**مقاله پژوهشی**

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۸، شماره٦، مهر ۱۳۹۲(شماره پی در پی۷۸)

# اثر محافظتی آسپرین بر تخریب ناشی از گلایکیشن در هموگلوبین انسانی در شرایط دیابتی

**عادله دیوسالار[۱*]، جواد بهروزی[۱]، علی اکبر صبوری[۲]، نجمه پورساسان[۲]**

[۱] گروه سلولی و مولکولی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران، [۲]مرکز تحقیقات بیوشیمی‌بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۲۱

## چکیده

**زمینه و هدف**: دیابت بیماری شایعی است که میزان قند خون و گلایکه شدن پروتئین‌ها در آن افزایش می‌یابد. هدف این مطالعه بررسی اثر محافظتی آسپرین بر تخریب ناشی از گلایکه‌شدن در هموگلوبین انسانی در شرایط دیابتی بود.

**روش بررسی**: در این مطالعه تجربی، هموگلوبین استخراج شده از خون افراد سالم در حضور و عدم حضور گلوکز و آسپرین به مدت ۵ هفته انکوبه شد. میزان گلایکه‌شدن هموگلوبین در شرایط مختلف به وسیله بررسی میزان تولید محصولات ناشی از تخریب گروه هم، میزان جا به جایی باند سورت و تعیین وضعیت فیبریلار مشخص شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها**: آسپرین میزان گلایکه‌شدن هموگلوبین را به میزان ۵۰ درصد کاهش داد. همچنین بررسی‌های انجام شده با استفاده از جا به جایی باند سورت و وضعیت فیبریلار نشانگر کاهش چشمگیر میزان گلایکه‌شدن پروتئین در حضور آسپرین بود.

**نتیجه‌گیری**: آسپرین احتمالاً از طریق استیلاسیون گروه‌های آمین موجود در هموگلوبین مانع از گلایکه‌شدن آن در حضور گلوکز و در نتیجه کاهش عوارض جانبی دیابت بر پروتئین‌ها می‌شود.

**واژه‌های کلیدی**: دیابت، گلایکه‌شدن، هموگلوبین، آسپرین

[*] **نویسنده مسئول**: **عادله دیوسالار**، تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه سلولی و مولکولی
**Email:**divsalar@tmu.ac.ir

Archive of SID



www.SID.ir

**مقدمه**

دیابت بیماری شایعی است که مشخصه آن بالا بودن قند خون[1] می‌باشد. مطالعات مختلف بالا بودن قند خون را به عنوان اصلی‌ترین عامل در شروع و پیشروی عوارض دیابت معرفی کرده‌اند که منجر به گلایکه‌شدن پروتئین‌ها می‌شود(۱). گلایکه‌شدن، واکنش غیراختصاصی بین قندها و پروتئین‌ها است که بدون نیاز به آنزیم پیش می‌رود، این واکنش در هر جایی که پروتئین‌ها در تماس با قندها باشند، اتفاق خواهد افتاد(۲). گلایکه‌شدن پروتئین‌ها به وسیله واکنش نوکلئوفیلی بین گروه آمین آزاد از یک پروتئین و گروه کربونیل از یک قند احیاءکننده اتفاق می‌افتد و نتیجه این واکنش تولید باز شیف[2] می‌باشد. این واکنش در طی چندین ساعت اتفاق می‌افتد و به محض تشکیل، باز شیف ناپایدار به کتوآمین یا همان محصول آمادوری[3] که پایداری بیشتری دارد تبدیل می‌شود. تشکیل محصول آمادوری در طی چندین روز و در یک مسیر برگشت ناپذیر صورت می‌گیرد(۳ و۲). گلایکه شدن پروتئین‌ها دارای اثرات قابل توجهی در ساختار و عملکرد آنها می‌باشد. پروتئین‌های ساختاری مثل کلاژن و پروتئین‌های پلاسمایی مثل آلبومین و همچنین پروتئین‌های داخل سلولی مانند هموگلوبین می‌توانند به عنوان اهداف گلایکه‌شدن باشند(۴).

پروتئین‌های گلایکه‌شده متحمل واکنش‌های دیگری مانند بازآرایی، آبدهی، چگالش، و اکسیداسیون می‌شوند تا در نهایت به محصولات پیچیده‌تری که دارای اتصالات متقاطع و نشر فلورسانس هستند، تبدیل می‌شوند. این مشتقات محصولات نهایی گلایکه‌شدن[4] نامیده می‌شوند(۶ و۵). نقشAGEها در بسیاری از بیماری‌ها به اثبات رسیده است. در رتینوپاتی AGEها در دیواره عروق‌خونی شبکیه شناسایی شده‌اند واعتقاد براین است که درانسداد عروقی و افزایش نفوذپذیری سلول‌های اندوتلیال شبکیه نقش دارند(۷).

در کاتاراکت گلایکه‌شدن پروتئین‌های کریستالین عدسی چشم باعث تغییر کنفورماسیون و همچنین در معرض قرارگرفتن گروه‌های تیول برای اکسیدشدن و تشکیل اتصالات متقاطع می‌شود. همچنین از آنجا که کریستالین‌های عدسی فاقد تجزیه و نوسازی هستند، به راحتی AGEها را جمع می‌کنند که این امرموجب تجمع بقیهٔ کریستالین‌های عدسی به صورت مواد با وزن مولکولی بالامی‌شوند که در نهایت منجر به کدرشدن عدسی چشم می‌گردند(۸).

در تصلب شرایین، گلایکه‌شدن و تشکیل AGE موجب افزایش اکسیدشدن LDL می‌شود و در نتیجه باعث افزایش LDL آتروژنی در دیابت می‌شود. در مقابل، گلایکه شدن HDL باعث افزایش تجزیه آن شده و کارایی آن را در انتقال معکوس کلسترول پایین می‌آورد. همچنین در اثر گلایکه شدن HDL فعالیت آنزیم پاراکسوناز کاهش می‌یابد. این آنزیم متصل به

1-Hyperglycemia
2-Schiff's Base
3-Amadori Product
4-Advanced Glycation End Products(AGEs)

Archive of SID



www.SID.ir

HDL می‌باشد که عملکرد آن جلوگیری از اکسیدشدن LDL و چسبندگی منوسیت‌ها به سلول‌های آندوتلیال آئورتی می‌باشد. دو مورد اخیر در فرآیند تشکیل پلاک آترواسکلروزی نقش کلیدی دارند(۹).

در نفروپاتی، جمع شدن AGEها برکلاژن در غشای پایه و توانایی آن‌ها در به دام انداختن پروتئین‌های پلاسما احتمالاً در ضخیم شدن غشای پایه، تغییر میزان فیلتراسیون ودر نهایت از بین رفتن عملکرد گلومرولی نقش دارد. میلین گلایکه‌شده نسبت به فاگوسیتوز به وسیله ماکروفاژها مستعد می‌باشد و ماکروفاژ را برای ترشح پروتئازها تحریک می‌کند، از آنجا که در افراد دیابتی میزان گلایکه شدن میلین افزایش می‌یابد عوامل ذکر شده می‌تواند به میلین‌زدایی عصبی و نوروپاتی منجر شود(۱۰).

آسپرین (استیل‌سالسیلیک‌اسید)، یک داروی ضدالتهاب‌غیراستروئیدی می‌باشد که از اواخر قرن نوزدهم به صورت عمومی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱۱). در حال حاضر این دارو بیشترین مصرف را در جهان به خود اختصاص داده است و مطالعات نشان داده‌است که مصرف منظم آن در افراد بالای ۵۰ سال باعث افزایش طول عمر می‌شود(۱۲). مطالعات in vitro مشخص کرده‌است که آسپرین از کدر شدن عدسی چشم و گلایکه‌شدن پروتئین‌های عدسی چشم به وسیله گلوکز و فروکتوز محافظت می‌کند(۱۳). هم‌چنین در مطالعات in vivo ثابت شده است که موش‌های دیابتی که با استیل‌سالسیلیک‌اسید(ASA) تغذیه شده‌اند در برابر کدر شدن عدسی چشم که به وسیله گلایکه‌شدن القاء می‌شود، مقاومت نشان می‌دهند(۱۴).

مطالعات نشان داده است که پروتئین هموگلوبین نیز تحت تأثیر گلایکه‌شدن قرار می‌گیرد و $HbA_{1c}$ پیش ماده تشکیل Hb-AGE در خون می‌باشد. $HbA_{1c}$ به عنوان یک شاخص مهم برای پایش گلیسمی می‌باشد، ولی هنوز نقش تشخیصی برای Hb-AGE به طور کامل مشخص نشده است(۱۵). بررسی‌های انجام شده بر روی هموگلوبین گلایکه نشان‌دهنده تغییرات ساختاری و عملکردی بر روی هموگلوبین است که احتمالاً این تغییرات مسبب عوارض پاتوفیزیولوژی دیابت می‌باشند(۱۶). گلایکه‌شدن باعث کاهش و از بین رفتن پیک جذبی سورت در هموگلوبین می‌شود(۱۷). $HbA_{1c}$ که عمده‌ترین هموگلوبین گلایکه شده در خون می‌باشد، نسبت به هموگلوبین غیرگلایکه فعالیت استرازی بیشتر و فعالیت پراکسیدازی کمتری را نشان می‌دهد(۱۹و۱۸). هم‌چنین $HbA_{1c}$ نسبت به هموگلوبین معمولی تمایل بالاتری نسبت به اکسیژن دارد(۲۰).

از آنجا که ورود گلوکز به گلبول قرمز نیاز به انسولین ندارد و هموگلوبین به طور مستقیم در تماس با قند خون است، گلایکه‌شدن این پروتئین دارای اهمیت زیادی می‌باشد. هم‌چنین به دلیل روشن نشدن مکانیسم اثر آسپرین در جلوگیری از گلایکه‌شدن پروتئین‌ها، بررسی اثر آن بر روی پروتئین‌های مختلف می‌تواند به روشن شدن این مسئله کمک کند. در مطالعه اخیر، تغییرات ناشی از گلایکیشنبه وسیله گلوگز در ساختار و کنفورماسیون هموگلوبین انسانی

Archive of SID


www.SID.ir

و هم‌چنین اثرات مهارکنندگی آسپرین بر کاهش میزان گلایکیشن هموگلوبین به کمک روش‌های مختلف طیف‌سنجی بررسی و مطالعه شده‌است. هدف این مطالعه بررسی اثر آسپرین بر تخریب ناشی از گلایکه‌شدن در هموگلوبین انسانی در شرایط دیابتی بود.

**روش بررسی**

در این مطالعه تجربی هموگلوبین از افراد سالم و غیرسیگاری طبق پروتوکل Austen Riggs استخراج گردید(۲۱)، که به طور خلاصه بدین صورت می‌باشد. 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 سری RX2 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 به وسیله 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 خواهد داشت. در نهایت برای خالص‌سازی بیشتر و حذف مواد اضافه، دیالیز در برابر بافر فسفات به مدت ۷۲ ساعت و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. هموگلوبین استخراج شده، با روش برادفورد که بر پایهٔ اتصال رنگ کوماسی برلیانت بلو G-250 به پروتئین می‌باشد(۲۲)، 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 میلی‌گرم در میلی‌لیتر از پروتئین آلبومین گاوی به عنوان پروتئین استاندارد، استفاده شد.

هموگلوبین با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در حضور وعدم حضور گلوکز (خریداری شده از شرکت مرک) و آسپرین (خریداری شده از شرکت سیگما) به ترتیب با غلظت‌های ۴۰ و ۲/۵ میلی‌مولار به مدت ۵ هفته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد(۲۳). در انتهای هر هفته (هفته ۰، ۱، ۲ و تا ۵) نمونه‌برداری انجام شده و نمونه‌ها در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا آنالیزهای مربوطه انجام گیرند.

به منظور مطالعه در میزان آزادسازی گروه‌های هم از پروتئین، مقدار جا به جایی و تغییرات در باند سورت نمونه‌های انکوبه‌شده با گلوکز در حضور و غیاب آسپرین در زمان‌های مختلف انکوباسیون، با اسپکتروسکوپی مرئی ماوراء بنفش (مدل شیمادزو) بررسی شد، برای این منظور میزان جذب در طول موج‌های ۴۴۰-۳۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد(۱۷).

میزان تخریب گروه هم موجود در هموگلوبین

Archive of SID



www.SID.ir

که به عنوان معیاری از گلایکه شدن می‌باشد با بررسی میزان تولید محصولات فلورسانس ناشی از تخریب به وسیله تکنیک فلوئورسانس (مدل cary) سنجیده شد. برای این کار تحریک در طول موج ۴۶۰ نانومتر انجام شد و میزان نشر فلورسانس در ۵۴۰ نانومتر قرائت شد(۲۴). هم‌چنین میزان تغییرات ساختاری ایجاد شده در هموگلوبین مورد بررسی قرار گرفت، که بدین منظور از ماده تیوفلاوین تی (خریداری شده از سیگما) استفاده شد. تیوفلاوین تی با اتصال به صفحات بتایی که در اثر گلایکه‌شدن تولید می‌شوند، باعث نشر فلورسانس در طول موج تحریکی و نشر ۴۵۰/۴۹۰ نانومتر می‌شود(۲۵).

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها**

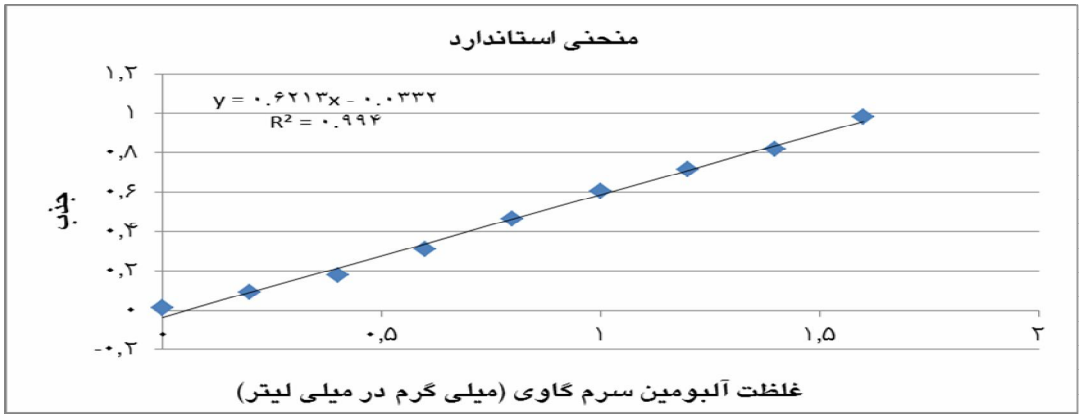
نمودار ۱ نتایج حاصل از تست استاندارد برادفورد را نشان می‌دهد. رابطهٔ خطی بین افزایش غلظت آلبومین سرم گاوی بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و میزان جذب نوری در این شکل نشان داده‌شده‌است. با استفاده از معادله خط y=۰/۶۲۱x-۰/۰۳۳۲، حاصل از این نمودار استاندارد و هم‌چنین جذب به دست آمده از نمونه هموگلوبین استخراجی، غلظت استوک هموگلوبین بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شده و از آن در ادامه آزمایش‌ها استفاده شد.

پس از ۵ هفته انکوباسیون هموگلوبین در شرایط مختلف نتایج زیر حاصل شد؛ پیک باند سورت هموگلوبین کنترل از ۴۱۲ نانومتر به ۴۱۱ نانومتر جا به جا شد. انکوبه کردن هموگلوبین در حضور قند و عدم حضور آسپرین منجر به جا به جایی پیک باند سورت پروتئین از ۴۱۲ نانومتر به ۴۰۶ نانومتر شده، ولی در حضور آسپرین این جا به جایی از ۴۱۲ نانومتر به ۴۰۸ نانومتر بود. هم‌چنین مطالعات طیف سنجی ناحیه فرابنفش ـ مرئی نشان داد که میزان جذب باند سورت پس از ۵ هفته انکوباسیون از ۰/۱۶ در عدم وجود آسپرین به ۰/۳۱۹ در حضور آسپرین رسید(نمودار۲).

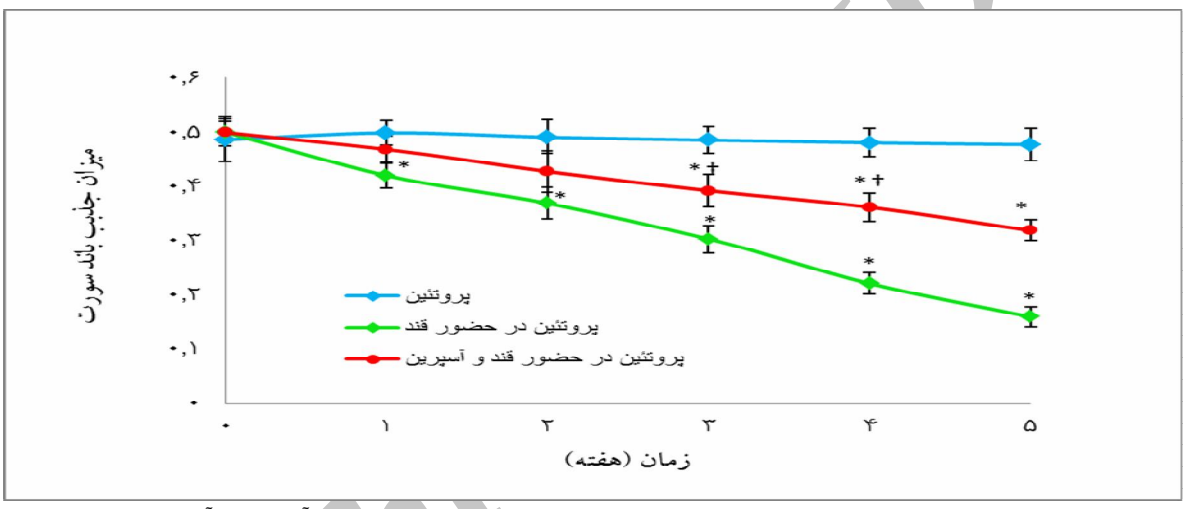
بررسی‌های انجام شده با فلوئورسانس نشان داد که میزان تولید محصولات ناشی از تخریب گروه هم پس از ۵ هفته انکوباسیون در حضور آسپرین به مقدار چشمگیری کاهش می‌یابد، به طوری که در انتهای هفته پنجم میزان گلایکه‌شدن در حضور آسپرین به کمتر از نصف آن در عدم حضور آسپرین کاهش یافت(نمودار۳). هم‌چنین نتایج مطالعات فلوئورسانس تیوفلاوین تی که مربوط به تشکیل صفحات بتا به عنوان مشخصه گلایکه‌شدن می‌باشد، نشان داد که میزان نشر فلوئورسانس این مارکر از ۱۳۶۳ واحد اختیار( arbitrary unit) در عدم حضور آسپرین به ۸۹۴ واحد اختیار در حضور آسپرین کاهش یافت(نمودار۴).

Archive of SID


www.SID.ir

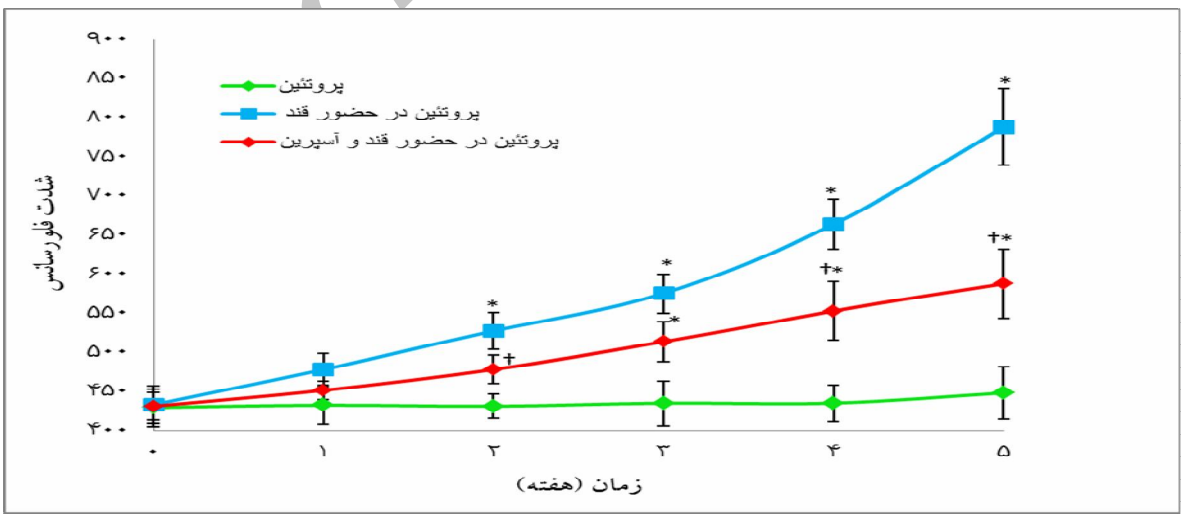



**نمودار ۱: منحنی استاندارد برادفورد حاصل از غلظت‌های معین آلبومین سرم گاوی جهت تعیین غلظت هموگلوبین**




**نمودار ۲: مقایسه میزان کاهش جذب در ناحیه باند سورت در اثر گلایکه‌شدن و اثر آسپرین بر آن**

*** تفاوت معنی‌دار با گروه پروتئین ($p<0/05$). † تفاوت معنی‌دار با گروه پروتئین در حضور قند ($p<0/05$).**

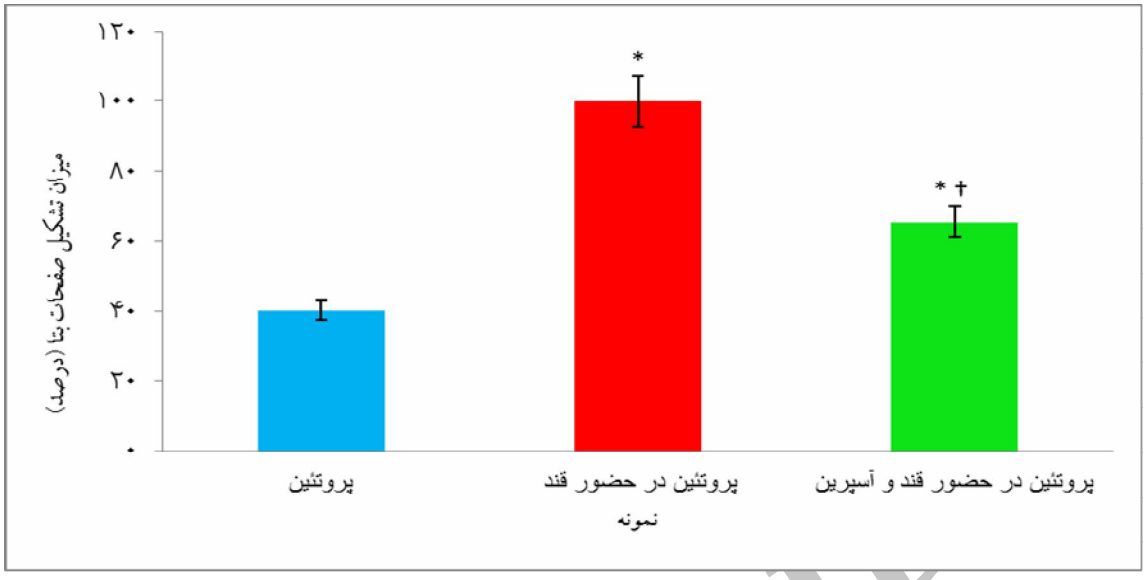



**نمودار۳: مقایسه میزان تولید محصولات ناشی از تخریب گروه هم در شرایط مختلف انکوباسیون**

*** تفاوت معنی‌دار با گروه پروتئین($p<0/05$). † تفاوت معنی‌دار با گروه پروتئین در حضور قند($p<0/05$).**



www.SID.ir




**نمودار۴: میزان تشکیل صفحات بتا در شرایط انکوباسیون مختلف**

* تفاوت معنی‌دار با گروه پروتئین ($p<0/05$). † تفاوت معنی‌دار با گروه پروتئین در حضور قند ($p<0/05$).

## بحث

ثابت شده است که گلایکه‌شدن پروتئین‌ها مسبب بخش اعظمی از عوارض دیابت می‌باشد(۴)، هدف این مطالعه بررسی تأثیر آسپرین در جلوگیری از گلایکه‌شدن هموگلوبین بود.

در این مطالعه آسپرین به طور معنی‌داری میزان گلایکه‌شدن هموگلوبین را کاهش داد. این کاهش در میزان گلایکه‌شدن در طی هفته‌های پایانی نسبت به هفته‌های اول چشم‌گیرتر می‌باشد. هموگلوبین در ۴۱۲ نانومتر دارای پیک جذبی می‌باشد که به باند سورت معروف است. کوسیمانیو و همکاران[1] (۲۰۰۳)نشان دادند که گلایکه‌شدن هموگلوبین باعث کاهش میزان جذب نور در این ناحیه و همچنین جا به جایی باند سورت به سمت طول موج‌های کوتاهتر می‌شود(۱۷). مطالعهٔ حاضر نشان داد که آسپرین نه تنها از کاهش ارتفاع باند سورت جلوگیری می‌کند بلکه از جا به جایی باند سورت به سمت طول موج کوتاهتر نیز جلوگیری می‌کند.

مطالعات انجام شده به وسیله بختی و همکاران(۲۰۰۷) نشان داد که در اثر گلایکه‌شدن هموگلوبین محتوای صفحات بتا در این پروتئین افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر از محتوای صفحات بتا به عنوان معیاری از میزان گلایکه‌شدن استفاده شد و مشاهده شد که آسپرین از تشکیل صفحات بتا در اثر گلایکه شدن جلوگیری می‌کند. در مطالعه ریفکیند و همکاران[2](۱۹۹۸) نشان داده شد در اثر تخریب غیرآنزیمی گروه پروستتیک هم در هموگلوبین محصولاتی که دارای نشر فلورسانس هستند، تولید می‌شود. مطالعهٔ حاضر نشان داد که آسپرین از تولید این

1- Cussimanio at al
2- Rifkind et al



www.SID.ir
Archive of SID

محصولات و در نتیجه تخریب ناشی از گلایکه‌شدن هموگلوبین جلوگیری می‌کند.

در مطالعات قبلی اثر بازدارندگی آسپرین بر روی گلایکه شدن سایر پروتئین‌ها از جمله کلاژن و کریستالین نشان داده‌شده‌است(۲۶). نظر عمومی بر مکانیسم مهار، استیلاسیون گروه‌های آمین موجود در پروتئین به وسیله آسپرین می‌باشد(۲۷). از طرفی داروهای مسکن[1] مانند ایبوپروفن که بر خلاف آسپرین دارای گروه استیل برای اضافه کردن به پروتئین‌ها نیستند، نیز به عنوان مهارکننده های گلایکه شدن مطرح هستند(۱۴). این مشاهدات پیشنهاد کننده مکانیسم دیگری غیر از استیلاسیون برای مهار است. از آنجایی که میزان گلایکه شدن ارتباط مستقیمی با میزان استرس اکسیداتیو در محیط دارد و آسپرین نیز دارای عملکرد آنتی‌اکسیدانتی به عنوان جاروب کننده رادیکال‌های آزاد[2] است، یک مکانیسم احتمالی کاهش میزان استرس اکسیداتیو در محیط و کاهش میزان گلایکه‌شدن از این طریق می‌باشد. به هر حال برای مشخص شدن مکانیسم دقیق مهار گلایکه شدن به وسیله آسپرین نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد.

مطالعهٔ حاضر نشان داد که سرعت گلایکه‌شدن و تولید AGE ها در هفته‌های آخر نسبت به هفته‌های اول انکوباسیون بیشتر می‌باشد. این مشاهدات با این واقعیت که گلایکه‌شدن یک واکنش زمان بر است قابل توجیه است. هم‌چنین توضیح دیگری که می‌توان برای این پدیده عنوان کرد خاصیت خود تنظیمی‌مثبت واکنش گلایکه‌شدن است، به این مفهوم که محصولاتی که در اثر گلایکه‌شدن تولید می‌شوند باعث افزایش استرس اکسیداتیو شده و این نیز خود باعث افزایش میزان گلایکه شدن می‌شود، از این رو میزان گلایکه‌شدن به صورت تصاعدی افزایش می‌یابد(۱۰). تفاوت مشاهده شده در میزان گلایکه‌شدن که با روش‌های مختلف بررسی شده‌اند، ناشی از تفاوت در معیار مورد سنجش برای گلایکه شدن می‌باشد. این روش‌ها میزان گلایکه شدن را به صورت غیر مستقیم و از روی محصولات تولیدی و تغییرات ساختاری به وجودآمده می‌سنجند، از این رو تفاوت در میزان گلایکه‌شدن که به وسیله روش‌های مختلف سنجیده می‌شوند اجتناب‌ناپذیر می‌باشد.

## نتیجه‌گیری

در مجموع این تحقیق نشان داد که آسپرین از گلایکه‌شدن هموگلوبین در حضور گلوکز و متعاقب آن تخریب و رها شدن گروه هم از هموگلوبین جلوگیری می‌کند. از آنجا که گلایکه‌شدن پروتئین‌های خون از جمله هموگلوبین عامل به وجود آمدن عوارض دیابت هستند، آسپرین می‌تواند به عنوان یک عامل ضدگلایکیشن در جلوگیری از گلایکه‌شدن هموگلوبین و عوارض دیابت مطرح باشد.

## تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی انجام شد.

1-Analgesic
2-Free Radical Scavenger

Archive of SID



www.SID.ir

## REFERENCES:

1.Jakus V, Rietbrock N. Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications. Physiol Res 2004; 53: 131-42.
2.Harding JJ, Ganea E. Protection against glycation and similar post-translational modifications of proteins. Biochim Biophys Acta 2006; 1764(9): 1436-46.
3.Barnaby OS, Cerny RL, Clarke W, Hage DS. Comparison of modification sites formed on human serum albumin at various stages of glycation. Clin Chim Acta 2011; 412(3-4): 277-85.
4.Sattarahmady N, Moosavi-Movahedi AA, Habibi-Rezaei M, Ahmadian S, Saboury AA, Heli H, et al. Detergency effects of nanofibrillar amyloid formation on glycation of human serum albumin. Carbohydr Res 2008; 343(13): 2229-34.
5.Kikuchi S, Shinpo K, Takeuchi M, Yamagishi S, Makita Z, Sasaki N, et al. Glycation: a sweet tempter for neuronal death. Brain Res Brain Res Rev 2003; 41(2-3): 306-23.
6.Rojas A, Morales MA. Advanced glycation and endothelial functions: a link towards vascular complications in diabetes. Life Sci 2004; 76(7): 715-73.
7.Stitt AW. The role of advanced glycation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. Exp Mol Pathol 2003; 75: 95-108.
8.Ansari NH, Awasthi YC, Srivastava SK. Role of glycosylation in protein disulphide formation and cataractogenesis. Exp Eye Res 1998; 31: 9-19.
9.Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, Harper CM, Yoo J, Kim SM, et al. Glycation impairs high-density lipoprotein function. Diabetologia 2000; 43(3): 312-20.
10.Ahmed N. Advanced glycation endproducts: role in pathology of diabetic complications. Diabetes Res Clin Pract 2005; 67(1): 3-21.
11.Hadley J, Malik N, Meek K. Collagen as a model system to investigate the use of aspirin as an inhibitor of protein glycation and crosslinking. Micron 2001; 32(3): 307-15.
12. Vane JR, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. Thromb Res 2003; 110(5-6): 255-8.
13.Roberts KA, Harding JJ. Ibuprofen, a putative anti-cataract drug, protects the lens against cyanate and galactose. Experimental Eye Research 1990; 50(2): 157-64.
14.Blakytny R, Harding JJ. Prevention of cataract in diabetic rats by aspirin, paracetamol (acetaminophen) and ibuprofen. Experimental Eye Research 1992; 54(4): 509-18.
15.Turk Z, Mesić R, Benko B. Comparison of advanced glycation endproducts on haemoglobin (Hb-AGE) and haemoglobin A for the 1c assessment of diabetic control. Clinica Chimica Acta 1998; 277: 159- 70.
16.Selvaraj N, Bobby Z, Sridhar MG. Increased glycation of hemoglobin in chronic renal failure: [corrected] potential role of oxidative stress. Arch Med Res 2008; 39(3): 277-84.
17.Cussimanio 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): 7437-55.
18.Sen S, Bose T, Roy A, Chakraborti AS. Effect of non-enzymatic glycation on esterase activities of hemoglobin and myoglobin. Mol Cell Biochem 2007; 301(1-2):251-7.
19.Kar M. Effect of glycosylation on iron-mediated free radical reactions of hemoglobin. Curr Sci 2001; 80(4): 770.
20.McDonald MJ, Bleichman M, Bunn HF, Noble RW. Functional properties of the glycosylated minor components of human adult hemoglobin. J Biol Chem 1979; 254(3): 702-7.
21. Riggs A. Preparation of blood hemoglobins of vertebrates. Methods Enzymol 1981; 76: 5-29.
22.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: 248-54.
23.Yue DK, McLennan S, Handelsman DJ, Delbridge L, Reeve T, Turtle JR. The effect of salicylates on nonenzymatic glycosylation and thermal stability of collagen in diabetic rats. Diabetes 1984; 34: 745-51.
24.Nagababu E, Rifkind JM. Formation of fluorescent heme degradation products during the oxidation of hemoglobin by hydrogen peroxide. Biochem Biophys Res Commun 1998; 273(3): 592-6.
25.Schmitt A, Schmitt J, Münch G, Gasic-Milencovic J. Characterization of advanced glycation end products for biochemical studies: side chain modiWcations and Xuorescence characteristics. Analytical Biochemistry 2005; 338: 201–15.
26.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. International Journal of Biological Macromolecules 2010; 47: 402-9.
27. Bakhti M, Habibi-Rezaei 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.

Archive of SID


www.SID.ir

**Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)**

**Original Article**

# Preservative effects of Aspirin on Human Hemoglobin glycation in Diabetic Condition

**Divsalar A[1]*, Behroozi J[1], Saboury AA[2], Poursasan N[2]**

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

Received: 06 Jan 2013 Accepted: 10 Feb 2013

## Abstract

**Background & aim:** Diabetes is a common disease **which is** characterized by hyperglycemia and **the increase of** protein glycation. The aim of this study was to investigate the effect of aspirin-induced damage in human hemoglobin in diabetic glycation.

**Materials & Methods:** In this study, hemoglobin extracted from the blood of healthy individuals was incubated in the presence and absence of glucose and aspirin for 5 weeks. The rate of haem glycotation was determined in different conditions by studding products of Heam degradation, sort-band shifting and febrile state. Data were analyzed using One-Way analysis of Variance and Tukey's test.

**Results:** In the presence of aspirin, the amount of glycation reduced 50%. Furthermore, studies using band-shift sorting and febrile status indicated significant reduce in the amount of protein glycation in the presence of Aspirin.

**Conclusions:** Aspirin reduces extent of glycation when hemoglobin **is** incubated in the presence of glucose. Likely, aspirin exerts its effect by acetylating amine groups in proteins.

**Key words:** Diabetes, Glycation, Hemoglobin, Aspirin

***Corresponding Author: Divsalar A,** Department of Cell and Molecular Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran
**Email:** divsalar@tmu.ac.ir

Archive of SID



D.ir