View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Research Repository Portal of Medilam

بررسی اثر آگونیستیک پاپاورین برفرایند گلایکه شدن آلبومین سرم انسانی

علی رضا احمدزاده*[1]، محمد فیضی[2]، مهران حبیبی رضایی[1]

1) گروه سلولی مولکولی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران
2) گروه محیط زیست، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه شهید چمران

تاریخ دریافت: 89/6/3 تاریخ پذیرش: 89/11/25

چکیده

مقدمه: گلایکه شدن یک واکنش غیر آنزیمی است که با واکنش قند با گروه های آمین پروتئین شروع می شود. در مرحله اولیه گلایکه شدن سنتز ترکیبات حد واسط آمادوری رخ می دهد. و در مرحله پایانی پس از یک سلسله واکنش های پیچیده و برگشت ناپذیر محصولات پیشرفته گلایکه شدن (AGE) ایجاد می گردد. گلایکه شدن اختلالات مرتبط با دیابت، پیری فیزیولوژیک و آلزایمر را تحت تاثیر قرار می دهد.

مواد و روش ها: در این مطالعه آلبومین سرم انسان همراه با گلوکز و در حضور غلظت های مختلف پاپاورین به مدت 42 روز در دمای 37 °C تیمار شد. هم چنین HSA به تنهایی به عنوان نمونه کنترل و در نمونه دیگر همراه با گلوکز به عنوان نمونه گلایکه تحت همان شرایط نگهداری شد. سپس نمونه ها با دو رنگ نمایی دورانی، فلورسانس و اسپکتروسکوپی فرابنفش بررسی شد.

یافته های پژوهش: گلایکه شدن آلبومین سرم با افزایش غلظت پاپاورین بیشتر می شود. نمونه هاي داراي پاپاورين تغييرات بيشتري در ساختار دوم، فلورسانس وابسته به محصولات AGE و تعداد ليزين آزاد نسبت به نمونه گلايكه وكنترل نشان مي دهند.

نتیجه گیری: گلایکه شدن آلبومین سرم انسانی در حضور پاپاورین به ترتیب 5/7 درصد کاهش و 3/1 درصد افزایش نسبت به کنترل نشان می دهد. گلایکه 14/2 درصد فلورسانس بیشتر نسبت به کنترل نشان مي

***نویسنده مسئول:** گروه سلولی مولکولی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران
Email: aahmadzadeh20@yahoo.com

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

مقدمه

پروتئین ها در بدن ممکن است به صورت گلیکوپروتئین تولید شوند مانند ایمنوگلوبولین ها. وجود قند در ساختار این گلیکوپروتئین ها برای فعالیت آن ها ضروری است، (1،2). اضافه شدن قند به این گلیکوپروتئین ها به شکل آنزیمی است به این معنا که آنزیم به اسید آمین های سرین، ترئونین و یا آسپارژین در آن ها قند اضافه می کند که این فرایند گلیکوزیلاسیون نام دارد. اما در شرایط بیماری مانند دیابت که قند خون بالا است قند به شکل غیر آنزیمی با گروه ε- آمین اسید آمینه لیزین و گروه α- آمین در انتهای N- ترمینال پروتئین واکنش می دهد که این فرایند گلایکه شدن نام دارد. این واکنش در سال 1912برای اولین بار توسط لوئیس میلارد کشف شد بنابراین به آن واکنش میلارد هم گفته می شود (1،2،3،4). واکنش گلایکه شدن به دو مرحله تقسیم می شود: در مرحله اول قندهای احیا کننده مانند گلوکز با گروه های آمین آزاد در پروتئین واکنش داده سپس پیوند شیف باز تشکیل می دهند. این پیوند پایدار نیست و تشکیل آن برگشت پذیر است. در نتیجه نوآرایی ترکیبات حد واسط آمادوری تولید می شوند. در مراحل نهایی گلایکه شدن محصولات آمادوری به شکل آهسته و برگشت ناپذیر طی یک سلسله واکنش های پیچیده محصولات نهایی گلایکه شدن یا AGE را ایجاد می کنند، (4،5،6). محصولات نهایی گلایکه شدن شامل ترکیبات متنوعی می باشند با وجود این دارای ویژگی های مشترکی نیز می باشند. این ترکیبات برای بدن سمی بوده و به پروتئولیز مقاوم و دارای عمر طولانی هستند، (6،7). هم چنین این محصولات دارای خاصیت فلورسانس بوده که از این ویژگی برای شناسایی آن ها استفاده می شود، (6،7،8). ساختار دوم پروتئین ها در اثر گلایکه شدن به شدت تغییر می کند میزان این تغییرات متناسب با میزان گلایکه شدن پروتئین ها می باشد. در بیشتر پروتئین ها پس از گلایکه شدن میزان مارپیچ آلفا کاهش ومیزان صفحات بتا در پروتئین افزایش می یابد. با توجه به هیدروفوب بودن صفحات بتا لذا محصولات نهایی گلایکه شدن تمایل به کنار هم قرار گرفتن و ایجاد ساختار های آمیلوئیدی دارند که در آلزایمر هم دیده می شود، (9،10،11). به خاطر واکنش قند با گروه آمین، بنابراین گلایکه شدن با کاهش آمین آزاد در پروتئین همراه است. آلبومین سرم انسانی از جمله پروتئین هایی است که در معرض گلایکه شدن قرار دارد. گلوکز به طور عمده به گروه آمین لیزین های 199،281،439 و 525 در آلبومین سرم انسانی متصل می شود، (12). پاپاورین یکی از آلکالوئیدهای تریاک است که از آن در درمان گرفتگی های رگی به ویژه

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

رگ های قلب و مغز هم چنین در درمان ناتوانی جنسی استفاده می شود. علاوه بر این پاپاورین سبب مهار آنزیم فسفو دی استراز و کاهش فعالیت پمپ سدیم-پتاسیم می شود، (13). در این مطالعه ما به دنبال یافتن شواهدی مبنی بر نقش مثبت پاپاورین بر افزایش گلایکه شدن آلبومین سرم بودیم. در زمینه مطالعه عوامل افزایش دهنده گلایکه شدن مطالعات محدودی صورت گرفته و عوامل کمی مثل فسفات و گرما در این زمینه شناخته شده که با باز کردن ساختار پروتئین و افزایش تعداد لیزین های در تماس با قند سبب افزایش واکنش گلایکه شدن می شوند. (14،15)

مواد و روش ها

آلبومین سرم انسانی و سدیم بیسینکونیک اسید از شرکت سیگما خریداری شد. فیلتر (0/2 میکرومتر)، کیسه دیالیز (10000MW)، تری نیترو بنزن سولفونیک اسید (TNBS)، گلوکز، بافر فسفات، سدیم آزید و پاپاورین از شرکت مرک خریداری شد. همه محلول ها با آب دیونیزه تهیه شدند. برای آماده سازی نمونه ها آلبومین سرم انسانی 10 میلی گرم در یک میلی لیتر (کل مقدار آلبومین بدن 30 گرم در 5 لیتر خون می باشد با توجه به قیمت بالای آلبومین از حداقل مقدار استفاده شده است) در بافر فسفات 50 میلی مولار (شامل آزید سدیم 1 میلی مولار برای جلوگیری از رشد قارچ) و در حضور گلوکز 40 میلی مولار (زمان گلایکه شدن دارای ارتباط مستقیمی با غلظت قند می باشد برای داشتن زمان کوتاه تر از این غلظت استفاده شده در یک فرد دیابتی این رخداد با توجه به غلظت قند خونش در زمان بیشتری اتفاق می افتد) و غلظت های(25,100,250,500µM) پاپاورین برای 42 روز (حداقل زمان لازم برای رخداد گلایکه شدن) در ویال و در دمای 37°C نگهداری شدند. هم چنین همان مقدار آلبومین سرم انسانی بدون هیچ افزودنی به عنوان کنترول و در نمونه دیگری همراه با گلوکز 40 میلی مولار به عنوان نمونه گلایکه تحت همان شرایط نگه داری شد. پس از 42 روز نمونه ها در بافر فسفات سرد دیالیز و در دمای -20°C نگهداری شدند. سپس نمونه ها با کمک تست بیسینکونیک اسید تعیین غلظت شدند (این روش بر پایه توانایی این ماده در تشکیل کمپلکس با پیوند پپتیدی است که یک محصول بنفش رنگ را تولید می کند که در 562 نانومتر حداکثر جذب را دارد. براي غلظت هاي مشخصي پروتئين جذب در حضور اين ماده را اندازه مي گيرند و جذب نمونه مجهول در حضور اين ماده را هم اندازه مي گيرند و با تناسب غلظت مجهول را حساب مي كنند براى آگاهى بيشتر به (16) رجوع شود). با توجه به کاهش مارپیچ آلفا و افزایش صفحات بتا به

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

دنبال گلایکه شدن از دو رنگ نمایی دورانی(CD) برای اندزه گیری تغییرات ساختار دوم آلبومین سرم (0/2میلی گرم در یک میلی لیتر) با استفاده از دستگاه Aviv-215 و در طول موج 190-260 نانومتری استفاده شد. سپس مقادیر ساختار دوم نمونه ها با نرم افزار cdnn محاسبه گردید، (16). با توجه به ایجاد خاصیت فلورسانس در نتیجه تشکیل محصولات نهایی گلایکه شدن ایجاد فلورسانس در همه نمونه ها (1میلی گرم در یک میلی لیتر) با دستگاه فلورسانس Cary Eclipse در طول موج تحریکی-نشری (380/390-540) نانومتر اندازه گیری شد، (16). گلایکه شدن کاهش گروه های امین مربوط به لیزین آزاد را به همراه دارد. برای تعیین گروه های آمین مربوط به ریشه های لیزین بی کربنات هیدروژن سدیم و TNBS ۰/1 درصد (وزنی حجمی) و 10 درصد سدیم دودوسیل سولفات و اسید کلریدریک 1 نرمال به نمونه های (0/1میلی گرم در یک میلی لیتر) اضافه شد و بعد از یک ساعت جذب نمونه ها در 335 نانومتری که نتیجه واکنش TNBS با گروه آمین آزاد است با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد، (16). با توجه به جذب نمونه کنترل که تمام آمین های آزاد مربوط به لیزین در آن با TNBS واکنش می دهد و با توجه به این که آلبومین سرم دارای 58 گروه آمین مربوط به لیزین است و بر اساس جذب دیگر نمونه ها با یک تناسب میزان گروه های آمین آزاد در نمونه های دیگر محاسبه شده است. هم چنین با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر اثر غلظت های (25,100,250,500µM) به تنهایی بر آلبومین سرم (1 میلی گرم در یک میلی لیتر) در بافر فسفات 50 میلی مولار در طول موج 200 تا 500 نانومتری مطالعه شد. هم چنین اثر پاپاورین بر روی آلبومین با دو رنگ نمایی دورانی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج موجود در این مقاله با برنامه (Excel) برای تحلیل بیشتر مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته های پژوهش

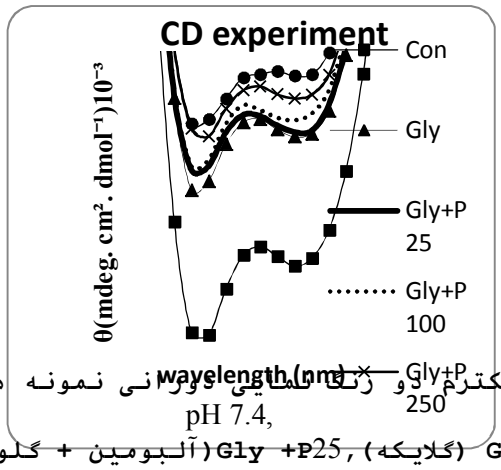
بررسی اسپکترم دو رنگ نمایی دورانی شکل 1 حضور دو کمینه منفی در 208 و 221 نانومتری را در نمونه کنترل نشان می دهد که نشان دهنده مارپیچ آلفا است برای نمونه گلایکه این کمینه های منفی کاهش نشان می دهد که نشان دهنده کاهش مارپیچ آلفا و افزایش صفحات بتا می باشد. در نمونه هایی که علاوه بر گلوکز، پاپاورین نیز حضور دارد شدت این کمینه ها منفی بیشتر کاهش می یابد. در نتیجه میزان مارپیچ آلفا بیشتر کاهش می یابد. جدول شماره 1 میزان مارپیچ آلفا و صفحات بتا نمونه های مختلف به دست آمده از دستگاه دو رنگ نمایی دورانی را نشان می دهد. همان طور که در

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

جدول 1 دیده می شود مارپیچ آلفا برای نمونه گلایکه به اندازه 5/7 درصد نسبت به کنترل کاهش نشان می دهد. در عوض در نمونه گلایکه صفحات بتا 3/1 درصد نسبت به کنترل افزایش می یابد. در نمونه هایی که پاپاورین حضور دارد این تغییرات بیشتر است.

جدول شماره 1. میزان آلفا هلیکس و صفحات بتا نمونه ها (به شکل 1رجوع کنید).

Samples	αHelix%	β sheet%
Con	43.6	11.7
Gly	37.9	14.8
Gly+P25	36.4	15.7
Gly+P100	36.2	15.9
Gly+P250	35.4	16.2
Gly+P500	35.1	16.6

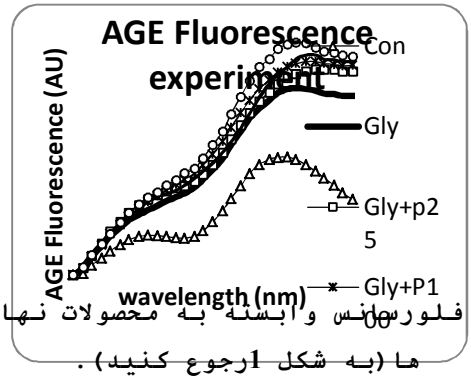


شکل شماره 1. اسپکترم دو رنگ نمایی دورانی نمونه ها در بافر فسفات50 mM pH 7.4,
(کنترل)Con, (گلایکه) Gly +P25,(آلبومین + گلوکز+ پاپاورین(25 µM
Gly100 **P+ (آلبومین + گلوکز + پاپاورین** (100 µM) , 250 **Gly +P(آلبومین+ گلوکز+پاپاورین**(250µM),500**Gly+P(آلبومین + گلوکز+ پاپاورین** (500µM

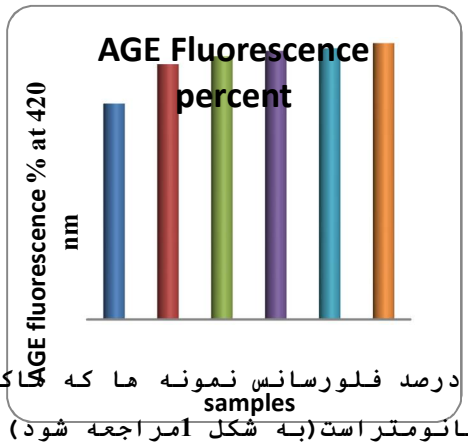
شکل شماره 2 میزان تولید فلورسانس وابسته به محصولات نهایی گلایکه شدن را نشان می دهد. گلایکه شدن شدت فلورسانس وابسته به محصولات نهایی گلایکه شدن را زیاد می کند در نمونه هایی که علاوه بر گلوکز، پاپاورین هم حضور دارد شدت فلورسانس نسبت

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

به نمونه گلایکه بیشتر افزایش نشان می دهد. همان طور که در شکل شماره 3 دیده می شود نمونه گلایکه 14/2 درصد نسبت به کنترل افزایش فلورسانس دارد در نمونه هایی که پاپاورین حضور دارد فلورسانس بیشتر افزایش می یابد.



شکل شماره 2. میزان فلورسانس وابسته به محصولات نهایی گلایکه شدن نمونه ها (به شکل 1رجوع کنید).

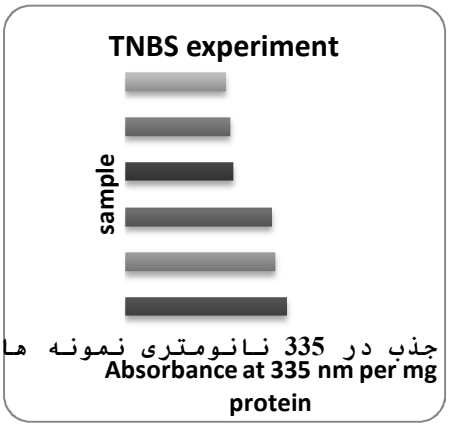


شکل شماره 3 . درصد فلورسانس نمونه ها که گلاکزیمم آن در 420 نانومتراست(به شکل 1مراجعه شود)

شکل شماره 4 جذب نمونه ها در 335 نانومتری در حضور TNBS را نشان می دهد همان طور که دیده می شود نمونه کنترل بیشترین جذب را دارد چون تمام گروه های آمین مربوط به لیزین در آن آزاد می باشد لذا TNBS با همه آن ها واکنش داده است. با واکنش قند با گروه های آمین مربوط به لیزین TNBS دیگر نمی تواند با گروه آمین آزاد واکنش دهد لذا جذب در 335 نانومتری نمونه گلایکه نسبت به کنترل کاهش دارد میزان جذب نمونه های همراه با پاپاورین نسبت به نمونه گلایکه کاهش بیشتر دارد. جدول 2 هم

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

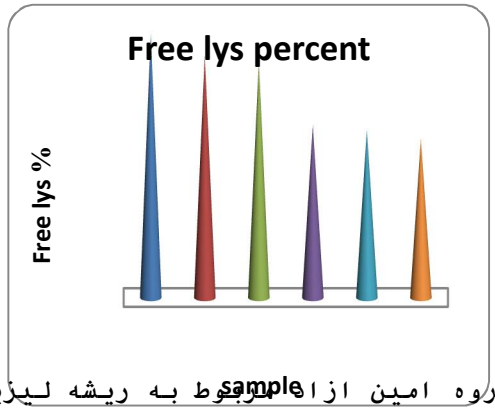
میزان آمین آزاد مربوط به لیزین نمونه ها را نشان می دهد. همان طور که در شکل شماره 5 دیده می شود تعداد گروه آمین مربوط به لیزین در نمونه گلایکه 8 درصد نسبت به کنترل کاهش نشان می دهد. در نمونه های همراه با پاپاورین این کاهش بیشتر است.



شکل شماره 4. میزان جذب در 335 نانومتری نمونه ها (به شکل 1رجوع کنید).

جدول شماره 2 . تعداد گروه آمین آزاد مربوط به ریشه لیزین(به شکل 1رجوع کنید).

samples	Number free lys
Con	58
Gly	53
Gly+P25µM	52
Gly+P100µM	38
Gly+P250µM	37
Gly+P500µM	35

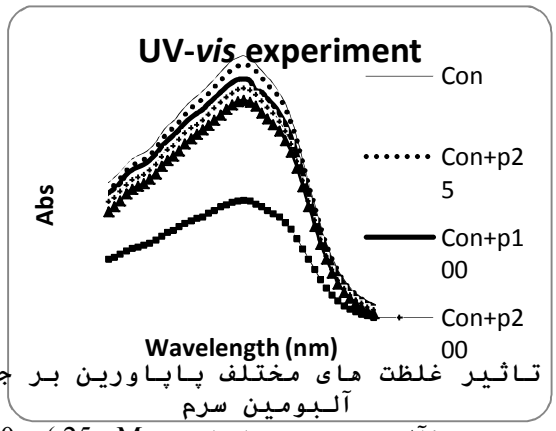


شکل شماره 5. درصد گروه امین ازاد مربوط به ریشه لیزین نمونه ها(به شکل 1رجوع کنید)

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

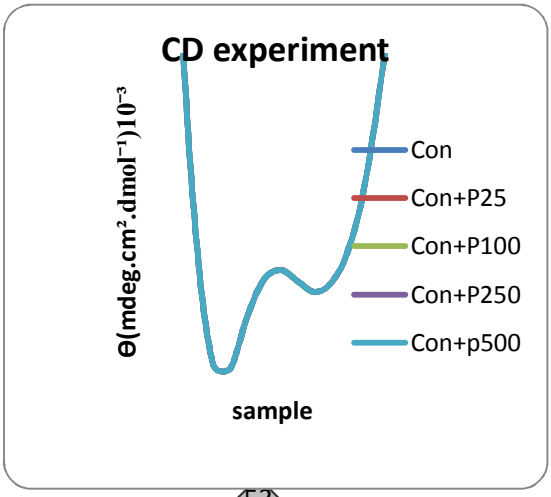
شکل شماره 6 اثر غلظت های مختلف پاپاورین به تنهایی بر آلبومین سرم انسانی را نشان می دهد. این شکل نشان می دهد که پاپاورین جذب در 280 نانومتری آلبومین را با افزایش غلظت خود کم کرده است. جذب در این طول موج نتیجه حضور اسید آمینه اروماتیک به ویژه تریپتوفان می باشد و تغییر در جذب 280 نانومتر نشان دهنده تغییر در موقعیت این اسید آمینه می باشد(در بررسی تغییر جذب آلبومین در حضور پاپاورین برای حذف جذب پاپاورین دستگاه را با ان بلانک کردیم). شکل شماره 7 طیف دو رنگ نمایی آلبومین در حضور پاپاورین را نشان می دهد. این شکل نشان می دهد غلظت های مختلف پاپاورین در میزان آلفا هلیکس و صفحات بتا(که از اجزا ساختار دوم اند) نسبت به کنترل تغییری ایجاد نکرده است.

ذکر این نکته لازم است که آلبومین پروتئینی محلول، مونومریک و دارای سه دومین و 585 اسید آمینه می باشد. برای درک بیشتر شکل شماره 8 ساختار آلبومین(12) و شکل شماره 9 ساختار پاپاورین را نشان می دهد.(17)



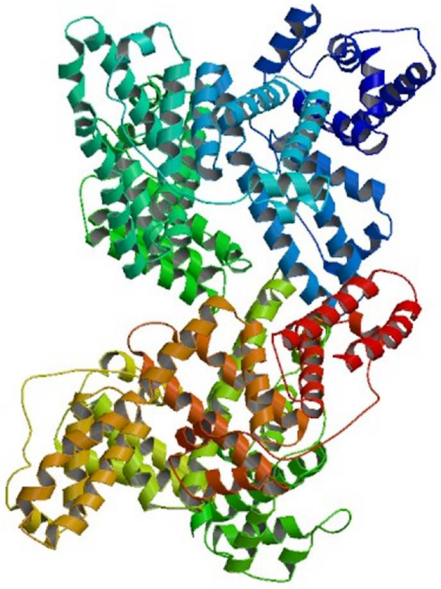
شکل شماره 6 . تاثیر غلظت های مختلف پاپاورین بر جذب 280 نانومتری آلبومین سرم

Con (کنترل) , P+ Con25 (آلبومین + پاپاورین 25 µM) , P+ Con100 (آلبومین + پاپاورین 100 µM) , P+ Con200 (آلبومین + پاپاورین 200 µM) , P250 + Con+ (آلبومین + پاپاورین 250µM) , P+Con500 (آلبومین+ پاپاورین 500µM)

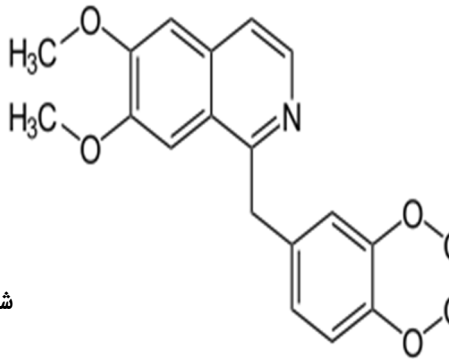


An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

شکل شماره 7 . طیف دو رنگ نمایی آلبومین در حضور غلظت های مختلف پاپاورین (به شکل 6رجوع کنید)



شکل شماره 8 . ساختار البومین سرم انساني(12)



شکل شماره 9 . ساختار شیمیایي ماده پاپاورین(17)

بحث و نتیجه گیری

مهم ترین هدف این مقاله به دست آوردن شواهدی برای اثبات اثر آگونیستیک پاپاورین بر فرایند گلایکه شدن آلبومین سرم انسانی بود که این شواهد با مطالعات دو رنگ نمایی دورانی، فلورسانس وابسته به تولید محصولات نهایی گلایکه شدن، بررسی میزان آمین آزد مربوط به لیزین و طیف سنجی فرا بنفش حاصل شد. گلایکه شدن با کاهش میزان مارپیچ آلفا و افزایش صفحات بتا همراه است، (9،10،11) . همان طور که

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

در شکل شماره 1 دیده می شود کمینه های 208 و

221 نانومتری که نشانگر مارپیچ آلفا است در نمونه گلایکه نسبت به نمونه کنترل کاهش نشان می دهد برای دیگر نمونه ها که پاپاورین حضور دارد میزان کاهش نسبت به نمونه گلایکه بیشتر است. محاسبه میزان مارپیچ آلفا و صفحات بتا با نرم افزار cdnn (از روی گراف های دو رنگ نمایی دورانی) و جدول شماره 1 هم این مطلب را تائید می کند که با افزایش غلظت پاپاورین گلایکه شدن بیشتر اتفاق می افتد به طوری که در نمونه گلایکه فقط 3/1 درصد نسبت به کنترل صفحات بتا افزایش نشان می دهد اما در نمونه دارای پاپاورین 500 ماکرومولار این میزان به 4/9 درصد نسبت به کنترل می رسد هم چنین در گلایکه مارپیچ آلفا 5/7 درصد نسبت به کنترول کاهش دارد اما در نمونه دارای پاپاورین 500 ماکرومولار این کاهش به 8/5 درصد نسبت به کنترل می رسد. به دنبال گلایکه شدن تولید محصولات نهایی گلایکه شدن اتفاق می افتد که دارای خاصیت فلورسانس می باشد، (6،7،8). همانطور که در شکل شماره 2 دیده می شود میزان فلورسانس برای نمونه گلایکه نسبت به نمونه کنترل افزایش دارد و برای نمونه هایی که پاپاورین حضور دارد با افزایش غلظت پاپاورین میزان فلورسانس بیشتر نسبت به نمونه گلایکه افزایش نشان می دهد به طوری که نمونه دارای پاپاورین 500 ماکرومولار دارای بیشترین فلورسانس می باشد که ماکزیمم آن در طول موج 420 نانومتری می باشد(شکل شماره 3 را ببینید). به خاطر واکنش قند با گروه های آمین میزان آمین آزاد در پروتئین کاهش می یابد، (12). باکاهش آمین آزاد TNBS نمی تواند با گروه آمین واکنش دهد لذا جذب در 335 نانومتری کاهش می یابد. همان طور که در شکل شماره 4 و جدول شماره 2 و شکل شماره 5 دیده می شود در نمونه گلایکه نسبت به نمونه کنترل میزان آمین آزاد کاهش دارد. برای نمونه هایی که پاپاورین حضور دارد با افزایش غلظت پاپاورین میزان آمین آزاد نسبت به نمونه گلایکه بیشتر کاهش می یابد برای نمونه گلایکه میزان آمین آزاد 8 درصد نسبت به کنترل کاهش دارد اما در نمونه دارای پاپاورین500 ماکرومولار میزان آمین آزاد 39/7 درصد نسبت به کنترل کاهش نشان می دهد. جذب در 280 نانومتر براي پروتئین ها در ارتباط با حضور اسید آمینه های تیروزین، فنیل آلانین و تریپتوفان می باشد. هر گونه تغییر در وضعیت این ریشه ها با تغییر در جذب 280 نانومتری همراه است. شکل شماره 6 نشان می دهد در حضور پاپاورین وضعیت

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

این ریشه ها در آلبومین تحت تاثیر قرار گرفته به عبارت دیگر پاپاورین به نحوي بر ساختار آلبومین اثر گذاشته است از طرفي شکل شماره 7 نشان مي دهد پاپاورین بر میزان آلفا هلیکس و صفحات بتا که از اجزا ساختمان دوم پروتئین اند اثري نداشته است. بر اساس شکل شماره 7 مي توان گفت پاپاورین ساختار دوم پروتئین(شامل آلفا هلیکس و صفحات بتا) را در آلبومین تغییر نداده است. اما با توجه به شکل شماره 6 نیز مي توان گفت تغییر در جذب 280 نانومتري که با تغییر در وضع ریشه هاي اروماتیك صورت گرفته نتیجه تغییراتی است که پاپاورین بر ساختار آلبومین وارد کرده است. به عبارت دیگر پاپاورین در ساختار سوم پروتئین تغییر ایجاد کرده و باعث شده ساختار سوم پروتئین باز شود. در این که پاپاورین چگونه این تغییر را سبب شده مي توان گفت همان طوري که مي دانیم در شکل گیري ساختار سوم پروتئین بر همکنش هاي ضعیف داري اهمیت مي باشند و از مهم ترین این بر همکنش ها پیوند هیدروژني و بر همکنش هیدروفوب مي باشد. همان طوري که در شکل شماره 9 دیده مي شود پاپاورین داراي گروه هاي متیل و حلقه هاي بنزني مي باشد که ماهیت هیدروفوبیك دارند و از این طریق بر همکنش هاي هیدروفوبیك در آلبومین را تحت تاثیر قرار مي دهد، (17). از طرفي در ساختار پاپاورین نیتروژن و اکسیژن وجود دارد که قابلیت تشکیل پیوند هیدروژني با آلبومین را دارند، (17). در نتیجه باز شدن ساختار سوم اتفاق افتاده و لیزین هاي بیشتري در تماس با قند قرار گرفته و گلایکه شدن بیشتر اتفاق افتاده و در نتیجه گلایکه شدن ساختار دوم پروتئین به صورت کاهش آلفا هلیکس و افزایش صفحات بتا تغییر یافته است که در شکل شماره 1 دیده مي شود. (ذکر این نکته لازم است که جذب پاپاورین با بلاك صفر گردیده است).

References

1-Rohovec J, Maschmeyer T, Peter A. The structure of the sugar residue in glycated human serum albumin and its molecular recognation. J Chemistry 2003;9: 2193-99.

2-Bijukumer G, Karmakar N, Anand S, Misra A. Auto fluorescence characterization of advanced glycation end product of hemoglobin. J Spectrochemica Acta 2005; 61:163-70.

3-Schalkwijk C, Stehouwer C, Hinsbergh V. Fructose mediated non enzymatic glycation sweet coupling or bad modification. J Diabets 2004;20:369-82.

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

4-Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. A review advanced glycation end-products. J Diabetologia 2002;44:129-46.
5-Vigneshwaran N, Bijukumar G, Karmakar N, Anand S, Misra A. Fluorescence and biochemical characterization of glycated hemoglobin. J Macromol Symp 2003;193: 119-27.
6-Kikuchi S, Shimpo K, Takeuchi M, Yamagishi S, Makita N. Glycation sweet temper for neuronal death. J Brain Research Review 2003;41:306-23.
7-Schmitt A, Gasic Milenkovic J, Schmitt J. Characterization of advanced glycation end products mass changes in Correlation to side chain modification. J Analytical Biochemistry 2005;10:1016-21.
8-Yeargans G,Seidler N. Carnosine promotes the heat denaturation of glycated protein. J Biochem 2003;300:75-8.
9- Seidler N, Seible I.Glycation of aspartat aminotransferase and conformational flexibility .J Biochemical 2000;277:47-50.
10- Seidler N, Kowalewski C. Methyl glyoxal induce glycation affects protein topography. J Biochemistry 2003;410: 149-54.
11-Stitt A, Acad Y, Ann N. The millard reaction in eye disease. J Diabets 2005; 1043:585-97.
12-Iberg N, Fluckiger R. Nonenzymatic glycosylation of albumin in vivo. J Biological Chemistry 1996;29:13542-45.
13-Asadi Karam G, Rashidinejad HR, Aghaee MM, Ahmadi. Opium can differently alter blood glucose, Sodium and potassium in male and female rat. J Pak Pharm, 2008;21:180-4.
14-Gil H, Salcedo D, Romero R.Effect of phosphate buffer on the kinetics of glycation protein. J Physical organic chemistry 2005;10:183-6.
15-Norbert W,George S. Effect of thermal denaturation on protein glycation. J life of Science 2002;70:1789-1799.
16-Sattarahmady N, Khodagholi F, Moosavi Movahedi AA, Heli H, Hakimelahi GH. Alginate as an anti glycating agent for HAS. J Biological Macromolecules 2007; 10:1017-24.
17-Whiteled CG, Daya S. Protein-ligand interaction 6 nicotinic acetylcholine receptor agonist activity of Isoquinoline alkaloids. J Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter 2001;23:2801-6.

Agonist Effect of Papaverine on Human Serum Albumin Glycation

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

Ahmadzadeh A[1], Feizie M[2], Habibi Rezaie M[3]*

(Received: 25 Aug. 2010 Accepted: 14 Feb. 2011)

Abstract

Introduction: Glycation is a non enzymatic reaction initiated by the primary addition of sugar to the amino groups of proteins.In the early stage of glycation, the synthesis of intermediates leading to formation of Amadori compounds occurs. In the late stage, advanced glycation end product (AGE)is irrevesibly formed after a complex cascade of reactions. Glycation also affect diabetes-related complications, physiolo-gical aging and neurodegenerative diseases such as alzeimers.

Materials & Methods: In this study, HSA incubation with glucose and different concentration of papaverine for 42 days at 37˚C. as well as HSA incubation alone (control sample), with glucose(glycated sample) were treated respectively under the same conditions. After 42 days, the samples by use of circular dichroism, fluorescence and UV spectroscopy were investigated.

Findings: HSA glycation increases alon with rising of papaverine concentration. Samples containing papaverine showed more changes in secondary structure , free amino groups and AGE fluorescence in relation to glycated and control samples.

Discussion & Conclusion: In glycated α helix and β sheet a 5.7% decrease and 3.1% increase were seen in comparison to the control respectively. Glycated showed 14.2% fluorescence more than the control. Free lys number in glycated showed 8% less in relation to the control. All this cases showed more changes in samples which contained papaverine. HSA absorb in presence of papaverine showed that papa-verine cause more lys contact with sugar and an increase in glycation.

Keywords: glycation, human serum albumi-n, papaverine

1. Dept of Cell & Molecule, Faculty of Biology, University Tehran, Tehran, Iran
2. Dept of Environment, Faculty of Technique & Engineering, University Chamran, Tehran, Iran
3. Dept of cell & molecular, Faculty of biology, university of Tehran
**(corresponding author)*

An evaluation version of novaPDF was used to create this PDF file.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.