دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

مطالعه اثرات پرتوتابی گاما بر ویژگی‌های ایمنولوژیکی و پاتولوژیکی زهر زنبور عسل در مدل حیوانی موش

پروین شورنگ[۱]، فاطمه عباسی[۲]، فرحناز معتمدی سده[۳] و فاطمه طهوری[۴]

۱- دانشیار، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، (نویسنده مسوول: pshawrang@aeoi.org.ir)
۲- کارشناس، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای
۳- دانشیار، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای
۴- استادیار، گروه واکسن باکتریایی انسانی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، کرج، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۲۵
صفحه: ۱۲۲ تا ۱۲۸

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: حساسیت افراد به زهر زنبور متفاوت است و وجود ترکیبات آلرژن در زهر استفاده از آن و تعیین دز بهینه را برای درمان با مشکل روبرو کرده است. این پژوهش با هدف کاهش ترکیبات آلرژن و سنجش کیفیت زهر زنبور عسل فراوری شده با پرتو گاما انجام شد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های زهر با استفاده از دستگاه گاماسل کبالت-۶۰ با دزهای ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ کیلوگری پرتوتابی شد. ترکیبات زهر خام و پرتوتابی شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری، HPLC و الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید تعیین شد. برای سنجش پاسخ ایمنی و آسیب شناسی زهر پرتوفراوری شده، ۳۶ سر موش در ۶ گروه با ۶ تکرار گروه‌بندی شد. مقدار ۱ میلی‌گرم زهر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق و پس از ۴۸ ساعت، خونگیری از قلب انجام شد. جداسازی سرم خون جهت سنجش آنزیم کبدی و اینترلوکین-۲ انجام شد. کبد موش ها جدا و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد. بافت کبد پس از مراحل قالب‌گیری با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌گیری و با رنگ هماتوکسلین-ائوزین رنگ آمیزی شد. داده‌های آزمایشی در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS آنالیز شد.

یافته‌ها: طبق نتایج، مقدار پروتئین حقیقی و مالون‌دی‌آلدئید در نمونه‌های پرتوتابی شده تفاوتی با نمونه شاهد نداشت ($p>0/05$). نتایج دنسیتومتری ژل الکتروفورز پروتئین زهر زنبور عسل نشان داد که پرتوتابی با دز ۴ و ۶ کیلوگری سبب کاهش مقدار فسفولیپاز و هیالورونیداز و افزایش زیر واحدهای پروتئینی کوچک شد ($p<0/05$). طبق نتایج HPLC نمونه زهر زنبور عسل قبل و بعد از پرتوتابی، ترکیبات زیست فعال زهر زنبورعسل شامل هیستامین، دوپامین و نوراپی‌نفرین به ترتیب در زمان های ۱/۶۹۲، ۲/۷۳۹ و ۱/۷۵۶ دقیقه تشخیص داده شد. در نمونه زهر پرتوتابی نشده مقدار هیستامین، دوپامین و نوراپی‌نفرین بر اساس درصدی از سطح زیر منحنی به ترتیب ۳/۵۴۱، ۱/۶۴۰ و ۰/۳۴۳ درصد بود. بعد از پرتوتابی مقدار هیستامین، دوپامین و نوراپی‌نفرین کاهش یافت. طبق نتایج تست الایزا غلظت اینترلوکین-۲ سرم خون در تیمارهای مختلف زهر خام و پرتوتابی شده با دزهای ۲، ۴ و ۶ کیلوگری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$). ولی دز ۸ کیلوگری سبب کاهش اثرات زهر زنبور عسل در افزایش فعالیت سلول‌های لنفوسیت تی کمک کننده شد ($p<0/05$). نتایج بافت‌شناسی نشان داد که زهر زنبور عسل پرتوتابی شده با دز ۴ و ۶ کیلوگری سبب کاهش پرخونی و تورم هپاتوسیت‌ها شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این پژوهش از دز ۶ کیلوگری پرتو گاما بدون اثرات منفی بر ویژگی‌های زهر زنبور عسل می‌توان برای پرتوتابی زهر زنبور عسل و کاهش ترکیبات آلرژن استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آلانین ترانسفراز، پرتوتابی گاما، زهر زنبور عسل، اینترلوکین، فسفولیپاز

مقدمه

زهر زنبور عسل دارای خواص ضد التهاب و محرک سیستم ایمنی است. زهر زنبور عسل در صنعت داروسازی و آپی‌تراپی کاربرد دارد (۱۱). حساسیت افراد به زهر زنبور متفاوت است و وجود ترکیبات آلرژن در زهر استفاده از آن و تعیین دز بهینه را برای درمان با مشکل روبرو کرده است. زهر زنبور عسل دارای ترکیبات آلرژن شامل آنزیم‌های فسفولیپاز و هیالورونیداز، پپتید ملیتین، آمین‌های بیوژنیک مانند هیستامین، دوپامین و نوراپی نفرین است (۴).

روش‌های مرسوم حذف عوامل آلرژن از زهر زنبور عسل شامل کاهش pH، حرارت دادن (۳۰-۵۰ درجه سلسیوس)، فریز کردن، روش آنزیمی با استفاده از ممانعت‌کننده‌های آنزیمی، محیط‌های آنیونیک فسفات و آرسنات به‌منظور غیرفعال کردن آنزیم‌های زهر است (۲). فرایند پرتوتابی گاما این قابلیت را دارد که با تغییر در ساختار عوامل آلرژن زهر زنبور عسل سبب تغییر عملکرد آنها شده و برای فراوری زهر زنبورعسل مورد استفاده قرار گیرد (۵). کاستا و همکاران (۵) گزارش کردند دز ۲ کیلوگری پرتو گاما سبب تغییر ساختار پروتئین زهر زنبور عسل شده و با حفظ خاصیت ایمونولوژیکی آن سبب سم زدایی زهر زنبورعسل شده است. بیشتر گزارشات در مورد پرتوفراوری زهر مربوط به زهر مار است. باپتیستا و همکاران (۳) گزارش کردند پرتوتابی با دز ۲ کیلوگری گاما می‌تواند تغییرات قابل توجهی را در ساختار پروتئین‌های سمی زهر مار ایجاد کند. سامی و همکاران (۱۰) گزارش کردند دز ۳ کیلوگری پرتو گاما سبب مهار فعالیت فسفولیپاز A2 و فعالیت پروتئولیتیک زهر مار و کاهش ادم و فرآیند انعقاد شد. بنابراین، این پژوهش با هدف کاهش ترکیبات آلرژن و سنجش کیفیت زهر زنبورعسل فراوری شده با پرتو گاما انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرتوتابی گاما

پرتوتابی نمونه‌های زهر زنبور عسل با دزهای ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ کیلوگری گاما (۵) در پژوهشکده کاربرد پرتوها با دستگاه پرتودهنده تحقیقاتی GC-220 (Gamma Cell 220) دارای چشمه کبالت-۶۰ با اکتیویته ۴۳۵۰ کوری انجام شد. برای این منظور مقدار ۵ گرم زهر زنبور عسل در ۵ ویال جداگانه تقسیم شد. یک نمونه به عنوان شاهد بود و ۴ نمونه جهت

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-12-22]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.37.15.5]
[DOI: 10.52547/rap.13.37.122]

انجام پرتوتابی گاما ارسال شد. پرتوتابی گاما با نرخ متوسط ۱/۰۵ گری در ثانیه و با دقت بیش از ۹۰ درصد صورت گرفت.

سنجش کیفیت زهر زنبورعسل

اندازه‌گیری پروتئین حقیقی به روش برادفورد و الکتروفورز پروتئین (Native PAGE) به روش لاملی انجام شد (۹). برای سنجش مقدار مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون از تست TBARS[1] استفاده شد. در این روش یک مولکول تیوباربیتوریک اسید با دو مولکول مالون‌دی‌آلدئید واکنش داده و رنگ صورتی نمایان می‌شود. رسم نمودار استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف مالون‌دی‌آلدئید خالص در برابر مقدار جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر انجام شد. برای انجام HPLC ابتدا نمونه‌های زهر زنبورعسل و استاندارد ملیتین، دوپامین و هیستامین با غلظت ۱میلی‌گرم در میلی‌لیتر آماده‌سازی و از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد. از دستگاه HPLC تجزیه‌ای مدل ۱۲۰۰ شرکت اجیلنت امریکایی با پمپ چهارگانه quaternary DE62963133 مجهز به تزریق‌کننده خودکار DE64764663، دتکتور طول موج چندگانه DE63055885 و ستون C18 با قطر ۴/۶ و طول ۱۵۰ میلی متر (۱۰۰Å، ۵ µm) استفاده شد. فازهای متحرک A و B به ترتیب H2O و ACN:H2O (80:20) هر دو حاوی یک دهم درصد تری فلوئورو استیک اسید بود و با برنامه گرادیان به مدت ۴۰ دقیقه، درصد فاز متحرک B از صفر به ۸۰ رسید. کروماتوگرام در طول موج ۲۱۴ نانومتر با شدت جریان ۱ mL/min ثبت شد.

سنجش پاسخ ایمنی و آسیب‌شناسی زهر پرتوفراوری شده

۲۰ سر موش نر نژاد BALB/C با وزن ۲۰ گرم در ۵ گروه با ۴ تکرار گروه‌بندی شد. مقدار ۱ میلی‌گرم زهر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق و پس از ۴۸ ساعت، خونگیری از قلب انجام شد. پس از جداسازی سرم خون، سنجش آلانین ترانسفراز با استفاده کیت پارس آزمون و سنجش اینترلوکین-۲ با استفاده از کیت Mouse IL-2 ELISA Ready-SET-Go!® انجام شد. برای سنجش آلانین ترانسفراز ابتدا آماده‌سازی محلول‌ها طبق دستورالعمل کیت انجام شد. برای این منظور ابتدا محلول‌های شماره ۱ (TRIS, L-Alanine, Lactate dehydrogenase) و شماره ۲ (2-Oxoglutarate, NADH) به نسبت ۴ به ۱ با یکدیگر مخلوط شد؛ سپس ۱۰۰ میکرولیتر نمونه سرم با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول آماده شده مخلوط و مقدار جذب نوری بعد از ۱، ۲ و ۳ دقیقه قرائت شد، میانگین اختلافات جذب نوری پس از دقایق ۱، ۲ و ۳ در عدد ۱۹۸۵ ضرب شد.

برای سنجش اینترلوکین-۲ ابتدا رقیق سازی آنتی بادی‌های Capture Ab و Detection Ab ، آنزیم Avidin-HRP و بافرهای رقیق‌سازی و کوت‌کننده[2] و تهیه سریال رقت استاندارد طبق دستورالعمل کیت انجام شد سپس طی چند مرحله انکوباسیون و شستشو طبق دستورالعمل کیت با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Hyprion MicroReader 4-USA) در طول موج ۴۵۰ نانومتر OD نمونه ها قرائت شد. با استفاده از معادله منحنی استاندارد و OD رقت‌های مختلف استاندارد، غلظت اینترلوکین-۲ در هر رقت محاسبه شد. موش‌های دریافت‌کننده زهر زنبور عسل پرتوتابی شده با دزهای مختلف تشریح و بافت کبد جدا شد. بافت کبد ابتدا با استفاده از سرم فیزیولوژیکی شستشو و سپس در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد. پس از آبگیری با درجات صعودی اتانول بافت کبد بوسیله پارافین قالب‌گیری شد. برش‌گیری بافت کبد با ضخامت ۵ میکرومتر با استفاده از میکروتوم انجام شد. برش‌های تهیه شده با استفاده از رنگ هماتوکسلین-ائوزین رنگ‌آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری (مدل 107BN ساخت کشور چین) با درشت‌نمایی ۱۰۰× مشاهده و تصویربرداری شد. داده‌های آزمایشی در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار آنالیز و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد.

نتایج و بحث

مقدار پروتئین حقیقی زهر زنبورعسل

نتایج مقدار پروتئین حقیقی زهر زنبور عسل قبل و بعد از پرتوتابی در جدول ۱ گزارش شده است. طبق نتایج مقدار پروتئین حقیقی و مالون دی آلدئید در نمونه‌های پرتوتابی شده تفاوتی با نمونه شاهد نداشت ($p>0/05$). پرتوتابی تنها سبب تغییر ساختار پروتئین شده و تأثیری بر مقدار پروتئین ندارد (۸).

الکتروفورز زهر زنبورعسل

طبق نتایج الکتروفورز ۶ باند مشخص با وزن مولکولی ۱۱ تا ۷۵ کیلودالتون و پپتیدهایی با وزن مولکولی کمتر از ۱۱ کیلودالتون در زهر زنبور عسل مورد مطالعه مشاهده شد (شکل ۱). پرتوتابی با دز ۴ و ۶ کیلوگری سبب کاهش مقدار فسفولیپاز (زیرواحد ۵) و زیرواحدهای پروتئینی کوچکتر از ۱۱ کیلودالتون شد (جدول ۲). فسفولیپاز تقریبا ۱۰ تا ۱۲ درصد از وزن خشک زهر زنبور عسل است. فسفولیپاز یک آلرژن قوی و مهم‌ترین عامل حساسیت انسان به زهر است که منجر به اختلال در یکپارچگی دو لایه لیپیدی و از بین بردن فسفولیپیدهای غشایی می شود. مواد بیوشیمیایی که در هنگام تخریب غشاء تولید می‌شود (لیزوفسفاتیدیل کولین، لیزوفسفاتیدیک اسید (LPA) و اسفنگوزین ۱-فسفات) دارای اثرات سیتوتوکسیک یا ایمنی بر روی طیف وسیعی از انواع سلول‌ها است که باعث ایجاد التهاب و پاسخ های ایمنی می‌شود (۶). در دز ۸ کیلوگری افزایش زیرواحدهای پروتئینی کوچکتر از ۱۱ کیلودالتون مشاهده شد. پرتوتابی سبب شکسته شدن زنجیره‌های پلی‌پپتیدی به پپتیدهای کوچک‌تر می‌شود (۷). مقدار هیالورونیداز (زیر واحد ۶) در دزهای ۴، ۶ و ۸ کیلوگری کاهش پیدا کرد. هیالورونیداز دومین آلرژن رایج در زهر زنبور عسل است که ۱ تا ۲ درصد وزن خشک زهر را شامل می‌شود و با تغییرات در غشای سلولی سبب تجزیه بافت‌ها شده و به تهاجم سموم زهر از طریق شکاف بین سلول‌ها در طول تخریب ماتریکس خارج سلولی کمک

1- Thiobarbituric acid reactive substances
2- Coating buffers

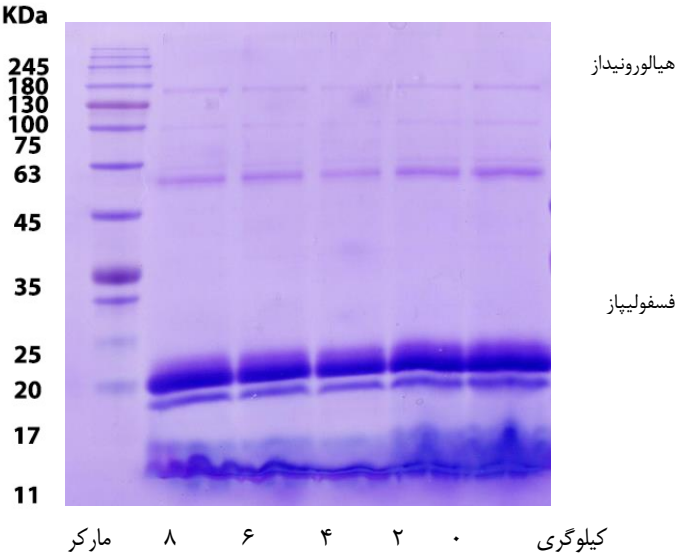
[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-12-22]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.37.15.5]
[DOI: 10.52547/rap.13.37.122]

می‌کند. علاوه بر این، قطعات هیالورونان هیدرولیز شده مسمومیت سیستمیک سریع‌تری را القاء می‌کنند چون آنها دارای خواص پیش التهابی و محرک سیستم ایمنی بدن هستند (۶).

جدول ۱- مقدار پروتئین حقیقی و مالون دی آلدئید زهر زنبور عسل قبل و بعد از پرتوتابی
Table 1. True protein and malondialdehyde levels of bee venom before and after irradiation

	پروتئین حقیقی (µg/mg)	مالون دی آلدئید (nmol/ml)
شاهد	۱۶۰/۸۵	۰/۰۲۵۷
۲ کیلوگری	۱۵۹/۹۵	۰/۰۳۴۲
۴ کیلوگری	۱۶۲/۳۰	۰/۰۴۶۱
۶ کیلوگری	۱۶۰/۹۶	۰/۰۳۷۹
۸ کیلوگری	۱۶۳/۶۰	۰/۰۲۹۱
اشتباه معیار	۵/۳۵۸	۰/۰۴۵۲۹

عدم درج حروف در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار (p>۰/۰۵) می‌باشد.



شکل ۱- الگوی پروتئین‌های زهر زنبور عسل قبل و بعد از پرتوتابی
Figure 1. Pattern of bee venom proteins before and after irradiation

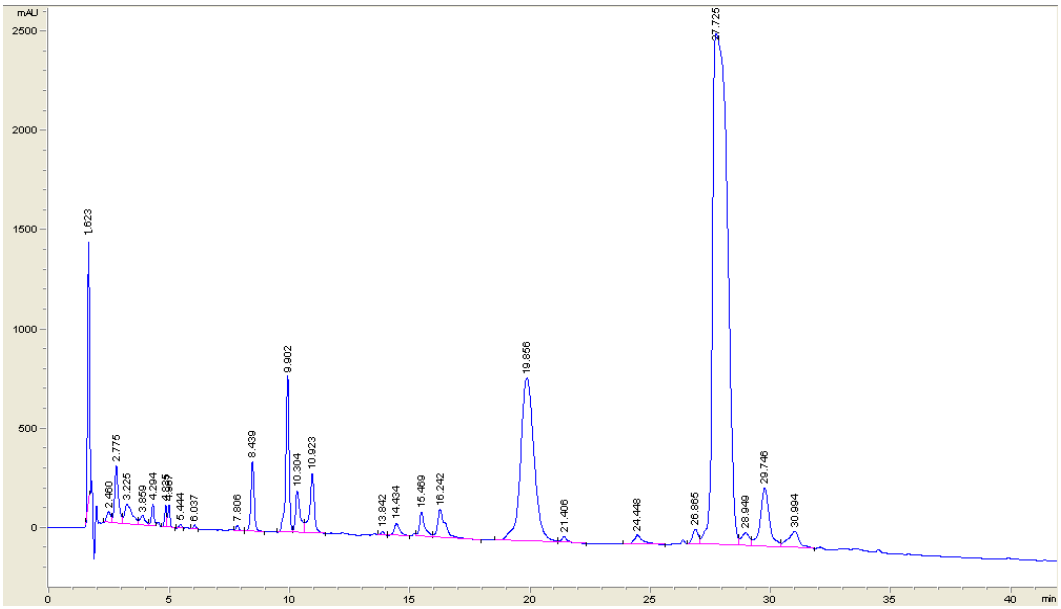
جدول ۲- OD زیر واحدهای پروتئین زهر زنبور عسل قبل و بعد از پرتوتابی
Table 2. OD value of bee venom protein subunits before and after irradiation

پروتئین	وزن مولکولی (کیلو دالتون)	۰ کیلوگری	۲ کیلوگری	۴ کیلوگری	۶ کیلوگری	۸ کیلوگری
زیرواحد ۱	۹۸/۸۶	۰/۸۲	۰/۷۵	۰/۶۰	۰/۵۷	۰/۶۴
زیرواحد ۲	۶۳/۲۷	۰/۳۸	۰/۳۱	۰/۲۸	۰/۲۶	۰/۲۳
زیرواحد ۳	۴۴/۷۲	۱/۶۲	۱/۷۵	۱/۵۸	۱/۲۷	۱/۳۳
زیرواحد ۴	۴۲/۱۳	۰/۶۸	۰/۶۱	۰/۵۶	۰/۴۱	۰/۴۹
زیرواحد ۵	۱۶/۵۸	۶/۱۸	۵/۲۷	۴/۳۷	۴/۱۱	۴/۸۷
زیرواحد ۶	۱۰/۹۷	۲/۸۳	۲/۷۴	۲/۳۷	۲/۲۵	۲/۱۴

آمین‌های بیوژنیک زهر زنبورعسل

طبق نتایج HPLC نمونه زهر زنبور عسل قبل و بعد از پرتوتابی، ترکیبات زیست فعال زهر زنبورعسل شامل هیستامین، دوپامین و نوراپی نفرین به ترتیب در زمان‌های ۱/۶۹۲، ۲/۷۳۹ و ۱/۷۵۶ دقیقه تشخیص داده شد. در نمونه زهر پرتوتابی نشده مقدار هیستامین، دوپامین و نوراپی‌نفرین بر اساس درصدی از سطح زیر منحنی به ترتیب ۳/۵۴۱، ۱/۶۴۰ و ۰/۳۴۳ درصد بود (شکل ۳). بعد از پرتوتابی مقدار هیستامین، دوپامین و نوراپی‌نفرین کاهش یافت (جدول ۳). هیستامین ۱ درصد وزن خشک زهر را شامل می‌شود و یکی از عوامل اصلی ایجاد درد، خارش و حساسیت پوستی پس از نیش زنبور عسل است (۴). هیستامین، دوپامین و نوراپی‌نفرین زهر زنبورعسل بر نورون‌ها تأثیر می‌گذارند و سبب درد شدید می‌شوند (۶).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-12-22]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.37.15.5]
[DOI: 10.52547/rap.13.37.122]



شکل ۲- نتایج HPLC زهر زنبور عسل قبل از پرتوتابی (دقیقه)
Figure 2. HPLC results of bee venom before irradiation (min)

جدول ۳- نتایج HPLC زهر زنبور عسل قبل و بعد از پرتوتابی (درصد)
Table 3. HPLC results of bee venom before and after irradiation (%)

پروتئین	۰ کیلوگری	۲ کیلوگری	۴ کیلوگری	۶ کیلوگری	۸ کیلوگری
هیستامین	۴/۵۴۱	۴/۵۰۶	۳/۵۱۸	۳/۸۷۷	۳/۹۷۲
دوپامین	۱/۶۴۰	۱/۳۴۴	۱/۵۰۸	۱/۱۸۱	۰/۹۶۹
نوراپی‌نفرین	۰/۳۴۳	۰/۳۷۶	۰/۴۸۵	۰/۴۸۳	۰/۴۸۴

پاسخ ایمنی زهر پرتوفراوری شده

طبق نتایج تست الایزا غلظت اینترلوکین-۲ سرم خون در تیمارهای مختلف زهر خام و پرتوفراوری شده با دزهای ۲، ۴ و ۶ کیلوگری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). ولی دز ۸ کیلوگری سبب کاهش اثرات زهر زنبورعسل در افزایش فعالیت سلول‌های لنفوسیت تی کمک‌کننده شد ($p<۰/۰۵$). اینترلوکین-۲ از سلول‌های لنفوسیت تی کمک‌کننده ترشح می‌شود و در پاسخ‌های التهابی و ایمنی و تمایز و تولید سریع‌تر لنفوسیت تی نقش دارد. زهر زنبور عسل قادر به ایجاد بالانس فعالیت لنفوسیت تی کمک‌کننده ۱ و ۲ است. زهر زنبور عسل تولید سایتوکاین‌های لنفوسیت تی کمک‌کننده-۲ را سرکوب می‌کند و سایتوکاین‌های لنفوسیت تی کمک‌کننده-۱ را افزایش می‌دهد. اینترلوکین-۲ از سایتوکاین‌های لنفوسیت تی کمک‌کننده-۱ است و تحت تأثیر زهر زنبورعسل افزایش می‌یابد (۶).

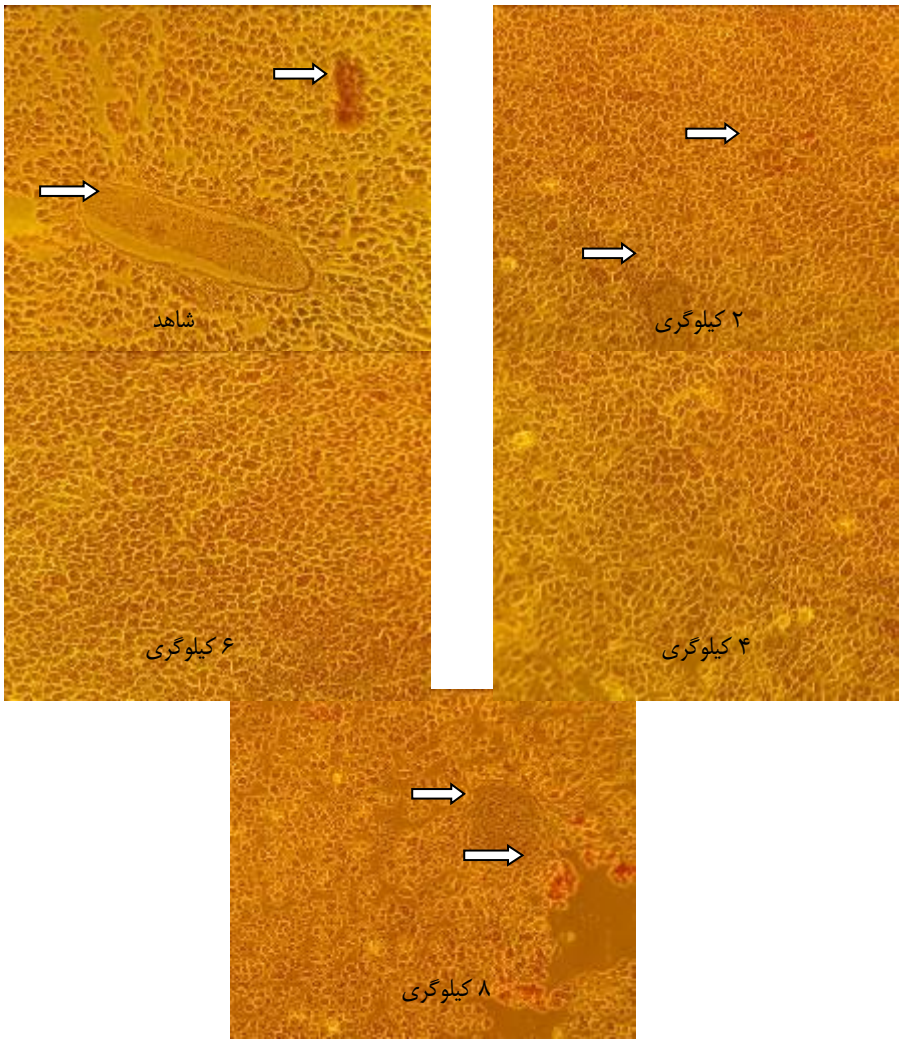
آسیب‌شناسی زهر زنبورعسل پرتو فراوری شده

ساختار بافت‌شناسی کبد موش‌های دریافت‌کننده زهر زنبور عسل پرتوتابی شده با دزهای مختلف در مقاطع عرضی در شکل ۳ نشان داده شده است. در گروه سالم ورید مرکزی حالت طبیعی داشته طناب‌های کبدی به‌صورت شعاعی و منظم در اطراف ورید مرکزی قرار گرفته است و سینوزوئیدها سالم و منظم هستند. تزریق زهر زنبورعسل پرتوتابی نشده سبب خونریزی در ورید کبدی، تخریب و نکروز هپاتوسیت‌ها و نامنظم شدن قرارگیری آن‌ها و همچنین افزایش اندازه و فاصله سینوزوئیدهای کبد شد. تزریق زهر زنبورعسل پرتوتابی شده با دز ۲ کیلوگری سبب احتقان برجسته ورید کبدی شد. کاهش ادم و پرخونی سیاهرگ های مرکزی و کاهش تورم هپاتوسیت‌ها شد. هیستوپاتولوژی بافت کبدی با تزریق زهر زنبورعسل پرتوتابی شده با دز ۴ و ۶ کیلوگری نرمال بود. پرتوتابی با کاهش ترکیبات آلرژن به‌ویژه فسفولیپاز و هیالوزونیداز سبب کاهش التهاب و خونریزی شده است. در گروه دریافت کننده زهرپرتوتابی با دز ۸ کیلوگری، نکروز شدید کبدی اطراف پورتال مشاهده شد. دلیل آسیب‌ها می‌تواند مربوط به اثرات ترکیبات حاصل از شکست اجزای زهر زنبور عسل در اثر پرتوتابی باشد که در نتایج الکتروفورز و HPLC تشخیص داده شد. فعالیت آلانین ترانسفراز سرم خون نیز در تیمارهای مختلف زهر خام و پرتوفراوری شده با دزهای ۲، ۴ و ۶ کیلوگری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). ولی دز ۸ کیلوگری سبب افزایش آلانین ترانسفراز سرم خون شد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری کلی

دز ۸ کیلوگری سبب شکست زیرواحدهای سنگین و افزایش زیرواحدهای سبک زهر زنبورعسل شد و اثرات منفی روی بافت کبد داشت ولی استفاده از پرتوتابی با دز ۶ کیلوگری پرتو گاما بدون اثرات منفی بر ویژگی‌های زهر زنبورعسل می‌تواند برای پرتوفراوری زهر زنبور عسل و کاهش ترکیبات آلرژن استفاده شود.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-12-22]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.37.15.5]
[DOI: 10.52547/rap.13.37.122]



شکل ۳- ساختار بافت شناسی کبد موش‌های دریافت‌کننده زهر زنبور عسل پرتوتابی شده با دزهای مختلف
Figure 3. Histological structure of the liver of mice receiving bee venom irradiated with different doses

جدول ۴- مقادیر آلانین ترانسفراز و اینترلوکین-۲ سرم خون
Table 4. Serum alanine transferase and interleukin-2 levels

تیمار	آلانین ترانسفراز (U/L)	اینترلوکین-۲ (Pg/ml)
شاهد	۱۰۸/۰۵^{a}	۳۸/۱۷^{a}
۲ کیلوگری	۱۰۱/۲۳^{a}	۳۶/۵۸^{a}
۴ کیلوگری	۷۹/۶۴^{b}	۳۷/۱۵^{a}
۶ کیلوگری	۷۷/۳۲^{b}	۳۹/۷۲^{a}
۸ کیلوگری	۱۱۶/۵۲^{a}	۳۲/۴۵^{b}
اشتباه معیار	۱۴/۲۴۱	۲/۰۱۸

درج حروف متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-12-22]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.37.15.5]
[DOI: 10.52547/rap.13.37.122]

منابع

1. ASTM, 1984. Method for using the Fricke Dosimeter to Measure Absorbed Dose in Water. ASTM Standard E 1026.
2. Badria, F., H.M. Fathy, A.S. Fatehe and M.G. Ghazy. 2017. Honey and Its Products. Chemical, biological and therapeutic applications, Munich, Grin Verlag. 268 pp.
3. Baptista J.A., P.J. Spencer J.E. Oliveira, M.S. Casare and N. Nascimento. 2006. Immune response against antigens irradiated with 60Co gamma-rays. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 269(3): 565-569.
4. Bogdanov, S. 2016. Bee Venom: Production, Composition, Quality. The Bee Venom Book, Chapter 1, Muehlethurnen, Switzerland. 9 pages.
5. Costa, H., M. Boni-Mitake, C.F. Souza and J.R. Rogero. 1999. Effects of gamma radiation on bee venom: preliminary studies. VII General Congress on Nuclear Energy, Belo Horizonte, MG, Brazil. 4 pp.
6. Elieh Ali Komi, D., F. Shafaghat and R.D. Zwiener. 2018. Immunology of bee venom. Clin Rev Allergy Immunol, 54(3): 386-396.
7. Le Maire, M., L. Thauvette, B. De Foresta, A. Viel, G. Beauregard and M. Potier. 1990. Effects of ionizing radiations on proteins. Biochemistry Journal, 267: 431-439.
8. Puchala, M. and H. Schessler. 1993. Oxygen effect in the radiolysis of proteins. International Journal of Radiation Biology, 64: 149-156.
9. Sadeghi, A.A., P. Shawrang and M. Aminafshar. 2011. Analysis of Biological Components. 1th edn. Islamic Azad University Science and Research Branch Publications, Tehran, 537 pp.
10. Samy E.M., E.A. Shaaban, S.A. Kenawy, M.A. Abd Elfattah and W.H. Salama. 2018. The impact of low doses of gamma radiation on Echis coloratus venom and its fractions. Radiation Physics and Chemistry, 150: 145-150.
11. Xu, L. 2021. Bee products and their application. Journal of Apitherapy, 8(8): 1.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-12-22]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.37.15.5]
[DOI: 10.52547/rap.13.37.122]

Study of the Effects of Gamma Irradiation on Immunological and Pathological Characteristics of Bee Venom in a Mouse Animal Model

Parvin Shawrang[1], Fatemeh Abbasi[2], Farahnaz Motamedi Sedeh[3] and Fatemeh Tahoori[4]

1- Associate Professor, Nuclear Science and Technology Research Institute, Nuclear Agriculture Research Institute, (corresponding author: pshawrang@aeoi.org.ir)
2- Expert, Nuclear Science and Technology Research Institute, Nuclear Agriculture Research Institute
3- Associate Professor, Nuclear Science and Technology Research Institute, Nuclear Agriculture Research Institute
4- Assistant Professor, Department of human bacterial vaccin, Razi vaccine and serum research institute, Agriculture research, education and extension organization (AREEO), Karaj, Iran
Received: 19 January, 2022 Accepted: 16 July, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: People are sensitive to bee venom and the presence of allergenic compounds in the venom has made it difficult to use and determine the optimal dose for treatment. The aim of this study was to reduce allergenic compounds and to evaluate the quality of gamma ray processed bee venom.

Material and Methods: Venom samples were irradiated at doses of 0,2,4,6 and 8 kGy by Gamma cell 220 Cobalt 60 irradiation facility. Chemical compounds of venom were determined pre- and post-irradiation. Protein subunits of venom was detected by polyacrylamide gel electrophoresis. Allergen compounds were measured using HPLC technique. To assess the immune response and pathology of irradiated venom, 36 mice were grouped into 6 groups with 6 replications. 1 mg of venom per kg of body weight was injected intraperitoneally and after 48 hours, blood was drawn from the heart. Blood serum was isolated for liver enzyme and interleukin-2 assays. In the final of study, mice liver and kidney samples collected and fixed in 10% formalin. Liver samples were sliced, fixed and stained by hematoxylin and eosin. Data were analyzed by SAS Software.

Results: The results showed that true protein content and malondialdehyde level in irradiated samples had no differ with the control group ($p>0.05$). Electrophoresis patterns and HPLC results showed that irradiation at doses of 4 and 6 kGy decreased phospholipase and hyaluronidase amount and increase the low subunits of protein ($p<0.05$). According to the HPLC results of bee venom samples before and after irradiation, bioactive compounds of bee venom including histamine, dopamine and norepinephrine were detected at 1.692, 2.739 and 1.756 minutes, respectively. In the sample of non-irradiated venom, the amount of histamine, dopamine and norepinephrine based on the percentage of the area under the curve were 3.541, 1.640 and 0.343%, respectively. The amount of histamine, dopamine and norepinephrine decreased after irradiation. According to the results of ELISA test, serum interleukin-2 concentration was not significantly different in different treatments of crude and irradiated venom with doses of 2, 4 and 6 kGy ($p>0.05$). However, the dose of 8 kg reduced the effects of bee venom on increasing the activity of helper T lymphocytes ($p<0.05$). Based on the histology results, irradiated bee venom at doses of 4 and 6 kGy reduced hyperemia and swelling of hepatocytes.

Conclusion: According to the results of this study, a dose of 6 kGy of gamma ray without negative effects on the characteristics of bee venom can be used for bee venom radiation and reduction of allergen compounds.

Keywords: Alanine transaminase, Gamma irradiation, Honey bee venom, Interleukin, Phospholipase

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-12-22]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.37.15.5]
[DOI: 10.52547/rap.13.37.122]