View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۶، شماره۴/ مهر و آبان ۱۳۹۳/۱۱۹-۱۱۰

مقاله پژوهشی

بررسی اثر داروی اگزالی پالادیوم بر هموگلوبین انسانی در شرایط آزمایشگاهی

خدیجه عباسی تجرق[۱]، عادله دیو سالار[۱*]، علی اکبر صبوری[۲]، محبوبه اسلامی مقدم[۳]، نجمه پور ساسان[۲]

گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران؛ [۲]مرکز تحقیقات بیوشیمی- بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ [۳]پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۲

چکیده:

زمینه و هدف: **داروهای بر پایه پلاتین با اتصال به هموگلوبین سبب آزاد شدن گروه هِم از هموگلوبین شده، عملکرد هموگلوبین را مختل کرده و بدین ترتیب در بیمار تحت درمان ایجاد کم خونی می کند. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثرات جانبی اگزالی پالادیوم به عنوان یک داروی ضد سرطان جدید سنتزی، از طریق بر هم کنش با هموگلوبین و تخریب گروه هِم می باشد.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی، ساختار هموگلوبین انسانی در حضور و عدم حضور داروی اگزالی پالادیوم در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت. برای مطالعه تغییرات ساختاری و تخریب هِم، طیف جذبی هموگلوبین در محدوده طول موج های ۲۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر بررسی گردید. همچنین جهت بررسی دقیقتر تغییرات در ساختار سه بعدی هموگلوبین و احتمال بررسی تخریب هِم، مطالعات طیف سنجی فلوئورسانس در دو دمای محیط و فیزیولوژیک انجام گرفت.**

یافته‌ها: **اضافه کردن غلظت های مختلف داروی اگزالی پالادیوم به هموگلوبین باعث افزایش جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر و کاهش جذب در طول موج ٤١٥ نانومتر (مربوط به پیک سورت) گردید. همچنین باعث کاهش فاحشی در شدت نشر فلوئورسانس ذاتی و افزایش شدت نشر فلوئورسانس محصولات حاصل از تخریب هِم در هموگلوبین در هر دو دمای مورد مطالعه گردید.**

نتیجه گیری: **بر اساس نتایج این مطالعه که داروی اگزالی پالادیوم باعث تغییرات ساختاری و عملکردی در هموگلوبین از طریق جداسازی و تخریب گروه هِم می شود و بدین ترتیب می تواند در بیمار تحت درمان، ایجاد کم خونی نماید.**

واژه های کلیدی: **تخریب هِم، اگزالی پالادیوم، هموگلوبین انسانی، کم خونی، طیف سنجی فرابنفش.**

مقدمه:

هموگلوبین یک متالوپروتئین حاوی آهن و فراوان ترین پروتئین موجود در گلبول های قرمز خون است. هموگلوبین از بیوماکرومولکول های حیاتی در طبیعت می باشد که نقش مهمی در اتصال، انتقال و آزادسازی اکسیژن از شش ها به بافت ها، به منظور تنفس سلولی بازی می کند. از طرف دیگر، به طور مستقیم و غیر مستقیم در انتقال دی اکسید کربن و تنظیم pH خون نقش دارد (۲،۱).

هموگلوبین از دو زنجیره α (هرکدام با ۱۴۱ اسید آمینه و با وزن مولکولی ۱۵۱۲۶/۹ دالتون) و دو زنجیره β (هر کدام با ۱۴۶ اسید آمینه و با وزن مولکولی ۱۵۸۶۷/۲ دالتون) تشکیل شده است. به هر زنجیره پلی پپتیدی یک گروه هِم به عنوان گروه پروستتیک به صورت غیر کووالان در یک پاکت عمیق که به وسیله هلیکس های E و F تشکیل شده، متصل شده است. گروه هِم به وسیله ی پیوندهای کووالان بین آهن گروه هِم و N از هستیدین به گلوبین متصل شده است (۶-۳). دو ساختار آلترناتیو از هموگلوبین وجود دارد: ساختار Relax یا ساختار شل که میل ترکیبی بیشتری به اکسیژن دارد و ساختار Tense یا ساختار سفت که میل ترکیبی کمی به اکسیژن دارد. هموگلوبین یک پروتئین

***نویسنده مسئول:** تهران- دانشگاه خوارزمی تهران- گروه سلولی و مولکولی- تلفن: ۰۹۳۸۶۰۶۷۹۴۱، E-mail: divsalar@khu.ac.ir*

آلوستریک است. به طوری که اتصال یک مولکول اکسیژن به هموگلوبین که حالتی از اتصال آلوستریک می باشد روی تمایل اتصال سایر مولکول های اکسیژن به جایگاه های دیگر اثر می گذارد (۱۰-۷).

اغلب سلول های حاوی هِم پروتئینی دارای آنزیم هِم اکسیژناز می باشند که هِم را به بیلی وردین، مونواکسیدکربن و آهن تجزیه می کند (۱۱). با این وجود گلبول های قرمز با دارا بودن بیشترین مقدار هِم پروتئینی، هیچگونه سیستم آنزیمی برای تجزیه هِم ندارند. تخریب آنزیمی هِم به وسیله ی هِم اکسیژناز تنها زمانی صورت می گیرد که گلبول های قرمز فرسوده به طحال، کلیه و کبد منتقل می شود (۱۲).

روزانه ۳ درصد اکسی هموگلوبین متحمل اکسید شدن خود به خودی می شود که در طی آن آنیون های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن تولید می شوند. این واکنش باعث ایجاد غلظت ثابتی در حدود ۲×۱۰-۱۰M از پراکسید هیدروژن در گلبول های قرمز خون می شود (۱۳،۱۴).

مطالعات نشان می دهد که طی اکسید شدن اکسی هموگلوبین نیز دو ترکیب فلوئورسانس ایجاد می شود که مشابه محصولات حاصل از تخریب هِم با پراکسید هیدروژن می باشد. طی واکنش اکسی هموگلوبین با پراکسید هیدروژن ابتدا ساختار فریل هموگلوبین می شود. فریل و اکسی هموگلوبین به عنوان اکسیدانت بسیار قوی عمل می کند. تخریب مولکول هِم به دو مولکول پراکسید هیدروژن نیاز دارد و سوپر اکسید تولید شده در پاکت هِم می ماند و اثر خود را اعمال می کند (۱۷-۱۵).

انواع مختلف داروهای بر پایه کمپلکس های فلزی که فعالیت ضد سرطانی دارند و به عنوان مؤثرترین داروها، برای درمان سرطان استفاده می شوند عبارتند از: سیس پلاتین، اگزالی پلاتین، کربوپلاتین و نداپلاتین. (۱۹،۱۸). با این وجود مطالعات نشان داده که کمپلکس های پلاتین دارای عوارض جانبی زیادی مخصوصاً روی کلیه ها می باشند. اثرات مضر و مخرب داروها روی کلیه به علت اتصال پلاتین به آنزیم های حاوی تیول و غیر فعال ساختن آنزیم های فوق می باشد. همچنین این داروها با اتصال به پروتئین های توبول کلیه ها مانع از دفع ادراری دارو شده و با ذخیره شدن دارو در کلیه ها، آسیب های کلیوی را سبب می شوند (۲۱،۲۰).

از آنجایی که مطالعات قبلی نشان داده‌اند که داروهای بر پایه پلاتین با اتصال به هموگلوبین سبب آزاد شدن گروه هِم از هموگلوبین شده، عملکرد هموگلوبین را مختل کرده و بدین ترتیب در بیمار تحت درمان ایجاد کم خونی می کنند (۲۲)؛ لذا در این تحقیق، به بررسی مکانیسم اثرات جانبی اگزالی پالادیوم به عنوان یک داروی ضد سرطان جدید سنتزی (کمپلکس ضد سرطان بر پایه پالادیوم) و آنالوگ اگزالی پلاتین، از طریق بر هم کنش آن با یکی از فراوان ترین پروتئین خون و جداسازی و تخریب گروه هِم از هموگلوبین پرداخته می شود.

روش بررسی:

در این مطالعه نوع تجربی هموگلوبین از خون فرد سالم و غیر سیگاری طبق پروتوکل Austen Riggs استخراج گردید (۲۳). سپس هموگلوبین استخراج شده، توسط روش برادفورد (۲۴) و با کمک طیف سنجی مرئی- فرابنفش (مدل Cary) تعیین غلظت گردید. سدیم سیترات، کلرید سدیم، آمونیوم سولفات، بافر فسفات، EDTA و بی کربنات سدیم (آماده سازی کیسه دیالیز) استفاده شده در این تحقیق از شرکت مرک خریداری شدند.

مطالعات طیف سنجی مرئی- فرابنفش (UV-Vis) روش ساده ای است که تغییرات

ساختاری پروتئین را نشان داده و برای روشن شدن ساختمان کمپلکس پروتئین- لیگاند کاربرد دارد. مطالعات طیف سنجی مرئی- فرابنفش در غلظت ۵ میکرومولار هموگلوبین در محلول کلرید سدیم ۵ میلی مولار و در حضور غلظت های مختلف داروی اگزالی پالادیوم (۰،۹/۰،۷۵/۶،۵۶/۱۳،۹۵/۲۰،۳۲/۲۳،۳۰/۲۷ میکرومولار) در دمای ۲۵ درجه به کمک تغییرات در طیف جذبی هموگلوبین در طول موج های ۲۸۰ و ۴۱۵ نانومتر و با استفاده از تکنیک طیف سنجی مرئی- فرابنفش (مدل Cary) انجام شد. طیف تفاضلی هموگلوبین با داروی اگزالی پالادیوم در محدوده ی طول موج ۲۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر بعد از ۳ دقیقه انکوباسیون ثبت شد.

تکنیک طیف سنجی فلوئورسانس اطلاعاتی در مورد پیوند شدن مولکول های کوچک به پروتئین می دهد که روش مناسبی برای بررسی بر هم کنش میان پروتئین و لیگاند است. هموگلوبین دارای سه اسیدآمینه تریپتوفان در هر دایمر آلفا و بتا خود است (αTrp۱۴، βTrp۱۵، βTrp۳۷). نشر فلوئورسانس ذاتی هموگلوبین ناشی از گروه ایندول اسید آمینه تریپتوفان β-۳۷ است (۲۶،۲۵). اندازه گیری شدت نشر فلوئورسانس ذاتی هموگلوبین به منظور مطالعه تأثیر داروی اگزالی پالادیوم برساختار سه بعدی پروتئین و مطالعه تعداد دسته جایگاه های پیوندی، تعداد جایگاه های اتصال، تمایل پیوندی، نوع بر هم کنش های فوق با پروتئین استفاده شد. دستگاه طیف سنج فلوئورسانس (مدل Cary) از کمپانی واریان ساخت استرالیا مجهز به نرم افزار جهت امور طیف سنجی مورد استفاده قرار گرفت. مطالعات فلوئورسانس خاموشی هموگلوبین با غلظت ۵ میکرومولار پروتئین در غلظت های مختلف داروی اگزالی پالادیوم (۰،۹۳/۷،۸۷/۱۵،۷۱/۲۳،۲۱/۳۱،۸۷/۳۹،۴۶، ۶۲،۹۲/۶۹،۲۹/۷۶،۶۰/۸۴،۹۱، ۱۰۶/۸۵،۹۸ میکرو مولار) در محلول کلرید سدیم ۵ میلی مولار در دو دمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی گراد انجام شد. طیف تفاضلی هموگلوبین با دارو با تهییج درطول موج ۲۹۰ نانومتر و نشر در محدوده ی ۳۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر بعد از سه دقیقه انکوباسیون گرفته شد.

ثابت اتصال و تعداد جایگاه های اتصال داروی اگزالی پالادیوم برروی هموگلوبین از معادله زیر به دست آمد (۲۷).

$$\log\left[\frac{F_0 - F}{F}\right] = \log K + n\log[Q]$$

در معادله فوق، F و F_0 به ترتیب بیانگر نشر پروتئین در حضور و غیاب کمپلکس الادیوم، K ثابت اتصال و n تعداد جایگاه اتصال دارو بر روی هر هموگلوبین می باشد.

نتایج مطالعات قبلی نشان داده اند که دو گونه فلوئوروفور شناخته شده حاصل از تخریب غیر آنزیمی گروه پروستتیک هِم که ساختار غیر پروتئینی داشته اند، به کمک تغییرات در نشر ماکزیمم خود در فلوئورسانس قابل شناسایی می باشند (۱۶،۱۵). گونه اول با طول موج تهییج ۳۲۱ نانومتر و میزان نشر در محدوده ی ۳۳۰ تا ۶۰۰ نانومتر و گونه دوم با تهییج ۴۶۰ نانومتر و میزان نشر در محدوده ی ۴۷۰ تا ۷۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت.

جهت ردیابی میزان تخریب هِم موجود در هموگلوبین، میزان نشر محصولات فلوئورسانس حاصل از تخریب هِم در طول موج تهییجی برای محصول اول ناشی از تخریب هِم در ۳۲۱ نانومتر و محصول دوم در طول موج ۴۶۰ نانومتر در غلظت های مختلف داروی اگزالی پالادیوم (۰،۱۹/۰،۲/۲۵،۱۴/۸۵،۱۳/۱۱۳،۱۶۵/۱۴۸،۱۹۸/۱۸۰،۱۸۱

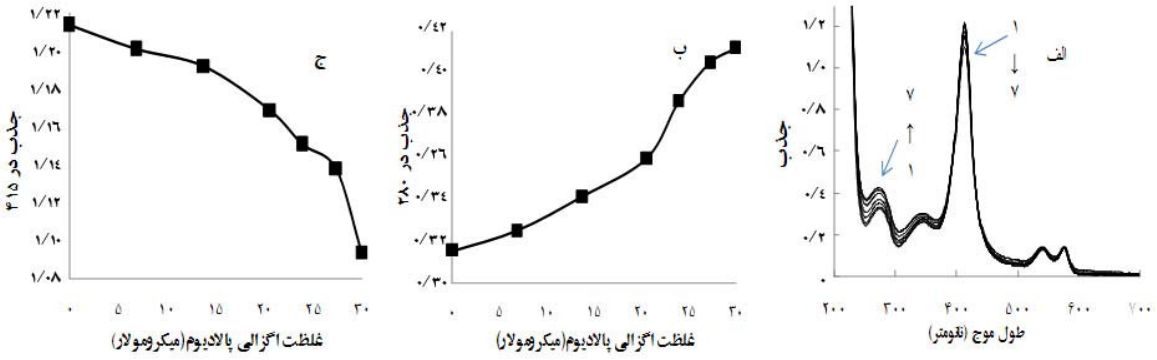
میکرو مولار) و در دو مای ۲۵ و ۳۷ استفاده شد. داده های حاصل از مطالعات مرئی- فرابنفش و مطالعات فلوئورسانس با استفاده از نرم افزار Excel توصیف گردید.

یافته ها:

با افزایش غلظت داروی اگزالی پالادیوم در هنگام تیتراسیون، افزایش جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر (با تغییر ماکزیمم طول موج جذب از طول موج ۲۸۰ به ۲۷۴ نانومتر) و کاهش جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر (پیک سورت) دیده شد که بیانگر القای تغییرات در ساختار پروتئین و موقعیت گروه هِم موجود در آن می باشد (تصویر شماره۱).

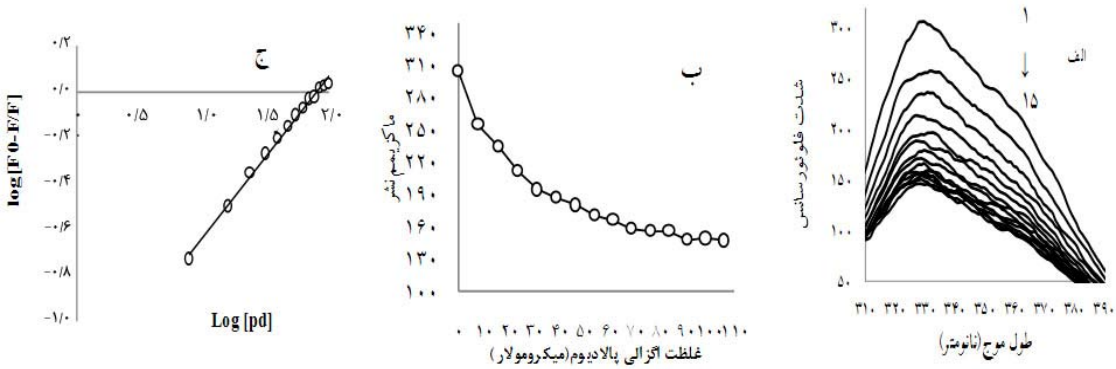
نتایج حاصل از فلوئورسانس خاموشی نشان داد که اضافه کردن داروی اگزالی پالادیوم به هموگلوبین باعث کاهش فاحشی در شدت نشر فلوئورسانس در هر دو دما می شود که بیانگر تغییرات در محیط اطراف تریپتوفان های هموگلوبین و در نتیجه تغییر در ساختار سه بعدی آن می باشد (تصویر شماره ۲و۳ الف). ماکزیمم طول موج نشر هموگلوبین در طول موج ۳۳۱ نانومتر قرار دارد که با افزایش غلظت های مختلف داروی اگزالی پالادیوم در هر دو دمای ۲۵و ۳۷ درجه سانتی گراد به ترتیب کاهش می یابد که این امر بیانگر آن است که اتصال دارو به پروتئین، نشر فلوئورسانس ذاتی آن را بدون تغییر موقعیت محیط دی الکتریک تغییر می دهد (تصویر شماره ۲و۳ ب).

نمودار Log[F0-F/F] در مقابل Log[pd] در هر دو دمای ۲۵و ۳۷ درجه سانتی گراد یک نمودار خطی به دست آمد. عرض از مبدأ این نمودار برابر Log K و شیب نمودار برابر تعداد جایگاه های اتصال (n) است. مقادیر n در هر دو دما تقریباً برابر یک می باشد که نشان دهنده ی وجود یک جایگاه اتصال برای این دارو بر روی پروتئین هموگلوبین می باشد. همچنین با افزایش دما از ۲۵ به ۳۷ درجه سانتی گراد ثابت اتصال (از M^{-1} ۱/۸×۱۰^{۳} به M^{-1} ۱/۷×۱۰^{۳}) کاهش می یابد که بیانگر گرمازا بودن بر هم کنش داروی اگزالی پالادیوم و هموگلوبین است (تصویر شماره ۲و۳ ج).



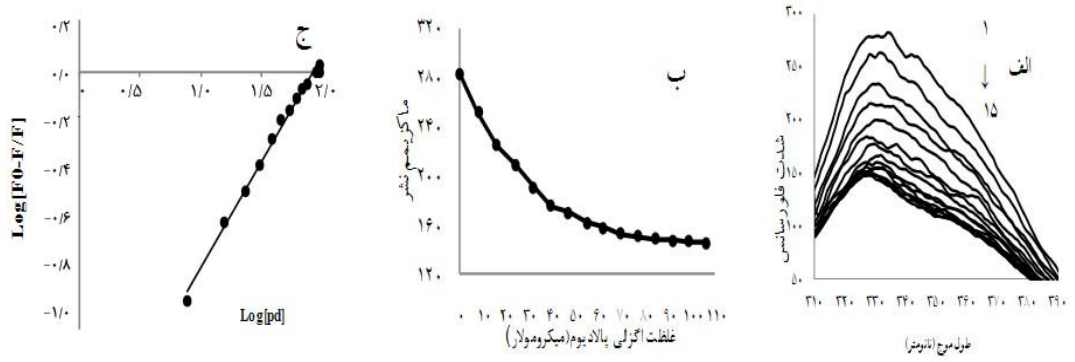
نمودار شماره ۱: طیف جذبی هموگلوبین و تغییرات جذب در طول موج ۲۸۰ و ٤١٥ نانومت در حضور غلظت های مختلف داروی اگزالی پالادیوم

الف: طیف جذبی هموگلوبین، ب: تغییرات جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر، ج: طول موج ٤١٥ نانومتر؛ شرایط: هموگلوبین ۵ میکرومولار، محلول کلرید سدیم ۵ میلی مولار، دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، داروی اگزالی پالادیوم به ترتیب (۱)۰، (۲)٦/۹، (۳)۱۳/۷۵، (٤)۲۰/۵٦، (۵)۲۳/۹۵، (٦)۲۷/۳۲، (۷)۳۰ میکرومولار.



نمودار شماره ۲: نشر فلوئورسانس هموگلوبین، تغییرات ماکزیمم نشر و نمودار Log[F0-F/F] در مقابل Log[pd] در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و در حضور غلظت های مختلف داروی اگزالی پال ادیوم

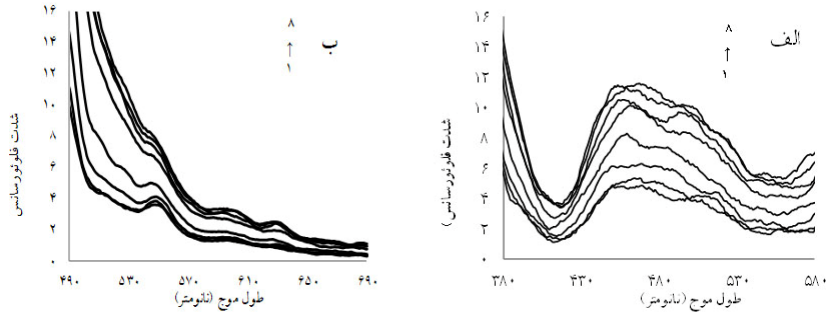
الف: نشر فلوئورسانس، ب: تغییرات ماکزیمم نشر و ج: نمودار Log[F0-F/F] در مقابل Log[pd]؛ شرایط: هموگلوبین ۵ میکرومولار، محلول کلرید سدیم ۵ میلی مولار، داروی اگزالی پالادیوم به ترتیب (۱)۰، (۲)۷/۹۳، (۳)۱۵/۸۷، (٤)۲۳/۷۱، (۵)۳۱/٤۹، (٦)۳۹/۲۱، (۷)٤٦/۸۷، (۸)۵٤/٤۷، (۹)٦۲/۰۱، (۱۰)٦۹/٤۹، (۱۱)۷٦/۹۲، (۱۲)۸٤/۲۹، (۱۳)۹۱/٦۰، (۱٤)۹۸/۸۵، (۱۵)۱۰٦ میکرومولار).



نمودار شماره ۳: نشر فلوئورسانس هموگلوبین، تغییرات ماکزیمم نشر و نمودار Log[F0-F/F] در مقابل Log[pd] در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در حضور غلظت های مختلف داروی اگزالی پالادیوم

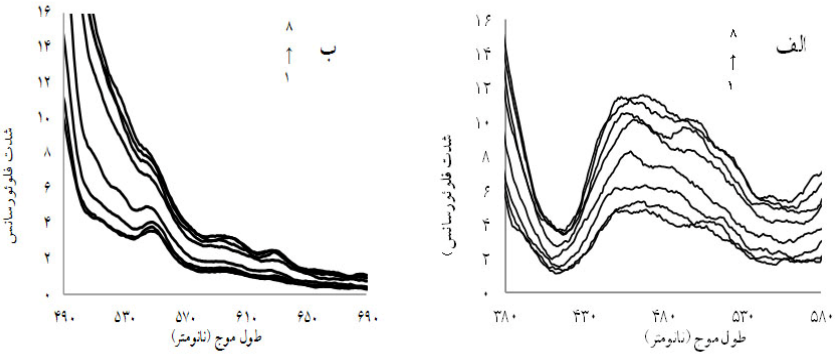
الف: نشر فلوئورسانس، ب: تغییرات ماکزیمم نشر و ج: نمودار Log[F0-F/F] در مقابل Log[pd]؛ شرایط: هموگلوبین ۵ میکرومولار، محلول کلرید سدیم ۵ میلی مولار، داروی اگزالی پالادیوم به ترتیب (۱)۰، (۲)۷/۹۳، (۳)۱۵/۸۷، (٤)۲۳/۷۱، (۵)۳۱/٤۹، (٦)۳۹/۲۱، (۷)٤٦/۸۷، (۸)۵٤/٤۷، (۹)٦۲/۰۱، (۱۰)٦۹/٤۹، (۱۱)۷٦/۹۲، (۱۲)۸٤/۲۹، (۱۳)۹۱/٦۰، (۱٤)۹۸/۸۵، (۱۵)۱۰٦ میکرومولار).

نتایج نشان می دهد افزایش غلظت داروی اگزالی پالادیوم باعث افزایش شدت نشر فلوئورسانس در طول موج ماکزیمم ۴۶۵ نانومتر و ۵۲۵ نانومترکه مربوط به تشکیل محصولات حاصل از تخریب هِم موجود در پروتئین در هر دو دما می باشند، می گردد. همچنین تغییر در ساختار و تخریب هم ناشی از حضور داروی اگزالی پالادیوم، بیانگر تغییر در ساختار و عملکرد پروتئین حیاتی هموگلوبین بوده و به عنوان اثرات جانبی این دارو در نظر گرفته می شود.



نمودار شماره۴: محصولات تخریب هِم حاصل از بر هم کنش هموگلوبین با داروی اگزالی پالادیوم با طول موج تهییجی ۳۲۱ نانومتر و ٤٦٠ نانومتر در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

الف: طول موج ۳۲۱ نانومتر، ب: طول موج ٤٦٠ نانومتر؛ شرایط: هموگلوبین ۱۰ میکرومولار، محلول کلرید سدیم ۵ میلی مولار، داروی اگزالی پالادیوم به ترتیب (۱)۰، (۲)۱۹/۸، (۳)۸۵/۲۵، (٤)۱۱۳/۲، (۵)۱٤۸/۱٤، (٦)۱٦۵/۱۳، (۷)۱۸۱/۱۸، (۸)۱۹۸ میکرومولار).



نمودار شماره۵: محصولات تخریب هِم حاصل از برهمکنش هموگلوبین با داروی اگزالی پالادیوم با طول موج تهییجی ۳۲۱ نانومتر و٤٦٠ نانومتر در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

الف: طول موج ۳۲۱ نانومتر، ب: طول موج٤٦٠ نانومتر؛ شرایط: هموگلوبین ۱۰ میکرومولار، محلول کلرید سدیم ۵ میلی مولار، داروی اگزالی پالادیوم به ترتیب (۱)۰، (۲)۱۹/۸، (۳)۸۵/۲۵، (٤)۱۱۳/۲، (۵)۱٤۸/۱٤، (٦)۱٦۵/۱۳، (۷)۱۸۱/۱۸، (۸)۱۹۸ میکرومولار).

بحث:

در این تحقیق مطالعات طیف سنجی فرابنفش- مرئی نشان می دهد اضافه کردن غلظت های مختلف داروی اگزالی پالادیوم به هموگلوبین باعث افزایش جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر (با تغییر ماکزیمم طول موج جذب از طول موج ۲۸۰ به ۲۷۴ نانومتر) وکاهش جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر (پیک سورت) می شود که بیانگر القای تغییرات در ساختار پروتئین و موقعیت گروه هِم موجود در آن می باشد. بررسی دقیقتر تغییرات در ساختار سه بعدی پروتئین ناشی از بر هم کنش داروی اگزالی پالادیوم با هموگلوبین و احتمال بررسی تخریب هِم با استفاده از طیف سنجی فلوئورسانس انجام گرفت. نشر فلوئورسانس ذاتی هموگلوبین ناشی از گروه ایندول اسیدآمینه تریپتوفان ۳۷-β است. افزایش یا کاهش شدت نشر فلوئورسانس و همچنین تغییر در ماکزیمم شدت نشر، تغییراتی است که در اثر اتصال کمپلکس به پروتئین در نشر فلوئورسانس آن ایجاد می شود.

نتایج حاصل از فلوئورسانس خاموشی نشان می دهد که اضافه کردن غلظت های مختلف داروی

اگزالی پالادیوم به هموگلوبین باعث کاهش چشمگیری در شدت نشر فلوئورسانس بدون تغییر در ماکزیمم شدت نشردر هر دو دمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی گراد می شود که بیانگر تغییرات در محیط اطراف تریپتوفان های هموگلوبین و در نتیجه تغییر در ساختار سه بعدی آن می باشد.

همچنین نتایج حاصل از بررسی میزان تخریب هِم در اثر اضافه کردن غلظت های مختلف داروی اگزالی پالادیوم یک افزایش در شدت نشر فلوئورسانس برای هر دو محصول فلوئورسانس حاصل از تخریب هِم (گونه اول با طول موج تهییج ۳۲۱ نانومتر و ماکزیمم نشر در ۴۶۵ نانومتر و گونه دوم با تهییج ۴۶۰ نانومتر و ماکزیمم نشر در ۵۲۵ نانومتر) در هر دو دمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی گراد نشان می دهد. از اطلاعات به دست آمده می توان نتیجه گرفت که در اثر این بر هم کنش، آزاد شدن آهن از پروتئین هموگلوبین در دو دمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی گراد اتفاق افتاده است. مطالعات قبلی نشان می دهد ترکیبات بر پایه پلاتین از طریق بر هم کنش با هموگلوبین سبب رهاسازی گروه هِم می شوند و از این طریق سبب کم خونی می گردند (۲۲). همچنین نتایج حاصل از مطالعات قبلی که مربوط به بررسی آزادسازی گروه هِم از هموگلوبین انسانی در اثر بر هم کنش با کمپلکس بوتیل پالادیوم است نشان می دهد افزایش غلظت کمپلکس در محلول هموگلوبین سبب تغییر در محیط اطراف اسیدهای آروماتیک شده، در حالی که تأثیری بر ساختار هِم نداشته است. نتایج مطالعات فلوئورسانس این مطالعه بیانگر خاموشی نشر هموگلوبین همراه با جابجایی در طول موج ماکزیمم نشر به سمت راست در حضورکمپلکس بوتیل پالادیوم می باشد. همچنین نتایج مطالعات تخریب هِم نشان دهنده ی تشکیل دو محصول فلوئورسانس حاصل از تخریب هِم در حضور کمپلکس بوتیل پالادیوم است (۲۸).

نتیجه گیری:

تغییر در ساختار و تخریب هِم ناشی از حضور داروی اگزالی پالادیوم، بیانگر تغییر در ساختار و عملکرد پروتئین حیاتی هموگلوبین بوده و به عنوان اثرات جانبی این دارو به عنوان یک داروی جدید سنتزی (کمپلکس ضد سرطان بر پایه پالادیوم) و آنالوگ اگزالی پلاتین به جهت کم خونی که در بیمار تحت درمان می تواند ایجاد کند در نظر گرفته می شود؛ لذا نتایج این تحقیق و تحقیقاتی از این نوع می توانند زمینه ی مناسبی را در جهت شناسایی و معرفی داروهای ضد سرطان جدید سنتزی با عوارض جانبی کمتر فراهم کنند.

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. Mousavy SJ, Riazi GH, Kamarei M, Aliakbarian H, Sattarahmady N, Sharifizadeh A, et al. Effects of mobile phone radiofrequency on the structure and function of the normal human hemoglobin. Int J Biol Macromol. 2009; 44 (3): 278–85.
2. Zolghadri S, Saboury AA Golestani A Divsalar A Rezaei-Zarchi S Moosavi-Movahedi AA. Interaction between silver nanoparticle and bovine hemoglobin at different temperatures. J Nanopart Res. 2009; 11(7): 1751-58.
3. Swati D, Agnishwar G. A fluorimetric and circular dichroism study of hemoglobin Effect of pH and anionic amphiphiles. J Colloid Interface Sci. 2006; 296(1): 324–31.
4. Jensen FB. The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery: oxygen carriers and regulators of local blood flow. J Exp Biol. 2009; 214: 3387–93.

5. Lemma T, Mandal R, Li XF, Pawliszyn J. Investigation of interaction between human hemoglobin A0 and platinum anticancer drugs by capillary isoelectric focusing with whole column imaging detection. J Sep Sci. 2008; 31(10): 1803–9.
6. Mouawad L, Marechal JD, Perahia D. Internal cavities and ligand passageways in human hemoglobin characterized by molecular dynamics simulations. Biochim Biophys Acta. 2005; 1724(3): 385–93.
7. Farago A, Denes G. On the nature of the allosteric transition of N-acetylglutamate-5-phosphotransferase. Biochim Biophys Acta. 1967; 139(2): 521-3.
8. Koshland DE, NCmethy G, Filmer D. Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits. Biochem. 1966; 5(1): 365–68.
9. Safo MK, Ahmed MH, Ghatge MS, Boyiri T. Hemoglobin–ligand binding: Understanding Hb function and allostery on atomic level. Biochim Biophys Acta. 2011; 1814(6): 797–809.
10. Piras AM, Dessy A, Chiellini F, Chiellini E, Farina C, Ramelli M, et al. Polymeric nanoparticles for hemoglobin-based oxygen carriers. Biochim Biophys Acta. 2008; 1784(10): 1454-61.
11. Ryter SW, Tyrrell RM. The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. Free Radic Biol Med. 2000; 28(2): 289-309.
12. Venu G, Prasanthi PS, Venkata Ch, Devi R, Lakshmaiah N. Hemin degradation in presence of thiols and transition metal ions. Am J Pharmtech Res. 2011; 4(1): 317-28.
13. Nagababu E, Rifkind JM. Heme degradation by reactive oxygen species. Antioxid Redox Signal. 2004; 6(6):967–78.
14. Nagababu E, Gulyani S, Earley CJ, Cutler RG, Mattson MP, Rifkind JM. Iron-deficiency anaemia enhances red blood cell oxidative stress. Free Radic Res. 2008; 42(9): 824–29.
15. Nagababu E, Mohanty JG, Bhamidipaty S, Ostera GR, Rifkind JM. Role of the membrane in the formation of heme degradation products in red blood cells. Life Sci. 2010; 86(16): 133–38.
16. Nagababu E, Rifkind JM. Heme degradation during autoxidation of oxyhemoglobin. Biochem Biophys Res Commun. 2000; 273(3): 839-45.
17. Maitra D, Byun J, Andreana PR, Abdulhamid I, Diamond MP, Saed GM, et al. Reaction of hemoglobin with HOCl: Mechanism of heme destruction and free iron release. Free Radical Res. 2011; 51(22): 374–86.
18. Hizbullah K, Amin B, Ghulam M, Muhammad S, Zia-ur R, Christine N, et al. Synthesis, characterization and anticancer studies of mixed ligand dithiocarbamate palladium(II) complexes. Eur J Med Chem. 2011; 46(9): 4071-77.
19. Divsalar A, Saboury AA, Yousefi R, Moosavi-Movahedi AA, Mansoori-Torshizi H. Spectroscopic and cytotoxic studies of the novel designed palladium (II) complexes: beta-lactoglobulin and K562 as the targets. Int J Biol Macromol. 2007; 40(4): 381-6.
20. Desoize B. Metals and metal compounds in cancer treatment. Anticancer Res. 2004; 241(3): 529-44.
21. Wang, Guo Z. The role of sulfur in platinum anticancer chemotherapy. Anticancer Agents Med Chem. 2007; 7(1): 19-34.
22. Peng J, Mandal R, Sawyer M, Li XF. Characterization of intact hemoglobin and oxaliplatin interaction by nanoelectrospray ionization tandem mass spectrometry. Clin Chem. 2005; 51 (12): 2274–81.
23. Riggs A. Preparation of blood hemoglobins of vertebrates. Methods Enzymol. 1981; 76: 5-29.
24. 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(7): 248- 54.
25. Garabagiu S. A spectroscopic study on the interaction between gold nanoparticles and Hemoglobin. Mater Res Bull. 2011; 46(12): 2474–77.

26. Mahesha HG, Singh SA, Srinivasan N, Rao AG. A spectroscopic study of the interaction of isoflavones with human serum albumin. FEBS J. 2006; 273(3): 451-67.
27. Pinto MC, Duque AL, Macías P. Fluorescence spectroscopic study on the interaction of resveratrol with lipoxygenase. J Mol Struct. 2010; 980(1-3): 143-48.
28. Rahimi-Vaghar R, Saboury AA, Divsalar A, Mansouri-Torshizi H. Heme releasing from human hemoglobin upon interaction with a new synthesized complex of 1, 10-phenanthroline-n-butyl dithiocarbamato pd (ii) nitrate. Phys Chem Res. 2013; 2(1): 185-96.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2014 Oct, Nov; 16(4): 110-119. ***Original article***

In vitro study of oxali-palladium effect on human hemoglobin

Abbasi-Tejarag KH[1], Divsalar A[1*], Saboury AA[2], Eslami-Moghadm M[3], Poursasan N[2]
[1]Cell and Molecular Biology Dept., Kharazmi University of Tehran, Tehran, I.R. Iran;
[2]Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, I.R. Iran;
[3]Institute of Chemical and Engineering Research, Tehran, I.R. Iran.
Received: 9/Oct/2013 Accepted: 23/Nov/2013

Background and aims: Background and aim: Platinum-based drugs cause heme group to be released from hemoglobin through binding to hemoglobin, impair hemoglobin function and thereby develop anemia in the patient under treatment. The aim of the present study was to examine side effects of oxali-palladium as a new synthetic anticancer drug through interacting with hemoglobin and degrading heme group.

Methods: In this experimental study, human hemoglobin structure was studied in vitro in presence and absence of oxali-palladium. For study of structural variations and degradation of heme, hemoglobin absorbance spectrum was examined at 200 to 700-nm wavelengths. Also, for more accurate study of variations in three-dimensional structure of hemoglobin and the possibility of heme degradation, spectroscopic examination of fluorescence was done at two ambient and physiological temperatures.

Results: Addition of oxali-palladium at different concentrations into hemoglobin caused increase in absorbance at 280-nm wavelength and decrease in absorbance at 415-nm wavelength (corresponding to peak Surat). Also, it caused a pronounced decrease in intensity of intrinsic fluorescence emission and increase in fluorescence emission intensity of the products derived from heme degradation in hemoglobin at both studied temperatures.

Conclusion: By the findings of this study, oxali-palladium causes structural and functional variations in hemoglobin through heme isolation and degradation and hence could develop anemia in patients under treatment.

Keywords: **Heme degradation, Oxali-palladium, Human hemoglobin, Anemia, Ultraviolet spectroscopy.**

Cite this article as: Abbasi-Tejarag KH, Divsalar A, Saboury AA, Eslami-Moghadm M, Poursasan N. In vitro study of oxali-palladium effect on human hemoglobin. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014; 16(4):110-119.

[*]**Corresponding author:**
Cell and Molecular Biology Dept., Kharazmi University Tehran, Tehran. I.R. Iran. Tel:00989386067941, E-mail: divsalar@khu.ac.ir