

Ljekovita svojstva pčelinjeg otrova

Zebec, Mario

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:750264>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Ljekovita svojstva pčelinjeg otrova

DIPLOMSKI RAD

Mario Zebec

Zagreb, rujan, 2021.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Hortikultura - voćarstvo

Ljekovita svojstva pčelinjeg otrova

DIPLOMSKI RAD

Mario Zebec

Mentor:

Doc.dr.sc. Lidija Svečnjak

Zagreb, rujan, 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Mario Zebec**, JMBAG 0178104483, rođen/a 16.09.1996. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

Ljekovita svojstva pčelinjeg otrova

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Mario Zebec**, JMBAG 0178104483, naslova

Ljekovita svojstva pčelinjeg otrova

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. doc.dr.sc. Lidija Svečnjak mentor

2. prof.dr.sc. Dragan Bubalo član

3. izv.prof.dr.sc. Marko Vinceković član

Zahvala

Hvala Bogu da je gotovo.

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Cilj rada.....	1
2. Pregled literature	2
2.1. Medonosna pčela	2
2.1.1. Žalčani aparat.....	2
2.1.2. Skupljanje pčelinjeg otrova	4
3. Sastav pčelinjeg otrova	6
3.1. Peptidi	7
3.2. Enzimi	9
3.3. Ostale sastavnice pčelinjeg otrova	10
4. Ljekovita svojstva pčelinjeg otrova	12
4.1. Protuupalno djelovanje	13
4.1.1. Artritis.....	13
4.1.2. Ateroskleroza.....	17
4.1.3. Kožne upale	18
4.1.4. Lupusni nefritis	19
4.2. Utjecaj na živčani sustav.....	19
4.2.1. Protubolni učinak.....	19
4.2.2. Alzheimerova bolest	20
4.2.3. Parkinsonova bolest	21
4.2.4. Amiotrofična lateralna skleroza	23
4.2.5. Multipla skleroza	23
4.2.6. Poremećaji učenja i pamćenja.....	25
4.3. Protutumorsko djelovanje.....	26
4.4. Fibroza jetre	28
4.5. Protudepresivno djelovanje	29
4.6. Protuoksidativno djelovanje	29
4.7. Protubakterijsko, protugljivično i protuvirusno djelovanje	30
4.8. Pčelinji otrov u kozmetičkoj industriji	30
4.9. Alergija.....	31
5. Zaključak	33
6. Popis literature	34
Životopis.....	47

Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Mario Zebec**, naslova

Ljekovita svojstva pčelinjeg otrova

Pčele se primarno uzgajaju radi proizvodnje meda, pčelinjeg voska, matične mliječi, propolisa, pčelinje peludi te pčelinjeg otrova. U posljednjih nekoliko desetljeća postignut je značajan napredak glede razumijevanja kemijskog sastava pčelinjeg otrova te su provedena brojna istraživanja o djelovanju pčelinjeg otrova i njegovih sastavnica na zdravlje ljudi i životinja. Pčelinji otrov sadrži 88 % vode, a suha tvar je mješavina peptida, enzima i niskomolekularnih spojeva. Najveći udio u suhoj tvari ima peptid melitin (40-60 %). Pčelinji otrov ima dokazana protuupalna, protubolna svojstva i pozitivno djelovanje pri tretiranju upalnih bolesti, neurodegenerativnih bolesti, tumora, boli, bakterijskih i virusnih bolesti i alergijskih simptoma, kao i protuoksidativno djelovanje. Ljekovita svojstva su izražena nakon primjene pčelinjeg otrova ili njegovih sastavnica. Njihova izraženost ovisi i o načinu i mjestu primjene, a često se koristi primjenom u akupunkturne točke.

Ključne riječi: pčelinji otrov, kemijski sastav, melitin, ljekovita svojstva

Summary

Of the master's thesis – student **Mario Zebec**, entitled

Pharmacological properties of bee venom

Honey bees are primarily used for the production of honey, beeswax, royal jelly, propolis, bee pollen and bee venom. In the last few decades, our understanding of the chemical composition of bee venom has progressed and numerous studies about the effects of bee venom and its components on human and animal health have been conducted. Bee venom consists of 88 % water, and dry matter represents a mixture of peptides, enzymes and low molecular weight compounds. The polypeptide melittin takes up the largest portion of dry matter (40-60 %). Bee venom has proven anti-inflammatory and anti-nociceptive properties and a beneficial effect when used as a treatment for inflammatory diseases, neurodegenerative diseases, tumors, pain, bacterial and viral diseases, allergic symptoms, as well as antioxidative effects. Pharmacological properties are expressed after applying the bee venom or its components, and their expression depends on both the way of application and the location of the application, and it is often applied at acupuncture points.

Keywords: bee venom, chemical composition, melittin, pharmacological properties

1. Uvod

Pčele su subjekt ljudskog zanimanja tisućljećima. Najstariji tragovi ljudskog korištenja pčelinjeg voska su pronađeni u Anatoliji u posudama za kuhanje starima 9000 godina (Roffet-Salque i sur. 2015.), a pčelinji otrov su za liječenje u doba antike koristili Hipokrat u Grčkoj i Galen u Rimu (Kim 2013). Pčelinji vosak se koristio od davnina za razne primjene: očuvanje mumija, izrađivanje kalupa, tretiranje rana i opekline, izradu svijeća i slikanje metodom enkaustike (Bogdanov 2016). Danas se uglavnom koristi za proizvodnju satnih osnova, a u ostale svrhe se koristi 25-30 % u kozmetici, 25-30 % u farmaciji, 20 % za proizvodnju svijeća i 10-20 % u ostale svrhe (Crane 1990., preme Bogdanov 2016).

Pčele se danas uzgajaju radi proizvodnje meda, pčelinjeg voska, matične mliječi, propolisa, pčelinje peludi i pčelinjeg otrova, no njihova najveća korist je oprašivanje. Oprašivanje mnogih biljnih vrsta ovisi o kukcima, a pčele su za mnoge od njih najznačajniji oprašivači. Medonosna pčela (*Apis mellifera* L.) posjećuje barem 73 % vrsta usjeva koji koriste animalne oprašivače diljem svijeta, te se koristi za 90 % kontroliranih usluga oprašivanja (Kremen 2008.).

Pčelinji otrov (apitoksin) ima široku primjenu u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Ljekovita svojstva pčelinjih proizvoda, uključujući pčelinji otrov, su bila poznata starim civilizacijama Egipta, Grčke, Kine i Rima (Bogdanov 2017.), no tek su posljednjih nekoliko desetljeća kemijski sastav pčelinjeg otrova i njegovi pozitivni učinci na ljudsko zdravlje empirijski i dokazani. Dokazano je kako pčelinji otrov ima protuupalno, protubakterijsko i protuvirusno djelovanje, a utvrđeni su i njegovi pozitivni učinci na živčani i krvožilni sustav i kožu. Pčelinji otrov se sastoji od brojnih sastavnica koje se uglavnom dijele na peptide, enzime i ostale sastavnice, a od njih najveći udio ima melitin. On je polipeptid koji je velikim dijelom odgovoran za protuupalno djelovanje pčelinjeg otrova, a u nekim istraživanjima je dokazano ljekovito djelovanje primjenom samo melitina (Son i sur. 2006.). Uz melitin najvažniju ulogu za ljekovita svojstva ima fosfolipaza A₂ koja također ima protuupalna svojstva i pomaže kod neuroinflamacija i bolesti poput Alzheimerove bolesti (Ham i sur. 2019a.). Uz ljekovitu vrijednost, apitoksin ima sve veći značaj i u kozmetičkoj industriji u kojoj je poznat kao "prirodni Botox". Pčelinjem se otrovu u marketinške svrhe često pripisuju i neutemeljene zdravstvene tvrdnje poput liječenja multiple skleroze, depresije i tjeskobe.

1.1. Cilj rada

Cilj je ovog rada dati sustavan i cjelovit pregled znanstvenih istraživanja kojima su dokazana ljekovita svojstva pčelinjeg otrova te njegovi pozitivni učinci na ljudsko zdravlje.

2. Pregled literature

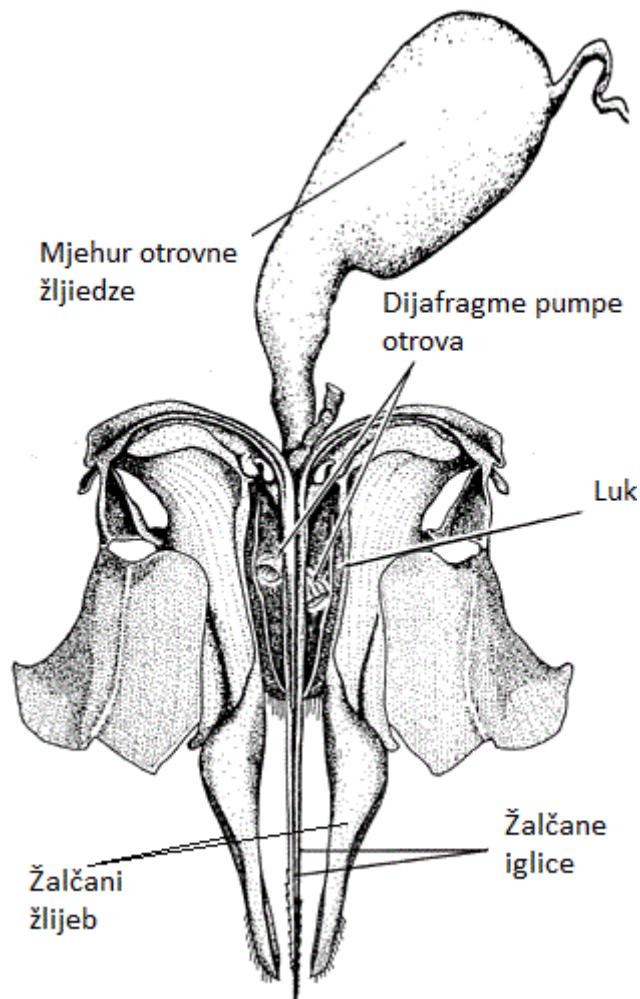
2.1. Medonosna pčela

Medonosne pčele (*Apis mellifera* L.) spadaju u red *Hymenoptera* (opnokrilci), porodicu *Apidae* (prave pčele). Svi kukci koji mogu ubosti pripadaju redu *Hymenoptera* (Kezić i sur. 2014.). Medonosne pčele su raširene po cijelom svijetu, gdje god su prihvatljivi uvjeti za njihovo preživljavanje. Postoje brojne pasmine medonosne pčele, a na području Republike Hrvatske autohtono obitava siva pčela (*Apis mellifera carnica* Pollmann 1879).

U pčelinjoj zajednici postoje tri tipa jedinki: trutovi, radilice i matica. Trutovi su jedini muški članovi pčelinje zajednice, a radilice i matica su ženski članovi. Trutovi ne stvaraju otrov i nemaju žalac, dok radilice i matica imaju (Adjare 1990.). Pčele sintetiziraju otrov u otrovnim žlijezdama i skladište ga u otrovnom mjehuru. Otrovnne žlijezde počinju funkcionirati nakon izlaska radilice iz stanice, a maksimalnu količinu otrova postižu nakon 2 do 3 tjedna starosti (Kezić i sur. 2014.). Matice koriste otrov za eliminaciju drugih mogućih matice pa one imaju maksimalnu količinu otrova odmah nakon valjenja. Jedna radilica sadrži oko 100-150 µg otrova, a matica oko 700 µg (Ali 2012.).

2.1.1. Žalčani aparat

Tijelo pčele je podijeljeno na tri dijela: glavu, prsište i zadak. Svaki dio je građen od kolutića. Zadak je izgrađen od 9 kolutića od kojih nisu svi vidljivi (Snodgrass, 1910.). Kod radilice i matice je vidljivo 6 kolutića, sedmi i osmi tvore dijelove žalčanog aparata, a deveti je uvučen i tvori analni prsten (Kezić i sur. 2014.). Iako je skriven, povlačenjem se lagano izvuče iz tijela. Slika 2.1.1.1. prikazuje građu žalčanog aparata.



Slika 2.1.1.1. Građa žalčanog aparata pčele.

Izvor: University of California, Riverside <https://bees.ucr.edu/bee-sting-removal> (modificirano) (Pristup 08.06.2021.)

Žalčani žlijeb je dug 2,25 mm, proširen prema gore, a prema dolje sužen i otvoren. Šupalj je i sastoji se od dvije stijenke. Prema gore se na žalčani žlijeb nastavljaju dva luka, čiji su krajevi u vezi s tzv. duguljastim pločicama (Kezić i sur. 2014.).

U samom žalčanom žlijebu se nalaze dvije šuplje žalčane iglice. Žalčane iglice imaju zupce koji su okrenuti prema gore. Pčela ubada naizmjeničnim pokretanjem iglica. Naizmjeničnim pokretanjem iglica pčele pumpaju otrov iz mjehura s otrovom u žrtvu (Snodgrass. 1910.).

Nakon što ubode druge kukce koji nemaju elastičnu kožu lako izvlači žalac, no kod sisavaca se elastična koža stisne oko zubaca na iglicama i pčela ne može izvući žalac. Žalac se odvaja od ostatka tijela pčele i povlači sa sobom ganglij, razne mišiće, otrovni mjehur i dio probavnog sustava (Visscher i sur. 1996.). Matice imaju gladak žalac i mogu ubosti organizme s elastičnom kožom više puta, no ona ne napušta košnicu u normalnim uvjetima i ne koristi žalac u tu svrhu (Ali 2012.).

2.1.2. Skupljanje pčelinjeg otrova

Metode skupljanja pčelinjeg otrova su se značajno mijenjale kroz vrijeme. Rane metode skupljanja otrova su bile manje učinkovite i sporije. Abadžić (1985.) opisuje metodu skupljanja otrova kod koje se pčela uzme pincetom ili rukom, zatim prisloni uz staklo koje pčela „ubode“ te se kasnije sa stakla sakupi otrov. Druge metode su uključivale odstranjivanje otrovnog mjehura i omamljivanje pčela eterom ili kloroformom u staklenci koju bi zatim iritirane pčele ubadale (Kezić i sur. 2014.).

Prema de Graaf i sur. (2020.), Markovic i Mollnar su 1954. predložili metodu skupljanja otrova pomoću uređaja koji zadaje pčelama lagane elektrošokove. Taj dizajn se razvitkom tehnologije unaprjeđivao i modificirao te se i moderni skupljači otrova zasnivaju na tom načinu djelovanja. Glavna prednost takvog uređaja je što predstavlja vrlo malu opasnost za zdravlje, kao i na usmrćivanje pčela i omogućuje istovremeno skupljanje otrova od velikog broja pčela.

Moderni skupljač otrova se sastoji od 4 dijela: Baterija ili akumulator, transformator istosmjerne u izmjeničnu struju, okvir skupljača koji se sastoji od elektrizirane žičane mreže i staklene ploče, koja je pokrivena tankom polietilenskom membranom (Bogdanov 2017.). Skupljač se može postaviti unutar košnice ili izvan košnice ispred leta, što je uobičajenije. Slika 2.1.2.1. prikazuje skupljač pčelinjeg otrova ispred leta.



Slika 2.1.2.1. Moderni skupljač pčelinjeg otrova ispred leta košnice.

Izvor: Whale Labs <https://www.whalelabs.com.au/wp-content/uploads/2018/07/WL-BVC01-04.jpg> (Pristup 11.06.2021.)

Prolaskom kroz leto pčele dodiruju žicu i osjete strujni udar jačine 24 do 30 volta te zbog iritacije ubodu kroz membranu i ispuste otrov na staklo (Bogdanov 2017.). Nakon jednog do dva sata ploča se mora maknuti s leta te se skupljene kapljice otrova stave na sušenje, nakon čega se skalpelom ili žiletom sastružu sa staklene ploče (Balen Percela 2018.). Smrtnost pčela ovom metodom skupljanja otrova je vrlo niska, no ispuštanje alarmnih feromona uz otrov dovodi do agresivnosti zajednice zbog čega se otrov može skupljati u ograničenom vremenu jer bi učestala i produžena izloženost alarmnim feromonima mogla narušiti zdravlje pčelinje zajednice.

3. Sastav pčelinjeg otrova

Pčelinji otrov je tekuća smjesa bez mirisa, prozirna ili žućkaste boje. Blago je gorkog i kiselkastog okusa, pH vrijednost se kreće od 4,5 do 5,5, a specifična težina otrova iznosi 1,1313 (Bogdanov 2017.). Topiv je u vodi i kiselinama, ali nije u alkoholu. Ovisno o tehnikama sušenja i onečišćenosti, nakon sušenja pčelinji otrov ostaje u obliku bijelog praha ako je pročišćen, ili žućkastog do smečkastog praha ako je onečišćen peludom, medom, propolisom, prašinom ili nektarom. Ako se otrov zaštititi od utjecaja svjetla i vlage, može se čuvati i preko pet godina, no ljekovita svojstva mu se smanjuju dugotrajnim čuvanjem (Simics 1996.). Liofilizacija (smrznuto sušenje) predstavlja najučinkovitiju metodu očuvanja otrova (Simics 1996.).

Pčelinji otrov sadrži 88 % vode, a suha tvar je mješavina enzima, peptida i niskomolekularnih spojeva poput biološki aktivnih amina, minerala i šećera (Wehbe i sur. 2019.). Tablica 3.1. prikazuje kemijski sastav suhe tvari pčelinjeg otrova.

Tablica 3.1. Kemijski sastav suhe tvari pčelinjeg otrova

Grupa supstanci	Sastavnica	Postotak u suhoj masi otrova
Proteini (enzimi)	Fosfolipaza A ₂	10-12
	Fosfolipaza B	1
	Hijaluronidaza	1-2
	Fosfataza	1
	α-glukozidaze	0,6
Peptidi	Melitin	40-50
	Apamin	2-3
	MCD peptid	2-3
	Sekapin	0,5-2
	Pamin	1-3
	Minimin	2
	Adolapin	0,5-1
	Prokamin A, B	1-2
	Proteaza inhibitor	0,1-0,8
	Terciapin, kardiopep, melitin F	1-2
Fosfolipidi		1-3
Biogeni amini	Histamin	0,5-2
	Dopamin	0,2-1
	Noradrenalin	0,1-0,5
Aminokiseline	Aminobutrična kiselina, α-aminokiseline	1
Šećeri	Glukoza, fruktoza	2-4
Hlapljive tvari (feromoni)	Složeni eteri	4-8
Minerali	P, Ca, Mg	3-4

Izvor: Bogdanov, 2017.

3.1. Peptidi

Melitin je sastavnica pčelinjeg otrova s najvećim udjelom u suhoj tvari; čini 40 do 50 % suhe tvari. Melitin je amfipatski polipeptid koji se sastoji od 26 aminokiselina, njegova sekvenca je Gly-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-Thr-Thr-Gly-Leu-Pro-Ala-Leu-Ile-Ser-Trp-Ile-Lys-Arg-Lys-Arg-Gln-Gln (Gevod i Birdi, 1984.). Topiv je u vodi u monomernom i tetramernom obliku (Wehbe i sur. 2019.). Aminokiseline 1-20 su hidrofobne (osim Lys-7), dok su aminokiseline 21-26 hidrofilne (Gevod i Birdi 1984.). Molekula ima strukturu sličnu deterdžentu, umanjuje površinsku napetost vode te može uzrokovati propadanje lipidnog dvosloja prilikom vezanja na membranu (Pak, 2017.). Kao najzastupljenija i važna sastavnica pčelinjeg otrova, melitin je odgovoran za razgradnju krvnih stanica, mastocita, otpuštanje serotonina i histamina iz mastocita i uzrokovanje boli (Moreno i Giralt, 2015.). Djelovanjem na staničnu membranu, ovisno o koncentraciji, melitin stvara stabilne ili nestalne pore na membrani koje omogućuju prolaz većih molekula i koje su uzrok hemolitičnog,

protumikrobnog, protugljivičnog i protutumorskog djelovanja melitina (Wehbe i sur. 2019.). Melitin ima sinergično djelovanje s fosfolipazom A₂ (Son i sur. 2007.).

Apamin je peptidni neurotoksin koji djeluje na centralni živčani sustav. Sastoji se od 18 aminokiselina i uzrokuje hiperuzbuđenost prijelazom krv-mozak barijere, te je visoko selektivni inhibitor Ca²⁺ aktiviranih K⁺ kanala male vodljivosti (SK kanala) (Son i sur. 2007.). SK kanali sudjeluju u regulaciji djelovanja neurona, osjetljivosti dendrona i sinaptičkom prijenosu i plastičnosti zbog čega su važan dio istraživanja kod brojnih poremećaja pamćenja, učenja i neuroloških poremećaja (Faber i Sah, 2007.). Na sisavcima zbog neurotoksičnosti može uzrokovati hiperaktivnost i napadaje okarakterizirane nekoordiniranim pokretima i grčanjem (Wehbe i sur. 2019., Mourre i sur. 1997.). Mourre i sur. su 1997. primjenom 0,5 ng do 1 ng apamina u likvor 15 štakora primijetili kako doze niže od 1 ng nisu imale djelovanje na ponašanje štakora, dok je doza od 1 ng uzrokovala napadaje karakterizirane pojačanom osjetljivošću na buku, gubitkom kontrole nad stavom, trzajevima i izmjenjujućim periodima povećane uzrujanosti uz trzajeve i periodima potpune klonulosti. U posljednje se vrijeme sve intenzivnije provode istraživanja u svrhu korištenja apamina za ublažavanje simptoma i liječenje bolesti živčanog sustava, poput Parkinsonove bolesti i Alzheimerove bolesti (Bogdanov, 2017.).

MCD peptid (poznat i kao peptid 401) je peptid koji degranulira mastocite (eng. *Mast Cell Degranulating peptide*). To je polipeptid koji se sastoji od 22 aminokiseline i ima strukturu sličnu apaminu (Wehbe i sur. 2019.). Mastociti su važne stanice imunološkog sustava koje se nalaze u svom prokrvijenom tkivu osim centralnog živčanog sustava i mrežnice (Krystel-Whittemore i sur. 2016.). Histamin je važan čimbenik u odgovoru na pčelinji ubod, crvenilo, oticanje i lokalni osjećaj boli su tipična posljedica histamina (Banks i Shipolini, 1986.). Pošto pčelinji otrov ne sadrži mnogo histamina, MCD peptid osigurava dodatan histamin otpuštajući ga iz granula mastocita spajanjem membrane granula s membranom mastocita i egzocitozom sadržaja granula bez lize mastocita (Pak 2017.). Također, fosfolipaza A₂ i melitin uzrokuju otpuštanje histamina iz mastocita kože kao posljedicu citolitičkog učinka uboda pčele. MCD peptid je važan alergen koji reagira s imunoglobulinom E (IgE) u stanicama što rezultira alergijskom reakcijom otpuštanja histamina, leukotriena, prostaglandina, kemotaktičnih faktora i brojnih drugih faktora (Karalliedde 1995.). Istraživanja opisuju MCD peptid kao snažan protuupalni agens koji može služiti za proučavanje sekrecijskih mehanizama upaljenih stanica i dovesti do dizajniranja spojeva u terapijske svrhe (Wehbe i sur. 2019.).

Adolapin je polipeptid sačinjen od 103 aminokiselina koji je izoliran 1982. godine. Utvrđena su mu protuupalna, antinociceptivna, analgetička i protupiretička svojstva blokirajući sintezu prostaglandina i inhibirajući aktivnost ciklooksigenaze (Wehbe i sur. 2019.). Daljnjim istraživanjem je otkriveno da inhibira aktivnost fosfolipaze A₂ i lipoksigenaze iz ljudskih trombocita (Pak, 2017.).

Terciapin je polipeptid koji se sastoji od 21 aminokiseline i ima vrlo mali udio u suhoj tvari pčelinjeg otrova, < 0,1 % (Pak, 2017.). Utvrđeno je djelovanje u vidu degranulacije mastocita kod štakora, no u manjoj mjeri od MCD peptida (Banks i Shipolini 1986.). Prema istraživanju Drici i sur. 2000. terciapin može spriječiti zastoje srca inducirane acetilkolinom kod sisavaca. Acetilkolin inducira aktivaciju iznutra ispravljajućih kalijevih kanala koji su povezani s parasimpatičkom kontrolom brzine otkucaja srca te njihova prevelika stimulacija može dovesti do zastoja srca. U njihovom pokusu je acetilkolin inducirao atrioventrikularni blok u srcima zamoraca, a terciapin je blokirao iznutra ispravljajuće kalijeve kanale aktivirane acetilkolinom i time spriječio potpuni zastoj srca i umanjio gubitak provodnosti atrioventrikularnog čvora.

Sekapin je peptid od 25 aminokiselina koji čini samo oko 0,5 % suhe tvari pčelinjeg otrova (Mourelle i sur. 2014.). Nije utvrđena otrovnost kod sisavaca s obzirom na to da je istraživanjima utvrđeno kako visoke doze sekapina ne uzrokuju smrt; zapaženo djelovanje kod primjene 80 mg/kg na miševima je sedacija, piloerekcija i hipotermija, stoga LD₅₀ nije utvrđen ali mora biti veći od 80 mg/kg (Gauldie i sur. 1976.).

Kardiopep je jak, netoksičan stimulator sličan beta-adrenergičnim stimulantima, nije potpuno blokiran propranololom i ima antiaritmična svojstva (Vick i sur. 1974.). Melitin F je fragment melitina u kojem prvih 7 aminokiselinskih ostataka nedostaje. Melitin nastaje od preteče promelitina, a melitin F je rezultat manjeg rascjepa (Gauldie i sur. 1978.). Proteaza inhibitor ima sposobnost inhibicije proteolitskog djelovanja tripsina. Biološka svrha proteaza inhibitora u otrovu je štíćenje agresivnih (hijaluronidaze) i otrovnih (fosfolipaza, melitin i apamin) sastavnica otrova od proteaza ubodenih ljudi i životinja (Shkendrov, 1973.).

3.2. Enzimi

Fosfolipaza A₂ (PLA₂, eng. *Phospholipase A₂*) čini 10-12 % suhe tvari pčelinjeg otrova i najvažniji je alergen u pčelinjem otrovu (Sobotka i sur. 1976.). PLA₂ je enzim koji katalizira hidrolizu prirodnih lipida kako bi proizveo lizofosfogliceride i dugolančane masne kiseline. Oba produkta te reakcije imaju sposobnost utjecanja na lipidni dvosloj koji obavija stanice (Banks i Shipolini 1986.). Izloženost PLA₂ iz pčelinjeg otrova dovodi do oštećenja staničnih membrana, a pri dovoljno visokim koncentracijama i do nekrotične smrti stanice (Ownby i sur. 1997. preme Palm i sur. 2013.). PLA₂ i melitin djeluju sinergično, uzrokujući lizu eritrocita u uvjetima u kojima niti jedan od njih ne bi bio dovoljno efektivan samostalno. Melitin se pripoji lipidnom dvosloju stanice i ometa niz membranskih fosfolipida zbog čega su podložni napadu enzima (Banks i Shipolini 1986.). PLA₂ je klasificiran u 3 grupe ovisno o staničnoj distribuciji: sekretirani (sPLA₂), citosolički (cPLA₂) i Ca²⁺-neovisni PLA₂ (iPLA₂). PLA₂ u pčelinjem otrovu spada u grupu III sPLA₂. PLA₂ može izazvati obrambene imunološke odgovore protiv brojnih bolesti poput astme, Alzheimerove bolesti i Parkinsonove bolesti

inducirajući odgovor pomagačkih T-limfocita (CD4⁺ T-stanica) i dodatni IgE odgovor (Pak, 2017., Wehbe i sur. 2019.). Također, PLA₂ modulira regulacijske T-limfocite što dovodi do protuupalnog učinka, umanjena neuropatske boli i usporavanja progresije različitih moždanih bolesti (Pak, 2017.).

Fosfolipaza B čini 1 % suhe tvari pčelinjeg otrova. Ona je vrlo termostabilan enzim koji pokazuje djelovanje slično PLA₁ i PLA₂, cijepajući fosfolipide na sn-1 i sn-2 pozicijama acilnih lanaca što poboljšava djelovanje PLA₂ (Pucca i sur. 2019.). Aktivira se u prisutnosti kalcijevih i magnezijevih iona. Sudjeluje u hidrolizi lizolecitina zbog čega ima detoksifikacijsko djelovanje (Hossen i sur. 2016.).

Hijaluronidaza čini 1-2 % suhe tvari pčelinjeg otrova. To je enzim koji hidrolizira viskoznu hijaluronsku kiselinu koja pomaže držati zajedno stanice tkiva (Topchiyeva i Mammadova, 2016.). Hijaluronidaza u pčelinjem otrovu omogućuje aktivnim komponentama otrova da efektivnije prodiru u tkivo žrtve djelujući na strukturalni integritet tkiva i uzrokuje širenje krvnih žila i veću permeabilnost istih, povećavajući kolanje krvi kroz zahvaćeno područje što zajedno ima djelovanje intenzivnijeg širenja otrova (Wehbe i sur. 2019.). Također, izaziva alergijsku reakciju kod ljudi (Hossen i sur. 2016.).

Kisela fosfataza čini oko 1 % suhe tvari pčelinjeg otrova. Ona je hidrolaza koja u procesu defosforilacije hidrolizom uklanja fosfatnu grupu iz organskih spojeva (Pak 2017.). Fosfataza iz pčelinjeg otrova je glikoprotein i alergen koji uzrokuje alergijsku reakciju kod ljudi posredovanu IgE. Uzrokuje otpuštanje histamina od senzibiliziranih bazofila što dovodi do manifestacija poput urtikarije i upaljenja (Hossen i sur. 2016.). U terapijske svrhe se može koristiti za stvaranje specifičnih IgE koji se mogu koristiti u imunoterapijama, a ima i protutumorsko djelovanje temeljeno na inhibiciji angiogeneze i metastaziranja tumora blokiranjem fosforilacije čimbenika rasta (Hossen i sur. 2016., Pak 2017.)

α -glukozidaza ima škrobno hidrolizirajuće djelovanje, djeluje na α -glukoznu vezu na nereducirajućoj terminalnoj strani supstrata i oslobađa α -glukozu kao produkt (Hossen i sur. 2016.). Ovaj enzim je povezan s transformacijom saharoze iz nektara u glukozu i fruktozu za proizvodnju meda i prisutan je u otrovu vjerojatno zbog načina skupljanja otrova, ali je termolabilan pa se također može koristiti kao marker za pravilno čuvanje otrova (Banks i Shipolini 1986.).

3.3. Ostale sastavnice pčelinjeg otrova

Histamin je mala molekula koja čini 0,5-2 % suhe tvari otrova. Tijekom alergije na pčelinji otrov, histamin je glavni posrednik upaljenja koji je otpušten izravno u kožu. Uzrokuje curenje kapilara, svrbež, oticanje i bol (Pascoal i sur. 2019.). Pčelinji otrov ne sadrži mnogo

histamina, ali melitin, PLA₂ i MCD peptid uzrokuju otpuštanje histamina iz mastocita (Moreno i Giralt 2015., Karalliedde 1995.).

Pčelinji otrov sadrži vrlo male količine katekolamina dopamina i noradrenalina. Oni služe kao neuromodulatori u živčanom sustavu, uzrokujući fiziološke promjene poput promjene brzine otkucaja srca, krvnog tlaka i promjene u ponašanju (Surendra i sur. 2014.). Dopamin ubrzava puls kod insekata pa je moguće da je njegova svrha ubrzanje kolanja hemolimfe u svrhu bržeg širenja otrova, a noradrenalin je uobičajen neurotransmitter kod kralježnjaka i najvjerojatnije utječe na živčani sustav žrtve insekta (Banks i Shipolini 1986.).

Hlapljive tvari su alarmni feromoni koji upozoravaju članove pčelinje zajednice na prisutnost neprijatelja i potrebu za obranom (Kezić i sur. 2014.). Alarmni feromoni se mogu ispuštati iz izvučenog žalca bez uboda, prilikom uboda i iz žalaca koji su ostali u žrtvi (Bortolotti i Costa 2014.). Oni potiču na raspršivanje zajednice ili učestalije na zajednički napad (Millor i sur. 1999.).

4. Ljekovita svojstva pčelinjeg otrova

Pčelinji otrov se za terapijske svrhe može primjenjivati na mnogo načina: pčelinjim ubodima, injekcijama, elektroforezom, u kremama, mastima, inhalacijom i tabletama (Kezić i sur. 2014.). Najraširenija metoda je akupunktura pčelinjim otrovom koja se sastoji od primjene injekcije razrijeđenog otrova u akupunkturne točke (Pascoal i sur. 2019.). Tablica 4.1. prikazuje pozitivna djelovanja pčelinjeg otrova u pokusima na životinjama i stanicama.

Tablica 4.1. Pozitivna djelovanja pčelinjeg otrova u pokusima na životinjama i pokusima.

Generalno djelovanje ili meta djelovanja	Specifično djelovanje
Protuupalno i protuartritisno djelovanje	Djelovanje poput glukokortikoida i aspirina, blokiranje proupalnih supstanci, modifikacija stanične membrane
Protutumorsko djelovanje	Protutumorsko djelovanje na stanice raka jajnika, jetre, prostate, mjehura, bubrega i melanoma kroz različite mehanizme
Centralni i periferni živčani sustav	Stimulira kemoreceptore, ima kolinolitičko djelovanje, blokira prijenos vegetativne sinapse i polisinaptičke neuronske puteve, ublažava bol, utječe na EEG i ponašanje, poboljšava cirkulaciju krvi u mozgu, sprječava smrt neurona, ublažava MS, djeluje protiv oštećenja živaca inducirano oksaliplatinom
Djelovanje protiv ovisnosti	Akupunktura pčelinjim otrovom može utjecati na hiperaktivnost inducirano metamfetaminom
Krvožilni sustav	Poboljšava cirkulaciju krvi, usporava rad srca pri nižim dozama i ubrzava pri višim dozama, umanjuje krvni tlak, antiaritmik, sprječava koagulaciju krvi, stimulira proizvodnju eritrocita
Protiv benigne hiperplazije prostate	Inhibira hiperplaziju kod štakora induciranu testosteronom
Imunološki sustav	Potiskuju imunološku reakciju pri višim dozama i potiču imunološku reakciju pri nižim dozama
Zaštita od radijacije	Poboljšava regeneraciju leukocita i eritrocit
Antibiotičko, fungicidno i protuvirusno djelovanje	Baktericidno djelovanje protiv raznih patogena, inaktivacija <i>Herpes simplex</i> , HIV, Influenza A i drugih virusa
Protuhipertermičko djelovanje	Aktivira specifične sustave tijela da nadjačaju hipertermiju
Žučni mjehur i crijeva	Poboljšava protok i koncentraciju kolesterina i bilirubina

Endokrinološki sustav	Poboljšava izlučivanje hormona štitnjače, hipofize i hipotalamusa
Metaboličko djelovanje	Poboljšava metabolizam proteina i nukleotida
Protiv pretilosti	Kod štakora kojima je inducirana pretilost prehranom
Zaštita jetre	Potiskuje apoptozu hepatocita induciranu TNF- α i aktinomycinom D
Zaštita bubrega	Testirano na štakorima kojima je inducirana nefrotoksičnost
Neurozaštitno djelovanje	Testirano na modelu Parkinsona na štakorima
Protiv Lajmske borelioze	Melitin inhibira bakteriju <i>Borrelia burgdorferi</i>
Liječenje rana	Potiče regeneraciju stanica kože
Imunoprolifaktik	Sprej s pčelinjim otrovom smanjuje korištenje antibiotika kod uzgoja pilića
Protiv sindroma policističkih jajnika	Smanjuje C-reaktivni protein
Protudijabetik	Smanjuje glukozu u krvi i povećava lučenje inzulina
Protiv svrbeži kože	Inhibira degranulaciju mastocita i ekspresiju citokina

Izvor: Bogdanov, 2017.

4.1. Protuupalno djelovanje

Zbog svog protuupalnog djelovanja pčelinji otrov se može koristiti za tretiranje raznih upalnih bolesti. Melitin inhibira upalne citokine poput interleukina-6 (IL-6), IL-8, faktora nekroze tumora- α (TNF- α , eng. Tumor necrosis factor- α) i interferona- γ , te smanjuje signalne puteve koji aktiviraju upalne citokine, uključujući nuklearni faktor-kappa B (NF- κ B), protein kinazu B (Akt) i izvanstanične signalno regulirane kinaze (ERK1/2) u *Porphyromonas gingivalis* lipopolisaharid-tretiranim ljudskim keratinocitima (Kim i sur. 2018.). Ta saznanja upućuju na to da, blokiranjem njihovih primarnih signalnih puteva, melitin inhibira upalne citokine dovodeći do smanjene upale u kožnom, jetrenom, zglobovnom i živčanom tkivu (Wehbe i sur. 2019.).

4.1.1. Artritis

Najuobičajeniji tipovi artritisa su osteoartritis (OA) i reumatoidni artritis (RA). OA je uzrokovan trošenjem hrskavice, fleksibilnog vezivnog tkiva koje olakšava klizanje zglobovne ploštine. Prostor između kostiju se postepeno smanjuje, kretanje zglobova postaje otežano i bolno, te može doći do oticanja. Jače trošenje hrskavice može dovesti do trljanja kosti o kost (NHS, 2018.). OA je vrlo raširen kod osoba srednje i starije dobi. Trenutno nije poznat lijek, no postoje tretmani za poboljšanje kvalitete života oboljelih ublažavanjem boli, šticećenjem

zglobova i vježbama za povećanje mogućih pokreta. U težim slučajevima potrebna je operacija ili zamjena zglobova (CDC, 2020).

RA je sustavna, kronična autoimuna upalna bolest koja uzrokuje bol i oticanje zglobova. Primarni proces nastajanja RA započinje u sinoviji (membrani koja obavija zglob) koja zbog stalne upale zadeblja i koja je bogata enzimima i drugim tvarima koje razaraju zglobnu hrskavicu i kost te dovode do nepopravljivih promjena zgloba. Simptomi su slični kao kod OA, a liječenje se odvija uzimanjem imunosupresiva i protuupalnih lijekova u svrhu remisije, te fizikalnim terapijama koje održavaju motorne sposobnosti pacijenta (Healthdirect 2019.).

Prema Son i sur. (2007.), Chang i Bliven (1979.) su prvi obznanili protuartritisno djelovanje pčelinjeg otrova koji je potkožnom primjenom potisnuo razvoj karagen-induciranog edema šape i adjuvantnog artritisa kod štakora. Jedna doza pčelinjeg otrova primijenjena potkožno na isti dan ili dan prije primjene injekcije potpunog Freundovog adjuvansa je efektivno potisnula razvoj poliartritisa (artritis bilo koje vrste koji djeluje na 5 ili više zglobova). Antigeni pomiješani s Freundovim adjuvansom su imali sličan utjecaj na spriječavanje razvoja artritisa, što ukazuje na to da mehanizam spriječavanja artritisa pomoću pčelinjeg otrova uključuje promjenu u imunološkoj reakciji zbog kompeticije antigena i protuupalnu aktivnost.

Shkendrov i Kobura su 1982. izolirali adolapin iz pčelinjeg otrova i testom grčenja na štakorima utvrdili kako ima analgetski učinak, te da ima protuupalno djelovanje na edem šape i adjuvantni artritis. Autori su zaključili da je razlog protuupalnog i analgetskog djelovanja sposobnost adolapina da inhibira ciklooksigenaze (COX), odnosno sustav prostaglandin sintetaze (prostaglandini su fiziološki aktivni lipidi koji su uključeni u vazodilataciju i upale tkiva). Slične rezultate su utvrdili Eiseman i sur. 1982. koji su na pokusima na štakorima također utvrdili smanjenje, ali ne i potpunu eliminaciju upalne reakcije potkožnom primjenom pčelinjeg otrova na štakorima kojima je prethodno induciran adjuvantni artritis.

Somerfield i sur. su 1986. proveli istraživanje o razlozima i mehanizmima protuupalnog djelovanja pčelinjeg otrova. Zbog sličnog protuupalnog djelovanja pčelinjeg otrova i superoksid dismutaze su istražili utjecaj otrova na stvaranje superoksida (O_2^-) od strane neutrofila. Neutrofili (tip leukocita) stvaraju toksične kisikove radikale i metabolite koji su povezani s kroničnim upalama i razaranjem tkiva kod raznih bolesti, uključujući reumatoidne bolesti. Utvrdili su da melitin inhibira stvaranje O_2^- te time rasvijetlili pozadinske mehanizme protuupalnog djelovanja pčelinjeg otrova.

Yiangou i sur. su 1993. primjenom pčelinjeg otrova na štakorima ublažili adjuvantni artritis i utvrdili smanjenu ekspresiju α -1 kiselinskog glikoprotein gena. Nije poznata točna

funkcija α -1 kiselinskog glikoproteina, no on je protein akutne faze čije stvaranje je kod štakora inducirano brojnim podražajima, uključujući Freundov potpuni adjuvans koji je korišten za induciranje adjuvantnog artritisa. Dodavanje α -1 kiselinskog glikoproteina štakorima je ubrzalo razvoj artritisa i intenzitet bolesti, čime je utvrđen još jedan mehanizam kojim pčelinji otrov ublažava simptome adjuvantnog artritisa.

Nam i sur. (2003.) su istražili protuupalni utjecaj vodotopivog dijela pčelinjeg otrova. Podijelili su vodotopivi dio pčelinjeg otrova na tri dijela prema molekularnoj težini: B-F1 (iznad 20 kDa, uključuje enzime poput hijaluronidaze i glukozidaze), B-F2 (između 10 i 20 kDa, uključuje PLA₂ i adolapin) i B-F3 (ispod 10 kDa, uključuje melitin, apamin, MCD peptid). Utvrdili su da B-F2 i B-F3 dijelovi pčelinjeg otrova inhibiraju aktivnost COX-2, dok B-F1 dio nema učinak. Također su utvrdili da sva tri dijela inhibiraju proizvodnju TNF- α i IL-1 β , koji su proupalni citokini i indikatori procesa upale.

Kod RA se fibroblasti koji se nalaze u sinovijalnom oblaganju značajno umnože, imaju promijenjeni fenotip i unište susjednu hrskavicu i kost (Son i sur. 2007.). Hong i sur. (2005.) su utvrdili da pčelinji otrov pomaže u liječenju RA induciranjem apoptoze reumatoidnih sinovijalnih stanica što sprječava njihovo širenje.

Kwon i sur. su 2001. proveli istraživanje o razlici djelovanja ovisno o mjestu primjene pčelinjeg otrova na štakore kojima je induciran artritis. Potkožno su primijenili pčelinji otrov štakorima u akupunkturnu točku ST36 (Zusanli) i u točku nevezanu s akupunkturuom. Točka ST36 se nalazi oko 3 cm ispod koljena na prednjoj strani noge malo prema vanjskoj strani tijela (Wu i sur. 2019.). Slika 4.1.1.1. prikazuju ST36 kod ljudi. Kwon i sur. su utvrdili kako ubrizgavanje u akupunkturne točke pruža bolje analgetičko djelovanje na bol artritisa u odnosu na primjenu otrova u neku drugu točku, no oba načina primjene imaju protuupalni i protubolni učinak. Lee i sur. (2005.) iznose pregled brojnih istraživanja o primjeni pčelinjeg otrova na štakorima u akupunkturne točke i zaključuju kako primjena u akupunkturne točke ima snažnije djelovanje što može pomoći u dostizanju terapijskih učinaka.



Slika 4.1.1.1. Akupunkturna točka ST36 (Zusanli) na nozi čovjeka

Izvor: Wu i sur. 2020. (modificirano)

Lee i sur. (2005.) ističu kliničko ispitivanje (Kwon 1998.) u kojem je akupunktura pčelinjim otrovom primijenjena na 10 pacijenata za tretiranje RA. Efikasnost terapije je 90 %; u 2 slučaja je postignuto odlično poboljšanje, u 5 slučaja dobro poboljšanje i u 2 efektivno poboljšanje. Navode i kliničko ispitivanje Lee i sur. (2003.) u kojem je 22 pacijenata s RA primalo akupunkturu pčelinjim otrovom dvaput tjedno tijekom 3 mjeseca. Osjetljivi i otekli zglobovi te trajanje jutarnje ukočenosti su se značajno smanjili u odnosu na stanje prije akupunkture pčelinjim otrovom.

Son i sur. (2007.) navode ispitivanja djelotvornosti akupunkture pčelinjim otrovom za tretiranje OA koja su proveli Wang i sur. 2001 i Kwon i sur. 2001. Tretirano je 70 pacijenata koji imaju OA u koljenu te je u 11 slučajeva ustanovljeno odlično poboljšanje, u 31 slučaju dobro poboljšanje i u 16 slučajeva odlično poboljšanje. Također su ispitali razliku u ublaženju boli kod pacijenata s OA između tretiranja tradicionalnom akupunkturu iglama i akupunkturu pčelinjim otrovom. 82,5 % ispitanika tretiranih pčelinjim otrovom je prijavilo značajno ublaženje boli, u odnosu na 55 % ispitanika tretiranih tradicionalnom akupunkturu koji su prijavili isto.

Lee i sur. (2020) su daljnjim istraživanjima testirali učinkovitost tretiranja miševa oboljelih od gihta pčelinjim otrovom i apaminom. Giht je vrsta upalnog artritisa uzrokovana

visokim razinama mokraćne kiseline u krvi i taloženjem kristala mononatrijevog urata u zglobovima. Miševima su injekcijom u šapu ubacili 4 mg mononatrijevog urata što je uzrokovalo pojavu edema. Miševi su podijeljeni u 7 grupa ovisno o tretmanu, među kojima su grupe tretirane s 0,5 ili 1 mg/kg tjelesne mase pčelinjeg otrova, grupe tretirane 0,5 ili 1 mg/kg tjelesne mase apamina i grupa tretirana kolhicinom koji se uobičajeno koristi za liječenje gihta. Manje količine pčelinjeg otrova i apamina nisu djelotvorno umanjile edem, ali količina od 1 mg/kg tjelesne mase pčelinjeg otrova kao i apamina je značajno smanjila edem, jednako djelotvorno kao kolhicin. Također, tretmani od 1 mg/kg tjelesne mase pčelinjeg otrova i apamina su značajno smanjili proupalne citokine IL-1 β , IL-6 i TNF- α , dok su tretmani od 0,5 mg/kg tjelesne mase imali manji učinak. Tretmani pčelinjim otrovom su umanjili formiranje inflamasa i taloženje kristalnih fragmenata mononatrijevog urata.

Zaključno, pčelinji otrov se može koristiti za tretiranje OA i RA, no korisniji je kod RA jer djeluje kombinirano svojim protuupalnim i protubolnim svojstvima dok kod OA samo umanjuje bol.

4.1.2. Ateroskleroza

Ateroskleroza je kronična upalna bolest velikih i srednje velikih arterija koju karakterizira akumulacija lipida i proliferacija glatkih mišićnih stanica arterija, kroničnih upalnih stanica i vlaknastih materijala (Hai i Zuo. 2016.). U razvoju ateroskleroze proliferacija i migracija stanica glatkih vaskularnih mišića (VSMC, eng. *vascular smooth muscle cells*) imaju važnu ulogu u uzrokovanju stenozе (abnormalnog sužavanja stijenke krvne žile) ili zadebljanja zidova krvnih žila (Chistiakov 2015. prema Pak 2017.).

Poznato je da kao odgovor na razne stimulatore, uključujući faktore rasta poput trombocitnog faktora rasta (PDGF, eng. *platelet-derived growth factor*), VSMC mogu započeti signalne događaje koji vode do apoptoze ili proliferacije stanica (Jung i sur. 2000.). PDGF otpuštaju agregirani trombociti na mjestima oštećenja endotela (Pak 2017.). Proliferacija se može regulirati apoptozom, stoga su Son i sur. 2006. istražili protuproliferacijsko djelovanje pčelinjeg otrova i melitina na VSMC kod štakora. Pčelinji otrov i melitin su inhibirali proliferaciju VSMC induciranu krvnim serumom fetusa goveda i PDGF-BB, koji je jedan od vrsta PDGF. Pčelinji otrov i melitin su uzrokovali apoptozu VSMC. Utvrdili su da melitin inhibira PDGF-BB induciranu fosforilaciju i degradaciju I κ B kinaze što bi inače rezultiralo aktivacijom NF- κ B. ERK1/2 MAPK i Akt su uzvodni signali NF- κ B i važni prenosioci signala koji reguliraju proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu stanica. PDGF-BB je potaknuo njihovu aktivaciju, a melitin je potisnuo fosforilaciju Akt i slabo inhibirao fosforilaciju ERK1/2, te pojačao ekspresiju proapoptotskih proteina p53, Bax i kaspaze-3 te smanjio ekspresiju protuapoptorskog proteina Bcl-2.

Kim i sur. (2015a.) su utvrdili kako apamin potiskuje PDGF-BB induciranu proliferaciju i migraciju VSMC. Proliferacijom VSMC upravlja stanični ciklus koji se sastoji od 3 faze: G0/G1, S i G2/M. Apamin je zaustavio nastavljanje staničnog ciklusa u G0/G1 fazi umanjivanjem ekspresije regulatornih proteina potrebnih za stanični ciklus [PCNA, ciklin D1, ciklin ovisne kinaze (CDK, eng. *cyclin-dependent kinase*) 4, ciklin E i CDK2] i povećanjem količine inhibitora CDK p21^{Cip1}. Također, apamin je inhibirao fosforilaciju Akt i ERK1/2.

Prema Jeong i sur. (2012.), koji su napravili istraživanje o protuaterosklerotičnim svojstvima melitina, MMP-9 utječe na proliferaciju i migraciju VSMC. Sinteza i sekrecija MMP-9 je stimulirana raznim stimulatorima, uključujući TNF- α i PDGF, te također i MAPK reguliraju MMP-9. *In vitro* su na glatkim mišićnim stanicama ljudskih aorti utvrdili kako melitin inhibira ekspresiju MMP-9 induciranu TNF- α tako da inaktivira NF- κ B sprječavanjem degradacije I κ B α , što znači da se umanjuje migracija VSMC te melitin ima protusklerotično djelovanje.

Testiranjem na miševima kojima je inducirana ateroskleroza su Kim i sur. (2011a.) utvrdili kako tretiranje melitinom značajno pomaže oporavku srca i silaznih aorti, umanjuje ekspresiju TNF- α , IL-1 β i adhezijskih molekula. Melitin je umanjio i signalne puteve NF- κ B. U nastavku istraživanja su utvrdili kako i apamin umanjuje ekspresiju TNF- α , adhezivnih molekula i NF- κ B signalne puteve, te umanjuje razinu lipida, Ca²⁺ i TNF- α u krvnom serumu aterosklerotičnih miševa (Kim i sur. 2012a.). Jedan od čimbenika razvoja aterosklerotičnih lezija je smrt makrofaga, čija je zadaća između ostalog čišćenje organizma od otpadnih i stranih tvari procesom fagocitoze (Fujiwara i Kobayashi 2005.). U daljnjem istraživanju mehanizma kojim apamin djeluje na aterosklozu su Kim i sur. (2012b.) utvrdili da apamin smanjuje apoptozu makrofaga smanjivanjem proapoptotskih proteina Bax, kaspaze-3 i PARP, te povećanjem ekspresije protuapoptotskih proteina BCL-2 i Bcl-xL.

4.1.3. Kožne upale

Kim i sur. (2019.) su istražili utjecaj pčelinjeg otrova na atopijski dermatitis, kroničnu upalnu kožnu bolest. Utvrdili su da je pčelinji otrov ublažio dermatitis induciranjem komplement faktora ubrzanja razgradnje CD55. Shin i sur. su 2018. pokusom na štakorima utvrdili da PLA₂ iz pčelinjeg otrova ublažava atopijski dermatitis interakcijom s CD206 - manoza receptorom koji je povezan s imunološkim sustavom.

Kim i sur. (2015b.) su istražili učinkovitost korištenja pčelinjeg otrova za tretiranje upale uzrokovane *Propionibacterium acnes*, bakterije koja uzrokuje pojavu akni. *Propionibacterium acnes* je jedan od najvećih čimbenika koji doprinose upalnoj reakciji kod pojave akni, ona aktivira upalne stanice, keratinocite i sebocite da izlučuju proupalne citokine poput IL-1 β , IL-8 i TNF- α . Utvrdili su da pčelinji otrov ima protuupalno djelovanje na *P. acnes* potiskivanjem izlučivanja IFN- γ , IL-1 β , IL-8 i TNF- α i preporučuju pčelinji otrov kao

alternativnu metodu tretiranja akni. Lee i sur. (2014.) su opazili da melitin inhibira ekspresiju proupalnih citokina kod upale uzrokovane *P. acnes* i smanjeno oticanje upaljenih područja kod životinja nakon tretiranja melitinom.

4.1.4. Lupusni nefritis

Lupusni nefritis (LN) je upala bubrega koja se javlja kao manifestacija sustavnog eritemskog lupusa (Knežević i sur. 2021.). Razvoj lupusnog nefritisa iz sustavnog eritemskog lupusa je povezan s gubitkom samotolerancije i formiranjem autoantitijela koja se skupljaju u bubrezima (Tang i sur. 2005.). Lee i sur. (2011a.) su ispitali mogućnost korištenja pčelinjeg otrova za tretiranje LN na miševima s autoimunom bolesti sa sličnim simptomima. Pčelinji otrov je umanjio količinu proupalnih citokina TNF- α i IL-6, odgodio razvoj proteinurije (prisutnost povećanog broja proteina u urinu, nuspojava bolesti), spriječio upalu bubrega, umanjio štetu bubrežnih kanalića, umanjio nakupljanje imunoloških spojeva u glomerulima (klupko kapilara u nefronima, osnovnoj građevnoj jedinici bubrega) i uvećao broj regulacijskih T limfocita.

4.2. Utjecaj na živčani sustav

4.2.1. Protubolni učinak

Neuropatska bol uzrokovana disfunkcijom u perifernim živcima ili središnjem živčanom sustavu je asocirana s gubitkom osjeta ili pojačanjem osjeta poput hiperalgezije (pojačan odgovor na podražaj koji je redovno bolan), alodinije (bol kao rezultat podražaja koji normalno ne uzrokuje bol) i hiperapatije (pretjerana osjetljivost na bolne podražaje) (Pak, 2017.). Roh i sur. (2004.) su istražili protuhiperalgezijsko i protualodinijsko djelovanje razvodnjenog pčelinjeg otrova primijenjenog akupunkturu. Primijenili su razvodnjeni otrov potkožno u akupunkturnu točku ST36 štakora 2 tjedna nakon kronične ozljede stezanja išijasnog živca. Utvrdili su ublaženje termalne hiperalgezije ali ne i mehaničke alodinije. Predlažu da pčelinji otrov aktivira $\alpha 2$ -adrenoreceptore leđne moždine te da je to mehanizam ublaživanja hiperalgezije. Agonisti (aktivatori) $\alpha 2$ -adrenoreceptora se ponekad koriste za anesteziju u veterini zbog svojstava sedacije, opuštanja mišića i ublažavanja boli (Khan i sur. 1999.).

Zbog nedostatka istraživanja o sigurnosti primijene pčelinjeg otrova u medicinske svrhe su Kim i sur. 2004. ispitali njegov utjecaj na zdravlje miševa i zečeva. Uz to su posebno pratili djelovanje vodotopivih frakcija koje su podijelili na 3 dijela prema molekularnoj masi: BVAF1 (>20 kDa, uključuje PLA₂ i hijaluronidazu), BVAF2 (<20 kDa i >10 kDa) i BVAF3 (<10 kDa, uključuje melitin, apamin, adolapin i MCD peptid). Rezultati su pokazali da pčelinji otrov ne uzrokuje značajne promjene u središnjem živčanom sustavu, krvožilnom sustavu, probavnom sustavu i dišnom sustavu zbog čega zaključuju da je pčelinji otrov siugran za korištenje u

ljekovite svrhe. Također su utvrdili da BVAF3 frakcija replicira protubolni učinak pčelinjeg otrova što upućuje na to da ta frakcija sadrži najvažnije čimbenike odgovorne za protubolni učinak.

Yoon i sur. (2009.) su ispitali mogućnost korištenja akupunkture razvodnjenim pčelinjim otrovom zajedno s klonidinom, lijekom koji djeluje kao analgetik no zbog nuspojava se koristi u manjim dozama i u ograničenom vremenskom periodu. Akupunktura pčelinjim otrovom sama ili u kombinaciji s malom dozom klonidina je donijela slične rezultate ublažavanja neuropatske boli kod miševa poput visoke doze klonidina ali bez značajnih nuspojava. Kang i sur. (2012.) su u sličnom ispitivanju na štakorima utvrdili kako veća doza razvodnjenog pčelinjeg otrova (2,5 mg/kg) u akupunkturnu točku Zusanli značajno umanjuje hladnu alodiniju uzrokovanu kroničnom ozljedom stezanja išijasnog živca, kao i opetovani tretmani dvaput dnevno malom dozom (0,25 mg/kg) tijekom 2 tjedna ili jedna mala doza u sinergističkom djelovanju s klonidinom. Kang i sur. (2015.) su utvrdili smanjenje neuropatske boli kod ozljede kralježnice štakora pomoću akupunkture razvodnjenim pčelinjim otrovom te pojačano vraćanje lokomotornih sposobnosti nakon ozljede kralježnice i predlažu mogućnost korištenja razvodnjenog pčelinjeg otrova za terapiju kod sličnih ozljeda.

4.2.2. Alzheimerova bolest

Alzheimerova bolest je nepovratni, progresivni moždani poremećaj koji uništava vještine pamćenja, razmišljanja i naposljetku sposobnosti izvršavanja jednostavnih zadataka. Ona je najčešći uzrok demencije kod starijih osoba (NIA 2019.). Alzheimerovu bolest karakterizira akumulacija amiloid- β peptida i neurofibrilarnih čvorova koji imaju važnu ulogu u neuroinflamaciji, uključujući proizvodnju proupalnih citokina i aktivaciju mikroglialnih stanica. Taloženje amiloid- β peptida u amiloidne plakove dovodi do štetnih događaja poput formiranja neurofibrilarnih čvorova, živčane disfunkcije i smrti (Baek i sur. 2018.). NF- κ B također ima ulogu u upali pri Alzheimerovoj bolesti stoga bi njegovo umanjeno moglo umanjiti upalu (Carpena i sur. 2020.). Regulacijske T stanice (Treg, podskupina limfocita) pomažu spriječiti autoimune bolesti, imaju ključnu ulogu u potiskivanju imunološke reakcije i održavanju imunološke tolerancije. Populacija Treg stanica je smanjena u mozgovima oboljelih od Alzheimerove bolesti (Ham i sur. 2019.).

Ham i sur. (2019a.) su istražili terapijsko djelovanje PLA₂ iz pčelinjeg otrova na neuroinflamaciju i poremećaje pamćenja kod miševa kod kojih su pomoću lipopolisaharida inducirani simptomi slični Alzheimerovoj bolesti: proupalne reakcije, poremećaji pamćenja, stvaranje amiloid- β , aktivacija astrocita i mikroglia. PLA₂ ima protuupalna i antiimunološka svojstva zbog čega su očekivali poboljšanje. Nakon tretmana PLA₂ su utvrdili umanjeno disfunkcije pamćenja i smanjenu razinu amiloid- β peptida do čega je došlo umanjeno amiloidogenih proteina i proupalnih citokina. Tretman PLA₂ je također inhibirao aktivaciju NF- κ B, a efekt je bio još bolji u kombiniranoj primjeni PLA₂ i NF- κ B inhibitora. S tim

rezultatima se slaže i istraživanje Ye i sur. iz 2016. gdje je također utvrđeno poboljšanje mentalnih sposobnosti i umanjenje količina amiloid- β tretmanom PLA₂ kod miševa sa simptomima sličnim Alzheimerovoj bolesti. Zaključuju da bi povećanje Treg stanica tretmanom PLA₂ moglo inhibirati napredak Alzheimerove bolesti.

U istraživanju Ham i sur. (2019b.) je utvrđeno kako PLA₂ iz pčelinjeg otrova pomaže protiv alzheimerove bolesti umanjenjem poremećaja pamćenja smanjivanjem količine amiloid- β i proupalnih citokina i proteina povezanih s upalama u mozgovima pokusnih miševa. Također je utvrđeno kako PLA₂ blokira aktivnost pretvarača signala i aktivatora transkripcije-3 (STAT3, *eng. Signal transducer and activator of transcription-3*), koji je važan posrednik u neuroinflamaciji.

Aktivna imunizacija nakon cjepljenja protiv amiloid- β -42 peptida je imala terapijsko djelovanje pod oboljelih od Alzheimerove bolesti u kliničkom testiranju, no 6 % pacijenata je razvilo meningoencefalitis (Baek i sur. 2018.). U istraživanju Baek i sur. (2018.) utvrđeno je kako primjena PLA₂ iz pčelinjeg otrova uz cjepivo inhibira upalnu reakciju koja uzrokuje meningoencefalitis povećanjem Treg stanica i predlažu mogućnost korištenja cjepiva uz PLA₂ iz pčelinjeg otrova za oslabljivanje napretka Alzheimerove bolesti.

4.2.3. Parkinsonova bolest

Parkinsonova bolest je progresivna kronična neurodegenerativna bolest koju karakteriziraju simptomi povezani uz motoriku poput drhtanja, ukočenosti, akinezije (znatno smanjena pokretnost tijela, nepokretnost), bradikinezije (usporenost pokreta) i hipokinezije (umanjenost kretanja) i razni simptomi nevezani uz motoriku kao što su neuropsihijatrijski simptomi, autonomna disfunkcija, abnormalni osjeti, poremećaj spavanja i umor (Pak 2017.). Parkinsonova bolest je uzrokovana gubitkom dopaminergičkih neurona u dijelu mozga koji se zove *substantia nigra*, što dovodi do nedostatka dopamina koji ima važnu ulogu u reguliranju pokreta tijela (Doo i sur. 2012.). Uobičajena terapija za Parkinsonovu bolest je tretiranje simptoma zamjenom dopamina lijekovima, no bolest i dalje napreduje rezultirajući konačno značajnim invaliditetom zbog čega se istražuju metode odgađanja nastupa bolesti ili njenog napretka (Alvarez-Fischer i sur. 2013.).

U svrhu proučavanja potencijalne primjene pčelinjeg otrova za tretiranje Parkinsonove bolesti su Kim i sur. (2011b.) izvršili pokus na miševima. Primjenom 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropirina (MPTP, *eng. 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine*) miševima je postignuto djelovanje slično Parkinsonovoj bolesti - uzrokovana je smrt dopaminergičkih stanica u *substantia nigri* zbog neuroinflamacije do koje je došlo snažnim odgovorom mikroglija stanica, akumulacijom citokina i povišenjem reaktivnih kisikovih vrsta. Nakon primjene pčelinjeg otrova bolesnim miševima potkožno u ST36 uočili su umanjenu smrt dopaminergičkih stanica i inhibiciju neuroinflamacije no detalji mehanizma nisu bili jasni.

Doo i sur. (2012.) su detaljnije istražili mehanizme kojim pčelinji otrov ublažuje simptome Parkinsonove bolesti. Koristili su 1-metil-4-fenilpiridinij (MPP⁺, eng. *1-methyl-4-phenylpyridinium*, toksični metabolit MPTP) za simuliranje djelovanja Parkinsonove bolesti u SH-SY5Y ljudskim neuroblastom stanicama. Rezultati su pokazali kako je pčelinji otrov produžio životni vijek stanica i umanjio apoptozu smanjenjem aktivnosti kaspaze-3 kroz mehanizam pojačavanja ekspresije protuapoptotskog Bcl-2 proteina i umanjenja ekspresije proapoptotskog Bax proteina i rascijepljene poli (ADP-riboza) polimeraze (PARP) čija pretjerana aktivacija promovira smrt stanica. Pčelinji otrov je također umanjio fosforilaciju Akt koji promovira preživljavanje stanica.

Izloženost miševa rotenonu, često korištenom insekticidu i pesticidu, uzrokuje pojave slične Parkinsonovoj bolesti uključujući selektivni gubitak dopaminergičkih neurona i lokomotorne poteškoće, stoga su Khalil i sur. 2014. izvršili istraživanje o mogućnosti korištenja pčelinjeg otrova za tretiranje Parkinsonove bolesti koristeći miševе izložene rotenonu. Miševi su pokazivali poteškoće u kretanju, nedostatak neurotransmitera dopamina, serotonina i noradrenalina, povećane razine TNF- α , IL- β i pojačanu ekspresiju kaspaze-3, Bax i Bcl-2 gena. Akupunkturni tretman pčelinjim otrovom je sukladno rezultatima prijašnjih istraživanjima poboljšao motorične sposobnosti miševa, umanjio razine TNF- α i IL- β , umanjio ekspresiju kaspaze-3 i Bax gena te povećao razinu nedostajućih neurotransmitera.

Alvarez-Fischer i sur. (2013.) su istražili mogućnost korištenja apamina iz pčelinjeg otrova za tretiranje Parkinsonove bolesti na miševima u kojima je uzrokovan model Parkinsonove bolesti pomoću MPTP. Apamin je blokator Ca²⁺ aktiviranih K⁺ kanala, te su pretpostavili da bi on uzrokovao promjenu električnog naboja membrane stanice promoviranjem izljeva kalija iz stanice zbog čega bi neuronalna razdražljivost bila povećana i dopaminergički neuroni bili otporniji na toksične napade u degenerativnom kontekstu. Rezultati su pokazali kako je tretiranje apaminom zaštitilo dopaminergičke neurone od smrti, povećalo razinu dopamina, no nije uspjelo obrnuti promjene u produkciji proupalnih citokina.

Izvršeno je nekoliko kliničkih ispitivanja na temu tretiranja Parkinsonove bolesti pčelinjim otrovom. Cho i sur. (2012.) su objavili ispitivanje koristi tretiranja Parkinsonove bolesti akupunkturu i akupunkturu pčelinjim otrovom u kojem su tretmani objema vrstama akupunktura poboljšali stanje pacijenata mjereno uobičajenim ljestvicama koje ocjenjuju motoričke i nemotoričke simptome. Cho i sur. (2018.) su nastavili istraživanje sličnim testiranjem koje je dalo iste rezultate te preporučuju akupunkturu i akupunkturu pčelinjim otrovom za dodatnu terapiju prilikom liječenja Parkinsonove bolesti.

4.2.4. Amiotrofična lateralna skleroza

Amiotrofična lateralna skleroza (ALS), poznata i kao Lou Gehrigova bolest, je progresivna i neizlječiva neurodegenerativna bolest koju karakterizira gubitak motoričkih neurona u mozgu, moždanom deblu i leđnoj moždini (Pak 2017.). Najizraženiji simptomi bolesti slabost u nogama i rukama, otežano pričanje i disanje uz mogućnost brojnih drugih simptoma. Prosječni životni vijek oboljelih je tri do pet godina nakon pojave simptoma, kada uglavnom umru od nemogućnosti samostalnog disanja (Rowland i Shneider 2001.). Uobičajeni lijekovi za tretiranje ALS produžuju životni vijek pacijenata za nekoliko mjeseci, ali uz brojne nuspojave poput mučnine, anoreksije i proljeva (Yang i sur. 2010.).

Mutacije u genu bakar, cink superoksid dismutaze (SOD1) uzrokuju jednu vrstu ALS što se koristi u pokusima na miševima (Jaarsma i sur. 2000.). Prema Yang i sur. (2010.) koji su istražili mogućnost korištenja pčelinjeg otrova za tretiranje ALS u pokusu na miševima, mutirana SOD1 (mtSOD1) doprinosi uzrokovanju ALS greškama prilikom svijanja proteina, disfunkcijom proteina, oksidativnim oštećenjima, citoskeletnim abnormalnostima, neispravnim transportima kroz aksone, neuroinflamacijom i na druge načine. U pokusu su korišteni miševi koji nose ljudski SOD1^{G93A} gen (SOD1 uz zamjenu glicina u alanin na 93. kodonu) i tretman pčelinjeg otrova primijenjenog u ST36. Nakon tretmana je utvrđena smanjenje ekspresije mikroglija markera i fosfo-p38 MAPK u leđnoj moždini i moždanom deblu što umanjuje neuroinflamaciju. Potisnuta je aktivnost kaspaze-3 i defekti strukture mitohondrija. Nadalje, motoričke sposobnosti i prosječni životni vijek tretiranih miševa su 18 % bolji u odnosu na kontrolnu grupu.

Yang i sur. (2011.) su nastavili istraživanje na istom modelu ALS na miševima pomoću SOD1^{G93A}, no ovoga puta su ispitivali mogućnost tretiranja ALS melitinom primjenom u ST36. Utvrđeno je smanjenje broja mikroglija stanica, smanjena ekspresija fosfo-p38 u leđnoj moždini i moždanom deblu, poboljšanje motoričkih funkcija i umanjeno smrti neurona. SOD1^{G93A} je uzrokovao povišenje učestalost modifikacija poput fosforilacije α -sinukleina koji su važan marker u nekoliko neurodegenerativnih bolesti, a nakon tretmana melitinom njihov je broj umanjeno. Yang i Choi (2013.) su u sličnom istraživanju utvrdili umanjeno modifikiranih α -sinukleina tretiranjem pčelinjim otrovom. Cai i sur. (2015.) su usporedili tretiranje SOD1^{G93A} miševa pčelinjim otrovom u ST36 i intraperitonealno. Oba tretmana su poboljšala motoričke funkcije, umanjila smrt motoričkih neurona. Primjena u ST36 je umanjila količinu proupalnih proteina u leđnoj moždini, dok je intraperitonealna primjena umanjila razine ekspresije TNF- α i Bcl-2 u mišićima.

4.2.5. Multipla skleroza

Multipla skleroza (MS) je kronična upalna bolest centralnog živčanog sustava koja uzrokuje nedostatke osjeta, motoričkih, autonomnih i neurokognitivnih funkcija (Lee i sur.

2013.). Pacijenti osjećaju simptome poput nestabilnosti prilikom hodanja, vizualnih smetnji, umora, demencije, seksualne disfunkcije, disfunkcije mjehura, otežanog gutanja, nekontroliranih pokreta oka i podrhtavanja mišića. Postoji nekoliko tipova MS, najčešći je relapsirajuće-remitirajuća MS (RRMS) kod koje se izmjenjuju periodi poboljšanja i pogoršanja simptoma, i postoje brojne kronične progresivne vrste bolesti. Relapsirajuće-remitirajuća MS može vremenom prijeći u sekundarno progresivnu MS (SPMS) (Hauser i sur. 2001.). MS uzrokuje upalu i demijelinizaciju živaca centralnog živčanog sustava. U početku oštećenje živčanog tkiva nije značajno, no postaje opsežno nakon duže i snažne bolesti (Lassmann i van Horsen 2011.). U patogenezi MS koja se smatra autoimunom bolešću važnu ulogu imaju CD4⁺ (pomagački) limfociti Th1 (*eng. helper*, CD4⁺ limfociti T koji proizvode IFN- γ), Th17 (CD4⁺ limfociti koji proizvode IL-17A) i regulacijski limfociti T (Lee i sur. 2013.).

Karimi i sur. (2011.) su istražili mogućnost tretiranja MS pomoću pčelinjeg otrova. U pokusu su korišteni štakori kojima je induciran eksperimentalni autoimuni encefalomyelitis (EAE) koji je sličan MS i uglavnom prihvaćen životinjski model za istraživanje MS. EAE uzrokuje simptome poput paralize, upale, ataksije, povećane razine IFN- γ , oštećenja krvno-moždane barijere, penetracije CD4⁺ limfocita T i makrofaga u centralni živčani sustav. Tretman pčelinjim otrovom je smanjio paralizu repa štakora, demijelinizaciju, patološke promjene, infiltraciju upalnih stanica i umanjio razinu TNF- α i nitrata u krvnom serumu što su pripisali protuupalnim i imunomodularnim svojstvima pčelinjeg otrova. Lee i sur. (2013.) su objavili rad u kojem su proučavali ublažavanje EAE *in vitro* i *in vivo* na miševima tretiranjem pčelinjim otrovom. Očekivali su ublažavanje simptoma zbog svojstva pčelinjeg otrova da poveća količinu Treg stanica, koji se važan čimbenik u ublažavanju autoimunih bolesti, i foxp3 ekspresiju na CD4⁺ limfocitima T. Foxp3 (*eng. forkhead box protein 3*) je važan faktor transkripcije potreban za razvoj i diferencijaciju Treg stanica (Devaud i sur. 2014.). Tretiranjem pčelinjim otrovom su *in vitro* utvrdili povećanje količine Treg stanica i inhibiciju povećanja broja CD4⁺ limfocita T. *In vivo* su također utvrdili povećanje količine Treg stanica, uz ublaženje EAE, umanjene Th1, Th17 i umanjene proizvodnje upalnih citokina uključujući IFN- γ , IL-17A, TNF i IL-6, te očuvanju morfologiju tretiranih životinja. Lee i sur. (2016a.) su istražili ljekovito djelovanje akupunkture pčelinjim otrovom na štakorima kojima je induciran EAE. Tretiranje štakora u ST36 pčelinjim otrovom svaka 3 dana, počevši od 1 sat prije induciranja EAE je dalo bolje rezultate od tretiranja koje je počelo nakon induciranja EAE. Utvrdili su umanjenu demijelinizaciju, aktivaciju glija stanica, ekspresiju citokina (IFN- γ , IL-17, IL-17A, TNF- α , IL- β), kemokina, aktivaciju p38 MAPK i NF- κ B signalnih puteva, smanjeni broj CD4⁺, Th1, Th17 i povećani broj Treg stanica. Tretiranje u točke osim ST36 nije dalo pozitivne rezultate.

Valja spomenuti da Lassmann i van Horsen (2011.) napominju kako brojne potencijalne terapije za MS koje su se pokazale uspješnim na EAE istraživanjima nisu pokazala zadovoljavajuće rezultate prilikom ispitivanja na ljudima što pripisuju većoj

složenosti patogeneze MS, pogotovo u progresivnom stadiju, i dodatnim mehanizmima imunosti u procesu neurodegeneracije kod MS.

Hauser i sur. (2001.) su objavili kliničko testiranje u kojem je 51 pacijenata s MS tretirano injekcijama pčelinjeg otrova. Inicijalno doziranje je 1 injekcija od 0,05 ml otrova svaki drugi dan, a doze su povećavane dok njihov učinak nije stagnirao uz dodatno smanjivanje u slučaju veće reakcije na koži. Tretiranje je trajalo godinu dana uz provjere stanja pacijenata svakih 3 mjeseca. 68,6 % pacijenata je prijavilo poboljšanje stanja nakon terapije. Statistička analiza anketa koje su ispunjavali pacijenti je utvrdila značajna poboljšanja u ravnoteži, koordinaciji, kontroli mjehura, snazi ruku i nogu, umora, izdržljivosti, spastičnosti i utrnulosti. Statistički značajna poboljšanja su opažena i u hodanju, hodanju po stepenicama, ulascima u automobile, krevete i zahode. Wesselius i sur. (2005.) su također ispitali djelotvornost tretiranja ljudi oboljelih od MS pčelinjim otrovom. 26 pacijenata s RRMS ili SPMS su kroz 24 tjedana tretirani pčelinjim otrovom 3 puta tjedno. Na kraju istraživanja nije utvrđeno poboljšanje stanja pacijenata, umanjeње umora, umanjeње aktivnost bolesti niti poboljšanje kvalitete života, te preporučuju da se ovakva terapija ne koristi dok se ne utvrde dokazi o njejoj djelotvornosti.

4.2.6. Poremećaji učenja i pamćenja

Kalcij aktivirani kalijevi kanali su prisutni u središnjem živčanom sustavu i perifernom tkivu. Njihova aktivacija doprinosi održavanju membranskog potencijala neurona i čini podlogu za naknadni hiperpolarizacijski potencijal koji ograničava učestalost slanja signala. Postoje kanali male provodljivosti K_{Ca2} (SK kanali) i kanali srednje provodljivosti K_{Ca3} , a apamin može blokirati K_{Ca2} kanale. Oni su uključeni u procese neurodegeneracije, učenja i pamćenja (Kuiper i sur. 2012.). Blokiranje tih kanala dovodi do pojačane aktivnosti neurona (Ikonen i Riekkinen 1999.).

Zbog sposobnosti apamina da inhibira SK kanale istraženo je njegovo djelovanje na proces učenja i pamćenja. Messier i sur. (1991.) su na pokusu učenja miševa da pritisnu šipku za pozitivan odgovor utvrdili kako tretiranje miševa apaminom prije učenja povećava učestalost stiskanja šipke i poboljšava njihovo shvaćanje, te da i tretiranje apaminom nakon treninga poboljšava proces pamćenja. Poboljšanje pamćenja su utvrdili i Deschaux i sur. (1997.) u pokusu u kojem su miševima prvo predstavljena 2 ista predmeta, pa zatim nakon 1 ili 24 sata 1 novi i jedan stari predmet dok je promatrano vrijeme proučavanja novog predmeta. Netretirani miševi su nakon pauze od jednog sata duže promatrali novi predmet, ali ne i nakon pauze od 24 sata, dok su miševi tretirani apaminom prije pokusa i nakon 24 sata duže promatrali novi predmet što ukazuje na to da su dulje pamtili stari predmet. Tretiranje apaminom nakon proučavanja prvog predmeta nije pokazalo različite rezultate od kontrolne skupine (Deschaux i sur. 1997.).

Ikonen i Riekkinen (1999.) su istražili djelovanje apamina na miševima s lezijama u hipokampusu koji je važan dio mozga kod miševa za prostorno pamćenje. Koristili su Y labirinte i vodene labirinte za testiranje miševa, te su utvrdili da u određenim dozama apamin umanjuje oštećenje prostornog referentnog pamćenja i radnog pamćenja inducirano lezijama u hipokampusu. Apamin je u testu pasivnog izbjegavanja kod miševa kojima je inducirana amnezija skopolaminom ili elektrokonvulzivnom šok terapijom umanjio amnezijско djelovanje (Inan i sur. 2000.).

U ispitivanju Stackman i sur. (2002.) je utvrđeno kako blokiranje SK kanala apaminom pojačava uzbudljivost neurona hipokampusa i olakšava indukciju plastičnosti sinapsi koja je važna za učenje i pamćenje. U testiranju *in vivo* su miševi tretirani apaminom pokazali brže učenje u pokusu u vodenom labirintu i u pamćenju predmeta.

Neurofibromatoza 1 (NF1) je genetski poremećaj koji uzrokuje brojne fiziološke simptome i poteškoće prilikom učenja. Kallarackal i sur. (2013.) su testirali korištenje apamina za tretiranje heterozigotnih NF1^{+/-} miševa, što je često korišten model za istraživanje NF1 jer uzrokuje slične poteškoće pri učenju kao NF1. Primjena apamina NF1^{+/-} miševima je značajno poboljšala njihov uspjeh u testiranju u vodenom labirintu u usporedbi s kontrolnom grupom.

4.3. Protutumorsko djelovanje

Tumori su nakupine stanica koje se umnožavaju i šire kada ne bi trebale, ignoriraju signale koji govore stanicama da se prestanu umnožavati ili da umru (programirana stanična smrt ili apoptoza). Maligni tumori (rakovi) se šire u susjedna tkiva i mogu putovati u udaljene dijelove tijela formirajući nove tumore (metastaze) (NCI 2021.). Apoptoza ima važnu ulogu u protutumorskom djelovanju pčelinjeg otrova. Stimulacija ekspresije receptora smrti je upletena u induciranje apoptoze u stanicama raka. NF-κB obitelj je važan dio rasta brojnih stanica raka kod ljudi i njegova inaktivacija je obrnuto proporcionalna terapijskom učinku (Pak 2017.). Pčelinji otrov se može koristiti za tretiranje tumora jer inducira apoptozu i nekrozu, te djeluje citotoksično i inhibira rast i umanjuje umnažanje raznih tipova stanica raka (Oršolić, 2012.).

U ispitivanju koje su radili Choi i sur. (2015.) tretman pčelinjim otrovom je inhibirao rast stanica raka pluća uzrokovanjem apoptoze u stanicama raka pluća ovisno o primijenjenoj dozi. Pčelinji otrov je pojačao ekspresiju receptora smrti i proapoptotskih proteina (kaspaza-3 i Bax) i istodobno inhibirao aktivnost NF-κB i ekspresiju protuapoptotskog proteina B-staničnog limfoma 2 (Bcl-2, *eng. B-cell lymphoma 2*). U sličnom ispitivanju 2011a. su Park i sur. istražili protutumorsko djelovanje pčelinjeg otrova i melitina na rak prostate *in vitro* i *in vivo* na golim miševima. Ustanovili su kako su *in vitro* i pčelinji otrov i melitin inhibirali rast stanica raka inducirajući apoptotsku smrt stanica potiskivanjem

NF- κ B i protuapoptotskih proteina i induciranjem ekspresije proapoptotskih proteina. *In vivo* primjena pčelinjeg otrova je inhibirala rast tumora i aktivnost NF- κ B uz aktivaciju apoptotske smrti stanica. S ovim saznanjima se slaže i istraživanje Jo i sur. (2012.) u kojem su pčelinji otrov i melitin korišteni za tretiranje stanica raka jajnika. Potaknuta je apoptotska stanična smrt u stanicama raka, pojačana je ekspresija receptora smrti i proapoptotskih proteina kaspaze-3, 8 i Bax. Liu i sur. (2002.) su utvrdili kako je pčelinji otrov inhibirao proliferaciju melanoma *in vitro* uzrokovanjem apoptoze, te kako je inhibirao rast melanoma kod miševa u testiranju *in vivo*.

Melitinu se pripisuju još neka protutumorska svojstva. Hait i sur. su 1985. utvrdili kako melitin inhibira kalmodulin, protein koje veže kalcij i koji ima važnu ulogu u proliferaciji stanica, te je zbog toga *in vitro* inhibirao rast i klonogenost leukemijskih stanica. Slično tome su Lee i Hait (1985.) utvrdili sposobnost melitina da inhibicijom kalmodulina inhibira rast C6 astrocitom stanica. Melitin ne sprječava rast normalnih stanica pri koncentracijama koje sprječavaju proliferaciju stanica tumora (Zhu i sur. 1991., preme Gajski i Garaj-Vrhovac 2013.). Liu i sur. (2008.) su u istraživanju utvrdili kako je melitin inhibirao metastaziranje i pokretljivost raka jetrenih stanica potiskivanjem signalnih puteva povezanih s Rac1. Rac1 je gvanozin trifosfat vezujući protein koji ima važnu ulogu u regulaciji struktura od mikrofilamenta koje su potrebne za adheziju, migraciju i invaziju stanica te je promovira invazivnost i migraciju stanica tumora.

Onkogeni su geni koji potiču autonomni stanični rast u tumorskim stanicama. Karakterizira ih sposobnost da potiču stanični rast bez prisustva normalnih mitogenih signala (Hohšteter i sur. 2007.). Melitin se pokazao izrazito djelotvoran protiv fibroblasta u kulturama koje imaju jako izražen ras onkogen. Također povećava aktivaciju PLA₂ u stanicama transformiranim ras onkogenom što rezultira selektivnim uništenjem tih stanica. (Gajski i Garaj-Vrhovac 2013.).

Matrične metaloproteinaze (MMP) su endopeptidaze ovisne o cinku koje mogu degradirati razne sastavnice izvanstanične matrice i bazalnu membranu. Povezane su s razvojem malignih tumora i induciraju angiogenezu, rezultirajući invazijom i metastaziranjem stanica tumora. Visoko su izražene u malignim tumorima te bi blokiranje njihove aktivnosti ili ekspresije mogla biti obećavajuća strategija za tretiranje raka (Yang i sur. 2016.). MMP-9 je potencijalni biomarker za invaziju raka i metastaziranje zbog visoke ekspresije u malignim tumorima, a njegova indukcija je povezana s raznim čimbenicima uključujući forbol mistriat acetat (PMA, eng. *phorbol myristate acetate*), aktivator protein-1 (AP-1) i NF- κ B (Pak 2017.). Park i sur. (2010a.) su istražili sposobnost pčelinjeg otrova i melitina da inhibiraju PMA induciranu MMP-9 ekspresiju u stanicama raka bubrega. Utvrdili su kako i pčelinji otrov i melitin potiskuju MMP-9 ekspresiju inhibicijom PMA, te da melitin inhibira ekspresiju MMP-9 blokirajući PMA stimuliranu aktivaciju AP-1 i NF- κ B. Također, melitin blokira mitogenom

aktivirane proteinske kinaze (MAPK) puteve prijenosa signala, koji su faktori povezani s AP-1 i NF- κ B.

Rast i širenje tumora ovise o angiogenezi potaknutoj regulacijom aktivatora i inhibitora angiogeneze. Angiogeneza inducirana tumorima je pokrenuta angiogenim citokinima uključujući vaskularni endotelijalni faktor rasta (VEGF, eng. *Vascular endothelial growth factor*). Zbog toga su signalni putevi VEGF privlačne mete za tretiranje raka. VEGF signaliziranje je posredovano receptorima, pogotovo VEGFR2 (Pak 2017.). Huh i sur. (2010.) su istražili djelovanje pčelinjeg otrova na inhibiciju angiogeneze *in vitro* i *in vivo* na miševima s Lewisovim karcinomom pluća. Pčelinji otrov je značajno inhibirao održivost stanica raka bez pokazivanja citotoksičnosti, te je također umanjio ekspresiju VEGFR-2 u stanicama raka i blokirao VEGFR-2 signalne puteve inhibirajući AKT i MAPK fosforilaciju u stanicama raka. Primijenjen potkožno, pčelinji otrov je značajno potisnuo angiogenezu tumora inhibicijom VEGF i VEGFR-2. Miševi su pokazali smanjenje između 49 % i 62 % u obujmu primarnog tumora i umanjene spontanije plućnih metastaziranja. Tretiranje spontanije plućnih metastaza pčelinjim otrovom nakon izrezivanja primarnog tumora je produžilo prosječno vrijeme preživljavanja miševa s 27 na 58 dana.

4.4. Fibroza jetre

Fibroza jetre se javlja kao rezultat liječenja ozljeda jetre, karakterizira ju pretjerano nakupljanje proteina izvanstanične matrice (ECM proteini, eng. *extracellular matrix*), pogotovo kolagena α . Nakon ozljede jetre apoptotske jetrene stanice otpuštaju reaktivne kisikove vrste (ROS, *reactive oxygen species*) i citokine što potiče nakupljanje upalnih stanica (limfocita i makrofaga), te otpuštaju TNF- α i faktor rasta fibroblasta koji promoviraju aktivaciju jetrenih zvjezdastih stanica (HSC, eng. *hepatic stellate cells*) i akumulaciju kolagena. Aktivirane HSC luče proupalne citokine, povećavaju broj adhezivnih molekula i ubrzavaju nakupljanje upalnih stanica (Kisseleva i Brenner 2007.). Napredna fibroza jetre rezultira cirozom, zatajenjem jetre, portalnom hipertenzijom i može zahtijevati transplantaciju jetre (Bataller i Brenner 2005.).

Kim i sur. (2010.) su istražili utjecaj pčelinjeg otrova na apoptozu hepatocita induciranu etanolom. Tretman hepatocita pčelinjim otrovom je inhibirao apoptozu i produžio životni vijek stanica povećanjem aktivnosti Bcl-2 i Bcl-xL i umanjnjem aktivnosti Bax, kaspaze i PARP. Park i sur. (2010b.) su također utvrdili kako pčelinji otrov inhibira apoptozu hepatocita koja je inducirana TNF- α i aktinomycinom D tako da je potisnuo aktivaciju Bcl-2 i kaspaze što je uzrokovalo inhibiranje otpuštanja citokroma c (otpuštanje citokroma c je jedan dio mehanizma iniciranja biokemijskih i morfoloških promjena apoptoze) i cijepanje PARP. Melitin je također pokazao protuapoptotska svojstva na hepatocitima kojima je inducirana apoptoza transformacijskim faktorom rasta β -1 (TGF- β 1, eng. *transforming growth factor- β 1*). Melitin je slično pčelinjem otrovu u prethodnim istraživanjima potisnuo aktivaciju Bcl-2

obitelji proteina i kaspaze što je inhibiralo cijepanje PARP (Lee i sur. 2011b.). Park i sur. (2011b.) su utvrdili kako je melitin inhibirao TNF- α i aktinomidin D induciranu aktivaciju kaspaze, Bcl-2 obitelji proteina i PARP, te da je i umanjio NF- κ B umanjnjem fosforilacije I κ B kinaze.

4.5. Protudepresivno djelovanje

Jalynytchev (2009.) navodi brojna istraživanja u kojima je akupunktura pokazala antidepresivni učinak. El-Wahab i Eita (2021.) su napravili testiranje na 37 osoba oboljelih od srednje snažne i snažne depresije u kojem je proučavan utjecaj akupunkture pčelinjim otrovom na depresiju. Stanje pacijenata je praćeno Beck Depression Inventory-II psihometrijskim testom. Rezultati su pokazali kako su pacijenti nakon 6 mjeseci imali blagu depresiju ili nisu pokazivali znakove depresije, a nakon 12 mjeseci nisu imali depresiju. Upitno je koliki udio u lijećenju ima akupunktura a koliki djelovanje pčelinjeg otrova. Za objektivni zaključak o djelotvornosti pčelinjeg otrova za tretiranje depresije potrebno je uraditi više ispitivanja s većim brojem pacijenata.

4.6. Protuoksidativno djelovanje

Oksidacijski stres ima važnu ulogu u patogenezi starenja i nekih degenerativnih bolesti (Bellik 2015.). On je definiran kao pomak ravnoteže u stanićnim oksidacijsko-redukcijskim reakcijama u smjeru oksidacije. Javlja se kada je stvaranje slobodnih radikala (oksidansa) veće od protuoksidativne zaštite organizma (Kadoić 2015.). Najvažniji slobodni radikali su reaktivni kisikovi spojevi (ROS, eng. reactive oxygen species) i reaktivni dušikovi spojevi (RNS, eng. *reactive nitrogen species*) (Štrkalj 2021.).

Istraživanjem Sobral i sur. (2016.) je dokazano protuoksidativno djelovanje pčelinjeg otrova testiranjem sposobnosti redukcije 2,2-difenilpikrilhidrazil radikala (DPPH metoda), inhibicije peroksidacije lipida, redukcije Fe³⁺ iona u Fe²⁺ i inhibicije izbjeljivanja β -karotena. Nisu pronašli izravnu povezanost između protuoksidacijskog djelovanja i specifičnih komponenti sastava pčelinjeg otrova. Somwongin i sur. (2018.) su usporedili protuoksidacijsko djelovanje 4 vrsta pčela (*A. dorsata*, *A. mellifera*, *A. florea* i *A. cerana*) i utvrdili su kako *A. dorsata* ima najsnažnije protuoksidativno djelovanje.

Kocyigit i sur. 2019. su utvrdili kako tretiranje štakora kojima je induciran RA pčelinjim otrovom pri određenim dozama uz protuupalno djelovanje povećava i broj antioksidansa. Primjena pčelinjeg otrova in vivo zečevima injekcijom je povišilo broj antioksidansa u krvi, uz druge učinke poput poboljšanja reproduktivnih performansi i imunološkog sustava (El-Hanoun 2020.).

4.7. Protubakterijsko, protugljivično i protuvirusno djelovanje

Protumikrobno djelovanje pčelinjeg otrova uglavnom je povezano s djelovanjem melitina koji ometa biološke membrane, no i PLA₂ također ima protumikrobna svojstva (Carpena i sur. 2020.). AL-Ani i sur. (2015.) su ispitivanjem na 51 soju bakterija utvrdili da pčelinji otrov (melitin) pojačava baktericidno djelovanje lijekova kada se primijeni u kombinaciji s njima, a dokazano je i značajno fungicidno djelovanje. U istraživanju Han i sur. (2016.) pčelinji je otrov je polučio pozitivne rezultate u ispitivanju protubakterijskog djelovanja prema *Staphylococcus aureus* otpornom na meticilin (MRSA, eng. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) te pokazao sinergističko djelovanje s antibioticima. Lee i sur. (2016b.) su utvrdili kako i sekapin ima protumikrobna svojstva testiranjem na Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama i gljivicama. Haktanir i sur. (2021.) su istražili mehanizam protubakterijskog djelovanja pčelinjeg otrova. Proučavanjem protubakterijskog djelovanja na *Escherichia coli* i *Pseudomonas spp.* zaključili su kako pčelinji otrov uništava staničnu stijenkku, mijenja propusnost membrane, uzrokuje istjecanje staničnog sadržaja, inaktivaciju metaboličke aktivnosti i smrt stanice. Dijastereoizomer melitina je pokazao citotoksičnost prema Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama bez hemolitičkog djelovanja na ljudske eritrocite (Oren i Shai 1997.).

Memariani i Memariani (2020.) su objavili rad u kojem su opisani mehanizmi fungicidnog djelovanja melitina. Melitin uništava stanične membrane, inducira apoptozu, inhibira (1,3)- β -D-glukan sintazu koja je integralni membranski enzim fungalnih stanica, te utječe na ekspresiju fungalnih gena.

Wachinger i sur. (1992.) su utvrdili da melitin inhibira produkciju HIV-1 te prrpretpostavljaju da je mehanizam djelovanja ometanje procesiranja gag/pol proteina koji su nužni za sklapanje čestica HIV-a. Uddin i sur. (2016.) dokazali su kako pčelinji otrov (melitin) inhibira repliciranje virusa: influenza A, vezikularni stomatitis virus, herpes simplex virus, respiratorni sincicijski virus, enterovirus-71 i koksaki virus. Primijetili su kako je *in vivo* melitin zaštitio miša koji je imao smrtonosnu dozu influenza A H1N1 virusa. Protuvirusno djelovanje pripisuju sekreciji IFN- β induciranoj pčelinjim otrovom što umanjuje replikaciju virusa i virucidnom mehanizmu interakcija melitina s površinom čestica virusa.

4.8. Pčelinji otrov u kozmetičkoj industriji

Pčelinjem otrovu se pripisuju svojstva uklanjanja bora lica poput Botoxa. Han i sur. (2012.) su istražili rizik površinske primjene pčelinjeg otrova na kožu zamoraca i štakora te utvrdili su kako ne izaziva iritaciju kože i da ima potencijal za površinsku primjenu u medicinske i kozmetičke svrhe. Potencijal uklanjanja bora istražili su Han i sur. 2015. ispitujući serum koncentracije 0,006 % pčelinjeg otrova na koži lica žena koje su koristile 4 mL seruma dvaput dnevno tijekom 12 tjedana. Serum je umanjio površinu prekrivenu

borama, ukupan broj bora i prosječnu dubinu bora. Mehanizam djelovanja nije potpuno poznat, no Bogdanov (2017.) navodi kako interakcija kože s melitinom inducira stvaranje kolagena koji očvršćuje tkivo i elastina koji pomaže koži zadržati stegnutost i oblik.

4.9. Alergija

Alergija je bolest posredovana Th2 koja uključuje formiranje specifičnih IgE antitijela protiv neštetnih okolišnih supstanci čemu značajno doprinose IL-4 i IL-13. Treg stanice imaju sposobnost regulirati razvoj alergijskih reakcija inhibicijom raznih puteva, uključujući imunološke odgovore Th2, Th17 i migraciju limfocita T u tkiva (Palomares i sur. 2010.). Alergen-specifična imunoterapija je djelotvoran tretman koji se koristi za tretiranje uobičajenih alergijskih reakcija, pogotovo alergijskog rinokonjunktivitisa, astme i preosjetljivosti na ubod insekta (Moote i Kim 2011.). Ona povećava produkciju IL-10 (protuupalni citokin) od strane antigen-prezentirajućih stanica, uključujući limfocite B, monocite i makrofage (Larche i sur. 2006.).

Choi i sur. (2012.) su objavili rezultate istraživanja korištenja pčelinjeg otrova za inhibiciju alergijske astme. Utvrdili su da pčelinji otrov *in vitro* povećava broj Treg stanica i potiskuje proizvodnju citokina povezanih s Th1, Th2 i Th17, uključujući IL-1, IL-1 i IL-17, te povećava IL-10. Zatim su *in vitro* na modelu ovalbumin inducirane astme na miševima tretiranjem pčelinjim otrovom primijetili umanjenu upalu perivaskularnih i peribronhijalnih stanica, umanjenu preosjetljivost dišnih puteva i smanjenu razinu IL-4 i IL-13. Zaključuju da su glavni razlog terapijskog djelovanja Treg stanice.

Najvažniji alergen pčelinjeg otrova je PLA₂. Ubrizgavanje PLA₂ u izravno u limfne čvorove je poboljšalo odgovore alergen specifičnih IgG i limfocita T u usporedbi s potkožnim injekcijama, te stimuliralo proizvodnju Th1-ovisne potklase IgG2a koji poboljšava zaštitu od anafilakse inducirane alergenima (Martínez-Gómez i sur. 2009.).

Pčelinji otrov može uzrokovati dva osnovna tipa alergijskih reakcija: snažnu lokalnu reakciju (crvenilo nakon uboda se širi, može biti vrlo bolno i trajati duže) ili sistemsku reakciju koja brzo nakon uboda uzrokuje simptome poput drhtanja, povraćanja, mučnine, nedostatka zraka, crvenila, oticanja, svrbeža i jakog oticanja lica. U najgorem slučaju dolazi do anafilaktičkog šoka koji je opasan po život (Bogdanov 2017.). Kořaczek i sur. (2017.) su istražili sigurnost i djelotvornost specifične imunoterapije otrovom opnokrilaca na ljudima koji su alergični na ubode osa ili pčela. Korišten je *ultra-rush* protokol kod svih pacijenata osim jednog, što podrazumijeva fazu indukcije u kojoj se 5 puta potkožno primjenjuje standardizirani alergenski ekstrakt otrova u intervalima od 30 minuta i povećanjem doze kod svake primjene (1, 10, 20, 30 i na kraju 50 µg). Nakon faze indukcije je slijedila faza održavanja u kojoj su pacijenti primili 100 µg cjepiva svakih 4-6 tjedana. Utvrdili su kako je

imunoterapija vrlo djelotvorna i sigurna jer je većina nepovoljnih reakcija bila lokalna i blaga, a većina sistemskih reakcija je prijavljena tijekom faze indukcije.

5. Zaključak

Pčelinji otrov ima dokazana protuupalna svojstva. Brojnim je istraživanjima dokazana njegova djelotvornost u tretiranju artritisa, ateroskleroze, atopijskog dermatitisa, akni i lupusnog nefritisa. Prilikom tretiranja artritisa pčelinji otrov i njegove sastavnice inhibiraju aktivnost COX-2 i proizvodnju proupalnih citokina TNF- α i IL-1 β , umanjuju oticanje kod upala i smanjuju bolove. Pčelinji otrov je koristan za tretiranje ateroskleroze zbog svojstva induciranja ekspresije proapoptotskih proteina i smanjenja ekspresije protuapoptotskih proteina čime doprinosi sprječavanju sužavanja krvnih žila uzrokovanu akumulacijom lipida i proliferacijom VSMC. Kod kožnih upala i lupusnog nefritisa također umanjuje upale.

Istraživanjima je utvrđeno kako pčelinji otrov polučuje dobre rezultate i kod liječenja bolesti živčanog sustava. Aktivacijom α 2-adrenoreceptora pčelinji otrov umanjuje neuropatsku bol. PLA₂ iz pčelinjeg otrova kod tretiranja Alzheimerove bolesti umanjuje razinu amiloid- β peptida, povećava količinu Treg stanica i inhibira aktivaciju NF- κ B što rezultira umanjnjem poremećaja pamćenja i usporavanjem napretka bolesti. Kod tretiranja Parkinsonove bolesti pčelinji otrov umanjuje smrt dopaminergičkih stanica pojačavanjem aktivnosti protuapoptotskih proteina, umanjnjem ekspresije proapoptotskih proteina i inhibiranjem neuroinflamacije. Pčelinji otrov pomaže kod amiotrofične lateralne skleroze umanjnjem neuroinflamacije, poboljšanjem motoričkih funkcija i smanjenjem smrti motoričkih neurona. Pčelinji otrov se pokazao djelotvornim i u ublažavanju simptoma multiple skleroze na štakorima, uz povećanje Treg stanica i manjom neuroinflamacijom, no ispitivanje na ljudima nije dokazalo poboljšanje. Apamin inhibicijom SK kanala pomaže poboljšati sposobnosti pamćenja i učenja.

Primjenom pčelinjeg otrova se kod tretiranja tumora u pacijenata stimulira ekspresija receptora smrti, inducira apoptoza i nekroza te potiskuje NF- κ B, angiogeneza i ekspresija protuapoptotskih proteina što rezultira manjim rastom i slabijim širenjem stanica tumora.

Pčelinjem otrovu se pripisuje i pozitivno djelovanje u tretiranju depresije, no to područje nije dovoljno istraženo. Pčelinji otrov također djeluje i kao antioksidans te ima dokazano protubakterijsko, protugljivično i protuvirusno djelovanje. U kozmetičkoj industriji se koristi za uklanjanje bora lica induciranjem na stvaranje kolagena. Pčelinji otrov je djelotvoran i za alergen-specifičnu imunoterapiju, povećavajući broj Treg stanica i potiskujući proizvodnju citokina povezanih s imunološkim odgovorima na alergiju.

S obzirom na indikaciju pozitivnog djelovanja na brojne upalne i autoimune bolesti, daljnja istraživanja bi trebala biti usmjerena na srodne bolesti te na bolesti za koje njegovo djelovanje nije dovoljno istraženo, poput multipla skleroze i depresije.

6. Popis literature

1. Abadžić N. (1985). Pčele i zdravlje. Nolit, Beograd
2. Adjare S. O. (1990). Beekeeping in Africa. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rim
3. AL-Ani I., Zimmermann S., Reichling J., Wink, M. (2015). Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens. *Phytomedicine*. 22(2): 245–255. doi: 10.1016/j.phymed.2014.11.019
4. Ali M. A. A.-S. M. (2012). Studies on Bee Venom and Its Medical Uses. *International Journal of Advancements in Research & Technology*. 1(2): 69-83.
5. Alvarez-Fischer D., Noelker C., Vulinović F., Grünwald A., Chevarin C., Klein C., Oertel W. H., Hirsch E. C., Michel P. P., Hartmann A. (2013). Bee Venom and Its Component Apamin as Neuroprotective Agents in a Parkinson Disease Mouse Model. *PLoS ONE*. 8(4): e61700. doi: 10.1371/journal.pone.0061700
6. Baek H., Lee C. J., Choi D. B., Kim N. S., Kim Y. S., Ye Y. J., Kim Y. S., Kim J. S., Shim I., Bae H. (2018). Bee venom phospholipase A2 ameliorates Alzheimer's disease pathology in A β vaccination treatment without inducing neuro-inflammation in a 3xTg-AD mouse model. *Scientific Reports*. 8:17369. doi: 10.1038/s41598-018-35030-1
7. Balen Percela L. (2018). Utjecaj snage pčelinje zajednice na skupljanje pčelinjeg otrova metodom elektrostimulacije. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
8. Banks B. E. C., Shipolini R. A. (1986). Chemistry and Pharmacology of Honey-bee Venom. U: *Venoms of the Hymenoptera* (ur. Piek, T.), Academic Press. 329-416. doi: 10.1016/B978-0-12-554770-3.50011-5
9. Bataller R., Brenner D. A. (2005). Liver fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 115(2): 209-218. doi: 10.1172/JCI200524282.
10. Bellik Y. (2015). Bee Venom: Its Potential Use in Alternative Medicine. *Anti-Infective Agents*. 13(1): 3-16
11. Bogdanov S. (2016). Beeswax: History, Uses, Trade. *Bee Product Science*. https://www.researchgate.net/publication/304012171_Beeswax_History_Uses_Trade - pristup 19.08.2021
12. Bogdanov S. (2017). The Bee Venom Book. <https://www.bee-hexagon.net/english/bee-products/downloads-venom-book/> - pristup 01.06.2021
13. Bortolotti L, Costa C. (2014). Chemical Communication in the Honey Bee Society. U: *Neurobiology of Chemical Communication* (ur. Mucignat-Caretta C), CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton, Florida

14. Cai M. D., Choi S. M., Yang E. J. (2015). The Effects of Bee Venom Acupuncture on the Central Nervous System and Muscle in an animal hSOD1^{G93A} Mutant. *Toxins*. 7(3): 846-58. doi: 10.3390/toxins7030846.
15. Carpena M., Nuñez-Estevez B., Soria-Lopez A., Simal-Gandara J. (2020). Bee Venom: An Updating Review of Its Bioactive Molecules and Its Health Applications. *Nutrients*. 12: 3360. doi: 10.3390/nu12113360
16. CDC (2020). Center for Disease Control <https://www.cdc.gov/arthritis/basics/osteoarthritis.htm> - pristup 16.06.2021
17. Cho S. Y., Lee Y. E., Doo K. H., Lee J. H., Jung W. S., Moon S. K., Park J. M., Ko C. N., Kim H., Rhee H. Y., Park H. J., Park S. U. (2018). Efficacy of Combined Treatment with Acupuncture and Bee Venom Acupuncture As an Adjunctive Treatment for Parkinson's Disease. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 24(1): 25-32. doi: 10.1089/acm.2016.0250
18. Cho S. Y., Shim S. R., Rhee H. Y., Park H. J., Jung W. S., Moon S. K., Park J. M., Ko C. N., Cho K. H., Park S. U. (2012). Effectiveness of acupuncture and bee venom acupuncture in idiopathic Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*. 18: 948-952. doi: 10.1016/j.parkreldis.2012.04.030
19. Choi K. E., Hwang C. J., Gu S. M., Park M. H., Kim J. H., Park J. H., Ahn Y. J., Kim J. Y., Song M. J., Song H. S., Han S. B., Hong J. T. (2014). Cancer Cell Growth Inhibitory Effect of Bee Venom via Increase of Death Receptor 3 Expression and Inactivation of NF-kappa B in NSCLC Cells. *Toxins*. 6: 2210-2228. doi: 10.3390/toxins6082210
20. Choi M. S., Park S., Choi T., Lee G., Haam K. K., Hong M. C., Min B. I., Bae H. (2013). Bee venom ameliorates ovalbumin induced allergic asthma via modulating CD4+CD25+ regulatory T cells in mice. *Cytokine*. 61(1): 256–265. doi: 10.1016/j.cyto.2012.10.005
21. De Graaf D., Braga M., de Abreu R., Blank S., Bridts C., de Clerck L., Devreese B., Ebo D., Ferris T., Hagendorens M., Jacomini D., Kanchev I., Kokot Z., Matysiak J., Metrens C., Sabato V., van Gasse A., van Vaerenbergh M. (2020). Standard methods for *Apis mellifera* venom research. *Journal of Apicultural Research*. doi: 10.1080/00218839.2020.1801073
22. Deschaux O., Bizot J. C., Goyffon M. (1997). Apamin improves learning in an object recognition task in rats. *Neuroscience Letters*. 222(3): 159–162. doi: 10.1016/s0304-3940(97)13367-5
23. Devaud C., Darcy P. K., Kershaw M. H. (2014). Foxp3 expression in T regulatory cells and other cell lineages. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 63(9): 869-876. doi: 10.1007/s00262-014-1581-4
24. Doo A. R., Kim S. N., Kim S. T., Park J. Y., Chung S. H., Choe B. Y., Chae Y., Lee H., Yin C. S., Park H. J. (2012). Bee venom protects SH-SY5Y human neuroblastoma cells from 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced apoptotic cell death. *Brain Research*. 1429: 106-115. doi: 10.1016/j.brainres.2011.10.003
25. Drici M.-D., Diochot S., Terrenoire C., Romey G., Lazdunski M. (2000). The bee venom peptide tertiapin underlines the role of IKACHin acetylcholine-induced atrioventricular blocks. *British Journal of Pharmacology*. 131(3): 569–577. doi:10.1038/sj.bjp.0703611

26. Eiseman J. L., von Bredow J., Alvares A. P. (1982). Effect of honeybee (*Apis mellifera*) venom on the course of adjuvant-induced arthritis and depression of drug metabolism in the rat. *Biochemical Pharmacology*. 31(6): 1139–1146. doi: 10.1016/0006-2952(82)90354-9
27. El-Hanoun A., El-Komy A., El-Sabrou K., Abdella M. (2020). Effect of bee venom on reproductive performance and immune response of male rabbits. *Physiology & Behavior*. 223, 112987. doi: 10.1016/j.physbeh.2020.112987
28. El-Wahab S. D. A., Eita L. H. (2021). The Effectiveness of Live Bee Sting Acupuncture on Depression. *IOSR Journal of Nursing and Health Science*. 4(4): 19-27. doi: 10.9790/1959-04431927
29. Faber E. L., Sah P. (2007). FUNCTIONS OF SK CHANNELS IN CENTRAL NEURONS. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 34: 1077-1083. doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04725.x
30. Fujiwara N., Kobayashi K. (2005). Macrophages in Inflammation. *Current Drug Targets – Inflammation & Allergy*. 4(3): 281-286. doi: 10.2174/1568010054022024
31. Gajski G., Garaj-Vrhovac V. (2013). Melittin: A Lytic Peptide with Anticancer Properties. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 36: 697-705. doi: 10.1016/j.etap.2013.06.009
32. Gauldie J., Hanson J. M., Rumjanek F. D., Shipolini R. A., Vernon C. A. (1976). The Peptide Components of Bee Venom. *European Journal of Biochemistry*. 61(2): 369–376. doi:10.1111/j.1432-1033.1976.tb10030.x
33. Gauldie J., Hanson J. M., Shipolini R. A., Vernon C. A. (1978). The structures of some peptides from bee venom. *European Journal of Biochemistry*. 83(2): 405-410. doi: 10.1111/j.1432-1033.1978.tb12106.x.
34. Gevod V. S., Birdi K. S. (1984). Melittin and the 8-26 fragment. Differences in ionophoric properties as measured by monolayer method. *Biophysical journal*. 45(6): 1079–1083. doi: 10.1016/S0006-3495(84)84255-1
35. Hai Z., Zuo W. (2016). Aberrant DNA methylation in the pathogenesis of atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*. 456: 69-74. doi: 10.1016/j.cca.2016.02.026
36. Hait W. N., Grais L., Benz C., Cadman E. C. (1985). Inhibition of growth of leukemic cells by inhibitors of calmodulin: Phenothiazines and melittin. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 14: 202-205. doi: 10.1007/BF00258116
37. Haktanir I., Masoura M., Mantzouridou F. T., Gkatzionis K. (2021). Mechanism of antimicrobial activity of honeybee (*Apis mellifera*) venom on Gram-negative bacteria: *Escherichia coli* and *Pseudomonas* spp. *AMB Express*. 11, 54. doi: 10.1186/s13568-021-01214-8
38. Ham H. J., Han J. H., Lee Y. S., Kim K. C., Yun J., Kang S. K., Park Y., Kim S. H., Hong J. T. (2019a). Bee Venom Soluble Phospholipase A2 Exerts Neuroprotective Effects in a Lipopolysaccharide-Induced Mouse Model of Alzheimer's Disease via Inhibition of Nuclear Factor- κ B. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 11:287. doi: 10.3389/fnagi.2019.00287

39. Ham H. J., Han S. G., Yun J., Yeo I. J., Ham Y. W., Kim S. H., Park P. H., Choi D. Y., Hong J. T. (2019b.). Bee venom phospholipase A2 ameliorates amyloidogenesis and neuroinflammation through inhibition of signal transducer and activator of transcription-3 pathway in Tg2576 mice. *Translational Neurodegeneration*. 8:26. doi: 10.1186/s40035-019-0167-7
40. Han S., Kim J., Hong I., Woo S., Kim S., Jang H., Pak S. (2016). Antibacterial Activity and Antibiotic-Enhancing Effects of Honeybee Venom against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 21(1): 79. doi: 10.3390/molecules21010079
41. Han S. M., Lee K. G., Park K. K., Pak S. C. (2012). Skin sensitization study of bee venom (*Apis mellifera*L.) in guinea pigs and rats. *Cutaneous and Ocular Toxicology*. 32(1): 27–30. doi: 10.3109/15569527.2012.698402
42. Hauser R. A., Daguio M., Wester D., Hauser M., Kirchman A., Skinkis C. (2001). Bee-Venom Therapy for Treating Multiple Sclerosis A Clinical Trial. *Alternative & Complementary Therapies*. 7(1): 37-45. doi: 10.1089/107628001300000714
43. Healthdirect (2019). <https://www.healthdirect.gov.au/rheumatoid-arthritis> - pristup 23.07.2021.
44. Hohšteter M., Popović M., Grabarević Ž., Džaja P. (2007). Onkogeni i protoonkogeni – pregled aktualnih istraživanja. *Hrvatski veterinarski vjesnik - Hrvatsko veterinarsko društvo*. 30(1), 20-24.
45. Hong S. J., Rim G. S., Yang H. I., Yin C. S., Koh H. G., Jang M. H., Kim C. J., Choe B. K., Chung J. H. (2005). Bee venom induces apoptosis through caspase-3 activation in synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis. *Toxicon*. 46(1), 39–45 doi: 10.1016/j.toxicon.2005.03.015.
46. Hossen S., Shapla U. M., Gan S. H., Khalil I. (2016). Impact of Bee Venom Enzymes on Diseases and Immune Responses. *Molecules*. 22(1), 25 doi: 10.3390/molecules22010025
47. Huh J. E., Baek Y. H., Lee M. H., Choi D. Y., Park D. S., Lee J. D. (2010). Bee venom inhibits tumor angiogenesis and metastasis by inhibiting tyrosine phosphorylation of VEGFR-2 in LLC-tumor-bearing mice. *Cancer Letters*. 292: 98-110. doi: 10.1016/j.canlet.2009.11.013
48. Ikonen S., Riekkinen P. (1999). Effects of apamin on memory processing of hippocampal-lesioned mice. *European Journal of Pharmacology*. 382(3): 151–156. doi: 10.1016/s0014-2999(99)00616-0
49. Inan S. Y., Aksu F., Baysal F. (2000). The effects of some K⁺ channel blockers on scopolamine- or electroconvulsive shock-induced amnesia in mice. *European Journal of Pharmacology*. 407(1-2): 159–164. doi: 10.1016/s0014-2999(00)00736-6
50. Jaarsma D., Haasdijk E. D., Grashorn J. A. C., Hawkins R., van Duijn W., Verspaget H. W., London J., Holstege J. C. (2000). Human Cu/Zn Superoxide Dismutase (SOD1) Overexpression in Mice Causes Mitochondrial Vacuolization, Axonal Degeneration, and Premature Motoneuron Death and Accelerates Motoneuron Disease in Mice Expressing a Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Mutant SOD1. *Neurobiology of Disease*. 7: 623-643. doi: 10.1006/nbdi.2000.0299
51. Jalynytchev V. (2009). Role of Acupuncture in the Treatment of Depression. *Psychiatric times*. 26(6).

52. Jeong Y. J., Cho H. J., Whang K., Lee I. S., Park K. K., Choe J. Y., Han S. M., Kim C. H., Chang H. W., Moon S. K., Kim W. J., Choi Y. H., Chang Y. C. (2012). Melittin has an inhibitory effect on TNF- α -induced migration of human aortic smooth muscle cells by blocking the MMP-9 expression. *Food and Chemical Toxicology*. 50(11): 3996–4002. doi: 10.1016/j.fct.2012.08.026
53. Jo M., Park M. H., Kollipara P. S., An B. J., Song H. S., Han S. B., Kim J. H., Song M. J., Hong J. T. (2012). Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 258: 72-81. doi: 10.1016/j.taap.2011.10.009
54. Jung F., Haendeler J., Goebel C., Zeiher A. M., Dimmeler S. (2000). Growth factor-induced phosphoinositide 3-OH kinase/Akt phosphorylation in smooth muscle cells: induction of cell proliferation and inhibition of cell death. *Cardiovascular Research*. 48(1): 148–157. doi: 10.1016/s0008-6363(00)00152-8
55. Kadoić A. (2015). Biodostupnost i zaštitni učinci polifenola. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet
56. Kallarackal A. J., Simard J. M., Bailey A. M. (2013). The effect of apamin, a small conductance calcium activated potassium (SK) channel blocker, on a mouse model of neurofibromatosis 1. *Behavioural Brain Research*. 237: 71–75. doi: 10.1016/j.bbr.2012.09.009
57. Kang S. Y., Roh D. H., Choi J. W., Ryu Y., Lee J. H. (2015). Repetitive Treatment with Diluted Bee Venom Attenuates the Induction of Below-Level Neuropathic Pain Behaviors in a Rat Spinal Cord Injury Model. *Toxins*. 7:2571-2585 doi: 10.3390/toxins7072571
58. Kang S. Y., Roh D. H., Park J. H., Lee H. J., Lee J. H. (2012). Activation of Spinal α 2-Adrenoceptors Using Diluted Bee Venom Stimulation Reduces Cold Allodynia in Neuropathic Pain Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012:784713 doi: 10.1155/2012/784713
59. Karimi A., Ahmadi F., Parivar K., Nabiuni M., Haghighi S., Imani S., Afrouzi H. (2012). Effect of Honey Bee Venom on Lewis Rats with Experimental Allergic Encephalomyelitis, a Model for Multiple Sclerosis. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 11(2): 671-678. PMID: 24250492
60. Karalliedde L. (1995). Animal toxins. *British Journal of Anaesthesia*. 74(3), 319–327. doi:10.1093/bja/74.3.319
61. Kezić N., Bubalo D., Grgić Z., Dražić M., Barišić D., Filipi J., Jakopović I., Ševar M., Krakar D., Tretinjak V. (2014). Priručnik Konvencionalno i ekološko pčelarenje. CIP Katalogizacija, Zagreb
62. Khalil W. K. B., Assaf N., ElShebiney S. A., Salem N. A., (2014). Neuroprotective effects of bee venom acupuncture therapy against rotenone-induced oxidative stress and apoptosis. *Neurochemistry International*. 80: 79-86. doi: 10.1016/j.neuint.2014.11.008
63. Khan Z. P., Ferguson C. N., Jones R. M. (1999). Alpha-2 and imidazoline receptor agonists. Their pharmacology and therapeutic role. *Anaesthesia*. 54 (2): 146-165 doi: 10.1046/j.1365-2044.1999.00659.x

64. Kim C. M. H. (2013). Apitherapy – Bee Venom Therapy. U: Biotherapy - History, Principles and Practice: A Practical Guide to the Diagnosis and Treatment of Disease using Living Organisms (ur. Grassberger M., Sherman R.A., Gileva O. S., Kim C. M. H., Mumcuoglu K. Y.), Springer, 77-112. doi: 10.1007/978-94-007-6585-6
65. Kim H. W., Kwon Y. B., Ham T. W., Roh D. H., Yoon S. Y., Kang S. Y., Yang I. S., Han H. J., Lee H. J., Beitz A. J., Lee J. H. (2004). General pharmacological profiles of bee venom and its water soluble fractions in rodent models. *Journal of Veterinary Science*. 5(4): 309-318
66. Kim J. I., Yang E. J., Lee M. S., Kim Y. S., Huh Y., Cho I. H., Kang S., Koh H. K. (2011b). Bee Venom Reduces Neuroinflammation in the MPTP-Induced Model of Parkinson's Disease. *International Journal of Neuroscience*. 121: 209-217. doi: 10.3109/00207454.2010.548613
67. Kim J. Y., Kim K. H., Lee W. R., An H. J., Lee S. J., Han S. M., Lee K. G., Park Y. Y., Kim K. S., Lee Y. S., Park K. K. (2015a). Apamin inhibits PDGF-BB-induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration through suppressions of activated Akt and Erk signaling pathway. *Vascular Pharmacology*. 70: 8-14. doi: 10.1016/j.vph.2014.12.004
68. Kim J. Y., Lee W. R., Kim K. H., An H. J., Chang Y. C. Han S. M., Park Y. Y., Pak S. C., Park K. K. (2015b). Effects of bee venom against Propionibacterium acnes-induced inflammation in human keratinocytes and monocytes. *International Journal of Molecular Medicine*. 35: 1651-1656. doi: 10.3892/ijmm.2015.2180
69. Kim K. H., Kum Y. S., Park Y. Y., Park J. H., Kim S. J., Lee W. R., Lee K. G., Han S. M., Park K. K. (2010). The Protective Effect of Bee Venom against Ethanol-Induced Hepatic Injury via Regulation of the Mitochondria-Related Apoptotic Pathway. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicity*. 107(1): 619-624. doi: 10.1111/j.1742-7843.2010.00549.x
70. Kim S. J., Park J. H., Kim K. H., Lee W. R., An H. J., Min B. K., Han S. M., Kim K. S., Park K. K. (2012a). Apamin inhibits THP-1-derived macrophage apoptosis via mitochondria-related apoptotic pathway. *Experimental and Molecular Pathology*. 93(1): 129-134. doi: 10.1016/j.yexmp.2012.04.003
71. Kim S. J., Park J. H., Kim K. H., Lee W. R., Kim K. S., Park K. K. (2011a). Melittin Inhibits Atherosclerosis in LPS/High-Fat Treated Mice Through Atheroprotective Actions. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 18(12): 1117-1126. doi: 10.5551/jat.8474
72. Kim S. J., Park J. H., Kim K. H., Lee W. R., Pak S. C., Han S. M., Park K. K. (2012b). The Protective Effect of Apamin on LPS/Fat-Induced Atherosclerotic Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012, 305454: 1-10. doi: 10.1155/2012/305454
73. Kim W. H., An H. J., Kim J. Y., Gwon M. G., Gu H., Jeon M., Kim M. K., Han S. M., Park K. K. (2018). Anti-Inflammatory Effect of Melittin on Porphyromonas Gingivalis LPS-Stimulated Human Keratinocytes. *Molecules*. 23(2): 332. doi:10.3390/molecules23020332
74. Kim Y., Lee Y. W., Kim H., Chung D. K. (2019). Bee venom alleviates atopic dermatitis symptoms through the upregulation of decay-accelerating factor (DAF/CD55). *Toxins*. 2019,11, 239. doi: 10.3390/toxins11050239

75. Kisseleva T., Brenner D. A. (2007). Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 22(s1), S73–S78. doi: 10.1111/j.1440-1746.2006.04658.x
76. Knežević T., Padjen I., Bulimbašić S., Ćorić M., Ivković V., Laganović M., Anić B. (2021). Clinical Characteristics and Treatment of Lupus Nephritis – Preliminary Analysis of Observational Data From a National Referral Centre. *Acta clinica Croatica*. 60. (Supplement 1): 155-163. doi: 10.20471/acc.2021.60.s1.23
77. Kocyigit A., Guler E. M., Kaleli S. (2019). Anti-Inflammatory and Antioxidative Properties of Honey Bee Venom on Freund's Complete Adjuvant-Induced Arthritis Model in Rats. *Toxicon*. 161: 4-11. doi: 10.1016/j.toxicon.2019.02.016
78. Kołaczek A., Skorupa D., Antczak-Marczak M., Kuna P., Kupczyk, M. (2017). Safety and efficacy of venom immunotherapy: a real life study. *Advances in Dermatology and Allergology*. 2: 159–167. doi: 10.5114/ada.2017.67082
79. Kremen C. (2008). *Crop Pollination Services From Wild Bees*. U: *Bee Pollination in Agricultural Ecosystems* (ur. James R., Pitts-Singer T.L.), Oxford Scholarship Online, New York. doi: 10.1093/acprof:oso/9780195316957.001.0001.
80. Krystel-Whittemore M., Dileepan K. N., Wood J. G. (2016). Mast Cell: A Multi-Functional Master Cell. *Frontiers in Immunology*. 6:620. doi: 10.3389/fimmu.2015.00620
81. Kuiper E. F. E., Nelemans A., Luiten P., Nijholt I., Dolga A., Eisel U. (2012). K_{Ca2} and K_{Ca3} Channels in Learning and Memory Processes, and Neurodegeneration. *Frontiers in Pharmacology*. 3(2): 107. doi: 10.3389/fphar.2012.00107
82. Kwon, Y. B., Kim, J. H., Yoon, J. H., Lee, J. D., Han, H. J., Mar, W. C., et al.(2001c). The analgesic efficacy of bee venom acupuncture for kneeosteoarthritis: a comparative study with needle acupuncture. *The American Journal of Chinese Medicine*. 29(2): 187–199.
83. Kwon Y. B., Lee J. D., Lee H. J., Han H. J., Mar W. C., Kang S. K., Beitz A. J., Lee J. H. (2001). Bee venom injection into an acupuncture point reduces arthritis associated edema and nociceptive responses. *Pain*. 90: 271-280. doi: 10.1016/S0304-3959(00)00412-7
84. Larché M., Akdis C. A., Valenta R. (2006). Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 6(10): 761–771. doi: 10.1038/nri1934
85. Lassmann H., van Horssen J. (2011). The molecular basis of neurodegeneration in multiple sclerosis. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. 585(23): 3715-3723. doi: 10.1016/j.febslet.2011.08.004
86. Lee G., Lee H., Park S., Jang H., Bae H. (2013). Bee Venom Attenuates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Through Direct Effects on $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T Cells. *European Journal of Inflammation*. 11(1): 111-121. doi: 10.1177/1721727X1301100111
87. Lee G. L., Hait W. N. (1985). Inhibition of growth of C6 astrocytoma cells by inhibitors of calmodulin. *Life Sciences*. 36(4): 347-354. doi: 10.1016/0024-3205(85)90120-1

88. Lee H., Lee E., Kim H., Lee G., Um E. J., Kim Y., Lee B. Y., Bae H. (2011a). Bee Venom-Associated Th1/Th2 Immunoglobulin Class Switching Results in Immune Tolerance of NZB/W F1 Murine Lupus Nephritis. *American Journal of Nephrology*. 34(2): 163–172. doi:10.1159/000329731
89. Lee J. D., Park H. J., Chae Y., Lim S. (2005). An Overview of Bee Venom Acupuncture in the Treatment of Arthritis. *eCAM*. 2005;2(1): 79-84 doi: 10.1093/ecam/neh070
90. Lee K. S., Kim B. Y., Yoon H. J., Cho Y. S., Jin B. R. (2016b). Secapin, a bee venom peptide, exhibits anti-fibrinolytic, anti-elastolytic, and anti-microbial activities. *Developmental & Comparative Immunology*. 63: 27–35. doi: 10.1016/j.dci.2016.05.011
91. Lee M. J., Jang M., Choi J., Lee G., Min H. J., Chung W. S., Kim J. I., Jee Y., Chae Y., Kim S. H., Lee S. J., Cho I. H. (2016a). Bee Venom Acupuncture Alleviates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Upregulating Regulatory T Cells and Suppressing Th1 and Th 17 Responses. *Molecular Neurobiology*. 53(3): 1419-1445. doi: 10.1007/s12035-014-9012-2
92. Lee S. H., Lee H. J., Baek Y. H., Kim H., Park S. Y., Hong S. J., Yang H. I., Kim K. S., Lee J. D., Choi D. Y., Lee D. I., Lee Y. H. (2003). Effects of bee venom on the pain, edema, and acute inflammatory reactant of rheumatoid arthritic patients. *The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society*. 20(2): 77–84.
93. Lee W. R., Kim K. H., An H. J., Kim J. Y., Chang Y. C., Chung H., Park Y. Y., Lee M. L., Park K. K. (2014). The Protective Effects of Melittin on Propionibacterium acnes-Induced Inflammatory Responses In Vitro and In Vivo. *Journal of Investigative Dermatology*. 134: 1922–1930. doi: 10.1038/jid.2014.75
94. Lee W. R., Park J. H., Kim K. H., Park Y. Y., Han S. M., Park K. (2011b). Protective effects of melittin on transforming growth factor- β 1 injury to hepatocytes via anti-apoptotic mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 256(2): 209–215. doi: 10.1016/j.taap.2011.08.012
95. Lee Y. M., Cho S. N., Son E., Song C. H., Kim D. S. (2020). Apamin from bee venom suppresses inflammation in a murine model of gouty arthritis. *Journal of Ethnopharmacology*. 257, 112860. doi: 10.1016/j.jep.2020.112860
96. Liu S., Yu M., He Y., Xiao L., Wang F., Song C., Sun S., Ling C., Xu Z. (2008). Melittin Prevents Liver Cancer Cell Metastasis Through Inhibition of the Rac1-Dependent Pathway. *Hepatology*. 47(6): 1964-1973. doi: 10.1002/hep.22240
97. Liu X., Chen D., Xie L., Zhang R. (2002). Effect of honey bee venom on proliferation of K1735M2 mouse melanoma cells in-vitro and growth of murine B16 melanomas in-vivo. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 54: 1083-1089. doi: 10.1211/002235702320266235
98. Martínez-Gómez J. M., Johansen P., Erdmann I., Senti G., Cramer R., Kündig, T. M. (2009). Intralymphatic Injections as a New Administration Route for Allergen-Specific Immunotherapy. *International Archives of Allergy and Immunology*. 150(1): 59–65. doi: 10.1159/000210381
99. Memariani H., Memariani, M. (2020). Anti-fungal properties and mechanisms of melittin. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 104: 6513-6526. doi: 10.1007/s00253-020-10701-0

100. Messier C., Mourre C., Bontempi B., Sif J., Lazdunski M., Destrade C. (1991). Effect of apamin, a toxin that inhibits Ca²⁺-dependent K⁺ channels, on learning and memory processes. *Brain Research*. 551(1-2): 322–326. doi: 10.1016/0006-8993(91)90950-z
101. Millor J., Pham-Delegue M., Deneubourg J. L., Camazine, S. (1999). Self-organized defensive behavior in honeybees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 96(22): 12611–12615. doi: 10.1073/pnas.96.22.12611
102. Moote W., Kim H. (2011). Allergen-specific immunotherapy. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 7 (Supplement 1): S5. doi: 10.1186/1710-1492-7-S1-S5
103. Moreno M., Giralt E. (2015.) Three Valuable Peptides from Bee and Wasp Venoms for Therapeutic and Biotechnological Use: Melittin, Apamin and Mastoparan. *Toxins*. 2017,7: 1126-1150. doi: 10.3390/toxins7041126
104. Mourelle D., Brigatte P., Briganti L. D. B., De Souza B. M., Arcuri H. A., Gomes P. C., Baptista-Saidemberg N. B., Neto J. R., Palma M. (2014). Hyperalgesic and edematogenic effects of Secapin-2, a peptide isolated from Africanized honeybee (*Apis mellifera*) venom. *Peptides*. 59: 42-52 doi: 10.1016/j.peptides.2014.07.004.
105. Mourre C., Fournier C., Soumireu-Mourat B. (1997). Apamin, a blocker of the calcium-activated potassium channel, induces neurodegeneration of Purkinje cells exclusively. *Brain Research*. 778(2): 405–408. doi:10.1016/s0006-8993(97)01165-7
106. Nam K. W., Je K. H., Lee J. H., Han H. J., Lee H. J., Kang S. K., Mar W. (2003). Inhibition of COX-2 activity and proinflammatory cytokines (TNF-alpha and IL-1beta) production by water-soluble sub-fractionated parts from bee (*Apis mellifera*) venom. *Archives of Pharmacal Research*. 26(5): 383–388. doi: 10.1007/BF02976695
107. NCI (2021). National Cancer Institute - <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer> - pristup 28.06.2021.
108. NHS (2018). National Health Service <https://www.nhs.uk/conditions/arthritis/> - pristup 16.06.2021
109. NIA (2019). National Institute on Aging - <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-fact-sheet> - pristup 02.07.2021.
110. Oren Z., Shai Y. (1997). Selective Lysis of Bacteria but Not Mammalian Cells by Diastereomers of Melittin: Structure–Function Study. *Biochemistry*. 36(7): 1826–1835. doi: 10.1021/bi962507I
111. Oršolić N. (2012). Bee venom in cancer therapy. *Cancer and Metastasis Reviews*. 31: 173-194. doi: 10.1007/s10555-011-9339-3
112. Ostrovsky D. A., Ehrlich A. (2018). Bee Venom Acupuncture in Addition to Anti-Parkinsonian Medications may Improve Activities of Daily Living and Motor Symptoms More Than Medication Alone in Idiopathic Parkinson's Disease. *Explore*. 15(1): 71-73. doi: 10.1016/j.explore.2018.10.013

113. Pak S. C. (2017). Chemical composition of bee venom. U: Bee products – chemical and biological properties (ur. Alvarez-Suarez, J. M.), Springer, Cham, 279-285. doi: 10.1007/978-3-319-59689-1_13
114. Palm N. W., Rosenstein R. K., Yu S., Schenten D. D., Florsheim E., Medzhitov R. (2013). Bee venom phospholipase A2 induces a primary type 2 response that is dependent on the receptor ST2 and confers protective immunity. *Immunity*. 39(5): 976-985. doi: 10.1016/j.immuni.2013.10.006
115. Palomares O., Yaman G., Azkur A. K., Akkoc T., Akdis M., Akdis, C. A. (2010). Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *European Journal of Immunology*. 40(5): 1232–1240. doi: 10.1002/eji.200940045
116. Park J. H., Jeong Y. J., Park K. K., Cho H. J., Chung I. K., Min K. S., Kim M., Lee K. G., Yeo J. H., Park K. K., Chang Y. C. (2010a). Melittin suppresses PMA-induced tumor cell invasion by inhibiting NF- κ B and AP-1-dependent MMP-9 expression. *Molecules and Cells*. 29(2): 209–215. doi: 10.1007/s10059-010-0028-9
117. Park J. H., Kim K. H., Kim S. J., Lee W. R., Lee K. G., Park K. K. (2010b). Bee venom protects hepatocytes from tumor necrosis factor- α and actinomycin D. *Archives of Pharmacal Research*. 33(2): 215–223. doi: 10.1007/s12272-010-0205-6
118. Park M. H., Choi M. S., Kwak D. H., Oh K. W., Yoon D. Y., Han S. B., Song H. S., Song M. J., Hong J. T. (2011a). Anti-Cancer Effect of Bee Venom in Prostate Cancer Cells Through Activation of Caspase Pathway Via Inactivation of NF- κ B. *The Prostate*. 71: 801-812. doi: 10.1002/pros.21296
119. Park, J. H., Kum Y. S., Lee T. I., Kim S. J., Lee W. R., Kim B. I., Kim H. S., Kim K. H., Park K. K. (2011b). Melittin attenuates liver injury in thioacetamide-treated mice through modulating inflammation and fibrogenesis. *Experimental Biology and Medicine*. 236(11): 1306-1313. doi: 10.1258/ebm.2011.011127
120. Pascoal A., Estevinho M. M., Choupina A. B., Sousa-Pimenta M., Estevinho L. M. (2019). An overview of the bioactive compounds, therapeutic properties and toxic effects of apitoxin. *Food and Chemical Toxicology*. 134 (2019) 110864. doi: 10.1016/j.fct.2019.110864.
121. Pucca M. B., Cerni F. A., Oliveira I. S., Jenkins T. P., Argemí L., Sørensen C. V., Ahmadi S., Barbosa J. E., Laustsen A. H. (2019). Bee Updated: Current Knowledge on Bee Venom and Bee Envenoming Therapy. *Frontiers in Immunology*. 10:2090. doi:10.3389/fimmu.2019.02090
122. Roffet-Salque M., Regert M., Evershed R. P., Outram A. K., Cramp L. J., Decavallas O., Dunne J., Gerbault P., Mileto S., Mirabaud S., Pääkkönen M., Smyth J., Šoberl L., Whelton H. L., Alday-Ruiz A., Asplund H., Bartkowiak M., Bayer-Niemeier E., Belhouchet L., Bernardini F., Budja M., Cooney G., Cubas M., Danaher E. N., Diniz M., Domboróczy L., Fabbri C., González-Urquijo J. E., Guilaine J., Hachi S., Hartwell B. N., Hofmann D., Hohle I., Ibáñez J. J., Karul N., Kherbouche F., Kiely J., Kotsakis K., Lueth F., Mallory J. P., Manen C., Marciniak A., Maurice-Chabard B., McGonigle M. A., Mulazzani S., Özdoğan M., Perić O. S., Perić S. R., Petrasch J., Pétrequin A. M., Pétrequin P., Poensgen U., Pollard C. J., Poplin F., Radi G., Stadler P., Stäuble H., Tasić N., Urem-Kotsou D., Vuković J. B., Walsh F., Whittle A., Wolfram S., Zapata-Peña L., Zoughlami J. (2015). Widespread exploitation of the honeybee by early Neolithic farmers. *Nature*. 527(7577): 226–230. doi: 10.1038/nature15757

123. Roh D. H., Kwon Y. B., Kim H. W., Ham T. W., Yoon S. Y., Kang S. Y., Han H. J., Lee H. J., Beitz A. J., Lee J. H. (2004). Acupoint Stimulation With Diluted Bee Venom (Apipuncture) Alleviates Thermal Hyperalgesia in a Rodent Neuropathic Pain Model: Involvement of Spinal Alpha2-Adrenoceptors. *Journal of Pain*. 5(6): 297-303 doi: 10.1016/j.jpain.2004.05.003
124. Rowland L. P., Shneider N. A. (2001). Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The New England Journal of Medicine*. 344(22): 1688-1700. doi: 10.1056/NEJM200105313442207
125. Shkenderov S., Koburova K. (1982). Adolapin - a newly isolated analgetic and anti-inflammatory polypeptide from bee venom. *Toxicon*. 20(1): 317-321. doi: 10.1016/0041-0101(82)90234-3
126. Shkendrov S. (1973). A protease inhibitor in bee venom Identification, Partial Purification and some Properties. *FEBS Letters*. 33(3): 343-347. doi: 10.1016/0014-5793(73)80226-1
127. Simics, M. (1996). Bee Venom – Frequently Asked Questions. *American Bee Journal*. 136(2): 107-109.
128. Sin D., Choi W., Bae H. (2018). Bee Venom Phospholipase A2 Alleviate House Dust Mite-Induced Atopic Dermatitis-Like Skin Lesions by the CD206 Mannose Receptor. *Toxins*. 10(4): 146. doi: 10.3390/toxins10040146
129. Snodgrass R. E. (1910). The anatomy of the honey bee. US Department of agriculture, Bureau of entomology, Washington D.C.
130. Sobotka A. K., Franklin R. M., Adkinson N. F. Jr., Valentine M., Baer H., Lichtenstein L. M. (1976). Allergy to insect stings. II. Phospholipase A: The major allergen in honeybee venom. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 57(1): 29-40
131. Sobral F., Sampaio A., Falcão S., Queiroz M. J. R. P., Calhella R. C., Vilas-Boas M., Ferreira I. C. F. R. (2016). Chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties of bee venom collected in Northeast Portugal. *Food and Chemical Toxicology*. 94: 172-177. doi: 10.1016/j.fct.2016.06.008
132. Somerfield S. D., Stach J. L., Mraz C., Gervais F., Skamene E. (1986). Bee venom melittin blocks neutrophil O₂⁻ production. *Inflammation*. 10(2): 175-182. doi: 10.1007/BF00915999
133. Somwongin S., Chantawannakul P., Chaiyana W. (2018). Antioxidant activity and irritation property of venoms from Apis species. *Toxicon*. 145: 32-39. doi: 10.1016/j.toxicon.2018.02.049
134. Son D. J., Ha S. J., Song H. S., Lim Y., Yun Y. P., Lee J. W., Moon D. C., Park Y. H., Park B. S., Song M. J., Hong J. T. (2006). Melittin Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation through Induction of Apoptosis via Suppression of Nuclear Factor- B and Akt Activation and Enhancement of Apoptotic Protein Expression. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 317(2): 627-634. doi: 10.1124/jpet.105.095901
135. Son D. J., Lee J. W., Lee Y. H., Song H. S., Lee C. K., Hong J. T. (2007). Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. *Pharmacology & Therapeutics*. 115(2): 246-270. doi: 10.1016/j.pharmthera.2007.04.004

136. Stackman R. W., Hammond R. S., Linardatos E., Gerlach A., Maylie J., Adelman J. P., Tzounopoulos T. (2002). Small Conductance Ca^{2+} -Activated K^+ Channels Modulate Synaptic Plasticity and Memory Encoding. *The Journal of Neuroscience*. 22(23): 10163–10171. doi: 10.1523/jneurosci.22-23-10163.2002
137. Surendra N. S., Ravikumar H., Reddy M. R. S. (2014). Evaluation of catecholamines and amino acids from venom reservoir extract of Indian honey bee (*Apis*) species. *Journal of Apicultural Research*. 53(5): 514–519. doi:10.3896/ibra.1.53.5.05
138. Štrkalj M. (2021). Inkapsulacija propolisa kao izvor polifenolnih spojeva. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
139. Tang S., Lui S. L., Lai K. N. (2005). Pathogenesis of lupus nephritis: An update. Review Article. *Nephrology* 10(2): 174–179. doi: 10.1111/j.1440-1797.2005.00392.x
140. Topchiyeva A., Mammadova F. Z. (2016). The seasonal activity of hyaluronidase in venom of a honey bee (*Apis mellifera* L. caucasica) in various regions of Azerbaijan. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 4(4): 1388-1391.
141. Uddin M. B., Lee B. H., Nikapitiya C., Kim J. H., Kim T. H., Le H. C., Kim C. G., Lee J. S., Kim C. J. (2016). Inhibitory effects of bee venom and its components against viruses in vitro and in vivo. *Journal of Microbiology*. 54(12): 853–866. doi: 10.1007/s12275-016-6376-1
142. Vick J. A., Shipman W. H., Brooks R. (1974). Beta adrenergic and anti-arrhythmic effects of cardiopep, a newly isolated substance from whole bee venom. *Toxicon*. 12(2): 139-142. doi: 10.1016/0041-0101(74)90237-2
143. Visscher P. K., Vetter R. S., Camazine, S. (1996). Removing bee stings. *The Lancet*. 348: 301–302. doi:10.1016/s0140-6736(96)01367-0
144. Wachinger M., Saermark T., Erfle, V. (1992). Influence of amphipathic peptides on the HIV-1 production in persistently infected T lymphoma cells. *FEBS Letters*. 309(3): 235–241. doi: 10.1016/0014-5793(92)80780-k
145. Wang O. H., Ahn K. B., Lim J. K., Jang H. S. (2001). Clinical study on effectiveness of bee venom therapy on degenerative knee arthritis. *Journal of the Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society*. 18(3): 35–47.
146. Wehbe R., Frangieh J., Rima M., Obeid D. E., Sabatier J-M., Fajloun Z. (2019). Bee Venom: Overview of Main Compounds and Bioactivities for Therapeutic interests. *Molecules*. 24:2997. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6720840/pdf/molecules-24-02997.pdf> - pristup 01.06.2021
147. Wesselius T., Heersema D. J., Mostert J. P., Heerings M., Admiraal-Behloul F., Talebian A., van Buchem M. A., De Keyser J. (2005). A randomized crossover study of bee sting therapy for multiple sclerosis. *Neurology*. 65(11): 1764-1768. doi: 10.1212/01.wnl.0000184442.02551.4b
148. Wu G. J., Xu F., Sun X. M., Chen J. D. Z. (2020). Transcutaneous Neuromodulation at ST36 (Zusanli) is More Effective than Transcutaneous Tibial Nerve Stimulation in Treating Constipation. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 54(6): 536-544. doi: 10.1097/MCG.0000000000001184.

149. Yang E. J., Choi S. M. (2013). α -Synuclein Modification in an ALS Animal Model. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013:259381. doi: 10.1155/2013/259381
150. Yang E. J., Jiang J. H., Lee S. M., Yang S. C., Hwang H. S., Lee M. S., Choi S. M. (2010). Bee venom attenuates neuronflammatory events and extends survival in amyotrophic lateral sclerosis models. Journal of Neuroinflammation. 7: 69. doi: 10.1186/1742-2094-7-69
151. Yang E. J., Kim S. H., Yang S. C., Lee S. M., Choi S. M. (2011). Melittin restores proteasome function in an animal model of ALS. Journal of Neuroinflammation. 8: 69. doi: 10.1186/1742-2094-8-69
152. Yang J. S., Lin C. W., Su S. C., Yang S. F., (2016). Pharmacodynamic considerations in the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment. Expert opinion on drug metabolism & toxicology. 12(2): 191-200. doi: 10.1517/17425255.2016.1131820
153. Ye M., Chung H. S., Lee C., Yoon M. S., Yu A. R., Kim J. S., Hwang D. S., Shim I., Bae H. (2016). Neuroprotective effects of bee venom phospholipase A2 in the 3xTg AD mouse model of Alzheimer's disease. Journal of Neuroinflammation. 13: 10. doi: 10.1186/s12974-016-0476-z
154. Yiangou M., Konidaris C., Victoratos P., Hadjipetrou-Kourounakis L. (1993). Modulation of alpha 1-acid glycoprotein (AGP) gene induction following honey bee venom administration to adjuvant arthritic (AA) rats; possible role of AGP on AA development. Clinical & Experimental Immunology. 94(1): 156-162.
155. Yoon S. Y., Roh D. H., Kwon Y. B., Kim H. W., Seo H. S., Han S. J., Lee H. J., Beitz A. J., Lee J. H. (2009). Acupoint Stimulation With Diluted Bee Venom (Apipuncture) Potentiates the Analgesic Effect of Intrathecal Clonidine in the Rodent Formalin Test and in a Neuropathic Pain Model. The Journal of Pain. 10(3):253-263. doi: 10.1016/j.jpain.2008.09.002

Životopis

Mario Zebec je rođen 16.09.1996 u Zagrebu. U Zagrebu je završio Osnovnu školu Antuna Mihanovića nakon čega je upisao i završio III. gimnaziju Zagreb. Zatim je upisao i završio preddiplomski studij Biljne znanosti na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, nakon čega upisuje diplomski studij Hortikultura-voćarstvo na istom fakultetu. Posjeduje voačku dozvolu B kategorije, izvrsno razumije i koristi se engleskim jezikom. Odlično se koristi računalom, uključujući softver poput Microsoft Word, Excel, PowerPoint, Sony Vegas 13 i Photoshop.