

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**VETERİNERLİK BİYOKİMYASI**  
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**DENEYSEL ATOPIK DERMATİTİN DERİ LEZYONLARININ**  
**TEDAVİSİNDE ARI ZEHİRİNİN TOPIKAL**  
**UYGULAMASININ TERAPOTİK ETKİSİ**

**GÖKHAN MERMER**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-22007 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2023**

## KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı (Veteriner) Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Gökhan MERMER tarafından hazırlanan “Deneysel Atopik Dermatitin Deri Lezyonlarının Tedavisinde Arı Zehrinin Topikal Uygulamasının Terapotik Etkisi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/10/2023

Üye (T.D.)	: Prof.Dr. Ayşegül BİLDİK	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	.....
Üye	: Prof.Dr. Fatmagül YUR	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	.....
Üye	: Prof.Dr. Funda KIRAL	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	.....

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ..... tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan ..... nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

## TEŞEKKÜR

Yapılan çalışma, insan ve hayvanlarda yaygın olarak görülen atopik dermatit hastalığının tedavisinde arı zehrinin topikal uygulamasının etkilerini ortaya koymak amacıyla yapılmış bir çalışma niteliğindedir. Tez çalışmalarımın hazırlanması esnasında bana rehberlik eden fikir ve yardımlarını eksik etmeyen danışman hocam Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK olmak üzere Veterinerlik Biyokimyası Anabilim dalı öğretim üyeleri Prof.Dr. Funda KIRAL, Prof.Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ, Doç.Dr. Serap ÜNÜBOL AYPAK, Dr. Öğr. Üyesi Gamze Sevri EKREN AŞICI ve doktora öğrencisi Bilgehan AKAR'a teşekkürlerimi sunarım. Yine çalışma süresince desteğini esirgemeyen Muğla Arıcılar Birliği Başkanı Veli TÜRK' e şükranlarımı sunarım. Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından VTF-22007 proje numarası ile desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
RESİMLER DİZİNİ .....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ÖZET .....	x
ABSTRACT .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Arı Zehri .....	3
2.1.1. Tarihsel Bağlam.....	4
2.1.2 Kompozisyon.....	5
2.1.3 Arı Zehrinin Biyolojik Aktiviteleri .....	9
2.1.4 Arı Zehri Kompozisyonu.....	10
2.1.4.1. Peptitler.....	10
2.1.4.1.1. Melittin .....	10
2.1.4.1.2. Apamin .....	12
2.1.4.1.3. Mast Hücre Parçalayan Peptit.....	13
2.1.4.1.4. Minör Peptitler.....	14
2.1.4.2. Enzimler .....	16
2.1.4.2.1. Fosfolipaz A <sub>2</sub> .....	16
2.1.4.2.2. Hiyalüronidaz .....	18
2.1.4.2.3. Diğer Enzimler .....	18

2.1.5 Arı Zehrinin Biyolojik Aktiviteleri .....	18
2.1.5.1 Antioksidan Aktivite .....	18
2.1.5.2 Antimikrobiyal etkinlik .....	19
2.1.5.3 Anti-inflamatuar Aktivite .....	21
2.1.5.4 Nöroprotektif Etkiler .....	22
2.1.5.5. Antitümör Etkileri .....	23
2.1.5.6. Klinik Uygulamalar .....	24
2.1.6. Arı Zehri Üretimi ve Depolama.....	25
2.2 Atopik Dermatit.....	27
2.3. İmmünoglobulin E (İgE): .....	31
2.4. İnterferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ):.....	34
2.5. İnterlökin-5 (İL-5): .....	35
2.6. İnterlökin-13 (IL-13):.....	36
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1.Arı Zehrinin Elde Edilmesi.....	39
3.2.Deneysel Atopik Dermatitis .....	42
3.3.Sitokin analizleri.....	43
3.3.1. Mouse İmmunoglobulin E Elisa Kıt (BT-E0449Mo).....	43
3.3.2. Mouse İnterleukin 13, IL13. ELISA Kit (BT-E0019Mo) .....	44
3.3.3. Mouse İnterleukin 5, IL5. ELISA Kit (BT-E0050Mo) .....	46
3.3.4. Mouse İnterferon $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ELISA Kit (BT-E0056Mo ) .....	47
4.BULGULAR .....	49
4.1.Histopatolojik bulgular .....	49
4.2.IgE ve Sitokin Sonuçları.....	52
5.TARTIŞMA.....	54
6.SONUÇ VE ÖNERİLER .....	60

KAYNAKLAR.....	61
EKLER .....	97
BİLİMSEL ETİK BEYANI .....	98
ÖZ GEÇMİŞ.....	99

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

**AD:** Atopik Dermatit

**AZ:** Arı Zehri

**IF- $\gamma$ :** İnterferon Gama

**Ig-E:** İmmunoglobulin E

**IL-1:** İnterleukin-1

**IL-5:** İnterlökin-5

**IL-13:** İnterlökin-13

**Map:** Mitojen Aktif Protein

**MCD:** Mast Hücrelerini Parçalayan Peptit

**NF- $\kappa$ B:** Nükleer Faktör Kappa-B

**NO:** Nitrik Oksit

**PGE<sub>2</sub>:** Prostaglandin E<sub>2</sub>

**TNF:** Tümör Nekroz Faktörleri

**TSLP:** Timik Stromal Lenfopoyetin

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Melittinin antiinflamatuvar aktiviteleri için ana mekanizmalar.....	12
Şekil 2. Düşük veya yüksek konsantrasyonda mevcut olduğunda Mast Hücre Degranülasyonu (MCD) peptidinin farklı etkileri .....	15
Şekil 3. PLA <sub>2</sub> 'nin çifte davranışı.....	18
Şekil 4. Bir elektroşok kapanı kullanarak tipik arı zehri toplama şeması ve süreç akışı. ...	28
Şekil-5. AD'nin basitleştirilmiş mekanizması ve IgE'nin rolü .....	35



## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Bal arısı .....	3
<b>Resim 2.</b> Arı zehri.....	4
<b>Resim 3.</b> Arı Zehri Elektrik Stümitatörü.....	40
<b>Resim 4.</b> Elektrik akımı verilerek zehir akıtılan cam levha.....	41
<b>Resim 5.</b> Cam levha üzerinde kuruyan arı zehri kazındı.....	41
<b>Resim 6.</b> Cam Levha üzerinde arı zehrinin görünümü.....	42
<b>Resim 7.</b> Toplanan Arı zehirleri.....	42
<b>Resim 8.</b> Atopik dermatitli grupların deneme sonrası dermis lezyonları.....	50
<b>Resim 9.</b> Kontrol grubu derinin histopatolojik incelenmesi.....	51
<b>Resim 10.</b> DNCB grubu derinin histopatolojik incelenmesi.....	51
<b>Resim 11.</b> Aseton-Zeytinyağı grubu derinin histopatolojik incelenmesi.....	52
<b>Resim 12.</b> Arı zehri grubu derinin histopatolojik incelenmesi.....	52
<b>Resim 13.</b> Kortikosteroid grubu derinin histopatolojik incelenmesi.....	53

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Arı zehrinin (AZ), biyolojik aktivitesi ve yürütölen çalışmanın türü ile ilgili ana bileşenleri.....	6
<b>Tablo 2.</b> AZ'nin küçük bileşenleri ve kuru ağırlık yüzdesi .....	8
<b>Tablo 3.</b> Biyolojik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi.....	21
<b>Tablo 4.</b> Grupların sitokin düzeyleri.....	54

## ÖZET

### DENEYSEL ATOPIK DERMATİTİN DERİ LEZYONLARININ TEDAVİSİNDE ARI ZEHİRİNİN TOPIKAL UYGULAMASININ TERAPOTİK ETKİSİ

**Mermer G. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Biyokimyası Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2023.**

**Amaç:** Bu araştırmada, dinitroklorobenzen (DNBC) ile oluşturulan deneysel Atopik Dermatit modelinde, topikal Arı Zehri uygulamalarının etkisinin, sitokin salınımı ve histopatolojik bulgular ile ortaya koyulması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma için 8-12 haftalık 25-30 gr ağırlığındaki 30 adet dişi BALB/c fareler kullanıldı. Farelerin sırt kısımları traş edildikten sonra AD benzeri deri lezyonları oluşturmak için DNCB ile traş edilen bölge duyarlılaştırıldı. Dorsal epilasyondan (yaklaşık 4 cm<sup>2</sup>) bir gün sonra, dorsal cilde 150 ml %1 DNCB aseton: zeytinyağı karışımı (3:1) 9 gün boyunca günlük olarak uygulandı. Dorsal epilasyondan 10 gün sonra, dorsal deriye (150 ml) % 0,2 DNCB aseton: zeytinyağı karışımı (3:1) 16 gün boyunca 7 kez uygulandı. Fareler 9 günlük duyarlılaştırma süresinden sonra her biri 6'şar fareden oluşan 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. Aseton-zeytinyağı grubuna DNCB içermeyen aseton/zeytinyağı karışımı uygulandı. Aseton-zeytinyağı/Arı zehri (AZ) /Kortikosteroid gruplarına ajanlar 16 gün boyunca günlük 1 kez lokal olarak uygulandı. Tedavi sürecinin sonunda farelerden kan örnekleri alındı ve fareler uyutulduktan sonra alınan deri örnekleri %3,7 formalin içinde sabitlenerek hematoksilin / eosin çözeltisi ile boyanarak ışık mikroskobu ile histopatolojik olarak değerlendirildi. Kan serum örneklerinde fare spesifik ELİSA kitleri ile IgE, IL13, IL5, IFN- $\gamma$  analizleri yapıldı.

**Bulgular** DNCB grubunda hiperkeratoz, dermal papillada fibrosiz gözlemlendi. Aseton-Zeytinyağı grubunda hiperkeratoz, epitellerde vakuoler dejenerasyon ve dermiste mast hücreleri ile eozinofil lökosit infiltrasyonu gözlemlendi. AZ grubunda papillar dermada fibrozis, az sayıda eozinofil lökosit infiltrasyonu gözlemlendi. Kortikosteroid grubunda epidermiste ülserleşme ve nekroz gözlemlendi, mantar görüldü. Kontrol, DNCB, Aseton-Zeytin yağı, AZ ve kortikosteroid gruplarında IgE yoğunlukları sırasıyla 2,1 $\pm$ 0,4 ng/L; 5,3 $\pm$ 0,8 ng/L (p<0,05); 5,6 $\pm$ 1,04 ng/L; 2,44 $\pm$ 0,6 ng/L ve 3,5 $\pm$ 0,8 ng/L olarak; IL-13 yoğunlukları sırasıyla 29,7 $\pm$ 4,8

ng/L; 30,9±3,9 ng/L; 38,4±7,8 ng/L; 37,4±4,5 ng/L; 38,4±4,9 ng/L olarak; IL-5 yoğunlukları sırasıyla 60,5±3,7 ng/L; 57,2±8,5 ng/L; 53,4±7,8 ng/L; 58,3±7,8 ng/L; 60,2±5,8 ng/L olarak; IFN- $\gamma$  yoğunlukları sırasıyla 278±38,3 ng/L; 284,8±29,6 ng/L; 280,2±53,6 ng/L; 390±101 ng/L; 298,2±67,4 ng/L olarak belirlendi. IgE yoğunluğu kontrol, AZ ve kortikosteroid gruplarında belirgin olarak düşük iken IFN- $\gamma$  düzeyi AZ grubunda belirgin olarak yüksek olduğu belirlendi. Gruplar arasında IL-13 ve IL-5 düzeyleri bakımından farklılık belirlenmedi.

**Sonuç:** Arı zehri, Atopik Dermatitte IgE yoğunluğunu belirgin olarak azaltmıştır. Atopik dermatit tedavisinde klasik tedavi yöntemi olan kortikosteroidlerin yan etkilerinin hiçbiri AZ grubunda görülmemiştir. Bu nedenle Atopik Dermatite karşı tedavide kullanılacak alternatif ajan kullanılabileceği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Atopik Dermatit, IgE, IL-13, IL-5 ve IF-  $\gamma$

## ABSTRACT

### THERAPEUTIC EFFECT OF TOPICAL APPLICATION OF BEE VENOM IN THE TREATMENT OF EXPERIMENTAL ATOPIC DERMATITIS SKIN LESIONS

**Mermer G. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Biochemistry (Veterinary) Program, Master's Thesis, Aydın, 2023.**

**Objective:** In this study, it was aimed to reveal the effect of topical Bee Venom (BV) applications in the experimental Atopic Dermatitis model created with dinitrochlorobenzene (DNBC), with the release of cytokines and histopathological findings.

**Materials and Methods:** Thirty female BALB/c mice aged 8-12 weeks and weighing 25-30 g were used for the study. After the dorsal parts of the mice were shaved, the shaved area was sensitized with DNCB to produce AD-like skin lesions. One day after dorsal epilation (approximately 4 cm<sup>2</sup>), 150 ml of 1% DNCB acetone: olive oil mixture (3:1) was applied to the dorsal skin daily for 9 days. 10 days after dorsal epilation, 0.2% DNCB acetone: olive oil mixture (3:1) was applied to the dorsal skin (150 ml) 7 times for 16 days. After 9 days of sensitization, the mice were divided into 5 groups of 6 mice each. Acetone/olive oil mixture without DNCB was applied to the control group. Agents were applied locally to the acetone-olive oil/bee venom (BV)/corticosteroid groups 1 time daily for 16 days. At the end of the treatment period, blood samples were taken from the mice and skin samples taken after the mice were anesthetized were fixed in 3.7% formalin, stained with hematoxylin/eosin solution and evaluated histopathologically by light microscopy. Blood serum samples were analyzed for IgE, IL13, IL5, IFN- $\gamma$  with mouse specific ELISA kits.

**Results:** Hyperkeratosis and fibrosis in the dermal papillae were observed in the DNCB group. Hyperkeratosis, vacuolar degeneration of epithelium and infiltration of mast cells and eosinophil leukocytes in the dermis were observed in Acetone-Olive Oil group. In BV group, fibrosis in the papillary dermis and few eosinophil leukocyte infiltration were observed. In the corticosteroid group, ulceration and necrosis were observed in the epidermis and fungus was observed. IgE concentrations were 2.1 $\pm$ 0.4 ng/L, 5.3 $\pm$ 0.8 ng/L ( $p$ <0.05), 5.6 $\pm$ 1.04 ng/L, 2.44 $\pm$ 0.6 ng/L and 3.5 $\pm$ 0.8 ng/L in control, DNCB, Acetone-Olive oil, BV and corticosteroid

groups, respectively; IL-13 concentrations were  $29.7 \pm 4.8$  ng/L,  $30.9 \pm 3.9$  ng/L,  $38.4 \pm 7.8$  ng/L,  $37.4 \pm 4.5$  ng/L, respectively; IL-5 concentrations were  $60.5 \pm 3.7$  ng/L,  $57.2 \pm 8.5$  ng/L,  $58.2 \pm 8.5$  ng/L,  $53.4 \pm 7.8$  ng/L,  $38.4 \pm 4.9$  ng/L, respectively;  $38.4 \pm 4.9$  ng/L; IL-5 concentrations were  $60.5 \pm 3.7$  ng/L;  $57.2 \pm 8.5$  ng/L;  $53.4 \pm 7.8$  ng/L;  $58.3 \pm 7.8$  ng/L;  $60.2 \pm 5.8$  ng/L; IFN- $\gamma$  concentrations were  $278 \pm 38.3$  ng/L;  $284.8 \pm 29.6$  ng/L;  $280.2 \pm 53.6$  ng/L;  $390 \pm 101$  ng/L;  $298.2 \pm 67.4$  ng/L, respectively. IgE concentration was significantly lower in control, BV and corticosteroid groups, while IFN- $\gamma$  level was significantly higher in BV group. There was no difference in IL-13 and IL-5 levels between the groups.

**Conclusion:** Bee venom significantly decreased IgE concentration in Atopic Dermatitis. None of the side effects of corticosteroids, the classical treatment modality in Atopic Dermatitis, were observed in the BV group. Therefore, it was determined that an alternative agent can be used in the treatment of Atopic Dermatitis.

**Keywords:** Atopic Dermatitis, IgE, IL-13, IL-5 and IF-  $\gamma$

# 1. GİRİŞ

Deri; mekanik, kimyasal, termal ve mikrobiyal faktörler gibi dış etkenlere karşı fiziksel bir barikat görevi yapan insan vücudundaki en büyük dokudur (Leung, 2000). Atopik dermatit (AD) ise, kusurlu bir cilt bariyeri, egzama, kaşıntı, kuru cilt gibi klinik belirtilerle ve çeşitli dış antijenlere karşı anormal IgE aracılı alerjik tepki ile kendini gösteren, kronik ve tekrarlayıcı bir inflamatuvar deri hastalığıdır (Lee ve diğerleri, 2014).

Atopik dermatit (AD), dünya çapında 230 milyonu etkileyen ve sıklıkla çocukluk döneminde karşılaşılan yıkıcı bir deri hastalığıdır (Tanei, 2009). AD insidansı son yıllarda önemli ölçüde artmaktadır. Yetişkinlerin yaklaşık %1 ile %3'ü; çocukların %20'si Atopik dermatit rahatsızlığından sıkıntı çekmektedir (Lee ve diğerleri, 2014). Sürekli devam eden kaşınma isteği, AD'nin en göze çarpan semptomudur ve AD semptomlarını daha da kötüleştirir (Leung ve diğerleri, 1997). Hastalığın kronik, tekrarlayıcı seyri, ekonomik yükü ve tüm ailenin tedavi sürecine dahil olması, hastaların ve ailelerinin yaşam kalitesini büyük ölçüde düşürmektedir. Bununla birlikte doktor randevuları, işe ve okula devamsızlık veya hastaneye yatışlar gibi hastalıkla mücadele için gerekli dolaylı maliyetlerin artmasıyla da sosyal bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır (Drucker ve diğerleri, 2017; Silverberg ve diğerleri, 2018; Xu ve diğerleri, 2019). AD hayati öneme sahip olmamasına rağmen, kaşıntı nedeniyle genellikle yaşam kalitesini düşürür. Bu nedenle bu tür cilt bozukluklarının tedavisi önemlidir (Kim ve diğerleri, 2019).

En sık görülen ve üzerinde yoğun olarak çalışılan kronik inflamatuvar cilt bozukluklarından biri olan AD'e neden olan etkenler bilinmediği için tedavi seçenekleri de sınırlıdır. AD'e inflamatuvar ve immünolojik yanıtlar gibi çeşitli sebeplerin neden olabildiği düşünülmektedir (Bin ve Leung, 2016; Boguniewicz ve Leung, 2010). Bozulmuş bir cilt bariyeri işlevi, bağışıklık sisteminin değişkenleri ve karmaşık bir genetik arka plan gibi çeşitli kofaktörler AD' nin seyrini değiştirir (Guttman-Yassky ve Nograles, 2011; Novak ve Simon, 2011).

Atopik dermatit hastasının cildini sakinleştirmek için topikal kortikosteroidler, dupilumab, Janus kinaz inhibitörleri, kalsinörin inhibitörleri ve siklosporin A gibi birçok ticari

ilaç geliştirilmiştir. Bununla birlikte, uzun süreli tedavilerde bu ilaçlar, sıklıkla nörotoksisite, enfeksiyonlar, cilt kanserleri ve epidermal geçirgenlik bariyerinin bozulması gibi ciddi lokal ve sistemik yan etkilere neden olabilmektedir (Giavina ve Giavina, 2019; Ferrucci ve diğerleri, 2021; Singh ve diğerleri, 2020). İlaç tedavisinin yanı sıra nemlendiriciler, deksametazon, topikal glukokortikoidler, kalsinörin inhibitörleri ve siklosporin A gibi immünosupresanlar; belirtileri azaltmada etkilidir. Bununla birlikte, çeşitli yan etkilerle ilişkilidirler (Leung ve Guttman-Yassky 2014; Schlapbach ve Simon, 2014). Bu nedenle, yan etkileri azaltılmış ve etkinliği daha yüksek olan inflamatuvar yanıtları kontrol eden yeni farmakolojik ajanların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Birçok araştırmacı doğal kaynaklardan alternatif tedaviler geliştirmeye çalışmaktadır. Arı zehri (AZ) çekici bir adaydır. Birçok deneysel ve klinik rapor, AZ'nin anti-inflamatuvar, anti-apoptotik, anti-fibrotik, antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antikanser etkileri olduğunu göstermektedir (Kim ve diğerleri, 2019; Lee ve diğerleri, 2017; Zhang ve diğerleri, 2018). Doğal maddelerin, güçlü immünomodülatör etkilere ve daha az yan etkiye sahip oldukları düşünüldüğünde, AZ gibi bağışıklık sistemini güçlendiren alternatif terapötik ajanlar olarak ortaya çıkmıştır. İyi bilinen tamamlayıcı müdahalelerden biri olan AZ tedavisi, eski çağlardan beri geleneksel bir ilaç olarak ağrıyı gidermek ve iltihabi hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır (Billingham ve diğerleri, 1973). Ortaya çıkan kanıtlar, klinik deneylerde in vivo ve in vitro çalışmalarda Arı Zehrinin anti-inflamatuvar mekanizmaları aracılığıyla AD'yi hafiflettiğini göstermektedir (Kim ve diğerleri, 2013).

Arı zehrinin atopik dermatit üzerindeki tedavi edici etkinliğini araştıran insan veya hayvan çalışmaları sınırlıdır. Arı zehrinin AD tedavisinde etkisinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırıldığı bu çalışmanın, benzer çalışmalara öncülük edeceği, insan ve hayvan sağlığı açısından alternatif bir tedavi olarak AZ kullanımına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Arı Zehri

Bal arıları arasında *Apis mellifera* (Resim 1), dünyada ekin tozlaşması için kullanılan başlıca türdür. Arı zehri ve bal dahil olmak üzere tüm arı ürünlerinin kullanımı, tıbbi özellikleri İncil ve Kuran gibi dini kitaplarda belirtildiği için binlerce yıl öncesine dayanmaktadır (Fratellone, 2015; Ali, 2012; Abd El-Wahab ve Eita, 2015). Apiterapi, bal, polen, propolis, arı sütü ve esas olarak apitoksin olarak da bilinen arı zehrinden (AZ) oluşan bal arısı ürünlerinin kullanımına dayanan bir alternatif tıp dalıdır (Trubeckaite ve diğerleri, 2015; Hellner ve diğerleri, 2008).



**Resim 1.** Bal arısı ([https://heyvanbazari.az/articles/meqaleler/arichiliq/bal\\_arisi](https://heyvanbazari.az/articles/meqaleler/arichiliq/bal_arisi))

Arı zehri (api-toksin), arıların (*Apis mellifera* L.) karın boşluğunda bulunan bir bez tarafından salgılanır. Arıların genellikle avcılara karşı savunma aracı olarak kullandığı kokusuz ve şeffaf asidik bir sıvıdır. (Resim 2). Bal arısı zehri farklı bileşiklerin bir kombinasyonudur. Arı zehri melittin (arı zehrinin ana bileşeni), apamin, dolapin, mast hücre

degranülasyonu peptidi ve enzimler (fosfolipaz A<sub>2</sub> ve hiyalüronidaz) gibi çeşitli aktif molekülleri; histamin, dopamin ve norepinefrin gibi peptit bileşenleri içermektedir (Moreno ve diğerleri, 2015; Raghuraman ve Chattopadhyay, 2007; Wehbe ve diğerleri, 2019).



**Resim 2.** Arı zehri <https://anzerbali.com/wp-content/uploads/2015/11/zehir.jpg>

### **2.1.1. Tarihsel Bağlam**

Arıların karın boşluğunda bulunan bir bez tarafından salgılanan arı zehri, onu oluşturan biyomoleküllerin potansiyel terapötik kullanımları için 19. yüzyılın sonlarından itibaren araştırma konusu olmuştur (Abd El-Wahed ve diğerleri, 2018). Arı zehri tedavisi (AZT), M.Ö. 1000-3000'den beri doğu geleneksel tıbbında kullanılan, hastalıkların tedavisi için arı zehrinin (AZ) vücuda terapötik uygulamasına denmektedir (Kwon ve diğerleri, 2001; Park ve diğerleri, 2004). Tamamlayıcı ve alternatif tıp yaklaşımı olarak değerlendirilen AZT, doğrudan arı sokması veya elektrik uyarısı ile ekstrakte edilen AZ'nin enjeksiyonu ile uygulanmaktadır. Başlangıçta, AZT'nin kullanımı, (sıklıkla sokulan) arı yetiştiricilerinin eklem ve kaslarıyla ilgili artrit vb. gibi rahatsızlıklardan nadiren etkilenmelerine dayanmaktadır (Hellner ve ark, 2008). Hipokrat (yaklaşık MÖ 460-370), Avrupa'da apiterapi terimini kullanan ve AZ'yi kellik tedavisi olarak kullanan ilk insandı. Arı zehrini 15.yüzyılda Korkunç İvan, gut gibi diğer hastalıkları tedavi etmek için ilk kullananlardan biriydi (Grassberger ve diğerleri, 2013). Bu nedenle, AZ tarihsel olarak anti-inflamatuvar

bozuklukların, cilt hastalıklarının ve romatizmanın terapötik tedavisi ile bağlantılı olmuştur, ancak aynı zamanda nörolojik hastalıkların, astım, artrit veya sıtma gibi bulaşıcı hastalıkların tedavisinde de uygulama göstermiştir (Abd El-Wahed ve diğerleri, 2018; Zhang ve diğerleri, 2018).

### 2.1.2 Kompozisyon

İnsanları sokan böcek zehirlerinin çoğu peptitler, proteinler, enzimler ve diğer daha küçük moleküllerden oluşmaktadır (Ali, 2012). AZ'de bu moleküllerden oluşur, ancak bileşimi daha karmaşıktır. Bu kompleks karışım, Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterilen amino asitler (aa), peptitler, proteinler, enzimler, şekerler, biyojenik aminler, uçucu bileşikler, fosfolipidler ve feromonları içermektedir. Ayrıca, AZ'nin %80'inden fazlası su olduğu için oldukça akışkandır. Tüm bu kompozitler içinde 18'den fazla farmakolojik olarak aktif bileşik vardır (Hellner ve diğerleri, 2008; Pucca ve diğerleri, 2019).

Arı zehrinde diğerlerine göre daha bol bulunan iki bileşen melittin ve fosfolipaz A<sub>2</sub>(PLA<sub>2</sub>)'dir (Abd El-Wahed ve diğerleri, 2018). Melittin, kuru ağırlığın %50-60'ını temsil eden bir peptittir (Pacáková ve diğerleri, 1995; Pucca ve diğerleri, 2019), AZ'de en fazla bulunan maddedir. Ayrıca melittin, önemli klinik ve terapötik etkileri olan birçok biyolojik aktivitelere sahip moleküldür; aynı zamanda AZ'nin en toksik bileşiğidir (Raghuraman ve Chattopadhyay, 2007). En fazla bulunan ikinci madde, AZ'nin yaklaşık %10-12'sini oluşturan biyolojik olarak aktif PLA<sub>2</sub> enzimidir (Abd El-Wahed ve diğerleri, 2018). Bununla beraber AZ'de bu enzim en alerjenik faktördür ve alerjik hastaların %57-97'inde alerjenik duyarlılaşmaya neden olur (Jakob ve diğerleri, 2017). AZ'de küçük miktarlarda olan ancak önemli biyolojik aktiviteler gösteren diğer bileşenler apamin, mast hücre degranülasyon peptidi (MCD), secapin, adolapin gibi peptitler veya hiyaluronidaz gibi enzimlerdir. Apamin, Ca<sup>2+</sup> ile aktive olan K<sup>+</sup> kanalını bloke etme kapasitesine sahip 18 aminoasitten oluşan bir nörotoksik peptittir (Mourre ve diğerleri, 1997). MCD 22 aminoasit içerir ve AZ'nin yaklaşık %1-3'ü kadardır. Ayrıca, güçlü bir anti-inflamatuar aktiviteye sahiptir (Banks ve diğerleri, 1990). Secapin fibrinolitik, anti-elastolitik ve antimikrobiyal etki gösterir (Lee ve diğerleri, 2016). Adolapin, anti-inflamatuar aktiviteye ve analjezik etkilere sahip bir polipeptittir

(Shkenderov ve Koburova, 1982). Son olarak, hiyalüronidaz, diğer AZ faktörlerinin hücreye girmesine yardımcı olan bir yayılma faktörü olarak kabul edilir (Schumacher, 1989).

**Tablo 1.** Arı zehrinin (AZ), biyolojik aktivitesi ve yürütülen çalışmanın türü ile ilgili ana bileşenleri (Carpena ve diğerleri, 2020).

Bileşen	Moleküler grup	Arı zehrindeki kuru madde oranı (%)	Biyolojik Aktivite	Çalışma tipi
Melittin ve izoformları	Peptit	%50–60	Anti-bakteriyel	-In vitro
			Anti-inflamatuar	-In vivo
			Anti-aritmik	-In vivo
			Anti-sekretorik	-In vivo
			Anti-kanser	-In vitro
			Anti-artrit	-In vitro
			Anti-ateroskleroz	-In vivo
			Antiviral	-In vitro
			Pro-apoptotik	-In vitro
			Anti-apoptotik	-In vitro
			Analjezik	-In vivo
			Anti-fibrotik	-In vitro
			Anti-diabetik	-In vivo
			Hemoliz	-In vitro
			Anti-anjiyojenik	-In vitro
			Yara İyileşirici	-In vitro
			Antifungal	-In vitro
Anti-nosiseptif	-In vivo			
-Apamin	Peptit	%1–3	Antifungal	-In vitro
			Anti-fibrotik	-In vivo
			Anti-kanser	-In vitro

			Anti-inflamatuar	-In vivo
			Anti-ateroskleroz	-In vivo
			Antibakteriyel	-In vitro
			Nöroprotektif	-In vivo
<b>MCD(Mast hücre Degranülasyon)</b>	Peptid	% 1-3	Anti-inflamatuar	-In vivo
			Anti-alerjik	-In vitro
<b>Secapin</b>	Peptid	% 1-2	Antifungal	-In vitro
			Antibakteriyel	-In vitro
			Anti- elastolitik	-In vitro
			Anti-fibrinolitik	-In vitro
<b>Adolapin</b>	Peptid	%0,1-0.8	Anti-inflamatuar	-In vitro
			Anti-nosiseptif	-In vitro
			Antipiretik	-In vitro
<b>PLA<sub>2</sub> (Fosfolipaz A<sub>2</sub>) (Api m 1)</b>	Enzim	% 10-12	Antibakteriyel	-In vitro
			Anti-artrit	-In vivo
			Antiparazitik	-In vitro
			Nöroprotektif	-In vivo
			Anti-kanser	-In vitro
			Antiviral	-In vitro
			İnflamatuar	-In vivo
			Antijenite	-In vivo
			Alerjenite	-In vivo
			Nosiseptif	-In vivo
			Nöronal Aktivasyon	-In vivo
			Sinir Yenilenmesi	-In vivo
<b>PLA<sub>2</sub></b>	Enzime	% 1,2-2	Hyaluronik asit aktivasyonu ile yayılma	-In vivo

(Fosfolipaz A2)			faktörü	
(Api m 2)			Alerjenite	-In vivo

**Tablo 2.** AZ'nin küçük bileşenleri ve kuru ağırlık yüzdesi (Carpena ve diğerleri, 2020)

Bileşik	Moleküler Grup	Kuru oranı (%)
Aminobütirik asit	Biyolojik Amin	1
Dopamin	Biyolojik Amin	0.1–1
Histamin	Biyolojik Amin	0.5–2
Noradrealin	Biyolojik Amin	0.1–0.5
Asit fosfataz	Enzim	1
Fosfataz	Enzim	1
Fosfolipaz B (PLA B)	Enzim	1
$\alpha$ -Glukozidaz	Enzim	0.6
Asetilkolin	Ester	–
Icarapin	Glukoprotein	–
P, Ca ve Mg	Mineraller	3–4
Apamin	Peptit	1–3
Kardiyopep	Peptit	0.7
Cecropin A	Peptit	–
Melittin-F	Peptit	0.01
Melittin-S	Peptit	1–2
Minimin	Peptit	2–3
Pamin	Peptit	2
Prokamin A,B	Peptit	1–2
Sekapin	Peptit	1–2
Tertiapin	Peptit	0.1

<b>Fosfolipidler</b>	Fosfolipidler	1-3
<b><math>\alpha</math>-D-Glukozidaz</b>	Protein	<1
<b>Dipeptidil peptidaz IV</b>	Protein	<1
<b>Lisifosfolipaz</b>	Protein	<1
<b>MRJP8</b>	Protein	-
<b>MRJP9</b>	Protein	-
<b>Fosfolipaz B</b>	Protein	<1
<b>Vitellogenin</b>	Protein	-
<b>Glukoz, fruktoz</b>	Şekerler	2-4
<b>Kompleks Eterler</b>	Uçucu Bileşikler	4-8

### 2.1.3 Arı Zehrinin Biyolojik Aktiviteleri

Arı zehri, alerjik reaksiyonlarla ilgili bazı sorunlara neden olan toksik bir maddedir; ancak, ölümcül olması için yüksek doz gereklidir. Bir yetişkin için ortalama öldürücü doz, vücut ağırlığının kilogramı başına 2,8 mg zehirdir. 70 kg olan bir kişi için 196 mg zehir öldürücü etki gösterir. Bununla birlikte, bu zehir miktarı çok büyüktür, çünkü tek bir arıda sadece 0.15-0.30 mg zehir vardır. Bu nedenle, öldürücü olması için gereken sokma sayısı 1300 civarında olduğundan, AZ'nin terapötik kullanımlar açısından riski düşüktür (Ali, 2012; Schumacher, 1989).

AZ bileşenleri ve aralarında var olan sinerji, günümüzde modern tıbbın hedef aldığı bazı hastalıkların tedavisi için bir kapı olabilir. AZ, terapötik etkilerin ve olası uygulamaların araştırılmasında anahtar olan çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Sobral ve diğerleri (2016)'da AZ'nin antioksidan, antiinflamatuvar ve sitotoksik aktivitesini yeniden doğruladı. Ayrıca AZ, anti-mikrobiyal , anti-apoptotik veya salgı önleyici aktivite gibi başka biyolojik aktivitelerinin olduğu da rapor edildi (Lee ve Bae, 2016; Mohamed ve diğerleri 2019). AZ 'deki en aktif bileşiklerden biri olan melittinin antikanser etkileri, kas rejenerasyonunu artırdığı gösterildi (Rady ve diğerleri 2017; Lee ve diğerleri,

2019). Romatoid artrit (RA), Parkinson hastalığı (PH), multiple skleroz (MS) ve karaciğer fibrozu (KF) gibi hastalıklarda AZ'nin terapötik etkilerine ilişkin çalışmalar yapılmıştır, tedaviler için umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2018).

#### **2.1.4 Arı Zehri Kompozisyonu**

Bal arısı zehri, acı tadı, keskin kokulu, 1.13 özgül ağırlığı ve 4.5-5.5 PH'ı olan berrak bir sıvıdır (Devi ve diğerleri, 2016; Szabat ve diğerleri, 2019). Bal arısı zehri hava ile temas ettiğinde hızla kurur ve kristalleşir (Kolaylı ve Keskin, 2020). Kurutulmuş zehir açık sarı bir renk alır ve bazı ticari müstahzarlar kahverengidir, bunun bazı zehir proteinlerinin oksidasyonu nedeniyle olduğu sanılmaktadır, suda çözünür, alkol ve amonyum sülfatta çözünmez. Arı zehri, toplama sırasında kolayca kaybolan çok sayıda uçucu bileşik içerir (Ali, 2012). AZ, farklı tipteki moleküllerin karışık bir bileşimidir, 102'den fazla protein ve peptit (Tablo 1 ve Tablo 2) içerir (Van Vaerenbergh ve diğerleri, 2014). Arı zehrinin en önemli biyoaktif molekülleri:

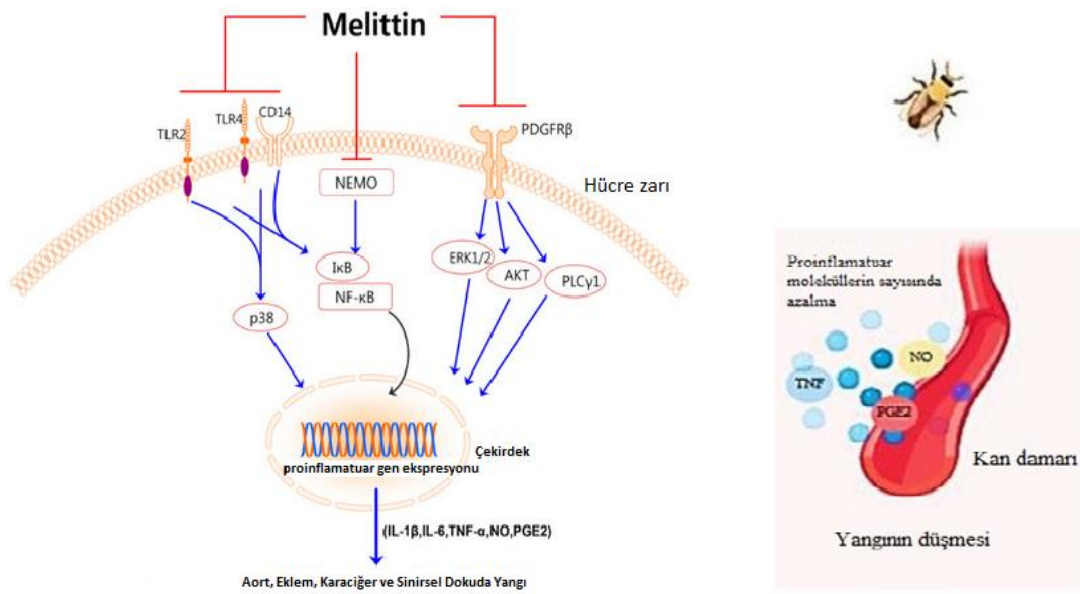
##### **2.1.4.1. Peptitler**

###### **2.1.4.1.1. Melittin**

Alerjenliği nedeniyle Api m4 olarak da adlandırılan Melittin, 26 aminoasitten oluşan katyonik, lineer  $\alpha$ -sarmal bir polipeptittir. Suda çözünür hem hidrofilik hem hidrofobik özelliğe sahiptir. Molekül ağırlığı 2846.5 daltondur. Amino asit dizisi (GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ), kimyasal formülü  $C_{131}H_{229}N_{39}O_{31}$ 'dir ve hidrofobik bir N-ucuna ve bir hidrofilik C-ucuna sahiptir (National Center for Biotechnology Information, 2020b). Ayrıca, melittin'in birkaç izoformu rapor edilmiştir ve kalıntı fragmanları sentezlenmiştir, bunların antimikrobiyal aktivite ile ilgili olabileceği iddia edilmiştir (Abd El-Wahed ve diğerleri 2018; Sun ve diğerleri, 2005). Melittin, arı zehrinin en çok çalışılan bileşiği olduğundan, bir dizi biyolojik özelliği incelenmiştir. Melittinin anti-inflamatuar aktivitesi, çeşitli mekanizmalar tarafından üretilir. Prensip olarak, bu mekanizma,



TLR 2 ve (TLR) 4, CD14 ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü beta'nın bloke edilmesiyle gerçekleşmektedir. Ayrıca melittin, nükleer faktör kappa-B (NF-κB) temel modülatörünün inhibitör etkisine sahiptir. Tüm bu yollar, enflamatuar sitokinler, tümör nekroz faktörleri (TNF), nitrik oksit (NO) veya prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) gibi hücre dışı ortama veya kan damarlarına proinflatuar molekülleri serbest bırakmanın nihai etkisine sahiptir. Bütün bu moleküller dokular üzerinde enfeksiyon etkiler yaratır; bu anlamda, melittinin enfeksiyon süreci üzerinde nasıl etki ettiğine dair bir şema **Şekil 1** de gösterilmektedir (Lee ve Bae, 2016; Carpena ve diğerleri, 2020).



**Şekil 1.** Melittin'in antiinflatuar aktivite için ana mekanizmaları (Lee ve Bae, 2016; Carpena ve diğerleri, 2020): Melittin, TLR2, TLR4, CD14, NEMO ve PDGFRβ sinyal yollarını baskınlıyor. Bu yolları inhibe ederek melittin, p38, ERK1/2, AKT, PLCγ1'in aktivasyonunu ve ayrıca NF-κB'nin çekirdeğe translokasyonunu azaltıyor. Bu inhibisyon cilt, aorta, eklem, karaciğer ve nöronal dokuda azalmış inflamasyon ile sonuçlanır. Kısaltmalar: TLR, ücretli benzeri reseptör; CD, farklılaşma kümesi; NEMO, nükleer faktör kappa-B esansiyel modülatörü; PDGFRβ, Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü beta.

Melittin'in en önemli özelliklerinden biri, biyolojik membranlardaki gözeneklere uyum sağlama kapasitesinden gelen spesifik olmayan sitolitik aktivitesidir. Melittin, hidrofobik bölümü ve pozitif yükü ile anyon lipid membranlarına çekilir (Klocek ve diğerleri, 2009). Daha sonra melittin, hidrofobik etkileşimler yoluyla kendisini lipid membrana sokar. Bu ekleme, güçlü membran dalgalanmaları üretir. Daha sonra bu, melittin'in bazı fosfolipitleri

çekip konumlarını değiştirdiği deforme olmuş bölgeler oluşturur. Bu anda, iki katman arasında bir asimetri yaratılır, bu da membran basıncını değiştirir ve melittin eklenmesi için gereken enerjiyi azaltır. Sonuç olarak, melittinin kümeleşmesi ile membranda geçici gözenekler oluşur (Liu ve diğerleri 2018). Ayrıca, çok sayıda gözenek kombinasyonu, hücrenin parçalanmasını sağlayan fosfolipid çift tabakasını çökertebilir (Gajski ve diğerleri 2013; Lee ve diğerleri 2013). Hücre zarları ile bu etkileşim, sonucu **Tablo 1**'de bahsedilen melittinin antikanser, antimikrobiyal, antifungal ve hemolitik aktivite gibi bazı biyolojik aktiviteleri gerçekleştirdiği düşünölmektedir.

Melittin üzerinde muhtemelen en çok çalışılan anti-inflamatuvar özellikler olsa da diğer etkileri de değerlendirilmiştir. Örneğin melittin, virüs enfeksiyonlarıyla mücadelede alternatif bir yol olma potansiyeline sahiptir. Bu konuda yakın zamanda, in vitro ve in vivo çalışmaları özetleyen ve anti-viral aktivitenin ana mekanizmalarından birinin melittin ile viral zarflar veya kapsid proteinleri arasındaki etkileşim ve dolayısıyla bunların hücrelerle etkileşimi olacağı öne sürölmüştür (Memariani ve diğerleri, 2020). Bu bağlamda, nanopartiköllerle ilişkili melittinin, HIV-1NLHX ve HIV-1 NLYU2 viral suşlarının enfektivitesini inhibe etme ve viral paketi devre dışı bıraktığı gösterilmiştir (Hood ve diğerleri, 2013). Bu aktiviteyi açıklayan bir diğer mekanizma, melittin'in sadece virüs yüzeyi ile değil, aynı zamanda virüsün hedefi, yani konakçı hücrelerin enfektiviteden kaçınması ile de etkileşimidir. Melittin, interferon tip I'in (I-IFN) uyarılmasıyla viral replikasyonu inhibe edebilir; bu nedenle, mükemmel bir ön tedavi yöntemi olabilir. Ayrıca melittin'in zarfsız RNA virüsünde mRNA ekspresyonunu azalttığı bulundu; melittin inoküle edilmiş hücrelerin %50'sinde sitopatik etki oluşturmak için gereken virüs miktarını düşürdüğü gözlemlendi (Uddin ve diğerleri, 2016).

#### **2.1.4.1.2. Apamin**

İki disülfid bağı ile çapraz bağlanmış 18 aminoasitten ve 2111.4 Dalton moleköler ağırlıktan oluşan nörotoksik bir peptittir. Aminoasit dizisi CNCXAPETALCARRCQQH şeklindedir. İki disülfid bağı 1-11 ve 3-15 konumlarını birbirine bağlar (National Center for Biotechnology Information, 2020). Apamin yapısı için farklı modeller olmasına rağmen, farklı pH değerlerinde yüksek stabilite sergileyen bir  $\alpha$  sarmalının konformasyonunun etkili

olduğu gösterilmiştir. Apaminin ilginç bir özelliği, merkezi sinir sistemine (MSS) apamin erişimini sağlayan kan-beyin bariyerinin geçirgenliğidir (Palma, 2013)

Apamin, bir allosterik inhibitör olduğu için sinirlerde sitotoksik ve nosiseptif aktivite kazandırarak  $Ca_2^+$  ile aktive olan  $K^+$  kanallarını bloke etme kapasitesine sahiptir (Lamy ve diğerleri 2010). Ayrıca apamin, nöromusküler iletimi azaltarak motor sinir terminallerindeki inhibitör muskarinik  $M_2$  reseptörlerini aktive edebilir (de Matos Silva ve diğerleri, 2010). Bu nedenle, bu kapasite apamin'e farklı Merkezi Sinir Sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılmasına imkân verir (Gu ve diğerleri 2020). Apamin, MSS üzerindeki etkilerinin yanı sıra, siklooksijenaz-2'nin inhibisyonuna neden olabilen ve TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 ve NO düzeylerini düşürebilen bir anti-inflamatuar ajan olarak da bilinir (Lee ve diğerleri, 2020; Shin ve diğerleri, 2018).

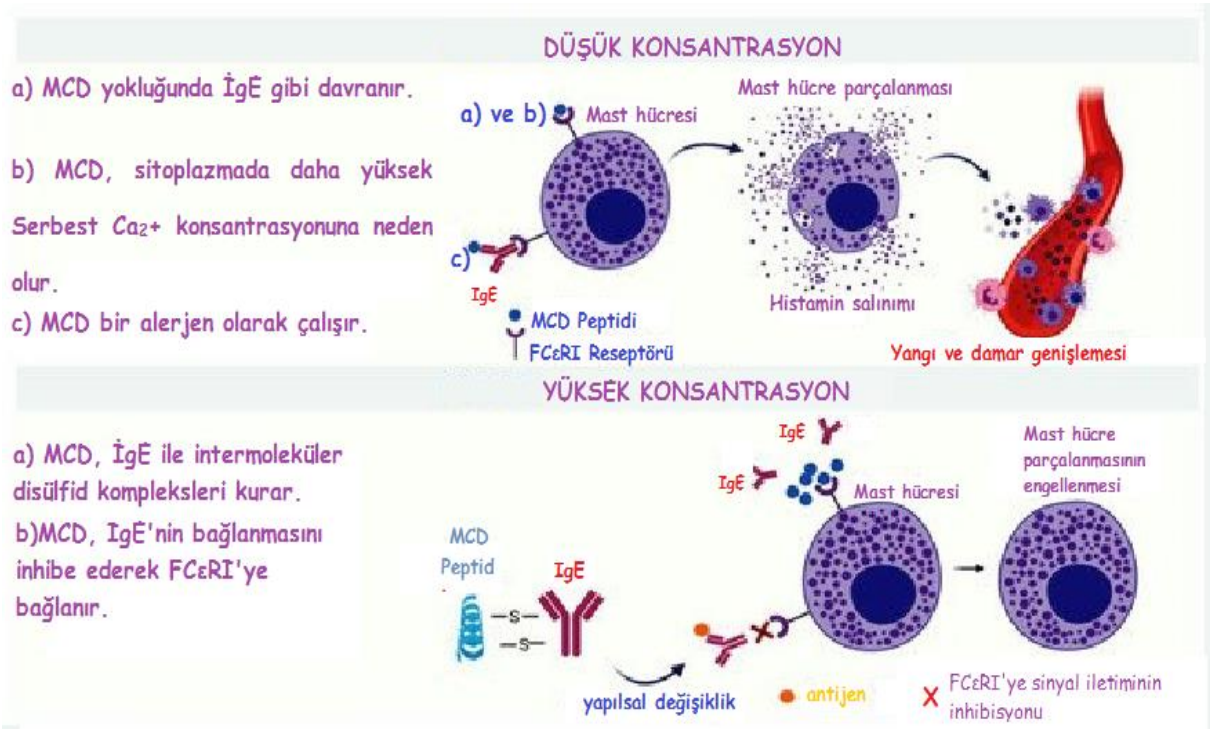
#### **2.1.4.1.3. Mast Hücre Parçalayan Peptit**

Peptit 401 veya Mast Hücre Parçalayan Peptit (MCD), 22 aminoasitten oluşur. 2587.2 daltonluk bir moleküler ağırlığa sahiptir. Aminoasit dizisi IKCNCKRHVIKPHICRKICGKN şeklindedir. Apamine benzer bir ikincil yapıya sahiptir, aminoasit 3'ü 15 ve 5'i 19 ile birleştiren iki disülfid köprüsüne sahiptir, fizyolojik pH'ta net yükü +8'dir (Ziai ve diğerleri, 1990; National Center for Biotechnology Information, 2020c ).

Düşük bir konsantrasyonda, (0.1 mg/mL'den daha az) MCD, immünolojik özelliklere ve AZ'nin tepkisini kolaylaştıran, kızarıklık, enfeksiyon ve sokma bölgesinde lokalize ağrıdan sorumlu olan eşzamanlı histamin salınımı üretir (Buku ve diğerleri 2001; Palma 2013). Bu sürecin farklı şekillerde gerçekleştiği varsayılmıştır. İmmüoglobulin E'nin (IgE) varlığında, MCD peptidi, mast hücrelerinin degranülasyonunu ve histamin salınımını serbest bırakan bir "alerjen" olarak çalıştığı; IgE'nin yokluğunda, bazı MCD gruplarının IgE'nin bağlanma bölgesine benzediği ve bu nedenle mast hücrelerinin yüksek afiniteli IgE reseptörüne (FC $\epsilon$ RI) bağlanarak IgE gibi davranabileceği teorize edilmiştir (Buku, 1999). MCD peptidinin serbest sitoplazmik  $Ca_2^+$  konsantrasyonunu artırarak degranülasyon sürecine aracılık ettiğini belirtmişlerdir (Elieh ve diğerleri, 2018).

Alternatif olarak, yüksek konsantrasyonlarda MCD, bir anti-inflamatuar bileşik görevi görür ve histamin salınımını inhibe eder. MCD peptidi ve IgE'nin, moleküller arası disülfid

komplekslerini durdurabildiği, IgE üzerinde konformasyonel bir değişikliğe neden olduğu ve FCεRI reseptörüne sinyal iletimini inhibe ettiği öne sürülmüştür. MCD'nin bu reseptörlere bağlanarak IgE'nin bağlanmasını engelleyebileceği ve son olarak histamin salınımını önleyebileceği de vurgulanmıştır (Buku ve diğerleri, 2001; Buku ve diğerleri, 2004). Ayrıca, MCD, apamin de olduğu gibi, nöral uyarılabilirlikte bir artış üreten Ca<sub>2+</sub> ile aktive olan K<sup>+</sup> kanallarını bloke etme kapasitesi nedeniyle bir nörotoksin olarak etki gösterebileceği iddia edilmiştir (Pascoal ve diğerleri, 2019; Cornara ve diğerleri, 2017). Konsantrasyonlarına bağlı olarak MCD'nin etkilerinin bir şeması Şekil 2 'te gösterilmektedir



**Şekil 2.** Düşük veya yüksek konsantrasyonda mevcut olduğunda Mast Hücre Degranülasyonu (MCD) peptidinin farklı etkileri (Carpena ve diğerleri, 2020). Düşük bir konsantrasyonda, MCD, mast hücre degranülasyonunu ve histamin salınımını indükleyerek enfeksiyon süreçlerine neden olur. Yüksek konsantrasyonda MCD, mast hücre degranülasyonunu inhibe eder ve bu nedenle anti-inflamatuar etkiler gösterir

#### 2.1.4.1.4. Minör Peptitler

Arı zehrinin ana peptitlerinin (melittin, apamin ve MCD peptit) yanı sıra diğer minör peptitler daha düşük miktarlarda bulunur. AZ peptidi olarak biyolojik etkiler göstermeleri

beklense de bu moleküller üzerindeki araştırmalar oldukça azdır (Lee ve diğerleri, 2016). Secapın, ağırlığı 2866.5 Dalton olan 25 aminoasit kalıntısından oluşur. Aminoasit dizisi YIIDVPPRCPPPGSKFIKNRCRVIVP'dir ve yapısında aminoasit 9'u 20'ye bağlayan bir disülfid köprüsü vardır (Meng ve diğerleri, 2012; National Center for Biotechnology Information, 2020d ). Secapın, AZ bileşiminin yaklaşık %1'ini temsil eder, ama kraliçe arı zehrinde bu oranın daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu peptidin özelliklerini değerlendirmek için geliştirilen çalışmalar sentezlenmiş secapın ile yapılmıştır (Vlasak ve Kreil, 1984). Güçlü nörotoksin karakteri ve antimikrobiyal aktivitesi bildirilmiştir (Hou ve diğerleri, 2014; Lee ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, izomorflarından biri olan secapın-1, anti-fibrinolitik, anti-elastolitik ve anti-mikrobiyal aktiviteler sergileyen serin proteaz inhibitörü benzeri bir peptittir (Lee ve diğerleri, 2016). Benzer şekilde, secapın-2 hiperaljezik ve ödemojenik etkiler göstermiştir (Mourelle ve diğerleri, 2014). Adolapın, 103 amino asit kalıntısına sahip temel bir polipeptittir. Adolapın, prostaglandin sentezini bloke edebildiği ve siklooksijenaz aktivitesini engelleyebildiği için anti-inflamatuar etkiler gösterir (Shkenderov ve Koburova, 1982). Bu nedenle, bu kapasiteler Tablo 1'de belirtilen biyolojik aktiviteleri adolapın'e verir. Ayrıca, adolapın bir analjezik etki üretebilir veya insan trombositlerinden lipoksijenazı inhibe edebilir ve ayrıca PLA<sub>2</sub> ile etkileşime girerek onun inhibisyonuna neden olabilir (Jung ve diğerleri, 2015; Moga ve diğerleri, 2018). Tertiapın, moleküler ağırlığı 2.460 Dalton olan 21 aminoasit kalıntısından oluşan bir peptittir. Aminoasit dizisi, Cys3'ü Cys14'e ve Cys5'i Cys18'e bağlayan iki disülfid köprüsüne sahip ALCNCNRIIPHMCWKKCGKK'dır (Kitamura ve diğerleri, 2000; National Center for Biotechnology Information, 2020). Tertiapın, epitel hücreleri, kalp ve MSS'de eksprese edilen içe doğru doğrultucu potasyum kanalları ile onları bloke ederek etkileşime girer. Bu kanallar miyositlerde önemlidir ve sinüs düğümü disfonksiyonu ile ilişkilidir (Bidaud ve diğerleri, 2020). Bu nedenle, tertiapın bu kanalları modüle etmek için bir araç olarak kullanılır (Cornara ve diğerleri, 2017). Tertiapın, aminoasit dizisinde oksidasyona bağlı kimyasal değişiklikler üreten bir metionine sahiptir. (Jin ve diğerleri, 1999).

Arı zehrinde başka peptitler de rapor edilmiştir. Prokaminler, 5 aminoasitten oluşan küçük peptitlerdir; esas olarak, her ikisi de C-terminalinde histamin varlığı ile karakterize edilen prokamin A ve prokamin B vardır (Peck ve diğerleri, 1974). Minimin, biyolojik aktivitesi hala bilinmeyen, 48-52 aminoasitten oluşan ve moleküler ağırlığı 6000 Dalton olan bir peptittir (Lowy ve diğerleri, 1971). Cardiopep, beta adrenerjik ve anti-aritmik etkiler

göstermiştir (Vick ve diğerleri, 1974). Apideasin, bakteriyostatik bir süreç yoluyla bakterileri öldüren 18 aminoasitten oluşan, prolinden zengin bir antibakteriyel peptittir (Van Vaerenbergh ve diğerleri, 2013). Ancak, bu çalışmaların çoğunun onlarca yıl önce yapıldığı ve daha ileri çalışmaların geliştirilmediği dikkate alınmalıdır.

## 2.1.4.2. Enzimler

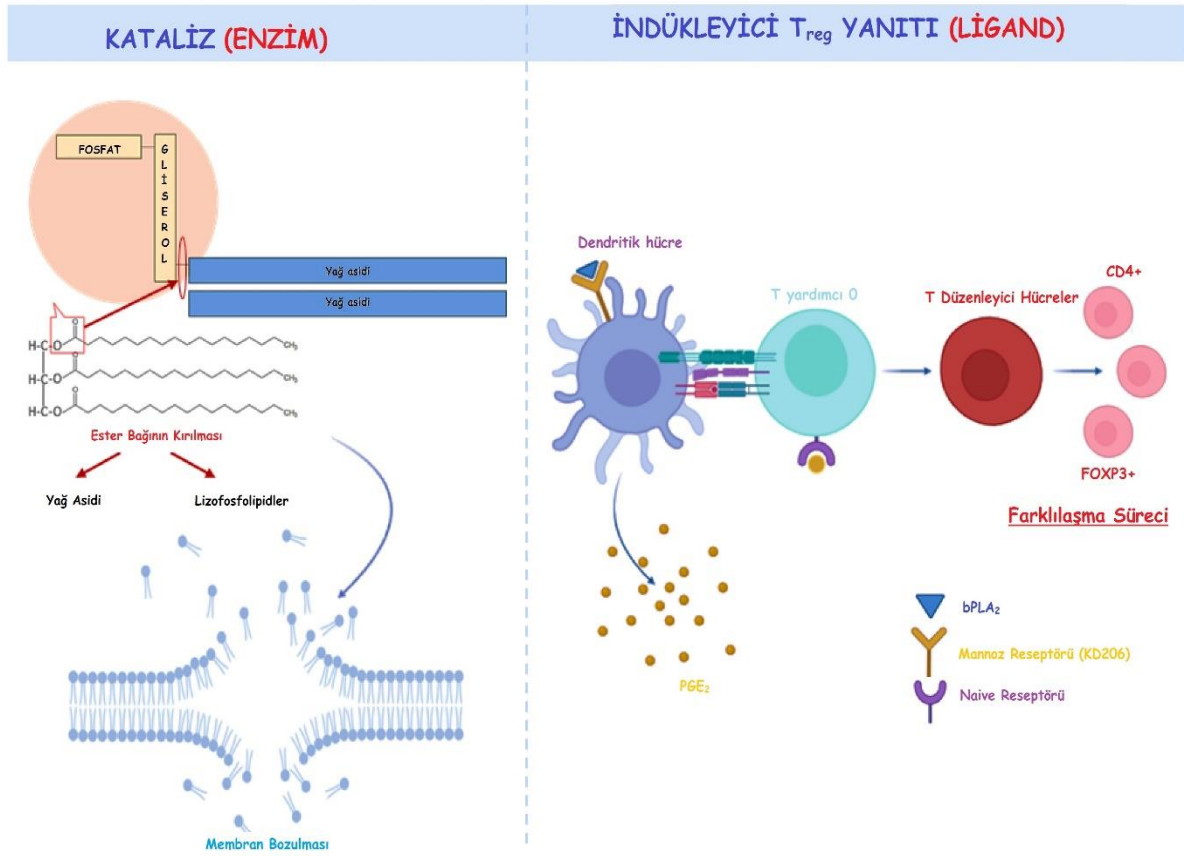
### 2.1.4.2.1. Fosfolipaz A<sub>2</sub>

Fosfolipaz A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) veya Api m1, 15-18 kilo dalton ağırlığında 134 aa tortulu bir polipeptittir. Yapısal stabilitesini korumak için, bu enzimin 9-31, 30-70, 37-63, 61-95 ve 105-113 aminoasit tortularını birleştiren beş disülfid bağı vardır (Welker ve diğerleri, 2011). Doğada geniş bir PLA<sub>2</sub> çeşitliliği vardır, bu nedenle bu enzimler 16 gruba ayrılmıştır. Özellikle arıdan elde edilen PLA<sub>2</sub> (bPLA<sub>2</sub>) grup III'e aittir. Bu enzim grubu kalsiyuma bağımlıdır ve katalitik aktiviteye sahiptir. Ayrıca, bPLA<sub>2</sub>, yüksek oranda korunmuş bir Ca<sub>2</sub><sup>+</sup> bağlama döngüsüne ve katalitik bir His/Asp dyad'ına sahiptir (Dennis ve diğerleri, 2011).

bPLA<sub>2</sub>'nin başlıca katalitik aktivitesi, membran gliserol-3-fosfolipidlerinin sn-2 yağ asil ester bağının hidrolizidir ve bunun sonucu, yağ asitleri ve lizofosfolipidler serbest kalır (Putz ve diğerleri, 2007)(**Şekil 3**). Bu katalitik aktivite, hücre zarı bileşenlerini hidrolize eder ve sindirir, onu destabilize eder, çökmeye veya daha fazla bozunmaya duyarlı hale getirir (Kudo ve diğerleri, 2020). PLA<sub>2</sub>, membran bozulması yoluyla kanser hücrelerine karşı yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Putz ve diğerleri, 2007). Membranların bozulması ayrıca aPLA<sub>2</sub>'ye antimikrobiyal aktivite sağlar (Perumal Samy ve diğerleri, 2007). Ayrıca bPLA<sub>2</sub>, endoplazmik retikulumdan türetilen lipit çift katmanlı zarflarla virüslere karşı antiviral aktivite sunar (Chen ve diğerleri, 2017).

Aynı zamanda bPLA<sub>2</sub> spesifik reseptörler için bir ligand görevi görebilir; spesifik membran reseptörlerine bağlanabilir ve enzimatik aktivitelerinden bağımsız olarak hücrel sinyaller üretebilir (Lee ve Bae, 2016). bPLA<sub>2</sub> için tanımlanmış iki tip reseptör vardır: M-tipi ve N-tipi. M tipi reseptörler iskelet kası hücrelerinde bulunurken, sıçan beyin zarında N tipi

reseptörler tespit edilmiştir (Lambeau ve diğerleri, 1990; Lambeau ve diğerleri, 1989). N-tipi reseptörler, bPLA<sub>2</sub>'nin nörotoksik aktivitesi ile ilişkilidir (Nicolas ve diğerleri, 1997).



**Şekil 3.** PLA<sub>2</sub>'nin çifte davranışı (Carpena ve diğerleri, 2020). Bu enzim, enzim veya ligand olarak hareket etme yeteneğine sahiptir. Bir enzim olarak membran bozulmasına neden olur ve antimikrobiyal ve sitotoksik etkiler gösterebilir. Bir ligand olarak hücreSEL sinyaller üretir ve bağışıklık tepkisini modüle eder.

bPLA<sub>2</sub> genellikle AZ'nin ana alerjeni olarak kabul edilir ve Foxp3 ekspresyonunu yukarı regüle edebilir. Böylece PGE<sub>2</sub> salınımı ile düzenleyici T (Treg) hücre farklılaşmasını teşvik edebilir. Bu özelliğiyle bPLA<sub>2</sub>'yi anti-inflamatuar etkilere aracılık ettikleri için nöroinflammatuar hastalıklar için alternatif bir tedavi olarak önerilmektedir (Lee ve Bae, 2016; Chung ve diğerleri, 2015). Bu düzenlenmiş ekspresyon yolunun bir temsili Şekil 3'te (Lee ve Bae, 2016; Baek ve diğerleri, 2020) gösterilmektedir. Bu Treg ekspresyonunun apoptotik sinyali modüle ettiği iddia edilmiş ve bu nedenle immünomodülatör özelliklere sahip olduğu öne sürülmüştür. (Baek ve diğerleri, 2020). Bu arada, bPLA<sub>2</sub>, T hücrelerinde MyD88 ekspresyonuna bağlı olan bir T yardımcı tip-2 (Th<sub>2</sub>) yanıtını indükleyerek AZ maruziyetine karşı bir immün koruyucu olarak rol oynayabilir (Palm ve diğerleri, 2013).

#### **2.1.4.2.2. Hiyalüronidaz**

Hiyalüronidaz veya Api m2, disülfid köprüsüne sahip 350 aminoasit kalıntısından oluşur. Bu enzimin ana faaliyeti, farklı dokuların hücre dışı matrisindeki hyaluronik asidin bozulmasıyla zehir bileşenlerinin kan dolaşımına nüfuz etmesine yardımcı olmaktır (Marković ve diğerleri, 2000). Bu kapasite, zehrin genişlemesine yardımcı olması için enzime yaygın olarak “yayılma faktörü” adını verir. Ayrıca hiyalüronidaz, gözenek oluşumu, membran bozulması ve mast hücre degranülasyonu oluşturma gibi zehir etkisi ile ilgili başka aktivitelere de sahiptir (Dos Santos-Pinto ve diğerleri, 2018).

#### **2.1.4.2.3. Diğer Enzimler**

Asit fosfataz veya Api m3, dört glikozilasyon bölgesi olan bir glikoproteindir (Hossen ve diğerleri 2016; Grunwald ve diğerleri, 2006). Asit fosfataz aktiviteleri, onu asit fosfatazların geri kalanından ayıran RHGXRSP motifleri ile karakterize edilir. Asit fosfataz, histamin salınımına neden olur ve immünoterapide kullanılabilen spesifik IgE üretir (Hossen ve diğerleri 2016). Dipeptidil peptidaz IV (DPIV) veya Api m5, 102 kilodalton'luk bir molekül ağırlığına sahiptir (Blank ve diğerleri, 2010). DPIV, N-terminal Xaa-Pro veya Xaa-Ala dipeptitlerini parçalama kapasitesine sahiptir ve protoksinlerin aktif formlarına dönüştürülmesi ile ilgilidir (Blank ve diğerleri, 2010; Dos Santos-Pinto ve diğerleri 2018). Vitellogenin veya Api m12, AZ'de en yüksek molekül ağırlığına, 200 kilodaltona sahip moleküldür (Dos Santos-Pinto ve diğerleri, 2018). Ayrıca, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteler göstermiştir (Park ve diğerleri, 2018).

### **2.1.5 Arı Zehrinin Biyolojik Aktiviteleri**

#### **2.1.5.1 Antioksidan Aktivite**



AZ'de antioksidan aktivitenin etkinliği genellikle melittin, PLA<sub>2</sub> ve apamin konsantrasyonu ile ilgilidir. Antioksidan etkilere, bu bileşiklerin lipid peroksidasyon sürecini inhibe etme ve süperoksidaz dismutaz aktivitesini artırma kapasitesi neden olabilir (Sobral ve diğerleri, 2016). Ancak bunların dışında AZ'de antioksidan aktiviteye sahip başka bileşenler de vardır. Örneğin, vitellogenin, hücreyi oksidatif strese karşı doğrudan koruma mekanizması ve hücrelere reaktif oksijen türlerine karşı koruma sağlayarak memeli hücrelerinde antioksidan aktivite gösterir (Park ve diğerleri, 2018).

### **2.1.5.2 Antimikrobiyal etkinlik**

Arı zehrinin antimikrobiyal özellikleri özellikle melittin üzerine yoğunlaşmıştır ( Tablo 3 ). AZ'nin antimikrobiyal aktivitesi esas olarak antimikrobiyal peptit melittin'den ileri gelir. Melittin'in antimikrobiyal etkisinin ana mekanizması, biyolojik zarları parçalama kapasitesi ile ilgilidir. Öte yandan, PLA<sub>2</sub>'nin da antimikrobiyal aktivitesi bulunmaktadır (Issam ve diğerleri, 2015). Ayrıca, diğer bileşenlerinin de antimikrobiyal etkisi vardır; örneğin, vitellogenin, bakterilerin hücre zarlarında hasara neden olan bir antimikrobiyal peptit görevi görür (Park ve diğerleri, 2018). Tablo 3'te görüldüğü gibi, melittinin Gram + ve Gram – bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi ile birlikte Candida cinsine ait olanlar gibi bazı türlere karşı antifungal etkileri olduğu da saptanmıştır (Issam ve diğerleri 2015; Memariani ve diğerleri, 2020). Sekapin gibi diğer bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal etkileri kanıtlanmıştır (Lee ve diğerleri, 2016).

**Tablo 3.** Biyolojik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi (Issam ve diğerleri, 2015)

<b>BİLEŞEN</b>	<b>ORGANİZMA</b>	<b>ETKİN DOZ (µg/mL)</b>	<b>BİLEŞEN</b>	<b>ORGANİZMA</b>	<b>ETKİN DOZ (µg/mL)</b>
AZ	Acinetobacter baumannii BAA	MIK 30	Melittin	Acinetobacter baumannii BAA	IK 30
AZ	Bacillus subtilis	MIK 8	Melittin	Candida krusei	MIK 30
AZ	Candida albicans	MIK 60	Melittin	Candida krusei	MIK 30
AZ	Candida krusei	MIK 60	Melittin	Escherichia coli	MIK 30
AZ	Candida parapsilosis	MIK 60	Melittin	Streptococcus pyogenes	MIK 10
AZ	Clindamycin-resistant P. acnes	MIK 0.067	Melittin	Staphylococcus aureus Amme	MIK 6
AZ	Enterococcus casseliflavus	MIK 10	Melittin	Streptococcus agalactiae	MIK 30
AZ	Escherichia coli	MIK 60	Melittin	MRSA	MIK 10
AZ	Klebsiella pneumoniae	MIK 30	Melittin	Bacillus subtilis	MIK 6
AZ	MRSA	MIK 60	Melittin	Klebsiella oxytoca	MIK 60
AZ	Propionibacterium acnes	MIK 0.086	Melittin	Staphylococcus aureus BAA	MIK 8
AZ	Shigella flexneri	MIK 60	Melittin	Staphylococcus aureus	MIK 10
AZ	Staphylococcus aureus	MIK 10	Melittin	Staphylococcus saprophyticus	MIK 10
AZ	Staphylococcus aureus Amme	MIK 60	Melittin	Staphylococcus aureus Amme	MIK 6
AZ	Staphylococcus aureus BAA	MIK 30	Melittin	Candida	MIK 9.961
AZ	Staphylococcus epidermidis	MIK 0.104	Melittin	Staphylococcus epidermidis	MIK 10
AZ	Staphylococcus epidermidis	MIK 60	Melittin	Lactobacillus casei	MIK 4
AZ	Staphylococcus saprophyticus	MIK 10	Melittin	Enterococcus faecalis	MIK 6
AZ	Streptococcus agalactiae	MIK 40	Melittin	Candida krusei	MIK 30
AZ	Streptococcus pyogenes	MIK 0.121	Melittin	Listeria monocytogenes	MIK 12.5
AZ	Streptococcus thermophilus	MIK 30	Melittin	Escherichia coli	MIK 56.92
PLA <sub>2</sub>	Citrobacter freundii	MBK 1000	Melittin	Staphylococcus aureus	MIK 8.5
PLA <sub>2</sub>	Enterobacter cloacae	MBK 10000	Melittin	Staphylococcus aureus amme	MIK 6
PLA <sub>2</sub>	Escherichia coli	MBK 10000	Melittin	Enterococcus casseliflavus	MIK 8
PLA <sub>2</sub>	Lactobacillus casei	MBK 400	Melittin	Enterococcus faecalis VanB	MIK 50

PLA <sub>2</sub>	Trypanosoma brucei	MBK 1	Melittin	Enterococcus faecalis	MIK 30
------------------	--------------------	-------	----------	-----------------------	--------

MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon, MBK: minimum bakterisidal konsantrasyon

Arı zehri ve özellikle melittin, hücre zarlarını parçalama ve yüzeysel hücre molekülleri ile etkileşime girmektedir. Bu özelliği, antiviral tedavide kullanma potansiyeli de gösterebilir. Hayvan ve bitki virüslerinde yapılan çalışmalar, AZ'nin potansiyel antiviral aktivitesi olduğunu göstermiştir (Marcos ve diğerleri, 1995; Wachinger ve diğerleri, 1992). AZ, Yeşil Floresan Protein ile kaynaşmış Veziküler Stomatit Virüsüne (VSV-YFP) karşı değerlendirilmiş ve AZ'nin virüsün replikasyonunu inhibe ettiğini gösterilmiştir. Ayrıca melittin, litik kapasitesi ile zarflı virüse karşı antiviral etkiler sergilemiştir. Melittin, influenza A virüsüne (PR8), veziküler stomatit virüsüne (VSV), solunum sinsityal virüsüne (SSV) ve 21majör21 simpleks virüsüne (HSV) karşı antiviral etkileri rapor edilirken, enterovirüs-71 (EV-71) ve Coxsackie virüsü (H3) gibi viral membranı olmayan virüslere karşı da antiviral etkiler sergilemiştir. (Uddin ve diğerleri, 2016). Trypanosoma brucei veya Plasmodium falciparum gibi bazı organizmalara karşı tedavide AZ'nin ve özellikle PLA<sub>2</sub>'nin bir antiparaziter ajan olarak kullanılması da önerilmiştir. (Boutrin ve diğerleri, 2008; Dacheux ve diğerleri, 2019)

### 2.1.5.3 Anti-inflamatuar Aktivite

Anti-inflamatuar özellikler sunan en az dört ana AZ bileşiği vardır. Melittinin anti-inflamatuar aktivitesi akne vulgaris, nöroinflamasyon, amyotrofik lateral skleroz, ateroskleroz, artrit ve karaciğer iltihabına karşı test edilmiştir (Lee ve diğerleri, 2016).

Son çalışmalarda, AZ'nin atopik dermatite karşı topikal bir uygulama yolu ile anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Anti-inflamatuar etki, IgE seviyesinin, sitokin salınımının ve NF-kB ve MAP kinaz aktivitelerinin azalmasından kaynaklanır. NF-kB ve MAPK aktivitelerindeki azalma, lipopolisakkaritlerin (LPS) indüklediği inflamatuvar yanıtların ve TNF-a/IFN-y'ye bağlı inflamatuvar yanıtın inhibisyonunu oluşturur. Ayrıca, MAPK aktivitesindeki bir azalma, sitokin salınımında ve her ikisi de inflamatuvar gen olan COX-2 ve iNOS gibi genlerin ekspresyonunda değişiklikler üreten NF-kB sinyallerinin düzenlenmesini etkiler (Jin ve diğerleri, 2009; Ozturk ve diğerleri, 2017). Bu nedenle inflamasyonun azalması atopik dermatitin neden olduğu cilt hasarını azaltır.

Romatizmal eklem iltihabı (Romatoid artrit), ülkeye bağlı olarak prevalansı %0,2 ile %0,9 arasında olan en yaygın inflamatuvar patolojilerden biridir (Otón ve Carmona, 2019). AZ'nin indüklenmiş artritli sıçanlarda etkilerini gösteren bir çalışmada olduğu gibi, AZ'nin artrite karşı tıbbi özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Lee ve diğerleri, 2005). Tedaviye en iyi yanıtı veren grup, 15 gün boyunca deri altından uygulanan 2 mg/kg AZ ile tedavi edilen grup olmuştur (Kocyigit ve diğerleri, 2019). Bu AZ dozu, karaciğer ve böbrek fonksiyonunu değiştirmemiştir. Bu grubun, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF-a ve TGF-21 gibi inflamatuvar sitokin seviyeleri pozitif kontrolden daha düşük bulunmuştur. Proinflamatuvar sitokinlerdeki bu azalmanın, PLA<sub>2</sub>'nin romatoid artritdeki başlıca inflamatuvar tetikleyicilerden biri olması ve melittin bir melittin-PLA<sub>2</sub> kompleksine uyum sağlayabildiği için PLA<sub>2</sub>'nin proinflamatuvar aktivitesinin inhibisyonuna neden olabileceği sonucu çıkarılmıştır (Kocyigit ve diğerleri, 2019; Kwon ve diğerleri, 2001)

Bir diğer önemli inflamatuvar hastalık gut artritidir. Gut, eklem içi boşlukta monosodyum urat kristallerinin birikmesiyle ortaya çıkar ve inflamasyona neden olur (Lee ve diğerleri, 2020; Davies ve diğerleri, 2019). AZ ve apaminin (0.5 ve 1 mg/kg) intraperitoneal ve oral yoldan uygulanması, sadece inflamatuvar sitokinlerde bir azalma göstermekle kalmamış, aynı zamanda indüklenmiş gutlu farelerde pençe ödemi ve ağrıyı da ortadan kaldırmıştır. Bu, NF-kB ve NLRP3 inflamasyonunun baskılanmasıyla üretilen düşük inflamasyona bir yanıt olabileceği düşünülmüştür (Lee ve diğerleri, 2020b).

#### **2.1.5.4 Nöroprotektif Etkiler**

Nörodejeneratif bozukluklar, glia hücrelerinin ve mikroglialın kronik aktivasyonunun nöroinflamasyonu ile bağlantılıdır. En önemli nöronal hastalıklardan bazıları Parkinson, Alzheimer hastalığı (AH) ve amyotrofik lateral sklerozdur (Pascoal ve diğerleri, 2019). PLA<sub>2</sub> ve apamin gibi AZ'nin bazı bileşenleri, nörodejeneratif bozukluklara karşı bazı ilaçların etkinliğini artırmak için anti-nöroinflamasyon ajanları olarak çalışılmıştır (Mohammadi-Rad ve diğerleri, 2019).

bPLA<sub>2</sub> Treg popülasyonunu artırma, mikroglial aktivasyonu baskılama ve anti-inflamatuvar ve anti-immün yanıtla ilgili koruyucu etkilere sahip olma kapasitesi araştırmalarla gösterilmiştir (Chung ve diğerleri, 2012; Kim ve diğerleri, 2015; Ye ve diğerleri, 2016). Bu

nedenle PLA<sub>2</sub>, in vitro ve in vivo olarak Alzheimer hastalığına karşı test edilmiştir. AH klinik etkilerini simüle etmek için fareler, proinflamatuvar reaksiyonları uyaran, hafıza işlev bozukluğuna yol açan, amiloid beta üreten ve astrositleri ve mikroglial hücreleri aktive eden Lipopolisakkarit ile sistemik tedavi ile tedavi edilmiştir (Ham ve diğerleri,2019; Badshah ve diğerleri, 2016). 0.2 ve 2 mg/kg PLA<sub>2</sub> ile intraperitoneal enjeksiyon yoluyla tedavi edilen ve lipopolisakkarit ile uyarılan farelerde sonuçlar umut verici bulunmuştur. PLA<sub>2</sub>'nin uygulanmasının, amiloid öncü protein, COX-2, Bace1 ve iNOS gibi amiloidojenik ve inflamatuvar proteinlerin ekspresyonunu azalttığı; hem in vivo hem de in vitro olarak GFAP ve IBA-1 ekspresyonunu ve inflamatuvar sitokin salınımını inhibe ettiği rapor edilmiştir (Lee ve diğerleri, 2014; Ham ve diğerleri 2019).

Parkinson hastalığı (PH) en önemli nörodejeneratif hastalıklardan biridir, 65 yaş üstü 100 kişiden 3'ünde PH vardır (De Lau ve diğerleri, 2004). Yakın tarihli bir çalışmada, %78 bPLA<sub>2</sub> ve %15 melittin karışımı farelerde PH'ye karşı test edilmiştir. Farelerde PH'yi başlatmak için 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin modeli kullanılmıştır. Sonuçlar, bPLA<sub>2</sub>'nin Treg hücrelerinin aktivasyonu ile enfeksiyonu azalttığını göstermiştir. Ayrıca, bPLA<sub>2</sub> aktivitesi dopaminerjik hücre kaybı seviyelerini düşürmüştür. PLA<sub>2</sub>'nin PH'de dopaminerjik hücrelerin hayatta kalmasını artırmak için potansiyel bir ilaç olabileceği kanısına varılmıştır (Kim ve diğerleri, 2019).

#### **2.1.5.5. Antitümör Etkileri**

Antitümör özelliklere sahip doğal ürünler arayışı son yıllarda çok yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Bu araştırmaların temel amacı, tümör hücresi büyümesi ve metastazına karşı inhibitör aktiviteye sahip ve apoptozu indükleyebilen ve kontrol edebilen ürünler bulmaktır. Çeşitli çalışmalar, AZ ve bileşenlerinin, apoptoz indüksiyonu ve nekrozu ve farklı tümör hücrelerinin büyüme inhibisyonu gibi bu özelliklerden bazılarını sahip olduğu bildirmiştir (Ho ve diğerleri, 2010; Park ve diğerleri, 2011; Qin ve diğerleri, 2016; Yang ve diğerleri, 2014; Hu ve diğerleri, 2006; Jang ve diğerleri, 2003). AZ'de antitümör etkiler gösteren ana bileşenler melittin ve PLA<sub>2</sub>'dir. (Oršolić, 2012).

Kansere karşı apoptotik aktivite, tümör hücresi büyümesini azaltmak için en çekici aktivitedir. Melittin, AZ'nin tümör hücrelerine karşı diğer bileşenlere göre daha yüksek

sitotoksik aktiviteye sahiptir. Melittinin anti-kanser etkisini gösteren ilk çalışmada, kanser hücrelerinin apoptozunun lösemik hücrelerde kalmodulin inhibisyonu ile oluştuğu gösterilmiştir. Bu inhibisyona,  $Ca_2^+$  konsantrasyonunda büyük bir artış üreten  $Ca_2^+$  kanallarının pompa aktivitesi neden olduğu ve sonuç olarak hücre ölümünü indüklediği ileri sürülmüştür (Hait ve diğerleri, 1985).

Kanda murin Lewis akciğer karsinomu olan farelerde, melittin, apoptoz olmadan tümör hücrelerinin çoğalmasını azaltmıştır. Melittin ile tedavi, tümörle ilişkili makrofajların (TAM), özellikle tümör stromasındaki  $CD206^+ M_2$  benzeri TAM'lerin sayısını azaltmıştır.  $CD206^+ M_2$ -benzeri TAM'lerdeki azalma nedeniyle tümör dokularındaki  $VEGF^+$  ve  $CD31^+$  hücrelerinin sayısının düştüğü rapor edilmiştir. Bu bağlamda, melittinin anti-anjiyogenik etkisinin olduğu iddia edilmiştir (Lee ve diğerleri, 2017). Kanser hücresindeki sitotoksik etkileri aynı zamanda melittin'in fosfolipidik membranlarla etkileşime girme yeteneği ile ilgilidir. Bu etkileşim, hücrelerin parçalanmasına neden olup hücre zarını çökertebilen gözenekler üretir (Liu ve diğerleri, 2018; Gajski ve diğerleri, 2013). Melittinin bu etkisi mide ve kolorektal kanser hücre hattında incelenmiştir. 20  $\mu g/mL$  melittin uygulanan kanser hücrelerinde bir dakika içinde granülasyon, kabarcıklanma ve hücrelerde şişme meydana gelmiş, 15 dakika sonra tam ölüm gerçekleşmiştir (Soliman ve diğerleri, 2019). Ancak bu litik etki kanser hücrelerine özgü değildir ve diğer sağlıklı hücrelerin parçalanmasına neden olduğu görülmüştür. Bu bağlamda hedef hücrelerde melittinin etkisini sınırlamak için nanopartiküller gibi taşıyıcıların kullanılması önerilmektedir. Bir çalışmada, melittin ile nanografen oksit ve melittinin nano elmaslarla ilişkisi meme kanserine karşı incelenmiştir. Nano elmaslı melittininin, sağlıklı hücreleri melittin'in litik etkisine karşı koruyabildiği, nekroz oluşumunu azalttığı gözlenmiştir (Daniluk ve diğerleri, 2019).

#### **2.1.5.6. Klinik Uygulamalar**

Arı zehrinin uyguladığı tüm biyolojik aktiviteler ve aracı olarak hareket edebileceği süreçler göz önüne alındığında, kullanımının terapötik amaçlara ulaşması şaşırtıcı olmayacaktır. Geleneksel olarak AZ, anti-inflamatuar, anti-apoptoz, anti-fibroz ve anti-artroskleroz etkileri ile bilinir, ancak daha yakın zamanlarda diğer yaklaşımlar da

nörodejeneratif ve dolaşım hastalıkları üzerindeki etkisi olduğu vurgulanmıştır (Zhang ve diğerleri, 2018).

Arı zehri ilk olarak terapi amacıyla doğrudan arı sokması, AZ enjeksiyonu veya AZ akupunktur (aynı zamanda apiterapi olarak da adlandırılır) şeklinde uygulanmıştır (Zhang ve diğerleri, 2018; Kwon ve diğerleri, 2001). Apiterapi tıpta geleneksel olarak kullanılmaktadır, ancak bu disiplinle ilgili bilimsel çalışmalar daha az yaygındır. Bu bağlamda ve AZ'nin terapötik potansiyelini değerlendirmek amacıyla, insanlarda yapılan bir çalışma, yetişkinlerin haftada iki kez 8 gün boyunca 10 akupunktur noktasında uyarıldığında hem akupunkturun hem de AZ akupunkturun Parkinson hastalığı tedavisinde adjuvan olarak etkinlik gösterdiği saptanmıştır (Cho ve diğerleri, 2012; Park ve diğerleri, 2017). Ağrı ve antinoseptif etkiler açısından, bir çalışmada 0.25 mg/kg AZ enjeksiyonu ile artrite bağlı inflamatuvar ağrı eşiğinin üç hafta sonra düşürüldüğünü gösterilmiştir (Baek ve diğerleri, 2006)

Arı zehrinin etkinliğine ilişkin in vitro ve in vivo birçok araştırma yapılmıştır, in vivo çalışmaların etkinliği gerçeğe daha yakın olduğu için büyük önem taşımaktadır. AZ'nin In vivo deneylerden bazıları örneğin, amyotrofik lateral skleroz (Cai ve diğerleri, 2015) kronik prostatit (Lin ve diğerleri, 2017), gut artriti (Lee ve diğerleri, 2020a) farelerde, sıçanlarda veya murin modellerinde geliştirilmiştir. Öte yandan, daha az olmasına rağmen insanlarda da çalışmalar yapılmıştır ve bazen çeşitli ve çelişkili sonuçlar vermektedir. Örneğin, 2012'de geliştirilen bir çalışma, AZ akupunkturunun uygulanmasıyla bir iyileşme bildirmiştir (Cho ve diğerleri, 2012). Bir başka çalışmada ise 11 ay boyunca ayda bir AZ enjeksiyonu ile yapılan bir deney, plaseboya kıyasla önemli bir etki göstermemiştir (Hartmann ve diğerleri, 2016).

### **2.1.6. Arı Zehri Üretimi ve Depolama**

Arı zehri üretiminde genel olarak kullanılan 2 yöntem bulunur. İlk yöntem geleneksel tıbbın egemen olduğu yer ve zamanlarda, cerrahi yöntemle zehir bezinin çıkarılması ya da arının zehrini boşaltana kadar sıkılması şeklindedir. Eski bir yöntem olmakla birlikte tek tek arılardan zehir toplandığı için pek tercih edilmemektedir (Korkmaz ve Korkmaz 2015).

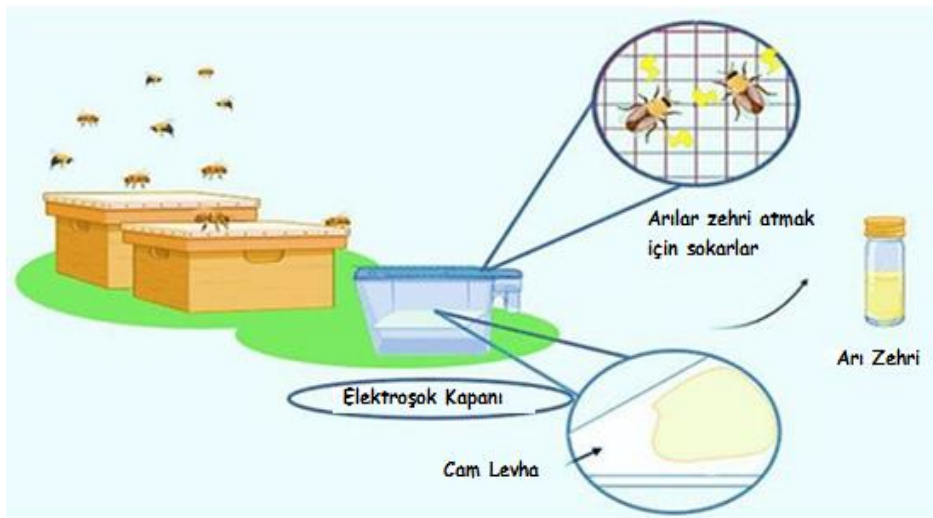
İkinci yöntem arıya elektrik şoku uygulamasıdır. En verimli, yaygın kullanılan bir tekniktir. Darbeli akımın arılar üzerindeki sinir bozucu etkisinden yararlanır. Bu teknikte 12 voltluk gerilim ile toplanan zehir cam levhadan bir süre sonra opak bir toz halinde kazanır.

Optimal parametrelerle bu tür tahrişin arıların ölümüne neden olmadığı belirlenmiştir. Uzmanlara göre elektroşok yöntemi ile arılardan zehir almak için en uygun saatler sabahın erken saatleri, arıların kovandan çıkmadan önceki iki saattir. Arıların stimülasyona maruz kalma süreleri, hava koşulları, arıların ırk/ekotipleri, fizyolojik durumları koloni güçleri, zehir alıcı cihaz sayısı ve tasarımı dikkate alınarak seçilen tahriş parametreleri yarım saat ile 2 saat arasındadır. Bal toplama döneminde arılardan zehir alınmaz. Optimal koşullarda bir stimülasyon için arılardan 1-5 grama kadar ürün alınabilir (Bulut, 2020; Özbek 1990).

Fazla miktarda AZ'nin toplanması oldukça zordur çünkü tek bir arı çok az miktarda zehir içerir ve onu çıkarmak için arının sokması gerekir. Bu sorunu çözmek için, 1954'te Markovic ve Molnar, elektroşoklar kullandılar (Benton ve diğerleri 1963). Yöntemin etkinliği, arının kovan ve arıların sağlığı üzerinde minimum etkiyle zehri toplamasını sağlayan tuzakların geliştirilmesini motive etti (Bicudo ve diğerleri, 2020). Günümüzde kullanılan modern teknikler ve tuzaklar, Benton ve ark. 1963 yılında geliştirdikleri yöntemden türetilmiştir. Şokun şiddeti, arıların sokacağı malzeme, şokun süresi ve şoklar arasındaki süreler işlemin etkinliği açısından oldukça önemlidir (Krell, 1996).

Laboratuvar deneyleri açısından, AZ, rezervuar bozma ve/veya manuel sağım yoluyla ekstrakte edilirken, daha fazla AZ gerektiğinde, elektroşok kapanları kullanılır (Şekil 4). Zehir kesesinden cerrahi olarak çıkarılarak toplanan zehir ile elektroşok yöntemi kullanılarak toplanan zehirden farklı protein içeriğine sahiptir (Hsiang ve Elliot, 1975). Bu sebeple zehirde bulunan uçucu bileşenlerin kaybını önlemek için elektroşok toplama aleti ile soğutma sistemini birlikte kullanılır (Gunnison,1966).

Şekil 4'de,AZ toplama sürecinin temsili bir şeması bulunmaktadır.





**Şekil 4.** Bir elektroşok kapanı kullanarak tipik arı zehri toplama şeması ve süreç akışı. Arılar bir elektrik akımına tabi tutulur ve sonuç olarak bir cam tabakta toplanan zehri dışarı atar ve daha sonra işlenmek üzere şişelere aktarılır.

Manuel sağım veya elektrik stimülasyonundan ardından su/tampon yeniden süspansiyonundan elde edilen kurutulmuş zehir veya zehir ekstraktları, birkaç hafta boyunca iyice kapatılmış koyu renkli bir şişede buzdolabında saklanabilir (Krell, 1996). %10 gliserol ilavesinin enzimatik aktiviteleri korumak için iyi bir strateji olduğu kanıtlanmıştır (Brochetto-Braga ve diğerleri, 2005). Depolama süresini uzatmak için (birkaç ay), hem kuru zehir hem de zehir ekstraktları çok iyi kapatılmış amber şişelerde saklanmalı, ancak -80 °C'de dondurulmalıdır. Arı zehrinin bütünlüğü, taze disseke edilmiş zehir rezervuarlarının düşük sıcaklıklarda liyofilizasyonu ve ardından bunların altı aya (-20 °C) veya yıla (-80 °C) kadar dondurulmasıyla da korunabilir (De Graff ve diğerleri, 2021).

Arı zehrinin geleneksel uygulama yolu, doğrudan uygulama, yani canlı arılar tarafından sokulmadır. Alternatif olarak, arı sokması, akupunktur iğneleri ile dolaylı bir uygulama veya doğrudan enfeksiyonlu bölgeye bir AZ enjeksiyonu ile de simüle edilebilir (Grassberger ve diğerleri, 2013) Öte yandan, daha pratik olduğu için inhalasyon, iyontoforez veya merhemler gibi diğer uygulama yolları da kullanılmaktadır (Grassberger ve diğerleri, 2013). Günümüzde birçok patolojik durumların tedavisinde AZ, destekleyici bir ajan olarak yararlanılmaktadır; hem in vitro hem de in vivo çalışmalarla olası terapötik etkilerinin araştırılması teşvik edilmektedir (Zhang ve diğerleri, 2018).

## **2.2 Atopik Dermatit**

Atopik dermatit (AD), egzamatöz, kuru ve çatlamış cilt ile karakterize yaygın bir kronik inflamatuvar ve kaşıntılı deri hastalığıdır (Leung ve Guttman-Yassky, 2014; Schlapbach ve Simon, 2014). Cilt bariyerini etkileyen genetik faktörlerin, çevresel faktörlerin ve immünolojik yanıtın bir kombinasyonunu içeren yaygın, kronik ve karmaşık bir deri iltihabı olan AD, çocukların yaklaşık %15-20'sini ve yetişkinlerin %1-3'ünü etkiler; etkilenenlerin %95'inde 5 yaşın altında erken başlangıç görülür (Nutten, 2015; Thomsen, 2014). Hastaların yaklaşık %50'sinde yaşamın ilk yılında başka alerjik semptomlar gelişebilir ve AD'den etkilenen çocukların yaklaşık %60'ında atopik yürüyüş olarak tanımlanan bir süreçte başka atopik ek hastalıklar gelişir (Nutten, 2015). AD, ilgili komorbidite olan gıda alerjisi, alerjik

astım ve alerjik rino-konjonktivit dahil olmak üzere atopik bozuklukların spektrumuna aittir (Silverberg, 2019). Bununla birlikte, hastalığın erken başlangıcı, filagrin geni (FLG) mutasyonları, gıda alerjileri ve sensitizasyon gibi birden çok faktöre sahip şiddetli AD'nin varlığı, durumun yetişkinlikte de devam etmesine neden olabilir (Bantz ve diğerleri, 2014). Son on yıllarda AD yakalanma sıklığı, sanayileşmiş dünyada 2-3 kat artmış olabileceği düşünülmektedir (Nutten, 2015). AD yaygınlığı, dünya çapında etkilenen tahmini 230 milyon hastaya göre değişmektedir (Tsai ve diğerleri, 2019). Dünya genelinde AD yaygınlığı %0,3-20,5 arasında değişmekte olup, ülkeler arasında 60 kata varan farklılık görülebilmektedir. Bu durum genetik ve çevresel etmenlerle çalışmalar arasındaki metodolojik farklılıklarla ilişkilidir (Asher ve diğerleri, 2006). Son veriler, Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde %2,2–8,1 yaygınlık göstermektedir. Benzer şekilde, Asya'dan gelen veriler, Hindistan ve Çin gibi ülkelerde artan bir yaygınlık göstermektedir (Silverberg, 2017; L. Andersen ve diğerleri, 2020). Ülkemizdeki yapılan çalışmalarda yaşam boyu AD sıklığı %17,1-%7,5 arasında bulunmuştur ve bölgeler arasında sıklığı farklılık gösterir. AD günümüzde ülkemizdeki her on çocuktan birisinde görülmektedir. (Arga ve Harmanacı, 2020)

Atopik dermatit lezyonları, ekskoriyasyon ve seröz eksuda ile sonuçlanan, sızıntı yapan, kaşıntılı, eritematöz yamalar ve papüllerden oluşur (Guttman ve Nograles, 2011). Lezyonlar kronikleştikçe donuk, kırmızı ve likenleşirler. Yetişkin formunda, klasik AD konumları, antekubital ve popliteal çukur gibi simetrik bükülme bölgelerini içerir. Yüz, baş, boyun, eller, gövde ve uzuvların ekstansör yüzeyleri dahil olmak üzere, başlangıç yaşı ve akut ve kronik hastalığa göre farklı belirtilerle diğer yerler tutulabilir (Lee ve diğerleri, 2019; Pesce ve diğerleri, 2015). AD semptomları arasında günlük kaşıntı, ağrı, uyku bozuklukları ve en şiddetli vakalarda depresif ve anksiyete ile ilişkili semptomlar görülmektedir (Ellis ve diğerleri, 2012; Silverberg ve diğerleri, 2019; Silverberg ve diğerleri, 2018; Simpson ve diğerleri, 2016). Ayrıca AD, sözde "atopik yürüyüşün" ilk tezahürü olarak kabul edilir: astım, alerjik rinokonjonktivit ve gıda alerjisi gibi diğer atopik durumlar, atopiye yatkın hastalarda AD'nin ortaya çıkmasını takip eder (Lee ve diğerleri, 2019; Pesce ve diğerleri, 2015). Bu multisistemik tutulum, atopik bireylerin yaşam kalitesini büyük ölçüde etkiler (Silverberg ve diğerleri, 2019; Silverberg ve diğerleri, 2018).

Atopik dermatit, hassas ve kuru cilt, lokalize veya yayılmış ekzematöz lezyonlar ile genellikle şiddetli bir kaşıntı hissinin eşlik etmesi ile karakterizedir. Heterojen klinik fenotip yaşa, ciddiyete ve etnik kökene göre değişir (Yew ve diğerleri, 2019). AD, hastaların ve

yakınlarının yaşam kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Birdi ve diğerleri, 2020). Hasta başına ortalama yıllık toplam (doğrudan ve dolaylı) 15.000 Euro maliyetle önemli bir sosyo-ekonomik yükü temsil eder (Eckert ve diğerleri, 2019; Silverberg, 2017; Ariens ve diğerleri, 2019).

Çevresel alerjenlere karşı immünoglobulin E (IgE) ile ilişkili alerjik reaksiyonlar, atopik hastalıkların ortak yönünü temsil eder. Son zamanlarda, kardiyovasküler ve nöropsikiyatrik bozuklukların da AD ile ilgili komorbiditeler olduğu bildirilmiştir, ancak bu ilişkilerin altında yatan mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır (Thyssen ve diğerleri, 2017; Andersen ve diğerleri, 2017; Silverberg ve diğerleri, 2019).

Atopik dermatite mast hücreleri, eozinofiller, monositler/makrofajlar ve T lenfositler gibi inflamatuvar hücrelerin cilt bariyerine invazyonu (yayılım göstermesine) neden olur (Lim ve diğerleri; 2016). AD'li birçok hastada Th<sub>2</sub> hücreleri tarafından salgılanan interlökin (IL)-4, IL-5 ve IL-13 miktarındaki artışa bağlı olarak dolaşımdaki eozinofillerin ve serum immünoglobulin E (IgE) düzeylerinin arttığı bildirilmektedir (Galli ve diğerleri, 2008; Owen, 2007). IgE, mast hücreleri ve bazofiller üzerinde eksprese edilen yüksek afiniteli IgE reseptörüne (FcεRI) çapraz bağlanarak anlık aşırı duyarlılık tepkilerinde önemli bir rol oynar. FcεRI'ye antijene özgü IgE bağlanması, alerjik hastalıklara katkıda bulunan alerjenlerin antijenlerinin bağlanması, mast hücrelerini aktive ederek histamin, araziidonik asit metabolitleri ve sitokinler gibi inflamatuvar mediatörlerin salınmasına yol açar (Galli ve diğerleri, 2008; Owen, 2007). Doğuştan gelen ve adaptif bağışıklığa yanıt veren inflamatuvar hücreler olan mast hücreleri, kronik cilt iltihabı ile ilişkili çok sayıda sitokin salgılayan alerjik efektör hücreler olarak tanımlanabilir (Kawakami ve diğerleri 2009; Stone ve diğerleri, 2010). Degranülasyon ve immünoestimülasyon altında histamin, kemokinler ve sitokinler gibi inflamatuvar mediatörlerin üretimini indüklerler (Kempuraj ve diğerleri, 2006). Bu inflamatuvar araçlar, AD'nin gelişimini önemli ölçüde etkiler (Leung ve diğerleri, 2004).

Timik stromal lenfopoietinin (TSLP) AD'nin gelişimi, sürdürülmesi ve güçlendirilmesi ile ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Miazgowicz ve diğerleri,2009; Wilson ve diğerleri, 2013). AD'nin bir özelliği olan kaşıntı için bir aktivasyon faktörü olarak tanımlanmıştır. TSLP, insan CD4+ T hücrelerini lokal lenf düğümlerinde Th2 sitokin üreten hücreler olarak hazırlayan denritik hücrelerin aktivasyonunda kritik bir rol oynar (Soumelis ve diğerleri, 2002; Watanabe ve diğerleri, 2004; Ebner ve diğerleri, 2007). CD4+ T hücrelerinde TSLP sinyali, Th2 duyarlılığını takiben hafıza oluşumu için gereklidir (Wang ve diğerleri,

2015). AD dahil olmak üzere çeşitli inflamatuvar cilt hastalıklarının patogenezinde önemli bir oyuncu olan doğuştan gelen lenfoid hücreleri aktive eder (Kim ve diğerleri, 2013).

Filagrin epidermiste önemli bir yapısal ve fonksiyonel rol oynar ve cilt homeostazı üzerinde oldukça etkilidir (Cabanillas ve Novak, 2016). Stratum corneum'un bütünlüğünü koruyarak ve doğal nemlendirici faktörlerin üretiminde cilt nemini korumada etkilidir (Levin ve diğerleri, 2013). Kalıtsal veya edinilmiş filagrin eksikliği, AD'nin patogenezinde önemli bir katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Cabanillas ve Novak, 2016). Bu nedenle, bu bileşenlerin üretiminin inhibisyonu, alerjik hastalığı olan hastaların, özellikle AD'li hastaların tedavisinde umut verici ve önemli bir modalite oluşturmaktadır.

Atopik dermatitin patogenezi karmaşık bir inflamatuvar süreci içerir (Tan ve Corren, 2011). Patogenez ile ilgili olarak genellikle iki farklı hipotez sunulmaktadır. İlki, IgE duyarlılığı ve müteakip epitel bariyeri tıkanıklığı ile sonuçlanan birincil bir bağışıklık fonksiyonel bozukluğunun neden olduğunu iddia eder (Czarnowicki ve diğerleri, 2017). İkincisi, epidermal cilt bariyeri oluşumundaki içsel bir genetik eksiklikten veya çevresel bir geçişin bir sonucu olarak cilt bariyerinin bozulmasının atopik hastalığa yol açtığını öne sürer (Brandt ve Sivaprasad, 2011). Bu teoriler etrafındaki tartışmalar devam ederken, bir dizi genetik ve çevresel faktörün AD'de cilt bariyeri işlev bozukluğuna ve bağışıklık düzensizliğine katkıda bulunduğu açıktır (Blakely ve diğerleri, 2016).

Atopik dermatit patogenezinin ilk hipotezi, Th<sub>2</sub> immün yanıtları ile bağlantılı olarak spesifik bir IgE yanıtının mevcudiyeti ile yardımcı T (Th) hücreleri 1 ve 2 arasında bir dengesizliği harekete geçirir (Choi ve Kim, 2013). Sağlıklı bireylerde yardımcı T hücrelerinin önemli alt grupları arasında (örneğin Th1, Th2, Th17 ve Th22) denge vardır. Akut AD'nin patogenezi, Th hücrelerinin, makrofajların ve eozinofillerin dermal infiltrasyonu, alerjene özgü IgE'de artış, mast hücre aktivasyonu ve Th2 sitokin üretimi ile karakterize edilen Th2 baskın inflamasyon ile ilişkilidir (Mizutani ve diğerleri, 2015). Th2 hücreleri, B hücreleri, eozinofiller, mast hücreleri ve diğer yollar aracılığıyla antikor oluşumunu yukarı düzenleyen IL-4 ve IL-5 sitokinlerini salgılar (Kidd, 2003). IL-4 ve IL-13, B hücresi farklılaşmasında ve sınıf değiştirmede rol oynamış, böylece AD'deki serum IgE seviyelerinin karakteristik yükselmelerinin yanı sıra cilde eozinofil ve mast hücresi infiltrasyonu sağlar (Chan ve diğerleri, 2013). Kronik AD'nin patogenezi, Th1 hücrelerinin ve IFN- $\gamma$ 'nin baskınlığı ile ilişkilidir ve kronik AD cilt lezyonları, kronik inflamasyonun neden olduğu doku yeniden şekillenmesine uğrar (Coondoo, 2012). Ayrıca artan sayıda mast hücresi vardır, ancak

neredeysse hiç nötrofil birikimi yoktur. Th1 hücreleri sitokin IFN- $\gamma$  salgılar ve başlıca makrofaj aktivasyonu yoluyla inflamatuvar yolları aktive eder (Kidd, 2003).

İkinci hipotez, epidermal bariyer disfonksiyonu, kaşınmanın neden olduğu mekanik bir yaralanma ile şiddetlenen kuru, kaşıntılı cildi içerir. Bu, antijenlerin deri yoluyla girmesini sağlayarak inflamatuvar sitokinlerin üretimine neden olur (Oyoshi ve diğerleri, 2009). Bir dizi bariyer gen, bir küme epidermal farklılaşma kompleksinde kromozom 1 üzerinde lokalizedir ve filagrin, lorikrin ve involucrin proteinlerinin regülasyonunu düzenler. Stratum granulosumdan stratum corneum'a geçiş sırasında profilaggrin, keratin demetlerini bir araya getirerek fiziksel güç sağlayan çoklu filagrin monomerlerine bölünür (Kalinin ve diğerleri, 2002). Filagrin genindeki fonksiyon kaybı mutasyonları, AD ve astım dahil diğer birçok alerjik hastalık için ana genetik yatkınlık faktörü olarak tanımlanmıştır (Irvine ve diğerleri, 2011).

Filagrin eksikliği olan fare deneylerinin bulgularına göre, cilt bariyeri işlevi, keratinositlerin normal farklılaşmasına bağlıdır (Kawasaki ve diğerleri, 2012). Bu nedenle, epidermal hücrelerin ana grubu olarak keratinositler, AD gibi inflamatuvar cilt hastalıklarının patogenezinde önemli bir rol oynar (Jung ve diğerleri, 2012).

Atopik Dermatit tedavisine yönelik birçok ticari formülasyon jeller, kremler, losyonlar veya merhemlerde mevcuttur ancak sınırlı etkinlik gösterir (Shah ve diğerleri, 2012). Ayrıca, AD için topikal glukokortikosteroidler, yumuşatıcılar, fototerapiler, kalsinörin inhibitörleri ve siklosporin A gibi immünosupresanlar gibi çeşitli tedavi modları vardır (Misery, 2011; Berke ve diğerleri, 2012). Bu tedaviler iltihabı azaltır, ancak aynı zamanda bir dizi ciddi yan etkiye de neden olurlar. Bu yüzden, AD tedavisini iyileştirmek için yan etkisi olmayan yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesi gereklidir. AD tedavisi için şifalı otlar, ginseng özü ve yılan zehri gibi doğal maddeler veya toksinler üzerinde çeşitli çalışmalar vardır (Sohn ve diğerleri, 2011; Park ve diğerleri, 2016).

### **2.3. İmmüoglobulin E (İgE):**

İmmüoglobulin E, beş immüoglobulin sınıfından biridir (IgM, IgG, IgD, IgA, IgE). IgE benzersiz bir kimyasal yapıya ve Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonları, parazitik enfeksiyonlar, otoimmün süreçler ve zehir koruması gibi bir dizi fizyolojik fonksiyona

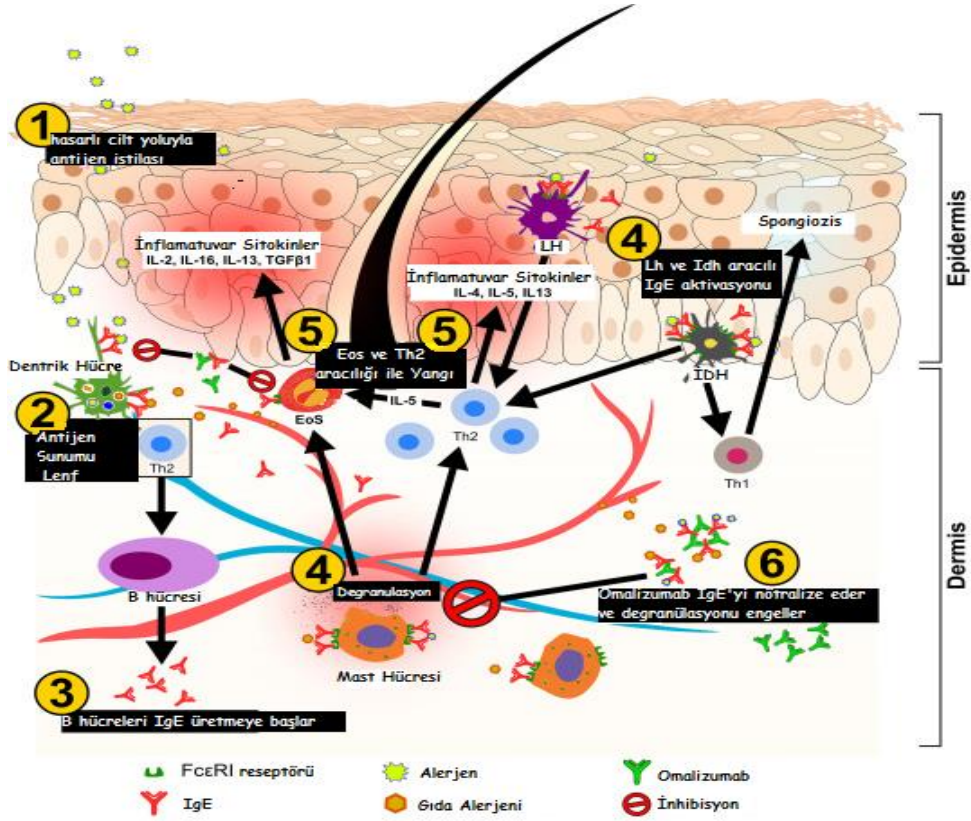
sahiptir (Sutton ve diğeri, 2019). İmmünoglobulin ailesinin keşfedilen son üyesiydi ve o zamandan beri biyokimyasını ve hastalık süreçlerindeki rolünü karakterize etmeyi amaçlayan çok sayıda araştırmayı teşvik etti. Hasta IgE düzeylerini değerlendirmek için kullanılan teknolojide ve işlevini tamamen engelleyebilecek yeni farmakolojik tedavilerde de gelişmeler olmuştur (Ansotegui ve diğeri, 2020).

IgE, iki epsilon ağır zincir ve iki hafif zincirden oluşan bir monomerdur ve bu nedenle, benzersiz antijene özgü bağlanma yerleri oluşturan hafif ve ağır zincirlerin değişken bölgeleri yoluyla meydana gelen toplam iki antijeni bağlama yeteneğine sahiptir. Ağır zincirlerin C-terminal bölgeleri, dört C-epsilon dimerinden, C-epsilon 1-4'ten oluşur. Bu dimerlerin kimyasal yapısı, daha sonra daha ayrıntılı olarak tartışılacak olan IgE'ye özgü hücresele reseptörler Fc-epsilon R1 ve CD23'ün bağlanması için esastır. IgG gibi bazı immünoglobulinler, molekülün merkezine yakın bir "menteşe" bölgesi içerir. IgE benzersizdir çünkü bu menteşe bölgesinden yoksundur ve yerini C-epsilon<sub>2</sub> alanı alır. Bu menteşe bölgesinin yokluğunun, IgE molekülünün reseptörleriyle etkileşime girerken daha esnek bir yapı benimsemesine izin verdiğine dair bir teori var. Ayrıca, IgE molekülü, yüksek afiniteli bir hücresele reseptör olan Fc-epsilon-R<sub>1</sub>'e bağlanmak için gerekli olan her bir ağır zincir üzerinde 7 N-bağlı glikosilasyon içeren diğeri antikorlardan daha fazla glikosile edilir (Oettgen, 2016). İmmünoglobulin E'nin rolü, alerji duyarlılığında ve alerjik rinit, astım ve atopik dermatit gibi atopik bozukluklarda merkezidir. Bu bozukluklar, sonuçta bu bozukluklarda görülen klinik semptomları üretmek için IgE ve diğeri bağışıklık hücrelerini içeren Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonları nedeniyle ortaya çıkar. Bu, antijeni bir T hücresine sunan bir dendritik hücre veya makrofaj tarafından alınan ve işlenen bir antijen veya alerjene ilk maruz kalma ile başlar. Sitokin aracılığıyla IL-4 ve IL-13'ün varlığında, bu T hücreleri, antijeni B hücrelerine sunabilen TH<sub>2</sub> yardımcı T hücrelerine farklılaşmaya teşvik edilir (Galli ve Tsai 2012).

IgE ve aşırı duyarlılığın rolleri ile ilgili olarak incelenen başka bir deri hastalığı, atopik dermatittir. AD genetik, bariyer disfonksiyonu ve immün düzensizliği içeren çok faktörlü bir hastalık olmasına rağmen, bazı kanıtlar IgE aracılığıyla aşırı duyarlılığın da rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Thomsen, 2014). AD lezyonlarının inflamatuvar infiltratları, B hücreleri tarafından IgE sınıf anahtarlamasını başlatmaktan sorumlu olan TH<sub>2</sub> hücrelerinin baskın olduğu CD4+ yardımcı T hücrelerinden oluşur. Bazı aeroalerjenlerin AD hastalarında tehlikeli deriye nüfuz ettiği ve Langerhans hücreleri ile etkileşime girdiği bulundu. Ayrıca, bu

aynı hücrelerin yüzeylerinde IgE bağlayıcı yapılara sahip olduğu keşfedildi (Darsow ve Ring, 2008). Bir korelasyon, atopik dermatitli hastaların yüzde 80 ila 85'ine kadar yüksek IgE seviyelerine sahip olduğunu da ortaya koydu (Liu ve diğerleri, 2011). Bir çalışmada, AD hastalarında atopi yama testleri bile yürütülmüş ve alerjene özgü serum IgE'lerini ilişkilendirilmiştir. D. pteronyssinus (ev tozu alerjeni) için atopi yama testi pozitif olan hastaların çoğunda (%40, N=151) ayrıca o antijene özgü yüksek serum IgE'ye sahip olduğunu gösterilmiştir. Bu çalışma ayrıca yama testi negatif olan diğer hastalara ek olarak atopi yama testi pozitif olan ve serum IgE'de yükselme olmayan hastaların (%9) olduğunu da göstermiştir (Darsow ve Ring, 2008). Bu nedenle, atopik dermatitin bilinen çok faktörlü doğası göz önüne alındığında, IgE aracılı aşırı duyarlılık ve AD arasında bir miktar korelasyon olması muhtemeldir. Ancak, bu ilişkinin kesin doğası daha fazla araştırma gerektirir.

Cilt bariyerinin bozulması, dış antijenlere/alerjenlere karşı geçirgenliğini artırır ve Langerhans ve dendritik hücreler gibi antijen sunan hücreler aracılığıyla Th<sub>2</sub> bağışıklık tepkisini kolaylaştırır. Bu, antijen maruziyetine müteakip aşırı duyarlılık tepkilerine aracılık eden IgE üretiminde bir artışa yol açar (Şekil-5). İntrinsik atopide yerleşik kendi kendine antijene veya anti-IgE ve anti-FcεRI'ye yönelik oto-IgE antikoru benzer bir basamak izleyebilir (Hayashi ve diğerleri, 2000). Bu nedenle IgE, AD patogenezinde önemli bir rol oynar ve hastaların hem serumunda hem de derisinde yüksek seviyelerde bulunur. Yüksek IgE seviyeleri ile AD'nin ciddiyeti arasında anlamlı bir ilişki vardır (Holm ve diğerleri, 2019). Bununla birlikte, normal total serum IgE seviyelerine sahip hastalar bile pozitif bir deri prick testi gösterebilir ve birçok AD hastasında düşük IgE seviyeleri vardır (Kulthanan ve diğerleri, 2011). Bu, aralarında pozitif bir korelasyon olmasına rağmen, toplam IgE'den çok spesifik IgE'nin önemini vurgulamaktadır (Ott ve diğerleri, 2009).



**Şekil 5.** AD'nin basitleştirilmiş mekanizması ve IgE'nin rolü (Wollenbergve diğerleri, 2021). Hasarlı deriden antijen penetrasyonu ve ASH'ler aracılığıyla sunum, bir Th<sub>2</sub> yanıtına yol açar. Antijene karşı ortaya çıkan IgE üretimi, dış antijen veya gıda alerjenlerinin varlığında mast hücrelerinin degranülasyonuna yol açarak yerel bir enflamatuvar tepkiye ve EoS gibi diğer enflamatuvar hücrelerin toplanmasına neden olabilir. Patojen türevli antijenleri tanıyarak aktive edilen LH'ler ve İDH'ler, akut AD lezyonlarında Th1 ve Th2 kaynaklı immün yanıtları teşvik eder. Omalizumab, IgE'yi nötralize ederek mast hücre degranülasyonunu ve dendritik hücre aktivasyonunu inhibe edebilir. AD, atopik dermatit; EoS, eozinofiller; İDH, inflamatuvar dendritik hücreler; IgE, immünoglobulin E; İL, interlökin; LH, Langerhans hücreleri; Th2, T yardımcı hücre; ASH, Antijen Sunan Hücreler

#### 2.4. İnterferon-γ (IFN-γ):

Yaklaşık 60 yıl önce keşfedilen tip II interferon ailesinin tek üyesidir. E. Frederick Wheelock, IFN-γ'yi, uyarıldıktan sonra beyaz kan hücreleri tarafından üretilen fitohemaglutinin kaynaklı bir virüs inhibitörü olarak tanımlayan ilk kişiydi (Jorgovanovic ve diğerleri, 2020). IFN-γ, antiparalel bir şekilde ilişkili iki polipeptit zincirinden oluşan, IFNG geni tarafından kodlanan bir proteindir (Zaidi ve Merlino, 2011).



İnsan kanında, IFN- $\gamma$  farklı moleküler kütleyle sahip üç fraksiyon halinde bulunur. Bir fraksiyon, IFN-y'nin aktif serbest formunu temsil ederken, diğer ikisi olgun IFN-y molekülleri olarak kabul edilir. Tamamen sentezlenmiş protein, glikosilasyon seviyesinin tanımlanmış fraksiyonların nihai ağırlığını belirlediği amino terminallerinde glikosile edilir (Alspach ve diğerleri, 2018; Lilkova ve diğerleri, 2019). Özellikle, glikosilasyonun kendisinin interferonun aktivitesini etkilemediği, bunun yerine proteinazlar tarafından bozunmasını önlediği bildirilmiştir. Bu nedenle, bu kimyasal modifikasyon, kan dolaşımındaki interferonların yarı ömrünü arttırır ve IFN-y aracılı etkileri uzatır (Gordon-alonso ve diğerleri, 2017).

Biyolojik açıdan bakıldığında, IFN- $\gamma$  antiviral, antitümör ve immünomodülatör fonksiyonlara sahip pleiotropik bir sitokindir. Bu nedenle, hem doğal hem de adaptif immün yanıtı koordine etmede önemli bir rol oynar (Mendoza ve diğerleri, 2019). Enflamatuar bir ortamda, IFN-y, bağışıklık yanıtının aktivasyonunu tetikler ve patojenlerin ortadan kaldırılmasını uyarır; ayrıca bağışıklık sisteminin aşırı aktivasyonunu ve doku hasarını önler. Bu denge, henüz tam olarak anlaşılammış karmaşık mekanizmalar tarafından sağlanmaktadır (Zhang ve Yang, 2007; Ivashkiv, 2018). IFN- $\gamma$  üretimi esas olarak doğuştan gelen bağışıklıkta doğal öldürücü (DÖ) ve doğal öldürücü T (DÖT) hücreleri tarafından düzenlenirken, CD8+ ve CD4+ T-hücreleri adaptif bağışıklık tepkisi sırasında IFN-y'nin başlıca parakrin kaynaklarıdır (Burke ve Young, 2019).

## **2.5. İnterlökin-5 (İL-5):**

İnterlökin-5 (İL-5) bir interdigitasyon homodimerik glikoproteinidir (Takatsu ve diğerleri, 2009). İL-5, T hücreleri, granüositler ve doğal yardımcı hücreler dahil olmak üzere hematopoetik ve hematopoetik olmayan hücreler tarafından üretilir (Takatsu, 2011). Atopik hastalıkların patogeneğinde yer alan T hücresi kaynaklı bir sitokindir ve astım, hipereozinofilik sendromlar ve eozinofil bağımlı inflammatuar hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynar, eozinofilinin kritik bir düzenleyicisi olarak tanınır ve eozinofil progenitörleri, eozinofil öncüleri ve olgun eozinofiller üzerinde etkileri vardır (Takatsu ve diğerleri, 2009; Karlen ve diğerleri, 1998, Kouro ve Takatsu, 2009). Eozinofillerin büyümesini, farklılaşmasını ve aktivasyonunu düzenlediğine inanılmaktadır (Matthaei ve

diğerleri,1997). Ayrıca, olgunlaşmayı ve hayatta kalmayı uzatmak için tercihen olgun eozinofiller üzerinde etkili olmak ve dolaşımdaki eozinofil progenitörlerini artırmak, eozinofil mobilizasyonunda sistemik IL-5 için önemli bir rol olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca IL-5, CCR3 ekspresyonunu artırarak eozinofilin terminal olgunlaşmasına neden olur ve potansiyel olarak eozinofiller ve lenfositler tarafından CCR3'e bağlı kemotaksisi etkiler (Stirling ve diğerleri, 2001; Takatsu, 2004). Buna ek olarak, IL-5'in aşırı ekspresyonu in vivo antikor seviyelerini önemli ölçüde artırır ve aktive B hücrelerini antikor salgılamaları için uyararak bir B hücresi farklılaşma faktörü olarak hareket ettiği bildirilmiştir (Kouro ve Takatsu, 2009; Randall, 1993).

İnterlökin-5, interlökin-5 reseptörünün eozinofiller ve bazofiller üzerinde sınırlı ekspresyonunun bir sonucu olarak çok seçici bir sitokindir (Greenfeder ve diğerleri, 2001). Bu nedenle, interlökin 5'e karşı insanlaştırılmış monoklonal antikor, akciğere eozinofil göçünü önemli ölçüde sınırlamıştır (Foster ve diğerleri 2002). Bu nedenle; IL-5 inhibisyonu astım, özellikle de ağır astım tedavisi için etkili bir yaklaşım olabilir. Eozinofil fonksiyonuna müdahale etmek veya sayılarını azaltmak, astımda sitokin reseptör etkileşimlerini, özellikle de IL-5'i hedef alan terapötik monoklonal antikorların en önemli hedeflerinden biri olmuştur (Garcia ve diğerleri, 2013).

IL-5 geni kromozom 5 üzerinde yer almaktadır (Kotsimbos ve Hamid, 1997). Astım patogenezinde potansiyel bir aday genidir, atopik dermatit ile ilişkili kan eozinofilisinde rol oynayabilir (Pereira ve diğerleri, 1998; Yamamoto ve diğerleri 2003). IL-5'in lokus aşırı ekspresyonu in vivo eozinofil sayılarını ve antikor seviyelerini önemli ölçüde artırır. Buna karşılık, IL-5 veya IL-5 reseptör alfa zinciri (IL-5R $\alpha$ ) için işlevsel bir gene sahip olmayan fareler, B-hücresi ve eozinofil soylarında bir dizi gelişimsel ve işlevsel bozukluk gösterir (Takatsu, 2011; Kouro ve Takatsu 2009). Ayrıca, IL-5 genlerindeki polimorfizmler atopik bronşiyal astıma yatkınlığa katkıda bulunabilir ve hastalığın klinik seyrini belirleyebilir (Freidin, 2003).

## **2.6. İnterlökin–13 (IL-13)**

İnterlökin (IL)-13 ve IL-4, %20-25 özdeş olan ve tip II immün yanıt içinde benzer efektör fonksiyonlara sahip olan pleiotropik sitokinlerdir (Minty ve diğerleri 1993). Bunlar,

epitel hücreleri, eozinofiller, bazofiller ve mast hücreleri dahil olmak üzere çeşitli farklı hücre tipleri tarafından salgınır ve özellikle alerjik hastalıklarla ilişkili olarak, geniş bir örtüşen biyolojik fonksiyonlar yelpazesine sahiptir (Pulendran ve Artis, 2012; May ve Fung, 2015).

İnterlökin-13 ve IL-4'ün her ikisi de, IL-4 reseptörü a (IL-4Ra) ve IL-13 reseptörü a1'den (IL-13Ra1) oluşan bir heterodimer olan paylaşılan tip II IL-4 reseptörü aracılığıyla sinyal verir (Laporte ve diğerleri, 2008). IL-13 veya IL-4'ün bu reseptöre bağlanması, Jak/STAT sinyal zincirini aktive ederek, T hücresi fonksiyonu için gerekli genlerin transkripsiyonuna, immünoglobulin sınıfının immünoglobulin E'ye (IgE) geçmesine ve B hücreleri tarafından antijen sunumuna yol açar (Goenka ve Kaplan, 2011). Düzensiz IL-13 ve IL-4 sinyalinin, astım ve atopik dermatit (AD) gibi enflamatuar ve alerjik hastalıkların patofizyolojisine katkıda bulunduğuna inanılmaktadır (May ve Fung, 2015; Gour ve Wills, 2015). İnterlökin-13 ayrıca, farelerde dolaşımda çözünür bir formda bulunan, insanlarda zara bağlı bir protein olan IL-13 reseptörü a2'ye (IL-13Ra2) de bağlanır. IL-13 reseptörü a2, hücre dışı IL-13'ü tecrit etmek için bir tuzak reseptörü görevi görebilir, böylece onun sinyalini azaltabilir (Ranasinghe ve diğerleri, 2014).

IL-13 ayrıca, IL-13'ün endojen regülasyonunda ve kaşıntı-çizik döngüsünde, kollajen birikiminde ve fibrotik doku yeniden şekillenmesinde rol oynayan IL-13Ra2 reseptörü için yüksek bir afiniteye sahiptir (Furue ve diğerleri, 2019; Hussein ve diğerleri, 2011; Kwak ve diğerleri 2019). Böylece, IL-13, afferent sinir uçlarının ve kaşıntının histaminden bağımsız stimülasyonuna katkıda bulunabilir (Furue ve diğerleri, 2019). İlginç bir şekilde, AD'li hastalardan alınan deri biyopsi örnekleri, lezyonlu ve lezyonsuz ciltte IL-13'ün belirgin aşırı ekspresyonunu gösterir ve AD lezyonlarının %40'ında yalnızca hafif bir IL-4 aşırı ekspresyonu saptanabilir (Tsoi ve diğerleri, 2019; Tazawa ve diğerleri, 2004). Ayrıca, periferik kan T hücrelerinde IL-13 aşırı ekspresyonunun, hastalığın ciddiyeti ile ilişkili olduğu, konsantrasyonundaki bir düşüşün ise daha iyi klinik sonuçlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Tazawa ve diğerleri 2004; La Grutta ve diğerleri, 2005; Hijnen ve diğerleri, 2013; Bangert ve diğerleri; 2021; Mashiko ve diğerleri, 2017; Szegedi ve diğerleri, 2015; Choy ve diğerleri, 2012). Genel olarak, IL-13, epidermal bariyer disfonksiyonunda ve AD ile ilişkili enflamatuar süreçlerde giderek daha belirgin bir rol oynayacak şekilde ortaya çıkmaktadır (Bieber, 2020; Ungar ve diğerleri, 2017)

IL-13, AD'de alerjik tepkiler, kaşıntı, cilt bariyeri disfonksiyonu, cilt kalınlaşması ve enflamasyonda anahtar bir inflammatuar mediatör olarak bilinmektedir (Bieber, 2020; Zhang ve

diğerleri, 2019). Gen polimorfizmleri artmış AD riski ile ilişkilidir (He ve diğerleri, 2003). Lezyonlu dokularda IL-13 ekspresyonu, serum IL-13 seviyeleri ve IL-13 üreten dolaşımdaki T hücreleri, AD'li hastalarda sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde yüksektir ve yüksek IL-13 seviyesi, hastalığın ciddiyeti ile pozitif olarak ilişkilidir (Tazawa ve diğerleri, 2004, La Grutta ve diğerleri, 2005). IL-13'ün AD'li hastalar için potansiyel bir terapötik hedef olabileceğini belirtir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Arı Zehrinin Elde Edilmesi

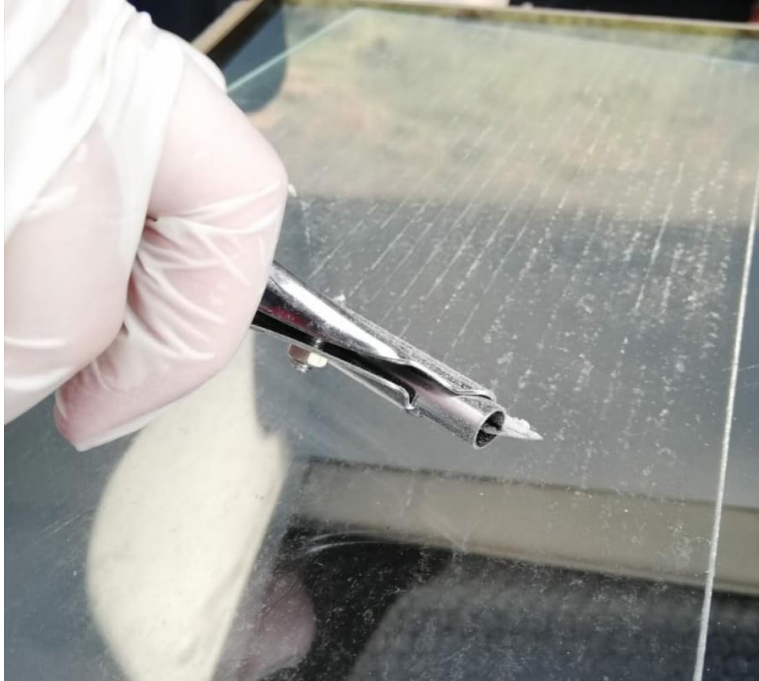
Muğla ili Dalaman ilçesinde ticari bir arı yetiştiricisine ait işletmede 10 adet kovandan arı zehirleri toplandı. Arı zehirlerinin toplanması için elektroşok yöntemi kullanıldı. Bunun için arı kovanlarının her birine içinde cam levha bulunan elektrik stimilatörü yerleştirildi (Resim 3). 20 dakika boyunca aralıklı olarak darbeli elektrik akımı veren elektroşok cihazıyla (Beesas, Muğla, Türkiye) arılardan cam levhalar üzerine zehirlerinin akıtılması sağlandı. Cihaz kapatılıp akım kesilerek arı zehrinin bulunduğu cam levhalar çıkarıldı (Resim 4). Cam levha üzerinde kuruyan arı zehri (pulex) marka kazıyıcı ile kazındı (Resim 5). Kazınan arı zehri cam levha üzerinde toplandı (Resim 6). Daha sonra koyu renkli cam tüpe alındı (Resim 7). İçinde buz kalıbı bulunan termosla yerleştirildi. Soğuk zincir korunarak taşındı. -18 derece buzdolabına konuldu. Elde edilen AZ zehrinin içerik analizi Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Gıda laboratuvarında yaptırıldı.



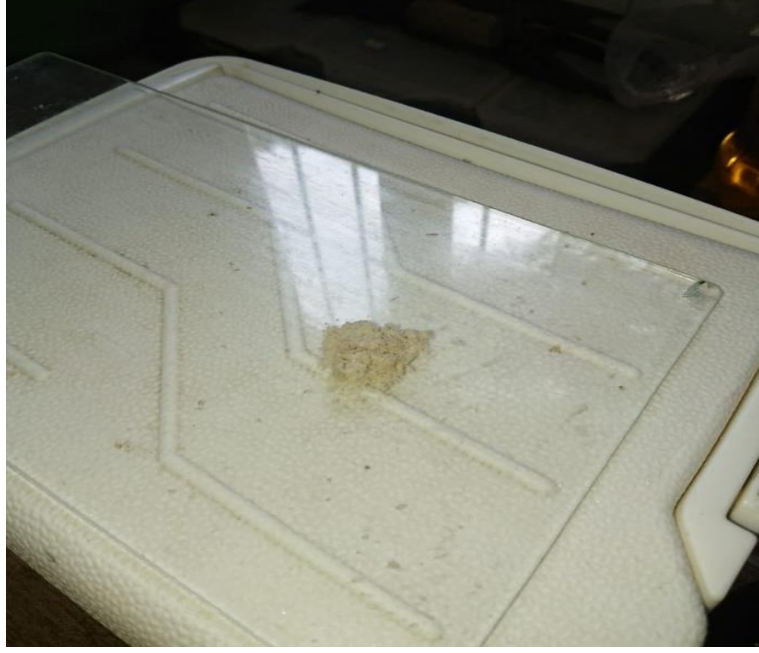
**Resim 3.** Arı Zehri Elektrik Stümlatörü.



**Resim 4.** Elektrik akımı verilerek zehir akıtılan cam levha



**Resim 5.** Cam levha üzerinde kuruyan arı zehri kazındı



**Resim 6.** Cam Levha üzerinde arı zehrinin görünümü



**Resim 7.** Toplanan Arı zehirleri. Koyu renkli cam şişelere konuldu ve -18 derece saklandı.

### **Arı Zehri Analiz içeriği:**

Çalışmada kullanılan Arı Zehri Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Gıda Analizleri Uygulama ve Araştırma Merkezinde analiz ettirildi. Arı zehri içeriğinde %68,23 oranında melittin, %12,88 oranında Fosfolipaz A<sub>2</sub>, %4,75 oranında da Apamin olduğu belirlendi.

### 3.2.Deneysel Atopik Dermatit

Çalışma için ADÜ Veteriner Fakültesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinden temin edilen, 8-12 haftalık 25-30 gr ağırlığındaki sağlıklı 30 adet dişi BALB/c fareler kullanıldı. Hayvanlar hijyenik makrolen kafesler içerisinde, klimalı odalarda; (22± 2°C) 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda muhafaza edildi. Standart fare yemi ile beslendi, su ad libitum verildi.10 günlük adaptasyon süresi sonunda denemeye başlandı. AD benzeri deri lezyonları oluşturmak için ise farelerin sırt kısımları traş edildikten sonra DNCB ile traş edilen bölge duyarlılaştırıldı. Dorsal epilasyondan (yaklaşık 4 cm<sup>2</sup>) bir gün sonra, dorsal cilde 150 ml aseton: zeytinyağı karışımında hazırlanan (3: 1 hacim / hacim) % 1 DNCB, 9 gün boyunca uygulandı (Kim ve diğerleri, 2014). 9 günlük duyarlılaştırma süresinden sonra fareler rastgele (grup başına n:6 adet) olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

**(1) Kontrol grubu:**Hiçbir uygulama yapılmadı, yalnızca sırt bölgesi traş edildi.

**(2) Aseton-zeytinyağı grubu:** Negatif kontrol grubunda yalnızca DNCB'yi çözmek için çözücü olarak kullanılan aseton:zeytinyağı karışımı (3:1 hacim / hacim), DNCB uygulama günleri ile paralel zamanlarda uygulandı.

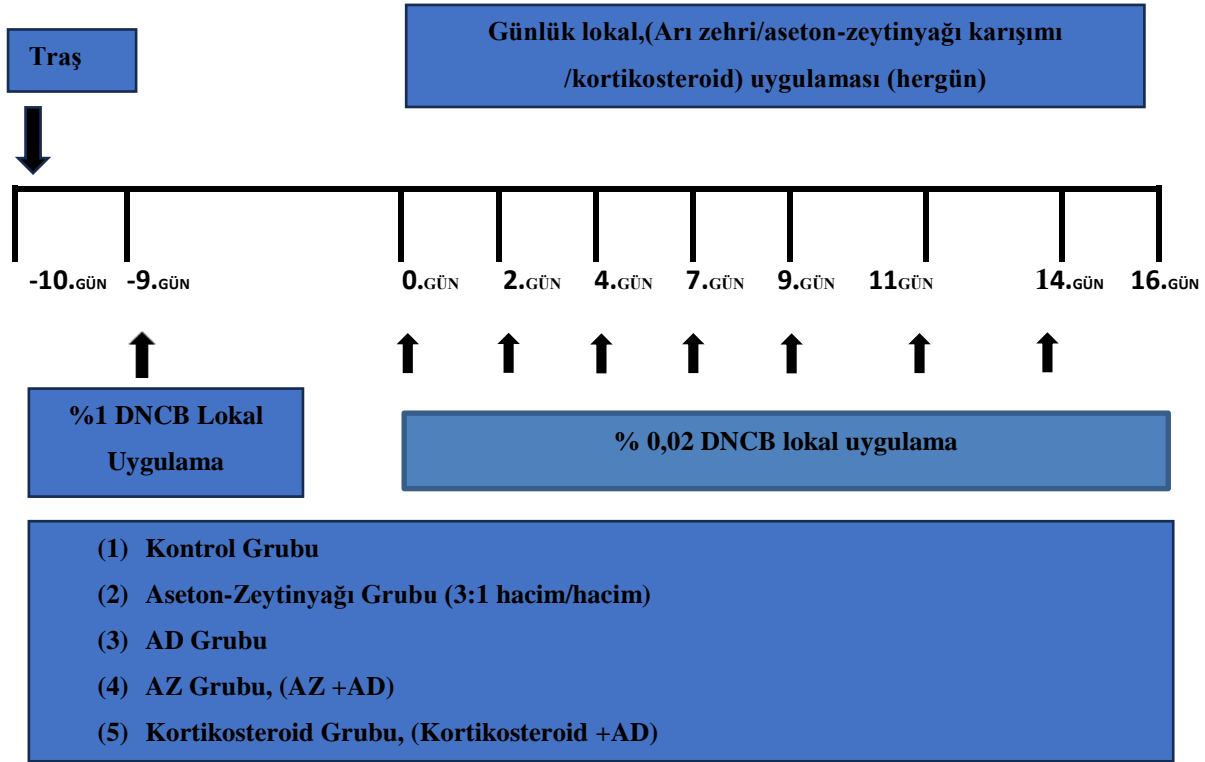
**(3) Atopik Dermatit grubu (AD):** Aseton-zeytinyağında (3:1 hacim/hacim) çözdürülen %1 DNCB dorsal epilasyondan sonra 10 gün boyunca uygulandı. 10.günden sonra %0,02'lik DNCB uygulamasına haftada 3 kez 16 gün boyunca devam edildi (Kim ve diğerleri, 2014).

**(4) Arı Zehri grubu (AZ+AD):** Arı Zehri (AZ), stok solüsyonunu hazırlamak için etanol içinde çözüldürüldü ve daha sonra işlemler için Aseton:Zeytin yağı karışımı (4:1=aseton:zeytinyağı,v/v) içinde seyreltildi. Deneysel AD oluşturulan farelerin lezyon bölgelerine 0,5 µg AZ içeren 200 µL solüsyon, %1 DNCB uygulaması bitiminden sonra 16 gün boyunca hergün topikal olarak uygulandı (Lee ve diğ., 2020).

**(5) Kortikosteroid grubu (Kortikosteroid+AD):** Deneysel AD oluşturulan farelerin lezyon bölgelerine % 0,05 a/a klobetazol 17-propiyonat etken maddesini içeren ticari kortikosteroid kremi, %1 DNCB uygulamasının bitiminden sonra 16 gün boyunca hergün AZ uygulamasına paralel olarak topikal uygulandı.



Araştırma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 29.09.2021 tarih ve 64583101/2021/142 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Deneyin bitiminde farelere anestezi (ketamin+ksilazin) altında servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi uygulandı. Kalpten enjektörle kan örneklerinin serumları çıkarıldıktan sonra analizler yapılmıncaya kadar -80 C'de saklandı. Farelerden alınan deri örnekleri % 3.7 formalin içinde sabitlendi. Dokuların hematoksilin / eosin çözeltisi ile boyanarak ışık mikroskobu ile histopatolojik olarak değerlendirilmesi hizmet alımı şeklinde özel laboratuvarında yaptırıldı (Ceylan ve Ünal, 2020). Serum örneklerinde fare spesifik ELİSA kitleri ile IgE, IL 13, IL5 ve IF- $\gamma$  analizleri yapıldı.

### 3.3. Sitokin Analizleri

#### 3.3.1. Serum Immunoglobulin E Analizi (BT-E0449Mo)

##### Analiz Prensibi

Enzime Bağlı İmmünosorbent Testidir (ELISA). Fare IgE antikoruna ile önceden kaplanan pleytlere örneklerde bulunan IgE eklenir ve antikorlara bağlanır. Daha sonra biotinlenmiş fare

IgE antikoruna ilave edilir ve numunedeki IgE'ye bağlanır, Streptavidin-HRP eklenir ve Biotinlenmiş IgE antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama aşaması sırasında yıkanır, substrat solüsyonu eklenir ve Fare IgE miktarı ile orantılı olarak renk gelişir. Reaksiyon, asidik stop solüsyonu eklenerek sonlandırılır ve absorbanans 450 nm'de ölçülür.

### **Analiz Prosedürü**

1. Bütün reaktifler, standart solüsyonları ve numuneleri talimatlara göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Test için gereken strip sayısı belirlenerek şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyuya 50ul standart eklendi. Standart solüsyon biyotinlenmiş antikor içerdiğinden standart kuyucuğa antikor eklenmedi.
4. Örnek kuyucuklarına 40ul numune eklendi, ardından numune kuyucuklarına 10ul Fare IgE antikoruna eklendi, ardından numune ve standart kuyucuklara 50ul streptavidin-HRP eklenerek iyice karıştırıldı. Plaka bir mühürleyici ile örtülerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kapaticıyı çıkarılarak plaka 5 kez yıkama tamponuyla yıkandı. Kuyuları her yıkama için 30-60 saniye süreyle 300ul yıkama tamponu ile ıslatıldı. Otomatik yıkama için, her kuyu boşaltıldı ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Plaka kağıt havlu veya diğer emici malzeme üzerinde kurutuldu.
6. Her kuyucuğa 50ul substrat solüsyonu A ve ardından her kuyucuğa 50ul substrat solüsyonu B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.
7. Her kuyucuğa 50ul durdurma solüsyonu eklendi.
8. Durdurma çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanarak hemen her kuyucuğun optik yoğunluğunu belirlendi.

### **3.3.2. Serum Interleukin 13 Analizi (BT-E0019Mo)**

#### **Analiz Prensibi:**

Enzime Bağlı İmmüno­sorbent Testidir (ELISA). Pleytler, Fare IL13 antikorunu ile önceden kaplanmıştıdır. Örnekte bulunan IL13 eklenir ve kuyucuklarda kaplanmış antikorlara bağlanır. Daha sonra biyotinlenmiş Fare IL13 Antikoru ilave edilir ve numunedeki IL13'e bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve Biyotinlenmiş IL13 antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama aşaması sırasında yıkanır, substrat solüsyonu eklenir ve Mouse IL13 miktarı ile orantılı olarak renk gelişir. Reaksiyon, asidik stop solüsyonu eklenerek sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür.

### **Analiz Prosedürü**

1. Bütün reaktifler, standart solüsyonları ve numuneleri talimatlara göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Test için gereken strip sayısı belirlenerek şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyuya 50ul standart eklendi. Standart solüsyon biyotinlenmiş antikor içerdiğinden standart kuyucuğa antikor eklenmedi.
4. Örnek kuyucuklarına 40ul numune eklendi ardından numune kuyucuklarına 10ul Fare IL13 antikorunu eklendi, ardından numune ve standart kuyucuklara 50ul streptavidin-HRP eklenerek iyice karıştırıldı. Plaka bir mühürleyici ile örtülerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kapatıcıyı çıkarılarak plaka 5 kez yıkama tamponuyla yıkandı. Kuyuları her yıkama için 30-60 saniye süreyle 300ul yıkama tamponu ile ıslatıldı. Otomatik yıkama için, her kuyu boşaltıldı ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Plaka kağıt havlu veya diğer emici malzeme üzerinde kurutuldu.
6. Her kuyucuğa 50ul substrat solüsyonu A ve ardından her kuyucuğa 50ul substrat solüsyonu B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.
7. Her kuyucuğa 50ul Durdurma Solüsyonu eklendi.
8. Durdurma çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanarak hemen her kuyucuğun optik yoğunluğunu belirlendi.

### **3.3.3. Serum Interleukin 5 Analizi (Mouse IL5 ELISA Kit BT-E0050Mo)**

#### **Analiz Prensibi**

Enzime Bağlı İmmünosorbent Testidir (ELISA). Fare IL5 antikoruna ile önceden kaplanmış pleytlere örneklerde bulunan IL5 eklenir ve kuyucuklarda kaplanmış antikorlara bağlanır. Biotinlenmiş fare IL5 antikoruna eklenir ve numunedeki IL5'e bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP ilave edilir ve biyotinlenmiş IL5 antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama aşaması sırasında yıkanır. Daha sonra substrat solüsyonu eklenir ve fare IL5 miktarı ile orantılı olarak renk gelişir. Asidik stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür.

#### **Analiz Prosedürü**

1. Bütün reaktifler, standart solüsyonları ve numuneleri talimatlara göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Test için gereken strip sayısı belirlenerek şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyuya 50ul standart eklendi. Standart solüsyon biyotinlenmiş antikor içerdiğinden standart kuyucuğa antikor eklenmedi.
4. Örnek kuyucuklarına 40ul numune eklendi ardından numune kuyucuklarına 10ul Fare IL 5 antikoruna eklendi, ardından numune ve standart kuyucuklara 50ul streptavidin-HRP eklenerek iyice karıştırıldı. Plaka bir mühürleyici ile örtülerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kapatıcıyı çıkarılarak plaka 5 kez yıkama tamponuyla yıkandı. Kuyuları her yıkama için 30-60 saniye süreyle 300ul yıkama tamponu ile ıslatıldı. Otomatik yıkama için, her kuyu boşaltıldı ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Plaka kağıt havlu veya diğer emici malzeme üzerinde kurutuldu.
6. Her kuyucuğa 50ul substrat solüsyonu A ve ardından her kuyucuğa 50ul substrat solüsyonu B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.
7. Her kuyucuğa 50 ul Durdurma Solüsyonu eklendi.
8. Durdurma çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanarak hemen her kuyucuğun optik yoğunluğunu belirlendi.

### **3.3.4. Serum Interferon $\gamma$ , IFN- $\gamma$ Analizi (BT-E0056Mo)**

#### **Analiz Prensibi**

Enzime Bağlı İmmünosorbent Testidir (ELISA). Pleytler, Fare IFN $\gamma$  antikoru ile önceden kaplanmıştır. Numunede bulunan IFN $\gamma$  eklenir ve kuyucuklarda kaplanmış antikora bağlanır. Daha sonra biyotinlenmiş Fare IFN $\gamma$  Antikoru eklenir ve numunedeki IFN $\gamma$ 'ye bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve Biyotinlenmiş IFN $\gamma$  antikora bağlanır. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama aşaması sırasında yıkanır. Daha sonra substrat solüsyonu eklenir ve fare IFN $\gamma$  miktarı ile orantılı olarak renk gelişir. Reaksiyon, asidik stop solüsyonu eklenerek sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür.

#### **Analiz Prosedürü**

1. Bütün reaktifler, standart solüsyonları ve numuneleri talimatlara göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Test için gereken strip sayısı belirlenerek şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyuya 50ul standart eklendi. Standart solüsyon biyotinlenmiş antikor içerdiğinden standart kuyucuğa antikor eklenmedi.
4. Örnek kuyucuklarına 40ul numune eklendi ardından numune kuyucuklarına 10ul Fare IFN- $\gamma$  antikoru eklendi, ardından numune ve standart kuyucuklara 50ul streptavidin-HRP eklenerek iyice karıştırıldı. Plaka bir mühürleyici ile örtülerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Kapatıcıyı çıkarılarak plaka 5 kez yıkama tamponuyla yıkandı. Kuyuları her yıkama için 30-60 saniye süreyle 300ul yıkama tamponu ile ıslatıldı. Otomatik yıkama için, her kuyu boşaltıldı ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Plaka kağıt havlu veya diğer emici malzeme üzerinde kurutuldu.
6. Her kuyucuğa 50ul substrat solüsyonu A ve ardından her kuyucuğa 50ul substrat solüsyonu B eklendi. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.
7. Her kuyucuğa 50ul Durdurma Solüsyonu eklendi.

8. Durdurma çözeltilisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropłaka okuyucu kullanarak hemen her kuyucuğun optik yoğunluğunu belirlendi.

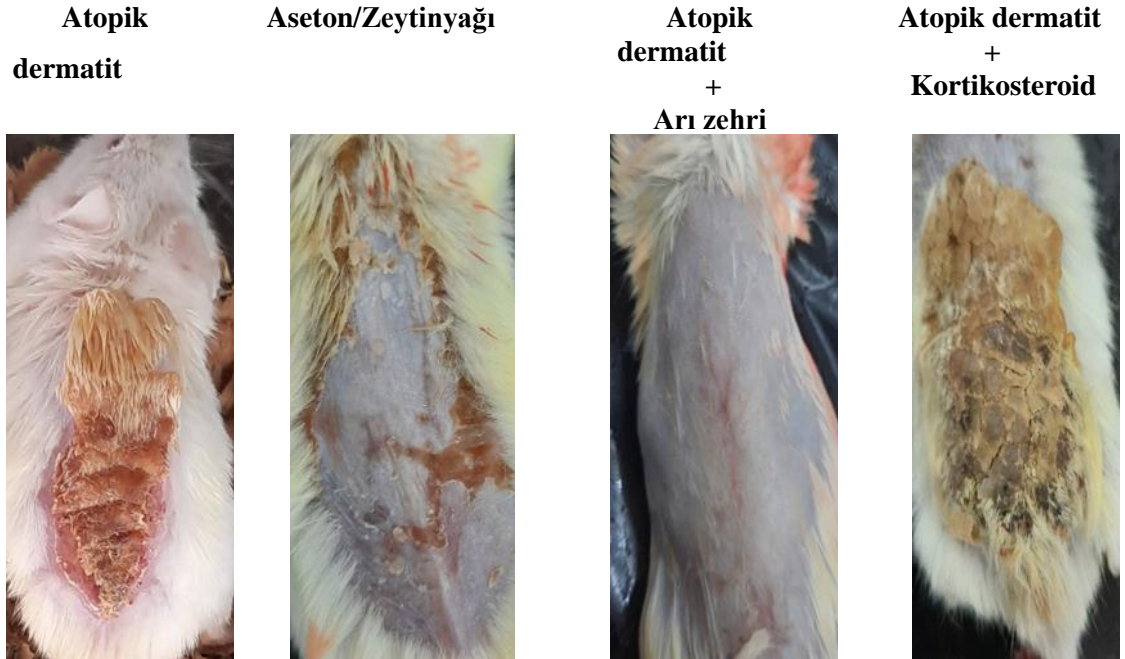
### **İstatiksel Değerlendirme**

Çalışmada elde edilen verilerin istatiksel analizi amacıyla SPSS21 (Statistical Package For Social Sciences 21 paket program SPSS İNC., Chicago, IL, USA) kullanıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren gruplara ANOVA testi ile karşılaştırma yapıldı posthoc düzeltmeler Tukey testi ile yapıldı,  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak gösterildi.

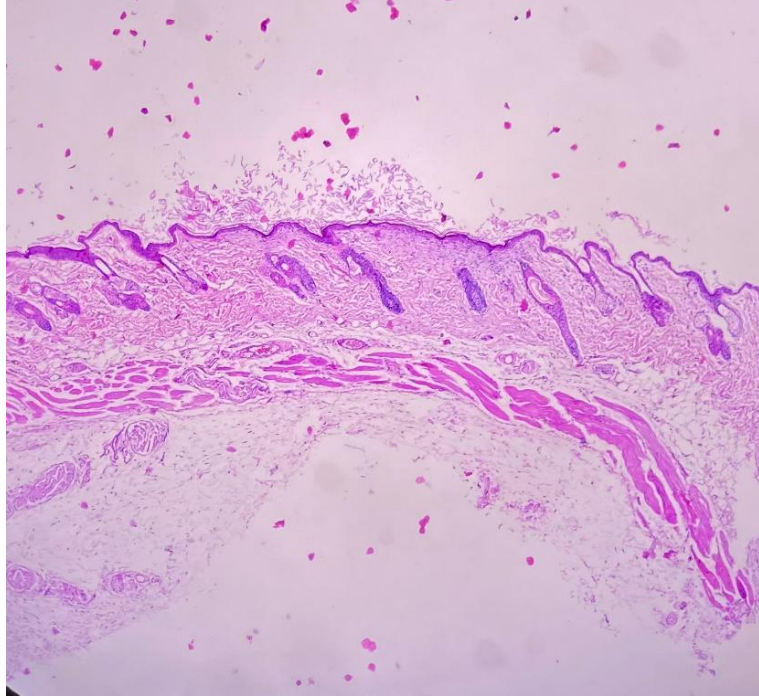
## 4. BULGULAR

### 4.1. Histopatolojik bulgular

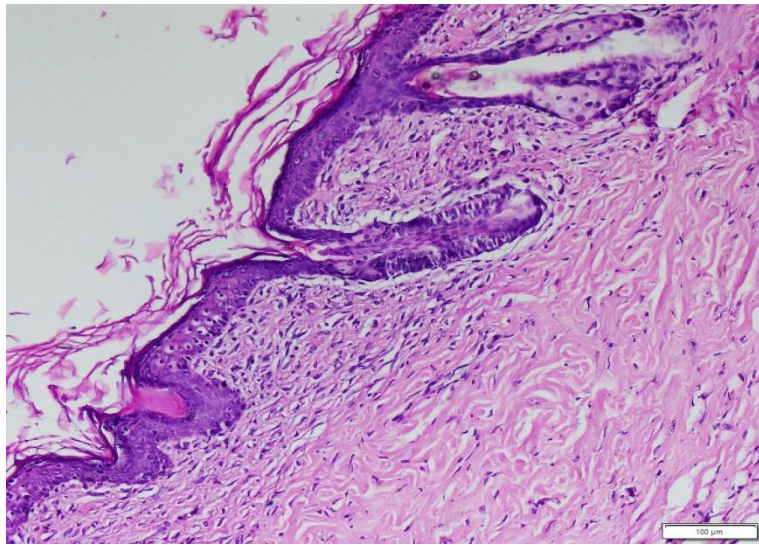
DeneySEL Atopik dermatit oluşturulan grupların AZ ve kortikosteroid uygulamaları sonrası epidermisteki değişimlerin makroskopik görünümü Resim 8’de görülmektedir. AZ grubunda hasarlı dokunun daha hızlı onarıldığı, doku bütünlüğünün sağlanmasında diğer gruplardan oldukça etkili olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunda herhangi bir histopatolojik değişiklik saptanmadı (Resim 9). Atopik dermatit grubunda hiperkeratoz, dermal papillada fibrosis gözlemlendi (Resim 10). Aseton-Zeytinyağı grubunda hiperkeratoz, epitellerde vakuoler dejenerasyon ve dermiste mast hücreleri ile eozinofil lökosit infiltrasyonu tespit edildi (Resim 11). AZ grubunda papillar dermada fibrozis, az sayıda eozinofil lökosit infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 12). Kortikosteroid grubunda epidermiste ülserleşme ve nekroz gözlemlendi, mantar görüldü (Resim 13).



**Resim 8.** Atopik dermatitli grupların deneme sonrası dermis lezyonları

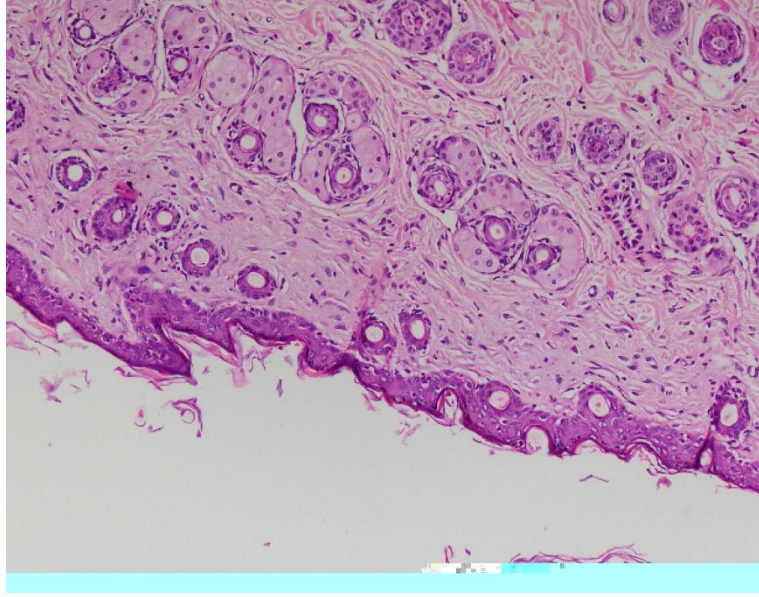


**Resim 9.** Kontrol grubu derinin histopatolojik incelenmesi (Hematoksilen & Eozin X100)

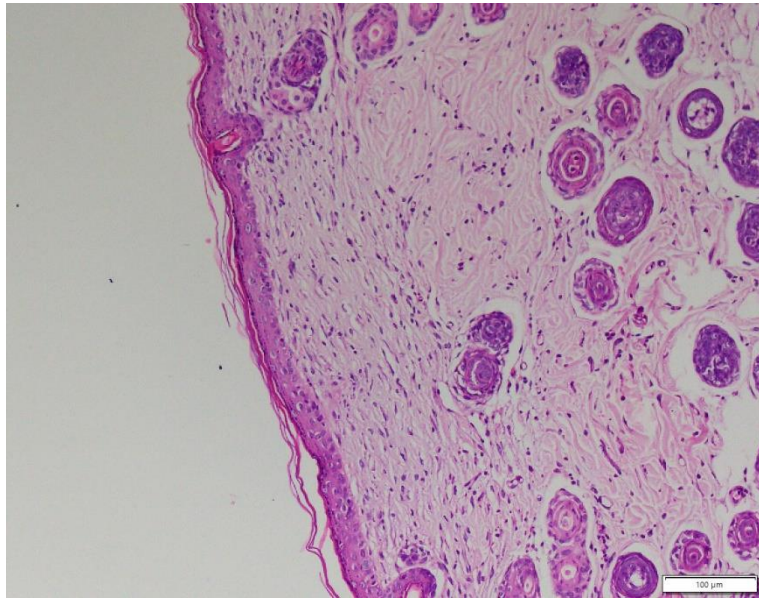


**Resim 10.** AD grubu derinin histopatolojik incelenmesi. (Hiperkeratoz, dermal papillada fibrosis)  
(Hematoksilen & Eozin X100)

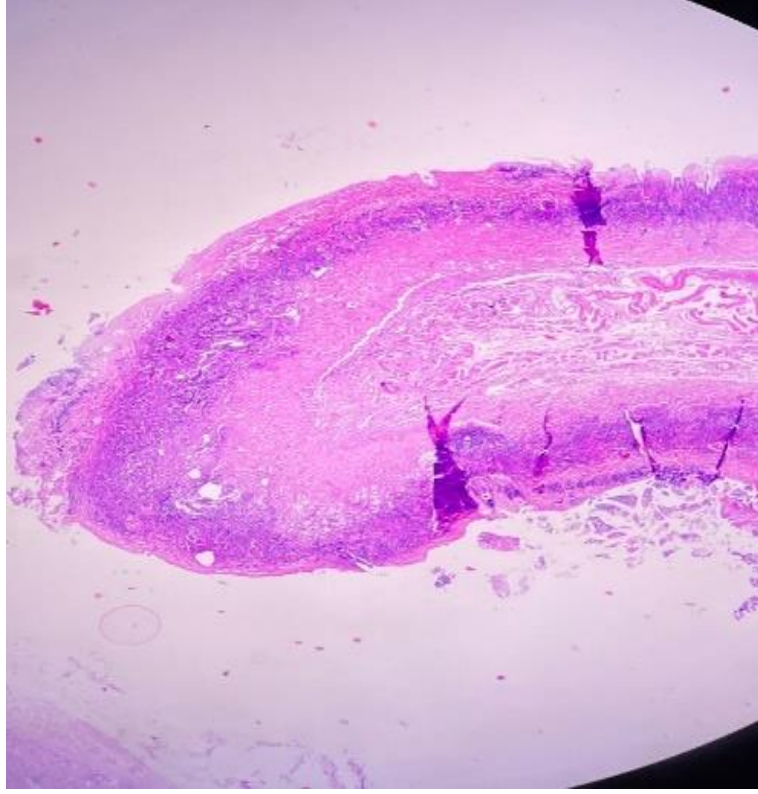




**Resim 11.** Aseton-Zeytinyağı grubu derinin histopatolojik incelenmesi. (Hiperkeratoz, epitellerde vakuoler dejenerasyon ve dermiste mast hücreleri ile eozinofil lökosit infiltrasyonu) (Hematoksilen & Eozin X100)



**Resim 12.** Arı zehri grubu derinin histopatolojik incelenmesi. (Papillar dermada fibrozis, az sayıda eozinofil, lökosit)(Hematoksilen & Eozin X100)



**Resim 13.** Kortikosteroid grubu derinin histopatolojik incelenmesi. (Epidermiste ülserleşme, mantar, nekroz) (Hematoksilen & Eozin X100)

#### 4.2. IgE ve Sitokin Sonuçları

Deneme gruplarının serum IgE, IL-13, IL-5 ve IF- $\gamma$  sonuçları Tablo 4’de verilmiştir. IgE düzeyleri kontrol grubunda ( $2,1\pm 0,4$  ng/L); Aseton-Zeytinyağı grubunda ( $5,6\pm 1,04$  ng/L); AD, AZ ve kortikosteroid gruplarında sırasıyla ( $5,3\pm 0,8$ ;  $2,44\pm 0,6$  ve  $3,5\pm 0,8$  ng/L) olarak bulundu. Deneysel AD ve Aseton-Zeytinyağı uygulanan grupta farelerin serum IgE düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı yüksek ( $p<0.05$ ) saptanırken diğer gruplarda önemli bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Deneme gruplarının serum Ig-13 düzeyleri 29,7-38,4 ng/L; Ig-5 seviyeleri ise 53,4-60,5 ng/L arasında tayin edildi. Her iki sitokin düzeylerinde kontrol grubuna göre önemli bir değişim görülmedi ( $p>0.05$ ). IFN- $\gamma$  düzeyleri kontrol, aseton-zeytinyağı, AD ve kortikosteroid gruplarında (278-298 ng/L); AZ grubunda  $390\pm 101$  ng/L olarak saptandı. Gruplar arasında yalnızca AZ grubunda kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir artış ( $p<0.05$ ) gözlemlendi.

Tablo 4. Grupların sitokin düzeyleri ( $\bar{x} \pm Sx$ )

PARAMETRELER	Kontrol (n=6)	Aseton- Zeytinyağı (n=6)	Atopik Dermatit (AD) (n=6)	AD+ Arı Zehri (AZ) (n=6)	AD+ Kortikosteroid (n=6)
<b>Ig-E (ng/L)</b>	2,1±0,4 <sup>a</sup>	5,6±1,04 <sup>b</sup>	5,3±0,8 <sup>b</sup>	2,44±0,6 <sup>a</sup>	3,5±0,8 <sup>a</sup>
<b>IL-13(ng/L)</b>	29,7±4,8	38,4±7,8	30,9±3,9	37,4±4,5	38,4±4,9
<b>IL-5 (ng/L)</b>	60,5±3,7	53,4±7,8	57,2±8,5	58,3±7,8	60,2±5,8
<b>IF- <math>\gamma</math> (ng/L)</b>	278±38,3 <sup>a</sup>	280,2±53,6 <sup>a</sup>	284,8±29,6 <sup>a</sup>	390±101 <sup>b</sup>	298,2±67,4 <sup>a</sup>

Satırlardaki farklı harfler istatistiki önemi gösteriyor ( $p<0,05$ )

## 5. TARTIŞMA

Atopik Dermatit, uzun süreli tedavi gerektiren kronik bir hastalıktır (Abędz ve Pawliczak, 2019). AD, kalıcı kaşıntıya ve kuru cilde neden olan, erken yaşta gelişebilen ve tekrarlayıcı seyir gösteren sistemik bir inflamatuvar yanıttır (Moyle ve diğerleri, 2019). AD'nin çeşitli nedenleri arasında genetik, sosyoekonomik ve çevresel faktörler yer alır. AD'nin mekanizması, dış cilt bariyeri fonksiyonunun yıkımı ve iç deri iltihabı olarak ayrılabilir (Spergel, 2008). Ancak bu, cilt duvarı hasarı ve deri iç iltihabının tek taraflı bir ilişkisi değil, geri bildirim mekanizmalarıyla kaşıntı-çizik-iltihaplanma-kaşıntı... gibi tekrar eden kısır döngüdür (Li, 2014). Biyolojik veya genetik faktörler cilt bariyerlerini yıktığında, keratin ve mast hücreleri uyarılır, enflamatuvar sitokinler oluşturur ve bir dizi alerjik bağışıklık tepkisini artırır (Szymański ve diğerleri, 2021). AD'de cilt tahrişini azaltan tedavi yöntemlerine öncelik verilir ve kötüleştirici faktörlerden kaçınmak için kişisel bakım, nemlendiriciler ve topikal kortikosteroidlerin kullanımını kapsamaktadır. Bu yöntemler, ilaçlar kullanılarak cilt bariyer koşullarını iyileştirmeyi ve derideki iltihaplanmayı azaltmayı amaçlar. Hafif vakalarda, önce topikal kortikosteroidler, topikal kalsinörin inhibitörleri ve antihistaminikler kullanılır (Kim, 2021). AD için sistemik ve biyolojik olarak hedeflenen tedavi, şiddetli, kontrol edilemeyen vakalarda kullanılabilir (Han ve diğerleri, 2018). AD için klasik tedavi yöntemlerinden topikal steroid tedavisi en etkili yöntemlerdendir. Ancak sürekli tekrarlayan steroid uygulaması cilt incilmesi ve atrofi gibi yan etkilere yol açar (Del Rosso ve Freidlander, 2005). Topikal kortikosteroidler gibi antiinflamatuvar ajanların kullanımı, geçici olarak hızlı semptom iyileşmesi gösterebilir, ancak daha sonraki bir geri tepme, B hücreleri tarafından artan IgE üretimine ve birçok yan etkiye yol açabilir (Kolbe ve diğerleri 2001; Rademaker ve diğerleri, 2020). Ayrıca, bu steroidlerin günlük çoklu uygulaması, bu ilaçlar için sitoplazmatik reseptörlerin blokajına yol açabilir ve tedaviye paradoksal yanıt eksikliğine neden olabilir (Hengge ve diğerleri, 2006). AD tedavisinde çok güçlü etkili steroidlerin kullanımının derinin epidermal bariyer yapısını ve stratum korneum bütünlüğünü bozduğu, sadece uzun süreli tedavide değil, kısa süreli bir uygulamalarda bile deri yapısı ve işlevi üzerinde olumsuz etkiler yapabileceği gösterilmiştir (Sheu ve diğerleri,1997; Kao diğerleri, 2003). Topikal steroidlerin genel olarak iyi bir güvenlik profili olmasına rağmen, olası yan

etkiler arasında cilt atrofisi ve renk değişikliği, purpura, telenjiyektazi, deri çatlağı, hipopigmentasyon ve akne benzeri döküntüler yer alır (Eichenfield ve diğerleri, 2014). Lokal yan etkilere ek olarak, topikal steroidlerin uzun süreli kullanımı, sistemik yan etkilere de neden olabilir. Bunlar özellikle bebeklerde ve yaşı hastalarda görülür. Hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenin baskılanması, iyatrojenik cushing sendromu, bebeklerde ve çocuklarda büyüme geriliği, glokom ve görme kaybı, femur başının avasküler nekrozu ve bebeklerde ölümlü sonuçlanan ciddi yayılmış sitomegalovirüs enfeksiyonu belgelenen yan etkiler arasındadır (Dhar ve diğerleri, 2014). Son araştırmalar, AD ile kronik bağırsak hastalığı ve artrit gibi rahatsızlıklar arasında önemli ilişkiler olduğunu bildirmiştir (Schmitt ve diğerleri, 2016; Baurecht ve diğerleri, 2018; Lee ve diğerleri, 2018). AD hastalarında lezyonsuz ciltte bile, sitokinler, kemokinler ve yardımcı T hücrelerinde önemli artışlarla, sağlıklı insanların derisine kıyasla dahili keratinosit farklılaşmasında değişiklikler olduğu belirlenmiştir (Grobe ve diğerleri, 2019). Bu, diğer dermatitlerle karşılaştırıldığında tek başına AD'nin bir özelliğidir. Bu çalışmalar AD'nin lokal olmadığını, tüm vücutta etkili olan sistemik, kronik bir durum olduğunu göstermektedir. Bu durum AD tedavisi, immünoşüpresanların ötesinde temel ve sistemik tedavi gerektirir. Bu ilaçların ciddi yan etkileri alternatif tedavilerin araştırılmasını da gerekli kılmaktadır.

Arı zehri, bal arıları tarafından üretilen doğal bir toksindir. AZ, enzimler, biyolojik aminler ve peptid olmayan bileşenlerle birlikte melittin, apamin, adolapin ve mast hücre degranülasyon peptidi dahil olmak üzere çeşitli peptidler içerir. AZ, çeşitli hastalıklar için geleneksel bir ilaç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Son ve diğerleri, 2007; Billingham ve diğerleri, 1973). Bu etkinliklerinden dolayı son yıllarda AD tedavisi üzerine yapılan araştırmalar arı zehrinin AD tedavisinde etkinliği üzerine yoğunlaşmıştır. Sunulan tez çalışmasında farelerde DNCB ile oluşturulan AD modelinde klasik tedavi yöntemi topikal steroid grubunun üyesi, klobetazol 17-propiyonat içeren %0,05 Dermovate ile Arı zehrinin etkinliği karşılaştırılmış olup; klinik ve histopatolojik sonuçlar değerlendirildiğinde topikal steroid uygulaması sonucu görülen yan etkiler arı zehri tedavisinde görülmemiş, AZ'nin terapötik etkileri sayesinde AD tedavisi için bir alternatif tedavi yöntemi olabileceği belirlenmiştir.

Atopik Dermatit oluşturulan deneysel çalışmalarda, ovalbumin (Gu ve diğerleri, 2018), DNCB (An ve diğerleri, 2018) ve TMA (Sur ve diğerleri, 2016) gibi ajanlar uygulanmıştır. DNCB'nin AD benzeri deri lezyonlarını indüklediği bilinmektedir (Yang ve diğerleri, 2021).

Kim ve diğeri (2021) yaptığı bir çalışmada DNCB ile atopik dermatit oluşturulan farelerin serum ölçümlerinde Ig-E ve IL-13 seviyelerinin yükseldiğini tespit ettiler.

Atopik Dermatit, Th1- veya Th2-baskın enflamasyonla sonuçlanan kronik ve akut faz olmak üzere iki farklı faz ile karakterize edilir (Kim ve diğeri, 2015). Th hücreleri, makrofajları ve sitotoksik T hücrelerini aktive ederek, T-hücresi sitokinlerini salarak ve B-hücresi antikor sınıfını değiştirerek hücre içi ve hücre dışı patojenlere karşı bağışıklık tepkisinin düzenlenmesinin sağlayan önemli bileşenlerdir (Hahn ve Erb, 1999). Olgun Th hücreleri, yüzeylerinde CD4 glikoproteini ifade ettikleri için CD4 + T hücreleri olarak da bilinirler (Finlayson, 2012). Bu CD4 + T hücreleri, AD etkilerinin ortaya çıkarılmasında ve sürdürülmesinde kilit bir rol oynar. CD4 + T hücrelerinin farklılaşması, IFN- $\gamma$  salgılayan Th1 hücrelerinin, IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılayan Th2 hücrelerinin oluşmasına yol açar. Bu nedenle, T hücreleri kaynaklı immün yanıtların modüle edilmesi AD için ümit verici bir terapötik yaklaşımdır (Biedermann ve diğeri, 2015). An ve diğeri (2018), farelerde AD benzeri bir modelde arı zehri ve melittinin Th1 veya Th2 yanıtlarını etkileyip etkilemediğini araştırmışlardır. Çalışmada, serumdaki IFN- $\gamma$  seviyelerinin, kontrol grubuna göre DNCB grubunda artarken, arı zehri veya melittin uygulanan gruplarında, serum IFN- $\gamma$  ve IgE seviyelerini önemli ölçüde azaldığını bildirmiştir.

Sur ve diğeri (2016) yaptıkları bir çalışmada, yeni bir akupunktur tedavi türü olarak, saf arı zehrinin hastalıklı vücut bölgesindeki belirli akupunktur noktasına enjekte edildiği Arı zehri akupunkturunu (BVA); trimellitik anhidrit (TMA) ile farelerde deneysel atopik dermatit modelinde değerlendirmişlerdir. Farelerin dorsal bölgesine %5 TMA ile duyarlılaştırılmış ve ardından 3 günlük bir aradan sonra her iki kulağın dorsalına %2 TMA ile 12 gün boyunca tedavi etmişlerdir. %2 TMA tedavisinin 7. gününden itibaren, BL40 akupunktur noktalarına, %2 TMA tedavisinden 1 saat önce AZ (AZ, 0,3 mg/kg) bilateral deri altı enjeksiyonu 5 gün boyunca uygulamışlardır. BVA tedavisi, TMA ile tedavi edilen farelerin kulak derisi ve lenf nodüllerinde hem T yardımcı hücre tipi 1 (Th1) hem de Th2 sitokinlerinin ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde inhibe ettiğini; kulak derisi semptom şiddeti ve kalınlığı, inflamasyon ve lenf nodül ağırlığı gibi AD benzeri semptomların önemli ölçüde hafifletildiğini; T hücrelerinin çoğalmasını ve infiltrasyonunu, Th1 ve Th2 sitokinlerinin üretimini ve interleukin (IL)-4 ve immünoglobulin E (IgE) sentezini, kanındaki tipik alerjik Th2 tepkilerini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

OVA önemli bir yumurta akı proteindir. OVA ile duyarlılaştırılmış farelerde artan kaşınma davranışı, cilt kalınlaşması, enflamatuar hücrelerin sızması ve IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi Th<sub>2</sub> sitokinlerinin seviyelerinin yükselmesiyle karakterize AD semptomları tespit edilmiştir. Bu nedenle, OVA, bir AD fare modeli geliştirmek için yararlı bir alerjen olarak kabul edilmiştir (Jin ve diğerleri, 2009). OVA ile duyarlılaştırılmış farenin bir başka özelliği de sistemik olarak yükselmiş serum IgE seviyesidir (Majewska-Szczepanik, 2016). Gu ve diğerleri (2018) farelerin sırt derisi üzerine Ovalbumin uygulayarak oluşturdukları çalışmada, egzema, kanama, eritem, kuruluk gibi AD benzeri deri lezyonları gözlemlemişlerdir. Çalışmada OVA grubunda enflamatuar hücrelerin infiltrasyonu ve cilt kalınlığının, kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttığı; intraperitoneal olarak uygulanan AZ'nin OVA kaynaklı artan mast hücrelerini, serum Ig-E'yi ve proinflamatuvar TNF-a ve TSLP sitokin ekspresyonunu azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca AZ uygulanan gruplarda epidermal ve dermal deri kalınlıklarının azaldığı görülmüştür. Kim ve diğerleri (2017), Ovalbumin ile indüklenen AD modeliyle yaptıkları başka bir çalışmada AZ bileşenlerinden Melittinin etkinliği araştırmışlardır. Haftada 2 kez Melittin konsantrasyonu intraperitoneal olarak enjekte etmişlerdir. OVA'nın, serum IgE düzeyinin artmasına, cilt kalınlaşmasına, enflamatuar sızmaya ve Th<sub>2</sub> sitokinlerinin (IL-4, IL-5 ve IL-13) yükselmesine neden olduğu; melittin uygulanan gruplarda OVA grubuna kıyasla IL-5 dışında IL-4, IL-13 ve IgE seviyelerinde azalma olduğu bulunmuştur.

Kim ve Song (2022) yılında farelerin kulak ve sırt derisine haftada 3 defa olmak üzere, 4 hafta süreyle Ftalik Anhidrit (FA) uygulayarak AD oluşturdukları çalışma sonucu, tedavi gruplarında morfolojik değişiklik olarak eritem, ödem ve erozyon ve farelerin dorsal kulak ve sırt derilerinde epidermin kalınlaştığı görülmüştür. Tedavi gruplarında Serum Ig-E düzeylerinin arttığını, auriküler lenf nodüllerinin büyüdüğünü tespit etmişlerdir. Araştırmacılar hem AZ ve hem lipozom kapsüllü AZ kullanılarak tedavi grubu oluşturmuşlardır, her iki grupta da serum Ig-E seviyesinin ve lenf düğümlerinin ağırlığını önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmada ayrıca, IL-1 $\beta$ , IL-4 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve TSLP ve CCL22 gibi kemokinlerin seviyeleri, FA solüsyonunun topikal olarak tekrar tekrar uygulanması nedeniyle arttığı, lipozom kapsüllü AZ grubunun yanı sıra AZ ile tedavi edilen grupta da önemli ölçüde ve doza bağlı olarak azaldığını belirlemişlerdir.

Atopik Dermatitin önemli karakteristik özelliklerinden biri de yüksek düzeyde Serum IgE üretimi olduğu bilinmektedir (Angeli ve diğerleri, 2004). Lee ve diğerleri (2020) yılında

yaptıkları çalışmada DNCB ile indüklenmiş atopik fare modelinde inflamatuvar sitokinlerden IgE'nin arttığını belirlemişlerdir. Jung ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada ev tozu akarı özütü ve DNCB'yi farelerin kulak derisine uygulayarak AD oluşturmuşlardır. Çalışmalarında kullandıkları AZ bileşenlerinden PLA<sub>2</sub>, DNCB ve ev tozu akarı özütüyle (ETAÖ) artan IgE düzeyini, Th1 sitokinlerinden IFN- $\gamma$  ve Th2 sitokinlerinden IL-13 düzeylerini azalttığı, ayrıca çalışmada pozitif kontrol (kortikostreoid) grubunun Th1/2 sitokinlerinin yanı sıra serum toplam IgE seviyesinde belirgin bir baskılama gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca ETAÖ/DNCB yüklemesi, epidermiste kalınlaşma, dermiste fibroz ve dermiste enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu içeren güçlü histopatolojik değişikliklere neden olmuştur. AD grubu, kontrol grubuna kıyasla kulak dokularında epidermis, dermis ve enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu önemli ölçüde artırmıştır. Şaşırtıcı bir şekilde, PLA<sub>2</sub> ile tedavi edilen grupların kulakları, AD grubuna kıyasla daha az epidermal ve dermal hiperplazi sergilemiştir; kortikosteroid grubu da benzer şekilde histopatolojik etki göstermiştir. Shin ve diğerleri (2018), AZ'nin alerjik kronik rinosinüzit (CRS) oluşturulan fare modeli üzerindeki anti-enflamatuvar etkisini araştırmışlardır. Alerjik CRS fare modeli, ovalbumin ve Staphylococcus aureus enterotoksin B (SEB) uygulaması ile burunda geliştirilmiştir. Araştırmacılar, haftada 3 kez 8 hafta boyunca buruna 0.5-5 mg/ml AZ uygulamışlardır. Burun dokusunda histopatolojik değişiklikler ve burun lavaj sıvısındaki enflamatuvar hücre infiltrasyonu, interlökin (IL)-4, IL-10 ve interferon (INF)- $\gamma$  düzeyleri ölçülmüştür. AZ ile tedavi edilen grupta, belirgin bir şekilde enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve PAS-pozitif hücrelerin azaldığı gösterilmiştir. AZ'nin alerjik CRS fare modelinde önemli ölçüde anti-enflamatuvar etkilere sahip olduğu ve CRS tedavisi için potansiyel değere sahip olabileceği iddia edilmiştir.

Sunulan tez çalışmasında DNCB uygulanan farelerde AD deneysel olarak başarılı bir şekilde oluşturulmuştur. AD oluşturulan fareler, 3 haftalık gözlem süreci boyunca kaşıntı, ödem, eritem, yara izi ve ekzoriyasyon gibi AD'e özgü semptomları göstermiştir. Bu bulgular önceki çalışmalarda (An ve diğerleri, 2018) görülen semptomlara benzerdir. Yapılan tez çalışmasında AD'nin klinik bulgularına uyumlu olarak, AD grubunun serum IgE düzeylerindeki artış, deneysel atopik dermatit modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğunun göstergesi olarak değerlendirildi. AZ'nin topikal uygulandığı grupta serum IgE düzeylerinin kontrol grubuna yakın seviyeye gelmesi, diğer deneme grupları ile karşılaştırıldığında önemli düşüş göstermesi, AD tedavisinin sistemik olarak da etkili olduğunu düşündürmektedir. IgE düzeylerindeki gruplar arasındaki farklılığa karşılık, AD grubunun serum IFN- $\gamma$ , IL-5 ve IL-



13 düzeylerinde, kontrol grubuna göre istatistiki düzeylerinde Araştırmacılar (Jung ve diğerleri, 2017; Kim ve Song, 2022; Kim ve diğerleri, 2017) farklı olarak önemli bir değişim saptanmadı. Deneme grubunun ırk özelliğinin ve AD ajanının uygulama süresinin sitokin salgısı üzerine etkili olabileceği kanaatine varıldı. Buna karşılık diğer gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmaz iken, AZ uygulanan grupta IFN- $\gamma$  düzeylerinde artış görüldü. IFN- $\gamma$ , genellikle doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), T hücreleri ve bazı diğer bağışıklık hücreleri tarafından üretilir. IFN- $\gamma$ , bağışıklık sisteminin hücresel bağışıklık yanıtını düzenlemede önemli bir rol oynar. Bu sitokin, enfekte hücrelerin tanınmasını ve yok edilmesini kolaylaştırır. Ayrıca, bağışıklık hücrelerinin patojenlere karşı daha etkili bir şekilde savaşmasına yardımcı olur. AZ grubundaki farelerin serum IFN- $\gamma$  düzeylerindeki artış, AZ'nin bağışıklık sistemi üzerine pozitif etki yapabileceğini düşündürmektedir. Histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde ise AZ grubunda, daha az lökosit infiltrasyonu ve fibröz görüldü; DNCB ve Kortikosteroid gruplarına kıyasla yan etkilerin daha az olduğu, epitel dokunun iyileşmesinin daha hızlı olduğu görüldü, Resim 8 incelendiğinde uygulama bölgesinin makroskobik görüntüleri de bu sonuçları desteklemektedir.

Özet olarak, bu çalışma, farelerin DNCB ile indüklenen AD benzeri deri lezyonları üzerinde lokal AZ uygulamasının klasik tedavi yöntemi kortikosteroid uygulaması ile karşılaştırma imkanı sunarak arı zehrinin iyileştirici etkilerini göstermiştir. Arı zehri IgE serum düzeyini baskılayarak AD benzeri cilt lezyonlarında inflamatuvar semptomları azalttı ve bunu takiben epidermal farklılaşmayı iyileştirmiştir. Bu sonuçlar arı zehrinin AD tedavisinde alternatif tedavi yöntemlerinden biri olabileceğini düşündürmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Doğal bir ürün olan Arı zehri dünyada yaygın olarak kullanılırken ülkemizde arı zehrine olan ilgi hem üretim hem de farmakolojik kullanım açısından son yıllarda dikkat çekici bir biçimde artmıştır. Arı zehri antiinflamatuvar, immüno stimülatör, antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiviral etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Deneysel atopik dermatit oluşturulmuş farelerde arı zehri uygulamasının, histopatolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada IL-5, IL-13 değerlerinde anlamlı değişikliğe neden olmadığı belirlenirken, IFN- $\gamma$  artışına neden oldu. AD'nin en önemli belirteçlerinden serum IgE, seviyesini düşürdüğü, klinik bulgularda iyileşme gösterdiği belirlendi. Bu sonuçlar arı zehrinin atopik dermatitin neden olduğu enflamasyonun sistemik bulguların azaltılmasında doku yıkımının önlenmesine iyileşmeye ilave katkı yapabileceğini gösterdi. Benzer sonuçlar histopatolojik açıdan da doğrulanmıştır. Ancak Arı zehrinin etkilerinin inceleneceği daha detaylı çalışmalara gerek vardır. Planlanacak yeni çalışmalarda değişik atopik dermatit indüklenme yöntemleri, denek sayısının artırılması, uygulama sıklığı ve farklı dozların denenmesi bu konuda ki verilerin artışına imkân sağlayabilir.

## KAYNAKLAR

- Abd El-Wahab, S. D., and Eita, L. H. (2015). The effectiveness of live bee sting acupuncture on depression. *IOSR J. Nurs. Health Sci*, 4, 19-27.
- 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, 459-484. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64181-6.00013-9>
- Abędź, N. and Pawliczak, R. (2019). Efficacy and safety of topical calcineurin inhibitors for the treatment of atopic dermatitis: meta-analysis of randomized clinical trials. *Postępy dermatologii i alergologii*, 36(6), 752–759. <https://doi.org/10.5114/ada.2019.91425>
- Ali, M. A. A. S. M. (2012). Studies on bee venom and its medical uses. *Int J Adv Res Technol*, 1(2), 69-83.
- Alspach, E., Lussier, D. M., Schreiber, R. D. (2019). Interferon  $\gamma$  and Its Important Roles in Promoting and Inhibiting Spontaneous and Therapeutic Cancer Immunity. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 11(3), a028480. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028480>
- An, H. J., Kim, J. Y., Kim, W. H., Gwon, M. G., Gu, H. M., Jeon, M. J., Han, S. M., Pak, S. C., Lee, C. K., Park, I. S., Park, K. K. (2018). Therapeutic effects of bee venom and its major component, melittin, on atopic dermatitis in vivo and in vitro. *British journal of pharmacology*, 175(23), 4310–4324. <https://doi.org/10.1111/bph.14487>
- Andersen, L., Nyeland, M. E., Nyberg, F. (2020). Increasing severity of atopic dermatitis is associated with a negative impact on work productivity among adults with atopic dermatitis in France, Germany, the U.K. and the U.S.A. *The British journal of dermatology*, 182(4), 1007–1016. <https://doi.org/10.1111/bjd.18296>
- Andersen, Y. M. F., Egeberg, A., Skov, L., Thyssen, J. P. (2017). Comorbidities of Atopic Dermatitis: Beyond Rhinitis and Asthma. *Current dermatology reports*, 6(1), 35–41. <https://doi.org/10.1007/s13671-017-0168-7>

- Angeli, V., Staumont, D., Charbonnier, A. S., Hammad, H., Gosset, P., Pichavant, M., Lambrecht, B. N., Capron, M., Dombrowicz, D., Trottein, F. (2004). Activation of the D prostanoid receptor 1 regulates immune and skin allergic responses. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 172(6), 3822–3829. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.6.3822>
- Ansotegui, I. J., Melioli, G., Canonica, G. W., Caraballo, L., Villa, E., Ebisawa, M., ... Zuberbier, T. (2020). IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *The World Allergy Organization journal*, 13(2), 100080. <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2019.100080>
- Arga, M. ve Harmancı, K. (2020). Çocuklarda Atopik Dermatit . *Klinik Tıp Pediatri Dergisi*, 12 (2) , 66-78 .
- Ariëns, L. F. M., van Nimwegen, K. J. M., Shams, M., de Bruin, D. T., van der Schaft, J., van Os-Medendorp, H., De Bruin-Weller, M. (2019). Economic Burden of Adult Patients with Moderate to Severe Atopic Dermatitis Indicated for Systemic Treatment. *Acta dermato-venereologica*, 99(9), 762–768. <https://doi.org/10.2340/00015555-3212>
- Asher, M. I., Montefort, S., Björkstén, B., Lai, C. K., Strachan, D. P., Weiland, S. K., Williams, H., ISAAC Phase Three Study Group (2006). Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet (London, England)*, 368(9537), 733–743. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69283-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69283-0)
- Badshah, H., Ali, T., Kim, M. O. (2016). Osmotin attenuates LPS-induced neuroinflammation and memory impairments via the TLR4/NFκB signaling pathway. *Scientific reports*, 6, 24493. <https://doi.org/10.1038/srep24493>
- 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. <https://doi.org/10.3390/toxins12030198>
- 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 alpha2-Adrenoceptors. *Brain research*, 1073-1074, 305–310. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.12.086>

- Bangert, C., Rindler, K., Krausgruber, T., Alkon, N., Thaler, F. M., Kurz, H., ... Brunner, P. M. (2021). Persistence of mature dendritic cells, TH2A, and Tc2 cells characterize clinically resolved atopic dermatitis under IL-4R $\alpha$  blockade. *Science immunology*, 6(55). <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abe2749>
- Banks, B. E., Dempsey, C. E., Vernon, C. A., Warner, J. A., Yamey, J. (1990). Anti-inflammatory activity of bee venom peptide 401 (mast cell degranulating peptide) and compound 48/80 results from mast cell degranulation in vivo. *British journal of pharmacology*, 99(2), 350–354. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1990.tb14707.x>
- Bantz, S. K., Zhu, Z., Zheng, T. (2014). The Atopic March: Progression from Atopic Dermatitis to Allergic Rhinitis and Asthma. *Journal of clinical & cellular immunology*, 5(2), 202. <https://doi.org/10.4172/2155-9899.1000202>
- Baurecht, H., Rühlemann, M. C., Rodríguez, E., Thielking, F., Harder, I., Erkens, A. S., ... Weidinger, S. (2018). Epidermal lipid composition, barrier integrity, and eczematous inflammation are associated with skin microbiome configuration. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 141(5), 1668–1676.e16. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.01.019>
- Benton, A. W., Morse, R. A., Stewart, J. D. (1963). Venom Collection from Honey Bees. *Science (New York, N.Y.)*, 142(3589), 228–230. <https://doi.org/10.1126/science.142.3589.228>
- Berke, R., Singh, A., Guralnick, M. (2012). Atopic dermatitis: an overview. *American family physician*, 86(1), 35–42.
- Bicudo de Almeida-Muradian, L., Monika Barth, O., Dietemann, V., Eyer, M., Freitas, A. D. S. D., Martel, A. C., ... Gasparotto Sattler, J. A. (2020). Standard methods for *Apis mellifera* honey research. *Journal of Apicultural Research*, 59(3), 1–62. DOI: [10.1080/00218839.2020.1738135](https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1738135)
- Bidaud, I., Chong, A. C. Y., Carcouet, A., Waard, S. D., Charpentier, F., Ronjat, M., ... Mesirca, P. (2020). Inhibition of G protein-gated K<sup>+</sup> channels by tertiapin-Q rescues sinus node dysfunction and atrioventricular conduction in mouse models of primary bradycardia. *Scientific reports*, 10(1), 9835. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66673-8>

- Bieber T. (2020). Interleukin-13: Targeting an underestimated cytokine in atopic dermatitis. *Allergy*, 75(1), 54–62. <https://doi.org/10.1111/all.13954>
- Biedermann, T., Skabytska, Y., Kaesler, S., Volz, T. (2015). Regulation of T Cell Immunity in Atopic Dermatitis by Microbes: The Yin and Yang of Cutaneous Inflammation. *Frontiers in immunology*, 6, 353. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00353>
- Billingham, M. E., Morley, J., Hanson, J. M., Shipolini, R. A., Vernon, C. A. (1973). Letter: An anti-inflammatory peptide from bee venom. *Nature*, 245(5421), 163–164. <https://doi.org/10.1038/245163a0>
- Bin, L., Leung, D. Y. (2016). Genetic and epigenetic studies of atopic dermatitis. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 12, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s13223-016-0158-5>
- Birdi, G., Cooke, R., Knibb, R. C. (2020). Impact of atopic dermatitis on quality of life in adults: a systematic review and meta-analysis. *International journal of dermatology*, 59(4), e75–e91. <https://doi.org/10.1111/ijd.14763>
- Blakely, K., Gooderham, M., Papp, K. (2016). Dupilumab, A Monoclonal Antibody for Atopic Dermatitis: A Review of Current Literature. *Skin therapy letter*, 21(2), 1–5.
- 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. *Journal of Immunology*, 184(9), 5403-5413. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803709>
- Boguniewicz, M., and Leung, D. Y. (2010). Recent insights into atopic dermatitis and implications for management of infectious complications. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 125(1), 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.11.027>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.02.002>
- Brandt, E. B., Sivaprasad, U. (2011). Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. *Journal of clinical & cellular immunology*, 2(3), 110. <https://doi.org/10.4172/2155-9899.1000110>

- Brochetto-Braga, M. R. ; D., Lima, P. R. M., Chaud-Netto, J., Arab, A., DA Silva, G. P., & Cursino-Santos, J. R. (2005). Enzymatic variability among venoms from different subspecies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, 45(3), 797–809. [Web of Science ®], [Google Scholar]
- Buku, A. (1999). Mast cell degranulating (MCD) peptide: a prototypic peptide in allergy and inflammation. *Peptides*, 20(3):415-420. DOI: 10.1016/s0196-9781(98)00167-3.
- Buku, A., Mendlowitz, M., Condie, B. A., Price, J. A. (2004). Partial alanine scan of mast cell degranulating peptide (MCD): importance of the histidine- and arginine residues. *Journal of peptide science : an official publication of the European Peptide Society*, 10(6), 313–317. <https://doi.org/10.1002/psc.532>
- Buku, A. and Price, J. A. (2001). Further studies on the structural requirements for mast cell degranulating (MCD) peptide-mediated histamine release. *Peptides*, 22(12), 1987–1991. [https://doi.org/10.1016/s0196-9781\(01\)00538-1](https://doi.org/10.1016/s0196-9781(01)00538-1)
- Bulut G. (2020). Tarım ve Orman Bakanlığı Hayvancılık Arı Ürünleri Genel Müdürlüğü Üretim Çiftliği Projesi Fizibilite Raporu ve Yatırımcı Rehberi, , 2020: 21
- Burke, J. D., and Young, H. A. (2019). IFN- $\gamma$ : A cytokine at the right time, is in the right place. *Seminars in immunology*, 43,1-8. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2019.05.002>
- Cabanillas, B., and Novak, N. (2016). Atopic dermatitis and filaggrin. *Current opinion in immunology*, 42, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2016.05.002>
- Cai, M., Choi, S. M., and 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. <https://doi.org/10.3390/toxins7030846>
- 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. <https://doi.org/10.3390/nu12113360>
- Ceylan, T., ve Ünal, M.A. (2020). Patoloji ve Histoloji Laboratuvarı Uygulama Kitabı. Kapadokya Üniversitesi Yayınları.
- Chan, C. C., Liou, C. J., Xu, P. Y., Shen, J. J., Kuo, M. L., Len, W. B., Chang, L. E., Huang, W. C. (2013). Effect of dehydroepiandrosterone on atopic dermatitis-like skin lesions

- induced by 1-chloro-2,4-dinitrobenzene in mouse. *Journal of dermatological science*, 72(2), 149–157. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.06.015>
- Chen, M., Aoki-Utsubo, C., Kameoka, M., Deng, L., Terada, Y., Kamitani, W., ... Hotta, H. (2017). Broad-spectrum antiviral agents: secreted phospholipase A<sub>2</sub> targets viral envelope lipid bilayers derived from the endoplasmic reticulum membrane. *Scientific reports*, 7(1), 15931. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16130-w>
- Cho, S. Y., Shim, S. R., Rhee, H. Y., Park, H. J., Jung, W. S., Moon, S. K., Park, J. M., Ko, C. N., Cho, K. H., Park, S. U. (2012). Effectiveness of acupuncture and bee venom acupuncture in idiopathic Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 18(8), 948–952. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2012.04.030>
- Choi, J. K., and Kim, S. H. (2013). Rutin suppresses atopic dermatitis and allergic contact dermatitis. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, 238(4), 410–417. <https://doi.org/10.1177/1535370213477975>
- Choy, D. F., Hsu, D. K., Seshasayee, D., Fung, M. A., Modrusan, Z., Martin, F., Liu, F. T., Arron, J. R. (2012). Comparative transcriptomic analyses of atopic dermatitis and psoriasis reveal shared neutrophilic inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 130(6), 1335–43.e5. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.06.044>
- Chung, E. S., Kim, H., Lee, G., Park, S., Kim, H., Bae, H. (2012). Neuro-protective effects of bee venom by suppression of neuroinflammatory responses in a mouse model of Parkinson's disease: role of regulatory T cells. *Brain, behavior, and immunity*, 26(8), 1322–1330. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.08.013>
- Chung, E. S., Lee, G., Lee, C., Ye, M., Chung, H. S., Kim, H., ... Bae, H. (2015). Bee Venom Phospholipase A<sub>2</sub>, a Novel Foxp3<sup>+</sup> Regulatory T Cell Inducer, Protects Dopaminergic Neurons by Modulating Neuroinflammatory Responses in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 195(10), 4853–4860. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500386>
- Coondoo A. (2012). The role of cytokines in the pathomechanism of cutaneous disorders. *Indian journal of dermatology*, 57(2), 90–96. <https://doi.org/10.4103/0019-5154.94272>



- Cornara, L., Biagi, M., Xiao, J., Burlando, B. (2017). Therapeutic Properties of Bioactive Compounds from Different Honeybee Products. *Frontiers in pharmacology*, 8, 412. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00412>
- Czarnowicki, T., Krueger, J. G., Guttman-Yassky, E. (2017). Novel concepts of prevention and treatment of atopic dermatitis through barrier and immune manipulations with implications for the atopic march. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 139(6), 1723–1734. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.04.004>
- Dacheux, M., Sinou, V., Payré, C., Jeammet, L., Parzy, D., Grellier, P., Deregnaucourt, C., Lambeau, G. (2019). Antimalarial Activity of Human Group IIA Secreted Phospholipase A<sub>2</sub> in Relation to Enzymatic Hydrolysis of Oxidized Lipoproteins. *Infection and immunity*, 87(11), e00556-19. <https://doi.org/10.1128/IAI.00556-19>
- Daniluk, K., Kutwin, M., Grodzik, M., Wierzbicki, M., Strojny, B., Szczepaniak, ... Jaworski, S. (2019). Use of Selected Carbon Nanoparticles as Melittin Carriers for MCF-7 and MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells. *Materials (Basel, Switzerland)*, 13(1), 90. <https://doi.org/10.3390/ma13010090>
- Darsow, U., and Ring, J. (2008). Immunoglobulin e-mediated allergy plays a role in atopic eczema as shown in the atopy patch test. *The World Allergy Organization journal*, 1(3), 51–56. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3181661472>
- Davies, J., Riede, P., van Langevelde, K., Teh, J. (2019). Recent developments in advanced imaging in gout. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 11, 1759720X19844429. <https://doi.org/10.1177/1759720X19844429>
- De Graaf, D. C., Brochetto Bragab, M. R., Claro, R., de Abreu, R. M. M., Blank..., S., Bridts, C. H., ... Van Vaerenbergh, M. (2021). Standard methods for Apismellifera venom research, *Journal of Apicultural Research*, 60(4): 1-31.
- de Lau, L. M., Giesbergen, P. C., de Rijk, M. C., Hofman, A., Koudstaal, P. J., Breteler, M. M. (2004). Incidence of parkinsonism and Parkinson disease in a general population: the Rotterdam Study. *Neurology*, 63(7), 1240–1244. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000140706.52798.be>

- de Matos Silva, L. F. C., de Paula Ramos, E. R., Ambiel, C. R., Correia-de-Sá, P., Alves-Do-Prado, W. (2010). Apamin reduces neuromuscular transmission by activating inhibitory muscarinic M2 receptors on motor nerve terminals. *European journal of pharmacology*, 626(2-3), 239-243.
- Del Rosso, J. ve Friedlander, S. F. (2005). Corticosteroids: options in the era of steroid-sparing therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53(1 Suppl 1), S50–S58. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2005.04.030>
- 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. <https://doi.org/10.1021/cr200085w>
- Devi, A., Sangeeta, Kumar, 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), 96-98.
- Dhar, S., Seth, J., Parikh, D. (2014). Systemic side-effects of topical corticosteroids. *Indian journal of dermatology*, 59(5), 460–464. <https://doi.org/10.4103/0019-5154.139874>
- 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 : official journal of the International Society on Toxinology*, 148, 172–196. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.04.029>
- Drucker, A. M., Wang, A. R., Li, W. Q., Severson, E., Block, J. K., Qureshi, A. A. (2017). The Burden of Atopic Dermatitis: Summary of a Report for the National Eczema Association. *The Journal of investigative dermatology*, 137(1), 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.07.012>
- Ebner, S., Nguyen, V. A., Forstner, M., Wang, Y. H., Wolfram, D., Liu, Y. J., Romani, N. (2007). Thymic stromal lymphopoietin converts human epidermal Langerhans cells into antigen-presenting cells that induce proallergic T cells. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 119(4), 982–990. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.01.003>
- Eckert, L., Gupta, S., Gadkari, A., Mahajan, P., Gelfand, J. M. (2019). Burden of illness in adults with atopic dermatitis: Analysis of National Health and Wellness Survey data

- from France, Germany, Italy, Spain, and the United Kingdom. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 81(1), 187–195.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.03.037>
- Eichenfield, L. F., Tom, W. L., Berger, T. G., Krol, A., Paller, A. S., Schwarzenberger, K., ... Sidbury, R. (2014). Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: section 2. Management and treatment of atopic dermatitis with topical therapies. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 71(1), 116–132.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2014.03.023>
- Elieh Ali Komi, D., Shafaghat, F., Zwiener, R. D. (2018). Immunology of Bee Venom. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 54(3), 386–396.  
<https://doi.org/10.1007/s12016-017-8597-4>
- Ellis, C. N., Mancini, A. J., Paller, A. S., Simpson, E. L., Eichenfield, L. F. (2012). Understanding and managing atopic dermatitis in adult patients. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*, 31(3 Suppl), S18–S22.  
<https://doi.org/10.1016/j.sder.2012.07.006>
- Ferrucci, S., Tavecchio, S., Berti, E., Angileri, L. (2021). Dupilumab and prurigo nodularis-like phenotype in atopic dermatitis: our experience of efficacy. *The Journal of dermatological treatment*, 32(4), 453–454.  
<https://doi.org/10.1080/09546634.2019.1659479>
- Finlayson M (2012). Multiple Sclerosis Rehabilitation: From Disorder to Participation. Press CRC.
- Foster, P. S., Hogan, S. P., Yang, M., Mattes, J., Young, I. G., Matthaei, K. I., Kumar, R. K., Mahalingam, S., Webb, D. C. (2002). Interleukin-5 and eosinophils as therapeutic targets for asthma. *Trends in molecular medicine*, 8(4), 162–167.  
[https://doi.org/10.1016/s1471-4914\(02\)02302-x](https://doi.org/10.1016/s1471-4914(02)02302-x)
- Fratellone, P.M. (2015). Apitherapy Products for Medicinal Use. *J. Nutr. Food Sci.* Volume 2(4): 205-206.
- Freidin, M. B., Kobyakova, O. S., Ogorodova, L. M., Puzyrev, V. P. (2003). Association of polymorphisms in the human IL4 and IL5 genes with atopic bronchial asthma and

- severity of the disease. *Comparative and functional genomics*, 4(3), 346–350. <https://doi.org/10.1002/cfg.293>
- Furue, K., Ito, T., Tsuji, G., Ulzii, D., Vu, Y. H., Kido-Nakahara, M., Nakahara, T., Furue, M. (2019). The IL-13-OVOL1-FLG axis in atopic dermatitis. *Immunology*, 158(4), 281–286. <https://doi.org/10.1111/imm.13120>
- Gajski, G. ve Garaj-Vrhovac, V. (2013). Melittin: a lytic peptide with anticancer properties. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(2), 697–705. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.06.009>
- Galli, S. J., and Tsai, M. (2012). IgE and mast cells in allergic disease. *Nature medicine*, 18(5), 693–704. <https://doi.org/10.1038/nm.2755>
- Galli, S. J., Tsai, M., Piliponsky, A. M. (2008). The development of allergic inflammation. *Nature*, 454(7203), 445–454. <https://doi.org/10.1038/nature07204>
- Garcia, G., Taillé, C., Laveneziana, P., Bourdin, A., Chanez, P., Humbert, M. (2013). Anti-interleukin-5 therapy in severe asthma. *European respiratory review : an official journal of the European Respiratory Society*, 22(129), 251–257. <https://doi.org/10.1183/09059180.00004013>
- Giavina-Bianchi, M., and Giavina-Bianchi, P. (2019). Systemic Treatment for Severe Atopic Dermatitis. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 67(2), 69–78. <https://doi.org/10.1007/s00005-018-0521-y>
- Goenka, S., ve Kaplan, M. H. (2011). Transcriptional regulation by STAT6. *Immunologic research*, 50(1), 87–96. <https://doi.org/10.1007/s12026-011-8205-2>
- Gordon-Alonso, M., Hirsch, T., Wildmann, C., van der Bruggen, P. (2017). Galectin-3 captures interferon-gamma in the tumor matrix reducing chemokine gradient production and T-cell tumor infiltration. *Nature communications*, 8(1), 793. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00925-6>
- Gour, N., ve Wills-Karp, M. (2015). IL-4 and IL-13 signaling in allergic airway disease. *Cytokine*, 75(1), 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.05.014>
- Grassberger, M., Sherman, R. A., Gileva, O. S., Kim, C. M., Mumcuoglu, K. Y. (2013). Biotherapy—history, principles and practice. *Springer Dordrecht Heidelberg New York London*, 37, 38-39.

- Greenfeder, S., Umland, S. P., Cuss, F. M., Chapman, R. W., Egan, R. W. (2001). Th2 cytokines and asthma. The role of interleukin-5 in allergic eosinophilic disease. *Respiratory research*, 2(2), 71–79. <https://doi.org/10.1186/rr41>
- Grobe, W., Bieber, T., Novak, N. (2019). Pathophysiology of atopic dermatitis. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG*, 17(4), 433–440. <https://doi.org/10.1111/ddg.13819>
- 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). *The Journal of allergy and clinical immunology*, 117(4), 848–854. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.12.1331>
- Gu, H., Han, S. M., Park, K. K. (2020). Therapeutic Effects of Apamin as a Bee Venom Component for Non-Neoplastic Disease. *Toxins*, 12(3), 195. <https://doi.org/10.3390/toxins12030195>
- Gu, H., Kim, W. H., An, H. J., Kim, J. Y., Gwon, M. G., Han, S. M., Leem, J., Park, K. K. (2018). Therapeutic effects of bee venom on experimental atopic dermatitis. *Molecular medicine reports*, 18(4), 3711–3718. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9398>
- Gunnison, A. F. (1966). An improved method for collecting the liquid fraction of bee venom. *Journal of Apicultural Research*, 5(1), 33–36. <https://doi.org/10.1080/00218839.1966.11100129>
- Guttman-Yassky, E., Nograles, K. E., Krueger, J. G. (2011). Contrasting pathogenesis of atopic dermatitis and psoriasis--part I: clinical and pathologic concepts. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 127(5), 1110–1118. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.01.053>
- Hahn, S. ve Erb, P. (1999). The immunomodulatory role of CD4-positive cytotoxic T-lymphocytes in health and disease. *International reviews of immunology*, 18(5-6), 449–464. <https://doi.org/10.3109/08830189909088493>
- 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. <https://doi.org/10.1007/BF00258116>

- Ham, H. J., Han, J. H., Lee, Y. S., Kim, K. C., Yun, J., Kang, S. K., Park, Y., Kim, S. H., Hong, J. T. (2019). Bee Venom Soluble Phospholipase A2 Exerts Neuroprotective Effects in a Lipopolysaccharide-Induced Mouse Model of Alzheimer's Disease *via* Inhibition of Nuclear Factor-Kappa B. *Frontiers in aging neuroscience*, *11*, 287. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00287>
- Han, T. Y., Na, C. H., Lee, J. H., Kim, H. O., Park, C. O., Seo, Y. J., Son, S. W., Shin, M. K., Ahn, J. Y., Lee, Y. W., Jang, Y. H., Park, Y. L., Lew, B. L. (2018). Treatment of atopic dermatitis. *Korean Journal of Dermatology*, *56*(10), 581-593.
- Hartmann, A., Müllner, J., Meier, N., Hesekamp, H., van Meerbeeck, P., Habert, M. O., .., Schüpbach, M. (2016). Bee Venom for the Treatment of Parkinson Disease - A Randomized Controlled Clinical Trial. *PloS one*, *11*(7), e0158235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158235>
- Hayashi, S., Suto, H., Wada, N., Ogawa, H., Okumura, K., Ra, C. (2000). Detection of anti-IgE anti-FcεRI α chain auto-antibodies in patients with atopic dermatitis. *Allergology International*, *49*(1), 47-54.
- He, J. Q., Chan-Yeung, M., Becker, A. B., Dimich-Ward, H., Ferguson, A. C., Manfreda, J., Watson, W. T., Sandford, A. J. (2003). Genetic variants of the IL13 and IL4 genes and atopic diseases in at-risk children. *Genes and immunity*, *4*(5), 385–389. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6363985>
- Hellner, M., Winter, D., von Georgi, R., Münstedt, K. (2008). Apitherapy: usage and experience in german beekeepers. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, *5*(4), 475–479. <https://doi.org/10.1093/ecam/nem052>
- Hengge, U. R., Ruzicka, T., Schwartz, R. A., Cork, M. J. (2006). Adverse effects of topical glucocorticosteroids. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *54*(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2005.01.010>
- Hijnen, D., Knol, E. F., Gent, Y. Y., Giovannone, B., Beijm, S. J., Kupper, T. S., Bruijnzeel-Koomen, C. A., Clark, R. A. (2013). CD8(+) T cells in the lesional skin of atopic dermatitis and psoriasis patients are an important source of IFN-γ, IL-13, IL-17, and IL-22. *The Journal of investigative dermatology*, *133*(4), 973–979. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.456>

- 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. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-09-0904>
- Holm, J. G., Agner, T., Clausen, M. L., Thomsen, S. F. (2019). Determinants of disease severity among patients with atopic dermatitis: association with components of the atopic march. *Archives of dermatological research*, 311(3), 173–182. <https://doi.org/10.1007/s00403-019-01895-z>
- 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. <https://doi.org/10.3851/IMP2346>
- Hossen, M. S., Shapla, U. M., Gan, S. H., Khalil, M. I. (2016). Impact of Bee Venom Enzymes on Diseases and Immune Responses. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(1), 25. <https://doi.org/10.3390/molecules22010025>
- Hou, C., Guo, L., Lin, J., You, L., Wu, W. (2014). Production of antibacterial peptide from bee venom via a new strategy for heterologous expression. *Molecular biology reports*, 41(12), 8081–8091. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3706-4>
- Hsiang, H. K., and Elliott, W. B. (1975). Differences in honey bee (*Apis mellifera*) venom obtained by venom sac extraction and electrical milking. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*, 13(2), 145–148. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(75\)90125-7](https://doi.org/10.1016/0041-0101(75)90125-7)
- 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. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 58(1), 83–89. <https://doi.org/10.1211/jpp.58.1.0010>
- Hussein, Y. M., Ahmad, A. S., Ibrahim, M. M., Elsherbeny, H. M., Shalaby, S. M., El-Shal, A. S., Sabbah, N. A. (2011). Interleukin 13 receptors as biochemical markers in atopic patients. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*, 21(2), 101–107.

- Irvine, A. D., McLean, W. H., Leung, D. Y. (2011). Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *The New England journal of medicine*, 365(14), 1315–1327. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1011040>
- 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.
- Ivashkiv L. B. (2018). IFN $\gamma$ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. *Nature reviews. Immunology*, 18(9), 545–558. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0029-z>
- Jakob, T., Rafei-Shamsabadi, D., Spillner, E., Müller, S. (2017). Diagnostics in Hymenoptera venom allergy: current concepts and developments with special focus on molecular allergy diagnostics. *Allergo journal international*, 26(3), 93–105. <https://doi.org/10.1007/s40629-017-0014-2>
- Jang, M. H., Shin, M. C., Lim, S., Han, S. M., Park, H. J., Shin, I., Lee, J. S., Kim, K. A., Kim, E. H., 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. <https://doi.org/10.1254/jphs.91.95>
- Jin, H., He, R., Oyoshi, M., Geha, R. S. (2009). Animal models of atopic dermatitis. *The Journal of investigative dermatology*, 129(1), 31–40. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.106>
- Jin, W., Klem, A. M., Lewis, J. H., Lu, Z. (1999). Mechanisms of inward-rectifier K<sup>+</sup> channel inhibition by tertiapin-Q. *Biochemistry*, 38(43), 14294–14301. <https://doi.org/10.1021/bi991206j>
- Jorgovanovic, D., Song, M., Wang, L., & Zhang, Y. (2020). Roles of IFN- $\gamma$  in tumor progression and regression: a review. *Biomarker research*, 8, 49. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00228-x>
- Jung, K.-H., Baek, H., Kang, M., Kim, N., Lee, S., Bae, H. (2017). Bee Venom Phospholipase A2 Ameliorates House Dust Mite Extract Induced Atopic Dermatitis Like Skin Lesions in Mice. *Toxins*, 9(2), 68. <http://dx.doi.org/10.3390/toxins9020068>



- Jung, M. R., Lee, T. H., Bang, M. H., Kim, H., Son, Y., Chung, D. K., Kim, J. (2012). Suppression of thymus- and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production by 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosylspinasterol via blocking NF- $\kappa$ B and STAT1 signaling pathways in TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ -induced HaCaT keratinocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 427(2), 236–241. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.08.087>
- 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. <https://doi.org/10.3390/toxins7093715>
- Kalinin, A. E., Kajava, A. V., Steinert, P. M. (2002). Epithelial barrier function: assembly and structural features of the cornified cell envelope. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 24(9), 789–800. <https://doi.org/10.1002/bies.10144>
- Kao, J. S., Fluhr, J. W., Man, M. Q., Fowler, A. J., Hachem, J. P., Crumrine, D., Ahn, S. K., Brown, B. E., Elias, P. M., Feingold, K. R. (2003). Short-term glucocorticoid treatment compromises both permeability barrier homeostasis and stratum corneum integrity: inhibition of epidermal lipid synthesis accounts for functional abnormalities. *The Journal of investigative dermatology*, 120(3), 456–464. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2003.12053.x>
- Karlen, S., De Boer, M. L., Lipscombe, R. J., Lutz, W., Mordvinov, V. A., Sanderson, C. J. (1998). Biological and molecular characteristics of interleukin-5 and its receptor. *International reviews of immunology*, 16(3-4), 227–247. <https://doi.org/10.3109/08830189809042996>
- Kawakami, T., Ando, T., Kimura, M., Wilson, B. S., Kawakami, Y. (2009). Mast cells in atopic dermatitis. *Current opinion in immunology*, 21(6), 666–678. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2009.09.006>
- Kawasaki, H., Nagao, K., Kubo, A., Hata, T., Shimizu, A., Mizuno, H., Yamada, T., Amagai, M. (2012). Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 129(6), 1538–46.e6. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.01.068>

- Kempuraj, D., Castellani, M. L., Petrarca, C., Frydas, S., Conti, P., Theoharides, T. C., Vecchiet, J. (2006). Inhibitory effect of quercetin on tryptase and interleukin-6 release, and histidine decarboxylase mRNA transcription by human mast cell-1 cell line. *Clinical and experimental medicine*, 6(4), 150–156. <https://doi.org/10.1007/s10238-006-0114-7>
- Kidd P. (2003). Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic*, 8(3), 223–246.
- Kim, G. D., Park, Y. S., Ahn, H. J., Cho, J. J., Park, C. S. (2015). Aspartame Attenuates 2, 4-Dinitrofluorobenzene-Induced Atopic Dermatitis-Like Clinical Symptoms in NC/Nga Mice. *The Journal of investigative dermatology*, 135(11), 2705–2713. <https://doi.org/10.1038/jid.2015.234>
- Kim H, Kim JR, Kang H, Choi J, Yang H, et al. (2014) 7,8,4'-Trihydroxyisoflavone Attenuates DNCB-Induced Atopic Dermatitis-Like Symptoms in NC/Nga Mice. *PLOS ONE* 9(8): e104938. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104938>
- Kim, H. I., Hong, S. H., Lee, S. Y., Ku, J. M., Kim, M. J., Ko, S. G. (2021). *Gardenia Jasminoides* Ameliorates Antibiotic-Associated Aggravation of DNCB-Induced Atopic Dermatitis by Restoring the Intestinal Microbiome Profile. *Nutrients*, 13(4), 1349. <https://doi.org/10.3390/nu13041349>
- Kim, H., Lee, H., Lee, G., Jang, H., Kim, S. S., Yoon, H., Kang, G. H., Hwang, D. S., Kim, S. K., Chung, H. S., Bae, H. (2015). Phospholipase A2 inhibits cisplatin-induced acute kidney injury by modulating regulatory T cells by the CD206 mannose receptor. *Kidney international*, 88(3), 550–559. <https://doi.org/10.1038/ki.2015.147>
- Kim, J., and Song, H. S. (2022). Bee Venom Within Liposomes Synergistically Inhibit Atopic Dermatitis in Mice. *Journal of Acupuncture Research*. Korean Acupuncture and Moxibustion Medicine Society. <https://doi.org/10.13045/jar.2021.00318>
- Kim, K. H., Lee, W. R., An, H. J., Kim, J. Y., Chung, H., Han, S. M., Lee, M. L., Lee, K. G., Pak, S. C., Park, K. K. (2013). Bee venom ameliorates compound 48/80-induced atopic dermatitis-related symptoms. *International journal of clinical and experimental pathology*, 6(12), 2896–2903.

- Kim, W. (2021). Bee Venom and Its Sub-Components: Characterization, Pharmacology, and Therapeutics. *Toxins*, 13(3), 191. <http://dx.doi.org/10.3390/toxins13030191>
- Kim, W. H., An, H. J., Kim, J. Y., Gwon, M. G., Gu, H., Jeon, M., Sung, W. J., Han, S. M., Pak, S. C., Kim, M. K., Park, K. K. (2017). Beneficial effects of melittin on ovalbumin-induced atopic dermatitis in mouse. *Scientific reports*, 7(1), 17679. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17873-2>
- Kim, Y., Lee, Y. W., Kim, H., Chung, D. K. (2019). Bee Venom Alleviates Atopic Dermatitis Symptoms through the Upregulation of Decay-Accelerating Factor (DAF/CD55). *Toxins*, 11(5), 239. <https://doi.org/10.3390/toxins11050239>
- Kitamura, H., Yokoyama, M., Akita, H., Matsushita, K., Kurachi, Y., Yamada, M. (2000). Tertiapin potently and selectively blocks muscarinic K(+) channels in rabbit cardiac myocytes. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 293(1), 196–205.
- Klocek, G., Schulthess, T., Shai, Y., Seelig, J. (2009). Thermodynamics of melittin binding to lipid bilayers. Aggregation and pore formation. *Biochemistry*, 48(12), 2586–2596. <https://doi.org/10.1021/bi802127h>
- 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 : official journal of the International Society on Toxinology*, 161, 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.02.016>
- Kolayli, S.ve Keskin, M. (2020). Natural bee products and their apitherapeutic applications. *Stud. Nat. Prod. Chem.* , 66, 175–196.
- Kolbe, L., Kligman, A. M., Schreiner, V., Stoudemayer, T. (2001). Corticosteroid-induced atrophy and barrier impairment measured by non-invasive methods in human skin. *Skin research and technology : official journal of International Society for Bioengineering and the Skin (ISBS) [and] International Society for Digital Imaging of Skin (ISDIS) [and] International Society for Skin Imaging (ISSI)*, 7(2), 73–77. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0846.2001.70203.x>
- Korkmaz, A., Korkmaz, V. (2015). Arı zehri üretimi ve apiterapi. 1.Baskı. Samsun İli Arı Yetiştiricileri Birliği, Samsun.

- Kotsimbos, A. T., and Hamid, Q. (1997). IL-5 and IL-5 receptor in asthma. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92 Suppl 2, 75–91. <https://doi.org/10.1590/s0074-02761997000800012>
- Kouro, T., and Takatsu, K. (2009). IL-5- and eosinophil-mediated inflammation: from discovery to therapy. *International immunology*, 21(12), 1303–1309. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxp102>
- Krell, R. (1996) Value-Added Products from Beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin, 124, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Krell, R. (1996). Venom. In: Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin no. 124, chap. 7. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Italy. <http://www.fao.org/3/a-w0076e/w0076e18.htm#7.9>.
- Kudo, I., and Murakami, M. (2002). Phospholipase A2 enzymes. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 68-69, 3–58. [https://doi.org/10.1016/s0090-6980\(02\)00020-5](https://doi.org/10.1016/s0090-6980(02)00020-5)
- Kulthanan, K., Boochangkool, K., Tuchinda, P., Chularojanamontri, L. (2011). Clinical features of the extrinsic and intrinsic types of adult-onset atopic dermatitis. *Asia Pacific allergy*, 1(2), 80–86. <https://doi.org/10.5415/apallergy.2011.1.2.80>
- Kwak, E. J., Hong, J. Y., Kim, M. N., Kim, S. Y., Kim, S. H., Park, C. O., ... Sohn, M. H. (2019). Chitinase 3-like 1 drives allergic skin inflammation via Th2 immunity and M2 macrophage activation. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 49(11), 1464–1474. <https://doi.org/10.1111/cea.13478>
- Kwon, Y. B., Lee, J. D., Lee, H. J., Han, H. J., Mar, W. C., Kang, S. K., Beitz, A. J., Lee, J. H. (2001). Bee venom injection into an acupuncture point reduces arthritis associated edema and nociceptive responses. *Pain*, 90(3), 271–280. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00412-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00412-7)
- La Grutta, S., Richiusa, P., Pizzolanti, G., Mattina, A., Pajno, G. B., Citarrella, R., Passalacqua, G., Giordano, C. (2005). CD4(+)IL-13(+) cells in peripheral blood well correlates with the severity of atopic dermatitis in children. *Allergy*, 60(3), 391–395. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2005.00733.x>

- 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. *The Journal of biological chemistry*, 264(19), 11503–11510.
- Lambeau, G., 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. *The Journal of biological chemistry*, 265(16), 9526–9532.
- 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. *The Journal of biological chemistry*, 285(35), 27067–27077.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.110072>
- LaPorte, S. L., Juo, Z. S., Vaclavikova, J., Colf, L. A., Qi, X., Heller, N. M., ... Garcia, K. C. (2008). Molecular and structural basis of cytokine receptor pleiotropy in the interleukin-4/13 system. *Cell*, 132(2), 259-272.
- Lee C., Bae S. S., Joo H., Bae H. Melittin suppresses tumor progression by regulating tumor-associated macrophages in a Lewis lung carcinoma mouse model. *Oncotarget*. 2017; 8: 54951-54965. Retrieved from <https://www.oncotarget.com/article/18627/text/>
- Lee, G., and Bae, H. (2016). Anti-Inflammatory Applications of Melittin, a Major Component of Bee Venom: Detailed Mechanism of Action and Adverse Effects. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(5), 616. <https://doi.org/10.3390/molecules21050616>
- Lee, H. H., Patel, K. R., Singam, V., Rastogi, S., Silverberg, J. I. (2019). A systematic review and meta-analysis of the prevalence and phenotype of adult-onset atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 80(6), 1526–1532.e7. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.05.1241>
- Lee, J. H., Lim, J. Y., Jo, E. H., Noh, H. M., Park, S., Park, M. C., Kim, D. K. (2020b). Chijabyukpi-Tang Inhibits Pro-Inflammatory Cytokines and Chemokines via the Nrf2/HO-1 Signaling Pathway in TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ -Stimulated HaCaT Cells and Ameliorates 2,4-Dinitrochlorobenzene-Induced Atopic Dermatitis-Like Skin Lesions in Mice. *Frontiers in pharmacology*, 11, 1018. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01018>

- Lee, J. Y., Kang, S. S., Kim, J. H., Bae, C. S., Choi, S. H. (2005). Inhibitory effect of whole bee venom in adjuvant-induced arthritis. *In vivo (Athens, Greece)*, *19*(4), 801–805.
- 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 and comparative immunology*, *63*, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.05.011>
- Lee, M. T., Sun, T. L., Hung, W. C., Huang, H. W. (2013). Process of inducing pores in membranes by melittin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(35), 14243–14248. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307010110>
- Lee, S. Y., Lee, E., Park, Y. M., Hong, S. J. (2018). Microbiome in the Gut-Skin Axis in Atopic Dermatitis. *Allergy, asthma & immunology research*, *10*(4), 354–362. <https://doi.org/10.4168/aaair.2018.10.4.354>
- Lee, W. R., Kim, K. H., An, H. J., Kim, J. Y., Chang, Y. C., Chung, H., Park, Y. Y., Lee, M. L., Park, K. K. (2014). The protective effects of melittin on Propionibacterium acnes-induced inflammatory responses in vitro and in vivo. *The Journal of investigative dermatology*, *134*(7), 1922–1930. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.75>
- Lee, Y. M., Cho, S. N., Son, E., Song, C. H., Kim, D. S. (2020a). Apamin from bee venom suppresses inflammation in a murine model of gouty arthritis. *Journal of ethnopharmacology*, *257*, 112860. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112860>
- Lee, Y.J., Oh, M.J., Lee, D.H. et al. Anti-inflammatory effect of bee venom in phthalic anhydride-induced atopic dermatitis animal model. *Inflammopharmacol* *28*, 253–263 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10787-019-00646-w>
- Leung D. Y. (2000). Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *105*(5), 860–876. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.106484>
- Leung, D. Y., and Guttman-Yassky, E. (2014). Deciphering the complexities of atopic dermatitis: shifting paradigms in treatment approaches. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *134*(4), 769–779. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.08.008>

- Leung, D. Y., Boguniewicz, M., Howell, M. D., Nomura, I., Hamid, Q. A. (2004). New insights into atopic dermatitis. *The Journal of clinical investigation*, 113(5), 651–657. <https://doi.org/10.1172/JCI21060>
- Leung, D. Y., Hanifin, J. M., Charlesworth, E. N., Li, J. T., Bernstein, I. L., Berger, W. E., ... Spector, S. L. (1997). Disease management of atopic dermatitis: a practice parameter. Joint Task Force on Practice Parameters, representing the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, the American College of Allergy, Asthma and Immunology, and the Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology. Work Group on Atopic Dermatitis. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 79(3), 197–211. [https://doi.org/10.1016/s1081-1206\(10\)63003-7](https://doi.org/10.1016/s1081-1206(10)63003-7)
- Levin, J., Friedlander, S. F., Del Rosso, J. Q. (2013). Atopic dermatitis and the stratum corneum: part 1: the role of filaggrin in the stratum corneum barrier and atopic skin. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 6(10), 16–22.
- Li, K. (2014). Itch in atopic dermatitis: from pathogenesis to treatment. *Allergy, Asthma & Respiratory Disease*, 2(1), 8-15.
- Lilkova, E., Petkov, P., Ilieva, N., Krachmarova, E., Nacheva, G., Litov, L. (2019). Molecular modeling of the effects of glycosylation on the structure and dynamics of human interferon-gamma. *Journal of molecular modeling*, 25(5), 127. <https://doi.org/10.1007/s00894-019-4013-8>
- Lim, S. J., Kim, M., Randy, A., Nam, E. J., Nho, C. W. (2016). Effects of *Hovenia dulcis* Thunb. extract and methyl vanillate on atopic dermatitis-like skin lesions and TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ -induced chemokines production in HaCaT cells. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 68(11), 1465–1479. <https://doi.org/10.1111/jphp.12640>
- Lin, L., Zhu, B. P., Cai, L. (2017). Therapeutic effect of melittin on a rat model of chronic prostatitis induced by Complete Freund's Adjuvant. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 90, 921–927. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.04.055>
- Liu, F. T., Goodarzi, H., Chen, H. Y. (2011). IgE, mast cells, and eosinophils in atopic dermatitis. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 41(3), 298–310. <https://doi.org/10.1007/s12016-011-8252-4>

- 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*, *Biomembranes*, 1860(11), 2234–2241. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.09.007>
- 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. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(71\)90044-0](https://doi.org/10.1016/0003-9861(71)90044-0)
- Majewska-Szczepanik, M., Askenase, P. W., Lobo, F. M., Marcińska, K., Wen, L., Szczepanik, M. (2016). Epicutaneous immunization with ovalbumin and CpG induces TH1/TH17 cytokines, which regulate IgE and IgG2a production. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 138(1), 262–273.e6. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.11.018>
- 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 of the United States of America*, 92(26), 12466–12469. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.26.12466>
- 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 (London, England : 1993)*, 8(10), 1025–1035. [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(00\)00511-6](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(00)00511-6)
- Mashiko, S., Mehta, H., Bissonnette, R., Sarfati, M. (2017). Increased frequencies of basophils, type 2 innate lymphoid cells and Th2 cells in skin of patients with atopic dermatitis but not psoriasis. *Journal of dermatological science*, 88(2), 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2017.07.003>
- Matthaei, K. I., Foster, P., Young, I. G. (1997). The role of interleukin-5 (IL-5) in vivo: studies with IL-5 deficient mice. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92 Suppl 2, 63–68. <https://doi.org/10.1590/s0074-02761997000800010>
- May, R. D., and Fung, M. (2015). Strategies targeting the IL-4/IL-13 axes in disease. *Cytokine*, 75(1), 89–116. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.05.018>



- Memariani, H., and Memariani, M. (2020). Anti-fungal properties and mechanisms of melittin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(15), 6513–6526. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10701-0>
- 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 : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 39(1), 5–17. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03674-0>
- Mendoza, J. L., Escalante, N. K., Jude, K. M., Sotolongo Bellon, J., Su, L., Horton, T. M., Tsutsumi, N., Berardinelli, S. J., Haltiwanger, R. S., Piehler, J., Engleman, E. G., Garcia, K. C. (2019). Structure of the IFN $\gamma$  receptor complex guides design of biased agonists. *Nature*, 567(7746), 56–60. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0988-7>
- Meng, Y., Yang, X. X., Sheng, Y. X., Zhang, J. L. (2012). A novel peptide from *Apis mellifera* and solid-phase synthesis of its analogue. *Chinese Chemical Letters*, 23(10), 1161-1164.
- Miazgowicz, M. M., Headley, M. B., Larson, R. P., Ziegler, S. F. (2009). Thymic stromal lymphopoietin and the pathophysiology of atopic disease. *Expert review of clinical immunology*, 5(5), 547–556. <https://doi.org/10.1586/eci.09.45>
- Minty, A., Chalon, P., Derocq, J. M., Dumont, X., Guillemot, J. C., Kaghad, M., Labit, C., Leplatois, P., Liauzun, P., Miloux, B. (1993). Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature*, 362(6417), 248–250. <https://doi.org/10.1038/362248a0>
- Misery L. (2011). Therapeutic perspectives in atopic dermatitis. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 41(3), 267–271. <https://doi.org/10.1007/s12016-010-8226-y>
- Mizutani, N., Sae-Wong, C., Kangsanant, S., Nabe, T., Yoshino, S. (2015). Thymic stromal lymphopoietin-induced interleukin-17A is involved in the development of IgE-mediated atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Immunology*, 146(4), 568–581. <https://doi.org/10.1111/imm.12528>
- 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* (Basel, Switzerland), 23(3), 692.  
<https://doi.org/10.3390/molecules23030692>

- Mohamed, W. A., Abd-Elhakim, Y. M., Ismail, S. A. 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. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.03.003>
- Mohammadi-Rad, M., Ghasemi, N., Aliomrani, M. (2019). Evaluation of apamin effects on myelination process in C57BL/6 mice model of multiple sclerosis. *Research in pharmaceutical sciences*, 14(5), 424–431. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.268203>
- Moreno, M., and 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. <https://doi.org/10.3390/toxins7041126>
- Mourelle, D., Brigatte, P., Bringanti, L. D., De Souza, B. M., Arcuri, H. A., Gomes, P. C., Baptista-Saidemberg, N. B., Ruggiero Neto, J., Palma, M. S. (2014). Hyperalgesic and edematogenic effects of Secapin-2, a peptide isolated from Africanized honeybee (*Apis mellifera*) venom. *Peptides*, 59, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.07.004>
- Mourre, C., Fournier, C., Soumireu-Mourat, B. (1997). Apamin, a blocker of the calcium-activated potassium channel, induces neurodegeneration of Purkinje cells exclusively. *Brain research*, 778(2), 405–408. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(97\)01165-7](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)01165-7)
- Moyle, M., Cevikbas, F., Harden, J. L., Guttman-Yassky, E. (2019). Understanding the immune landscape in atopic dermatitis: The era of biologics and emerging therapeutic approaches. *Experimental dermatology*, 28(7), 756–768. <https://doi.org/10.1111/exd.13911>
- National Center for Biotechnology Information (2020a). PubChem Compound Summary for CID 91808948, Apamin, N-acetyl-4-(N6-acetyl-L-lysine)-. Retrieved September 17, 2020 from [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Apamin\\_-N-acetyl-4-\\_N6-acetyl-L-lysine](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Apamin_-N-acetyl-4-_N6-acetyl-L-lysine).

- National Center for Biotechnology Information (2020b). PubChem Compound Summary for CID 16133648, Forapin. Retrieved September 16, 2020 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Forapin>.
- National Center for Biotechnology Information (2020c). PubChem Compound Summary for CID 16132290, Mast cell degranulating peptide. Retrieved September 17, 2020 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mast-cell-degranulating-peptide>.
- National Center for Biotechnology Information (2020d). PubChem Compound Summary for CID 16132134, Secapin. Retrieved September 18, 2020 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Secapin>.
- National Center for Biotechnology Information (2020e). PubChem Compound Summary for CID 90488935, Tertiapin LQ. Retrieved September 18, 2020 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tertiapin-LQ>.
- 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. *The Journal of biological chemistry*, 272(11), 7173–7181. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.11.7173>
- Novak, N., and Simon, D. (2011). Atopic dermatitis - from new pathophysiologic insights to individualized therapy. *Allergy*, 66(7), 830–839. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02571.x>
- Nutten S. (2015). Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. *Annals of nutrition & metabolism*, 66 Suppl 1, 8–16. <https://doi.org/10.1159/000370220>
- Oettgen H. C. (2016). Fifty years later: Emerging functions of IgE antibodies in host defense, immune regulation, and allergic diseases. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 137(6), 1631–1645. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.04.009>
- Oršolić N. (2012). Bee venom in cancer therapy. *Cancer metastasis reviews*, 31(1-2), 173–194. <https://doi.org/10.1007/s10555-011-9339-3>
- Otón, T., and Carmona, L. (2019). The epidemiology of established rheumatoid arthritis. *Best practice & research. Clinical rheumatology*, 33(5), 101477. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2019.101477>

- Ott, H., Stanzel, S., Ocklenburg, C., Merk, H.-F., Baron, J. M., Lehmann, S. (2009). Total Serum IgE as a Parameter to Differentiate Between Intrinsic and Extrinsic Atopic Dermatitis in Children. *Acta Dermato-Venereologica*, 89(3), 257–261. <https://doi.org/10.2340/00015555-0627>
- Owen, C. E. (2007). Immunoglobulin E: role in asthma and allergic disease: lessons from the clinic. *Pharmacology & therapeutics*, 113(1), 121-133.
- Oyoshi, M. K., He, R., Kumar, L., Yoon, J., Geha, R. S. (2009). Cellular and molecular mechanisms in atopic dermatitis. *Advances in immunology*, 102, 135–226. [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(09\)01203-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(09)01203-6)
- Ozturk, A. B., Bayraktar, R., Gogebakan, B., Mumbuc, S., Bayram, H. (2017). Comparison of inflammatory cytokine release from nasal epithelial cells of non-atopic non-rhinitic, allergic rhinitic and polyp subjects and effects of diesel exhaust particles in vitro. *Allergologia et immunopathologia*, 45(5), 473–481. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2016.10.015>
- Özbek, H. (1990). Bal arısı zehri. *Atatürk Ü.Zir. Fak. Der.* 21 (2): 84-100.
- Pacáková, V., Štulík, K., Thi Hau, P., Jelínek, I., Vinš, I., Sýkora, D.( 1995). Comparison of high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the determination of some bee venom components. *J. Chromatogr. A* , 700, 187–193.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.10.006>
- Palma, M. S. (2013). Hymenoptera insect peptides. *Handbook of biologically active peptides*, 416-422.Elsevier Inc.: Los Angeles, CA, USA.
- Park, H. G., Lee, K. S., Kim, B. Y., Yoon, H. J., Choi, Y. S., Lee, K. Y., Wan, H., Li, J., Jin, B. R. (2018). Honeybee (*Apis cerana*) vitellogenin acts as an antimicrobial and antioxidant agent in the body and venom. *Developmental and comparative immunology*, 85, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.04.001>
- Park, H. J., Lee, S. H., Son, D. J., Oh, K. W., Kim, K. H., Song, H. S., Kim, G. J., Oh, G. T., Yoon, D. Y., Hong, J. T. (2004). Antiarthritic effect of bee venom: inhibition of

- inflammation mediator generation by suppression of NF-kappaB through interaction with the p50 subunit. *Arthritis and rheumatism*, 50(11), 3504–3515. <https://doi.org/10.1002/art.20626>
- Park, K. D., Pak, S. C., Park, K. K. (2016). The Pathogenetic Effect of Natural and Bacterial Toxins on Atopic Dermatitis. *Toxins*, 9(1), 3. <https://doi.org/10.3390/toxins9010003>
- Park, M. H., Choi, M. S., Kwak, D. H., Oh, K. W., Yoon, D. Y., Han, S. B., Song, H. S., Song, M. J., Hong, J. T. (2011). Anti-cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF-κB. *The Prostate*, 71(8), 801–812. <https://doi.org/10.1002/pros.21296>
- Park, S. U., Park, H. J., Cho, S. Y., Park, J. M., Ko, C. N. (2017). Efficacy of combined treatment with acupuncture and Bee venom acupuncture for Parkinson's disease: Double blind randomized controlled trial. *Journal of the Neurological Sciences*, 381, 724.
- 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 : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 134, 110864. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110864>
- Peck, M. L., O'Connor, R. (1974). Procaine and other basic peptides in the venom of the honeybee (*Apis mellifera*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 22(1), 51–53. <https://doi.org/10.1021/jf60191a002>
- Pereira, E., Goldblatt, J., Rye, P., Sanderson, C., Le Souëf, P. (1998). Mutation analysis of interleukin-5 in an asthmatic cohort. *Human mutation*, 11(1), 51–54. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1998\)11:1<51::AID-HUMU8>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1998)11:1<51::AID-HUMU8>3.0.CO;2-O)
- Perumal Samy, R., Gopalakrishnakone, P., Thwin, M. M., Chow, T. K., Bow, H., Yap, E. H., Thong, T. W. (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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03161.x>
- Schlapbach, C., and Simon, D. (2014). Update on skin allergy. *Allergy*, 69(12), 1571–1581. <https://doi.org/10.1111/all.12529>

- Pesce, G., Marcon, A., Carosso, A., Antonicelli, L., Cazzoletti, L., Ferrari, M., Fois, A. G., Marchetti, P., Olivieri, M., Pirina, P., Pocetta, G., Tassinari, R., Verlato, G., Villani, S., de Marco, R. (2015). Adult eczema in Italy: prevalence and associations with environmental factors. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 29(6), 1180–1187. <https://doi.org/10.1111/jdv.12784>
- Pucca, M. B., Cerni, F. A., Oliveira, I. S., Jenkins, T. P., Argemí, L., Sørensen, C. V., Ahmadi, S., Barbosa, J. E., Laustsen, A. H. (2019). Bee Updated: Current Knowledge on Bee Venom and Bee Envenoming Therapy. *Frontiers in immunology*, 10, 2090. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02090>
- Pulendran, B., and Artis, D. (2012). New paradigms in type 2 immunity. *Science (New York, N.Y.)*, 337(6093), 431–435. <https://doi.org/10.1126/science.1221064>
- Putz, T., Ramoner, R., Gander, H., Rahm, A., Bartsch, G., Bernardo, K., Ramsay, S., 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 : CII*, 56(5), 627–640. <https://doi.org/10.1007/s00262-006-0220-0>
- Qin, G., Chen, Y., Li, H., Xu, S., Li, Y., Sun, J., Rao, W., Chen, C., Du, M., He, K., Ye, Y. (2016). Melittin inhibits tumor angiogenesis modulated by endothelial progenitor cells associated with the SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 signaling pathway in a UMR-106 osteosarcoma xenograft mouse model. *Molecular medicine reports*, 14(1), 57–68. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5215>
- Rademaker, M., Agnew, K., Andrews, M., Baker, C., Foley, P., Gebauer, K., Gupta, M., Rubel, D. M., Somerville, C., Sullivan, J., Wong, L. C. (2020). Managing atopic dermatitis with systemic therapies in adults and adolescents: An Australian/New Zealand narrative. *The Australasian journal of dermatology*, 61(1), 9–22. <https://doi.org/10.1111/ajd.13141>
- 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, 16–31. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.05.010>

- Raghuraman, H., and Chattopadhyay, A. (2007). Melittin: a membrane-active peptide with diverse functions. *Bioscience reports*, 27(4-5), 189–223. <https://doi.org/10.1007/s10540-006-9030-z>
- Ranasinghe, C., Trivedi, S., Wijesundara, D. K., Jackson, R. J. (2014). IL-4 and IL-13 receptors: Roles in immunity and powerful vaccine adjuvants. *Cytokine & growth factor reviews*, 25(4), 437–442. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2014.07.010>
- Randall, T. D., Lund, F. E., Brewer, J. W., Aldridge, C., Wall, R., Corley, R. B. (1993). Interleukin-5 (IL-5) and IL-6 define two molecularly distinct pathways of B-cell differentiation. *Molecular and cellular biology*, 13(7), 3929–3936. <https://doi.org/10.1128/mcb.13.7.3929-3936.1993>
- Schmitt, J., Schwarz, K., Baurecht, H., Hotze, M., Fölster-Holst, R., Rodríguez, E., ... Weidinger, S. (2016). Atopic dermatitis is associated with an increased risk for rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease, and a decreased risk for type 1 diabetes. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 137(1), 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.06.029>
- Schumacher, M. J., Schmidt, J. O., Egen, N. B. (1989). Lethality of 'killer' bee stings. *Nature*, 337(6206), 413. <https://doi.org/10.1038/337413a0>
- Shah, P. P., Desai, P. R., Singh, M. (2012). Effect of oleic acid modified polymeric bilayered nanoparticles on percutaneous delivery of spantide II and ketoprofen. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 158(2), 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.11.016>
- Sheu, H. M., Lee, J. Y., Chai, C. Y., Kuo, K. W. (1997). Depletion of stratum corneum intercellular lipid lamellae and barrier function abnormalities after long-term topical corticosteroids. *The British journal of dermatology*, 136(6), 884–890.
- Shin, S. H., Ye, M. K., Choi, S. Y., Park, K. K. (2018). Anti-inflammatory effect of bee venom in an allergic chronic rhinosinusitis mouse model. *Molecular medicine reports*, 17(5), 6632–6638. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8720>
- Shkenderov, S., and Koburova, K. (1982). Adolapin--a newly isolated analgetic and anti-inflammatory polypeptide from bee venom. *Toxicon : official journal of the*

*International Society on Toxinology*, 20(1), 317–321. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(82\)90234-3](https://doi.org/10.1016/0041-0101(82)90234-3)

- Silverberg J. I. (2017). Public Health Burden and Epidemiology of Atopic Dermatitis. *Dermatologic clinics*, 35(3), 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.det.2017.02.002>
- Silverberg J. I. (2019). Comorbidities and the impact of atopic dermatitis. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 123(2), 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2019.04.020>
- Silverberg, J. I., Gelfand, J. M., Margolis, D. J., Boguniewicz, M., Fonacier, L., Grayson, M. H., Chiesa Fuxench, Z. C., Simpson, E. L., Ong, P. Y. (2019). Pain Is a Common and Burdensome Symptom of Atopic Dermatitis in United States Adults. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*, 7(8), 2699–2706.e7. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.05.055>
- Silverberg, J. I., Gelfand, J. M., Margolis, D. J., Boguniewicz, M., Fonacier, L., Grayson, M. H., Simpson, E. L., Ong, P. Y., Chiesa Fuxench, Z. C. (2018). Patient burden and quality of life in atopic dermatitis in US adults: A population-based cross-sectional study. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 121(3), 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2018.07.006>
- Simpson, E. L., Bieber, T., Eckert, L., Wu, R., Ardeleanu, M., Graham, N. M., Pirozzi, G., Mastey, V. (2016). Patient burden of moderate to severe atopic dermatitis (AD): Insights from a phase 2b clinical trial of dupilumab in adults. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 74(3), 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.10.043>
- Singh, R., Heron, C. E., Ghamrawi, R. I., Strowd, L. C., Feldman, S. R. (2020). Emerging Role of Janus Kinase Inhibitors for the Treatment of Atopic Dermatitis. *ImmunoTargets and therapy*, 9, 255–272. <https://doi.org/10.2147/ITT.S229667>
- Sobral, F., Sampaio, A., Falcão, S., Queiroz, M. J., Calhella, 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 : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 94, 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.06.008>

- Sohn, E. H., Jang, S. A., Lee, C. H., Jang, K. H., Kang, S. C., Park, H. J., Pyo, S. (2011). Effects of korean red ginseng extract for the treatment of atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Journal of ginseng research*, 35(4), 479–486. <https://doi.org/10.5142/jgr.2011.35.4.479>
- 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), e0224028. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224028>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.04.004>
- Soumelis, V., Reche, P. A., Kanzler, H., Yuan, W., Edward, G., Homey, B., Gilliet, M., Ho, S., Antonenko, S., Lauerma, A., Smith, K., Gorman, D., Zurawski, S., Abrams, J., Menon, S., McClanahan, T., de Waal-Malefyt Rd, R., Bazan, F., Kastelein, R. A., Liu, Y. J. (2002). Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nature immunology*, 3(7), 673–680. <https://doi.org/10.1038/ni805>
- Spergel J. M. (2008). Immunology and treatment of atopic dermatitis. *American journal of clinical dermatology*, 9(4), 233–244. <https://doi.org/10.2165/00128071-200809040-00003>
- Stirling, R. G., van Rensen, E. L., Barnes, P. J., Chung, K. F. (2001). Interleukin-5 induces CD34(+) eosinophil progenitor mobilization and eosinophil CCR3 expression in asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 164(8 Pt 1), 1403–1409. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.8.2010002>
- Stone, K. D., Prussin, C., Metcalfe, D. D. (2010). IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 125(2 Suppl 2), S73–S80. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.11.017>

- Sun, X., Chen, S., Li, S., Yan, H., Fan, Y., Mi, H. (2005). Deletion of two C-terminal Gln residues of 12-26-residue fragment of melittin improves its antimicrobial activity. *Peptides*, 26(3), 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.10.004>
- Sur, B., Lee, B., Yeom, M., Hong, J. H., Kwon, S., Kim, S. T., Lee, H. S., Park, H. J., Lee, H., Hahm, D. H. (2016). Bee venom acupuncture alleviates trimellitic anhydride-induced atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 16, 38. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1019-y>
- Sutton, B. J., Davies, A. M., Bax, H. J., Karagiannis, S. N. (2019). IgE Antibodies: From Structure to Function and Clinical Translation. *Antibodies (Basel, Switzerland)*, 8(1), 19. <https://doi.org/10.3390/antib8010019>
- Szabat, P., Poleszak, J., Szabat, M., Boreński, G., Wójcik, M., Milanowska, J. (2019). Apitherapy – the medical use of bee products. *Journal of Education, Health and Sport*, 9(8), 384–396. Retrieved from <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/7321>
- Szegedi, K., Lutter, R., Res, P. C., Bos, J. D., Luiten, R. M., Kezic, S., Middelkamp-Hup, M. A. (2015). Cytokine profiles in interstitial fluid from chronic atopic dermatitis skin. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 29(11), 2136–2144. <https://doi.org/10.1111/jdv.13160>
- Szymański, U., Cios, A., Ciepielak, M., Stankiewicz, W. (2021). Cytokines and apoptosis in atopic dermatitis. *Postepy dermatologii i alergologii*, 38(2), 1–13. <https://doi.org/10.5114/ada.2019.88394>
- Takatsu K. (2004). . Role of interleukin-5 in immune regulation and inflammation *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*, 62(10), 1941–1951.
- Takatsu K. (2011). Interleukin-5 and IL-5 receptor in health and diseases. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and biological sciences*, 87(8), 463–485. <https://doi.org/10.2183/pjab.87.463>
- Takatsu, K., Kouro, T., Nagai, Y. (2009). Interleukin 5 in the link between the innate and acquired immune response. *Advances in immunology*, 101, 191–236. [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(08\)01006-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(08)01006-7)

- Tan, R. A., and Corren, J. (2011). The relationship of rhinitis and asthma, sinusitis, food allergy, and eczema. *Immunology and allergy clinics of North America*, 31(3), 481–491. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2011.05.010>
- Tanei R. (2009). Atopic dermatitis in the elderly. *Inflammation & allergy drug targets*, 8(5), 398–404. <https://doi.org/10.2174/1871528110908050398>
- Tazawa, T., Sugiura, H., Sugiura, Y., Uehara, M. (2004). Relative importance of IL-4 and IL-13 in lesional skin of atopic dermatitis. *Archives of dermatological research*, 295(11), 459–464. <https://doi.org/10.1007/s00403-004-0455-6>
- Thomsen S. F. (2014). Atopic dermatitis: natural history, diagnosis, and treatment. *ISRN allergy*, 2014, 354250. <https://doi.org/10.1155/2014/354250>
- Thyssen, J. P., Skov, L., Hamann, C. R., Gislason, G. H., Egeberg, A. (2017). Assessment of major comorbidities in adults with atopic dermatitis using the Charlson comorbidity index. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 76(6), 1088–1092.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2017.01.030>
- Trumbeckaite, S., Dauksiene, J., Bernatoniene, J., Janulis, V. (2015). Knowledge, Attitudes, and Usage of Apitherapy for Disease Prevention and Treatment among Undergraduate Pharmacy Students in Lithuania. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2015, 172502. <https://doi.org/10.1155/2015/172502>
- Tsai, T. F., Rajagopalan, M., Chu, C. Y., Encarnacion, L., Gerber, R. A., Santos-Estrella, P., Llamado, L. J. Q., Tallman, A. M. (2019). Burden of atopic dermatitis in Asia. *The Journal of dermatology*, 46(10), 825–834. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.15048>
- Tsoi, L. C., Rodriguez, E., Degenhardt, F., Baurecht, H., Wehkamp, U., Volks, N., ... Weidinger, S. (2019). Atopic Dermatitis Is an IL-13-Dominant Disease with Greater Molecular Heterogeneity Compared to Psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*, 139(7), 1480–1489. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.12.018>
- Uddin, M. B., Lee, B. H., Nikapitiya, C., Kim, J. H., Kim, T. H., Lee, H. C., Kim, C. G., Lee, J. S., Kim, C. J. (2016). Inhibitory effects of bee venom and its components against viruses in vitro and in vivo. *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 54(12), 853–866. <https://doi.org/10.1007/s12275-016-6376-1>

- Ungar, B., Garcet, S., Gonzalez, J., Dhingra, N., Correa da Rosa, J., Shemer, A., Krueger, J. G., Suarez-Farinas, M., Guttman-Yassky, E. (2017). An Integrated Model of Atopic Dermatitis Biomarkers Highlights the Systemic Nature of the Disease. *The Journal of investigative dermatology*, 137(3), 603–613. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.09.037>
- Van Vaerenbergh, M., Cardoen, D., Formesyn, E. M., Brunain, M., Van Driessche, G., Blank, S., Spillner, E., Verleyen, P., Wenseleers, T., Schoofs, L., Devreese, B., 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. <https://doi.org/10.1111/imb.12013>
- Van Vaerenbergh, M., Debyser, G., Devreese, B., de Graaf, D. C. (2014). Exploring the hidden honeybee (*Apis mellifera*) venom proteome by integrating a combinatorial peptide ligand library approach with FTMS. *Journal of proteomics*, 99, 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.04.039>
- Vick, J. A., Shipman, W. H., Brooks, R., Jr (1974). Beta adrenergic and anti-arrhythmic effects of cardiopep, a newly isolated substance from whole bee venom. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*, 12(2), 139–144. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(74\)90237-2](https://doi.org/10.1016/0041-0101(74)90237-2)
- Vlasak, R., and Kreil, G. (1984). Nucleotide sequence of cloned cDNAs coding for preprosecapin, a major product of queen-bee venom glands. *European journal of biochemistry*, 145(2), 279–282. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1984.tb08549.x>
- Wachinger, M., Saermark, T., Erfle, V. (1992). Influence of amphipathic peptides on the HIV-1 production in persistently infected T lymphoma cells. *FEBS letters*, 309(3), 235–241. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80780-k](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80780-k)
- Wang, Q., Du, J., Zhu, J., Yang, X., Zhou, B. (2015). Thymic stromal lymphopoietin signaling in CD4(+) T cells is required for TH2 memory. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 135(3), 781–91.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.09.015>
- Watanabe, N., Hanabuchi, S., Soumelis, V., Yuan, W., Ho, S., de Waal Malefyt, R., Liu, Y. J. (2004). Human thymic stromal lymphopoietin promotes dendritic cell-mediated CD4+ T cell homeostatic expansion. *Nature immunology*, 5(4), 426–434. <https://doi.org/10.1038/ni1048>

- Wehbe, 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 (Basel, Switzerland)*, 24(16), 2997. <https://doi.org/10.3390/molecules24162997>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.09.012>
- Wilson, S. R., Thé, L., Batia, L. M., Beattie, K., Katibah, G. E., McClain, S. P., Pellegrino, M., Estandian, D. M., Bautista, D. M. (2013). The epithelial cell-derived atopic dermatitis cytokine TSLP activates neurons to induce itch. *Cell*, 155(2), 285–295. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.057>
- Wollenberg, A., Thomsen, S. F., Lacour, J. P., Jaumont, X., Lazarewicz, S. (2021). Targeting immunoglobulin E in atopic dermatitis: A review of the existing evidence. *The World Allergy Organization journal*, 14(3), 100519. <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2021.100519>
- Xu, X., van Galen, L. S., Koh, M. J. A., Bajpai, R., Thng, S., Yew, Y. W., Ho, V. P. Y., Alagappan, U., Järbrink, K. S. A., Car, J. (2019). Factors influencing quality of life in children with atopic dermatitis and their caregivers: a cross-sectional study. *Scientific reports*, 9(1), 15990. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51129-5>
- Yamamoto, N., Sugiura, H., Tanaka, K., Uehara, M. (2003). Heterogeneity of interleukin 5 genetic background in atopic dermatitis patients: significant difference between those with blood eosinophilia and normal eosinophil levels. *Journal of dermatological science*, 33(2), 121–126. [https://doi.org/10.1016/s0923-1811\(03\)00149-x](https://doi.org/10.1016/s0923-1811(03)00149-x)
- Yang, C. C., Hung, Y. L., Ko, W. C., Tsai, Y. J., Chang, J. F., Liang, C. W., Chang, D. C., Hung, C. F. (2021). Effect of Neferine on DNCB-Induced Atopic Dermatitis in HaCaT Cells and BALB/c Mice. *International journal of molecular sciences*, 22(15), 8237. <https://doi.org/10.3390/ijms22158237>
- Yang, X., Zhu, H., Ge, Y., Liu, J., Cai, J., Qin, Q., Zhan, L., Zhang, C., Xu, L., Liu, Z., Yang, Y., Yang, Y., Ma, J., Cheng, H., Sun, X. (2014). Melittin enhances radiosensitivity of hypoxic head and neck squamous cell carcinoma by suppressing HIF-1 $\alpha$ . *Tumour*

*biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 35(10), 10443–10448. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2218-0>

- Ye, M., Chung, H. S., Lee, C., Yoon, M. S., Yu, A. R., Kim, J. S., Hwang, D. S., Shim, I., Bae, H. (2016). Neuroprotective effects of bee venom phospholipase A2 in the 3xTg AD mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of neuroinflammation*, 13, 10. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0476-z>
- Yew, Y. W., Thyssen, J. P., Silverberg, J. I. (2019). A systematic review and meta-analysis of the regional and age-related differences in atopic dermatitis clinical characteristics. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 80(2), 390–401. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.09.035>
- Zaidi, M. R., and Merlino, G. (2011). The two faces of interferon- $\gamma$  in cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 17(19), 6118–6124. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0482>
- Zhang J. (2007). Yin and yang interplay of IFN-gamma in inflammation and autoimmune disease. *The Journal of clinical investigation*, 117(4), 871–873. <https://doi.org/10.1172/JCI31860>
- Zhang, S., Liu, Y., Ye, Y., Wang, X. R., Lin, L. T., Xiao, L. Y., Zhou, P., Shi, G. X., Liu, C. Z. (2018). Bee venom therapy: Potential mechanisms and therapeutic applications. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*, 148, 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.04.012>
- Zhang, Y., Cheng, J., Li, Y., He, R., Pan, P., Su, X., Hu, C. (2019). The Safety and Efficacy of Anti-IL-13 Treatment with Tralokinumab (CAT-354) in Moderate to Severe Asthma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*, 7(8), 2661–2671.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.05.030>
- Ziai, M. R., Russek, S., Wang, H. C., Beer, B., Blume, A. J. (1990). Mast cell degranulating peptide: a multi-functional neurotoxin. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 42(7), 457–461. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1990.tb06595.x>

## EKLER

### Ek-1 HADYEK (Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul) Onay Sayfası



T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın, 29/09/2021

**Oturum** : 1 Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2021 Yılı IX. Oturum  
**Sayı** : 64583101/2021/142  
**Proje Başlığı** : Deneysel Atopik Dermatitisi Denei Lezyonlarının Tedavisinde Anı Zehirinin Topikal Uygulanmasının Terapötik Etkisi.  
**Proje Yürütücüsü** : Ayşegül BİLDİK  
**Proje Ekibi** : Gökhan MERMER

**Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:**

İnsan embriyosu ve ürünü kullanılması  
İnsan embriyosu ve ürünü dokularının kullanılması  
Diğer insan dokusu ve hücrelerinin kullanılması

**Hayvan Çalışması**

İnsanlarda ampiriye  
İnsan olmayan primatların kullanılması  
Transgenik hayvanların kullanılması  
Hayvanlarda genetik modifikasyon gerçekleştirilmiştir.

**Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.**

Prof. Dr. Mehmet SARIERLER  
Başkan

Prof. Dr. M. Doğan BİLGİN  
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Turhan DOST  
Üye

Prof. Dr. İzzet SÖNMEZ  
Üye

Doç. Dr. Serkan BAKIRCI  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Selma KARAAARSLAN  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder  
ÜSTÜNDAĞ  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ  
Üye

Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ  
Sor. Vet. Hek.  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi YAMAN  
Sor. Vet. Hek. Üye

Öğr. Gör. Dr. Mustafa GÜLER  
ÖRYAŞIN Sor. Vet. Hek.  
Üye

(Tıp Fakültesi katılımcısı)  
Mustafa ÇOBANOĞLU  
Sivil Üye

Dr. Öğr. Üyesi HAYTAP  
Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“DENEYSEL ATOPIK DERMATİTİN DERİ LEZYONLARININ TEDAVİSİNDE ARI ZEHİRİNİN TOPIKAL UYGULAMASININ TERAPOTİK ETKİSİ” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Gökhan MERMER

20 /10 / 2023



## ÖZ GEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : MERMER Gökhan  
**Uyruk** : T.C  
**Doğum yeri ve Tarihi** : KAYSERİ /Kocasinan/ 19.07.1985  
**E-Mail** : gokhan.mermer@tarimorman.gov.tr  
**Yabancı Dil** : İngilizce

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
<b>Yüksek Lisans</b> ediyor.	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Biyokimya (Veteriner)	Devam
<b>Lisans</b> 09/06/2009	Veteriner Fakültesi	Fırat Üniversitesi
<b>Lise</b> 13/06/2003		Kayseri Kocasinan Lisesi

## İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvanı
2010-2011 Hekim	Samsun Kavak Köytür Kanatlı Kesimhanesi	Veteriner

<b>2011-2014</b> Hekim	Çanakkale Gelibolu İlçe Tarım Müdürlüğü	Veteriner
<b>2014-2018</b> Hekim	Çanakkale Biga İlçe Tarım Müdürlüğü	Veteriner
<b>2018-</b> Hekim	Muğla Dalaman İlçe Tarım Müdürlüğü	Veteriner

---