Archive of SID

تأثیر سم زنبور عسل بر رمیلینه شدن در رتهای ویستار دمیلینه شده با اتیدیوم بروماید

مهناز آذرنیا*، محمد نبیونی، ساره رجبی زلتی، سیده غدیره میرابوالقاسمی و الهام حویزی

تهران، دانشگاه تربیت معلم، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۸۸/۷/۱٤

چکیده

مولتیپل اسکلروزیس (MS) یکی از بیماریهای التهابی مزمن تخریب میلین در سیستم عصبی مرکزی (CNS) است. تخریب میلین یک مشخصه کلاسیک بیماری MS می باشد. تخریب شیمیایی میلین بوسیله اتیدیوم بروماید یکی از متداول ترین مدلهای کاربردی برای کشف ظرفیت جبرانی CNS است. در این تحقیق دخالت الیگودندروسیت‌های بالغ در ترمیم میلین پس از القاء با اتیدیوم بروماید در ساقه مغز رتهای ویستار مورد بررسی قرار گرفت و سپس تأثیر سم زنبور عسل (Bee Venom) بر ترمیم میلین مطالعه شد. تاکنون زنبور درمانی به طور گسترده‌ای علیه بیماریهای التهابی مانند MS مورد استفاده قرار گرفته است. اما مکانیسم دقیق آن تا به حال شناسایی نشده است. مطالعات پیشنهاد می‌کند که ترکیبات آلرژیکی اولیه سم زنبور عسل مانند هیستامین و فسفولیپاز A2 تولید اینترلوکین ۱۰ را توسط سلولهای Th-2 القاء کرده و تکثیر سلولهای T را سرکوب می کنند. مطالعات نشان می دهد که خواص ضد التهابی و ضد دردی سم زنبور عسل به فعالیت آدرنورسپتورو نوروترنسمیژن سروتونرژیک مربوط می شود. در این تحقیق۳۰ رت ویستار نربالغ با وزن تقریبی۲۵۰-۲۰۰ گرمی استفاده شد. رتها به ٤ گروه تقسیم شده و به همه گروهها(به جز کنترل و شم) تزریق۱۰ میکرولیتر اتیدیوم بروماید (EB) ۰/۱۵ درصد و یا سالین ۰/۹ درصد به ترتیب به عنوان گروه تجربی و شم به ناحیه سیسترنا مگنا صورت گرفت. پس از ۱۰- ۸ روز بعد از تزریق EB، رتها در هر ۳ گروه به طور تصادفی کشته و بافت ساقه مغزی برای پروسه هیستوتکنیک آماده شد و اثبات القاء بیماری با استفاده از دو روش رنگ آمیزی لوکسال فست بلو و سولوکروم سیانین مورد بررسی قرار گرفت. پس از۱۳ روز از تزریق اتیدیوم بروماید، سم زنبورعسل به مدت۱۰ روز به صورت درون صفاقی به همه گروهها تزریق شد. رتها در روزهای ۹ ،۱۳ و۲۷ پس از تزریق اولیه کشته و ساقه مغز جمع آوری و جهت مطالعه میکروسکوپ نوری آماده شد. آنالیز آماری داده ها با استفاده از برنامه SPSS با روش ONE WAY ANOVA انجام گرفت و $p<0.05$ معنی دار تلقی شد. نتایج این تحقیق نشان می دهد BV یک تأثیر مثبت روی آکسونهایی که میلین خود را از دست داده اند در جهت ترمیم و تولید مجدد میلین داشته است. می توان نتیجه گیری کرد که سم زنبور با کاهش التهاب در مناطق آسیب دیده می تواند سبب تحریک مهاجرت سلولهای پروژنیتور الیگودندروسیت و افزایش میلین‌سازی در آکسونهای آسیب دیده گردد. مطالعات دقیق تر نیاز به بررسیهای مولکولی بیشتر با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمی بافت ساقه مغزی دارد.

واژه های کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس، اتیدیوم بروماید، تخریب میلین، میلین سازی ، زهر زنبور عسل

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۲۱۳۰٤۵۵٦، پست الکترونیک:azarnia_97@yahoo.com

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری خودایمنی در ارتباط با تخریب میلین التهابی مزمن سیستم عصبی مرکزی(CNS) می باشد. به دلیل پیچیدگی و ناهمگنی بیماری، آسیب شناختی آن تاکنون ناشناخته باقی مانده است(۲۲ و ۲۳). آسیبهای MS به وسیله التهاب رگهای خونی پری ونتریکولار و نقص دیواره آنها که منجر به عبور لنفوسیت‌های T و مونوسیت‌ها می گردد، مشخص می شود (۱۸). مدلهای تخریب میلین در حیوانات

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایشگاهی بهترین راه برای کشف چگونگی ایجاد بیماری و پیدا کردن راه حلهایی برای ترمیم میلین می باشد. در میان مدلهای توکسیک، EB اتیدیوم بروماید و Cuprizon با تغییر دادن DNA میتوکندریایی منجر به تنفس غیر نرمال و نکروزیس شده سبب تخریب میلین می شوند، مورد استفاده بیشتری قرار می گیرند (۱، ٤ و ۲۱). مطالعات اخیر یک ترمیم میلین محدود را در بیماران مبتلا در مناطق دچار آسیب میلینی نشان می دهد. اما به نظر می رسد که چنین ترمیمی به طور عمده در مراحل اولیه بیماری رخ می دهد (۱۹). احتمالاً محیط سلولی و خونی جایگاه آسیبها با افزایش التهاب تغییر کرده و در نتیجه عوامل محیط از یک ترمیم میلین موفق جلوگیری می کند. در بسیاری از مدلهای حیوانی این بیماری مشاهده شده است آسیب میلینی ناشی از عوامل توکسیک ترمیم بالایی را نشان می دهد. رمیلینه شدن احتمالاً یک امر موقتی و گذرا است و به کار گیری سلولهای پروژنیتور الیگودندروسیت (OPCs) نسبت داده می شود. تصور می شود که الیگودندروگلیا ترمیم کننده میلین در چنین آسیبهایی از الیگودندروگلیا پیش ساز نابالغ مشتق می شود (٦، ۷ و ۲۵). که ممکن است ژنهای تکوینی دوباره بیان شده و میلین جدیدی را در مناطق دمیلینه شده تولید کند (۱۷). مطالعات ژنهای دودمانی الیگودندروسیت‌ها نشان داده اند که فاکتور۱رونویسی الیگودندروسیت (olig1) در طی رمیلینه شدن در بیماران MS دوباره بیان می شود (١٦). مطالعات متعددی نشان داده است سم زنبور(Bee Venom) را می‌توان به عنوان یک درمان امکان پذیر برای بیماران MS مورد استفاده قرار داد(۹). سم زنبور عسل شامل تنوعی از پپتیدها (ملیتین، آپامین، سکاپین، MCDP(Mast Cell Degranulating Peptide)، ترتیاپین، آدولاپین)، آنزیمها (فسفولیپاز A2، هیالورونیداز،اسید فسفومنواستراز، لیزوفسفولیپاز)، آمینهای فعال (هیستامین، دوپامین، نوراپی نفرین و سروتونین) و ترکیبات دیگر می باشد. ملیتین و فسفولیپاز A2، دو جزء اصلی سم زنبور، نقش مهمی در ایجاد تحریک و آلرژی ایفاء می کنند، از این رو می توانند اثرات ضد التهابی و ضد دردی را ایجاد کنند(۱۳). هیالورونیداز، فسفولیپاز A2، هیستامین وMCDP در پاسخ التهابی سم با نرم کردن بافت و تسهیل جریان سوبستراهای مفید دیگر به مناطق آسیب دیده بافت عصبی درگیرند (١٦ و ٢٤).

مواد و روشها

در این تحقیق از رتهای نر نژاد ویستار با وزن تقریبی۲۵۰-۲۰۰ گرم به دلیل سهولت القاء سریع تر و در دسترس بودن استفاده شد. تعداد رتها در این مطالعه ۳۰ رت بود. رتها با استفاده تزریق درون صفاقی از محلولهای بیهوشی کتامین/ زایلزین (۱۰۰g /۰/۱ mlدرصد :۱:۵) بیهوش شدند. گروه کنترل که به عنوان گروه شاهد بوده هیچ تزریقی صورت نگرفت. در گروه شم تزریق سالین۰/۹ درصد به درون سیسترنا مگنا، یک فضای زیرعنکبوتیه وسیع زیر سطح شکمی پل مغزی، انجام گرفت و درگروه تجربی ۱۰ میکرولیتر محلول اتیدیوم بروماید ۰/۱۵ درصد به درون سیسترنا مگنا تزریق شد. در این تحقیق روش جراحی با استفاده از دستگاه استریوتاکسی و به کمک سرنگ هامیلتون متصل شده به سوزن ۲۷ درجه انجام گردید (۱۲، ۱۸،۱۹ و ۲۰). در روز نهم پس از تزریق اتیدیوم بروماید تخریب میلین در ساقه مغز خصوصا در پل مغزی به اوج خود رسید. بنابراین رتها کشته شده و نمونه های ساقه مغزی جمع آوری شد و جهت مراحل هیستوتکنیک آماده گردید. نمونه‌هایی که برای میکروسکوپ نوری در نظر گرفته شده بود با فرمالین۱۰ درصد (یکی از انواع فیکساتیوهای مخصوص بافت عصبی) تثبیت شده، سپس مراحل آبگیری و قالب گیری برای هر کدام از نمونه‌ها به طور جداگانه صورت گرفت. نمونه‌های مربوط به مطالعه با میکروسکوپ نوری با سولوکروم سیانین و لوکسال فست بلو(Luxol Fast Blue) رنگ آمیزی شدند. روز سیزدهم پس از تزریق اتیدیوم بروماید شروع ترمیم میلین در ساقه

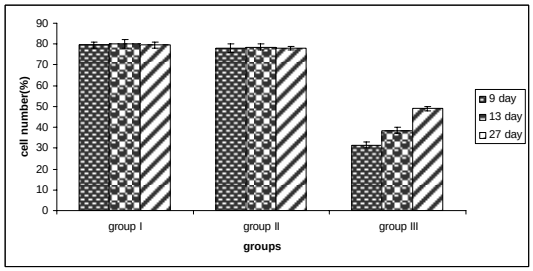
www.SID.ir

Archive of SID

مغزی بود. بنابراین در این روز نیز نمونه‌ی ساقه مغزی جمع آوری و جهت مطالعات میکروسکوپ نوری آماده گردید. همچنین در این روز تزریق درون صفاقی سم زنبور عسل با حجم۰/۲ میلی گرم در۵۰ میکرولیتر برای هر رت در نظر گرفته شد. این تزریق به مدت ۱۰ روز ادامه یافت. گروه تجربی در این تحقیق به دو گروه تقسیم شده بود، یک گروه بدون دریافت سم زنبور عسل و گروه دوم تیمار با سم زنبور عسل بودند. سپس در روز۲۷ رتها در هر دو گروه کشته شده و نمونه‌های ساقه مغز جمع آوری و جهت بررسیهای میکروسکوپ نوری آماده گردید (۲ و ۸). آنالیز آماری گروهها با برنامه نرم افزاریSPSS و با روش ONE WAY ANOVA انجام شد وP value کمتر از۰/۰۵ معنی دار تلقی شد.

جدول ۱- مقایسه تعداد سلولهای الیگودندروسیت در روز های ۹، ۱۳ و ۲۷ روز پس از تزریق اتیدیوم بروماید در گروههای کنترل(I) ، شم(II) و تجربی(III).

Groups	Percentage of oligodendrocyte cell		
	Day 9	Day 13	Day 27
Group I	1.732± 80	1.202± 79.66	1.453± 80.66
Group II	1.155± 77	1.453± 77.33	1.202± 78.33
Group III	1.764± 32.33	0.881± 38.66	2.333± 46.33



نمودار ۱- مقایسه آماری تعداد سلولهای الیگودندروسیت در گروههای مختلف مورد آزمایش بدون سم زنبور.
گروه I: گروه کنترل به عنوان گروه شاهد بدون تزریق EB
گروه II: گروه شم، تزریق شده با سالین
گروهIII: گروه تجربی، تزریق شده یا EB
بارها میانگین+ انحراف معیار و * تفاوت معنایی را در $p<0.05$, (**) at $p<0.01$, (***) at $p<0.001$ نشان می دهد.

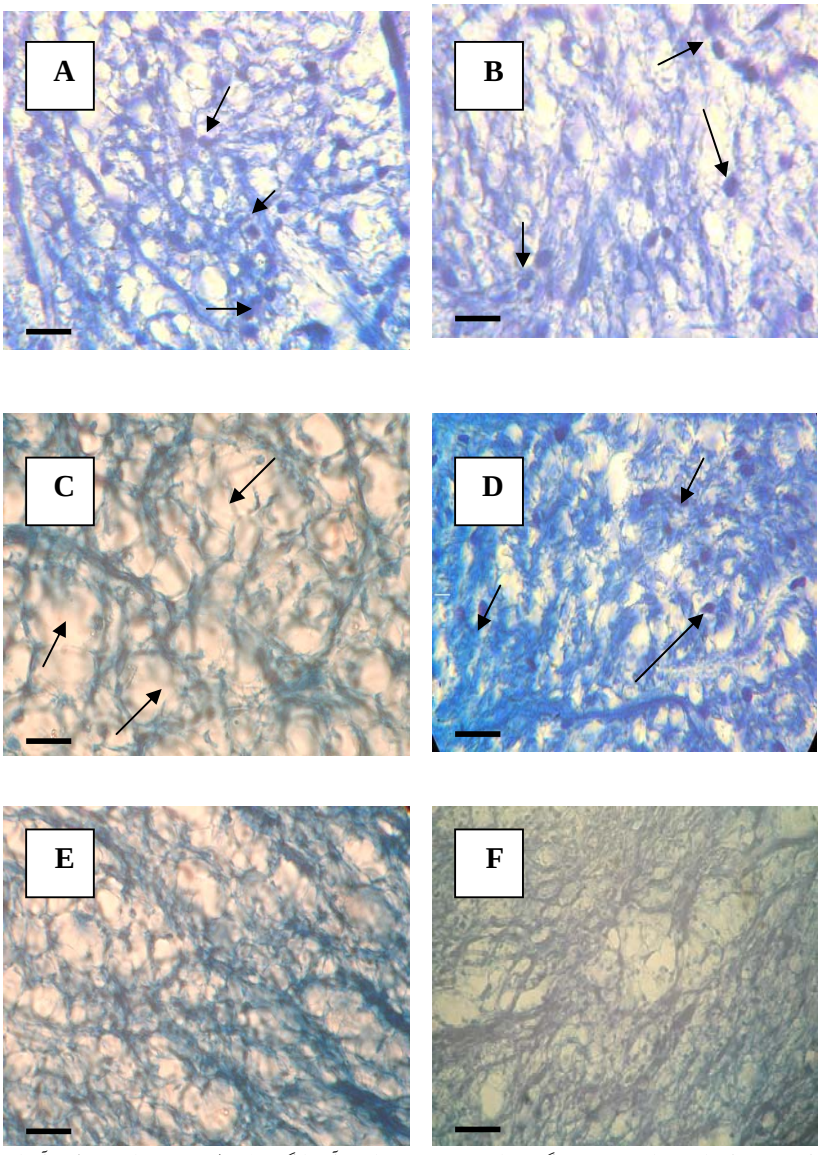
نتایج

مطالعه بافت ساقه مغزی در روزهای مختلف در گروه تجربی تفاوت چشم‌گیری را در مقایسه با گروه کنترل و شم از خود نشان می دهد. بافت ساقه مغزی به خصوص در ناحیه پل مغزی در گروه تجربی القاء شده با اتیدیوم بروماید در روز نهم پس از تزریق به صورت بافت اسفنجی و واکوئله دیده شد که نشان دهنده از بین رفتن میلین می باشد (شکل ۱). در این روز تخریب میلین به اوج خود می رسد(۲ و ۸). در حالی که در گروه شم بافت به صورت طبیعی و مشابه با گروه کنترل می باشد. در روز۱۳ در بافت ساقه مغزی تغییراتی در مقایسه با روز نهم مشاهده می گردد که شامل ایجاد رگهای خونی جدید و افزایش سلولهای الیگودندروسیت در مناطق آسیب دیده است. چنین تغییراتی نشان دهنده زمان آغاز ترمیم میلین خواهد بود(۸ و ۹). بنابراین تزریق سم زنبور عسل در این روز شروع شد که تا ۱۰ روز ادامه یافت. مطالعه ساقه مغزی در روز۲۷ در گروه تجربی تیمار با سم زنبور عسل نیز تغییرات چشم گیری را در مقایسه با گروه تجربی بدون سم از خود نشان می دهد (نمودار ۱ و جدول ۱). در گروه

www.SID.ir

Archive of SID

تجربی بدون دریافت سم زنبور روند ترمیم میلین به طور طبیعی و کند انجام می گردد که روند ترمیم تا روز ۲۷ مطالعه گردید. در گروه تجربی تیمار با سم زنبور افزایشی در تعداد سلولهای الیگودندروسیت در مناطق آسیب دیده ، کاهش التهاب، و کاهش سلولهای فاگوسیتوز در نتیجه تسریع در روند ترمیم میلین دیده می شود (نمودار ۲ و جدول ۲).



شکل ۱- فتومیکروگراف نوری از بافت ساقه مغزی در گروههای تجربی در مقایسه آن با گروه کنترل در روزهای مختلف آزمایش(رنگ آمیزی LFB و سولوکروم سیانین) بزرگنمایی ۱۰۰۰×. Scale Bars =10µ

A- بافت ساقه مغزی در گروه کنترل در روز ۹، سلولهای الیگودندروسیت در بافت طبیعی(فلش)،

B- بافت ساقه مغزی در گروه شم سلولهای الیگودندروسیت مشابه با گروه کنترل(فلش) در روز ۹

C- بافت ساقه مغزی در گروه تجربی، مناطق واکوئله و اسفنجی فاقد میلین(فلش) در روز۹ پس از تزریق اتیدیوم بروماید که نشان دهنده القاء تخریب میلین است.

D- بافت ساقه مغزی در گروه تجربی در روز ،برگشت سلولهای الیگودندروسیت(فلش) روز۱۳شروع میلین سازی،

www.SID.ir

Archive of SID

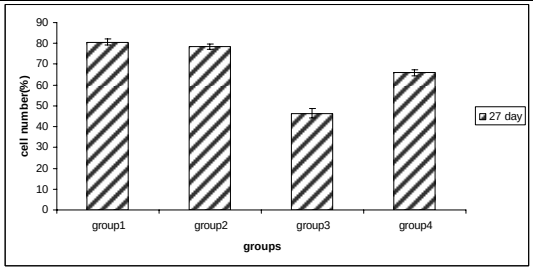
E- بافت ساقه مغزی در گروه تجربی بدون سم زنبور عسل در روز ۲۷، روند طبیعی برگشت میلین که در مقایسه با گروه تیمار سم زنبور عسل تعداد کمتری سلول الیگودندروسیت در مناطق آسیب دیده مشاهده شد.

F- بافت ساقه مغزی در گروه تجربی تیمار با سم زنبور عسل در روز۲۷، به حضور تعداد وسیع سلولهای الیگودندروسیت در مناطقی که میلین خود را از دست داده اند توجه فرمایید.

مقایسه بین گروهها در روزهای ۹ ،۱۳ و۲۷ نتایج معنی-داری را در P<0/001 نشان داد.

جدول ۲- مقایسه تعداد سلولهای الیگودندروسیت در روز ۲۷ پس از تزریق اتیدیوم بروماید در گروههای کنترل(I) ، شم(II) و تجربی(III) و تجربی تیمار با سم زنبور عسل(IV).

Groups	Percentage of oligodendrocyte cell
	Day 27
Group I	1.453 ± 80.66
Group II	1.202 ± 78.33
Group III	2.333 ± 46.33
Group IV	1.155 ± 66



نمودار۲- مقایسه آماری تعداد سلولهای الیگودندروسیت در گروههای مختلف مورد آزمایش با سم زنبور.

گروه I: گروه کنترل به عنوان گروه شاهد بدون تزریق EB

گروه II: گروه شم، تزریق شده با سالین

گروهIII: گروه تجربی، تزریق شده یا EB

گروه IV: گروه تجربی تزریق شده با EB تیمار با سم زنبور عسل

بارها میانگین+ انحراف معیار و * تفاوت معنایی را در $p<0.05$, (**) at $p<0.01$, (***) at $p<0.001$ نشان می دهد.

بحث

Mazzanti و همکارانش در سال۲۰۰۷ با استفاده از اتیدیوم بروماید دمیلینه شدن موضعی(یک مدل تجربی تخریب میلین شیمیایی سیستم عصبی مرکزی) را در رتهای نژاد ویستار القاء کردند. آنها ابتدا با تزریق اتیدیوم بروماید در ساقه مغزی تخریب میلین موضعی را در رتهای ویستار القاء کرده و با استفاده از میکروسکوپ نوری در روزهای مختلف مناطق واکوئله شده و اسفنجی را مشاهده نمودند(۱۳،۱۲،٤). نتایج حاصل از بررسی این تحقیق نشان داد که آسیبهای تخریب میلین به دلیل ناپدید شدن اولیه سلولهای گلیال ایجاد شد. در تحقیق حاضر نیز نتایج مشابهی گرفته شد. آزمایشات مشابهی نیز توسط Levine & Reynolds در سال ۱۹۹۹ با استفاده از روش فوق انجام گرفته بود و تأثیر اتیدیوم بروماید در تخریب میلین را نشان داد(۱۰). بدین ترتیب مدل تجربی تخریب میلین با اتیدیوم بروماید یک روش مفید برای نشان دادن شرکت سلولهای الیگودندروسیت‌ها در فرآیند ترمیم میلین می باشد. اگر چه از سال۱۹۹۲ سم زنبور درمانی Bee Venom Therapy(BVT) برای بیماران MS در روسیه آغاز شد. اما مکانیسم دقیق تأثیر آن بر روی بیماری هنوز ناشناخته باقی مانده است (۳، ۸ و ۹). سم زنبور درمانی به طور گسترده ای در درمان بیماریهای ضد التهابی مزمن مؤثر است(۵).

Hadjipetrou-Kourounakis and Yiangou گزارش دادند که ترکیبات تشکیل دهنده سم زنبور فعال سازی سلولهای لنفوسیت B وTرا مهار می کند و احتمالاً فعال سازی یک ویروس درون زاد endogenous را که ممکن است یک بیماری را القاء کند نیز مهار می سازد (۵). در تحقیق

www.SID.ir

Archive of SID

حاضر نیز نتیجهٔ به دست آمده است نشان می دهد که ترکیبات ضد التهابی سم زنبور با کاهش التهاب سبب مهاجرت پروژنیتورهای الیگودندروسیت به مناطق آسیب دیده می شود. ملیتین که یکی از ترکیبات اصلی سم *زنبور* عسل می باشد، یک عامل ضد التهابی بالقوه (صد بار قوی تر از هیدروکورتیزول) است. همچنین آدولاپین یک ماده ضد التهابی بوده که سیکلو اکسیژناز را مهار می کند. هیالورونیداز ، فسفولیپاز A2 ، هیستامین و (Mast Cell Degranulating peptid) MCDP در پاسخ التهابی سم درگیرند (۱۵). همچنین ویژگیهای ضد التهابی کل سم زنبور عسل در مدل *رت* دارای آرتریت القایی شده گزارش شده که تزریق سم زنبور ، سرکوب مهاجرت لوکوسیت و یک کاهش در غلظت-TNF α (فاکتور تومور نکروزیز) را ایجاد می کند(١٤). این نتایج پیشنهاد می کند که خاصیت ضد التهابی سم زنبور در بخشی بوسیله آزاد سازی کاتکول آمینها از مدولای آدرنال میانجی‌گری می شود(۱۵). همچنین طبق مطالعات Markelo and trushin در سال۲۰۰٦ برخی از اثرات احتمالی زنبور درمانی بر روی بیماری MS را این چنین بیان کردند:

۱- تعدیل سیستم ایمنیimmunomodulation: شامل تحریک فعالیت فاگوسیتوزی و مهار مهاجرت سلولهای سفید خون

۲- مهار آسیب به میلین: شامل اثرات ضد التهابی ملیتین،MCDP فسفولیپاز A2 و اثرات Antianoxic ترکیبات سم زنبور

۳- افزایش ترمیم میلین : سم زنبور شامل۱۸ تا۲۰ اسید آمینه ضروری جهت سنتز میلین می باشد.

٤- برگشت دادن فعالیت فیزیکی: بهبود انتقال نوروترنسمیترها در سراسر فیبر عصبی(۱۱).

نتیجه آنکه بکارگیری سم زنبور عسل در گروههای القاء شده بیماری MS موجب تقویت ترمیم میلین در رشته‌های عصبی آسیب دیده در ناحیه ساقه مغزی می گردد. چنین فرآیندی به افزایش مهاجرت سلولهای پیش ساز الیگودندروسیت به مناطق آسیب دیده باز می گردد. هم چنانکه حضور الیگودندروسیت‌ها منجر به ساخته شدن میلین در اطراف رشته‌های عصبی می شود.

تقدیر و تشکر: از جناب آقای دکتر ایمانی دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات جهت تهیه سم زنبور عسل و از جناب آقای دکتر فرید ابوالحسنی و آقای دکتر مسعود حمادی از گروه آناتومی دانشگاه تهران و جناب آقای امین شرافت و سرکار خانم صبا مظفری از دانشکده فیزیولوژی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس جهت همکاری های لازم در جهت انجام پروژه سپاسگزاری و قدردانی می گردد.

منابع

1 - Blakemore, WF., Suzuki, K. 1979. Ethidium bromide induced demyelination in the spinal cord of the cat. *Neuropath App Neurobiol, 8,365–385*

2 - Bondan, E.F., Lallo M.A., Trigueiro, A.H., Ribeiro, C.P., Sinhorin I.L., Graça D.L. 2006. Delayed Schwann cell and oligodendrocyte remyelination after ethidium bromide injection in the brainstem of Wistar rats submitted to streptozotocin diabetogenic treatment. *Biological Research, 39,637-646*

3 - Casrto, H J., Mendez, J I., Omidvar, B., Omidvar, J., Santilli, J., Nielsen, H.S., Pavot, A.P., Richert, J R., Bellanti, J A.2005. Aphase I study of the safety of Honeybee Venom extract as a possible treatment for patients with progressive froms of multiple sclerosis**.** *Allergy and Asthma proc. Vol 26,No. 6, 470- 477*

4 - Graca, D.L., Bondan, E.F., Violin Dias, L.A., Fernandes, C.G., Maiorka, P.C. 2001. Behaviour of oligodendrocytes and schwann cells in an experimental model of toxic demyelination of the central nervous system. *Arq Neuropsiquitr , 2-B, 358- 361*

5 - Hadjipetrou, L., Yiangou, M. 1988. Bee venom, adjuvant induced disease and interleukin production**.** *J Rheumatol, 15, 1126-1128*

www.SID.ir

Archive of SID

6 - He, F., Sun, Y. 2007. Glial cells more than support cells?. *The international journal of biochemistry & biology, 39, 661-665*

7 - Kim, HW, Kwon, YB, Han, HJ, et al: 2005.Antinociceptive mechanisms associated with diluted bee venom acupuncture (apipuncture) in the rat formalin test: involvement of descending adrenergic and serotonergic pathways. Pharmacol Res 51:183-188

8 - Lee, JD, Park, HJ, Chae, Y, et al: *2005*.An overview of bee venom acupuncture in the treatment of arthritis**.** *Evid Based Complement Alternat Med 2:79–84*

9 - Lee, JY, Kang, SS, Kim, JH, et al: *2005*. Inhibitory effect of whole bee venom in adjuvant- induced arthritis. *InVivo 19:801-805*

10 - Levine, J.M., Reynolds, R. 1999. Activation and proliferation of endogenous oligodendrocyte precursor cells during ethidium bromide-induced demyelination. *Experimental Neurology, 160, 333- 347*

11 - Markelove, V., Trushin, M., 2006. Bee Venom therapy and low dose Naltrexone for treatment on Multiple Sclerosis. *Nepal Journal of Neuroscience 3:71-77*

12 - Mazzanti, C., Spanevello, R., Morsch, A., Zanin, R., Battisti, V., Ahmed, M., Gonçalves J., Mazzanti, A., Graça, D., Morsch, V., Schetinger, M.C. 2007. Previous treatment with ebselen and vitamin E alters adenine nucleotide hydrolysis in platelets from adult rats experimentally demyelinated with ethidium bromide**.** *Life Sciences, 81 , 241–248.*

13 - Mazzanti, C., Spanevello, R., Ahmed, M., Schmatz, R., Mazzanti, A., Salbego, F., Grac, D., Sallis, E., Morsch, V., Schetinger, M. 2007. Cyclosporine A inhibits acetylcholinesterase activity in rats experimentally demyelinated with ethidium bromide. Int. *J. Devl Neuroscience ,25 ,259–264*

14 - Mirshafiey, A. 2007. Venom therapy in multiple sclerosis. *Neuropharmacology xx, 1-9*

15 - Moon, D., Park, S., Lee, K., Heo, M., Kim, K., Kim, C., Lee, G., Choi, Y., Kim, G. 2007. Bee venom and melittin reduce proinflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia**.** *International Immunopharmacology, 7, 1092- 1101*

16 - Mraz, N. 2001.Health And The Honeybee. Queen City Publishing, Burlington, VT. 175: 145-152

17 - Radtke, C., Spies, M., Vodt P.M ., Kocsis, J.D. 2007. Demyelinating diseases and potential repar strategies**.** *International Journal Development Neuroscience ,25, 149-153*

18 - Reynolds, R., and. Wilkin, G. P. 1993. Cellular reaction to anacute demyelinating/remyelinating lesion of rat brain stem: Localisation of GD3 ganglioside immunoreactivity. *J. Neurosci. Res. 36: 405–422*

19 - Reynolds, R., I. Cenci Di Bello, A. Meeson, and S. Piddleston. 1996. Comparison of a chemically mediated and an immunologically mediated demyelinating lesion model. *Methods 10: 440–453*

20 - Reynolds, R., Meeson, A., Piddlesden, S. 1996. Comparison of a Chemically Mediated and an Immunologically Mediated Demyelinating Lesion Model. *A Companion to Methods in Enzymology ,10, 440–452*

21 - Riet- Correa, G., Fernaldes, C.G., Pereira, L.A.V., Graca, D.L. 2002. Ethidium bromide-induced demyelination of the scatic nerve of adult wistar rats**.** *Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 35, 99- 104*

22 - Smith, P.M., Franklin, R.J.M., 2001. The effect of immunosuppressive protocols on spontaneous CNS remyelination following toxin-induced demyelination. *Journal of Neuroimmunology 119 (2), 261–268*.

23 - Stangel, M., Hartung, H.P., 2002. Remyelinating strategies for treatment of multiple sclerosis. *Progress in Neurobiology 68 (5), 361–376.*

24 - Vladimir, V., Maxim, V. 2006. Bee venom therapy and low dose naltrerxonefor treatment of multiple sclerosis. *Nepal journal of neurroscience, 3(2), 71-77*

25 - Zhao, C., FancyS., Kotter, M., Li W., Franklin, R. 2005. Mechanisms of CNS remyelination—the key to therapeutic advances. *Journal of the Neurological Sciences, 233 ,87 – 91*

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of honey bee venom on remyelination in Wistar rats experimentally demyelinated with ethidium bromide

Azarnia M., Nabiuyoni M., Rajabi zeleti S., Mirabolghasemi GH., and Hoveizi E.

Biology dept., Tarbiyat Moallem University, Tehran, I.R of IRAN

Abstract

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory demyelinating disease of the central nervous system (CNS). Demyelination is a classical feature of MS lesion. Toxic demyelination by ethidium bromide (EB) is one of the most commonly used models for investigating the repairing capacity of the CNS. EB induces focal demyelination in the CNS. The present study investigates contribution of mature oligodendrocyte in remyelination after EB induced demyelination in the brain stem of normal Wistar rats after treatment with bee venom (BV). Bee venom therapy is widely used agaist MS but to undrestand its functions previous studies suggests that the primary allergic components of bee venom histamine and phophplipase A2 induced IL-10 production by Th-2 cells and suppressed T-cell proliferation. Studies suggest that anti-inflammatory and analgesic properties of bee venom are related to modulation of adrenoreceptor activity and serotonergic neurotransmission. In this study thirty male Wistar rats (200-250 gr) were used .The rats were divided into four groups and all(excepte control) had intracisternal injection of 10 days after injection EB and saline intracisternal injection of either 10 µl EB or 0.9% saline as follows in group 2 and 4 receive BV. 9 days after injection EB, removed brainstem and prepared for histotechnicue poccessing and brainstem tissue stained with Luxol fast blue and solochrome cyanine and confirmed local demyelination. 13 days after injection EB followed by bee venom intraperitoneally for 10 days. The animals were anesthetized in 9,13 and 27day injection and brainstem section were collected and processed for light microscopy. The results of statistic were analyzed by SPSS software (one way ANOVA) and P less than 0.05 were considered as significant. In this study we observed that BV has positive effect on remyelination of the lost myelin axons, this maens that BV can cause decreas inflammatory and improved migration oligodendrocyte progenitor cells in demyelinated areas. More studies are required to determinate immunohistochemectry growth factors in brain stem tissu and CSF in this process.

Keywords: Multiple Sclerosis, Ethidium Bromide, Demyelination, Remyelination, Bee Venom

www.SID.ir