Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services
Vol. 36, No. 3, Aug. – Sep. 2014, Pages: 10-17

Preventing Human Hemoglobin Glycation Via Bee Venom

Javad Behroozi[1], Adeleh Divsalar[1]*, Ali Akbar Saboury[2], Mohammad Nabiuni[1]

[1]Department of Cell and Molecular Biology, School of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[2]Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 6 July, 2013 Accepted: 12 May, 2013

Abstract

Background and Objectives: Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder witch the Hyperglycemia as its common feature leads to increased glucose concentration in proteins surroundings. The result of hyperglycemia is non-enzymatic addition of sugars to proteins which called glycation. This reaction leads to structural and functional alterations in proteins surroundings. The aim of this study was to investigate the effect of Bee venom on preventing of the human hemoglobin glycation.

Materials and Methods: In this experimental study, human hemoglobin was incubated in the presence and absence of glucose in different concentrations of Bee venom for five weeks in 37° C. The extent of free amino groups in hemoglobin structure, percent of β-sheets, soret band absorption and Heme degradation before and after incubation were examined using UV-visible spectroscopy and fluorometry methods.

Results: Glycation leads to heme degradation and increasing in β-sheet content of glycated hemoglobin compared to the control hemoglobin. Also, glycation decreases absorption of soret band in hemoglobin. Bee venom inhibits the glycation and decreases structural alterations in human hemoglobin in a dose dependent manner.

Conclusions: Bee venom has a significant antiglycation effect and it can be used as a natural drug for preventing DM complications.

Keywords: Diabetes metabolic, Glycation, Bee venom, Hemoglobin

*Corresponding author:
E-mail: Divsalar@khu.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلوگیری از گلایکه‌شدن هموگلوبین انسانی توسط زهر زنبور عسل

جواد بهروزی[۱]، عادله دیوسالار[۱*]، علی اکبر صبوری[۲]، محمد نبیونی[۱]

[۱] گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
[۲] مرکز تحقیقات بیوشیمی بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت: ۹۲/۲/۲۲ پذیرش: ۹۲/۴/۱۵

چکیده

زمینه و اهداف: دیابت شیرین یک بیماری متابولیک است. ویژگی مشترک در بیماری دیابت، افزایش غیر طبیعی قند خون می باشد که باعث می‌شود پروتئین‌ها در معرض غلظت افزایش یافته گلوکز قرار بگیرند.. نتیجه آن اضافه شدن غیرآنزیمی قندها به پروتئین‌ها می‌باشد که منجر به تغییر ساختار و عملکرد آنها، موسوم به گلایکه شدن می‌شود. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر زهر زنبور عسل در جلوگیری از گلایکه‌شدن پروتئین هموگلوبین انسانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، هموگلوبین انسانی در شرایط حضور و عدم حضور گلوکز و غلظتهای متفاوتی از زهر زنبور عسل در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۵ هفته انکوبه شد. سپس میزان آمین های آزاد موجود در ساختار هموگلوبین، درصد صفحات بتا، میزان جذب در ناحیه باند سورت و میزان تخریب گروه هِم قبل و پس از انکوباسیون به کمک روش‌های مختلف طیف سنجی مرئی- ماوراء بنفش و فلوریمتری بررسی شد. داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه وتحلیل شدند.

یافته‌ها: گلایکه‌شدن باعث تخریب گروه هم موجود در هموگلوبین و افزایش محتوای صفحات بتا در هموگلوبین گلایکه‌شده نسبت به هموگلوبین کنترل می‌شود. همچنین گلایکه شدن منجر به کاهش در میزان جذب باند سورت هموگلوبین می‌شود. زهر زنبورعسل در یک روند وابسته به غلظت، باعث مهار گلایکه‌شدن و کاهش میزان تغییرات در ساختمان هموگلوبین انسانی طی انکوباسیون با گلوکز می‌شود.

نتیجه‌گیری: زهر زنبور دارای خاصیت ضد گلایکه شدن چشمگیری می‌باشد و می‌تواند به عنوان داروی طبیعی برای جلوگیری از عوارض دیابت شیرین مطرح باشد.

کلید واژه‌ها: دیابت، گلایکه‌شدن، زهر زنبور، هموگلوبین.

* ایمیل نویسنده رابط: Divsalar@khu.ac.ir

مقدمه

دیابت به گروهی از بیماری‌های متابولیک اطلاق می‌شود که به دنبال کمبود کامل یا نسبی ترشح انسولین، یا اختلال درپاسخ‌دهی بافت‌های بدن به انسولین بوجود می‌آید. این بیماری به چندین دسته تقسیم می‌گردد که مهمترین آنها دیابت نوع یک (T1DM)، دیابت نوع دو (T2DM)، و دیابت دوران بارداری(GDM) می‌باشد (۱). دیابت نوع یک، بیماری خودایمنی است که در آن سلولهای بتای پانکراس تخریب می‌گردند. ازاین‌رو، تولید انسولین در این بیماری با مشکل مواجه می شود. در دیابت نوع دو، انسولین وجود داشته ولی توانایی تحریک گیرنده‌های خود را ندارد و در واقع بدن در برابر انسولین مقاوم است. در دیابت دوران بارداری، به دلیل عدم تولید انسولین کافی برای مادر و جنین توسط سلول‌های بتای پانکراس مادر، بدن مادر با غلظت بالای گلوکز روبرو می‌شود. ویژگی مشترک در تمامی این گروه از بیماری‌ها، افزایش غیرطبیعی قند خون می‌باشد (۲, ۳).

گلایکه‌شدن، واکنش غیراختصاصی و غیرآنزیمی قندها و پروتئین‌ها است و در هر جایی که پروتئین در تماس با قند باشد، این واکنش اتفاق خواهد افتاد. البته میزان گلایکه‌شدن با افزایش سن، افزایش میزان قند و همچنین با از دست رفتن عملکرد پروتئین افزایش می یابد. در افراد دیابتی میزان قند، وسعت گلایکه شدن و میزان آسیب ها به موازات هم افزایش می یابد. واکنش گلایکه شدن با تشکیل باز شیف بین قند در حالت خطی و گروه آمین پروتئین آغاز می‌شود و با یک‌سری واکنش‌های پیچیده در

جهت تشکیل گونه‌های رنگی، فلوئورسانس و دارای اتصالات متقاطع به نام محصولات نهایی گلایکه‌شدن (Advanced Glycation End-products) پیش می‌رود. این واکنش‌ها به چند مرحله تقسیم شده اند. مرحله اول منجر به تشکیل باز شیف می‌شود که بعداً در اثر نوآرایی آمادوری تبدیل به کتوآمین می شود. بعد از محصول آمادوری، واکنش ها بسیار متنوع شده و در نهایت منجر به شکل‌گیری AGEها می‌شوند (۴, ۵).

با توجه به اینکه پروتئین‌های ساختاری با نیمه عمر بالا، نسبت به آنزیم‌ها و سایر پروتئین‌های غیرساختاری، مدت زمان بیشتری را در معرض قندها قرار گرفته‌اند، مطالعات بر روی اثرات مخرب حاصله از گلایکه‌شدن اکثرا بر روی پروتئین‌ها صورت گرفته است. میزان گلایکه‌شدن پروتئین‌های مختلف ازجمله کلاژن، میلین، کریستالین‌های عدسی، LDL و هموگلوبین در افراد دیابتی دو برابر افراد غیردیابتی می باشد. همچنین افزایش سن نیز ارتباط مستقیمی با میزان پروتئین‌های گلایکه شده در بدن دارد. گلایکه‌شدن باعث ایجاد تغییرات کونفورماسیونی در پروتئینها می‌شود ودر نهایت منجر به ایجاد اتصالات متقاطع و تجمع پروتئین‌ها (aggregation) می‌شود. اگرچه تاکید بر روی پروتئین‌هایی است که نیمه عمر زیاد دارند ولی حتی پروتئین هایی با نیمه‌عمر کم مثل انسولین و آنزیم‌ها توسط گلایکه‌شدن آسیب می‌بینند (۶, ۷). زهر زنبور ازگذشته‌های دور در طب سنتی به طرق مختلفی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. ساده‌ترین این روش‌ها گزشهای طبیعی زنبور به وسیله تحریک زنبور عسل جهت نیش‌زدن در مکان موردنظر است. تزریق زهر زنبور و یا به کارگیری از طریق طب سوزنی روش های متداول دیگری برای استفاده از این ماده می‌باشند (۸). زهر زنبور به عنوان یک داروی سنتی برای درمان بیمارهای مختلفی مانند آرتریت روماتوئید، مولتیپل اسکلروزیس، نقرس، عفونت، سوختگی ها، ترمیم زخم‌ها و تسکین درد مورد استفاده بوده است. این ماده به دلیل دارا بودن ویژگی‌های ضدالتهابی در درمان بیماری مالتیپل اسکلروزیس موثر می باشد. از طرفی تحقیقات متعددی که اخیراً صورت گرفته اند، تأثیر بالقوه زهر زنبور را در درمان سرطان اثبات می کنند (۹). اما در مطالعات قبلی اثر زهر زنبور عسل بر میزان گلایکه‌شدن پروتئین‌ها بررسی نشده است. دیابت یک بیماری فراگیر است و متخصصان تعداد مبتلایان به این بیماری را در سال ۲۰۳۰ حدود ۳۶۰ میلیون نفر پیش‌بینی می کنند. از آنجا که عمده‌ای از مشکلات افراد دیابتی با پدیده‌ی گلایکه‌شدن بطور مستقیم و غیرمستقیم در ارتباط می‌باشد، بنابراین یافتن راه هایی برای مقابله با آن می‌تواند برای سلامت جامعه‌ی بشری بسیار مهم باشد (۱۰-۱۲). هدف مطالعه حاضر بررسی اثر زهر زنبور به عنوان یک عامل ضدگلایکیشن در مهار واکنش گلایکه‌شدن پروتئین هموگلوبین انسانی و عوارض دیابت می باشد.

مواد و روش‌ها

استخراج هموگلوبین انسانی

هموگلوبین از افراد سالم و غیرسیگاری طبق پروتوکل Austen Riggs استخراج گردید (۱۳) که در اینجا به طور خلاصه ارائه می شود. خون گرفته شده برای جلوگیری از لخته شدن با سدیم سیترات (خریداری شده از شرکت مرک) ۴ درصد به نسبت حجمی ۹ به ۱ مخلوط شد. سرم با استفاده از سانتریفوژ (مدل Hitachi) با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد جدا شد. رسوب باقیمانده با استفاده از سالین ۹ درصد چندین بار شستشو داده شد. با استفاده از آب سرد گلبول‌های قرمز لیز شده و قطعات غشایی و مواد زائد توسط سانتریفوژ با دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه جدا شدند. با استفاده از آمونیوم سولفات (خریداری شده از شرکت مرک) ۲۰ درصد پروتئین‌های اضافی رسوب داده‌شدند، بدین ترتیب هموگلوبین خالص پس از یک ساعت سانتریفوژ با دور ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد در محلول رویی وجود خواهدداشت. در نهایت برای خالص سازی بیشتر و حذف مواد اضافه، دیالیز در برابر بافر فسفات به مدت ۷۲ ساعت و در دمای ۴ درجه سانتیگراد انجام شد.

تعیین غلظت هموگلوبین استخراج شده

هموگلوبین استخراج شده، توسط روش برادفورد (۱۴)، و با کمک طیف سنجی مرئی-ماوراء بنفش (مدل شیمادزو) تعیین غلظت گردید. بدین منظور، منحنی استاندارد با غلظتهای ۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱، ۱/۲، ۱/۴ و ۱/۶ میلی گرم در میلی لیتر از پروتئین آلبومین گاوی (BSA) به عنوان پروتئین استاندارد، استفاده شد.

انکوباسیون

هموگلوبین با غلظت ۱۰ mg/ml در حضور و عدم حضور گلوکز با غلظت ۴۰ mM (خریداری شده از شرکت مرک) و زهر زنبور (خریداری شده از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات) در سه غلظت ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به مدت ۵ هفته در دمای ۳۷ درجه و دور شیکر ۴۰ دور در دقیقه انکوبه شد. در انتهای هر هفته (هفته ۰و ۱و ۲و تا ۵) نمونه برداری انجام شده و نمونه ها در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند تا آنالیزهای مربوطه انجام گیرند.

بررسی میزان گلایکه شدن

جهت بررسی میزان گلایکه‌شدن هموگلوبین و اثر زهر زنبور در این پدیده، از روش‌های زیر استفاده شد.

۱- بررسی میزان تخریب گروه هِم در هموگلوبین

به منظور بررسی میزان تخریب گروه هم، میزان نشر فلوئورسانس یکی از محصولات حاصل از تخریب هم بررسی شد (۱۵). بدین منظور، نمونه‌ها با استفاده از دستگاه فلوئورسانس (مدل cary) در طول موج ۴۶۰ نانومتر تحریک شده و میزان نشر آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر ثبت شد.

۲- بررسی میزان آمین آزاد در هموگلوبین

برای بررسی میزان آمین‌های آزاد از روش تغییرات در نشر فلوئورسانس فلورسکامین (خریداری شده از شرکت سیگما) استفاده شد که بر اساس یک واکنش انتخابی بین این ماده و گروه های آمین پروتئین ها انجام می گیرد. پس از ۱۰ الی ۱۵ دقیقه انکوباسیون فلورسکامین با نمونه ها در یک محل تاریک، میزان نشر در طول موج تحریک و نشر ۳۹۰/۴۹۰ نانومتر قرائت شد

(۱۶). در نهایت برای محاسبه درصد آمین‌های آزاد از معادله زیر استفاده شد.

$$\text{درصد آمین آزاد} = \frac{\text{نشر فلوئورسانس مربوط به هموگلوبین در شرایط مورد نظر}}{\text{نشر فلوئورسانس مربوط به هموگلوبین تنها}} \times 100$$

۳- بررسی وضعیت فیبریلار در هموگلوبین

از آنجا که به هنگام گلایکه شدن پروتئین‌ها، محتوای صفحات بتای آنها افزایش می یابد از روش تغییرات در نشر فلوئورسانس تیوفلاوین T (خریداری شده از شرکت سیگما)، جهت بررسی میزان گلایکه‌شدن پروتئین‌ها استفاده شد (۱۶). لذا نمونه ها با تیوفلاوین T انکوبه شده و تغییرات در نشر فلوئورسانس نمونه ها با تحریک در طول موج ۴۵۰ نانومتر و نشر در طول موج ۴۹۰ قرائت شد.

۴- بررسی میزان جذب و جابجایی باند سورت هموگلوبین

به منظور مطالعه در میزان آزادسازی گروه هم از پروتئین و همچنین جابجایی و تغییرات باند سورت هموگلوبین از طیف سنجی مرئی- ماوراء بنفش استفاده شد. برای این کار نمونه پروتئینی با غلظت ۳۳ µg/ml تهیه شد و جذب در ناحیه ۴۴۰-۳۸۰ نانومتر خوانده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

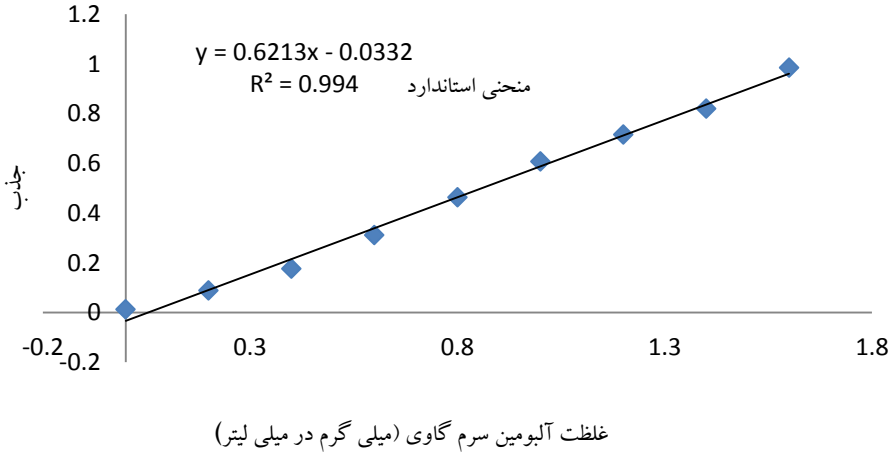
داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار InStat 3 و آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند. $p < ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

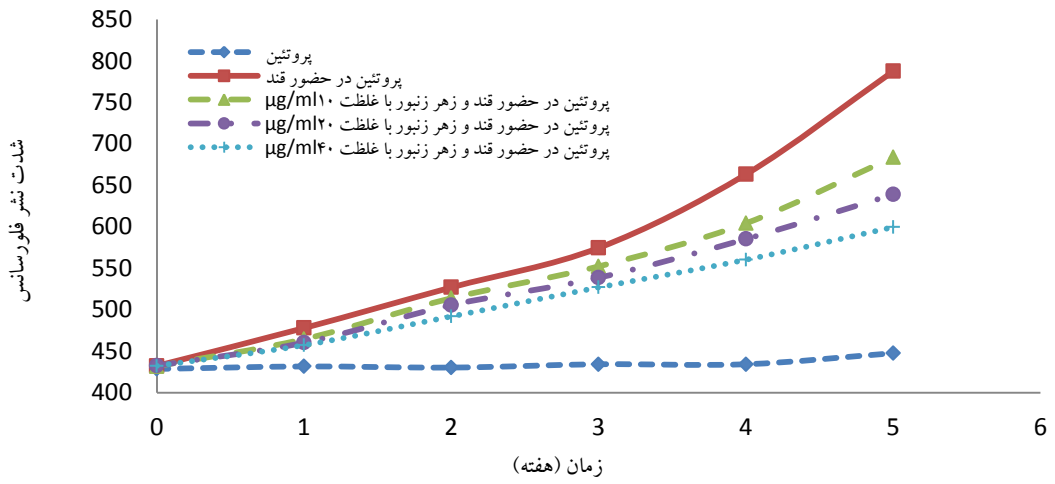
شکل ۱ نتایج حاصل از تست استاندارد برادفورد را به صورت رابطه ی خطی بین افزایش غلظت BSA بر حسب mg/ml و میزان جذب نوری نشان می‌دهد. با استفاده از معادله خط $y = 0.6213x - 0.0332$، حاصل از این نمودار استاندارد و همچنین جذب به دست آمده از نمونه هموگلوبین استخراجی، غلظت استوک هموگلوبین بر حسب mg/ml تعیین شده و از آن در ادامه آزمایشات استفاده شد. بررسی‌های انجام شده با فلوئورسانس نشان داد که گلایکه‌شدن باعث تخریب گروه هِم موجود در هموگلوبین و افزایش فلوئورسانس آن نسبت به هموگلوبین کنترل می‌شود. میزان نشر فلوئورسانس در حضور گلوکز پس از ۵ هفته انکوباسیون تقریباً دو برابر شده و زهر زنبور میزان نشر و در نتیجه میزان گلایکه‌شدن را در یک روند وابسته به غلظت کم کرده‌است. این ماده در غلظت ۴۰ µg/ml توانسته است میزان تخریب گروه هِم را پس از ۵ هفته انکوباسیون در حدود ۵۰ درصد کاهش دهد (شکل ۲).

همانطور که نتایج موجود در شکل ۳ نشان می دهد، گلایکه‌شدن هموگلوبین باعث افزایش ۶۰ درصدی صفحات بتا در ساختمان دوم این پروتئین شده‌است. میزان نشر مربوط به تیوفلاوین T و میزان تغییر در ساختمان دوم هموگلوبین که در اثر گلایکه‌شدن القاء شده‌است، توسط زهر زنبور کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهد. این میزان کاهش در تشکیل صفحات بتا وابسته به غلظت زهر زنبور می‌باشد.

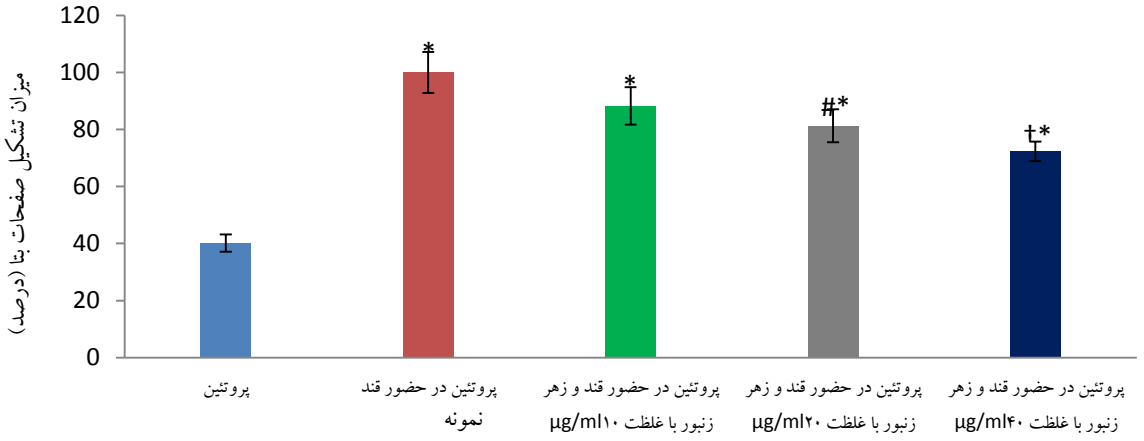
همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، گلایکه‌شدن باعث کاهش جذب در ناحیه باند سورت مربوط به هموگلوبین شده‌است. زهر زنبور در یک روند وابسته به غلظت مانع کاهش جذب در این ناحیه شده است. زهرزنبور در غلظت ۴۰ µg/ml توانسته است میزان جذب را از ۱۶٪ به ۳۳٪ برساند که نشان دهنده کاهش چشمگیر در میزان گلایکه‌شدن است. شکل ۵ درصدهای محاسبه شده برای میزان آمین آزاد در پروتئین هموگلوبین در شرایط مختلف انکوباسیون را نشان می‌دهد. همانگونه که ملاحظه می‌شود، میزان آمین آزاد تمامی نمونه‌ها قبل از انکوباسیون و نمونه مربوط به هموگلوبین کنترل پس از انکوباسیون ۱۰۰ درصد می باشد. انکوباسیون هموگلوبین با گلوکز به مدت ۵ هفته باعث کاهش تعداد آمین های آزاد موجود در این پروتئین به میزان کمتر از یک سوم شده‌است در حالیکه زهر زنبور به طور قابل ملاحظه‌ای میزان آمین آزاد را افزایش داده است.



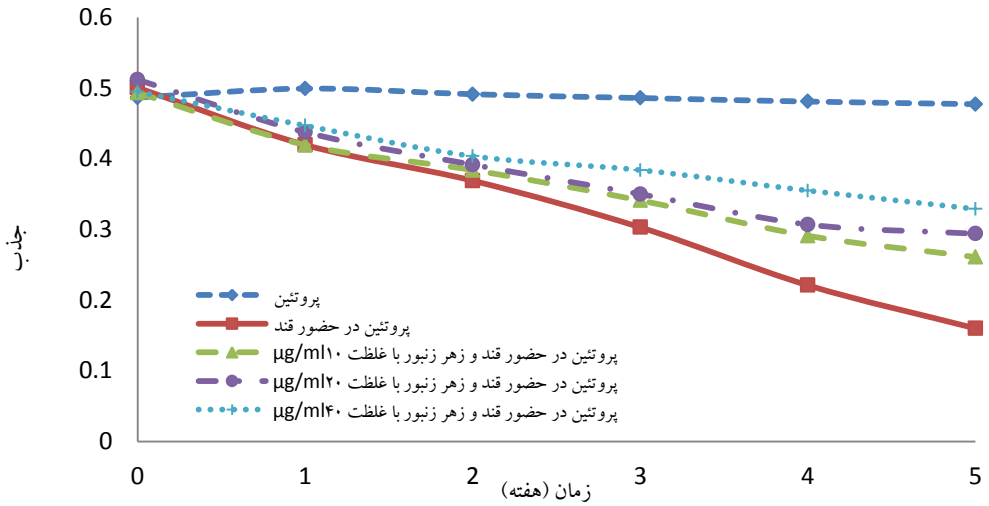
شکل ۱: نمودار استاندارد برادفورد حاصل از غلظت‌های معین آلبومین سرم گاوی جهت تعیین غلظت هموگلوبین استخراج شده



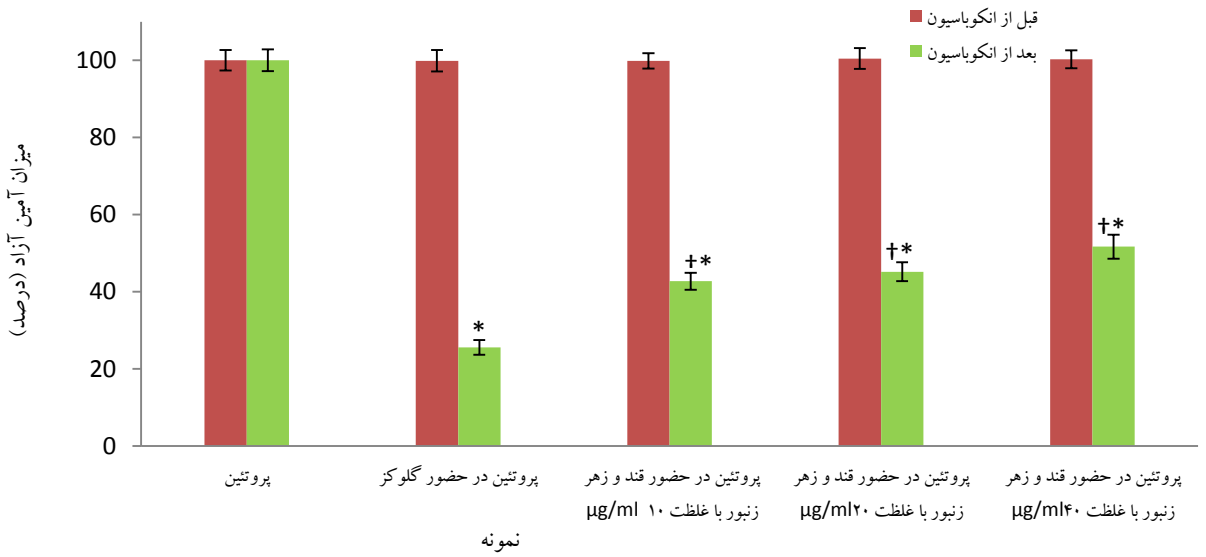
شکل ۲: میزان تولید محصولات ناشی از تخریب گروه هم در شرایط مختلف انکوباسیون هموگلوبین انسانی با گلوکز در حضور و عدم حضور غلظتهای مختلف زهر زنبور عسل



شکل ۳: میزان تشکیل صفحات بتا در شرایط مختلف انکوباسیون هموگلوبین انسانی با گلوکز در حضور و عدم حضور غلظتهای مختلف زهر زنبور عسل
*تفاوت معنادار با گروه پروتئین کنترل (p<۰/۰۰۱). † تفاوت معنادار با گروه پروتئین در حضور قند (p<۰/۰۰۱). # تفاوت معنادار با گروه پروتئین در حضور قند (p<۰/۰۵).



شکل ۴: میزان کاهش جذب در ناحیه باند سورت در اثر گلایکه‌شدن هموگلوبین انسانی در حضور گلوکز و اثر غلظتهای مختلف زهر زنبور عسل بر آن



شکل ۵: درصد آمین آزاد در ساختمان هموگلوبین در شرایط مختلف قبل و بعد از انکوباسیون

* تفاوت معنادار با گروه پروتئین کنترل ($p < ۰/۰۰۱$). † تفاوت معنادار با گروه پروتئین در حضور قند ($p < ۰/۰۰۱$).

بحث

همانطور که بیان شد، مهمترین اثر ازدیاد قند خون (گلوکز) در دیابت، گلایکه‌شدن (قنددار شدن غیرآنزیمی) پروتئین‌ها می‌باشد (۱۷). گلایکه شدن باعث از دست رفتن ساختار و در نتیجه عملکرد پروتئین‌ها می‌شود. مطالعات Nakajou و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که گلایکه‌شدن آلبومین منجر به ایجاد تغییرات ساختاری و عملکردی در آن می‌شود (۱۸). همچنین بختی و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که گلایکه شدن هموگلوبین باعث افزایش ساختار بتا و در مقابل کاهش محتوای مارپیچ آلفا در این پروتئین می‌شود. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که گلایکه‌شدن هموگلوبین منجر به افزایش میزان ساختار بتا و کاهش مارپیچ آلفا در آن شد که در نهایت باعث از بین رفتن ساختار و تخریب گروه هم موجود در آن می‌شود. این تغییرات می توانند در نهایت این منجر به از دست رفتن عملکرد این پروتئین مهم و عملکردی خون شوند (۱۹). از آنجا که گلایکه شدن پروتئین‌ها دارای نقش اساسی در ایجاد بیماری‌های مختلفی مانند آترواسکلروز و کاتاراکت می‌باشد، تاکنون تلاش‌های زیادی برای مهار این پدیده انجام‌شده است. حاصل کار برخی از این تلاش‌ها منجر به معرفی برخی مواد و داروهای ضدگلایکه‌شدن شده‌است. آمینوگوانیدین نمونه‌ای از این داروها است. اما این داروها در مراحل آزمایشات بالینی دارای اثرات جانبی بودند که باعث شد کار بر روی آنها متوقف شود. نمونه‌های مشابه دیگری از داروهای سنتتیک نیز وجود دارند که در عین دارا بودن خاصیت ضدگلایکه‌شدن، دارای اثرات جانبی فراوانی هستند. از اینرو، در دهه‌های اخیر پژوهش بر روی مواد غیرسنتتیک که در طب سنتی نیز کاربرد فراوانی داشته‌اند، توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است (۲۰). مطالعات Liu و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که عصاره قره قاط (Cranberry) گلایکه شدن آلبومین و هموگلوبین را مهار می‌کند (۲۱). Son و همکاران اثرات درمانی مختلفی از جمله خاصیت ضد سرطان و ضد روماتیسم را برای زهر زنبور بر شمرده‌اند (۲۲). اما تاکنون گزارشی مبنی بر بررسی اثر زهر زنبور در فرایندگلایکه‌شدن منتشر نشده است و مطالعه حاضر اولین کار در این زمینه می‌باشد.تاکنون ترکیبات زیادی با فعالیت آنتی گلایکه‌شدن مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. این ترکیبات با مکانیسم های مختلفی میزان گلایکه‌شدن را کاهش می‌دهند. برخی از اینها گروه‌های آمین آزاد روی پروتئین ها را مسدود کرده و از گلایکه‌شدن آنها توسط قند جلوگیری می‌کنند. عده‌ای دیگر گروه های کربونیل روی قندهای احیاء کننده، محصولات آمادوری و حدواسط های دی‌کربونیل را مسدود کرده و بدین طریق گلایکه‌شدن و تشکیل AGE ها را به طور مؤثر کاهش می‌دهند. برخی دیگر از این ترکیبات به عنوان آنتی اکسیدان عمل کرده و از طریق کاهش میزان رادیکال‌های آزاد و گلیکواکسیداسیون، میزان گلایکه‌شدن را کاهش می‌دهند (۶).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می دهد که زهر زنبور دارای خاصیت ضدگلایکه‌شدن قابل توجهی می‌باشد. Rekka و همکاران (۱۹۹۰) نشان دادند که زهر زنبور دارای خواص آنتی اکسیدانی می‌باشد (۲۳)، از اینرو مکانیسم پیشنهادی ما برای اثر ضدگلایکه‌کنندگی زهر زنبور، متوقف کردن مسیر گلیکواکسیداسیون می‌باشد. در هر حال مشخص شدن دقیق این موضوع نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که گلایکه‌شدن از طرفی باعث افزایش محتوای ساختار بتا در هموگلوبین شده و از طرف دیگر باعث تخریب گروه هِم موجود در ساختار آن می‌شود. زهر زنبور از تغییر ساختار هموگلوبین در اثر گلایکه‌شدن، کاهش میزان جذب باند سورت و همچنین از تخریب و رهاسازی هِم

موجود در هموگلوبین جلوگیری می کند. این نتایج نشان می‌دهند که زهر زنبور دارای خاصیت ضد گلایکه‌کنندگی قابل توجهی می‌باشد و می‌تواند کاربرد طبی داشته باشد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی بدلیل حمایت مالی از این پژوهش اعلام می‌داریم.

References

1. Matthaei S, Kellerer M, Häring H. Pathophysiology and Pharmacological Treatment of Insulin Resistance. *Endocr Rev* 2000; **21**(6): 585-618.
2. Srinivasan K. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian J Med Res* 2007; **125**(3): 451-472.
3. Hohmeier HE, Tran VV, Chen G, Gasa R, Newgard CB. Inflammatory mechanisms in diabetes: lessons from the beta-cell. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; **27**(3): 12-16.
4. Peyroux J, Sternberg M. Advanced glycation endproducts (AGEs): Pharmacological inhibition in diabetes. *Pathol Biol* 2006; **54**(7): 405-419.
5. Daroux M, Prevost G, Maillard-Lefebvre H, Gaxatte C, D'Agati VD, Schmidt AM, et al. Advanced glycation end-products: implications for diabetic and non-diabetic nephropathies. *Diabetes Metab* 2010; **36**(1): 1-10.
6. Ahmed N. Advanced glycation endproducts: role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; **67**(1): 3-21.
7. Harding J, Ganea E. Protection against glycation and similar post-translational modifications of proteins. *Biochim Biophys Acta* 2006; **1764**(9): 1436-1446.
8. Munstedt K, Schmidt K. Bee venom therapy, bee venom acupuncture of apipunture: What is the evidence behind the various health claims? *Am Bee J* 2005; **145**: 665-668.
9. Suh S, Kim MJ, Chang YC, Lee SD, Kim MS, Kwon DY, et al. Effects of bee venom on protease activities and free radical damages in synovial fluid from type II collagen-induced rheumatoid arthritis rats. *Toxicol in Vitro* 2006; **20**(8): 1465-1471.
10. Koga M, Murai J, Saito H, Yamada Y, Mori T, Suno S, et al. Measurement of glycated hemoglobin and glycated albumin in umbilical cord: evaluation of the glycemic control indicators in neonates. *J Perinatal* 2011; **31**: 3-6.
11. Rosa G, Mingrone G, Manco M, Euthine V, Gniuli D, Calvani R, et al. Molecular mechanisms of diabetes reversibility after bariatric surgery. *Int J Obes* 2007; **31**(9): 1429-1436.
12. Lawrence JM, Contreras R, Chen W, Sacks DA. Trends in the prevalence of preexisting diabetes and gestational diabetes mellitus among a racially/ethnically diverse population of pregnant women. *Diabetes Care* 2008; **31**(5): 899-904.
13. Riggs A. Preparation of blood hemoglobin's of vertebrates. *Methods Enzymol* 1981; **76**:5-29.
14. Bradford A. Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal biochem* 1976; **72**: 248-254.
15. Nagababu E, Rifkind JM. Formation of fluorescent heme degradation products during the oxidation of Hemoglobin by Hydrogen Peroxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; **247**(3): 592-596.
16. Schmitt A, Münch G, Gasic-Milencovic J. Characterization of advanced glycation end products for biochemical studies: side chain modifications and fluorescence characteristics. *Anal Biochem* 2005; **338**(2): 201-215.
17. Usha R, Jaimohan SM, Rajaram A, Mandal AB. Aggregation and self-assembly of non-enzymatic glycation of collagen in the presence of amino guanidine and aspirin: An in vitro study. *Int J Biol Macromol* 2010; **47**: 402-409.
18. Nakajou K, Kragh-Hansen U, Maruyama T, Otagiri M. The effect of glycation on the structure, function and biological fate of human serum albumin as revealed by recombinant mutants. *Biochim Biophys Acta* 2003; **1623**(2-3): 88-97.
19. Bakhti M, Moosavi-Movahedi AA, Khazaei MR. Consequential alterations in haemoglobin structure upon glycation with fructose: prevention by acetylsalicylic acid. *J Biochem* 2007; **141**(6): 827-833.
20. Ho SC, Wu SP, Lin SM, Tang YL. Comparison of anti-glycation capacities of several herbal infusions with that of green tea. *Food Chem* 2010; **122**(3): 768-774.
21. Liu H, Liu H, Wang W, Khoo C, Taylor J, Gu L. Cranberry phytochemicals inhibit glycation of human hemoglobin and serum albumin by scavenging reactive carbonyls. *Food Funct* 2011; **2**(8): 475-482.

22. Son DJ, Lee YH, Song SH, Lee CK, Hong JT. Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. *Pharmacol Ther* 2007; **115**(2): 246-270.

23. Rekka E, Kourounakis P. Antioxidant activity of and interleukin production affected by honey bee venom. *Arzneimittelforschung* 1990; **40**(8): 912-913.