

Comparison of Bee Venom's - and Aspirin's Effect on Fructation of Human Hemoglobin

Behroozi J.¹ MSc, Divsalar A.² PhD

*Cell & Molecular Biology Department, Biological Sciences Faculty, Kharazmi University, Tehran, Iran

¹Cell & Molecular Biology Department, Biological Sciences Faculty, Kharazmi University, Tehran, Iran

Abstract

Aims: Fructation causes structural changes in the proteins which finally changes or destroys the protein's function. The aim of this study was to investigate the anti-fructation effect of honey bee venom and compare it with aspirin.

Methods: Hemoglobin extracted from healthy and nonsmoker subjects and its concentration was determined using optical-UV spectrometry. The bovine serum albumin (BSA) was used as the standard protein. In order to evaluate the effect of honey bee venom and aspirin, hemoglobin in the presence of these two substances was also fructated. The release of heme group from protein and the changes in hemoglobin soret band was done by optical-UV spectrometry. The amount of free amines available in hemoglobin during fructation in the presence of aspirin and honey bee venom was measured by changes in the fluorescence florscasmine emission method. To investigate the structural changes of fructated hemoglobin protein spectropolarimetry and circular bicolor spectrophotometry method were used. Data were analyzed using InStat 3 software and One-way ANOVA test.

Results: Hemoglobin incubation in the presence of fructose decreased the absorption of soret band of fructated hemoglobin compared to control. The amount of free amine in the presence of honey bee venom in of 20 and 40µg/ml had no significant difference with free amine in the presence of aspirin. Honey bee venom inhibited the change in second structure of hemoglobin dose-dependently during fructation.

Conclusion: Honey bee venom has relatively similar effect with aspirin to inhibit hemoglobin fructation process.

Keywords: Fructation, Honey Bee Venom, Aspirin, Hemoglobin

مقایسه اثر زهر زنبور عسل و آسپیرین بر میزان فروخته‌شدن هموگلوبین انسانی

جواد بهروزی MSc

گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

عادل دیوسالار * PhD

گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

چکیده

اهداف: فروخته‌شدن باعث ایجاد تغییرات ساختاری در پروتئین‌ها می‌شود که در نهایت عملکرد پروتئین‌ها را تغییر داده یا از بین می‌برد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر ضد فروخته‌کنندگی زهر زنبور عسل و مقایسه آن با آسپیرین بود.

روش‌ها: هموگلوبین از افراد سالم و غیرسیگاری استخراج و با استفاده از طیف‌سنج مرئی-ماورای بنفش تعیین غلظت شد. از آلبومین سرم گاوی به عنوان پروتئین استاندارد، استفاده شد. به منظور ارزیابی اثر زهر زنبور عسل و آسپیرین، هموگلوبین در حضور این دو ماده نیز فروخته شد. به منظور مطالعه میزان آزادسازی گروه هم از پروتئین و تغییرات باند سورت هموگلوبین از روش طیف‌سنجی مرئی-ماورای بنفش استفاده شد. میزان آمین‌های آزاد موجود در هموگلوبین طی فروخته‌شدن در حضور آسپیرین و زهر زنبور عسل با استفاده از روش تغییرات در نشر فلورسانس فلورسکامین اندازه‌گیری شد. برای بررسی تغییرات ساختاری پروتئین هموگلوبین فروخته‌شده از اسپکتروپلاریومتر و روش طیف‌سنجی دورنگ‌نمایی حلقوی استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار InStat 3 و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: انکوبه‌کردن هموگلوبین در حضور فروکتوز باعث کاهش میزان جذب باند سورت هموگلوبین فروخته نسبت به هموگلوبین کنترل شد. میزان آمین آزاد در حضور زهر زنبور عسل در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری با میزان آمین آزاد در حضور آسپیرین نداشت. زهر زنبور عسل در روندی وابسته به غلظت مانع از تغییر در ساختار دوم هموگلوبین طی فروخته‌شدن شد.

نتیجه‌گیری: زهر زنبور اثر تقریباً مشابهی با آسپیرین در مهار فرآیند فروخته‌شدن هموگلوبین دارد.

کلیدواژه‌ها: فروخته‌شدن، زهر زنبور عسل، آسپیرین، هموگلوبین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۵

*نویسنده مسئول: divsalar@khu.ac.ir

مقدمه

دیابت که سابقه شناخت آن بسیار طولانی است، شیوع بالایی در سرتاسر دنیا دارد و افراد مبتلا به آن در اثر عارضه افزایش قند خون به عوارض درازمدت و حتی جبران‌ناپذیری مبتلا می‌شوند [۱]. با افزایش قند خون در بیمار دیابتی، تمامی بافت‌هایی که تحت تاثیر انسولین قرار ندارند، قند بیشتری

نسبت به حالت عادی از خون جذب می‌کنند و میزان قند در درون این سلول‌ها بیشتر از حالت طبیعی خواهد بود [۲]. این شرایط باعث می‌شود که پروتئین‌های داخل خون مثل آلبومین و همچنین پروتئین‌های داخل سلول‌های غیروابسته به انسولین مثل هموگلوبین در تماس مستقیم با غلظت بالایی از قند قرار بگیرند که منجر به گلیکاته‌شدن و تشکیل پروتئین‌های غیرطبیعی می‌شود [۳]. پروتئین‌های داخل و خارج سلولی در بیماران دیابتی به واسطه گلیکاته‌شدن ساختمان و عملکرد طبیعی خود را از دست می‌دهند [۴].

گلیکاته‌شدن واکنش غیرآنزیمی اضافه‌شدن قندها به پروتئین‌هاست که با تشکیل باز شیف (Schiff base) بین قند در حالت خطی و گروه آمین پروتئین آغاز می‌شود و با مجموعه‌ای از واکنش‌های پیچیده در جهت تشکیل گونه‌های رنگی، فلورسانس و دارای اتصالات متقاطع به نام "محصولات نهایی گلیکاته‌شدن" (AGE) پیش می‌رود [۵]. گلوکز به عنوان قند اصلی خون، نقش اساسی در فرآیند گلیکاته‌شدن پروتئین‌ها طی هایپرگلیسمیا بازی می‌کند. قند دیگری که در دیابت می‌تواند در گلیکاته‌کردن پروتئین‌ها نقش داشته باشد، فروکتوز است. هنگامی که فرآیند گلیکاته‌شدن توسط فروکتوز رخ می‌دهد، به آن فروخته‌شدن می‌گویند. این مونوساکارید می‌تواند از طریق مواد غذایی وارد بدن شده یا از مسیر پلی‌ال (Polyol) در بدن تولید شود. فروکتوز ۸ الی ۱۰ برابر بیشتر از گلوکز تمایل به ایجاد AGE‌ها دارد که به دلیل بالاتر بودن تعادل آنومری برای تولید فرم خطی در فروکتوز نسبت به گلوکز است [۶].

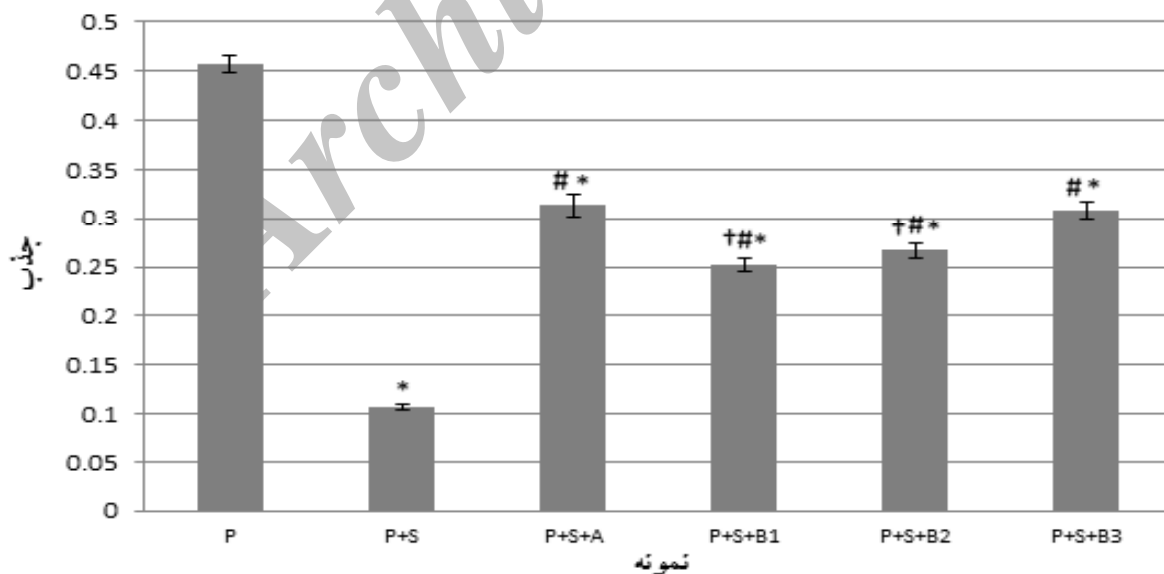
آسپیرین (استیل سالیسیلیک اسید) داروی ضدالتهاب غیراستروئیدی و پرمصرف‌ترین دارو در دنیا است [۷]. این دارو آنزیم سیکلواکسیژناز-۱ را به صورت برگشت‌ناپذیر مهار می‌کند. مهار از طریق استیل‌اسیون سرین ۵۲۹ آن صورت می‌گیرد و از تبدیل شدن آراشیدونیک اسید به ترومبوکسان-A2 جلوگیری می‌کند [۸]. اثرات ضدگلیکاته‌کنندگی این دارو در شیشه و در طبیعت نشان داده شده و آسپیرین احتمالاً از طریق استیل‌اسیون گروه آمین آزاد پروتئین‌ها و محدودکردن میزان تولید محصولات آمادوری و AGE‌ها، اثر ضدگلیکاته‌کنندگی خود را اعمال می‌کند [۹، ۱۰]. زهر زنبور عسل دارای ۱۸ جزء فعال است و از گذشته‌های دور در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلفی مانند آرتрит روماتوئید، مولتیپل اسکلروزیس، نقرس، عفونت، سوختگی‌ها، ترمیم زخم‌ها و تسکین درد مورد استفاده بوده است. ملیتین و آنزیم فسفولیپاز-A2، جزء اصلی زهر زنبور عسل هستند [۱۱]. ملیتین که ۵۰ تا ۶۰٪ ماده خشک زهر زنبور عسل را تشکیل می‌دهد، پروتئین کوچکی با وزن ۲۸۵۰ دالتون است که از ۲۶ اسیدآمین تشکیل شده و دارای قابلیت القای آپوپتوز و اثرات ضدتوموری است [۱۲].

آشکارترین راه برای جلوگیری از گلیکاته‌شدن بیش از حد پروتئین‌ها در دیابت، کنترل قند خون است. عواملی که قند خون را کاهش می‌دهند، باعث پایین آمدن میزان AGE و کاهش عوارض دیابت می‌شوند [۱۳]. عوامل مختلفی برای جلوگیری از گلیکاته‌شدن وجود دارند که هر کدام به نوعی از

با غلظت ۳۳ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه و جذب در ناحیه ۴۴۰-۳۸۰ نانومتر خوانده شد. میزان آمین های آزاد موجود در هموگلوبین طی فروکنه شدن در حضور آسپیرین و زهر زنبور عسل با استفاده از روش تغییرات در نشر فلوروسانس فلورسکامین (Sigma؛ ایالات متحده) اندازه گیری شد. ابتدا نمونه ها به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه در حضور فلورسکامین در محل تاریک انکوبه شدند. سپس میزان نشر در طول موج تحریک (۴۹۰ نانومتر) و نشر (۳۹۰ نانومتر) خوانده شد [۱۸]. برای محاسبه درصد آمین آزاد از معادله $100 * (\text{نشر})$ فلوروسانس هموگلوبین تنها/نشر فلوروسانس هموگلوبین در شرایط مورد نظر]] استفاده شد. برای بررسی تغییرات ساختاری پروتئین هموگلوبین فروکنه شده در حضور آسپیرین و زهر زنبور عسل از اسپکتروپلاریمتر (AVIV؛ ایالات متحده) و روش طیفسنجی دورنگنمایی حلقوی (CD) استفاده شد. بررسی نمونه ها در فاصله طول موج های ۱۹۰ تا ۲۶۰ نانومتر انجام شد. در پایان از نرم افزار CDNN برای محاسبه هر یک از ساختارهای دوم پروتئین استفاده شد [۱۹]. داده ها با استفاده از نرم افزار InStat 3 و آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

طیفسنجی مرئی-ماورای بنفش: انکوبه کردن هموگلوبین در حضور فروکتوز باعث کاهش میزان جذب باند سورت هموگلوبین فروکنه نسبت به هموگلوبین کنترل شد. زهر زنبور در روندی وابسته به غلظت میزان جذب را افزایش داد. افزایش میزان جذب در حضور غلظت ۴۰ میکروگرم در میلی لیتر زهر زنبور عسل تفاوت معنی داری با میزان کاهش فروکنه شدن در حضور آسپیرین نداشت (نمودار ۱).



نمودار ۱) میزان جذب باند سورت هموگلوبین پس از ۵ هفته انکوباسیون در گروه حاوی هموگلوبین (P)، هموگلوبین در حضور فروکتوز (P+S)، هموگلوبین در حضور فروکتوز و آسپیرین (P+S+A)، هموگلوبین در حضور فروکتوز و زهر زنبور عسل با غلظت های ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر (P+S+B1)، ۲۰ میکروگرم در میلی لیتر (P+S+B2) و ۴۰ میکروگرم در میلی لیتر (P+S+B3). * تفاوت معنی دار با گروه P ($p < 0.001$); † تفاوت معنی دار با گروه P+S ($p < 0.001$); † تفاوت معنی دار با گروه P+S+A ($p < 0.001$)

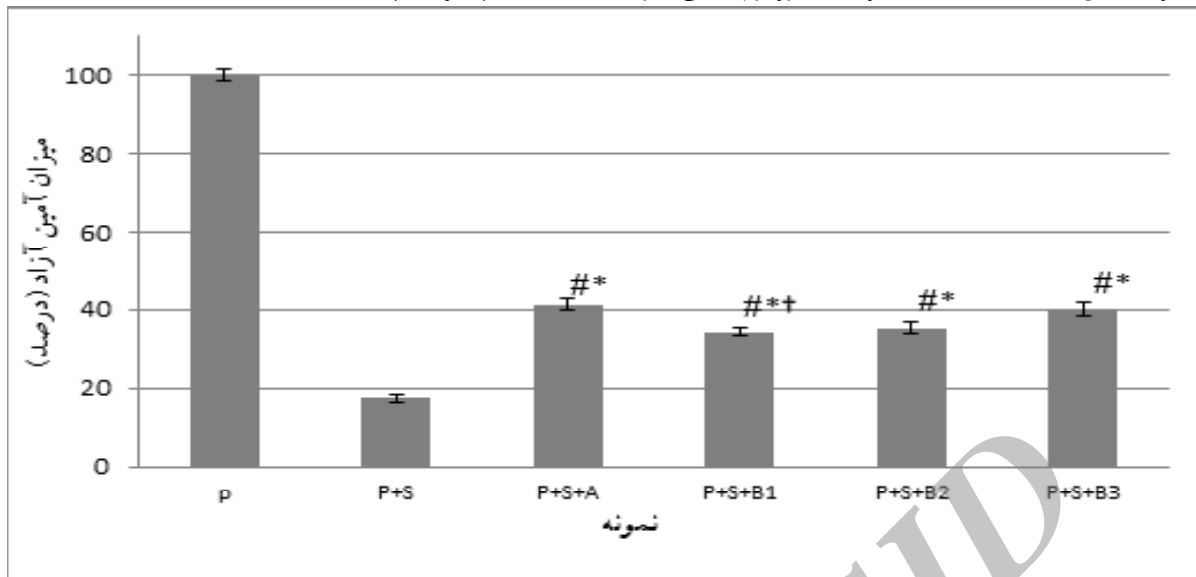
گلایکه شدن جلوگیری می کنند. برخی، مانند اسید آمینه لایزین، با گروه آمین پروتئین ها در اتصال به قند رقابت می کنند [۱۴]. برخی دیگر، مثل آسپیرین، به پروتئین متصل شده و از دسترسی قند به عامل آمین جلوگیری می کنند [۱۵]. برخی از مواد آنتی اکسیدان، مانند زهر زنبور عسل، نیز با کاهش میزان گلیکواکسیداسیون میزان گلایکه شدن را کاهش می دهند. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر ضد فروکنه کنندگی زهر زنبور عسل و مقایسه آن با آسپیرین بود.

روش ها

در این پژوهش تجربی، هموگلوبین از افراد سالم و غیرسیگاری طبق پروتکل آستین ریجز (Austen Riggs) استخراج [۱۶] و سپس به روش برادفورد [۱۷] و با استفاده از طیفسنج مرئی-ماورای بنفش مدل UV-3100 (Shimadzu؛ ژاپن) تعیین غلظت شد. از پروتئین آلومین گاو (BSA) به عنوان پروتئین استاندارد استفاده شد. هموگلوبین با غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر در حضور و عدم حضور فروکتوز (Merck؛ آلمان) با غلظت ۴۰ میلی مولار به مدت ۵ هفته در دمای ۳۷°C روی شیکر با سرعت ۴۰ دور در دقیقه انکوبه شد. به منظور ارزیابی اثر زهر زنبور عسل و آسپیرین، هموگلوبین در حضور این دو ماده نیز فروکنه شد. بدین منظور زهر زنبور عسل (واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی؛ ایران) در ۳ غلظت ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی لیتر و آسپیرین (Sigma؛ ایالات متحده) در غلظت ۲/۵ میلی مولار مورد استفاده قرار گرفت. سیستم بافری مورد استفاده بافر فسفات سالین (PBS) با pH ۷/۴ بود. به منظور مطالعه میزان آزادسازی گروه هم از پروتئین و تغییرات باند سورت هموگلوبین از روش طیفسنجی مرئی-ماورای بنفش استفاده شد. برای این کار نمونه پروتئینی

تفاوت معنی‌داری با میزان آمین آزاد در حضور آسپیرین نداشت (نمودار ۲).

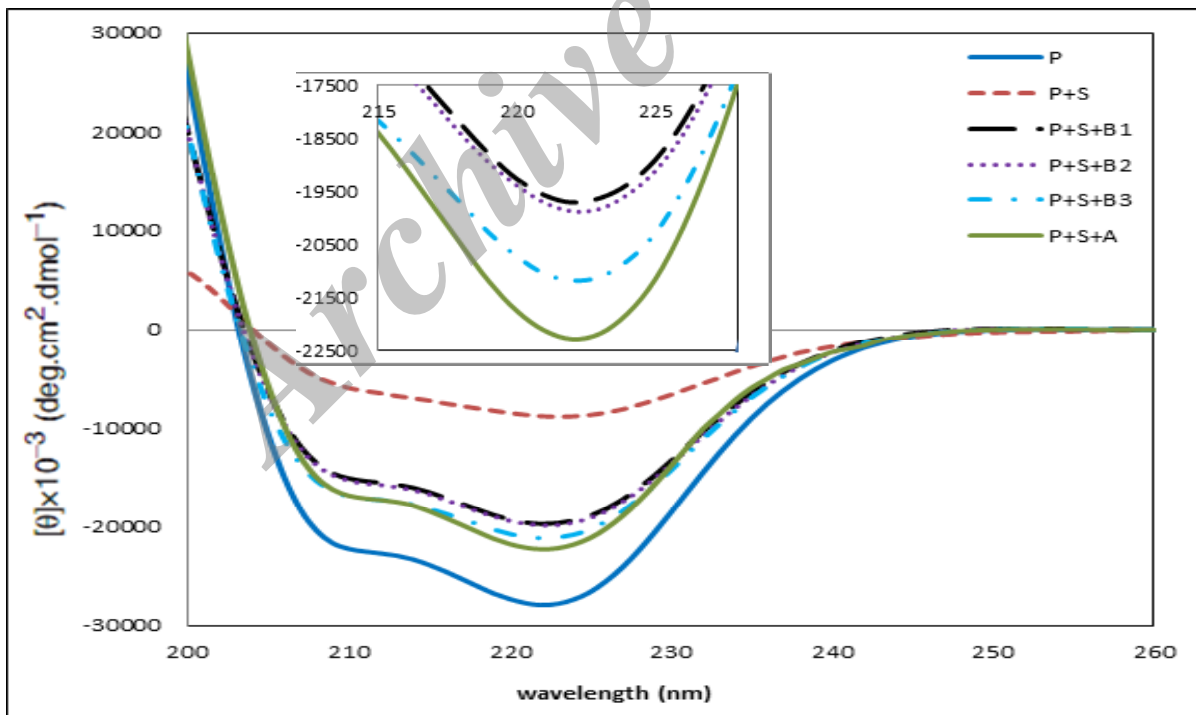
طیف‌سنجی فلورسانس: میزان آمین آزاد در حضور زهر زنبور عسل در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر



نمودار ۲ درصد آمین آزاد در ساختمان هموگلوبین پس از ۵ هفته انکوباسیون (نتیجه قبل از انکوباسیون مثل گروه کنترل بود) در گروه هموگلوبین (P)، هموگلوبین در حضور فروکتوز (P+S)، هموگلوبین در حضور فروکتوز و آسپیرین (P+S+A)، هموگلوبین در حضور فروکتوز و زهر زنبور عسل با غلظت‌های ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (P+S+B1)، ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (P+S+B2) و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (P+S+B3). * تفاوت معنی‌دار با گروه P ($p < 0.001$); # تفاوت معنی‌دار با گروه P+S ($p < 0.001$); † تفاوت معنی‌دار با گروه P+S+A ($p < 0.05$)

میزان فروکته‌شدن و تغییرات ساختاری ایجاد شده به دنبال آن را به صورت معنی‌داری کاهش داد (نمودار ۳).

طیف‌سنجی دورنگ‌نمایی حلقوی: زهر زنبور عسل در روندی وابسته به غلظت مانع از تغییر در ساختار دوم هموگلوبین طی فروکته‌شدن شد. آسپیرین نیز این تغییرات را مهار کرد و



نمودار ۳ طیف CD مربوط به هموگلوبین پس از ۵ هفته انکوباسیون (نتیجه قبل از انکوباسیون مثل گروه کنترل بود) در گروه هموگلوبین (P)، هموگلوبین در حضور فروکتوز (P+S)، هموگلوبین در حضور فروکتوز و آسپیرین (P+S+A)، هموگلوبین در حضور فروکتوز و زهر زنبور عسل با غلظت‌های ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (P+S+B1)، ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (P+S+B2) و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (P+S+B3). داده‌های حاصل از این طیف، از بین رفتن نسبی ساختار دوم پروتئین در حضور قند فروکتوز را نشان می‌دهند. همچنین فروکته‌شدن باعث کاهش میزان بیضی‌واری در ناحیه ۲۱۰ تا ۲۳۰ نانومتر شده است.

هموگلوبین می‌شود. این افزایش در محتوای صفحات بتا به هزبنه کاهش در میزان ماریچج آلفا در پروتئین است. آسپیرین این تغییرات ساختاری القا شده را مهار کرد، زهر زنبور عسل نیز در روندی وابسته به غلظت از تغییرات ساختاری که در اثر فروکنه شدن در هموگلوبین به وجود آمده بود، جلوگیری کرد. تاکنون ترکیبات زیادی با فعالیت ضدگلائیکه‌کنندگی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، ولی استفاده از آنها در انسان هنوز قابل بحث است. این ترکیبات با مکانیسم‌های مختلفی باعث کاهش میزان گلائیکه شدن می‌شوند. برخی از این ترکیبات گروه‌های آمین آزاد روی پروتئین‌ها را مسدود کرده و از گلائیکه شدن آنها توسط قند جلوگیری می‌کنند. از این دسته می‌توان به آسپیرین اشاره کرد. آسپیرین از طریق استیله کردن گروه‌های آمین پروتئین‌ها و مسدود کردن این گروه‌های فعال، از گلائیکه شدن آنها جلوگیری می‌کند [۲۵]. عده دیگری از این ترکیبات گروه‌های کربونیل روی قندهای احیاکننده و محصولات آمادوری را مسدود کرده و در نتیجه گلائیکه شدن و تشکیل AGE را به‌طور موثر کاهش می‌دهند. از این دسته می‌توان به آمینوگوانیدین و پلی‌آمین‌هایی نظیر اسپریمین اشاره کرد [۲۶]. استفاده از آنتی‌بادی‌ها برای به‌دام‌انداختن محصولات آمادوری روش دیگری برای مهار گلائیکه شدن و عوارض آن است [۲۷]. همچنین استفاده از آنزیم‌هایی نظیر آمادوریداز برای قندزایی محصولات آمادوری یا غیرفعال کردن ترکیبات واسطه نظیر ۳-داکسی‌گلوکوزون‌ها روش دیگری برای جلوگیری از عوارض گلائیکه شدن است [۲۸]. برخی از مواد با خاصیت آنتی‌گلائیکه‌کنندگی با شلاته کردن (Chelation) فلزات انتقالی باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش میزان گلائیکه شدن می‌شوند؛ با وجود این، بسیاری از فلزات انتقالی دارای اعمال فیزیولوژیک مهمی هستند که حذف آنها دارای پیامدهای نامطلوبی است [۲۹]. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای کاهش تولید میزان رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش گلیکواکسید شدن و AGE‌ها راه‌حل مناسب‌تری برای تولید ماده ضدگلائیکه‌کننده است [۳۰]. از آنجا که اقبال عمومی نسبت به استفاده از طب سنتی در درمان بیماری‌ها رو به افزایش است و نیز به دلیل موفقیت‌آمیز نبودن درمان‌های فعلی در جلوگیری از گلائیکه شدن، درمان با زهر زنبور عسل می‌تواند روش نوین در درمان دیابت و جلوگیری از گلائیکه شدن باشد [۳۱]. از آنجا که خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ماده در آزمایشات قبلی نشان داده شده است [۳۲]، فرض محتمل برای مکانیسم عمل آن، کاهش میزان استرس اکسایشی در محیط و کاهش میزان گلیکواکسیداسیون از این طریق است. ملیتین جزء اصلی ماده خشک زهر زنبور بوده و اکثر خواص زهر زنبور عسل به دلیل حضور این ماده است؛ این احتمال وجود دارد که خاصیت ضدگلائیکه‌کنندگی زهر زنبور نیز به دلیل حضور این ماده در ترکیب زهر زنبور عسل باشد. به تازگی نانوذرات حامل

فروکنه شدن منجر به کاهش ماریچج آلفا در هموگلوبین و متعاقباً افزایش صفحات بتا شد. زهر زنبور عسل و آسپیرین تأثیر معنی‌داری در مهار این تغییرات داشتند. غلظت ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از زهر زنبور عسل عملکرد تقریباً مشابهی با آسپیرین در مهار فروکنه شدن هموگلوبین و تغییرات ساختاری القا شده توسط آن داشت (جدول ۱).

جدول ۱) فراوانی نسبی محتوای ساختار دوم هموگلوبین در گروه‌های مختلف انکو باسیون

گروه	ماریچج آلفا	صفحه بتا	پیچش تصادفی
P	۷۰/۳	۱۳/۵	۱۶/۲
P+S	۳۲/۷	۳۵/۱	۳۲/۲
P+S+A	۴۸/۵	۲۷/۶	۲۳/۹
P+S+B1	۴۰/۶	۲۷/۳	۳۲/۱
P+S+B2	۴۲/۱	۳۰/۶	۲۷/۳
P+S+B3	۴۷/۱	۲۹/۱	۲۳/۸

بحث

در مطالعه حاضر، اثر آسپیرین و زهر زنبور عسل بر میزان فروکنه شدن هموگلوبین انسانی بررسی شد. در افراد دیابتی، فروکنه شدن منجر به ایجاد تغییرات ساختاری و عملکردی در پروتئین‌ها و در نهایت ایجاد عوارض ثانویه بر دیابت می‌شود [۲۰]. گروه هم موجود در هموگلوبین مسئول جابه‌جایی و آزاد کردن اکسیژن و دی‌اکسید کربن است. هر گونه تغییر در ساختار هموگلوبین که منجر به آزاد شدن گروه هم شود، باعث عوارض جدی می‌گردد [۲۱]. براساس یافته‌های پژوهش حاضر زهر زنبور عسل و آسپیرین دارای خاصیت ضدفروکنه‌کنندگی بوده و توانایی جلوگیری از وقوع تغییرات ساختاری و عملکردی در اثر فروکنه شدن در هموگلوبین را داشتند. براساس مطالعه کوسیمانیو و همکاران، گلائیکه شدن هموگلوبین منجر به کاهش و جابه‌جایی پیک جذب سورت می‌شود [۲۲] که با نتایج مطالعه حاضر در توافق کامل است و میزان جذب باند سورت پس از ۵ هفته انکو باسیون هموگلوبین در حضور فروکنوز به صورت معنی‌داری کاهش یافت. حضور آسپیرین در محیط هموگلوبین باعث افزایش میزان جذب شد که نشان از کاهش میزان فروکنه شدن در حضور آسپیرین دارد. همچنین زهر زنبور عسل در روندی وابسته به غلظت میزان جذب کاهش یافته در اثر فروکنه شدن را افزایش داد. زهر زنبور عسل در غلظت ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اثر مهاری مشابهی با آسپیرین داشت.

رهبر گزارش داده است که گلائیکه شدن هموگلوبین در زنجیره‌های آلفا و بتا روی ریشه‌های آمینواسیدی مستعد گلائیکه شدن از جمله لیزین اتفاق می‌افتد و موجب تغییراتی در ساختار و عملکرد این پروتئین می‌شود [۲۳]. همچنین سن و همکاران معتقدند که گلائیکه شدن باعث کاهش مقدار ماریچج آلفا در ساختار دوم هموگلوبین می‌شود. این کاهش می‌تواند منجر به افزایش حجم ساختار سوم پروتئین شود و در نهایت منجر به باز شدن و غیرطبیعی شدن ساختار تترامری هموگلوبین شود [۲۴]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فروکنه شدن باعث افزایش محتوای صفحات بتا در ساختار

resistance: effect of clinical, biochemical and genetic factors. *Pharmacol Ther.* 2011;130(2):213-25.

9- Tehrani S, Antovic A, Mobarrez F, Mageed K, Lins PE, Adamson U, et al. High-dose aspirin is required to influence plasma fibrin network structure in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2012;35(2):404-8.

10- Harding JJ, Ganea E. Protection against glycation and similar post-translational modifications of proteins. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1764(9):1436-46.

11- Jang MH, Shin MC, Lim S, Han SM, Park HJ, Shin L, et al. Bee venom induces apoptosis and inhibits expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human lung cancer cell line NCI-H1299. *J Pharmacol Sci.* 2003;91(2):95-104.

12- 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):246-70.

13- Bathaie SZ, Jafarnejad A, Hosseinkhani S, Nakhjavani M. The effect of hot-tub therapy on serum Hsp70 level and its benefit on diabetic rats: a preliminary report. *Int J Hyperthermia.* 2010;26(6):577-85.

14- Jafarnejad A, Bathaie SZ, Nakhjavani M, Hassan MZ, Banasadeh S. The improvement effect of L-Lys as a chemical chaperone on STZ-induced diabetic rats, protein structure and function. *Diabetes Metab Res Rev.* 2008;24(1):64-73.

15- Jafarnejad A, Bathaie SZ, Nakhjavani M, Hassan MZ. Investigation of the mechanisms involved in the high-dose and long-term acetyl salicylic acid therapy of type I diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008;324(2):850-7.

16- Riggs A. Preparation of blood hemoglobins of vertebrates. *Methods Enzymol.* 1981;76:5-29.

17- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72(1):248-54.

18- Schmitt A, Schmitt J, Münch G, Gasic-Milencovic J. Characterization of advanced glycation end products for biochemical studies: side chain modifications and fluorescence characteristics. *Anal Biochem.*

زهر زنبور عسل تولید شده [۳۳] که این پیشرفت زمینه‌ای مناسب برای بررسی راه‌های تحویل هدفمند زهر زنبور عسل به سیستم‌های مورد نیاز در بدن بدون به‌وجود آمدن عوارض آن را پدید آورده است.

نتیجه‌گیری

فروخته‌شدن باعث القای تغییرات ساختاری در هموگلوبین می‌شود. زهر زنبور عسل مانند آسپیرین قادر به مهار تغییرات ایجادشده در هموگلوبین در اثر فروخته‌شدن است.

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

منابع

- 1- Hosseini SH, Amoghli Tabrizi B, Mazlom Moghaddam SSR. Evaluation at Ginseng on Lipid Profiles, Liver and Renal Markers in Diabetic Rats. *ZUMS J.* 2011;19(75):11-7.
- 2- Ahmed N. Advanced glycation endproducts: role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005;67(1):3-21.
- 3- 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 Perinatol.* 2011;31(6):430-3.
- 4- Nawale RB, Mourya VK, Bhise SB. Non-enzymatic glycation of proteins: a cause for complications in diabetes. *Indian J Biochem Biophys.* 2006;43(6):337-44.
- 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- Takeuchi M, Iwaki M, Takino J, Shirai H, Kawakami M, Bucala R, et al. Immunological detection of fructose-derived advanced glycation end-products. *Lab Invest.* 2010;90(7):1117-27.
- 7- Birmann BM, Giovannucci EL, Rosner BA, Colditz GA. Regular aspirin use and risk of multiple myeloma: a prospective analysis in the health professionals follow-up study and nurses' health study. *Cancer Prev Res.* 2014;7(1):33-41.
- 8- Fitzgerald R, Pirmohamed M. Aspirin

- occurring inhibitors against the formation of advanced glycation end-products. *Food Funct.* 2011;2(6):289-301.
- 27- Ansari NA, Dash D. Amadori glycated proteins: role in production of autoantibodies in diabetes mellitus and effect of inhibitors on non-enzymatic glycation. *Aging Dis.* 2013;4(1):50-6.
- 28- Capuano E, Fedele F, Mennella C, Visciano M, Napolitano A, Lanzuise S, et al. Studies on the effect of Amadoriase from *Aspergillus fumigatus* on peptide and protein glycation in vitro. *J Agri Food Chem.* 2007;55(10):4189-95.
- 29- Jomova K, Valko M. Importance of iron chelation in free radical-induced oxidative stress and human disease. *Curr Pharm Des.* 2011;17(31):3460-73.
- 30- Jariyapamornkoon N, Yibchok-anun S, Adisakwattana S. Inhibition of advanced glycation end products by red grape skin extract and its antioxidant activity. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13(1):171.
- 31- Chen J, Lariviere WR. The nociceptive and antinociceptive effects of bee venom injection and therapy: A double-edged sword. *Prog Neurobiol.* 2010;92(2):151-83.
- 32- Li R, Zhang L, Fang Y, Han B, Lu X, Zhou T, et al. Proteome and phosphoproteome analysis of honeybee (*Apis mellifera*) venom collected from electrical stimulation and manual extraction of the venom gland. *BMC Genomics.* 2013;14(1):766-87.
- 33- Hood JL, Jallouk AP, Campbell N, Ratner L, Wickline SA. Cytolytic nanoparticles attenuate HIV-1 infectivity. *Antivir Ther.* 2013;18(1):95-103.
- 2005;338(2):201-15.
- 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):827-33.
- 20- Méndez JD, Xie J, Aguilar-Hernández M, Méndez-Valenzuela V. Molecular susceptibility to glycation and its implication in diabetes mellitus and related diseases. *Mol Cell Biochem.* 2010;344(1-2):185-93.
- 21- Selvaraj N, Bobby Z, Sridhar MG. Increased glycation of hemoglobin in chronic renal failure: potential role of oxidative stress. *Arch Med Res.* 2008;39(3):277-84.
- 22- Cussimano BL, Booth AA, Todd P, Hudson BG, Khalifah RG. Unusual susceptibility of heme proteins to damage by glucose during non-enzymatic glycation. *Biophys Chem.* 2003;105(2-3):743-55.
- 23- Rahbar S. The discovery of glycated hemoglobin: a major event in the study of nonenzymatic chemistry in biological systems. *Ann NY Acad Sci.* 2005;1043(1):9-19.
- 24- Sen S, Kar M, Roy A, Chakraborti AS. Effect of nonenzymatic glycation on functional and structural properties of hemoglobin. *Biophys Chem.* 2005;113(3):289-98.
- 25- Krautwald M, Münch G. Advanced glycation end products as biomarkers and gerontotoxins - A basis to explore methylglyoxal-lowering agents for Alzheimer's disease? *Exp Gerontol.* 2010;45(10):744-51.
- 26- Peng X, Ma J, Chen F, Wang M. Naturally