

نقش محافظتی آماده سازی بعد از ایسکمی (Postconditioning) فارماکولوژیک با مصرف عسل طبیعی بر روی اندازه انفارکت قلب

مسلم نجفی (PhD)^{۱*}، افشین قره خانی (Pharm D)^۲، حامد قویمی (Pharm D)^۳، طاهره اعتراف اسکویی (PhD)^۴

۱- گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۲- دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۴- دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۹/۳/۸، اصلاح: ۸۹/۵/۱۳، پذیرش: ۸۹/۷/۱۴

خلاصه

سابقه و هدف: عسل بیش از آنکه به عنوان یک ماده غذایی مطرح باشد، به عنوان یک ماده دارویی موثر مورد توجه بوده است. تاکنون نقش محافظتی عسل طبیعی بعنوان یک عامل پست کاندیشنینگ فارماکولوژیک گزارش نشده است. لذا این مطالعه به منظور بررسی اثرات پست کاندیشنینگ عسل بر اندازه انفارکت ناشی از ایسکمی-رپرفیوژن (I/R) در قلب ایزوله انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی ۴۲ سر رت نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۲۰-۳۷۰ گرم انجام شد. قلب ایزوله شده رت‌ها به پنج گروه ۸-۱۰ عددی شامل گروه کنترل و چهار گروه آماده سازی بعد از ایسکمی (درمان با غلظت‌های ۰/۵، ۰/۲۵ و ۱ درصد عسل و گلوکز با غلظت معادل محلول ۱٪ عسل) تقسیم شده و تحت ۳۰ دقیقه ایسکمی ناحیه ای و ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن قرار گرفتند. گروه کنترل، در طول آزمایش محلول کربس معمولی و گروه‌های پست کاندیشنینگ، از ۱۰ دقیقه قبل تا ۱۰ دقیقه بعد از رپرفیوژن، کربس حاوی غلظت‌های مختلف عسل و یا گلوکز دریافت کردند. نمونه‌ها متعاقب رنگ آمیزی با اوانس بلو و برش بصورت قطعات نازک و انکوباسیون با تری فنیل تترازولیوم کلراید جهت تعیین اندازه انفارکت به روش پلانیمتری بکار رفتند.

یافته‌ها: پست کاندیشنینگ فارماکولوژیک با عسل موجب کاهش معنی دار اندازه انفارکت و حجم ناحیه انفارکته قلبی‌های ایزوله گردید. اندازه انفارکت گروه کنترل 47 ± 3 درصد بود ولی مصرف غلظت‌های ۰/۵، ۰/۲۵ و ۱٪ عسل و گلوکز بترتیب 26 ± 3 ، 6 ± 3 و 21 ± 2 درصد (برای همه گروه‌ها) کاهش یافت ($P < 0.001$).

نتیجه گیری: عسل طبیعی بعنوان عامل پست کاندیشنینگ اثرات محافظتی برجسته‌ای بر علیه آسیب‌های I/R داشته و اندازه انفارکت قلب را کاهش می دهد. احتمالاً" خواص آنتی اکسیدانی، مهار تولید رادیکال‌های آزاد و وجود منابع انرژی در عسل در ایجاد اثرات فوق موثرند.

واژه های کلیدی: عسل، آماده سازی بعد از ایسکمی، اندازه انفارکت، قلب ایزوله.

مقدمه

شروع رپرفیوژن طولانی مدت، سلول های قلب را در مقابل آسیب های ناشی از آن محافظت می کند (۱و۲). تاکنون ابعاد گوناگون اثرات و مکانیسم های دقیق ایجاد این پدیده معلوم نشده است هرچند که فعال شدن مسیرهای پیام رسانی

ایسکمیک پست کاندیشنینگ (Ischemic Postconditioning, IPC) پدیده ای است که برای اولین بار در سال ۲۰۰۳ میلادی توصیف شده و در طی آن برقراری دوره های کوتاه مدت و گذرای ایسکمی و رپرفیوژن قبل از

* مسئول مقاله:

آدرس: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی، تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۷۲۲۵۰

e-mail: najafim@tbzmed.ac.ir

عملکرد عسل در شرایط فارماکولوژیک پست کاندیشنینگ بر روی اندازه انفارکت ناشی از پدیده I/R در قلب ایزوله رت مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

مواد: عسل طبیعی منطقه اسکو استان آذربایجان شرقی (جمع آوری شده در فصل پاییز)، پنتو باربیتال سدیم (شرکت کلا بلژیک)، اوانس بلو و تری فنیل تترازولیوم کلراید و مواد بکاررفته در تهیه محلول کربس شامل: کلرید سدیم، بیکربنات سدیم، کلرید پتاسیم، سولفات منیزیم، پتاسیم دی هیدروژن فسفات، D-گلوکز و کلرید کلسیم (شرکت مرک) مورد استفاده قرار گرفت.

حیوانات: از تعداد ۴۲ سر رت نر آلبینو نژاد ویستار با محدوده وزنی ۳۲۰-۲۷۰ گرم که در گروه های ۶ تایی در قفس های پلی اتیلنی شفاف استاندارد در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنائی- تاریکی در دمای معمول آزمایشگاه (۲۳±۲۲ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند و تا زمان انجام آزمایش آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند، استفاده شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی، رت‌ها بصورت تصادفی به چهار گروه ۱۰-۸ عددی شامل یک گروه کنترل و سه گروه پست کاندیشنینگ فارماکولوژیک (تحت درمان با غلظت های ۰/۵، ۰/۲۵ و ۱ عسل طبیعی) تقسیم شده و بعد از بیهوشی با پنتو باربیتال سدیم (۵-۶۰ 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 برقرار شد. از آنجایی که بخش قابل توجهی از عسل را گلوکز موجود در آن تشکیل میدهد (۱۹) برای یافتن اینکه اثرات احتمالی عسل بیشتر به وجود گلوکز مربوط است یا نه در گروه دیگری از رت‌ها (گروه پنجم)، به میزان گلوکز موجود در محلول ۱٪ عسل، از گلوکز خالص به محلول کربس افزوده شده و اثر آن نیز مطالعه شد. محلول کربس به کار رفته در این مطالعه: کلرید سدیم (۱۸۸/۵)، بیکربنات سدیم (۲۵)، کلرید کلسیم (۱/۷)، سولفات منیزیم (۱/۲)، پتاسیم دی هیدروژن فسفات (۱/۲)، گلوکز (۱۲) و کلرید پتاسیم (۴/۸) میلی مول بر لیتر بود (۲۰).

برای ایجاد ایسکمی ناحیه ای (Regional ischemia)، یک نخ بخیه جراحی سیلک (۴ صفر) به دور شریان کرونر نزولی چپ قلب موقتاً گره زده شد و پس از ۳۰ دقیقه ایسکمی، گره باز شده و به مدت ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن (Reperfusion) انجام گرفت (۲۱). قلب های گروه کنترل در طول زمان تثبیت (Stabilization)، ۳۰ دقیقه ایسکمی ناحیه ای و ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن مجدد محلول کربس معمولی دریافت داشتند در حالی که گروه های پست کاندیشنینگ فارماکولوژیک در طی ۱۰ دقیقه قبل تا ۱۰ دقیقه بعد از شروع رپرفیوژن، به ترتیب با محلول کربس حاوی غلظت های ۰/۵، ۰/۲۵ و ۱ درصد عسل تغذیه شدند. در گروه دریافت کننده گلوکز، در طی ۱۰ دقیقه قبل تا ۱۰ دقیقه بعد از شروع رپرفیوژن محلول کربس نرمال که ۳ گرم گلوکز خالص به ازای هر لیتر (معادل میزان موجود در عسل ۱٪) به آن اضافه شده بود، رپرفیوژن شد.

برای محاسبه درصد اندازه انفارکت، بعد از اتمام ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن ابتدا نمونه های مورد مطالعه با محلول ۰/۲۵٪ اوانس بلو رنگ آمیزی شدند. سپس به

مختلفی مانند PI3K-Akt، پروتئین کینازهای گوناگون (۳)، باز شدن کانالهای پتاسیمی وابسته به آدنوزین تری فسفات (Adenosine Triphosphate، ATP) در میتوکندری ها (۴) و افزایش آزادی آدنوزین درون زاد از عوامل دخیل در اثرات محافظتی آن ذکر شده است (۵). برخی از مطالعات، اثرات محافظتی IPC بر علیه آسیب های ناشی از ایسکمی- رپرفیوژن (Ischemia-Reperfusion, I/R) را نشان داده اند (۶) ولی ایجاد اینوزیتول تری فسفات IPC در خرگوش های مبتلا به هیپر کلسترولمی و آترواسکلروز نتوانست اندازه انفارکت را کاهش دهد (۷).

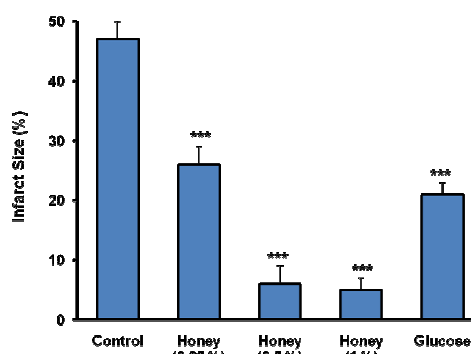
استفاده کوتاه مدت قبل از رپرفیوژن برخی داروها (مانند سووفلوران و...) نیز که فارماکولوژیک پست کاندیشنینگ (Pharmacologic Postconditioning) نامیده می شود شیوه ای برای تقلید عملکرد IPC بوده و اثرات محافظت کننده قلبی آن نشان داده شده است (۸). عسل یک ماده اسیدی و سرشار از مواد مغذی مختلف است که ترکیبات آن بسته به محل تهیه متفاوت بوده و قندهای گلوکز و فروکتوز، ویتامینهای گروه B و ویتامین C، پروتئین، انواع مواد معدنی مانند کلسیم، پتاسیم، آهن، فسفر، منیزیم و آنزیم های متعددی در آن موجود می باشد (۹). عسل بیش از آنکه به عنوان یک ماده غذایی مطرح باشد به عنوان یک ماده دارویی موثر مورد توجه بوده (۱۰) و از گذشته های خیلی دور تاکنون به صورت سنتی در درمان برخی از بیماری ها در سراسر جهان استفاده شده است (۱۱ و ۱۲). مصریان باستان، آشوری ها، چینی ها، یونانی ها و رومی ها آن را برای التیام زخم ها و بیماریهای شکم به کار می بردند (۱۳).

بیش از هزار سال قبل ابوعلی سینا مصرف عسل را برای درمان بیماری سل توصیه کرده و اثر ضد میکروباکتریال آن در تحقیقات اخیر نیز نشان داده شده است (۱۳). عسل بر روی برخی میکروب های دیگر از جمله استافیلوکوک اورئوس، خانواده آنتروباکتریاسه، آسینتوباکتر و بروسلا اثر آنتی بیوتیکی قوی دارد (۹ و ۱۲).

همچنین به علت کمی درد ناشی از مصرف موضعی آن، ارزانی و سهولت مصرف، عسل به عنوان یک ماده ایده آل در التیام سوختگی های سطحی مطرح گردیده است (۱۴ و ۱۵). مطالعه انجام شده توسط Gheldof و همکاران بر روی نوعی عسل به نام Buckwheat honey شواهدی از وجود اثرات آنتی اکسیدانی عسل در شرایط In Vivo را نشان داده است (۱۵). Schramm و همکارانش نیز آنتی اکسیدانهای فنلی را در عسل شناسائی نمودند (۱۶).

برخی از یافته های دیگر حاکی از اثرات عسل در کاهش دادن بافت نکروزه است (۱۷). تاکنون بیشتر مطالعات انجام شده بر روی اثرات درمانی عسل و فرآورده های آن به اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی، ترمیم زخم های سطحی، کاهش درد و التهاب بافتی و یا مشخصات مواد و ترکیبات آن متمرکز بوده و مطالعات علمی اندکی پیرامون کاربرد عسل در بیماری های مختلف قلب و عروق صورت گرفته و بسیاری از ابعاد کاربردهای درمانی بالقوه آن در این زمینه ناشناخته باقی مانده اند.

نتایج مطالعات قبلی بروی آسیب های ایسکمیک قلب ایزوله با تجویز حاد و کوتاه مدت عسل نشان داد که تجویز کوتاه مدت عسل از ۱۰ دقیقه قبل از شروع ایسکمی تا ۱۰ دقیقه بعد از آن (فارماکولوژیک پره کاندیشنینگ) اثرات محافظت قلبی قابل توجهی دارد (۱۸). ولی اثرات کاربرد عسل طبیعی بعنوان یک عامل فارماکولوژیک پست کاندیشنینگ گزارش نشده است. لذا در این مطالعه



شکل ۱. اثرات پرفیوژن غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱٪ عسل طبیعی و گلوکز بر اندازه انفارکت در قلب ایزوله رت در شرایط پست کاندیشنینگ. *** $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل.

از طرف دیگر پست کاندیشنینگ با مصرف عسل طبیعی و گلوکز، کاهش معنی دار و واضحی در حجم ناحیه انفارکت قلب ایزوله به وجود آورد. طوری که در مقایسه با گروه کنترل، گلوکز و غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد عسل ناحیه انفارکت را از 20.5 ± 19 میلی متر مکعب (گروه کنترل) به ترتیب به 86 ± 20 ، 72 ± 12 ، 31 ± 19 و 18 ± 6 میلی متر مکعب ($P < 0.001$ برای هر چهار گروه) کاهش دادند (جدول ۱). برای حصول اطمینان از یکنواختی القای ایسکمی ناحیه ای، حجم ناحیه در معرض خطر (Risk Zone) نیز در کلیه گروه ها با یکدیگر مقایسه گردید که در این مورد تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد.

جدول ۱. اثرات آماده سازی بعد از ایسکمی فارماکولوژیک با پرفیوژن غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱٪ عسل طبیعی و گلوکز بر روی حجم ناحیه انفارکت (Infarcted volume) و درصد اندازه انفارکت در قلب ایزوله رت متعاقب ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن.

گروه	تعداد رت	حجم ناحیه در معرض خطر (mm) ³	حجم ناحیه انفارکت (mm) ³	درصد اندازه انفارکت
کنترل	۱۰	438 ± 37	20.5 ± 19	47 ± 3
عسل (۰/۲۵)	۸	384 ± 39	$72 \pm 12^*$	$26 \pm 3^*$
عسل (۰/۵)	۸	396 ± 75	$31 \pm 19^*$	$6 \pm 3^*$
عسل (۱٪)	۸	367 ± 58	$18 \pm 6^*$	$5 \pm 2^*$
گلوکز	۸	410 ± 90	$86 \pm 20^*$	$21 \pm 2^*$

* $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل.

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه برای اولین بار نشان داد که مصرف عسل به عنوان یک عامل پست کاندیشنینگ، اندازه انفارکت و حجم ناحیه انفارکت را بصورت برجسته ای در قلب ایزوله رت ها کاهش می دهد. به طوری که غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد عسل درصد اندازه انفارکت را به ترتیب ۸۷، ۸۹ و ۴۵ درصد کاهش داد. همچنین در این مطالعه گلوکز نیز موجب کاهش ۵۵ درصد اندازه انفارکت در مقایسه با گروه کنترل شد. از طرف دیگر مقایسه نتایج حاصل از مصرف عسل ۱

درصد و گلوکز بر روی کاهش حجم ناحیه انفارکت و درصد اندازه انفارکت نشان داد که هم گلوکز و هم عسل ۱ درصد موجب کاهش معنی دار آنها می شوند ولی تفاوت آماری کاملاً محسوس و معنی داری میان آن دو وجود دارد. به عبارت دیگر تاثیر عسل ۱ درصد در کاهش حجم ناحیه انفارکت و اندازه انفارکت به مراتب بیشتر از گلوکز بود ($P < 0.001$). لذا به نظر می رسد که علیرغم حضور مقادیر بالای گلوکز در ترکیب عسل (حدود ۳۰ درصد) و نقش محافظتی آن در کاهش

آنالیزهای کروماتوگرافیک فراکسیون های فنلی غیر قطبی انواع عسل حاکی از آن است که بیشتر آنها دارای ترکیبات فنلی مشابهی هستند (۲۵ و ۱۸). در حالت کلی نیز پیشنهاد شده که اثر آنتی اکسیدانی عسل نتیجه حضور و فعالیت ترکیبات متعددی از جمله فنل ها، پتیدها، اسیدهای آلی، آنزیمها و ... است (۲۵ و ۱۸). علاوه بر اثر آنتی اکسیدانی مذکور ممکن است فعالیت ضد التهابی (۲۶ و ۲۴) و تحریک سیستم ایمنی نیز در اثرات محافظتی عسل نقش داشته باشند (۱۹). برخی از یافته ها حاکی از اثرات عسل در کاهش بافت نکروزه است (۱۹). از طرف دیگر حضور مقادیر قابل توجهی از منابع تولید انرژی در ترکیب عسل مانند گلوکز و فروکتوز نیز ممکن است در عملکرد محافظتی آن سهم قابل توجهی دارا باشند (۲۷ و ۱۹). در مجموع، مطالعه حاضر نشان داد که پرفیوژن عسل طبیعی در پروسه پست کاندیشنینگ (۲۰ دقیقه) به قلب ایزوله رت اثرات محافظتی برجسته ای بر علیه آسیب های ناشی از I/R داشته و اندازه انفارکت قلبی و حجم ناحیه انفارکت را بطور واضح کاهش میدهد. با توجه به اطلاعات موجود به نظر می رسد که اثرات محافظت قلبی عسل در این شرایط به مجموعه ای از مکانیسمهای شناخته شده از جمله اثر آنتی اکسیدانی آن و مهار تولید رادیکالهای آزاد و دسترسی مناسب بافت قلب به منابع تولید انرژی از جمله گلوکز و فروکتوز و در نتیجه بهبود عملکرد قلب مربوط باشد. در شرایط In Vivo نیز علاوه بر مکانیسم های فوق، ممکن است اثرات ضد التهابی و یا برخی مکانیسم های ناشناخته نقش داشته باشند. انجام آزمایشات تکمیلی می تواند به شناسایی هر چه بهتر اثرات عسل و مکانیسم های دخیل در عملکردهای محافظتی فوق کمک نماید.

حجم ناحیه انفارکت و درصد اندازه انفارکت، عملکرد محافظتی عسل صرفا به وجود گلوکز در آن مربوط نبوده و نقش بقیه مواد و ترکیبات موجود در عسل نیز بسیار مهم و حتی ممکن است بیشتر از گلوکز باشند. یافته های حاصل از مطالعه حاضر با نتایج مطالعات قبلی که در طی آن تجویز حاد و کوتاه مدت عسل به عنوان یک عامل فارماکولوژیک پره کاندیشنینگ، اثرات محافظت قلبی بر علیه آسیب های ناشی از I/R را به صورت کاهش اندازه انفارکت نشان داده بود نیز همخوانی دارد (۱۸). با وجود شباهت های کلی در کیفیت اثرات ضد انفارکت عسل در این مطالعات، به نظر می رسد که تجویز عسل قبل از القای ایسکمی (پره کاندیشنینگ فارماکولوژیک) تا حدودی موثرتر از تجویز آن در شرایط فارماکولوژیک پست کاندیشنینگ است (۱۸). همانطوری که قبلا نیز اشاره شد از آنجایی که تاکنون بررسی های علمی چندانی در مورد کاربرد عسل در بیماری های مختلف قلب از جمله در شرایط I/R صورت نگرفته، لذا مکانیسم اثرات محافظتی عسل در کاهش اندازه انفارکت و حجم نواحی انفارکت و سایر شاخص های عملکرد قلب به خوبی مشخص نیست هر چند ممکن است اثرات آنتی اکسیدانی و جلوگیری از تشکیل رادیکال های آزاد توسط عسل که در شرایط In Vitro نشان داده شده است نقش مهمی در این رابطه داشته باشند (۲۴ و ۱۷). وجود اثرات آنتی اکسیدانی در عسل Buckwheat در شرایط In Vivo نیز نشان داده شده است (۱۷). مطالعه انجام شده توسط Schramm و همکارانش وجود آنتی اکسیدانهای فنلی را در عسل مطرح کرده است (۱۶).

Protective Role of Pharmacologic Postconditioning with Natural Honey on Myocardial Infarction Size

M. Najafi (PhD)^{1*}, A. Gharakhani (Pharm D)², H. Ghavimi (Pharm D)³, T. Eteraf Oskouei (PhD)⁴

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

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

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

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

J Babol Univ Med Sci;13(2); Mar 2011

Received: May 29th 2010, Revised: Aug 4th 2010, Accepted: Oct 6th 2010.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Honey has been noticed as an effective drug more than a nutrient. There is no report regarding cardioprotective effects of postconditioning with natural honey. In the present study, effects of postconditioning by honey on myocardial infarction size in ischemic-reperfused isolated rat heart were investigated.

METHODS This experimental study was performed on 42 male Wistar rats weighing 270-330 g. The rats' hearts were isolated and divided into five groups including a control and four postconditioning groups (n= 8-10 in each). The hearts were subjected to 30 min regional ischemia followed by 120 min reperfusion. In the control group, the hearts were perfused by normal Krebs-Henseleit (K/H) solution throughout the experiment, however in the postconditioning groups, they were perfused with honey (0.25, 0.5 and 1%) enriched K/H solution or glucose (equivalent concentration in 1% honey solution) from 10 min before to 10 min after reperfusion. To determine the infarct size, the hearts were perfused with Evans blue dye then cut into slices and incubated with triphenyltetrazolium chloride. Finally, the infarct size was determined by computerized planimetry.

FINDINGS: Perfusion of isolated hearts with honey as a postconditioning agent significantly decreased infarct size and infarcted volume in the all treated groups. In the control group, the infarct size was 47±3%, however, natural honey (0.25, 0.5 and 1%) and glucose reduced it to 26±3, 6±3, 5±2 and 21±2 %, respectively (p<0.001 for all groups).

CONCLUSION: The results showed protective effects of postconditioning by natural honey against ischemia-reperfusion injuries as reduction of infarction size. Probably, antioxidant activity of honey, scavenging of free radicals and the presence of energy sources in honey composition may involve in these protective effects.

KEY WORDS: Honey, Postconditioning, Infarction size, Isolated heart.

*Corresponding Author;

Address: Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Tel: +98 411 3372250

E-mail: najafim@tbzmed.ac.ir

References

1. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion. Comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285(2): H579-88.
2. Gross RE, Gross GJ. Ligand triggers of classical preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006;70(2): 212-21.
3. Hausenloy DJ, Yellon DM. Survival kinases in ischemic preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006;70(2):240-53.
4. Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Postconditioning: reduction of reperfusion-induced injury. *Cardiovasc Res* 2006;70(2): 200-11.
5. 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 Cardiol* 2005;100(1):57-63.
6. Gateau-Roesch O, Argaud L, Ovize M. Mitochondrial permeability transition pore and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006;70(2):264-73.
7. Iliodromitis KE, Zoga A, Vrettou A, et al. The effectiveness of postconditioning and preconditioning on infarct size in hypercholesterolemic and normal anesthetized rabbits. *Atherosclerosis* 2006;188(2):356-62.
8. Lucchinetti E, Ambrosio S, Aguirre J, et al. Sevoflurane inhalation at sedative concentrations provides endothelial protection against ischemia-reperfusion injury in humans. *Anesthesiology* 2007;106(2):262-8.
9. Haberecht A. Comparison of honey with pure sugars as an ingredient in starch based extrudates, The University of Queensland 2003; 6-7. PhD Thesis
10. 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* 2005;11(12):433-8.
11. Zumla A, Lulat A. Honey--a remedy rediscovered. *J Royal Soc Med* 1989;82(7):384-5.
12. Chowdhury M. Honey: is it worth rubbing it in? *J R Soc Med* 1999;92(12):663.
13. Asadi-Pooya A, Pnjeshahin MR, Beheshti S. The antimycobacterial effect of honey: An in vitro study. *Riv Biol* 2003;96(3):491-6.
14. Subrahmanyam M. Topical application of honey in treatment of burns. *Br J Surg* 1991;78(4):497-8.
15. Gheldof N, Wang XH, Engeseth NJ. Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. *J Agri Food Chem* 2003;51(5):1500-5.
16. 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* 2003;51(6):1732-5.
17. Tonks AJ, Cooper RA, Jones KP, Blair S, Parton J, Tonks A. Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. *Cytokine* 2003;21(5):242-7.
18. Najafi M, Mahdizadeh-Aghdam E, Rafie F, Eteraf Oskoue T. Effects of pharmacologic preconditioning by natural honey on arrhythmias and infarct size in isolated heart. *Pharm Sci J* 2008;4:1-11.
19. White JW Jr. Detection of honey adulteration by carbohydrate analysis. *J Assoc Off Anal Chem* 1980;63(1):11-18.
20. Gross GJ, Auchampach JA. Reperfusion injury: Does it exist? *J Mol Cell Cardiol* 2007;42:12-18.
21. Hausenloy DJ, Maddock HL, Baxter GF, Yellon DM. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning. *Cardiovasc Res* 2002;55(3):534-43.
22. Zacharowski K, Blackburn B, Thiemermann C. Ranolazine, a partial fatty acid oxidation inhibitor, reduces myocardial infarct size and cardiac troponin T release in the rat. *Eur J Pharmacol* 2001;418(1-2):105-10.
23. Khalil PN, Siebeck M, Huss R, et al. Histochemical assessment of early myocardial infarction using 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride in blood-perfused porcine hearts. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2006; 54(3): 307-12.

24. 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* 2002;19(4):306-11.
25. Gheldof N, Wang XH, Engeseth NJ. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *J Agri Food Chem* 2002;50(21):5870-7.
26. Lusby PE, Coombes A, Wilkinson JM. Honey: a potent agent for wound healing? *J Wound Ostomy Continence Nurs* 2002;29(6):295-300.
27. Chow J. Probiotics and prebiotics: a brief overview. *J Ren Nutr* 2002;12(2):76-86.