



## Protective effect of pharmacologic postconditioning with Natural Honey against left ventricular ischemia/reperfusion-induced arrhythmias in isolated heart of rat

Moslem Najafi<sup>1\*</sup>, Afshin Gharakhani<sup>2</sup>, Tahereh Eteraf Oskouei<sup>3</sup>

1. Dept. Pharmacology, School of Pharmacy and Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

2. School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 8 Jul 2010

Accepted: 6 Nov 2010

### Abstract

**Introduction:** This study was aimed to investigate the effects of postconditioning by natural honey on cardiac arrhythmias in the ischemic isolated rat heart.

**Methods:** Male Wistar rats were divided into four groups then anesthetized by sodium pentobarbital. The animal hearts were removed and quickly mounted on a Langendorff apparatus and perfused under constant pressure by a modified Krebs-Henseleit (K/H) solution that was previously equilibrated with 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>. The hearts were subjected to 30 min regional ischemia followed by 30 min reperfusion. In the control group, the hearts perfused by normal K/H solution, however in the postconditioning groups, they were perfused with natural honey (0.25, 0.5 and 1%) enriched K/H solution from 10 min before to 10 min after reperfusion. The ECGs were analyzed to determine the total number of ventricular ectopic beats (VEBs), ventricular tachycardia (VT), the incidence and duration of VT and ventricular fibrillation (VF) during last 10 min of ischemia and the first 30 min of reperfusion.

**Results:** During ischemia, honey (0.25, 0.5 and 1%) produced significant reduction in the number of VEBs and number, duration and incidence of VT (P<0.01). The incidence and time spent in VF were lowered by honey compared to the control group (P<0.05). During reperfusion time, all used concentrations of honey significantly reduced the number of VEBs (P<0.05). In addition, honey (0.5 and 1%) decreased the number and duration of VT (P<0.01 and P<0.05, respectively). Moreover, VF duration was lowered by perfusion of honey (0.25 and 0.5 %) versus the control group (P<0.05).

**Conclusion:** The results showed protective effects of postconditioning by honey against ischemia-reperfusion injuries as anti-arrhythmic activities. Probably, antioxidant activity of honey, by scavenging of free radicals, and the presence of important energy sources such as glucose and fructose by improvement of cardiac function may involve in these protective effects.

**Key words:** Natural honey, Postconditioning, Arrhythmia, Isolated heart

\* Corresponding author e-mail: najafimoslem@yahoo.com

Available online at: www.dhvpaha.ir/doi

## اثر محافظتی پست کاندیشینینگ فارماکولوژیک با عسل طبیعی بر روی آریتمی های ناشی از ایسکمی / خونرسانی مجدد بطن چپ در قلب ایزوله رت

مسلم نجفی<sup>۱\*</sup>، افشین قره خانی<sup>۲</sup>، طاهره اعتراف اسکویی<sup>۳</sup>

۱. گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز

۲. دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

۳. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز

پذیرش: ۱۵ آبان ۸۹

دریافت: ۱۷ تیر ۸۹

### چکیده

**مقدمه:** در این مطالعه اثرات پست کاندیشینینگ با مصرف عسل طبیعی بر آریتمیهای قلب ایزوله ایسکمیک رت بررسی شد. **روش ها:** رتهای نر ویستار به ۴ گروه تقسیم شده و بدنبال بیهوشی قلب آنها جدا و با اتصال به دستگاه لانگندورف، جریان محلول کربس با فشار ثابت برقرار گردید. حیوانات گروه کنترل در زمان تثبیت، ۳۰ دقیقه ایسکمی ناحیه ای و ۳۰ دقیقه خونرسانی مجدد محلول کربس معمولی و گروههای درمان (پست کاندیشینینگ)، از ۱۰ دقیقه قبل تا ۱۰ دقیقه بعد از خونرسانی مجدد بترتیب کربس حاوی غلظتهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱٪ عسل دریافت کردند. آریتمیهای قلبی شامل تعداد ضربانات ناهجای بطنی (VEBs) و تاکیکاردی بطنی (VT)، مدت زمان و انسیدانس VT و فیبریلاسیون بطنی (VF) از روی الکتروکاردیوگرامهای حاصله براساس قوائد Lambeth آنالیز شدند.

**یافته ها:** در زمان ایسکمی، پرفیوژن عسل طبیعی موجب کاهش معنی دار تعداد VEBs، تعداد، مدت زمان و درصد وقوع VT در مقایسه با گروه کنترل شد ( $P < 0.01$ ). همچنین، زمان VF و درصد وقوع آن نیز در گروههای دریافت کننده عسل به طور معنی داری کاهش نشان داد ( $P < 0.05$ ). در زمان خونرسانی مجدد نیز کلیه غلظتهای عسل موجب کاهش تعداد VEBs گردید ( $P < 0.05$ ). تعداد و مدت زمان VT نیز با غلظتهای ۰/۵ و ۱٪ عسل کاهش نشان داد (بترتیب  $P < 0.01$ ،  $P < 0.05$ ). همچنین غلظتهای ۰/۲۵ و ۰/۵٪ عسل کاهش معنی داری در مدت زمان VF بوجود آوردند ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** نتایج نشان داد که عسل به عنوان یک عامل پست کاندیشینینگ اثرات محافظتی بر علیه آسیب های ناشی از ایسکمی - خونرسانی مجدد داشته و آریتمیهای قلب ایزوله رت را کاهش میدهد. اثرات عسل در این شرایط احتمالاً به مجموعه ای از مکانیسم ها مانند اثر آنتی اکسیدانی، مهار تولید رادیکالهای آزاد، دسترسی مناسب بافت قلب به منابع تولید انرژی از جمله گلوکز و فروکتوز و در نتیجه بهبود عملکرد قلب مربوط باشد.

**واژه های کلیدی:** عسل طبیعی، پست کاندیشینینگ، آریتمی، قلب ایزوله

### مقدمه

Ischemia/Reperfusion) یکی از علل ایجاد آسیب های جدی به میوکارد بوده و به دنبال آن اختلالات مهمی مانند آریتمی ها در عملکرد قلب بوجود می آید [۱۹]. امروزه آریتمی های قلبی یکی از مشکلات شایع بالینی بوده و در

پدیده ایسکمیک - خونرسانی مجدد

najafimoslem@yahoo.com

www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

می بردند [۳۸]. عسل دارای خاصیت قوی ضد میکروبی بوده و بر روی برخی میکروب ها از جمله استافیلوکوک اورئوس، آنتروباکتریاسه ها، آسینتوباکتر و بروسلا اثرات آنتی بیوتیکی دارد [۷ و ۳۸]. ابوعلی سینا مصرف عسل را برای درمان بیماری سل توصیه کرده و اثر ضد میکوباکتریال آن نیز در تحقیقات اخیر نشان داده شده است [۴]. در مطالعات *In Vitro*، اثر مهاری محلول ۲۰ درصد آن بر روی هلیکو باکتر پیلوری نیز دیده شده است [۷]. همچنین اثرات ضد سرطانی آن در سرطان مثانه گزارش شده [۴] و برخی از یافته ها حاکی از اثرات تحریک کنندگی سیستم ایمنی بدن و کاهش بافت نکروزه نیز می باشد [۱۷ و ۴]. در یکی از مطالعات اخیر، اثرات عسل در افزایش قابل توجه در مقدار Tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) و  $\beta$ -interleukin (IL-6) در محیط کشت سلولی گزارش شده است [۲۹].

مطالعه بالینی در کودکان مبتلا به گاستروانتریت نشان داده که عسل موجب کاهش مدت زمان اسهال باکتریال در این بیماران می گردد [۳۸]. مقایسه اثرات درمانی عسل با موپروسین در پیشگیری از عفونت های ناشی از کاربرد کاتر در بیماران همودیالیزی نیز نشان داد که عسل می تواند به عنوان یک جانشین سالم و ارزان و موثر موپروسین عمل کند [۱۷]. در ضایعات ژنیتال راجعه ناشی از هرپس ها، مصرف موضعی عسل در کاهش علائم و نشانه های بیماری درمقایسه با کرم آسیکلوویر بهتر عمل کرده است [۱]. مصرف موضعی عسل در درمان زخم های عفونی متعاقب جراحی و مقاوم به آنتی بیوتیک های موضعی یا سیستمیک نیز مفید و موثر بوده است [۳۱]. همچنین به علت کمی درد ناشی از مصرف آن، ارزانی و سهولت مصرف، عسل به عنوان یک ماده ایده آل در التیام سوختگی های سطحی مطرح شده است [۳ و ۲۸].

تاکنون بیشتر مطالعات صورت گرفته بر روی خواص درمانی عسل، به روی اثرات ضد میکروبی آن متمرکز بوده و مطالعات علمی اندکی پیرامون کاربرد آن در بیماری های مختلف قلب و عروق صورت گرفته و بسیاری از ابعاد کاربردهای درمانی بالقوه آن در این زمینه ناشناخته باقی مانده اند. مطالعه قبلی ما نشان داده است که تجویز حاد و کوتاه مدت عسل طبیعی اثرات محافظت قلبی داشته و اندازه انفارکت و حجم ناحیه انفارکت در قلب ایسکمیک را به صورت واضحی

۲۵٪ از بیماران تحت درمان با دیژیتال، ۵۰٪ بیماران تحت بیهوشی و بیش از ۸۰٪ افراد مبتلا به انفارکتوس حاد میوکارد دیده می شود. آرتیمی ها چه بصورت کاهش ریتم طبیعی قلب و چه افزایش بیش از حد آن و یا ناهماهنگی بین ریتم ها موجب کاهش برون ده قلبی می شوند. برخی از این آرتیمی ها بسیار جدی بوده و در صورت کنترل نشدن منجر به مرگ می شوند [۱۶].

ایسکمیک پست کاندیشنینگ (Ischemic Postconditioning, IPC) پدیده ای است که در طی آن برقراری دوره های کوتاه مدت و گذرای ایسکمیک و خونرسانی مجدد (رپرفیوژن) قبل از شروع خونرسانی طولانی مدت، سلولهای قلب را در مقابل آسیب های ناشی از آن محافظت می کند [۱۳ و ۳۶]. تاکنون ابعاد و مکانیسم های دقیق اثرات IPC بخوبی معلوم نشده است هر چند که فعال شدن مسبرهای پیام رسانی مختلفی مانند Phosphatidylinositol-3 kinase-Akt، باز شدن کانال های پتاسیمی وابسته به ATP در میتوکندری ها [۳۷ و ۳۰ و ۹]، افزایش آزاد شدن آدنوزین درون زاد [۳۴]، کاهش تولید رادیکال های آزاد اکسیژن، کاهش کلسیم داخل سلولی و داخل میتوکندریایی [۳۰ و ۹] و تولید نیتریک اکساید [۹] از عوامل دخیل در اثرات محافظتی آن ذکر شده است. برخی از مطالعات، اثرات محافظتی IPC بر روی آسیب های ناشی از ایسکمیک - خونرسانی مجدد را به صورت کاهش اندازه انفارکت [۳۵] و آرتیمی های بطنی نشان داده اند [۸ و ۱۸].

عسل یک ماده اسیدی و سرشار از مواد مغذی مختلف است که ترکیبات آن بسته به محل تهیه متفاوت بوده و قندهای گلوکز و فروکتوز، ویتامین های گروه B، ویتامین C، پروتئین، انواع مواد معدنی مانند کلسیم، پتاسیم، آهن، فسفر، منیزیم و آنزیم های متعددی در آن موجود می باشد [۱۴]. عسل بیش از آنکه به عنوان یک ماده غذایی مطرح باشد به عنوان یک ماده دارویی موثر مورد توجه بوده [۳] و از گذشته های خیلی دور تا کنون به صورت سنتی در درمان برخی از بیماری ها در سراسر جهان استفاده شده است [۳۸ و ۷]. مصریان باستان، آشوری ها، چینی ها، یونانی ها و رومی ها عسل را برای التیام زخم ها و بیماری های شکم به کار

ایسکمی، گره باز شده و به مدت ۳۰ دقیقه دیگر خونرسانی مجدد انجام گرفت [۱۵].

رت های گروه کنترل در طول زمان تثبیت (Stabilization)، ۳۰ دقیقه ایسکمی ناحیه ای و ۳۰ دقیقه خونرسانی مجدد محلول کربس معمولی دریافت داشتند در حالی که گروه های درمان (Pharmacologic Postconditioning) ۱۰ دقیقه قبل تا ۱۰ دقیقه بعد از شروع خونرسانی مجدد [۲۱] به ترتیب با محلول کربس حاوی غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱٪ عسل تغذیه شدند. الکتروکاردیوگرام قلب های ایزوله در طول آزمایش با وصل نمودن الکتروده های ویژه بر روی قلب ایزوله، توسط دستگاه فیزیوگراف ثبت گردید. با اتمام آزمایش، براساس قوائد Lambeth که یک الگوی طبقه بندی و مطالعه آریتمی های ناشی از پدیده ایسکمی - خونرسانی مجدد است [۳۲]، نوع، درصد وقوع و زمان هر یک از انواع آریتمی های قلبی بر حسب مورد در طی ۱۰ دقیقه آخر ایسکمی و ۳۰ دقیقه خونرسانی مجدد تجزیه و تحلیل شدند. بر اساس قوائد مذکور، آریتمی های قلبی ثبت شده در الکتروکاردیوگرام شامل ضربانات نابجای بطنی منفرد (Single) که در آن موج QRS به صورت ناقص بوده و موج T افت می کند، Salvos (دارای ۲ یا ۳ ضربه نابجای بطنی پشت سر هم)، تاکیکاردی بطنی (Ventricular Tachycardia; VT) و همچنان فیبریلاسیون بطنی (Ventricular Fibrillation, VF) است که در آن موج های QRS قابل تمایز از یکدیگر نبوده و تعداد ضربانات قلب قابل اندازه گیری نیست. این نوع آریتمی، خود به دو صورت برگشت پذیر (Reversible Ventricular Fibrillation; Rev VF) و برگشت ناپذیر (Irreversible Ventricular Fibrillation; Irrev VF) تقسیم می شود [۳۲].

نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) برای تجزیه و تحلیل داده ها بکار رفت. به استثنای درصد وقوع VT و VF، کلیه داده های آریتمی به صورت Mean±SEM بیان شدند. برای مقایسه تعداد VEBs و مدت زمان VT و VF بین گروه ها از Mann-Whitney Non-Parametric U test استفاده شد. برای آنالیز درصد وقوع VT و VF از تست Fisher-Irwin exact test with Yates correction استفاده شد.

کاهش می دهد [۲۲]. در مطالعه حاضر، اثرات فارماکولوژیک پست کاندیشنینگ با مصرف عسل طبیعی بر روی آریتمی های ناشی از پدیده ایسکمی - خونرسانی مجدد در قلب ایزوله رت بررسی شد.

## مواد و روشها

مواد مورد نیاز برای انجام آزمایشات که از منابع معتبر تهیه شدند شامل موارد زیر بودند: عسل طبیعی منطقه اسکو (استان آذربایجان شرقی)، پنتو باریتال سدیم (شرکت کلا بلژیک) و مواد بکار رفته در تهیه محلول کربس شامل: کلرید سدیم، بیکربنات سدیم، کلرید پتاسیم، سولفات منیزیم، پتاسیم دی هیدروژن فسفات، D-گلوکز و کلرید کلسیم (شرکت مرک). مطالعه حاضر یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی بوده و بر روی رت های نر آلبینو از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۳۳۰-۲۷۰ گرم انجام گرفت. رت ها در گروه های ۶ تایی در قفسه های پلی اتیلنی شفاف استاندارد در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای معمول آزمایشگاه (۲۲±۳) درجه سانتیگراد نگهداری شدند و تا زمان انجام آزمایش آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. برای انجام آزمایشات، ابتدا رت ها بصورت تصادفی به ۴ گروه ۸ الی ۱۰ عددی شامل یک گروه کنترل و سه گروه تحت درمان با غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱٪ عسل طبیعی تقسیم شده و بعد از بیهوشی با پنتو باریتال سدیم (۵۰ mg/kg-ip)، قلب آنها به سرعت ایزوله گردید و پس از اتصال به دستگاه لانگندورف، جریان محلول کربس (pH= ۷/۴) محتوی گاز کاربوژن (۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی اکسید کربن) با فشار ثابت و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بر قرار شد. محلول کربس به کار رفته در این مطالعه محتوی مواد زیر بر حسب میلی مول بر لیتر بود [۱۲]: کلرید سدیم (۱۱۸/۵)، بیکربنات سدیم (۲۵)، کلرید کلسیم (۱/۷)، سولفات منیزیم (۱/۲)، پتاسیم دی هیدروژن فسفات (۱/۲)، گلوکز (۱۲) و کلرید پتاسیم (۴/۸).

برای ایجاد ایسکمی ناحیه ای (Regional Ischemia)، یک نخ بخیه جراحی سیلک (اندازه ۴ صفر) به دور شریان کرونر نزولی چپ قلب موقتا گره زده شد و پس از ۳۰ دقیقه

مقادیر  $P < 0.05$  معنی دار تلقی گردید.

گروه کنترل شد ( $P < 0.01$ ) برای غلظت های ۰/۲۵ و ۱٪ و  $P < 0.001$  برای غلظت ۰/۵٪. همچنین تعداد، مدت زمان و درصد وقوع VT در قلب های ایزوله توسط غلظت های به کار رفته عسل بطور قابل ملاحظه ای کاهش یافت ( $P < 0.01$ ) برای غلظت ۰/۲۵ و ۱٪ و  $P < 0.001$  برای غلظت های ۰/۵ و ۱٪. علاوه بر این، زمان VF نیز در گروه های دریافت کننده عسل در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش نشان داد ( $P < 0.05$ ) برای هر سه غلظت. به غیر از غلظت ۰/۲۵٪، دو غلظت دیگر از عسل طبیعی درصد وقوع VF را نیز به طور

## یافته ها

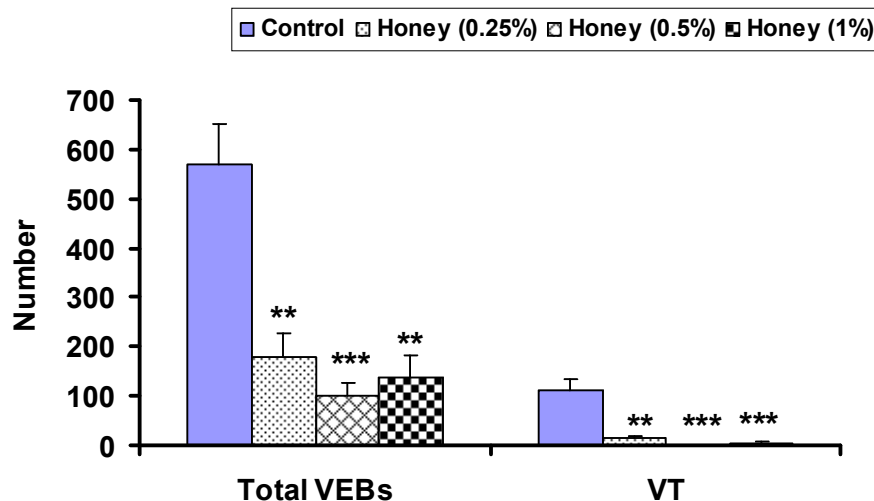
نتایج مربوط به اثرات تجویز عسل طبیعی بر روی آریتمی های ۱۰ دقیقه آخر فاز ایسکمی در جدول ۱ خلاصه شده اند. همان گونه که در جدول مذکور و نیز شکل ۱ دیده می شود پرفیوژن هر سه غلظت عسل طبیعی موجب کاهش معنی دار در تعداد ضربانات نابجای بطنی (Total VEBs) در مقایسه با

جدول ۱- اثرات پرفیوژن عسل طبیعی بر روی آریتمی های فاز ایسکمی در قلب ایزوله رت در شرایط پست کاندیشنینگ. انسیدانس آریتمی ها بر حسب درصد و سایر داده ها بصورت Mean±SEM بیان شده اند.

نوع آریتمی	تعداد	تعداد	تعداد	تعداد	زمان	زمان	انسیدانس	انسیدانس	انسیدانس
Single	Salvos	VT	VEBs	VT (sec)	Rev VF (sec)	VT	Rev VF	Irrev VF	Irrev VF
گروه کنترل	۳۰۴±۴۸	۱۵۲±۳۵	۱۱۱±۲۲	۵۶۸±۸۴	۲۱±۴	۴۴±۲۷	۱۰۰	۶۰	صفر
عسل طبیعی (۰/۲۵ درصد)	۱۲۱±۳۴*	۴۷±۲۳*	۱۵±۵**	۱۷۷±۵۱**	۵±۲**	۴±۲*	۳۷**	۱۲	صفر
عسل طبیعی (۰/۵ درصد)	۷۲±۲۰**	۲۹±۶**	صفر***	۱۰۰±۲۶***	صفر***	صفر*	صفر***	صفر*	صفر
عسل طبیعی (۱ درصد)	۸۸±۲۶**	۴۷±۱۵*	۵±۳***	۱۳۸±۴۳**	۲±۱***	صفر*	۱۲***	صفر*	صفر

VT; Ventricular Tachycardia, VEBs; Ventricular Ectopic Beats (Single+Salvos+VT), Rev VF; Reversible Ventricular Fibrillation, Irrev VF; Irreversible Ventricular Fibrillation.

\* معادل  $P < 0.05$ , \*\* معادل  $P < 0.01$ , \*\*\* معادل  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل.



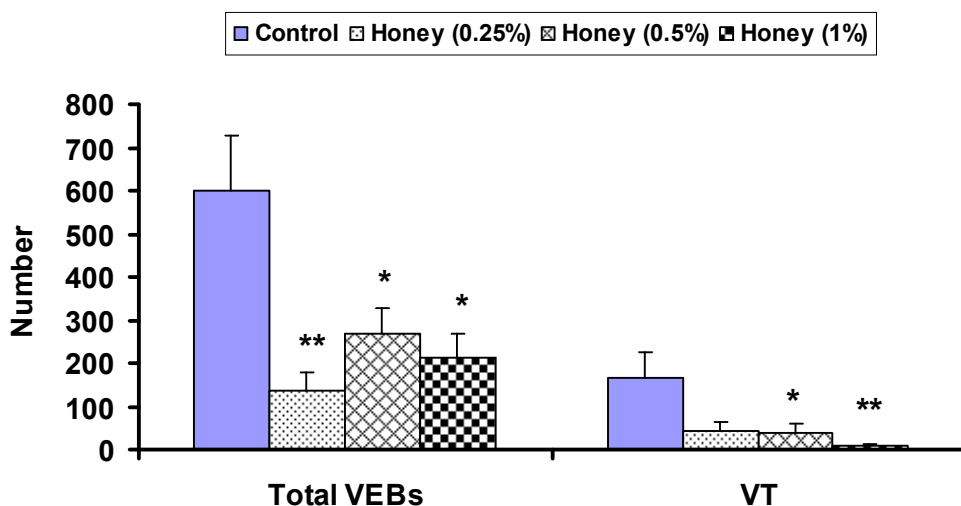
شکل ۱- اثرات پرفیوژن عسل طبیعی بر تعداد ضربانات نابجای بطنی (Total VEBs) و تعداد VT زمان ایسکمی در قلب ایزوله رت در شرایط پست کاندیشنینگ. \*\* معادل  $P < 0.01$ , \*\*\* معادل  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل.

**جدول ۲-** اثرات پرفیوژن عسل طبیعی بر روی آریتمی های فاز خونرسانی مجدد در قلب ایزوله رت در شرایط پست کاندیشنینگ. انسیدانس آریتمی ها بر حسب درصد و سایر داده ها بصورت Mean±SEM بیان شده اند.

انسیدانس	انسیدانس	انسیدانس	زمان	زمان	تعداد	تعداد	تعداد	تعداد	نوع آریتمی
Irrev VF	Rev VF	VT	Rev VF (sec)	VT (sec)	VEBs	VT	Salvos	Single	
۱۰	۷۰	۸۰	۱۷۳±۸۶	۲۸±۱۰	۶۰۱±۱۲۶	۱۶۷±۵۹	۱۰۸±۲۳	۳۱۶±۷۹	گروه کنترل
صفر	۱۲*	۷۵	۱۳±۱۳ *	۷±۳	۱۳۸±۴۰ **	۴۳±۱۹	۲۴±۸ **	۷۱±۲۴ **	عسل طبیعی (۰/۲۵ درصد)
صفر	۲۵	۳۷	۹±۶ *	۵±۴ *	۲۶۸±۶۱ *	۳۷±۲۱ *	۵۰±۱۷	۱۷۷±۴۷	عسل طبیعی (۰/۵ درصد)
صفر	۲۵	۱۲ *	۱۳۴±۹۳	۳±۲ **	۲۱۳±۵۷ *	۸±۳ **	۶۳±۱۷	۱۳۹±۴۳	عسل طبیعی (۱ درصد)

VT; Ventricular Tachycardia, VEBs; Ventricular Ectopic Beats (Single+Salvos+VT), Rev VF; Reversible Ventricular Fibrillation, Irrev VF; Irreversible Ventricular Fibrillation.

\* معادل P<0.05, \*\* معادل P<0.01, \*\*\* معادل P<0.001 در مقایسه با گروه کنترل.



**شکل ۲-** اثرات پرفیوژن عسل طبیعی بر تعداد ضربانات نابجای بطنی (Total VEBs) و تعداد VT زمان خونرسانی مجدد در قلب ایزوله رت در شرایط پست کاندیشنینگ. معادل P<0.05, \*\* معادل P<0.01 در مقایسه با گروه کنترل.

کنترل به طور معنی داری کاهش دادند (P<0.01) برای غلظت ۰/۲۵٪ و P<0.05 برای غلظت های ۰/۵ و ۱٪. همچنین به غیر از غلظت ۰/۲۵٪، دو غلظت دیگر از عسل طبیعی کاهش معنی داری در تعداد و مدت زمان سپری شده در VT نسبت به گروه کنترل ایجاد کردند (P<0.01) برای غلظت ۱٪ و P<0.05 برای غلظت ۰/۵٪. از طرف دیگر غلظت های مورد استفاده عسل موجب کاهش درصد وقوع VT نیز گردید که این اثر با غلظت ۱٪ عسل از نظر آماری تفاوت معنی دار نشان داد

معنی داری کاهش دادند (P<0.05). درصد وقوع Irrev VF در بین گروه ها تفاوت معنی داری نشان نداده و در همه گروه ها صفر بود (جدول ۱).

نتایج مربوط به اثرات تجویز عسل طبیعی بر روی آریتمیهای ۳۰ دقیقه فاز خونرسانی مجدد نیز در جدول ۲ خلاصه شده اند. همان گونه که در جدول مذکور و شکل ۲ ملاحظه می شود غلظت های مورد استفاده عسل طبیعی در این مطالعه، تعداد ضربانات نابجای بطنی را در مقایسه با گروه

محافظتی عسل با غلظت های بکار رفته بر علیه این نوع آریتمی می باشد. با توجه به نتایج مطالعه، غلظت ۰/۵ درصد عسل کاهش بیشتری را در مورد تمام آریتمی های فاز ایسکمی در مقایسه با سایر غلظت ها ایجاد نموده است هر چند که این اثرات در مقایسه با سایر غلظت های دیگر غالباً فاقد تفاوت آماری معنی دار می باشد. آریتمی های فاز خونرسانی مجدد نیز با پرفیوژن غلظت های مختلف عسل کاهش یافتند بطوری که تعداد کل ضربانات نابجای بطنی، درصد وقوع VT و مدت زمان سپری شده در آن، مدت زمان و درصد وقوع VF نسبت به گروه کنترل بصورت معنی دار کمتر شدند. در این شرایط غلظت ۱ درصد عسل اثرات محافظتی بیشتری را در مقایسه با سایر غلظت های بکار رفته در مورد اکثر آریتمی ها نشان داد (جدول ۲). این اثرات محافظتی پست کاندیشنینگ با عسل بر علیه آریتمی های مهلک مانند VT و VF یکی از موارد مهم و قابل توجه می باشد که تاکنون گزارش نگردیده است. در یک مطالعه قبلی، تجویز کوتاه مدت و قبل از ایسکمی غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵، و ۱٪ عسل طبیعی (به عنوان یک عامل فارماکولوژیک پره کاندیشنینگ) موجب ایجاد محافظت قلبی بر علیه آسیب های ناشی از ایسکمی - خونرسانی مجدد از جمله عملکرد ضد آریتمی گردید [۲۳]. همچنین مطالعه قبلی ما نشان داد که تجویز خوراکی مزمن و طولانی مدت عسل به مدت ۴۵ روز از طریق افزودن آن به آب آشامیدنی رت ها موجب ایجاد اثرات محافظتی برجسته در کاهش آریتمی های متعاقب ایسکمی - خونرسانی مجدد می شود [۲۴]. علیرغم وجود برخی تفاوت ها در روش کار مطالعه حاضر با مطالعات گذشته، نتایج حاصل از این مطالعه با یافته های قبلی همخوانی دارد و وجه مشترک نتایج همه این مطالعات وجود عملکرد محافظت قلبی عسل بر علیه آریتمی های ناشی از پدیده ایسکمی - خونرسانی مجدد در قلب ایزوله شده رت در پروتوکل های آزمایشی مختلف می باشد. همان طوری که قبلاً هم اشاره شد، مطالعات علمی بسیار اندکی در این حیطه صورت گرفته و مکانیسم اثرات محافظتی عسل در کاهش اثرات و آسیب های ایسکمی مانند آریتمی ها و سایر اختلالات قلبی و عروقی به خوبی معلوم نیست [۲۴]. از طرف دیگر با توجه به ترکیبات بسیار متنوع موجود در عسل و نقش هر کدام از آنها ممکن است اثرات آنتی اکسیدانی و جلوگیری از تشکیل

( $P < 0.05$ ). در فاز خونرسانی مجدد، همچنین مدت زمان VF توسط هر دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵٪ عسل به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). درصد وقوع VF نیز با کلیه غلظت های مورد استفاده عسل کاهش داشت ولی همان طوری که در جدول شماره ۲ نیز نشان داده شده است تنها غلظت ۰/۲۵٪ موجب کاهش معنی دار آماری آن شد ( $P < 0.05$ ). هر چند درصد وقوع Irrev VF در گروه های پست کاندیشنینگ دریافت کننده عسل نسبت به گروه کنترل کمتر بود، ولی این میزان از لحاظ آماری فاقد تفاوت معنی دار بود (جدول ۲).

## بحث

هر چند که مصرف سنتی عسل و سایر محصولات و فرآورده های تولیدی بوسیله زنبور از قدمتی بسیار زیاد و باستانی برخوردار است [۷ و ۴] ولی کاربرد علمی آن در بیماری های قلب و عروق عمدتاً مربوط به مطالعه اثرات عسل بر روی عوامل خطر ساز (ریسک فاکتورها) بیماری های قلبی مانند چربی بالا و رادیکال های آزاد و ... بوده [۲۶ و ۲] و تاکنون مطالعات چندانی پیرامون اثرات عسل بر علیه آسیب های ناشی از پدیده ایسکمی - خونرسانی مجدد بویژه بر روی آریتمی های قلبی صورت نگرفته است. از آنجائی که آریتمی هائی مانند تکیکاردی بطنی (VT) و فیبریلاسیون بطنی (VF) از مهمترین علت مرگ و میر متعاقب اعمال جراحی قلب و انفارکتوس حاد میوکاردا می باشند [۲۷] و در شرایط ایسکمی - خونرسانی مجدد نیز آریتمی های قلبی بسیار شایع می باشند لذا در مطالعه حاضر اثرات ضد آریتمی تجویز عسل طبیعی به عنوان یک عامل فارماکولوژیک پست کاندیشنینگ در قلب رت بررسی گردید. نتایج حاصله نشان داد که کاربرد عسل در این شرایط قادر است آریتمی های خطرناک قلبی را کاهش دهد (جدول ۲ و ۱). در زمان ایسکمی، علاوه بر کاهش تعداد کل ضربانات نابجای بطنی (مجموع آریتمی های Single, VT, Salvos)، هر سه غلظت به کار رفته عسل در پیشگیری از وقوع VT و کاستن از مدت زمان آن نیز موثر بودند. همچنین، مدت زمان سپری شده در Rev VF و درصد وقوع آن به صورت معنی داری کاهش یافت که نشانگر نقش

دهد [۲۲]. از طرف دیگر حضور مقادیر قابل توجهی از منابع تولید انرژی در ترکیب عسل مانند گلوکز و فروکتوز [۳۳ و ۶] نیز احتمالاً در عملکرد محافظتی آن سهم داشته باشند. در مجموع، نتایج نشان داد که در محدوده غلظت های به کار رفته در این مطالعه، پرفیوژن عسل طبیعی به قلب ایزوله رت در طی فرآیند پست کاندیشینگ اثرات محافظتی برجسته ای بر علیه آسیب های ناشی از پدیده ایسکمی - خونرسانی مجدد داشته و آریتمی های قلبی را کاهش میدهد. وقوع آریتمی های قلبی و انفارکتوس میوکارد دو مورد اصلی از آثار زیان بار ناشی از پدیده ایسکمی - خونرسانی مجدد هستند و اثرات محافظتی عسل در کاهش آریتمی های قلبی که از نتایج مطالعه حاضر بدست آمدند در کنار کاهش اندازه انفارکت و حجم نواحی انفارکت قلب که در مطالعه قلبی [۲۲] گزارش شدند می تواند برای یک ماده طبیعی پرمصرف مانند عسل ارزشمند باشد. انجام آزمایشات تکمیلی می تواند به شناسایی هر چه بهتر اثرات عسل و مکانیسم های دخیل در عملکردهای محافظتی فوق کمک نماید. بخشی از این مطالعات هم اکنون در گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی تبریز در جریان است.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز در تأمین هزینه های مالی اجرای این پژوهش تقدیر و تشکر می نماید.

رادیکالهای آزاد توسط عسل که در شرایط In Vitro نشان داده شده است نقش مهمی در ایجاد اثرات محافظت قلبی آن داشته باشند [۱۰ و ۵]. در یک مطالعه، تجویز یک ساعت قبل عسل به رت های بیهوش تحت استرس با آدرنالین موجب پیشگیری از اختلالات قلبی و وازوموتور ناشی از آدرنالین گردید. مولفین نتیجه گرفتند که عسل طبیعی احتمالاً به علت وجود آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی، حضور موادی مانند منیزیم (که دارای اثر ضد آریتمی است) و همچنین آزاد شدن نیتریک اکساید در عروق ناشی از عملکرد ویتامین C موجود در عسل می باشد [۲۵]. وجود اثرات آنتی اکسیدانی در عسل خاصی به نام Buckwheat در شرایط In Vivo نیز نشان داده شده است [۱۰]. مطالعه انجام یافته بوسیله Schramm و همکاران وجود آنتی اکسیدان های فنلی را در عسل مطرح کرده [۲۶] و در حالت کلی نیز پیشنهاد شده که اثر آنتی اکسیدانی عسل نتیجه حضور و فعالیت ترکیبات متعددی از جمله فنل ها، پپتیدها، اسیدهای آلی، آنزیمها و ... است [۲۶ و ۱۱]. علاوه بر اثر آنتی اکسیدانی مذکور، در شرایط In Vivo نیز ممکن است فعالیت ضد التهابی [۲۰ و ۵] و تحریک تولید سیتوکین های التهابی و تحریک سیستم ایمنی در اثرات محافظتی عسل نقش داشته باشند [۲۹]. برخی از یافته ها نیز حاکی از اثرات عسل در کاهش بافت نکروزه بوده [۲۹] و نتایج مطالعه قلبی ما نیز نشان داد که پرفیوژن نسبتاً طولانی مدت (۱۵۰ دقیقه) عسل در کل زمان ایسکمی و خونرسانی مجدد می تواند اندازه انفارکت و حجم نواحی انفارکت قلب را کاهش

## References

- [1] Al-Waili NS, Topical honey application vs. acyclovir for the treatment of recurrent herpes simplex lesions. *Med Sci Monit* 10 (2004) 94-98.
- [2] Al-Waili NS, Natural Honey Lowers Plasma Glucose, C-Reactive Protein, Homocysteine, and Blood Lipids in Healthy, Diabetic, and Hyperlipidemic Subjects: Comparison with Dextrose and Sucrose. *J Med Food* 7 (2004) 100-107.
- [3] AL-Waili NS, Akmal M, AL-Waili FS, Saloom KY, Ali A, The antimicrobial potential of honey from United Arab Emirates on some microbial isolates. *Med Sci Monit* 11 (2005) 433-438.
- [4] Asadi-Pooya A, Pnjehshahin MR, Beheshti S, The Antimycobacterial Effect of Honey: An in vitro Study. *Riv Biol* 3 (2003) 491-496.
- [5] Bilsel Y, Bugra D, Yamaner S, Bulut T, Cevikbas U, Turkoglu U, Could honey have a place in colitis therapy? Effects of honey, prednisolone and disulfiram on inflammation, nitric oxide, and free radical formation. *Digest Surg* 19 (2002) 306-311.
- [6] Chow J, Probiotics and prebiotics: a brief overview. *J Ren Nutr* 12 (2002) 76-86.



- [7] Chowdhury M, Honey: is it worth rubbing it in? *J Royal Soc Med* 92 (1999) 663-664.
- [8] Galagudza M, Kurapeev D, Minasian S, Valen G, Vaage J, Ischemic postconditioning: brief ischemia during reperfusion converts persistent ventricular fibrillation into regular rhythm. *Eur J Cardiothorac Surg* 25 (2004) 1006-1010.
- [9] Gateau-Roesch O, Argaud L, Ovize M, Mitochondrial permeability transition pore and postconditioning. *Cardiovasc Res* 70 (2006) 264 - 273.
- [10] Gheldof N, Wang XH, Engeseth NJ, Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. *J Agri Food Chem* 51 (2003) 1500-1505.
- [11] Gheldof N, Wang XH, Engeseth NJ, Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *J Agri Food Chem* 50 (2002) 5870-5877.
- [12] Gross JG, Auchampach AH, Reperfusion injury: Dose it exist? *J Mol Cell Cardiol* 42 (2007) 12-18.
- [13] Gross RE, Gross GJ, Ligand triggers of classical preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 70 (2006) 212 - 221.
- [14] Haberecht A, Comparison of Honey with Pure Sugars as an Ingredient in Starch Based Extrudates, PhD thesis, The University of Queensland, 2003, 6-7.
- [15] Hausenloy JD, Maddock LH, Baxter FG, Yellon MD, Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning. *Cardiovasc Res* 55 (2002) 534-543.
- [16] Hume RJ, Grant OA, Agents Used in Cardiac Arrhythmias, In: Katzung Basic and Clinical pharmacology, 10 th edition, New York: Mc Graw-Hill, 2007, p. 211.
- [17] Johnson DW, Eps CV, Mudge DW, Joan Wiggins K, Armstrong K, Hawley CM, Campbell SB, Isbel NM, Nimmo GR, Gibbs H, Randomized, Controlled Trial of Topical Exit-Site Application of Honey versus Mupirocin for the Prevention of Catheter-Associated Infections in Hemodialysis Patients. *J Am Soc Nephrol* 16 (2005) 1456-1462.
- [18] Kloner AR, Dow J, Bhandari A, Postconditioning markedly attenuates ventricular arrhythmias after ischemia-reperfusion, *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 11 (2006) 55-63.
- [19] Lango R, Smolenski RT, Narkiewicz M, Suchorzewska J, Lysiak-Szydłowska W, Influence of L-carnitine and its derivatives on myocardial metabolism and function in ischemic heart disease and during cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Res* 51 (2001) 21-29.
- [20] Lusby PE, Coombes A, Wilkinson JM, Honey: a potent agent for wound healing? *J Wound Ostomy Continence Nurs* 29 (2002) 295-300.
- [21] Najafi M, Garjani A, Eteraf Oskouei T, Study of ischemic and pharmacologic postconditioning effects of L- carnitine on infarct size in the ischemic reperfused isolated heart, *Pharm Sci J* 1 (2007) 23-28.
- [22] Najafi M, Gharakhani A, Ghavemi H, Eteraf Oskouei T, Protective effects of natural honey application during ischemia and reperfusion on infarct size in ischemic heart. *J Physiol Pharmacol* 11 (2007) 238-243.
- [23] Najafi M, Mahdizadeh-Aghdam E, Raffie F, Eteraf Oskouei T. Effects of pharmacologic preconditioning by natural honey on arrhythmias and infarct size in isolated heart, *Pharm Sci J* 4 (2008) 1-11.
- [24] Najafi M, Shaseb E, Ghaffary S, Fakhru A, Eteraf Oskouei T, Effects of chronic oral administration of natural honey on ischemia/reperfusion-induced arrhythmias in isolated rat heart. *Iran J Basic Med Sci* (2010), In Press.
- [25] Rakha MK, Nabil IZ, Hussein AA, Cardioactive and Vasoactive Effects of Natural Wild Honey Against Cardiac Malperformance Induced by Hyperadrenergic Activity. *J Med Food* 11 (2008) 91-98.
- [26] Schramm DD, Karim M, Schrader HR, Holt RR, Cardetti M, Keen CL, Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. *J Agri Food Chem* 51 (2003) 1732-1735.
- [27] Selwyn AP, Braunwald E. Ischemic heart diseases. In: Kasper LD, Fauci SA, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 16 th ed. New York: The Mc Graw-Hill companies, 2004. p. 1435-1444.
- [28] Subrahmanyam M, Topical application of honey in treatment of burns. *Br J Surg* 78 (1991) 497-498
- [29] Tonks AJ, Cooper RA, Jones KP, Blair S, Parton J, Tonks A, Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. *Cytokine* 21 (2003) 242-247.

- [30] Tsang A, Hausenloy JD, Yellon MD, Myocardial postconditioning: reperfusion injury revisited. *Am J Physiol: Heart Circ Physiol* 289 (2005) H2-H7.
- [31] Vardi A, Barzilay Z, Linder N, Cohen HA, Paret G, Barzilai A, Local application of honey for treatment of neonatal postoperative wound infection. *Acta Paediatr* 87 (1998) 429-432.
- [32] Walker MJA, Curtis MJ, Hearse DJ, The Lambeth conventions: Guidelines for the study of arrhythmia in ischemia, infarction and reperfusion. *Cardiovasc Res* 22 (1988) 447-455.
- [33] White JW, Detection of Honey Adulteration by Carbohydrate Analysis. *Anal Chem* 63 (1980) 11-18.
- [34] Yang XM, Philipp S, Downey JM, Cohen MV, Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation, *Basic Res in Cardiol* 100 (2005) 57-63.
- [35] Yellon DM, Hausenloy DJ, Realizing the clinical potential of ischemic preconditioning and postconditioning. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2 (2005) 568-575.
- [36] Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J, Inhibition of myocardial injury by ischemic post-conditioning during reperfusion. *Am J Physiol, Heart Circ Physiol* 285 (2003) H579-H588.
- [37] Zhao Z, Vinten-Johansen J, Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury, *Cardiovasc Res* 70 (2006) 200 – 211.
- [38] Zumla A and Lulat A, Honey: a remedy rediscovered. *J Royal Soc Med* 82 (1989) 384-385.