

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

**RATLARDA SODYUM ARSENİT İLE İNDÜKLENEN KARACİĞER
VE BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ARI SÜTÜNÜN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

ENES KAYA

ARI VE ARI ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Halil ŞİMŞEK**

BİNGÖL-2024

**RATLARDA SODYUM ARSENİT İLE İNDÜKLENEN KARACİĞER VE
BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ARI SÜTÜNÜN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. Halil ŞİMŞEK danışmanlığında, Enes KAYA tarafından hazırlanan bu çalışma 17/09/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Arı ve Arı Ürünleri Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Doç.Dr. Cüneyt ÇAĞLAYAN	İmza	:
Üye	: Doç.Dr. Halil ŞİMŞEK	İmza	:
Üye	: Doç.Dr. Aydın Şükrü BENGÜ	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Kadir ERDOĞAN	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Semiramis KARLIDAĞ	İmza	:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun// tarih ve/
nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer ŞİAR

Enstitü Müdürü

Bu çalışma Bingöl Üniversitesi - Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: BAP-SHMYO.2023.003

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince bilgisinden faydalandığım gerek insani ve gerekse ahlaki değerleri ile örnek aldığım, birlikte çalışmaktan onur duyduğum, tecrübelerinden yararlandığım ve benim zor dönemlerimde her zaman desteğini gördüğüm hoşgörü ve sabrı ile beni teşvik eden doktora yolculuğum boyunca sonsuz desteği ve rehberliği ve benim için yaptığın her şey için kıymetli danışmanım Sayın Doç. Dr. Halil ŞİMŞEK hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitem Doç. Dr. Cüneyt ÇAĞLAYAN ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Kadir ERDOĞAN hocalarıma rehberlikleri ve uzmanlıkları, revizyonları ve canlandırıcı enerjileri ve en önemlisi de bana gösterdikleri sabır için teşekkür ederim. Bu çalışmamın yapılmasında gerekli ortamı sağlayan ve bana imkân veren Bingöl Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksek Okulu Müdürlüğüne, Bingöl Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezine, çalışmamın yapılmasında maddi destekle katkı sağlayan Bingöl Üniversitesi Proje Koordinasyon Birimine (Proje No: BAP-SHMYO.2023.003) teşekkür ederim.

Tezimin yazımı sırasında teknik olarak destek veren ve yardımlarını esirgemeyen meslektaşlarıma Öğr. Gör. Fatih ÇAKAR, Öğr. Gör. Aydın SEVER ve Doç. Dr. Aydın Şükrü BENGÜ hocalarıma teşekkür ederim. Bunun yanında, desteklerini ve güler yüzlerini esirgemeyen Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü personeline teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince desteklerini hiç esirgemeyen, bana fedakârlıkta hiç geri durmayan duaları ve hayır telkinleri ile her zaman yanımda bulunan başta annem, babam, eşim ve evlatlarıma çok teşekkür ederim.

Enes KAYA

Bingöl 2024

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Arı Sütü	2
1.1.1. Arı Sütünün Kimyasal Özellikleri	3
1.1.1.1. Arı Sütünün Protein Yapısı	3
1.1.1.2. Arı Sütünün Karbohidrat Kompozisyonu	4
1.1.1.3. Arı Sütünün Yağ Asitleri	5
1.1.1.4. Arı Sütünün Diğer Bileşenleri	5
1.1.2. Arı Sütünün Biyolojik Özellikleri	7
1.2. Ağır Metaller	8
1.2.1. Arsenik ve Türevleri.....	9
1.2.1.1. Sodyum Meta Arsenit (NaAsO_2)	10
1.3. Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Lipid Peroksidasyon	11
1.3.1. Serbest Radikaller.....	11
1.3.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	12
1.3.1.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-).....	12
1.3.2.1.2. Hidroksil Radikali ($\bullet\text{OH}$).....	13
1.3.2.1.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	14
1.3.2.1.4. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)	15
1.3.2. Antioksidanlar	15
1.3.2.1. Enzimatik Antioksidanlar	17
1.3.2.1.1. Katalaz (KAT)	17
1.3.2.1.2. Glutatasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	18
1.3.2.1.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)	19

1.3.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	19
1.3.2.2.1. Glutasyon (GSH)	20
1.3.3. Lipid Peroksidasyon	20
1.4. Hematolojik Parametreler.....	21
1.4.1. Lökositler (WBC, “White Blood Cell”)	21
1.4.2. Eritrosit (RBC, “Red Blood Cells”)	22
1.4.3. Hemoglobin (HGB).....	22
1.4.4. Hematokrit (HCT)	23
1.4.5. Trombosit Sayısı (PLT, “Platelets”).....	23
1.5. Arı Sütünün Antioksidan ve İmmünomodülatör Etkisi.....	23
1.6. Ağır metaller ve Arseniğin Meydana Getirdiği Harabiyet ve Toksikite Etkisi.....	25
2. KAYNAK ÖZETLERİ	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM	36
3.1. Deney Hayvanları.....	36
3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	36
3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Elisa Kitleri.....	37
3.4. Yöntem	38
3.5. Numunelerin Alınması	39
3.6. Biyokimyasal Parametreler	40
3.6.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması	40
3.6.2. MDA, GSH, GSH-Px, SOD, KAT ve Toplam Protein Tayini.....	40
3.6.2.1. MDA Tayini.....	40
3.6.2.2. GSH Tayini	41
3.6.2.3. GSH-Px Tayini.....	42
3.6.2.4. KAT Tayini.....	43
3.6.2.5. SOD Tayini	44
3.6.2.6. Protein Tayini.....	45
3.6.3. TNF- α , IL-1 β ve IL6 Seviyelerinin ELISA ile Kolorimetrik Ölçümü.....	46
3.6.4. Arı Sütündeki Fitokimyasalların LC-MS/MS Yöntemi ile Miktar Tayini..	48
3.6.5. İstatistiksel Analiz	49
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	50
4.1. Biyokimyasal Profil Analizi: Karaciğer Dokusundaki Bulgular.....	50
4.1.1. Serum ALT (Alanin Aminotransferaz) Aktivitesi.....	51

4.1.2. Serum AST (Aspartat Aminotransferaz) Aktivitesi	53
4.1.2. Serum ALP (Alkalen Fosfataz) Aktivitesi	55
4.1.3. Karaciğer Malondialdehit (MDA) Düzeyi	57
4.1.4. Karaciğer Glutasyon (GSH) Düzeyi	60
4.1.5. Karaciğer Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi.....	61
4.1.6. Karaciğer Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	63
4.1.7. Karaciğer Katalaz (KAT) Aktivitesi	65
4.1.8. Karaciğer TNF- α (Tümör Nekroz Faktör Alfa) Seviyesi.....	66
4.1.9. Karaciğer IL-1 β (İnterlökin-1 Beta) Seviyesi	68
4.1.10. Karaciğer IL-6 (İnterlökin-6) Seviyesi.....	70
4.2. Biyokimyasal Profil Analizi: Böbrek Dokusundaki Bulgular.....	72
4.2.1. Serum Üre Düzeyi	73
4.2.2. Serum Kreatinin Düzeyi.....	75
4.2.3. Böbrek Malondialdehit (MDA) Düzeyi	78
4.2.4. Böbrek Glutasyon (GSH) Düzeyi	79
4.2.5. Böbrek Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi.....	81
4.2.6. Böbrek Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	82
4.2.7. Böbrek Katalaz (KAT) Aktivitesi	84
4.2.8. Böbrek TNF- α (Tümör Nekroz Faktör Alfa) Seviyesi.....	85
4.2.9. Böbrek IL-1 β (İnterlökin-1 Beta) Seviyesi	87
4.2.10. Böbrek IL-6 (İnterlökin-6) Seviyesi.....	89
4.3. Bazı Hematolojik Parametreler	90
4.3.1. Total Lökosit Sayısı	92
4.3.2. Eritrosit Sayısı.....	94
4.3.3. Hemoglobin Miktarı.....	95
4.3.4. Hematokrit Düzeyi.....	97
4.3.5. Trombosit Sayısı	99
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	102
KAYNAKLAR	104
EK- 1: Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Kararı.....	133

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

NaAsO ₂	: Sodyum Meta Arsenit
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
ALP	: Alkalen Fosfataz
TNF-A	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
IL-1B	: İnterlökin-1 Beta
IL-6	: İnterlökin-6
RJ	: Royal Jelly- Arı Sütü
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH-PX	: Glutasyon Peroksidaz
10-HDA	: 10-Hidroksi-2-Dekenoik Asit
AMP	: Adenozin Monofosfat
MRJP	: Major Royal Jelly Protein
10-HDDA	: 10-hidroksidekenoik asit
SEA	: sebasik asit
IRF	: interferon düzenleyici faktör
IFN	: interferon
NO	: nitrik oksit
ERJ	: Enzimle muamele edilmiş arı sütü
CP	: kollajen peptit
BALB/C	: İmmün Kompetan- ev faresinin laboratuarda yetiştirilmiş bir albino suşu
OXM	: oksimetolon

İP	: intraperitoneal
STZ	: streptozotosin
HDL-C	: lipoprotein kolesterol
TP	: toplam protein
FBG	: açlık kan glikoz
TH	: T helper
TNBS	: 2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit
LPS	: Lipopolisakkarit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
AS	: Arsenik
AS ⁺⁵	: Beş Değerlikli Arsenat
AS ⁺³	: Üç Değerlikli Meta-Arsenit
8-OHDG	: 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin
HO	: Hemooksijenaz
MCP-1	: Monocyte Chemoattractant Protein-1
MAPK	: Mitojenle Etkinleşen Protein Kinazın
NRF2	: Nükleer Faktör Eritroid 2
TRX	: Tiorredoksin
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
MPO	: Miyeloperoksidaz
•OH	: Hidroksil
•CH ₃	: Metil
•CH ₂ CH ₃	: Etil
O ₂ •-	: Süperoksit
ROO•	: Peroksil
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
GSSG	: Okside Glutatyon

PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
LH	: Luteinize Edici Hormon
TSH	: Triiyodotironin
T	: Tiroksin
T3/T4	: Triiyodotironin Tiroksine Yüzdesi
ALCL ₃	: Alüminyum Klorür
JF	: Therapon jarbua'nın yüzgeç hücreleri
TO-2	: Tilapia'nın yumurtalık hücreleri
CA	: Kafeik Asit
FRAP	: Ferrik Plazma Azaltma Yeteneği
KASPAZ-3	: Sistein Aspartat-Spesifik Proteaz-3
HSP	: Hesperidin
LPD	: Düşük Protein Diyeti
BUN	: Kan Üre Azotu
WBC	: Beyaz Kan Hücresi Sayısı
GRA	: Granülasit
RBC	: Eritrosit
HGB	: Hemogloblin
HCT	: Hematokrit
PLT	: Trombosit Sayısı
IFCC	: Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TCA	: Trikloroasetik Asit
U/L	: Litre başına birim
nmol/gr doku	: Nanomol başına gram doku
kat/gr doku	: Katal başına gram doku

ng/L : Nanogram başına litre
pg/L : Pikogram başına litre
pg/mL : Pikogram başına mililitre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Çalışmada kullanılan Sodyum (meta) arsenit	10
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan Wistar albino cinsi erkek ratlar	38
Şekil 3.2. Uygulama için günlük olarak hazırlanan çözeltiler	39
Şekil 3.3. Deney Gruplarına Ait Bir Görsel	39
Şekil 3.4. Çift antikor sandviç ELISA kiti	46
Şekil 3.5. Reaksiyon sonlandırma solüsyonun eklenme işlemi	47
Şekil 3. 7. Uygulamada kullanılan arı sütünün LC-MS/MS kromatogramı	48
Şekil 4.1. ALT Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.....	52
Şekil 4.2. AST Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.	54
Şekil 4.3. ALP Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.	56
Şekil 4.4. Karaciğer MDA Düzeyi Sonuç Ortalamaları.....	58
Şekil 4.5. Karaciğer GSH Düzeyi Sonuç Ortalamaları.	60
Şekil 4.6. Karaciğer GSH-Px Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.	62
Şekil 4.7. Karaciğer SOD Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.....	64
Şekil 4.8. Karaciğer KAT Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.....	65
Şekil 4.9. Karaciğer TNF- α Seviyesi Sonuç Ortalamaları.	67
Şekil 4.10. Karaciğer IL-1 β Seviyesi Sonuç Ortalamaları.....	69
Şekil 4.11. Karaciğer IL-6 Seviyesi Sonuç Ortalamaları.....	71
Şekil 4.12. Serum Üre Düzeyi Sonuç Ortalamaları.	74
Şekil 4.13. Serum Kreatinin Düzeyi Sonuç Ortalamaları.	76
Şekil 4.14. Böbrek MDA Düzeyi Sonuç Ortalamaları.....	78
Şekil 4.15. Böbrek GSH Düzeyi Sonuç Ortalamaları.	80
Şekil 4.16. Böbrek GSH-Px Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.	81
Şekil 4.17. Böbrek SOD Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.....	83
Şekil 4.18. Böbrek KAT Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.....	84
Şekil 4.19. Böbrek TNF- α Seviyesi Sonuç Ortalamaları.	86
Şekil 4.20. Böbrek IL-1 β Seviyesi Sonuç Ortalamaları.....	88
Şekil 4.21. Böbrek IL-6 Seviyesi Sonuç Ortalamaları.....	89
Şekil 4.22. Total Lokosit Sayısı Sonuç Ortalamaları	92

Şekil 4.23. Eritrosit Sayısı Sonuç Ortalamaları.	94
Şekil 4.24. Hemoglobin Miktarı Sonuç Ortalamaları.	96
Şekil 4.25. Hematokrit Düzeyi Sonuç Ortalamaları.....	98
Şekil 4.26. Trombosit Sayısı Sonuç Ortalamaları.....	100

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1.1. Arı sütünün kimyasal kompozisyonunda yer alan bazı maddeler	6
Tablo 1.2. Reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikal olmayan türler.....	12
Tablo 1.3. Antioksidanların Sınıflandırılması	16
Tablo 3.1. Ratlara verilen pelet yemin içeriği ve besin kompozisyonu	37
Tablo 3.2. Uygulamada kullanılan arı sütünün LC-MS/MS Sonuçları.....	48
Tablo 4.1. Kan serumunda ve karaciğer dokusunda bazı biyokimyasal bulgular ortalama değerleri ve standart sapmaları.....	50
Tablo 4.2. Kan serumunda ve böbrek dokusu bazı biyokimyasal bulgular ortalama değerleri ve standart sapmaları.....	73
Tablo 4.3. Bazı Hematolojik Parametreler.....	91

RATLARDA SODYUM ARSENİT İLE İNDÜKLENEN KARACİĞER VE BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ARI SÜTÜNÜN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada, sodyum arsenit (NaAsO_2) kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesine karşı arı sütünün antioksidan, anti-inflamatuar, homeostazı destekleyici ve hematoprotektif özellikleri araştırılması amaçlandı. Araştırmada, toplam 35 Wistar albino sıçan kullanılarak kontrol grubu, arı sütü, NaAsO_2 , $\text{NaAsO}_2 + 100 \text{ mg/kg}$ arı sütü ve $\text{NaAsO}_2 + 200 \text{ mg/kg}$ arı sütü olmak üzere beş deney grubu oluşturuldu. NaAsO_2 'nin sebep olduğu toksisiteye karşı arı sütünün etkileri, biyokimyasal, hematolojik ve enflamasyon parametreleri kullanılarak değerlendirildi.

Çalışmada, arı sütünün NaAsO_2 ile indüklenen oksidatif strese ve enflamasyona karşı koruyucu etkileri araştırıldı. Deney kapsamında, NaAsO_2 uygulanarak toksisite indüklendi ve ardından farklı dozlarda arı sütü verildi. Karaciğer ve böbrek dokularında biyokimyasal parametreler, antioksidan enzim aktiviteleri ve proinflamatuar sitokin değişiklikleri analiz edildi. Özellikle lipid peroksidasyonu seviyeleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon (GSH) aktiviteleri ölçüldü; inflamatuvar belirteçler (TNF- α , IL-1 β , IL-6) değerlendirildi. Hematolojik olarak, kırmızı kan hücresi (RBC), beyaz kan hücresi (WBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT) ve trombosit (PLT) seviyeleri incelendi.

Arı sütü verilen gruplarda, NaAsO_2 'nin yol açtığı oksidatif stres ve enflamasyonun anlamlı derecede azaldığı bulundu. Lipid peroksidasyonunun azalması, antioksidan enzim aktivitelerinin (SOD, KAT, GSH-Px) ve glutatyon (GSH) seviyelerinin artması, daha düşük seviyelerde inflamatuvar belirteçlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6) tespit edilmesi, arı sütünün koruyucu etkilerini gösterdi. Sodyum arsenitin serum üre ve kreatinin seviyelerini, ALT, AST ve ALP gibi karaciğer ve böbrek enzim aktivitelerini artırdığı, arı sütünün ise bu etkileri azalttığı belirlendi. Hematolojik analizler, NaAsO_2 'nin PLT, RBC, HGB ve HCT seviyelerini düşürüp WBC seviyelerini artırdığını, arı sütü uygulamasının bu parametreleri normal düzeye getirdiğini ortaya koydu. Sodyum arsenitin enflamasyonu artırdığı ve arı sütü uygulaması ile bu etkinin azaldığı gözlemlendi. Özellikle 200 mg/kg dozunun, sodyum arsenit kaynaklı toksisitede daha etkili olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, bu çalışma arı sütünün NaAsO_2 ile indüklenen karaciğer ve böbrek toksisitesine karşı antioksidan, anti-inflamatuar, homeostazı destekleyici ve hematoprotektif özellikler sergilediğini göstermektedir. Elde edilen bulgular, arı sütünün ağır metal toksisitesine karşı potansiyel bir terapötik ajan olarak kullanılabileceğini öngörmektedir.

Anahtar Kelimeler: Arı Sütü, Sodyum Arsenit, Antioksidan, Anti-inflamatuar.

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ROYAL JELLY ON SODIUM ARSENITE-INDUCED LIVER AND KIDNEY TOXICITY IN RATS

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the antioxidant, anti-inflammatory, homeostasis-promoting and hematoprotective properties of royal jelly against sodium arsenite (NaAsO_2)-induced liver and kidney toxicity. In the study, five experimental groups including control group, royal jelly, NaAsO_2 , $\text{NaAsO}_2 + 100 \text{ mg/kg}^{-1}$ royal jelly and $\text{NaAsO}_2 + 200 \text{ mg/kg}^{-1}$ royal jelly were established using a total of 35 Wistar albino rats. The effects of royal jelly against NaAsO_2 -induced toxicity were evaluated using biochemical, hematologic and inflammation parameters.

In the study, the protective effects of royal jelly against NaAsO_2 -induced oxidative stress and inflammation were investigated. Within the scope of the experiment, toxicity was induced by applying NaAsO_2 and then different doses of royal jelly were given. Biochemical parameters, antioxidant enzyme activities and proinflammatory cytokine changes were analyzed in liver and kidney tissues. Especially lipid peroxidation levels, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione (GSH) activities were measured; inflammatory markers ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6) were evaluated. Hematologically, red blood cell (RBC), white blood cell (WBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT) and platelet (PLT) levels were examined.

In royal jelly-treated groups, NaAsO_2 -induced oxidative stress and inflammation were found to be significantly reduced. Decreased lipid peroxidation, increased antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, GSH-Px) and glutathione (GSH) levels, and lower levels of inflammatory markers ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6) showed the protective effects of royal jelly. Sodium arsenite increased serum urea and creatinine levels, liver and kidney enzyme activities such as ALT, AST and ALP, while royal jelly decreased these effects. Hematologic analyses revealed that NaAsO_2 decreased PLT, RBC, HGB and HCT levels and increased WBC levels, while royal jelly administration brought these parameters to normal levels. It was observed that sodium arsenite increased inflammation and this effect was reduced by royal jelly administration. Especially 200 mg/kg^{-1} dose was found to be more effective in sodium arsenite-induced toxicity.

In conclusion, this study shows that royal jelly exhibits antioxidant, anti-inflammatory, homeostasis-promoting and hematoprotective properties against NaAsO_2 -induced liver and kidney toxicity. The findings suggest that royal jelly can be used as a potential therapeutic agent against heavy metal toxicity.

Keywords: Royal Jelly, Sodium Arsenite, Antioxidant, Anti-inflammatory.

1. GİRİŞ

Arı sütü bal arılarının hipofaringeal ve mandibular bezlerinde, özellikle *Apis mellifera* tarafından üretilen ve proteinler, vitaminler ve 10-hidroksi-2-dekanoik asit (10-HDA) gibi biyoaktif bileşenler ve zengin bileşik dizisi içeren güçlü fonksiyonel doğal bir maddedir (Besari et al., 2023). Bu doğal ürün, antioksidan, anti-enflamatuar, antibakteriyel ve anti-tümör aktiviteleri dâhil olmak üzere çeşitli faydalı özellikler sergiler. Çalışmalar, arı sütünü makrofajlarda gen ekspresyonunu baskılayarak anti-enflamatuar etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Uthaibutra et al., 2023). Ayrıca arı sütünün hepatoprotektif özelliklere sahip olduğu, protein ekspresyon seviyelerini modüle ettiği ve karaciğer dokularındaki oksidatif stresi azalttığı ve bu da onu toksik maddelere karşı potansiyel bir terapötik ajan haline getirdiği bulunmuştur (Aslan et al., 2023).

Arı sütü, çeşitli kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip doğal fonksiyonel bir üründür. Proteinler, lipitler, karbohidratlar, polifenoller, vitaminler ve hormonlardan oluşan arı sütü, karmaşık bileşimi ile dikkat çekmektedir. Royalaktin ve 10-hidroksi-2-dekanoik asit (10-HDA) gibi biyoaktif maddeler bakımından zengin olan arı sütü, antimikrobiyal, antiinflamatuar, antikanser, antioksidan, antidiyabetik, immünomodülatör ve yaşlanma karşıtı özellikler sergiler (Bagameri et al., 2023).

Ağır metallerle maruz kalmak, insan metabolizmasını bozarak sağlığı olumsuz etkiler (Fu et al., 2019). Sodyum arsenit de dâhil olmak üzere ağır metallerin vücut üzerinde sinir, böbrek, karaciğer, kemik, solunum, üreme, hematopoetik, kardiyovasküler ve gastrointestinal sistemleri etkileyen bir dizi toksik etkisi vardır (Endrinaldi, 2009). Bu etkiler öncelikle oksidatif stres ve apoptoza yol açan reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumundan kaynaklanmaktadır (Flora et al., 2008).

Arı sütünün, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak oksidatif stresi etkili bir şekilde azalttığı gösterilmiştir (Bakir et al., 2023). Bu enzimler, hücrel metabolizma sırasında oluşan serbest radikalleri nötralize etmede çok önemli bir rol oynar, böylece DNA,

proteinler ve lipitler gibi biyomolekülleri oksidatif hasardan korur (Bagameri et al., 2023). Ayrıca, arı sütü, glutatyon gibi enzimatik olmayan antioksidanların seviyelerini artırarak hücrel redoks dengesinin korunmasına katkıda bulunur (Aslan et al., 2023).

Arı sütü, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmalarını destekleyerek, oksidatif stresle mücadelede faydalı olabilir. Bu bileşenin, hücrel sağlığı iyileştirme ve serbest radikallerin biyomoleküller üzerindeki olumsuz etkilerini azaltma potansiyeli bulunmaktadır (Bagameri et al., 2023). Ayrıca, arı sütünün antienflamatuvar özelliklere sahip olabileceği ve toksik maruziyet koşullarında homeostazı destekleyebileceği düşünülmektedir. Bu özellikleriyle arı sütünün, hücrel koruma sağlama ve genel sağlık açısından faydalı olabileceği öne sürülmektedir (Uthaibutra et al., 2023).

1.1. Arı Sütü

Arı sütü (Royal Jelly-RJ), ana arının yaşamı boyunca ve genç işçi arı larvalarını ilk üç gün beslemek için kullanılan, işçi (bakıcı) arıların hipofaringeal ve mandibular bezlerinden salgılanan sarımsı beyaz asidik bir salgıdır. (Ahmad et al., 2020). Hipofaringeal bez ve mandibular bez, arı sütü üretiminde yer alan organlardır. Mandibular bez sadece ana ve işçi arılarda bulunan bir çift kese benzeri bezdir. Başın her iki yanında, çenelerin hemen üzerinde bulunur (Örösi-P'1, 2015). Arı sütü, yüksek besin değeri sebebiyle sağlığı destekleyen çeşitli özelliklere sahip olup, eski çağlardan beri geleneksel tıpta, kozmetikte ve önemli bir fonksiyonel gıda olarak kullanılmaktadır (Ramadan et al., 2012). Birçok ülkede ticari tıbbi ürünlerde, sağlıklı gıdalarda ve kozmetik ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Spanidi et al., 2022).

Arı sütü karaciğer ve böbrekleri korumada ve üreme sistemini güçlendirmede önemli rol oynayabilir. Ayrıca diyabetik hastalarda lipid peroksidasyon düzeylerini düşürerek hipoglisemik yanıt sağlamakta ve SOD, CAT, GR, GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini iyileştirmektedir. Arı sütü ayrıca fonksiyonel bir gıda olarak işlev görebilir ve gastrointestinal hastalıkların ortaya çıkması üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabilir (Ahmad et al., 2020).

Arı sütü, ana arı için özel bir besindir. Arı sütünün anti-aging, anti-inflamatuvar, anti-oksidan ve anti-mikrobiyal aktivitelerinin etkisi ile işçi bal arılarına kıyasla ana arının ömrünün önemli ölçüde uzamasına sebep olduğu hatta bal arıları, meyve sinekleri, cırcır böcekleri, ipek böcekleri, fareler ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular, arı sütünün sağlıklı yaşam süresini artırdığı ve yaşlanma mekanizmalarını modüle etmede açık bir rolü olduğu ifade edilmiştir (Miyata et al., 2018; Kunugi et al., 2019).

1.1.1. Arı Sütünün Kimyasal Özellikleri

Arı sütü, çeşitli proteinler, şekerler, lipidler, vitaminler ve serbest amino asitler içeren bir bal arısı ürünüdür (Izuta et al., 2009). Modern spektrometrik analizlere dayanarak, arı sütünde yaklaşık 185 organik bileşik tespit edilmiştir. Ek olarak, arı sütü, bazı immünomodülatör özelliklere sahip olan 10-hidroksi-2-dekenoik asit (10-HDA) dâhil olmak üzere önemli sayıda biyoaktif bileşikten oluşur (Sugiyama et al., 2012b). Bu kıvamlı madde (%50-60) su, (%18) proteinler, (%15) karbohidratlar, (%3-%6) lipidler ve bunların yanında mineraller, vitaminler, serbest aminoasitler, asetilkolin, peptitler, hormonlar testosteron, progesteron, prolaktin, estradiol, hidroksidekanoik asit, adenosin monofosfat (AMP)-N1Oksit polifenoller, flavonoidler ve adenosin gibi biyoaktif bileşikler içeren kimyasal içeriği ile kompleks fonksiyonel bir arı ürünüdür (Maghsoudlou et al., 2019; Yeung et al., 2019). Arı sütünün bazı kimyasal içerikleri, Tablo 1.1.'de özetlenmiştir.

1.1.1.1. Arı Sütünün Protein Yapısı

Royal Jelly-RJ olarak da bilinen arı sütü, yüksek kaliteli bir protein kaynağıdır. Arı sütü proteini, sadece zengin bir esansiyel amino asit kaynağı ve fonksiyonel donör olarak hizmet etmekle kalmaz, aynı zamanda biyoaktif peptitlerin üretimi için substrat görevi görür. Bununla birlikte, proteolitik reaksiyonlardan türetilen peptitlerin antihipertansif, antioksidan ve anti-senesens etkileri vardır (Li et al., 2021).

Proteinler, arı sütünün kuru ağırlığının >%50'sini oluşturur (Šimúth, 2001). Büyük arı sütü proteinleri (Major Royal Jelly Protein- MRJP) bal arıları tarafından salgılanan bir

protein ailesidir. RJ proteinlerinin %80'i, dokuz üyesi olan büyük arı sütü proteinleridir. Bu proteinler; MRJP1, MRJP2, MRJP3, MRJP4, MRJP5, MRJP6, MRJP7, MRJP8 ve MRJP9' dan oluşmaktadır. MRJP'ler, toplam proteininin %82 ila 90'ını oluşturur ve nispeten yüksek miktarda esansiyel amino asit içerirler. Ayrıca proteinler, tipik olarak disülfid köprülerinin oluşumuna sebep olan dört korunmuş sistein kalıntısını ve birkaç yüksek düzeyde korunmuş amino asit bloğunu paylaşır (Schmitzová et al., 1998; Xin et al., 2016). MRJP'ler ve royalaktin, arı sütüne özellikle Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite sağlayan ana faktörlerdir (Fratini et al., 2016).

İşçi arıların salgıladığı arı sütünde bulunan MRJP1, royalaktin ya da 'kraliçe yapıcı' olarak da bilinir. Arı sütünde ana biyoaktif maddelerin en önemlilerinden birisi royalaktin ve diğeri ise arı sütünün ana yağ asidi bileşeni 10-HDA'dır (Spanidi et al., 2022). Royalaktin, arı sütünde en bol bulunan en önemli proteindir ve en büyük boyutta olandır. Major Arı Sütü Protein ailesinde %45'inden fazlası Majör Arı Sütü Proteini 1'dir (Furusawa et al., 2008; Kamakura, 2011; Xue et al., 2017). Başka bir protein olan royalisin antibakteriyel özellik gösterir, arı sütünü Gram-pozitif bakterilere karşı korur. Yaklaşık 51 amino asit dan oluşan zengin bir aminoasit kaynağıdır (Fujiwara et al., 1990).

1.1.1.2. Arı Sütünün Karbohidrat Kompozisyonu

Taze arı sütündeki karbohidrat konsantrasyonlarının ağırlıkça yüzde 8,3 ila 29,1 arasında değiştiği bilinmektedir (Simo et al., 1962). Ortalama olarak bu kısım, arı sütü kuru maddesinin %30'unu oluşturur. Bileşenler niteliksel olarak oldukça kararlı olmasına rağmen, önemli niceliksel farklılıklar gözlenmektedir. Balda olduğu gibi monosakkaritler fruktoz ve glikoz ana şekerlerdir. Genellikle toplam şekerlerin %90'ından fazlasını oluştururlar ve bu ikisi arasında fruktoz yaygındır. Sükroz her zaman mevcuttur, fakat oldukça değişken konsantrasyonlardadır. Ayrıca çok küçük konsantrasyonlarda bulunmalarına rağmen maltoz, izomaltoz, trehaloz, gentiyobioz, erloz, melezitöz, rafinoz gibi oligosakkaritleri bulmak mümkündür. Kaliteyi belirlemede ve bazı durumlarda ürünün gerçekliğini kanıtlamada faydalıdır (Sabatini, 2009).

1.1.1.3. Arı Sütünün Yağ Asitleri

Genellikle hayvansal veya bitkisel materyallerde bulunan 14-20 karbon atomu içeren karboksilik asitlerin aksine, ana madde esas olarak küçük zincirli (8-12 karbon atomu), hidroksi yağ asitleri, dikarboksilik asitler, monohidroksi asitler içerir. Arı sütü içerikleri değişmekle birlikte, taze ağırlığın %60-70'ini su, %10-20'sini şeker, %11-18'ini ham protein ve %1-4'ünü 10-HDA oluşturmakta olup, fenolik bileşikler çok düşük seviyelerdedir (Kolaylı et al., 2015).

Arı sütünün lipid fraksiyonu %80-85 yağ asiti, %3-4 steroid, %4-10 fenol, %5-6 mum ve %0,4-0,8 fosfolipidlerden oluşmaktadır (Collazo et al., 2021). Bu yağ asitlerinin %90'ı, 10-HDA, 10-hidroksidekenoik asit (10-HDDA) ve sebasik asit (SEA) gibi farklı türlerden oluşur. Lipid fraksiyonunun %32'si trans-10-HDA, %22'si 10-HDDA, %24'ü glukonik asit, %5'i dikarboksilik asitler ve geri kalan kısmı diğer asitlerden meydana gelir.(Terada et al., 2011).

Arı sütünün ana yağ asidi bileşeni 10-HDA'dır. 10-HDA, yalnızca arı sütünde bulunduğu için arı sütündeki en önemli yağ asididir ve bu sebeple arı sütü taşımasını değerlendirmek için önemli bir kalite belirtecidir ve aynı zamanda antitümör etkiler gibi birçok farmakolojik aktiviteye sahiptir (Townsend et al., 1961; Yang et al., 2019).

1.1.1.4. Arı Sütünün Diğer Bileşenleri

Arı sütü, en az 17 çeşit aminoasit içeren zengin bir gıdadır (Collazo et al., 2021). MRJP'lerin çoğu, bal arılarında yüksek miktarda Met, Ile, His, Arg, Leu, Lys, Thr, Val, Phe, Trp gibi amino asitleri içerir (Schmitzová et al., 1998). Arı sütünün antioksidan ve fotokoruyucu cilt aktivitesine sahip diğer önemli biyoaktif moleküller polifenollerdir (Spanidi et al., 2022). Arı sütünde yüksek antioksidan aktiviteye sahip birçok polifenolik bileşik türü mevcuttur (Kunugi et al., 2019). Ferulik asit, toplam polifenollerin %68'inden fazlasını içeren tek fenolik asittir. Flavanonlar, flavonlar, flavonoller ve izoflavonoid bileşikler daha küçük oranlarda bulunmuştur (López-Gutiérrez et al., 2014).

Arı sütünün flavonoidleri dört gruba ayrılabilir: 1- flavanonlar, örneğin, hesperetin, izosakuranetin ve naringenin; 2- flavonlar, örneğin, akasetin, apigenin ve bunun glukozidi, krizin ve luteolin glukozit; 3- flavonoller, örneğin, isorhamnetin ve kaempferol glikozitler ve 4- izoflavonoidler, örneğin kumestrol, formononetin ve genistein. Bu bileşenlerin antioksidan aktivitesi, arı sütünün anti-apoptotik ve anti-enflamatuar özelliklerine katkıda bulunur (Kocot et al., 2018).

Taze arı sütündeki toplam kül içeriği kabaca %1'dir. Arı sütündeki makro ve eser elementlerin konsantrasyonları aşılamadan sonra farklı zamanlarda önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Aşılamadan 48 ve 72 saat sonra hasat edilen arı sütü, yüksek K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn ve Cu konsantrasyonlarına sahiptir ve sağlıklı bir besin takviyesi olarak kullanılabilir (Al-Kahtani et al., 2020).

Arı sütünde en bol bulunan B5 vitamindir (52,8 mg/100 g), bunu B3 (42,42 mg/100 g) takip eder (Xue et al., 2017). Arı sütü, az miktarda çeşitli B grubu vitaminleri (B1, B2, B6, B8, B9 ve B12) E vitamini, C vitamini ve A vitamini içerir (Kocot et al., 2018). Bunların dışında laktik asit, glikolik asit, gliserik asit, malik asit, eritritol, izotreonik asit, treonik asit, arabinoik asit, g-lakton, ribonik asit, g-lakton, kinik asit, üre, adenin ribosid (adenosin) ve guanozin gibi bileşenler de tespit edilmiştir (Isidorov et al., 2012).

Tablo 1.1. Arı sütünün kimyasal kompozisyonunda yer alan bazı maddeler

BAŞLIK	BİLEŞENLER
Proteinler	MRJP (Major Royal Jelly Proteinleri), royalaktin, royalisin, jellein, defensin-1
Karbohidratlar	Fruktoz, glikoz, maltoz, izomaltoz, trehaloz, gentiyobioz, erloz, melezitoz, rafinoz
Lipitler	10-HDA (10-hidroksi-2-dekenoik asit), yağ asitleri, steroidler, fenoller, mumlar, fosfolipidler
Vitaminler	B1, B2, B5, B6, B8, B9, B12, A,C,E
Mineraller	Potasyum, kalsiyum, sodyum, çinko, demir, bakır, magnezyum, mangan, fosfor
Amino Asitler	Metiyonin, izolösin, histidin, arginin, lösin, lizin, treonin, valin, fenilalanin, triptofan
Polifenoller	Ferulik asit, flavanonlar, flavonlar, flavonoller, izoflavonoidler
Flavonoidler	Hesperetin, izosakuranetin, naringenin, akasetin, apigenin, krizin, luteolin glukozit, isorhamnetin, kaempferol glikozitler, kumestrol, formononetin, genistein
Hormonlar	Testosteron, progesteron, prolaktin, estradiol

Tablo 1.1. (Devamı) Arı sütünün kimyasal kompozisyonunda yer alan bazı maddeler

Diğer Bileşenler	Asetilkolin, adenosin monofosfat (AMP)-N1 oksit, glutatyon (GSH), laktik asit, glikolik asit, gliserik asit, malik asit, eritritol, izotreonik asit, treonik asit, arabinoik asit, g-lakton, ribonik asit g-lakton, kinik asit, üre, adenin ribosid (adenosin), guanozin
-------------------------	--

1.1.2. Arı Sütünün Biyolojik Özellikleri

Arı sütünden izole edilen proteinler, peptitler, peptit fraksiyonları, yağ asitleri ve fenolik bileşikler gibi farklı biyolojik bileşikler, bu ürüne farklı biyolojik aktiviteler ve farmasötik etkiler sağlar (Ahmad et al., 2020).

Arı sütü, temel olarak polifenoller, başlıca fenolik asitler, flavonoidler, royalisin, jelleines, aspimin, royalaktina gibi peptitlerden ve 10-HDA benzeri lipitlerden oluşan bunun yanında diğer yağ asitleri, proteinler, adenosin monofosfat (AMP) N1 oksit, adenosin, asetilkolin, polifenoller ve testosteron, progesteron, prolaktin ve estradiol gibi hormonlar arı sütünde mevcut olduğu bildirilen diğer yararlı biyoaktif bileşenlerdir (Ramadan et al., 2012).

Arı sütünün biyolojik aktiviteleri değişkendir ve aktif bileşenlerinin içeriği ile ilişkilendirilmiştir (Bărnău et al., 2011; Ramadan et al., 2012). Arı sütü biyolojik aktivitelerinde ve farmasötik uygulamalarında hayati bir rol oynama potansiyeline sahip zengin bir besin ve biyoaktif bileşik kaynağıdır (Akhtar et al., 2018).

Yüksek biyoaktif bileşik içeriği sebebiyle; anti-oksidan, immünmodülatör, anti-inflamatuar, anti-aging, anti-bakteriyel, dezenfektan etki, anti-kanser, vazodilatif, hipotansif, antihiperkolesterolemik aktivite, hepatoprotektif ve anti-tümör aktivite gibi sağlığı geliştirici birçok özelliğinin yanında hafıza, sindirim sistemi, kan şekeri (antidiyabetik etki), obezite düzenleyici özelliklere sahip bir arı ürünüdür (Viuda-Martos et al., 2017; Guo et al., 2021).

1.2. Ağır Metaller

Ağır metaller, atom ağırlığı yüksek sudan minimum beş kat daha fazla yoğunluğa sahip doğal olarak oluşan elementlerdir. Ağır metaller toksik etkilere sahip olup toksisiteleri, doza, kimyasal türlerine ve maruz kalma yolunun yanı sıra maruz kalan bireylerin cinsiyetine, yaşına, beslenme durumuna ve genetik özellikleri gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir (Tchounwou et al., 2012).

Geçen yüzyılın endüstriyel faaliyetleri; tıbbi, evsel, tarımsal ve teknolojik uygulamalar, insanların ağır metallere maruz kalmasında büyük artışlara sebep olmuştur (Tchounwou et al., 2012). Krom, kurşun, kadmiyum cıva ve arsenik insan zehirlenmelerine sebep olan en yaygın ağır metallerdir. Toksisitelerinin fazla olmasından dolayı insan sağlığı açısından önem taşıyan öncelikli toksik metaller arasında yer almaktadır (Balali-Mood et al., 2021). Bu elementlere, maruziyet seviyeleri düşük olduğu zamanda bile çoklu organ hasarını indüklediği bilinen toksik sistemik maddeler olarak değerlendirilir. Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı ve ABD Çevre Koruma Ajansı'na göre bilinen veya olası insan kanserojenleri olarak sınıflandırılırlar (Tchounwou et al., 2012).

Birçok metal yer kabuğunda doğal olarak bulunur ve çeşitli endüstriyel ve ekonomik amaçlar için kullanılır. Bakır, demir, kobalt, molibden, nikel, selenyum, krom ve çinko gibi metaller, vücutta çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik aktiviteler için gerekli olan fonksiyonel rollere sahiptir (Engwa et al., 2019). Ağır metallerin toksik etkisi maruz kalma süresine, konsantrasyona ve maruz kalma yoluna bağlıdır. Bu metallere maruziyet, içme suyu ile alınması, atmosferden solunması ve deriye temas etme yoluyla gerçekleşir. İnsanlarda ağır metallerin bazıları ancak yüksek dozlarda maruz kalındığında vücuda zararlı olabilirken, arsenik, cıva, kurşun, kadmiyum, krom, gümüş gibi ağır metaller ise çok küçük miktarlarda bile maruz kalındığında yüksek oranda akut ya da kronik toksisitelere sebep olduğu bildirilmektedir (Jyothi, 2020).

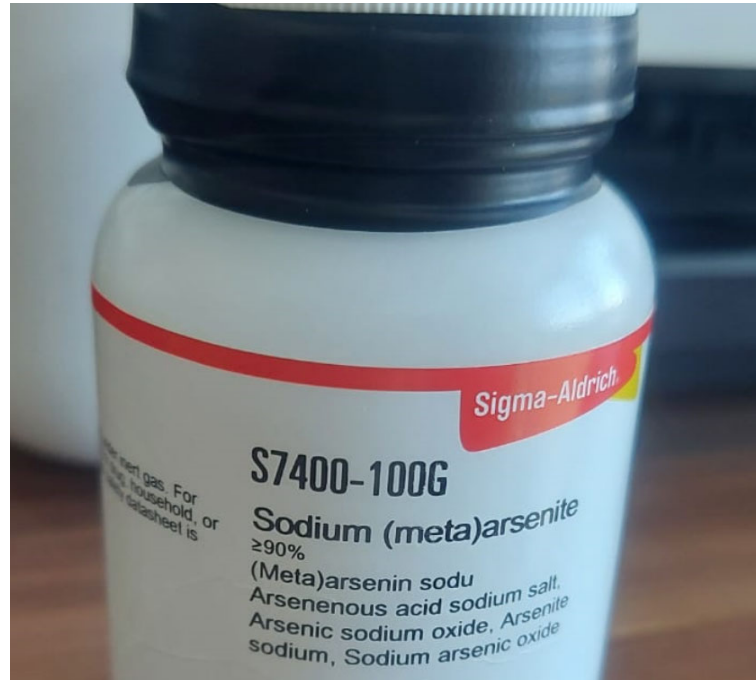
1.2.1. Arsenik ve Türevleri

Arsenik (As), kontamine içme suyundan, sigaraya, gıdaya, endüstriye, mesleki çevreye ve havaya kadar her yerde bulunabilen ve maruz kaldıktan sonra kanser için önemli bir risk faktörü olabilen, doğal olarak bulunan bir metaloiddir. Metaloid arsenik, antropojenik kaynaklarda, yer kabuğunda, kaya, toprak, su ve havada bulunabilmekte ve insanların gıda, su, hava ve toprakta sürekli maruz kalarak etkilendiği doğal bir çevresel kirleticidir. Arsenik çevrede hem organik hem de inorganik formlarda olup dünyanın bazı bölgelerinde, toksisite kaynağı olarak içme suyunda doğal şekilde yüksek oranda bulunmaktadır (Chung et al., 2014). Dünyanın çoğu ülkesinde çevresel arsenik maruziyetinin ana kaynağı, inorganik arsenik formlarının baskın olduğu içme suyudur. Arseniğin başlıca inorganik formları arasında beş değerlikli arsenat (As^{+5}) ve üç değerlikli meta-arsenit (As^{+3}) bulunur. İki durum arasında toksikolojik olarak en güçlü arsenik bileşikleri üç değerlikli formda olanıdır. Üç değerlikli arsenik, genellikle beş değerlikli arsenikten toksikolojik olarak daha güçlüdür (Dopp et al., 2004). Bunun sebebi, proteinlerdeki kükürt ile üç değerlikli arseniklerin etkileşimi özellikle sülfidril grubu içeren hücresel enzimlere olan afinitesi, arseniğin oksidatif stres oluşturma yeteneği ve arseniğin üç değerlikli formu, hücreler tarafından kolaylıkla alınabildiği için beş değerli muadillerine göre daha fazla genotoksik etki gösterir (White et al., 2007). Bununla birlikte, insanlar hem üç değerlikli ve hem de beş değerlikli arseniklere maruz kalmaktadır (Souza et al., 2016).

İnsan, anne karnından başlayarak ve doğum sonrası kritik gelişim dönemi de dâhil olmak üzere çevresel etkilere karşı önemli düzeyde bir duyarlılığa sahiptir. Hem epidemiyolojik çalışmalardan hem de deneysel araştırmalardan ortaya çıkan veriler, arseniğin bu süre boyunca maruz kalındığında yaşam boyu sağlığı etkileyebileceğini göstermektedir (Farzan et al., 2013). Arseniğin akut etkileri gastrointestinal rahatsızlıktan ölüme kadar uzanır. Doza bağlı olarak, kronik arsenik maruziyeti birkaç ana organı etkileyebilir. Vücuda alınan arseniğin başlıca oluşturabileceği durumlar, cilt, mesane ve akciğer kanserleridir. Özellikle doğumdan sonraki dönemlerde erken yaşamda arseniğe yüksek düzeyde maruz kalma, yüksek solunum yolu hastalığı riski, bozulmuş akciğer fonksiyonu, kanser ve kardiyovasküler rahatsızlıklara sebep olmaktadır (Hughes et al., 2011; Tchounwou et al., 2012; Souza et al., 2016).

1.2.1.1. Sodyum Meta Arsenit (NaAsO_2)

İnorganik arsenik bileşikleri, insanlar için kanserojen olarak kabul edilen ağır metal toksik maddelerdir. Bunlar arasında insan ve hayvan sağlığı için en tehlikeli inorganik arsenik bileşiği sodyum arsenittir (Mohammed Abdul et al., 2015). Dünya çapında bir sağlık sorunu olarak kabul edilen sodyum arsenit, insan ve hayvan sağlığını olumsuz yönde etkileyen, her yerde bulunan bir çevresel stres etkenidir (Akanda et al., 2017).



Şekil 1.1. Çalışmada kullanılan Sodyum (meta) arsenit

Sodyum arsenit genellikle NaAsO_2 formülüne sahip inorganik bileşiğe karşılık gelir. Sodyum meta-arsenit olarak da adlandırılır, arsenik asidin sodyum tuzudur. Sodyum metaarsenit, potansiyel antitümör aktiviteye sahip, yüksek oranda çözünebilen, oral olarak alınabilen, üç değerlikli arsenik içeren bir telomeraz inhibitörüdür (NCBI, 2023). Bileşik, sodyum katyonları ile ilişkili, $\text{Na}^+ [\text{AsO}_2]^{n-}$ polimerinden oluşur. Polimer omurga, $-\text{O}-\text{As}(\text{O}^-)-$ bağlantısına sahiptir (Wikipedia,).

1.3. Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Lipid Peroksidasyon

1.3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, yapılarında oksijen grupları bulunan kısmen oksitlenmiş bileşiklerden türetilen ve hücre zarlarının yüzeyinde ve hatta hücre içinde agresif oksidasyon reaksiyonlarını tetikleyebilen maddelerdir (Pickrell et al., 2009). Vücudumuz çeşitli fizikokimyasal veya patolojik koşullara maruz kaldığında çeşitli endojen sistemler (mitokondri, peroksizomlar, endoplazmik retikulum, fagositik hücreler vb.) aracılığıyla serbest radikaller, reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri üretir (Lobo et al., 2010). Serbest radikaller yetersiz katabolizma, enerji üretimi, karaciğer detoksifikasyonu gibi vücuttaki süreçlerden (endojen) kaynaklanabileceği gibi tütün dumanı, kirli hava, yiyecekler, ilaçlar, kuyu/musluk suyu gibi dış çevre etmenlerinden (eksojen) de kaynaklanabilir (Pickrell et al., 2009).

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronlara sahip moleküllerdir bir serbest radikalın eşleşmemiş elektronu, ağırlıklı olarak içinde bulunduğu atom veya grup üzerindeki bir nokta ile gösterilir, $\bullet\text{OH}$ (hidroksil), $\bullet\text{H}$ (hidrojen atomu), $\bullet\text{CH}_3$ (metil) ve $\bullet\text{CH}_2\text{CH}_3$ (etil) gibi örnekler verilebilir. Oksijen radikallerinde eşleşmemiş elektron ağırlıklı olarak bir oksijen atomu üzerinde bulunur, örneğin, süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$), hidroksil, peroksil ($\text{ROO}^{\bullet}$) dir (Martemucci et al., 2022). Serbest radikaller, kararlı bir bileşik oluşturmak için diğer moleküller, atomlar veya elektronlarla etkileşime girerek bir elektron almaya veya vermeye çalışır. Oksidatif veya indirgeme ajanı olarak davranarak, diğer moleküllerden elektron alabilir ya da onlara elektron verebilirler (Halliwell et al., 2015). Sitotoksiste, vasküler tonusun düzenlenmesi ve nöro-transmisyon gibi doğal süreçlerde önemli ara maddelerdir. Bir serbest radikalın tek sayıdaki elektronları onu kararsız, kısa ömürlü ve oldukça reaktif yaparak, zincirleme reaksiyonları başlatır. Kararlılığı sağlamak için gereken elektronları yakalamaya çalışırlar. Bu bir zincirleme reaksiyon başlatır. Süreç başladıktan sonra art arda sıralanabilir ve sonunda canlı bir hücrenin bozulmasına sebep olur (Sarma et al., 2010). Serbest radikallerin aşırı üretimi, nükleik asitler, proteinler ve lipidler gibi makromoleküllere zarar verebilir. Bu da çeşitli kronik ve dejeneratif hastalıklarda doku hasarına yol açar (Martemucci et al., 2022).

1.3.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Atmosferik oksijen, insan yaşamını sürdüren aerobik solunumun önemli bir parçasıdır. Oksijenin yaklaşık %95'i enerji olarak tüketilir ve sonunda su oluşur; ancak kalan %5, son derece reaktif olan aktif oksijen veya reaktif oksijen türleri adı verilen metabolitler üretir (Nakai et al., 2021). Reaktif oksijen türleri, reaktif ve oksitleyici yetenekleri sebebiyle oksijen içeren serbest radikaller için ortak bir terimdir. ROS, oksidatif stres adı verilen patolojik bir duruma yol açan biyomoleküllerle çeşitli kimyasal reaksiyonlara katılır (Kunwar et al., 2011). Genel olarak, reaktif oksijen türlerinin hücre üzerindeki zararlı etkileri, çoğunlukla DNA hasarı, lipidlerdeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonları, proteinlerdeki amino asitlerin oksidasyonları, kofaktörlerin oksidasyonu ile spesifik enzimleri oksidatif olarak inaktive eder (Sarma et al., 2010). Reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikal olmayan türler Tablo 1.2'de özetlenmiştir.

Tablo 1.2. Reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikal olmayan türler (Munteanu et al., 2021)

REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ	SERBEST RADİKAL OLMAYAN TÜRLER
Peroksil Radikali (ROO•)	Peroksinitrit (ONOO-)
Hidroperoksil Radikali (HOO•)	Ozon (O ₃)
Süperoksit Radikali (O ₂ •)	Singlet oksijen (¹ O ₂)
Hidroksil Radikali (HO•)	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
Azot Dioksit Radikali (NO ₂ •)	Azotlu asit (HNO ₂)
Lipid Peroksil Radikali (LOO•)	Hipokloröz asit (HOCl)
Nitrik Oksit Radikali (NO•)	Nitril klorür (NO ₂ Cl)
Lipid Alkoksil Radikali (LO•)	Dinitrojen trioksit (N ₂ O ₃)
Lipid Radikali (L•)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Protein Radikali (P•)	Nitrosil katyonu (NO ⁺)
Tiyil Radikali (Rs•)	Nitrokil anyonu (NO ⁻)

1.3.1.1.1. Süperoksit Radikali (O₂•⁻)

Süperoksit radikalleri, moleküler oksijenin bir elektronla indirgenmesiyle üretilir. Süperoksit, negatif yüklü bir serbest radikaldır oksijene tek bir elektron yüklenmesi ile oluşur (Hayyan et al., 2016). Kimyasal olarak, süperoksit üretmenin ana yolları,

iyonlaştırıcı veya UV radyasyonunu içeren reaksiyonlar ve geçiş metalleri veya indirgeyici radikaller tarafından başlatılan oksijenin bir elektron indirgemesidir (Winterbourn, 2020). Süperoksit anyon radikali, enzimatik süreç, otooksidasyon reaksiyonu ve bir elektronun moleküler oksijene transfer edildiği enzimatik olmayan elektron transfer reaksiyonları tarafından oluşturulan en önemli yaygın ROS'dur (Fridavich, 2003). Oksijen molekülü (O_2) elektron alarak süperoksit radikali ($\bullet O_2^-$) oluşturur (Mar et al., 2023).



Süperoksit oldukça reaktif bir serbest radikal olduğu için moleküllere (Proteinler, DNA ve lipitler) zarar verebilir (Halliwell et al., 2015). Bu radikaller fizyolojik olarak oksijen metabolizmasının bir yan ürünü olarak oluşurlar ve redoks-aktif ksenobiyotiklerin metabolizmasının bir ürünü olarak toksikolojide önemlidirler. Süperoksit ayrıca özel enzimler tarafından üretilir ve bu durumlarda mikrobiyal patojenlerle mücadelede ve hücrel süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar (Winterbourn, 2020). İstilacı mikroorganizmaları öldürmek için bağışıklık sistemi tarafından üretilebilir; monositler, nötrofiller, mast hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi fagositler, kemotaksis yoluyla bakteriyel enfeksiyon bölgesine taşınır ve fagosit edilmiş bakteriler, $\bullet O_2^-$ ile öldürülür (Fridavich, 2003).

1.3.2.1.2. Hidroksil Radikali ($\bullet OH$)

Hidroksil radikali, Fenton reaksiyonu ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + \bullet OH + OH^-$) yoluyla çok çeşitli ortamlarda üretilen güçlü bir oksidandır (Lyngsie et al., 2018). Serbest demirin (Fe^{2+}) hidrojen peroksit (H_2O_2) ile reaksiyona girdiği Fenton reaksiyonu ve süperoksitin ferrik demir (Fe^{3+}) ile Fe^{2+} üreten Haber-Weiss reaksiyonu tarafından oluşturulur. Reaksiyon demirle sınırlı değildir, ancak O_2 oluşturmak için süperoksit anyonu ile etkileşime girerek geri dönüştürülebilen birkaç başka iyonu (Fe^{3+} , Cu^{2+} , Co^{3+} ve Ti^{4+}) içerebilir. Hidroksil radikali, hidroksit iyonunun nötr formudur ve oldukça reaktif bir serbest radikaldir (Bedwell et al., 1989). En aktif kimyasal özelliklere sahip serbest radikallerdir. Yüksek reaksiyon sabitlerine sahiptirler ve en çok zarar veren serbest radikallerdir (Mu et al., 2017). Hidroksil radikali, organik kirleticiler ve inhibitörler dâhil çevredeki kimyasallarla seçici olmayan ve anında reaksiyona girebilen en güçlü

oksitleyici maddelerden biridir (Gligorovski et al., 2015). Proteinler, DNA, karbohidratlar ve lipitler dâhil olmak üzere hem organik hem de inorganik moleküllerle güçlü bir şekilde reaksiyona girebilir ve hücrelerde diğer herhangi bir ROS'un yapabileceğinden daha ciddi hasara sebep olabilir (Babizhayev, 2011). Hidrojen peroksit (H_2O_2) elektron alarak hidroksil radikali ($HO\bullet$) ve hidroksit iyonu (HO^-) oluşturur (Collin, 2019).



Biyolojik sistemlerde hidroksil radikalleri hücre zarına saldırarak zar hasarına sebep olur ve şeker gruplarını ve DNA baz dizilerini yok ederler, çift sarmal yapının parçalanmasına sebep olur, hatta hücre ölümü ve mutasyonlara sebep olur. Bu sebeple, hidroksil radikalının süpürme aktivitesi, maddenin serbest radikallerini süpürme yeteneğini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılır (Mu et al., 2017). Çoklu doymamış yağ asitleri, hidroksil radikallerinin tercih edilen hedefidir (Fujii et al., 2022). Ayrıca, hidroksil radikalleri, proteinlerdeki, özellikle fibrinojendeki disülfid bağlarını azaltabilir ve anormal uzamsal konfigürasyonlarda açılmalarına ve yeniden katlanmalarına sebep olabilir (Lipinski, 2011).

1.3.2.1.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit birçok biyolojik süreçte üretilir ve redoks sinyallerinin ana kaynağı olarak kabul edilir. Hidrojen peroksit, süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalize edilen bir dismutasyon reaksiyonunda *in vivo* olarak oluşturulur. Hidrojen peroksit, $O_2\bullet^-$ 'nin dismutasyonu veya O_2 'nin doğrudan indirgenmesiyle üretilir ve esas olarak enzimatik reaksiyonlarda üretilir. Serbest radikal değildir, ancak nispeten düşük konsantrasyonlarda ($10 \mu M$) hücre hasarına sebep olabilir, ancak daha yüksek seviyelerde gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz gibi hücresel enerji üreten enzimler tarafından etkisiz hale gelir. H_2O_2 'nin doğrudan etkisi, enzim inaktivasyonu, demir salınımı ve DNA, lipitler, -SH grupları ve keto-asitlerin oksidasyonu ile heme proteinlerinin yapısına saldırı olabilir. Biyolojik zarlara kolayca nüfuz edebilir yağda çözünebildiği için hücre zarından geçebilir. İki süperoksit radikali ($\bullet O_2^-$) ve iki proton (H^+) birleşerek oksijen (O_2) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturur (Mar et al., 2023).



H₂O₂'nin DNA üzerinde doğrudan bir etkisi yoktur ancak geçiş metali iyonlarının varlığında hidroksil radikali üreterek DNA'ya zarar verebilir (Halliwell et al., 2000; Choe et al., 2006; Winterbourn, 2013, Kohen et al., 2016).

1.3.2.1.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

Singlet oksijen, elektrofilik, radikal olmayan kritik organik molekülleri oksitleyerek hücrelere zarar verebilen oldukça reaktif bir dioksijen formudur (Lledias et al., 2000). Singlet oksijen oldukça reaktif bir moleküldür. Elektron konfigürasyonu, ikili-üçlü oksijenden farklıdır (Min et al., 2002). Kimyasal, enzimatik ve fotokimyasal olarak oluşturulabilir (Krinsky, 1977). Singlet oksijenin en yaygın kaynaklarından biri, bir boya veya doğal pigment gibi uyarılmış bir 'hassaslaştırıcıdan' enerji transferidir (Foote et al., 1995).

Işığa duyarlılaştırıcılar, ışığın varlığında üçlü oksijenden tekli oksijen oluşturabilirler. Singlet oksijenin besinlerle reaksiyon hızı, düşük aktivasyon enerjisi sebebiyle triplet oksijeninkinden çok daha fazladır. Singlet oksijen oksidasyonu, gıda işleme ve depolama sırasında istenmeyen bileşikler üretir (Min et al., 2002). Bununla birlikte, gıdalardaki karotenoidler ve tokoferoller tekli oksijen oksidasyonunu en aza indirebilir. Gıdalardaki klorofil, feofitinler, porfirinler, riboflavin, miyogloblin ve sentetik renklendiriciler gibi ışığa duyarlılaştırıcılar, ışıktan enerjiyi emebilir ve tekli oksijen oluşturmak için üçlü oksijene aktarabilir (Afonso et al., 1999). Singlet oksijenin oluşumu, reaksiyonları, söndürme mekanizmaları ve kinetiği hakkında derinlemesine bilimsel bilgi, işleme ve depolama sırasında oksidasyonu en aza indirerek gıdaların kalitesini büyük ölçüde artırabilir (Min et al., 2002).

1.3.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, vücudun serbest radikallere karşı savunmasında çok önemli bir rol oynar (Martemucci et al., 2022). Antioksidanlar, diyetimizde doğal olarak bulunan ve fizyolojik sistemler üzerindeki oksidatif stresi önleyebilen veya azaltabilen bir kimyasal sınıftır.

Vücudumuz sürekli olarak serbest radikaller üretir. Bu serbest radikaller vücutta hücre hasarına sebep olur ve kalp hastalığı, diyabet ve kanser gibi çeşitli sağlık sorunlarına sebep olur (Mamta et al., 2014). Serbest radikal temizleyiciler olan antioksidanlar, bu serbest radikallerin sebep olduğu hücre hasarının önlenmesine ve onarılmasına yardımcı olur ve biyomolekülleri ROS'un zararlı etkilerinden korurlar (Kunwar et al., 2011).

Uygun fizyolojik fonksiyon için serbest radikaller ve antioksidanlar arasında bir denge gereklidir. Serbest radikaller vücudun onları düzenleme yeteneğini aşarsa, oksidatif stres olarak bilinen bir durum ortaya çıkar. Böylece serbest radikaller lipitleri, proteinleri ve DNA'yı ters yönde değiştirir ve bir dizi insan hastalığını tetikler. Bu sebeple, harici antioksidan kaynağının uygulanması, bu oksidatif stresle başa çıkmada yardımcı olabilir (Lobo et al., 2010). Çözünürlüklerine bağlı olarak, antioksidanlar genel olarak suda çözünmesine ve yağda çözünmesine göre iki gruba ayrılır: Suda çözünen antioksidanlar; askorbik asit, glutatyon ve ürik asit gibi bileşikler iken α - tokoferol, karotenoid ve ubikinol, lipitte çözünen antioksidanların örnekleridir. Antioksidanlar, kaynaklarına göre doğal ve sentetik iki ana türe ayrılırlar. Doğal antioksidanlar ya insan vücudunda metabolik süreçle sentezlenirler ya da diğer doğal kaynaklardan desteklenirler ve aktiviteleri büyük ölçüde fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve etki mekanizmalarına bağlıdır. Bu doğal antioksidanlar ayrıca enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki kategoriye ayrılırlar (Mamta et al., 2014). Endojen ve Ekzojen Antioksidanlar, Tablo 1.3'de özetlenmiştir.

Tablo 1.3. Antioksidanların Sınıflandırılması (Stankovic et al., 2020)

Endojen ve Ekzojen Antioksidanlar		
Enzimatik	Enzimatik Olmayan	
Katalaz (CAT)	Myoglobin	Vitaminler
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Ferritin	Vitamin C (askorbik asit)
Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	Metallothioneinler	Vitamin E (tokoferoller)
Glutatyon Redüktaz (GR)	Transferrin	Vitamin K
Glutatyon-S-Transferaz (GST)	Laktoferrin	Mineral elementler
Fosfolipaz A ₂	Albumin	Selenyum
	Seruloplazmin	Çinko
	Glutatyon	Manganez

Tablo 1.3. (Devamı) Antioksidanların Sınıflandırılması (Stankovic et al., 2020)

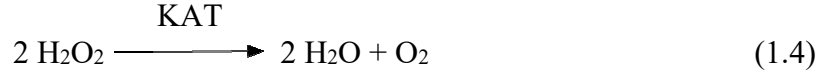
Endojen ve Ekzojen Antioksidanlar		
Enzimatik	Enzimatik Olmayan	
	Koenzim Q ₁₀	Bakır
	Ürik asit	Besleyici
	Bilirubin	Karotenoidler
	Melatonin	Fitonutrientler
	Vitamin A (retinol)	Takviyeler
		Lipoik asit
		Polifenol
		D-Metionin
		Karnosin
		Omega-3 yağ asitleri
		Asetil L-karnitin

1.3.2.1. Enzimatik Antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar, insan vücudunda üretilir (Mamta et al., 2014).

1.3.2.1.1. Katalaz (KAT)

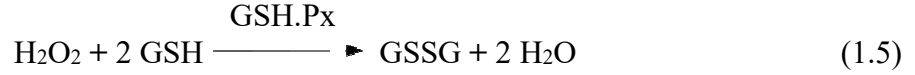
Katalaz, hidrojen peroksidi su ve oksijene indirgeme yeteneği ile bilinen yüksek oranda korunmuş heme içeren bir antioksidan enzimdir (Vetrano et al., 2005). Katalaz, memeli hücrelerinin peroksizomlarında bulunan tetramerik bir enzimdir (Scibior et al., 2006). Memeli hücrelerinde katalaz, çeşitli oksidazlar ve peroksidazlarla birlikte peroksizomlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Chance et al., 1971). Yüksek H₂O₂ konsantrasyonlarında katalaz katalitik bir etki gösterir. Yani H₂O ve O₂ üretir ve H₂O₂'yi uzaklaştırır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında, enzim peroksidaz aktivitesi sergiler. Düşük H₂O₂ konsantrasyonlarında ve etanol, metanol veya fenol gibi uygun bir hidrojen donörünün varlığında, katalaz peroksidatif bir şekilde etki ederek H₂O₂'yi uzaklaştırır ancak peroksidasyon reaksiyonu ile substratını oksitler (Scibior et al., 2006). Katalaz, peroksizomlarda üretilen H₂O₂'nin fotosolunum yoluyla uzaklaştırılması için de gereklidir (Noctor et al., 2000). Katalaz, çeşitli canlı organizmalarda bulunan, hidrojen peroksitin suya ve moleküler oksijene parçalanmasından ve böylece hücrelere oksidatif hasarı önlemekten sorumlu olan hayati bir antioksidan enzimdir (Aladyeva et al., 2022).



Memeli katalazı, çeşitli globinler, sitokromlar ve peroksidazlar içeren Fe-protoporfirin IX içeren bir protein ailesine aittir ve karakterizasyonu en iyi şekilde yapılmış antioksidan enzimlerden biridir (Deisseroth et al., 1970). Tipik katalazlar, bakteri ve insanlar arasında %35 veya daha fazla amino asit kimliğini paylaşan korunmuş bir protein ailesidir. Katalaz bilinen en aktif enzimlerden biridir ve genellikle stabildir. Bu sebeple, enzimin saflaştırılması kolay ve aktivitesi kolayca tespit edilebilir. Bakteriyel, fungal, bitki ve hayvansal katalaz, daha asidik, tamamen aktif bir konformer üretmek için $^1\text{O}_2$ tarafından oksitlenir. Toplam hücre ekstraktları, $^1\text{O}_2$ 'nin sebep olduğu katalaz hareketlilik kaymasını tespit etmek için jel elektroforezi ile analiz edilebilir. Katalazın oksidasyonu $^1\text{O}_2$ 'ye özgüdür ve muhtemelen heme modifikasyonundan kaynaklanmaktadır. Katalazın farklılaşmaya sebep olan veya stres koşullarına maruz kalan hücrelerden elektroforetik hareketlilik kayması, $^1\text{O}_2$ 'nin göstergesi olabilir. Katalaz modifikasyonu, hücrede etkili bir şekilde söndürücü karotenoidlerin miktarına göre artırılabilir veya azaltılabilir. Saflaştırılmış bir katalaz ayrıca $^1\text{O}_2$ 'nin *in vitro* oluşumunu saptamak için bir belirteç görevi görebilir (Lledias et al., 2000).

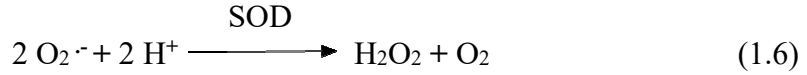
1.3.2.1.2. Glutatasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon Peroksidaz, hidrojen peroksitin su ve oksijene indirgenmesini ve ayrıca peroksit radikallerinin alkollere ve oksijene indirgenmesini katalize eden sitosolik bir enzimdir (Frank et al., 1987). Glutatyon peroksidazlar, oksidoredüktazların bir ailesidir. Adlarını, ilk olarak sığır kırmızı kan hücrelerinden saflaştırılan ve glutatyon ile H_2O_2 'yi azaltan enzim olan GSH-Px-1'den almıştır (Ursini et al., 2013). Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve proteinin oksidatif hasarı ile ilgili olan hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin üretimini uyarır. Glutatyon peroksidaz oksidatif strese karşı korur (Arun et al., 1999). Glutatyon peroksidaz, reaktif oksijen türleri homeostazını sürdürmek için en önemli antioksidan enzimlerden biridir. GSH-Px 'in hücre içi H_2O_2 seviyelerini düzenleyerek, GSH/ Okside glutatyon (GSSG) dengesini koruyarak ve antioksidan enzim aktivitesini destekleyerek ROS homeostazını kontrol etmede önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Zhang et al., 2020).



1.3.2.1.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutazlar antioksidan enzimler olarak kabul edilir (Buettner, 2011). Biyotik ve abiyotik stres sonucu oluşan serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerine karşı hayvan ve bitkilerin fizyolojik savunma stratejilerinde görev yapan bir antioksidan enzimdir (Stephenie et al., 2020). Süperoksit dismutazlar, oksijen varlığında yaşayan organizmaların evrensel enzimleridir. Süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksite dönüşümünü katalize ederler (Wang et al., 2018).



Vücuttaki oksidatif strese karşı antioksidan savunmada önemli bir rol oynayan metaloenzimlerdir. Süperoksit dismutaz, doğada bilinen en etkili antioksidanlardan biridir ve hücrenin oksidatif strese karşı savunmasının önemli bir parçasıdır. Çok yüksek katalitik reaksiyon hızı ve fiziko-kimyasal strese karşı yüksek stabilitenin yanında terapötik potansiyeli yüksek bir antioksidan enzim olarak görülmektedir. Oksidatif stresin çeşitli hastalıkların patofizyolojisine dâhil olduğu bilinmektedir ve SOD takviyesinin bu tür hastalıkların tedavisinde veya önlenmesinde faydalı olduğu gösterilmiştir. SOD takviyesi, serbest radikal fazlalığının nötralizasyonu için endojen antioksidan mekanizmayı tetikleyebilir ve böylece çeşitli patolojik ortamlarda kullanılabilir (Bafana et al., 2011; Rosa et al., 2021).

1.3.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Doğal olarak vücutta bulunmayan ancak metabolizma için homeostazinin sağlanabilmesi adına takviye edilmesi gereken antioksidan sınıfıdır. Mineraller, vitaminler, karotenoidler, polifenoller, Geçiş Metali Bağlayıcı Proteinler: Albümin, seruloplazmin, hepatoglobulin ve transferrin; Protein Olmayan Antioksidanlar: Bilirubin, ürik asitler ve ubiquinol enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sayılabilir (Mamta et al., 2014).

1.3.2.2.1. Glutasyon (GSH)

Glutasyon (γ -glutamil-sisteinil-glisin; GSH), hayvan hücrelerinde en bol bulunan düşük moleküler ağırlıklı tiyoldür (0,5–10 mmol/L) (Wu et al., 2004). Hücresel GSH'nin çoğu (%85-90) sitozolde bulunur, geri kalanı birçok organelde (mitokondri, nükleer matris ve peroksizomlar dâhil) bulunur. (Lu et al., 2012). Glutasyon, reaktif oksijen ve nitrojene karşı koruma da dâhil olmak üzere birçok biyolojik rolü olan bir tripeptittir (Lushchak, 2012).

1.3.3. Lipid Peroksidasyon

Lipid peroksidasyonu geniş anlamda, serbest radikaller gibi oksitleyici ajanların bir karbon-karbon çift bağı içeren lipitlere bir karbondan hidrojen çıkarılmasını içeren, özellikle çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA'lar) saldırdığı süreç olarak tanımlanabilir (Yin et al., 2011). Kolesterol, fosfolipidler, kolesterol esterler ve hücre zarları ve lipoproteinler gibi organize düzeneklerdeki glikolipidler dâhil olmak üzere doymamış lipidler, oksidatif modifikasyonun önde gelen hedefleridir (Halliwell et al., 2015).

Lipit peroksidasyon, hücresel hasarla sonuçlanan çeşitli aktif bileşiklerin oluşumuyla neticelenen zincirleme reaksiyonlardan meydana gelir (Ayala et al., 2014). Serbest radikaller, bir organizmada lipid peroksidasyon sürecini oluşturur. Malondialdehit, hücrelerde çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. Serbest radikallerdeki artış, MDA'nın aşırı üretimine sebep olur (Stefan et al., 2009).





Lipid peroksidasyon: Lipid peroksidasyonunun zincirleme reaksiyonu serbest radikallerin saldırısıyla başlatılır (örneğin $OH\cdot$, $O_2\cdot^-$ ve H_2O_2) karbon merkezli radikal ($R\cdot$) oluşturmak için hücre zarının fosfolipid veya PUFA'sı üzerinde. O_2 ile reaksiyona girerek lipid peroksil radikali ($ROO\cdot$) oluşturur, bu da başka bir lipid molekülüne saldırarak lipid hidroperoksit ($ROOH$) oluşturur ve böylece zincirleme reaksiyonu ilerletir. Bu zincirleme reaksiyon, bir lipid peroksil radikali ($ROO\cdot$) veya karbon merkezli radikal ($R\cdot$) benzer bir radikal ile reaksiyona girerek radikal olmayan ürünler oluşturduğunda sonlanır (Saxena, 2014).

Lipid hidroperoksitler ($ROOH$) $\longrightarrow$ Aldehitlerin karışımı, Ketonlar, Alkanlar & Polimerizasyon ürünleri

Kararsız olan lipid hidroperoksit ($ROOH$) kendiliğinden aldehitlerin, ketonların, alkanların ve polimerizasyon ürünlerinin karmaşık bir karışımına ayrışır ve lipid peroksidasyon kaynaklı toksisiteyi artırır (Saxena, 2014).

1.4. Hematolojik Parametreler

1.4.1. Lökositler (WBC, “White Blood Cell”)

Beyaz Kan Hücresi Sayısı bağışıklık sistemi sağlığını yansıtan önemli bir parametredir. Arsenik toksisitesinin WBC sayısını önemli ölçüde etkilediği arsenik maruziyeti arttıkça seviyelerin azalmasına yol açtığı gösterilmiştir (Pharma et al., 2017). Beyaz Kan Hücresi Sayısı kandaki bağışıklık hücrelerinin bir ölçüsüdür. Arı sütü, yaşlı bireylerde hücresel proliferasyonu, sitokin salınımını ve nitrik oksit üretimini artırarak bağışıklık fonksiyonlarını artırır (Bouamama et al., 2021). Arı sütü, antioksidan, antikanser ve immünomodülatör etkileri dâhil olmak üzere çeşitli sağlık yararları sebebiyle incelenmiştir (Al-Okbi et al., 2022). Araştırmalar, arı sütünün bağışıklık fonksiyonunu geliştirerek WBC'leri olumlu yönde etkileyebileceğini göstermiştir (Dayan, 2011).

1.4.2. Eritrosit (RBC, “Red Blood Cells”)

Eritrositler veya kırmızı kan hücreleri (RBC'ler), bikonkav şekilleri, çekirdek eksikliği ve dar kılcal damarlardan geçmelerine olanak tanıyan yüksek esneklikleriyle karakterize edilir. Vücutta oksijen taşınmasında ve karbondioksitin uzaklaştırılmasında önemli bir rol oynarlar (Gulley et al., 1982). Arsenik maruziyeti eritrositlerin normal bikonkav disk şeklinden saparak parçalanmasına, iğ şeklinde olmasına ve yırtılmasına sebep olabilir. Arsenik, eritrositlerin ozmotik kırılabilirliğini artırarak onları ozmotik stres altında hemolize (yırtılma) daha duyarlı hale getirebilir (Parvez et al., 2017). Arsenik maruziyeti eritrositlerde oksidatif stresi tetikleyerek hücre zarında ve diğer hücresel bileşenlerde hasara yol açabilir (Panghal et al., 2020). Arseniğin hematopoetik progenitör hücrelerin eritroid farklılaşmasını inhibe ederek hemoglobin seviyelerinde azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (Wan et al., 2021). Arı sütü uygulamasının kök hücre fonksiyonlarını da etkilediği, eritropoezde çok önemli bir rol oynayan periferik kandaki hematopoetik kök hücreleri potansiyel olarak etkilediği gösterilmiştir (Okamoto et al., 2023). Ayrıca, uzun süreli arı sütü alımı (6 aydan fazla) eritropoezdeki iyileşmelerle ilişkilendirilmiştir, bu da RBC üretimi ve ilgili parametreler üzerinde olumlu bir etkiye işaret etmektedir (Morita et al., 2012).

1.4.3. Hemoglobin (HGB)

Hemoglobin, kırmızı kan hücrelerinde bulunan, oksijen taşınmasından sorumlu olan ve kana kırmızı rengini veren çok önemli bir proteindir (Khadka, 2021). Kronik arsenikozda, HGB'nin yapısı ve işlevi değişerek zayıf oksijen bağlanmasına ve güçlü arsenik bağlanmasına yol açar, bu da arsenik toksisitesine katkıda bulunabilir (Mondal et al., 2012). Arı sütünün hemoglobin seviyeleri üzerindeki etkileri uygulanan doza bağlı olarak değişir. Araştırmalar, arı sütünün HGB seviyeleri üzerinde doza bağlı bir etkisi olduğunu ve farklı dozlar arasında önemli farklılıklar gözlemlendiğini göstermektedir. Spesifik olarak, bir çalışma farklı arı sütü dozlarının hemoglobin seviyeleri üzerinde farklı etkileri olabileceğini bulmuş ve bu hematolojik parametreyi etkilemede dozajın önemini vurgulamıştır (Okamoto et al., 2023).

1.4.4. Hematokrit (HCT)

Hematokrit kandaki kırmızı kan hücrelerinin oranının bir ölçüsüdür ve arsenik toksisitesi de dâhil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilenebilir. Araştırmalar, kronik arsenik maruziyetinin kanda oksijen taşımaktan sorumlu protein olan hemoglobinin yapısında ve işlevinde değişikliklere yol açabileceğini göstermiştir (Mondal et al., 2012). Bu durum kanın oksijen taşıma kapasitesinde değişikliklere yol açabilir ve bu da hematokrit seviyelerini etkileyebilir (Bayrakçeken et al., 2015). Arı sütünün hematokrit dâhil olmak üzere hematolojik parametreler üzerinde çeşitli etkileri olduğu bulunmuştur. Egzersiz yapan farelerde arı sütü takviyesinin HCT seviyelerinde düşüşe yol açtığını gözlemlenmiştir (Jie-jie, 2006).

1.4.5. Trombosit Sayısı (PLT, “Platelets”)

Trombosit sayısı, belirli bir kan hacminde bulunan ve kanın pıhtılaşması için gerekli olan küçük kan hücreleri olan trombositlerin sayısının bir ölçüsüdür. Trombosit Sayısı, hemostaz anormalliklerini teşhis etmek ve yönetmek için çok önemli bir parametredir (Wada et al., 2015). Arsenik toksisitesi bağlamında, arseniğe sub-kronik düşük seviyede maruz kalmanın trombosit sayısı da dâhil olmak üzere kan sistemi parametrelerini değiştirdiği gözlemlenmiştir (Guo et al., 2009). Egzersiz yapan farelerde PLT'de bir artış olduğunu ve bunun arı sütü takviyesiyle düşürüldüğü bildirilmiştir (Jie-jie, 2006).

Arı sütünün ağır metal toksisitesine karşı potansiyel bir terapötik ajan olarak kullanılma olasılığına ilişkin bilimsel araştırmalar bulunmaktadır. NaAsO₂ gibi toksik maddelere karşı arı sütünün koruyucu etkilerinin, oksidatif stresi ve enflamasyonu azaltabilmesiyle bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Bu sebeple, arı sütünün ağır metal maruziyeti sonucu oluşan karaciğer ve böbrek hasarlarının tedavisinde yararlı bir doğal ürün olabileceği öngörülmektedir.

1.5. Arı Sütünün Antioksidan ve İmmünomodülatör Etkisi

Arı sütü antioksidan, anti-enflamatuvar ve antitümör yararlı etkileri sebebiyle dünya çapında diyetlerde yaygın olarak tüketilmektedir (Manzo et al., 2015). Arı sütünün ihtiva

ettiği bileşenler arı polenin arılar tarafından sindirilmesinden sonra üretildiği ve tüm fenolik polen bileşiklerinin arı sütünün içinde de bulunduğu düşünüldüğünde, arı sütünün antioksidan etkinliğinin fenolik bileşikler, proteinler ve peptidler ile ilişkili olduğu söylenebilmektedir (Maqsoudlou et al., 2019). Yapılan çalışmalar arı sütünün su ve baz ekstraktlarının ve enzimatik hidrolizatlarının antioksidan özellikler sergilediğini bildirmiştir (Mannoor et al., 2009).

Hücredeki arı sütü, H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ ve $HO^{\cdot}$ gibi reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi olarak görev yapar ve protein ekspresyonunu etkilemesinin yanı sıra, arı sütünün antioksidan etkisinin sadece radikal süpürücü etki ile değil, aynı zamanda endojen lipidlerin peroksidasyonunu katalize eden enzimlerin inhibisyonuna ve ayrıca sitokrom P₄₅₀'nin gen ekspresyonunu inhibe etmeye dayalı başka bir dolaylı etki ile ilişkili olabileceği ortaya konulmuştur (Nakajima et al., 2009).

Arı sütünde bulunan 10-Hydroxy-trans-2-decenoic asit, interferon düzenleyici faktör (IRF)-8 indüksiyonunu ve (TNF)- α üretimini inhibe ederek interferon (IFN)- γ kaynaklı NO üretimini inhibe ettiği tespit edilmiştir (Takahashi et al., 2012).

Apis cerana MRJP 2 hücrenin oksidatif strese karşı doğrudan korunması yoluyla memelileri ve böcek hücrelerini koruduğu, bu da oksidatif stres kaynaklı hücre apoptozuna ve ardından artan hücre canlılığına yol açtığı görülmüştür (Park et al., 2019).

Çalışmalar, arı sütünün farelerde kadmiyum kaynaklı genotoksisite ve oksidatif stres üzerinde potansiyel koruyucu etkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Bu etkilerin, glutatyon yolunun desteklenmesi yoluyla antioksidan savunma mekanizmalarının iyileştirilmesi ve malondialdehit üretiminin azaltılmasıyla ilişkili olabileceği öne sürülmektedir. Arı sütü tüketiminin, kadmiyumun sebep olduğu hücresel hasarın azaltılmasında ve genel antioksidan durumun iyileştirilmesinde yardımcı olabileceği öngörülmektedir (Çavuşoğlu et al., 2009).

Arı sütü ve özellikle protein bileşenlerinin immünomodülatör aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Arı sütünün potansiyel immünomodülatör etkilerini *in vivo* araştırmak için, yerleşik kemirgen modelleri, koyun kırmızı kan hücreleri ile aşılardan önce ve sonra arı

sütü ile beslenen farelerde ve sıçanlarda test edildi. Sonuçlar, arı sütünün farelerde antikor üretimini ve immün uyumlu hücrelerin çoğalmasını uyararak veya sıçanlarda hümmoral immün fonksiyonu baskılayarak immünomodülatör özellikler sergilediğini göstermektedir (Šver et al., 1996).

10-HDA, uygulanan konsantrasyonlara bağılı olarak çeşitli immünomodülatör etkilere sahiptir. Yüksek 10-HDA konsantrasyonu insan monosit türevli dendritik hücrelerinin işlevini ve olgunlaşmasını durdurabilir ve daha düşük dozlar, T helper (Th)1 bağışıklık tepkisini destekler niteliktedir (Mihajlovic et al., 2013). Arı sütünde bulunan ana yağ asitlerinden biri olan 10-HDA, farelerde T-hücre fonksiyonları üzerindeki etkileri açısından kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Araştırmalar, 10-HDA'nın T yardımcı hücreleri T(H), lenfositlerinin sayısını artırdığını ve aynı zamanda konkanavalin A ile uyarılmış fare interlökin-2 (IL-2) salgılanmasını belirli konsantrasyonlarda (25, 50 ve 100 mg/L) doz bağımlı bir şekilde yükselttiğini göstermiştir. Bu bulgular, 10-HDA'nın T-hücre fonksiyonları üzerinde immünomodülatör bir etkiye sahip olduğunu açıkça ortaya koymaktadır ve potansiyel terapötik uygulamaları desteklemektedir (Wang et al., 1996).

Enflamasyon, vücudun enfeksiyon veya yaralanmaya karşı verdiği ilk tepkilerden biridir ve immünolojik sürecin başlangıcını oluşturur. Enflamasyon doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin normal bir sürecidir, ancak iyi düzenlenemezse doku hasarına yol açabilir ve bazı patolojik bozukluklardan kaynaklanır (Calder, 2006).

Arı sütü ile muamele edilen hücrelerin enflamasyona daha iyi yanıt verdiği gösterilmiştir. Bu koruyucu etki, proinflatuar olan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 sitokinlerinin transkripsiyonunun inhibisyonundan kaynaklanabileceği öngörülmektedir (Collazo et al., 2021).

1.6. Ağır metaller ve Arseniğin Meydana Getirdiği Harabiyet ve Toksikite Etkisi

Ağır metaller, toksisiteleri, atmosferde uzun ömürleri ve biyo-birikim yoluyla insan vücudunda birikme yetenekleri sebebiyle iyi bilinen çevresel kirleticilerdir. Ağır metallerin çoğu çevresel ve atmosferik kirliliğe sebep olur ve insanlar için öldürücü olabilir. Ağır metaller, su, toprak ve hava gibi farklı çevresel elementlerle karışarak güçlü

bir şekilde toksik hale gelebilir ve insanlar ve diğer canlı organizmalar, besin zinciri yoluyla bunlara maruz kalabilmektedir (Mitra et al., 2022).

Bu elementlerden bazıları (arsenik, kadmiyum, cıva ve kurşun), çok küçük miktarlarda bile olsa, insanlarda akut ve kronik toksisitelere sebep olan zararlı etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Witkowska et al., 2021). Bu metaller, serbest tiollere veya diğer fonksiyonel gruplara bağlanarak, amino asit yan zincirlerinin oksidasyonunu katalize ederek, protein katlanmasını bozarak ve/veya enzimlerdeki temel metal iyonlarını değiştirerek doğal proteinlerin işlevlerini bozar. Biyolojik olarak parçalanamazlar. Organizmalar bunları vücuttan atılmak üzere çözünmez bir formda biriktirebilir veya proteinlere bağlayarak detoksifiye olduğu gösterilmiştir (Witkowska et al., 2021).

Ağır metallerden birisi olan arsenik ile ilgili çalışmalarda vücutta emildiğinde karaciğer, böbrek, kalp ve akciğerlerde depolandığı, daha düşük arsenik miktarı da kaslarda ve nöronal dokularda gözlendiği not edilmiştir (Klaassen, 1990). Doğal ürünlerden gelecek vaat eden tedavi seçeneklerini değerlendirmek için çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır (Mitra et al., 2022). Ağır metallerden birisi olan kadmiyumun sebep olduğu doku hasarında arı sütünün oksidatif durum ve telomeraz enzim aktivitesi üzerindeki etkisini incelemek üzere yapılan çalışmada kan serumundaki toplam oksidan durumu ve toplam antioksidan durumu kolorimetrik yöntemle, yumurtalık dokusundaki telomeraz enzim aktivitesi ELISA yöntemiyle araştırılmıştır. Kadmiyum oksidatif kapasitede artışa sebep olurken ve arı sütü uygulamaları sonrası kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş belirlenmiştir. Sonuç olarak kadmiyum oksidatif strese sebep olarak ve arı sütü antioksidan kapasiteyi ve telomeraz enzim aktivitesini artırarak iyileştirici etkilere sahip olabildiği öngörülmüştür (Çakır, 2022).

Metal toksisitesi genellikle reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve müteakip oksidatif stresi içerir, ancak metallerin antioksidan sistemler üzerinde farklı etkilerinin olup olmadığı bilinmemektedir (Hansen et al., 2006). Hücresel ve moleküler seviyelerde yapılan araştırmalar, arseniğin hidrojen peroksit ve süperoksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini ve lipid peroksidasyonunu arttırdığını göstermiştir (Liu et al., 2001; Akanda et al., 2017). Arsenik hücrelerin antioksidan sisteminde bozukluklara sebep

olmaktadır (Shi et al., 2004). Canlı hücrelerde inorganik arsenik metabolizması sırasında ROS ve reaktif nitrojen türlerinin üretildiği gösterilmiştir (Valko et al., 2005).

In vivo ve *in vitro* deneysel sonuçlar, peroksil radikalleri ($\cdot\text{ROO}$), süperoksit anyon radikali, (O^{2-}), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumunun olası katılımını göstermektedir (Mishra et al., 2009). Arsenik zehirlenmesi sırasında artan oksidatif stres, antioksidan sistemin azalması ve karaciğer bozukluklarında çok önemli bir faktör olarak etki eder. Özellikle hepatik dejenerasyon, lipid durumunun değişmesi ve progresif fibrozis gibi çeşitli patolojik durumlara yol açabilmektedir (Ghatak et al., 2011).

NaAsO_2 , böbrek ve karaciğer dokularında malondialdehit seviyesini artırarak; glutatyon süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi antioksidan enzim aktivitelerini azaltarak oksidatif hasarı arttırdığı, serum AST ve ALT aktivitelerini, serum üre ve kreatinin düzeylerini yükselttiği ayrıca böbrek ve karaciğer dokularında kaspaz-3 ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) seviyeleri ve karaciğer p53 ve böbrek interlökin-6 (IL-6) ekspresyonlarını artırarak tümör nekroz faktörü- α , nükleer faktör kappa B, interlökin-1 β (IL-1 β), sistein aspartata özgü proteazı arttırarak enflamasyon, apoptoz ve oksidatif DNA hasarına sebep olduğu bildirilmektedir (Turk et al., 2019).

Arsenite maruz kalma sırasında üretilen ROS ve IL-6 gibi enflamasyon genlerinin ekspresyonunu arttırarak enflamasyonu tetikler (Lee et al., 2005). Yapılan bir çalışmada 1 ve 3 ay boyunca fareler NaAsO_2 'ye maruz bırakılmıştır (0, 25 ve 50 mg/L). Veriler, karaciğerde yapının tahribatını ve enflamatuvar infiltrasyonu göstermiştir. Arsenik, serum ALT ve AST aktivitesini önemli ölçüde artırmıştır. Karaciğer ve böbrekte inflamatuvar göstergelerin IL-1 β , IL-12 ve TNF- α ekspresyonunu arttırdığı ve sonuçta, arseniğin karaciğer ve böbrekte sürekli immün-inflamatuvar yanıtları indüklediğini göstermiştir (Duan et al., 2022).

Arsenik maruziyeti, oksidatif DNA hasarını ve kromozomal sapmayı arttırdığı ve hücrel sinyal yollarına müdahale ettiği için kanserojenliğe sebep olabilir (Singh et al., 2011). Arsenik bileşiklerinin toksisitesi, kısmen oksidatif stres yoluyla reaktif oksijen türleri üretme yeteneklerine ve DNA metilasyonunu indükleme yeteneklerine göre değişir

(Kitchin et al., 2008). Özetle arsenik oksidatif stresi artırır, proinflamatuvar sitokinleri ve inflamatuvar mediatörleri ifade düzeyini arttırarak enflamasyonu artırabilmektedir (Singh et al., 2011).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Cihan et al. (2012), yaptıkları çalışmada, gama ışınlarına maruz kalan erkek farelerde radyasyona bağlı beyin hasarına karşı arı sütünün olası koruyucu rolünü araştırmışlardır. Işınlama uygulanan grupta, kontrol grubuna kıyasla beyin dokusundaki MDA konsantrasyonlarında artış, katalaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerinde ise önemli düşüşler gözlemlenmiştir. Arı sütünün, MDA artışını engelleyerek beyin dokusunda SOD ve CAT enzimlerinin aktivitelerini artırdığı ve MDA seviyesini düşürdüğü tespit edilmiştir.

Pourmoradian et al. (2014) yaptıkları çalışmada, arı sütü takviyesinin tip 2 diyabetli kadınlarda açlık kan şekeri seviyelerini düşürdüğü, insülin konsantrasyonunu artırdığı bulunmuşlardır. Ayrıca, eritrosit SOD ve GSH-Px aktivitelerinde artış ve MDA konsantrasyonunda azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir.

Karadeniz et al. (2011) yaptıkları çalışmada arı sütünün potansiyelini araştırmış, oksidatif stres üzerindeki modülatör etkilerini incelenmiştir. Sisplatin uygulanan sıçanlarda arı sütünün karaciğer ve böbreklerdeki MDA, GSH, GSH-Px, ve SOD seviyelerinin sispilatinin verdiği hasarın aksine MDA seviyelerinde azalma GSH, GSH-Px, ve SOD düzeylerinde artışa sebep olduğu tespit edilmiştir.

Kanbur et al. (2009) yaptıkları çalışmada, arı sütünde bulunan 10-hidroksi-2-dekenoik asit, prolin, sistin, sistein ve serbest amino asitler gibi maddelerin antioksidan özelliklerinden kaynaklı farelerde yüksek doz sodyum florürün yan etkilerini azalttığı tespit edilmiştir.

Liu et al. (2008) yaptıkları bir çalışmada, arı sütünün DPPH, hidroksil ve süperoksit radikalleri üzerindeki radikal süpürücü antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Sonuçları, larvaların ana arıdan kovana transferinden sonraki yaşına ve hasat zamanına göre karşılaştırılmışlardır. DPPH radikal süpürücü etkisinin %43,0 ile %62,8 arasında

değiştii, süperoksit radikal oluşumunun %23,9 ile %37,4 arasında inhibe edildiği ve hidroksil radikal oluşumunun %48 ile %68 arasında engellendiği tespit edilmiştir.

Silici et al. (2011) yaptığı bir çalışmada, farelere DNA'yı oksidatif hasardan korumak amacıyla arı sütü verilmiş ve bu da böbrek DNA'sı ile serumdaki oksidatif stres belirteç seviyelerini azaltmıştır. Arı sütünün, hücre içi oksidasyonu doza bağlı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir.

Shidfar et al. (2015) yaptıkları insan çalışmasında, arı sütü verilen grupta, plasebo grubuna kıyasla insülin direncinde azalma ve toplam antioksidan kapasitede artış gözlenmiştir.

Ahmed et al. (2014) çalışmasında, azatioprinin sıçanlarda yol açtığı toksisiteye karşı arı sütünün koruyucu etkileri araştırılmıştır. Azatioprin uygulamasının, kırmızı kan hücre sayısında, hemoglobin, lökosit ve trombosit seviyelerinde anlamlı bir azalma ile karaciğer hasarına sebep olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, arı sütü uygulaması, azatioprin kaynaklı bu olumsuz etkileri hafifleterek, kırmızı kan hücre sayısı, hemoglobin, lökosit ve trombosit seviyelerinin korunmasını sağlamıştır. Ayrıca, arı sütü uygulaması, oksidatif stres göstergesi olan malondialdehit seviyelerini düşürerek karaciğer hasarını azalttığı da da tespit edilmiştir.

Silici et al. (2009) yaptıkları çalışmada arı sütünün sıçanlarda sisplatin kaynaklı spermiyotoksisiteye karşı koruyucu antioksidatif etkilerini araştırmışlardır. Arı sütünün, üreme organı ağırlıkları ve sperm özelliklerini iyileştirdiği, testislerdeki oksidatif stresi azalttığı ve histopatolojik değişiklikleri tersine çevirdiğini bulmuşlardır.

Çavuşoğlu et al. (2009) yaptıkları çalışmada, sıçanlarda kadminyum (Cd) ile indüklenen genotoksisite ve oksidatif stres üzerine arı sütünün etkileri incelenmiştir. Araştırmada, sıçanlara iki farklı dozda (100 ve 250 mg/kg) arı sütü oral yoldan verilmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Çalışma bulgularına göre, arı sütünün antioksidan özellikleri sayesinde, Cd kaynaklı genotoksisite ve oksidatif strese karşı koruyucu bir rol oynadığı tespit edilmiştir.

Hamza et al. (2022) araştırmasında, kadmiyum klorür ve molibden nanopartiküllerinin sıçanlarda yol açtığı toksik etkiler incelenmiştir. Çalışmanın sonuçları, her iki kimyasalın da ciddi hepatik toksisiteye sebep olduğunu ve reaktif oksijen türlerinin aşırı tetiklenmesi sonucu oksidatif hasar ile histolojik değişikliklere yol açtığını göstermiştir. Ayrıca, arı sütünün bu oksidatif hasara karşı koruyucu bir potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir.

El-Nekeety et al. (2007) yaptığı çalışmada, arı sütünün fumonisin kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada, fareler üzerinde yapılan deneyler sonucunda, arı sütünün fumonisin toksisitesine karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, bu koruyucu etkilerin arı sütü dozuna bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir.

Al-Eisa et al. (2017) çalışmasında, arı sütünün alüminyum klorür ($AlCl_3$) toksisitesine karşı koruyucu etkileri incelenmiştir. $AlCl_3$ 'nin FSH, LH, TSH, T_3 , T_4 ve testosteron seviyelerini düşürdüğü ve testiste oligospermi ile hipoplaziye sebep olduğu tespit edilmiştir. Arı sütünün bu olumsuz etkileri azalttığı tespit edilmiştir.

Gu et al. (2018) gerçekleştirdiği çalışmada, enzimle muamele edilmiş arı sütünün (ERJ) antioksidan etkisi incelenmiştir. Bu etkinin, nitrik oksit (NO) ve hücre içi reaktif oksidatif türlerdeki azalmayla birlikte, antioksidan, glutatyon ve süperoksit dismutaz seviyelerindeki artışla doğrulandığı gösterilmiştir. Ayrıca, ERJ'nin insan ve hayvan beslenmesinde bir antioksidan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Qiu et al. (2020) gerçekleştirdiği benzer bir çalışmada, ERJ-CP olarak adlandırılan bir peptid oluşturulmuştur. Bu peptid, enzimle işlenmiş arı sütü (ERJ) ile kollajen peptit (CP) karıştırılarak hazırlanmış ve *in vitro* ortamda daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmada, ERJ-CP'nin toplam süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz seviyelerini artırabildiği, buna karşılık MDA ve protein karbonil seviyelerini düşürebildiği tespit edilmiştir.

Karaca et al. (2012) yaptığı çalışmada, arı sütünün asetik asitle indüklenen kolitli sıçanların kolonundaki $CD3^+$, $CD5^+$, $CD45^+$ T-hücreleri ve $CD68^+$ hücre dağılımı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Arı sütünün asetik asitle indüklenen kolitli sıçanların

kolonunda anti-enflamatuvarve hücre yenileyici etkileri olduğunu ve antioksidan potansiyeli olduğunu göstermiştir.

Manzo et al. (2015) yaptıkları çalışmada, arı sütünün farelerde 2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) koliti gelişimindeki rolünü araştırmışlar ve deneysel kolitte anti-enflamatuvarve antioksidan özellikler göstererek makroskopik ve histolojik analizlerde iyileşme sağladığını tespit etmişlerdir.

Kwon et al. (2017) yapmış oldukları bağışıklık sistemi yetersiz fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, %1 arı sütü tüketiminin, sitokin salınımı ve T, B hücre yanıtlarının önemli ölçüde düzenlenmesi ile sonuçlandığını gözlemlemişlerdir.

Aslan et al., (2015) yaptıkları çalışmada, arı sütünün anti-enflamatuvarve etkileri, etilen glikol kullanımı ile sıçanlarda oluşturulan renal enflamasyon modelinde araştırılmıştır. Çalışmada, proinflatuar/anti-enflamatuvarsitokinler, TNF- α , IL-1 β ve IL-18 seviyeleri ölçülmüş ve etilen glikolün enflamasyona ve böbrek hasarına sebep olduğu gösterilmiştir. Arı sütünün enflamasyona bağlı böbrek hasarı üzerinde olumlu etkileri olduğu ve bu hasarın oksidatif stresle ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Ahmed et al. (2018) yaptıkları bir araştırmada, sıçanlarda kadmiyum (Cd) kaynaklı testis disfonksiyonuna karşı arı sütünün koruyucu potansiyelini araştırmayı amaçlamışlar ve çalışmada malondialdehit, nitrik oksit, TNF- α seviyesinde artışın olduğunu gözlemişlerdir. Kadmiyumun bu toksik etkisine karşı arı sütü uygulamasının ile büyük ölçüde azaltıldığı ve arı sütünün Cd kaynaklı testis toksisitesine karşı koruma sağladığı sonucuna varmışlardır.

Singhirunnusorn et al. (2018) ve Adeyi et al. (2021) yaptıkları çalışmada sodyum arsenitin sitokinler üzerinde çeşitli etkilere sahip olduğunu bulunmuşlardır. Sodyum arsenite maruz kalmanın TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflatuar sitokinlerin seviyelerini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Ashraf et al. (2023) yaptıkları bir çalışmada, arsenik ve özellikle sodyum arsenitin toksisitesi çeşitli biyolojik modellerde detaylı bir şekilde incelenmiş ve birçok olumsuz

etki belirlenmiştir. Sodyum arsenitin, mutajenik özelliklere sahip güçlü bir toksik ajan olduğu ve çevre kirleticileri arasında önemli bir yere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Munson et al. (1947) tarihli çalışması, arsenik ve sodyum arsenitin bitkiler üzerindeki toksik etkilerini inceleyen önemli bir literatür örneğidir. Araştırma, her iki maddenin de bitkiler için son derece toksik olduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle, üç değerlikli arsenik formunun bitkiler üzerinde zararlı etkilere yol açtığı tespit edilmiştir.

Das et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, *Corchorus olitorius* yapraklarının sulu ekstresinin (AECO) sodyum arsenit kaynaklı toksisiteye karşı koruyucu etkileri incelenmiştir. Sodyum arsenit, sıçanlarda antioksidan enzimleri inhibe etmiş ve oksidatif stres belirteçlerini artırmıştır. AECO uygulaması ise hepatik ve renal antioksidan seviyelerini iyileştirmiş ve arsenik kaynaklı DNA hasarını azalttığı tespit edilmiştir.

Kimura et al. (2010) gerçekleştirdiği böbrek hasarı çalışmasında, sodyum arsenitin TNF- α , IL-6 ve IL-1 β seviyeleri üzerindeki etkileri ayrıntılı olarak incelenmiştir. Çalışmada, sodyum arsenitin otofajik hücre ölümünü indüklediği, ancak otofajinin baskılanmasıyla bu hücre ölümünün azaldığı ve IL-6 seviyelerinin düştüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca, sodyum arsenit uygulamasının otofajik hücre ölümünü artırdığı, bu artışın IL-6 sinyal yolunun inhibisyonu ile ilişkilendirildiği tespit edilmiştir.

Wang et al. (2004) yaptığı çalışmada, arsenik toksisitesinin balık hücreleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada, Therapon jarbua'nın yüzgeç hücrelerine (JF) ve Tilapia'nın yumurtalık hücrelerine (TO-2) sodyum arsenit ile muamele edilmiştir. Sonuçlar, yüksek arsenit konsantrasyonlarının kısa süreli maruziyetinin ve düşük konsantrasyonların uzun süreli maruziyetinin hücre morfolojisini belirgin şekilde değiştirdiğini, hücre hayatta kalma oranlarını azalttığını göstermiştir. Ayrıca, TO-2 hücrelerinde oksidatif stresi, JF hücrelerinde ise hücre ölümünü tetiklediği tespit edilmiştir.

Pant et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada, erkek fareler 365 gün boyunca sodyum arsenit içeren içme suyu ile kronik olarak maruz bırakılmış ve testis ağırlığında azalma, testis enzim aktivitelerinde değişiklikler, sperm sayısında azalma ve anormal sperm artışı

gözlenmiştir. Ayrıca testis, epididim, seminal vezikül ve prostat bezlerinde arsenik birikimi tespit edilmiştir.

Pancar et al. (2019) yapılan çalışmada, sodyum arsenit maruziyetinin hematolojik parametreleri önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir. Sodyum arsenite maruz kalan *Clarias batrachus* 'da, hemoglobin konsantrasyonu, MCV ve MCH'de, bozulmuş hematopoez ve hemolitik anemiye gösteren kayda değer bir düşüş gösterdiği tespit edilmiştir.

Chakraborty et al. (2010) yaptıkları çalışma ile Ganj havzasındaki arsenikle kirlenmiş tatlı su ortamlarında yaşayan *Lamellidens marginalis* türü yumuşakçaların solungaç dokularında sodyum arsenitin etkilerini incelemişlerdir. Arsenik maruziyetinin solungaç dokularında hücre hasarı, doku yırtılması ve yoğun fibrozis oluşumu gibi yapısal bozulmalarına sebep olduğunu tespit edilmişlerdir.

Dehdashti Moghadam et al. (2021) yaptıkları çalışmada farelerde arsenik ile tetiklenen testis hasarına karşı kafeik asidin (CA) etkisi araştırmış ve CA ve arseniğin eşzamanlı uygulanmasının GSH-Px, FRAP, testosteron ve dihidrotestosteron miktarlarını artırdığı ve MDA düzeylerini azalttığı sonucuna varmışlardır.

Türk et al. (2019) yaptıkları çalışmada sodyum arsenit ile indüklenen böbrek ve karaciğer hasarına karşı hesperidinin (HSP) koruyucu etkilerini sıçanlarda incelemişlerdir. Sodyum arsenitin antioksidan enzim aktivitelerini ve glutatyon seviyesini azaltarak oksidatif hasarı artırdığı, MDA, AST, ALT, serum üre ve kreatinin seviyelerini yükselttiği belirlenmiştir. Ayrıca, TNF- α , IL-1 β seviyeleri ile IL-6 ekspresyonlarını artırdığı tespit edilmiştir.

Bu çalışma, sodyum arsenitin sebep olduğu karaciğer ve böbrek toksisitesine karşı arı sütü uygulamasının olası koruyucu etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır. Sodyum arsenit, çevresel ve endüstriyel kaynaklardan maruz kalınan bir ağır metal olup, karaciğer ve böbreklerde oksidatif stres ve doku hasarına sebep olan ciddi toksik etkileriyle bilinmektedir. Bu toksisite, serbest radikal oluşumu ve antioksidan sistemlerin baskılanması sonucu ortaya çıkmaktadır. Arı sütü ise zengin biyolojik ve kimyasal

bileşenleri sayesinde antioksidan, anti-inflamatuar ve immünmodülatör özellikler gösteren bir arı ürünüdür ve toksik maddelere karşı potansiyel bir koruyucu ajan olarak değerlendirilmektedir. Bu bağlamda, çalışma arı sütünün sodyum arsenitin yol açtığı oksidatif stres ve doku hasarına karşı koruyucu etkilerini detaylı şekilde incelemiştir.

Araştırma kapsamında, deney hayvanlarına sodyum arsenit uygulanarak toksisite indüklenmesi yapılmış ve ardından farklı dozlarda arı sütü verilmiştir. Karaciğer ve böbrek dokularında biyokimyasal parametreler, antioksidan enzim aktiviteleri ve histopatolojik değişiklikler analiz edilmiştir. Özellikle, lipid peroksidasyonu seviyeleri, SOD, KAT ve GSH-Px aktiviteleri ölçülmüş, inflamatuvar belirteçler (TNF- α , IL-1 β , IL-6) değerlendirilmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılacak ratlar için Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığından 09.12.2021 tarih ve 07/01 karar sayısı ile kullanım izni alındı. Çalışmada ağırlıkları 250-300 gr, yaşları 12-13 haftalık olan 35 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar onikişer saatlik karanlık aydınlık siklusü (07:00-19:00 aydınlık; 19:00-07:00 karanlık) sağlanarak kontrollü bir odada, 24-25 °C sabit sıcaklıkta ve kafeslerde tutuldu. Sınırsız miktarda su ve standart yeme ulaşmaları sağlandı. Ratlar bu şekilde kafeslerinde bir hafta boyunca dinlendirilerek ortama uyumları sağlandıktan sonra uygulamaya başlandı. Tüm hayvan deneyleri Bingöl Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinde yapıldı. Ratlara verilen pelet yemin içeriği ve besin kompozisyonu Tablo 3.1’de özetlenmiştir.

3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

➤ Analitik Hassas Terazı	: Mettler Toledo AL204
➤ Çalkalayıcı	: Shaker (Thermo)
➤ Filtre Kâğıdı	: Biorad 1703932
➤ Makropipetler	: Brand
➤ Mikropipetler	: Brand
➤ pH metre	: Thermo Orion Star A111
➤ Soğutmalı Santrifüj	: Nüve NF 800R
➤ UV-visible Spektrofotometre	: BIO-TEK EPOCH
➤ -80 derin dondurucu	: Nüve NB-9
➤ Çalkalamalı Su Banyosu	: GFL 1083
➤ Homojenizatör	: TissueLyser II, Qiagen
➤ Saf Su Cihazı	: Mes Mp
➤ Vorteks	: IKA MS-2

3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Elisa Kitleri

- CuCl_2 (Bakır(II) klorür dihidrat) : Sigma Chemical Co. St. Louis, MO. ABD
- Nitroblue tetrazolium (NBT) : Serva, Heidelberg, Almanya
- Ksantin : Sigma Chemical Co. St. Louis, MO. ABD
- Folin Ciocalteu Phenol : Sigma Chemical Co. St. Louis, MO. ABD
- Ksantin Oksidaz : Sigma Chemical Co. St. Louis, MO. ABD
- HClO_4 (Perklorik asit) : Sigma Chemical Co. St. Louis, MO. ABD
- $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$ (Trikloroasetik Asit) TCA: Sigma Chemical Co. St. Louis, MO. ABD
- $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_2$ (Cumene hydroperoxide) : Sigma Chemical Co. St. Louis, MO. ABD
- Tumor nec. factor-alpha (TNF- α) kiti: SunRed, Şanghay, Çin
- Interleukin-1Beta (IL-1 β) kiti : SunRed, Şanghay, Çin
- Interleukin-6 (IL-6) kiti : SunRed, Şanghay, Çin

Tablo 3.1. Ratlara verilen pelet yemin içeriği ve besin kompozisyonu

BESİN	%
Sarı Mısır	30,22
Arpa	10,07
Soya Küspesi	38,28
Ayçiçeği Küspesi	6,04
Buğday Kepeği	10,08
Melas	3,02
Kireçtaşı	1,51
Tuz	0,08
DL-Metionin	0,30
Dikalsiyum Fosfat	0,20
Vitamin Ve Mineral Düzeyi	0,20
KİMYASAL BİLEŞEN (KURU MADDE)	%
Ham Protein	24,00
Metabolik Enerji Kcal/Kg ²	3100
Eter Ekstraktı	3,40
Ham Selüloz	6,90
Kül	8,10
Kalsiyum	1,30
Fosfor	0,90



Şekil 3. 1. Çalışmada kullanılan Wistar albino cinsi erkek ratlar

3.4. Yöntem

Çalışmada kullanılacak ratlar her grupta 7 rat rastgele olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

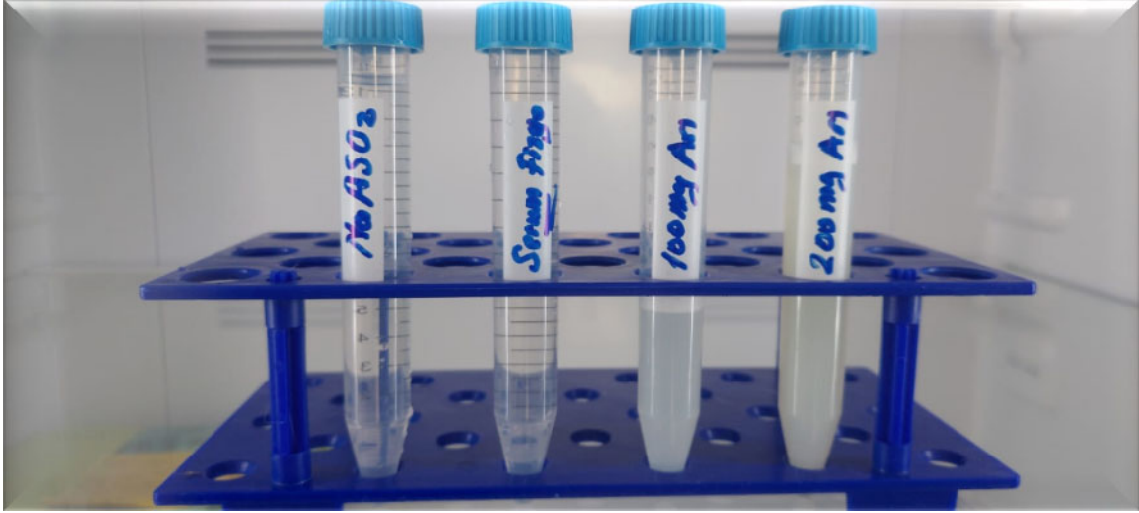
a) Kontrol grubu (KN): Ratlara sadece oral yoldan 14 gün boyunca serum fizyolojik çözeltisi verildi.

b) Arı sütü grubu (AS): 14 gün boyunca 200 mg/ kg dozda arı sütü distile suda çözülerek oral yoldan verildi.

c) NaAsO₂ grubu (SA): 14 gün boyunca NaAsO₂ 100 mg/kg dozunda suda çözündürülerek oral yoldan verildi.

d) NaAsO₂ + arı sütü 100 mg/kg grubu (SA+AS1): 14 gün boyunca NaAsO₂ 100 mg/kg dozunda çözündürülerek oral yolla verildi. Arı sütü NaAsO₂ uygulamasından 30 dakika önce 100 mg/kg dozunda distile suda çözündürülerek oral olarak verildi.

e) NaAsO₂ + arı sütü 200 mg/kg grubu (SA+AS2): 14 gün boyunca NaAsO₂ 100 mg/kg dozunda suda çözündürülerek oral yolla verildi. Arı sütü NaAsO₂ uygulamasından 30 dakika önce 200 mg/kg dozunda distile suda çözündürülerek oral olarak verildi (Dopp et al., 2004, Flora et al., 2008, Aslan et al., 2023, Uthaibutra et al., 2023).



Şekil 3. 2. Uygulama için günlük olarak hazırlanan çözeltiler



Şekil 3.3. Deney Gruplarına Ait Bir Görsel

3.5. Numunelerin Alınması

Çalışma sonunda, deney hayvanları sevofloran anestezisi altında dekapite edilerek biyokimyasal analizler için antikoagülsüz tüplere kan örnekleri alındı. Bu kan örnekleri, 3000 devirde, +4°C'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve ependorf tüplerine konularak analiz zamanına kadar -80°C'de derin dondurucuda saklandı. Hematolojik parametrelerin değerlendirilmesi için ise EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri kısa süre içinde laboratuvara iletilerek hemogram cihazında analiz edildi.

Ayrıca, hayvanlardan alınan karaciğer ve böbrek dokuları da biyokimyasal analizler yapılana kadar -80°C 'de derin dondurucuda muhafaza edildi. (Flora et al., 2008, Bagameri et al., 2023)

3.6. Biyokimyasal Parametreler

Kan serumu örneklerinde serum aspartat aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzim aktiviteleri ile serumda üre ve kreatinin seviyeleri hizmet alımı ile yapıldı. EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinde ise Lökosit (WBC), Eritrosit (RBC), Hemoglobin (HGB), Hematokrit (HCT), Trombosit Sayısı (PLT) değerlerine BeneSphera™ Brand Marka Hematoloji analizöründe ölçüldü. Doku örneklerinde; glutatyon, lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim (süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz), TNF- α , IL-1 β , IL-6 düzeylerine bakıldı (Flora et al., 2008, Aslan et al., 2023, Bagameri et al., 2023).

3.6.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması

Karaciğer ve böbrek dokuları belirli miktarlarda tartılarak homojenizatörde parçalandı. Elde edilen homojenata, 1/10 (g/v) oranında PBS (pH 7.4) tampon çözeltisi eklenerek karışım santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatantlar, analiz yapılana kadar -80°C 'de saklandı. Bu süpernatantlar, oksidatif stres belirteçlerinden MDA ve antioksidan savunma sistemi parametrelerinden non-enzimatik antioksidan olan GSH ile enzimatik antioksidanlar olan GSH-Px, SOD ve KAT aktivitelerinin yanı sıra TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerinin belirlenmesinde kullanıldı (Bagameri et al., 2023, Uthaibutra et al., 2023).

3.6.2. MDA, GSH, GSH-Px, SOD, KAT ve Toplam Protein Tayini

3.6.2.1. MDA Tayini

Lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehid Matkovics (1988) tarafından modifiye edilen Placer et al. (1966)'in yöntemine göre spektrofotometre ile ölçüldü.

Deneyde Kullanılan Reaktifler:

1. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Çözeltisinin Hazırlanması: 0,67 gram tiyobarbitürik asit, %10'luk 80 mL perklorik asit içerisinde bir manyetik karıştırıcı yardımıyla tamamen çözülene kadar karıştırıldı. Elde edilen çözeltinin toplam hacmi 100 mL'ye distile su eklenerek tamamlandı.
2. Trikloroasetik Asit (TCA) Çözeltisinin Hazırlanması: %10'luk bir TCA çözeltisi elde etmek için 1 gram trikloroasetik asit, toplam hacmi 10 mL olacak şekilde distile su içinde çözüldü. Hazırlanan çözeltinin ışığa karşı hassasiyeti sebebiyle koyu renkli cam şişelerde saklanarak +4 °C'de muhafaza edildi.
3. Renk Reaktifi Hazırlanması: Renk reaktifi, üç birim TCA çözeltisi ile bir birim TBA çözeltisinin karıştırılmasıyla hazırlandı. Bu karışım, analizde kullanılmadan hemen önce taze olarak hazırlandı.

Prensip:

- Örnek Hazırlığı: Doku süpernatantından 0,25 mL alındı ve 2,25 mL renk reaktifi ile karıştırıldı. Bu karışım, bir vorteks karıştırıcıda 5 dakika boyunca homojen hale getirildi.
- Isıl İşlem: Karışım, 100°C'de 20 dakika boyunca kaynatıldı ve ardından oda sıcaklığına kadar soğutuldu.
- Santrifüj: Soğutulan karışım, 2500 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrası, pembe renkli süpernatant fazı dikkatlice ayrıldı.
- Spektrofotometrik Ölçüm: Elde edilen süpernatantın üst fazından 1 mL alındı ve spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda, bir referans çözeltisi (0,25 mL %0,9 NaCl ve 2,25 mL renk reaktifi karışımı) kullanılarak absorbans ölçümleri yapıldı.

3.6.2.2. GSH Tayini

GSH değerleri Sedlak et al. (1968) tarafından tarif edildiği gibi belirlendi.

Deneyde Kullanılan Reaktifler:

1. %10'luk Trikloroasetik Asit (TCA) Çözeltisinin Hazırlanması: 1 gram trikloroasetik asit (TCA), toplam hacmi 10 mL olacak şekilde distile suda çözüldü. Böylece %10'luk bir TCA çözeltisi elde edildi.
2. Tris Tampon Çözeltisinin (pH 8,9) Hazırlanması: 48,46 gram Tris baz, mekanik bir karıştırıcı kullanılarak distile su içerisinde tamamen çözündürüldü. Elde edilen çözelti,

toplam hacim 1000 mL olacak şekilde distile su ile tamamlandı ve pH değeri 8,9'a ayarlandı.

3. 5,5'-Ditiyobis(2-nitrobenzoik) Asit (DTNB) Çözeltisinin Hazırlanması: 0,099 gram 5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik) asit (DTNB), 25 mL metanol içerisinde bir manyetik karıştırıcı yardımıyla çözdürülerek hazırlandı.

Prensip:

- Doku Homojenatının Hazırlanması: Deney tüpüne 0,5 mL doku homojenatı alındı.
- TCA Eklenmesi ve Karıştırma: Deney tüpüne 2 mL %10'luk trikloroasetik asit (TCA) eklendi ve karışım 20 saniye boyunca vortekste karıştırıldı.
- Santrifüj İşlemi: Karışım, 2500 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatanttan 0,5 mL alındı.
- Tris Tamponu ve DTNB Eklenmesi: Süpernatanta 2 mL Tris tamponu (pH 8,9) ve ardından 0,1 mL DTNB çözeltisi eklendi.
- Karıştırma ve Inkübasyon: Tüpler, 20 saniye boyunca vorteks karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 5 dakika bekletildi.
- Spektrofotometrik Ölçüm: Bekleme süresinin ardından, örnekler 412 nm dalga boyunda UV spektrofotometre kullanılarak distile suya karşı okundu.

3.6.2.3. GSH-Px Tayini

Hazırlanan homojenatta GSH-Px düzeyinin belirlenmesi Matkovics (1988) yöntemine göre ölçüldü.

Deneyde Kullanılan Reaktifler:

1. Tris-HCl Tamponu I (50 mM, pH 7,6) Hazırlanması: 6,057 gram tris hidroksimetil aminometan ve 0,372 gram Na₂EDTA tartıldı. 3,90 mL HCl eklendi ve çözelti, balon joje içerisinde toplam hacim 1000 mL olacak şekilde distile su ile tamamlandı.
2. Tris Tamponu II (0,4 M, pH 8,9) Hazırlanması: 48,46 gram tris hidroksimetil aminometan tartıldı ve balon joje içinde distile su ile toplam hacim 1000 mL'ye tamamlandı. Çözeltinin pH değeri 8,9'a ayarlandı.
3. Trikloroasetik Asit (TCA) Çözeltisinin (%10) Hazırlanması: 10 gram trikloroasetik asit (TCA) tartıldı ve toplam hacim 100 mL olacak şekilde distile su ile tamamlandı.
4. Redükte Glutatyon (GSH) Çözeltisinin Hazırlanması: 6 mg redükte glutatyon (GSH) tartıldı ve Tampon A kullanılarak toplam hacim 10 mL'ye tamamlandı.

5. Kumen Hidrojen Peroksit (CHPO) Çözeltisinin Hazırlanması: 5 µL kumen hidrojen peroksit (CHPO) alındı ve Tampon A kullanılarak toplam hacim 10 mL'ye tamamlandı.

Çözeltinin ışığa duyarlılığı sebebiyle, renkli şişelerde +4 °C'de saklandı.

6. 5,5'-Ditiyobis(2-nitrobenzoik) Asit (DTNB) Çözeltisinin Hazırlanması: 0,099 gram DTNB tartıldı ve toplam hacim 25 mL olacak şekilde absolut metanol ile tamamlandı.

Çözeltinin ışığa duyarlılığı sebebiyle, renkli şişelerde +4 °C'de saklandı.

Prensip:

➤ Karışımların Hazırlanması: Analiz için, kontrol ve örnek grupları olmak üzere iki ayrı karışım hazırlandı. Kontrol karışımı 0,5 mL süpernatant, 0,3 mL Tris tamponu ve 0,1 mL redükte glutatyon (Red GSH) içerirken; örnek karışımı 0,5 mL süpernatant, 0,3 mL Tris tamponu, 0,1 mL kumen hidrojen peroksit (CHPO) ve 0,1 mL Red GSH içerdi. Red GSH her iki tüpe de 5'er saniye aralıklarla eklendi.

➤ İnkübasyon: Karışımlar vortekslenerek iyice karıştırıldı ve ardından 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.

➤ Reaksiyonun Durdurulması: İnkübasyonun ardından karışımlara 5'er saniye aralıklarla 1 mL trikloroasetik asit (TCA) eklenerek reaksiyon durduruldu ve karışımlar 5 dakika bekletildi.

➤ Santrifüj: Karışımlar 2500 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi.

➤ Süpernatantın Toplanması: Santrifüj sonrası, süpernatantlardan 1 mL alınarak ayrı tüplere transfer edildi.

➤ DTNB ve Tampon II Eklenmesi: Süpernatantlara (kontrol ve örnek ayrı ayrı olacak şekilde) 2 mL Tris Tamponu II ve 0,1 mL DTNB eklendi.

➤ Bekleme ve Spektrofotometrik Ölçüm: Karışımlar oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra, örnek ve kontrol numuneleri 412 nm dalga boyunda distile suya karşı spektrofotometrik olarak ölçüldü.

➤ Enzim Aktivitesinin Hesaplanması: Elde edilen spektrofotometrik değerler kullanılarak enzim aktivitesi, Uluslararası Birimler (IU) cinsinden hesaplandı ve mg protein başına birim olarak ifade edildi.

3.6.2.4. KAT Tayini

Katalaz enzimi, Aebi (1983) tarafından tanımlandığı gibi belirlendi.

Deneyde Kullanılan Reaktifler:

1. 50 mM Fosfat Tamponunun Hazırlanması (pH 7,0): 8,9 gram Na_2HPO_4 , distile su içerisinde mekanik bir karıştırıcı kullanılarak çözündürüldü. Daha sonra, 6,81 gram KH_2PO_4 eklendi ve karışımın hacmi 1000 mL'ye distile su ile tamamlandı. Çözeltinin pH değeri, KH_2PO_4 eklenerek 7,0'a ayarlandı.

2. 30 mM Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Çözeltisinin Hazırlanması: 0,34 mL %30'luk H_2O_2 alındı ve hacim fosfat tamponu kullanılarak 100 mL'ye tamamlandı.

Prensip:

- Karışımın Hazırlanması: Doku süpernatantından 2 mL alındı ve üzerine 1 mL %30'luk hidrojen peroksit (H_2O_2) eklendi. Tüpler iyice karıştırıldı.
- Örneklerin Aktarılması: Karışımından 1 mL alınıp spektrofotometrik küvetlere aktarıldı.
- Spektrofotometrik Ölçüm: Küvetler, bir fosfat tamponu (1 mL fosfat tamponu ve 2 mL süpernatant) kullanılarak köre karşı 240 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü. Kinetik ölçüm ile 0. (Abs1) ve 30. (Abs2) saniyelerdeki absorbans değerleri kaydedildi.
- Katalaz Aktivitesinin İzlenmesi: H_2O_2 'nin parçalanma hızı, absorbansın azalmasıyla doğrudan ilişkilidir ve bu değişim katalaz aktivitesini yansıtır. Absorbans değişimlerinin belirlenmesi için 0, 30 ve 60 saniyelerdeki absorbans değerleri kaydedildi.
- Katalaz Aktivitesinin Hesaplanması: Zaman içindeki absorbans değişimlerine (ölçülen ardışık iki absorbans farkı) dayanarak katalaz aktivitesi hesaplandı. Elde edilen absorbans değerlerinin azalması, H_2O_2 'nin katalaz tarafından parçalanma hızını göstermektedir.

3.6.2.5. SOD Tayini

SOD aktivitesi düzeyi Sun et al. (1988) metoduna göre yapıldı.

Deneyde Kullanılan Reaktifler:

Ölçüm Reaktifleri

1. 0,6 mmol/L Na_2EDTA Hazırlanması: 23 mg Na_2EDTA , 100 mL distile su içinde mekanik bir karıştırıcı kullanılarak çözündürüldü.
2. 400 mmol/L Na_2CO_3 Hazırlanması: 2,54 g Na_2CO_3 , 60 mL distile su içinde mekanik bir karıştırıcı kullanılarak çözündürüldü.
3. 1 g/L Bovine Serum Albumin (BSA) Hazırlanması: 30 mg BSA, 30 mL distile su içinde mekanik bir karıştırıcı kullanılarak çözündürüldü.

4. 150 µmol/L Nitroblue tetrazolyum (NBT) Hazırlanması: 12,3 mg NBT, 100 mL distile su içinde mekanik bir karıştırıcı kullanılarak çözündürüldü.

5. 0,3 mmol/L Ksantin Hazırlanması: 9,13 mg ksantin, 200 mL distile su içinde mekanik bir karıştırıcı kullanılarak çözündürüldü.

Diğer Reaktifler:

1. Ksantin oksidaz (167 U/L) Hazırlanması: Mililitresinde 0,167 U olacak şekilde (NH₄)₂SO₄ içinde çözündürüldü.

2. 2M (NH₄)₂SO₄ Hazırlanması: 2,64 g amonyum sülfat, distile su ile 10 mL'ye tamamlandı.

3. 0,8 mmol/L CuCl₂ Hazırlanması: 13,6 mg CuCl₂, distile suda çözülerek toplam hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Prensip:

➤ Karışımın Hazırlanması: Ölçüm reaktiflerinin hepsi bir tüpe alınıp iyice karıştırıldı ve karanlık bir cam şişede +4°C'de saklandı. 0,1 mL doku süpernatantı alındı, üzerine 2,85 mL ölçüm reaktifi karışımı ve 0,05 mL ksantin oksidaz eklenerek örnek hazırlandı. Kontrol için 2,85 mL ölçüm reaktifi karışımı, 0,1 mL distile su ve 0,05 mL ksantin oksidaz ile karıştırıldı.

➤ İnkübasyon ve Reaksiyonun Durdurulması: Hazırlanan örnek ve kontrol tüpleri, 25°C'de 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüplere 1 mL CuCl₂ çözeltisi eklenerek reaksiyon durduruldu.

➤ Spektrofotometrik Ölçüm: Önce kontrol, sonra örnekler 560 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu. Elde edilen absorbans değerleri, spesifik SOD aktivitesi hesaplamaları için kullanıldı.

➤ SOD Aktivitesinin Hesaplanması: Aktivite, elde edilen absorbans değerlerinin farkına dayanarak hesaplandı. Spesifik SOD aktivitesi birim/mg doku olarak ifade edildi.

3.6.2.6. Protein Tayini

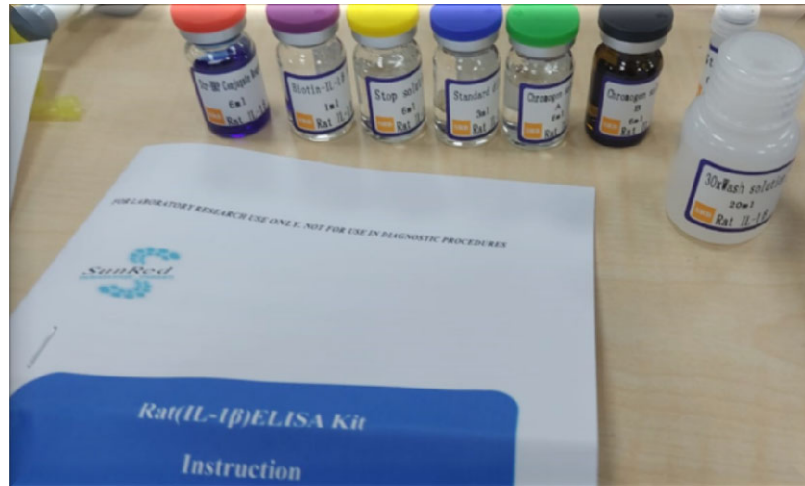
Karaciğer ve böbrek dokularında protein konsantrasyonu Lowry et al. (1951) metoduna göre belirlendi. Lowry metodu, proteinlerin konsantrasyonlarını belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir spektrofotometrik analiz tekniğidir. Bu yöntem, protein moleküllerindeki tirozin ve triptofan amino asitlerinin bakır (Cu²⁺) iyonları ile reaksiyona girerek kompleks oluşturması prensibine dayanmaktadır. Bu kompleks, Folin-Ciocalteu

reaktifi ile etkileşime girerek mavi renkli bir çözeltinin oluşmasına sebep olur. Oluşan rengin yoğunluğu, spektrofotometre ile 750 nm dalga boyunda ölçülerek, örnekteki protein miktarı tayin edilir. Bu yöntem, yüksek hassasiyeti ve doğruluğu ile protein analizlerinde tercih edilmektedir.

3.6.3. TNF- α , IL-1 β ve IL6 Seviyelerinin ELISA ile Kolorimetrik Ölçümü

İnterlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL6) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) , makrofajlar tarafından üretilen temel proinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılan üç immün modülatördür (Stevens et al., 1992).

Çalışmada çift antikor sandviç ELISA kitleri kullanıldı.



Şekil 3.4. Çift antikor sandviç ELISA kiti

Bu doktora tezinde, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyeleri, kolorimetrik Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi kullanılarak ölçüldü. Bu sitokinler, enflamasyon ve immün yanıtların kritik mediyatörleri olarak tanımlanmıştır. ELISA, bu sitokinlerin kantitatif değerlendirmesini sağlayan yüksek hassasiyet ve spesifikliğe sahip bir metodolojidir. Aşağıda, çalışmada uygulanan ELISA metodunun adımları ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Yöntem:

1. Kullanılan Reaktifler ve Ekipman:

➤ TNF- α , IL-1 β ve IL-6 tespiti için ticari ELISA kitleri (SunRed) kullanılmıştır. Her kit, antijene özgü ön kaplanmış mikrotitre plakalar, spesifik antikorlar, enzim konjüge ikincil antikorlar ve substrat çözeltisi içermektedir.

2. Numune Hazırlığı ve İnkübasyon:

➤ Doku süpernatantları ilgili kuyucuklara eklendi ve antijen-antikor komplekslerinin oluşması için 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.

➤ İnkübasyon süresinin sonunda, plakalar fazla materyalleri temizlemek amacıyla dikkatlice yıkandı.

3. İkincil Antikor İnkübasyonu:

➤ Her bir sitokin için spesifik enzimle konjüge ikincil antikorlar kuyucuklara eklendi. Plakalar, antikorların antijenlere bağlanması için 37°C’de 10 dakika süreyle yeniden inkübe edildi.

➤ İnkübasyon sonrasında plakalar tekrar yıkandı.

4. Substrat Reaksiyonu:

➤ Substrat çözeltisi kuyucuklara eklendi ve enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan renkli ürün sitokin seviyesine orantılı olarak meydana geldi.

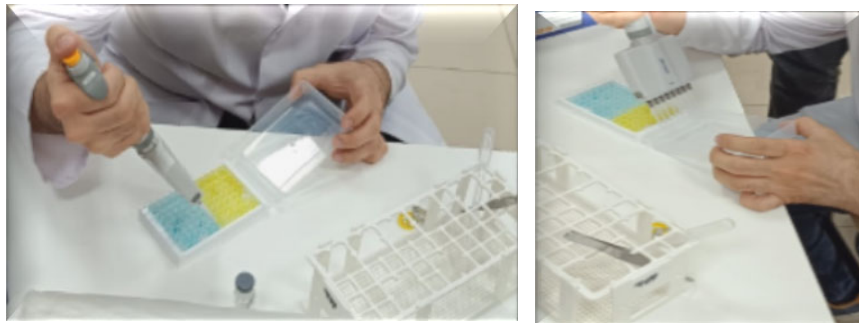
➤ Belirli bir süre sonra, reaksiyonu durdurmak için durdurma çözeltisi eklendi.

5. Absorbans Ölçümü:

➤ Plakaların absorbans değerleri, 450 nm dalga boyunda bir mikropalak okuyucu kullanılarak ölçüldü.

6. Veri Analizi:

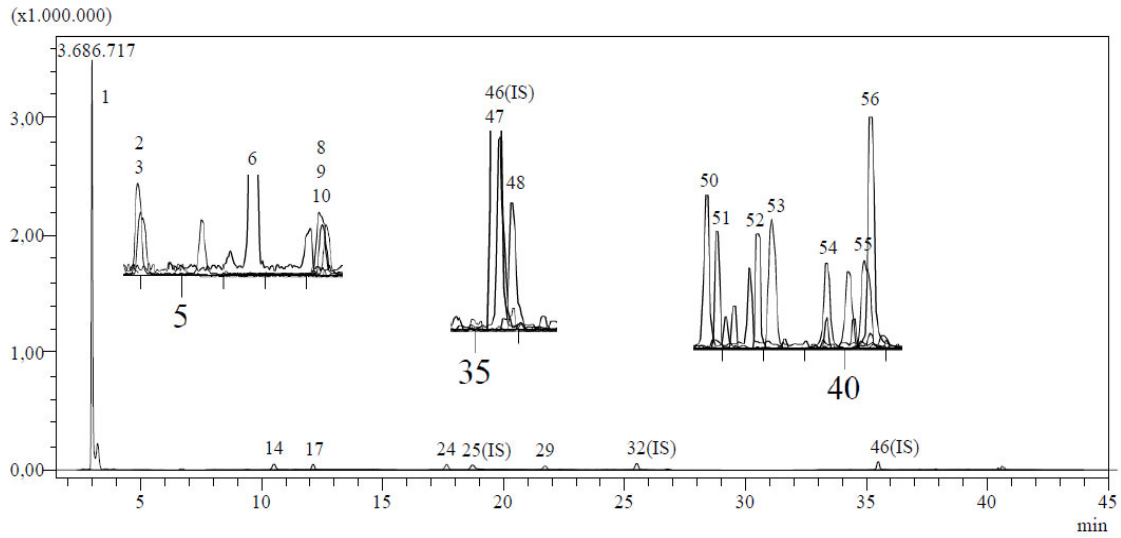
➤ Ölçülen optik yoğunluk değerleri, kitlerle sağlanan standart eğriler kullanılarak sitokin konsantrasyonlarına dönüştürüldü.



Şekil 3.5. Reaksiyon sonlandırma solüsyonunun eklenme işlemi

3.6.4. Arı Sütündeki Fitokimyasalların LC-MS/MS Yöntemi ile Miktar Tayini

Uygulamada kullanılan arı sütü Bingöl merkeze bağlı Gökdere Köyü'nde ikamet eden arıcıdan temin edildi. Arı sütü örneklerinin bileşen analizleri, Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde LC-MS/MS yöntemi ile hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.6. Uygulamada kullanılan arı sütünün LC-MS/MS kromatogramı

Tablo 3.2. Uygulamada kullanılan arı sütünün LC-MS/MS Sonuçları

No	Analitler	Arı Sütü (mg analit/g ekstre)	No	Analitler	Arı Sütü (mg analit/g ekstre)	No	Analitler	Arı Sütü (mg analit/g ekstre)
1	Quinic asit	166,073	20	Syringic aldehyde	-	39	Ellagic asit	-
2	Fumaric asit	0,411	21	Daidzin	-	40	Cosmosiin	-
3	Aconitic asit	0,075	22	Epicatechin gallate	-	41	Quercitrin	-
4	Gallic asit	-	23	Piceid	-	42	Astragalin	-
5	Epigallocatechin	-	24	p-Coumaric asit	3,139	43	Nicotiflorin	-
6	Protocatechuic asit	0,372	25	Ferulic asit-D3-IS	U	44	Fisetin	-
7	Catechin	-	26	Ferulic asit	-	45	Daidzein	-
8	Gentisic asit	0,366	27	Sinapic asit	-	46	Quercetin-D3-IS	U
9	Chlorogenic asit	0,011	28	Coumarin	-	47	Quercetin	0,011
10	Protocatechuic aldehyde	0,014	29	Salicylic asit	0,067	48	Naringenin	0,184
11	Tannic asit	-	30	Cyanoside	-	49	Hesperetin	-
12	Epigallocatechin gallate	-	31	Miquelianin	-	50	Luteolin	0,007
13	Cynarin	-	32	Rutin-D3-IS	U	51	Genistein	0,031

Tablo 3.2. (Devamı) Uygulamada kullanılan arı sütünün LC-MS/MS Sonuçları

No	Analitler	Arı Sütü (mg analit/g ekstre)	No	Analitler	Arı Sütü (mg analit/g ekstre)	No	Analitler	Arı Sütü (mg analit/g ekstre)
14	4-OH Benzoic asit	5,155	33	Rutin	-	52	Kaempferol	0,053
15	Epicatechin	-	34	Isoquercitrin	-	53	Apigenin	0,015
16	Vanilic asit	-	35	Hesperidin	-	54	Amentoflavone	0,003
17	Caffeic asit	0,402	36	o-Coumaric asit	-	55	Chrysin	0,048
18	Syringic asit	-	37	Genistin	-	56	Acacetin	0,226
19	Vanillin	-	38	Rosmarinic asit	-			

-. Tespit Edilmedi, U: Uygulanmadı, IS: İnternal Standart

3.6.5. İstatistiksel Analiz

Deney grupları arasındaki farklılıklar IBM SPSS İstatistik yazılımı (Versiyon 27) (ABD) kullanılarak belirlendi. Verilerin istatistiksel değerlendirmesi One-Way ANOVA ve post hoc olarak Bonferroni testi kullanılarak yapıldı. Değerler $p < 0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (Samuels, 2015, Seltman, 2015).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu araştırmada, arı sütünün sodyum arsenit ile oluşan karaciğer ve böbrek hasarı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular, arı sütünün bu tür toksisiteler üzerinde olumlu etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir. Arı sütü, karaciğer enzimlerinin ve böbrek fonksiyonlarının göstergelerinin iyileşmesine katkıda bulunmuş, ayrıca hematolojik parametrelerde ve oksidatif stres seviyelerinde düzelme sağlamıştır. Bu sonuçlar, arı sütünün toksisiteye karşı koruyucu etkileri olabileceğini işaret etmektedir.

4.1. Biyokimyasal Profil Analizi: Karaciğer Dokusundaki Bulgular

Yapılan çalışmada işçi arılar tarafından üretilen fonksiyonel bir arı ürünü olarak bilinen arı sütünün (100 ve 200 mg/kg) dozlarının sodyum arsenit ile oluşturulan ratlarda deneysel karaciğer toksisitesi üzerine etkileri araştırıldı. Kan serumunda ve karaciğer dokusunda bazı biyokimyasal bulgular ortalama değerleri ve standart hata değerleri Tablo 4. 1’de özetlenmiştir.

Tablo 4.1. Kan serumunda ve karaciğer dokusunda bazı biyokimyasal bulgular ortalama değerleri ve standart sapmaları

	KN	AS	SA	SA+AS1	SA+AS2
ALT (U/L)	65,86 ± 1,95 ^a	66,00 ± 1,29 ^a	122,14 ± 1,35 ^c	89,00 ± 1,29 ^b	84,14 ± 1,07 ^b
AST (U/L)	138,71 ± 1,11 ^a	126,86 ± 1,35 ^a	289,00 ± 2,16 ^d	242,00 ± 2,16 ^c	173,71 ± 2,21 ^b
ALP (U/L)	13,00 ± 1,00 ^a	11,14 ± 1,07 ^a	28,57 ± 0,98 ^c	23,57 ± 1,62 ^b	21,14 ± 1,07 ^b
Karaciğer MDA (nmol/gr doku)	24,44 ± 0,99 ^a	23,15 ± 0,83 ^a	53,12 ± 1,09 ^b	31,72 ± 0,69 ^a	28,10 ± 1,10 ^a
Karaciğer GSH (nmol/gr doku)	4,20 ± 0,08 ^a	4,25 ± 0,08 ^a	3,61 ± 0,11 ^b	3,97 ± 0,11 ^a	4,15 ± 0,12 ^a
Karaciğer GSH-Px (nmol/gr doku)	62,73 ± 1,77 ^a	68,49 ± 1,64 ^a	14,42 ± 0,69 ^d	46,83 ± 0,77 ^c	58,46 ± 1,95 ^b
Karaciğer SOD (nmol/gr doku)	45,23 ± 1,64 ^b	47,49 ± 1,18 ^a	30,98 ± 1,08 ^d	36,38 ± 1,27 ^c	43,47 ± 0,95 ^b

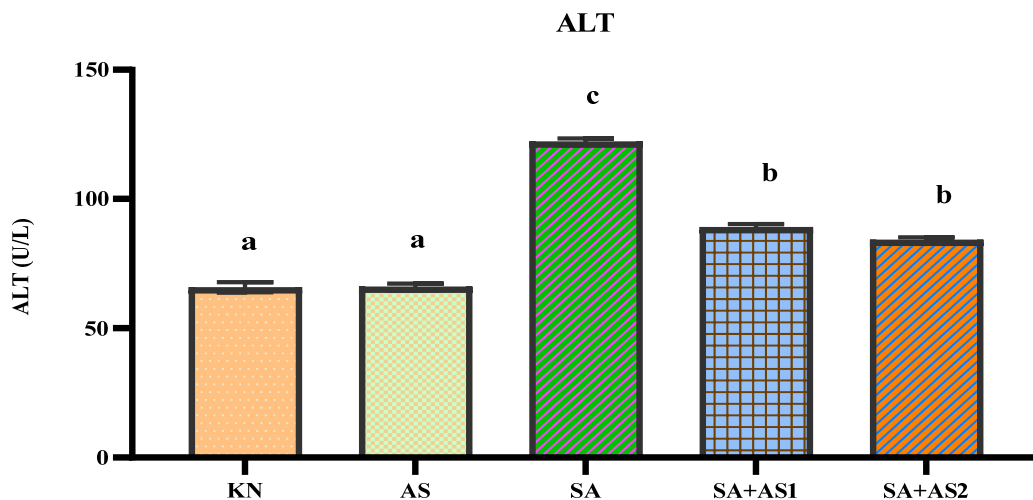
Tablo 4.1. (Devamı) Kan serumunda ve karaciğer dokusunda bazı biyokimyasal bulgular ortalama değerleri ve standart sapmaları

	KN	AS	SA	SA+AS1	SA+AS2
Karaciğer KAT (kat/gr doku)	37,98 ± 1,99 ^a	39,48 ± 0,98 ^a	23,84 ± 1,20 ^c	30,20 ± 1,80 ^b	32,85 ± 1,36 ^b
Karaciğer TNF-α (ng/L)	58,73 ± 0,89 ^a	56,86 ± 0,53 ^a	74,07 ± 0,49 ^d	65,13 ± 0,67 ^c	60,14 ± 0,61 ^b
Karaciğer IL-1β (pg/L)	20,06 ± 0,30 ^b	18,20 ± 0,20 ^a	26,74 ± 0,33 ^d	22,61 ± 0,29 ^c	20,97 ± 0,15 ^b
Karaciğer IL-6 (pg/mL)	27,39 ± 0,45 ^a	26,96 ± 0,39 ^a	31,29 ± 0,32 ^d	29,81 ± 0,33 ^c	28,28 ± 0,25 ^b

Kan serumunda ve karaciğer dokusu biyokimyasal bulgular (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$). **KN:** Kontrol grubu, **AS:** Arı sütü grubu, **SA:** Sodyum arsenik grubu **SA+AS1:** Sodyum arsenit+arısütü1 (100 mg/kg) grubu, **SA+AS2:** Sodyum arsenit+arısütü2 (200 mg/kg) grubu.

4.1.1. Serum ALT (Alanin Aminotransferaz) Aktivitesi

Serum ALT aktivitesi incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.1), kontrol grubu ile SA ve AS arasında ALT seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ($p > 0,05$), ancak kontrol grubu ve AS grubu ile SA+AS1 ve SA+AS2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunduğu ($p < 0,001$), SA grubu ile diğer tüm gruplar arasındaki fark anlamlı olduğu ($p < 0,001$) SA+AS1 ile SA+AS2 grupları arasındaki farkın ise anlamlı olmadığı tespit edildi ($p > 0,05$).



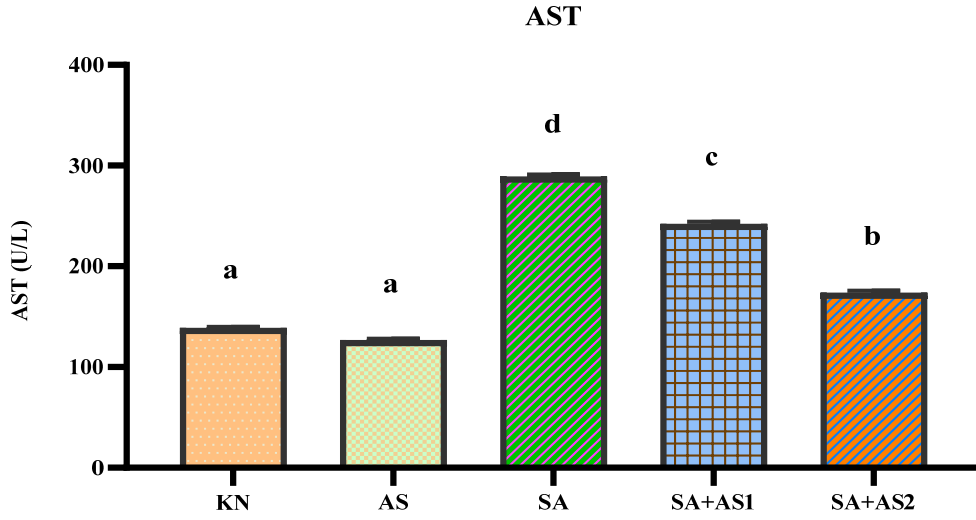
Şekil 4.1. ALT Aktivitesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

ALT serum seviyeleri, karaciğer hasarının doğasını ve derecesini gösterdikleri için karaciğer hastalıklarının teşhisinde çok önemli biyobelirteçtir (Sahoo et al., 2015). ALT enzimlerinin serum seviyeleri, akut karaciğer hasarı ve yetmezliği durumlarında yükselir. Yapılan araştırmalar, sodyum arsenit uygulamasının bu enzimlerin serum seviyelerinde belirgin bir artışa yol açtığını ve bunun da karaciğer hasarının bir göstergesi olduğunu ortaya koymuştur. Spesifik olarak, sodyum arsenite maruz bırakılan sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda, ALT aktivitelerinin anlamlı derecede arttığı ve bu artışın karaciğer hücrelerinin zarar gördüğüne işaret ettiği belirlenmiştir. Bu bulgular, sodyum arsenitin hepatotoksik etkilerini doğrulamakta ve karaciğer hasarının biyokimyasal belirteçleri olarak ALT seviyelerinin izlenmesinin önemini vurgulamaktadır (Babayemi et al., 2022). Çalışmalar sürekli olarak sodyum arsenit uygulamasının karaciğer hastalıklarının tanısında önemli biyomarkırlar olan ALT enzimlerinin serum düzeylerinde artışa yol açtığını göstermiştir (Choi et al., 2003, Devaraju et al., 2010, Kharroubi et al., 2014, Abdulla et al., 2023). Arı sütünün detoksifikasyon desteği, içeriğindeki vitaminler ve mineraller sayesinde karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını olumlu yönde etkileyebilir. Karaciğer ve böbrekler, vücuttaki toksik maddelerin temizlenmesinde ana organlardır ve arı sütü, bu organların detoksifikasyon kapasitelerini artırarak ağır metallerin etkili bir şekilde vücuttan atılmasına yardımcı olabilir. Özellikle B vitaminleri ve eser elementler, detoksifikasyon süreçlerini güçlendirerek organların işlevselliğini artırabilir (El-Seedi et al., 2024). Böylece arı sütü, toksinlerin birikimini azaltarak vücudun ağır metallerle karşı direnç geliştirmesine katkı sağlar (El-Seedi et al., 2024; Oršolić et al., 2024). Araştırmalar, arı sütünün ALT düzeylerini etkili bir şekilde azaltma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Arı sütünün antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-apoptotik özellikleri, karaciğer fonksiyon testlerinin iyileştirilmesinde, karaciğer histolojisinin düzeltilmesinde ve karaciğer hasarı koşullarında hepatik oksidatif/antioksidatif dengenin sağlanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu özellikler, arı sütünü karaciğer sağlığını korumaya yönelik tedavi gören hastalar için umut verici bir adjuvan tedavi seçeneği haline getirebilir. Daha spesifik olarak, arı sütü uygulamasının, karaciğer hasarının belirteçlerinden biri olan ALT seviyelerindeki artışı azaltarak karaciğer fonksiyonlarını destekleyebileceği belirtilmektedir (Waykar et al., 2018; Alves da Costa et al., 2021; Tohamy et al., 2022; Cakır, 2023).

Yapılan araştırma, literatürdeki verilerle uyumlu olarak, sodyum arsenit maruziyetinin serum ALT aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artışa sebep olduğunu göstermiştir. Bu artış, sodyum arsenitin hepatosit nekrozuna sebep olarak ALT enzimlerinin kana salınmasına ya da membran permeabilitesini artırarak bu enzimin hücre dışına sızmasına veya enzim indüksiyonu ile karaciğerdeki hasar yanıtını tetiklemesi sonucu ortaya çıkmış olabileceği düşünülmektedir. 100 ve 200 mg/kg dozlarında uygulanan arı sütü, bu enzim aktivitelerindeki artışı önemli ölçüde azaltmıştır. Bu azalış, arı sütünün hepatoprotektif etkileri sayesinde hepatositleri oksidatif stresten koruması ya da enflamasyonu azaltması veya karaciğer hücrelerinin yenilenmesini teşvik etmesi ile karaciğer hasarını ve enzimlerin kana salınmasını engellemesi ile ilişkili olabileceği öngörülmektedir. Elde edilen bulgular, arı sütünün sodyum arsenit kaynaklı karaciğer hasarını hafifletme potansiyeline sahip olabileceğini ve hepatoprotektif etkilerini desteklemektedir. Ayrıca, arı sütünün karaciğer hasarının biyokimyasal göstergeleri olan ALT aktivitelerinin azaltılmasında etkili olabileceğini gösterebilir. Bu sonuçlar, arı sütünün toksik maddelere karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılma potansiyeline dair bilgiler sunarak, klinik uygulamalarda terapötik kullanımını destekleyebilir.

4.1.2. Serum AST (Aspartat Aminotransferaz) Aktivitesi

Serum AST aktivitesi incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.2), kontrol grubuyla AS grubu arasında AST seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ($p>0,05$), ancak kontrol grubu ve AS grubu ile SA+AS1 ve SA+AS2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunduğu ($p<0,001$), SA grubu ile diğer tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,001$).



Şekil 4.2. AST Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.(One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

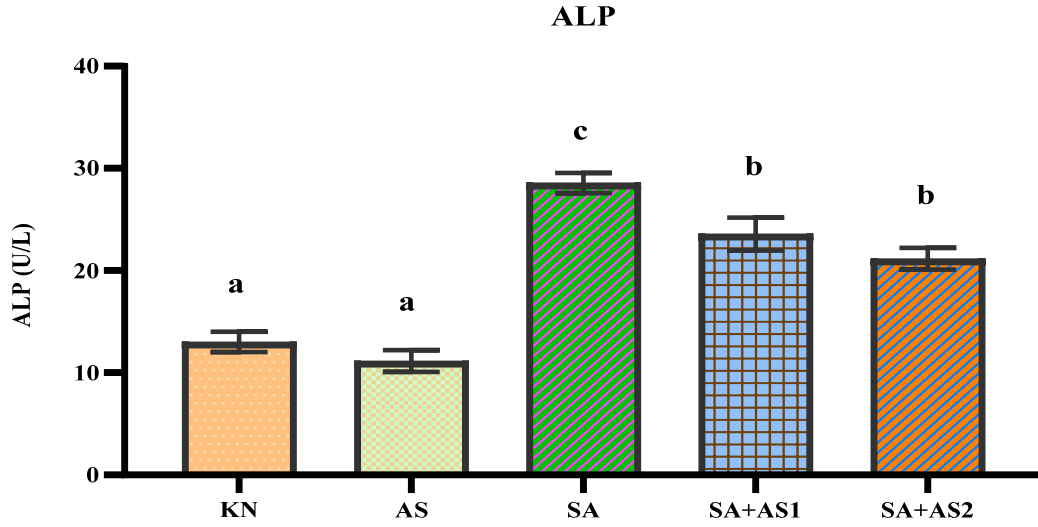
AST esas olarak hepatik hücrelerde, özellikle karaciğerde üretilir ve karaciğer hasarına yanıt olarak kan dolaşımına salınırlar (Chinnappan et al., 2023). Farelerde arsenik maruziyetinin, toksisiteyi yansıtan AST aktivitelerinde önemli bir artışa yol açtığı tespit edilmiştir (Duan et al., 2022). Çalışmalar, sodyum arsenit uygulamasının karaciğer hastalıklarının tanısında kritik biyomarkerlar olan AST enzimlerinin serum düzeylerinde belirgin artışlara yol açtığını göstermektedir. Bu artış, sodyum arsenitin karaciğer hücre zarlarında ve hücre içi yapıların hasar görmesine sebep olduğuna işaret eder. Sodyum arsenite maruz kalan hayvan modellerinde yapılan araştırmalar, AST seviyelerindeki bu yükselmenin hepatositlerin zarar gördüğünü ve bunun sonucunda AST'nin kana salındığını doğrulamaktadır. Bu durum, sodyum arsenitin hepatotoksik etkilerini kanıtlamakta ve karaciğer hasarının biyokimyasal belirteci olarak AST seviyelerinin izlenmesinin önemini vurgulamaktadır. Bu sebeple AST enzim seviyelerindeki artış, karaciğer hücrelerinin nekroz veya hasar yaşadığına dair bir gösterge olarak kullanılabilir (Choi et al., 2003, Devaraju et al., 2010, Kharroubi et al., 2014, Abdulla et al., 2023). Araştırmalar, arı sütünün güçlü antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-apoptotik bileşenleri sayesinde AST seviyelerini etkili bir şekilde düşürdüğünü göstermektedir. Bu bileşenler, karaciğer fonksiyon testlerinde gözlemlenen iyileşmeleri destekleyerek, hepatik oksidatif stresin azalmasına ve karaciğerin antioksidatif kapasitesinin artmasına yardımcı olur. Oksidatif stresin azalması, karaciğer hücrelerinin yenilenmesini ve histolojik yapının

düzelmesine katkı sağlar. Arı sütünün bu koruyucu etkileri, karaciğer sağlığını koruma amacıyla potansiyel bir terapötik ajan olarak kullanılmasını desteklemektedir. Bu bulgular, arı sütünün karaciğer hasarına karşı koruma sağlamadaki rolünü vurgulamakta ve klinik uygulamalarda kullanım potansiyelini artırmaktadır (Waykar et al., 2018; Alves da Costa et al., 2021; Tohamy et al., 2022; Cakır, 2023).

Yapılan araştırmada, literatürdeki verilerle paralel olarak, AS grubunda serum AST aktivitelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir. Bu artış, sodyum arsenitin karaciğer hücrelerinde nekroz oluşturması ya da hücre membranının geçirgenliğini artırarak AST enzimlerinin kana sızmasına sebep olması veya enzim indüksiyonu yoluyla karaciğerdeki hasar yanıtını tetiklemesi sonucu meydana gelmiş olabileceği düşünülmektedir. Farklı dozlarda uygulanan arı sütü ise bu artışı önemli ölçüde azaltmıştır. Bu etkinin, arı sütünün hepatoprotektif özellikleriyle hepatositleri oksidatif strese koruması ya da enflamasyonu azaltması veya karaciğer hücrelerinin yenilenmesini teşvik etmesi ile bağlantılı olabileceği öngörülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün sodyum arsenit kaynaklı karaciğer hasarını hafifletebileceğini ve hepatoprotektif etkilerini desteklemektedir. Ayrıca, arı sütünün AST aktivitelerindeki artışı azaltmada etkili olabileceğini gösterebilir. Bu veriler, arı sütünün toksik maddelere karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceğine dair bilgiler sunarak, klinik uygulamalarda terapötik potansiyelini desteklemektedir.

4.1.2. Serum ALP (Alkalen Fosfataz) Aktivitesi

Serum ALP aktivitesi incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.3), kontrol grubu ile AS grubu arasında ALP seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ($p>0,05$), ancak kontrol grubu ve AS grubu ile SA+AS1 ve SA+AS2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunduğu ($p<0,001$), SA grubu ile diğer tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 4.3. ALP Aktivitesi Sonuç Ortalamaları.(One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

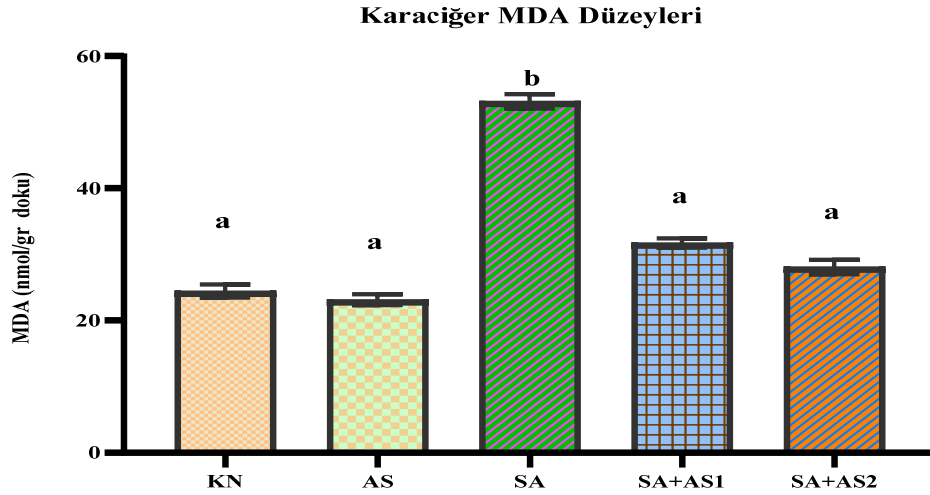
ALP hepatositler ve safra kanalı hücreleri de dâhil olmak üzere çeşitli hücrelerde üretilir. Yüksek ALP seviyeleri genellikle karaciğer rahatsızlıklarında safra akışı tıkanıklığını veya karaciğer hücresi hasarını gösterir (Laufer et al., 2017). ALP serum seviyeleri, karaciğer hasarının niteliğini ve şiddetini yansıttıkları için karaciğer hastalıklarının teşhisinde kritik biyobelirteçler olarak kabul edilmektedir. Bu enzimlerin serumdaki konsantrasyonu, özellikle safra kanallarının tıkanması veya karaciğer hücrelerinin hasar görmesi durumlarında belirgin şekilde artış gösterir. Bu sebeple, ALP seviyelerinin ölçümü, karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesi ve hastalıkların teşhisi için vazgeçilmez bir araçtır (Sahoo et al., 2015). Araştırmalar, sodyum arsenit uygulamasının karaciğer hastalıklarının teşhisinde önemli biyobelirteçler olan ALP enzimlerinin serum düzeylerinde sürekli olarak artışa yol açtığını göstermiştir. Bu artış, sodyum arsenitin karaciğer hepatosit hücrelerinde hasara sebep olarak ALP enzim salınımını artırdığına işaret etmektedir. Dolayısıyla, sodyum arsenit maruziyetine bağlı karaciğer hasarının tespiti ve derecelendirilmesinde ALP serum düzeyleri önemli bir biyokimyasal gösterge olarak kullanılabilir (Choi et al., 2003, Devaraju et al., 2010, Kharroubi et al., 2014, Abdulla et al., 2023). Çalışmalar, arı sütünün içeriğindeki güçlü antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-apoptotik bileşenler sayesinde serum ALP seviyelerini etkin bir şekilde düşürebildiğini göstermektedir. Bu bileşenler, karaciğer fonksiyon testlerinde gözlemlenen iyileşmeleri destekleyerek hepatik oksidatif stresin azalmasına ve

karaciğerin antioksidatif kapasitesinin artmasına katkıda bulunur. Oksidatif stresin azalması, karaciğer hücrelerinin yenilenmesini ve histolojik rejenerasyonu teşvik eder. Bu durum arı sütünün karaciğer sağlığını koruma potansiyeline sahip olduğunu ve karaciğer hasarına karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Arı sütünün bu koruyucu etkileri, karaciğer hastalıklarına karşı alternatif tedavi seçeneklerinin geliştirilmesinde önemli bir rol oynayabileceğini gösterebilmektedir (Waykar et al., 2018; Alves da Costa et al., 2021; Tohamy et al., 2022; Cakır, 2023).

Yapılan araştırma, literatürdeki verilerle uyumlu olarak, sodyum arsenit maruziyetinin serum ALP aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artışa sebep olduğunu göstermiştir. Bu artış, sodyum arsenitin hepatosit nekrozuna sebep olması ya da membran permeabilitesini artırarak ALP enzimlerinin hücre dışına sızmasına yol açması veya enzim indüksiyonu ile karaciğerdeki hasar yanıtını tetiklemesi sonucu ortaya çıkmış olabileceği düşünülmektedir. 100 ve 200 mg/kg dozlarında uygulanan arı sütü, bu enzim aktivitelerindeki artışı önemli ölçüde azaltmıştır. Bu azalış, arı sütünün hepatoprotektif etkileri sayesinde hepatositleri oksidatif stresten koruması ya da enflamasyonu azaltması veya karaciğer hücrelerinin yenilenmesini teşvik etmesi ile karaciğer hasarını ve enzimlerin kana salınmasını engelleme özellikleri ile ilintili olabileceği öngörülmektedir. Elde edilen bulgular, arı sütünün sodyum arsenit kaynaklı karaciğer hasarını hafifletme potansiyeline sahip olabileceğini ve hepatoprotektif etkilerini desteklemektedir. Ayrıca, arı sütünün karaciğer hasarının biyokimyasal göstergeleri olan ALP aktivitelerinin azaltılmasında etkili olabileceğini gösterebilir. Bu sonuçlar, arı sütünün toksik maddelere karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılma potansiyeline dair bilgiler sunarak, klinik uygulamalarda terapötik kullanımını destekleyebilir.

4.1.3. Karaciğer Malondialdehit (MDA) Düzeyi

Karaciğer MDA düzeyleri incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.4), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı bir azalma gözlenmediği ($p>0,05$), kontrol grubu ve AS grubuna göre SA grubunda da anlamlı bir fark olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 4.4. Karaciğer MDA Düzeyi Sonuç Ortalamaları.(One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

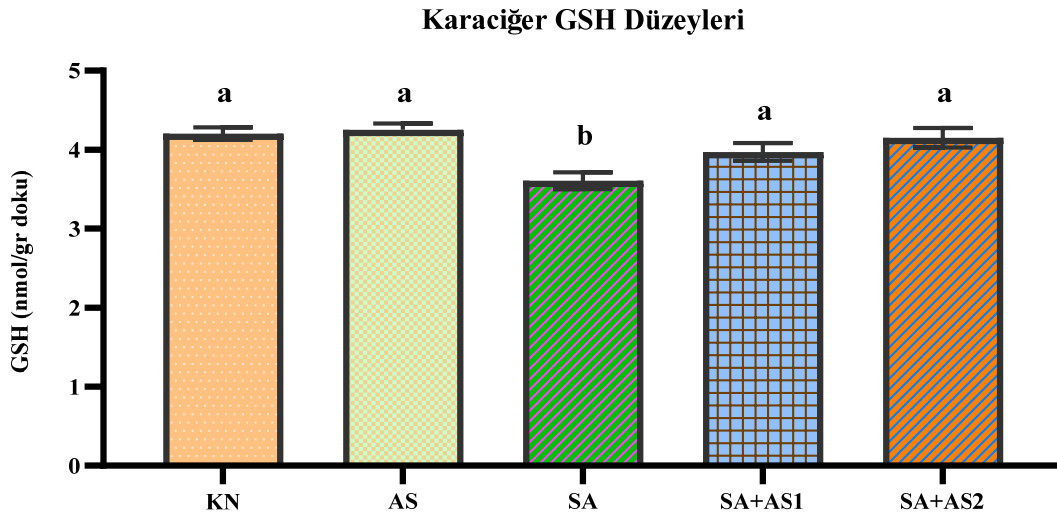
MDA, hücre zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller tarafından oksidatif strese maruz kalması sonucu oluşan bir lipid peroksidasyon ürünü olarak bilinir. Bu bileşik, biyolojik sistemlerde yüksek reaktivitesi sebebiyle hücre yapılarıyla kolayca etkileşime girerek DNA, protein ve lipidlerin hasar görmesine sebep olabilir. Bu tür hücresel hasarlar, oksidatif stresin artmasıyla bağlantılı olup yaşlanma sürecini hızlandırabilir ve çeşitli dejeneratif hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilir. Malondialdehit düzeylerinin biyolojik örneklerde ölçülmesi, oksidatif stresin bir biyomarkeri olarak kullanılarak hücresel sağlık durumu hakkında bilgi sağlayabilir (Situmorang et al., 2020). Arsenitin MDA düzeyleri üzerindeki etkisi maruz kalma süresine ve konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Sodyum arsenite kronik maruz kalmanın MDA seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir, bu da lipid peroksidasyonunun ve oksidatif stresin arttığını gösterir (Khodayar et al., 2019). Arsenitin MDA düzeylerini artırdığı ve potansiyel olarak zararlı etkilerini şiddetlendirdiği bulunmuştur (Kikugawa et al., 1984). Çok sayıda çalışmada elde edilen bulgulara göre, kronik sodyum arsenit maruziyeti, çeşitli dokularda MDA seviyelerinin artmasına yol açmaktadır (Azab et al., 2018, Gholamine et al., 2019, Nozohour et al., 2019). Arı sütü, ağır metal toksisitesine karşı potansiyel olarak koruyucu bir rol oynar ve bu koruma birkaç temel mekanizma ile sağlanır. İlk olarak, arı sütü antioksidan bakımından zengindir; içeriğinde flavonoidler, fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif maddeler bulunur. Ağır metal maruziyeti sonrası ortaya çıkan reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller, hücrelerde oksidatif strese sebep

olarak hücrel hasara yol açar. Arı sütündeki antioksidan bileşenler, bu serbest radikalleri nötralize edebilir, oksidatif stresin seviyesini düşürerek hücrel zararı en aza indirebilir. Bu, özellikle karaciğer ve böbrek gibi detoksifiye edici organlar üzerinde koruyucu bir etki sağlayabilir (Collazo et al., 2021; Hamza et al., 2022; Najafî et al., 2014; Çavuşoğlu et al., 2009). Yapılan bir bilimsel araştırma, arı sütünün toksisite ve oksidatif stres üzerinde belirgin bir koruyucu etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Arı sütü tüketiminin, oksidatif stresin biyokimyasal bir göstergesi olan MDA seviyelerinde önemli ölçüde azalma sağladığı belirlenmiştir. Bu etki, arı sütünde bulunan biyolojik olarak aktif bileşiklerin antioksidan özellikleri ile ilişkilendirilir. Arı sütü, serbest radikalleri nötralize ederek lipid peroksidasyonunu azaltmakta ve hücre zarlarının oksidatif hasara karşı korunmasına yardımcı olmaktadır. Bu bulgular, arı sütünün oksidatif stresle ilişkili hastalıklara karşı potansiyel bir terapötik ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Aksoy et al., 2019). Arı sütü uygulamasının çeşitli çalışmalarda MDA seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Asadi et al., 2019; Shiva et al., 2019; Aslan et al., 2023).

Yapılan çalışmada, literatür verilerine paralel olarak, sodyum arsenitin karaciğer dokularında MDA seviyelerini kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artırdığı saptanmıştır. Ancak, sodyum arsenit ile birlikte uygulanan 100 ve 200 mg/kg dozlarındaki arı sütü kombinasyonlarının, bu dokulardaki MDA seviyelerini önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. Özellikle yüksek dozda arı sütü uygulamasının, MDA seviyelerini daha belirgin şekilde düşürdüğü belirlenmiştir. Sodyum arsenit, serbest radikallerin üretimini artırarak hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna, lipid peroksidasyonuna ve sonuç olarak hücre zarının yapısının bozulmasına, geçirgenliğinin artmasına ya da hücrel ölümlere sebep olabilir. Buna karşılık, arı sütü, içerdiği antioksidan bileşenler ve hücrel antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak lipid peroksidasyonunu inhibe edebilecek bir potansiyele sahiptir bu durum hücre zarını stabilize edebilir veya zararlı etkilerini azaltabileceği öngörülebilir. Bu bulgular ile, arı sütünün antioksidan özellikleri sayesinde sodyum arsenit kaynaklı oksidatif stresin zararlı etkilerini azaltmada etkili olabileceği öngörülmektedir. Sonuçlar, arı sütünün potansiyel terapötik kullanımlarını desteklemekte ve oksidatif stres ile ilişkili doku hasarlarına karşı koruyucu bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır.

4.1.4. Karaciğer Glutasyon (GSH) Düzeyi

Karaciğer GSH düzeyleri incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.5), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı bir artış gözlenmediği ($p>0,05$), SA grubu ile kontrol grubu arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,001$), AS grubuna göre SA grubunda da anlamlı farkın olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı farkın bulunmadığı tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 4.5. Karaciğer GSH Düzeyi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

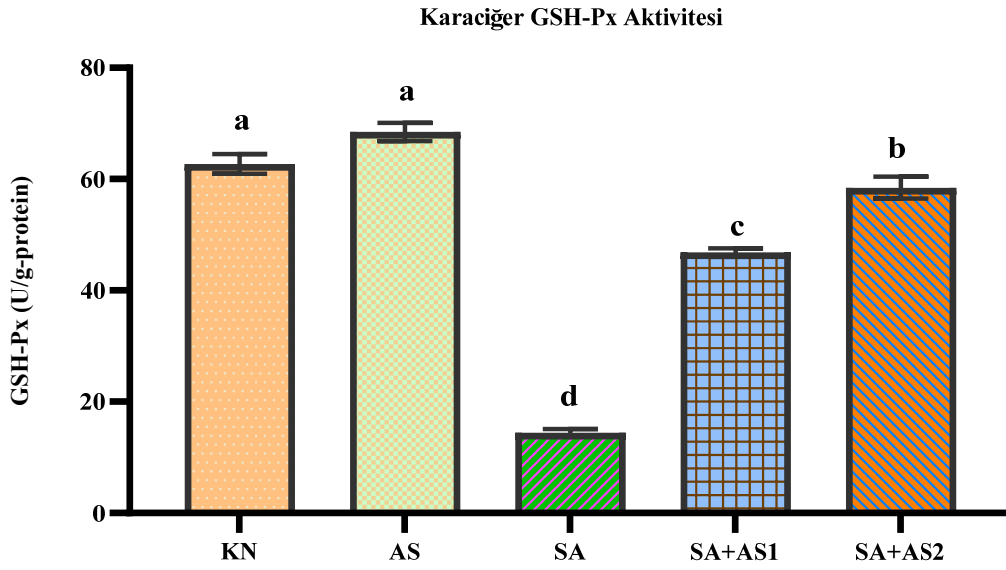
GSH, hücrel savunma mekanizmalarında oksidatif strese karşı kritik bir rol oynayan temel bir antioksidandır (Pin, 2013). Sodyum arsenitin çeşitli dokularda GSH seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Mehta et al., 2015; Yu et al., 2019; Silva-Adaya et al., 2020). Arı sütü, ağır metal toksisitesine karşı koruyucu etkiler gösteren bileşikler içerir ve özellikle sistein ve glutasyon gibi kükürt içeren amino asitler aracılığıyla şelasyon yetenekleri sunar. Sistein, kadmiyum ve kurşun gibi ağır metallere bağlanarak, bu metallerin hücre zarlarından geçişini engelleyip dokularda birikmelerini önler (Çavuşoğlu et al., 2009). Benzer şekilde, glutasyon da metal iyonlarını şelatlayarak vücuttan atılmasını kolaylaştırır (Collazo et al., 2021), böylece hücrel hasarı önlemeye katkıda bulunur. Arı sütü GSH seviyelerini artırır, oksidatif stresi azaltır ve sıçanlarda karaciğer sağlığını destekler (Aslan et al., 2023). Bal arıları tarafından salgılanan arı sütünün

karaciğerdeki GSH seviyelerini arttırdığı ve potansiyel olarak antioksidan kapasiteyi yükselttiği bulunmuştur (Bukowska, 2005).

Yapılan çalışmada literatür bilgisine uyumlu olarak sodyum arsenit kaynaklı toksisitenin karaciğerde GSH seviyelerini belirgin şekilde azalttığı, bunun sonucunda antioksidan kapasitenin düştüğü ve lipid peroksidasyonunun artarak hücresel hasara yol açtığı öngörülmektedir. Arı sütünün uygulanması, sodyum arsenit grubuna kıyasla karaciğerdeki GSH seviyelerini anlamlı derecede doza bağlı olarak artırdığı görülmektedir. Sodyum arsenit, hücrede reaktif oksijen türlerinin üretimine sebep olarak GSH moleküllerini okside edebileceği ya da sodyum arsenit GSH molekülünün üretimine sebep olan enzimleri inhibe etmiş olabileceği veya arsenit GSH molekülüne direkt bağlanarak GSH depolarının hücre içinde tüketmesine sebep olmuş olabileceği öngörülmektedir. Tüm bunlara karşı arı sütü, antioksidan savunmayı artırabileceği, içerdiği antioksidan bileşikler sayesinde oluşabilecek ROS'u inhibe edebileceği ya da GSH sentezinde kullanılan amino asitlerin hücre içi konsantrasyonlarını artırarak GSH biyosentezini teşvik edebileceği veya arı sütü GSH sentezinde yer alan enzimlerin aktivitesini artırabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün oksidatif strese karşı savunma mekanizması sağlayarak potansiyel koruyucu etkilerine işaret ve toksik hasarların önlenmesinde etkili bir ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

4.1.5. Karaciğer Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi

Karaciğer GSH-Px aktivitesi incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.6), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı bir artış gözlenmediği ($p>0,05$), SA grubu ile kontrol grubu arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,001$), AS grubuna göre SA grubunda da anlamlı farkın olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.6. Karaciğer GSH-Px Aktivitesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

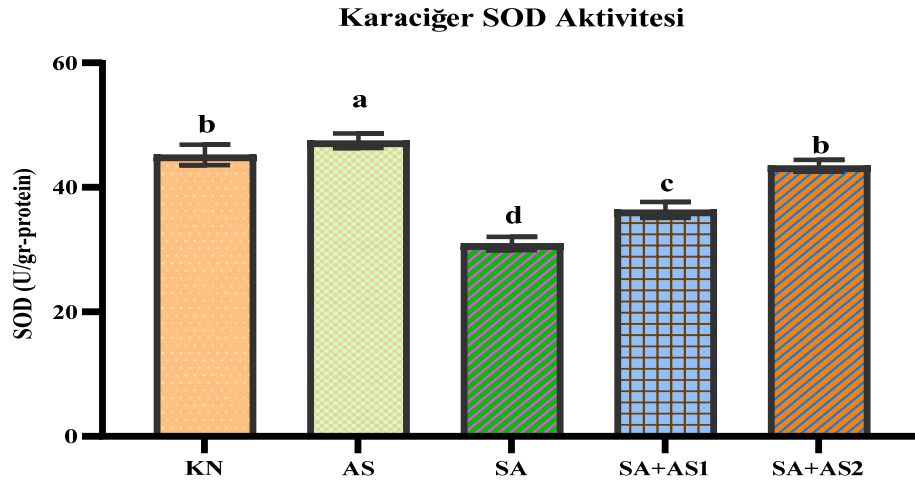
GSH-Px, hücreleri oksidatif hasardan koruyan ve reaktif oksijen türlerini nötralize eden hayati öneme sahip bir antioksidan enzimdir (Toyoda et al., 1989). Bu enzim, glutatyonu kullanarak hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin zararlı etkilerini azaltır, böylece hücre zarlarının, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif strese karşı korunmasına katkıda bulunur (Labarrere et al., 2022). GSH-Px'nin etkinliği, oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesinde ve hücresel bütünlüğün korunmasında kritik bir rol oynar (Morales-Borges et al., 2022). Sıçan yumurtalıklarında, sodyum arsenit enjeksiyonu GSH-Px aktivitesinin azalmasına sebep olmuştur (Yu et al., 2019). Arı sütünde bulunan diğer önemli bileşenler de bu sürece katkı sağlar. Yağ asitleri ve peptitler, vücudun detoksifikasyon süreçlerini destekleyerek toksik ağır metallerin daha etkili bir şekilde yok edilmesine yardımcı olur (Jalali et al., 2015). Bu, karaciğer ve böbreklerin detoksifikasyon işlevlerinin güçlenmesine de katkıda bulunur. Ayrıca, RJ'nin antioksidan özellikleri, ağır metal maruziyeti sebebiyle artan oksidatif stresin azalmasına yardımcı olabilir; bu, farelerde yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir (Shidfar et al., 2015). RJ'nin bu şelasyon ve antioksidan mekanizmaları, ağır metallerin vücuttaki toksik etkilerini hafifletme potansiyeline sahip olmasına rağmen, insan sağlığı üzerindeki uzun vadeli etkilerini ve uygulamalarını tam anlamıyla değerlendirebilmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Arı sütünün potansiyel olarak antioksidan özelliklerinden

dolayı GSH-Px aktivitesini arttırdığı bulunmuştur (Lin et al., Altun et al., 2022; Ghadimi-Garjan et al., 2023).

Yapılan araştırmada elde edilen veriler literatürle uyumlu bulunmuştur. Sodyum arsenit grubunda, karaciğer glutatyon peroksidaz aktivitelerinde azalma gözlenirken, arı sütü uygulamasının her iki dozunda da bu enzim aktivitelerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Sodyum arsenit, GSH-Px enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanarak bu enzimlerin aktivitelerini inhibe edebileceği ya da enzimlerin ilgili gen ekspresyonlarını baskılayabileceğini veya oluşturabileceği oksidatif stres ile enzimlerin protein yapılarının bozularak fonksiyonlarını kaybedebilecekleri öngörülmektedir. Tüm oluşabilecek bu etkilere karşı arı sütü içerdiği bileşenler ile enzimlerin aktivasyonunu artırabileceği ya da enzimlerin gen ekspresyonunu artırarak enzim sentezini teşvik edebileceği veya içerdiği antioksidanlar ile oksidatif stresi azaltarak enzimlerin fonksiyonlarını koruyabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün antioksidan enzim sistemlerini destekleyici etkilerini doğrulamakta ve arı sütünün oksidatif hasara karşı koruyucu rolünü desteklemektedir.

4.1.6. Karaciğer Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

Karaciğer SOD aktivitesi incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.7), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı bir artış olduğu ($p<0,05$), SA grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$), AS grubuna göre SA grubunda da anlamlı farkın olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.7. Karaciğer SOD Aktivitesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

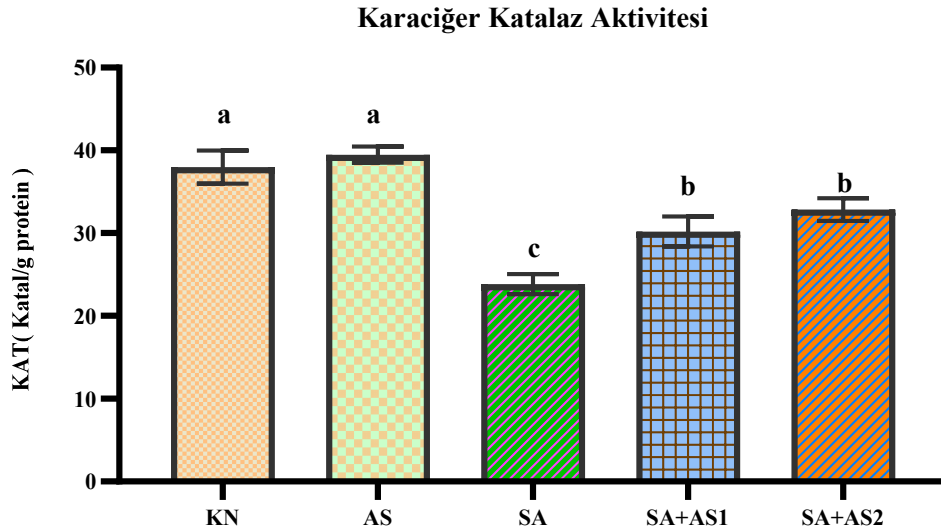
SOD, insan sağlığında kritik bir role sahip olan ve reaktif oksijen türlerine karşı hücresel savunmada önemli bir işlev gören temel bir antioksidan enzimdir (Johnson et al., 2005). Bu enzim, süperoksit radikallerini daha az zararlı bileşikler olan hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürerek, oksidatif stresin ve buna bağlı hücresel hasarın önlenmesine yardımcı olur (Maurya et al., 2021). SOD'nin aktivitesi, oksidatif stresle ilişkili hastalıkların gelişimini engellemede ve genel hücresel sağlığın korunmasında hayati öneme sahiptir (Swaroop et al., 2022). Sodyum arsenitin çeşitli çalışmalarda süperoksit dismutaz aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (Fallahzadeh-Abarghoee et al., 2017; Dash et al., 2018; Yu et al., 2019). Arı sütünün çeşitli çalışmalarda SOD aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (Aslan et al., 2022, 2023; Bakir et al., 2023).

Araştırma sonuçları, literatürdeki bulgularla uyumlu olarak, karaciğer dokusunda sodyum arsenit uygulamasının SOD aktivitesinde belirgin bir azalmaya yol açtığını göstermektedir. Buna karşılık, her iki dozda uygulanan arı sütünün, SOD enzim aktivitesini anlamlı derecede artırdığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, arı sütünün antioksidan savunma mekanizmalarını destekleyici ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu etkilerini doğrulamaktadır. Özellikle, arı sütünün SOD aktivitesini artırması, karaciğer dokusundaki oksidatif stresin azaltılmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Sodyum arsenit, SOD enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanarak bu enzimlerin aktivitelerini inhibe edebileceği ya da enzimlerin ilgili gen ekspresyonlarını

baskılayabileceğini veya oluşturabileceği oksidatif stres ile enzimlerin protein yapılarının bozularak fonksiyonlarını kaybedebilecekleri öngörülmektedir. Tüm oluşabilecek bu etkilere karşı arı sütü içerdiği bileşenler ile enzimlerin aktivasyonunu artırabileceği ya da enzimlerin gen ekspresyonunu artırarak enzim sentezini teşvik edebileceği veya içerdiği antioksidanlar ile oksidatif stresi azaltarak enzimlerin fonksiyonlarını koruyabileceği düşünülmektedir. Bu sonuçlar, mevcut literatürle tutarlılık göstermekte ve arı sütünün antioksidan potansiyelini vurgulayarak, karaciğer dokusunun oksidatif hasardan korunmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir.

4.1.7. Karaciğer Katalaz (KAT) Aktivitesi

Karaciğer KAT aktivitesi incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.8), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda benzer aktivite görülürken ($p>0,05$), SA grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,001$), AS grubuna göre SA grubunda da anlamlı bir farkın olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 4.8. Karaciğer KAT Aktivitesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

Katalaz, hücrelerdeki oksidatif stresi azaltmada kritik bir rol oynayan önemli bir antioksidan enzimdir. Bu enzim, hidrojen peroksiti (H_2O_2) su (H_2O) ve oksijene (O_2) dönüştürerek hücreyi zararlı reaktif oksijen türlerinin birikiminden korur (Aggez et al.,

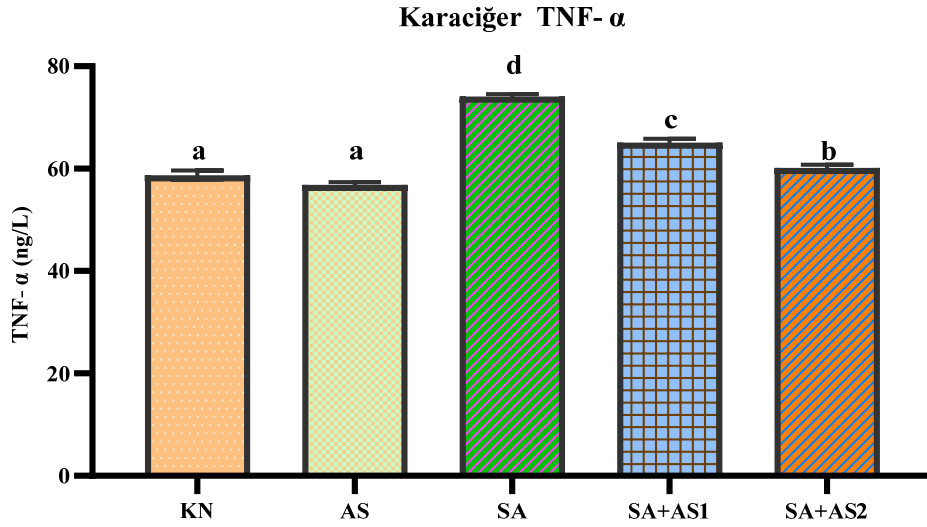
2023). Hücresel metabolizma sırasında sürekli olarak üretilen H_2O_2 , detoksifiye edilmediği takdirde hücre bileşenlerine zarar vererek oksidatif strese ve potansiyel olarak hücre ölümüne yol açabilir. Dolayısıyla, katalazın etkinliği, hücresel homeostazın korunmasında ve oksidatif hasara karşı savunmada hayati bir öneme sahiptir (Liu et al., 2023). Katalazın bu işlevi, hücrelerin oksidatif strese maruz kaldığı durumlarda, özellikle de artan metabolik aktivite veya çevresel stres faktörleri altında, hayatta kalma ve sağlıklı işleyişi için çok önemlidir (Sheen et al., 2023). Sodyum arsenit maruziyeti, çeşitli dokularda artan KAT aktivitelerinin azalmasına yol açar (Oyagbemi et al., 2017; Adebayo-Gege et al., 2018; Kuzu et al., 2021). Çalışmalar, arı sütü takviyesinin takviyesinin katalaz gibi antioksidan enzim aktivitelerinde artışa ve çeşitli dokularda oksidatif stres belirteçlerinde azalmaya yol açtığını göstermiştir (Aslan et al., 2023; Bakir et al., 2023).

Yapılan araştırma, literatüre uyumlu olarak sodyum arsenit uygulanan grupta karaciğer katalaz aktivitesinde belirgin bir azalma olduğunu, ancak arı sütü uygulamasının her iki dozunda (100 mg/kg ve 200 mg/kg) bu enzim aktivitesinde anlamlı bir artış sağladığını göstermiştir. Sodyum arsenit, KAT enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanarak bu enzimlerin aktivitelerini inhibe edebileceği ya da enzimlerin ilgili gen ekspresyonlarını baskılayabileceğini veya oluşturabileceği oksidatif stres ile enzimlerin protein yapılarının bozularak fonksiyonlarını kaybedebilecekleri öngörülmektedir. Tüm oluşabilecek bu etkilere karşı arı sütü içerdiği bileşenler ile enzimlerin aktivasyonunu artırabileceği ya da enzimlerin gen ekspresyonunu artırarak enzim sentezini teşvik edebileceği veya içerdiği antioksidanlar ile oksidatif stresi azaltarak enzimlerin fonksiyonlarını koruyabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün antioksidan enzim sistemlerini güçlendirici etkilerini, özellikle de katalaz aktivitesini artırarak hücresel oksidatif stresi azaltma potansiyelini doğrulamaktadır. Arı sütü uygulamasının, sodyum arsenitin indüklediği oksidatif hasara karşı koruyucu bir rol oynadığı ve hücre içi H_2O_2 detoksifikasyonunu desteklediği düşünülmektedir.

4.1.8. Karaciğer TNF- α (Tümör Nekroz Faktör Alfa) Seviyesi

Karaciğer TNF- α Seviyesi incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.9), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı bir fark gözlenmediği ($p>0,05$), SA grubu ile kontrol grubu

arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,001$), AS grubuna göre SA grubunda da anlamlı bir artış olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 ve SA+AS2 gruplarında, SA grubuna göre belirgin bir azalmanın olduğu ($p<0,001$). SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,001$).



Şekil 4.9. Karaciğer TNF- α Seviyesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

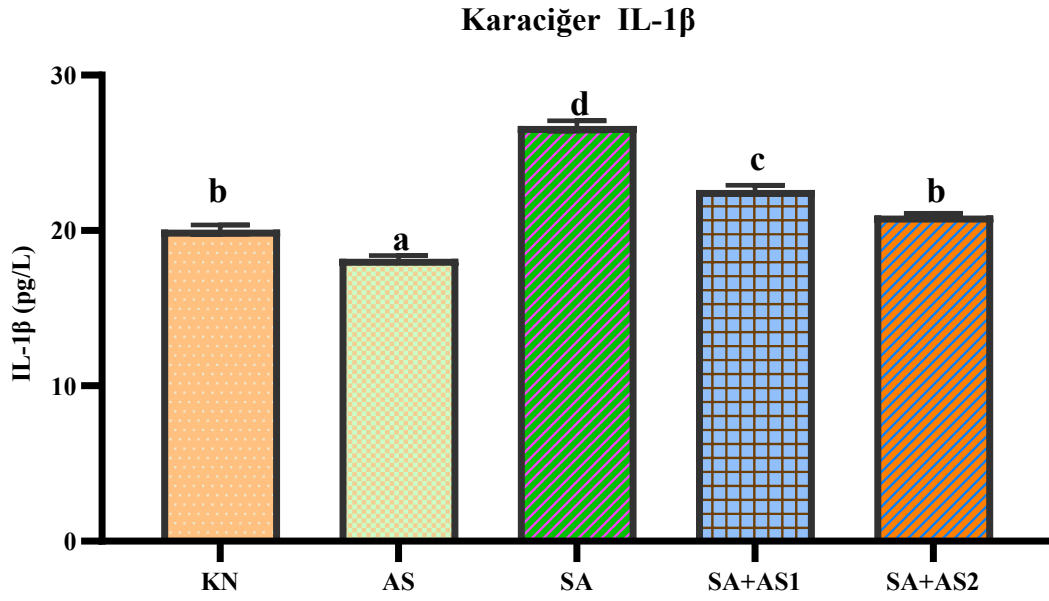
TNF- α , enflamasyon ve bağışıklık yanıtında merkezi rol oynayan bir sitokindir (Jang et al., 2021). TNF- α , öncelikle aktive olmuş makrofajlar, T hücreleri ve NK hücreleri tarafından üretilen proinflamatuvar bir sitokindir (Gonzalez Caldito, 2023). Sitokinler ve kemokinler gibi diğer enflamatuvar moleküllerin salınımını tetikler (Jang et al., 2021). TNF- α , adezyon moleküllerinin güçlü bir uyarıcısıdır, lökositlerin kan damarlarına yapışmasını ve dokulara göçünü kolaylaştırır. Bu, bağışıklık hücrelerinin iltihap bölgelerine ulaşmasını sağlar. (Elkon et al., 1997). Sodyum arsenit uygulamasının TNF- α parametresinde değişikliklere sebep olduğu gösterilmiştir. Yüksek sodyum arsenit konsantrasyonlarının TNF- α seviyelerini arttırdığı bulunmuştur (Nassireslami et al., 2016). Sodyum arsenit maruziyeti, ROS'a bağlı mekanizmalar yoluyla TNF- α 'nın apoptoz indükleyici etkisini artırarak iltihaplanmaya bağlı doku hasarını etkileyebileceği ifade edilmiştir (de Araújo Ramos et al., 2017). Arı sütü, bağışıklık sistemini düzenleyerek ve enflamatuvar yanıtları baskılayarak ağır metal toksisitesine karşı önemli bir koruyucu rol oynar. Arı sütünün içeriğindeki biyoaktif bileşikler, enflamatuvar sitokinlerin seviyelerini

düşürerek iltihaplanmayı azaltabilir. Bu bağışıklık düzenleyici etki, özellikle ağır metal gibi toksik maddelerin sebep olduğu hematolojik hasara karşı koruma sağlayarak vücudun doğal savunmasını güçlendirebilir (Shidfar et al., 2015). Dolayısıyla, arı sütünün bağışıklık tepkilerini dengeleyici bu özellikleri, ağır metal maruziyetiyle ilişkili organ hasarını azaltmaya yönelik potansiyel bir mekanizma sunar. Arı sütü uygulamasının TNF- α parametresi üzerinde önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Oral arı sütü alımının renal hücreli karsinomlu hastalarda TNF- α seviyelerinde düşüşe yol açtığı ve bunun da tedavi etkinliği ve güvenliğinde iyileşme ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Miyata et al., 2020). Arı sütü takviyesinin fare testislerinde TNF- α seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (Almeer et al., 2018). Arı sütünün TNF- α seviyelerinin azaltılmasına potansiyel olarak katkıda bulunabilecek anti-enflamatuar özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Manzo et al., 2015).

Yapılan çalışmada elde edilen veriler, literatürdeki bulgularla uyumlu niteliktedir. Karaciğer ve böbrek dokularında, TNF- α seviyelerinde arsenik grubunda artış gözlenirken, arı sütü uygulamasının 100 ve 200 mg/kg dozlarının her ikisinin de TNF- α seviyelerinde azalışa sebep olduğu belirlenmiştir. Sodyum arsenit enflamasyon yollarını tetikleyebileceği ya da makrofajların aktivasyonunu artırılarak sitokin salınımını artırabileceğini veya oluşturabileceği muhtemel oksidatif stres ile sitokin üretimini teşvik edebileceği öngörülmektedir. Arı sütü ise tüm bunlara karşı enflamasyon yollarının inhibe edilmesini teşvik edebileceği ya da makrofajların modülasyonunu değiştirerek sitokin üretimini baskılayabileceği veya içerdiği fenolik bileşenler ile enflamasyonu direkt azaltabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün anti-inflamatuar etkilerini desteklemekte olup, özellikle TNF- α seviyelerini düşürme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

4.1.9. Karaciğer IL-1 β (İnterlökin-1 Beta) Seviyesi

Karaciğer IL-1 β Seviyesi incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.10), Kontrol grubu ile AS grubu arasında belirgin bir azalışın olduğu ($p<0,001$), AS grubu ile SA grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 ve SA+AS2 gruplarında, SA grubuna göre belirgin bir azalmanın olduğu ($p<0,05$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı farkın bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.10. Karaciğer IL-1 β Seviyesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

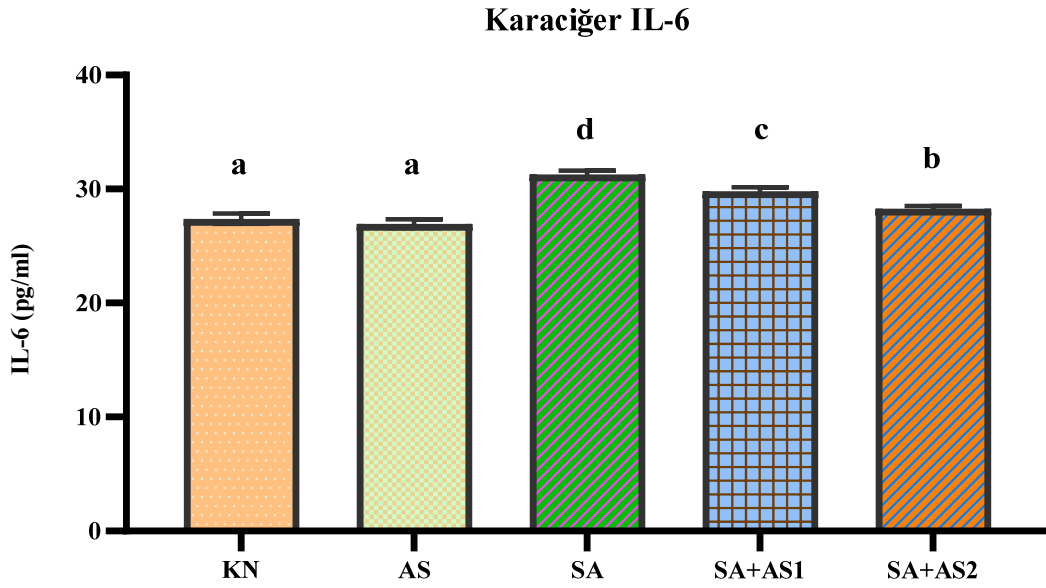
IL-1 β , enflamatuar yanıtın önemli bir aracısı olan başka bir sitokin proteindir. Aktive olmuş makrofajlar, monositler ve dendritik hücrelerin bir alt kümesi tarafından üretilir. İnflamatuar yanıtta ve hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptoz dâhil olmak üzere çeşitli hücrel aktivitelere önemli bir rol oynar. Endotel hücrelerinin indüklenmesinde, nötrofil aktive edilmesinde ve lenfositlerde sitokin üretiminin uyarılmasında rol oynar (Bensi et al., 1987). Sodyum arsenit uygulamasının bir sonucu olarak IL-1 β parametrelerindeki değişiklikler, enflamasyonda bir artışı içerir. Sodyum arsenit, TNF- α , IL-6, gibi diğer enflamatuar belirteçlerle birlikte IL-1 β 'nın yukarı regülasyonunu indükler. Bu yukarı regülasyon, sodyum arsenite maruz kalmanın tetiklediği enflamatuar bir yanıtı işaret eder ve vücudun bağışıklık tepkisinde rol oynayan önemli bir pro-enflamatuar sitokin olan IL-1 β seviyelerinin yükselmesine yol açar (Akaras et al., 2023). Uzun vadede arı sütü, enflamasyonu azaltarak ve detoksifikasyon süreçlerini destekleyerek, ağır metallerin sebep olduğu organ hasarını önleme potansiyeline sahiptir. Özellikle karaciğer ve böbreklerin sağlığını koruyarak, ağır metal maruziyetine karşı organların fonksiyonlarının sürdürülebilirliğini destekler. Ancak, arı sütünün bu çok yönlü mekanizmalarını tam anlamıyla kavrayabilmek ve terapötik uygulamalarını optimize edebilmek için daha fazla araştırma yapılması gereklidir (İbrahim et al., 2023). Arı sütü uygulamasının interleukin-1 β düzeyleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu

çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Yüksek dozajda arı sütü spor jelinin (4500 mg) IL-1 β seviyelerinde bir azalmaya yol açtığını ve bunun da iltihabı hafifletme potansiyeline işaret ettiği tespit edilmiştir (Anugrah et al., 2024). Arı sütü uygulamasının IL-4 ve INF γ düzeylerini iyileştirdiği ve bunun da IL-1 β 'nın modüle edilmesinde potansiyel bir rol olduğu öne sürülmüştür (Abuelfadl et al., 2012). Arı sütünün nano-gümüş ile birlikte sıçanlarda böbrek ve karaciğer IL-1 β seviyelerini azalttığı bulunmuştur ve enflamasyonda modülatör bir rolde olabileceği belirtilmiştir (Almeer et al., 2019b).

Araştırma bulguları, literatürde mevcut olan verilerle uyumlu bir tablo ortaya koymaktadır. Karaciğer dokularında IL-1 β seviyelerinin arsenik maruziyeti sonucu arttığı gözlemlenmiş olup, arı sütünün 100 ve 200 mg/kg dozlarının her ikisinin de IL-1 β seviyelerinde anlamlı bir azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Sodyum arsenit enflamasyon yollarını tetikleyebileceği ya da makrofajların aktivasyonunu artırılarak sitokin salınımını artırabileceğini veya oluşturabileceği muhtemel oksidatif stres ile sitokin üretimini teşvik edebileceği öngörülmektedir. Arı sütü ise tüm bunlara karşı enflamasyon yollarının inhibe edilmesini teşvik edebileceği ya da makrofajların modülasyonunu değiştirerek sitokin üretimini baskılayabileceği veya içerdiği fenolik bileşenler ile enflamasyonu direkt azaltabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün potansiyel anti-inflamatuar etkilerini desteklemekte ve özellikle karaciğer IL-1 β seviyelerini düşürme kapasitesine işaret etmektedir. Dolayısıyla, bu veriler, arsenik maruziyeti gibi durumlarda arı sütünün olası koruyucu etkisine dair önemli ipuçları sunmaktadır.

4.1.10. Karaciğer IL-6 (İnterlökin-6) Seviyesi

Karaciğer IL-6 seviyesi incelendiğinde (Tablo 4.1., Şekil 4.11), kontrol grubu ile AS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı ($p>0,05$) kontrol grubu ile SA+AS2 arı sütü grubu arasında anlamlı farkın bulunduğu ($p<0,05$), AS grubu ile SA grubu arasında önemli fark saptandığı ($p<0,001$), SA grubu ile SA+AS1 ve SA+AS2 grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlemlendiği ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı farkın bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.11. Karaciğer IL-6 Seviyesi Sonuç Ortalamaları.(One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

IL-6, 184 amino asitten oluşan bir protein olan bir sitokindir. Bu sitokin, çeşitli bağışıklık ve bağışıklık dışı hücreler tarafından üretilip salınabilir. T hücreleri, monositler, makrofajlar, endotel hücreleri ve fibroblastlar gibi hücre tipleri IL-6'nın üretimini gerçekleştirebilir. IL-6, immün yanıtın düzenlenmesinde kritik bir rol oynar ve inflamatuvar yanıtların, akut faz reaksiyonlarının ve bağışıklık sistemi aktivasyonunun düzenlenmesinde önemlidir. Bu sebeple, IL-6'nın fonksiyonu ve kaynakları, immünolojik ve inflamatuvar süreçlerin anlaşılmasında kilit bir öneme sahiptir. (Schaper et al., 2015). Çalışmalar, sodyum arsenitin insan epidermal keratinositlerinde hücre dışı ATP tarafından indüklenen IL-6 üretimini artırabileceğini göstermektedir. Sodyum arsenit uygulaması, doza ve doku tipine bağlı olarak sodyum selenit ile birlikte maruz kaldığında sinerjik veya antagonistik etkilerle sıçanların dokularındaki IL-6 seviyelerini artırdığı tespit edilmiştir (Adeyi et al., 2021). Sodyum arsenit, bazı hücre tiplerinde ATP kaynaklı IL-6 üretimini arttırdığı görülmüştür (Sumi et al., 2016). Sodyum arsenit uygulaması, osteoblast benzeri hücrelerde doza bağlı IL-6 sentezini indükler (Miwa et al., 2000). Arı sütü uygulamasının bağışıklık sistemini modüle ettiği ve enflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (Danese et al., 2010). Bu durum potansiyel olarak bağışıklık fonksiyonunun önemli bir modülatörü olan Interleukin-6 parametresinde değişikliklere yol açabilir (Van Hall et al., 2003). Araştırmalar, arı sütü uygulamasının Hepatit B ile enfekte hastalarda

IL-6'nın yanı sıra TNF- α gibi diğer pro-enflamatuar sitokinlerin aşağı regülasyonuna yol açtığını göstermektedir (Naghib et al., 2022). Arı sütü, 4 hafta boyunca beslenen farelerde interlökin-6 düzeylerini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Arı sütü uygulaması IL-6 parametresinde değişikliklere yol açarak dokulardaki seviyelerini düşürmekte ve anti-enflamatuar etkilerini ortaya koymaktadır (Gu et al., 2018). Bu durum, temel enflamatuar sinyal yollarını modüle etme kabiliyeti ile desteklenmekte ve enflamasyonla ilgili durumları yönetmek için doğal bir ilaç olarak potansiyelini vurgulamaktadır. Arı sütü uygulaması (0,5 g/kg) farelerde interlökin-6'yı önemli ölçüde azaltarak bağışıklığı düzenlemiştir (Zhang et al., 2017).

Araştırmada elde edilen sonuçlar, mevcut literatürle uyumlu bir görüntü sergilemektedir. Karaciğer ve böbrek dokularında, arsenik maruziyeti grubunda IL-6 seviyelerinde artış gözlenirken, arı sütü uygulamasının her iki dozunda da IL-6 seviyelerinde belirgin bir azalış saptanmıştır. Sodyum arsenit enflamasyon yolaklarını tetikleyebileceği ya da makrofajların aktivasyonunu artırılarak sitokin salınımını artırabileceğini veya oluşturabileceği muhtemel oksidatif stres ile sitokin üretimini teşvik edebileceği öngörülmektedir. Arı sütü ise tüm bunlara karşı enflamasyon yolaklarının inhibe edilmesini teşvik edebileceği ya da makrofajların modülasyonunu değiştirerek sitokin üretimini baskılayabileceği veya içerdiği fenolik bileşenler ile enflamasyonu direkt azaltabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün anti-inflamatuar özelliklerini güçlü bir şekilde desteklemekte olup, özellikle IL-6 düzeylerini düşürme potansiyeline işaret etmektedir. Dolayısıyla, bu bulgular, arsenik maruziyeti gibi durumlarda arı sütünün koruyucu etkilerini inceleyerek önemli bir bilgi sağlamaktadır.

4.2. Biyokimyasal Profil Analizi: Böbrek Dokusundaki Bulgular

Yapılan çalışmada işçi arılar tarafından üretilen fonksiyonel bir arı ürünü olarak bilinen arı sütünün (100 ve 200 mg/kg) dozlarının sodyum arsenit ile oluşturulan ratlarda deneysel böbrek toksisitesi üzerine etkileri araştırıldı. Kan serumunda ve böbrek dokusunda bazı biyokimyasal bulgular ortalama değerleri ve standart hata değerleri Tablo 4.2'de özetlenmiştir.

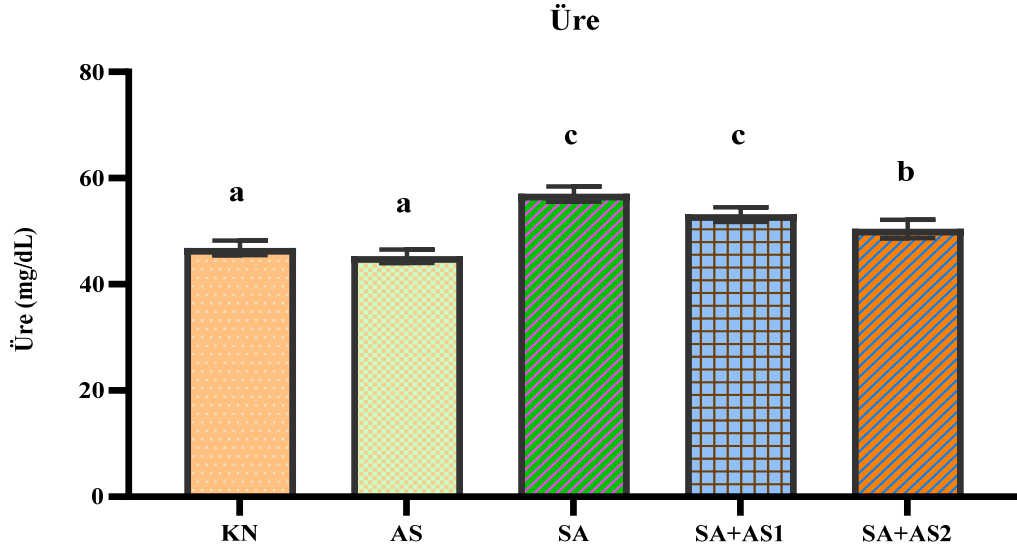
Tablo 4.2. Kan serumunda ve böbrek dokusu bazı biyokimyasal bulgular ortalama değerleri ve standart sapmaları

	KN	AS	SA	SA+AS1	SA+AS2
Üre (mg/dL)	46,86 ± 1,35 ^a	45,29 ± 1,25 ^a	57,00 ± 1,41 ^c	53,14 ± 1,35 ^c	50,43 ± 1,72 ^b
Kreatinin (mg/dL)	0,24 ± 0,02 ^a	0,23 ± 0,02 ^a	0,36 ± 0,01 ^c	0,30 ± 0,02 ^b	0,28 ± 0,01 ^b
Böbrek MDA (nmol/gr doku)	118,99 ± 2,47 ^b	107,07 ± 1,89 ^a	154,51 ± 3,58 ^d	132,79 ± 2,38 ^c	121,90 ± 3,72 ^b
Böbrek GSH (nmol/gr doku)	10,52 ± 0,30 ^a	10,62 ± 0,24 ^a	6,51 ± 0,13 ^d	7,34 ± 0,15 ^c	8,33 ± 0,23 ^b
Böbrek GSH-Px (nmol/gr doku)	28,41 ± 0,96 ^b	35,53 ± 1,15 ^a	10,22 ± 0,37 ^e	13,56 ± 0,56 ^d	21,33 ± 1,22 ^c
Böbrek SOD (nmol/gr doku)	72,16 ± 3,97 ^b	81,15 ± 2,55 ^a	41,86 ± 0,82 ^e	46,91 ± 1,16 ^d	51,84 ± 0,93 ^c
Böbrek KAT (kat/gr doku)	53,86 ± 2,24 ^a	56,56 ± 1,17 ^a	23,17 ± 1,74 ^d	29,24 ± 1,87 ^c	33,48 ± 0,78 ^b
Böbrek TNF-α (ng/L)	50,74 ± 0,42 ^a	49,55 ± 0,84 ^a	69,66 ± 0,63 ^c	57,77 ± 0,90 ^b	51,86 ± 0,84 ^a
Böbrek IL-1β (pg/L)	21,72 ± 0,24 ^b	20,08 ± 0,28 ^a	27,07 ± 0,25 ^c	23,84 ± 0,22 ^d	22,85 ± 0,20 ^c
Böbrek IL-6 (pg/mL)	30,90 ± 0,21 ^a	28,86 ± 0,49 ^a	41,78 ± 0,77 ^d	33,95 ± 0,42 ^c	31,39 ± 0,23 ^b

Kan serumunda ve böbrek dokusu biyokimyasal bulgular (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$). **KN:** Kontrol grubu, **AS:** Arı sütü grubu, **SA:** Sodyum arsenik grubu **SA+AS1:** Sodyum arsenit+arısütü1 (100 mg/kg) grubu, **SA+AS2:** Sodyum arsenit+arısütü2 (200 mg/kg) grubu.

4.2.1. Serum Üre Düzeyi

Serum Üre düzeyi incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.12), kontrol grubu ile AS grubu arasında Üre seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ($p > 0,05$), kontrol grubu ve AS grubu ile SA+AS1 ve SA+AS2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunduğu ($p < 0,001$). SA+AS1 grubu hariç diğer tüm gruplarla SA grubu arasındaki fark anlamlı olduğu ($p < 0,001$). SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p < 0,05$).



Şekil 4.12. Serum Üre Düzeyi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

Serum üre, böbrek hastalıklarının tanısında glomerüler hasarı ve tübüler bozukluğu yansıtan önemli biyobelirteçtir (da Veiga et al., 2021). Üre, protein metabolizmasının bir yan ürünü olarak karaciğerde üretilir (Köse et al., 2021, Prabhu et al., 2022). Kandaki yüksek üre seviyeleri, normalde böbrekler tarafından filtrelenip atıldıkları için böbrek fonksiyonlarının bozulduğunu gösterir (Treacy et al., 2019). Çalışmalar, sodyum arsenit uygulamasının, böbrek hastalıklarının teşhisinde önemli biyobelirteçler olan serum üre seviyelerinin artmasına yol açtığını göstermiştir. Wistar sıçanları üzerinde yapılan araştırmalar, sodyum arsenite maruz kalmanın kan üre azotu ve kreatinin konsantrasyonlarında önemli bir artışa sebep olduğunu ve böbrek hasarını gösterdiğini ortaya koymuştur (Adewale et al., 2018). Sodyum arsenitin sıçanlarda serum üre ve diğer böbrek fonksiyon bozukluğu belirteçlerinde artış göstererek nefrotoksisiteye sebep olduğunu bildirilmiştir (Sharma et al., 2021). Sodyum arsenit uygulamasının, böbrek hastalığı tanısında kritik öneme sahip biyobelirteçlerden olan serum üre düzeylerinin artışıyla tutarlı bir şekilde ilişkilendirildiği bir dizi araştırmada gözlemlenmiştir. Bu bulgular, sodyum arsenitin böbrek fonksiyonları üzerindeki potansiyel etkilerini daha detaylı anlamamıza yardımcı olmaktadır. Serum üre düzeylerinin artışı, böbrek hasarının varlığını veya şiddetini belirlemede önemli bir gösterge olarak kabul edilir ve klinik uygulamalarda böbrek hastalıklarının teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Shahid et al., 2014; S.M.A. et al., 2016; Sharma et al., 2021). Arı sütü uygulamasının, böbrek

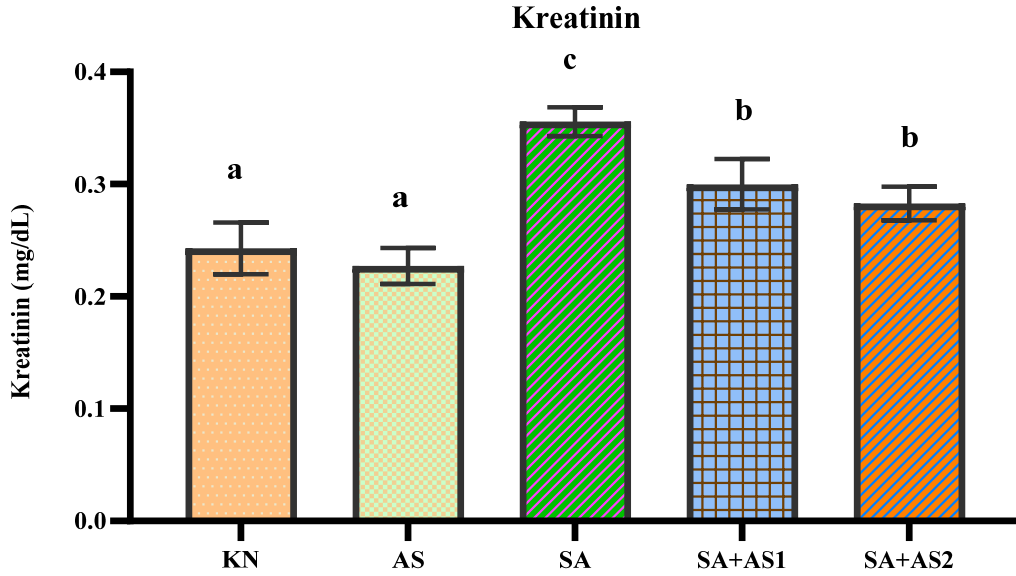
hastalıklarının teşhisinde önemli biyobelirteçler olan serum üre değerleri üzerinde etkileri olduğu belirtilmiştir. Çalışmalar, arı sütünün üre seviyelerini etkili bir şekilde azaltabildiğini göstermiştir. Spesifik olarak, arı sütü takviyesinin nefrotoksik ajanların sebep olduğu üre seviyelerindeki artışı azalttığı, nefroprotektif özelliklerini ve bu önemli biyobelirteçleri düzenleyerek böbrek fonksiyonunu koruma yeteneğini vurguladığı bildirilmiştir (Waykar et al., 2018; Bicer et al., 2019; Salahshoor et al., 2019; Jang et al., 2021).

Yapılan araştırmada, literatür bilgisine paralel olarak sodyum arsenit ile toksikasyona maruz bırakılan ratların serum seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir. Bu artış, sodyum arsenitin böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilediğini ve böbrek hasarına yol açtığını göstermektedir. Arı sütü (100 ve 200 mg/kg dozlarında) uygulamasının, arsenik grubuna göre bu biyokimyasal parametrelerde belirgin bir azalma sağladığı bulunmuştur. Sodyum arsenit, böbrekte toksik etki yaparak böbrek fonksiyonlarını bozabileceği ya da glomerüler filtrasyon hızını düşürerek ürenin kanda birikmesine yol açabileceği veya böbrek tübüllerinde hasara yol açarak üre atılımının engellenmesine sebep olabileceği öngörülmektedir. Arı sütü ise bu etkilerin tersine antioksidan etki ile böbrek hücrelerini oksidatif hasara karşı koruyabileceği ve nefrotoksisiteyi azaltabileceği ya da enflamasyonu azaltarak böbrek fonksiyonlarını düzeltmeye yardımcı olabileceği veya böbrek hücrelerinin yenilenmesini teşvik ederek hücre onarımına sebep olabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün sodyum arsenit tarafından tetiklenen böbrek hasarını azaltma potansiyeline işaret etmektedir. Ayrıca, arı sütünün kan dolaşımındaki üre seviyelerini modüle etme kapasitesi, böbrek hastalıklarının yönetiminde umut verici bir terapötik ajan olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, arı sütünün nefrotoksik etkenlere karşı koruyucu etkilerini desteklemekte ve böbrek fonksiyonlarının iyileştirilmesinde potansiyel kullanımını önermektedir.

4.2.2. Serum Kreatinin Düzeyi

Serum Kreatinin düzeyi incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.13), kontrol grubu ile AS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ($p>0,05$), kontrol grubu ve AS grubu ile SA+AS1 ve SA+AS2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunduğu

($p<0,001$). SA grubu ile diğer tüm gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 4.13. Serum Kreatinin Düzeyi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

Serum kreatinin seviyeleri, böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde ve böbrek hastalıklarının tanısında kritik bir biyobelirteç olarak kullanılır. Bu parametre, glomerüler filtrasyon hızındaki azalmayı ve böbreklerdeki glomerüler hasarı yansıtmadan yanı sıra, tübüler fonksiyon bozukluklarını da gösterebilir. Yükselen serum kreatinin düzeyleri, glomerüllerin filtrasyon kapasitesinin azaldığını ve bunun sonucunda kreatininin kanda biriktiğini işaret eder. Bu sebeple, serum kreatinin ölçümleri, akut ve kronik böbrek hastalıklarının erken tespitinde ve izlenmesinde önemli bir role sahiptir. (da Veiga et al., 2021). Kreatinin karaciğerde ve kaslarda üretilir (Prabhu et al., 2022). Kas metabolizmasının atık ürünü olan kreatinin, kas hücreleri tarafından sabit bir oranda üretilir ve böbrekler tarafından atılır (Zhang et al., 2019). Sodyum arsenit uygulaması serum üre ve kreatinin seviyelerinde artışa yol açarak böbrek fonksiyon bozukluğuna işaret etmektedir (Yousef et al., 2008). Sodyum arsenit uygulamasının, böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kritik bir biyobelirteç olan serum kreatinin

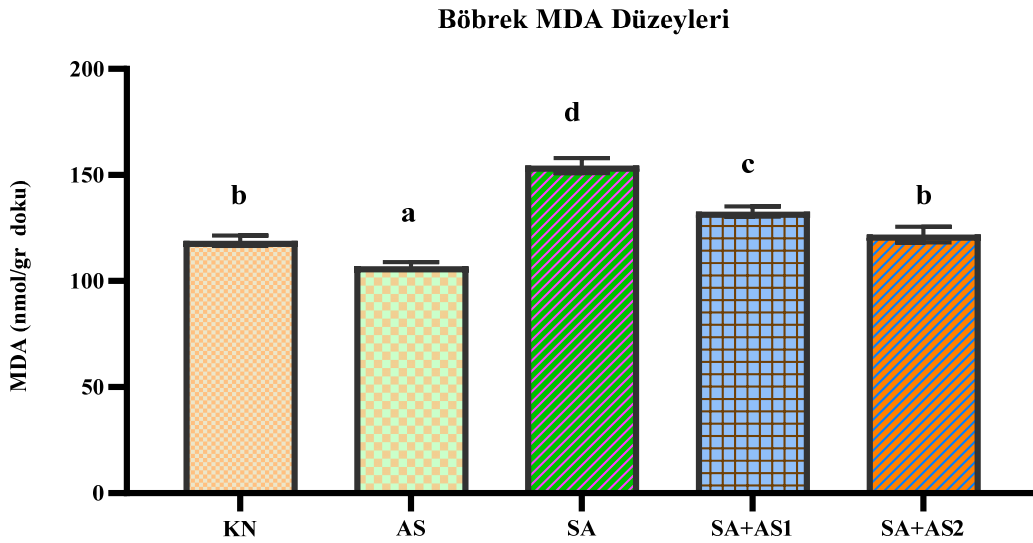
düzeylerinde artışa sebep olduğu, çeşitli araştırmalarda tutarlı bir şekilde gözlemlenmiştir. Bu çalışmalar, sodyum arsenitin glomerüler filtrasyon hızını düşürerek ve tübüler hasara yol açarak böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilediğini ortaya koymaktadır. Serum kreatinin düzeylerindeki artış, glomerüler hasar ve tübüler bozuklukların bir göstergesi olarak, böbrek hasarının varlığını ve şiddetini belirlemede önemli bir rol oynamaktadır. Bu sebeple, serum kreatinin ölçümleri klinik uygulamalarda böbrek hastalıklarının tanısında ve izlenmesinde yaygın olarak kullanılmakta olup, sodyum arsenitin böbrek fonksiyonları üzerindeki potansiyel zararlı etkilerini daha derinlemesine anlamamıza imkan sağlamaktadır (Shahid et al., 2014; S.M.A. et al., 2016; Sharma et al., 2021). Araştırmalar, arı sütü uygulamasının böbrek hastalıklarının teşhisinde önemli bir biyobelirteç olan serum kreatinin seviyeleri üzerinde belirgin etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Arı sütü, nefrotoksik ajanların sebep olduğu serum kreatinin düzeylerindeki artışı etkili bir şekilde azaltarak böbrek fonksiyonunu koruyabilme potansiyeline sahiptir. Bu bulgular, arı sütünün nefroprotektif özelliklere sahip olduğunu ve böbrek fonksiyonlarını düzenleyerek serum kreatinin seviyelerini düşürebildiğini göstermektedir. Özellikle, arı sütü takviyesinin böbrek hasarına karşı koruyucu etkisi, bu önemli biyobelirtecini seviyelerini optimize ederek böbrek sağlığının sürdürülebilmesinde önemli bir rol oynayabileceğini vurgulamaktadır (Waykar et al., 2018; Bicer et al., 2019; Salahshoor et al., 2019; Jang et al., 2021).

Yapılan çalışmada, sodyum arsenit ile toksikasyona maruz bırakılan ratların serum kreatinin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığını gösterilmiştir. Bu artış, sodyum arsenitin böbrek fonksiyonlarını bozarak böbrek hasarına yol açabileceğini göstermektedir. Buna karşılık, 100 ve 200 mg/kg dozlarında uygulanan arı sütü, arsenik toksikasyonu grubuna göre serum kreatinin seviyelerinde belirgin bir azalma sağlamıştır. Sodyum arsenit, böbrekte toksik etki yaparak böbrek fonksiyonlarını bozabileceği ya da glomerüler filtrasyon hızını düşürerek ürenin kanda birikmesine yol açabileceği veya böbrek tübüllerinde hasara yol açarak kreatinin atılımının engellenmesine sebep olabileceği öngörülmektedir. Arı sütü ise, bu etkilerin tersine antioksidan etki ile böbrek hücrelerini oksidatif hasara karşı koruyabileceği ve nefrotoksisiteyi azaltabileceği ya da enflamasyonu azaltarak böbrek fonksiyonlarını düzeltmeye yardımcı olabileceği veya böbrek hücrelerinin yenilenmesini teşvik ederek hücre onarımına sebep olabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün sodyum

arsenit kaynaklı böbrek hasarını hafifletme potansiyeline sahip olabileceğine ve kan dolaşımındaki kreatinin seviyelerini düzenleyerek böbrek fonksiyonlarını koruyabileceğini gösterebilir. Dolayısıyla, arı sütünün nefrotoksik etkilere karşı koruyucu özellikleri, böbrek hastalıklarının tedavisinde umut vadeden bir terapötik ajan olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, arı sütünün böbrek fonksiyonlarının iyileştirilmesinde ve böbrek hasarının önlenmesinde potansiyel bir rol oynayabileceğini desteklemektedir.

4.2.3. Böbrek Malondialdehit (MDA) Düzeyi

Böbrek MDA düzeyleri incelendiğinde (Tablo 4.3., Şekil 4.14), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı bir düşüş gözlemlendiği ($p<0,001$), SA grubu ile kontrol grubu arasındaki farkın anlamlı olduğu ($p<0,001$), AS grubuna göre SA grubunda da anlamlı bir farkın olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 ile SA+AS2 grubu arasında da anlamlı farkın bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.14. Böbrek MDA Düzeyi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

MDA, hücre hasarına yol açabilen ve yaşlanma sürecini hızlandırabilen lipid peroksidasyonunun bir yan ürünüdür (Situmorang et al., 2020). Sodyum arsenitin uzun süreli etkisi altında kalan organizmalarda, oksidatif stres artışı gözlemlenebilir ve bu durum lipid peroksidasyonunu hızlandırarak MDA üretimini artırabilir. MDA

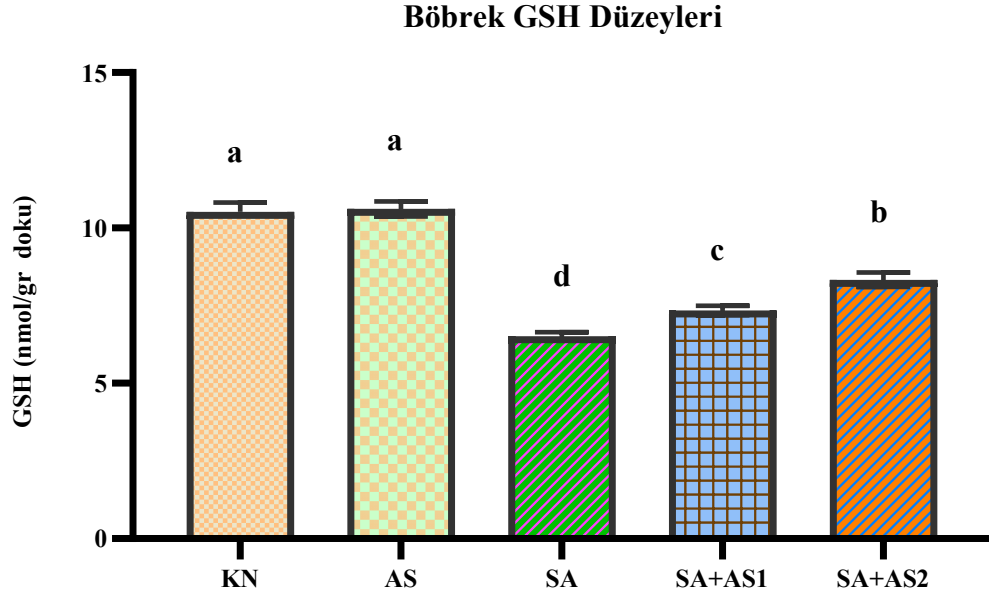
seviyelerindeki bu artış, hücre zarlarının ve diğer biyomoleküllerin hasar görmesi ile ilişkilendirilebilir ve sodyum arsenite maruziyetinin potansiyel toksik etkilerini gösterebilir. Bu sebeple, sodyum arsenitin indüklediği oksidatif stresin ve artan lipid peroksidasyonunun bir sonucu olarak MDA seviyelerindeki artış, biyokimyasal bir gösterge olarak değerlendirilebilir (Rezaei et al., 2013). Sodyum arsenite kronik maruziyet, çok sayıda çalışmadaki bulgularla kanıtlandığı üzere, bu dokularda MDA seviyelerinde artışa yol açmaktadır (Azab et al., 2018; Gholamine et al., 2019; Nozohour et al., 2019). Öte yandan arı sütünün MDA düzeylerini düşürdüğü ve potansiyel olarak sağlık üzerindeki olumsuz etkisini hafiflettiği gösterilmiştir. (Aubourg, 2007).

Yapılan çalışmada, literatür verilerine paralel olarak, sodyum arsenitin böbrek dokularında MDA seviyelerini kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artırdığı saptanmıştır. Ancak, sodyum arsenit ile birlikte farklı dozlarda uygulanan arı sütü kombinasyonlarının, bu dokulardaki MDA seviyelerini önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. Özellikle yüksek dozda arı sütü uygulamasının, MDA seviyelerini daha belirgin şekilde düşürdüğü belirlenmiştir. Sodyum arsenit, serbest radikallerin üretimini artırarak hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna, lipid peroksidasyonuna ve sonuç olarak hücre zarının yapısının bozulmasına, geçirgenliğinin artmasına ya da hücre ölümüne sebep olabilir. Buna karşılık, arı sütü, içerdiği antioksidan bileşenler ve hücre antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak lipid peroksidasyonunu inhibe edebilecek bir potansiyele sahiptir, hücre zarını stabilize edebilir veya zararlı etkilerini azaltabileceği öngörülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün antioksidan özellikleri sayesinde sodyum arsenit kaynaklı oksidatif stresin zararlı etkilerini azaltmada etkili olabileceğini öngörmektedir. Sonuçlar, arı sütünün potansiyel terapötik kullanımlarını desteklemekte ve oksidatif stres ile ilişkili doku hasarlarına karşı koruyucu bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

4.2.4. Böbrek Glutasyon (GSH) Düzeyi

Böbrek GSH düzeyleri incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.15), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı bir artış gözlenmediği ($p>0,05$), SA grubu ile kontrol grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,001$), AS grubuna göre SA

grubunda da anlamlı bir farkın olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,001$).



Şekil 4.15. Böbrek GSH Düzeyi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

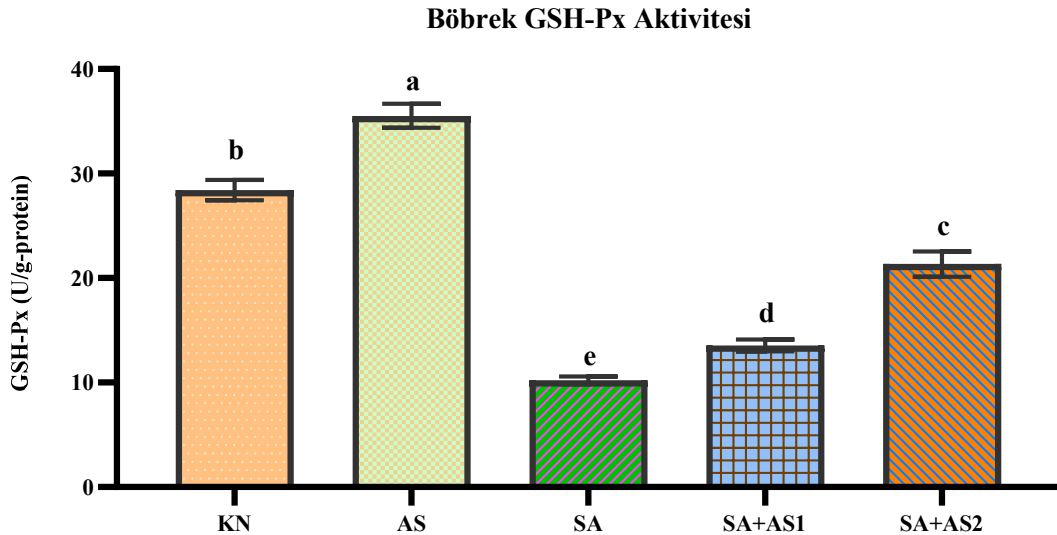
GSH, oksidatif strese karşı hücrel savunma mekanizmalarında önemli bir rol oynayan temel bir antioksidandır. (Pin, 2013). Arsenite maruziyetinin böbrekteki glutatyon (GSH) düzeylerini düşürdüğü ve lipid peroksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Sodyum arsenit maruziyeti, böbrek gibi dokularda GSH aktivitesinin ve içeriğinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir, bu da oksidatif stresin artmasına ve doku hasarına katkıda bulunabilir (Pairor et al., 2021). Sıçanlarda yapılan deneylerde arı sütü takviyesinin böbrek dokularındaki GSH seviyelerini artırdığı gösterilmiştir (Çavuşoğlu et al., 2009; Aksoy et al., 2019; Almeer et al., 2019a).

Yapılan çalışmada literatür bilgisine uyumlu olarak sodyum arsenit kaynaklı toksisitenin böbreklerde GSH seviyelerini belirgin şekilde azalttığı, bunun sonucunda antioksidan kapasitenin düştüğü ve lipid peroksidasyonunun artarak hücrel hasara yol açtığı öngörülmektedir. Arı sütünün uygulanması, sodyum arsenit grubuna kıyasla böbreklerdeki GSH seviyelerini anlamlı derecede doza bağlı olarak artırdığı

görülmektedir. Sodyum arsenit, hücrede reaktif oksijen türlerinin üretimine sebep olarak GSH moleküllerini okside edebileceği ya da sodyum arsenit GSH molekülünün üretimine sebep olan enzimleri inhibe etmiş olabileceği veya arsenit GSH molekülüne direkt bağlanarak GSH depolarının hücre içinde tüketilmesine sebep olmuş olabileceği öngörülmektedir. Tüm bunlara karşı arı sütü, antioksidan savunmayı artırabileceği, içerdiği antioksidan bileşikler sayesinde oluşabilecek ROS'u inhibe edebileceği ya da GSH sentezinde kullanılan amino asitlerin hücre içi konsantrasyonlarını artırarak GSH biyosentezini teşvik edebileceği veya arı sütü GSH sentezinde yer alan enzimlerin aktivitesini artırabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün oksidatif strese karşı savunma mekanizması sağlayarak potansiyel koruyucu etkilerine işaret ve toksik hasarların önlenmesinde etkili bir ajan olarak kullanılabileceğini öngörmektedir.

4.2.5. Böbrek Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi

Böbrek GSH-Px aktivitesi incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.16), kontrol grubuna kıyasla AS ve SA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlemlendiği ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,001$).



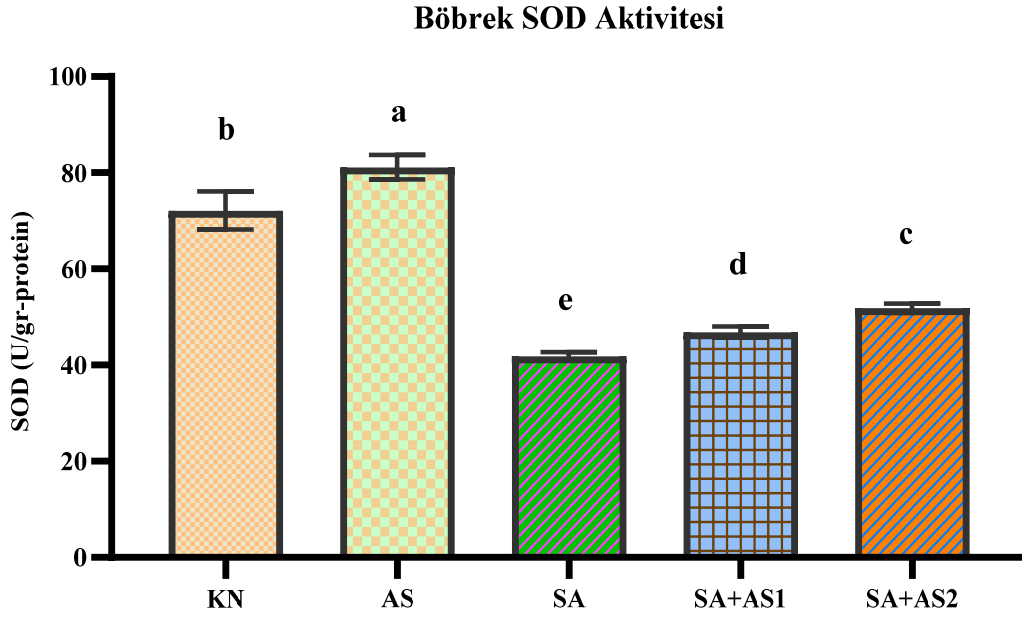
Şekil 4.16. Böbrek GSH-Px Aktivitesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

GSH-Px veya glutatyon peroksidaz, hücreleri oksidatif hasardan koruyan önemli bir antioksidan enzimdir (Toyoda et al., 1989). Sodyum arsenit enjeksiyonunun oksidatif stres tepkisinin bir parçası olarak GSH-Px aktivitesinde bir azalmaya yol açabileceği gösterilmiştir (Silva-Adaya et al., 2020; Pairor et al., 2021). Arı sütü, çeşitli çalışmalarda glutatyon peroksidaz aktivitesi üzerinde önemli etkiler göstermiştir. Araştırmalar, arı sütü uygulamasının malatyon kaynaklı toksisiteden etkilenen dokularda GSH-Px seviyelerini artırdığını ve antioksidan özelliklerini gösterdiğini belirtmiştir (Aksakal et al., 2021; Wang et al., 2022).

Yapılan araştırmada elde edilen veriler, literatürdeki bulgularla uyumlu olarak, sodyum arsenit maruziyetinin böbrek GSH-Px aktivitelerinde azalmaya yol açtığını göstermiştir. Bununla birlikte, hem 100 mg/kg hem de 200 mg/kg dozlarında uygulanan arı sütü, GSH-Px aktivitelerini anlamlı derecede artırmıştır. Sodyum arsenit, GSH-Px enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanarak bu enzimlerin aktivitelerini inhibe edebileceği ya da enzimlerin ilgili gen ekspresyonlarını baskılayabileceğini veya oluşturabileceği oksidatif stres ile enzimlerin protein yapılarının bozularak fonksiyonlarını kaybedebilecekleri öngörülmektedir. Tüm oluşabilecek bu etkilere karşı arı sütü içerdiği bileşenler ile enzimlerin aktivasyonunu artırabileceği ya da enzimlerin gen ekspresyonunu artırarak enzim sentezini teşvik edebileceği veya içerdiği antioksidanlar ile oksidatif stresi azaltarak enzimlerin fonksiyonlarını koruyabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün antioksidan enzim sistemlerini destekleyici etkilerini doğrulamakta ve arı sütünün oksidatif hasara karşı koruyucu rolünü desteklemektedir. Arı sütünün, sodyum arsenit kaynaklı oksidatif stresi hafifletmede etkin bir biyolojik ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

4.2.6. Böbrek Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

Böbrek SOD aktivitesi incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.17), kontrol grubuna kıyasla AS ve SA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlemlendiği ($p<0,001$), kontrol ve AS grubuna kıyasla SA grubunda anlamlı bir azalma olduğu ($p<0,001$), SA grubu ile SA+AS1 grubu arasındaki farkın anlamlı olduğu ($p<0,05$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.17. Böbrek SOD Aktivitesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

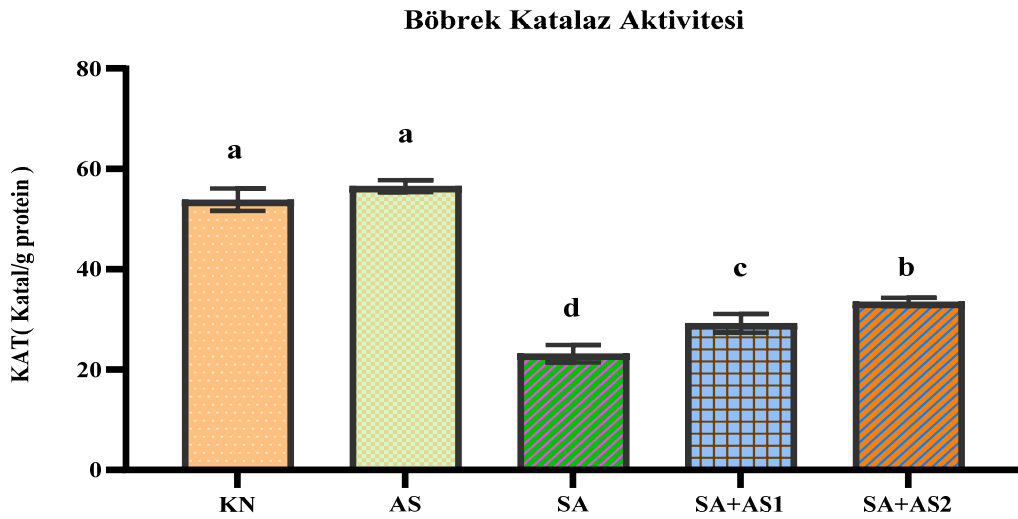
SOD veya süperoksit dismutaz, insan sağlığında kilit rol oynayan önemli bir antioksidan enzimdir (Johnson et al., 2005). Ağır metaller, tuz stresi ve UV-B radyasyonu gibi abiyotik stres faktörlerinin etkilerini azaltmaya yardımcı olduğu bilinmektedir (Szollosi, 2014). Arsenite maruz kalmanın reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu artırdığı ve *Caenorhabditis elegans*'ta stres tepkisi ve antioksidan genlerin ifadesini değiştirdiği bulunmuştur. Bu durum, arsenitin önemli bir antioksidan enzim olan süperoksit dismutaz üzerinde inhibe edici bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir (Wang et al., 2012). Arı sütünün SOD seviyeleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceği ve potansiyel olarak vücudun antioksidan savunmasını artırabileceğini ve arı sütünün SOD aktivitesi üzerindeki etkisi üzerine yapılan araştırmalar, doza bağlı bir şekilde hücre içi oksidasyonu azaltabildiğini göstermiştir (Jamnik et al., 2007).

Araştırmada elde edilen veriler, literatürdeki bulgularla uyumlu olarak, böbrek dokusunda sodyum arsenit uygulamasının süperoksit dismutaz aktivitesinde belirgin bir azalmaya sebep olduğunu göstermektedir. Buna karşılık, her iki dozda uygulanan arı sütü, SOD enzim aktivitesini anlamlı derecede artırmıştır. Bu bulgu, arı sütünün böbrek dokusunda antioksidan enzim sistemlerini destekleyici ve oksidatif stresle mücadelede koruyucu

etkilerini doğrulamaktadır. Özellikle arı sütünün SOD aktivitesini artırma yeteneği, böbrek dokusunda oksidatif hasarın azaltılmasında önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Sodyum arsenit, SOD enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanarak bu enzimlerin aktivitelerini inhibe edebileceği ya da enzimlerin ilgili gen ekspresyonlarını baskılayabileceğini veya oluşturabileceği oksidatif stres ile enzimlerin protein yapılarının bozularak fonksiyonlarını kaybedebilecekleri öngörülmektedir. Tüm oluşabilecek bu etkilere karşı arı sütü içerdiği bileşenler ile enzimlerin aktivasyonunu artırabileceği ya da enzimlerin gen ekspresyonunu artırarak enzim sentezini teşvik edebileceği veya içerdiği antioksidanlar ile oksidatif stresi azaltarak enzimlerin fonksiyonlarını koruyabileceği düşünülmektedir. Bu sonuçlar, mevcut literatürle tutarlılık sergilemekte ve arı sütünün böbrek dokusundaki antioksidan potansiyelini vurgulayarak, oksidatif stresin zararlarından korunmada etkili bir bileşen olabileceğini gösterebilir.

4.2.7. Böbrek Katalaz (KAT) Aktivitesi

Böbrek KAT aktivitesi incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.18), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı bir artış gözlenmediği ($p>0,05$), kontrol grubu ile SA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu ($p<0,001$), SA grubu ile AS grubu arasında anlamlı farklar gözlemlendiği ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



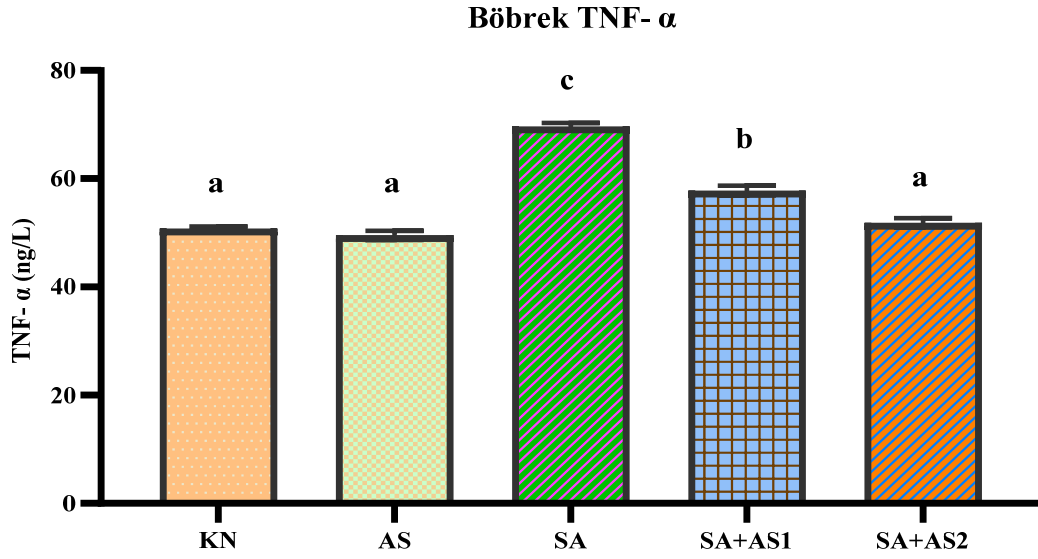
Şekil 4.18. Böbrek KAT Aktivitesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

Katalaz, hücrelerdeki oksidatif stresin azaltılmasında önemli bir rol oynayan önemli bir antioksidan enzimdir (Rasheed, 2024). Çalışmalarda sodyum arsenit uygulaması, bozulmuş oksidatif stres-antioksidan dengesinin yanı sıra KAT aktivitesinin inhibe edilmesine yol açtığı tespit edilmiştir (Nozohour et al., 2019). Arı sütünün çeşitli çalışmalarda katalaz aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (Supabphol, 2013; Nejati et al., 2016; Aslan et al., 2023).

Yapılan çalışma, literatürdeki verilerle uyumlu olarak, sodyum arsenit uygulanan grupta böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinde belirgin bir azalma olduğunu ortaya koymuştur. Buna karşılık, arı sütü uygulamasının her iki dozunda (100 mg/kg ve 200 mg/kg) katalaz aktivitesinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Sodyum arsenit, KAT enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanarak bu enzimlerin aktivitelerini inhibe edebileceği ya da enzimlerin ilgili gen ekspresyonlarını baskılayabileceğini veya oluşturabileceği oksidatif stres ile enzimlerin protein yapılarının bozularak fonksiyonlarını kaybedebilecekleri öngörülmektedir. Tüm oluşabilecek bu etkilere karşı arı sütü içerdiği bileşenler ile enzimlerin aktivasyonunu artırabileceği ya da enzimlerin gen ekspresyonunu artırarak enzim sentezini teşvik edebileceği veya içerdiği antioksidanlar ile oksidatif stresi azaltarak enzimlerin fonksiyonlarını koruyabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün antioksidan enzim sistemlerini güçlendirici etkilerini, özellikle de katalaz aktivitesini artırarak böbrek dokusundaki oksidatif stresi azaltma potansiyelini doğrulamaktadır. Arı sütü uygulamasının, sodyum arsenitin sebep olduğu oksidatif hasara karşı böbrek dokusunu koruyucu bir rol oynadığı ve hücrel H_2O_2 detoksifikasyonunu desteklediği öngörülmektedir.

4.2.8. Böbrek TNF- α (Tümör Nekroz Faktör Alfa) Seviyesi

Böbrek TNF- α seviyeleri incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.19), kontrol grubu ile AS grubu arasında anlamlı bir farkın olmadığı ($p>0,05$), SA grubu ile kontrol grubu ve AS grubu arasında anlamlı farklar gözlemlendiği ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,001$).



Şekil 4.19. Böbrek TNF- α Seviyesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

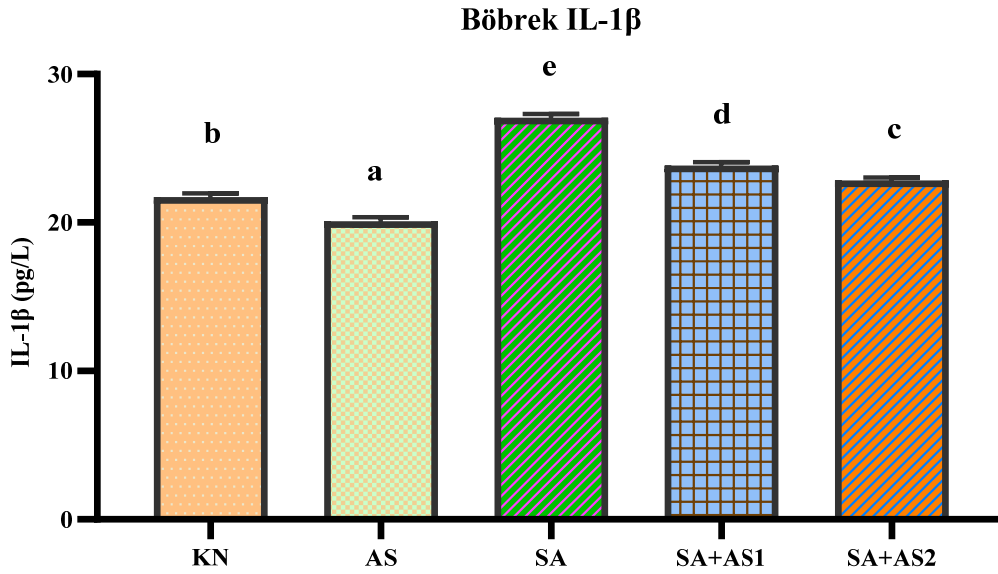
TNF- α , enflamasyon ve bağışıklık yanıtında kritik bir rol oynayan ve makrofajlar ile diğer bağışıklık hücreleri tarafından salgılanan bir sitokindir (You et al., 2021). TNF- α , özellikle akut enflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde merkezi bir role sahiptir ve enfekte veya hasar görmüş hücrelerin immün sistem tarafından tanınmasını ve ortadan kaldırılmasını sağlar. Bu sitokin, hem pro-enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar süreçleri tetikleyerek, hücre proliferasyonu, apoptoz ve nekroz gibi çeşitli biyolojik süreçleri etkiler (Pesce et al., 2022). TNF- α 'nın aşırı veya düzensiz salınımı, romatoid artrit gibi kronik enflamatuvar hastalıkların patogenezinde önemli bir etken olarak tanımlanmıştır. Bu sebeple, TNF- α 'nın biyolojik aktivitesinin modülasyonu, çeşitli enflamatuvar ve otoimmün hastalıkların tedavisinde potansiyel bir hedef olarak büyük ilgi görmektedir (Suprpto et al., 2022). Sodyum arsenit uygulamasının TNF- α seviyelerini artırabileceği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Afolabi et al., 2013; Liu et al., 2014; Singhirunnusorn et al., 2018). Araştırmalar, arı sütünün içerdiği proteinler, peptitler, fenolik bileşikler ve yağ asitleri gibi bileşenlerin, enflamatuvar yanıtları düzenleyen sitokinlerin salınımını modüle edebildiğini göstermiştir (Bagameri et al., 2023). Arı sütü, çeşitli biyolojik aktif bileşenleri sayesinde TNF- α seviyelerinin azalmasına katkıda bulunabilecek belirgin anti-enflamatuvar özellikler sergilemektedir. Özellikle, arı sütünün TNF- α üretimini inhibe ederek pro-enflamatuvar süreçleri

baskıladığı ve böylece enflamasyonun şiddetini azaltabileceği öne sürülmüştür (Minegaki et al., 2022a; Uthaibutra et al., 2023).

Yapılan çalışmanın verileri, literatürdeki bulgularla tutarlılık göstermekte olup, arsenik maruziyetinin karaciğer ve böbrek dokularında TNF- α seviyelerini artırdığını, ancak arı sütü uygulamasının bu seviyeleri düşürdüğünü ortaya koymuştur. Spesifik olarak, arı sütünün 100 ve 200 mg/kg dozlarının her ikisi de TNF- α seviyelerinde anlamlı bir azalmaya yol açmıştır. Sodyum arsenit enflamasyon yollarını tetikleyebileceği ya da makrofajların aktivasyonunu artırılarak sitokin salınımını artırabileceğini veya oluşturabileceği muhtemel oksidatif stres ile sitokin üretimini teşvik edebileceği öngörülmektedir. Arı sütü ise tüm bunlara karşı enflamasyon yollarının inhibe edilmesini teşvik edebileceği ya da makrofajların modülasyonunu değiştirerek sitokin üretimini baskılayabileceği veya içerdiği fenolik bileşenler ile enflamasyonu direkt azaltabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün anti-enflamatuar etkilerini doğrulamakta ve TNF- α seviyelerini düşürme potansiyeline işaret etmektedir. Ayrıca, arı sütünün arsenik kaynaklı enflamatuar hasara karşı koruyucu bir rol oynayabileceğini önermekte ve bu doğrultuda mevcut literatürle uyum sergilemektedir. Sonuçlar, arı sütünün enflamasyonun düzenlenmesinde biyolojik ajan olarak kullanılabileceğini ve özellikle arsenik maruziyeti durumlarında terapötik bir potansiyel taşıdığını göstermektedir.

4.2.9. Böbrek IL-1 β (İnterlökin-1 Beta) Seviyesi

Böbrek IL-1 β (seviyeleri incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.20), kontrol grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı bir azalış gözlemlendiği ($P<0.001$), kontrol grubu ile SA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu ($P<0.001$), kontrol grubu ile SA+AS1 SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu ($P<0.05$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($P<0.05$).



Şekil 4.20. Böbrek IL-1 β Seviyesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

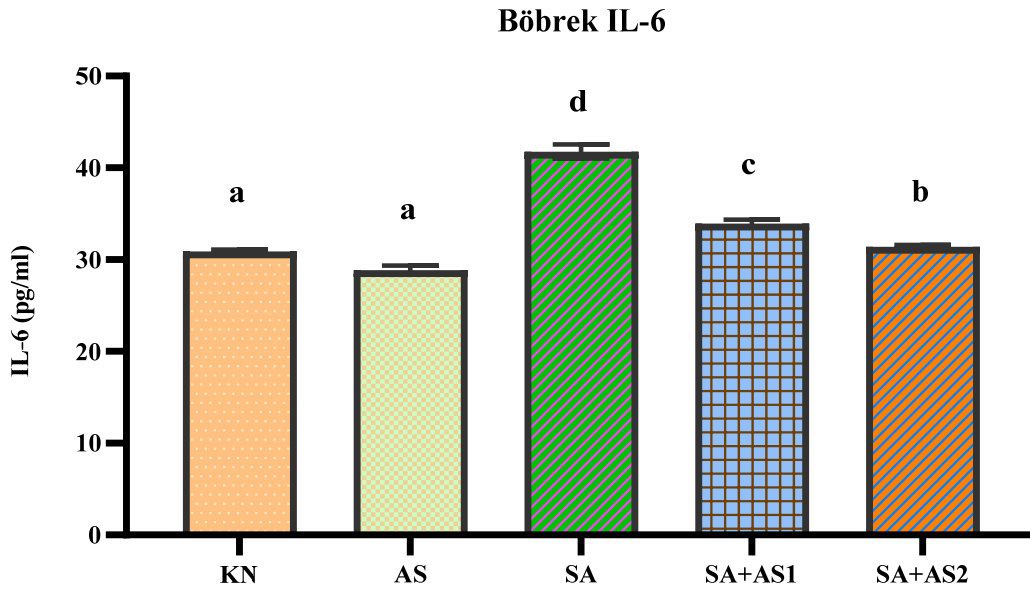
IL-1 β , vücudun inflamatuvar yanıtında anahtar rol oynayan, ateşe ve doku hasarına sebep olan proinflamatuvar bir sitokindir (Dinarello, 2009). IL-1 β aynı zamanda inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde de yer alır (Athornberry, 1994). Çeşitli araştırmalarda, sodyum arsenite maruz kalmanın IL-1 β seviyelerini artırabileceği bildirilmiştir (Mehrzadi et al., 2021; Şimşek et al., 2023). Arı sütü uygulamasının IL-1 β seviyesini düşürebileceği ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Yang et al., 2018; Ali et al., 2021; Benzigül et al., 2021).

Araştırma bulguları, mevcut literatürle genel olarak uyumlu bir tablo sergilemektedir. Araştırmada, arsenik grubunda böbrek dokularında IL-1 β seviyelerinde artış gözlenmiş olup, arı sütü uygulamasının hem 100 mg/kg hem de 200 mg/kg dozlarında IL-1 β seviyelerinde belirgin bir azalma tespit edilmiştir. Sodyum arsenit enflamasyon yollarını tetikleyebileceği ya da makrofajların aktivasyonunu artırılarak sitokin salınımını artırabileceğini veya oluşturabileceği muhtemel oksidatif stres ile sitokin üretimini teşvik edebileceği öngörülmektedir. Arı sütü ise tüm bunlara karşı enflamasyon yollarının inhibe edilmesini teşvik edebileceği ya da makrofajların modülasyonunu değiştirerek sitokin üretimini baskılayabileceği veya içerdiği fenolik bileşenler ile enflamasyonu direkt azaltabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün potansiyel anti-inflamatuvar etkilerini desteklemekte ve özellikle böbrek IL-1 β seviyelerini azaltma kapasitesine işaret etmektedir. Dolayısıyla, arsenik maruziyeti gibi durumlarda arı

sütünün koruyucu bir rol oynayabileceği olasılığı gündeme gelmektedir. Bu veriler, arı sütünün terapötik potansiyelini daha ayrıntılı araştırmalarla değerlendirmek için önemli bir temel sağlamaktadır.

4.2.10. Böbrek IL-6 (İnterlökin-6) Seviyesi

Böbrek IL-6 seviyeleri incelendiğinde (Tablo 4.2., Şekil 4.21), üzerine yapılan analizlerde, kontrol grubu ile AS grubu arasında anlamlı bir farkın olmadığı ($p>0,05$), kontrol grubuna ve AS grubuna kıyasla SA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.21. Böbrek IL-6 Seviyesi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

Çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahip bir sitokin olan IL-6, vücudun yaralanmaya karşı savunma tepkisinde, bağışıklık ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde, hepatik akut faz protein sentezinde, hematopoezde ve kemik metabolizmasında önemli bir rol oynar (Lotz, 1995). IL-6, akut faz proteinlerinin üretimini indükleyen ve pıhtılaşma kaskadını uyararak inflamatuvar yanıtta katkıda bulunan pro-inflamatuvar bir sitokindir (Villar-

Fincheira et al., 2021). Sodyum arsenitin, çeşitli hücre tiplerinde ve dokularında IL-6 seviyelerini arttırdığı yapılan çalışmalar ile bildirilmiştir (Hershko et al., 2002; Kimura et al., 2010; Sumi et al., 2016). Arı sütü uygulamasının, araştırma bulgularına dayanarak IL-6 seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Yuno et al., 2020; Pourmobini et al., 2021; Minegaki et al., 2022b).

Araştırmada elde edilen sonuçlar, mevcut literatürle genel olarak uyumlu bir tablo sergilemektedir. Böbrek dokularında arsenik maruziyeti grubunda IL-6 seviyelerinde anlamlı bir artış gözlenirken, arı sütü uygulamasının hem 100 mg/kg hem de 200 mg/kg dozlarında IL-6 seviyelerinde belirgin bir azalma tespit edilmiştir. Sodyum arsenit enflamasyon yollarını tetikleyebileceği ya da makrofajların aktivasyonunu artırarak sitokin salınımını artırabileceğini veya oluşturabileceği muhtemel oksidatif stres ile sitokin üretimini teşvik edebileceği öngörülmektedir. Arı sütü ise tüm bunlara karşı enflamasyon yollarının inhibe edilmesini teşvik edebileceği ya da makrofajların modülasyonunu değiştirerek sitokin üretimini baskılayabileceği veya içerdiği fenolik bileşenler ile enflamasyonu direkt azaltabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün anti-inflamatuar özelliklerine dair önemli kanıtlar sunmakta ve özellikle IL-6 düzeylerini düşürme potansiyeline işaret etmektedir. Arsenik maruziyeti gibi inflamatuvar durumlarda arı sütünün koruyucu etkilerini daha detaylı araştırmalarla değerlendirmek için bu veriler önemli bir temel oluşturmaktadır. Bu sonuçlar, arı sütünün terapötik kullanımına yönelik ileri çalışmaların gerekliliğini vurgulamaktadır.

4.3. Bazı Hematolojik Parametreler

Bazı Hematolojik Parametreler incelendiğinde (Tablo 4.3) kontrol grubu ile diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmada, hematolojik değerlerde anlamlı farklar bulundu.

Kontrol ile SA grubu arasında, lökosit (WBC) değerlerde anlamlı farklar bulunduğu ($p<0,001$), trombosit (PLT) ($p<0,001$), hematokrit (HCT) gibi diğer parametrelerde de farklılıklar gözlemlendiği ($P<0,05$), kontrol ile SA+AS1 grubu arasında, WBC değerinde anlamlı farklar bulunduğu ($p<0,05$), kontrol ile SA+AS2 grubu arasında HCT değerinde anlamlı fark olduğu tespit edildi ($p<0,05$),

Arı sütü grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında, hematolojik değerlerde anlamlı farklar bulundu. AS ile SA grubu arasında, trombosit (PLT) değerinde anlamlı bir fark olduğu, AS ile SA+AS1 grubu arasında, beyaz kan hücreleri (WBC) değerlerinde anlamlı farklar görüldüğü ($p<0,05$), AS ile SA+AS2 grubu arasında hemoglobin (HGB) değerinde anlamlı farklar olduğu tespit edildi ($p<0,001$).

Arsenik grubu ile diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmada, hematolojik değerlerde anlamlı farklar bulundu. SA ile SA+AS1 grubu arasında trombosit (PLT) değerlerinde anlamlı farklar olduğu ($p<0,05$), SA ile SA+AS2 grubu arasında, trombosit (PLT) değerlerinde anlamlı farklar olduğu tespit edildi ($p<0,001$).

SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu karşılaştırıldığında, hematolojik değerlerde anlamlı farklar bulundu. SA+AS1 ile SA+AS2 grupları arasında hemoglobin (HGB) değeri ($p<0,05$) anlamlı bulunurken, diğer hematolojik değerlerin ise ($p>0,05$) istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlemlendi.

Tablo 4.3. Bazı Hematolojik Parametreler

HEMOGRAM	KN	AS	SA	SA+AS1	SA+AS2
Total Lökosit Sayısı	2,7 ± 0,13 ^a	2,8 ± 0,17 ^a	3,4 ± 0,43 ^b	3,7 ± 0,21 ^b	3,2 ± 0,36 ^a
WBC (10⁹/L)					
Eritrosit Sayısı	7,12 ± 0,68 ^a	7,45 ± 0,34 ^a	6,9 ± 0,35 ^a	7,3 ± 0,16 ^a	6,8 ± 0,49 ^a
RBC (10¹²/L)					
Hemoglobin Sayısı	7,4 ± 0,35 ^a	7,97 ± 0,68 ^b	7,0 ± 0,62 ^a	7,8 ± 0,15 ^b	6,6 ± 0,64 ^a
HGB (G/dL)					
Hematokrit Düzeyi	37 ± 2,50 ^a	36 ± 1,10 ^a	33,6 ± 2,18 ^b	35,7 ± 0,39 ^a	32,36 ± 1,14 ^b
HCT (%)					
Trombosit Sayısı	760 ± 46,57 ^a	630 ± 115,51 ^a	408 ± 105,26 ^b	737 ± 47,75 ^a	753 ± 82,59 ^a
PLT (10⁹/L)					

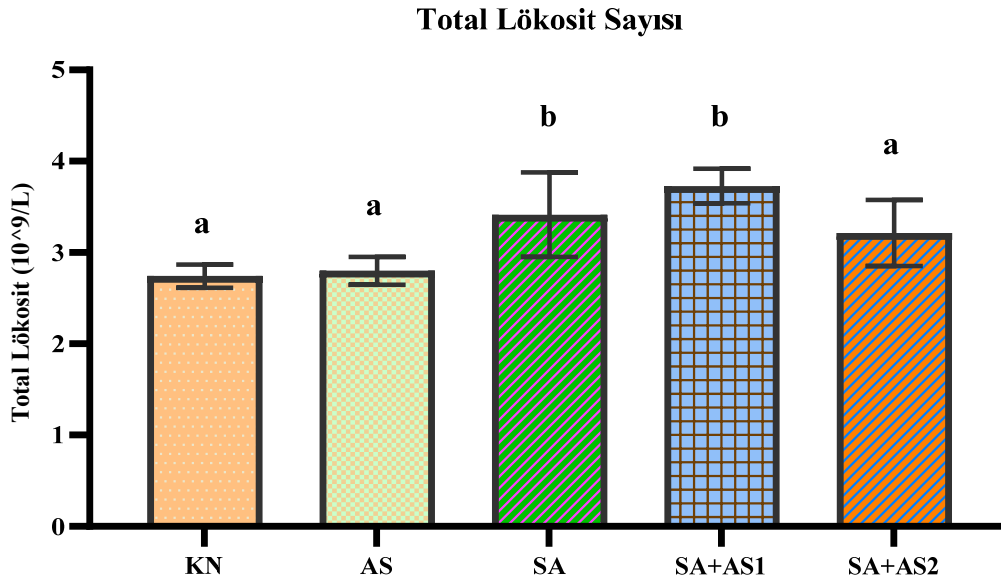
Kan serumunda ve böbrek dokusu biyokimyasal bulgular (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$). **KN:** Kontrol grubu, **AS:** Arı sütü grubu, **SA:** Sodyum arsenik grubu **SA+AS1:** Sodyum arsenit+arısütü1 (100 mg/kg) grubu, **SA+AS2:** Sodyum arsenit+arısütü2 (200 mg/kg) grubu.

Çalışmada, farklı gruplar arasındaki bazı hematolojik parametrelerin incelenmesi amaçlanmıştır. Kontrol grubu ile deney grupları arasında yapılan karşılaştırmalar sonucunda, belirli hematolojik değerlerde anlamlı farklar bulunmuştur. Bu farklar, gruplar arasındaki biyolojik ve fizyolojik değişiklikleri anlamamıza yardımcı olabilir. Yukarıdaki tabloya ek olarak kontrol grubu ile deney grupları arasındaki lökosit (WBC),

eritrosit (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT) ve trombosit (PLT) gibi temel hematolojik parametrelerdeki farklılıklar detaylı olarak sunulmuş ve tartışılmıştır.

4.3.1. Total Lökosit Sayısı

Total lökosit sayısı incelendiğinde (Tablo 4.3., Şekil 4.22), kontrol grubu ile AS grubu arasında anlamlı bir farkın olmadığı ($p>0,05$), Kontrol grubuna kıyasla SA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklar görüldüğü ($p<0,001$), SA grubuna ile AS grubunda anlamlı farklar gözlemlendiği ($p<0,05$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.22. Total Lokosit Sayısı Sonuç Ortalamaları (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

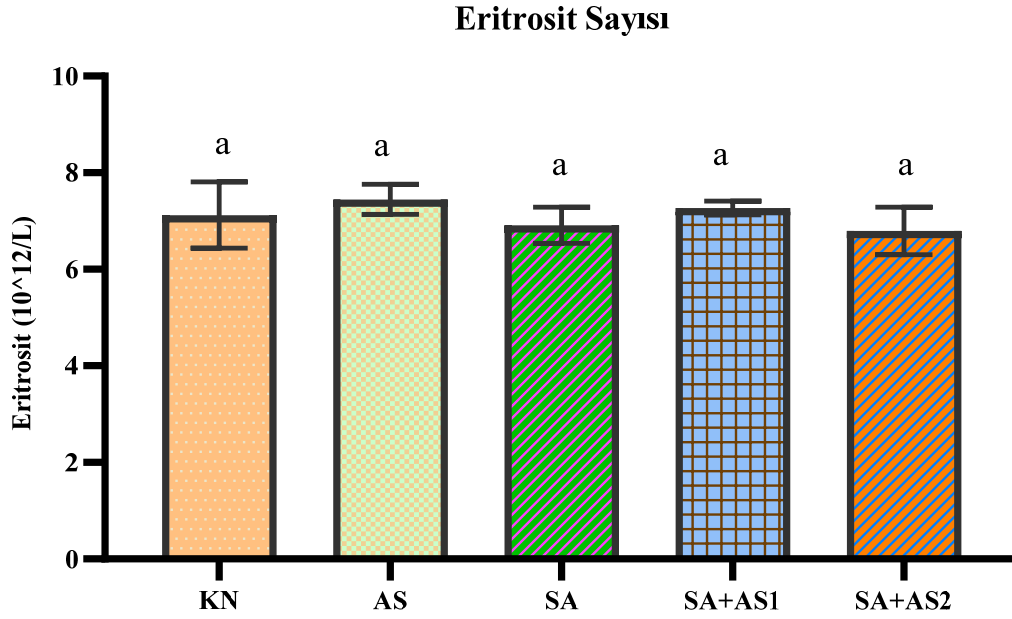
Beyaz kan hücreleri veya lökositler, fagositoz, bağışıklık tepkileri ve enfeksiyonlara karşı savunmada kritik bir rol oynarlar (Blumenreich, 1990). Artan beyaz kan hücresi, vücudun yabancı cisimlere karşı normal bir tepkisi olarak bilinmektedir. Bu hücreler, patojenlerle savaşmak için vücudun savunma mekanizmalarını harekete geçirerek enfeksiyonlarla mücadelede önemli bir rol oynarlar. Bu sebeple, beyaz kan hücresi sayılarının artması, vücudun enfeksiyonla mücadele etmeye çalıştığını ve bağışıklık sistemini aktive ettiğini gösterir (Adebayo et al., 2010). Yapılan bir çalışma, sodyum arsenite maruziyeti olan sıçanlarda WBC seviyelerinde belirgin bir artış olduğunu ortaya koymuştur (Ewere et al.,

2021). Arı sütünün, çeşitli çalışmalarda ağır metaller ve radyasyonun sebep olduğu genotoksisite ve oksidatif strese karşı koruma sağladığı gösterilmiştir. Spesifik olarak, arı sütü, mutajenik etkileri baskılayarak ve antioksidan durumunu geri kazanarak farelerde kadmiyum kaynaklı genotoksisiteye ve oksidatif strese karşı koruyucu bir rol göstermiştir (Çavuşoğlu et al., 2009) Ayrıca, arı sütü tüketimini takiben insan periferik kan lökositlerinde radyasyon kaynaklı apoptozda bir azalma olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, arı sütünün WBC'ler üzerinde ağır metallere karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir (Rafat et al., 2016).

Yapılan çalışmada, literatüre uyumlu olarak, sodyum arsenit maruziyeti ile WBC seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. Özellikle AS ve SA+AS1 gruplarında bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca, SA+AS1 grubundaki arı sütü miktarının SA+AS2 grubunda 200 mg/kg'a çıkarılmasıyla bu artışın kontrol grubuna göre önemsiz hale geldiği ve değerlerin normal seviyelerine yaklaştığı gözlemlenmiştir. Bu durum, arı sütü miktarının WBC seviyelerini etkileyebileceğini ve iyileşmenin bir göstergesi olarak kabul edilebileceğini düşündürmektedir. Arsenik gruplarında gözlenen total lökosit sayısındaki artış, NaAsO₂'nin vücutta oluşturduğu inflamatuvar yanıtla ilişkili olabilir. Özellikle 100 mg/kg arı sütü verilen grupta lökosit sayısının daha fazla artmış olması, bu dozun bağışıklık sistemini destekleyici ve dengeleyici bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Orta doz arı sütü, vücudun toksisiteye karşı savunma mekanizmalarını aktif tutarken, inflamasyonu düzenli bir şekilde yönetmesine katkı sağlayabilir. Ancak 200 mg/kg gibi daha yüksek dozda, lökosit sayısının azalması, yüksek doz arı sütünün bağışıklık yanıtını fazla baskılayabileceğini veya inflamatuvar tepkileri kontrol altına almada aşırıya kaçabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, arı sütü miktarının bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin doza bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğine işaret etmektedir. Bu bulgular, arı sütünün sodyum arsenit maruziyetine karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu ifade etmektedir.

4.3.2. Eritrosit Sayısı

Eritrosit sayısı incelendiğinde (Tablo 4.3., Şekil 4.23), SA grubunda RBC sayısında anlamlı olmayan bir azalma gözlemlendiği ($p>0,05$), gruplar arasında artış ve azalışlar meydana geldiği fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 4.23. Eritrosit Sayısı Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p<0,05$)

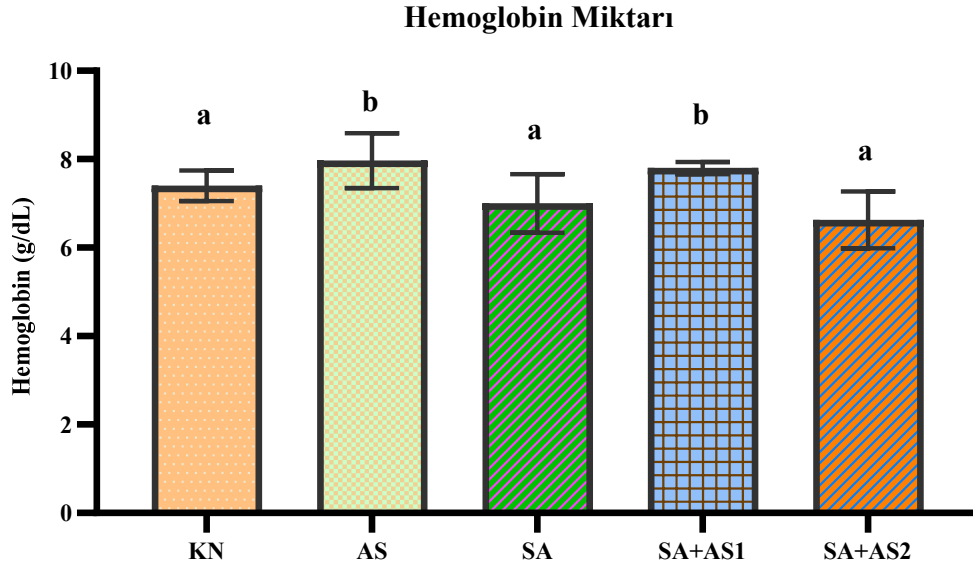
Kırmızı kan hücrelerinin (RBC) sayısı, sağlığın önemli bir göstergesidir (Cullen, 1932). Sodyum arsenitin kırmızı kan hücreleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Düşük doz arsenite maruz kalma, insan hematopoietik progenitör hücrelerinde eritroid farklılaşmayı inhibe ederek kırmızı kan hücresi oluşumunda bozulmaya yol açar (Maheshwari et al., 2017). Yapılan bir çalışmada, sodyum arsenite maruz kalan sıçanlarda RBC değerlerinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı rapor edilmiştir (Basher et al., 2023). Sağlıklı denekler üzerinde yapılan bir çalışma, arı sütü uygulamasının kırmızı kan hücresi sayısında iyileşmelere yol açabileceğini ve kan parametreleri üzerinde olumlu bir etkiye işaret ettiğini ortaya koymuştur (Okamoto et al., 2023). Arı sütü, çeşitli dokularda ağır metal kaynaklı toksisiteye karşı koruyucu etkiler göstermiştir. Çalışmalar, RJ'nin karaciğer, böbrekler, testisler ve hatta bitki hücreleri dâhil olmak üzere farklı organlarda ağır metallerin sebep olduğu genotoksikite ve

oksidatif strese karşı koruma sağlayabildiğini göstermiştir (Çavuşoğlu et al., 2009; Türkmen et al., 2009; Ahmed et al., 2018; Almeer et al., 2019a)

Yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi, sodyum arsenit uygulanan grupta eritrosit (RBC) sayısında kontrol grubuna göre bir azalma gözlenmiştir. Tek başına arı sütü verilen grupta ise RBC sayıları en yüksek seviyede bulunmuştur. Ancak, sodyum arsenit ile birlikte arı sütü verilen gruplarda, özellikle arı sütü dozunun artmasıyla birlikte eritrosit sayılarında daha belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum, sodyum arsenitin dolaşımında uzun süreli yüksek seviyelerde bulunmasının anemiye yol açabileceği yönünde değerlendirilmektedir; sodyum arsenitin eritrosit hemolizini tetikleyerek kırmızı kan hücrelerinin azalmasına neden olabileceği düşünülmektedir. 100 mg/kg arı sütü verilen grupta eritrosit sayısının daha yüksek olması, bu dozun hematopoetik sistemi destekleyerek kırmızı kan hücrelerinin korunmasına katkı sağlayabileceği tahmin edilmektedir. Orta dozun, oksidatif stresi azaltarak eritrosit sağlığını ve üretimini desteklediği öne sürülebilir. Ancak, 200 mg/kg arı sütü verilen grupta eritrosit sayısındaki düşüş, yüksek dozun hematopoetik sistem üzerinde farklı bir etki oluşturmamasından kaynaklı kırmızı kan hücrelerinin üretimi olumsuz etkileyebileceği tahmin edilmektedir.

4.3.3. Hemogloblin Miktarı

Hemogloblin miktarı incelendiğinde (Tablo 4.3., Şekil 4.24), kontrol grubu ile AS grubu arasında anlamlı olduğu ($p<0,05$), kontrol grubuna kıyasla SA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklar olmadığı ($p>0,05$). AS grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu ($p<0,001$), SA grubuna kıyasla AS grubunda anlamlı farklar gözlemlendiği ($p<0,05$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.24. Hemoglobin Miktarı Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

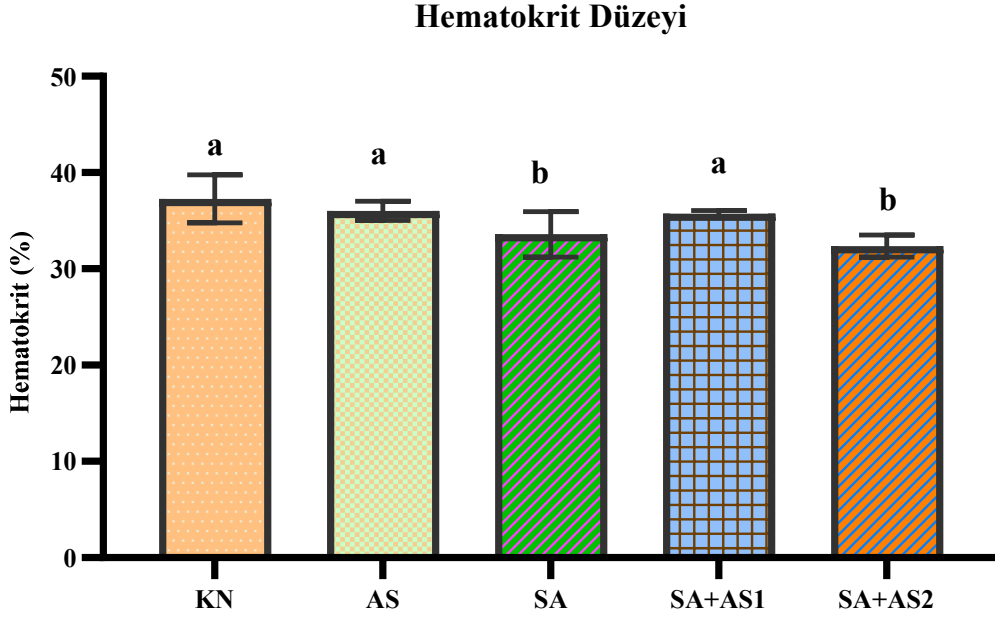
Kırmızı kan hücrelerinde bulunan bir protein olan hemoglobin, vücutta oksijen taşınması ve iletiminde çok önemli bir rol oynar (Feher, 2012). Renk indeksi olarak bilinen hemoglobin ve kırmızı kan hücresi sayısı arasındaki ilişki, sağlığın önemli bir göstergesidir (Cullen, 1932). Yapılan bir çalışmada, sodyum arsenite maruz kalan sıçanlarda HGB değerlerinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı rapor edilmiştir (Basher et al., 2023). Sodyum arsenitin hemoglobin üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Düşük doz arsenite maruz kalma, insan hematopoietik progenitör hücrelerinde eritroid farklılaşmasını inhibe ederek hemoglobin içeriğinde bir azalmaya yol açar (Maheshwari et al., 2017). Sağlıklı denekler üzerinde yapılan bir çalışma, arı sütü uygulamasının hemoglobin içeriğinde iyileşmelere yol açabileceğini ve kan parametreleri üzerinde olumlu bir etkiye işaret ettiğini ortaya koymuştur (Okamoto et al., 2023).

Yapılan çalışmada, literatürle uyumlu olarak, kontrol grubuna kıyasla hemoglobin (HGB) değerlerinde belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. Özellikle, SA grubu ile SA+AS1 grubu ve SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında HGB seviyelerinde anlamlı bir azalma ve artış tespit edilmiştir. Tek başına arı sütü verilen grup, en yüksek HGB seviyelerine sahip

olmasına rağmen, sodyum arsenit ve arı sütü kombinasyonu ile artan arı sütü dozları, HGB seviyelerinde daha belirgin bir düşüşe sebep olmuştur. Bu durum, sodyum arsenite maruz kalan deneklerde, bu maddenin kalıcı yüksek seviyelerinin dolaşımında anemiye sebep olabileceği düşünülmektedir. Sodyum arsenit, eritrosit hemolizini tetikleyerek hemoglobin seviyelerinin azalmasına sebep olmuş olabileceği öngörülmektedir. Bu bulgular, arı sütü uygulamasının arsenik maruziyetinin olumsuz etkilerini tamamen engelleyemediğini ancak kısmen hafifletebileceğini ve yüksek arsenik seviyelerinin hemoglobin konsantrasyonu üzerinde olumsuz etkiler oluşturabileceğini düşündürmektedir. Hemoglobin miktarındaki değişiklikler, sodyum arsenit ve arı sütü kombinasyonunun dozlarına bağlı olarak farklılık göstermektedir. SA grubunda hemoglobin seviyelerinde bir azalma gözlenmesi, sodyum arsenitin eritrositlerde hemolize neden olarak hemoglobin sentezini ve taşınmasını olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda, SA'nın oksidatif stres yoluyla eritrosit yıkımını artırabileceği ve hemoglobin düzeylerinin düşmesine yol açabileceği değerlendirilebilir. Tek başına arı sütü verilen grupta hemoglobin miktarının daha yüksek olması, arı sütünün olası hematopoetik destek sağlayarak eritrositlerin sağlıklı kalmasına ve dolayısıyla hemoglobin düzeylerinin korunmasına katkı sunabileceği tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, arı sütü ile birlikte uygulanan SA dozlarının artmasıyla hemoglobin miktarındaki düşüş, yüksek doz arı sütünün hematopoetik sistem üzerindeki etkilerinin belirli bir noktada sınırlanabileceğini veya eritrosit üretiminin yeterince desteklenemediğini işaret edebilir.

4.3.4. Hematokrit Düzeyi

Hematokrit düzeyi incelendiğinde (Tablo 4.3., Şekil 4.25), kontrol grubu ve AS grubu arasında farkın anlamlı olmadığı ($p>0,05$), SA grubu ile Kontrol ve AS grupları arasındaki farkın anlamlı olduğu ($p<0,05$). SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunduğu tespit edildi ($p<0,05$).



Şekil 4.25. Hematokrit Düzeyi Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

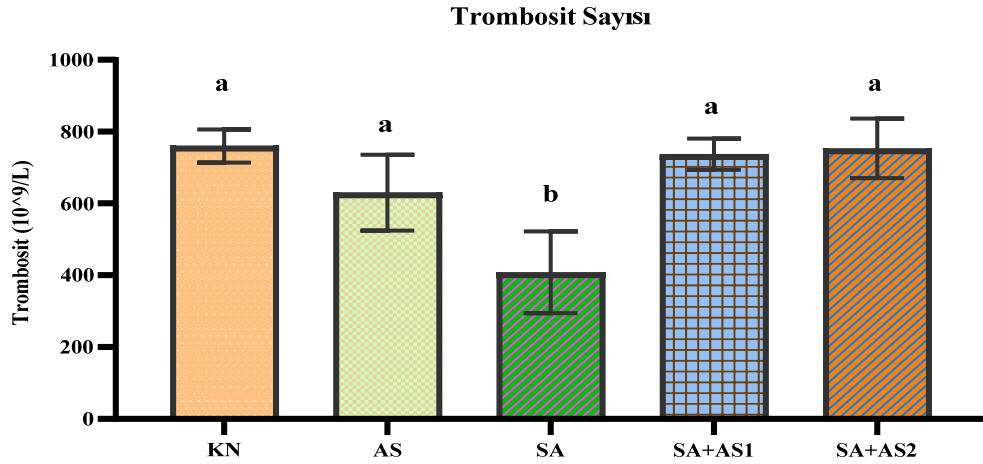
Hematokrit, genel klinik kan analizinin önemli bir bileşenidir ve kan hücreleri ile plazma arasındaki hacimsel ilişki hakkında bilgi sağlar (Elena, 2023). Hematokrit, toplam kan hacmine göre paketlenmiş kan hücrelerinin yüzdesini ifade eden önemli bir hematolojik parametredir. Yapılan araştırmalarda, düşük düzeyde arseniğe kronik maruz kalmanın hematokrit düzeyleri üzerinde olumsuz etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, arsenik maruziyetinin eritrosit üretimini ve dolaşımını bozarak hematokrit seviyelerinde düşüşlere yol açabileceğini göstermektedir (Ciarrocca et al., 2012). Yapılan bir çalışma, arseniğe maruz kalmanın albino sıçanlarda hematokrit düzeylerini önemli ölçüde azalttığını gözlemlemiştir (Sharma et al., 2022). Arı sütünün egzersize maruz kalan farelerde bağışıklığı artırdığı, kan akışkanlık parametrelerini iyileştirdiği ve vücut kütleindeki azalmayı geciktirdiği bulunmuştur. Bu durum ağır metallerin sebep olduğu hematokrit seviyesi anormalliklerine karşı koruma potansiyelini gösterir (Jie-jie, 2006).

Yapılan çalışmada, literatüre uyumlu olarak en düşük hematokrit düzeyi sadece sodyum arsenit verilen grupta tespit edilmiştir. Düşük HCT değerlerinin anemi, aşırı sıvı alımı, böbrek yetmezliği veya kronik inflamatuvar hastalıklar gibi durumların bir sonucu olabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, sodyum arsenite maruz kalmanın hematolojik

parametreler üzerindeki olumsuz etkilerini ve potansiyel sağlık risklerini vurgulayabilir. En yüksek hematokrit düzeyinin yalnızca arı sütü verilen grupta tespit edilmesi, arı sütünün HCT düzeylerini artırıcı etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Sonuçlar, arı sütü uygulanan gruplarda genellikle HCT düzeyi artarken, sodyum arsenit uygulanan gruplarda azaldığı görülmüştür. Bu bulgular, arı sütünün hematokrit seviyelerini artırma potansiyeline sahip olabileceğini ve arsenik maruziyetinin HCT düzeylerini düşürebileceğini ortaya koymaktadır. Hematokrit düzeylerindeki değişiklikler, uygulanan arı sütü dozlarının vücutta oluşturduğu farklı biyolojik tepkilere bağlı olabilir. NaAsO_2 'nin toksik etkilerine karşı düşük doz (100 mg/kg) arı sütü uygulamasının, hematopoezi destekleyici etkisinden dolayı eritrosit üretimini artırdığı ve dolayısıyla hematokrit düzeylerini yükselttiği düşünülmektedir. Bu durum, antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerin, eritrosit hasarını azaltarak kan hücrelerinin sayısını koruduğunu gösterir. Ancak, daha yüksek doz (200 mg/kg) arı sütü uygulamasında hematokrit düzeylerinde görülen düşüş, muhtemelen yüksek dozun vücut üzerinde farklı mekanizmaları aktive etmesi veya aşırı antioksidan yüklemesinin dengeleyici süreçleri etkilemesiyle açıklanabilir.

4.3.5. Trombosit Sayısı

Trombosit sayısı incelendiğinde (Tablo 4.3., Şekil 4.26), kontrol grubu ile AS grubu arasında anlamlı bir farkın olmadığı ($p>0,05$), kontrol grubuna kıyasla SA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edildiği ($p<0,001$), SA+AS1 grubu ile SA+AS2 grubu arasında anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 4.26. Trombosit Sayısı Sonuç Ortalamaları. (One-Way ANOVA ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testine göre, farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında anlamlı farklar mevcuttur. $p < 0,05$)

Trombosit Sayısı, çeşitli sağlık durumlarının değerlendirilmesinde önemli parametrelerdir (Giles, 1981). Yapılan çalışmalarda, arseniğe maruz kalmanın trombosit düzeylerinde azalmaya sebep olabileceği belirtilmiştir (Kalia et al., 2007; Mukherjee et al., 2014; Wu et al., 2014). Arı sütü uygulamasının trombosit sayısını artırabileceği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Khazaei et al., 2020; Okamoto et al., 2023). Çalışmalar, arı sütünün ağır metallerle karşı trombosit sayısı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini ifade etmektedir (Çavuşoğlu et al., 2009, Ahmed et al., 2014).

Yapılan araştırmada, arsenik grubunda trombosit düzeylerinin düştüğü gözlemlenmiş ve bu durumun kanın pıhtılaşma yeteneğinin azalması ve kanama riskinin artması ile ilişkilendirilebileceği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, en yüksek ortalama trombosit (PLT) değerleri 100 mg/kg ve 200 mg/kg arı sütü uygulanan gruplarda tespit edilmiştir. Farklı patolojik durumlar normal fizyolojik oranları bozabilir ve NaAsO₂'nin trombosit sayısını azaltması bu bozulmayı gösterebilir. Arı sütü uygulanan gruplarda trombosit sayısının artması, arı sütünün pıhtılaşma sistemini destekleyebileceği ve trombosit sayısını artırma potansiyeline sahip olabileceğini ifade etmektedir. Arı sütünün bu etkileri, trombosit üretimini artırarak veya mevcut trombositlerin yıkımını azaltarak sağlayabileceği öne sürülmektedir. Bu bulgular, arı sütünün hemostatik dengeyi koruma ve trombosit sayısını artırma kapasitesine sahip olabileceğini göstermektedir. Trombosit düzeylerindeki değişiklikler, arı sütü dozlarının immün ve hematolojik sistemler üzerindeki farklı etkileri ile ilişkilendirilebilir. Arı sütü grubunda trombosit sayısının

düşmesi, arı sütünün belirli bileşenlerinin trombosit üretimini veya yaşam süresini etkileyebileceği tahmin edilmektedir. Düşük doz (100 mg/kg) ve yüksek doz (200 mg/kg) arı sütü ile birlikte NaAsO₂ uygulanan gruplarda ise trombosit sayısının artmış olması, NaAsO₂'nin toksik etkilerine karşı arı sütünün trombosit hücresi üretimini destekleyici rol oynadığını gösteriyor olabilir.

Çalışma sonuçları incelendiğinde, elde edilen bulguların mevcut literatürle uyumlu olduğu görülmektedir. Bu analiz, çalışmanın verilerinin mevcut bilimsel bilgiyle paralellik gösterdiğini ve literatüre anlamlı bir katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. Özellikle, sodyum arsenitin toksik etkilerinin ve arı sütünün bu etkileri hafifletme potansiyelinin daha önceki çalışmalarla tutarlılık göstermesi, çalışmanın güvenilirliğini artırmakta ve ilgili alandaki bilgi birikimini genişletme potansiyelini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, arı sütünün oksidatif stres ve toksisiteye karşı koruyucu etkilerini desteklerken, aynı zamanda sodyum arsenitin biyokimyasal etkilerini daha iyi anlama açısından önemli veriler sunabilir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Arsenik, yaygın olarak çevrede bulunan ve içme suyu gibi kaynaklardan insanların maruz kaldığı toksik bir maddedir. Dolayısıyla literatürde arsenik toksisitesini engellemeye yönelik çalışmalara sıkça rastlanır. Ancak, arı sütünün güçlü antitoksik özelliklere sahip olmasına rağmen, arsenikle ilgili etkilerini değerlendiren çalışmalar literatürde sınırlıdır. Bu çalışmada, arsenik türevi olan sodyum arsenitin sebep olduğu karaciğer ve böbrek dokusunda meydana gelen hasarı azaltmada arı sütünün etkisi incelenmiştir. Sodyum arsenitin yan etkilerine karşı antioksidan ve anti-inflamatuvar özellik gösteren arı sütünün, bu dokular üzerinde önemli bir koruyucu etkiye sahip olabileceği hipoteziyle hareket edilmiştir. Bu bağlamda, çalışmada NaAsO₂ kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesine karşı arı sütünün etkileri araştırılmıştır.

Araştırma bulguları, sodyum arsenitin serumdaki üre ve kreatinin seviyelerini yükselttiğini ve ALT, AST ve ALP gibi karaciğer ve böbrek enzimlerinin aktivitelerini artırdığını göstermektedir. Bu bileşik aynı zamanda antioksidan savunma mekanizmalarını baskılayarak lipid peroksidasyonunu artırırken, arı sütü, güçlü antioksidan kapasitesi sayesinde, özellikle 100 ve 200 mg/kg dozlarında, bu etkileri azaltabildiği görülmüştür. Arı sütünün yüksek dozu, sodyum arsenite bağlı olarak gelişen karaciğer ve böbrek hasarını azaltmada daha etkili olduğu belirlenmiştir, bu da arı sütünün potansiyel terapötik kullanımını vurgulamaktadır.

Sodyum arsenitin, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerini artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, anti-enflamatuvar savunma sistemini etkisiz hale getirerek enflamasyonu arttırdığı belirlenmiştir. Ancak, arı sütünün anti-enflamatuvar özelliği sayesinde, 100 ve 200 mg/kg dozlarının sodyum arsenit ile birlikte verilmesi ile anti-enflamatuvar savunma sistemini güçlendirdiği ve TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Özellikle, arı sütünün 200 mg/kg dozunun sodyum arsenit kaynaklı karaciğer ve böbrek enflamasyonunu azaltmada daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Yapılan araştırmada, kan örneklerindeki WBC, RBC, HGB, HCT ve PLT gibi bazı hematolojik parametrelerden; NaAsO₂'nin PLT, RBC, HGB ve HCT seviyelerini düşürdüğünü ve WBC seviyelerini artırdığı görülmüştür. Arı sütü uygulamasının, bu parametrelerin normal düzeylere ulaşmasına yardımcı olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, arı sütünün arsenik gibi zararlı ağır metallerin sebep olduğu toksisiteye karşı hematolojik ve bağışıklık sistemlerinde potansiyel koruyucu etkileri olabileceğini göstermektedir. Sodyum arsenite maruz kalan sıçanlarda lökositlerdeki artış, eritrosit, hemoglobin ve hematokrit seviyelerinde azalmalar gözlenmiştir. Arı sütü uygulaması, özellikle WBC sayısını artırarak ve trombosit sayısındaki değişiklikleri etkileyerek toksisiteye karşı koruyucu rol oynayabilir. Ancak, arı sütünün bu olumlu etkilerinin tam olarak anlaşılabilmesi ve en etkili dozajın belirlenebilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca, arı sütünün bileşenlerinin bu koruyucu etkilerdeki katkısının netleştirilmesi için daha ayrıntılı çalışmalar yapılmalıdır. Bu veriler, arı sütünün hematolojik parametreler ve bağışıklık sistemi üzerindeki olumlu etkilerini ortaya koyarken, özellikle kırmızı kan hücreleri, hemoglobin ve hematokrit seviyelerindeki düşüşlerin daha fazla incelenmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Elde edilen tüm sonuçlar göz önüne alındığında bu çalışmada arı sütünün sodyum arsenit kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesinde homeostazı destekleyici, antioksidan, anti-inflamatuar, hematoprotektif ve hematoregülatör özellikler sergilediği belirlenmiştir. Sodyum arsenit kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesinde bu tür etkilerin daha önce incelenmediği dikkate alındığında, arı sütünün sodyum arsenit toksikasyonuna maruz kalan bireylerde destekleyici bir uygulama olarak kullanılmasının, belirgin bir iyileşme potansiyeline işaret ettiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abdulla, I., Al Sulivany, B., Ali, G., and Mohammed, T. (2023). Amelioration of Sodium Arsenate-Induced Stimulation of Enzyme Activities in the Plasma and Liver, and Liver Histopathology in Rat Models by Spirulina (*Arthrospora platensis*). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, D. Histology & Histochemistry*, 15(2), 15–25.

Abuelfadl, A., El-Ebiary, A., Hafez, E., Salama, M., and Hussein, M. (2012). The Protective Effect of Royal Jelly on Roundup-Induced Immunotoxicity in Albino Rats. *Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 20(2), 35–48.

Adebayo-Gege, G. I., Salami, A. T., Odukanmi, A. O., Omotosho, I. O., and Olaleye, S. B. (2018). Pro-ulcerogenic activity of sodium arsenite in the gastric mucosa of male wistar rats. *Journal of African Association of Physiological Sciences Official Publication of the African Association of Physiological Sciences*, 6(2), 95–103.

Adebayo, A. H., Zeng, G. Z., Fan, J. T., Ji, C. J., He, W. J., Xu, J. J., Zhang, Y. M., Akindahunsi, A. A., Kela, R., and Tan, N. H. (2010). Biochemical, haematological and histopathological studies of extract of *ageratum conyzoides* L. in Sprague Dawley rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(21), 2264–2272.

Adewale, O. O., Samuel, E. S., Oluwuyi, O. O., and Akomolafe, S. F. (2018). Co-exposure of Lead Acetate and Sodium Arsenite Causes Alteration in the Markers of Liver and Kidney Functions in Male Wistar Rats. *Journal of Chemical, Environmental and Biological Engineering 2018, Volume 2, Page 32, 2(1)*, 32–39.

Adeyi, O. E., Babayemi, D. O., Ajayi, B. O., Adeyi, A. O., Ayodeji, A. H., Oguntayo, A. O., Adeyemi, A. T., Olaiyapo, O. E., and Adeoye, S. T. (2021). Co-administration of sodium selenite and sodium arsenite exacerbates hepatic, renal, pulmonary and splenic inflammation in rats. *Scientific African*, 11e00708.

Aebi, H. (1983). Catalase. *Methods of enzymatic analysis*, 3273.

Afolabi, O. K., Oyewo, E. B., Adekunle, A. S., Adedosu, O. T., and Adedeji, A. L. (2013). Assessment of Lipid Peroxidation Markers and Roinflammatory Cytokines in Arsenite-Exposed Rats. 2(2), 8–18.

Afonso, S. C., Enríquez De Salamanca, R., and Del, A. M. (1999). The photodynamic and non-photodynamic actions of porphyrins. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, 32(3), 255–266.

Aggez, C., and Karakus, Y. Y. (2023). *Aspergillus fumigatus* Catalase. *Research Advances in Microbiology and Biotechnology Vol. 6*, 39–55.

Ahmad, S., Campos, M. G., Fratini, F., Altaye, S. Z., and Li, J. (2020). New Insights into the Biological and Pharmaceutical Properties of Royal Jelly. *International journal of molecular sciences*, 21(2), 1–26.

Ahmed, M. M., El-Shazly, S. A., Alkafafy, M. E., Mohamed, A. A., and Mousa, A. A. (2018). Protective potential of royal jelly against cadmium-induced infertility in male rats. *Andrologia*, 50(5), 1–12.

Ahmed, W. M. S., Khalaf, A. A., Moselhy, W. A., and Safwat, G. M. (2014). Royal jelly attenuates azathioprine induced toxicity in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(1), 431–437.

Akanda, M. R., Tae, H. J., Kim, I. S., Ahn, D., Tian, W., Islam, A., Nam, H. H., Choo, B. K., and Park, B. Y. (2017). Hepatoprotective Role of *Hydrangea macrophylla* against Sodium Arsenite-Induced Mitochondrial-Dependent Oxidative Stress via the Inhibition of MAPK/Caspase-3 Pathways. *International Journal of Molecular Sciences 2017, Vol. 18, Page 1482*, 18(7), 1482.

Akaras, N., Gur, C., Kucukler, S., and Kandemir, F. M. (2023). Zingerone reduces sodium arsenite-induced nephrotoxicity by regulating oxidative stress, inflammation, apoptosis and histopathological changes. *Chemico-biological interactions*, 374.

Akhtar, M. S., and Swamy, M. K. (2018). Anticancer plants: Properties and application. *Anticancer plants: Properties and Application*, 11–582.

Aksakal, E., Ekinici, D., and Supuran, C. T. (2021). Dietary inclusion of royal jelly modulates gene expression and activity of oxidative stress enzymes in zebrafish. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 36(1), 885–894.

Aksoy, L., and Alper, Y. (2019). The effects of royal jelly on oxidative stress and toxicity in tissues induced by malathion, an organophosphate insecticide. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 70(2), 1517–1524.

Al-Eisa, R. A., and Al-Nahari, H. A. (2017). The attenuating effect of Royal Jelly on Hormonal Parameters in Aluminum Chloride (AlCl₃) Intoxicated Rats. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, 6(2), 70–85.

Al-Kahtani, S. N., and Taha, E. K. A. (2020). Post grafting time significantly influences royal jelly yield and content of macro and trace elements. *PLOS ONE*, 15(9), e0238751.

Al-Okbi, S. Y., and Al-Siedy, E. S. K. (2022). Potential anti-dyslipidemia and hepatoprotection of functional food components represented by tetracosanol and mixture of policosanol in Triton X-100 induced dyslipidemic rats. *Egyptian Journal of Chemistry*,

65(11), 313–321.

Aladyeva, T. L., and Zimatkin, S. M. (2022). Cellular catalase: structure, biogenesis, diversity, functions. *Experimental Biology and Biotechnology*, (1), 12–22.

Ali, A. M., and Kunugi, H. (2021). The Effects of Royal Jelly Acid, 10-Hydroxy-trans-2-decenoic Acid, on Neuroinflammation and Oxidative Stress in Astrocytes Stimulated with Lipopolysaccharide and Hydrogen Peroxide. *Immuno*, 1(3), 212–222.

Almeer, R. S., AlBasher, G. I., Alarifi, S., Alkahtani, S., Ali, D., and Abdel Moneim, A. E. (2019). Royal jelly attenuates cadmium-induced nephrotoxicity in male mice. *Scientific Reports 2019 9:1*, 9(1), 1–12.

Almeer, R. S., Kassab, R. B., AlBasher, G. I., Alarifi, S., Alkahtani, S., Ali, D., and Abdel Moneim, A. E. (2019). Royal jelly mitigates cadmium-induced neuronal damage in mouse cortex. *Molecular Biology Reports*, 46(1), 119–131.

Almeer, R. S., Soliman, D., Kassab, R. B., Albasher, G. I., Alarifi, S., Alkahtani, S., Ali, D., Metwally, D., and Moneim, A. E. A. (2018). Royal Jelly Abrogates Cadmium-Induced Oxidative Challenge in Mouse Testes: Involvement of the Nrf2 Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12).

Altun, S. K., and Aydemir, M. E. (2022). Determination of Antioxidant Capacities with the Phenolic and Flavonoid Contents of Royal Jelly Mixtures. *Bee Studies- Apiculture Research Institute*, 14(1), 9–15.

Alves da Costa, J., Da Rocha, R. E., Alves de Sousa, L., Dos Santos Beserra Pessoa, M. L., and Dos Anjos Barros, N. V. (2021). Potencial hepatoprotetor da geleia real: Uma avaliação acerca dos marcadores enzimáticos de lesão. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, 11(2), 67–70.

Anugrah, S. M., Kusnanik, N. W., Wahjuni, E. S., Zubaida, I., Triprayogo, R., Dhani, D. P., Resmana, D., Ayubi, N., Sari, E., and Mulyawan, R. (2024). Investigating the Impact of Varied Dosages of Royal Jelly Consumption on Creatine Kinase and Interleukin-6 Levels Post High-Intensity Resistance Training. *Retos*, 55428–435.

de Araújo Ramos, A. T., Diamante, M. A. S., de Almeida Lamas, C., Dolder, H., and de Souza Predes, F. (2017). Morphological and morphometrical changes on adult Wistar rat testis caused by chronic sodium arsenite exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(36), 27905–27912.

Arun, S., Krishnamoorthy, P., and Subramanian, P. (1999). Properties of glutathione peroxidase from the hepatopancreas of freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 31(6), 725–732.

Asadi, N., Kheradmand, A., Gholami, M., Saidi, S. H., and Mirhadi, S. A. (2019). Effect of royal jelly on testicular antioxidant enzymes activity, MDA level and spermatogenesis in rat experimental Varicocele model. *Tissue and Cell*, 5770–77.

Ashraf, S., Tahır, A., Amjad, A., Hameed, S., Imtiaz, R., Shabbir, A., and Shehzadi, R. (2023). Systemic Health Effects Associated With Sodium Arsenite Exposure: A Reappraisal. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2023(1), 601.

Aslan, A., Gok, O., Beyaz, S., Can, M. I., Parlak, G., Gundogdu, R., Ozercan, I. H., and Baspinar, S. (2022). Royal jelly regulates the caspase, Bax and COX-2, TNF- α protein pathways in the fluoride exposed lung damage in rats. *Tissue and Cell*, 76101754.

Aslan, A., Gok, O., Beyaz, S., Parlak, G., Can, M. I., Gundogdu, R., Baspinar, S., Ozercan, I. H., and Parlak, A. E. (2023). Royal jelly arranges apoptotic and oxidative stress pathways and reduces damage to liver tissues of rats by down-regulation of Bcl-2, GSK3 and NF- κ B and up-regulation of caspase and Nrf-2 protein signalling pathways. *Biomarkers*, 28(2), 217–226.

Aslan, Z., and Aksoy, L. (2015). Anti-inflammatory effects of royal jelly on ethylene glycol induced renal inflammation in rats. *International braz j urol*, 41(5), 1008–1013.

Athornberry, N. (1994). Interleukin-1 beta converting enzyme. *Methods in enzymology*, 244(C), 615–631.

Aubourg, S. P. (2007). Interaction of malondialdehyde with biological molecules — new trends about reactivity and significance. *International Journal of Food Science and Technology*, 28(4), 323–335.

Ayala, A., Muñoz, M. F., and Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014.

Azab, A. E., Albasha, M. O., Jbireal, J. M., and Adwas, A. A. (2018). Sodium Fluoride Induces Hepato-Renal Oxidative Stress and Pathophysiological Changes in Experimental Animals. *Open Journal of Apoptosis*, 07(01), 1–23.

Babayemi, D. O. D. O., Adeyi, O. E., Akinhanmi, T. F., Onunkwor, B. O., Akamo, A. J., Akanni, O. I., Keyede, O. O., Adeleke, M. A., Michael, M. O., Idhove, F. E., Mukaila, S. A., and Ademuyiwa, O. (2022). Sodium Selenite Abrogates The Effects Of Arsenic Toxicity On Organ Injury Biomarkers In The Blood. *Journal of Chemical Society of Nigeria*, 47(4), 730–738.

Babizhayev, M. A. (2011). Mitochondria induce oxidative stress, generation of reactive

oxygen species and redox state unbalance of the eye lens leading to human cataract formation: Disruption of redox lens organization by phospholipid hydroperoxides as a common basis for cataract . *Cell Biochemistry and Function*, 29(3), 183–206.

Bafana, A., Dutt, S., Kumar, A., Kumar, S., and Ahuja, P. S. (2011). The basic and applied aspects of superoxide dismutase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 68(2), 129–138.

Bagameri, L., Botezan, S., Bobis, O., Bonta, V., and Dezmirean, D. S. (2023). Molecular Insights into Royal Jelly Anti-Inflammatory Properties and Related Diseases. *Life* 2023, Vol. 13, Page 1573, 13(7), 1573.

Bakir, M., Özhan Bakir, T., and Kelimeler Arı sütü, A. (2023). The Role of Royal Jelly on Exhaustive Exercise-Induced Oxidative Stress. *Turkish Journal of Nature and Science*, 12(2), 1–7.

Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., and Sadeghi, M. (2021). Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. *Frontiers in Pharmacology*, 12227.

Bărnăuțiu, L. I., Mărghitaș, L. A., Dezmirean, D. S., Mihai, C. M., and Bobiș, O. (2011). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Royal Jelly - Review. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 44(2), 67–72.

Basher, M. K., Sarkar, S., Mobarak, M. H., and Islam, M. R. (2023). Inorganic arsenic exposure during pregnancy affects post-natal growth, blood parameters, and organ development of mice offspring. *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, 6(2), 445–457.

Bayrakçeken, Y., Peker, S. A., and Gündüzöz, M. (2015). Investigation of Biochemical and Hematological Parameters of Workers Exposed to Arsenic. .

Bedwell, S., Dean, R. T., and Jessup, W. (1989). The action of defined oxygen-centred free radicals on human low-density lipoprotein. *The Biochemical journal*, 262(3), 707–712.

Bensi, G., Raugei, G., Palla, E., Carinci, V., Buonamassa, D. T., and Melli, M. (1987). Human interleukin-1 beta gene. *Gene*, 52(1), 95–101.

Benzigül, S., Çam, S. A., Uysal, F., Arslan, S. O., and Doğan, H. T. (2021). Arı Sütünün Amiloid Beta ile Deneysel Alzheimer Modeli Oluşturulmuş Sıçanlarda Etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, 48(3), 595–604.

Besari, R. I. F., Radiati, L. E., and Junus, M. (2023). Royal Jelly (*Apis mellifera*) As an

Antimicrobial Activity Inhibition. *International Journal of Current Science Research and Review*, 06(06), .

Bicer, M., and PANCAR, Z. (2019). Examination Of Creatinine And Protein Levels Given Royal Jelly Supplement. *International Journal of Social and Humanities Sciences Research (JSHSR)*, 6(46), 3916–3919.

Blumenreich, M. S. (1990). The White Blood Cell and Differential Count. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*, .

Bouamama, S., Merzouk, H., Latrech, H., Charif, N., and Bouamama, A. (2021). Royal jelly alleviates the detrimental effects of aging on immune functions by enhancing the in vitro cellular proliferation, cytokines, and nitric oxide release in aged human PBMCS. *Journal of Food Biochemistry*, 45(2), e13619.

Buettner, G. R. (2011). Superoxide Dismutase in Redox Biology: The roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 11(4), 341.

Bukowska, B. (2005). Glutathione functions and factors decreasing its concentration. *Medycyna Pracy*, .

Cakır, S. (2023). The Effect of Royal Jelly on Telomere Length and Some Biochemical Parameters in Wistar Albino Rats with Liver Damage Caused by Carbon Tetrachloride. <https://home.liebertpub.com/jmf>, 26(8), 580–585.

Çakır, S. (2022). Effects of different doses of royal jelly on oxidative stress and telomerase enzyme in rats with Cadmium toxicity. *Cukurova Medical Journal*, 47(4), 1516–1522.

Calder, P. C. (2006). n–3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(6), 1505S–1519S.

Çavuşoğlu, K., Yapar, K., and Yalçın, E. (2009). Royal jelly (honey bee) is a potential antioxidant against cadmium-induced genotoxicity and oxidative stress in albino mice. *Journal of medicinal food*, 12(6), 1286–1292.

Cemek, M., Aymelek, F., Büyükokuroğlu, M. E., Karaca, T., Büyükben, A., and Yilmaz, F. (2010). Protective potential of Royal Jelly against carbon tetrachloride induced-toxicity and changes in the serum sialic acid levels. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2827–2832.

Chakraborty, S., Ray, M., and Ray, S. (2010). Toxicity of sodium arsenite in the gill of an economically important mollusc of India. *Fish and Shellfish Immunology*, 29(1), 136–

148.

Chance, B., and Oshino, N. (1971). Kinetics and mechanisms of catalase in peroxisomes of the mitochondrial fraction. *Biochemical Journal*, 122(2), 225–233.

Chinnappan, R., Mir, T. A., Alsalamah, S., Makhzoum, T., Adeeb, S., Al-Kattan, K., and Yaqinuddin, A. (2023). Aptasensors Are Conjectured as Promising ALT and AST Diagnostic Tools for the Early Diagnosis of Acute Liver Injury. *Life* 2023, Vol. 13, Page 1273, 13(6), 1273.

Choe, E., and Min, D. B. (2006). Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(4), 169–186.

Choi, B. S., Kang, D. W., Lee, J. Y., Park, E. S., Hong, Y. P., Yang, J. S., Lee, H., and Park, J. D. (2003). Acute Toxicity of Arsenic in Rats and Mice. *Annals of occupational and environmental medicine*, 15(4), 323.

Chung, J. Y., Yu, S. Do, and Hong, Y. S. (2014). Environmental Source of Arsenic Exposure. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 47(5), 253.

Ciarrocca, M., Tomei, G., Palermo, P., Caciari, T., Cetica, C., Fiaschetti, M., Gioffrè, P. A., Tasciotti, Z., Tomei, F., and Sancini, A. (2012). Environmental and biological monitoring of arsenic in outdoor workers exposed to urban air pollutants. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 215(6), 555–561.

Cihan, Y. B., Arsav, V., and Göcen, E. (2012). Royal jelly in the prevention of radiation-induced brain damages. *Journal of Neurological Sciences*, 28(4), 475–486.

Collazo, N., Carpena, M., Nuñez-estevez, B., Otero, P., Simal-gandara, J., and Prieto, M. A. (2021). Health Promoting Properties of Bee Royal Jelly: Food of the Queens. *Nutrients*, 13(2), 1–26.

Collin, F. (2019). Chemical Basis of Reactive Oxygen Species Reactivity and Involvement in Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10) .

Cullen, G. E. (1932). A Graphic Representation Of Hemoglobin And Red Blood Cell Count Ratios. *Journal of the American Medical Association*, 98(13), 1067–1069.

Danese, S., and Gao, B. (2010). Interleukin-6: a therapeutic Jekyll and Hyde in gastrointestinal and hepatic diseases. *Gut*, 59(2), 149–151.

Das, A. K., Bag, S., Sahu, R., Dua, T. K., Sinha, M. K., Gangopadhyay, M., Zaman, K., and Dewanjee, S. (2010). Protective effect of Corchorus olitorius leaves on sodium

arsenite-induced toxicity in experimental rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1), 326–335.

Dash, M., Maity, M., Dey, A., Perveen, H., Khatun, S., Jana, L., and Chattopadhyay, S. (2018). The consequence of NAC on sodium arsenite-induced uterine oxidative stress. *Toxicology Reports*, 5278–287.

Dayan, A. D. (2011). A Note on Royal Jelly. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 12(1), 377–383.

Dehdashti Moghadam, M., Baghshani, H., Ghodrati Azadi, H., and Moosavi, Z. (2021). Ameliorative Effects of Caffeic Acid Against Arsenic-Induced Testicular Injury in Mice. *Biological Trace Element Research*, 199(10), 3772–3780.

Deisseroth, A., and Dounce, A. L. (1970). Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. <https://doi.org/10.1152/physrev.1970.50.3.319>, 50(3), 319–375.

Devaraju, T., Sujatha, K., Rao, S., and Rao, K. J. (2010). Impact Of Sodium Arsenate On Selected Enzymes And Histopathological Studies In Albino Mice. *International journal of pharma and bio sciences*.

Dinarello, C. A. (2009). Interleukin-1beta and the autoinflammatory diseases. *New England Journal of Medicine*, 360(23), 2467–2470.

Dopp, E., Hartmann, L. M., Florea, A. M., Von Recklinghausen, U., Pieper, R., Shokouhi, B., Rettenmeier, A. W., Hirner, A. V., and Obe, G. (2004). Uptake of inorganic and organic derivatives of arsenic associated with induced cytotoxic and genotoxic effects in Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 201(2), 156–165.

Duan, X., Xu, G., Li, J., Yan, N., Li, X., Liu, X., and Li, B. (2022). Arsenic Induces Continuous Inflammation and Regulates Th1/Th2/Th17/Treg Balance in Liver and Kidney In Vivo. *Mediators of Inflammation*, 2022.

El-Nekeety, A. A., El-Kholy, W., Abbas, N. F., Ebaid, A., Amra, H. A., and Abdel-Wahhab, M. A. (2007). Efficacy of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats. *Toxicon*, 50(2), 256–269.

El-Seedi, H. R., Salama, S., El-Wahed, A. A. A., Guo, Z., Di Minno, A., Daglia, M., Li, C., Guan, X., Buccato, D. G., Khalifa, S. A. M., and Wang, K. (2024). Exploring the Therapeutic Potential of Royal Jelly in Metabolic Disorders and Gastrointestinal Diseases. *Nutrients* 2024, Vol. 16, Page 393, 16(3), 393.

Elena, B. (2023). Hematology: general questions. *Clinical Medicine and Pharmacology*, 8(4), 2–13.

Elkon, K. B., Liu, C. C., Gall, J. G., Trevejo, J., Marino, M. W., Abrahamsen, K. A., Song, X., Zhou, J. L., Old, L. J., Crystal, R. G., and Falck-Pedersen, E. (1997). Tumor necrosis factor α plays a central role in immune-mediated clearance of adenoviral vectors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(18), 9814–9819.

Endrinaldi, E. (2009). Logam-Logam Berat Pencemar Lingkungan Dan Efek Terhadap Manusia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*, 4(1), 42–46.

Engwa, G. A., Ferdinand, P. U., Nwalo, F. N., and Unachukwu, M. N. (2019). Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans. *Poisoning in the Modern World - New Tricks for an Old Dog?*, .

Ewere, E. G., Okolie, N. P., Ndem, J. I., Oyebadejo, S. A., Ewere, E. G., Okolie, N. P., Ndem, J. I., and Oyebadejo, S. A. (2021). Immunological and hematological effects of *Irvingia gabonensis* stem bark in sodium arsenite-exposed rats. 15(1), 027–037.

Fallahzadeh-Abarghoeei, L., Samadaei-Ghadikolaie, M., Saadat, I., and Saadat, M. (2017). Effect of sodium arsenite on the expression of antioxidant genes (SOD2 and CAT) in MCF-7 and Jurkat cell lines. *Iranian Journal of Public Health*, 46(2), 229–234.

Farzan, S. F., Karagas, M. R., and Chen, Y. (2013). In utero and early life arsenic exposure in relation to long-term health and disease. *Toxicology and applied pharmacology*, 272(2), 384.

Feher, J. (2012). Plasma and Red Blood Cells. *Quantitative Human Physiology*, 428–436.

Flora, S., Mittal, M., and Mehta, A. (2008). Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *The Indian journal of medical research* .

Foote, C. S., Chang, Y. C., and Denny, R. W. (1970). Chemistry of singlet oxygen. X. Carotenoid quenching parallels biological protection. *Journal of the American Chemical Society*, 92(17), 5216–5218.

Foote, C. S., and Clennan, E. L. (1995). Properties and Reactions of Singlet Dioxygen. *Active Oxygen in Chemistry*, 105–140.

Frank, L., and Ilene Sosenko, R. S. (1987). Development of lung antioxidant enzyme system in late gestation: Possible implications for the prematurely born infant. *The Journal of Pediatrics*, 110(1), 9–14.

Fratini, F., Cilia, G., Mancini, S., and Felicioli, A. (2016). Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiological Research*, 192130–141.

Fridavich, I. (2003). Superoxide Radical And Superoxide Dismutases. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.64.070195.000525>, 6497–112.

Fu, Z., and Xi, S. (2019). The effects of heavy metals on human metabolism. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 30(3), 167–176.

Fujii, J., Homma, T., and Osaki, T. (2022). Superoxide Radicals in the Execution of Cell Death. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(3).

Fujiwara, S., Imai, J., Fujiwara, M., Yaeshima, T., Kawashima, T., and Kobayashi, K. (1990). A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin. *Journal of Biological Chemistry*, 265(19), 11333–11337.

Furusawa, T., Rakwal, R., Nam, H. W., Shibato, J., Agrawal, G. K., Kim, Y. S., Ogawa, Y., Yoshida, Y., Kouzuma, Y., Masuo, Y., and Yonekura, M. (2008). Comprehensive royal jelly (RJ) proteomics using one- and two-dimensional proteomics platforms reveals novel RJ proteins and potential phospho/glycoproteins. *Journal of Proteome Research*, 7(8), 3194–3229.

Ghadimi-Garjan, R., Javadi, A., Jafarizadeh-Malmiri, H., Anarjan, N., and Mirzaei, H. (2023). Lyophilized royal jelly preparation in nanoscale and evaluation of its physicochemical properties and bactericidal activity. *Food Science & Nutrition*, 11(6), 3404–3413.

Ghatak, S., Biswas, A., Dhali, G. K., Chowdhury, A., Boyer, J. L., and Santra, A. (2011). Oxidative stress and hepatic stellate cell activation are key events in arsenic induced liver fibrosis in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 251(1), 59–69.

Gholamine, B., Houshmand, G., Hosseinzadeh, A., Kalantar, M., Mehrzadi, S., and Goudarzi, M. (2019). Gallic acid ameliorates sodium arsenite-induced renal and hepatic toxicity in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(4), 341–352.

Giles, C. (1981). The Platelet Count and Mean Platelet Volume. *British Journal of Haematology*, 48(1), 31–37.

Gligorovski, S., Strekowski, R., Barbati, S., and Vione, D. (2015). Environmental Implications of Hydroxyl Radicals ($\bullet\text{OH}$). *Chemical Reviews*, 115(24), 13051–13092.

Gonzalez Caldito, N. (2023). Role of tumor necrosis factor-alpha in the central nervous system: a focus on autoimmune disorders. *Frontiers in Immunology*, 141213448.

Gu, H., Song, I. B., Han, H. J., Lee, N. Y., Cha, J. Y., Son, Y. K., and Kwon, J. (2018).

Antioxidant Activity of Royal Jelly Hydrolysates Obtained by Enzymatic Treatment. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(1), 135.

Gulley, M. L., Ross, D. W., Feo, C., and Orringer, E. P. (1982). The effect of cell hydration on the deformability of normal and sickle erythrocytes. *American Journal of Hematology*, 13(4), 283–291.

Guo, J., Wang, Z., Chen, Y., Cao, J., Tian, W., Ma, B., and Dong, Y. (2021). Active components and biological functions of royal jelly. *Journal of Functional Foods*, 82104514.

Guo, X. N., Xue, R. X., Fan, X. J., Sun, L., and Pei, Q. L. (2009). Effects of low arsenic sub-chronic exposure on blood general examination index in rabbit. *Chinese Journal of Endemiology*, 28(4), 395–397.

Van Hall, G., Steensberg, A., Sacchetti, M., Fischer, C., Keller, C., Schjerling, P., Hiscock, N., Møller, K., Saltin, B., Febbraio, M. A., and Pedersen, B. K. (2003). Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 88(7), 3005–3010.

Halliwell, B., Clement, M. V., and Long, L. H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS letters*, 486(1), 10–13.

Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford university press,: Oxford university press.

Hamza, R. Z., Al-Eisa, R. A., and El-Shenawy, N. S. (2022). Possible Ameliorative Effects of the Royal Jelly on Hepatotoxicity and Oxidative Stress Induced by Molybdenum Nanoparticles and/or Cadmium Chloride in Male Rats. *Biology*, 11(3).

Hansen, J. M., Zhang, H., and Jones, D. P. (2006). Differential oxidation of thioredoxin-1, thioredoxin-2, and glutathione by metal ions*. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(1), 138–145.

Hayyan, M., Hashim, M. A., and Alnashef, I. M. (2016). Superoxide Ion: Generation and Chemical Implications. *Chemical Reviews*, 116(5), 3029–3085.

Hershko, D. D., Robb, B. W., Hungness, E. S., Luo, G., Guo, X., and Hasselgren, P. O. (2002). Arsenite inhibits interleukin-6 production in human intestinal epithelial cells by down-regulating nuclear factor- κ B activity. *Clinical Science*, 103(4), 381–390.

Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S., and Thomas, D. J. (2011). Arsenic Exposure and Toxicology: A Historical Perspective. *Toxicological Sciences*, 123(2), 305–332.

Ibrahim, D. S., and Shahan, E. M. S. (2023). Effect of royal jelly on acrylamide-induced neurotoxicity in rats. *Journal of chemical neuroanatomy*, 134.

Isidorov, V. A., Bakier, S., and Grzech, I. (2012). Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of volatile and extractable compounds of crude royal jelly. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 885–886109–116.

Izuta, H., Chikaraishi, Y., Shimazawa, M., Mishima, S., and Hara, H. (2009). 10-Hydroxy-2-decenoic Acid, a Major Fatty Acid from Royal Jelly, Inhibits VEGF-induced Angiogenesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 6(4), 489.

Jalali, A. S., Najafi, G., Hosseini, M., and Sedighnia, A. (2015). Royal Jelly alleviates sperm toxicity and improves in vitro fertilization outcome in Stanazolol-treated mice. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 13(1), 15.

Jamnik, P., Goranovič, D., and Raspor, P. (2007). Antioxidative action of royal jelly in the yeast cell. *Experimental Gerontology*, 42(7), 594–600.

Jang, D. I., Lee, A. H., Shin, H. Y., Song, H. R., Park, J. H., Kang, T. B., Lee, S. R., and Yang, S. H. (2021). The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α Inhibitors in Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 2719, 22(5), 2719.

Jie-jie, L. (2006). Effect of royal jelly on hematological indexes of exercised mice. *Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics*.

Johnson, F., and Giulivi, C. (2005). Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Molecular aspects of medicine*, 26(4–5), 340–352.

Jyothi, N. R. (2020). Heavy Metal Sources and Their Effects on Human Health. *Heavy Metals - Their Environmental Impacts and Mitigation*.

Kalia, K., Narula, G. D., Kannan, G. M., and Flora, S. J. S. (2007). Effects of combined administration of captopril and DMSA on arsenite induced oxidative stress and blood and tissue arsenic concentration in rats. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology : CBP*, 144(4), 372–379.

Kamakura, M. (2011). Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature* 2011 473:7348, 473(7348), 478–483.

Kanbur, M., Eraslan, G., Silici, S., and Karabacak, M. (2009). Effects of sodium fluoride

exposure on some biochemical parameters in mice: Evaluation of the ameliorative effect of royal jelly applications on these parameters. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1184–1189.

Karaca, T., Şimşek, N., Uslu, S., Kalkan, Y., Can, I., Kara, A., and Yörük, M. (2012). The effect of royal jelly on CD3+, CD5+, CD45+ T-cell and CD68+ cell distribution in the colon of rats with acetic acid-induced colitis. *Allergologia et Immunopathologia*, 40(6), 357–361.

Karadeniz, A., Simsek, N., Karakus, E., Yildirim, S., Kara, A., Can, I., Kisa, F., Emre, H., and Turkeli, M. (2011). Royal jelly modulates oxidative stress and apoptosis in liver and kidneys of rats treated with cisplatin. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

Khadka, Y. R. (2021). Hemoglobin: A General Review. *Cognition*, 3(1), 111–118.

Kharroubi, W., Dhibi, M., Haouas, Z., Chreif, I., Neffati, F., Hammami, M., and Sakly, R. (2014). Effects of sodium arsenate exposure on liver fatty acid profiles and oxidative stress in rats. *Environmental science and pollution research international*, 21(3), 1648–1657.

Khazaei, F., Ghanbari, E., and Khazaei, M. (2020). Protective effect of royal jelly against cyclophosphamide-induced thrombocytopenia and spleen and bone marrow damages in rats. *Cell Journal*, 22(3), 302–309.

Khodayar, M. J., Kalantari, H., Samimi, A., Alboghobeish, S., Moghadam, P. T., and Zeinvand-Lorestani, M. (2019). Arsenic and Oxidative Stress in Pentylene-tetrazole-induced Seizures in Mice. 7(1) .

Kikugawa, K., Kosugi, H., and Asakura, T. (1984). Effect of malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, on the function and stability of hemoglobin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 229(1), 7–14.

Kimura, A., Ishida, Y., Wada, T., Hisaoka, T., Morikawa, Y., Sugaya, T., Mukaida, N., and Kondo, T. (2010). The absence of interleukin-6 enhanced arsenite-induced renal injury by promoting autophagy of tubular epithelial cells with aberrant extracellular signal-regulated kinase activation. *American Journal of Pathology*, 176(1), 40–50.

Kitchin, K. T., and Wallace, K. (2008). The role of protein binding of trivalent arsenicals in arsenic carcinogenesis and toxicity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 102(3), 532.

Klaassen, C. (1990). Heavy metals and heavy metal antagonist in Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Brunton LL, Lazo JS and Parker KL: McGraw Hill, 1753--1775.

Kocot, J., Kielczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., and Musik, I. (2018).

Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.

Kohen, R., and Nyska, A. (2016). Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. 30(6), 620–650.

Kolayli, S., Sahin, H., Can, Z., Yildiz, O., Malkoc, M., and Asadov, A. (2015). A Member of Complementary Medicinal Food. 21(4), NP43–NP48.

Köse, S., Ahan, R. E., Köksaldı, İ. Ç., Asburçe Bike Olgaç, M., Kasapkara, Ç. S., Özgür, U., and Şeker, Ş. (2021). Multiplexed Cell-Based Diagnostic Devices for Detection of Renal Biomarkers Using Genetic Circuits. *bioRxiv*, 2021.11.14.468540.

Krinsky, N. I. (1977). Singlet oxygen in biological systems. *Trends in Biochemical Sciences*, 2(2), 35–38.

Kunugi, H., and Ali, A. M. (2019). Royal Jelly and Its Components Promote Healthy Aging and Longevity: From Animal Models to Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19).

Kunwar, A., and Priyadarsini, K. . (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical and Allied Sciences*, 1(2), 53–60.

Kuzu, M., Kandemir, F. M., Yıldırım, S., Çağlayan, C., and Küçükler, S. (2021). Attenuation of sodium arsenite-induced cardiotoxicity and neurotoxicity with the antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic effects of hesperidin. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(9), 10818–10831.

Kwon, H.-O., Lee, M., Cho, Y.-H., Jun, W., and Lee, J. (2017). Royal Jelly Supplementation Ameliorated Immune Impairment via Inhibition of Oxidative Stress in Low Micronutrient-induced Immunodeficient Mice. *Journal of Food and Nutrition Research*, Vol. 5, 2017, Pages 74-79, 5(2), 74–79.

Labarrere, C. A., and Kassab, G. S. (2022). Glutathione: A Samsonian life-sustaining small molecule that protects against oxidative stress, ageing and damaging inflammation. *Frontiers in Nutrition*, 91007816.

Laufer, N., Ojeda, D., Polo, M. L., Martinez, A., Pérez, H., Turk, G., Cahn, P., Zwirner, N. W., and Quarleri, J. (2017). CD4+ T cells and natural killer cells: Biomarkers for hepatic fibrosis in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus-coinfected patients. *World journal of hepatology*, 9(25), 1073–1080.

Lee, P. C., Ho, I. C., and Lee, T. C. (2005). Oxidative stress mediates sodium arsenite-

induced expression of heme oxygenase-1, monocyte chemoattractant protein-1, and interleukin-6 in vascular smooth muscle cells. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 85(1), 541–550.

Li, S., Tao, L., Yu, X., Zheng, H., Wu, J., and Hu, F. (2021). Royal Jelly Proteins and Their Derived Peptides: Preparation, Properties, and Biological Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(48), 14415–14427.

Lin, C.-L., Chen, H.-J., and Hou, W.-C. Activity staining of glutathione peroxidase after electrophoresis on native and sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gels.

Lipinski, B. (2011). Hydroxyl Radical and Its Scavengers in Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011.

Liu, J. R., Yang, Y. C., Shi, L. S., and Peng, C. C. (2008). Antioxidant properties of royal jelly associated with larval age and time of harvest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(23), 11447–11452.

Liu, S., Sun, Q., Wang, F., Zhang, L., Song, Y., Xi, S., and Sun, G. (2014). Arsenic induced overexpression of inflammatory cytokines based on the human urothelial cell model in vitro and urinary secretion of individuals chronically exposed to arsenic. *Chemical Research in Toxicology*, 27(11), 1934–1942.

Liu, S. X., Athar, M., Lippai, I., Waldren, C., and Hei, T. K. (2001). Induction of oxyradicals by arsenic: implication for mechanism of genotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(4), 1643–1648.

Liu, Z., Wang, D., Tang, H., Li, H., Zhang, X., Dong, S., Zhang, L., and Yang, L. (2023). Identification and Analysis of the Catalase Gene Family Response to Abiotic Stress in *Nicotiana tabacum* L. *Agronomy*, 13(3), 936.

Lledias, F., and Hansberg, W. (2000). [11] Catalase modification as a marker for singlet oxygen. *Methods in Enzymology*, 319 110–119.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118.

López-Gutiérrez, N., Aguilera-Luiz, M. del M., Romero-González, R., Vidal, J. L. M., and Garrido Frenich, A. (2014). Fast analysis of polyphenols in royal jelly products using automated TurboFlowTM-liquid chromatography-Orbitrap high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 973 17–28.

Lotz, M. (1995). Interleukin-6: a comprehensive review. *Cancer treatment and research*,

80209–233.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. (1951). Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275.

Lu, Q. Z., and Melton, L. A. (2012). Measurement of Transient Temperature Field Within a Falling Droplet. <https://doi.org/10.2514/2.927>, 38(1), 95–101.

Lushchak, V. I. (2012). Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions. *Journal of Amino Acids*, 20121–26.

Lyngsie, G., Krumina, L., Tunlid, A., and Persson, P. (2018). Generation of hydroxyl radicals from reactions between a dimethoxyhydroquinone and iron oxide nanoparticles. *Scientific Reports 2018 8:1*, 8(1), 1–9.

Maghsoudlou, A., Sadeghi Mahoonak, A., Mohebodini, H., and Toldra, F. (2019). Royal jelly: Chemistry, storage and bioactivities. *Journal of Apicultural Science*, 63(1), 17–40.

Maheshwari, N., Khan, F. H., and Mahmood, R. (2017). Sodium meta-arsenite induced reactive oxygen species in human red blood cells: impaired antioxidant and membrane redox systems, haemoglobin oxidation, and morphological changes. *Free Radical Research*, 51(5), 483–497.

Mamta, Misra, K., Dhillon, G. S., Brar, S. K., and Verma, M. (2014). Antioxidants. *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals*, 9781461480117–138.

Mannoor, M. K., Shimabukuro, I., Tsukamoto, M., Watanabe, H., Yamaguchi, K., and Sato, Y. (2009). Honeybee royal jelly inhibits autoimmunity in SLE-prone NZB x NZW F1 mice. *Lupus*, 18(1), 44–52.

Manzo, L. P., De-Faria, F. M., Dunder, R. J., Rabelo-Socca, E. A., Consonni, S. R., De Almeida, A. C. A., Souza-Brito, A. R. M., and Luiz-Ferreira, A. (2015). Royal jelly and its dual role in TNBS colitis in mice. *Scientific World Journal*, 2015.

Maqsoudlou, A., Mahoonak, A. S., Mora, L., Mohebodini, H., Toldrá, F., and Ghorbani, M. (2019). Peptide identification in alcalase hydrolysed pollen and comparison of its bioactivity with royal jelly. *Food Research International*, 116905–915.

Mar, C., Andr, C., Manuel, P., Andr, C., Plou, F. J., and Eduardo, P. (2023). Superoxide Anion Chemistry — Its Role at the Core of the Innate Immunity.

Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., and D'Alessandro, A. G. (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen 2022, Vol. 2, Pages 48-78*, 2(2), 48–78.

Matkovics, B. (1988). Determination of enzyme activity in lipid peroxidation and glutathione pathways. 15248–250.

Maurya, R., Namdeo, M., Maurya, R., and Namdeo, M. (2021). Superoxide Dismutase: A Key Enzyme for the Survival of Intracellular Pathogens in Host. .

Mehrzadi, S., Goudarzi, M., Fatemi, I., Basir, Z., Malayeri, A., and Khalili, H. (2021). Chrysin attenuates sodium arsenite-induced nephrotoxicity in rats by suppressing oxidative stress and inflammation. *Tissue & cell*, 73.

Mehta, M., and Hundal, S. (2015). Biochemical and histological alterations in liver following sub chronic exposure of arsenic. *Al Ameen J Med Sci*, 8(3), 219–224.

Mihajlovic, D., Rajkovic, I., Chinou, I., and Colic, M. (2013). Dose-dependent immunomodulatory effects of 10-hydroxy-2-decenoic acid on human monocyte-derived dendritic cells. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 838–846.

Min, D. B., and Boff, J. M. (2002). Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1(2), 58–72.

Minegaki, N., Koshizuka, T., Hatasa, K., Kondo, H., Kato, H., Tannaka, M., Takahashi, K., Tsuji, M., and Inoue, N. (2022a). The C-Terminal Penta-Peptide Repeats of Major Royal Jelly Protein 3 Ameliorate the Progression of Inflammation in Vivo and in Vitro. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 45(5), 583–589.

Minegaki, N., Koshizuka, T., Hatasa, K., Kondo, H., Kato, H., Tannaka, M., Takahashi, K., Tsuji, M., and Inoue, N. (2022b). The C-Terminal Penta-Peptide Repeats of Major Royal Jelly Protein 3 Ameliorate the Progression of Inflammation in Vivo and in Vitro. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 45(5), 583–589.

Mishra, D., Gupta, R., Pant, S. C., Kushwah, P., Satish, H. T., and Flora, S. J. S. (2009). Co-administration of monoisoamyl dimercaptosuccinic acid and Moringa oleifera seed powder protects arsenic-induced oxidative stress and metal distribution in mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 19(2), 169–182.

Mitra, S., Chakraborty, A. J., Tareq, A. M., Emran, T. Bin, Nainu, F., Khusro, A., Idris, A. M., Khandaker, M. U., Osman, H., Alhumaydhi, F. A., and Simal-Gandara, J. (2022). Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *Journal of King Saud University - Science*, 34(3), 101865.

Miwa, M., Kozawa, O., Tokuda, H., and Uematsu, T. (2000). Involvement of arachidonic acid in chemical stress-induced interleukin-6 synthesis in osteoblast-like cells: comparison with heat shock protein 27 induction. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*, 62(3), 189–193.

Miyata, Y., Araki, K., Ohba, K., Mastuo, T., Nakamura, Y., Yuno, T., Mukai, Y., Otsubo, A., Mitsunari, K., Mochizuki, Y., and Sakai, H. (2020). Oral intake of royal jelly improves anti-cancer effects and suppresses adverse events of molecular targeted therapy by regulating TNF- α and TGF- β in renal cell carcinoma: A preliminary study based on a randomized double-blind clinical trial. *Molecular and clinical oncology*, 13(4), 1–8.

Miyata, Y., and Sakai, H. (2018). Anti-cancer and protective effects of royal jelly for therapy-induced toxicities in malignancies. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 1–16.

Mohammed Abdul, K. S., Jayasinghe, S. S., Chandana, E. P. S., Jayasumana, C., and De Silva, P. M. C. S. (2015). Arsenic and human health effects: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(3), 828–846.

Mondal, B., Chatterjee, D., and Bhattacharyya, M. (2012). Structure–function alteration of hemoglobin in arsenicosis patients: a probable pathway to exert toxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 32(8), 581–589.

Morales-Borges, R. H., Gonzalez, M. J., Duconge, J., and Minich, D. M. (2022). N-Acetyl Cysteine and Glutathione in Health and Cancer—Pharmacogenomics, Research, and Clinical Practice: Hypothesis and Review. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 28(7), 169–177.

Morita, H., Ikeda, T., Kajita, K., Fujioka, K., Mori, I., Okada, H., Uno, Y., and Ishizuka, T. (2012). Effect of royal jelly ingestion for six months on healthy volunteers. *Nutrition journal*, 11(1).

Mu, T., Sun, H., Zhang, M., and Wang, C. (2017). Sweet Potato Proteins. *Sweet Potato Processing Technology*, 49–119.

Mukherjee, B., Bindhani, B., Saha, H., Sinha, D., and Ray, M. R. (2014). Platelet hyperactivity, neurobehavioral symptoms and depression among Indian women chronically exposed to low level of arsenic. *NeuroToxicology*, 45159–167.

Munson, J., and Clements, H. (1947). Arsenic toxicity studies in soil and in culture solution. .

Munteanu, I. G., and Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7) .

Naghieb, M., Kariminik, A., Arababadi, M. K., and Rokhbakhsh-Zamin, F. (2022). The Effects of Royal Jelly on the Pro-Inflammatory Innate Immunity Cytokines in Patients Infected with Hepatitis B Virus and Its Antiviral Activity. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 9(2), 640–644.

Najafi, G., Nejati, V., Shalazar Jalali, A., and Zahmatkesh, E. (2014). Protective Role of Royal Jelly in Oxymetholone-induced Oxidative Injury in Mouse Testis. *Iranian Journal of Toxicology*, 8(25), 1073–1080.

Nakai, K., and Tsuruta, D. (2021). What Are Reactive Oxygen Species, Free Radicals, and Oxidative Stress in Skin Diseases? *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19).

Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Mishima, S., and Hara, H. (2009). Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9(1), 1–9.

Nassireslami, E., Nikbin, P., Amini, E., Payandemehr, B., Shaerzadeh, F., Khodaghali, F., Yazdi, B. B., Kebriaeezadeh, A., Taghizadeh, G., and Sharifzadeh, M. (2016). How sodium arsenite improve amyloid β -induced memory deficit? *Physiology & Behavior*, 16397–106.

NCBI (2023). from:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-arsenite>. Erişim Tarihi:15.07.2024.

Nejati, V., Zahmatkesh, E., and Babaei, M. (2016). Protective Effects of Royal Jelly on Oxymetholone- Induced Liver Injury in Mice. *Iranian Biomedical Journal*, 20(4), 229.

Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., Foyer, C. H., and Grace, S. (2000). Peroxide processing in photosynthesis: antioxidant coupling and redox signalling. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355(1402), 1465.

Nozohour, Y., and Jalilzadeh-Amin, G. (2019). Histopathological Changes and Antioxidant Enzymes Status in Oxidative Stress Induction Using Sodium arsenite in Rats. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 6(1), 40–44.

Okamoto, H., Ohkuma, A., Kawaguchi, M., Shigematsu, N., and Okumura, N. (2023). Royal Jelly Increases Hematopoietic Stem Cells in Peripheral Blood: A Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Trial in Healthy Subjects. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2023.

Örösi-P'1, Z. (2015). The Role of the Mandibular Glands of the Honeybee. 38(3), 70–73.

Oršolić, N., and Jazvinščak Jembrek, M. (2024). Royal Jelly: Biological Action and Health Benefits. *International Journal of Molecular Sciences 2024, Vol. 25, Page 6023*,

25(11), 6023.

Oyagbemi, A. A., Omobowale, T. O., Asenuga, E. R., Ochigbo, G. O., Adejumobi, A. O., Adedapo, A. A., and Yakubu, M. A. (2017). Sodium arsenite-induced cardiovascular and renal dysfunction in rat via oxidative stress and protein kinase B (Akt/PKB) signaling pathway. *Redox Report*, 22(6), 467–477.

Pairor, S., Homkajorn, B., Niyomchan, A., Suntararuks, S., Watcharasit, P., and Satayavivad, J. (2021). Increase of glycogen storage by sodium arsenite in rat cortical astrocytes through glycogen synthase activation and its association to toxicity. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 13(2), 153–163.

Pancar, Z., ÖZDAL, M., and VURAL, M. (2019). Investigation Of The Effect Of Royal Jelly Supplement On Some Hematological Parameters In Sedentary Men. *International Journal of Social and Humanities Sciences Research (JSHSR)*, 6(43), 3186–3189.

Panghal, A., Sathua, K. B., and Flora, S. J. S. (2020). Gallic acid and MiADMSA reversed arsenic induced oxidative/nitrosative damage in rat red blood cells. *Heliyon*, 6(2), e03431.

Pant, N., Murthy, R. C., and Srivastava, S. P. (2004). Male reproductive toxicity of sodium arsenite in mice. 23(8), 399–403.

Park, M. J., Kim, B. Y., Park, H. G., Deng, Y., Yoon, H. J., Choi, Y. S., Lee, K. S., and Jin, B. R. (2019). Major royal jelly protein 2 acts as an antimicrobial agent and antioxidant in royal jelly. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22(3), 684–689.

Parvez, F., Medina, S., Santella, R. M., Islam, T., Lauer, F. T., Alam, N., Eunus, M., Rahman, M., Factor-Litvak, P., Ahsan, H., Graziano, J. H., Liu, K. J., and Burchiel, S. W. (2017). Arsenic Exposures Alter Clinical Indicators Of Anemia In A Male Population Of Smokers And Non-Smokers In Bangladesh. *Toxicology and applied pharmacology*, 33162.

Pesce, B., Ribeiro, C. H., Larrondo, M., Ramos, V., Soto, L., Catalán, D., and Aguillón, J. C. (2022). TNF- α Affects Signature Cytokines of Th1 and Th17 T Cell Subsets through Differential Actions on TNFR1 and TNFR2. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9306.

Pharma, D., Jha, D. K., Mishra, B. B., Thakur, K. R., Kumar, V., Verma, P., and Khan, P. K. (2017). Toxicological Effects of Arsenic Exposure on Haematology of Fresh Water Fish *Channa punctatus*. 9(16), 1–5.

Pickrell, A. M., Fukui, H., and Moraes, C. T. (2009). The role of cytochrome c oxidase deficiency in ROS and amyloid plaque formation. *Journal of Bioenergetics and*

Biomembranes, 41(5), 453–456.

Pin, J. (2013). Subchronic exposure to arsenite and arsenate on antioxidation and lipid peroxidation in rats liver. *Modern Preventive Medicine*.

Placer, Z. A., Cushman, L. L., and Johnson, B. C. (1966). Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, 16(2), 359–364.

Pourmobini, H., Arababadi, M. K., Salahshoor, M. R., Roshankhah, S., Taghavi, M. M., Taghipour, Z., and Shabanizadeh, A. (2021). The effect of royal jelly and silver nanoparticles on liver and kidney inflammation. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 11(3), 218–223.

Pourmoradian, S., Mahdavi, R., Mobasser, M., Faramarzi, E., and Mobasser, M. (2014). Effects of royal jelly supplementation on glycemic control and oxidative stress factors in type 2 diabetic female: a randomized clinical trial. *Chinese journal of integrative medicine*, 20(5), 347–352.

Prabhu, S. N., Mukhopadhyay, S. C., and Liu, G. (2022). Sensors and Techniques for Creatinine Detection: A Review. *IEEE Sensors Journal*, 22(12), 11427–11438.

Qiu, W., Chen, X., Tian, Y., Wu, D., Du, M., and Wang, S. (2020). Protection against oxidative stress and anti-aging effect in *Drosophila* of royal jelly-collagen peptide. *Food and Chemical Toxicology*, 135110881.

Rafat, N., Monfared, A. S., Shahidi, M., and Pourfallah, T. A. (2016). The modulating effect of royal jelly consumption against radiation-induced apoptosis in human peripheral blood leukocytes. *Journal of Medical Physics*, 41(1), 52–57.

Ramadan, M. F., and Al-Ghamdi, A. (2012). Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 39–52.

Rasheed, Z. (2024). Therapeutic potentials of catalase: Mechanisms, applications, and future perspectives. *International Journal of Health Sciences*, 18(2), 1.

Rezaei, Z., Jamshidzadeh, A., and Sanati, E. (2013). A rapid and sensitive method for the determination of malondialdehyde as its hydralazine derivative in human plasma using high performance liquid chromatography. *Analytical Methods*, 5(12), 2995–2999.

Rosa, A. C., Corsi, D., Cavi, N., Bruni, N., and Dosio, F. (2021). Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 1844, 26(7), 1844.

S.M.A., S., Mehranjani, M., Mohammadi, R., and Noreini, S. N. (2016). Effect of green tea extract (*Camellia sinensis*) on kidney toxicity induced by sodium arsenite: a stereological study. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences* .

Sabatini, A. G. (2009). Quality and standardisation of Royal Jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1(1), 16–21.

Sahoo, D., Rukmini, M., and Ray, R. (2015). Quantitative Analysis of Serum Level Alanine and Aspartate Aminotransferases, γ -Glutamyl Transferase and Alkaline Phosphatase as Predictor of Liver Diseases.

Salahshoor, M. R., Jalili, C., and Roshankhah, S. (2019). Can royal jelly protect against renal ischemia/reperfusion injury in rats? *The Chinese journal of physiology*, 62(3), 131–137.

Samuels, P. (2015). One-Way Analysis of Variance (ANOVA). (April 2014) .

Sarma, A. Das, Anisur Rahaman Mallick, and A. K. Ghosh* (2010). Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions : An Overview. 1(3), 185–192.

Saxena, R. (2014). Arthritis as a Disease of Aging and Changes in Antioxidant Status. Elsevier.

Schaper, F., and Rose-John, S. (2015). Interleukin-6: Biology, signaling and strategies of blockade. *Cytokine & growth factor reviews*, 26(5), 475–487.

Schmitzová, J., Klaudiny, J., Albert, Š., Schröder, W., Schreckengost, W., Hanes, J., Júdová, J., and Šimúth, J. (1998). A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 54(9), 1020–1030.

Scibior, D., and Czczot, H. (2006). [Catalase: structure, properties, functions]. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej*, .

Sedlak, J., and Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 25(1), 192–205.

Seltman, H. J. (2015). Chapter 7 One-way ANOVA.

Shahid, F., Rizwan, S., Khan, M. W., Khan, S. A., Naqshbandi, A., and Yusufi, A. N. K. (2014). Studies on the effect of sodium arsenate on the enzymes of carbohydrate metabolism, brush border membrane, and oxidative stress in the rat kidney. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(2), 592–599.

Sharma, S., Kaur, T., Sharma, A. K., Singh, B., Pathak, D., Yadav, H. N., and Singh, A. P. (2021). Betaine attenuates sodium arsenite-induced renal dysfunction in rats. *Drug and chemical toxicology (New York, N.Y. 1978)*, 45(6), 2488–2495.

Sharma, S., and Rani, S. (2022). Possible Protective Role of Aqueous Tomato Extract on Hemato-Biochemical Parameters against Sodium Arsenite Toxicity in Albino Rats. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 34(14B), 12–22.

Sheen, A., Agarwal, Y., Cheah, K. M., Cowles, S. C., Stinson, J. A., Palmeri, J. R., Sikes, H. D., and Wittrup, K. D. (2023). Tumor-localized catalases can fail to alter tumor growth and transcriptional profiles in subcutaneous syngeneic mouse tumor models. *Redox Biology*, 64102766.

Shi, H., Shi, X., and Liu, K. J. (2004). Oxidative mechanism of arsenic toxicity and carcinogenesis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 255(1–2), 67–78.

Shidfar, F., Jazayeri, S., Mousavi, S. N., Malek, M., Hosseini, A. F., and Khoshpey, B. (2015). Does Supplementation with Royal Jelly Improve Oxidative Stress and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Patients? *Iranian Journal of Public Health*, 44(6), 797.

Shiva, R., Ziapoor, A., Jalili, C., and Salahshoor, M. R. (2019). Effect Royal Jelly against Low Protein Diet Induced Hepatic Damage in Male Rats. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 9(1), 02–06.

Silici, S., Ekmekcioglu, O., Eraslan, G., and Demirtas, A. (2009). Antioxidative effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage. *Urology*, 74(3), 545–551.

Silici, S., Ekmekcioglu, O., Kanbur, M., and Deniz, K. (2011). The protective effect of royal jelly against cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *World Journal of Urology*, 29(1), 127–132.

Silva-Adaya, D., Ramos-Chávez, L. A., Petrosyan, P., González-Alfonso, W. L., Pérez-Acosta, A., and Gonsebatt, M. E. (2020). Early Neurotoxic Effects of Inorganic Arsenic Modulate Cortical GSH Levels Associated With the Activation of the Nrf2 and NFκB Pathways, Expression of Amino Acid Transporters and NMDA Receptors and the Production of Hydrogen Sulfide. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14509209.

Simo, K., and Christensen, G. M. (1962). Quantitative Analysis of Sugars in Royal Jelly. *Nature 196* 196:4860, 196(4860), 1208–1209.

Şimşek, H., Küçükler, S., Gür, C., İleritürk, M., Aygörmez, S., and Kandemir, F. M. (2023). Protective effects of zingerone against sodium arsenite-induced lung toxicity: A multi-biomarker approach. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 26(9), 1098.

Šimúth, J. (2001). Some properties of the main protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Apidologie*, 32(1), 69–80.

Singh, A. P., Goel, R. K., and Kaur, T. (2011). Mechanisms Pertaining to Arsenic Toxicity. *Toxicology International*, 18(2), 87.

Singhirunnusorn, P., Moolmuang, B., Lirdprapamongkol, K., and Ruchirawat, M. (2018). Arsenite exposure potentiates apoptosis-inducing effects of tumor necrosis factor- α -through reactive oxygen species. *The Journal of Toxicological Sciences*, 43(2), 159–169.

Situmorang, N., and Zulham, Z. (2020). Malondialdehyde (Mda) (Zat Oksidan Yang Mempercepat Proses Penuaan). *Jurnal Keperawatan Dan Fisioterapi (JKF)*, 2(2), 117–123.

Souza, A. C. F., Marchesi, S. C., Domingues de Almeida Lima, G., Ferraz, R. P., Santos, F. C., da Matta, S. L. P., and Machado-Neves, M. (2016). Effects of Sodium Arsenite and Arsenate in Testicular Histomorphometry and Antioxidants Enzymes Activities in Rats. *Biological Trace Element Research*, 171(2), 354–362.

Spanidi, E., Athanasopoulou, S., Liakopoulou, A., Chaidou, A., Hatziantoniou, S., and Gardikis, K. (2022). Royal Jelly Components Encapsulation in a Controlled Release System—Skin Functionality, and Biochemical Activity for Skin Applications. *Pharmaceuticals*, 15(8) .

Stankovic, J. S. K., Selakovic, D., Mihailovic, V., and Rosic, G. (2020). Antioxidant supplementation in the treatment of neurotoxicity induced by platinum-based chemotherapeutics—a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 1–28.

Stefan, G., Wardas, M., Niedworok, E., and Wardas, P. (2009). [Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker]. *2004*, 57(9–10), 453–500.

Stephenie, S., Chang, Y. P., Gnanasekaran, A., Esa, N. M., and Gnanaraj, C. (2020). An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement. *Journal of Functional Foods*, 68103917.

Stevens, C., Walz, G., Singaram, C., Lipman, M. L., Zanker, B., Muggia, A., Antonioli, D., Peppercorn, M. A., and Strom, T. B. (1992). Tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 expression in inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 37(6), 818–826.

Sugiyama, T., Takahashi, K., and Mori, H. (2012). Royal Jelly Acid, 10-Hydroxy-trans-2-Decenoic Acid, as a Modulator of the Innate Immune Responses. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 12(4), 368–376.

Sugiyama, T., Takahashi, K., Tokoro, S., Gotou, T., Neri, P., and Mori, H. (2012). Inhibitory effect of 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid on LPS-induced IL-6 production via reducing I κ B-X expression. *Innate Immunity*, 18(3), 429–437.

Sumi, D., Asao, M., Okada, H., Yogi, K., Miyataka, H., and Himeno, S. (2016). Synergistic augmentation of ATP-induced interleukin-6 production by arsenite in HaCaT cells. *Archives of Toxicology*, 90(6), 1307–1313.

Sun, Y., Oberley, L. W., and Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497–500.

Supabphol, R. (2013). Cytoprotective Potential of Royal Jelly on Human Umbilical Vein Endothelial Cells against Nicotine Toxicity via Catalase. *European Journal of Medicinal Plants*, 3(1), 88–98.

Suprpto, N., Novianto, E., Sofiati, A., and Hoemardani, D. (2022). Penggunaan Anti TNF- α Dalam Bidang Dermatologi. *Journal Of The Indonesian Medical Association*, 72(5), 244–258.

Šver, L., Oršolić, N., Tadić, Z., Njari, B., Valpotić, I., and Bašić, I. (1996). A royal jelly as a new potential immunomodulator in rats and mice. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 19(1), 31–38.

Swaroop, D. A. R., and M, D. L. M. Das (2022). Superoxide Dismutase (SOD): A Promising Enzyme in the Area of Biopharmaceuticals in Its Native and Immobilized Form: A Review. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*, (8), 1472–1478.

Szollosi, R. (2014). Superoxide Dismutase (SOD) and Abiotic Stress Tolerance in Plants. *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling*, 89–129.

Takahashi, K., Sugiyama, T., Tokoro, S., Neri, P., and Mori, H. (2012). Inhibition of interferon- γ -induced nitric oxide production by 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid through inhibition of interferon regulatory factor-8 induction. *Cellular Immunology*, 273(1), 73–78.

Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., and Sutton, D. J. (2012). Heavy Metals Toxicity and the Environment. *EXS*, 101133.

Terada, Y., Narukawa, M., and Watanabe, T. (2011). Specific hydroxy fatty acids in Royal Jelly activate TRPA1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2627–2635.

Tohamy, H. G., El-Neweshy, M. S., Soliman, M. M., Sayed, S., Shukry, M., Ghamry, H.

I., and Abd-Ellatieff, H. (2022). Protective potential of royal jelly against hydroxyurea - induced hepatic injury in rats via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptosis properties. *Plos One*, 17(3), e0265261.

Townsend, G. F., Brown, W. H., Felauer, E. E., and Hazlett, B. (1961). Studies on the in vitro antitumor activity of fatty acids. IV. The esters of acids closely related to 10-hydroxy-2-decenoic acids from royal jelly against transplantable mouse leukemia. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 39(11), 1765–1770.

Toyoda, H., Himeno, S., and Imura, N. (1989). The Regulation of Glutathione Peroxidase Gene Expression; Implication for Species Difference and the Effect of Dietary Selenium Manipulation. *Selenium in Biology and Medicine*, 3–7.

Treacy, O., Brown, N. N., and Dimeski, G. (2019). Biochemical evaluation of kidney disease. *Translational Andrology and Urology*, 8(Suppl 2), S214–S223.

Turk, E., Kandemir, F. M., Yildirim, S., Caglayan, C., Kucukler, S., and Kuzu, M. (2019). Protective Effect of Hesperidin on Sodium Arsenite-Induced Nephrotoxicity and Hepatotoxicity in Rats. *Biological Trace Element Research*, 189(1), 95–108.

Türkmen, Z., Cavusolu, K., Cavusoglu, K., Yapar, K., and Yalcin, E. (2009). Protective role of Royal Jelly (honeybee) on genotoxicity and lipid peroxidation, induced by petroleum wastewater, in *Allium cepa* L. root tips. *Environmental Technology*, 30(11), 1205–1214.

Ursini, F., and Maiorino, M. (2013). Glutathione Peroxidases. *Encyclopedia of Biological Chemistry: Second Edition*, 399–404.

Uthaibutra, V., Kaewkod, T., Prapawilai, P., Pandith, H., and Tragoolpua, Y. (2023). Inhibition of Skin Pathogenic Bacteria, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Royal Jelly from Northern Thailand. *Molecules*, 28(3), 996.

Valko, M., Morris, H., and Cronin, M. (2005). Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12(10), 1161–1208.

da Veiga, G. L., da Costa Aguiar Alves, B., Perez, M. M., Raimundo, J. R., de Araújo Encinas, J. F., Murad, N., and Fonseca, F. L. A. (2021). Kidney Diseases: The Age of Molecular Markers. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 130613–27.

Vetrano, A. M., Heck, D. E., Mariano, T. M., Mishin, V., Laskin, D. L., and Laskin, J. D. (2005). Characterization of the Oxidase Activity in Mammalian Catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 280(42), 35372–35381.

Villar-Fincheira, P., Sanhueza-Olivares, F., Norambuena-Soto, I., Cancino-Arenas, N., Hernandez-Vargas, F., Troncoso, R., Gabrielli, L., and Chiong, M. (2021). Role of

Interleukin-6 in Vascular Health and Disease. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8(March), 1–11.

Viuda-Martos, M., Pérez-Alvarez, J. A., and Fernández-López, J. (2017). Royal Jelly: Health Benefits and Uses in Medicine. *Bee Products - Chemical and Biological Properties*, 199–218.

Wada, A., Takagi, Y., Kono, M., and Morikawa, T. (2015). Accuracy of a new platelet count system (PLT-F) depends on the staining property of its reagents. *PLoS ONE*, 10(10), 1–13.

Wan, G., Medina, S., Zhang, H., Pan, R., Zhou, X., Bolt, A. M., Luo, L., Burchiel, S. W., and Liu, K. J. (2021). Arsenite exposure inhibits the erythroid differentiation of human hematopoietic progenitor CD34+ cells and causes decreased levels of hemoglobin. *Scientific Reports 2021 11:1*, 11(1), 1–12.

Wang, C., Jiang, Z.-Y., Wang, J., Liu, J.-X., Nian, Y.-Y., Liu, L., Dang, T., and Meng, X.-M. (2022). A small H₂O-soluble ingredient of royal jelly lower cholesterol levels in liver cells by suppressing squalene epoxidase. *bioRxiv*, 2022.06.14.496166.

Wang, G. Y., and Lin, Z. B. (1996). Effects of 10-hydroxy-2-decenoic acid on T lymphocyte and its subtypes and interleukin 2 production in mice. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 10(1), 53–55.

Wang, S., Geng, Z., Yu, Y., and Guo, J. (2012). Arsenite Exposure Induces Oxidative Stresses in the Nematode *Caenorhabditis Elegans*. *Advances in Intelligent and Soft Computing*, 134 AISC911–918.

Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., and Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, 217(6), 1915–1928.

Wang, Y. C., Chaung, R. H., and Tung, L. C. (2004). Comparison of the cytotoxicity induced by different exposure to sodium arsenite in two fish cell lines. *Aquatic Toxicology*, 69(1), 67–79.

Waykar, B. B., and Alqadhi, Y. A. (2018). Administration of honey and royal jelly ameliorate cisplatin induced changes in liver and kidney function in rat. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 11(4), 2191–2199.

White, S. R., and Hedge, M. W. (2007). Haddad and Winchester's Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose. Elsevier Inc.

Wikipedia [Internet]. Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_arsenite.

Erişim tarihi 23.09.2023

Winterbourn, C. C. (2013). The Biological Chemistry of Hydrogen Peroxide. *Methods in Enzymology*, 5283–25.

Winterbourn, C. C. (2020). Biological chemistry of superoxide radicals. *ChemTexts*, 6(1), 1–13.

Witkowska, D., Słowik, J., and Chilicka, K. (2021). Heavy Metals and Human Health: Possible Exposure Pathways and the Competition for Protein Binding Sites. *Molecules*, 26(19) .

Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R., and Turner, N. D. (2004). Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 489–492.

Wu, Y., Dai, J., Zhang, W., Yan, R., Zhang, Y., Ruan, C., and Dai, K. (2014). Arsenic Trioxide Induces Apoptosis in Human Platelets via C-Jun NH2-Terminal Kinase Activation. *PLOS ONE*, 9(1), e86445.

Xin, X. X., Chen, Y., Chen, D., Xiao, F., Parnell, L. D., Zhao, J., Liu, L., Ordovas, J. M., Lai, C. Q., and Shen, L. R. (2016). Supplementation with Major Royal-Jelly Proteins Increases Lifespan, Feeding, and Fecundity in *Drosophila*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(29), 5803–5812.

Xue, X., Wu, L., and Wang, K. (2017). Chemical Composition of Royal Jelly. *Bee Products - Chemical and Biological Properties*, 181–190.

Yang, X., Li, Y., Wang, L., Li, L., Guo, L., Huang, F., and Zhao, H. (2019). Determination of 10-Hydroxy-2-Decenoic Acid of Royal Jelly Using Near-Infrared Spectroscopy Combined with Chemometrics. *Journal of food science*, 84(9), 2458–2466.

Yang, Y. C., Chou, W. M., Widowati, D. A., Lin, I. P., and Peng, C. C. (2018). 10-hydroxy-2-decenoic acid of royal jelly exhibits bactericide and anti-inflammatory activity in human colon cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 1–7.

Yeung, Y. T., and Argüelles, S. (2019). Bee Products: Royal Jelly and Propolis. *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*, 475–484.

Yin, H., Xu, L., and Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*, 111(10), 5944–5972.

You, K., Gu, H., Yuan, Z., and Xu, X. (2021). Tumor Necrosis Factor Alpha Signaling and Organogenesis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9727075.

Yousef, M. I., El-Demerdash, F. M., and Radwan, F. M. E. (2008). Sodium arsenite induced biochemical perturbations in rats: Ameliorating effect of curcumin. *Food and Chemical Toxicology*, 46(11), 3506–3511.

Yu, H., Kuang, M., Wang, Y., Rodeni, S., Wei, Q., Wang, W., and Mao, D. (2019). Sodium Arsenite Injection Induces Ovarian Oxidative Stress and Affects Steroidogenesis in Rats. *Biological Trace Element Research*, 189(1), 186–193.

Yuno, T., Miyata, Y., Mukae, Y., Otsubo, A., Mitsunari, K., Matsuo, T., Ohba, K., and Sakai, H. (2020). Mechanisms Underlying the Inhibition of Tyrosine Kinase Inhibitor-Induced Anorexia and Fatigue by Royal Jelly in Renal Cell Carcinoma Patients and the Correlation between Macrophage Colony Stimulating Factor and Inflammatory Mediators. *Medical Sciences 2020, Vol. 8, Page 43*, 8(4), 43.

Zhang, J., Hao, H., Wu, X., Wang, Q., Chen, M., Feng, Z., and Chen, H. (2020). The functions of glutathione peroxidase in ROS homeostasis and fruiting body development in *Hypsizygus marmoreus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(24), 10555–10570.

Zhang, S., Shao, Q., Shen, Z., and Su, S. (2017). Immunomodulatory response of 4T1 murine breast cancer model to camellia royal jelly. *Biomedical Research-tokyo*.

Zhang, W. R., and Parikh, C. R. (2019). Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease. *Annual Review of Physiology*, 81(Volume 81, 2019), 309–333.

Ek-1: Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 09.12.2021-E.40227



T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-85680299-020-40227
Konu : Olurlar, Onaylar

09.12.2021

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Halil ŞİMŞEK
Bölüm Başkanı

Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 09.12.2021 tarihinde yapılan toplantısında "Sıçanlarda sodyum arsenit ile indüklenen karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerine arı sütü etkilerinin biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle araştırılması" başlıklı araştırma projeniz Etik Kurul yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunmuştur. Projenizin onay belgesi ektedir. Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Bahri PATİR
Kurul Başkanı

EK :
Onay Belgesi

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : *BSE41F8FHP* Belge Takip Adresi : <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=BSE41F8FHP&eS=40227>
Adres: Bingöl Üniversitesi Rektörlüğü Selahaddin-i Eyyubi Mah. Üniversite Cad.
No:1 BİNGÖL/TÜRKİYE Bilgi için: Emre ŞAHİN
Telefon:0426 216 00 12-13-14-15 Faks:0426 215 10 20 Unvanı: Sekreter
e-Posta:basinyin@bingol.edu.tr Elektronik Ağ:www.bingol.edu.tr
Kep Adresi: bingoluniversitesi@hs01.kep.tr



Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.