Archive of SID

فصلنامه علمی- پژوهش دانشگاه علوم پزشکی مازندران
سال پانزدهم شماره ۴۶ فصل بهار سال ۱۳۸۴

الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم در انواع مختلف سرطان مشابه فاز حاد است

مهدی رسولی (Ph.D.)* علی اخوتیان (M.D.)** آتنا اندرامی (M.D.)***

چکیده

سابقه و هدف : نتایج تحقیقات مختلف نشان می دهد که در انواع مختلف سرطان، بدون توجه به ماهیت و مرحله تومور، غلظت اثرکننده های مثبت فاز حاد افزایش و غلظت اثرکننده های منفی فاز حاد کاهش می یابد. از این‌رو از پروفیل پروتئین‌های سرم می‌توان برای تشخیص حالت بدخیمی استفاده نمود.

مواد و روش‌ها : در این تحقیق که یک مطالعه مورد- شاهدی و مقطعی است، الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم ۸۵ نمونه بیمار مبتلا به انواع مختلف سرطان رایج در ساری با ۸۵ نمونه سرم افراد سالم برای یافتن یک الگوی خاص در حالت بدخیمی مورد مطالعه قرار گرفت. اجزاء پروتئین‌های سرم بر روی ژل آگارز (سیبا، فرانسه) از یکدیگر جدا شدند و ژل به‌صورت‌کمی، توسط روش دانسیتومتری، اسکن و آنالیزگردید. غلظت پروتئین‌کل توسط روش بیوره و آلبومین توسط روش بروموکرزول- گرین اندازه گیری شد. برای مقایسه متوسط متغیرها از t-test، برای به دست آوردن بهترین پیش‌بینی کننده وجود سرطان، نسبت‌شانس (OR) و رابطه وجود سرطان با متغیرهای مختلف از آنالیز رگرسیون لوجیستیک به روش مرحله‌ای و آزمون اسپیرمن و برای مقایسه ویژگی و حساسیت روش‌های سنجش از آنالیز ROC استفاده شد.

یافته‌ها : بر اساس یافته های این تحقیق، در گروه بیماران مبتلا به سرطان نسبت به گروه شاهد، غلظت پروتئین کل (۱/۲ ± ۶/۶ در مقابل ۱/۲ ± ۷/۳ و P≤ ۰/۰۰۰)، آلبومین (۰/۸ ± ۳/۹ در مقابل ۰/٤ ± ٤/٦ و P≤ ۰/۰۰۰)، نسبت آلبومین به گلوبولین (۰/۳۱ ± ۰/۹۳در مقابل ۰/۱۸ ± ۱/۱۸ و P≤ ۰/۰۰۰)، درصد فراکسیون آلبومین (۸/۷ ± ٤٦/۹ در مقابل ٤/۲ ± ۵۳/ و P≤ ۰/۰۰۰)، و درصد فراکسیون بتا (٤/۳ ± ۱۱/٦ در مقابل ۲/۲ ± ۱۳/۲ و P≤ ۰/۰۰۰) به طور معنی دار کاهش یافت. از سوی دیگر درصد فراکسیون آلفا- ۱ (۲/۵ ± ۵/۳ در مقابل ۰/۹ ± ۳/۰۱ و P≤ ۰/۰۰۰)، آلفا- ۲ (٤/۹ ± ۱۳/٤ در مقابل ۲/۲ ± ۱۱/۳ و P≤ ۰/۰۰۰) و گاما (۷/۷ ± ۲۲/۸ در مقابل ۳/۲ ± ۱۹/۰ و P≤ ۰/۰۰۰) نیز به طور معنی داری افزایش یافت. در گروه بیمار نسبت به شاهد، شمارش لکوسیت‌ها (۳۱۱۱ ± ۷۹۷۷ در مقابل ۱۵٦٦ ± ٦۵۰۵ و P≤ ۰/۰۰۰)) و سرعت سدیمانتاسیون اریتروسیت‌ها (۲۳/۵ ± ۳۵/۹ در مقابل ۹/۵ ± ۱٤/۱ و P≤ ۰/۰۰۰) نیز به طور معنی دار افزایش یافت.

نتایج آنالیز لوجیستیک چندگانه نشان می‌دهدکه نسبت‌شانس(OR) برای مقادیر غیرطبیعی نسبت آلبومین به گلوبولین، آلبومین، آلفا-۱ و آلفا-۲ تقریباً برابر ۸ (در حدود اطمینان ۹۵درصد در حیطه ۲۵-٤) قرارمی گیرد. نسبت‌شانس برای مقادیر غیرطبیعی فراکسیون گاما برابر ۲/۳ و برای پروتئین کل برابر ۱۷/۸ قرار دارد. ضریب بستگی اسپیرمن برای رابطه سرطان با همه متغیرها (بجزگاما-گلوبولین) حدود ۰/۰۷ ± ۰/٤۵ ، P≤۰/۰۰۰ و برای فراکسیون گاما برابر ۰/۰۸ ±۰/۲۰ ، P≤ ۰/۰۱ بود. این آنالیز نشان داد که پروتئین کل، درصد فراکسیون آلبومین و آلفا-۱ بهترین متغیرهای پیش‌بینی‌کننده وقوع سرطان می‌باشند(P≤۰/۰۰۰). نتایج‌آنالیز دیاگرامROC نشان می‌دهدکه حساسیت و ویژگی‌متغیرهای موجود در پروفیل پروتئین‌های سرم برای تشخیص متغیر حالت (فاز حاد) از نظر آماری قابل قبول و به طور تقریب در یک حدود می‌باشد.

استنتاج : یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که در انواع سرطان بدون توجه به نوع و مرحله آن‌ها، الگوی مشابه واکنش فاز حاد مشاهده می‌گردد. از این رو پیشنهاد می‌شود از الکتروفورز پروتئین‌های سرم برای تشخیص فاز حاد مانند حالت بدخیمی استفاده گردد.

واژه‌های کلیدی : آلبومین، پروتئین‌های سرم، الکتروفورز، سرطان، فاز حاد

* دکتری بیوشیمی بالینی، عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران
** متخصص انکولوژی، عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران
*** پزشک عمومی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
✉ ساری: بلوار خزر- دانشکده پزشکی

تاریخ دریافت : ۸۳/۶/۲۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۳/۸/۱۹ تاریخ تصویب: ۸۳/۱۰/۱۶

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سرطان، مهم‌ترین علت مرگ‌ومیر است و تشخیص به موقع سرطان، بهترین شانس درمان می‌باشد. متاسفانه بیشتر سرطان‌ها در مراحل اولیه بدون علامت هستند و پیشرفت آن‌ها منجر به انتشار سلول‌های سرطانی به سایر بافت‌ها می‌شود. نشانگرهای تومور ترکیباتی هستند که توسط بافت سرطانی یا در پاسخ به آن، ساخته و برای تشخیص بافت سرطانی از بافت‌های طبیعی به کار می‌روند(۱).یک نشانگر تومور خوب باید دارای ویژگی برای بافت سرطانی و نیز حساسیت کافی برای تشخیص زود هنگام تومور باشد. با این وجود، بیش‌تر نشانگرها دارای ویژگی و حساسیت کافی نیستند. آنزیم‌ها و ایزوآنزیم‌ها، هورمون‌ها وگیرنده‌های آن‌ها، آنتی‌ژن‌های انکوفتال، اپیتوپ‌های کربوهیدراتی که توسط آنتی‌بادی‌های منوکلونال شناسایی می‌شوند ومحصولات انکوژن‌ها و پروتئین‌ها مهم‌ترین نشانگرهای تومور می‌باشند(۲،۱).

اثرکننده‌های فاز حاد (APRs) دارای ساختمان گلیکوپروتئینی هستند و جزئی از روند پیچیده التهاب می‌باشند(۲). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که سرعت ساخت و متعاقباً غلظت اثرکنندهای فاز حاد در بسیاری از بیماری‌های بدخیم تغییر می‌کند(۲تا٤). افزایش غلظت اثرکننده‌های مثبت فاز حاد به همراه کاهش غلظت اثرکننده‌های منفی فاز حاد است(۱). آلفا- ۱ اسید گلیکوپروتئین، آلفا- ۱ آنتی‌تریپسین، هاپتوگلوبین، سرولوپلاسمین، فیبرینوژن، پروتئین فعال نسبت به دیواره پلی‌ساکاریدی-C (CRP) مهم‌ترین اثرکننده‌های مثبت فاز حاد و آلبومین، پرآلبومین و ترانسفرین، مهم‌ترین اثر کننده‌های منفی فاز حاد می‌باشند.آزمایش‌های مختلف بر روی سلول‌های کبد نشان می‌دهد که تغییر سرعت ساخت اثرکننده‌های فاز حادتوسط سیتوکین‌های‌مختلف به‌ویژه فاکتور نکروز تومور- آلفا (TNF-α)، اینترلوکین ۱ و٦ وساطت می‌گردد(٥،٤). محققین تلاش کرده‌اند که از غلظت اثرکننده‌های فاز حاد به عنوان نشانگر تومور استفاده نمایند.Walker و همکارانش(۱۹۸۳) نشان دادند که غلظت اثرکنندهای فاز حاد APRs (آلفا-۱ اسید گلیکوپروتئین، آلفا-۱ آنتی تریپسین، سرولوپلاسمین و ترانسفرین) در سرطان روده- مخرج افزایش می‌یابد و راندمان تشخیص آن‌ها بیش‌تر از آنتی‌ژن کارسینوژنیک رویانی (CEA) است(٦). Durdey و همکارانش (۱۹۸٤) نشان دادند که غلظت APRs در سرطان‌های کولون- مخرج افزایش می‌یابد(۷). از آلفا-۱ اسید گلیکوپروتئین برای تشخیص و تعقیب درمان سرطان ریه(۸) و نیز برای غربالگری و ارزیابی سرطان پروستات استفاده شده است (۹).

علاوه بر سنجش تک تک اثرکننده‌های فاز حاد بررسی تغییرات آن‌ها در الگوی الکتروفورز نیز مفید می‌باشد؛ به طوری که از الکتروفورز در یک یا دو بعد برای جداسازی پروتئین‌ها در انواع سرطان استفاده شده است(۱۰تا ۱۷). در مولتیپل میلوما غلظت پاراپروتئین‌ها در سرم افزایش می‌یابد که در الگوی الکتروفورز بخوبی مشخص است(۱۰). نتایجDaae وهمکارانش(۱۹۹۷) نشان می‌دهد که در بیماران مبتلا به بدخیمی نسبت به افراد سالم، فرکانس وقوع هیپوآلبومینمی و هیپوپروتئینمی بیش‌تر است(۱۳). Salas وهمکارانش(۱۹۸۰) نشان دادند که در الگوی الکتروفورز SDS در بیماران بدخیم باندهای بیش‌تری ملاحظه می‌شود و در آن، اثرکنندهای منفی فازحادکاهش و مثبت فاز حاد افزایش می‌یابد(۱٤). در ادنوکارسینومای معده، فراکسیون آلفا-۱ به علت افزایش غلظت آلفا-۱ اسید گلیکوپروتئین افزایش می‌یابد(۱۸). در لنفوم(۱۹)، لوسمی(۲۰) وبیماری هوچکین (۲۱) نیزالگوی مشابه فازحادگزارش شده است. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که در انواع مختلف سرطان، بدون

www.SID.ir

Archive of SID

توجه به ماهیت و مرحله تومور، غلظت اثرکننده‌های فاز حاد افزایش و غلظت اثرکننده‌های منفی فاز حاد کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان از الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم برای پیش‌بینی و غربالگری بیماران بدخیم در مراحل اولیه استفاده نمود. شرکت سبیا (فرانسه) و هلنا (آمریکا) الگوی الکتروفورزی برای پروتئین‌های سرم در حالت نئوپلاسم ارائه داده‌اند. با این وجود، الگوی فوق به صورت هیچ مقاله معتبری ارائه و تأیید نشده و در کتب مرجع شیمی بالینی و انکولوژی نیز گزارش نشده است(۱). از این رو بررسی الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم در حالت نئوپلاسم، ضروری به‌نظر می‌رسد. دراین تحقیق الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم افراد مبتلا به انواع مختلف سرطان، نسبت به افراد سالم بررسی می گردد.

مواد و روش ها

طرح تحقیق، نمونه ها و جمع آوری داده ها:

هشتادوپنج فردمبتلا به سرطان‌های مختلف که وجود تومور درآن‌ها توسط‌پزشک متخصص انکولوژی توسط آزمون‌های بیوشیمیایی،آسیب‌شناسی و پرتونگاری ثابت شده است و ۸۵ فرد سالم که دارای هیچ گونه بیماری خاص نبوده و از نظر سن و جنس با گروه نمونه منطبق هستند، به عنوان شاهد انتخاب شدند.

آزمون‌های بیوشیمیایی و خون‌شناسی

از افراد گروه مورد و شاهد به صورت ناشتا خون وریدی گرفته وسرم آن جدا و تا اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی در دمای ۴ °C نگه‌داری شد. الکتروفورز پروتئین‌های سرم وسایرسنجش‌های بیوشیمیایی حداکثر در طول یک هفته پس از تهیه سرم انجام شدند. همه متغیرها (بجز وجود یا عدم وجود سرطان) مستقل، قابل اندازه‌گیری و کمی هستند و بر حسب درصد و یا واحد g/dL اندازه‌گیری شدند. هر نمونه سرم دوبار بر روی دو ژل مختلف گزارده شد(inter-assay) ومورد الکتروفورز قرار گرفت و هر نمونه سه بار اسکن (intra-assay) گردید و متوسط آن مورد استفاده قرار گرفت. کیت الکتروفورز پروتئین‌های سرم از شرکت سبیا (فرانسه) و کیت اندازه‌گیری آلبومین به روش برموکرزول از شرکت زیست‌شیمی(تهران) تهیه شد. پروتئین کل توسط روش بیوره اندازه‌گیری شد. برای سنجش آلبومین و پروتئین کل از استاندارد آلبومین استفاده گردید. شمارش لکوسیت‌ها و اندازه‌گیری سرعت سدیمانتاسیون اریتروسیت‌ها (ESR) در آزمایشگاه بیمارستان توسط روش‌های معمول آزمایشگاهی انجام شد.

روش تجزیه و تحلیل داده ها

برای مقایسه نتایج اندازه‌گیری، مقدار متوسط هر فراکسیون پروتئین در هر نمونه توسط t-test نسبت به مقدار متوسط در نمونه شاهد سنجیده شد. برای محاسبه ارتباط بین وجود یا عدم وجود سرطان با متغیرهای مختلف خون‌شناسی و بیوشیمیایی از آزمون بستگی پیرسون و اسپیرمن استفاده گردید. برای محاسبه خطر نسبی(OR) از روش آنالیزچندگانه لوجیستیک(مرحله‌ای و مشروط) استفاده شد. وجود یا عدم وجود سرطان به عنوان‌کمیت وابسته و غلظت فراکسیون مختلف پروتئین به عنوان کمیت وابسته وارد آنالیز شدند. در آنالیز چندگانه لوجیستیک فقط متغیری که در آنالیز تک متغیره معنی‌دار بود، وارد گردید. در جدول ۲×۲ اگر موارد مورد انتظار در یکی از خانه‌ها کمتر از ۵ درصد بود، از آزمون دقیق فیشر استفاده گردید.

یافته‌ها

مقایسه مقدارنسبی(درصد)فراکسیون‌های مختلف پروتئین‌های سرم در سرطان‌های مختلف نسبت به حالت طبیعی.

جدول شماره ۱ نشان می‌هد که در گروه بیماران مبتلا به سرطان نسبت به گروه شاهد غلظت پروتئین کل

www.SID.ir

Archive of SID

(۱/۲ ± ۷/۳ در مقابل ۱/۲ ± ٦/٦ و P≤ ۰/۰۰۰)، نسبت آلبومین به گلوبولین(۰/۳۱±۰/۹۳ درمقابل ۰/۱۸ ± ۱/۱۸ و P≤ ۰/۰۰۰)، درصد فراکسیون آلبومین (۸/۷ ± ٤٦/۹ در مقابل ٤/۲ ± ۵۳/ و P≤ ۰/۰۰۰)، و بتا – گلوبولین (٤/۳ ± ۱۱/٦ درمقابل ۲/۲ ± ۱۳/۲ و P≤ ۰/۰۰۰) به طور معنی‌داری کاهش یافته است. در عین حال درصد فراکسیون آلفا-۱ (۲/۵ ± ۵/۳ در مقابل ۰/۹ ± ۳/۰۱ و P≤۰/۰۰۰) و آلفا-۲ (٤/۹ ± ۱۳/٤ در مقابل ۲/۲ ± ۱۱/۳ و P≤ ۰/۰۰۰) و گاما (۷/۷ ± ۲۲/۸ در مقابل ۳/۲ ± ۱۹/۰ و P≤ ۰/۰۰۰) نیز به طور معنی‌داری افزایش یافته است.

آنالیز لوجیستیک چندگانه.

نتایج آنالیز لوجیستیک چندگانه در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. در این آنالیز، وجود یا نبود سرطان به عنوان متغیر وابسته، غلظت پروتئین کل و آلبومین، درصد (یا غلظت) پنج فراکسیون پروتئین‌های سرم و نیز شمارش لکوسیت‌ها و ESR به عنوان متغیرهای مستقل وارد آنالیز شدند. برای ورود متغیرها از روش مرحله به مرحله استفاده گردید و فقط متغیری که در آنالیز یک متغیره معنی‌دار بود، وارد گردید. در این جدول فرکانس وقوع مقادیرغیرطبیعی متغیرهای مختلف، ضریب بستگی اسپیرمن و خطر نسبی (OR) ارائه شده است. از آن‌جایی که فرکانس وقوع فراکسیون بتای کم‌تر از ٦ درصد در گروه مورد، کم بود، فرکانس وقوع مقدار متوسط این فراکسیون یعنی ۸/۵ درصد مورد آنالیز قرار گرفت. همان طوری که ملاحظه می‌شود در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد، فرکانس وقوع پروتئین کل کم‌تر از ٦/۳g/dL حدود ۱۰برابر، نسبت آلبومین/گلوبولین کم‌تر از ۱/۰۸ حدود ۱۰ برابر، آلبومین کم‌تر از ۵۲ درصد حدود ۳ برابر، آلفا-۱ بیش‌تر از ٤/۵ درصد حدود ۵ برابر، آلفا-۲ بیش‌تر از ۱٤ درصد حدود ۷ برابر، گامای بیش‌تر از ۱۹ درصد حدود ۱/۵ برابر است. خطر نسبی (OR) برای نسبت آلبومین/گلوبولین کم‌تر از ۱/۰۸، آلبومین کم‌تر از۵۲ درصد، آلفا-۱ بیش‌تر از ٤/۵ درصد و آلفا-۲ بیش‌تر از ۱٤ درصد در جمعیت مورد مطالعه تقریباً برابر۸ و در جامعه با سطح اطمینان ۹۵ درصد در حدود حیطه ۳۰-٤ قرار دارد. خطر نسبی (OR) برای گامای بیش‌تر از ۱۹ درصد برابر ۲/۳ و با حدود اطمینان ۹۵ درصد برای جامعه در حیطه ٤/٤- ۱/۲ قرار دارد.

جدول شماره ۱: غلظت پروتئین کل، آلبومین، نتایج خون‌شناسی و نتایج الکتروفورز پروتئین‌های سرم در دو گروه مورد و شاهد.

	گروه طبیعی	گروه مبتلا به سرطان	درصد تغیر	P	مقادیر طبیعی
نتایج آنالیزشیمیایی					
پروتئین کل	۷/۳ ± ۱/۲	٦/٦ ± ۱/۲	۱۰	۰/۰۰۰	٦/۳ – ۸/۳ g/dL
آلبومین	٤/٦ ± ۰/٤	۳/۹ ± ۰/۸	۱۱	۰/۰۰۰	۳/۵ – ۵/۰ g/dL
نتایج هماتولوژی					
WBC	٦۵۰۵±۱۵٦٦	۷۹۷۷±۳۱۱۱	۲۳	۰/۰۰۰	۵۰۰۰ – ۱۰۰۰۰
ESR	۱٤/۱ ± ۹/۵	۳۵/۹ ±۲۳/۵	۱٤۷	۰/۰۰۰	درساعت اول تا۱۷
نتایج الکتروفورز					
آلبومین/گلوبولین	۱/۱۸ ±۰/۱۸	۰/۹۳ ±۰/۳۱	۲۱	۰/۰۰۰	۱/۰۸ – ۱/۸۷
آلبومین	۵۳/ ± ٤/۲	٤٦/۹ ± ۸/۷	۱۲	۰/۰۰۰	٪ ۵۲ – ٦۵
آلفا-۱	۳/۰۱ ± ۰/۹	۵/۳ ± ۲/۵	۷۷	۰/۰۰۰	٪ ۲ – ٤/۵
آلفا-۲	۱۱/۳ ± ۲/۲	۱۳/٤ ± ٤/۹	۱۹	۰/۰۰۰	٪ ۱۰ – ۱٤
بتا	۱۳/۲ ± ۲/۲	۱۱/٦ ± ٤/۳	۱۲	۰/۰۰۱	٪ ٦ – ۱۳
گاما	۱۹/۰ ± ۳/۲	۲۲/۸ ± ۷/۷	۲۰	۰/۰۰۰	٪ ۱۰ – ۱۹

نتایج به صورت متوسط ± انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. نتایج الکتروفورز بصورت درصد فراکسیون‌های مختلف ارائه شده است.WBC یانگرشمارش لکوسیت‌ها و ESR سرعت سدیمانتاسیون اریتروسیت‌ها می باشد

www.SID.ir

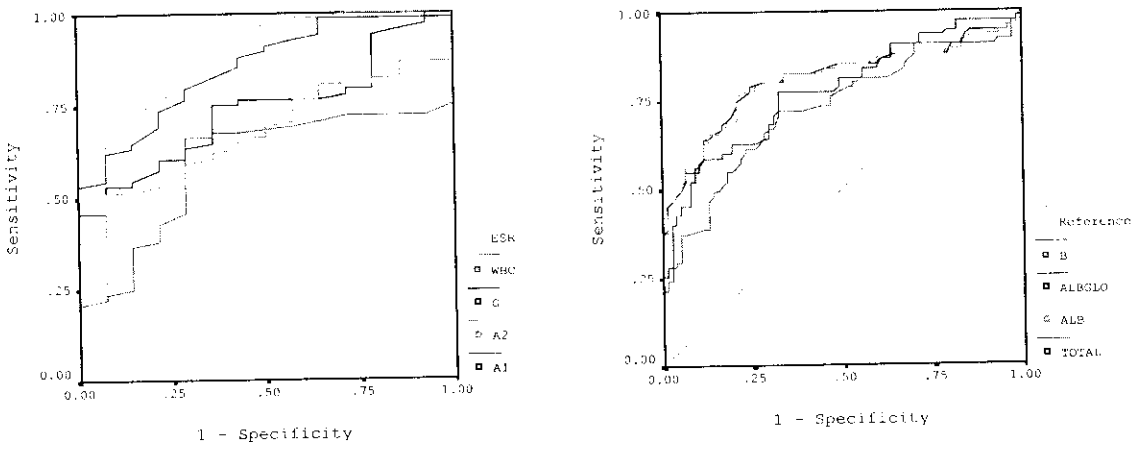
Archive of SID

مقایسه حساسیت و ویژگی آزمون‌های مختلف برای ارزیابی وجود یا عدم وجود فاز حاد (سرطان).

در نمودار شماره ۱ منحنی ROC ارائه شده است، این منحنی حساسیت نسبت به یک منهای ویژگی آزمون‌های مختلف را نشان می‌دهد. هرچه سطح زیر منحنی بیش‌تر باشد، بیانگر حساسیت و ویژگی بیش‌تر و بهتر آزمون است. این نمودارها برای آزمون‌هایی که در فاز حاد افزایش و یا کاهش می‌یابند، در دو نمودار جداگانه ترسیم شده‌اند. سطح زیر منحنی ROC برای کاهش متغیرهای پروتئین کل برابر(۰/۰٤ ± ۰/۷۸ ، P≤ ۰/۰۰۰)، درصد فراکسیون آلبومین (۰/۰٤ ± ۰/۸۱ ، P≤ ۰/۰۰۰)، نسبت آلبومین/گلوبولین (۰/۰٤ ± ۰/۸۱ ، P≤ ۰/۰۰۰) و برای فراکسیون بتا برابر (۰/۰٤ ± ۰/۷۲ ، P≤ ۰/۰۰۰) است. سطح زیر منحنی ROC برای افزایش درصد فراکسیون متغیرهای آلفا-۱ برابر (۰/۰۳ ± ۰/۸٤ ، P≤ ۰/۰۰۰)، آلفا-۲ (۰/۰۵ ± ۰/٦٤ ، P≤ ۰/۰۰۰)، گاما (۰/۰٤ ± ۰/٦۷ ، P≤ ۰/۰۰۰)، شمارش لکوسیت‌ها (۰/۰۷ ± ۰/۵۹ ، P≤ ۰/۰۰۰) و سرعت سدیمانتاسیون اریتروسیت‌ها (۰/۰٦ ± ۰/۸۷ ، P≤ ۰/۰۰۰) است. به‌علت ارتباط متغیرهای پروفیل پروتئین‌های سرم، نتایج فقط به طور جزئی با یکدیگر متفاوت هستند، به هرحال پروتئین کل، نسبت آلبومین/گلوبولین، درصد فراکسیون آلبومین، آلفا- ۱ و ESR از نظر حساسیت و ویژگی آزمون‌های بهتری برای تشخیص فاز حاد می‌باشند.

جدول شماره ۲: آنالیز رگرسیون چندگانه. χ^2 بیانگر مجذور کای، خطر نسبی (OR) و CI بیانگر حدود اطمینان ۹۵ درصد است.

	گروه سالم (فرکانس وقوع)	گروه بیمار (فرکانس وقوع)	χ^2	ضریب بستگی اسپیرمن	P	OR	CI (٪۹۵)
پروتئین کل کم‌تر از ٦/۳	٪۳/۲	٪۳۷	۲۳	۰/۰٤ ± ۰/۰٦	۰/۰۰۰	۱۷/۸	٤/۱ – ۷۸/۱
نسبت آلبومین به گلوبولین کم‌تر از۱/۰۸	٪۵	٪٦۰	۲۹/٤	۰/۰۷ ± ۰/٤۵	۰/۰۰۰	۸/٦	۳/۷ – ۱۹/۸
آلبومین کم‌تر از ۵۲٪	٪۲۲	٪۷۰	۳۰	۰/۰۷ ± ۰/٤۷	۰/۰۰۰	۸/۲	۳/۷ – ۱۸/۱
آلفا-۱ بیش‌تر از ٤/۵٪	٪۹/٤	٪۵۲	۲۹/۹	۰/۰۷ ± ۰/٤۵	۰/۰۰۰	۱۰/۷	٤/۱ – ۲۷/٤
آلفا-۲ بیش‌تر از ۱٤٪	٪٦/۳	٪٤٦/۳	۲۸/۱	۰/۰٦ ± ۰/٤٤	۰/۰۰۰	۱۳	٤/۳ – ۳۹
بتای کم‌تر از ۸/۵٪	٪٤/۸	٪۲٤/۵	۱۰	۰/۰۷ ± ۰/۲۷	۰/۰۰۱	٦/۵	۱/۸ – ۲۲/۸
گامای بیش‌تر از ۱۹٪	٪٤۵	٪٦۵	۵/۷	۰/۰۸ ± ۰/۲۰	۰/۰۲	۲/۳	۱/۲ – ٤/٤



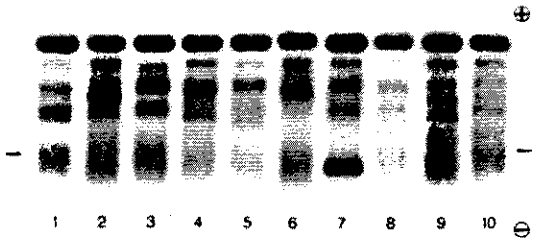
نمودار شماره ۱: مقایسه حساسیت و ویژگی آزمون‌های مختلف برای ارزیابی وجود یا عدم وجود فاز حاد (سرطان). منحنی ROC حساسیت نسبت به ۱- ویژگی و یا فرکانس مثبت واقعی در مقابل فرکانس مثبت کاذب را برای آزمون‌های مختلف نشان می دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

یک ژل نمونه‌الکتروفورز پروتئین‌های سرم درسرطان‌های مختلف و حالت طبیعی.

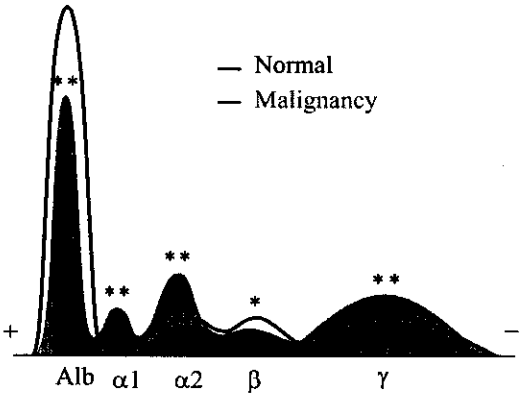
برای مقایسه الگوی‌الکتروفورز پروتئین‌های سرم در سرطان‌های مختلف، نسبت به حالت طبیعی، یک نمونه طبیعی و ۹ نمونه سرم سرطان‌های مختلف روی یک ژل الکتروفورز شدند (نمودار شماره ۲). نمونه‌ها از شماره ۱ تا ۱۰ به ترتیب مربوط به نمونه طبیعی و سرطان‌های تخمدان، پستان، ریه، کولون، پانکراس، رکتوم، معده، کبدو مری می‌باشند. تقریباً درتمام مواردسرطانی انتخاب شده، فراکسیون آلبومین و بتا کاهش و فراکسیون‌های آلفا-۱، آلفا-۲ و گاما افزایش یافته اند.



نمودار شماره ۲ : یک ژل نمونه. نمونه‌ها از شماره ۱ تا ۱۰ به ترتیب مربوط به نمونه طبیعی و سرطان‌های تخمدان، پستان، ریه، کولون، پانکراس، رکتوم، معده، کبد و مری می‌باشند. تقریباً در تمام موارد سرطانی انتخاب شده، فراکسیون آلبومین و بتاکاهش و فراکسیون‌های آلفا-۲ و گاما افزایش یافته‌اند. در نمونه منحصر بفرد شماره ۷ پاراپروتئین به صورت یک باند ضخیم در ناحیه گاما دیده می‌شود که احتمالاً به علت درگیری لنفوسیت‌های- B می‌باشد.

مقایسه الکتروفوروگرام اسکن شده پروتئین‌های سرم در حالت سرطان نسبت به حالت طبیعی.

در نمودار شماره ۳ الگوی الکتروفوروگرام اسکن شده پروتئین‌های سرم در حالت سرطان نسبت به حالت طبیعی مقایسه شده است. ملاحظه می‌گردد که درصد فراکسیون آلبومین و بتا- گلوبولین به طور معنی‌دار کاهش ولی درصد فراکسیون‌های آلفا-۱، آلفا-۲ و گاما افزایش یافته است.



نمودار شماره ۳ : مقایسه الکتروفوروگرام اسکن شده پروتئین‌های سرم در حالت بدخیم نسبت به حالت طبیعی.
* و ** بیانگر اختلاف میانگین نمونه از میانگین مقدار طبیعی در سطح اطمینان $P\leq ۰/۰۰۱$ و $P\leq ۰/۰۰۰$ است.

بحث

بر اساس یافته‌های این تحقیق، غلظت پروتئین کل، آلبومین و درصد فراکسیون پروتئین‌های مختلف سرم افراد سالم شرکت کننده دراین مطالعه در حیطه طبیعی قرار گرفته است. در صورتی که در بیماران مبتلا به سرطان، نسبت به گروه سالم، غلظت پروتئین کل و آلبومین، نسبت آلبومین به گلوبولین، درصد فراکسیون آلبومین و بتا- گلوبولین به طور معنی‌دار کاهش ولی درصد فراکسیون‌های آلفا-۱، آلفا-۲ و گاما افزایش یافته است. بنابراین الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم (با پنج فراکسیون روی ژل آگارز) در انواع مختلف سرطان مشابه الگوی تغییر پروتئین‌ها طی واکنش فاز حاد است. نتایج این مطالعه ضمن تایید یافته‌های قبلی (۱۳،۱۴،۱۸تا۲۱)، الگوی الکتروفورزی که توسط شرکت سبیا (فرانسه) و هلنا (آمریکا) برای تشخیص بیماران بدخیم ارائه شده است را نیز تایید می‌نماید. اثرکننده‌های

www.SID.ir

Archive of SID

فاز حاد گروه متنوعی از پروتئین‌ها هستند که اصولاً در فراکسیون‌های آلفا-۱، آلفا-۲ و بتا پراکنده‌اند. غلظت اثرکننده‌های فاز حاد در شرایط مختلف پاتولوژیک مانند عفونت، التهاب، سرطان، جراحی، هپاتیت و سکته قلبی تغییر می‌کند. این پاسخ از طریق فاکتور نکروز تومور- آلفا (TNF-α)، اینترلوکین -۱ و -۶ (IL-1, -6) و سایر سیتوکین‌ها وساطت می‌گردد. آلبومین مهم‌ترین اثرکننده منفی فاز حاد است که تغییرات آن در الگوی الکتروفورز بخوبی قابل مشاهده است. آلفا-۱ اسید گلیکوپروتئین و آلفا-۱ آنتی تریپسین مهم‌ترین اثرکننده مثبت در فراکسیون آلفا-۱، هاپتوگلوبین و سرولوپلاسمین مهم‌ترین اثرکننده مثبت فاز حاد در فراکسیون آلفا-۲ می‌باشند. در پاسخ به کاهش فشار انکوتیک ناشی ازکاهش غلظت‌آلبومین، سنتز و متعاقباً غلظت آلفا-۲ ماکروگلوبین در سرم و در فراکسیون آلفا-۲ نیز افزایش می‌یابد. ترانسفرین مهم‌ترین اثرکننده منفی فاز حاد در فراکسیون بتا است (۱).

نتایج آنالیز رگسیون لوجیستیک نشان می‌دهد که بین فرکانس وقوع سرطان و غلظت پروتئین کل، آلبومین و درصد فراکسیون‌های مختلف پروتئین سرم ارتباط معنی‌دار وجود دارد. از آن‌جایی که غلظت فراکسیون پروتئین‌های مختلف سرم با یکدیگر و با پروتئین کل رابطه دارند، ضریب بستگی برای آنها تقریبا مشابه است. در آنالیز رگرسیون اگرچه تغییرات همه متغیرها به شدت معنی‌دار بود، کاهش غلظت پروتئین کل، نسبت آلبومین به گلوبولین و افزایش فراکسیون آلفا-۱ بهترین شاخص‌های افتراقی سرطان از حالت طبیعی بودند. نتایج فوق با نتایج تحقیقات دیگران نیز منطبق است. این مطالعات نشان دادند که افزایش فراکسیون آلفا-۱ در سرطان ریه (۹)، افزایش فراکسیون آلفا-۲ و کاهش فراکسیون بتا در لنفوما (۱۹)، کاهش غلظت پروتئین کل و آلبومین و افزایش گلوبولین‌ها در لوسمی(۲۰) و کاهش نسبت فراکسیون آلبومین به آلفا-۲ در بیماری هوچیکین(۲۱) بهترین شاخص عمومی و غیرویژه سرطان می‌باشند. به هر حال باید در نظر داشت که اثرکننده‌های فاز حاد، ویژه نیستند وغلظت نسبی (درصد) یا مطلق آن‌ها در بسیاری از شرایط دیگر بجز حالت بدخیمی مانند التهاب، عفونت، جراحی و انفارکتوس میوکارد نیز افزایش می‌یابد. بنابراین در شرایطی که نشانه‌های التهاب، عفونت، سیروز کبدی، جراحی و انفارکتوس میوکارد وجود ندارد، وجود چنین الگویی می‌تواند یک پیش آگهی مناسب برای وجود حالت بدخیمی باشد. سپس بیماری توسط آزمون‌های ویژه تر مورد آزمایش و تأیید قرار می‌گیرد.

نتایج‌آنالیز دیاگرام ROC نشان می‌دهدکه حساسیت و ویژگی متغیرهای موجود در پروفیل پروتئین‌های سرم برای تشخیص حالت بدخیمی از نظر آماری قابل قبول و به‌طور تقریب در یک حدود می‌باشند. ولی به هر حال به‌طور جزیی حساسیت و ویژگی آزمون‌های غلظت پروتئین کل، نسبت آلبومین به گلوبولین و افزایش فراکسیون آلفا-۱ و نیز سرعت سدیمانتاسیون اریتروسیت‌ها از بقیه آزمون‌ها بیش‌تر است. علاوه براین، نتایج آنالیز ROC و رگرسیون لوجیستیک با یکدیگر منطبق می‌باشد. یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که در انواع سرطان، بدون توجه به نوع و مرحله آن‌ها الگوی مشابه واکنش فاز حاد مشاهده می‌شود و پروفیل مشاهده شده به طور قابل توجه با پروفیل حالت طبیعی متفاوت می‌باشد. اگرچه نتایج این تحقیق، نتایج قبلی دو شرکت بیوشیمیایی سبیا(فرانسه) و هلنا(آمریکا) را تأییدمی‌نماید، باید توجه داشت که الگوی مشاهده شده در پروفیل پروتئین‌های سرم در سایر حالت‌های فاز حاد نیز ملاحظه می‌گردد. از این‌رو برای نسبت دادن این الگو به حالت بدخیمی، سایر موارد فاز حاد باید تشخیص و کنار گذاشته شوند. به هرحال برای تعیین ارزش بالینی پروفیل پروتئین‌های سرم در غربالگری افراد مبتلا به بیماری‌های بدخیم نیاز به یک مطالعه پیگیرانه می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

فهرست منابع

1. Chan D.W, Sell S. Tumor markers. In Burtis C.A. and Ashwood E.R. (eds.): ***Tietz textbook of clinical biochemistry.*** 3th ed, Philadelphia, W.B. Saunders, 1999.
2. Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. ***Ann. NY Acad. Sci.,*** 1989; 557: 39-46.
3. Hansen JE, Iversen J, Lihme A, Bog-Hansen TC. Acute phase reaction, heterogeneity, and microheterogeneity of serum proteins as nonspecific tumor markers in lung cancer. ***Cancer.*** 1987; 60(7): 1630-5.
4. Bankey PE, Mazuski JE, Ortiz M, Fulco JM, Cerra FB. Hepatic acute phase protein synthesis is indirectly regulated by tumor necrosis factor. ***J Trauma*** 1990 Oct 30: 1181-7; discussion 1187-8.
5. Mier JW, Dinarello CA, Atkins MB, Punsal PI, Perlmutter DH. Regulation of hepatic protein synthesis by products of interleukin 2 (IL-2) stimulated human peripheral blood mononuclear cells. ***J Immunol,*** 1987; 139(4): 1268-72.
6. Walker C,Gray BN. Acute-phase reactant proteins and carcinoembryonic antigen in cancer of the colon and rectum. ***Cancer*** 1983; 52: 150-4.
7. Durdey P, Williams NS, Brown DA. Serum carcinoembryonic antigen and acute phase reactant proteins in the pre-operative detection of fixation of colorectal tumours ***Br J Surg*** 1984; 71: 881-4.
8. Ganz PA, Baras M, Ma PY, Elashoff RM. Monitoring the therapy of lung cancer with alpha-1 acid glycoprotein. ***Cancer Res.*** 1984; 44(11): 5415-21.
9. Kundin WD, Mechali P, Hollinshead AC, Bensimon H, Miller H. Cancer serum index: a useful nonspecific test as a parameter in multimodality screening and assessment of patients with cancer of the prostate. ***Prostate,*** 1981; 2(2): 207-17.
10. MacNamara EM,Whicher JT.Electrophoresis and densitometry of serum and urine in the investigation and significance of monoclonal immunoglobulins. ***Electrophoresis*** 1990; 11: 376-81.
11. Wright GL. Two-dimensional acrylamide gel electrophoresis of cancer-patient serum proteins. ***Ann Clin Lab Sci*** 1974; 4: 281-93.
12. Yoshida M, Itoh M, Imai T, Tanimoto Y, Sakurabayashi I, Furuya S. Analysis of two-dimensional electrophoretic patterns of proteins obtained from the sera of normal and tumor-bearing nude rats. ***Electrophoresis,*** 1991; 12: 80-3.
13. Daae LN, Engeland A, Freng A. Serum proteins in patients with recently discovered cancer in the oral cavity/ throat. What experiences were gained by measurements of concentration and

www.SID.ir

Archive of SID

electrophoresis? ***Tidsskr Nor Laegeforen*** 1997; 117: 3671-3 [abstract].

14. Salas-Valdes A, Sanchez-Hidalgo VM, Rabago-Velasco M, Sanchez-Leon P, Vargas C,Salas-Valdés R.Polyacrylamide gel electrophoresis in human serum proteins in "normal" individuals and cancer patients. ***Arch Invest Med*** (Mex), 1980; 11: 31-47.
15. Patel PS, Raval GN, Patel MM, Balar D, Patel DD. Electrophoretic pattern of serum glycoproteins on polyacrylamide disc gel in patients with breast cancer. ***Anticancer Res,*** 1996; 16: 2089-94.
16. MP Chowdhury, Talukder G, Sharma A. Serum protein patterns in adenocarcinoma of breast and rectum. ***J Indian Med Assoc,*** 1986; 97(1): 12-5.
17. Lee YT, Chandor SB, Weiner JM. Serum protein electrophoresis and immunoglobulin levels in breast carcinoma. ***Med Pediatr Oncol,*** 1976; 2(4): 397-402.
18. Tatman AJ, Wrigley SR, Jones RM. Resistance to atracurium in a patient with an increase in plasma alpha 1 globulins. ***Br J Anaesth,*** 1991; 67: 623-5.
19. Jacobs RM, Valli VE, Wilkie BN. Serum electrophoresis and immunoglobulin concentration in cows with lymphoma. ***Am. J. Vet. Res.,*** 1980; 41(12): 1942-6.
20. Wiedermann D, Wiedermann B, Curobak L. Acute phase protein profiles in hairy-cell leukemia. Study in 50 patients. Effects of splenectomy. ***Neoplasma.*** 1984; 31(5): 565-72.
21. Gobbi PG, Gendarini A, Crema A. Serum albumin in Hodgkin's disease. ***Cancer,*** 1985; 55(2): 389-93.

www.SID.ir