DOI:10.22092/VJ.2023.362106.2066
شماره ۱۴۳ تابستان ۱۴۰۳
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک

مقاله مروری

ملیتین، پپتید مشتق شده از زهر زنبور عسل برای درمان سرطان

• **مجتبی زینعلی**
دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم پزشکی بابل دانشکده پزشکی
گروه فارماکولوژی و توکسیکولوژی، ایران، بابل
• **علی نظری(نویسنده مسئول)**
استادیار، بخش تحقیق و توسعه، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۹-۰۲-۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۷-۰۶-۱۴۰۲
تاریخ بازنگری: ۱۶-۰۶-۱۴۰۲ تاریخ انتشار: ۱۲-۰۴-۱۴۰۳
Email: anshirvan@gmail.com

چکیده

امروزه درمان سرطان یکی چالش های مهم در دنیای پزشکی است که نیازمند روش های درمان کارآمدتر است. بسیاری از بیوتوکسین های تولید شده توسط حشرات مانند زنبورهای عسل برای کشف داروهای جدید برای درمان سرطان استفاده می شود. ملیتین، پپتید اصلی زهر زنبور عسل، یک کاندید جذاب برای درمان سرطان است. در مطالعات متعددی نشان داده شده است که این پپتید دارای اثرات ضد سرطان بالقوه ای در برابر سرطان های مختلف از جمله پستان، کبد، تخمدان، پروستات و... می باشد. با وجود داده های قانع کننده در مورد اثرات ضد سرطانی آن در انسان، به دلیل مسائل متعددی از جمله سمیت سلولی غیراختصاصی، متابولیزه شدن و فعالیت همولیتیک استفاده از آن با چالش هایی رو به رو شده است. در این مقاله درک فعلی از اثرات ضد سرطانی ملیتین در انواع مختلف سرطان ها و اطلاعات موجود در ارتباط با مکانیسم احتمالی عمل ملیتین ارائه می گردد. این مطالعه پیشرفت های اخیر در زمینه اثرات و مکانیسم‌های ملیتین را طی سال‌های ۲۰۱۳-۲۰۲۳ مرور می‌کند.

کلمات کلیدی: ملیتین، سرطان، آپوپتوز، کاسپاز، همولیز

Veterinary Research & Biological Products No 1403 pp: 2-14

Melittin, a peptide derived from honey bee venom for the treatment of cancer

By: Nazari , A.,(Corresponding Author) Department of Research and Development, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran. and Zeinali, M., Department of pharmacology, School of medicine, Babol University of medical sciences, Babol, Iran

Received: 2023-05-09 **Accepted: 2023-09-08**
Revised: 2023-09-07 **Published: 2024-07-02**

Email: anshirvan@gmail.com

Nowadays, the treatment of cancer is an important challenge in the medical world that needs better treatments. Many bio-toxins produced by insects such as honey bees are used to discover new anticancer drugs. Melittin, the main component of bee venom, is an attractive candidate for cancer treatment. Several studies have shown that this peptide has potential anticancer effects against various cancers such as breast, liver, ovarian, prostate, etc. Despite the convincing data against a variety of cancers, it's use has faced challenges including non-specific cytotoxicity, degradation, and hemolytic activity. Here we summarized the current anticancer effects of Melittin in different types of cancer and the possible mechanism of Melittin. This article reviews the recent studies onthe effects and mechanisms of Melittin against cancer during the years 2013-2023.

Key words: *Melittin; Cancer; apoptosis; caspase pathway; hemolysis*

مقدمه

سرطان عامل اصلی مرگ و میر جهانی و یک مشکل عمده بهداشت عمومی است. انتظار می‌رود با افزایش جمعیت، پیری جوامع و اتخاذ سبک زندگی که خطر ابتلا به سرطان را افزایش می‌دهد، بروز موارد سرطان به سرعت افزایش یابد (۳۲). از سوی دیگر شیمی درمانی و پرتودرمانی فعلی به دلیل مقاومت سلول‌های سرطانی و عوارض جانبی در تجویز سیستمیک، کارایی محدودی را نشان داده‌اند. بنابراین نیاز فوری به یافتن درمان‌های بهتر وجود دارد (۱۷).

بیوتوکسین‌هایی که در غده سمی موجودات زنده سنتز و ترشح می‌شوند، توجه دانشمندان را در درمان سرطان جلب کرده‌اند (۲۸). زهر زنبور یکی از این کاندیدها است که به عنوان یک داروی سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف مانند آرتریت، روماتیسم، تومورهای سرطانی، و انواع بیماری‌های پوستی استفاده می‌شود. اگرچه زهر زنبور از اجزای بسیاری تشکیل شده است در این جا بر روی ملیتین که تقریباً ۵۰ درصد وزن خشک آن را شامل می‌شود، تمرکز شده است.

ملیتین در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف از طریق تزریق پوستی استفاده می‌گردید(۱). این پپتید با ایجاد اختلال در غشای سلولی، همراه با انتشار محتویات درون سلولی و الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب، آپوپتوز را القا می‌کند(۲۶). با این حال، این اثرات برای برانگیختن پاسخ ایمنی قوی ضدتوموری متوسط و ناکافی هستند، زیرا دامنه دوز ایمن، محدود و اثرات جانبی همانند همولیز دارد. علاوه بر این، کارایی ملیتین (وزن مولکولی ۲,۸۴ kDa) نیز به دلیل توزیع نامطلوب محدود می‌شود، زیرا با تزریق زیر جلدی (subcutaneous) مولکول‌های کوچک (<۲۰-۱۶ kDa)، این مولکول‌ها ترجیحاً وارد گردش خون می‌شوند و به سرعت متابولیزه می‌شوند(۳۵).

مطالعات انجام شده فعلی نشان می‌دهد که ملیتین بر انتقال سیگنال و مسیرهای نظارتی تاثیر می‌گذارد و باعث جلوگیری از تکثیر، القای آپوپتوز، مهار رگ‌زایی، اختلال در چرخه سلول، مهار مهاجرت و متاستاز می‌شود که در زیر مورد بحث قرار می‌گیرند.

همان‌طور که در جدول ۱ اثرات ضدسرطانی ملیتین به طور خلاصه بیان شده به شرح مفصل آن نیز در ادامه پرداخته خواهد شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه پیشرفت‌های اخیر در زمینه اثرات و مکانیسم‌های ملیتین را در برابر سرطان طی ده سال اخیر مرور می‌کند. منبع جست‌وجو پایگاه اطلاعاتی Pubmed می‌باشد.

نتایج

تحقیقات سرطان پستان

بسته به وجود نشانگرهای مولکولی برای گیرنده‌های هورمونی

جدول ۱ - اثرات ضدسرطانی ملیتین.

سرطان	لاین سلولی	ملیتین	دوز	اثر بیولوژیک	مکانیسم	منبع
کبد	۷۷۲۱-SMMC		۲ µg/ml و۴µg/ml ، به مدت ۲۴ ساعت	جلوگیری از تشکیل EMT و VM کاهش بقای سلولی؛ مهار مهاجرت و تهاجم سلولی	↓N-cadherin, ↓vimentin, ↑ E-cadherin, ↓VEGF, ↓MMP-2, ↓MMP-9; ↓Akt pathway: ↓HIF-1α, ↓p-Akt	[۳۷]
	HepG۲ ,Huh۷		µg/ml ۲و ۴، به مدت ۲۴ ساعت	جلوگیری از تشکیل VM؛ کاهش بقای سلولی؛ مهار مهاجرت و تهاجم سلولی	↓VEGF, ↓MMP-2, ↓MMP-9, ↓HIF-1α	
			BALB/c nude male mice ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم، تزریق داخل وریدی، روزانه به مدت ۱۱ روز	مهار رشد تومور و کاهش حجم تومور	↓HIF-1α	
	HepG۲		µg/ml ۱,۲,۴,۸,۱۶,۳۲ برای ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت	آپوپتوز از مسیر میتوکندریایی	↑Caspase-۳, ↑Caspase-۹, ↓Bcl-۲,	[۳۶]
سرطان سینه	۲۳۱-MDA-MB		µg/ml ۱,۲,۴ , ۰,۵	مهار تحرک سلولی، مهاجرت و تهاجم		[۱۵]
	۷-MCF		۰,۵، ۱، ۲ و ۴ میکروگرم در میلی لیتر	مهار تحرک سلولی، مهاجرت و تهاجم از طریق سرکوب تهاجم تومور ناشی از EGF.	مهار بیان MMP-۹ و فسفوریلاسیون FAK. فسفوریلاسیون PI۳K/Akt/mTOR و مهار مسیر سیگنالینگ mTOR	
	۷-MCF	MEL loaded on CA-MNPs	۰,۰۹۷، ۰,۱۹۵، ۰,۳۹، ۰,۷۸۱، ۱,۵۶، ۳,۱۲۵، ۶,۲۵ و ۱۲,۵ میکروگرم بر میلی لیتر، به مدت ۴۸ ساعت	مهار رشد سلولی؛ بهبود توانایی هدف گیری مغناطیسی تومور		[۱۱]
	SKBR۳ ,۴T۱	MEL loaded on niosome	۷۲,۴۲ میکرومولارملیتین، ۹۷,۴۱ میکرومولار (نیوزوم بارگذاری شده با ملیتین)، به مدت ۷۲ ساعت (۴T۱) (۶۵,۱۳ میکرومولار ملیتین، ۸۵,۷۶ میکرومولار (نیوزوم بارگذاری شده با ملیتین)، به مدت ۷۲ ساعت(SKBR۳)	کاهش زنده ماندن سلولی؛ افزایش آپوپتوز سلولی، مهار مهاجرت و بهبود زخم	↑Caspase-۳, ↑Caspase-۹, ↓MMP, ↑Bax-۲, ↓Bcl-۲, ↓MMP-۹	[۱۲]
			Female BALB/c inbred mice (۳و ۶ mg/kg ملیتین ، ۱,۵ و ۳ mg/kg نیوزوم با ملیتین)، تزریق روزانه به مدت ۲۰ روز	مهار رشد تومور، کاهش حجم تومور و تعداد سلول های التهابی در تومور. جلوگیری از کاهش وزن در موش		

جدول ۱ - اثرات ضدسرطانی ملیتین.

سرطان	لاین سلولی	ملیتین	دوز	اثر بیولوژیک	مکانیسم	منبع
سرطان سینه	۴T۱		۰,۱۲۵، ۰,۲۵، ۰,۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر، به مدت ۷۲ ساعت	مهار تکثیر سلولی باعث همولیز سلولی و آپوپتوز می شود	↑Mfn1, ↑Drp1	[۱۲]
	۲۳۱-MDA-MB		۲,۵، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر به مدت ۱ ساعت		↓p-EGFR, ↓p-MARK	[۱۰]
	SUM۱۵۹		۲,۵، ۴,۲۴، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر برای ۱، ۱۸ و ۲۴ ساعت	غشای پلاسمایی منقبض و از بین می رود. کاهش بقا سلولی، القای آپوپتوز	PI3K/Akt and MAPK signaling pathway: ↑cleaved Capsase-3, ↑p-p44/42 MAPK, ↑p-stress-activated protein kinase (SAPK)/JNK, ↑p-p38 MAPK, ↓p-EGFR, ↓p-Akt	[۱۰]
	SKBR۳		۲,۵، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر برای ۱ و ۲۴ ساعت	کاهش حیات سلولی	PI۳K/Akt and MAPK signaling pathway: MAPK, ۴۲/p-EGFR, ↓p-p۴۴↓ ,↓p-HER۲ MAPK ↓p-Akt, ↓p-SAPK/JNK, ↓p-p۳۸	[۱۰]
سرطان ریه	A۵۴۹	۸-MLT@ZIF NPs	۲، ۴ و ۸ میکروگرم در میلی لیتر، به مدت ۲۴ ساعت	سلول ها کوچکتر و گرد می شوند، کروماتین متراکم و هسته کوچک می شود. مهار فعالیت سلولی؛ افزایش آپوپتوز و کاهش همولیز	,۳-Bax, ↑Cyt C, ↑Caspase↑ ,p۵۳↑ ۲-p-Akt, ↓PI۳K, ↓Bcl↓ ,۹-Caspase↑	[۳۴]
	H۳۵۸ ,A۵۴۹		۲ میکروگرم در میلی لیتر، برای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت	مهار رشد، مهاجرت و تهاجم سلولی؛ القای آپوپتوز	ERK signaling↓ ;۱-Apaf↑ ,۳-Caspase↑ pathway: ↓TGF-β, ↓ERK, ↓p-ERK	[۴۴]
			موش نر (۵ میلی گرم بر کیلوگرم، تزریق موضعی، هر ۳ روز یک بار به مدت ۲۱ روز)	رشد تومور را مهار می کند، زمان بقای موش را طولانی می کند	TGF-β, ↓ERK↓	
	ChaGo-K۱		۰,۷ و ۲,۵ میکرومولار، به مدت ۲۴ ساعت	انقباض سلولی و شناور شدن؛ مهار تکثیر و مهاجرت سلولی؛ بهبودآپوپتوز/نکروز؛ توقف فاز G۱/G۰	MADD↓ ,۲-Bcl↑	[۴۵]
	NCI-H۴۴۱		۰,۵، ۱، ۲ و ۴ میکروگرم در میلی لیتر، برای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت	بهبود آپوپتوز سلولی، مهار مهاجرت و تهاجم؛ رشد سلولی را مهار می کند	Bax↑ ,۲-Caspase↑ ,۲-Bcl↓ ,۱۸۳-miR↓	[۳۲]

جدول ۱ - اثرات ضدسرطانی ملیتین.

سرطان	لاین سلولی	ملیتین	دوز	اثر بیولوژیک	مکانیسم	منبع
سرطان ریه			Balb/c nu/nu mice ۵ میلی گرم بر کیلوگرم، s.c.، روزانه به مدت ۴ هفته	مهار رشد تومور	↑Caspase-2 ↓Tripartite motif-containing 8 (TRIM8); Akt pathway: ↓p-Akt	[۳۲]
	DDP/A۵۴۹		۴، ۸ میکروگرم در میلی لیتر، به مدت ۴۸ ساعت	مهار اثر واربورگ؛ مهار رشد سلولی و القای آپوپتوز		[۴۶]
			Balb/c athymic nude mice (۲ میلی گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی، هر ۷ روز به مدت ۳ هفته)	مهار رشد تومور و کاهش اندازه و جرم تومور. افزایش حساسیت تومور و سلول ها به سیس پلاتین		
سرطان خون	CCRF-CEM, ۵۶۲-K		۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار، برای ۲۴ و ۴۸ ساعت	کاهش بقای سلولی و القای آپوپتوز	Caspase-3/7 pathway: ↑hydrolytic activity↑ of Caspase-3/7	[۴۲]
	Jurkat		10^{-5} مولار برای نیم ساعت	مهار بقای سلولی؛ افزایش نفوذپذیری از طریق غشای پلاسمایی		[۴۳]
پوست	A۳۷۵SM		۱، ۲,۵ و ۵ میکروگرم در میلی لیتر برای ۲۴ و ۷۲ ساعت	مهار رشد سلولی، مهاجرت، تهاجم و افزایش آپوپتوز	cleaved Caspase-3, ↑cleaved Caspase-9,↑ ↓MITF; ↓PI3K/Akt/mTOR pathway: ↓p-PI3K, ↓p-Akt, ↓p-mTOR; ↓MAPK signaling pathway: ↓ERK,↓p-ERK, ↓p38, ↓MMP-2	[۳۹]
	B۱۶F۱۰		۰,۵، ۱، ۲,۵ و ۵ میکروگرم در میلی لیتر برای ۲۴ و ۷۲ ساعت	مهار رشد سلولی، مهاجرت، تهاجم وافزایش آپوپتوز		[۳۹]
	۲A-SK-MEL		۱، ۲,۵ و ۵ میکروگرم در میلی لیتر برای ۲۴ و ۷۲ ساعت	مهار رشد سلولی، مهاجرت، تهاجم و ترویج آپوپتوز. تولید ملانین را مهار می کند		[۳۹]
پروستات	LNCaP		۰,۵، ۱ و ۲,۵ میکروگرم در میلی لیتر	القای مرگ سلولی از طریق فعال شدن مسیر کاسپاز	NF-kB ↓	[۲۰]
	LNCaP		۰,۵، ۱ و ۲,۵ میکروگرم در میلی لیتر	آپوپتوز سلولی از طریق فعال سازی مسیر کاسپاز	NF-kB ↓	[۲۰]

جدول ۱ - اثرات ضدسرطانی ملیتین.

سرطان	لاین سلولی	ملیتین	دوز	اثر بیولوژیک	مکانیسم	منبع
دهانه رحم	HeLa	MEL loaded on PEG-GO-Fe۳O۴	۱۳ میکروگرم در میلی لیتر (MEL/PEG-GO-Fe۳O۴)، حاوی ۵ میکروگرم در میلی لیتر ملیتین ، برای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت	جلوگیری از دناتوره شدن یا تخریب ملیتین ؛ القای انقباض سلولی، تغییر شکل و پارگی غشاء؛ رشد سلولی را مهار کرده و آپوپتوز را تقویت می کند.		[۴۰]
	HeLa		۱، ۱,۸ و ۴ میکروگرم در میلی لیتر، به مدت ۱۲ ساعت	انقباض سلولی، تراکم سیتوپلاسم، ساختار سلولی دچار اختلال و شکل خود را از دست داد. مهار تکثیر سلولی و القای آپوپتوز		[۴۱]
روده بزرگ	HCT-۱۱۶, SW-۴۸۰		۱، ۵ میکروگرم در میلی لیتر، به مدت ۲۴ ساعت	کاهش بقای سلولی؛ القای آپوپتوز زودرس و دیررس؛ بر تبدیل زیستی سلول سرطانی تأثیر می گذارد.	↑Mitochondrial apoptosis pathway: ↑Fas, ↑Caspase-9; ↓CYP1A1, ↓GSTP1, ↓Bcl-2, ↓Bax, ↑MRP-2 (HCT-116 with MEL), ↓MRP-2 (SW-480 with MEL)	[۴۷]
	COLO۲۰۵, HCT-۱۵		۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در میلی لیتر، برای ۳۰ ثانیه، ۱، ۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه و ۴ ساعت	انقباض سیتوپلاسمی و آسیب غشای سلولی؛ رشد سلولی را مهارو باعث مرگ سلولی می شود		[۲۳]
	HCT۱۱۶		۱۴,۰۵ µg/ml برایی ۲۴ ساعت	کاهش بقا سلولی و مهار تکثیر		[۲۴]
مثانه	T۲۴, ۵۶۳۷		۴ میکروگرم در میلی لیتر، به مدت ۴۸ ساعت	مهار تکثیر و مهاجرت سلولی	PI3K/Akt pathway: ↓LPAR1, ↓CO-↓L5A1, ↓COL6A2; ↓TNF pathway: ↓CXCL1, ↓CXCL2, ↓CXCL3	[۱۸]
	UM-UC-۳, ۵۶۳۷		۲، ۴ و ۶ میکروگرم در میلی لیتر، به مدت ۲۴ ساعت	مهار تکثیر سلولی، مهاجرت و تهاجم	MAPK pathway: ↓ERK۵↓, MEK۵↓, ↓ERK۱/۲↓, ↓p-ERK۱/۲↓, ↓p-JNK↓, JNK; ↓EGFR, ↓PAK۲, NRAS, ↓PAK۱↓, ↓p-p۳۸; ↓V-ATP: ↑ATP۶V۱F, ↓ATP۶V۰B, ↓ATP۶V۰C, ↓ATP۶V۱E۲, ↓ATP۶V۱C۱, ATP۶V۰A۲↓	[۱۹]

سرطان	لاین سلولی	ملیتین	دوز	اثر بیولوژیک	مکانیسم	منبع
سرطان معده	AGS		۰،۲۵ ،۰،۵ ،۱ ،۲ ،۴ و ۸ میکروگرم در میلی لیتر	ایجاد نکروز، آپوپتوز و مهار تکثیر سلول های سرطانی.		[۲۳]
	SGC-۷۹۰۱		۰،۱ ،۲ و ۴ میکروگرم در میلی لیتر	القای آپوپتوز سلولی از طریق مسیرهای میتوکندری که با تغییرات مورفولوژیکی معمولی تایید شد		[۲۸]

جدول ۱ - اثرات ضدسرطانی ملیتین.

استروژن یا پروژسترون و فاکتور ۲ رشد اپیدرمی انسانی (ERBB۲؛ سابقا HER۲)، سرطان سینه را می‌توان به سه زیر گروه طبقه‌بندی کرد: گیرنده هورمونی مثبت/ ژن گیرنده-۲ فاکتور رشد اپیدرمی انسانی (ERBB۲) منفی، ERBB۲ مثبت و سه‌گانه منفی (تومورهایی که فاقد هر ۳ نشانگر مولکولی استاندارد هستند)(۳۶). این زیرگروه‌ها میزان عود و استراتژی‌های درمانی از جمله درمان غدد درون‌ریز، شیمی‌درمانی، جراحی، پرتودرمانی یا ترکیبی از این‌ها را تعیین می‌کنند. TNBCها و تومورهای غنی شده با گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی انسانی ۲ (HER۲) زیرگروه‌های سرطان سینه بسیار تهاجمی می‌باشند که با بالاترین میزان مرگ و میر همراه هستند. EGFR توسط تعدادی از رده سلول‌های TNBC بیش از حد بیان می شود و علیرغم بیان مکرر EGFR، معمولاً به درمان‌هایی که هدف‌شان این گیرنده است بخاطر وابستگی زیاد به مسیر سیگنالینگ PI۳K/Akt برای تکثیر و بقا در برابر شیمی درمانی مقاومت نشان می‌دهند. در مطالعه دافی و همکاران (۶) روی رده سلولی SUM۱۵۹ و SKBR۳ تمرکز شد. SUM۱۵۹ یک رده سلولی TNBC است که محصول ژن EGFR را بیان می کند. SKBR۳ یک رده سلولی سرطان سینه غنی شده با HER۲ است که محصول ژن HER۲۶۴ را بیش از حد بیان می‌کند. نشان داده شد که ملیتین به واسطه سرکوب فسفوریلاسیون EGFR و HER۲ ناشی از لیگاند مسیرهای سیگنالینگ پایین‌دست را در سلول‌های سرطان پستان تنظیم می‌کند همچنین به طور مستقیم یا غیرمستقیم دیمریزاسیون RTK را مهار می‌کند.

همتیار و همکاران (۱۰) نشان دادند که ملیتین، دوکسوروبیسین، و نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 با دوکسوروبیسین/ ملیتین (CA-MNPs) بارگذاری شده با دوکسوروبیسین/ملیتین)، رشد سلول را به روشی وابسته به دوز کاهش دادند. دوکسوروبیسین و ملیتین با هم یک اثر هم‌افزایی بر تکثیر سلول‌های سرطان سینه MCF-۷ نشان دادند. از آنجایی که ملیتین و دوکسوروبیسین به طور موثرتری به کمک نانوذرات (CA-MNPهای بارگذاری شده با دوکسوروبیسین/ ملیتین) وارد سلول می‌شوند عملکرد سیتوتوکسیک بهتری نسبت به دوکسوروبیسین/ ملیتین بارگذاری نشده در نانوذرات داشتند.

نیوزوم‌ها که وزیکول‌های سورفکتانت غیریونی هستند، توانایی هدف قرار دادن مستقیم سلول‌های تومور را با افزایش کارایی و کاهش عوارض جانبی ملیتین دارند. در مطالعات فارماکولوژیک، یکی از مهم‌ترین دلایل تاخیر در تحویل دارو به سلول هدف، اثرات جانبی محیط بیولوژیک بر روی دارو است که نیوزوم با محافظت از دارو، پایداری بالا، و ماندگاری طولانی‌تر آن را کم کرده‌اند. مقدم و همکاران (۵) از نیوزوم‌ها به عنوان نانوحامل ملیتین برای تقویت اثرات ضدسرطانی و جلوگیری از عوارض جانبی همولیتیک استفاده کردند. آن‌ها نشان دادند که نیوزوم‌های حاوی ملیتین دارای اثرات ضدسرطانی بالاتر و عوارض جانبی کمتری در درمان سلولی سرطان سینه هستند.

بیان بیش از حد EGFR و فعال شدن مسیر سیگنالینگ EGFR در درصد بالایی از بافت‌های سرطان سینه انسان یافت می‌شود (۷). تحریک EGF باعث افزایش فعالیت‌های تهاجمی در رده سلول‌های MDA-MB-۲۳۱ می‌شود. اگرچه رده سلولی MCF-۷ سطح پایینی از EGFR را بیان می‌کند، اثر مشابه MDA-MB-۲۳۱ را با تحریک EGF نشان

می‌دهد(۲۱). در مطالعه Jeong و همکاران نشان داده شد که زهر زنبورعسل و ملیتین از تحرک و تهاجم سلولی ناشی از EGF جلوگیری می‌کنند، در حالی که آپامین دیگر جز زهر زنبورعسل اثرات ضعیفی داشت(۱۳).EGF مسیرهای سیگنالینگ MMP-۹ و FAK را در سلول‌های MDA-MB-۲۳۱ و MCF-۷ تحریک می‌کند. ملیتین فعالیت MMP-۹ و FAK ناشی از EGF را مهار می‌کند. اثرات زهر زنبورعسل، ملیتین و آپامین بر تهاجم، نشان می‌دهد که اثر بازدارنده زهر زنبورعسل بر تحرک و تهاجم سلولی ناشی از EGF ممکن است از یک جزء منفرد یعنی ملیتین باشد.

NF-κB تکثیر و متاستاز سرطان را تنظیم می‌کند و یک عامل رونویسی مهم از MMP-۹ است. در مطالعه Jeong نشان داده شد که ملیتین انتقال هسته‌ای NF-κB ناشی از EGF سرکوب می‌کند(۱۳). علاوه بر این، تنظیم MMP-۹ و NF-κB توسط مسیرهای واسط انتقال سیگنال مختلف، مانند MAPKs و PI۳K/AKT انجام می‌شود. ملیتین به طور قابل توجهی فسفوریلاسیون PI۳K/Akt ناشی از EGF را در هر دو رده سلولی MDA-MB-۲۳۱ و MCF-۷ را مهار کرد (۲۲).

گیرنده استروژن (ER) توسط سلول‌های MCF-۷ بیان می‌شوند. فعال شدن گیرنده استروژن با بسیاری از مولکول‌های سیگنال دهنده، از جمله EGFR، و MAPK همبستگی معکوس دارد (۲۴). اثرات متفاوت ملیتین بر MAPK بین سلول‌های MCF-۷ و سلول‌های MDA-MB-۲۳۱ ممکن است به وضعیت گیرنده استروژن مرتبط باشند.

تحقیقات سرطان مثانه و سرطان پروستات

ملیتین بیان ژن‌های کلیدی را در مسیرهای سیگنالینگ PI۳K-Akt و TNF از جمله LPAR۱، COL۵A۱، COL۶A۲، CXCL۱، CXCL۲ و CXCL۳ در رده‌های سلولی T۲۴ و ۵۶۳۷ سرطان مثانه را تنظیم و مهار می‌کند. تکثیر سلولی و متاستاز سرکوب شده، نقش بالقوه این ژن‌ها را به عنوان اهداف ملیتین در سرطان مثانه آشکار می‌کند(۱۴).

به طور مشابه، با در نظر گرفتن تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک سرطان مثانه، ژن‌های مربوط به دو رده سرطان مثانه، UM-UC-۳ و ۵۶۳۷، برای مطالعه انتخاب شدند. ملیتین می‌تواند تکثیر، متاستاز و تهاجم سلولی را با تأثیر بر مسیر سیگنالینگ MAPK یا V-ATPase مهار کند (۳۸).

سرطان پروستات یک بیماری بسیار ناهمگن است. در حال حاضر زیرگروه‌های زیادی از آن شناسایی شده‌اند. بنابراین نوع درمان آن به زیرگروه آن نیز بستگی دارد. این سرطان با مشکلات متعددی از نظر مقاومت دارویی و ناتوانی در کنترل پیشرفت و گسترش بیماری مواجه است. ملیتین اثرات خاصی بر انواع سرطان پروستات دارد برای مثال پارک و همکاران (۲۷) آزمایش‌های مختلف بر روی سرطان پروستات با استفاده از زهر زنبورعسل و ملیتین در غلظت‌های مختلف انجام دادند. آن‌ها نشان دادند تکثیر سلولی به صورت وابسته به زمان و غلظت در رده‌های سلولی سرطان پروستات (DU۱۴۵، LNCaP و PC-۳) مهار شد. اثر مهاری در سلول‌های PC-۳ و DU۱۴۵ بیشتر از سلول‌های LNCaP بود.

تحقیقات سرطان پانکراس، سرطان معده و سرطان کولورکتال

ملیتین همچنین برای درمان سرطان‌های دستگاه گوارش مانند سرطان پانکراس، سرطان معده و سرطان روده بزرگ استفاده شد.

سرطان معده پنجمین سرطان شایع و چهارمین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در سراسر جهان است (۱۵). سرطان معده پس از رادیوتراپی و شیمی درمانی، مستعد متاستاز است. هوانگ و همکاران نشان دادند که ملیتین در غلظت ۰,۵ μM -۰,۲ به طور قابل توجهی باعث کاهش سلول‌های سرطان معده انسان می‌شود. در غلظت‌های پایین (۰,۰۵- ۰,۱۵ μM)، ملیتین اثرات ضدمتاستازی را نشان داد و چسبندگی سلولی و تشکیل کلنی را مهار کرد. علاوه بر این، متاستاز و تهاجم سلولی را سرکوب کرد. ملیتین فعالیت‌های MMP-۲ و MMP-۹ و یکپارچگی غشای سلولی را مهار کرد، نتایج وسترن بلات نیز نشان داد که بیان پروتئین مسیرهای سیگنالینگ Wnt/BMP و MMP-۲ کاهش یافت (۱۲).

در مطالعه‌ی اخیر سلیمان و همکاران (۳۱) اثرات سریع ملیتین در سرطان معده و کولورکتال، به‌ویژه رده‌های سلولی AGS، COLO۲۰۵ و HCT-۱۵، تنها در مدت ۱۵ دقیقه پس از تیمار نشان داده شد. ملیتین اثر وابسته به دوز را تا ۴ ساعت بعد از درمان نشان داد و مرگ سلولی کامل در بالاترین دوز ۲۰ μg/ml اتفاق افتاد. زمانی که اثرات ملیتین در فواصل زمانی کوتاه‌تر بررسی شد، تغییرات سلولی را در عرض چند ثانیه ایجاد کرد. آسیب غشاء به صورت تورم، شکستگی یا حباب مشاهده شد. تصویربرداری با وضوح بالا نشان داد که سلول‌های تیمار شده تغییرات واضحی در مورفولوژی سلولی دارند به طوریکه ۱ دقیقه بعد از تیمار، تغییرات غشایی رخ داد و مواد درون سلولی خارج شده از سلول‌ها مشاهده شدند.

یافته‌های یاکوب و همکاران (۳۷) با نشان دادن اینکه ملیتین اثر سیتوتوکسیک بر رده‌های سلولی HCT۱۱۶ دارد و وابسته به دوز است، نشان داد ملیتین و فسفولیپاز A۲ (PLA۲) با هم، اثر سیتوتوکسیک بهتری دارند، که نشان‌دهنده یک فعالیت هم‌افزایی بر روی سلول‌های HCT۱۱۶ است. در مقابل، PLA۲ هیچ اثر سیتوتوکسیک قابل توجهی را به تنهایی نشان نداد.

فاکتورهای پیش آپوپتوز، از جمله EndoG، AIF، Cyt C، و Smac/ Diablo معمولاً به فضای بین غشایی میتوکندری یا فضای درون کریستا محدود می‌شوند. Cyt C یک پروتئین کلیدی در سیتوپلاسم است و با رشد و بقای سلول ارتباط دارد (۱۲, ۱۵). هنگامی که پتانسیل بیرون غشای میتوکندری کاهش می یابد، Cyt C به داخل سیتوپلاسم آزاد می‌شود و یک پلیمر پیچیده فعال‌کننده آنزیم‌های آپوپتوزی را تشکیل می‌دهد (۲۰). این پروتئین یک واکنش آبشاری کاسپاز که caspase-۳ و سایر اعضای خانواده کاسپازها را فعال می‌کند و Apaf-۱ و پروکاسپاز ۹ را به عنوان آپوپتوز بادی تشکیل می‌دهد و هر دو با caspase-۳ ترکیب می‌شوند تا آپوپتوز را القا کنند (۱۱, ۴۳).

در مطالعه کونگ و همکاران (۱۶)، نشان داده شد ملیتین باعث آزادسازی پروتئین Cyt C و در نتیجه آپوپتوز سلولی می‌شود. علاوه بر این، AIF به عنوان پروتئینی که به طور معمول در فضای بین غشایی میتوکندری قرار دارد، پس از تغییرات نفوذپذیری میتوکندری آزاد میشود(۴). AIF

به هسته منتقل می‌شود و منجر به القای تراکم کروماتین و تکه‌تکه شدن DNA می‌شود. EndoG نوعی آنزیم اسید نوکلئیک است که در همانندسازی DNA میتوکندریایی نقش دارد. این پروتئین به طور معمول در داخل میتوکندری قرار دارد، اما پس از درمان با ملیتین، EndoG به سیتوپلاسم منتقل و وارد هسته شده و باعث تکه تکه شدن DNA کروموزومی می شود(۷). در این مطالعه ملیتین افزایش سطح سیتوپلاسمی پروتئین‌های AIF و EndoG و همچنین آپوپتوز سلولی مشاهده شد (۱۶). همچنین افزایش غلظت ملیتین کاهش سطح پروتئین Smac/Diablo و در نتیجه آپوپتوز سلولی را به همراه داشت(۲۱).

میتوکندری‌ها نقش کلیدی در آپوپتوز سلولی و تولید ROS دارند. سطح ROS پس از قرار گرفتن سلول‌ها در معرض ملیتین به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و باعث آسیب اکسیداتیو، کاهش سیالیت غشاء، تخریب چربی غشاء می‌شود. این تغییرات منجر به اختلال در شیب پروتون در سراسر غشای میتوکندری و سنتز ATP می‌شود. ملیتین در ابتدا باعث انتشار ROS و باز شدن منافذ و نفوذپذیری میتوکندری و آزادسازی پروتئین‌های AIF، Smac/Diablo، Cyt C و EndoG می‌شود. سپس ۳-caspase فعال که منجر به تشکیل اجسام آپوپتوزی و در نهایت القای آپوپتوز سلولی می‌شود. مطالعه (۱۶) نشان داد که ملیتین ممکن است آپوپتوز سلولی را از طریق مسیر میتوکندری در سلول‌های SGC-۷۹۰۱ القا کند. اختلال عملکرد میتوکندری منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون ساختار بیوفیلم پروتئین و لیپید شد و نفوذپذیری غشای میتوکندری (MPTP) به طور غیر قابل برگشت افزایش یافت. بنابراین ماکرومولکول‌ها به طور غیر انتخابی وارد منافذ شده، میتوکندری با تورم و پارگی غشای خارجی و آپوپتو غیرقابل برگشت همراه خواهد بود. در نتیجه پتانسیل غشایی کم یک مشخصه آپوپتوز غیرقابل برگشت سلولی است.

تحقیقات سرطان ریه

ملیتین با مهار بیان فاکتور رشد توموری (TGF-β) و فسفریله کردن مسیر سیگنالینگ ERK باعث افزایش بیان پروتئین‌های Apaf-۱ و ۳-caspase شد و آپوپتوز را در سلول‌های A۵۴۹ القا کرد. رشد سلولی، متاستاز، تهاجم و سایر فعالیت‌ها نیز مهار شدند(۴۰). به طور مشابه، ملیتین آپوپتوز را در ChaGo-K۱ سرطان ریه افزایش و بیان MADD را کاهش داد که باعث توقف چرخه سلولی در فاز G۱/G۰ شد (۳۳).

۱۸۳-miR که به عنوان نشانگر تومور در سرطان ریه نقش دارد، توسط ملیتین در سلول‌های NCI-H۴۴۱ مهار شد. مهار آن بیان ۲-caspase مرتبط با ۲-Bcl (Bax) را افزایش و بیان ۲-Bcl را کاهش داد. علاوه بر این پس از تزریق زیرجلدی ملیتین نیز ۲-caspase افزایش یافت و رشد تومور به طور مشابه محدود شد (۸).

نانوذرات حامل ملیتین به طور قابل‌توجهی کاربرد ایمن ملیتین در داخل بدن و علیه تومورها را افزایش داده‌اند(۴۵). نانوذرات زئولیتی ایمیدازولات (۸-MLT@ZIF) و نانوذرات پلیمری پوشش داده شده با لیپید (MpG@LPN) آپوپتوز را در سلول‌های A۵۴۹ افزایش داده و رشد تومور را مهار کردند(۱۸, ۳۹). همچنین نشان داده شد مسیر p۵۳ تنظیم شده با PI۳K/Akt در آپوپتوز سلول‌ها دخالت دارد. در همین حال، همولیز سلولی ناشی از ملیتین توسط این نانوذرات تا حد زیادی در مقایسه با ملیتین کاهش یافت.

تحقیقات سرطان کبد

در مطالعه لو و همکاران (۲۳) ملیتین اثر ضدرشد سرطان کبدی با اتوفاژی را نشان داد، که حاکی از یک اثر ضد جهش‌زایی احتمالی بر روی سلول‌های نرمال است. نتایج حاکی از آن بود که ملیتین تنظیم بیان ۲-Bcl را کاهش و سیتوکروم C (Cyt C)، caspase-۳ و ۹ را افزایش داده و ممکن است به مسیر آپوپتوز میتوکندریایی برای القای آسیب تومور مرتبط باشد. نسبت آپوپتوز به نکروز در سلول‌های سرطانی بیشتر بود و با غلظت ملیتین رابطه مستقیمی داشت. از سوی دیگر، ملیتین با کاهش بیان p۶۲ وافزایش بیان Beclin و LC۳ اثر مهار اتوفاژی را بر روی سلول‌های HepG۲ نشان داد. همچنین اثر ضد توموری ملیتین با استفاده از مهارکننده اتوفاژی (کلروکین) افزایش یافت اما پس از استفاده از فعال‌کننده اتوفاژی (راپامایسین) اثر ملیتین بر سلول‌های سرطان کبد کاهش یافت.

شکل‌گیری محیط هیپوکسیک (کاهش اکسیژن) به شدت با تکثیر تومور یا رگ‌زایی مرتبط است. تقلید عروقی که توسط سلول‌های SMMC-۷۷۲۱ انجام و ناشی از کلرید کبالت با EMT است می‌تواند با اعمال ملیتین مهار شود. مدل هیپوکسی باعث افزایش بیان HIF-۱α، VEGF، ۲-MMP و ۹-MMP در سلول‌های SMMC-۷۷۲۱، Huh۷ و HepG۲ شد و ملیتین این روند را معکوس کرد. در یک مدل درمان حیوانی که به صورت زیرجلدی تزریق سلول‌های SMMC-۷۷۲۱ به موش‌های نر BALB/c انجام شد نیز ملیتین به طور قابل‌توجهی بیان HIF-۱α و رشد تومور را مهار کرد(۳).

تحقیقات سرطان پوست

ملانوم بدخیم

ملانوم بدخیم کشنده‌ترین شکل سرطان پوست است و به شدت به شیمی درمانی مقاوم است. ملانوم بدخیم با یک بیماری پیشرونده به طور موضعی شروع می‌شود، اما با پیشرفت آن، سلول‌های تومور شروع به نفوذ به بافت‌های اطراف می‌کنند. توانایی متاستاتیک سلول‌های ملانوما شدت این بیماری را تعیین می‌کند و به همین دلیل هدف مهمی در مدیریت ملانوما بدخیم محسوب می‌شود(۲۲). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ملیتین مسیرهای سیگنالینگ PI۳K/AKT/mTOR و MAPK را کاهش می‌دهد(۳۰). این مسیرها با افزایش تکثیر سلولی و متاستاز در ملانوم بدخیم مهم هستند(۲۴). در مطالعه‌ای که لیم و همکاران انجام دادند(۱۹) ملیتین از طریق تنظیم مثبت ۳-caspase و ۹، آپوپتوز را در سلول‌های ملانوما القا کرد. هم‌چنین ملیتین باعث کاهش فسفوریلاسیون PI۳K، AKT و mTOR و MAPKها از جمله ERK و p۳۸ در سلول‌های ملانوما شد. جالب این که اثر مهاری ملیتین بر سیگنالینگ PI۳K/AKT/mTOR و MAPK بهتر از زهر زنبور بود. در همین حال، ملیتین همچنین سطوح پروتئین کل این مولکول‌های سیگنال‌دهنده را کاهش داد، به این معنی که اثر سرکوب‌کننده ملیتین بر سیگنال‌دهی PI۳K/AKT/mTOR و MAPK تا حدی به دلیل اثر بازدارندگی آن بر بیان پروتئین چنین مولکول‌های سیگنال‌دهنده‌ای است. در مجموع، ملیتین می‌تواند با هدف قرار دادن همزمان مسیرهای PI۳K/AKT/mTOR و MAPK، یک عامل ضدسرطان کارآمدتر در برابر ملانوم بدخیم باشد.

تحقیقات سرطان دهانه رحم

نانوکامپوزیت‌های مغناطیسی گرافن اکسید حاوی ملیتین (PEG-GO-MEL/(Fe_3O_4) اثرات سمی وابسته به زمان بر روی سلول‌های HeLa با تغییر شکل، شکستن غشاء و سایر حالت‌های سلولی غیرطبیعی ایجاد کردند. نتایج تجربی نشان داد که این نانوکامپوزیت به آزادسازی طولانی‌مدت و افزایش اثر ملیتین کمک می‌کند، در حالی که از تخریب یا دناتوره شدن آن جلوگیری می‌کند و اثر ضدسرطان ملیتین را حفظ می‌کند(۲۹). هم‌چنین ملیتین می‌تواند اثر مهاری در تکثیر سلولی HeLa و القای آپوپتوز را نشان دهد(۴۲).

لوسمی یا سرطان خون

ملیتین با تکیه بر فعال شدن فعالیت هیدرولیتیک ۳-caspase و ۷ در مسیر میتوکندری و مسیر آسپارتات هموفیلیک، همزمان با مهار بقای سلولی در سلول‌های CCRF-CEM و K۵۶۲، آپوپتوز را القا کرد (۲). علاوه بر مهار بقا سلولی، ملیتین نفوذپذیری بالایی نسبت به غشای پلاسمایی سلول‌های Jurkat لوسمی سلول T داشت و باعث مرگ سلولی شد (۹).

بحث

مطالعات بالا موفقیت ملیتین در درمان سرطان، به عنوان جایگزینی امیدوارکننده برای داروهای ضدسرطان تاکید دارند. تحقیقات گسترده اخیر مکانیسم‌های مولکولی متنوعی از اثرات ضدسرطانی ملیتین را بر روی انواع مختلف سرطان مانند القای آپوپتوز از طریق مسیر میتوکندری، سرکوب متاستاز و تهاجم با مهار بیان ۹-MMP و مهاررگزایی با کاهش بیان VEGF نشان می‌دهد. با این حال، قبل از استفاده بالینی احتمالی آن عوارض جانبی ملیتین (سمیت غیر اختصاصی و فعالیت همولیتیک) باید حل گردد.

جدول ۲ - علائم اختصاری.

معادل فارسی	معادل انگلیسی	علائم اختصاری
سرطان پستان سه‌گانه-منفی	Triple-negative breast cancers	TNBCs
تیروزین کینازهای گیرنده‌ای	Receptor tyrosine kinase	RTK
گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی	Epidermal growth factor receptor	EGFR
فاکتور ۱-آلفا القاشونده توسط هیپوکسی	alpha-۱ Hypoxia-inducible factor	۱αHIF
سیتوکروم C	Cytochrome complex	Cyt C
فاکتور القای آپوپتوزی	Apoptosis-inducing factor	AIF
آندونوکلئاز	Endonuclease G	EndoG
ماتریکس متالوپروتئیناز	Matrix metallopeptidase	MMP
فاکتور نکروز کننده تومور	Tumor necrosis factor	TNF
پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن	The Mitogen-Activated Protein Kinase	MAPK
ای‌تی‌پاز	Vacuolar-type ATPase	V-ATPase
منافذ انتقالی میتوکنریایی	Mitochondrial permeability transition pore	MPTP
پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن فعال کننده دومین مرگ	MAP Kinase Activating Death Domain	MADD
ملیتین	Melittin	MEL
ماتریکس خارج سلولی	Extracellular matrix	EM
فاصله کانونی چسبندگی کیناز	Focal adhesion kinase	FAK
فاکتور رشد اپیدرمی	Epidermal growth factor	EGF
بازدارنده فسفواینوزیتید ۳-کیناز	Phosphatidylinositol	PI۳K
مولکولِ هدفِ راپامایسین در پستانداران	kinase/protein kinase B-۳ Mammalian target of rapamycin	mTOR

منابع مورد استفاده

1- Ali, M. 2012. Studies on bee venom and its medical uses. Int J Adv Res Technol 1: 69-83.

2- Ceremuga, M., M. Stela, E. Janik, L. Gorniak, E. Synowiec, T. Sliwinski, P. Sitarek, J. Saluk-Bijak and M. Bijak. 2020. Melittin—a natural peptide from bee venom which induces apoptosis in human leukaemia cells. Biomolecules 10: 247.

3- Chen, Q., W. Lin, Z. Yin, Y. Zou, S. Liang, S. Ruan, P. Chen, S. Li, Q. Shu and B. Cheng. 2019. Melittin Inhibits Hypoxia-Induced Vasculogenic Mimicry Formation and Epithelial-Mesenchymal Transition through Suppression of HIF-1/Akt Pathway in Liver Cancer. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2019.

4- Chen, Q., M. Paillard, L. Gomez, T. Ross, Y. Hu, A. Xu and E. J. Lesnefsky. 2011. Activation of mitochondrial μ-calpain increases AIF cleavage in cardiac mitochondria during ischemia–reperfusion. Biochemical and biophysical research communications 415: 533-538.

5- Dabbagh Moghaddam, F., I. Akbarzadeh, E. Marzbankia, M. Farid, L. Khaledi, A. H. Reihani, M. Javidfar and P. Mortazavi. 2021. Delivery of melittin-loaded niosomes for breast cancer treatment: an in vitro and in vivo evaluation of anti-cancer effect. Cancer Nanotechnology 12: 14.

6- Duffy, C., A. Sorolla, E. Wang, E. Golden, E. Woodward, K. Davern, D. Ho, E. Johnstone, K. Pfleger and A. Redfern. 2020. Honeybee venom and melittin suppress growth factor receptor activation in HER2-enriched and triple-negative breast cancer. NPJ precision oncology 4: 24.

7- Duguay, B. A. and J. R. Smiley. 2013. Mitochondrial nucleases ENDOG and EXOG participate in mitochondrial DNA depletion initiated by herpes simplex virus 1 UL12. 5. Journal of virology 87: 11787-11797.

8- Gao, D., J. Zhang, L. Bai, F. Li, Y. Dong and Q. Li. 2018. Melittin induces NSCLC apoptosis via inhibition of miR-183. OncoTargets and therapy: 4511-4523.

9- Gasanoff, E., Y. Liu, F. Li, P. Hanlon and G. Garab. 2021. Bee venom melittin disintegrates the respiration of mitochondria in healthy cells and lymphoblasts, and induces the formation of non-bilayer structures in model inner mitochondrial membranes. International Journal of Molecular Sciences 22: 11122.

10- Hematyar, M., M. Soleimani, A. Es-Haghi and A. Rezaei Mokarram. 2018. Synergistic co-delivery of doxorubicin and melittin using functionalized magnetic nanoparticles for cancer treatment: loading and in vitro release study by LC–MS/MS. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology 46: 1226-1235.

11- Huang, G., J. Mao, Z. Ji and A. Ailati. 2015. Stachyose-induced apoptosis of Caco-2 cells via the caspase-dependent mitochondrial pathway. Food & function 6: 765-771.

12- Jang, D. S., N. R. Penthala, E. O. Apostolov, X. Wang, P. A. Crooks and A. G. Basnakian. 2015. Novel cytoprotective inhibitors for apoptotic endonuclease G. DNA and cell biology 34: 92-100.

13- Jeong, Y.-J., Y. Choi, J.-M. Shin, H.-J. Cho, J.-H. Kang, K.-K. Park, J.-Y. Choe, Y.-S. Bae, S.-M. Han and C.-H. Kim. 2014. Melittin suppresses EGF-induced cell motility and invasion by inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in breast cancer cells. Food and Chemical Toxicology 68: 218-225.

14- Jin, Z., J. Yao, N. Xie, L. Cai, S. Qi, Z. Zhang and B. Li. 2018. Melittin constrains the expression of identified key genes associated with bladder cancer. Journal of Immunology Research 2018.

15- Karsisiotis, A. I., O. M. Deacon, B. S. Rajagopal, C. Macdonald, T. M. Blumenschein, G. R. Moore and J. A. Worrall. 2015. Backbone resonance assignments of ferric human cytochrome c and the pro-apoptotic G41S mutant in the ferric and ferrous states. Biomolecular NMR assignments 9: 415-419.

16- Kong, G. M., W. H. Tao, Y. L. Diao, P. H. Fang, J. J. Wang, P. Bo and F. Qian. 2016. Melittin induces human gastric cancer cell apoptosis via activation of mitochondrial pathway. World J Gastroenterol 22: 3186-3195.

17- Lai, D., S. Visser-Grieve and X. Yang. 2012. Tumour suppressor genes in chemotherapeutic drug response. Biosci Rep 32: 361-374.

18- Li, Y., N. Xu, W. Zhu, L. Wang, B. Liu, J. Zhang, Z. Xie and W. Liu. 2018. Nanoscale melittin@ zeolitic imidazolate frameworks for enhanced anticancer activity and mechanism analysis. ACS applied materials & interfaces 10: 22974-22984.

19- Lim, H. N., S. B. Baek and H. J. Jung. 2019. Bee venom and its peptide component melittin suppress growth and migration of melanoma cells via inhibition of PI3K/AKT/mTOR and MAPK pathways. Molecules (Basel, Switzerland) 24: 929.

20- Liu, E., T. Liang, X. Wang, S. Ban, L. Han and Q. Li. 2015. Apoptosis induced by farrerol in human gastric cancer SGC-7901 cells through the mitochondrial-mediated pathway. European Journal of Cancer Prevention 24: 365-372.

21- Liu, W.-W., Y. Liu, S. Liang, J.-H. Wu, Z.-C. Wang and S.-L. Gong. 2013. Hypoxia-and radiation-induced overexpression of Smac by an adenoviral vector and its effects on cell cycle and apoptosis in MDA-MB-231 human breast cancer cells. Experimental and Therapeutic Medicine 6: 1560-1564.

22- Luther, C., U. Swami, J. Zhang, M. Milhem and Y. Zakharia.

2019. Advanced stage melanoma therapies: detailing the present and exploring the future. Critical reviews in oncology/hematology 133: 99-111.

23- Lv, C., Z. Zhang, T. Zhao, M. F. Han, D. P. Jia, L. Z. Su, F. Huang, F. Z. Wang, F. F. Fang and B. Li. 2019. The anti-tumour effect of Mel and its role in autophagy in human hepatocellular carcinoma cells. Am J Transl Res 11: 931-941.

24- Meier, F., B. Schittek, S. Busch, C. Garbe, K. Smalley, K. Satyamoorthy, G. Li and M. Herlyn. 2005. The RAS/RAF/MEK/ERK and PI3K/AKT signaling pathways present molecular targets for the effective treatment of advanced melanoma. Frontiers in Bioscience-Landmark 10: 2986-3001.

25- Nikodijević, D. D., M. G. Milutinović, D. M. Cvetković, M. Đ. Ćupurdija, M. M. Jovanović, I. V. Mrkić, M. Đ. Jankulović-Gavrović and S. D. Marković. 2021. Impact of bee venom and melittin on apoptosis and biotransformation in colorectal carcinoma cell lines. Toxin Reviews 40: 1272-1279.

26- Palm, N. W. and R. Medzhitov. 2013. Role of the inflammasome in defense against venoms. Proceedings of the National Academy of Sciences 110: 1809-1814.

27- Park, M. H., M. S. Choi, D. H. Kwak, K. W. Oh, D. Y. Yoon, S. B. Han, H. S. Song, M. J. Song and J. T. Hong. 2011. Anti-cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF-κB. The Prostate 71: 801-812.

28- Premratanachai, P. and C. Chanchao. 2014. Review of the anticancer activities of bee products. Asian Pac J Trop Biomed 4: 337-344.

29- Qi, J., Y. Chen, T. Xue, Y. Lin, S. Huang, S. Cao, X. Wang, Y. Su and Z. Lin. 2019. Graphene oxide-based magnetic nanocomposites for the delivery of melittin to cervical cancer HeLa cells. Nanotechnology 31: 065102.

30- Shin, J.-M., Y.-J. Jeong, H.-J. Cho, K.-K. Park, I.-K. Chung, I.-K. Lee, J.-Y. Kwak, H.-W. Chang, C.-H. Kim and S.-K. Moon. 2013. Melittin suppresses HIF-1α/VEGF expression through inhibition of ERK and mTOR/p70S6K pathway in human cervical carcinoma cells. PloS one 8: e69380.

31- Soliman, C., S. Eastwood, V. K. Truong, P. A. Ramsland and A. Elbourne. 2019. The membrane effects of melittin on gastric and colorectal cancer. PLoS One 14: e0224028.

32- Sung, H., J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal and F. Bray. 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians 71: 209-249.

33- Tipgomut, C., A. Wongprommoon, E. Takeo, T. Ittiudomrak, S. Puthong and C. Chanchao. 2018. Melittin Induced G1 Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Chago-K1 Human Bronchogenic Carcinoma Cells and Inhibited the Differentiation of THP-1 Cells into Tumour- Associated Macrophages. Asian Pac J Cancer Prev 19: 3427-3434.

34- Tipgomut, C., A. Wongprommoon, E. Takeo, T. Ittiudomrak, S. Puthong and C. Chanchao. 2018. Melittin induced G1 cell cycle arrest and apoptosis in chago-K1 human bronchogenic carcinoma cells and inhibited the differentiation of THP-1 cells into tumour-associated macrophages. Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP 19: 3427.

35- Trevaskis, N. L., L. M. Kaminskas and C. J. Porter. 2015. From sewer to saviour—targeting the lymphatic system to promote drug exposure and activity. Nature reviews Drug discovery 14: 781-803.

36- Waks, A. G. and E. P. Winer. 2019. Breast cancer treatment: a review. Jama 321: 288-300.

37- Yaacoub, C., M. Rifi, D. El-Obeid, H. Mawlawi, J.-M. Sabatier, B. Coutard and Z. Fajloun. 2021. The cytotoxic effect of Apis mellifera venom with a synergistic potential of its two main components—melittin and PLA2—on colon cancer HCT116 cell lines. Molecules (Basel, Switzerland) 26: 2264.

38- Yao, J., Z. Zhang, S. Li, B. Li and X. H. Wang. 2020. Melittin inhibits proliferation, migration and invasion of bladder cancer cells by regulating key genes based on bioinformatics and experimental assays. Journal of Cellular and Molecular Medicine 24: 655-670.

39- Ye, R., Y. Zheng, Y. Chen, X. Wei, S. Shi, Y. Chen, W. Zhu, A. Wang, L. Yang and Y. Xu. 2021. Stable loading and delivery of melittin with lipid-coated polymeric nanoparticles for effective tumor therapy with negligible systemic toxicity. ACS Applied Materials & Interfaces 13: 55902-55912.

40- Yu, R., M. Wang, M. Wang and L. Han. 2020. Melittin suppresses growth and induces apoptosis of non-small-cell lung cancer cells via down-regulation of TGF-β-mediated ERK signal pathway. Braz J Med Biol Res 54: e9017.

41- Yu, R., M. Wang, M. Wang and L. Han. 2020. Melittin suppresses growth and induces apoptosis of non-small-cell lung cancer cells via down-regulation of TGF-β-mediated ERK signal pathway. Brazilian Journal of Medical and Biological Research 54.

42- Zarrinnahad, H., A. Mahmoodzadeh, M. P. Hamidi, M. Mahdavi, A. Moradi, K. P. Bagheri and D. Shahbazzadeh. 2018. Apoptotic effect of melittin purified from Iranian honey bee ven-

om on human cervical cancer HeLa cell line. International journal of peptide research and therapeutics 24: 563-570.
43- Zhang, B., Z. Xu, Y. Zhang, X. Shao, X. Xu, J. Cheng and Z. Li. 2015. Fipronil induces apoptosis through caspase-dependent mitochondrial pathways in Drosophila S2 cells. Pesticide biochemistry and physiology 119: 81-89.
44- Zhang, S., X. Lv, L. Li, Y. Luo, H. Xiang, L. Wang and Y. Li. 2021. Melittin inhibited glycolysis and induced cell apoptosis in cisplatinresistant lung adenocarcinoma cells via TRIM8. Biocell 45: 167.
45- Zhou, J., C. Wan, J. Cheng, H. Huang, J. F. Lovell and H. Jin. 2021. Delivery strategies for melittin-based cancer therapy. ACS Applied Materials & Interfaces 13: 17158-17173.