoluyla verilmiştir. Bu işlemden 60 dk. sonra % 37’lik formalin solüsyonundan hazırlanan 0.05ml %1’lik formalin subkutan olarak arka ayağın iç yüzeyine enjekte edilmiştir (Şekil 2). Pençe yalama yanıtının süresi erken (0-10 dk.) ve geç (10-60 dk.) fazda ölçülmüştür. Elde edilen veriler % inhibisyon olarak hesaplanmıştır.



Şekil 2. Arka ayağın ventral yüzeyine formalin enjeksiyonu

Deney grupları;

- 1.Grup: Kontrol (salin, % 0.9 NaCl)
- 2.Grup: 0.05 mg/kg arı zehri
- 3.Grup: 0.2 mg/kg arı zehri

4.Grup: 0.5 mg/kg arı zehri

5.Grup: 1 mg/kg arı zehri

6.Grup: 300 mg/kg parasetamol

2.2.3.2.3. Termal Uyarının Kullanıldığı Test Modeli (Hot plate testi)

Sıcak plaka testi (Hot-plate testi): ilk kez Woolfe ve MacDonald tarafından 1944’de tanımlanmış olmasına rağmen en çok 1953’de Eddy ve Leimbach tarafından tanımlanan modifiye formu kullanılmıştır [445]. Hayvanlar sırayla, önceden belirlenmiş ve 55°C’de sabitlenmiş sıcaklıktaki bir plakaya yerleştirilmiştir (Şekil 3). Hayvanın ağrı tepkisi olarak pençe yalaması, çekme veya zıplama gibi reflekslerin şiddeti ve süresi ölçülmüştür.

Çalışmada hayvanların ısıtılan yüzey üzerinde belli bölge sınırlarında kalması için hareket kabiliyetini sınırlamayacak büyüklükte şeffaf plastik silindir kullanılmıştır. Öncelikle serum fizyolojik, serum fizyolojik içinde 0.05, 0.2, 0.5 ve 1 mg/kg arı zehri 0.5 ml hacimde intraperitoneal yolla ve 300 mg/kg parasetamol gavajla, verilmiştir. Bu işlemten 60 dk. sonra hayvanlar plakaya yerleştirilmiştir. Hayvanların yüzeye bırakılmasından hayvanın ayağını çekmesine kadar geçen süre ölçülmüştür. Bir sıçanın normal reaksiyon süresi 5-10 saniye ölçülmüş; deri yanığını önlemek amacıyla cut-off süresi 20 saniye olarak belirlenmiştir [445]. Elde edilen veriler % inhibisyon olarak hesaplanmıştır.

Deney grupları;

1.Grup: Kontrol (salin, % 0.9 NaCl)

2.Grup: 0.05 mg/kg arı zehri

3.Grup: 0.2 mg/kg arı zehri

4.Grup: 0.5 mg/kg arı zehri

5.Grup: 1 mg/kg arı zehri

6.Grup: 300 mg/kg parasetamol



Şekil 3. Termal uyarının kullanıldığı sıcak plaka test modeli

2.2.3.3. Ratlarda Hiperpireksi Modeli

Bira mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) indüklü hiperpireksi modeli: Deney hayvanlarına serum fizyolojik içinde 10 ml/kg %20'lik bira mayası [446] subkutan uygulanarak hipertermi indüklenmiştir.

Maya enjeksiyonundan 16 saat sonra, her sıçanın rektal sıcaklığı bir dijital termometre kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 4). Ateş düşürücü değerlendirme için 16 saat sonra 38.5⁰C ve üzeri rektal sıcaklık gösteren hayvanlara serum fizyolojik, serum fizyolojik içinde 0.05, 0.2, 0.5 ve 1 mg/kg arı zehri 0.5 ml hacimde intraperitoneal yolla ve 200 mg/kg parasetamol gavaj yoluyla verilmiştir. Enjeksiyonlardan sonra 0.dk, 30.dk, 60.dk, 90.dk, 120.dk, 240.dk, aralıklarla 4 saat boyunca rektal ateş ölçülmüştür. Elde edilen verilerde sıcaklık farkları hesaplanmıştır.

Deney grupları;

1.Grup: Kontrol (salin, % 0.9 NaCl)

- 2.Grup: 0.05 mg/kg arı zehri
- 3.Grup: 0.2 mg/kg arı zehri
- 4.Grup: 0.5 mg/kg arı zehri
- 5.Grup: 1 mg/kg arı zehri
- 6.Grup: 200 mg/kg parasetamol



Şekil 4. Hipertermi indüklenmiş ratlarda rektal ölçüm

2.2.4.İstatistiksel Analizler

Araştırma sonucunda elde edilen tüm veriler için SPSS 16.0 (Statistical Package for the Social Sciences) Software paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler için Aritmetik Ortalama($\bar{x}$) verileri birbiri ile karşılaştırılarak, gruplar arasında fark olup olmadığı öğrenilmek istendiği için; standart sapma ($\pm SD$) kullanılmış; değişkenlere ait veriler Shapiro-Wilk normallik testi ile belirlenip parametrik ve bağımsız değişkenlere

ait veriler tek yönlü ANOVA testi ile analiz edilmiştir. Tek yönlü ANOVA testinde varyans homojenitesi gösteren bu veriler için Post-hoc Tukey testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel testler için anlamlılık düzeyi $\alpha = 0.05$ olarak belirlenmiştir.

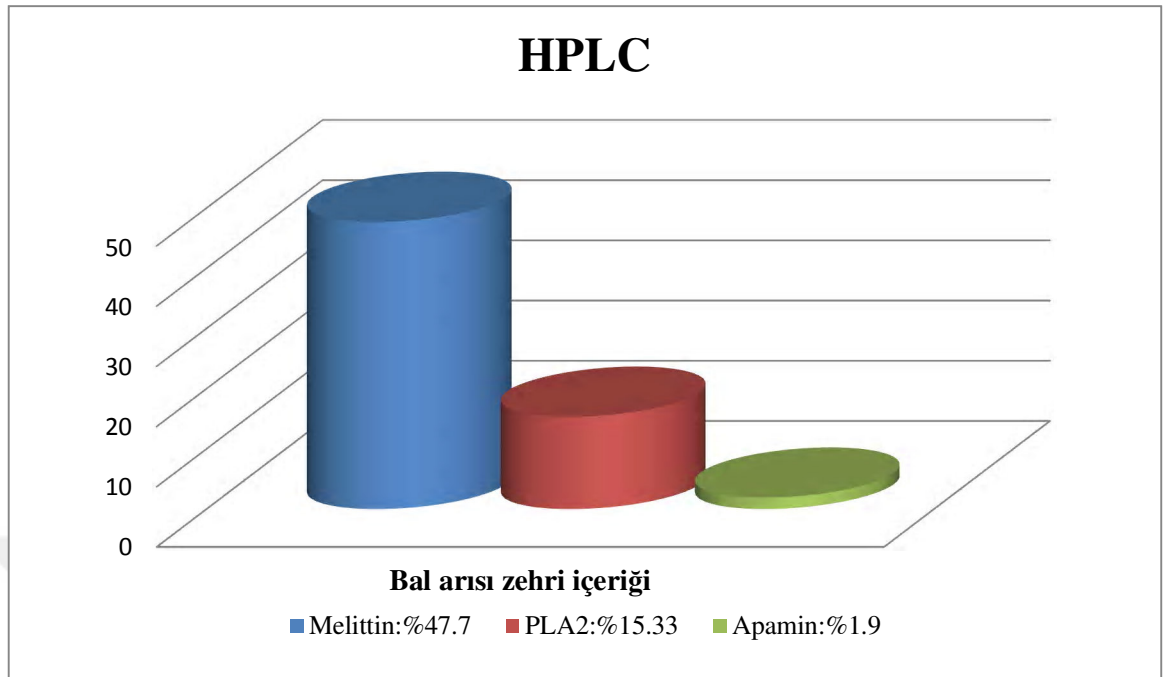


3.BÖLÜM

BULGULAR

3.1.HPLC Bulguları

Çalışmada arı zehri bileşen profillerinin belirlenmesi amacıyla yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) yöntemiyle elde edilen kromatogramlarda, her bileşenin çıkış süresi (retention time) ve pik alanı değerlendirilmiştir. Yapılan kantitatif incelemelerde, zehir örneklerinde yer alan temel biyoaktif maddelerin oranları belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre, arı zehrinin yaklaşık yarısını oluşturan melittin düzeyi %47.70 olarak ölçülmüştür. Bu oran, melittinin zehir içerisindeki en baskın bileşen olduğunu ve biyolojik etkilerde başlıca rolü üstlendiğini göstermektedir. Enzimatik yapıda olan ve hücre zarlarında hasar oluşturarak inflamatuvar süreçleri tetikleyebilen fosfolipaz A₂ miktarı ise %15.33 olarak saptanmıştır. PLA₂'nin bu düzeyi, zehrin farmakolojik potansiyelinin belirlenmesinde önemli bir parametre olarak değerlendirilebilir. Sinir sistemi üzerinde etkili olduğu bilinen küçük peptitlerden apamin, arı zehri içeriğinin %1.90'ını oluşturarak daha düşük oranda bulunmuştur. Elde edilen bu veriler (Şekil 5), analiz edilen arı zehri örneklerinin biyolojik olarak aktif bileşenler açısından zengin bir yapıya sahip olduğunu ve özellikle melittin ile PLA₂'nin dikkate değer miktarlarda bulunduğunu göstermektedir.



Şekil 5. Arı zehrine ait temel biyoaktif bileşenlerin yüzde grafiği

3.2.Ratlarda İnflamasyon Modeli Bulguları

Çalışmada karagenan ile indüklenen inflamasyonun inhibisyonu, kanda akut faz proteini olan C-Reaktif proteinde ve sedimentasyon verilerinde; TNF- α (ng/L), IL-1Beta (pg/L), IL-6 (pg/ml) proinflamatuvar sitokinlerinin verilerinde ve pletismometre ölçümleriyle % inhibisyon olarak hesaplanmış ve veriler istatistiksel hale getirilmiştir. Örneklemeler üzerinde %inhibisyon değerleri sırayla; kontrol serum fizyolojik grubunda; Kontrol SF1 % 10.00 Kontrol SF2% 15.00 Kontrol SF3% 5.00 Kontrol SF4 %10.00 Kontrol SF5 %10.00 Kontrol SF6 %10.00, arı zehrinin 0.05mg/kg doz uygulamasında; 0.05 mg/kgAZ1 %20.00 0.05 mg/kgAZ2 %16.00 0.05 mg/kgAZ3 %28.00 0.05 mg/kgAZ4 %28.00 0.05 mg/kgAZ5 % 8.00 0.05 mg/kgAZ6 % 16.00, arı zehrinin 0.2mg/kg doz uygulamasında; 0.2 mg/kgAZ1 % 20.00 0.2 mg/kgAZ2 % 16.00 0.2 mg/kgAZ3 % 24.00 0.2 mg/kgAZ4 % 12.00 0.2 mg/kgAZ5 % 36.00 0.2 mg/kgAZ6 % 32.00. arı zehrinin 0.5mg/kg doz uygulamasında; 0.5 mg/kgAZ1 % 60.00 0.5 mg/kgAZ2 %52.00 0.5 mg/kgAZ3 % 48.00 0.5 mg/kgAZ4 %68.00 0.5 mg/kgAZ5 %52.00 0.5 mg/kgAZ6 % 28.00, arı zehrinin 1mg/kg doz uygulamasında; 1mg/kgAZ1 % 68.00 1mg/kgAZ2 % 72.00 1 mg/kgAZ3 % 64.00 1 mg/kgAZ4 % 60.00 1mg/kgAZ5 % 72.00 1mg/kgAZ6 % 80.00, standart antiinflamatuvar ajan olan indometazin 5mg/kg doz uygulamasında; 5mg/kgİM1 % 68.00 5mg/kgİM2 % 80.00 5mg/kgİM3 % 84.00 5mg/kgİM4 % 76.00

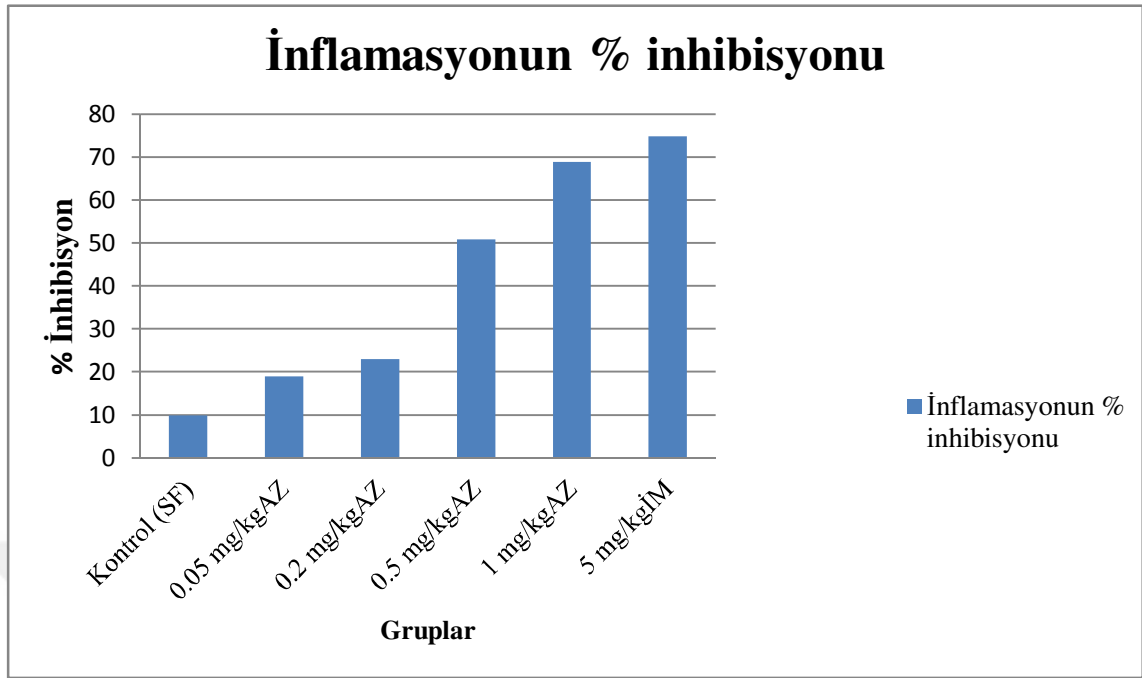
5mg/kgİM5 % 76.00 5mg/kgİM6 % 68.00 olarak tespit edilmiştir. En düşük % inhibisyon değeri serum fizyolojik uygulanan grupta % 5 iken; en yüksek % inhibisyon değeri % 84 olarak steroid olmayan ilaçlar grubunda yer alan indometazin olarak hesaplanmıştır. Arı zehri doz gruplarında en yüksek inhibisyon değeri 1mg/kg dozda %80 iken; en düşük inhibisyon değeri %8 ile 0.05 mg/kg dozda arı zehrinde hesaplanmıştır.

Yüzde inhibisyon değerlerinin ortalamaları, gruplar arası karşılaştırmalar kullanılarak belirlenmiş ve istatistiksel anlamlılık değerlendirilmiştir. Arı zehrinin farklı dozlarda uygulanmasında % inhibisyon grup ortalamaları; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için 10 ± 3.1 ; 0.05 mg/kg arı zehri dozu için 19 ± 3.7 ; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için 23 ± 5.5 ; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için 51 ± 2.8 ; 1 mg/kg arı zehri dozu için 69 ± 6.4 ; 5mg/kg indometazin dozu için 75 ± 4.8 olarak tespit edilmiştir. SPSS Post-hoc Tukey ile gerçekleştirilen analizlerde gruplar arası farklar, <0.001 düzeyde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 5; Şekil 6).

Tablo 5. % İnflamasyon inhibisyonunun istatistiksel karşılaştırması

S($\bar{X}$) $\pm$ SD			
Gruplar/ Değişkenler	Örneklem sayısı (n)	İnflamasyon % İnhibisyon Değeri	%Min-Max
Kontrol (SF)	6	10 ± 3.1^a	%5.0-15.00
0.05 mg/kgAZ	6	19 ± 3.7^a	%8.00-28.00
0.2 mg/kgAZ	6	23 ± 5.5^a	%12.00-36.00
0.5 mg/kgAZ	6	51 ± 2.8^b	%28.00-68.00
1 mg/kgAZ	6	69 ± 6.4^c	%60.00-80.00
5 mg/kgİM	6	75 ± 4.8^c	%68.00-84.00
P-Değeri		<0.001	

* (gruplar arası SPSS Post-hoc Tukey testi ile istatistiksel karşılaştırmaları; a, b, c: Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar önemlidir. * $p < 0,001$; SF: serum fizyolojik; AZ: arı zehri; İM: indometazin S($\bar{X}$):ortalama SD: standart sapma)



Şekil 6. Gruplara ait antiinflamatuvar etkinin % inhibisyon bar grafiği gösterimi *(SF: serum fizyolojik; AZ: arı zehri; İM: indometazin SD: standart sapma)

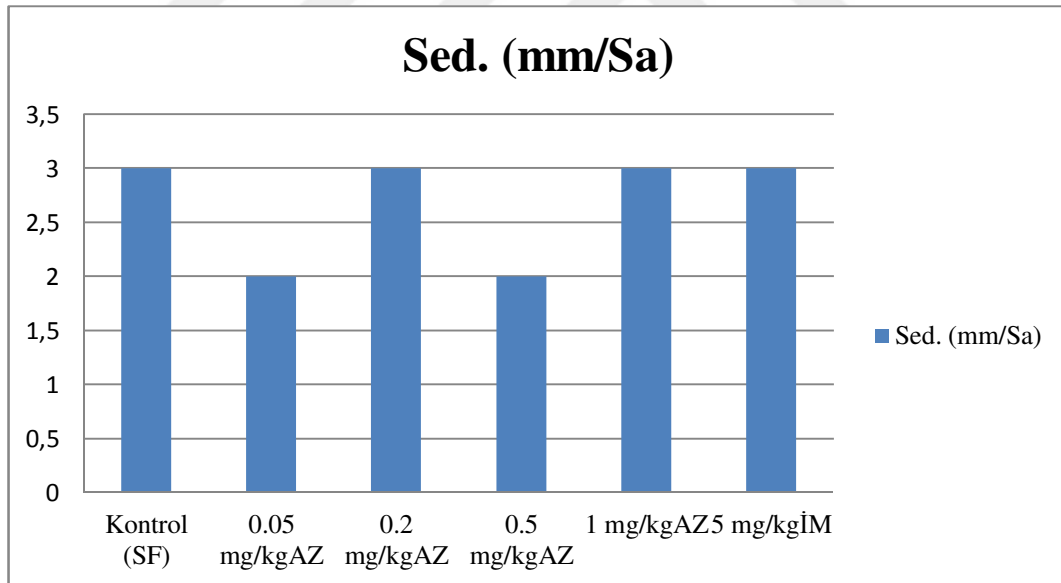
İnflamasyonun akut faz proteini olan C-reaktif proteinin(CRP) grup ortalamaları; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için 0.17 ± 0.04 ng/mL; 0.05mg/kg arı zehri dozu için 0.15 ± 0.07 ng/mL; 0.2mg/kg arı zehri dozu için 0.13 ± 0.04 ng/mL; 0.5mg/kg arı zehri dozu için 0.11 ± 0.04 ng/mL; 1mg/kg arı zehri dozu için 0.09 ± 0.02 ng/mL; 5mg/kg indometazin dozu için 0.07 ± 0.01 ng/mL olarak bulunmuştur. SPSS Post-hoc Tukey ile gerçekleştirilen analizlerde gruplar arası farklar, istatistiksel olarak <0.001 düzeyde anlamlıdır (Tablo 6; Şekil 8).

Kronik inflamasyon belirteci olan sedimentasyon değerlerinin grup ortalamaları ise; kontrol serum fizyolojik grubunda 3 ± 1.2 mm/Sa; 0.05mg/kg arı zehri dozu için 2 ± 1.5 mm/Sa; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için 3 ± 1.2 mm/Sa; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için 2 ± 1.2 mm/Sa; 1mg/kg arı zehri dozu için 3 ± 1 mm/Sa; 5mg/kg indometazin dozu için 3 ± 1.2 mm/Sa olarak tespit edilmiştir. SPSS Post-hoc Tukey ile gerçekleştirilen analizlerde gruplar arası farklar, istatistiksel olarak anlamlı değildir(Tablo 6; Şekil 7).

Tablo 6. Kan inflamasyon markörleri CRP ve ESR değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

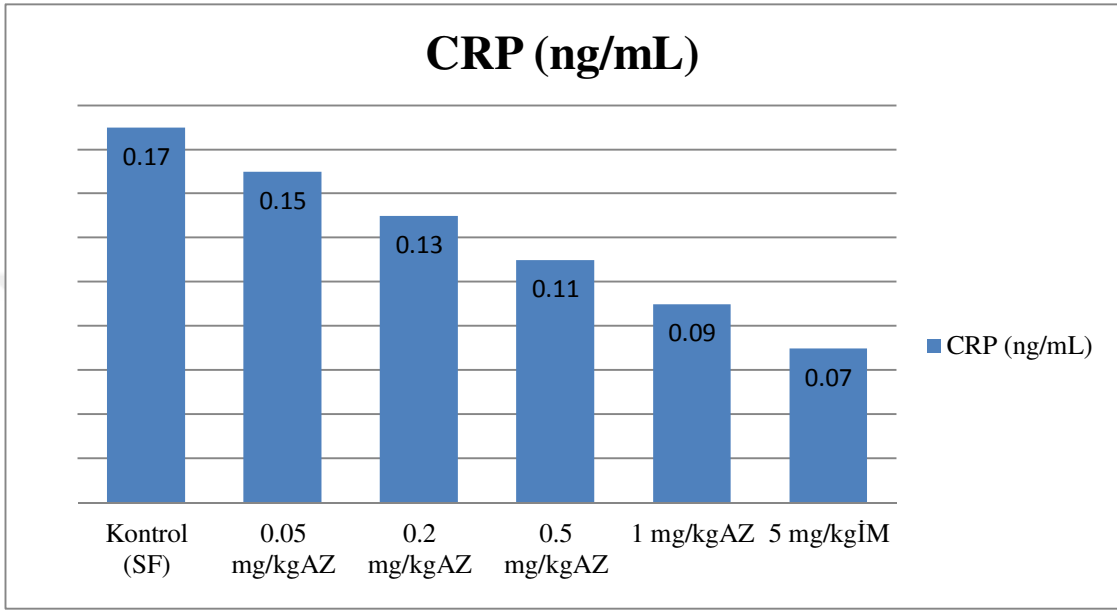
S($\bar{X}$) $\pm$ SD		
Gruplar/ Değişkenler	C-Reaktif protein(ng/mL)	Sedimentasyon (mm/Sa)
Kontrol (SF)	0.17 $\pm$ 0.04 ^a	3 $\pm$ 1.2
0.05 mg/kgAZ	0.15 $\pm$ 0.07 ^b	2 $\pm$ 1.5
0.2 mg/kgAZ	0.13 $\pm$ 0.04 ^b	3 $\pm$ 1.2
0.5 mg/kgAZ	0.11 $\pm$ 0.04 ^b	2 $\pm$ 1.2
1 mg/kgAZ	0.09 $\pm$ 0.02 ^c	3 $\pm$ 1
5 mg/kgİM	0.07 $\pm$ 0.01 ^c	3 $\pm$ 1.2
P-Değeri	<0.001	0.280

* (gruplar arası SPSS Post-hoc Tukey testi ile istatistiksel karşılaştırmaları; a, b,c: Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar önemlidir. *p<0.001; SF: serum fizyolojik; AZ: arı zehri; İM: indometazin S($\bar{X}$):ortalama SD: standart sapma)



Şekil 7. Eritrosit sedimentasyon değerleri grafiği*(SF: serum fizyolojik; AZ: arı zehri; İM: indometazin)

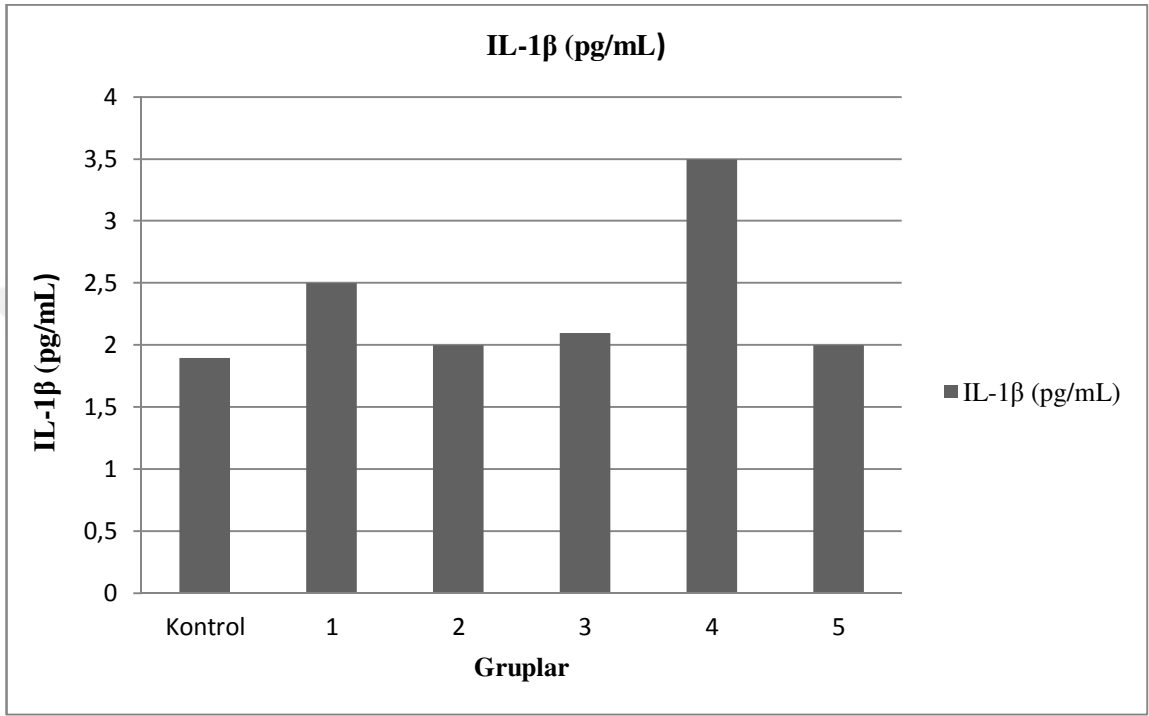
CRP (ng/mL) değerlerinin incelendiği grafikte en yüksek değerin kontrol serum fizyolojik grubunda olduğu görülürken; en düşük değerin 5mg/kg indometazin grubunda olduğu tespit edilmiştir. Sedimentasyon verilerinde ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.



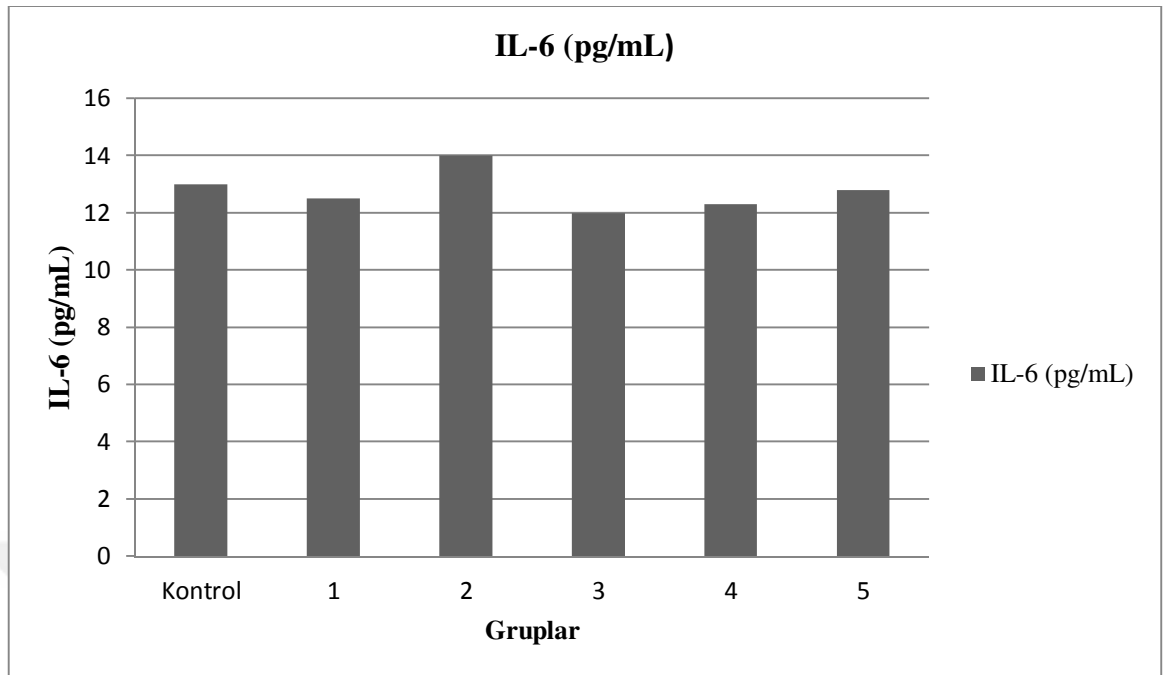
Şekil 8. C-reaktif protein değerleri grafiği*(SF: serum fizyolojik; AZ: arı zehri; İM: indometazin)

ELISA sonuçları değerlendirildiğinde, arı zehrinin doza bağlı olarak sitokin üretimini farklı biçimlerde modüle ettiği görülmektedir. İnterlökin-1 β (IL-1 β) düzeyleri (Şekil 9) özellikle 1 mg/kg dozunda belirgin biçimde artmıştır; bu artış histolojide gözlenen doku hasarı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile uyumludur. Düşük doz olan 0.05 mg/kg'da önemli bir IL-1 β artışı saptanmamıştır. Orta dozlar (0.2 ve 0.5 mg/kg) bu yanıtı bastırmış görünmektedir; bunun tolerans gelişimi ya da alternatif immün düzenleyici mekanizmalarla ilişkili olabileceği düşünülebilir. Buna karşılık IL-6 konsantrasyonları tüm gruplarda yaklaşık 12–13.5 pg/mL düzeyinde kalmış ve kontrol grubuyla anlamlı fark göstermemiştir (Şekil 10). TNF- α düzeyleri (Şekil 11) ise 0.2 ve 0.5 mg/kg dozlarında tepe değerlerine ulaşarak yaklaşık 21–22 pg/mL ölçülmüş, buna karşın hem düşük (0.05 mg/kg) hem de yüksek (1 mg/kg) dozlarda belirgin biçimde azalarak 6–7 pg/mL seviyesine gerilemiştir; düşük doz yeterli uyarı sağlamamış, yüksek doz ise muhtemelen sitokin baskılanması, immün tolerans gelişimi veya hücresel strese bağlı apoptotik süreçlerle ilişkilidir. Serumla tedavi edilen kontrol grubunda inflamasyona bağlı olarak TNF- α yaklaşık 23 pg/mL düzeyindedir. Genel olarak arı zehri yüksek

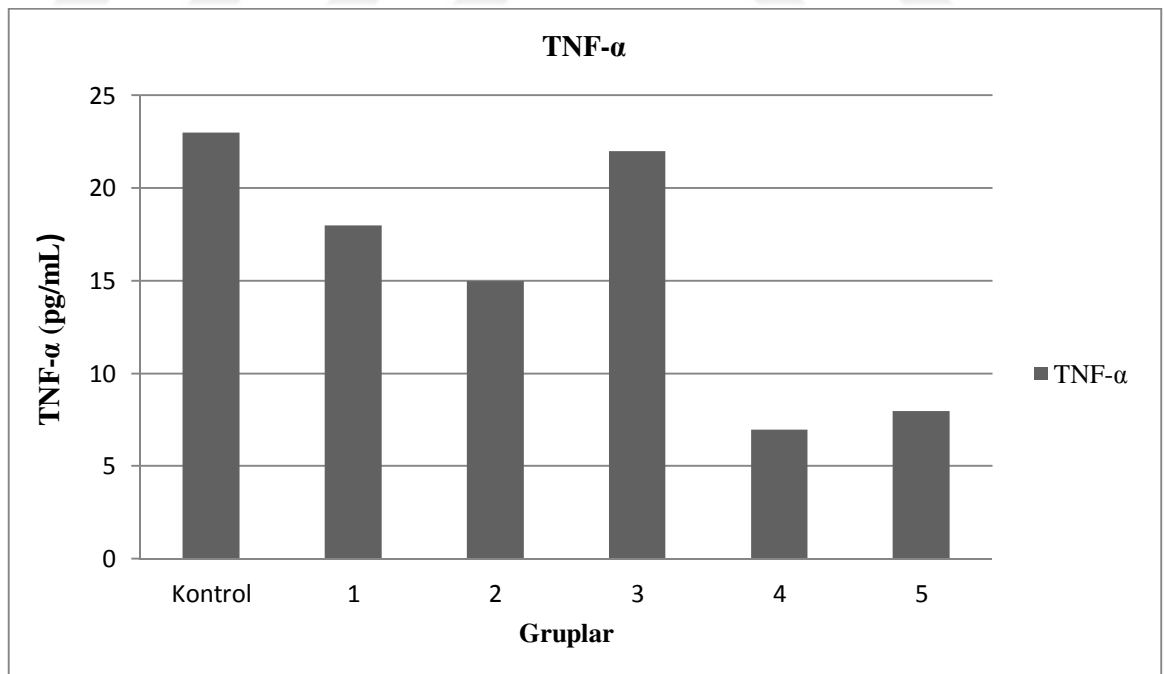
dozda IL-1 β 'yi, orta dozlarda ise TNF- α 'yı belirgin biçimde artırırken IL-6 üzerinde anlamlı bir etkide bulunmamıştır. Bu bulgular, arı zehrinin belirli doz aralıklarında güçlü proinflatuar yanıtlar oluşturabileceğini, fakat bazı dozlarda bağışıklık sistemini baskılayıcı etkilere de sahip olabileceğini göstermektedir.



Şekil 9. İnterlökin 1 β (IL-1 β) düzeyleri*(1: 0.05 mg/kg arı zehri, 2: 0.2 mg/kg arı zehri, 3: 0.5 mg/kg arı zehri, 4: 1 mg/kg arı zehri ve 5: 5mg/kg indometazin grubu.)

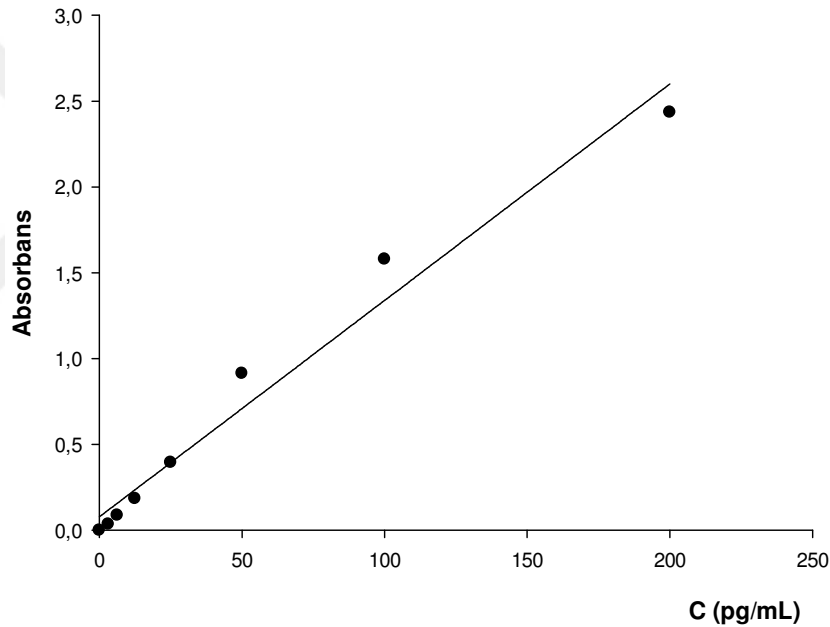


Şekil 10. İnterlökin 6 (IL-6) düzeyleri *(1: 0.05 mg/kg arı zehri, 2: 0.2 mg/kg arı zehri, 3: 0.5 mg/kg arı zehri, 4: 1 mg/kg arı zehri ve 5: 5mg/kg indometazin grubu.)



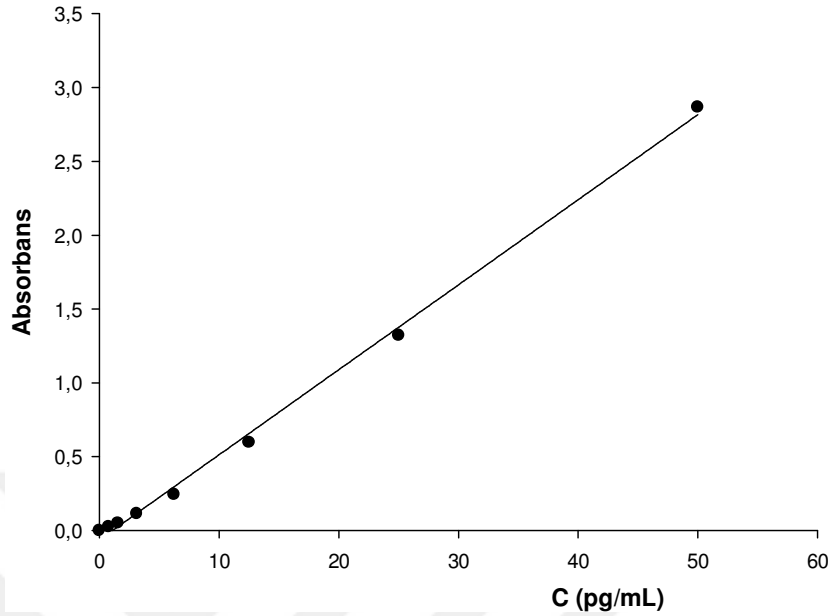
Şekil 11. TNF- α düzeyleri *(1: 0.05 mg/kg arı zehri, 2: 0.2 mg/kg arı zehri, 3: 0.5 mg/kg arı zehri, 4: 1 mg/kg arı zehri ve 5: 5mg/kg indometazin grubu.)

Bu çalışmada, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin kantitatif olarak belirlenebilmesi için her sitokin için ayrı ayrı standart eğriler oluşturulmuştur. Elde edilen grafikler doğrusal regresyon modeliyle değerlendirilmiş, her bir eğri için doğruluk (R^2) katsayısı hesaplanmıştır. TNF- α için oluşturulan standart eğrinin doğrusal denklem katsayıları $y = 0.0780 + 0.0126x$ şeklinde olup, regresyon doğruluk değeri $R^2 = 0.9865$ olarak belirlenmiştir. Bu durum, TNF- α ölçümlerinin yüksek güvenilirlikle yapıldığını göstermektedir (Şekil 12). Grafikteki doğrusal seyir, 0–200 pg/mL aralığında ölçüm yapılabileceğini ve bu aralıkta absorbans değerlerinin lineer şekilde değiştiğini ortaya koymuştur.



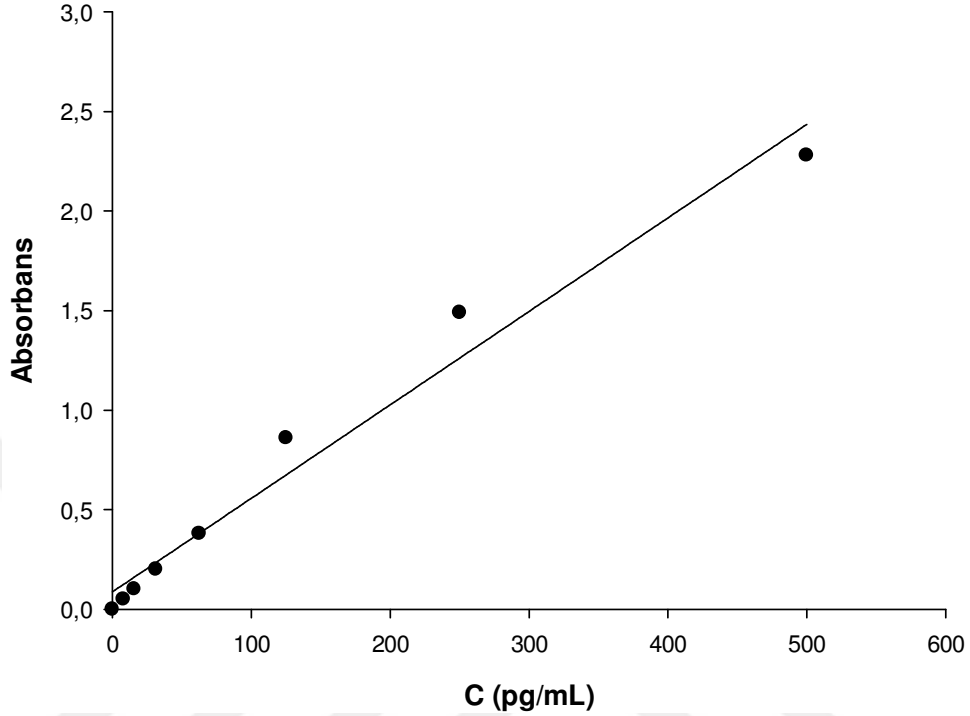
Şekil 12. TNF- α için absorbans eğrisi $y=y_0+ax$ ($0,0780+0,0126x$)($R^2=0,9865$)

IL-1 β için elde edilen standart eğri, $y = -0.0625 + 0.0576x$ denklemine sahip olup, $R^2 = 0.9987$ ile mükemmel yakın bir doğruluk göstermiştir (Şekil 13). Bu değer, IL-1 β ölçümlerinde kullanılan kitin son derece hassas ve güvenilir olduğunu ortaya koymaktadır. Eğimin yüksek olması (0.0576), bu sitokinin ölçümünde küçük konsantrasyon değişimlerinin bile absorbans değerlerinde belirgin farklara yol açtığını göstermektedir. Bu da yöntemin duyarlılığını güçlendirmektedir.



Şekil 13. IL-1 β için absorbans eğrisi $y = -0,0625 + 0,0576x$ ($R^2 = 0,9987$)

IL-6 için oluşturulan standart eğri $y = 0.0877 + 0.0047x$ denklemine sahip olup, $R^2 = 0.9864$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 14). Bu eğri de doğrusal ilişkiyi ortaya koymakla birlikte, eğimin düşük olması nedeniyle IL-6'nın ölçümünde duyarlılığın daha sınırlı olduğu görülmüştür. Ancak R^2 değerinin 0.98'in üzerinde olması, IL-6 tayinlerinin güvenilirliğini desteklemektedir. Genel olarak, oluşturulan standart eğriler ELISA kitlerinin geçerliliğini ve doğruluğunu doğrulamaktadır. Tüm sitokinler için elde edilen R^2 değerlerinin 0.98'in üzerinde olması, absorbans-konsantrasyon ilişkilerinin yüksek doğrulukla hesaplanabileceğini göstermektedir.



Şekil 14. IL-6 için absorbans eğrisi $10y = (0,0877 + 0,0047x)$ ($R^2=0,9864$)

3.2.1. Histolojik Bulgular

Farklı dozlarda verilen arı zehrinin (1, 0.5, 0.2, 0.05 mg/kg, 5 mg/kg indometazin ve SF kontrol) karaciğer dokularına histopatolojik olarak etkilerini belirlemek için hematoksinlen eozin boyası yapıldıktan sonra ışık mikroskobu altında incelenmiştir (Şekil 15, Tablo 7).

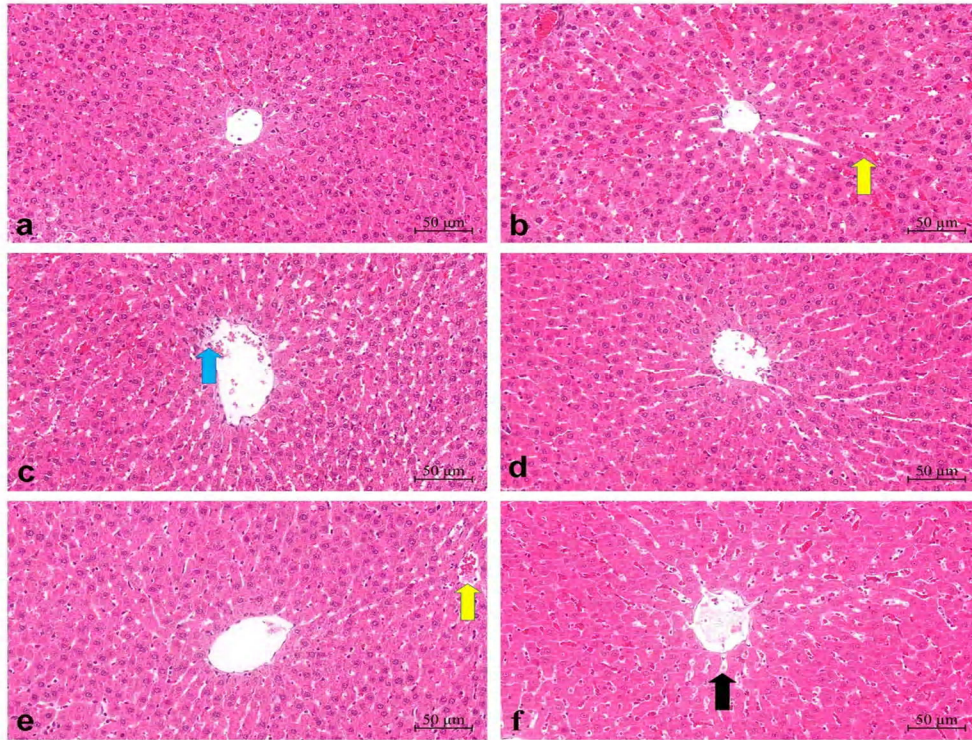
Karaciğer dokusunda sinusoidal dilatasyon ve hemoraji bakımından gruplar arasında fark olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$). Sadece standart gruplarında hemorajinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). İnflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu 1 mg/kg madde verilen gruplarda diğer madde verilen gruplara göre daha şiddetli bulunmuştur ($p<0.05$). Hasarlı hepatosit madde verilen tüm gruplarda kontrol grubuna göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Farklı dozlarda arı zehri verilen gruplar karşılaştırıldığında ise gruplar arasında hasarlı hepatosit oranı bakımından fark olmadığı

tespit edilmiştir ($p>0.05$). Standart grupta gözlenen hepatositler kontrol grubuna benzer şekilde normal histolojidedir.

Tablo 7. Karaciğer doku örneklerinde gözlenen hasar oranları

Gruplar S($\bar{X}$) $\pm$ SD	Kontrol	1 mg/kg	0.5mg/kg	0.2 mg/kg	0.05 mg/kg	5mg/kg İM
Sinusoidal dilatasyon	0.86 $\pm$ 0.53	1.0 $\pm$ 0.78	0.66 $\pm$ 0.32	1.0 $\pm$ 0.41	0.61 $\pm$ 0.60	1.57 $\pm$ 0.24 ^a
İnflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu	0.38 $\pm$ 0.23	1.33 $\pm$ 0.31 ^a	0.96 $\pm$ 0.25 ^{ab}	0.92 $\pm$ 0.27 ^{ab}	1.1 $\pm$ 0.21 ^a	0.32 $\pm$ 0.07 ^{bcd}
Hemoraji	0.70 $\pm$ 0.45	1.23 $\pm$ 0.73	0.95 $\pm$ 0.41 ^b	0.66 $\pm$ 0.52	0.30 $\pm$ 0.26 ^c	1.11 $\pm$ 0.20 ^c
Hasarlı hepatosit	0.17 $\pm$ 0.20	0.71 $\pm$ 0.35 ^a	0.77 $\pm$ 0.28 ^a	0.80 $\pm$ 0.28 ^a	0.67 $\pm$ 0.28 ^a	0.37 $\pm$ 0.15 ^{cd}

*İM: indometazin



Şekil 15. Karaciğer dokusunda histopatolojik bulgular: Deney gruplarına ait karaciğer doku kesitlerinin hematoksilin eozin boyama görüntüleri.

*(a. Kontrol grubu, b. 1 mg/kg arı zehri, c. 0.5 mg/kg arı zehri, d. 0.2 mg/kg arı zehri, e. 0.05 mg/kg arı zehri ve f. 5mg/kg indometazin grubu. Sarı ok hemorajik alanları, mavi ok inflamatuvar hücre infiltrasyonunu ve siyah ok sinusoidal dilatasyonu göstermektedir. Büyütme 20X, skala bar 50 µm'dir.)

3.3. Ratlarda Nosisepsiyon Test Modelleri Bulguları

Bal arısı zehrinin antinosiseptif etkisi mekanik uyarılar için kuyruk çekme testi ile, termal uyarılar için sıcak plakatesti ve kimyasal uyarılar için formalin testi ile test edilmiştir. Mekanik uyarılara verilen tepki de kuyruğun klempile sıkıştırılmasından kuyruğun çekilmesine kadar geçen süre grup ortalamaları ve standart sapma şeklinde verilmiştir; mekanik uyarı kuyruk çekme testinde grup ortalamaları sırayla; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için 5.50 ± 1.0 sn; 0.05mg/kg arı zehri dozu için 5.51 ± 1.0 sn; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için 7.16 ± 1.1 sn; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için 8.00 ± 0.8 sn; 1 mg/kg arı zehri dozu için 8.83 ± 0.7 sn; 300mg/kg parasetamol dozu için 9.83 ± 0.7 sn olarak tespit edilmiştir. SPSS Post-hoc Tukey ile gerçekleştirilen analizlerde gruplar arası farklar, istatistiksel olarak <0.001 düzeyde anlamlıdır (Tablo 8; Şekil 16).

Termal uyarı sıcak plaka testinde hayvanın sıcak zemine koyuduktan sonra ayağını çekmesine kadar geçen süre grup ortalamaları ve standart sapma şeklinde verilmiştir; grup ortalamaları sırayla; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için 6.0 ± 0.6 sn; 0.05mg/kg arı zehri dozu için 8.1 ± 1.1 sn; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için 9.3 ± 0.8 sn; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için 10.1 ± 0.7 sn; 1 mg/kg arı zehri dozu için 11.3 ± 1.2 sn; 300mg/kg parasetamol dozu için 11.0 ± 2.2 sn olarak tespit edilmiştir. SPSS Post-hoc Tukey ile gerçekleştirilen analizlerde gruplar arası farklar, istatistiksel olarak <0.001 düzeyde anlamlıdır (Tablo 8; Şekil 16).

Kimyasal uyarı formalin testinde hayvanın formalin enjeksiyonundan sonra pençe yalama yanıtının süresi ölçülmüştür. Akut faz olan ve ilk 10 dakikada verilen formalin tepkisini ölçen faz 1 ve sonraki 60 dakika içinde ortaya çıkan formalin yanıtlarından oluşan faz 2 verileri toplanmış ve grup ortalamaları standart sapma ile verilmiştir. Faz 1 için grup ortalamaları sırayla; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için 229.5 ± 10 sn; 0.05mg/kg arı zehri dozu için 194.8 ± 11 sn; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için 184.1 ± 3 sn; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için 181.1 ± 4 sn; 1 mg/kg arı zehri dozu için 143.5 ± 58 sn; 300mg/kg parasetamol dozu için 142.8 ± 3 sn olarak tespit edilmiştir. SPSS Post-hoc Tukey ile gerçekleştirilen analizlerde gruplar arası farklar, istatistiksel olarak <0.001 düzeyde anlamlıdır (Tablo 8; Şekil 16).

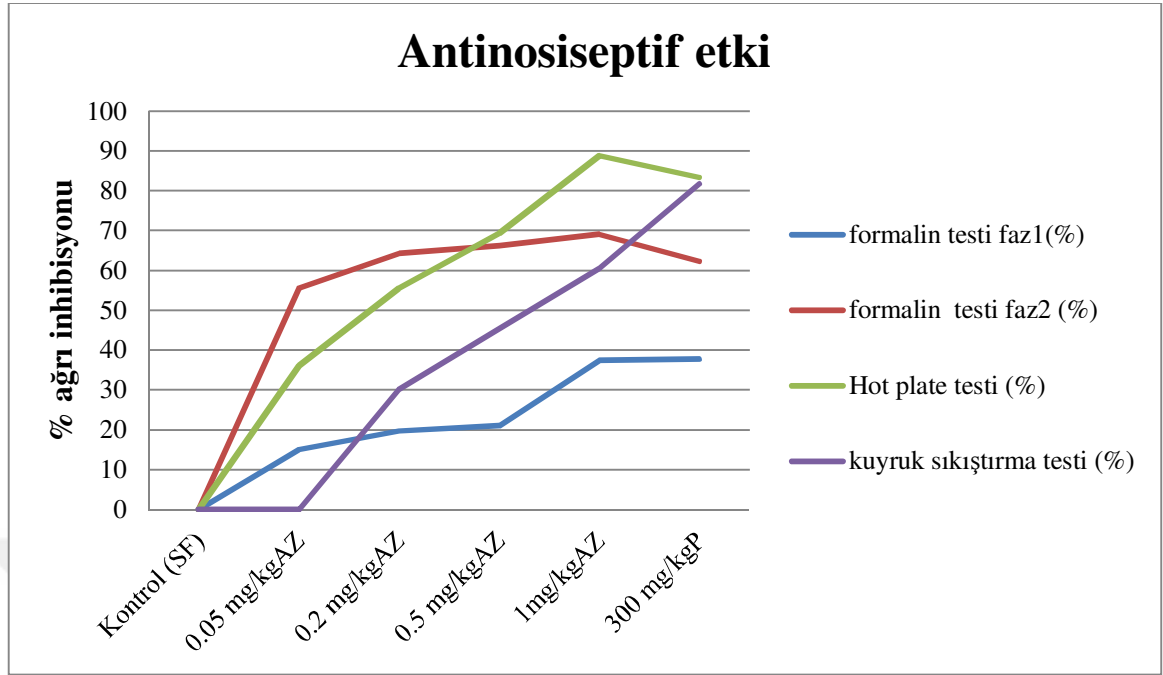
Faz 2 için grup ortalamaları sırayla; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için 318.0 ± 6.6 sn; 0.05mg/kg arı zehri dozu için 141.1 ± 2.1 sn; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için 113.8 ± 9.4

sn; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için 107.5 ± 6.4 sn; 1 mg/kg arı zehri dozu için 143.5 ± 58 sn; 300mg/kg parasetamol dozu için 98.3 ± 9.3 sn olarak tespit edilmiştir. SPSS Post-hoc Tukey ile gerçekleştirilen analizlerde gruplar arası farklar, istatistiksel olarak <0.001 düzeyde anlamlıdır (Tablo 8; Şekil 16).

Tablo 8. Mekanik kimyasal ve termal uyarılara karşı tepki sürelerinin karşılaştırması

S($\bar{X}$) $\pm$ SD				
Gruplar/ Değişkenler	Kuyrukçekme süresi (sn)	Sıcak plaka testi (sn)	Formalin testi 1.faz (sn)	Formalin testi 2.faz (sn)
Kontrol (SF)	5.50 ± 1.0^a	6.0 ± 0.6^a	229.5 ± 10^a	318.0 ± 6.6^a
0.05 mg/kgAZ	5.51 ± 1.0^a	8.1 ± 1.1^a	194.8 ± 11^a	141.1 ± 2.1^b
0.2 mg/kgAZ	7.16 ± 1.1^{bc}	9.3 ± 0.8^b	184.1 ± 3^b	113.8 ± 9.4^{bc}
0.5 mg/kgAZ	8.00 ± 0.8^c	10.1 ± 0.7^{bc}	181.1 ± 4^b	107.5 ± 6.4^{ab}
1 mg/kgAZ	8.83 ± 0.7^c	11.3 ± 1.2^c	143.5 ± 58^{bc}	98.3 ± 9.3^a
300 mg/kgP	9.83 ± 0.7^d	11.0 ± 2.2^c	142.8 ± 3^c	120.1 ± 2.6^c
P-Değeri	*p<0.001	*p<0.001	*p<0.001	*p<0.001

*SF:serum fizyolojik AZ:arı zehri P: Parasetamol



Şekil 16. Farklı uyaranlarda test edilen antinosiseptif etkinin % inhibisyon verileri

Farklı uyaranların test edildiği arı zehrinin antinosiseptif aktivitesinde, kontrol (serum fizyolojik) ve standart ajana (300 mg/kg parasetamol) göre % inhibisyon grafiği çizilmiştir (Şekil 16). Grafiğe göre arı zehrinin % ağrı inhibisyonu tüm testlerde gözlemlenirken; en çok % ağrı inhibisyonu termal uyaran testinde bulunmuştur (Tablo 9).

Tablo 9. Mekanik, kimyasal ve termal uyaranların % inhibisyon oranları

S($\bar{X}$)				
Gruplar	Mekanik uyaran etki %	Termal uyaran etki %	Formalin testi 1.faz etki %	Formalin testi 2.faz etki %
Kontrol (SF)	0.00	0.00	0.00	0.00
0.05 mg/kgAZ	0.00	36.11	15.11	55.61
0.2 mg/kgAZ	30.18	55.56	19.75	64.20
0.5 mg/kgAZ	45.45	69.44	21.13	66.19
1 mg/kgAZ	60.54	88.89	37.47	69.08
300 mg/kgP	81.81	83.33	37.76	62.26

*SF:serum fizyolojik AZ:arı zehri P: parasetamol

3.4.Hiperpireksi Modeli Bulguları

Bira mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ile indüklenmiş hipertermi modelinde ve öncesinde rektal termometre ölçümleriyle hayvanların vücut sıcaklıklarına bakılmış; buna bağlı olarak henüz hiperpireksi indüklenmemiş kontrol grubunda vücut sıcaklık ortalaması 37.1 °C olarak ölçülmüştür. Bira mayası enjeksiyonundan 16 saat sonra tüm gruplarda en düşük vücut sıcaklığı 38.5 °C; en yüksek vücut sıcaklığı ise 39.3°C olarak belirlenmiştir. Ölçümler maya enjeksiyonundan hemen önce negatif kontrol olarak alınmıştır. Maya enjeksiyonundan 16 saat sonra da ölçümler alınmış ve antipiretik etkinliği gözlenmek istenen arı zehri dozları, standart ajan(parasetamol) ve serum fizyolojik, 0. dakikadan itibaren 30., 60., 90., 120. ve 240.dakikalarda dijital termometre ile rektal sıcaklık ölçülmüştür.

Maya enjeksiyonundan 16 saat sonra (0. dakika) gruplarda ölçülen ortalama sıcaklıklar; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için $38.95 \pm 0.37^{\circ}\text{C}$; 0.05mg/kg arı zehri dozu için $38.85 \pm 0.39^{\circ}\text{C}$; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için $38.78 \pm 0.39^{\circ}\text{C}$; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için $38.73 \pm 0.21^{\circ}\text{C}$; 1 mg/kg arı zehri dozu için $38.78 \pm 0.38^{\circ}\text{C}$; 200 mg/kg parasetamol dozu için $38.93 \pm 0.35^{\circ}\text{C}$ olarak tespit edilmiştir.

30. dakika rektal sıcaklık ölçümleri; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için $38.70 \pm 0.23^{\circ}\text{C}$; 0.05mg/kg arı zehri dozu için $36.66 \pm 0.26^{\circ}\text{C}$; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için $36.67 \pm 0.20^{\circ}\text{C}$; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için $36.70 \pm 0.24^{\circ}\text{C}$; 1 mg/kg arı zehri dozu için $36.71 \pm 0.24^{\circ}\text{C}$; 200 mg/kg parasetamol dozu için $37.13 \pm 0.19^{\circ}\text{C}$ olarak tespit edilmiştir. 60. dakika rektal sıcaklık ölçümleri; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için $38.81 \pm 0.20^{\circ}\text{C}$; 0.05mg/kg arı zehri dozu için $36.90 \pm 0.29^{\circ}\text{C}$; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için $36.56 \pm 0.22^{\circ}\text{C}$; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için $36.85 \pm 0.23^{\circ}\text{C}$; 1 mg/kg arı zehri dozu için $36.60 \pm 0.20^{\circ}\text{C}$; 200 mg/kg parasetamol dozu için $36.93 \pm 0.35^{\circ}\text{C}$ olarak tespit edilmiştir. 90. dakika rektal sıcaklık ölçümleri; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için $38.76 \pm 0.24^{\circ}\text{C}$; 0.05mg/kg arı zehri dozu için $37.15 \pm 0.20^{\circ}\text{C}$; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için $36.90 \pm 0.32^{\circ}\text{C}$; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için $37.10 \pm 0.27^{\circ}\text{C}$; 1 mg/kg arı zehri dozu için $36.78 \pm 0.19^{\circ}\text{C}$; 200 mg/kg parasetamol dozu için $37.21 \pm 0.23^{\circ}\text{C}$ olarak tespit edilmiştir. 120. dakika rektal sıcaklık ölçümleri; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için $38.78 \pm 0.18^{\circ}\text{C}$; 0.05mg/kg arı zehri dozu için $37.06 \pm 0.33^{\circ}\text{C}$; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için $37.06 \pm 0.08^{\circ}\text{C}$; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için $37.18 \pm 0.31^{\circ}\text{C}$; 1 mg/kg arı zehri

dozu için 36.56 ± 0.08 °C; 200 mg/kg parasetamol dozu için 37.15 ± 0.18 °C olarak tespit edilmiştir. 240. dakika rektal sıcaklık ölçümleri; kontrol serum fizyolojik enjeksiyonu için 38.81 ± 0.20 °C; 0.05mg/kg arı zehri dozu için 37.23 ± 0.22 °C; 0.2 mg/kg arı zehri dozu için 37.20 ± 0.21 °C; 0.5 mg/kg arı zehri dozu için 36.95 ± 0.32 °C; 1 mg/kg arı zehri dozu için 36.70 ± 0.14 °C; 200 mg/kg parasetamol dozu için 38.50 ± 0.44 °C olarak tespit edilmiştir. SPSS Post-hoc Tukey ile gerçekleştirilen analizlerde 30., 60., 90., 120. ve 240. dakikalarda gruplar arası farklar, istatistiksel olarak <0.001 düzeyde anlamlı bulunmuştur (Tablo10).



Tablo 10. Farklı zaman aralıklarında rektal sıcaklık ölçümleri

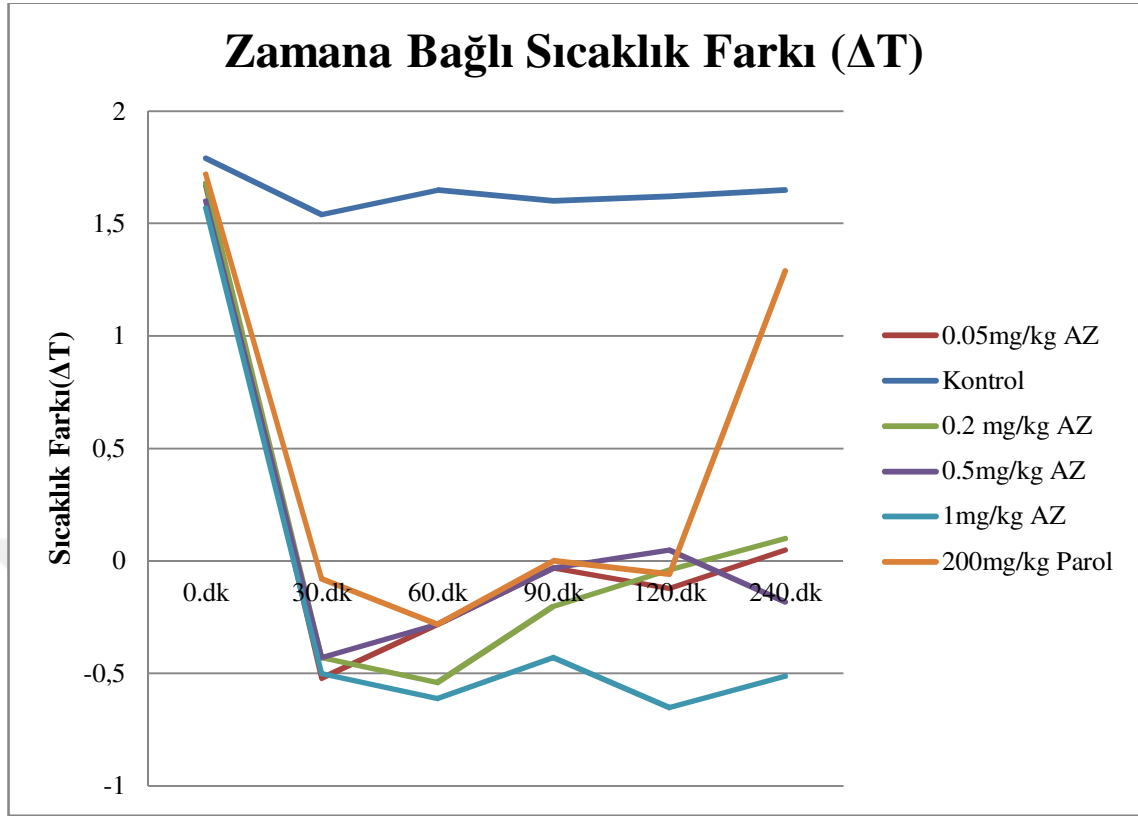
$S(\bar{X}) \pm SD$							
Gruplar/ Değişkenler	Maya öncesi	0.dk (°C)	30.dk (°C)	60.dk (°C)	90.dk (°C)	120.dk (°C)	240.dk (°C)
Kontrol (SF)	37.16±0.18	38.95±0.37	38.70±0.23 ^a	38.81±0.20 ^a	38.76±0.24 ^a	38.78±0.18 ^a	38.81±0.20 ^a
0.05mg/kgAZ	37.18±0.19	38.85±0.39	36.66±0.26 ^c	36.90±0.29 ^b	37.15±0.20 ^b	37.06±0.33 ^b	37.23±0.22 ^b
0.2mg/kgAZ	37.10±0.16	38.78±0.39	36.67±0.20 ^c	36.56±0.22 ^b	36.90±0.32 ^b	37.06±0.08 ^b	37.20±0.21 ^b
0.5mg/kgAZ	37.13±0.19	38.73±0.21	36.70±0.24 ^c	36.85±0.23 ^b	37.10±0.27 ^b	37.18±0.31 ^b	36.95±0.32 ^{bc}
1mg/kgAZ	37.21±0.23	38.78±0.38	36.71±0.24 ^c	36.60±0.20 ^b	36.78±0.19 ^b	36.56±0.08 ^c	36.70±0.14 ^c
200mg/kgP	37.21±0.27	38.93±0.35	37.13±0.19 ^b	36.93±0.35 ^b	37.21±0.23 ^b	37.15±0.18 ^b	38.50±0.44 ^a
p	0.914	0.875	*p<0.001	*p<0.001	*p<0.001	*p<0.001	*p<0.001

*SF:serum fizyolojik AZ:arı zehri P: parasetamol

Tablo 11. Farklı zaman aralıklarında kontrol grubuna göre rektal sıcaklık farkları (ΔT)

Grup	0.dk	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk	240.dk
Kontrol (SF)	+1.79	+1.54	+1.65	+1.60	+1.62	+1.65
0.05 mg/kg AZ	+1.67	-0.52	-0.28	-0.03	-0.12	+0.05
0.2 mg/kg AZ	+1.68	-0.43	-0.54	-0.20	-0.04	+0.10
0.5 mg/kg AZ	+1.60	-0.43	-0.28	-0.03	+0.05	-0.18
1 mg/kg AZ	+1.57	-0.50	-0.61	-0.43	-0.65	-0.51
200 mg/kg Parasetamol	+1.72	-0.08	-0.28	0.00	-0.06	+1.29

*SF:serum fizyolojik AZ:arı zehri P: parasetamol



Şekil 17. Gruplarda zamana bağlı sıcaklık farkları

Zamana bağlı sıcaklık farkları incelendiğinde (Tablo 11; şekil 17) 0. ve 30. dakikalarda kontrol dışında tüm gruplarda anlamlı düşüş görülmüştür. Oluşturulan grafiğe göre hiperpireksiye sahip kontrol serum fizyolojik grubunda sıcaklık değişimi, 240 dk. boyunca ufak değişimlerle sabit kalırken arı zehri doz gruplarında ve parasetamol grubunda anlamlı farklar görülmüştür. Arı zehrinin 1mg/kg ve 0.05 mg/kg doz gruplarında sıcaklık farkı incelendiğinde gözlemlenen antipiretik etki doza bağlı olabilir. Ayrıca 240 dakika sonunda parasetamol grubunda sıcaklık büyük farkla yeniden yükselmiştir. Arı zehri doz gruplarında ise değişim nispeten azdır. Genel anlamda standart bir ajan olarak parasetamol'de olduğu gibi arı zehrinin tüm dozlarda vücut sıcaklığını regüle ettiği; düşük dozların erken fazda yüksek dozların ise geç fazda daha belirgin antipiretik etki gösterdiği görülmüştür (Tablo 11; şekil 17).

4.BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada bal arısı zehrinin temel biyoaktif bileşenlerinin miktarı, antiinflamatuvar, antinosiseptif ve antipiretik etkinliği araştırılmıştır. Arı zehrinin antiinflamatuvar aktivitesi; karagenan ile indüklenen inflamasyonun inhibisyonunu belirlemek amacıyla, kanda akut faz proteini olan C-Reaktif proteinde ve eritrosit sedimentasyon hızı verilerinde; TNF- α (pg/L), IL-1Beta (pg/L), IL-6 (pg/ml) proinflamatuvar sitokinlerinin verilerinde ve pletismometre ölçümleriyle % ihibisyon olarak hesaplanmış, ve bu veriler üzerinde incelenmiştir. Çalışmada antinosiseptif aktiviteyi tespit etmek için akut nosisepsiyon testleri olan “sıcak plaka”, “kuyruk sıkıştırma” ve “formalin” testleri kullanılmıştır. Antipiretik aktiviteyi tespit etmek için hiperpireksi bira mayası ile indüklenmiş ve farklı zamanlardaki rektal sıcaklık ölçümleriyle ifade edilmiştir.

4.1.Arı Zehrinin HPLC Analizinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada kullanılan arı zehrinin melittin içeriği %47.7 olarak bulunurken, PLA2 içeriği %15.33, apamin içeriği ise %1.90 olarak bulunmuştur. Bu bulgular, literatürde arı zehrinin HPLC analizleriyle karşılaştırıldığında benzerlik göstermektedir. Haghi ve arkadaşları (2013) farklı coğrafi alanlardan topladıkları zehir örneklerinde melittin içeriğinin %43 ile %55 arasında değiştiğini bulmuştur [447]. Kokot ve Matysiak ve arkadaşları (2009) ise melitin içeriğini %54.08 tespit etmişlerdir [448]. Bu aralık, toplama yöntemi, mevsim, arı türü ve bölgesel flora gibi faktörlerin içerik üzerine etkilerini göstermesi açısından önemlidir. Çalışmada kullanılan arı zehrinin %47.7 melittin içermesi, mevcut literatürde tespit edilen içeriğin üzerindedir. Örneğin; Huang ve arkadaşları (2020), Asya bal arısı zehrinde melittin içeriğini %33.9 ile %46.23 arasında belirlemiş ve ortalama değeri %40.5 olarak bulmuştur [441].

Elde ettiğimiz bu sonuç, *Apis mellifera* türü zehir örneklerinde genellikle daha yüksek melittin içeriklerinin tespit edildiği yönündeki literatür bilgisiyle örtüşmektedir. Hematyar, (2019) İran bal arısı zehrinde melittin içeriğini ortalama %43-45 tespit etmiştir [450]. Tanuğur-Samancı ve Kekeçoğlu (2021) tarafından Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan arı zehri örnekleri üzerinde yapılan çalışmada melittin içeriği ortalama 40.57 ± 7.9 olarak raporlanmıştır [451]. Mevcut çalışmanın bulgusu (%47.7), bu ortalamanın üstündedir. Bu değerlendirme bulgularımızdaki melittin değerinin, Anadolu coğrafyasına ait zehir örnekleriyle karşılaştırıldığında yüksek melittin içeriğine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte Rybak-Chmielewska ve Szczesna (2004) tarafından yapılan klasik bir HPLC çalışmasında melittin içeriği ortalama %64.40 olarak verilmiştir [436]. Çalışmamızda kullanılan arı zehrinin melittin içeriği bu değerden düşüktür.

Alexis ve arkadaşları (2024) çalışmalarında, *Apis mellifera* zehri üzerinde yapılan analizlerde PLA_2 ve apaminin birlikte toplam oranının, total arı zehrinin %10 ile %15'ini oluşturduğunu belirtmişlerdir [452]. Çalışmamızda bulunan %15.33 değeri, bu aralığın üzerinde olup özellikle yüksek PLA_2 içeriği açısından dikkat çekmektedir. Arı zehrinin temel bileşenleri içerdiği farklılıklar; arı zehri üretiminde kullanılan arı türü, flora, mevsimsel farklılıklar ya da toplama tekniklerinden kaynaklanabilecek biyolojik çeşitliliğin etkilerinden kaynaklanabilir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Tanuğur-Samancı ve Kekeçoğlu (2021) tarafından, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan zehir örneklerinde PLA_2 oranı %9.26 ile %17.83 arasında ölçülmüş, ortalama değer ise 13.67 ± 2.6 olarak bildirilmiştir [451]. Bu çalışmada tespit edilen %15.33'lük oran, Tanuğur-Samancı ve Kekeçoğlu (2021)'nin çalışmasındaki oranlarla örtüşmektedir. Fakat başka bir çalışmada, Jo ve arkadaşları (2021), bal arısı zehrinde PLA_2 'nin genel kabul gören aralığını %10–12 olarak belirtmiştir [393]. Kokot ve Matysiak (2009) ise PLA_2 oranını çalışmalarında ortalama %13.04 olarak bulmuştur [448]. Scaccabarozzi ve arkadaşları (2021) ise, Avustralya örneklerinde PLA_2 oranlarını %7.22 ile %28.18 arasında tespit etmişlerdir [453]. Elde ettiğimiz değerler, Anadolu arısı için benzer iken Avustralya örneklerinden elde edilen arı zehri değerlerinden düşüktür.

Zhou ve arkadaşları (2010) tarafından arı zehri örneklerinde yapılan HPLC-DAD-MS/MS analizlerinde, apamin içeriği, %2.2-%3.7 arasında tespit edilmiştir [454]. Bu

çalışmada test edilen arı zehrinin apamin içeriği ise bu değerin altındadır. Tanuğur-Samancı ve Kekeçoğlu (2021) Anadolu menşeli örneklerde apamin oranını ortalama %2.12 olarak belirlemiş, aralık olarak ise %1.40 ile %2.85 arasında değerler bildirmiştir [451]. Analiz sonuçlarına göre, %1.90'lık bulgumuz, bu değerlerle uyumluluk göstermektedir. Daha farklı bir bakış açısı sunan Kokot ve Matysiak (2009) çalışmasında LC-DAD yöntemiyle apamin oranı %2.64 olarak raporlanmış, ancak bu değer genel literatürle karşılaştırıldığında üst sınır olarak değerlendirilmiştir [448]. Bunun yanında, Gökmen ve arkadaşları (2023) arı zehrinde HPLC-VWD yöntemiyle apamin oranını %2.0 olarak tespit etmişlerdir. Bu değer mevcut çalışmadaki %1.90 değeriyle uyumludur [455].

Elde edilen bu veriler, çalışmada analiz edilen arı zehri örneğinin hem melittin hem PLA₂ hem de apamin açısından yüksek biyolojik aktivite potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum, arı zehrinin tıbbi ve farmasötik uygulamalarda kullanılabilirliği açısından önemlidir.

4.2.Arı Zehrinin Antiinflamatuvar Etkisinin Değerlendirilmesi

Çalışmada, bal arısı zehrinin farklı dozlarının, karagenan ile indüklenen akut inflamasyon modeli üzerindeki etkileri araştırılmış ve doza bağlı bir inhibisyon profili elde edilmiştir. Çalışmada % inflamasyon inhibisyonu açısından, 0.05mg/kg arı zehri ile %19±3.7 oran ile kontrol grubuyla istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. 0.2mg/kg arı zehri ile %23±5.5, 0.5mg/kg arı zehri ile %51±2.8, 1mg/kg arı zehri ile %69±6.4 inhibisyon oranı saptanmış ve bu etkiler, kontrol grubundan farklı olarak referans antiinflamatuvar ajan olan 5mg/kg indometazin grubunda gözlenen %75±4.8 inhibisyon oranına yaklaşmıştır (p<0.001). Elde edilen bu sonuçlar, literatürde yer alan benzer deneysel çalışmalarda bildirilen verilerle uyum göstermektedir [406], [456], [437].

4.2.1. Histolojik Bulguların Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, arı zehrinin 0.05–1 mg/kg doz aralığında rat karaciğer dokusu üzerindeki etkileri; sinuzoidal dilatasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hemoraji ve hasarlı hepatosit oranı gibi histopatolojik parametreler üzerinden değerlendirilmiştir. En düşük doz olan 0.05 mg/kg uygulamasında, elde edilen skorlar (sinusoidal dilatasyon:

0.61 $\pm$ 0.60; inflamatuvar infiltrasyon: 0.31 $\pm$ 0.21; hasarlı hepatosit oranı: 0.28 $\pm$ 0.30) kontrol grubuna oldukça yakın bulunmuş, hatta bazı parametrelerde daha düşük değerler saptanmıştır. Bu durum, arı zehrinin düşük dozlarının hepatik dokuya zarar vermediğini, aksine koruyucu bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Nitekim literatürde [457], [458], [459], [460], melittin ve apamin gibi zehir bileşenlerinin düşük dozlarda antioksidan ve hücre koruyucu özellikler sergileyebildiği, bu etkilerin özellikle hepatositlerde anti-apoptotik mekanizmalar üzerinden gerçekleştiği ifade edilmektedir. Al-Rikabi ve ark. (2021), 250–1000 μ g/mL arası konsantrasyonlarda (yaklaşık 1.67–6.67 mg/kg) intraperitoneal arı zehri uyguladıkları farelerde, düşük dozlarda hafif hepatosit şişmesi, vasküler konjesyon, mononükleer hücre infiltrasyonu ve apoptotik hepatosit varlığı saptamışlardır. Daha yüksek dozlarda ise nükleer piknoz, nekrotik hepatik kordonlar ve yaygın hücre ölümü gözlenmiştir [461].

Yüksek dozlarda melittin ve PLA₂'nin hücre membran bütünlüğünü bozarak hepatositlerde lizis, apoptoz ve inflamatuvar süreçleri tetiklediği düşünülmektedir [460]. Literatürde de melittin'in yüksek dozlarda nonspesifik sitolitik etkisi ile hücre zarında por oluşumuna neden olduğu ve bu durumun karaciğer nekrozu ile sonuçlanabileceği belirtilmiştir [460].

Bu durum, melittin'in doza bağlı çift yönlü etkisini yansıtmakta ve antiinflamatuvar–immünmodülatör eşiği aşılmadığında karaciğerde tolere edilebilir bir etki ortaya koyduğunu göstermektedir [429], [424]. Melittinin anti-apoptotik ve antioksidan etki gösterebildiğine dair literatürle uyumludur [421], [423].

Çalışmada elde edilen veriler düşük dozlarda, 0.2 mg/kg arı zehri uygulamasında, tüm histopatolojik parametrelerde düşük düzeylerde hasar gözlenmiş ve özellikle inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile hepatosit hasar skorlarında belirgin bir azalma kaydedilmiştir. Bu bulgular, arı zehrinin bu doz aralığında toksik etki oluşturmadığını, hatta hepatoprotektif [458]. bir potansiyele sahip olabileceğini göstermektedir. Bu etki, melittin'in TGF- β 1 kaynaklı hasara karşı gösterdiği anti-apoptotik özelliklerle ilişkilendirilebilir [464].

Arı zehrinin 0.5 mg/kg'lık doz grubunda ise, inflamatuvar hücre infiltrasyonu belirgin şekilde artış göstermiştir (0.96 $\pm$ 0.25). Ancak hemoraji ve sinusoidal dilatasyon skorları daha düşük düzeylerde kalmıştır. Bu durum, bu doz seviyesinin immün hücre

mobilizasyonunu uyardığını, ancak vasküler bütünlük üzerinde daha az bozucu etki yaptığını göstermektedir. Bu tablo, literatürde bildirilen doz-bağımlı immünmodülasyon etkileriyle uyumlu olup, lokal immün yanıtın bu doz düzeyinde belirginleştiği düşünülmektedir [465].

Yüksek doz olan 1 mg/kg uygulamasında, inflamatuvar hücre infiltrasyonu (1.33 ± 0.31) ve hemoraji (1.23 ± 0.73) en yüksek seviyelere ulaşmış; hasarlı hepatosit oranı da (0.71 ± 0.35) anlamlı biçimde artış göstermiştir. Histolojik kesitlerde özellikle portal alan çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonu ve belirgin vasküler konjesyon izlenmiştir. Bu bulgular, arı zehrinin yüksek dozlarda karaciğer dokusunda pro-inflamatuvar yanıt ve vasküler hasar oluşturabileceğini göstermektedir. Literatürde melittin'in yüksek konsantrasyonlarda hücre zarlarını bozarak membran lizisi ve inflamasyona neden olduğu da bildirilmiştir.

Pozitif kontrol grubunda (standart ajan uygulaması) ise sinusoidal dilatasyon (1.57 ± 0.24), hemoraji (1.16 ± 0.20) ve hasarlı hepatosit oranı (0.31 ± 0.15) gibi parametrelerde anlamlı artış tespit edilmiştir. Bu grup, modelin hepatotoksik yanıt oluşturma kapasitesini doğrulaması açısından önemlidir ve arı zehrinin uygulandığı gruplarda gözlemlenen doz-yanıt ilişkisini histolojik düzeyde desteklemektedir.

4.2.2. İnflamatuvar Sitokinlerin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada arı zehrinin farklı dozlarda uygulanmasının IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeyleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, arı zehrinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin dozla ilişkili olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur.

IL-1 β düzeyleri, özellikle yüksek doz arı zehri uygulanan grupta (1 mg/kg) belirgin artış göstermiş 0.2 ve 0.5 mg/kg dozlarda standart ajan ile benzer düzeyde baskılanmıştır. Bu bulgu, IL-1 β 'nin doku hasarı sonrası erken dönemde salınan proinflamatuvar bir sitokin olduğu bilgisiyle uyumludur. IL-1 β , inflamatuvar hücre infiltrasyonunu artırarak histolojik düzeyde gözlenen karaciğer hasarını (özellikle hepatosit dejenerasyonu ve sinusoidal dilatasyon) açıklamaktadır. Bu durum, IL-1 β 'nin hem inflamatuvar hem de fibrotik süreçlerin tetikleyicisi olduğunu gösteren literatürle desteklenmektedir [38].

IL-6 düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir. Bu sonuç, IL-6'nın inflamatuvar yanıttan çok, sistemik akut faz yanıtının düzenlenmesinde görevli olmasıyla ilişkilendirilebilir. Bu durum IL-6 salınımının IL-1 β ve TNF- α 'ya kıyasla daha stabil seyretmesi, daha geç yanıt vermesi veya esasen maruziyet süresine duyarlı olmasıyla açıklanabilir. Ayrıca IL-6 düzeylerinin, IL-1 ve TNF- α gibi sitokinlerin aksine zamanlama ve maruziyet süresine daha duyarlı olduğu bilinmektedir [466]. Bu nedenle, tek doz uygulamaya bağlı olarak IL-6 düzeylerinde ani değişim belirlenmemiş olabilir.

TNF- α düzeyleri, özellikle 0.2 ve 0.5 mg/kg dozlarında anlamlı bir artış göstermiştir. Bu sonuçlar, TNF- α 'nın immün sistemde "eşik uyarana" yanıt olarak pik yaptığı ve ardından baskılandığı bilinen kinetiğini yansıtmaktadır. Bu doz aralığı muhtemelen TNF- α salınımı açısından optimal uyarı dozlarıdır. Öte yandan, 1 mg/kg dozda TNF- α düzeyinin düşmesi, bağışıklık sisteminin aşırı uyarı sonucunda baskılanması, hücre ölümünün başlaması veya antiinflamatuvar yanıtın devreye girmesiyle açıklanabilir [36]. Düşük dozda (0.05 mg/kg) TNF- α artışı tespit edilmesi ise yetersiz uyarıyla ilişkilendirilebilir.

Bu sonuçlar, arı zehrinin bağışıklık sistemini modüle edici etkisinin yalnızca kullanılan doza değil, aynı zamanda hücre tipine, doku ortamına ve uygulama süresine de bağlı olduğunu göstermektedir. Özellikle orta dozlarda TNF- α 'daki belirgin artış, arı zehrinin immünoterapötik ajan olarak kullanım potansiyelini destekler niteliktedir. Bununla birlikte, yüksek dozların inflamasyonu ve doku hasarını artırıcı etkisi olduğu da göz ardı edilmemelidir.

Sonuç olarak, arı zehrinin farklı dozlarda uygulanması, inflamatuvar yanıtı farklı düzeylerde etkileyerek proinflamatuvar sitokinlerin üretimini modüle etmiştir. Özellikle TNF- α 'nın orta dozlarda belirgin artışı, arı zehrinin immün sistemi aktive edici potansiyelini ortaya koyarken; IL-1 β 'nin yüksek dozlarda artışı doku hasarı ile ilişkili inflamatuvar sürecin belirginleştiğine işaret etmektedir. Bu sonuçlar, arı zehrinin terapötik kullanımı açısından dikkatli doz ayarlaması yapılması gerektiğini ve ileri çalışmalarda kronik maruziyetin, zaman faktörünün ve antiinflamatuvar dengeleyicilerin de dikkate alınması gerektiğini göstermektedir.

Kwon ve arkadaşları (2001), bal arısı zehrinin 1 mg/kg dozda akupunktur noktasına subkutan uygulanmasının, adjuvan ile indüklenen kronik artrit modelinde ödemi belirgin şekilde azalttığını ve ağrı davranışlarını baskıladığını bildirmişlerdir. Sham grubunda ödem miktarında ml cinsinden bir değişiklik olmazken standart ilaç ve arı zehri doz grubunda 2 ml civarında ödem ihibisyonu hesaplamışlardır. Ayrıca, bu etkinin spinal düzeyde Fos (nöral ağrı iletim proteini) protein ekspresyonunun baskılanmasıyla ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır [405].

Arı zehrinin ve melittin'in antiinflamatuvar ve antiartritik etkilerini, hem hücre kültüründe (Raw 264.7) hem de insanlardan alınan romatoid artritli hastaların sinoviyositlerinde (eklem hücreleri) araştırdıkları bir çalışmada [89], İnflamatuvar genlerin ifadesi, PGE₂ ve NO düzeyleri, hücre içi kalsiyum miktarı, NF-κB aktivitesi ve NF-κB p50 alt birimine doğrudan bağlanma üzerinden değerlendirilmiş ve 0.8–1.6 mg/kg dozlarda ödemi ve iltihabı önemli ölçüde azatlığı tespit edilmiştir. Ayrıca arı zehri ve melittin, LPS ile uyarılmış hücrelerde; COX-2, cPLA₂ ve iNOS ekspresyonunu azaltmış, PGE₂ ve NO üretimini baskılamış ve hücre içi kalsiyum düzeylerini düşürmüştür.

Lee ve arkadaşları (2014), melittinin *Propionibacterium acnes* kaynaklı inflamatuvar tepkilere karşı koruyucu etkiler gösterdiğini hem hücre kültürü modellerinde hem de hayvan deneylerinde ortaya koymuştur. Araştırmada, ısı ile inaktive edilmiş *P. acnes* ile uyarılan HaCaT hücrelerine; 0.1, 0.5, and 1 µg ml⁻¹ dozlarda melittin uygulanmış ve bu tedavinin IKK, IκB, NF-κB ve p38 proteinlerinin fosforilasyon düzeylerini düşürdüğü bulunmuştur. Elde edilen veriler, melittinin, inflamatuvar sitokin üretimini azaltarak NF-κB ve p38 MAPK yollarını baskıladığını düşündürmektedir [467].

Başka bir çalışmada, melittinin insan THP-1 monositik hücrelerinde, ısı ile inaktive edilmiş *P. Acnes*'in neden olduğu apoptoz ve inflamatuvar yanıtları baskıladığı gösterilmiştir. Melittin uygulaması, bu hücrelerde kaspaz-3, kaspaz-8 ve PARP proteinlerinin parçalanmasını engellemiş; aynı zamanda TNF-α ve IL-1β gibi proinflamatuvar sitokinlerin ifadesini anlamlı ölçüde azaltmıştır [468].

Park ve arkadaşları (2011), melittinin karaciğerde oluşan hasarı, iltihabı ve fibroz gelişimini hafiflettiğini belirlemişlerdir. Yapılan deneylerde, TNF-α ile aktive edilen hepatik stellat hücrelerde melittin uygulaması, TNF-α salgısını ve IL-1β ile IL-6

sitokinlerinin üretimini azalttığı bulunmuştur. Ayrıca, tiyoasetamid ile indüklenen karaciğer fibroz modeli kullanılarak, melittinin NF- κ B sinyal yolunu baskılayarak hem inflamasyonu hem de fibrotik değişiklikleri azalttığı belirlenmiştir. Bu bulgulara dayanarak araştırmacılar, melittinin HSC aktivasyonunu kontrol altına alarak antifibrotik etkiler ortaya koyabileceğini ileri sürmüştür [384].

Kim ve arkadaşları (2015), melittinin D-galaktozamin ve LPS ile oluşturulan fare karaciğer yetmezliği modelinde NF- κ B sinyal yolunu ve apoptoz mekanizmalarını engelleyerek karaciğer yetmezliğine karşı koruyucu etki sağladığı ortaya koymuştur. Melittin uygulaması, ölüm oranını azaltmış, karaciğerdeki doku hasarını hafifletmiş, inflamatuvar tepkileri bastırmış ve hepatositlerdeki apoptozu önlemiştir. Ayrıca TNF- α ile tetiklenen karaciğer hasarı modelinde, melittinin NF- κ B transkripsiyonunu baskılama mekanizması detaylı şekilde açıklanmıştır. Bu modelde, melittin NF- κ B'nin DNA'ya bağlanmasını ve promoter düzeyinde etkinliğini inhibe ederek, karaciğer hücrelerindeki apoptoz sürecini NF- κ B aktivitesini baskılamak yoluyla azaltmaktadır [464].

Bu konuda yapılan başka bir çalışmada, Billingham ve arkadaşları (1973), Fosfolipaz A2 üzerine yapılan bir çalışmada, yaklaşık 1 kg dondurularak kurutulmuş arı zehri fraksiyonlara ayrılmış ve bu fraksiyonların tamamı 2mg/kg dozda anti-inflamatuvar aktivite açısından test etmiş ve arı zehrinin antiinflamatuvar etkisinin daha çok bazik peptit fraksiyonu ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir [460].

Arı zehrinin tip II kollajenle indüklenen artrit modelinde antiinflamatuvar ve sitokin düzenleyici etkilerinin incelendiği bir çalışmada, tip II kollajen ve tam Freund adjuvanı emülsiyonu enjeksiyonu yapılmış; iki hafta sonra bir güçlendirme dozu verilmiştir [456]. Deney grubuna, ilk kollajen enjeksiyonundan 5 hafta sonra başlayarak, her iki dizin yakınına denk gelen Zusanli akupunktur noktasına haftada iki kez toplam 5 kez 0.1 ml arı zehri uygulanmıştır. Kontrol grubuna ise aynı protokolle serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Artrit gelişimi, kollajen enjeksiyonunun üçüncü haftasından itibaren haftada iki kez değerlendirilmiş; 8. haftada fareler sakrifiye edilerek eklem dokuları histopatolojik olarak incelenmiş ve serumda TNF- α ve IL-1 β düzeyleri ELISA ile ölçülmüştür. Elde edilen bulgulara göre, tedavi grubunda artrit sıklığı, ortalama artrit skoru ve artritli uzuv sayısı kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak daha düşüktür

(%63'e karşı %75, 3.4'e karşı 8.5, %23'e karşı %75). Serum sitokin analizlerinde, arı zehri grubunda TNF- α düzeyleri anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur (59 ± 4.5 vs. 99.5 ± 6.5 ; $p < 0.05$), ancak IL-1 β düzeyinde anlamlı bir düşüş belirlenmiştir. Histopatolojik değerlendirmede de arı zehri uygulamasının eklem dokularındaki inflamasyon belirtilerini azalttığı ve lenfosit birikimini sınırladığı görülmüştür. Bu sonuçlar, arı zehrinin CIA modelinde artrit gelişimini baskıladığı ve bağışıklık yanıtlarını inhibe ettiği yönündeki bulguları desteklemektedir.

Sobral ve arkadaşları (2016), farklı bölgelerden topladıkları arı zehri örneklerinin antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitelerini inceledikleri bir çalışmada, arı zehri 5 numaralı örnekte, daha yüksek biyolojik aktivite görüldüğü ve ancak bu etkilerin doğrudan tek bir bileşenle ilişkilendirilmediği ifade edilmiştir [350].

Lee ve arkadaşları (2010) çalışmalarında, arı zehrinin ateroskleroz modeli oluşturulan farelerde yağ ve LPS kaynaklı damar hasarını önleyici etkilerini araştırmışlardır. Arı zehri uygulaması, kan yağlarını (total kolesterol ve trigliserid) düşürmüş; proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL-1 β düzeylerini azaltmıştır. Ayrıca, damar iltihabıyla ilişkili moleküller olan ICAM-1, VCAM-1, TGF- β 1 ve fibronektin düzeylerinde anlamlı düşüş sağlamıştır. Bu etkiler, aort ve kalp dokularında da gözlenmiştir. Sonuç olarak, arı zehrinin antiinflamatuvar ve lipid düşürücü etkiler yoluyla anti-aterojenik özellik taşıdığı ortaya konmuştur [429].

Lee ve arkadaşlarının (2001) çalışmasında, arı zehrinin, karagenan ile oluşturulan akut inflamasyon modelinde antinoseptif ve anti-inflamatuvar etkileri araştırılmıştır. Karagenan enjeksiyonu sonrası kontrol grubunda pençe ödeminde %108'lik bir artış görülürken, 0.8 mg/kg dozundaki arı zehri ön tedavisi bu ödemi %26 oranında azaltmıştır ($p < 0.001$). Ayrıca, spinal kordda Fos pozitif nöron sayısı %28.9 oranında azalmıştır. Bu bulgular, arı zehrinin hem periferik hem merkezi düzeyde inflamasyon ve ağrı iletimini baskılayabildiğini göstermiş ve potansiyel bir analjezik/antiinflamatuvar ajan olarak değerlendirilebileceğini düşündürmüştür [470].

Tedawy ve arkadaşları (2020) çalışmalarında, tam Freund adjuvanı kullanılarak artrit oluşturulan sıçanlarda diz eklem çevresi, artritik kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde artmıştır [471]. Arı zehri 60 mg/kg ve metotreksat tedavisi, bu diz eklem çevresi artışını anlamlı biçimde azaltmıştır ($P < 0.05$). Ayrıca, artrit indeks skoru artritik kontrol

grubunda yüksek bulunmuş olup, arı zehri ve metotreksat uygulamalarıyla bu skorlar anlamlı şekilde düşmüştür ($P<0.05$). Eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) artritik grupta artarken, arı zehri ve metotreksat tedavileri ile anlamlı bir azalma bulunmuştur ($P<0.05$). Serum TNF- α seviyesi artritik kontrol grubunda ortalama 124.3 pg/mL iken, arı zehri tedavisi sonrasında 46.7 pg/mL'ye, metotreksat tedavisinde ise 42.1 pg/mL'ye düşmüştür ($P<0.05$). Benzer şekilde, serum IL-1 β seviyesi artritik grupta ortalama 95.2 pg/mL olarak ölçülürken, arı zehri ile 38.4 pg/mL'ye ve metotreksat ile 35.9 pg/mL'ye kadar azalmıştır ($P<0.05$). Histopatolojik incelemelerde arı zehri ve metotreksat gruplarında inflamasyon ve eklem tahribatı belirgin şekilde azalmış, bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.01$). Ayrıca, NF- κ B p65 ekspresyonu artritik kontrol grubunda yüksekken, arı zehri ve metotreksat tedavileri ile anlamlı bir şekilde azaltılmıştır ($P<0.01$). Arı zehri, COX-2 enzimini düşük IC₅₀ değerleriyle inhibe etmiş ve bu açıdan diklofenak ve indometasine göre daha yüksek seçicilik göstermiştir. Akut toksisite testleri sonucunda arı zehrinin 1.200 mg/kg'a kadar güvenli olduğu belirlenmiş, ancak bu dozda hafif karaciğer ve böbrek fonksiyon değişiklikleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak, 60 mg/kg dozunda sistemik uygulanan arı zehri, metotreksat ile benzer anti-inflamatuar, analjezik ve anti-artritik etkiler göstermiştir; ayrıca serum TNF- α ve IL-1 β seviyelerindeki düşüş, arı zehrinin inflamasyonu baskılayıcı etkisini desteklemektedir.

Arı zehri tedavisinin anti-inflamatuar ve analjezik etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada, sırasıyla asetik asit ile indüklenen karın kıvrınma modeli, karagenan enjeksiyonu ile oluşturulan pençe ödemi modeli ve tam Freund adjuvanı ile indüklenen artrit modelleri üzerinde deneysel çalışmalar yürütülmüştür [472]. Asetik asit enjeksiyonu ile oluşturulan modelde, bir grup sıçana akupunktur, diğerine ise arı zehri tedavisi uygulanmış ve her iki grup kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Benzer şekilde, karagenan ile oluşturulan ödem modelinde de akupunktur ve arı zehri tedavileri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Artrit modeli için ise tam Freund adjuvanı enjeksiyonu sonrası yine akupunktur ve arı zehri tedavileri uygulanmış ve elde edilen bulgular kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, asetik asit ile oluşturulan karın bükülme modelinde arı zehri tedavisinin analjezik etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Karagenan enjeksiyonu ile oluşturulan pençe ödeminde ise arı zehri uygulaması, ödemi anlamlı düzeyde ($\%38.3\pm3.7$) azaltmıştır. Buna karşılık,

tam Freund adjuvanı ile oluşturulan artrit modelinde arı zehrinin terapötik etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu veriler, arı zehri tedavisinin akut inflamasyon ve ağrı üzerinde etkili olabileceğini, ancak kronik inflamatuvar artrit modeli üzerinde sınırlı etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Hücre hatlarında yapılan bir çalışmada, arı zehrinin ana bileşeni olan melittin hidrolize edilerek ve diğer toksik bileşenleri uzaklaştırılarak detoksifiye edilmiş arı zehri elde edilmiştir [473]. Bu detoksifiye ürünün antioksidan, sitotoksik, anti-inflamatuvar ve alerjenik etkileri değerlendirilmiştir. MCF 10A ve RAW 264.7 hücrelerinde yapılan MTS testinde, detoksifiye arı zehrinin doğal arı zehrine göre daha düşük sitotoksositeye sahip olduğu gösterilmiştir. DPPH radikal süpürme testi ile belirgin antioksidan etkisi tespit edilmiştir. RAW 264.7 hücrelerinde inflamatuvar sitokin mRNA ekspresyonu ve I κ B α fosforilasyonunun azaldığı saptanmış, RBL-2H3 hücrelerinde ise β -hegzosaminidaz salınımı azalarak alerjenitenin düştüğü gösterilmiştir. Bu bulgular, detoksifiye edilmiş arı zehrinin sitotoksosite ve alerjik yan etkileri azaltırken, anti-inflamatuvar etkinliğini artırdığını ortaya koymuştur.

Kim ve arkadaşları (2016) çalışmalarında, detoksifiye ettikleri arı zehrini doğal arı zehriyle karşılaştırmışlardır. MCF 10A ve RAW 264.7 hücre hatlarında, doğal arı zehri 15 μ g/mL de sitotoksosite gösterirken, detoksifiye arı zehri 60 μ g/mL'ye kadar hücrelerde toksik etki göstermemiştir. Ayrıca, DPPH testinde her iki grupta da güçlü antioksidan aktivite gözlemlenmiş (%98; %89) ve 7.5 μ g/mL dozda, TNF- α , IL-6 ve iNOS gibi inflamatuvar belirteçlerin mRNA seviyeleri anlamlı şekilde düşmüştür. Detoksifiye arı zehri ayrıca I κ B α fosforilasyonunu ve β -heksosaminidaz salınımını da azaltmıştır. Bu veriler, yüzsek dozlarda daha güvenli kullanım imkanı sağladığı için detoksifiye arı zehrinin terapötik potansiyelinin daha güvenli olduğunu göstermektedir [185].

Kwon ve arkadaşları (2001) çalışmada, Freund adjuvanı ile artrit oluşturulmuş sıçanlarda bal arısı zehrinin suda çözünür fraksiyonu ve etil asetatta çözünür fraksiyonu karşılaştırılmıştır [405]. Arı zehri 0.9 mg/kg/gün dozunda 3 hafta boyunca Zusanli noktasına subkutan uygulandığında, artritli sıçanlarda ödem anlamlı şekilde azalmış, IL-6 düzeylerini normal düzeye yakınlaşmış ve termal ile mekanik hiperaljezi baskılamıştır. Ayrıca omurilik dorsal boynuzundaki c-Fos ekspresyonunu belirgin

biçimde azaltmıştır. Buna karşın, arı zehri fraksiyonu 0.05 mg/kg/gün dozda uygulandığında bu etkileri göstermemiştir. Sonuçlar, antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerin esas olarak arı zehri fraksiyonuna ait olduğunu ve bu etkinin dozla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.

Lam ve arkadaşları (2010) çalışmalarında, arı zehrinin moleküler düzeydeki etkilerini, LPS ile uyarılmış Raw 264.7 makrofaj hücrelerinde incelenmiş ve arı zehrinin 10 µg/ml üzerindeki dozlarda sitotoksik olduğu, ancak 2–10 µg/ml aralığında NO üretimini azalttığını göstermişlerdir. Bu azalma, iNOS ve COX-2 ekspresyonunun NF-κB sinyal yoluyla baskılanmasıyla ilişkilendirilmiştir. Öte yandan, arı zehri aynı zamanda p38 MAPK yolunu aktive ederek IL-1β üretimini artırmış ve böylece proinflamatuvar etki de göstermiştir. Sonuç olarak, arı zehri belirli dozlarda antiinflamatuvar (iNOS ve COX-2 baskısı) etkiler oluştururken, bazı bileşenleriyle proinflamatuvar (IL-1β indüksiyonu) yanıtları da tetikleyebilmektedir [474].

Mohamed ve arkadaşları (2019) çalışmalarında, asetilsalisilik asit (ASA) ile indüklenen akut mide ülserasyonunun iyileştirilmesinde arı zehrinin 2 mg/kg dozda (BZ) mide koruyucu etkilerini araştırmışlardır [353]. Deneyde, erkek Sprague-Dawley sıçanlar dört gruba ayrılmış; kontrol grubu sadece distile su alırken, ASA grubuna yüksek doz ASA verilmiş, diğer iki gruba ise ASA sonrası sırasıyla arı zehri ve ranitidin tedavisi uygulanmıştır. Çalışma kapsamında hematolojik parametreler, hemostatik fonksiyonlar ve inflamatuvar belirteçler ölçülmüş; mide dokusu ise ülser skoru, gen ekspresyonu, oksidatif stres düzeyleri, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizlerle değerlendirilmiştir. Sonuçlar, arı zehrinin ASA'nın neden olduğu mide ülserasyonunda belirgin bir iyileştirici etki sağladığını göstermiştir. Özellikle, arı zehri uygulanan grupta ülser indeksi ve pro-inflamatuvar sitokinlerden TNF-α, anlamlı derecede azalmış (229.85 ± 28.39), malondialdehit gibi oksidatif stres göstergeleri düşerken antioksidan enzimlerin aktivitesi artmıştır. Ayrıca, apoptosis göstergeleri olan BAX proteini dağılımı ve kaspaz-3 ekspresyonu da azalmış; doku eozinofil sayısı ve inflamasyon düzeyi kontrol altına alınmıştır. Histopatolojik incelemeler, arı zehrinin mide dokusundaki hasarı ve yapısal bozuklukları önemli ölçüde düzelttiğini ortaya koymuştur. Hematolojik ve hemostatik parametrelerdeki bozulmalar arı zehri tedavisiyle kısmen normalize olmuştur. Bu veriler, arı zehrinin ASA kaynaklı mide ülserasyonuna karşı anti-inflamatuvar, antioksidan, anti-apoptotik ve anti-sekretuvar

mekanizmalarla koruyucu bir etki gösterdiğini ve alternatif bir tedavi seçeneği olabileceğini desteklemektedir.

4.2.3.Farklı Hayvan Zehirlerinde Antiinflamatuvar Etki

Altawil ve arkadaşları (2015) çalışmalarında, Mısır kabra yılanı *Naja nubiae* zehrinin antiinflamatuvar etkisini araştırmışlardır. Karragenan ile indüklenen ödem testinde, her iki zehir dozunun (0.084 ve 0.042 mg/kg) neden olduğu pençe kalınlıkları ve inhibisyon yüzdeleri hesaplanmıştır. 0.042 mg/kg dozundaki zehir, ödem üzerinde anlamlı bir inhibisyon etkisi oluşturarak bu etkiyi birinci saatten beşinci saate kadar sürdürmüştür. 0.084 mg/kg dozundaki zehir ise ödemi ikinci saatten itibaren anlamlı düzeyde baskılamaya başlamış ve bu etki beşinci saate kadar devam etmiştir. Zehir, beşinci saatte maksimum %60.15 oranında ödem inhibisyonu sağlamıştır. Aynı zaman noktasında referans ilaç olan diklofenak sodyum ise %36.23 oranında anlamlı bir ödem inhibisyonu göstermiştir [475].

Shwtar ve arkadaşları (2017), karagenan ile indüklenen ödem testinde, koni salyangozu olan *C. vexillum* zehrinin (1/10 ve 1/5 LD₅₀) ve referans ilaç olan diklofenak sodyumun (20 mg/kg), ödem inhibisyon yüzdeleri hesaplanmıştır. 1/5 LD₅₀ dozu, birinci saatten itibaren anlamlı düzeyde pençe ödemi baskılamış ve inhibisyon oranı %53.63 olarak hesaplanmıştır. Öte yandan, 1/10 LD₅₀ dozunda ödemin anlamlı şekilde baskılanması tedaviden sonraki ikinci saatten itibaren başlamıştır. Sonuç olarak, 1/5 LD₅₀ dozunun anti-inflamatuvar etkisi, diklofenak sodyumun etkisine oldukça yakın bulunmuştur [446].

Shoukry ve arkadaşları (2020) çalışmalarında, bir Mısır akrebi olan *Androctonus amoreuxi* zehrinin antiinflamatuvar etkisini, hem Brewer's yeast (bira mayası) hem de karragenan ile indüklenen ödem modelleriyle değerlendirilmiştir. Brewer's yeast ile oluşturulan rat pençe ödemi modelinde, *A. amoreuxi* zehri 1/10 ve 1/5 LD₅₀ dozlarında uygulanmıştır. Tedavi sonrasında, 6. saatte ödem kalınlığında sırasıyla %13.37 ve %16.37 oranlarında anlamlı azalmalar elde edilmiştir. Bu sonuçlar, zehrin maya kaynaklı inflamasyonu sınırlı da olsa baskılayabildiğini göstermektedir [476].

Karragenan ile oluşturulan fare pençe ödemi modelinde ise, *A. amoreuxi* zehri 1/5 LD₅₀ dozunda uygulanmış ve diklofenak sodyum (20 mg/kg) ile karşılaştırılmıştır. Zehrin etkisi 2. saatten itibaren gözlenmeye başlamış, 5. saatte ödem üzerinde %72.46 oranında

inhibisyon sağlamıştır. Aynı süreler içinde diklofenak sodyum ise %36.23 inhibisyon göstermiştir. Bu bulgular, *A. amoreuxi* zehrinin klasik antiinflamatuvar ilaca göre daha güçlü ve zamanla artan bir etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Histopatolojik incelemeler de bu sonuçları desteklemiştir. Karragenan ile iltihaplandırılan kontrol grubunda dermal dokuda yaygın makrofaj, nötrofil ve lenfosit infiltrasyonu gözlenmiştir. Buna karşın, akrep zehri ile tedavi edilen grupta bu hücrelerin sayısında belirgin azalma saptanmıştır. Tedavi edilen grupta epidermis kalınlığı normal düzeyde kalmış, akantoz görülmemiş, yalnızca hiperkeratoz izlenmiştir. Ayrıca kolajen liflerinin yapısı korunmuş, dermal ödem azalmış ve inflamatuvar hücrelerin (özellikle polimorfonükleer hücrelerin) dokuya göçü sınırlanmıştır. Bu veriler, *A. amoreuxi* zehrinin inflamasyonun hem fizyolojik belirtilerini hem de doku düzeyindeki etkilerini önemli ölçüde azaltabildiğini göstermektedir.

4.3.Arı Zehrinin Antinosiseptif Etkisinin Değerlendirilmesi

4.3.1.Mekanik Uyarı (Kuyruk Sıkıştırma) Testi

Bu modelde, arı zehri uygulamasıyla kuyruk çekme süresi anlamlı ($P<0.001$) biçimde uzamıştır. 0.05 mg/kg dozda kuyruk çekme süresi istatistiksel olarak kontrolle aynı grupta ter alırken; 0.2 mg/kg (7.16 ± 1.1 sn), 0.5 mg/kg (8.0 ± 0.8 sn) 1 mg/kg (8.83 ± 0.7 sn) dozda ölçülen süre, referans ilaç olan parasetamol grubuna (9.83 ± 0.7 sn) oldukça yakındır. Her ne kadar farklı çalışmalarda kullanılmış olsa da literatürde doğrudan arı zehrinin kuyruk sıkıştırma testi üzerine yapılmış bir çalışmasına rastlanılmamıştır. Bunun yerine daha çok mekanik allodini, nöropatik ağrı, siyatik testleri ve kuyruk çekme testi kullanılmıştır.

Roh ve arkadaşları (2004) çalışmada, seyreltilmiş arı zehri (0.25 mg/kg) enjeksiyonunun, sıçanlarda siyatik sinire uygulanan kronik konstriktif hasar modelinde geliştirdiği nöropatik ağrıya karşı etkisi incelenmiştir. Arı zehri, kronik konstriktif hasar sonrası 2. haftada ST36 akupunktur noktasına enjekte edilmiştir. Uygulamadan 5–45 dakika sonrasında, termal hiperaljezide anlamlı bir azalma ($P<0.001$) gözlenmiş; ancak mekanik alodinide istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik elde edilmemiştir [477].

Baek ve arkadaşları (2006) çalışmalarında, ST36 akupunktur noktasına uygulanan arı zehri enjeksiyonunun, kollajen ile indüklenen artrit oluşturulmuş sıçan modelinde

inflamatuvar ağrı üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir [478]. Kuyruk çekme refleks süresi ölçümleri, arı zehri uygulamasının ağrı eşiğini anlamlı düzeyde artırdığını göstermiştir. Elde edilen bulgulara göre, ST36 akupunktur noktasına uygulanan arı zehri tedavisi, salin enjeksiyonu yapılan, tedavi edilmeyen ya da ST36 dışı noktalara arı zehri uygulanan gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde analjezik etki göstermiştir. Antinosiseptif etkinin maksimum düzeye arı zehri uygulamasından 30 dakika sonra ulaştığı ve bu etkinin en az 60 dakika boyunca sürdüğü bildirilmiştir. Ayrıca, arı zehri'nin bu analjezik etkisinin $\alpha 2$ -adrenerjik reseptörler aracılığıyla gerçekleştiği; ancak μ -opioid reseptörler ile ilişkili olmadığı da ortaya konmuştur. Bu bulgular, arı zehri akupunkturunun inflamatuvar ağrının giderilmesinde potansiyel bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir.

Conrad ve arkadaşları (2019) çalışmalarında, diz osteoartriti olan 361 hasta, arı zehri akupunkturu veya histamin enjeksiyonu alan kontrol grubuna randomize edilmiştir [460]. Arı zehri akupunkturu grubuna, her iki dizde belirlenen BL40, BL23, ST34 gibi toplam 11 akupunktur noktasına arı zehri enjeksiyonu uygulanmıştır. Tedavide, 1 mg arı zehri tozu, 1 ml %0.5 lidokain ile karıştırılarak hazırlanmış ve toplamda 12 seans uygulanmıştır. Arı zehri akupunkturu uygulanan grupta, 12 hafta sonunda ağrı skorlarında anlamlı iyileşme (95%) kaydedilmiştir ($p < 0.001$). Bununla birlikte, arı zehri akupunkturu grubundaki 177 hastada yan etki, 15 hastada ise enjeksiyon bölgesine bağlı reaksiyon bildirilmiştir.

Huh ve ark., (2018) çalışmalarında kollajen tip-II ile indüklenen osteoartrit ağrısı modelinde arı zehri akupunkturunun analjezik etkilerini araştırmıştır [415]. Arı zehri akupunkturunun (ST36, 1.0 mg/kg) tedavisi, akupunktur noktası dışı arı zehri tedavisi (intraperitoneal, 1.0 mg/kg) ve kontrol gruplarına kıyasla ağrıyı daha fazla azaltmıştır. 1 mg/kg arı zehri akupunkturu (ST36) tedavisi, 2 mg/kg arı zehri tedavisinden daha etkili bulunmuştur.

4.3.2. Kimyasal Uyarın (Formalin) Testi

Erken Faz: Formalin testinin ilk fazında, 0.05 mg/kg doz (194.8 ± 11 sn) istatistiksel olarak kontrole (229.5 ± 10 sn) aynı grupta bulunurken, 0.2 mg/kg (184.1 ± 3 sn), 0.5 mg/kg (181.1 ± 4 sn) ve 1 mg/kg (143.5 ± 58 sn) doz arı zehri uygulamasıyla ağrı davranışı süresi düşerek parasetamol (142.8 ± 3 sn) grubunun süresine yaklaşmıştır. Bu

bulgu, istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ($P<0.001$) arı zehrinin akut nosiseptif yanıtta etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Geç Faz: Geç fazda (15–60 dk), ağrı davranış süresi tüm arı zehri doz guruplarında gerilemiştir. 1 mg/kg arı zehri ile ağrı davranış süresi 98.3 ± 9.3 sn'ye gerilerken, 0.5 mg/kg dozda 107.5 ± 6.4 ; 0.2 mg/kg dozda 113.8 ± 9.4 ; 0.05 mg/kg dozda 141.1 ± 2.1 saniyeye gerilemiştir. Kontrol grubunda bu süre 318.0 ± 6.6 sn olarak tespit edilmiştir. Arı zehrinin ağrı davranış süresi, parasetamol grubunun da (120.1 ± 2.6 sn) gerisinde kalmakla birlikte, istatistiksel olarak oldukça yakın düzeydedir. Sonuç olarak, geç fazda erken faza göre arı zehrinin analjezik etkinliğinin süre bakımından yükseldiği belirlenmiştir.

Yang ve arkadaşları (2007) çalışmalarında, farelerde arı zehrinin 0.5 mg/kg dozda uygulanmasının, deneysel ağrı modellerinde anlamlı antinosiseptif etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Özellikle, formalin testi ile değerlendirilen inflamatuvar ağrı modelinde, arı zehri enjeksiyonu sonrasında ikinci faza ait ağrı davranışlarında belirgin azalma gözlenmiştir. Bunun yanında, hot plate testi ile ölçülen termal ağrı eşiğinde de anlamlı bir artış saptanmış; bu bulgu, arı zehrinin yalnızca periferik değil, aynı zamanda merkezi düzeyde de analjezik etki gösterebileceğini düşündürmüştür. Çalışma, arı zehrinin hem inflamatuvar hem de termal ağrıyı baskılayabildiğini ve bu etkilerin prostaglandin sentezinin inhibisyonu ile merkezi sinir sisteminde ağrı iletim yollarının modülasyonuna bağlı olabileceğini ortaya koymuştur [480].

Nipate ve arkadaşları (2020) arı zehrinin 2 ve 4 mg/kg dozlarını kullanarak yaptıkları çalışmada, arı zehrinin güçlü anti-inflamatuvar, analjezik etkilere sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Karagenanla indüklenen ödem ve pamuk peletiyle oluşturulan granülom modellerinde inflamasyonu anlamlı şekilde baskılayan arı zehri, sıcak plaka testinde 30–360. dakikalar arasındaki testlerde ve kuyruk daldırma testinde birinci saatte ağrı eşiğini belirgin şekilde artırarak analjezik etkinliğini göstermiştir. Bu etkilerin spinal α_2 -adrenerjik ve serotonerjik reseptörlerin aktivasyonu yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir. FCA ve Tip II kollajenle indüklenen artrit modellerinde ise arı zehri, ödem, ağrı ve eklem hareket kısıtlılığı gibi bulgulara anlamlı iyileşme sağlayarak romatoid artrit tedavisinde çok yönlü ve etkili bir biyolojik ajan olarak öne çıkmaktadır [437].

Merlo ve arkadaşları (2011) çalışmalarında, *Apis mellifera* zehri ve bileşenlerinin, farelerde ağrı ve inflamasyon modellerinde çift yönlü etkilerini incelemişlerdir. Arı zehrinin deri altı uygulanması (2, 4 ve 6 mg/kg) formaldehit ile indüklenen ağrının her iki fazını inhibe ederken, melittin içermeyen arı zehri (1, 2, 4 mg/kg) aynı etkiyi göstermiş, moleküler ağırlığı 10 kDa'dan küçük fraksiyonlar (2, 4, 6 mg/kg) ve melittin (2, 3 mg/kg) ise yalnızca ağrının ikinci fazını baskılamıştır [481].

Kang ve ark. (2011), çalışmalarında ST36 akupunktur noktasına arı zehri akupunkturunun uygulanmasının, formalin ile indüklenen ağrı üzerindeki antinösetif etkisini değerlendirmiştir. Düşük dozda (0.08 mg/kg) arı zehri formalin ağrısını iyileştirmezken, yüksek doz (0.8 mg/kg) formalinin ikinci turundaki ağrı yanıtlarını anlamlı şekilde azaltmıştır [482].

Kang ve ark. (2013)'nın bir başka çalışmasında, arı zehri akupunkturu (ST36, 0.8 mg/kg) ve arı zehri akupunkturu ile birlikte hidroksoidopamin (100 µL, intraperitoneal) uygulamaları, formalin kaynaklı geç dönem ağrı davranışlarında tuzlu su grubuna kıyasla belirgin iyileşme sağlamıştır [483].

4.3.3. Termal Uyarıcı (Hot Plate) Testi

Sıcak plaka testi verilerine göre, ağrıya karşı termal uyarıcı verilen tepki süreleri değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Kontrol grubunda ortalama yanıt süresi 6.0 ± 0.6 sn olarak ölçülmüştür. Bu değer, diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde daha kısa olup, ağrıyı algılamada en düşük eşik düzeyini temsil etmektedir. 0.05 mg/kg dozunda uygulanan arı zehri, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamış ve benzer bir yanıt süresi (8.1 ± 1.1 sn) ile düşük düzeyde analjezik etki göstermiştir. Ancak 0.2 mg/kg dozundan itibaren yanıt süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (9.3 ± 0.8 sn; $p < 0.001$). Bu doz, ağrı algısında azalma başladığını ve arı zehrinin analjezik etkisinin doza bağımlı olarak artış gösterdiğini ortaya koymaktadır. 0.5 mg/kg ve 1 mg/kg arı zehri uygulanan gruplarda ise sırasıyla 10.7 ± 0.8 sn ve 11.3 ± 1.2 sn'lik tepki süreleri elde edilmiştir. Bu süreler, düşük dozlara göre anlamlı düzeyde daha uzundur. Özellikle 1 mg/kg arı zehri dozu, testte en yüksek tepki süresiyle en güçlü analjezik etkiyi göstermiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan 300 mg/kg parasetamol uygulamasında ise ortalama tepki süresi 11.0 ± 2.2 sn olarak ölçülmüş ve bu

değer 1 mg/kg arı zehri grubuyla istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p<0.001$). Bu durum, yüksek doz arı zehrinin, termal uyaranlara karşı parasetamole benzer düzeyde analjezik etki oluşturduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, arı zehrinin termal ağrı modelinde doza bağımlı olarak anlamlı düzeyde analjezik etki gösterdiği ve 1 mg/kg dozunun, standart bir analjezik olan parasetamol ile benzer etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Lee ve arkadaşlarının (2001) çalışmasında ise 0.8 mg/kg dozundaki arı zehri termal ağrı eşiğini de anlamlı biçimde yükseltmiş, termal uyaran yanıt süresini %61 oranında uzatmıştır ($p<0.01$) [470].

Roh ve arkadaşları (2004) çalışmalarında, arı zehrinin 0.25 mg/kg dozunda subkutan olarak ST36 akupunktur noktasına enjeksiyonu yoluyla, nöropatik ağrı modeli oluşturulmuş sıçanlarda, kronik konstriktif hasardan sonra gelişen termal hiperaljeziyi anlamlı düzeyde azaltmıştır. Bu etkisinin, opioid sistemden bağımsız olarak, spinal düzeydeki $\alpha 2$ -adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu aracılığıyla gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu bağlamda, arı zehri uygulaması sonrası oluşan antinosiseptif etkinin idazoksan (40 μ g/200gr) ile tamamen bloke edilmesi, $\alpha 2$ -adrenerjik mekanizmanın temel rolünü desteklediğini göstermektedir [477].

Merlo ve arkadaşları (2011) sıcak plaka testinde arı zehrinin 4-6mg/kg dozlarında antinosiseptif etkisi olurken, melittin içermeyen arı zehri etkisiz bulunmuştur. Pençeye yapılan düşük doz enjeksiyonlarda ise (0.05–0.10 mg/kg; 0.05–0.1 mg arı zehri; 0.025–0.050 mg/kg melittin) ağrı uyarısı oluşmuştur. Ayrıca arı zehri 6 mg/kg dozda, formaldehit kaynaklı pençe ödemi önemli oranlarda azaltmıştır. Böylece arı zehri ve bazı bileşenleri hem ağrı uyaran hem de ağrı gideren etkiler gösterebilmektedir [481].

Nipate ve arkadaşları (2015) ise fare modeli üzerinde yaptıkları çalışmalarında, arı zehrinin 0.1 mg/20g dozda antinosiseptif aktivite göstermiştir. Çalışmada arı zehri enjeksiyonu Eddy'nin sıcak plaka modelinde 15. dakikadan 300. dakikaya kadar geri çekilme yanıtının süresini anlamlı şekilde artırmıştır ($p<0.01$). Arı zehrinin antinosiseptif etkisi, seçici olarak spinal alfa-2 adrenerjik ve serotonin reseptörlerinin aktivasyonu ile sağlanmaktadır [484].

Zagaja ve arkadaşları (2024), Orta Doğu'ya özgü *Apis mellifera syriaca* bal arısı zehrinin, farelerde formalinle oluşturulan hiperalezi modeli üzerindeki analjezik ve immünolojik etkilerini incelemiştir. Çalışmada, 1.5 mg/kg dozunda deri altı uygulanan arı zehrinin, erkek farelerde sıcak plaka testinde anlamlı bir ağrı kesici etki oluşturduğu; bu etkinin 90. dk. da başlayarak, 210. dk.'ya kadar sürdüğü ve 24–48 saat içinde kaybolduğu rapor edilmiştir. Dişi farelerde ise benzer bir analjezik etki gözlenmemiştir. Sitokin analizlerinde, zehir uygulamasıyla IL-4 ve IFN- γ düzeylerinde anlamlı azalma kaydedilirken, formalinle düşen IL-10 düzeyleri zehir uygulaması sonrası erkek farelerde yeniden yükselmiştir. Bu bulgular, *A. m. syriaca* zehrinin 1.5 mg/kg dozda ağrı eşiğini artırıcı ve bağışıklık yanıtını düzenleyici etkiler gösterdiğini ortaya koyarken, bu etkilerin cinsiyete bağlı farklılıklar sergilediğini de göstermektedir [485].

4.3.4.Farklı Hayvan Zehirlerinde Antinosiseptif Etki

Naja nubiae zehrinin analjezik etkisi farelerde yapılan asetikasit kıvrınma testinde doza bağlı olarak anlamlı şekilde (%60.60 ve %72.00) ağrı davranışını azalttığı belirlenmiştir. Aspirinle (100 mg/kg) karşılaştırıldığında, zehrin 0.042 mg/kg dozunda %60.60, 0.084 mg/kg dozunda ise %72.00 oranında inhibisyon sağladığı tespit edilmiştir. Sıçanlarda yapılan kuyruk daldırma testinde ise, zehrin 0.147 ve 0.294 mg/kg dozları, kontrol grubuna kıyasla kuyruk çekme süresini anlamlı şekilde artırarak analjezik etki göstermiştir. Maksimum etki, 0.294 mg/kg dozunda 1. saatte %149.50 oranında inhibisyon ile gerçekleşirken, 0.147 mg/kg dozunda bu oran %106.00 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, *Naja nubiae* zehrinin hem periferik hem de merkezi sinir sistemi kaynaklı ağrıyı etkili biçimde azalttığını göstermektedir [475].

Shwtar ve arkadaşları (2017) çalışmalarında, *C. vexillum* zehrinin her iki dozu (1/10 ve 1/5 LD₅₀) ile aspirin tedavisinin, asetik asit kontrol grubuna kıyasla karın kıvrınma davranışında anlamlı (%P<0.05) azalma sağladığını göstermiştir. Yapılan ağrı inhibisyon yüzdesi hesaplamaları ise 1/5 LD₅₀ dozunun diğer tedavilere göre daha etkili (%76.11) analjezik aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur [446].

Shoukry ve arkadaşları (2020), farelerde karın kıvrınma testinde, bir Mısır akrebi olan *Androctonus amoreuxi* zehrinin 0.11 mg/kg (1/10 LD₅₀) dozda %57.89, 0.22 mg/kg (1/5 LD₅₀) dozda %65.04 oranında ağrı davranışını azalttığını tespit etmiştir. Aspirin ise

(100 mg/kg) %55.26 inhibisyon göstermiştir. Merkezi analjezik etki ise sıçanlarda kuyruk çekme testinde gözlenmiş; hem 1/10 hem 1/5 LD₅₀ dozları kuyruk çekme süresini anlamlı şekilde artırmıştır. En yüksek etki, 1/5 LD₅₀ dozunda 2. ve 4. saatlerde görülmüş ve inhibisyon %147.06 oranına ulaşmıştır [476].

4.4.Arı Zehrinin Antipiretik Etkisinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, bira mayası ile oluşturulan hipertermi modeli kullanılarak, farklı dozlarda uygulanan arı zehrinin antipiretik etkisi değerlendirilmiştir. Maya ile oluşturulan hipertermi modelinde, arı zehrinin farklı dozlarının vücut sıcaklığı üzerinde anlamlı derecede düşürücü etkileri tespit edilmiştir ($p<0.001$). Özellikle 30. dakikadan itibaren, tüm arı zehri dozlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı sıcaklık düşüşü tespit edilmiştir. Bu etki, parasetamol grubuyla kıyaslandığında bazı dozlarda daha hızlı, bazı dozlarda ise daha uzun süreli olarak ortaya çıkmıştır. 0.05 mg/kg dozunda arı zehri uygulanan grupta, düşük doz olmasına rağmen 30. dakikadan itibaren belirgin bir sıcaklık düşüşü izlenmiştir. Bu düşüş kontrol ve parasetamol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak, bu dozun etkisi yüksek dozlara kıyasla daha kısa süreli olmuştur. 240. dakikada hala etkili olsa da, sıcaklık değerleri 1 mg/kg dozuna göre daha yüksektir. Bu nedenle, 0.05 mg/kg dozunun daha çok hafif-orta şiddetteki ateş durumlarında etkili olabileceği düşünülmektedir. 0.2 mg/kg arı zehri grubunda da 30. dakikada sıcaklık düşüşü gözlenmiş, 60. dakikada ise 36.56 °C ile tüm gruplar arasında en düşük sıcaklık değeri kaydedilmiştir. Bu değer, antipiretik etkinin güçlü bir şekilde başladığını ve bir süre sürdüğünü göstermektedir. 240. dakikada hala etkili olduğu, sıcaklık değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu izlenmiştir. Bu dozun hem başlangıçta etkili hem de birkaç saat boyunca devam eden bir antipiretik etki sağladığı görülmektedir. 0.5 mg/kg dozunda antipiretik etki erken başlamış ancak etki profili diğer dozlara göre daha dalgalı bir seyir göstermiştir. Özellikle 240. dakikada 36.95 °C ile belirgin bir sıcaklık düşüşü gözlenmiş olup, bu da geç başlayan ama daha uzun süren bir etkiyi düşündürmektedir. Bu grup parasetamolden daha etkili, 1 mg/kg dozuna ise yakın düzeyde antipiretik etki göstermiştir. 1 mg/kg doz arı zehri grubunda ise tüm zaman noktalarında en güçlü ve en uzun süreli antipiretik etki tespit edilmiştir. 30. dakikada başlayan sıcaklık düşüşü ilerleyen saatlerde de devam etmiş ve 120. dakikada 36.56 °C, 240. dakikada ise 36.70°C ile en düşük sıcaklık değerleri bu dozla elde edilmiştir. Bu grubun hem kontrol

hem de parasetamol grubundan istatistiksel olarak farklı ve daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, yüksek doz arı zehrinin şiddetli hipertermi durumlarında daha kalıcı ve güçlü bir antipiretik etki sağladığını ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, arı zehrinin tüm dozlarının anlamlı bir antipiretik etki oluşturduğu, ancak bu etkinin doz ve zamana bağlı olarak değişkenlik gösterdiği anlaşılmaktadır. Düşük dozlar hızlı fakat daha kısa süreli etki gösterirken, yüksek dozlar hem hızlı hem de daha kalıcı bir antipiretik etki sağlamaktadır. Özellikle 1 mg/kg doz, antipiretik etki açısından en güçlü ve uzun süreli sonuçları vermiştir. Parasetamol ile karşılaştırıldığında, arı zehri bazı dozlarda daha hızlı etki ederken bazı dozlarda daha uzun süreli etki göstermiştir. Bu durum, arı zehrinin dozuna bağlı olarak potansiyel bir antipiretik ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Arı zehrinin ateş düşürücü etkisine ilişkin doğrudan kanıtlar sınırlıdır ve bu çalışma öncü niteliğindedir. Ancak adolapin gibi bazı bileşenlerin bu etkiye sahip olabileceğini gösteren dolaylı veriler bildirilmiştir [15], [295], [298], [153]. Ateş, genellikle vücutta sitokinlerin (örneğin IL-1, IL-6, TNF- α) artışıyla birlikte prostaglandin E₂ (PGE₂) üretiminin artması sonucu ortaya çıkar. PGE₂, hipotalamusta termoregülasyon merkezini etkileyerek vücut sıcaklığını artırır [47], [486].

Arı zehrinin belirli dozlarda, proinflatuar sitokinlerin ve dolaylı olarak COX-2 ve PGE-₂'nin inhibisyonuna neden olduğu bilinmektedir [92].

4.4.1.Farklı Hayvan Zehirlerinde Antipiretik Etki

Altawil ve arkadaşları (2015) çalışmalarında, Mısır kabra yılanı *Naja nubiae* zehrinin antipiretik etkisini araştırmışlardır. Yılan zehri, maya enjeksiyonuyla indüklenen ateşi anlamlı şekilde düşürmüştür. Zehrin 0.147 ve 0.294 mg/kg dozları, sıçanlarda yükselen rektal sıcaklığı $P < 0.05$ düzeyinde azaltmış (38.60 ± 0.13 'dan 37.9 ± 0.15 'a) ve ateş düşürücü etki, uygulamadan sonraki ilk saatten başlayarak 5 saat boyunca devam etmiştir. Ayrıca, iki doz arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır, bu da zehrin her iki dozda da benzer antipiretik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır [475].

Shoukry ve arkadaşları (2020) çalışmalarında, bir Mısır akrebi olan *Androctonus amoreuxi* zehri ile 1/10 ve 1/5 LD₅₀ dozlarında yapılan tedavide, sıçanların rektal sıcaklıkları (38.09 ± 0.051 , 35.55 ± 0.159) anlamlı şekilde ($P < 0.05$) azaltmıştır. Zehrin ateş düşürücü etkisi enjeksiyondan sonraki birinci saatten başlayıp beşinci saate kadar

devam etmiş, 1/5 LD₅₀ dozu daha etkili bulunmasına rağmen iki doz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Ayrıca, *A. amoreuxi* zehri, sıç doz bağımsız olarak anlamlı bir ateş düşürücü etki göstermiştir [476].

Shwtar ve arkadaşları (2017) çalışmalarında, bir koni salyangozu olan *C. vexillum* zehrinin mayayla indüklenen ateşte anlamlı ($P<0.05$) bir ateş düşürücü etki (38.23 ± 0.076 'dan 37.89 ± 0.049 'a) gösterdiğini ortaya koymuştur [446].

5.Sonuç ve öneriler

Sonuç olarak bu çalışma kapsamında bal arısı (*Apis mellifera*) zehrinin HPLC yöntemi ile melittin, PLA₂ ve apamin içerikleri belirlenmiş, ratlarda oluşturulan modellerinde antiinflamatuvar, antinosiseptif ve antipiretik etkileri doza bağlı olarak değerlendirilmiştir. Arı zehrinin majör bileşenleri, literatürde verilen değerlere yakın bulunmuştur. Bulgular, arı zehrinin biyolojik etkilerinin, hem akut inflamasyon hem de merkezi ağrı ve ateş yanıtlarını baskılayacak düzeyde anlamlı sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur. Antiinflamatuvar etkinin değerlendirilmesinde kullanılan karagenan ile indüklenen pençe ödemi modelinde, arı zehri 0.5 mg/kg ve üzeri dozlarda %50'nin üzerinde inhibisyon sağlayarak, antiinflamatuvar bir ajan olan indometazine benzer düzeyde etki göstermiştir. Bu sonuç, zehrin inflamatuvar ödem oluşumunda etkili olan medyatörlerin (bradikinin, histamin, prostaglandinler) salımını baskılayabildiğini düşündürmektedir. CRP düzeylerinde gözlemlenen belirgin düşüşler de bu sonucu desteklemektedir. Sedimentasyon değerleri, gruplar arasında anlamlı fark göstermemiştir, bu durum akut inflamasyonun sistemik bir sürece dönüşmediğini düşündürmektedir. Antinosiseptif etkinin test edildiği sıcak plaka, kuyruk sıkıştırma ve formalin testlerinde, arı zehri özellikle 0.2 mg/kg ve üzeri dozlarda ağrı davranışlarını anlamlı düzeyde azaltmıştır. Formalin testinin her iki fazında da gözlenen etki, hem merkezi hem de periferik düzeyde bir analjezik mekanizmanın devreye girdiğini göstermektedir. Bu etkiler, melittin'in TRPV1 ve prostaglandin yollarını, apamin'in potasyum kanal regülasyonunu, PLA₂'nin ise araşidonik asit metabolizmasını hedef alabilme potansiyeli ile açıklanabilir. Antipiretik etkinin değerlendirildiği maya ile indüklenen hipertermi modelinde, arı zehri düşük dozlardan itibaren anlamlı ateş düşüşü sağlamış; en güçlü etki 1 mg/kg dozda gözlenmiştir. Bu etkinin, PGE₂ sentezini baskılayan veya hipotalamustaki sıcaklık regülasyon merkezine etki eden bir

mekanizmayla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bulgular, parasetamol ile benzer düzeyde antipiretik etkiyi doğrular niteliktedir. HPLC analizleri sonucunda zehrin ana bileşeni olan melittin'in %47.7, PLA₂'nin %15.33 ve apamin'in %1.90 oranlarında bulunduğu saptanmıştır. Bu içerik oranları, literatürde bildirilen değerlerle büyük oranda örtüşmekte olup, gözlenen biyolojik etkilerin bu üç ana bileşene bağlı olarak ortaya çıktığını göstermektedir. Bu bulgular doğrultusunda: Arı zehri, hem akut inflamatuvar süreçleri hem de merkezi ağrı ve ateş yanıtlarını baskılayabilen çok yönlü bir biyolojik ajandır. Etkinin, doza bağlı olduğu ve 0.5–1 mg/kg dozlarının terapötik etki için optimal aralıkta yer aldığı söylenebilir. HPLC ile belirlenen melittin ve PLA₂ oranları, bu bileşiklerin farmakolojik etkilerde temel rol oynadığını desteklemektedir.

Arı zehrinin, mevcut farmakolojik ajanlara alternatif olarak değerlendirilebilmesi için izolasyon, saflaştırma ve hedefe yönelik modifikasyon çalışmalarına ihtiyaç vardır. Toksisite, alerji ve sistemik yan etki değerlendirmeleri açısından ileri farmakolojik ve toksikolojik çalışmalar planlanmalıdır. Sonuç olarak, bal arısı zehri kontrollü dozlarda uygulandığında güçlü antiinflamatuvar, antinosiseptif ve antipiretik etkiler göstermektedir. Bu özellikleriyle farmasötik uygulamalarda doğal bir ajan olarak değerlendirilme potansiyeline sahiptir.

KAYNAKÇA

1. Kıskaç, N. E. Ş. E., Kıskaç, M., Zorlu, M., Karatoprak, C., & Çakırca, M. 2024. Bireylerin Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Kullanımının ve BilgiDüzeylerinin Değerlendirilmesi. **International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences**, 8(1): 12-19.
2. WHO., 2023. Traditional, complementary and integrative medicine. (Web sayfası: <https://www.who.int/healthtopics/traditional-complementary-and-integrative-medicine#tab=tab>), (Erişim tarihi: 12.02.2024)
3. Magdalena, L., Ilona, K., Julia, B., Agnieszka, K., Rafał, P. (2022). Opinions and Experiences of Physicians Regarding Complementary and Alternative Medicine (CAM). A research report from Poland. **Journal of Education, Health and Sport**, 12(8): 307–316.
4. Resmi Gazete, 2014. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamaları yönetmeliği 27 Ekim 2014. (Web sayfası: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2014/10/20141027>), (Erişim tarihi: 12.02.2024.)
5. Amer, M. A., El-Azizi, N. O., Nafea, E. A., Younis, M. S., & Abou Zeid, A. S. 2024. Impact of bee venom acupuncture on the blood cells and some biochemical parameters in systemic lupus erythematosus patients. **Egyptian Journal of Plant Protection Research Institute**, 7(2): 244-254.
6. Stevanović, J., Glavinić, U., Ristanić, M., Erjavec, V., Denk, B., Dolašević, S., & Stanimirović, Z. 2024. Bee-inspired healing: apitherapy in veterinary medicine for maintenance and improvement animal health and well-being. **Pharmaceuticals**, 17(8): 1050- 1067.
7. Apan, M. A., Zorba, M., & Kayaboynu, Ü., 2021. Bal arısı ve bal arısı ürünleri. **Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi**, 6(2): 202-223.
8. Mutlu, C., Erbaş, M., & Tontul, S. A., 2017. Bal ve diğer arı ürünlerinin bazı özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. **Akademik Gıda**, 15(1): 75-83.

9. Zhang, S., Liu, Y., Ye, Y., Wang, X. R., Lin, L. T., Xiao, L. Y.,... & Liu, C. Z., 2018. Bee venom therapy: Potential mechanisms and therapeutic applications. **Toxicon**, **148**(1), 64-73.
10. Libby, P., Smith, R., Rubin, E. J., Glassberg, M. K., Farkouh, M. E., & Rosenson, R. S. 2024. Inflammation unites diverse acute and chronic diseases. **European Journal of Clinical Investigation**, **54**(11): 14280-14292.
11. Bordon, K. D. C. F., Cologna, C. T., Fornari-Baldo, E. C., Pinheiro-Júnior, E. L., Cerni, F. A., Amorim, F. G.,... & Arantes, E. C., 2020. From animal poisons and venoms to medicines: achievements, challenges and perspectives in drug discovery. **Frontiers in pharmacology**, **11**(2), 1132-1159.
12. Kaymak, S., Vural N., Yüce, O., and Mollahaliloğlu, S., 2024. doğanın şifası: arı zehrinin sağlık üzerindeki etkileri ve uygulamaları, **Uludag Bee Journal** **24**(2): 386-402.
13. Li, K. C., & Chen, J., 2003. Differential roles of spinal protein kinases C and a in development of primary heat and mechanical hypersensitivity induced by subcutaneous bee venom chemical injury in the rat. **Neurosignals**, **12**(6): 292-301.
14. Tekeoğlu, İ., Akdoğan, M., & Çelik, İ. (2020). Investigation of anti-inflammatory effects of bee venom in experimentally induced adjuvant arthritis. **Reumatologia**, **58**(5): 265-271.
15. Koburova, K., 1984. Antipyretic effect of a polypeptide from bee venom-adolapin. **Eksperimentalna Meditsina I Morfologiya**, **23**(1), 143-148.
16. Khalil, A., Elesawy, B. H., Ali, T. M., & Ahmed, O. M., 2021. Bee venom: From venom to drug. **Molecules**, **26**(16): 4941-4958.
17. Medzhitov, R., 2021. The spectrum of inflammatory responses. **Science**, **374**(6571): 1070-1075.

18. Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J.,... & Zhao, L., 2017. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Oncotarget**, **9**(6): 7204-7219.
19. Majno, G., & Joris, I., 2004. Cells, tissues, and disease: principles of general pathology. Oxford University, Oxford University Press. 15-79.
20. Medzhitov, R., 2008. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, **454**(7203): 428-435.
21. Libby, P., 2007. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. **Nutrition Reviews**, **65**(3): 140-146.
22. Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C.,... & Slavich, G. M., 2019. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. **Nature Medicine**, **25**(12): 1822-1832.
23. Heneka, M. T., Kummer, M. P., & Latz, E., 2014. Innate immune activation in neurodegenerative disease. **Nature Reviews Immunology**, **14**(7): 463-477.
24. Glass, C. K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M. C., & Gage, F. H., 2010. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. **Cell**, **140**(6): 918-934.
25. Nathan, C., 2006. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. **Nature Reviews Immunology**, **6**(3): 173-182.
26. Tanrıverdi, A. K., 2016. Deneysel Rat Politravma Modelinde Intraperitoneal ve Intravenöz Mezenkimal Kök Hücrenin İnflamatuvar Yanıt ve Kemik, Karaciğerdeki Doku İyileşmesi Üzerine Etkileri, Ankara Üniversitesi, Tıpta uzmanlık, Ankara, 88s.
27. Ginhoux, F., & Jung, S., 2014. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. **Nature Reviews Immunology**, **14**(6): 392-404.

28. O'Leary, J. G., Goodarzi, M., Drayton, D. L., & von Andrian, U. H., 2006. T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. **Nature Immunology**, 7(5): 507-516.
29. Scollay, R., 1982. Thymus cell migration: cells migrating from thymus to peripheral lymphoid organs have a "mature" phenotype. **Journal of Immunology**, 128(4): 1566-1570.
30. Di Santo, J. P., & Vosshenrich, C. A., 2006. Bone marrow versus thymic pathways of natural killer cell development. **Immunological Reviews**, 214(1): 35-46.
31. Nathan, C., & Ding, A., 2010. SnapShot: reactive oxygen intermediates (ROI). **Cell**, 140(6): 951-951.
32. Hannoodde, S., & Nasuruddin, D. N. 2024. Acute inflammatory response. Stat Pearls Publishing, 5s.
33. Mak, K. M., Png, C. Y. M., & Lee, D. J., 2016. Type V collagen in health, disease, and fibrosis. **The Anatomical Record**, 299(5): 613-629.
34. Li, X., Hu, X., You, H., Zheng, K., Tang, R., & Kong, F. 2025. Regulation of pattern recognition receptor signaling by palmitoylation. **IScience**, 28(2):1-17
35. Zurier, R. B., 2014. Prostaglandins, leukotrienes, and related compounds. In Encyclopedia of Medical Immunology, Springer, Newyork, 201-212.
36. Tracey, MD, K. J., & Cerami, Ph. D, A., 1994. Tumor necrosis factor: A pleiotropic cytokine and therapuetic target. **Annual Review of Medicine**, 45(1): 491-503.
37. Bradley, J., 2008. TNF-mediated inflammatory disease. The Journal of Pathology. **A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, 214(2): 149-160.
38. Dinarello, C. A., 2011. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. Blood, **The Journal of the American Society of Hematology**, 117(14): 3720-3732.

39. Scheller, J., Chalaris, A., Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S., 2011. The pro-and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, **1813**(5): 878-888.
40. Moore, K. W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., & O'Garra, A., 2001. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual Review of Immunology*, **19**(1): 683-765.
41. Deshmane, S. L., Kremlev, S., Amini, S., & Sawaya, B. E., 2009. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, **29**(6): 313-326.
42. Baggiolini, M., 2004. Introduction to chemokines and chemokine antagonists. *Chemokine Roles in Immunoregulation and Disease*, **45**(3): 1-9.
43. Grayson, M. H., & Holtzman, M. J., 2006. Chemokine complexity: the case for CCL5. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **35**(2): 143-146.
44. Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A., 2011. Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **31**(5): 986-1000.
45. Stsiapanava, A., Samuelsson, B., & Haeggström, J. Z., 2017. Capturing LTA4 hydrolase in action: Insights to the chemistry and dynamics of chemotactic LTB4 synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **114**(36): 9689-9694.
46. Serhan, C. N., 2014. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*, **510**(7503): 92-101.
47. Dinarello, C. A., & Endres, S., 1989. Role for interleukin-1 in the pathogenesis of hypersensitivity diseases. *Journal of cellular biochemistry*, **39**(3): 229-238.
48. Beutler, B., & Cerami, A., 1989. The biology of cachectin/TNF- α primary mediator of the host response. *Annual Review of Immunology*, **7**(1): 625-655.

49. Kishimoto, T., 2005. Interleukin-6: from basic science to medicine 40 years in immunology. **Annual Review of Immunology**, **23**(1): 1-21.
50. Schroder, K., Sweet, M. J., & Hume, D. A., 2006. Signal integration between IFN γ and TLR signalling pathways in macrophages. **Immunobiology**, **211**(6-8): 511-524.
51. Baggiolini, M., & Clark-Lewis, I., 1992. Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. **Federation of European Biochemical Societies letters**, **307**(1): 97-101.
52. Vane, J. R., & Botting, R. M., 2003. The mechanism of action of aspirin. **Thrombosis research**, **110**(5): 255-258.
53. Peters-Golden, M., & Henderson Jr, W. R., 2007. Leukotrienes. **New England Journal of Medicine**, **357**(18): 1841-1854.
54. Thurmond, R. L., Gelfand, E. W., & Dunford, P. J., 2008. The role of histamine H1 and H4 receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines. **Nature Reviews Drug Discovery**, **7**(1): 41-53.
55. Marceau, F., & Regoli, D., 2004. Bradykinin receptor ligands: therapeutic perspectives. **Nature Reviews Drug Discovery**, **3**(10): 845-852.
56. Förstermann, U., & Sessa, W. C., 2012. Nitric oxide synthases: regulation and function. **European Heart Journal**, **33**(7): 829-837.
57. Paul, W. E., 1991. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. **Blood**, **77**(9): 1859-1870.
58. Wills-Karp, M., Luyimbazi, J., Xu, X., Schofield, B., Neben, T. Y., Karp, C. L., & Donaldson, D. D., 1998. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. **Science**, **282**(5397): 2258-2261.
59. Li, Y. J., Azuma, A., Usuki, J., Abe, S., Matsuda, K., Sunazuka, T.,... & Omura, S., 2006. EM703 improves bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by the

- inhibition of TGF- β signaling in lung fibroblasts. **Respiratory research**, **7**(1): 1-13.
60. Serhan, C. N., 2007. Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. **Annual Reviews. Immunology**, **25**(1): 101-137.
 61. Serhan, C. N., & Chiang, N., 2008. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. **British journal of pharmacology**, **153**(1): 200-215.
 62. Hong, S., Lu, Y., Yang, R., Gotlinger, K. H., Petasis, N. A., & Serhan, C. N., 2007. Resolvin D1, protectin D1, and related docosahexaenoic acid-derived products: analysis via electrospray/low energy tandem mass spectrometry based on spectra and fragmentation mechanisms. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, **18**(1), 128-144.
 63. Arend, W. P., 2002. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. **Cytokine & growth factor reviews**, **13**(4): 323-340.
 64. Van Zee, K. J., Kohno, T., Fischer, E., Rock, C. S., Moldawer, L. L., & Lowry, S. F., 1992. Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor alpha in vitro and in vivo. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **89**(11): 4845-4849.
 65. Rhen, T., & Cidlowski, J. A., 2005. Antiinflammatory action of glucocorticoids new mechanisms for old drugs. **New England Journal of Medicine**, **353**(16): 1711-1723.
 66. Forrester, S. J., Kikuchi, D. S., Hernandez, M. S., Xu, Q., & Griendling, K. K., 2018. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. **Circulation Research**, **122**(6): 877-902.

67. Pisoschi, A. M., & Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **97**(1), 55-74.
68. Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B., 2014. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. **Antioxidants & Redox Signaling**, **20**(7): 1126-1167.
69. Radi, R., 2013. Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. **Journal of Biological Chemistry**, **288**(37): 26464-26472.
70. Brigelius-Flohé, R., & Maiorino, M., 2013. Glutathione peroxidases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, **1830**(5): 3289-3303.
71. Hayden, M. S., & Ghosh, S., 2011. NF- κ B in immunobiology. **Cell Research**, **21**(2): 223-244.
72. Lawrence, T., 2009. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, **1**(6): 1651-1667.
73. Turner, N. A., Das, A., Warburton, P., O'Regan, D. J., Ball, S. G., & Porter, K. E., 2009. Interleukin-1 α stimulates proinflammatory cytokine expression in human cardiac myofibroblasts. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, **297**(3): 1117-1127.
74. Ding, T., Sun, J., & Zhang, P., 2007. Immune evaluation of biomaterials in TNF- α and IL-1 β at mRNA level. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, **18**(1): 2233-2236.
75. Pearson, G., Robinson, F., Beers Gibson, T., Xu, B. E., Karandikar, M., Berman, K., & Cobb, M. H., 2001. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. **Endocrine Reviews**, **22**(2): 153-183.
76. Kyriakis, J. M., & Avruch, J., 2012. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: a 10-year update. **Physiological Reviews**, **92**(2): 689-737.

77. Arthur, J. S. C., & Ley, S. C., 2013. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity. **Nature Reviews Immunology**, **13**(9): 679-692.
78. Ji, R. R., Samad, T. A., Jin, S. X., Schmoll, R., & Woolf, C. J., 2002. p38 MAPK activation by NGF in primary sensory neurons after inflammation increases TRPV1 levels and maintains heat hyperalgesia. **Neuron**, **36**(1): 57-68.
79. Jin-Song, Y., Zhao-Xia, W., Cheng-Yu, L., Xiao-Di, L., Ming, S., Yuan-Yuan, G., & Wei, D., 2011. Prognostic significance of Bcl-xL gene expression in human colorectal cancer. **Acta histochemica**, **113**(8): 810-814.
80. Yu, H., Pardoll, D., & Jove, R. (2009). STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. **Nature Reviews Cancer**, **9**(11): 798-809.
81. Niemand, C., Nimmesgern, A., Haan, S., Fischer, P., Schaper, F., Rossaint, R.,... & Muller-Newen, G., 2003. Activation of STAT3 by IL-6 and IL-10 in primary human macrophages is differentially modulated by suppressor of cytokine signaling. **The Journal of Immunology**, **170**(6): 3263-3272.
82. Rawlings, J. S., Rosler, K. M., & Harrison, D. A., 2004. The JAK/STAT signaling pathway. **Journal of Cell Science**, **117**(8): 1281-1283.
83. Rathinam, V. A., & Fitzgerald, K. A., 2016. Inflammasome complexes: emerging mechanisms and effector functions. **Cell**, **165**(4): 792-800.
84. Kawai, T., & Akira, S., 2010. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. **Nature Immunology**, **11**(5): 373-384.
85. Vara, J. Á. F., Casado, E., de Castro, J., Cejas, P., Belda-Iniesta, C., & González-Barón, M., 2004. PI3K/Akt signalling pathway and cancer. **Cancer Treatment Reviews**, **30**(2): 193-204.
86. Chen, Q., Sun, L., & Chen, Z. J., 2016. Regulation and function of the cGAS–STING pathway of cytosolic DNA sensing. **Nature Immunology**, **17**(10): 1142-1149.

87. Heinrich, P. C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H. M., Müller-Newen, G., & Schaper, F., 2003. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. **Biochemical Journal**, **374**(1): 1-20.
88. Park, J.H.; Lee, W.R.; Kim, H.S.; Han, S.M.; Chang, Y.C.; Park, K.K., 2014. Protective effects of melittin on tumor necrosis factor-alpha induced hepatic damage through suppression of apoptotic pathway and nuclear factor-kappa B activation. **Experimental Biology and Medicine**, **239**(3): 1705–1714.
89. Park, H. J., Lee, S. H., Son, D. J., Oh, K. W., Kim, K. H., Song, H. S.,... & Hong, J. T., 2004. Antiarthritic effect of bee venom: Inhibition of inflammation mediator generation by suppression of NF-κB through interaction with the p50 subunit. **Arthritis & Rheumatism**, **50**(11): 3504-3515.
90. Yang, C. S., Shin, D. M., Lee, H. M., Son, J. W., Lee, S. J., Akira, S.,... & Jo, E. K., 2008. ASK1-p38 MAPK-p47phox activation is essential for inflammatory responses during tuberculosis via TLR2-ROS signalling. **Cellular microbiology**, **10**(3): 741-754.
91. Lin, Q., Qin, X., Shi, M., Qin, Z., Meng, Y., Qin, Z., & Guo, S., 2017. Schisandrin B inhibits LPS-induced inflammatory response in human umbilical vein endothelial cells by activating Nrf2. **International Immunopharmacology**, **49**(1), 142-147.
92. Nam, K. W., Je, K. H., Lee, J. H., Han, H. J., Lee, H. J., Kang, S. K., & Mar, W., 2003. Inhibition of COX-2 activity and proinflammatory cytokines (TNF-alpha and IL-1βeta) production by water-soluble sub-fractionated parts from bee (*Apis mellifera*) venom. **Archives of Pharmacal Research**, **26**(5): 383–388.
93. Han, H., Liang, X., Ekberg, M., Kritikou, J. S., Brunnström, Å., Pelcman, B.,... & Claesson, H. E., 2017. Human 15-lipoxygenase-1 is a regulator of dendritic cell spreading and podosome formation. **The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal**, **31**(2): 491-504.

94. Lee, G., & Bae, H., 2016. Anti-inflammatory applications of melittin, a major component of bee venom: Detailed mechanism of action and adverse effects. **Molecules**, **21**(5): 616.
95. Moon, D. O., Park, S. Y., Lee, K. J., Heo, M. S., Kim, K. C., Kim, M. O.,... & Kim, G. Y., 2007. Bee venom and melittin reduce proinflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. **International Immunopharmacology**, **7**(8): 1092-1101.
96. Sun, H., Ding, J., Jiang, Y., Zhang, D., Yu, J., Sun, S.,... & Yu, C. 2025. Melittin Inhibits Ovarian Cancer Cell Growth by Downregulating MMP9 Expression via the JAK2-STAT3 Signaling Pathway. **Current Medicinal Chemistry**, **14**(2):5-19.
97. Singh, S., & Bhatt, L. K., 2023. Role of phospholipase A2 in cancer. In *Phospholipases in Physiology and Pathology*, **Academic Press**, **3**(1): 291-301
98. Nguyen, C. D., Yoo, J., Jeong, S. J., Ha, H. A., Yang, J. H., Lee, G., ... & Kim, J. H. (2024). Melittin-the main component of bee venom: a promising therapeutic agent for neuroprotection through keap1/Nrf2/HO-1 pathway activation. **Chinese Medicine**, **19**(1): 166-184.
99. Yoo, J., Nguyen, C. D., Ha, H. A., Jeong, S. J., Yang, J. H., Lee, G.,... & Kim, J. H. 2024. Melittin-A Main Component of Bee Venom: A Promising Therapeutic Agent for Neuroprotection through Nrf2/HO-1 Pathway Activation. **Chinese Medicine**, **19** (166): 5-26.
100. El Adham, E. K., Hassan, A. I., & A. Dawoud, M. M. (2022). Retracted Article: Evaluating the role of propolis and bee venom on the oxidative stress induced by gamma rays in rats. **Scientific Reports**, **12**(1): 2656.
101. Barnes, P. J., 2011. Pathophysiology of allergic inflammation. **Immunological Reviews**, **242**(1): 31-50.

- 102.Vane, J. R., & Botting, R. M., 1998. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. **Inflammation Research**, **47**(2): 78-87.
- 103.Varner, A. E., Busse, W. W., & Lemanske Jr, R. F., 1998. Hypothesis: decreased use of pediatric aspirin has contributed to the increasing prevalence of childhood asthma. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, **81**(4): 347-351.
- 104.Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S., 2023. Basic Immunology, Elsevier Health Sciences, 352pp.
- 105.Smolen, J. S., Landewé, R., Bijlsma, J., Burmester, G., Chatzidionysiou, K., Dougados, M.,... & Van Der Heijde, D., 2017. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. **Annals of the Rheumatic Diseases**, **76**(6): 960-977.
- 106.Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S.,... & Vader, K., 2020. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, **161**(9): 1976-1982.
- 107.Fink, W. A., 2005. The pathophysiology of acute pain. **Emergency Medicine Clinics**, **23**(2): 277-284.
- 108.McGivern, J. G., 2007. Ziconotide: a review of its pharmacology and use in the treatment of pain. **Neuropsychiatric disease and treatment**, **3**(1): 69-85.
- 109.Bennett, M. I., Kaasa, S., Barke, A., Korwisi, B., Rief, W., & Treede, R. D., 2019. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic cancer-related pain. **Pain**, **160**(1): 38-44.
- 110.Treede, R. D., 2018. The International Association for the Study of Pain definition of pain: as valid in 2018 as in 1979, but in need of regularly updated footnotes. **Pain reports**, **3**(2): 643.

- 111.Dilorenzo, A. N., & Schell, R. M., 2014. Morgan & Mikhail's clinical anesthesiology. **Anesthesia & Analgesia**, **119**(2): 495-496.
- 112.Merskey, H. E., 1986. Classification of chronic pain: Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. **Pain**,**10**(3): 226-241.
- 113.Öngel, K., 2017. Ağrı tanımı ve sınıflaması. **Klinik Tıp Aile Hekimliği**, **9**(1): 12-14.
- 114.Aydın, O. N., 2002. Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. **ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi**, **3**(2): 37-48.
- 115.Julius, D., & Basbaum, A. I., 2001. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, **413**(6852): 203-210.
- 116.Bielefeldt, K., Christianson, J. A., & Davis, B. M., 2005. Basic and clinical aspects of visceral sensation: transmission in the CNS. **Neurogastroenterology & Motility**, **17**(4): 488-499.
- 117.Ness, T. J., & Gebhart, G. F., 1990. Visceral pain: a review of experimental studies. **Pain**, **41**(2): 167-234.
- 118.Baron, R., 2000. Peripheral neuropathic pain: from mechanisms to symptoms. **The Clinical Journal of Pain**, **16**(2): 12-20.
- 119.Apkarian, A. V., Baliki, M. N., & Geha, P. Y., 2009. Towards a theory of chronic pain. **Progress in neurobiology**, **87**(2): 81-97.
- 120.Jungquist, C. R., Perlis, M. L., & Waghmarae, R., 2017. Using placebos as an opioid-sparing method of pain management. **Pain**, **158**(2): 361.
- 121.Carvalho, S. A., Gillanders, D., Palmeira, L., Pinto-Gouveia, J., & Castilho, P., 2018. Mindfulness, selfcompassion, and depressive symptoms in chronic pain: The role of pain acceptance. **Journal of Clinical Psychology**, **74**(12): 2094-2106.

122. Treede, R. D., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Bennett, M. I., Benoliel, R.,... & Wang, S. J., 2015. A classification of chronic pain for ICD-11. **Pain**, **156**(6): 1003-1007
123. Chen, R., Yin, C., Fang, J., & Liu, B., 2021. The NLRP3 inflammasome: an emerging therapeutic target for chronic pain. **Journal of Neuroinflammation**, **18**(1), 1-12.
124. Woolf, C. J., 2010. What is this thing called pain?. **The Journal of Clinical Investigation**, **120**(11): 3742-3744.
125. Treede, R. D., Jensen, T. S., Campbell, J. N., Cruccu, G., Dostrovsky, J. O., Griffin, J. W.,... & Serra, J., 2008. Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. **Neurology**, **70**(18): 1630-1635.
126. Baron, R., Binder, A., & Wasner, G., 2010. Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. **The Lancet Neurology**, **9**(8): 807-819.
127. Cohen, S. P., Caterina, M. J., Yang, S. Y., Socolovsky, M., & Sommer, C. 2024. Pain in the context of sensory deafferentation. **Anesthesiology**, **140**(4): 824-848.
128. Jensen, T. S., & Lenz, F. A., 1995. Central post-stroke pain: a challenge for the scientist and the clinician. **Pain**, **61**(2): 161-164.
129. Latremoliere, A., & Woolf, C. J., 2009. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. **The Journal of Pain**, **10**(9): 895-926.
130. Wiech, K., & Tracey, I., 2009. The influence of negative emotions on pain: behavioral effects and neural mechanisms. **Neuroimage**, **47**(3): 987-994.
131. Gatchel, R. J., Polatin, P. B., & Kinney, R. K., 1995. Predicting outcome of chronic back pain using clinical predictors of psychopathology: a prospective analysis. **Health Psychology**, **14**(5): 415

132. Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., & Julius, D., 2009. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, **139**(2): 267-284.
133. Dray, A., & Perkins, M., 1993. Bradykinin and inflammatory pain. **Trends in Neurosciences**, **16**(3): 99-104.
134. Vane, J. R., Bakhle, Y. S., & Botting, R. M., 1998. Cyclooxygenases 1 and 2. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, **38**(1): 97-120.
135. Burnstock, G., 2006. Purinergic P2 receptors as targets for novel analgesics. **Pharmacology & Therapeutics**, **110**(3): 433-454.
136. Deiteren, A., De Man, J. G., Ruysers, N. E., Moreels, T. G., Pelckmans, P. A., & De Winter, B. Y., 2014. Histamine H4 and H1 receptors contribute to postinflammatory visceral hypersensitivity. **Gut**, **63**(12): 1873-1882.
137. Sommer, C., 2004. Serotonin in pain and analgesia: actions in the periphery. **Molecular neurobiology**, **30**, 117-125.
138. Brain, S. D., 1997. Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. **Immunopharmacology**, **37**(2-3): 133-152.
139. Holzer, P., 2009. Acid-sensitive ion channels and receptors. **Sensory Nerves**, **194**(1): 283-332.
140. Julius, D., 2013. TRP channels and pain. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, **29**(1): 355-384.
141. Ji, R. R., & Strichartz, G., 2004. Cell signaling and the genesis of neuropathic pain. **Science's Signal Transduction Knowledge Environment**, **2004**(252): 14-24.
142. Tak, P. P., & Firestein, G. S., 2001. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. **The Journal of clinical investigation**, **107**(1): 7-11.
143. Montero, P., Milara, J., Roger, I., & Cortijo, J., 2021. Role of JAK/STAT in interstitial lung diseases; molecular and cellular mechanisms. **International journal of molecular sciences**, **22**(12): 6211.

144. Dubin, A. E., & Patapoutian, A., 2010. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. **The Journal of Clinical Investigation**, **120**(11): 3760-3772.
145. Treede, R. D., Kenshalo, D. R., Gracely, R. H., & Jones, A. K., 1999. The cortical representation of pain. **Pain**, **79**(2-3): 105-111.
146. Willis, W. D., & Westlund, K. N., 1997. Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. **Journal of Clinical Neurophysiology**, **14**(1): 2-31.
147. Heinricher, M. M., Tavares, I., Leith, J. L., & Lumb, B. M., 2009. Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity. **Brain Research Reviews**, **60**(1): 214-225.
148. Du, Y. R., Xiao, Y., Lu, Z. M., Ding, J., Xie, F., Fu, H.,... & Chen, J., 2011. Melittin activates TRPV1 receptors in primary nociceptive sensory neurons via the phospholipase A2 cascade pathways. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, **408**(1): 32-37.
149. Lee, J. D., Park, H. J., Chae, Y., & Lim, S., 2005. An overview of bee venom acupuncture in the treatment of arthritis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, **2**(1): 79-84.
150. Li, D., Chung, G., & Kim, S. K., 2020. The involvement of central noradrenergic pathway in the analgesic effect of bee venom acupuncture on vincristine-induced peripheral neuropathy in rats. **Toxins**, **12**(12): 775-791.
151. Sung, S. H., & Lee, G., 2021. Bee venom acupuncture effects on pain and its mechanisms: an updated review. **Toxins**, **13**(9): 608.
152. Park, H. S., Jung, H. Y., Park, E. Y., Kim, J., Lee, W. J., & Bae, Y. S., 2004. Cutting edge: direct interaction of TLR4 with NAD (P) H oxidase 4 isozyme is essential for lipopolysaccharide-induced production of reactive oxygen species and activation of NF- κ B. **The Journal of Immunology**, **173**(6): 3589-3593.
153. Son, D. J., Lee, J. W., Lee, Y. H., Song, H. S., Lee, C. K., & Hong, J. T., 2007. Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects

- of bee venom and its constituent compounds. **Pharmacology & Therapeutics**, **115**(2): 246-270.
- 154.Sun, S. C., 2017. The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, **17**(9): 545-558.
- 155.Marqueze, B., Seagar, M. J., & Couraud, F., 1989. Characterization of apamin-binding protein associated with a Ca²⁺-activated K⁺ channel. **Journal of Protein Chemistry**, **8**(3): 425-427.
- 156.Im, E. J., Kim, S. J., Hong, S. B., Park, J. K., & Rhee, M. H., 2016. Anti-Inflammatory Activity of Bee Venom in BV2 Microglial Cells: Mediation of MyD88-Dependent NF- κ B Signaling Pathway. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, **2016**(1): 3704764.
- 157.Shi, P., Xie, S., Yang, J., Zhang, Y., Han, S., Su, S., & Yao, H. (2022). Pharmacological effects and mechanisms of bee venom and its main components: Recent progress and perspective. **Frontiers in pharmacology**, **13**, 1001553-1001576.
- 158.Forman, J. P., Rimm, E. B., & Curhan, G. C., 2007. Frequency of analgesic use and risk of hypertension among men. **Archives of Internal Medicine**, **167**(4): 394-399.
- 159.Dedier, J., Stampfer, M. J., Hankinson, S. E., Willett, W. C., Speizer, F. E., & Curhan, G. C., 2002. Nonnarcotic analgesic use and the risk of hypertension in US women. **Hypertension**, **40**(5): 604-608.
- 160.Fields, H. L., Heinricher, M. M., & Mason, P., 1991. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. **Annual Review of Neuroscience**, **14**(1): 219-245.
- 161.Cansız, D., Alturfan, E. E., & Alturfan, A., 2021. Endojen opioidlerin ağrı mekanizması üzerine etkileri. **Experimed**, **11**(1): 49-56.
- 162.Rose, M. A., & Kam, P. C. A., 2002. Gabapentin: pharmacology and its use in pain management. **Anaesthesia**, **57**(5): 451-462.

- 163.Fuchs, P. N., Lariviere, W. R., Balinsky, M., & Melzack, R., 1996. Acute amitriptyline treatment produces non-opioid-mediated analgesia in the formalin and bee venom tests. **Pathophysiology**, **3**(4): 227-231.
- 164.Sindrup, S. H., & Jensen, T. S., 1999. Efficacy of pharmacological treatments of neuropathic pain: an update and effect related to mechanism of drug action. **Pain**, **83**(3): 389-400.
- 165.Woolf, C. J., & Thompson, S. W., 1991. The induction and maintenance of central sensitization is dependent onN-methyl-d-aspartic acid receptor activation; implications for the treatment of post-injury pain hypersensitivity states. **Pain**, **44**(3): 293-299.
- 166.Amir, R., Argoff, C. E., Bennett, G. J., Cummins, T. R., Durieux, M. E., Gerner, P. & Strichartz, G. R., 2006. The role of sodium channels in chronic inflammatory and neuropathic pain. **The Journal of Pain**, **7**(5): 1-29.
- 167.Fine, P. G., & Rosenfeld, M. J., 2013. The endocannabinoid system, cannabinoids, and pain. **Rambam Maimonides Medical Journal**, **4**(4): e0022- e0037.
- 168.Walter, E. J., Hanna-Jumma, S., Carraretto, M., & Forni, L., 2016. The pathophysiological basis and consequences of fever. **Critical Care**, **20**(1): 1-10.
- 169.Niven, D. J., & Laupland, K. B., 2016. Pyrexia: aetiology in the ICU. **Critical Care**, **20**(1): 1-9.
- 170.Stocchetti, N., Rossi, S., Zanier, E., Colombo, A., Beretta, L., & Citerio, G., 2002. Yoğun bakıma kabul edilen kafa travmalı hastalarda ateş. **Yoğun Bakım Tıbbi**, **28**(2): 1555-1562.
- 171.Ganu, S. 2024. Hyperpyrexia, Heat. EduGorilla Publication, 906pp.
- 172.Barichello, T., Generoso, J. S., Singer, M., & Dal-Pizzol, F. (2022). Biomarkers for sepsis: more than just fever and leukocytosis—a narrative review. **Critical Care**, **26**(1): 14-32.

- 173.Dinareello, C. A., 2018. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. **Immunological Reviews**, **281**(1): 8-27.
- 174.Opal, S. M., & Van Der Poll, T., 2015. Endothelial barrier dysfunction in septic shock. **Journal of Internal Medicine**, **277**(3): 277-293.
- 175.Yamagata, K., Matsumura, K., Inoue, W., Shiraki, T., Suzuki, K., Yasuda, S.,... & Kobayashi, S., 2001. Endotoksin kaynaklı ateş sırasında sıçanların beyin endotel hücrelerinde mikrozomal tip prostaglandin E sentazının siklooksijenaz-2 ile birlikte ekspresyonu. **Sinirbilim Dergisi** , **21**(8): 2669-2677.
- 176.Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2014, June). Regulation of NF- κ B by TNF family cytokines. **In Seminars in Immunology** **26**(3): 253-266
- 177.Kaminska, B., Mota, M., & Pizzi, M., 2016. Signal transduction and epigenetic mechanisms in the control of microglia activation during neuroinflammation. **Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, **1862**(3): 339-351.
- 178.Harre, E. M., Roth, J., Pehl, U., Kueth, M., Gerstberger, R., & Hübschle, T., 2002. Role of IL-6 in LPS-induced nuclear STAT3 translocation in sensory circumventricular organs during fever in rats. Commentary: Molecular biology of thermoregulation. **Journal of Applied Physiology**, **92**(6): 2656-2666.
- 179.Oakley, R. H., & Cidlowski, J. A., 2013. The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease. **Journal of allergy and clinical immunology**, **132**(5): 1033-1044.
- 180.Evans, S. S., Repasky, E. A., & Fisher, D. T., 2015. Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. **Nature Reviews Immunology**, **15**(6): 335-349.
- 181.Roth, J., & Blatteis, C. M., 2014. Mechanisms of fever production and lysis: lessons from experimental LPS fever. **Comprehensive Physiology**, **4**(4): 1563-1604.
- 182.El-Radhi, A. S., 2019. Pathogenesis of fever. In Clinical manual of fever in children, **Springer International Publishing**, **2018**(1): 53-68.

- 183.Kluger, M. J., 1991. Fever: role of pyrogens and cryogens. **Physiological Reviews**, **71**(1): 93-127.
- 184.Kluger, M. J., 2015. Fever: its biology, evolution, and function. Princeton University Press., 30s.
- 185.Kim, W. H., An, H. J., Kim, J. Y., Gwon, M. G., Gu, H., Park, J. B.,... & Park, K. K., 2016. Bee venom inhibits *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharides-induced pro-inflammatory cytokines through suppression of NF- κ B and AP-1 signaling pathways. **Molecules**, **21**(11): 1508.
- 186.McCrae, J. C., Morrison, E. E., MacIntyre, I. M., Dear, J. W., & Webb, D. J., 2018. Long-term adverse effects of paracetamol—a review. **British journal of clinical pharmacology**, **84**(10): 2218-2230.
- 187.Dawson, J., Fulton, R., McInnes, G. T., Morton, R., Morrison, D., Padmanabhan, S., & Walters, M. R., 2013. Acetaminophen use and change in blood pressure in a hypertensive population. **Journal of hypertension**, **31**(7): 1485-1490
- 188.Liew, Z., Ritz, B., Rebordosa, C., Lee, P. C., & Olsen, J., 2014. Acetaminophen use during pregnancy, behavioral problems, and hyperkinetic disorders. **Journal of the American Medical Association Pediatrics**, **168**(4): 313-320.
- 189.Prescott, L. F., 2000. Paracetamol, alcohol and the liver. **British Journal of Clinical Pharmacology**, **49**(4): 291-301
- 190.Rodríguez, L. A. G., & Hernández-Díaz, S., 2001. Relative risk of upper gastrointestinal complications among users of acetaminophen and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Epidemiology**, **12**(5): 570-576.
- 191.Tanaka, A., Araki, H., Hase, S., Komoike, Y., & Takeuchi, K., 2002. Sıçanlarda COX-1 inhibisyonu ile COX-2'nin yukarı regülasyonu: NSAID kaynaklı mide hasarının anahtarı. **Beslenme Farmakolojisi ve Tedavisi**, **16**(1): 90-101.
- 192.Cunningham, F. M., (2016). Lipid mediators.(Cunningham M.F.), Elsevier.

193. Riendeau, D., Charleson, S., Cromlish, W., Mancini, J. A., Wong, E., & Guay, J., 1997. Comparison of the cyclooxygenase-1 inhibitory properties of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and selective COX-2 inhibitors, using sensitive microsomal and platelet assays. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, **75**(9): 1088-1095.
194. Zayed, A., Salem, M. A., Negm, W. A., & Ezzat, S. M., 2023. Validation of anti-pyretic-derived natural products and their potentials for drug discovery. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, **33**(4): 696-712.
195. Heinrich, P. C., Castell, J. V., & Andus, T., 1990. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochemical journal**, **265**(3): 621.
196. Brigden, M. L., 1999. Clinical utility of the erythrocyte sedimentation rate. **American Family Physician**, **60**(5): 1443-1450.
197. Kishimoto, T., 2006. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. **Arthritis Research & Therapy**, **8**(1): 1-6.
198. Litao, M. K. S., & Kamat, D., 2014. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein: how best to use them in clinical practice. **Pediatric Annals**, **43**(10): 417-420.
199. Simeon, C. A., Beega, G. F., Abiola, S. A., Wofuru, C. D., & Eze, C. C. 2024. Significance of inflammatory biomarkers in clinical diagnostics: Erythrocyte sedimentation rate versus other inflammatory biomarkers, **International Journal of Science and Research Archive**, **12**(2): 1980-1995.
200. Obeagu, E. I., Muhimbura, E., Pahari, B., Nakyeyune, S., & Obeagu, G. U. (2022). An insight of interleukin-6 and fibrinogen: in regulating the immune system, **Journal of Biomedical Sciences**, **13**(2): 2-6.
201. Schuett, H., Luchtefeld, M., Grothusen, C., Grote, K., & Schieffer, B., 2009. How much is too much? Interleukin-6 and its signalling in atherosclerosis. **Thrombosis And Haemostasis**, **102**(08): 215-222.

202. Pepys, M. B., & Hirschfield, G. M., 2003. C-reactive protein: a critical update. **The Journal of Clinical Investigation**, **111**(12): 1805-1812.
203. Black, S., Kushner, I., & Samols, D., 2004. C-reactive protein. **Journal of Biological Chemistry**, **279**(47): 48487-48490
204. Gabay, C., & Kushner, I., 1999. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **New England Journal of Medicine**, **340**(6): 448-454.
205. Yücel, A. E., 2004. Clinical significance of C-reactive protein and other acute phase proteins. **İç Hastalıkları Dergisi**, **11**(1): 42-52.
206. Silici, S., 2005. Tozlaşmada polen ve nektar cezbediciliğinin önemi. **Alatarm**, **4**(2): 57-61.
207. Seeley, T. D., 2011. Honeybee democracy. Princeton University Press, 69s.
208. Kuropatnicki, A. K., Klósek, M., & Kucharzewski, M., 2018. Honey as medicine: historical perspectives. **Journal of Apicultural Research**, **57**(1): 113-118.
209. Otis, G. W. (1996). Distributions of recently recognized species of honey bees (Hymenoptera: Apidae; Apis) in Asia. **Journal of the Kansas Entomological Society**, **69**(4): 311-333.
210. Engel, M. S. (1999). The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; Apis). **Journal of Hymenoptera Research**, **8**(2): 165-196.
211. Crane, E. (2009). Apis species:(Honey bees). 31-32''. In Encyclopedia of insects. Academic Press.
212. Silici, S., 2020. Bilimsel gerçeklerle apiterapi. Akademisyen Kitabevi, 321-402.
213. Kunc, M., Dobeš, P., Hurychová, J., Vojtek, L., Poiani, S. B., Danihlík, J.,... & Hyršl, P., 2019. The year of the honey bee (*Apis mellifera* L.) with respect to its physiology and immunity: A search for biochemical markers of longevity. **Insects**, **10**(8): 244.

- 214.Yadav, S., Kumar, Y., & Jat, B. L., 2017. Honeybee: Diversity, castes and life cycle. **Industrial entomology**,2017(2): 5-34.
- 215.Faux, C. M., 2021. Honey bee anatomy. Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner, Jhon Wiley and Son. pp. 33-40
- 216.Halvacı, E., Kozak, T., Gül, M., Kars, H., & Şen, F., 2023. Bee anatomy: a comprehensive overview of bee morphology and physiology. **Journal of Scientific Reports-B, (008): 1-19.**
- 217.Korkmaz, A., 2013. Anlaşılabilir Arıcılık Kitabı. Samsun Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü Yayını, , 330s.
- 218.Brodschneider, R., & Crailsheim, K., 2010. Nutrition and health in honey bees. **Apidologie**, **41**(3): 278-294.
- 219.Kakhramanov, B., Isamukhamedov, S., Safarova, F., Donaev, K., & Mamadov, F., 2021. Morphological features of the Carniolan (*Apis mellifera carnica* Pollm) and Carpathian (*Apis mellifera carpatica*) breeds of honey bees. **Édition Diffusion Presse Sciences**, **284**(1): 03018-030125.
- 220.Winston, M. L., 1991. The biology of the honey bee. Harvard university press. pp.12-25.
- 221.Frisch, K. V., 1993. The dance language and orientation of bees. Harvard University Press. pp. 521-865.
- 222.Tian, L., & Hines, H. M., 2018. Morphological characterization and staging of bumble bee pupae. **Peer Journal**, **6**(3): 6089-6098.
- 223.Jensen, A. B., Palmer, K. A., Boomsma, J. J., & Pedersen, B. V., 2005. Varying degrees of *Apis mellifera* ligustica introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe. **Molecular Ecology**, **14**(1): 93-106.

- 224.Ament, S. A., Wang, Y., & Robinson, G. E., 2010. Nutritional regulation of division of labor in honey bees: toward a systems biology perspective. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine**, **2**(5): 566-576.
- 225.Hanan, B. B., 1955. Studies of the retrocerebral complex in the honey bee: Part I: Anatomy and histology. **Annals of the Entomological Society of America**, **48**(5): 315-320
- 226.Villar, G., Hefetz, A., & Grozinger, C. M., 2019. Evaluating the effect of honey bee (*Apis mellifera*) queen reproductive state on pheromone-mediated interactions with male drone bees. **Journal of Chemical Ecology**, **45**(2): 588-597.
- 227.Snodgrass, R. E. (1956). Anatomy of the honey bee. Cornell University Press, pp. 45-52.
- 228.Woyke, J., 2008. Why the eversion of the endophallus of honey bee drone stops at the partly everted stage and significance of this. **Apidologie**, **39**(6): 627-636.
- 229.Vidal-Naquet, N., 2015. Honeybee veterinary medicine. **Honey Bee Veterinary Medicine**, **2016**(2):265-288
- 230.Estoup, A., Solignac, M., & Cornuet, J. M., 1994. Precise assessment of the number of patrines and of genetic relatedness in honeybee colonies. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, **258**(1351): 1-7.
- 231.Akyol, E., 2007. Bal arılarında yumurtanın yapısı ve embriyo gelişimi. **Uludağ Arıcılık Dergisi**, **7**(4): 135-144.
- 232.Li, C., 2021. Understanding, Conservation, and Protection of Precious Natural Resources: Bees. **In Environmental and Natural Resources Engineering**, **12**(4) 1-51.
- 233.Remolina, S. C., Hafez, D. M., Robinson, G. E., & Hughes, K. A., 2007. Senescence in the worker honey bee *Apis mellifera*. **Journal of Insect Physiology**, **53**(10): 1027-1033.

- 234.Fünfhaus, A., Ebeling, J., & Genersch, E., 2018. Bacterial pathogens of bees. **Current Opinion in Insect Science**, **26**(1): 89-96.
- 235.Bridges, A. R., & Owen, M. D., 1984. The morphology of the honey bee (*Apis mellifera* L.) venom gland and reservoir. **Journal of Morphology**, **181**(1): 69-86.
- 236.Ramirez-Esquivel, F., & Ravi, S., 2023. Functional anatomy of the worker honeybee stinger (*Apis mellifera*). **Iscience**, **26**(7): 45-53.
- 237.Surendra, N. S., Jayaram, G. N., Reddy, M. R. S., & Ravikumar, H., 2013. Comparative morphometric studies of the sting apparatus of the worker bees of four different *Apis* species (*Apis dorsata*, *Apis mellifera*, *Apis cerana* and *Apis florea*). **Journal of Apicultural Research**, **52**(2): 74-80.
- 238.Devi, A., Sangeeta, N. R., & Kaur, J., 2016. Honey bee venom and its composition: focusing on different *apis* species—a review. **Journal of Basic and Applied Engineering Research**, **3**(1): 2350-2377.
- 239.Wehebe, R., Frangieh, J., Rima, M., El Obeid, D., Sabatier, J. M., & Fajloun, Z., 2019. Bee venom: Overview of main compounds and bioactivities for therapeutic interests. **Molecules**, **24**(16): 2997-3012.
- 240.Nguyen, H. V., Heger, Z., Kominkova, M., Michalek, P., Gumulec, J., Guran, R.,... & Kizek, R., 2015. The electrochemical and statistical evaluation of isolation of mellitin and apamin from honey bee (*Apis mellifera*) venom. **International Journal of Electrochemical Science**, **10**(2): 1249-1260.
- 241.Tusiimire, J., Wallace, J., Dufton, M., Parkinson, J., Clements, C. J., Young, L.,... & Watson, D. G., 2015. An LCMS method for the assay of melittin in cosmetic formulations containing bee venom. **Analytical and bioanalytical chemistry**, **407**(1): 3627-3635.
- 242.Rady, I., Siddiqui, I. A., Rady, M., & Mukhtar, H., 2017. Melittin, a major peptide component of bee venom, and its conjugates in cancer therapy. **Cancer Letters**, **402**(3), 16-31.

- 243.Moga, M. A., Dimienescu, O. G., Arvătescu, C. A., Ifteni, P., & Pleș, L., 2018. Anticancer activity of toxins from bee and snake venom—An overview on ovarian cancer. **Molecules**, **23**(3): 692-705.
- 244.Lee, Y., Kim, S. G., Kim, I. S., & Lee, H. D., 2018. Standardization of the manufacturing process of bee venom pharmacopuncture containing melittin as the active ingredient. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, **2018**(1). 23-56.
- 245.Sung, S. H., Lee, H. J., Han, J. E., Sung, A. D. M., Park, M., Shin, S.,... & Lee, G., 2023. Bee venom acupuncture for neck pain: a review of the Korean literature. **Toxins**, **15**(2): 129-136.
- 246.Wong, J. W., Courtney, A., O'Gorman, T., McKinnon, E., Noble, V., & Itotoh, B. 2025. Anaphylactic Reactions During Bee Venom Immunotherapy in the Paediatric Population. **Journal of Paediatrics and Child Health**, **61**(3): 404-410.
- 247.Luo, Y., Guan, M., & Yu, Y. 2025. Trends and hotspots on hymenoptera venom immunotherapy: a bibliometric and visualized analysis of research from 2014 to 2024. **Frontiers in Immunology**, **16**(1): 1546704-1546720.
- 248.Cokelez, S. O., Karadag, S. I. K., & Sancak, R. 2025. Venom Immunotherapy in Patients: Clinical Characteristics, Treatment Outcomes, and Real-Life Safety Data. **Medical Bulletin of Sisli Etfal Hospital**, **59**(1): 65-78.
- 249.Ozdemir, C., Kucuksezer, U. C., Akdis, M., & Akdis, C. A., 2011. Mechanisms of immunotherapy to wasp and bee venom. **Clinical & Experimental Allergy**, **41**(9): 1226-1234.
- 250.Goldberg, A., & Confino-Cohen, R., 2010. Bee venom immunotherapy—how early is it effective?. **Allergy**, **65**(3): 391-395.
- 251.Hwang, D. S., Kim, S. K., & Bae, H., 2015. Therapeutic effects of bee venom on immunological and neurological diseases. **Toxins**, **7**(7): 2413-2421.

252. Pak, S. C., Ooi, S. L., & Pak, B. S. 2025. Health Benefits and Uses of Bee Venom in Medicine. **In Bee Products—Chemical and Biological Properties, 2025(2): 523-562.**
253. Jeong, H., Kim, K. H., & Ko, S. G. 2025. Effectiveness of Bee Venom Injection for Parkinson's Disease: A Systematic Review. **Toxins, 17(4): 204.**
254. Park, M., & Shin, S. 2025. Bee venom acupuncture in traditional Korean medicine: A review of clinical practice guidelines. **Toxins, 17(4): 158.**
255. Widjanarko, N. D., Suryatenggara, F. G., Gelgel, P. C. S., Couteau, J. I., Firmansyah, N. S., Djaimi, L. F., & Ediwi, N. C. 2025. Beneficial Effect of Bee Venom Therapy as an Adjunctive Treatment of Parkinson's Disease; A Systematic Review & Meta-Analysis. **Traditional and Integrative Medicine, 5(1): 3-5.**
256. El-Arabey, A. A., & Ghramh, H. A. 2025. Bee Venom: Yesterday's Enemy Becomes Modern Medicine for Skin Cancer. **Experimental Cell Research, 2025(2): 114435-114442.**
257. Nassar, M. I. (2022). Bee venom: Antitumor activity and its therapeutic applications. In *Bee Products and Their Applications in the Food and Pharmaceutical Industries*, Academic Press, 369-390.
258. Ye, X., Guan, S., Liu, J., CW Ng, C., HH Chan, G., CW Sze, S.,... & Bun Ng, T., 2016. Activities of venom proteins and peptides with possible therapeutic applications from bees and WASPS. **Protein and Peptide Letters, 23(8): 748-755.**
259. Duffy, C., 2020. Honeybee venom and melittin for the treatment of HER2-enriched and triple-negative breast cancer. The University of Western Australia, National Institutes of Health, Master, Crawley, 79.
260. Maitip, J., Mookhploy, W., Khorndork, S., & Chantawannakul, P., 2021. Comparative study of antimicrobial properties of bee venom extracts and melittins of honey bees. **Antibiotics, 10(12): 1503.**

261. Terwilliger, T. C., Weissman, L., & Eisenberg, D. (1982). The structure of melittin in the form I crystals and its implication for melittin's lytic and surface activities. **Biophysical journal**, **37**(1): 353-361.
262. Huang, S., Jianhua, W., Xiaozhong, W., & Chenghong, L. I., 2016. Melittin: A key composition of honey bee venom with diverse pharmaceutical function. *In International Conference on Biological Engineering and Pharmacy 2016 (BEP 2016)* Atlantis Press., pp. 193-197.
263. Pandidan, S., & Mechler, A., 2019. Nano-viscosimetry analysis of the membrane disrupting action of the bee venom peptide melittin. **Scientific Reports**, **9**(1): 10841.
264. Wiedman, G., Herman, K., Searson, P., Wimley, W. C., & Hristova, K., 2013. The electrical response of bilayers to the bee venom toxin melittin: evidence for transient bilayer permeabilization. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, **1828**(5): 1357-1364.
265. Liu, C. C., Hao, D. J., Zhang, Q., An, J., Zhao, J. J., Chen, B.,.... & Yang, H., 2016. Application of bee venom and its main constituent melittin for cancer treatment. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, **78**(1): 1113-1130.
266. Pandey, P., Khan, F., Khan, M. A., Kumar, R., & Upadhyay, T. K., 2023. An updated review summarizing the anticancer efficacy of melittin from bee venom in several models of human cancers. **Nutrients**, **15**(14): 3111.
267. Lee, G., & Bae, H., 2016. Bee venom phospholipase A2: Yesterday's enemy becomes today's friend. **Toxins**, **8**(2): 48.
268. Chen, J., Guan, S. M., Sun, W., & Fu, H., 2016. Melittin, the major pain-producing substance of bee venom. **Neuroscience Bulletin**, **32**(1): 265-272.
269. Mingarro, I., Pérez-Payá, E., Pinilla, C., Appel, J. R., Houghten, R. A., & Blondelle, S. E., 1995. Activation of bee venom phospholipase A2 through a peptide-enzyme complex. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, **372**(1): 131-134.

270. Vick, J. A., & Shipman, W. H., 1972. Effects of whole bee venom and its fractions (apamin and melittin) on plasma cortisol levels in the dog. **Toxicon**, **10**(4): 377-380.
271. Eze, O. B., Nwodo, O. F., & Ogugua, V. N., 2016. Therapeutic effect of honey bee venom. **Proteins (enzymes)**: **1**(2): 89-98.
272. Pereira, A. F. M., Sani, A. A., Zapata, T. B., Sousa, D. S. M. D., Rossini, B. C., Santos, L. D. D.,... & Fernandes Júnior, A., 2023. Synergistic antibacterial efficacy of melittin in combination with oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Microorganisms**, **11**(12): 2868.
273. Yaacoub, C., Wehbe, R., Roufayel, R., Fajloun, Z., & Coutard, B., 2023. Bee venom and its two main components—melittin and phospholipase A2—as promising antiviral drug candidates. **Pathogens**, **12**(11): 1354.
274. Moreno, M., & Giralt, E., 2015. Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: melittin, apamin and mastoparan. **Toxins**, **7**(4): 1126-1150.
275. Somwongin, S., Chantawannakul, P., & Chaiyana, W., 2018. Antioxidant activity and irritation property of venoms from *Apis* species. **Toxicon**, **145**(1), 32-39.
276. Gajski, G., Domijan, A. M., Žegura, B., Štern, A., Gerić, M., Jovanović, I. N.,... & Garaj-Vrhovac, V., 2016. Melittin induced cytogenetic damage, oxidative stress and changes in gene expression in human peripheral blood lymphocytes. **Toxicon**, **110**(2): 56-67
277. Pascoal, A., Estevinho, M. M., Choupina, A. B., Sousa-Pimenta, M., & Estevinho, L. M., 2019. An overview of the bioactive compounds, therapeutic properties and toxic effects of apitoxin. **Food and Chemical Toxicology**, **134**(4), 110864-110878.
278. Akbarzadeh-Khiavi, M., Torabi, M., Olfati, A. H., Rahbarnia, L., & Safary, A., 2022. Bio-nano scale modifications of melittin for improving therapeutic efficacy. **Expert Opinion on Biological Therapy**, **22**(7): 895-909.

- 279.Oller Salvia, B., 2015. From bee venom to blood-brain barrier shuttles. Development of minimized apamin derivatives for brain delivery of antibodies and other cargoes, PhD. Thesis, Universitat de Barcelona, 65-278 s.
- 280.Hider, R. C., & Ragnarsson, U., 1980. A proposal for the structure of apamin. **Federation of European Biochemical Societies letters**, **111**(1): 189-193.
- 281.Lamy, C., Goodchild, S. J., Weatherall, K. L., Jane, D. E., Liégeois, J. F., Seutin, V., & Marrion, N. V., 2010. Allosteric block of KCa₂ channels by apamin. **Journal of Biological Chemistry**, **285**(35): 27067-27077
- 282.Kim, S. J., Park, J. H., Kim, K. H., Lee, W. R., Pak, S. C., Han, S. M., & Park, K. K., 2012. The Protective Effect of Apamin on LPS/Fat-Induced Atherosclerotic Mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, **2012**(1): 305454.
- 283.Silva, E. G., Okuyama, P., & Paiva, T. B., 1996. Role of Ca²⁺-dependent K⁺ channels in the membrane potential and contractility of uterus from spontaneously hypertensive rats. **Pathophysiology**, **3**(4): 259-265.
- 284.Ziai, M. R., Russek, S., Wang, H. C., Beer, B., & Blume, A. J., 1990. Mast cell degranulating peptide: a multi-functional neurotoxin. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, **42**(7): 457-461.
- 285.Pak, S. C., 2017. Chemical composition of bee venom. In Bee Products-Chemical and Biological Properties, **Springer International Publishing**,**2017**(3): 279-285.
- 286.Muller, U., 2011. Hymenoptera venom proteins and peptides for diagnosis and treatment of venom allergic patients. **Inflammation & Allergy-Drug Targets**, **10**(5): 420-428.
- 287.Kumar, N. V., Wemmer, D. E., & Kallenbach, N. R., 1988. Structure of P401 (mast cell degranulating peptide) in solution. **Biophysical Chemistry**, **31**(1-2): 113-119.

- 288.Karalliedde, L., 1995. Animal toxins. **British Journal of Anaesthesia**, **74**(3): 319-327.
- 289.Burzyńska, M., & Piasecka-Kwiatkowska, D., 2021. A review of honeybee venom allergens and allergenicity. **International Journal of Molecular Sciences**, **22**(16): 8371.
- 290.Bindlish, A., & Sawal, A. 2024. Bee sting venom as a viable therapy for breast cancer: a review article. **Cureus**, **16**(2):39-47.
- 291.Hanson, J. M., Morley, J., & Soria-Herrera, C. (1974). Anti-inflammatory property of 401 (MCD-peptide): a peptide from the venom of the bee *Apis mellifera* (L.). **British Journal of Pharmacology**, **50**(3): 383.
- 292.Ye, X., Liu, X., Luo, X., Sun, F., Qin, C., Ding, L., & Chen, Z., 2023. Characterization of the molecular diversity and degranulation activity of mastoparan family peptides from wasp venoms. **Toxins**, **15**(5): 331.
- 293.Santos, A. T. D., Cruz, G. S., & Baptista, G. R., 2021. Anti-inflammatory activities of arthropod peptides: a systematic review. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, **27**(2): 2020015-2020032.
- 294.Shkenderov, S., & Koburova, K., 1982. Adolapin-a newly isolated analgetic and anti-inflammatory polypeptide from bee venom. **Toxicon**, **20**(1): 317-321.
- 295.Kurek-Górecka, A., Komosinska-Vassev, K., Rzepecka-Stojko, A., & Olczyk, P., 2020. Bee venom in wound healing. **Molecules**, **26**(1): 148-156.
- 296.Jung, S. Y., Lee, K. W., Choi, S. M., & Yang, E. J., 2015. Bee venom protects against rotenone-induced cell death in NSC34 motor neuron cells. **Toxins**, **7**(9): 3715-3726.
- 297.Koburova, K. L., Michailova, S. G., & Shkenderov, S. V., 1985. Further investigation on the antiinflammatory properties of adolapin--bee venom polypeptide. *Acta physiologica et pharmacologica Bulgarica*, **11**(2): 50-55.

- 298.Chala, R., 2015. De novo sequencing of disulphide rich peptides using tandem mass spectrometry, Master's thesis, UiT Norges arktiske universitet. 71 s.
- 299.Xu, X., & Nelson, J. W., 1993. Solution structure of tertiapin determined using nuclear magnetic resonance and distance geometry. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, **17**(2): 124-137.
- 300.Jin, W., & Lu, Z., 1999. Synthesis of a stable form of tertiapin: a high-affinity inhibitor for inward-rectifier K⁺ channels. **Biochemistry**, **38**(43): 14286-14293
- 301.Busserolles, J., & Gasull, X., 2020. Potassium channels. **The Oxford Handbook of the Neurobiology of Pain**, 112-263.
- 302.Kanjhan, R., Coulson, E. J., Adams, D. J., & Bellingham, M. C., 2005. Tertiapin-Q blocks recombinant and native large conductance K⁺ channels in a use-dependent manner. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **314**(3): 1353-1361.
- 303.Gauldie, J., Hanson, J. M., Rumjanek, F. D., Shipolini, R. A., & Vernon, C. A., 1976. The peptide components of bee venom. **European Journal of Biochemistry**, **61**(2): 369-376.
- 304.Shipman, W. H., & Cole, L. J., 1969. A surfactant bee venom fraction: separation on a newly devised constant flow rate chromatographic column and detection by changes in effluent drop volume. **Analytical Biochemistry**, **29**(3): 490-497.
- 305.Vick, J. A., Shipman, W. H., & Brooks Jr, R., 1974. Beta adrenergic and anti-arrhythmic effects of cardiopep, a newly isolated substance from whole bee venom. **Toxicon**, **12**(2): 139-142.
- 306.Denk, B., & fatih Fidan, A., 2015. The Effects of Honey Bee Venom on Diabetes Mellitus and Pancreas. **Kocatepe Veterinary Journal**, **8**(2): 51-63.
- 307.Lowy, P. H., Sarmiento, L., & Mitchell, H. K., 1971. Polypeptides minimine and melittin from bee venom: effects on Drosophila. **Archives of biochemistry and biophysics**, **145**(1): 338-343.

308. Van Vaerenbergh, M., Cardoen, D., Formesyn, E. M., Brunain, M., Van Driessche, G., Blank, S.,... & de Graaf, D. C., 2013. Extending the honey bee venom with the antimicrobial peptide apidaecin and a protein resembling wasp antigen 5. **Insect Molecular Biology**, **22**(2): 199-210.
309. Welker, S., Markert, Y., Köditz, J., Mansfeld, J., & Ulbrich-Hofmann, R., 2011. Disulfide bonds of phospholipase A2 from bee venom yield discrete contributions to its conformational stability. **Biochimie**, **93**(2): 195-201.
310. Carpena, M., Nuñez-Estevez, B., Soria-Lopez, A., & Simal-Gandara, J., 2020. Bee venom: an updating review of its bioactive molecules and its health applications. **Nutrients**, **12**(11): 3360.
311. Dennis, E. A., Cao, J., Hsu, Y. H., Magrioti, V., & Kokotos, G., 2011. Phospholipase A2 enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention. **Chemical reviews**, **111**(10): 6130-6185.
312. Putz, T., Ramoner, R., Gander, H., Rahm, A., Bartsch, G., Bernardo, K.,... & Thurnher, M., 2007. Bee venom secretory phospholipase A2 and phosphatidylinositol-homologues cooperatively disrupt membrane integrity, abrogate signal transduction and inhibit proliferation of renal cancer cells. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, **56**(5): 627-640.
313. Kudo, I., & Murakami, M., 2002. Phospholipase A2 enzymes. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, **68**(1): 3-58.
314. Samy, P.R., Gopalakrishnakone, P., Thwin, M. M., Chow, T. K. V., Bow, H., Yap, E. H., & Thong, T. W. J., 2007. Antibacterial activity of snake, scorpion and bee venoms: a comparison with purified venom phospholipase A2 enzymes. **Journal of Applied Microbiology**, **102**(3): 650-659.
315. Chen, M., Aoki-Utsubo, C., Kameoka, M., Deng, L., Terada, Y., Kamitani, W.,... & Hotta, H., 2017. Broad-spectrum antiviral agents: secreted phospholipase A2 targets viral envelope lipid bilayers derived from the endoplasmic reticulum membrane. **Scientific reports**, **7**(1): 15931.

- 316.Lambeau, G. A., Schmid-Alliana, A., Lazdunski, M., & Barhanin, J., 1990. Identification and purification of a very high affinity binding protein for toxic phospholipases A₂ in skeletal muscle. **Journal of Biological Chemistry**, **265**(16): 9526-9532.
- 317.Lambeau, G., Barhanin, J., Schweitz, H., Qar, J., & Lazdunski, M., 1989. Identification and properties of very high affinity brain membrane-binding sites for a neurotoxic phospholipase from the taipan venom. **Journal of Biological Chemistry**, **264**(19): 11503-11510.
- 318.Nicolas, J. P., Lin, Y., Lambeau, G., Ghomashchi, F., Lazdunski, M., & Gelb, M. H., 1997. Localization of structural elements of bee venom phospholipase A₂ involved in N-type receptor binding and neurotoxicity. **Journal of Biological Chemistry**, **272**(11): 7173-7181.
- 319.Chung, E. S., Lee, G., Lee, C., Ye, M., Chung, H. S., Kim, H.,... & Bae, H., 2015. Bee venom phospholipase A₂, a novel Foxp3⁺ regulatory T cell inducer, protects dopaminergic neurons by modulating neuroinflammatory responses in a mouse model of Parkinson's disease. **The Journal of Immunology**, **195**(10): 4853-4860.
- 320.Baek, H., Park, S. Y., Ku, S. J., Ryu, K., Kim, Y., Bae, H., & Lee, Y. S., 2020. Bee venom phospholipase A₂ induces regulatory T cell populations by suppressing apoptotic signaling pathway. **Toxins**, **12**(3): 198.
- 321.Palm, N. W., Rosenstein, R. K., Yu, S., Schenten, D. D., Florsheim, E., & Medzhitov, R., 2013. Bee venom phospholipase A₂ induces a primary type 2 response that is dependent on the receptor ST2 and confers protective immunity. **Immunity**, **39**(5): 976-985.
- 322.Taketomi, Y., Ueno, N., Kojima, T., Sato, H., Murase, R., Yamamoto, K.,... & Murakami, M., 2013. Mast cell maturation is driven via a group III phospholipase A₂-prostaglandin D₂-DP1 receptor paracrine axis. **Nature Immunology**, **14**(6): 554-563.

- 323.Doery, H. M., & Pearson, J. E. (1964). Phospholipase B in snake venoms and bee venom. **Biochemical Journal**, **92**(3): 599
- 324.Marković-Housley, Z., Miglierini, G., Soldatova, L., Rizkallah, P. J., Müller, U., & Schirmer, T., 2000. Crystal structure of hyaluronidase, a major allergen of bee venom. **Structure**, **8**(10): 1025-1035.
- 325.Dos Santos-Pinto, J. R. A., Perez-Riverol, A., Lasa, A. M., & Palma, M. S., 2018. Diversity of peptidic and proteinaceous toxins from social Hymenoptera venoms. **Toxicon**, **148**(1): 172-196.
- 326.Wiezel, G. A., dos Santos, P. K., Cordeiro, F. A., Bordon, K. C., Selistre-de-Araújo, H. S., Ueberheide, B., & Arantes, E. C., 2015. Identification of hyaluronidase and phospholipase B in *Lachesis muta rhombeata* venom. **Toxicon**, **107**(2): 359-368.
- 327.Hossen, M. S., Shapla, U. M., Gan, S. H., & Khalil, M. I., 2016. Impact of bee venom enzymes on diseases and immune responses. **Molecules**, **22**(1): 25.
- 328.Grunwald, T., Bockisch, B., Spillner, E., Ring, J., Bredehorst, R., & Ollert, M. W., 2006. Molecular cloning and expression in insect cells of honeybee venom allergen acid phosphatase (Api m 3). **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, **117**(4): 848-854.
- 329.Blank, S., Seismann, H., Bockisch, B., Braren, I., Cifuentes, L., McIntyre, M.,... & Spillner, E., 2010. Identification, recombinant expression, and characterization of the 100 kDa high molecular weight Hymenoptera venom allergens Api m 5 and Ves v 3. **The Journal of Immunology**, **184**(9): 5403-5413.
- 330.Park, H. G., Lee, K. S., Kim, B. Y., Yoon, H. J., Choi, Y. S., Lee, K. Y.,... & Jin, B. R., 2018. Honeybee (*Apis cerana*) vitellogenin acts as an antimicrobial and antioxidant agent in the body and venom. **Developmental & Comparative Immunology**, **85**(1): 51-60.

- 331.Chiba, S., 1997. Molecular mechanism in α -glucosidase and glucoamylase. **Bioscience, Biotechnology, And Biochemistry**, **61**(8): 1233-1239.
- 332.Nitecka-Buchta, A., Buchta, P., Tabeńska-Bosakowska, E., Walczyńska-Dragoń, K., & Baron, S., 2014. Myorelaxant effect of bee venom topical skin application in patients with RDC/TMD Ia and RDC/TMD Ib: a randomized, double blinded study. **Biological Medicine Research International**, **2014**(1): 296053-62.
- 333.Ostrovsky, D. A., & Ehrlich, A., 2019. Bee venom acupuncture in addition to anti-Parkinsonian medications may improve activities of daily living and motor symptoms more than medication alone in idiopathic Parkinson's disease. Explore: **The Journal of Science and Healing**, **15**(1): 71-73.
- 334.Silva, J., Monge-Fuentes, V., Gomes, F., Lopes, K., dos Anjos, L., Campos, & Mortari, M., 2015. Pharmacological alternatives for the treatment of neurodegenerative disorders: Wasp and bee venoms and their components as new neuroactive tools. **Toxins**, **7**(8): 3179-3209.
- 335.Lee, S. H., Kwon, G. S., Kang, M. S., Yoon, H. M., & Kim, C. H., 2012. Comparative study on the effects of bee venom pharmacopuncture according to the treatment method for knee osteoarthritis. **Journal of pharmacopuncture**, **15**(4): 7-24.
- 336.Jallouk, A. P., Moley, K. H., Omurtag, K., Hu, G., Lanza, G. M., Wickline, S. A., & Hood, J. L., 2014. Nanoparticle incorporation of melittin reduces sperm and vaginal epithelium cytotoxicity. **Plos One**, **9**(4): 95411-23.
- 337.Gu, H., An, H. J., Kim, J. Y., Kim, W. H., Gwon, M. G., Kim, H. J.,... & Park, K. K., 2019. Bee venom attenuates Porphyromonas gingivalis and RANKL-induced bone resorption with osteoclastogenic differentiation. **Food and Chemical Toxicology**, **129**, 344-353.

- 338.Varol, A., Sezen, S., Evcimen, D., Zarepour, A., Ulus, G., Zarrabi, A,... & Varol, M. (2022). Cellular targets and molecular activity mechanisms of bee venom in cancer: recent trends and developments. **Toxin Reviews**, **41**(4): 1382-1395.
- 339.Seleem, A. A., 2016. The protective effect of bee venom against verapamil embryotoxicity during prenatal liver and kidney development of mice *Mus musculus*. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, **75**, 13-27.
- 340.Choi, J. S., Park, J. W., & Oh, M. S., 2006. The review on the study related to anti-inflammatory mechanism of bee venom therapy. **Journal of Haehwa Medicine**, **15**(1): 141-160.
- 341.Hunter, P., 2012. The inflammation theory of disease: The growing realization that chronic inflammation is crucial in many diseases opens new avenues for treatment. **European Molecular Biology Organization reports**, **13**(11): 968-970.
- 342.Chen, S. Y., Zhou, P., & Qin, Y., 2018. Treatment of rheumatoid arthritis by bee-venom acupuncture. *Zhen ci yan jiu*, **Acupuncture Research**, **43**(4): 251-254.
- 343.Kim, W. H., An, H. J., Kim, J. Y., Gwon, M. G., Gu, H., Jeon, M.,... & Park, K. K., 2018. Anti-inflammatory effect of melittin on *Porphyromonas gingivalis* LPS-stimulated human keratinocytes. **Molecules**, **23**(2): 332.
- 344.Lee, Y. J., Oh, M. J., Lee, D. H., Lee, Y. S., Lee, J., Kim, D. H.,... & Hong, J. T., 2020. Anti-inflammatory effect of bee venom in phthalic anhydride-induced atopic dermatitis animal model. **Inflammopharmacology**, **28**(1): 253-263.
- 345.Laurindo, L. F., Santos, A. R. D. O. D., Carvalho, A. C. A. D., Bechara, M. D., Guiguer, E. L., Goulart, R. D. A.,... & Barbalho, S. M.,2023. Phytochemicals and regulation of NF-kB in inflammatory bowel diseases: an overview of in vitro and in vivo effects. **Metabolites**, **13**(1): 96.
- 346.Gu, H., An, H. J., Gwon, M. G., Bae, S., Leem, J., Lee, S. J.,... & Park, K. K. (2022). Bee venom and its major component melittin attenuated *Cutibacterium acnes*-and IGF-1-induced acne vulgaris via inactivation of Akt/mTOR/SREBP

- signaling pathway. **International Journal of Molecular Sciences**, **23**(6): 3152.
- 347.Sun, Y., Liu, W. Z., Liu, T., Feng, X., Yang, N., & Zhou, H. F., 2015. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, **35**(6): 600-604.
- 348.Ha, S. J., & Song, H. S., 2006. The Inhibitory Effects of Bee Venom and Melittin on the Proliferation of Vascular Smooth Muscle Cells. **Journal of Acupuncture Research**, **23**(2): 139-157.
- 349.Sobral, F., Sampaio, A., Falcão, S., Queiroz, M. J. R., Calhelha, R. C., Vilas-Boas, M., & Ferreira, I. C., 2016. Chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties of bee venom collected in Northeast Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, **94**:172-177.
- 350.El-Hanoun, A., El-Komy, A., El-Sabrou, K., & Abdella, M., 2020. Effect of bee venom on reproductive performance and immune response of male rabbits. **Physiology & Behavior**, **223**: 112987.
- 351.Kocyigit, A., Guler, E. M., & Kaleli, S., 2019. Anti-inflammatory and antioxidative properties of honey bee venom on Freund's Complete Adjuvant-induced arthritis model in rats. **Toxicon**, **161**: 4-11.
- 352.Mohamed, W. A., Abd-Elhakim, Y. M., & Ismail, S. A., 2019. Involvement of the anti-inflammatory, anti-apoptotic, and anti-secretory activity of bee venom in its therapeutic effects on acetylsalicylic acid-induced gastric ulceration in rats. **Toxicology**, **419**: 11-23
- 353.Memariani, H., Memariani, M., Moravvej, H., & Shahidi-Dadras, M., 2020. Melittin: a venom-derived peptide with promising anti-viral properties. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, **39**(1): 5-17.

- 354.Issam, A. A., Zimmermann, S., Reichling, J., & Wink, M., 2015. Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens. **Phytomedicine**, **22**(2): 245-255.
- 355.Abd El-Wahed, A. A., Khalifa, S. A., Sheikh, B. Y., Farag, M. A., Saeed, A., Larik, F. A., & El-Seedi, H. R., 2019. Bee venom composition: From chemistry to biological activity. **Studies in natural products chemistry**, **60**: 459-48.
- 356.Lee, K. S., Kim, B. Y., Yoon, H. J., Choi, Y. S., & Jin, B. R., 2016. Secapin, a bee venom peptide, exhibits anti-fibrinolytic, anti-elastolytic, and anti-microbial activities. **Developmental & Comparative Immunology**, **63**: 27-35.
- 357.Marcos, J. F., Beachy, R. N., Houghten, R. A., Blondelle, S. E., & Pérez-Payá, E., 1995. Inhibition of a plant virus infection by analogs of melittin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **92**(26): 12466-12469.
- 358.Uddin, M. B., Lee, B. H., Nikapitiya, C., Kim, J. H., Kim, T. H., Lee, H. C.,... & Kim, C. J., 2016. Inhibitory effects of bee venom and its components against viruses in vitro and in vivo. **Journal of Microbiology**, **54**(12): 853-866.
- 359.Bachis, A., Cruz, M. I., & Mocchetti, I., 2010. M-tropic HIV envelope protein gp120 exhibits a different neuropathological profile than T-tropic gp120 in rat striatum. **European Journal of Neuroscience**, **32**(4): 570-578.
- 360.Praphawilai, P., Kaewkod, T., Suriyaprom, S., Panya, A., Disayathanoowat, T., & Tragoolpua, Y. 2024. Anti-herpes simplex virus and anti-inflammatory activities of the melittin peptides derived from *Apis mellifera* and *Apis florea* venom. **Insects**, **15**(2): 109-119.
- 361.Boutrín, M. C., Foster, H. A., & Pentreath, V. W., 2008. The effects of bee (*Apis mellifera*) venom phospholipase A2 on *Trypanosoma brucei brucei* and enterobacteria. **Experimental Parasitology**, **119**(2): 246-251.
- 362.Sadek, K. M., Shib, N. A., Taher, E. S., Rashed, F., Shukry, M., Atia, G. A.,... & Abdeen, A. 2024. Harnessing the power of bee venom for therapeutic and

- regenerative medical applications: an updated review. **Frontiers in Pharmacology**, **15**, 1412245-56.
363. Goldman, J. G., Williams-Gray, C., Barker, R. A., Duda, J. E., & Galvin, J. E., 2014. The spectrum of cognitive impairment in Lewy body diseases. **Movement Disorders**, **29**(5): 608-621.
364. Aarsland, D., Creese, B., Politis, M., Chaudhuri, K. R., Ffytche, D. H., Weintraub, D., & Ballard, C., 2017. Cognitive decline in Parkinson disease. **Nature Reviews Neurology**, **13**(4): 217-231.
365. Iakovakis, D., Hadjidimitriou, S., Charisis, V., Bostantzopoulou, S., Katsarou, Z., & Hadjileontiadis, L. J., 2018. Touchscreen typing-pattern analysis for detecting fine motor skills decline in early-stage Parkinson's disease. **Scientific reports**, **8**(1): 1-13.
366. Tanner, C. M., Kamel, F., Ross, G. W., Hoppin, J. A., Goldman, S. M., Korell, M.,... & Langston, J. W., 2011. Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease. **Environmental health perspectives**, **119**(6): 866-872.
367. Khalil, W. K., Assaf, N., ElShebiney, S. A., & Salem, N. A., 2015. Neuroprotective effects of bee venom acupuncture therapy against rotenone-induced oxidative stress and apoptosis. **Neurochemistry International**, **80**: 79-86.
368. Alvarez-Fischer, D., Noelker, C., Vulinović, F., Grünewald, A., Chevarin, C., Klein, C.,... & Hartmann, A., 2013. Bee venom and its component apamin as neuroprotective agents in a Parkinson disease mouse model. **Plos one**, **8**(4): e61700-23.
369. LaFerla, F. M., Green, K. N., & Oddo, S., 2007. Intracellular amyloid- β in Alzheimer's disease. **Nature Reviews Neuroscience**, **8**(7): 499-509
370. Romero-Curiel, A., López-Carpinteyro, D., Gamboa, C., De la Cruz, F., Zamudio, S., & Flores, G., 2011. Apamin induces plastic changes in hippocampal neurons in senile Sprague–Dawley rats. **Synapse**, **65**(10): 1062-1072.

371. Gu, S. M., Park, M. H., Hwang, C. J., Song, H. S., Lee, U. S., Han, S. B.,... & Hong, J. T., 2015. Bee venom ameliorates lipopolysaccharide-induced memory loss by preventing NF-kappaB pathway. **Journal of Neuroinflammation**, **12**(1): 124-138.
372. Ye, M., Chung, H. S., Lee, C., Yoon, M. S., Yu, A. R., Kim, J. S.,... & Bae, H., 2016. Neuroprotective effects of bee venom phospholipase A2 in the 3xTg AD mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of neuroinflammation**, **13**(1): 10-26.
373. Rajagopalan, V., & Pioro, E. P., 2019. Unbiased MRI analyses identify micropathologic differences between upper motor neuron-predominant ALS phenotypes. **Frontiers in Neuroscience**, **13**: 704.
374. Boillée, S., Yamanaka, K., Lobsiger, C. S., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Kassiotis, G.,... & Cleveland, D. W., 2006. Onset and progression in inherited ALS determined by motor neurons and microglia. **Science**, **312**(5778): 1389-1392.
375. Jaarsma, D., Haasdijk, E. D., Grashorn, J. A. C., Hawkins, R., van Duijn, W., Verspaget, H. W.,... & Holstege, J. C., 2000. Human Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) overexpression in mice causes mitochondrial vacuolization, axonal degeneration, and premature motoneuron death and accelerates motoneuron disease in mice expressing a familial amyotrophic lateral sclerosis mutant SOD1. **Neurobiology of Disease**, **7**(6): 623-643.
376. Yang, E. J., Jiang, J. H., Lee, S. M., Yang, S. C., Hwang, H. S., Lee, M. S., & Choi, S. M., 2010. Bee venom attenuates neuroinflammatory events and extends survival in amyotrophic lateral sclerosis models. **Journal of neuroinflammation**, **7**(1): 69.
377. Cai, M., Choi, S. M., & Yang, E. J., 2015. The effects of bee venom acupuncture on the central nervous system and muscle in an animal hSOD1G93A mutant. **Toxins**, **7**(3): 846-858.

378. Azam, M. N. K., Ahmed, M. N., Biswas, S., Ara, N., Rahman, M. M., Hirashima, A., & Hasan, M. N., 2018. A review on bioactivities of honey bee venom. **Annual Research & Review in Biology**, **30**: 1-13.
379. Castro, H. J., Mendez-Inocencio, J. I., Omidvar, B., Omidvar, J., Santilli, J., Nielsen Jr, H. S., & Bellanti, J. A., 2005. A phase I study of the safety of honeybee venom extract as a possible treatment for patients with progressive forms of multiple sclerosis. **In Allergy & Asthma Proceedings**, 6-26.
380. Wesselius, T., Heersema, D. J., Mostert, J. P., Heerings, M., Admiraal-Behloul, F., Talebian, A., & De Keyser, J., 2005. A randomized crossover study of bee sting therapy for multiple sclerosis. **Neurology**, **65**(11): 1764-1768.
381. Karimi, A., Ahmadi, F., Parivar, K., Nabiuni, M., Haghighi, S., Imani, S., & Afrouzi, H., 2012. Effect of honey bee venom on lewis rats with experimental allergic encephalomyelitis, a model for multiple sclerosis. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, **11**(2): 671.
382. Ho, J. N., Lee, S. B., Lee, S. S., Yoon, S. H., Kang, G. Y., Hwang, S. G., & Um, H. D., 2010. Phospholipase A2 activity of peroxiredoxin 6 promotes invasion and metastasis of lung cancer cells. **Molecular Cancer Therapeutics**, **9**(4): 825-832.
383. Park, M. H., Choi, M. S., Kwak, D. H., Oh, K. W., Yoon, D. Y., Han, S. B.,... & Hong, J. T., 2011. Anti-cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF- κ B. **The Prostate**, **71**(8): 801-812.
384. Qin, G., Chen, Y., Li, H., Xu, S., Li, Y., Sun, J.,... & Ye, Y., 2016. Melittin inhibits tumor angiogenesis modulated by endothelial progenitor cells associated with the SDF-1 α /CXCR4 signaling pathway in a UMR-106 osteosarcoma xenograft mouse model. **Molecular Medicine Reports**, **14**(1): 57-68.
385. Yang, X., Zhu, H., Ge, Y., Liu, J., Cai, J., Qin, Q., & Sun, X., 2014. Melittin enhances radiosensitivity of hypoxic head and neck squamous cell carcinoma by suppressing HIF-1 α . **Tumor Biology**, **35**(10): 10443-10448.

- 386.Hu, H., Chen, D., Li, Y., & Zhang, X., 2006. Effect of polypeptides in bee venom on growth inhibition and apoptosis induction of the human hepatoma cell line SMMC-7721 in-vitro and Balb/c nude mice in-vivo. **Journal of pharmacy and pharmacology**, **58**(1): 83-89.
- 387.Jang, M. H., Shin, M. C., Lim, S., Han, S. M., Park, H. J., Shin, I., & Kim, C. J., 2003. Bee venom induces apoptosis and inhibits expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human lung cancer cell line NCI-H1299. **Journal of Pharmacological Sciences**, **91**(2): 95-104.
- 388.Ağan, A. F., & Kekeçoğlu, M., 2020. Melittin ve kanser tedavisi: nanoteknolojik bakış açısı. **Uludağ Arıcılık Dergisi**, **20**(2): 221-231.
- 389.Oršolić, N., 2012. Bee venom in cancer therapy. **Cancer and Metastasis Reviews**, **31** (1): 173-194
- 390.Hait, W. N., Grais, L., Benz, C., & Cadman, E. C., 1985. Inhibition of growth of leukemic cells by inhibitors of calmodulin: phenothiazines and melittin. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, **14**(3): 202-205.
- 391.Pahl, H. L., 1999. Activators and target genes of Rel/NF-κB transcription factors. **Oncogene**, **18**(49): 6853-6866.
- 392.Jo, M., Park, M. H., Kollipara, P. S., An, B. J., Song, H. S., Han, S. B.,... & Hong, J. T., 2012. Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway. **Toxicology and Applied Pharmacology**, **258**(1): 72-81
- 393.Lee, C., Bae, S. J. S., Joo, H., & Bae, H., 2017. Melittin suppresses tumor progression by regulating tumor-associated macrophages in a Lewis lung carcinoma mouse model. **Oncotarget**, **8**(33): 54951.
- 394.Liu, J., Xiao, S., Li, J., Yuan, B., Yang, K., & Ma, Y., 2018. Molecular details on the intermediate states of melittin action on a cell membrane. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, **1860**(11): 2234-2241.

- 395.Gajski, G., & Garaj-Vrhovac, V., 2013. Melittin: a lytic peptide with anticancer properties. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, **36**(2): 697-705
- 396.Soliman, C., Eastwood, S., Truong, V. K., Ramsland, P. A., & Elbourne, A., 2019. The membrane effects of melittin on gastric and colorectal cancer. **PLoS One**, **14**(10): 0224028-56.
- 397.Daniluk, K., Kutwin, M., Grodzik, M., Wierzbicki, M., Strojny, B., Szczepaniak, J.,... & Jaworski, S., 2019. Use of selected carbon nanoparticles as melittin carriers for MCF-7 and MDA-MB-231 human breast cancer cells. **Materials**, **13**(1): 90-112.
- 398.Hassan, A. K., El-kotby, D. A., Tawfik, M. M., Badr, R. E., & Bahgat, I. M., 2019. Antidiabetic effect of the Egyptian honey bee (*Apis mellifera*) venom in alloxan-induced diabetic rats. **The Journal of Basic and Applied Zoology**, **80**(1): 58-72.
- 399.Janik, J. E., Wania-Galicia, L., & Kalauokalani, D., 2007. Bee stings—A remedy for postherpetic neuralgia? A case report. **Regional Anesthesia and Pain Medicine**, **32**(6): 533-535.
- 400.Kang, S. Y., Roh, D. H., Park, J. H., Lee, H. J., & Lee, J. H., 2012. Activation of Spinal α 2-Adrenoceptors Using Diluted Bee Venom Stimulation Reduces Cold Allodynia in Neuropathic Pain Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, **2012**(1): 784713-32.
- 401.Hood, J. L., Jallouk, A. P., Campbell, N., Ratner, L., & Wickline, S. A., 2013. Cytolytic nanoparticles attenuate HIV-1 infectivity. **Antiviral therapy**, **18**(1): 95-103.
- 402.Chang, Y. H., & Bliven, M. L., 1979. Anti-arthritis effect of bee venom. **Agents and Actions**, **9**(2): 205-211.
- 403.Altaf, S., & Iqbal, T., 2023. Bee Venom Used for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**, **53**(2): 44503-7

- 404.Kwon, Y. B., Lee, J. D., Lee, H. J., Han, H. J., Mar, W. C., Kang, S. K.,... & Lee, J. H. (2001). Bee venom injection into an acupuncture point reduces arthritis associated edema and nociceptive responses. **Pain**, **90**(3): 271-280.
- 405.Kwon, Y. B., Lee, H. J., Han, H. J., Mar, W. C., Kang, S. K., Yoon, O. B.,... & Lee, J. H., 2002. The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats. **Life Sciences**, **71**(2): 191-204.
- 406.Kwon, Y. B., Kim, J. H., Yoon, J. H., Lee, J. D., Han, H. J., Mar, W. C.,... & Lee, J. H. (2001b). The analgesic efficacy of bee venom acupuncture for knee osteoarthritis: a comparative study with needle acupuncture. **The American journal of Chinese medicine**, **29**(02): 187-199.
- 407.Nisbet, H. O., Ozak, A., Yardimci, C., Nisbet, C., Yarim, M., Bayrak, I. K., & Sirin, Y. S., 2012. Evaluation of bee venom and hyaluronic acid in the intra-articular treatment of osteoarthritis in an experimental rabbit model. **Research in Veterinary Science**, **93**(1): 488-493.
- 408.Sommer, O. J., Kladosek, A., Weiler, V., Czembirek, H., Boeck, M., & Stiskal, M., 2005. Rheumatoid arthritis: a practical guide to state-of-the-art imaging, image interpretation, and clinical implications. **Radiographics**, **25**(2): 381-398.
- 409.Visser, H., 2005. Early diagnosis of rheumatoid arthritis. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, **19**(1): 55-72.
- 410.Lee, J. A., Son, M. J., Choi, J., Jun, J. H., Kim, J. I., & Lee, M. S., 2014. Bee venom acupuncture for rheumatoid arthritis: a systematic review of randomised clinical trials. **British publisher of medical journals**, **4**(11): 006140.
- 411.Lee, S. H., Hong, S. J., Kim, S. Y., Yang, H. I., Lee, J. D., Choi, D. Y.,... & Lee, Y. H., 2003. Randomized controlled double blind study of bee venom therapy on rheumatoid arthritis. **Journal of Acupuncture Research**, **20**(6): 80-88.
- 412.Darwish, S. F., El-Bakly, W. M., Arafa, H. M., & El-Demerdash, E., 2013. Targeting TNF- α and NF- κ B activation by bee venom: role in suppressing

- adjuvant induced arthritis and methotrexate hepatotoxicity in rats. **Plos One**, **8**(11): e79284.
- 413.Lin, T. Y., & Hsieh, C. L., 2020. Clinical applications of bee venom acupoint injection. **Toxins**, **12**(10): 618.
- 414.Huh, J.-E.; Seo, B.-K.; Lee, J.-W.; Park, Y.-C.; Baek, Y.-H., 2018. Analgesic Effects of Diluted Bee Venom Acupuncture Mediated by δ -Opioid and α 2-Adrenergic Receptors in Osteoarthritic Rats. **Alternative Therapies In Health And Medicine**, **24**: 28–35
- 415.Suh, S. J., Kim, K. S., Kim, M. J., Chang, Y. C., Lee, S. D., Kim, M. S.,... & Kim, C. H., 2006. Effects of bee venom on protease activities and free radical damages in synovial fluid from type II collagen-induced rheumatoid arthritis rats. **Toxicology in vitro**, **20**(8): 1465-1471.
- 416.Kim, K. W., Shin, Y. S., Kim, K. S., Chang, Y. C., Park, K. K., Park, J. B.,... & Kim, C. H., 2008. Suppressive effects of bee venom on the immune responses in collagen-induced arthritis in rats. **Phytomedicine**, **15**(12): 1099-1107.
- 417.Park, J. H., Kum, Y. S., Lee, T. I., Kim, S. J., Lee, W. R., Kim, B. I.,... & Park, K. K. (2011a). Melittin attenuates liver injury in thioacetamide-treated mice through modulating inflammation and fibrogenesis. **Experimental Biology and Medicine**, **236**(11): 1306-1313.
- 418.Lee, W. R., Pak, S. C., & Park, K. K., 2015. The protective effect of bee venom on fibrosis causing inflammatory diseases. **Toxins**, **7**(11): 4758-4772.
- 419.Chen, M. H., Chen, J. C., Tsai, C. C., Wang, W. C., Chang, D. C., Tu, D. G., & Hsieh, H. Y., 2005. The role of TGF- β 1 and cytokines in the modulation of liver fibrosis by Sho-saiko-to in rat's bile duct ligated model. **Journal of Ethnopharmacology**, **97**(1): 7-13.
- 420.Kim, S. J., Park, J. H., Kim, K. H., Lee, W. R., Chang, Y. C., Park, K. K.,... & Pak, S. C., 2010. Bee venom inhibits hepatic fibrosis through suppression of pro-

- fibrogenic cytokine expression. **The American Journal of Chinese Medicine**, **38**(05): 921-935.
421. Kim, H., Keum, D. J., Kwak, J. W., Chung, H. S., & Bae, H., 2014. Bee venom phospholipase A2 protects against acetaminophen-induced acute liver injury by modulating regulatory T cells and IL-10 in mice. **Plos One**, **9**(12): e114726.
422. Park, J. H., Kim, K. H., Lee, W. R., Han, S. M., & Park, K. K., 2012. Protective effect of melittin on inflammation and apoptosis in acute liver failure. **Apoptosis**, **17**(1): 61-69.
423. Lee, W. R., Park, J. H., Kim, K. H., Park, Y. Y., Han, S. M., & Park, K. K., 2011. Protective effects of melittin on transforming growth factor- β 1 injury to hepatocytes via anti-apoptotic mechanism. **Toxicology and Applied Pharmacology**, **256**(2): 209-215.
424. Park, J. H., Kum, Y. S., Lee, T. I., Kim, S. J., Lee, W. R., Kim, B. I.,... & Park, K. K. (2011b). Melittin attenuates liver injury in thioacetamide-treated mice through modulating inflammation and fibrogenesis. **Experimental Biology and Medicine**, **236**(11): 1306-1313.
425. Moss, J. W., & Ramji, D. P., 2016. Nutraceutical therapies for atherosclerosis. **Nature Reviews Cardiology**, **13**(9): 513-532.
426. Rudijanto, A., 2007. The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis. **Acta Medicine Indonesia**, **39**(2): 86-93.
427. Kim, S. J., Park, J. H., Kim, K. H., Lee, W. R., Kim, K. S., & Park, K. K., 2011. Melittin inhibits atherosclerosis in LPS/high-fat treated mice through atheroprotective actions. **Journal of atherosclerosis and thrombosis**, **18**(12): 1117-1126.
428. Lee, W. R., Kim, S. J., Park, J. H., Kim, K. H., Chang, Y. C., Park, Y. Y.,... & Park, K. K., 2010. Bee venom reduces atherosclerotic lesion formation via anti-inflammatory mechanism. **The American Journal of Chinese Medicine**, **38**(06): 1077-1092.

429. Chung, K. S., An, H. J., Cheon, S. Y., Kwon, K. R., & Lee, K. H., 2015. Bee venom suppresses testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by regulating the inflammatory response and apoptosis. **Experimental Biology and Medicine**, **240**(12): 1656-1663.
430. Boyle, R. J., Elremeli, M., Hockenhull, J., Cherry, M. G., Bulsara, M. K., Daniels, M., & Oude Elberink, J. N. G., 2012. Venom immunotherapy for preventing allergic reactions to insect stings. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, **2012**(10): 45-52.
431. Bonifazi, F., Jutel, M., Biló, B. M., Birnbaum, J., Muller, U., & EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity., 2005. Prevention and treatment of hymenoptera venom allergy: guidelines for clinical practice. **Allergy**, **60**(12): 1459-1470.
432. Ali, M. A. A. S. M., 2012. Studies on bee venom and its medical uses. **International Journal of Advanced Research and Technology**, **1**(2): 69-83.
433. Bogdanov, S., 2015. Bee venom: composition, health, medicine: a review. **Peptides**, **1**, 1-20.
434. Benton, A. W., Morse, R. A., & Stewart, J. D. (1963). Venom collection from honey bees. **Science**, **142**(3589): 228-230.
435. Rybak-Chmielewska, H., & Szczêsna, T., 2004. HPLC study of chemical composition of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom. **Journal of Apicultural Science**, **48**(2): 103-109.
436. Nipate, S. S., & Bhandarkar, A. A., 2020. Anti-inflammatory, antinociceptive and antiarthritic potential of apis cerana indica bee venom by reducing pain and degeneration of articular cartilage in adjuvant and collagen induced rat models of arthritis. **Journal of Orthopedics and Muscular System**, **3**(1): 1009-21.

- 437.Lanhers, M. C., Fleurentin, J., Dorfman, P., Mortier, F., & Pelt, J. M., 1991. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties of *Euphorbia hirta*. **Planta Medica**, **57**(03): 225-231.
- 438.Kouadio, F., Kanko, C., Juge, M., Grimaud, N., Jean, A., N'guessan, Y. T., & Petit, J. Y., 2000. Analgesic and antiinflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the Ivory Coast. **International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, **14**(8): 635-637.
- 439.Wang, X. K., Gao, C., Zhong, H. Q., Kong, X. Y., Qiao, R., Zhang, H. C.,... & Li, B. (2022). TNAP—a potential cytokine in the cerebral inflammation in spastic cerebral palsy. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, **15**: 926791-98.
- 440.Çakır, M., Tekin, S., Okan, A., Çakan, P., & Doğanyigit, Z. (2020). The ameliorating effect of cannabinoid type 2 receptor activation on brain, lung, liver and heart damage in cecal ligation and puncture-induced sepsis model in rats. **International Immunopharmacology**, **78**: 105978-89.
- 441.Kayser, V., 2013. Randall-selitto paw pressure test. In Encyclopedia of pain. Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 3357-3360
- 442.Pini, L. A., Sandrini, M., & Vitale, G., 1996. The antinociceptive action of paracetamol is associated with changes in the serotonergic system in the rat brain. **European Journal of Pharmacology**, **308**(1): 31-40.
- 443.Dubuisson, D., & Dennis, S. G., 1977. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, **4**: 161-174.
- 444.Eddy, N.B. ve Leimbach, D. (1953). Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **107** (3): 385-393
- 445.Shwtar, N. S., Nabil, Z. I., Abdel-Daim, M. M., & El-Naggar, M. S. S., 2017. Analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Conus vexillum*

- venom. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. **Physiology and Molecular Biology**, **9**(1): 1-13.
- 446.Haghi, G., Hatami, A., & Mehran, M., 2013. Qualitative and quantitative evaluation of melittin in honeybee venom and drug products containing honeybee venom. **Journal of Apicultural Science**, **57**(2): 37.
- 447.Kokot, Z. J., & Matysiak, J., 2009. Simultaneous determination of major constituents of honeybee venom by LC-DAD. **Chromatographia**, **69**: 1401-1405.
- 448.Huang, S., Wang, J., Guo, Z., Wang, Y., & Liu, C., 2020. Quantitative measurement of melittin in Asian honeybee venom using a new method including UPLC-QqTOF-MS. **Toxins**, **12**(7): 437.
- 449.Hematyar, M., Es-Haghi, A., & Soleimani, M., 2019. Quantification of Melittin in Iranian Honey Bee (*Apis mellifera*) Venom by Liquid Chromatographyelectrospray Ionization-ion Trap Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI-IT-MS/MS). **Archives of Razi Institute**, **74**(4): 435-439.
- 450.Tanuğur-Samancı, A. E., & Kekeçoğlu, M., 2021. An evaluation of the chemical content and microbiological contamination of Anatolian bee venom. **PLoS One**, **16** (7): 0255161-89.
- 451.Alexis, P. R. H., Romel, P. R., Guarnizo, G., & Lafaurie, G., 2024. Short Communication: Proposal Standardize Method for Characterization and Quantification of Bee Venom in Honeybee *Apis mellifera* by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). **International Journal of Medical Science and Dental Research** (7)6, 44-48.
- 452.Scaccabarozi, D., Dods, K., Le, T. T., Gummer, J. P., Lussu, M., Milne, L.,... & Priddis, C., 2021. Factors driving the compositional diversity of *Apis mellifera* bee venom from a *Corymbia calophylla* (marri) ecosystem, Southwestern Australia. **Plos One**, **16**(6): 0253838-52.

453. Zhou, J., Zhao, J., Zhang, S., Shen, J., Qi, Y., Xue, X.,... & Chen, L., 2010. Quantification of melittin and apamin in bee venom lyophilized powder from *Apis mellifera* by liquid chromatography–diode array detector–tandem mass spectrometry. **Analytical Biochemistry**, **404**(2): 171-178.
454. Güven Gökmen, T., Yazgan, H., Sevin, S., Turut, N., Karahan, Ş., Eşki, F.,... & Erdem Ütük, A., 2023. The antibacterial effect of bee venom on subclinical mastitis agents: An alternative for local treatment. **Journal of Applied Animal Research**, **51**(1): 323-332.
455. Lee, J. D., Kim, S. Y., Kim, T. W., Lee, S. H., Yang, H. I., Lee, D. I., & Lee, Y. H., 2004. Anti-inflammatory effect of bee venom on type II collagen-induced arthritis. **The American journal of Chinese medicine**, **32**(03): 361-367
456. Hassan, S. A., Alazragi, R. S., & Salem, N. A., 2021. Potential therapeutic effect of bee venom on cisplatin-induced hepatotoxicity. **Journal of Pharmaceutical Research International**, **33**, 200-210.
457. Abass, S. F., Hussein, M. S., Hasan, A. F., Al-Dulimi, A. G., & El-Wahsh, H. M., 2025. Effect of bee venom (*Apis mellifera*) on liver damage in mice with Ehrlich ascites carcinoma. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, **16**(1): 25040-25040.
458. Kim, J. Y., Lee, S. J., Maeng, Y. I., Leem, J., & Park, K. K., 2020. Protective effects of bee venom against endotoxemia-related acute kidney injury in mice. **Biology**, **9**(7): 154-165.
459. Uthawarapong, P., Benbow, M. E., & Suwannapong, G., 2019. First study on the effect of Asiatic honey bee (*Apis cerana*) venom on cutaneous, hepatic and renal rat tissues. **Journal of Apicultural Research**, **58**(5): 764-771.
460. Al-Rikabi, Z. G., Al-Saffar, M. A., Nassir, H. S., & Falih, I. B. (2021). Histopathological Study of Bee Venom with Different Concentrations in Laboratory Mice. **Journal of Techniques**, **3**(4): 44-51.

461. Zheng, J. H., & Chen, J., 2000. Modulatory roles of the adenosine triphosphate P2x-purinoceptor in generation of the persistent nociception induced by subcutaneous bee venom injection in the conscious rat. **Neuroscience Letters**, **278**(1-2): 41-44.
462. Raghuraman, H., & Chattopadhyay, A. (2007). Melittin: a membrane-active peptide with diverse functions. **Bioscience reports**, **27**(4-5): 189-223.
463. Kim, K.H.; Sung, H.J.; Lee, W.R.; An, H.J.; Kim, J.Y.; Pak, S.C.; Han, S.M.; Park, K.K., , 2015. Effects of melittin treatment in cholangitis and biliary fibrosis in a model of xenobiotic-induced cholestasis in mice. **Toxins**, **7**, 3372–3387.
464. Pawar, A. 2024. Exploring the Therapeutic Promise of Melittin: Anti-Inflammatory and Anti-Cancer Applications of Bee Venom. **Journal of Internal Medicine and Pharmacology**, **1**(04): 01-09.
465. Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T., 2014. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, **6**(10): a016295-312.
466. Lee, W. R., Kim, K. H., An, H. J., Kim, J. Y., Chang, Y. C., Chung, H.,... & Park, K. K. (2014a). The protective effects of Melittin on *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory responses in vitro and in vivo. **Journal of Investigative Dermatology**, **134**(7): 1922-1930.
467. Lee, W. R., Kim, K. H., An, H. J., Kim, J. Y., Han, S. M., Lee, K. G., & Park, K. K., 2014. Protective effect of melittin against inflammation and apoptosis on *Propionibacterium acnes*-induced human THP-1 monocytic cell. **European Journal of Pharmacology**, **740**, 218-226.
468. Billingham, M. E. J., Morley, J., Hanson, J. M., Shipolini, R. A., & Vernon, C. A., 1973. An anti-inflammatory peptide from bee venom. **Nature**, **245**(5421): 163-164.
469. Lee, J. H., Kwon, Y. B., Han, H. J., Mar, W. C., Lee, H. J., Yang, I. S.,... & Kang, S. K., 2001. Bee venom pretreatment has both an antinociceptive and anti-

- inflammatory effect on carrageenan-induced inflammation. **Journal of Veterinary Medical Science**, **63**(3): 251-259.
- 470.El-Tedawy, D. M., Abd-Alhaseeb, M. M., Helmy, M. W., & Ghoneim, A. I., 2020. Systemic bee venom exerts anti-arthritic and anti-inflammatory properties in a rat model of arthritis. **Biomedical Reports**, **13**(4): 20-36.
- 471.Gi-Lok, K., & Hyung-Kyun, K., 1998. An experimental study with bee venom therapy on anti-inflammatory and analgesic effects. **Journal of Acupuncture Research**, **15**(2): 97-103.
- 472.Lee, H. S., Kim, Y. S., Lee, K. S., Seo, H. S., Lee, C. Y., & Kim, K. K., 2021. Detoxification of bee venom increases its anti-inflammatory activity and decreases its cytotoxicity and allergenic activity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, **193**, 4068-4082.
- 473.Lam, P. D., Mandal, P. K., Hak, S. Y., & Hwang, S. G., 2010. Study of the molecular mechanism of anti-inflammatory activity of bee venom in lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 macrophages. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, **9**(1): 19-26.
- 474.Altawil, H. J., Abdel-Rahman, M. A., El-Naggar, M. S., El-Khayat, Z. A., & Abdel-Daim, M. M., 2015. Analgesic, Antipyretic and Anti-Inflammatory Activities of the Egyptian Spitting Cobra, *Naja Nubiae* Venom. **Journal Forensic Toxicol Pharmacol**, **4**(1):32-39.
- 475.Shoukry, N. M., Salem, M. L., Teleb, W. K., Abdel Daim, M. M., & Abdel-Rahman, M. A., 2020. Antinociceptive, antiinflammatory, and antipyretic effects induced by the venom of Egyptian scorpion *Androctonus amoreuxi*. **The Journal of Basic and Applied Zoology**, **81**, 1-9.
- 476.Roh, D. H., Kwon, Y. B., Kim, H. W., Ham, T. W., Yoon, S. Y., Kang, S. Y.,... & Lee, J. H., 2004. Acupoint stimulation with diluted bee venom (apipuncture) alleviates thermal hyperalgesia in a rodent neuropathic pain model: involvement of spinal alpha2-adrenoceptors. **The journal of pain**, **5**(6): 297-303.

- 477.Baek, Y. H., Huh, J. E., Lee, J. D., Choi, D. Y., & Park, D. S., 2006. Antinociceptive effect and the mechanism of bee venom acupuncture (Apipuncture) on inflammatory pain in the rat model of collagen-induced arthritis: Mediation by $\alpha 2$ -Adrenoceptors. **Brain research**, **1073**, 305-310.
- 478.Conrad, V. J., Hazan, L. L., Latorre, A. J., Jakubowska, A., & Kim, C. M., 2019. Efficacy and safety of honey bee venom (*Apis mellifera*) dermal injections to treat osteoarthritis knee pain and physical disability: a randomized controlled trial. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, **25**(8): 845-855.
- 479.Yang, C. Y., & Song, H. S., 2007. Anti-nociceptive Effect of Bee Venom on Capsaicin or Bradykinin-induced Pain. **Journal of Acupuncture Research**, **24**(2): 39-49.
- 480.Merlo, L. A., Bastos, L. F., Godin, A. M., Rocha, L. T., Nascimento Jr, E. B., Paiva, A. L., ... & Coelho, M. M. (2011). Effects induced by *Apis mellifera* venom and its components in experimental models of nociceptive and inflammatory pain. **Toxicon**, **57**(5): 764-771.
- 481.Kang, S.Y.; Kim, C.Y.; Roh, D.H.; Yoon, S.Y.; Park, J.H.; Lee, H.J.; Beitz, A.J.; Lee, J.H., 2011. Chemical stimulation of the ST36 acupoint reduces both formalin-induced nociceptive behaviors and spinal astrocyte activation via spinal alpha-2 adrenoceptors. **Brain Research Bulletin**, **86**, 412–421.
- 482.Kang, S.Y.; Roh, D.H.; Kim, H.W.; Han, H.J.; Beitz, A.J.; Lee, J.H., 2013. Blockade of adrenal medulla-derived epinephrine potentiates bee venom-induced antinociception in the mouse formalin test: Involvement of peripheral β -adrenoceptors. **Alternative Medicine**, **2013**(1): 809062-78.
- 483.Nipate, S. S., Hurali, P. B., & Ghaisas, M. M., 2015. Evaluation of anti-inflammatory, anti-nociceptive, and anti-arthritic activities of Indian *Apis dorsata* bee venom in experimental animals: biochemical, histological, and radiological assessment. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, **37**(2): 171-184.

484. Zagaja, M., Zagaja, A., Szala-Rycaj, J., Szewczyk, A., Maruszewska, A., Luszczki, J., & Andres-Mach, M. 2024. Influence of bee venom on antinociceptive activity of selected analgesic drugs in hot plate test in mice. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, **31**(4). 7-11.
485. Javaid, F., Gul, H., Khan, K. U., & Basit, A. 2025. Behavioral assessment to evaluate the analgesic and anti-inflammatory effects of *Fagonia bruguieri* var. *laxa* Boiss by targeting pro-inflammatory cytokines and prostaglandin pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, 119382-95.



EKLER

EK 1. Hiperpireksi modeli rat çalışması etik kurul raporu



Tarih: 07.12.2022

Toplantı Sayısı: 12

Karar No:22/252

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 07.12.2022 tarihinde Prof. Dr. Gültekin ATALAN 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi
Vehbi GÜNEŞ	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
M. Betül AYCAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Ayşe EKEN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Nurcan DURSUN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
İbrahim KARAMAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi
Selma BÜYÜKKILIÇ BEYZİ	Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi
Zeynep CAFEROĞLU AKIN	Doç. Dr.	Sağlık Bilimleri Fakültesi
Ali İleriş AYKUN	Arş. Gör.	Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi ERÜT
Umut ALPMAN	Arş. Gör.	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)
Mustafa ERMİŞ	Veteriner Hekim	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye
Filiz ASAN	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi

Erciyes Üniversitesi Seyranı Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümünden Prof.Dr.Sibel SİLİCİ tarafından sunulan "Ratlarda Bal Anısı Zehrinin Antipretik Etkisinin Belirlenmesi" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 07.12.2022

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Gültekin ATALAN

İmza :



EK 2. İnflamasyon modeli rat çalışması etik kurul raporu



Tarih: 07.12.2022

Toplantı Sayısı: 12



Karar No:22/250

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 07.12.2022 tarihinde Prof. Dr. Gültekin ATALAN 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi
Vehbi GÜNEŞ	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
M. Betül AYCAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Ayşe EKEN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Nurcan DURSUN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
İbrahim KARAMAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Dış Hekimliği Fakültesi
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi
Selma BÜYÜKKILIÇ BEYZİ	Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi
Zeynep CAFEROĞLU AKIN	Doç. Dr.	Sağlık Bilimleri Fakültesi
Ali İleriş AYKUN	Arş. Gör.	Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi ERÜT.
Umut ALPMAN	Arş. Gör.	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)
Mustafa ERMiŞ	Veteriner Hekim	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye
Filiz ASAN	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi

Erciyes Üniversitesi Seyranî Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümünden Prof.Dr.Sibel SİLİCİ tarafından sunulan "Ratlarda Bal Arısı Zehrinin Antiinflatuvar Etkisinin Belirlenmesi" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 07.12.2022

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Gültekin ATALAN

İmza :

EK 3. Nosisepsiyon modeli rat çalışması etik kurul raporu



Tarih: 07.12.2022

Toplantı Sayısı: 12



Karar No:22/251

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 07.12.2022 tarihinde Prof. Dr. Gültekin ATALAN 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi
Vehbi GÜNEŞ	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
M. Betül AYCAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Ayşe EKEN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Nurcan DURSUN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
İbrahim KARAMAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi
Selma BÜYÜKKILIÇ BEYZİ	Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi
Zeynep CAFEROĞLU AKIN	Doç. Dr.	Sağlık Bilimleri Fakültesi
Ali İleriş AYKUN	Arş. Gör.	Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi ERÜTAM
Umut ALPMAN	Arş. Gör.	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)
Mustafa ERMIŞ	Veteriner Hekim	Deneyisel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.
Ali KOÇ	Kurumla ilişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye
Filiz ASAN	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi

Erciyes Üniversitesi Seyranî Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümünden Prof.Dr.Sibel SİLİCİ tarafından sunulan "Ratlarda Bal Arısı Zehrinin Antinosisepsiyon etkisinin Belirlenmesi" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 07.12.2022

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Gültekin ATALAN

İmza :

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Sevim KATİPOĞLU

Uyruğu: Türkiye (T.C)

Doğum Tarihi ve Yeri:

Medeni Durum:

e-mail:

Yazışma Adresi:

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Biyoloji	2018
Lisans	Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Biyoloji Öğretmenliği	2015
Lise	Şehit Ahmet Alan Anadolu Lisesi, Yozgat	2010

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

1. Silici, S., Demiray, S., Okan, A., Ertuğrul, S., Alizada, S., & Doğanyigit, Z. (2024). Effects of short-and long-term use of propolis extracts on liver and kidney in rats. Food Science & Nutrition, 12(8), 5538-5547.
2. Silici, S., Okan, A., Köklü, B., Demiray, S., & Doğanyigit, Z. (2023). Toxicity of propylene glycol extract of propolis on central nervous system and liver in pregnant and neonatal rats. Zeitschrift für geburtshilfe und neonatologie, 227(04), 261-268.

3. Özden Kömpe, Y., Akin Mutlu, V., Özkoç, İ., Demiray, S., & Serhat, B. (2022). Fungal diversity and ex vitro symbiotic germination of *Serapias vomeracea* (Orchidaceae). *Acta Botanica Croatica*, 81(1), 108-116.
4. Tekin, O. K., Demiray, S., & Silici, S. (2021). Ticari propolis ekstraktlarının kısa ve uzun süreli kullanımının ratlarda karaciğer enzimleri üzerine etkisi. *Türkiye Klinikleri Traditional and Complementary Medicine-Special Topics*, 2(2), 94-100.
5. Sezer, Z., İnal, A., Soylu, M., Demiray, S., & Silici, S. (2021). Zeytinyağı bazlı propolisin sağlıklı gönüllülerde biyokimyasal parametreler üzerine etkisi: Klinik çalışma. *Türkiye Klinikleri Traditional and Complementary Medicine-Special Topics*, 2(2), 111-121.