بررسی اثر زهر زنبور عسل بر سلول های سرطان روده بزرگ انسان و سلول های L929

المیرا محمدی [الف]، محسن دوست محمدی [ب و پ*]، شاهین گوانجی [پ]، حجت باغشاهی [ج]، زهرا گلستان نژاد [د]، عزیزالله باختری [هـ]، محمدرضا گلستان نژاد [و]، امیر معتمدی [ز]

[الف] کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

[ب] دکتری علوم داروئی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، انستیتو نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

[پ] دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان(خوراسگان)، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اصفهان، ایران

[ج] دانشجوی دکتری فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده منابع طبیعی و کشاورزی، دانشگاه تهران

[د] استادیار، مرکز تحقیقات دندانپزشکی ترابی نژاد ، گروه بیماری های دهان فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی ،دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

[هـ] دکتری ژنتیک، گروه علوم دامی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

[و] استادیار، گروه ارتوپدی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

[ز] دانشجوی دندانپزشکی، کمیته پژوهش های دانشجویان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان،اصفهان،ایران

چکیده

سابقه و هدف: سرطان به عنوان یک مشکل جهانی است. زهر زنبور عسل برای هزاران سال در درمان بیماریهای مختلف کاربرد داشته است. اخیرا نیز این ماده به عنوان ترکیب موثری برای درمان سرطان مورد توجه قرار گرفته است. بدیهی است شناسایی ترکیباتی که القا -کننده آپوپتوز باشند، میتوانند در درمان سرطان بسیار تاثیرگذار باشند .زهر زنبورترکیب بسیار پیچیده‌ای از پپتیدها، آنزیمها و آمینهای فعال بیولوژیکی میباشد. ملیتین و فسفولیپاز A2 دو جزء اصلی زهر زنبور می‌باشند. .در این مطالعه سعی ما براین بوده است تا خواص ضد توموری زهر زنبور علیه سرطان روده بزرگ و سلول L929 مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش تجربی انجام شد. سلولهای روده بزرگ انسان(HT-29)و رده سلول طبیعی فیبروبلاست موش (L929) به عنوان شاهد در محیط کشت (SIGMA, USA) RPMI-1640 غنی شده رشد داده شدند. و سلولهابا ۱۲غلظت مختلف زهر از حداقل ۰/۱ تا ۱۲ µg/ml و در سه زمان ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند پس ازطی زمانهای مورد نظر میزان زنده بدون سلول ها به روش MTT تعیین گردید سپس تجزیه وتحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار SPSSبه روش one way ANOVA ونیز ترکی مورد آنالیز آماری قرار و همچنین دو رده سلولی در غلظتهای مشابه نیز به آزمون t مستقل مورد آزمون قرار گرفت

یافته‌ها: در غلظت ٦٪ و در زمان ۲٤ ساعت تعداد سلول های زنده کاهش و در غلظت ٦مولار سلولهای سرطانی مردند. غلظت ۲ بر سلول های L929 موثر بوده و در غلظت ۱۲ وساعت ۲٤ این سلول ها از بین رفتند. زهرزنبور عسل دارای اثر مهار کننده بالاتری بر روی سلولهای روده بزرگ انسان(HT-29) نسبت به سلول های L929 میباشد

نتیجه‌گیری: زهرزنبور عسل ،دارای اثر کشندگی برسلولهای روده بزرگ انسان(HT-29) میباشد و به نظر می‌رسد القای مرگ برنامه ریزی شده سلولی(آپوپتوزیس) در سلولهای سرطانی تیمار شده با زهر زنبور عسل ایجاد شده است که بررسی و اثبات این موضوع نیازمند تحقیق بیشتر می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: کشندگی سلولی، زهر زنبور عسل، HT-29.

تاریخ دریافت: مهر ۹۵
تاریخ پذیرش: آذر ۹۵

مقدمه:

سرطان دومین عامل مرگ و میر در دنیا است(۱).درمان های متداول سرطان ، دارای عوارض جانبی جدی بود و تنها چند سال بر طول عمر بیمار می‌افزایند(۲). طب سنتی ایرانی ریشه در تاریخ مردم و مبانی منحصر به خود دارد (۳). اغلب سرطان ها درمان قطعی ندارند اما برای جلوگیری از رشد و پیشرفت آنها از روش های پرتودرمانی، شیمی درمانی، هورمون درمانی پیوند مغز استخوان و ...استفاده میشود(٤). سم زنبور توسط غدد آپیس ملیفرا تولید میشود(۵و٦) در طب سنتی برای درمان بسیاری از بیماری ها مورد استفاده قرار میگیرد (۷و۸) و

* فرد مسئول مکاتبات: mohsend881@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

اخیرا از زهر زنبور برای درمان سرطان استفاده شده است (۹و ۱۰) و خاصیت ضد سرطانی آن مورد تائید رسیده است (۱۱) اما با وجود مطالعات انجام شده در مورد تاثیر زهر رنبور بر سلول های سرطانی، به دلیل تنوع بالای سلول های سرطانی و هم چنین تنوع ترکیبات سمی در زهر زنبور هنوز بررسی بیشتر در مورد تعیین بهترین دوز موثر مورد نیاز است. فاکتورهای متعددی تولید زهر زنبور عسل و کیفیت آن را تحت تاثیر قرار میدهند. مانند: سن زنبور، قدرت کلنی، فصل جمع آوری، منبع تغذیه، رفتار دفاعی زنبور، و روش جمع آوری زهر زنبور(۷). زهر زنبور عسل در طب سنتی برای درمان بسیاری از بیماری ها استفاده می‌شده است(۸).

ترکیب مواد تشکیل دهنده زهر زنبور به خوبی شناخته شده است (۹و۱۰). زهر زنبور از ترکیب مخلوطی از پپتیدهای فعال، آنزیم ها و آمین ها تشکیل شده است(۱۱و۱۲). کاربردهای درمانی زهر زنبور در زمینه پزشکی جهت درمان بیماری های مختلف بسیار گسترده است(۱۳و۱٤). زهر زنبور فعالیت های بیولوژیکی مانند فعالیت سلول کشی علیه سلول های سرطانی در شرایط آزمایشگاهی دارد (۱۵). همچنین این ترکیب از تکثیر سلول های سرطانی پستانداران ممانعت به عمل می‌آورد. (۱٦). و همچنین در آرتریت، روماتیسم، درد، تومور و بیماری های پوستی و استئوآرتریتیس اثرات درمانی دارد. علاوه بر این موارد، فعالیت های آنتی میکروبی بر علیه باکتری های گرم منفی و گرم مثبت شامل ای. کلای و سالمونلا ، انتروباکتر کلواکه، سیتروباکتر فروندی، و استافیلوکوکوس ارئوس مورد تائید قرار گرفته شده است.(۱۷و۱۸و۱۹).

زهر زتنبور دارای ترکیبات متعددی مانند فسفولیپید A2، هیالورونیداز، اسید فسفومنواستراز، و لیزوفسفولیپاز است(۲۰و۲۱). از میان آنها ملیتین، یک پپتید ۲٦ آمینواسیدی آمفی فیل کاتیونی، یک پپتید غیر اختصاصی است که به تمام لیپید های غشائی حمله میکنند و سبب سمیت قابل ملاحظه میشود(۲۲) . فسفولیپاز A2 ۱۰-۱۲٪ پپتید های سم راتشکیل میدهد و مخرب ترین ترکیب apitoxin است. این آنزیمی است که فسفولیپیدهای غشا سلولی را تجزیه میکند. خواص آنتی باکتریال زهر زنبور به عناون یک ترکیب طبیعی آنتی باکتریال به میزان بالایی مطالعه شده است و درمان با زهر زنبور به عنوان یک جای گزین برای آنتی بیوتیک ها پیشنهاد داده شده است. (۲۲و۲۳). فعالیت آنتی باکتریال بسیار شدید زهر زنبور علیه باکتری های گرم منفی و گرم مثبت گزارش شده است(۲٤). علاوه بر این زهر زنبور دارای خواص آنتی باکتریال علیه باکتری های پوست مانند پروپیونی باکتریو اکنس، استافیلوکوکوس اپی درمیدیس، و استرپتوکوکوس پیوجنس است.در مطالعه انجام شده توسط یو و همکاران نشان داده شده است که زهر زنبور خواص ضد قارچی علیه تریکوفیتون منتاگروفیتس و تریکوفیتون روبروم است . این خاصیت ضد قارچی از فلوکونازول که یک ماده ضد قارچ تجاری است نیز بیشتر است(۲۵) . اخیرا مشاهداه شده است که نانوذرات حاوی ملیتین میتوانند خواص ضد !-HIV داشته باشد. و این نشان میدهد که میتوان امید داشت تا از هزر زنبور برای درمان بیماری ایدز استفاده کرد. (۲٦)

اخیرا فرمول های درمانی متعددی با استفاده از زهر زنبور تهیه شده اند و در فروشگاههای اروپایی و بین المللی در دسترس میباشد.(۲۷). چون زهر زنبور برای انسان سمی است شناسایی ترکیبات آن ، تاثیرات جانبی آن، سمیت آن برای ایجاد فرمول های دارویی ایمن جهت تامین نیاز های انسان ضروری است. به دلیل طبیعت پیچیده زهر زنبور، این ترکیب به صورت کامل شناسایی نشده است. اخیرا با استفاده از اسپکتروفتومتر جرمی هزاران پروتئین و پپتید با استفاده از مقدار کمی از نمونه پروتئین شناسایی شده اند. در حال حاضر دو راه سنتی برای جمع آوری زهر زنبور وجود دارد. تحریک الکتریکی و استخراج دستی زهر از غدد زهری (۲۸)

Or-oliترکیب زهر زنبور تازه و خشک شده بیشتر در ترکیبات فرار متفاوت است و فعالیت بیولوژیکی کلی آن ها یکی است. این ترکیب به عنوان یک داروی ضد التهابی غیر استروئیدی جهت کاهش درد و درمان بیماری های التهاب مزمن مانند آرتریت روماتوئید، مولتیپل اسکلوزیس،(۲۹و۳۰) و اخیرا در درمان سرطان ها استفاده می‌شود(۹-۱۳). در سال های گذشته مطالعاتی در مورد نقش زهر زنبور انجام شده است که نشان میدهند که زهر زنبور خواص مهار کننده امواج

www.SID.ir
Archive of SID

رادیـوئی، (۳۱) ضـد درد(۳۲و۳۳) و ضـد سـرطان (۳٤) دارد. علاوه بر این مطالعات اخیر نشـان دهنـده تـاثیرات متعـدد بـر التهاب، سلول کشی و مهار رشـد انـواع مختلـف سـلول هـای سرطانی می‌باشد. (۳٤-۳٦). زهر زنبـور تکثیـر سـلول هـای سرطانی و توموری را مهار میکند. این مهـار رشـد میتوانـد بـه دلیل پاسخ موضـعی سـلول هـای ایمنـی گـره هـای لنفـاوی باشد.(۱٦و۳٤). آپوپتوز، نکـروز و لیـز سـلو ل هـای تومـوری مکانیسم هایی هستند که رشـد سـلول هـای تومـوری را مهـار میکنند. نشان داده شده است که زهر زنبور عسـل سـبب القـاء آپوپتوز در سلول های لوکمی میشود. (۳۷).

مواد و روش‌ها:

این تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. در این روش زهر زنبور عسل در موسسه تحقیقات طب سنتی و گیاهی ایران بـه وسیله دستگاه جمع آوری زهـر زنبـور از طریـق روش شـوک الکتریکی با به کارگیری ولتاژ۲۰ ولت کـه زنبورهـای عسـل را تحریک می‌کند تا صفحه جمع‌آوری کننده را نیش بزنند و نکتـه قابل توجه این که در این روش هـیچ گونـه آسـیبی بـه زنبـور عسل وارد نمی‌شودو زهـر استحصـال شـده بـر روی صـفحه شیشه‌های قرار گرفتند و به سرعت در معرض هوا خشک می-شوند و برای استفاده بعـدی در فریـزر ۲۰- درجـه سـانتیگراد ذخیره شد.

سلولهای روده بزرگ انسـان(HT-29)و رده سـلول طبیعـی فیبروبلاست موش (L929) به عنـوان شـاهد از بانـک سـلولی انیستستو پاستور ایران تهیه شـد. . هـر ۲ رده سـلولی از تانـک ازت خارج و مرحله یخ زدایی سـلول هـا انجـام شـد. سـپس سلولهادر محـیط کشـت RPMI-1640 (SIGMA, USA) غنـی شده حاوی ۱۰ درصـد Fetal Bovine Serum(Gibco) وآنتـی بیوتیک پنیسیلین Unit/ml100 و آنتی بیوتیـک استرپتومایسـین µg/ml100(Gibco) در انکوباتور CO2 دار (5%) با دمـای ۳۷ درجه سـانتیگرادو میـزان RH=100 رشـد داده شـدند. پـس از انجام یک دوره پاسـاژ سـلولی بـرای اطمینـان ازدرصـدبالای سلولهای زنده درحال رشد، تست viability بارنگ تریپان بلـو محاسبه شدکه درصدسلولهای زنده بیش‌از ۹۰درصدبدست آمد.

آزمایش MTT

سـنجش میـزان بقاءسـلولی ازروش رنگسـنجی 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium(MTT)استفاده شد. این روش بـر پایـه توانایی تبدی لمحلول MTT به بلورهای فورومـازان نـامحلول توسط سلولهای زنده استواراسـت(1,2). ایـن تسـت براسـاس فعالیت سوکسینات دهیدروژناز سلولهای زنده استوار اسـت،که محلول زردرنگ MTT را به کریسـتالهای نـامحلول فورمـازان بنفشرنگ تبـدیل میکنـد، کـه میتوانـد پـس از حـل کـردن در DMSO بادستگاه الایزا ریدر سنجش نمود .به منظورانجام ایـن تست، میزان ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی 104×5 سلول در هر میلی لیتر محیط کشت در میکروپلیتهای 96 کشت داده شدند. در ادامه سلولها با غلظتهای مختلـف زهـر زنبـور (0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1, 2, 4, 6,8,10, 12 µg/ml) به مدت ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند پس از طی زمانهای مورد نظر، بـه ازای هر ۲۰۰ میکرولیترازمحیط کشت، ۲۰ میکرولیتر رنگ MTT بـه هر خانه از پلیتهای 96 خانه ای اضافه شد. به هر خانه از پلیت 96 بافر گلایسین و DMSO اضـافه شـد و بعدازآنکـه ذرات رنگ بخوبی حل شدند،جذب نوری درطول موج ۵۷۰ نانومتر توسط ELISA Microplate Reader قرائت شد

آنالیز آماری

مقایسه تاثیر غلظتهای مختلف در هر ساعت بـرای هـر رده سـلولی بـا نـرم افـزار SPSS نسـخه ۲۰ بـه روش one way ANOVA مورد آنالیز آماری قـرار گرفـت و تحلیـل معنـی دار بودن داده ها به روش تـوکی صـورت گرفـت. مقایسـه دو رده سلوی در غلظتهای مشابه نیز به آزمون t مسـتقل مـورد آزمـون قرار گرفت.

یافته‌ها:

در جدول ۱ اثر غلظتهای مختلف زهر زنبورعسلبرسلولهای سرطانیHT-29 و L929 در ساعات ۲٤، ٤۸ و ۷۲ مورد بررسی آماری قرار گرفت نتایج نشان داد کـه بـا افـزایش غلظـت اثـر کشندگی آن بـر سـلول افـزایش مـی‌یابـد(P<0.0001). در ۲٤ ساعت اول اثر معنی دار زهر زنبورعسـلبر کشـندگی سـلولهای

Archive of SID
www.SID.ir

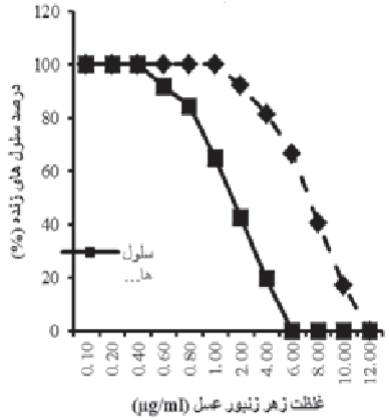
سرطانی HT-29 از غلظت 0.6µg/ml شروع میشود و در غلظت 6 زنده مانی سلول سرطانی به صفر میرسد. در ٤٨ ساعت اثر معنی دار زهر زنبورعسل بر کشندگی از غلظت ٠/٤ شروع میشود و در غلظت ٦ زنده مانی سلول سرطانی به صفر میرسد. در ٧٢ ساعت اثر معنی دار زهر زنبورعسل بر کشندگی از غلظت ٠/٤ شروع میشود و در غلظت ٤ زنده مانی سلول سرطانی به صفر میرسد. برای سلولهای طبیعی در ٢٤ ساعت اول اثر معنی دار زهر زنبورعسلبر کشندگی سلول از غلظت ٢ شروع میشود و در غلظت ١٢قدرت کشندگی سلول طبیعی به حداکثر میرسد. در ٢٤ ساعت دوم اثر معنی دار زهر زنبورعسلبر کشندگی از غلظت ١شروع میشود و در غلظت ١٢قدرت کشندگی سلول طبیعی به حداکثر میرسد.در ٢٤ ساعت سوم اثر معنی دار زهر زنبورعسلبر کشندگی از غلظت ١ شروع میشود و در غلظت ١٠ قدرت کشندگی سلول طبیعی به حداکثر میرسد.

جدول ١: بررسی اثرکشندگی زهر زنبورعسل برسلولهای روده بزرگ انسان(HT-29)و رده سلول طبیعی(L929) بر حسب زمان های پیگیری به تفکیک غلظت

غلظت زهر زنبورعسل (µg/ml)	سلولهای سرطانی HT-29			سلولهای L929		
	24	48	72	24	48	72
0.1	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a
0.2	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a
0.4	100±0.00a	99.33±0.67a	98.95±1.05a	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a
0.6	91.75±1.69b	85.23±2.92b	84.13±2.67b	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a
0.8	84.43±1.08c	75.27±2.46c	70.84±2.15c	100±0.00a	100±0.00a	100±0.00a
1	64.81±1.28d	57.13±0.45d	51.77±1.00d	100±0.00a	99.00±0.50a	97.50±0.46a
2	42.57±1.52e	30.83±1.80e	19.57±1.16e	92.00±0.96b	87.40±1.41b	85.12±0.82b
4	19.53±1.30f	9.73±1.58f	0.00±0.00f	81.33±1.54c	71.99±1.59c	69.30±0.66c
6	0.00±0.00g	0.00±0.00g	0.00±0.00f	66.63±1.18d	55.80±2.51d	44.49±1.09d
8	0.00±0.00g	0.00±0.00g	0.00±0.00f	40.48±1.63e	31.34±0.94e	17.87±1.37e
10	0.00±0.00g	0.00±0.00g	0.00±0.00f	17.00±0.79f	19.70±0.44f	0.00±0.00f
12	0.00±0.00g	0.00±0.00g	0.00±0.00f	0.00±0.00g	0.00±0.00g	0.00±0.00f

حروف متفاوت درهر ستون نشان از تفاوت معنی داری در سطح ($p<0.0001$) دارد.

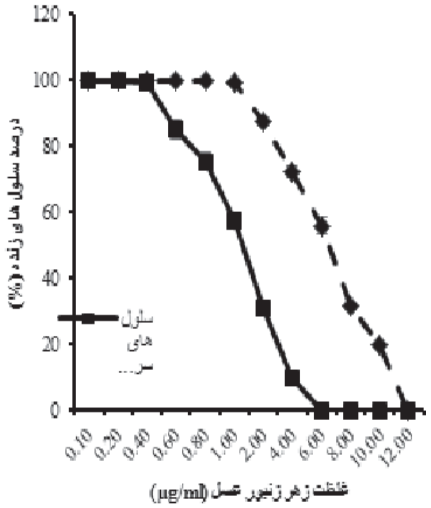
روند تغییرات زنده مانی سلول در ساعات ٢٤، ٤٨ و ٧٢ برایدو رده سلولی در سه نمودار زیر آورده شده است. آنالیز t-test مستقل بین غلظتهای مشابه در دو رده سلولی نشان داد که در ٢٤ ساعت اول و دوم تا غلظت ٠/٤ تفاوتی بین دو رده سلولی ناشی از تیمار با زهر زنبور عسل وجود ندارد اما از غلظت ٠/٦ در سطح ٠,٠٠٠١ بین دو رده سلولی در واکنش به زهر زنبور عسل تفاوت معنی دار وجود دارد. در غلظت ١٢دوباره دو رده سلولی از نظر زنده مانی با تیمار با زهر زنبور عسل یکسان میگردند.



نمودار١. درصد سلولهای زنده برحسب غلظت زهر زنبور عسل در ٢٤ ساعت

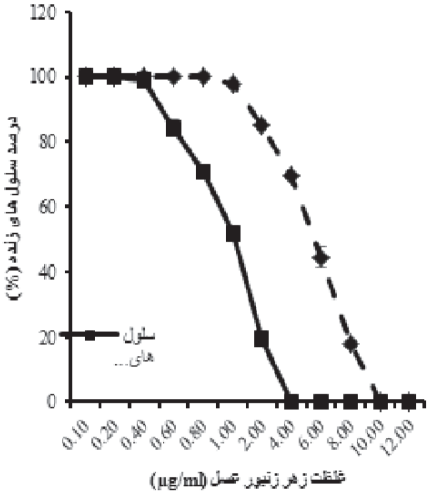
Archive of SID

www.SID.ir



نمودار۲. درصد سلولهای زنده برحسب غلظت زهر زنبور عسل و به تفکیک سلولها در ٤٨ ساعت

همچنین در ٢٤ ساعت سوم تا غلظت ٠/٤ تفاوتی بین دو رده سلولی ناشی از تیمار با زهر زنبور عسلوجود ندارد اما از غلظت ٠/٦ در سطح ٠,٠٠٠١ بین دو رده سلولی در واکنش به زهر زنبور عسل تفاوت معنی دار وجود دارد. اما در غلظت ١٠ دوباره دو رده سلولی از نظر زنده مانی با تیمار با زهر زنبور عسل یکسان میگردند.



نمودار ١.. درصد سلولهای زنده برحسب غلظت زهر زنبور عسل و به تفکیک سلولها در ٧٢ ساعت

میزان IC50 در این مطالعه برای زهر زنبورعسل، بر روی هر دو رده سلولی HT-29 و L929 در ٢٤ ساعت ابتدایی در جدول ٢ محسابه گردید و نشان می‌دهد با توجه به این معادلات غلظت موثر که در آن ٥٠ درصد سلولهای سرطانیHT-29 از بین رفتند برابر با IC50=2.55µg/mlو برای رده سلولی L929 میزان IC50 برابر با µg/ml6.87 بدست آمد. نسبت IC50 سلول L929 به IC50 سلول سرطانی HT-29 برابر است با 6.87/2.55=2.69 که نشان از نیاز بیشتر غلظت زهر زنبوربه میزان تقریبا ٢,٦٩ برابر نسبت به سلول سرطانیHT-29برای مشاهده اثر کشندگی ٥٠ درصدی روی سلول L929 دارد (جدول ٢).

جدول ٢: میزان IC50 و R2 در این مطالعه برای زهر زنبورعسل بر روی هر دو رده سلولی HT-29و L929

معادله سلول های نرمال برای محاسبه IC50	معادله سلول های سرطانی برای محاسبه IC50
IC = 113.938 - 9.305X X= غلظت زهر زنبورعسل	IC = 93.904–17.179X X= غلظت زهر زنبورعسل
R2 = 98.2%	R2 = 90.5%

R2 معیاری از مناسب‌بودن مدل برای برآورد زنده مانی براساس غلظت می‌باشد که هرچه به ١٠٠ نزدیک تر باشد بهتر است.

با توجه به این معادله غلظت موثر که در آن ٥٠ درصد سلولهای سرطانی از بین میروند برابر باIC50= 2.55µg/ml است.میزان همبستگی بین غلظت زهر و درصد سلولهای زنده HT-29برابر است با "٠/٩٥-" که نشان از همبستگی منفی و قوی بین غلظت زهر و درصد سلولهای زنده HT-29می باشد. بدین معنی که افزایش غلظت زهر با کاهش موثر درصد سلولهای زنده HT-29 همراه است. هرچه همبستگی به 1± نزدیکتر باشد همبستگی قویتر است.R2معیاریاز مناسب بودن مدل برای براورد زنده مانی بر اساس غلظت می‌باشد که هرچه به ١٠٠ نزدیک تر باشد بهتر است. با توجه به این معادله غلظت موثر که در آن ٥٠ درصد سلولهای L929 از بین میروند برابر با 6.87µg/mlبدست آمد ومیزان همبستگی بین غلظت زهر و درصد سلولهای زنده L929برابر است با "٠/٩٩-" که

Archive of SID
www.SID.ir

نشان از همبستگی منفی و قوی بین غلظت زهر و درصد سلولهای زنده L929 می‌باشد. بدین معنی که افزایش غلظت زهر با کاهش موثر درصد سلولهای زنده L929 همراه است.

بحث:

تحقیق نشان داد که زهر زنبورعسل در غلظت ٦/. در ٢٤ ساعت و ٤/. در ٤٨ ساعت و ٧٢ ساعت اثر کشندگی بر سلولهای سرطان روده دارد.

. در این مطالعه تاثیرات سلول کشی زهر زنبور علیه سلول های روده ای و فیبروبلاستی مورد بررسی قرار گرفتند و تلاش شد تا مناسب ترین مقدار موثره این ترکیب حیاتی بدست آیدسم زنبور توسط غدد آپیس ملیفرا تولید می‌شود (٩و ١٠) فاکتورهای متعددی تولید زهر زنبور عسل و کیفیت آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند. مانند: سن زنبور ، قدرت کلنی ، فصل جمع آوری ، منبع تغذیه ، رفتار دفاعی زنبورو روش جمع آوری زهر زنبور .زر زنبور عسل در طب سنتی برای درمان بسیاری از بیماری ها استفاده می‌شده است(١١و ١٢)

اخیرا مون و همکارانش نشان دادند که تنظیم کننده های کلیدی در زهر زنبور سبب القاء آپوپتوزیس Bcl-2 و-caspase 3 هستند و سبب تنظیم منفی مسیرهای فعال شده با موتان زا میشود. همچنین گزارش شده است که زهر زنبور سبب القاء آپوپتوز از طریق کاسپاز ٣ در فیبروبلاست های ریوی (٣٥و ٣٨) و هم چنین بیان سیکلواکسیژناز در سلول های سرطان ریه میشود (٣٦-٣٩). اخیرا گزارشات متعدد نشان داده اند که برخی مواد طبیعی رشد سلول های توموری و متاستاز را مهار میکنند و سبب القا آپوپتوز میشوند (٢٨). در طی دو دهه اخیر پپتید های ملیتین موجود در زهر زنبور به عنوان مهم ترین ترکیب زهر زنبور توجه بسیار زیادی به عنوان عامل بالقوه در درمان سرطان به خود جلب کرده است. (٤٠و٤١). ملیتین یک پپتید آمفی فیلیک است که گفته میشود تاثیرات همولیتیک و فعالیت آنتی میکروبی دارد. (٣٨). ملیتین همچنین تغییرات ساختاری غشاءها را در پی دارد که سبب ایجاد سوراخ، یکی شدن و وزیکولاسیون میشود (٤٢-٤٤). این تغییرات مورفولوژیکی غشاء میتوانند سبب ترشح هورمون(٤٥و ٤٦)، جداشدن پروتئین های غشاء(٤٧)، و تغییرات پتانسیل غشاء (٤٨) شوند. علاوه بر این ملیتین سبب القاء آنزیم های فراوانی مانند جی- پروتئین، پروتئین کیناز سی، آدنیلات سیکلاز فسفولیپاز سی، و فسفولیپاز دی میشود. ملیتین در القا پیام نقش دارد و به صورت مستقیم تغییرات نوکلئوتیدی توسط پروتئین های هفت بار گذرنده را القا میکنند. علاوه بر این، ملیتین مهارکننده فعالیت پروتین جی توسط کاهش تمایل GTP و GDP به پروتئین جی میشود. (٤٩). بنابراین فرض شده است که تحریک Gi و مهار Gs در مهار القا شده با ملیتین نقش دارد. ملیتین اولین پروتئینی است که فعالیت ذاتی پروتئین جی را مهار میکند(٤٨و ٤٩). گذشته از تاثیرات متعدد ملیتین، این ترکیب به عنوان یک فعال کننده فسفولیپاز A2 در سلول های مختلف شناخته میشود. فسفولیپاز A2ی ترشحی زهر زنبور که یکی از اعضاء خانواده فسفولیپاز ها است و هیدرولیز پیوند sn-2ی اسید چرب گلیسروفسفولیپیدهای غشائی را انجام میدهد و تولید اسید چرب آزاد و لیزوفسفولیپید میکند.(٥٠-٥٢). به صورت کلی، آنزیم های فسفولیپاز A2 میتوانند ایمنی سلول ها و توانایی تکثیر سلول های توموری را با مکانیسم های متعدد تحت تاثیر قرار دهند. فسفولیپاز A2 به صورت کاتالیتیکی اجزا غشاء یلولی را هیدرولیز و تجزیه میکنند(٤٧) و متعاقبا ساختار غشا دو لایه را به هم می‌ریزد. تعامل مستقیم فسفولیپاز A2 با گیرنده های سطح سلول انواع مختلفی از فعالیت های بیولوژیکی مانند رشد سلول را تنظیم میکنند (٤٨-٥٦). تحریک ایمنی و یا فعالیت سلول کشی ترکیباتی مانند فسفاتیدیل کولین، و واسطه های لیپیدی در مطالعات متعددی مشاهده شده اند. آنالوگ های سنتزی لیزولیپیدها، که از لحاظ ساختاری شبیه محصولات فسفولیپاز A2 هستند از طریق بلوگه کردن ERK و PKB/AKt فعالیت ضد رشدی و سلول کشی از خود نشان میدهند و بنابراین میتوانند برای درمان سرطان استفاده شوند (٥٧و ٥٨). ملیتین موجود در زهر زنبور حدود ٥٠-٧٠٪ ترکیبات آن را شامل میشود و یک پپتید ضد میکروبی است که فعالیت های بیولوژیکی متعددی دارد. گزارشات نشان میدهند که ملیتین یکی از مهار کننده های فعالیت کالمودولین است و به این طریق رشد سلول را مهار میکند. مهارکننده های

www.SID.ir
Archive of SID

کالمودولین برای سلول های سرطانی سمی هستند (٥٤). داروهایی که فعالیت کالمودولین را مهار میکنند سبب مهار سنتز DNA در سلول ها شده و حرکت کروموزوم ها در طی متافاز را بلوکه میکند و به این طریق رشد سلول های رحم همستر چینی را مهار میکند و سلول کشی وینکریستین، دوکسوروبیسین و بلئومایسین را افزایش میدهد (٥٩-٦٠). متاستاز سلول توموری فرایندی پیچیده است و شامل واکنش های بین سلول توموری و بافت میزبان میباشد. متاستاز تومور مهم ترین دلیل مرگ در بیماران سرطانی است. چو و همکارانش نشان دادند که زهر زنبور به صورت مستقیم مهاجرت سلول های سرطانی از طریق سرکوب بیان MMP-9 را مهار میکنند. اورسلیک نشان داد که متاستاز ریوی در سلول های موشی میتواند به صورت موثری توسط زهر زنبور و در دوز ۷۵ و ۱۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم مهار شود. (٥٧-٦١). با وجود مطالعات انجام شده در مورد تاثیر زهر زنبور بر سلول های سرطانی، به دلیل تنوع بالای سلول های سرطانی و هم چنین تنوع ترکیبات سمی زنبور های مختلف هنوز بررسی های بیشتر جهت یافتن بهترین دوز موثر و هم چنین بررسی احتمال تاثیر زهر زنبور بر سلول های مورد نظر لازم است

Archive of SID

www.SID.ir

References:

۱ . متولی زاده اردکانی علی ، هاشمی مامک، صفا کیش مهدیه، باقری اکرم عالم، برادران شکوهی شکوفه، مصدق محمود ، درمان دارویی سرطان در منابع طب سنتی ایران، مجله طب سنتی اسلام و ایران ۱۳۹۱ ; سال دوم ; شماره اول ; صفحات ۳ تا ۲۰

۲ . رابینز استنلی لئونارد ، آسیب شناسی ، ترجمه شامددی شهاب ، جهانگیری یونس ، ویراست هفتم ،... انتشارات دانش ،۱۳۸٤

۳ . سلطانی ابوالقاسم ، تاریخچه ورود درمان سرطان در طب سنتی ، مجموعه مقالات درباره طب سنتی ایران ، ۱۳٦۲

4. Tarver T. Cancer Facts & Figures 2012. American Cancer Society (ACS). J Consum Health Internet [Internet]. 2012 Jul [cited 2018 Jan 29];16(3):366–7

5. Palma, M.S. and M.R. Brochetto-Braga, Biochemical variability between venoms from .different honey-bee (Apis mellifera) racesComparative Biochemistry and Physiology Part C:Pharmacology, Toxicology and Endocrinology. 1993;106(2): 423-427

6. Shaposhnikova, V.V., L.N. Kublik, A.A. Narimanov,M.K.H. Levitman, O.E. Orlova, A.A. Kudriavtsev,V.V. Leshchenko and Iu. N. Korystov.Growth inhibition and induction of tumor cell deathby phospholipase A2 and lipoxygenase inhibitorsIzvestiia Akademii Nauk. Seriia Biologicheskaia. 2001; (2): 249-252.

7. Auturum, H. and H. Kneitz . DieGgiftsekretion in der Giftdruse derHonigbiene in Abhngigkeit vomLebensalter. Biol. Zentr.1959; ۷۸: ٦۰۲-٥۹۸..

8. Hegazi A. G. Role of cytokines inbee venom therapy - Part I.Apitherapy Review.2009; Issue 3

9. Banks, B.E.L. and R.A. Shipolini. Chemistry andpharmacology of honey-bee venom. In: T. Ipek, (Ed.),Venoms of the Hymenoptera. Academic Press. 1986; 330-403.

10. Hegazi, A.G. Role of cytokines in bee venomtherapy-Part I. Apitherapy Review. 2009; Issue 3.

11. Liu, X., Chen, D., Xie, L., & Zhang, R.Effect of honeybee venom on proliferation of K1735M2 mouse melanoma cellsin-vitro and growth of murine B16 melanomas in-vivo. Journalof Pharmacy and Pharmacology. 2002; 54(8), 1083–1089.

12. Potts, B.C.M., D.J. Faulkner, M.S. de Carvalho and R.S. Jacobs. The chemical mechanism ofinactivation of bee venom phospholipase A2 by themarine natural products manoalide, luffarielloide andscalaradial. J. Am. Chem. Soc.1992; 114: 5093-5100.

13. Habermann, E. Bee and wasp venomsthe biochemistry and pharmacology of their peptidesand enzymes are reviewed. Science. 1972; 177: 314-322.

14. Dotimas, E.M. and R.C. Hider. Honeybee venom. Bee World. 1987; 68(2): 51-70.

15. Hegazi, A.G. Medical importance of bee products. ARI B L M / BEE SCIENCE. 2012; 12(4): 136-146.

16. Shaposhnikova, V.V., L.N. Kublik, A.A. Narimanov,M.K.H. Levitman, O.E. Orlova, A.A. Kudriavtsev,V.V. Leshchenko and Iu. N. Korystov. Growth inhibition and induction of tumor cell death.by phospholipase A2 and lipoxygenase inhibitorsIzvestiia Akademii Nauk. Seriia Biologicheskaia. 2001; 249-252.

17. Orsoliæ, N., L. Sver, S. Verstovsek, S. Terziæ andI. Basiæ. Inhibition of mammary carcinoma cellproliferation in vitro and tumor growth in vivo by beevenom. Toxicon. 2003; 41(7): 861-870.

18. Harwig, S.S., L. Tan, X.D.Qu, Y. Cho, P.B. Eisenhauer and R.I. Lehrer. Bactericidal properties ofmurine intestinal phospholipase A2. The Journal ofClinical Investigation. 1995; 95(2): 603-610.

Archive of SID

www.SID.ir

19. Koduri, R., J. Gronroos, V. Laine, C. Le Calvez,G. Lambeau, T. Nevalainen and M. Gelb.Bactericidal properties of human and murine groupsI, II, V, X and XII secreted phospholipases A2. TheJournal of Biological Chemistry. 2002; 277(8): 5849-5857.

20. Boutrin, M.C., H.A. Foster and V.W. Pentreath.The effects of bee (Apis mellifera) venomphospholipase A2 on Trypanosoma brucei bruceiand enterobacteria. Experimental Parasitology. 2008; 119(2): 246-251.

21. Somerfield SD, Stach JL, Mraz C, Gervais F, and Skamene E. Bee venom inhibits superoxide production by human neutrophils.Inflammation.1984; 8: 385–391

22. Banks BEC and Shipolini RA. Chemistry and pharmacology of honeybee venom. In Venoms of the Hymenoptera. Piek T (ed.) Academic Press, London, UK.1986; 329–416.

23. Pan H, Soman NR, Schlesinger PH, Lanza GM, and Wickline SA. Cytolytic peptide nanoparticles ('NanoBees') for cancertherapy. Wiley Interdisciplinary Reviews-nanomedicine and Nanobiotechnology.2011; 3: 318–327

24. Saini SS, Peterson JW, and Chopra AK. Melittin binds to secretory phospholipase A2 and inhibits its enzymatic activity.Biochemical and Biophysical Research Communications. 1997; 238: 436–442

25. .Perumal SR, Gopalakrishnakone P, Thwin MM, Chow TK, Bow H, Yap EH, and Thong TWJ. Antibacterial activity of snake,scorpion and bee venoms: A comparison with purified venom phospholipase A2 enzymes. Journal of Applied Bacteriology.2007; 102: 650–659.

26. Yu AR, Kim JJ, Park GS, Oh SM Han CS and Lee MY. The Antifungal Activity of Bee Venom against Dermatophytes.Journal of Applied Biological Chemistry. ۲۰۱۲; ۵۵

27. Hood JL, Jallouk AP, Campbell N, Ratner L, Wickline SA: Cytolyticnanoparticles attenuate HIV-1 infectivity. Antivir Ther 2012, 18:95–103.

28. Kokot ZJ, Matysiak J, Kłos J, Kedzia B, Hołderna-Kedzia E: Application ofPrincipal Component Analysis for evaluation of chemical andantimicrobial properties of honey bee (Apis mellifera) venom. J ApicultRes 2009, 48:168–175

29. Ali MAASM: Studies on Bee Venom and Its Medical Uses. IJOART. ۲۰۱۲, ۱:۱–۱۵

30. 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

31. Park, H. J., Lee, S. H., Son, D. J., Oh, K. W., Kim, K. H., Song,H. S., Kim, G. J., Oh, G. T., Yoon, D. Y., & Hong, J. T.Antiarthritic effect of bee venom: inhibition of inflammationmediator generation by suppression of NF-kappaB throughinteraction with the p50 subunit. Arthritis and Rheumatism. 2004; 50(11), 3504–3515.

32. Varanda, E. A., & Tavares, D. C. Radioprotection:mechanism and radioprotective agents including honey beevenom. Venom Anim Toxins. 1998; 4(1), 5–21.

33. Kim, H. W., Kwon, Y. B., Ham, T. W., Roh, D. H., Yoon, S. Y.,Lee, H. J., Han, H. J., Yang, I. S., Beitz, A. J., & Lee, J. H. Acupoint stimulation using bee venom attenuatesformalin-induced pain behavior and spinal cord fos expressionin rats. Journal of Veterinary and Medicine Science. 2003; 65(3), 349–355.

34. Son, D. J., Lee, J. W., Lee, Y. H., Song, H. S., Lee, C. K., &Hong, J. T.Therapeutic application of anti-arthritis, painreleasing,and anti-cancer effects of bee venom and itsconstituent compounds. Pharmacology & Therapeutics. 2007; 115(2),246–270.

35. Yin, C. S., Lee, H. J., Hong, S. J., Chung, J. H., & Koh, H. G.Microarray analysis of gene expression in chondrosarcomacells treated with bee venom. Toxicon. 2005; 45(1), 81–91.

Archive of SID

www.SID.ir

36. Hu, H., Chen, D., Li, Y., & Zhang, X. Effect ofpolypeptides in bee venom on growth inhibition and apoptosisinduction of the human hepatoma cell line SMMC-7721 in-vitroand Balb/c nude mice in-vivo. Journal of Pharmacy andPharmacology. 2006; 58(1), 83–89

37. Moon, D. O., Park, S. Y., Heo, M. S., Kim, K. C., Park, C., &Ko, W. S Key regulators in bee venom-inducedapoptosis are Bcl-2 and caspase-3 in human leukemic U937cells through downregulation of ERK and Akt. InternationalImmunopharmacology. 2006; 6(12), 1796–1807..

38. 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. Beevenom induces apoptosis through caspase-3 activation insynovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis.Toxicon. 2005; 46, 39–45.

39. Jang, M. H., Shin, M. C., Lim, S., Han, S. M., Park, H. J., &Shin, I. Bee venom induces apoptosis and inhibitsexpression of cyclooxygenase-2 mRNA in human lung cancercell line NCI-H1299. Jounal of Pharmacology Science. 2003; 91(2),95–104.

40. Leuschner, C., & Hansel, W. Membrane disrupting lyticpeptides for cancer treatments. Current Pharmaceutical Desing. 2004; 2299–2310.

41. Ling, C. Q., Li, B., Zhang, C., Gu, W., Li, S. X., Huang, X. Q.,& Zhang, Y. N. Anti-hepatocarcinoma effect of recombinantadenovirus carrying melittin gene. Zhonghua Gan ZangBing Za Zhi. 2004; 741–744.

42. Wade, D., Boman, A., Wahlin, B., Drain, C. M., Andreu, D.,Boman, H. G., & Merrifield, R. B. The Proceedings ofthe National Academy of Sciences USA. 1990; 4761–4765.

43. Katsu, T., Kuroko, M., Morikawa, T., Sanchika, K., Fujita, Y.,Yamamura, H., & Uda, M. Mechanism of membranedamage induced by the amphipathic peptides gramicidin S andmelittin. Biochimica et Biophysica Acta. 1989; 135–141.

44. Dempsey, C. E.The actions of melittin on membranes.Biochimica et Biophysica Acta. 1990; 143–161.

45. Ladokhin, A. S., Selsted, M. E., & White, S. H. Sizingmembrane pores in lipid vesicles by leakage of co-encapsulatedmarkers: pore formation by melittin. Biophysical Journal. 1997; 1762–1766.

46. Kiesel, L., Rabe, T., Hauser, G., Przylipiak, A., Jadali, F., &Runnebaum, B. Stimulation of luteinizing hormonerelease by melittin and phospholipase A2 in rat pituitary cells.Molecular and Cellular Endocrinology. 1987; 51, 1–6.

47. Hui, S. W., Stewart, C. M., & Cherry, R. J. Biochimica etBiophysica Acta. 1990; 335–340.

48. Carrasquer, G., Li, M., Yang, S., & Schwartz, M. Effectof melittin on PD, resistance and short-circuit current in thefroggastric mucosa. Biochimica et Biophysica Acta. 1998; 346–354.

49. Fukushima, N., Kohno, M., Kato, T., Kawamoto, S., Okuda, K.,Misu, Y., & Ueda, H. Melittin, a metabostatic peptidinhibiting Gs activity. Peptides. 1998; 811–819.

50. Dennis, E. A.Diversity of group types, regulation, andfunction of phospholipase A2. Journal of Biological Chemistry. 1994; 13057–13060.

51. Six, D. A., & Dennis, E. A. The expanding superfamilyof phospholipase A(2) enzymes: classification and characterization.Biochimica et Biophysica Acta. 2000; 488, 1–19.

52. Valentin, E., & Lambeau, G. What can venomphospholipases A(2) tell us about the functional diversity ofmammalian secreted phospholipases A(2)? Biochimie. 2000; 815–831.

53. Lambeau, G., Schmid-Alliana, A., Lazdunski, M., & Barhanin, J. Identification and purification of a very high affinitybinding protein for toxic phospholipases A2 in skeletal muscle.

Archive of SID
www.SID.ir

54. Journal of Biology and Chemistry. 1990; 9526–9532.

55. Lambeau, G., & Lazdunski, M.Receptors for a growingfamily of secreted phospholipases A2. Trends inPharmacologyScience. 1999; 162–170.

56. Fonteh, A. N., Atsumi, G., LaPorte, T., & Chiltonm, F. H. Secretory phospholipase A2 receptor-mediated activationof cytosolic phospholipase A2 in murine bone marrow-derivedmast cells. Journal of Immunology. 2000; 2773–2782.

57. Ruiter, G. A., Verheij, M., Zerp, S. F., & van Blitterswijk, W. J. Alkyl-lysophospholipids as anticancer agents andenhancers of radiation-induced apoptosis. International Journalof Radiation Oncology, Biology, Physics. 2001; 415–419.

58. Ruiter, G. A., Zerp, S. F., Bartelink, H., van Blitterswijk, W. J.,& Verheij, M. Anti-cancer alkyl-lysophospholipidsinhibit the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt/PKB survival pathway.Anti-Cancer Drugs. 2003; 167–173.

59. Oršolić, N. Potentiation of Bleomycin lethality on HeLaand V79 cells by bee venom. Arhives of Industrial Hygiene andToxicology. 2009; 317–326

60. Chafouleas, J. G., Botton, W. E., & Means, A. R.Potentiation of bleomycin lethality by anti-calmodulin drugs: arole for calmodulin in DNA repair. Science. 1984; 1346–1348.

61. Oršolić, N., & Bašić, I. Apoptosis and necrosis aspossible mechanisms for antitumor activity of bee venom.Mellifera. 2003; 34

Archive of SID

www.SID.ir