

## Apilarnil ve Kraliçe Arı Larvası Liyofilizatlarının Genotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Mikronükleus Testi ile Belirlenmesi

Ece Avuloğlu Yılmaz\*<sup>1</sup> , Aybüke Afra Babacan<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Amasya Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Sağlık Bilgi Sistemleri Teknikerliği Programı, 05100, Amasya, Türkiye

<sup>2</sup>Amasya Üniversitesi, Sabuncuoğlu Şerefeddin Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Yaşlı Bakımı Programı, 05100, Amasya, Türkiye

### Öne Çıkanlar

- Apiterapi, arı ürünleri kullanılarak yapılan alternatif ve tamamlayıcı bir tedavi yöntemidir.
- Apilarnil (erkek arı larvası) ve kraliçe (ana) arı larvası gıda takviyesi olarak kullanılan apiterapi ürünleridir.
- Apilarnil ve kraliçe arı larvasının genotoksik ve MMC'ye karşı antigenotoksik etkileri araştırılmıştır.
- İnsan lenfositlerinde mikronükleus yöntemi kullanılmış olup, nükleer bölünme indeksi de değerlendirilmiştir.
- Sonuçta her iki ürün de genotoksik etkiye neden olmamış fakat antigenotoksik etki sergilemiştir.

### Makale Bilgileri

Geliş: 09/03/2024

Kabul: 17/04/2024

### Anahtar Kelimeler

Apilarnil,  
Kraliçe arı larvası,  
Mikronükleus,  
İnsan lenfositleri,  
Genotoksisite.

### Öz

Apiterapi arı ürünleri kullanılarak yapılan tamamlayıcı ve alternatif bir tedavi yöntemidir. Bu çalışmada apiterapi ürünlerinden olan liyofilize erkek arı larvası (apilarnil =APL) ve kraliçe (ana) arı larvasının (KAL) insan periferik lenfositlerinde mikronükleus (MN) testi ile genotoksik ve antigenotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için sağlıklı bir erkek ve bir kadın donörden alınan lenfositlere APL ve KAL liyofilizatlarının 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25,00; 50,00 ve 100,00 µg/mL'lik konsantrasyonları tek başına ve mitomisin-C (MMC) ile eş zamanlı olarak uygulanmıştır. Ek olarak nükleer bölünme indeksine (NDI) etkileri de değerlendirilmiştir. Sonuçta APL ve KAL liyofilizatlarının tek başına kontrole göre MN frekansını etkilemediği görülmüştür. MMC ile birlikte uygulandığında, APL (en düşük iki konsantrasyonu hariç) ve KAL (en düşük konsantrasyonu hariç) tüm konsantrasyonlarda pozitif kontrole göre MN oranını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Her iki apiterapi ürünü de NDI'de değişikliğe neden olmamıştır. Elde edilen bu sonuçlar APL ve KAL liyofilizatlarının insan lenfositlerinde genotoksisiteye neden olmadığını ve MMC tarafından oluşturulan hasara karşı da antigenotoksik etkili olduğunu göstermiştir. Bu gözlemlerin diğer in vivo ve in vitro testlerle desteklenmesi önerilmektedir.

## Determination of Genotoxic and Antigenotoxic Effects of Apilarnil and Queen Bee Larvae Lyophilizates by Micronucleus Assay

### Highlights

- Apitherapy is an alternative and complementary treatment method using bee products.
- Apilarnil (drone larvae) and queen bee larvae are apitherapy products used as food supplements.
- Genotoxic and antigenotoxic effects of apilarnil and queen bee larvae against MMC were investigated.
- The micronucleus method was used in human lymphocytes and the nuclear division index was also evaluated.
- As a result, both products did not cause genotoxic effects but exhibited antigenotoxic effects.

### Article Info

Received:09/03/2024

Accepted: 17/04/2024

### Keywords

Apilarnil,  
Queen bee larva,  
Micronucleus,  
Human lymphocytes,  
Genotoxicity.

### Abstract

Apitherapy is a complementary and alternative treatment method using bee products. In this study, it was aimed to determine the genotoxic and antigenotoxic effects of lyophilized drone larvae (apilarnil=APL) and queen bee larvae (QBL), which are apitherapy products, on human peripheral lymphocytes by micronucleus (MN) test. For this purpose, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25.00, 50.00, and 100.00 µg/mL concentrations of APL and QBL lyophilizates were applied alone and simultaneously with mitomycin-C (MMC) to lymphocytes obtained from a healthy male and a female donor. In addition, the effects on nuclear division index (NDI) were also evaluated. The results showed that APL and QBL lyophilizates alone did not affect MN frequency compared to the control. When co-administered with MMC, APL (except the two lowest concentrations) and QBL (except the lowest concentration) significantly reduced the MN rate compared to the positive control at all concentrations. Both apitherapy products did not cause changes in NDI. These results showed that APL and QBL lyophilizates did not cause genotoxicity in human lymphocytes and were antigenotoxic against MMC-induced damage. These observations are recommended to be supported by other in vivo and in vitro tests.



Makale, Creative Commons 4.0 (CC BY NC SA) uluslararası lisansı altında açık erişim olarak yayımlanmaktadır.

## 1. GİRİŞ

Arı kovanında; bal, propolis, arı poleni, kraliçe arı larvası, apilarnil, arı sütü (royal jelly) ve arı zehiri gibi çok sayıda biyoaktif bileşenle yüklü çok sayıda ürün üretilir. Çoğu arı ürününün yüksek besin içeriği nedeniyle son yıllarda dünyanın birçok yerinde arı ürünlerinin diyet takviyesi olarak kullanıldığı gör¼lmektedir. Buna ek olarak, arı ürünleri eski Mısır ve Çin'de ilaç olarak kullanılmıştır ve günümüzde ilaç ham maddesi olarak araştırmacıların ilgisini kazanmaktadır. Apiterapi, hastalıkları önlemek ve hastalığın ilerlemesini değiştirmek için çeşitli arı ürünlerinin terapötik ajanlar olarak kullanılmasını içeren bir tamamlayıcı tıp türüdür [1-3]. Apiterapinin kanser korunma ve tedavisindeki yeri bazı çalışmalarla değerlendirilse de bu konunun aydınlatılması gerekmektedir. Öte yandan arılardan kaynaklanan bu doğal arı ürünlerinin kanser, Parkinson hastalığı, karaciğer bozuklukları, hipertansiyon, kulak, burun ve boğaz enfeksiyonları, diyabet, kardiyovasküler sistem bozuklukları, osteoartrit, kas iskelet sistemi bozuklukları ve Covid-19 gibi birçok hastalıkta tamamlayıcı tedavi olarak kullanılabileceğine dair çalışmalar mevcuttur [4-8]. Arı ürünleri, antibakteriyel, anti-inflamatuvar, antitümör, anti-aging özelliklerinden dolayı geleneksel olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [9].

Apiterapide kullanılan bal, polen, propolis, arı zehri, arı ekmeği (perga) gibi ürünlerin yanında son zamanlarda en popüler iki arı ürünü, erkek arı larvası (apilarnil= APL) ve kraliçe (ana) arı larvası (KAL) olarak karşımıza çıkmaktadır [10]. Yapılan araştırmalar sonucunda APL ve KAL'ın yüksek besin değerleri taşımaları nedeniyle beslenmemizde destek gıda olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir. APL, erkek arı larvalarının pupa döneminden 3-7 gün önce toplanmasıyla oluşturulan liyofilize bir üründür. Hem yumurta hem de larva gövdesinde bulunan besin bileşiklerinin toplamı nedeniyle yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir. Üretim dönemi, larvanın yaşı, koloninin içinde bulunduğu flora gibi birçok faktörün etkisiyle kimyasal bileşimi değişir. İçerik olarak arı sütüne benzemekle birlikte daha az protein ve karbonhidrat, daha fazla su içeriğine sahiptir. Yapılan çalışmalara göre nem içeriği %65-80 arasında, toplam protein oranı %9-12, toplam lipit %5-8, fenolik madde %0,8 ve toplam şeker %6-10 arasındadır. şekerlerden fruktoz, glukoz ve sakkaroz bulunmaktadır. Bileşiminde bulunan esansiyel ve esansiyel olmayan amino asitler nedeniyle iyi bir amino asit kaynağı olarak kabul edilebilir. APL'de kalsiyum, magnezyum, fosfor, demir, manganez, bakır, çinko, sodyum ve potasyum mineralleri tespit edilmiştir. Ayrıca içeriğinde A, B1, B2, B6 ve C vitaminleri, niasin, pantotenik asit, folik asit, inositol ve kolin bulunmuştur [11,12].

KAL da APL ile beraber son zamanların popüler olan bir diğer arı ürünüdür [13]. KAL, arı sütü üretiminin yan ürün olarak kullanılmak üzere hasat edilen önemli bir yenilebilir böcektir. Yumurtadan çıktıktan sonraki ilk 3 gün arı sütü ile beslenen işçi larvasının aksine, KAL sadece arı sütü ile beslenir. Diğer yenilebilir böceklere benzer şekilde, KAL yüksek besin değerine sahiptir. Bununla birlikte, yeni çalışmalar, KAL'ın proteinler, yağ asitleri ve esansiyel amino asitler açısından zengin olduğunu göstermiştir [14-16]. KAL'ın kuru kütesinin yaklaşık %50'sinin ham proteinler olduğu göz önüne alındığında polipeptitler ve proteinler, en önemli biyoaktif bileşenler olarak tanımlanmıştır [14]. KAL'ın dondurularak kurutulmuş liyofilizatının, arı sütüne özgü kraliçe arı asidi olarak da adlandırılan kısa zincirli bir yağ asidi olan 10-hidroksi-2-desenoik asit (10-HDA) içerdii de bulunmuştur [15]. Bu sebeple KAL'ın patojenlere karşı daha dirençli olmasında saf arı sütü ile ömür boyu beslenmesinin önemli etkisi bulunmaktadır [16].

Ülkemizde Sağlık Bakanlığının Ekim 2014'te yürürlüğe giren Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği'nde apiterapi tanımlanmıştır [17]. Ayrıca Türk Gıda Kodeksi de apiterapi ürünlerinin kalite standartları açısından Uluslararası Bal Komisyonu ve bilimsel araştırmalar dikkate alınarak güncellenmektedir [18].

Genotoksisite, DNA hasarı değerlendirmeleri de dahil olmak üzere mutajeniteden daha geniş bir spektrumu kapsar. Genotoksisite testleri, olası insan kanserojen ve mutajenlerinin belirlenmesi için DNA, gen ve kromozom hasarlarını belirleyen *in vitro* ve *in vivo* yaklaşımlara dayanmaktadır. Kimyasalların potansiyel tehlikelerini belirlemek ve karakterize etmek için hükümetler, endüstri ve bağımsız laboratuvarlar tarafından kullanılan test yöntemlerine ilişkin kılavuz ilkeler OECD'nin Kılavuzları tarafından sağlanmaktadır. Bu testlerden biri de mikronükleus testidir. OCED Test No: 487 *in vitro* memeli hücrelerinde MN testinin valide ve kabul görmüş bir yöntem olduğunu açıklamaktadır [19-21].

Mikronükleuslar (MN), yapısal kromozom anormallikleri ve/veya mitoz sırasında kromozom parçalarının ya da tüm kromozomların hatalı ayrılmasına yol açan mitotik bölünme kusurları olan hücrelerde ifade edilir. Bu kromozom parçaları veya bütün kromozomlar anafaz/telofazda iki ana çekirdekten dışlanır ve sonuçta MN'yi oluşturmak üzere membranla çevrenir. İnsan lenfositlerinde MN'lerin belirlenmesi; kromozomal kararsızlığı, çevresel ve endojen genotoksinlerin DNA'ya zarar veren etkilerini ölçmek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biri haline gelmiştir. Bu yöntemlerin insan hücrelerinde en fazla doğrulanmış olanı, MN'lerin yalnızca sitokinezin sitokalsin-B ile bloke edilmesinden sonra iki çekirdekli (BN) hücreler olarak tanımlanan ve mitojen uyarımından sonra bir nükleer bölünmeyi tamamlayan hücrelerde değerlendirildiği sitokinez-blok mikronükleus (MN) testidir [22, 23].

Bir bireyin hücrelerinin kromozomal mutasyonları biriktirme duyarlılığı, *in vitro* ortamda uygun genotoksik stres sonrasında ölçülebilir. Kısa süreli lenfosit kültürlerinde kimyasal veya fiziksel ajanlar tarafından indüklenen genotoksik olayların belirlenmesiyle tespit edilen mutajen duyarlılık fenotipi, bireysel kanser duyarlılığının dolaylı bir ölçüsü olarak kullanılmıştır. Çok sayıda epidemiyolojik retrospektif ve prospektif çalışma, mutajen duyarlılığı ile akciğer, meme, prostat, mesane, kolorektal, beyin, deri, baş ve boyun ve yumuşak dokular dâhil olmak üzere başlıca kanser riskinde artış arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmiştir [24-27]. Bilimsel literatürde, kanser hastalarının lenfositleri ve epitel hücrelerindeki MN sıklığı hakkında çok sayıda makale mevcuttur. Tedavi edilmemiş kanser hastalarında sağlıklı kontrollere göre MN frekansında önemli bir artış olduğunu gösterilmiştir. MN indüksiyonu ile kanser gelişimi arasında bir ilişkinin varlığı, çalışmaların büyük çoğunluğu tarafından bildirilmekte ve kanserli veya neoplastik öncesi lezyonları olan hastalarda MN sıklığında bir artış olduğunu belirtilmektedir [23, 28].

Genotoksik ajanların kalıtım materyalinde oluşturduğu hasarları azaltabilen maddelere 'antigenotoksik ajanlar' denilmektedir [29]. Genotoksisite testleri kullanılarak hem genotoksik hem de antigenotoksik etkiler belirlenebilmektedir. Bu testlerde mutajen ya da genotoksik ajan olarak birçok kimyasal ya da fiziksel ajan kullanılabilir [30]. En yaygın kullanılan kimyasallardan biri de mitomisin C'dir. *Streptomyces caespitosus*'tan izole edilen güçlü bir DNA alkilleyici kinon içeren antibiyotik olan, antitümör/kemoterapötik ajan mitomisin C (MMC), sito-genotoksik ve oksidatif potansiyeli nedeniyle hem *in vitro* hem de *in vivo* test sistemlerinde bilinen klastojen olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [31].

Bu çalışmanın amacı APL ve KAL'ın olası genotoksik ve MMC'ye karşı antigenotoksik etkilerinin sitokinez-blok mikronükleus testi ile insan lenfositlerinde araştırmaktır. Ülkemizde ve Dünya'da gıda takviyesi yolu ile kullanım alanı bulan APL ve KAL'ın insan lenfosit hücrelerinde genotoksisitesi ve antigenotoksisitesinin araştırıldığı bir çalışma bulunmadığından bu çalışma bir ilk niteliğindedir.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

Bazı insan kanser hücre hatlarında APL ve KAL'ın da dâhil olduğu bazı apiterapi ürünlerinin etkinliği çalışılmıştır [32]. Söz konusu çalışmada kullanılan konsantrasyonlar insan lenfositleriyle yapılan bu çalışmada da kullanılmıştır. APL ve KAL liyofilizati, Amasya yöresinde arıcılık faaliyeti gösteren bir firmadan taze olarak temin edilmiştir. Her iki apiterapi ürününün; insan lenfositlerinde genotoksisitesi ve Mitomisin-C'ye (MMC) karşı antigenotoksisitesi sitokinez-blok mikronükleus testi ile değerlendirilmiştir. Ek olarak nükleer bölünme indeksine (NBİ) olan etkileri de belirlenmiştir. MN yöntemi Fenech'in [33] metodunda bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır [34]. Bunun için tam kan sağlıklı bir kadın ve bir erkek donörden temin edilmiştir. Çalışma, Amasya Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 13.06.2023 tarihli 2023/98 nolu izni ile gerçekleştirilmiştir. Donörlerden alınan kan, kromozom besiyerine ekilmiş ve 37°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. APL ve KAL liyofilizati distile suda çözünmüştür. Kültür başlangıcının 24. saatinde APL ve KAL'ın 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25,00; 50,00 ve 100,00 µg/mL'lik konsantrasyonları ile lenfositlere muamele edilmiştir. Antigenotoksisite çalışması için de aynı konsantrasyonlar MMC ile eş zamanlı olarak kültür ortamına ekilmiştir. Ayrıca bir negatif (distile su) bir de pozitif kontrol (MMC 0,20 µg/mL) grubu oluşturulmuştur. Kültürün 44. saatinde sitokinezi durdurmak amacıyla tüm tüplere sitokalsin-B (5,2 µg/mL) ekilmiştir.

K¼lt¼r s¼resi sona erdiğinde t¼m t¼pler santrif¼j edilerek s¼pernatantları atılmış ve 0,075 M KCl uygulanmıştır. Ardından soğuk 3:1 metanol: asetik asit c¼z¼ltisi ile ¼¼ tekrarlı olacak şekilde fiksasyon ve yıkama işlemleri uygulanmıştır. Son fiksatefe formaldehit eklenmiştir. H¼creler santrif¼j ile c¼kt¼r¼ld¼kten sonra temiz ve soğuk lamlara yayılmıştır. En az bir gece oda sıcaklığında kurumasına izin verilen preparatlar %5'lik Giemsa ile boyanmıştır. Kuruyan preparatlar entellan ile daimi hale alınmıştır. Her bir don¼rden 1000 bin¼kleat h¼crede (her bir konsantrasyon i¼in 2000 bin¼kleat) MN sayımı yapılmıştır. Öte yandan NBİ'nin belirlenmesi i¼in her bireyden 500, toplamda her bir konsantrasyon i¼in 1000 h¼cre bir, iki, ¼¼ ve d¼rt c¼ekirdekli olarak sayılmıştır.  $NBİ = [1x(1N)+2x(2N)+3x(3N+4N)]/n$  (n incelenen toplam h¼cre sayısı) form¼l¼ ile hesaplanmıştır. T¼m sonu¼lar z testi ile analiz edilmiştir. Ek olarak kontrol gruplarına kıyasla değişiklik belirlenen uygulama grupları i¼in SPSS 22.0 programı kullanılarak konsantrasyon-etki ilişkisini değerlendirmek amacıyla regresyon analizi uygulanmıştır.

### 3. BULGULAR

APL ile insan lenfositlerine yapılan uygulamanın sonu¼ları C¼izelge 1'de verilmiştir. Bu uygulamalarda c¼ođunlukla bir adet MN taşıyan bin¼kleatlara rastlanmıştır. APL, MN frekansında kontrole g¼re anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Ancak APL'nin MMC ile eş zamanlı muamelesi sonucu en d¼ř¼k iki konsantrasyon hari¼ t¼m konsantrasyonlarda pozitif kontrole g¼re önemli azalış g¼r¼lm¼řt¼r ancak bu azalışın konsantrasyonla ilişkisi yoktur ( $r = -0,34$ ). Ayrıca APL, NBİ'de önemli bir değişikliğe neden olmamıştır (C¼izelge 1).

*C¼izelge 1. APL muamelesinin insan lenfositlerinde MN ve NBİ ¼zerindeki etkisi*

| Test maddesi          | Uygulama    |                       | Sayılan bin¼kleat h¼cre sayısı | BN h¼creler i¼inde mikron¼kleus frekansları |     |     | MN ± SH (%) | N¼kleer B¼l¼nme İndeksi (NBİ) ± SH |
|-----------------------|-------------|-----------------------|--------------------------------|---|-----|-----|-------------|------------------------------------|
|                       | S¼re (saat) | Konsantrasyon (¼g/mL) |                                | (1)   | (2) | (3) |             |                                    |
| Kontrol               | 48          | 0,00                  | 2000                           | 6   | -   | -   | 0,30±0,12   | 1,54±0,39                          |
| Pozitif kontrol (MMC) | 48          | 0,20                  | 2000                           | 50  | 2   | 1   | 2,85±0,37   | 1,30±0,36                          |
| APL                   | 48          | 1,56                  | 2000                           | 5   | -   | -   | 0,25±0,11   | 1,46±0,38                          |
|                       |             | 3,13                  | 2000                           | 6   | 1   | -   | 0,40±0,14   | 1,51±0,39                          |
|                       |             | 6,25                  | 2000                           | 13  | -   | -   | 0,65±0,18   | 1,39±0,37                          |
|                       |             | 12,5                  | 2000                           | 8   | -   | -   | 0,40±0,14   | 1,44±0,38                          |
|                       |             | 25                    | 2000                           | 9   | -   | -   | 0,45±0,15   | 1,42±0,37                          |
|                       |             | 50                    | 2000                           | 9   | -   | -   | 0,45±0,15   | 1,41±0,37                          |
|                       |             | 100                   | 2000                           | 10  | -   | -   | 0,50±0,16   | 1,40±0,37                          |

**Çizelge 1 Devam Ediyor. APL muamelesinin insan lenfositlerinde MN ve NBİ üzerindeki etkisi**

|         |    |      |      |    |   |   |               |           |
|---------|----|------|------|----|---|---|---------------|-----------|
| APL+MMC | 48 | 1,56 | 2000 | 51 | 1 | 1 | 2,80±0,37     | 1,38±0,31 |
|         | 48 | 3,13 | 2000 | 47 | 2 | 1 | 2,70±0,36     | 1,40±0,37 |
|         | 48 | 6,25 | 2000 | 34 | - | - | 1,70±0,29*    | 1,43±0,38 |
|         | 48 | 12,5 | 2000 | 19 | - | - | 0,95±0,22***  | 1,40±0,37 |
|         | 48 | 25   | 2000 | 11 | 1 | - | 0,65±0,18 *** | 1,41±0,37 |
|         | 48 | 50   | 2000 | 12 | - | - | 0,60±0,17***  | 1,41±0,37 |
|         | 48 | 100  | 2000 | 17 | - | - | 0,85±0,21***  | 1,36±0,37 |

MN: Mikronükleus, NBİ: Nükleer bölünme indeksi, SH: Standart hata, MMC: Mitomisin-C  
Pozitif kontrole göre anlamlı \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$  (z-testi).

KAL'ın MN frekansına ve NBİ değerlerine etkisi Çizelge 2'de ayrıntılandırılmıştır. Bu deney grubunda da APL'ye benzer şekilde genellikle birli MN'ler tespit edilmiş olup, ikili ve üçlü MN'ler de gözlenmiştir. KAL uygulanan tüm konsantrasyonlarda genotoksik etkiye neden olmamış, yani kontrole göre önemli bir fark görülmemiştir. Fakat antigenotoksisite çalışmasında KAL'ın tüm konsantrasyonlarının (3,13 µg/mL hariç) pozitif kontrole göre anlamlı düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, söz konusu düşüşün konsantrasyonla korelasyonu bulunmamaktadır ( $r = -0,23$ ). Diğer yandan KAL'da hiçbir konsantrasyonda NBİ değerlerinde değişiklik oluşturmamıştır (Çizelge 2).

**Çizelge 2. KAL muamelesinin insan lenfositlerinde MN ve NBİ üzerindeki etkisi**

| Test maddesi          | Uygulama    |                       | Sayılan binükleat hücre sayısı | BN hücreler içinde mikronükleus frekansları |     |     | MN ± SH (%) | Nükleer Bölünme İndeksi (NBİ) ± SH |
|-----------------------|-------------|-----------------------|--------------------------------|---|-----|-----|-------------|------------------------------------|
|                       | Süre (saat) | Konsantrasyon (µg/mL) |                                | (1)   | (2) | (3) |             |                                    |
| Kontrol               | 48          | 0,00                  | 2000                           | 5   | -   | -   | 0,25±0,11   | 1,52±0,39                          |
| Pozitif kontrol (MMC) | 48          | 0,20                  | 2000                           | 48  | 1   | 1   | 2,65±0,36   | 1,44±0,38                          |
| KAL                   | 48          | 1,56                  | 2000                           | 4   | -   | -   | 0,20±0,09   | 1,40±0,37                          |
|                       |             | 3,13                  | 2000                           | 4   | 1   | -   | 0,30±0,12   | 1,51±0,39                          |
|                       |             | 6,25                  | 2000                           | 5   | 1   | -   | 0,35±0,13   | 1,41±0,37                          |
|                       |             | 12,5                  | 2000                           | 7   | -   | -   | 0,35±0,13   | 1,43±0,38                          |
|                       |             | 25                    | 2000                           | 6   | -   | -   | 0,30±0,12   | 1,43±0,38                          |
|                       |             | 50                    | 2000                           | 5   | -   | -   | 0,25±0,11   | 1,41±0,37                          |
|                       |             | 100                   | 2000                           | 7   | -   | -   | 0,35±0,13   | 1,48±0,38                          |

**Çizelge 2 Devam Ediyor. KAL muamelesinin insan lenfositlerinde MN ve NBİ üzerindeki etkisi**

|         |    |      |      |    |   |   |              |           |
|---------|----|------|------|----|---|---|--------------|-----------|
| KAL+MMC | 48 | 1,56 | 2000 | 33 | 1 | - | 1,75±0,29    | 1,47±0,38 |
|         | 48 | 3,13 | 2000 | 33 | - | - | 1,65±0,28*   | 1,40±0,37 |
|         | 48 | 6,25 | 2000 | 27 | - | - | 1,35±0,26**  | 1,46±0,38 |
|         | 48 | 12,5 | 2000 | 22 | - | - | 1,10±0,23*** | 1,47±0,38 |
|         | 48 | 25   | 2000 | 27 | 1 | - | 1,45±0,27**  | 1,42±0,37 |
|         | 48 | 50   | 2000 | 19 | - | - | 0,95±0,22*** | 1,45±0,38 |
|         | 48 | 100  | 2000 | 26 | - | - | 1,30±0,25**  | 1,42±0,37 |

MN: Mikronükleus, NBİ: Nükleer bölünme indeksi, SH: Standart hata, MMC: Mitomisin-C  
Pozitif kontrole göre anlamlı \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$  (z-testi).

#### 4. TARTIŞMA

Son yıllarda insanların doğal gıdaları ve gıda takviyelerini sıklıkla tercih etmesi, bu maddelerin etkilerini araştıran bilimsel çalışmalara ilginin artmasına neden olmuştur [10]. Öte yandan günümüzde alternatif protein üretmek için bazı tahıl ve tahıl kaynakları ham madde olarak kullanılsa da esas olarak kültürlenmiş et ve böcek proteinleri gibi ortaya çıkan protein kaynakları, gelecekteki protein arzını ve talebini karşılamak için büyük potansiyele sahiptir. Bu da arı ürünlerinin yüksek protein içeriği ile gelecekte önemli bir kaynak olarak kullanılabileceğini göstermektedir [35]. Apiterapi, nerdeyse her yaşta uygulanabilen, çeşitli hastalıkların tedavisi ve önlenmesi için arı ürünlerinin kullanımıyla ilgilenen bir alternatif ve tamamlayıcı bir yöntemdir. Bu nedenle, eski zamanlardan itibaren beslenme ve tıbbi tedavi gibi farklı konular için kullanılan arı ürünleri doğal gıdalar ve gıda takviyeleri olarak daha çok tüketilmeye başlanmıştır. Apiterapi, insan sağlığını korumak ve iyileşmeyi sürdürmek amacıyla arı ürünlerinin tek olarak veya bir araya getirilmesiyle, dünyanın birçok yerinde yaklaşık 3000 yıldır uygulanan destek tedavi yöntemi olup, benzer yöntemler arasında en az tartışılan yöntemdir [36]. Apiterapide son zamanlarda kullanılan en popüler iki arı ürünü, APL ve KAL'dır. Yapılan araştırmalar sonucunda APL ve KAL'ın yüksek besin değeri taşımaları nedeniyle beslenmemizde destek gıda olarak kullanılabilmesi tespit edilmiştir. APL ve KAL ile üretilen sıvı, kapsül ve liyofilize olan gıda takviyelerinin insan sağlığına yararı konusunda çalışmaların sayısı giderek artmaktadır [37, 38].

İlkaya'nın 2023 yılındaki çalışmasında APL'nin 250 ve 500 µg/mL'lik konsantrasyonlarının HT-29 (insan kolon kanseri) ve Sy-sy5y (insan nöroblastoma) hücre hatlarında reaktif oksijen türleri oluşumunda ve lipid peroksidasyon seviyesinde artış meydana getirdiği tespit edilmiştir. Ek olarak aynı hücre hatlarında APL'nin *in vitro* hücre canlılığı ve antisitotoksik etkisi kontrol grubuna göre karşılaştırılmış ve APL'nin tüm konsantrasyonlarda (1, 3, 7, 15, 31, 62, 125, 250 ve 500 µg/mL) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek aktivite gösterdiği ve antikanser etkisi olduğu saptanmıştır [39]. Türkiye kökenli bal arısı ürünleri olan kestane balı, polen, propolis ve arı sütünün antioksidan özellikleri ve sıçanlarda CCl<sub>4</sub> ile indüklenen karaciğer hasarına karşı hepatoprotektif aktivitelerini belirlemek için yapılan bir çalışma için hayvanlar CCl<sub>4</sub> (karbon tetraklorür) enjeksiyonunu takiben 7 gün boyunca bal arısı ürünleri ile beslenmiştir. Karaciğer hasarı ve oksidatif stres gelişimi; alanin transaminaz, aspartat transaminaz, malondialdehit, süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktiviteleri ölçülerek izlenmiştir. Arı ürünlerinin antioksidan kapasiteleri FRAP ve DPPH testleri kullanılarak ve ayrıca toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ölçülerek belirlenmiştir. En yüksek antioksidan aktivitenin propoliste olduğu bunu sırasıyla polen, bal ve arı sütünün izlediği rapor edilmiştir. Farklı antioksidan kapasite seviyelerine rağmen, CCl<sub>4</sub> ile indüklenen karaciğer hasarının önlenmesinde bu ürünlerin etkilerinin çok benzer olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar adı geçen bal arısı ürünlerinin, CCl<sub>4</sub> kaynaklı karaciğer hasarının iyileşmesini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir [40]. Hamamcı ve arkadaşları, APL'nin dozu arttıkça sepsise bağlı dejenere olmuş nöron sayısının azaldığını tespit etmişler, APL'nin beyinde sepsis ile ilişkili apoptozu önlediği sonucuna varmışlardır [41].

2010 yılında Wistar sıçanları üzerine yapılan çalışmada APL'nin oksidatif süreçleri uyaran güçlü bir besin kaynağı olduğu gözlemlenmiştir [42]. Dong ve arkadaşları, KAL'ın içeriğindeki hidrofobik amino asitler ile yüksek antioksidan aktivite arasındaki ilişkiyi bulmuştur [43]. Vücudun stres ile mücadelesini ve bilişsel fonksiyonları destekleyen tirozin sağlıklı bir sinir sistemi için elzem bir aminoasittir. Yapılan bir çalışmada KAL'da APL'den yaklaşık 2 kat fazla tirozin olduğu bulunmuştur [44]. Zhao ve arkadaşlarının çalışmasında dondurularak kurutulmuş KAL liyofilizesinin yaşlanma karşıtı işlevi, *Caenorhabditis elegans* modelinde araştırılmıştır. KAL'ın *C. elegans*'a uygulanmasının yaşam süresi parametrelerini iyileştirdiği gösterilmiştir [45]. KAL, farelerde uykusuzluğu iyileştirmede de güçlü bir aktivite sergilemiştir. 7 gün boyunca sürekli KAL (1 mg/g/gün) takviyesinin beyin ve serumdaki 5-HT ve GABA düzeylerini dengelediği bulunmuştur. Ayrıca, uykusuzluk ile ilişkili olduğu tespit edilen bazı bakteri suşlarının, KAL tarafından seçici olarak azaltıldığı tespit edilmiş ve bu durumun bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek uyku bozukluklarının iyileştirilmesine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir. Bu nedenle, KAL'ın uykusuzluk tedavisinde potansiyel uygulamaları olabileceği ve fonksiyonel bir gıda olarak kullanılması için daha ileri çalışmaların yapılması gerektiği ifade edilmiştir [46].

APL ve KAL liyofilizatlarının insan lenfositlerinde genotoksik ve antijenotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Ancak farklı apiterapi ürünlerinin etkilerinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. 2021 yılında yapılan bir çalışmada arı sütünün (royal jelly) sodyum benzoatın potansiyel toksik etkilerine karşı koruyucu rolü *Allium cepa* L. test materyalinde fizyolojik, genetik ve biyokimyasal parametrelerle araştırılmıştır. Genetik değerlendirmeler; kromozomal anormallikler (KA), mikronükleus (MN), comet testleri ve mitotik indeks (MI) oranı parametreleri ile gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal açıdan; malondialdehit, glutatyon redüktaz, süperoksit dismutaz ve katalaz seviyeleri belirlenerek lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri tespit edilmiştir. *A. cepa* L. soğanları 72 saat boyunca sodyum benzoat (100 mg/L) ve arı sütü (25 mg/L ve 50 mg/L dozları) ve aynı dozlarla sodyum benzoat-arı sütü kombinasyonları ile muamele edilmiştir. Sonuç olarak, sodyum benzoat uygulamasının fizyolojik parametrelerin ve MI'nin inhibisyonuna neden olduğu, MN, KA ve DNA hasarını indüklediği ve ayrıca oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir. Arı sütü uygulaması konsantrasyona bağlı olarak tüm bu parametrelerde terapötik etkiler göstererek sodyum benzoat toksisitesini azaltmıştır [47]. İnsan lenfositlerinde kardeş kromatit değişimi (KKD) testi kullanılarak Tayland'dan elde edilen propolis, arı poleni ve arı sütünün farklı özütlerinin genotoksik, doksurubisine karşı antijenotoksik ve antioksidatif potansiyelleri 0,005; 0,05; 0,5 ve 5 mg/mL konsantrasyonları kullanılarak karşılaştırılmıştır. Sonuçlar lipid ekstraktlarının, yağdan arındırılmış ve ham ekstraktlara kıyasla en az genotoksik etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Propolisin lipid özütü nongenotoksik dozda en yüksek antijenotoksik aktiviteye sahipken, bunu propolisin yağdan arındırılmış ve ham özütleri izlemiştir. Arı poleni ve arı sütünün tüm özütleri daha düşük antijenotoksik özellik göstermiştir. Propolisin lipid ekstresi en yüksek antioksidan aktiviteye neden olmuştur. Söz konusu çalışma özetle, propolisin lipid özütünün genoprotektan olarak en umut verici aday olduğunu savunmaktadır [9]. Farklı bir çalışmada arı sütünün alkilleyici ajan metil metansülfonat (MMS) tarafından indüklenen genotoksikite ve mutajenite üzerindeki *in vivo* etkilerini değerlendirilmiştir. Bu amaçla, Swiss albino erkek fareler (N = 66) deney için 11 gruba ayrılmıştır. Deneyler, liyofilize arı sütü (150 mg/kg, 300 mg/kg ve 1000 mg/kg) veya su, MMS ile muamele öncesi ve sonrası süreçler olarak gavaj yoluyla uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Muameleden 24 ve 48 saat sonra comet testi için kan örnekleri, mikronükleus testi için kemik iliği hücreleri toplanmıştır. Sonuçta dozdan bağımsız olarak, arı sütü genotoksik, mutajenik aktivite sergilememiştir ve MMS ile muamele sonrası yüksek dozların uygulanmasıyla, antijenotoksik ve antimutajenik etki görülmüştür. Bu sonuçlar, arı sütü uygulamasının MMS'nin neden olduğu hasarı tersine çevirmede etkili olduğunu göstermektedir [48]. Diğer çalışmada, Swiss albino farelerde sentetik bir piretroid insektisit olan lambda-sihalotrin tarafından indüklenen toksisiteye karşı arı sütünün koruyucu etkisi incelenmiştir. Farelere 21 gün boyunca yalnızca arı sütü (100 veya 250 mg/kg vücut ağırlığı), yalnızca lambda-sihalotrin (668 ppm) veya her ikisi birden aynı dozlarda verilmiştir. Kan, kemik iliği, karaciğer ve böbrek dokuları; aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz kan üre azotu, kreatinin, malondialdehit ve indirgenmiş glutatyon düzeyleri ile mikronükleus (MN) sıklığı, kromozomal anormallikler (KA) ve patolojik hasarlar açısından analiz edilmiştir. Yalnızca lambda-sihalotrin verilen fareler, kontrollere kıyasla daha yüksek MN, KA ve anormal metafaz sıklığı göstermiş ayrıca, mitotik indeks kontrollere göre azalmıştır.

Arı süt¼, lambda-sihalotrin tarafından ind¼klenen hepatotoksisite, nefrotoksisite, lipid peroksidasyon ve genotoksisiteyi önemli ölç¼de iyileştirmiştir. Test edilen her iki arı süt¼ dozu da lambda-sihalotrin kaynaklı toksisiteye karşı önemli koruma sağlamış ve en güçlü etkisi 250 mg/kg v¼cut ağırlığı doz seviyesinde gözlenmiştir. Araştırmacılar bu sonuçların, arı süt¼n¼n lambda-sihalotrin kaynaklı toksisiteye karşı güçlü bir antioksidan olduğunu ve koruyucu etkisinin doza bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte lambda-sihalotrinin oksidatif stresi ind¼klediđini ve arı süt¼ uygulamasının serbest radikallerin etkilerini azaltarak lambda-sihalotrinin toksisitesine karşı koruma sağladığını savunmuşlardır [49]. APL'nin endotoksin kaynaklı akciğer hasarı üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla erkek Sprague Dawley ratlar sekiz gruba ayrılmıştır. Bunlar; kontrol, 10 gün boyunca gavaj yoluyla 0,2; 0,4 ve 0,8 g/kg APL uygulanan gruplar, intraperitoneal olarak 30 mg/kg lipopolisakkarit (LPS) uygulanan (tek doz), LPS+0,2; LPS+0,4 ve LPS+0,8 g/kg APL uygulanan gruplardır. LPS ve APL'nin beraber uygulandığı gruplarda gözlenen TUNEL pozitif hücre sayısı yalnızca LPS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir düş¼ř göstermiştir. Comet testinde, LPS ile beraber APL uygulanan gruplar LPS grubu ile karşılaştırıldığında, 0,8 g/kg APL grubunun kuyruk yoğunluğu ve uzunluğunda daha fazla azalma olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, sıčanlara uygulanan APL'nin, LPS ile ind¼klenen akciğer hasarını önleyebileceği belirtilmiştir [50].

Farklı arı ürünleri ile yapılan çalışmalar bu ürünlerin deneysel olarak uygulanan mutajenlere karşı koruyucu ya da iyileştirici rol¼n¼n serbest radikallerin etkilerini azaltarak gerçekteştirdiğini belirtmektedir. Arı ürünlerinin, hücreleri oksidatif strese karşı koruduğu gösterilmiş ve bu biyoaktivite temel olarak yüksek konsantrasyonlardaki yağ asitleri, proteinler ve fenolik bileşiklere bağlanmıştır [37, 38, 40, 49]. Buradan hareketle bu çalışmada MMC'ye karşı gözlenen antigenotoksik etkinin olası mekanizması da APL ve KAL'ın serbest radikallerin etkisini azaltmış olması olabilir.

Bu çalışma APL ve KAL liyofilizatlarının insan lenfositlerinde *in vitro* koşullarda mikron¼kleus oluşumuna neden olmadığını ve genotoksik etki sergilemediğini gösteren ilk çalışma olması nedeniyle önemlidir. Daha da önemlisi her iki apiterapi ür¼n¼ de MMC'ye karşı antigenotoksik etki göstermiştir. Literat¼rde diğer arı ürünleri ile yapılan bilimsel çalışmalar ile bu çalışmanın sonuçları birbirini destekler niteliktedir. Bu anlamda APL ve KAL'ın insan sağlığı açısından gıda takviyeleri olarak kullanılmasının sağlığı desteklemek için önemli bir potansiyele sahip olduğu sonucuna varılabilir. Ancak bulguların diğer genotoksisite testleri kullanılarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

## TEŐEKK¼R

Yazarlar, bu çalışmanın araştırması veya yayınlanması ile ilgili herhangi bir finansal destek almamıştır.

## ÇIKAR ÇATIŐMASI/ÇAKIŐMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

## YAZAR KATKI ORANLARI

**Ece Avuloğlu Yılmaz:** Deney sonuçlarının doğruluğunu kontrol¼, İçerik analizi, Araştırma, Materyal temini, Makalenin yazımı-Orijinal taslak, Makalenin yazımı- İnceleme ve Düzenleme. **Ayb¼ke Afra Babacan:** İçerik analizi, Araştırma, Materyal temini, Makalenin yazımı-Orijinal taslak.

## KAYNAKLAR

- [1] Boisard, S., Shahali, Y., Aumond, M. C., Derbr¼, S., Blanchard, P., Dadar, M., Le Ray, A., and Richomme, P. (2020). Anti-AGE activity of poplar-type propolis: mechanism of action of main phenolic compounds. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(2), 453-460.
- [2] Egawa, T., Ohno, Y., Yokoyama, S., Yokokawa, T., Tsuda, S., Goto, K., and Hayashi, T. (2019). The protective effect of Brazilian propolis against glycation stress in mouse skeletal muscle. *Foods*, 8 (10), 439.
- [3] Ali, A. M., and Kunugi, H. (2020). Apitherapy for Parkinson's disease: A focus on the effects of propolis and royal jelly. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1727142.



- [4] Ali, A. M., and Kunugi, H. (2020). Apitherapy for age-related skeletal muscle dysfunction (sarcopenia): A review on the effects of royal jelly, propolis, and bee pollen. *Foods*, 9 (10), 1362.
- [5] Jagua-Gualdr¼n, A., Pe¼a-Latorre, J. A., and Fernadez-Bernal, R. E. (2020). Apitherapy for osteoarthritis: Perspectives from basic research. *Complementary Medicine Research*, 27 (3), 184-192.
- [6] Niculescu, A. G., and Grumezescu, A. M. (2021). Natural compounds for preventing ear, nose, and throat-related oral infections. *Plants*, 10 (9), 1847.
- [7] Abedi, F., Ghasemi, S., Farkhondeh, T., Azimi-Nezhad, M., Shakibaei, M., and Samarghandian, S. (2021). Possible potential effects of honey and its main components against Covid-19 infection. *Dose-Response*, 19 (1), 1-13.
- [8] Rahimjanova, S., Dinç, H., ve G¼naydin, S. (2022). Obstetride ve jinekolojide apiterapinin kullanımı. *Sağlık Akademisyenleri Dergisi*, 9 (4), 359-364.
- [9] Ratanavalachai, T., Jenkhetkan, W., Jansom, C., Itharat, A., and Thitiorul, S. (2022). Genotoxic, antigenotoxic, and antioxidative potentials of thai bee products. *Asian Medical Journal and Alternative Medicine*, 22 (3), 219-229.
- [10] Silici, S. (2019). Bal arısı ¼r¼nleri ve apiterapi. *T¼rk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7 (9), 1249-1262.
- [11] Topal, E., Strant, M., Y¼cel, B., K¼sođlu, M., Margaoan, R., ve Dayıoğlu, M. (2018). Ana ve erkek arı larvalarının biyokimyasal ¼zellikleri ve apiterapötik kullanımı. *Hayvansal ¼retim*, 59 (2), 77-82.
- [12] Weis, W. A., Ripari, N., Conte, F. L., da Silva Honorio, M., Sartori, A. A., Matucci, R. H., and Sforcin, J. M. (2022). An overview about apitherapy and its clinical applications. *Phytomedicine Plus*, 2 (2), 100239.
- [13] Sidor, E. and Džugan, M. (2020). Drone brood homogenate as natural remedy for treating health care problem: a scientific and practical approach. *Molecules*, 25 (23), 5699.
- [14] Zhao, T., Wu, L., Fan, F., Yang, Y., and Xue, X. (2022). Supplementation with queen bee larva powder extended the longevity of *Caenorhabditis elegans*. *Nutrients*, 14 (19), 3976.
- [15] Weiser, M. J., Grimshaw, V., Wynalda, K. M., Mohajeri, M. H., and Butt, C. M. (2017). Long-term administration of queen bee acid (QBA) to rodents reduces anxiety-like behavior, promotes neuronal health and improves body composition. *Nutrients*, 10 (1), 13.
- [16] Yang, W., Tian, Y., Han, M., and Miao, X. (2017). Longevity extension of worker honey bees (*Apis mellifera*) by royal jelly: optimal dose and active ingredient. *PeerJ*, 5, e3118.
- [17] Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Y¼netmeliđi (2014). Resm¼ Gazete, Sayı 29158, 27 Ekim 2014.
- [18] Atayoyđlu, A. T. (2019). Apiterapiye genel bakış. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 3, 61-66.
- [19] Turkez, H., Arslan, M. E., and Ozdemir, O. (2017). Genotoxicity testing: progress and prospects for the next decade. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 13 (10), 1089-1098.
- [20] Y¼zbařoyđlu, D., ve Avuloğlu-Yılmaz, E. (2022). Mikron¼kleus Testi. *Genetik Toksikoloji*. Nobel Akademik Yayıncılık. 219-250.
- [21] OECD (2023). Test No 487: *In Vitro* Mammalian Cell Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris.
- [22] Fenech, M., Knasmueller, S., Bolognesi, C., Holland, N., Bonassi, S., and Kirsch-Volders, M. (2020). Micronuclei as biomarkers of DNA damage, aneuploidy, inducers of chromosomal hypermutation and as sources of pro-inflammatory DNA in humans. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 786, 108342.
- [23] Fenech, M., Knasmueller, S., Nersesyanyan, A., Bolognesi, C., Wulsch, G., Schunck, C., ... and Bonassi, S. (2024). The buccal micronucleus cytome assay: New horizons for its implementation in human studies. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 894, 503724.
- [24] Cloos, J., Leemans, C. R., Van Der Sterre, M. L., Kuik, D. J., Snow, G. B., and Braakhuis, B. J. (2000). Mutagen sensitivity as a biomarker for second primary tumors after head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 9 (7), 713-717.
- [25] Wu, X., Gu, J., and Spitz, M. R. (2007). Mutagen sensitivity: a genetic predisposition factor for cancer. *Cancer Research*, 67 (8), 3493-3495.
- [26] Wu, X., Lin, J., Etsel, C. J., Dong, Q., Gorlova, O. Y., Zhang, Q., Amos, C. I., and Spitz, M. R. (2007). Interplay between mutagen sensitivity and epidemiological factors in modulatelung cancer risk. *International Journal of Cancer*, 120 (12), 2687-2695.
- [27] Bonassi, S., El-Zein, R., Bolognesi, C., and Fenech, M. (2011). Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. *Mutagenesis*, 26 (1), 93-100.
- [28] Iarmarcovai, G., Ceppi, M., Botta, A., Orsiere, T. and Bonassi, S. (2008) Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of cancer patients: a meta-analysis. *Mutation Research*, 659, 274-283.
- [29] Izquierdo-Vega, J.A., Morales-González, J.A., SánchezGutiérrez, M., Betanzos-Cabrera, G., Sosa-Delgado, S.M., Sumaya-Martínez, M.T., Morales-González, Á., Paniagua-Pérez, R., Madrigal-Bujaidar, E., and Madrigal-Santillán, E. (2017). Evidence of some natural products with antigenotoxic effects. Part 1: fruits and polysaccharides. *Nutrients*, 9 (2), 102-129.
- [30] Yılmaz, S. ve Erikel, E. (2022). Antigenotoksisite. *Genetik Toksikoloji*. Nobel Akademik Yayıncılık. 445-474.

- [31] Dormousoglou, M., Boti, V., Hela, D., Vlastos, D., Antonopoulou, M., Chondrogiannis, C., Petropoulou, Y., and Dailianis, S. (2023). Beneficial properties of *Drimia numidica* leaf methanolic extract against the cytogenotoxic effects of mitomycin C on human lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 173, 113626.
- [32] Keskiner, A. A. (2021). Gıda takviyesi olarak kullanılan bazı apiterapik ürünlerin çeşitli kanser hücre hatlarında etkinliğinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [33] Fenech, M. (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455 (1-2), 81-95.
- [34] Erikel, E., Yuzbasioglu, D., and Unal, F. (2023). A study on amygdalin's genotoxicological safety and modulatory activity in human peripheral lymphocytes *in vitro*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 64 (5), 291-308.
- [35] Kaur, L., Mao, B., Beniwal, A. S., Kaur, R., Chian, F. M., and Singh, J. (2022). Alternative proteins vs animal proteins: the influence of structure and processing on their gastro-small intestinal digestion. *Trends in Food Science & Technology*, 122, 275-286.
- [36] Çelik, K. ve Aşgun, H. F. (2020). *Arlarla Gelen Sağlık "Apiterapi"*. Tudás Alapítvány, 8-10.
- [37] Yapar, K., Çavuşoğlu, K., Oruç, E., and Yalçın, E. (2009). Protective effect of royal jelly and green tea extracts effect against cisplatin-induced nephrotoxicity in mice: A comparative study. *Journal of Medicinal Food*, 12 (5), 1136-1142.
- [38] 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.
- [39] İlkaya, M. (2023). Bingöl ilinin farklı bölgelerinden elde edilen apilarnil'in biyoaktif özelliklerinin belirlenerek bazı kanser hücre hatları üzerinde etkisinin araştırılması. *Doktora Tezi*. Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [40] Saral, Ö., Yıldız, O., Aliyazicioğlu, R., Yuluğ, E., Canpolat, S., Öztürk, F., and Kolaylı, S. (2016). Apitherapy products enhance the recovery of CCL4-induced hepatic damages in rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 46 (1), 194-202.
- [41] Hamamci, M., Doganyigit, Z., Silici, S., Okan, A., Kaymak, E., Yilmaz, S. and Inan, L. E. (2020). Apilarnil: A novel neuroprotective candidate. *Acta Neurologica Taiwanica*, 29 (2), 33-45.
- [42] Kogalniceanu, S., Lancrajan, I. and Ardelean, G. (2010). Changes of the glucidic metabolism determined by the physical effort of the treatment with the aslavit and apilarnil. *Arad Medical Journal*, 3, 33-41.
- [43] Dong, D., Dong, M., Liu, K., Lu, Y. and Yu, B. (2018). Antioxidant activity of queen bee larvae processed by enzymatic hydrolysis. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42 (2), e13461.
- [44] Mărgăoan, R., Mărgătaş, L. A., Dezmirean, D. S., Bobiş, O., Bonta, V., Cătană, C. and Margin, M. G. (2017). Comparative study on quality parameters of royal jelly, apilarnil and queen bee larvae triturate. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca Animal Science & Biotechnologies*, 74 (1), 1-8.
- [45] Zhao, T., Wu, L., Fan, F., Yang, Y., and Xue, X. (2022). Supplementation with queen bee larva powder extended the longevity of *Caenorhabditis elegans*. *Nutrients*, 14 (19), 3976.
- [46] Tang, Q., Xiong, J., Wang, J., Cao, Z., Liao, S., Xiao, Y., Tian, W., and Guo, J. (2021). Queen bee larva consumption improves sleep disorder and regulates gut microbiota in mice with PCPA-induced insomnia. *Food Bioscience*, 43, 101256.
- [47] Acar, A. (2021). Therapeutic effects of royal jelly against sodium benzoate-induced toxicity: Cytotoxic, genotoxic, and biochemical assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28 (26), 34410-34425.
- [48] Damiani, A. P., Magenis, M. L., Dagostin, L. S., da Luz Beretta, Â. C., Sarter, R. J., Longaretti, L. M., Monteiro, I. O., and de Andrade, V. M. (2022). Royal jelly reduce DNA damage induced by alkylating agent in mice. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 825, 111796.
- [49] Çavuşoğlu, K., Yapar, K., Oruç, E., and Yalçın, E. (2011). The protective effect of royal jelly on chronic lambda-cyhalothrin toxicity: serum biochemical parameters, lipid peroxidation, and genotoxic and histopathological alterations in swiss albino mice. *Journal of Medicinal Food*, 14 (10), 1229-1237.
- [50] Doğanıyigit, Z., Kaymak, E., Okan, A., Pandır, D., and Silici, S. (2020). Investigation of protective effects of apilarnil against lipopolysaccharide induced lung injury in rats. *Mellifera*, 20 (1), 3-15.