

بررسی سطح آنزیم پیرووات دهیدروژناز در افراد مبتلا به عود لنفوم سلول B منتشر

چکیده

دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۲ ویرایش: ۱۳۹۷/۰۸/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۲۴ آنلاین: ۱۳۹۹/۰۲/۳۱

زمینه و هدف: لنفوم سلول B منتشر بیشترین موارد لنفوم غیرهوچکین که خود شایعترین نوع لنفوم می‌باشد را تشکیل می‌دهد. پدیده عود مانند بسیاری از بدخیمی‌های دیگر در این سرطان نیز رخ می‌دهد. در حال حاضر روش استاندارد جهت تشخیص عود وجود ندارد. از طرفی بررسی‌هایی نشان داده که کاهش آنزیم پیرووات دهیدروژناز در انواع بدخیمی‌ها نسبت به سلول سالم مشاهده شده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی سطح این آنزیم در بیماران مبتلا به عود لنفوم سلول B منتشر در مقایسه با افراد سالم طراحی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۲۶ بیمار مبتلا به عود لنفوم سلول B منتشر و ۲۶ فرد سالم وارد مطالعه شدند. بیماران از شهریور ۱۳۹۵ تا شهریور ۱۳۹۷ از مرکز آموزشی درمانی سیدالشهدای اصفهان انتخاب شدند. انتخاب بیماران تصادفی بوده و معیارهای ورود براساس سن، بیلی‌روبین توتال، سی‌تی‌اسکن، کراتینین سرم، تعداد پلاکت، تعداد مطلق نوتروفیل و فاصله تا آخرین نوبت درمان در نظر گرفته شدند. پس از دریافت رضایت آگاهانه و گرفتن نمونه سرم براساس پروتکل کیت، میزان آنزیم پیرووات دهیدروژناز در نمونه‌ها محاسبه گردید.

یافته‌ها: سطح آنزیم پیرووات دهیدروژناز در افراد مبتلا به عود نسبت به افراد سالم پایین‌تر گزارش شد. بررسی سطح آنزیم به تفکیک سن و جنس نیز محاسبه گردید که اختلاف معناداری نداشتند.

نتیجه‌گیری: در افراد با عود لنفوم نیز سطوح آنزیم پیرووات دهیدروژناز نسبت به افراد سالم به‌صورت معناداری پایین‌تر بوده اما این تفاوت با سن و جنس مرتبط نبود.

کلمات کلیدی: لنفوم سلول B، دوسوکور، آنزیم پیرووات دهیدروژناز، عود.

علی هادی^۱، ولی‌الله مهرزاد^۲، نازنین وزیر^۳، لاله شریعتی^۴، گلناز واتقی^{۵*}

- ۱- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
- ۲- گروه انکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
- ۳- گروه زیست‌شناسی-سلولی مولکولی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۴- مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی اصفهان، پژوهشگاه قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
- ۵- مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، پژوهشگاه قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

* نویسنده مسئول: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات قلب و عروق.

تلفن: ۳۱-۳۷۹۲۲۸۳۶
E-mail: golnazvazeghi@yahoo.com

مقدمه

درمان استاندارد و طی پنج سال این عدد حدود ۷٪ برآورد شده است.^۱ عود در لنفوم سلول B منتشر می‌تواند در ابتدا بدون علامت باشد به‌همین دلیل اغلب طی بررسی‌های روتین حین پیگیری تشخیص داده می‌شوند. به‌علت پیش‌آگهی پایین موارد عود، انجام بیوپسی اکسیژنال ضروری بوده و جهت مرحله‌بندی مجدد، بیوپسی مغز استخوان به همراه سی‌تی‌اسکن قفسه صدری، شکم و لگن در تمامی موارد انجام می‌گیرد.^۲ براساس پژوهش‌های به‌عمل آمده سی‌تی‌اسکن خود به‌دلیل تاثیر روی سلول‌ها، شانس ابتلا به سرطان را

لنفوم سلول B منتشر (Diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) شایعترین نوع لنفوم سلول‌های B در بالغین شناخته شده و جزو دسته لنفوم‌های غیرهوچکین طبقه‌بندی می‌شود. شیوع این لنفوم در سنین مختلف و در هر دو جنس نیز در حال افزایش می‌باشد.^۱ همانند بسیاری از سرطان‌های دیگر، پدیده عود مجدد در لنفوم نیز شایع است، اما در خصوص لنفوم سلول B منتشر طی پژوهشی با

تحت روش درمانی قرار گرفته باشند و عود لنفوم سلول B منتشر در آن‌ها با فاصله زمانی بیشتر از دو ماه از آخرین نوبت درمان رخ داده باشد. معیارهای ورود شامل سن بیشتر از ۱۸ سال، معیار وضعیت کارایی بین صفر تا یک، قابل اندازه‌گیری بودن به وسیله سی تی اسکن، تعداد مطلق نوتروفیل ≤ 1000 در میلی‌لیتر، تعداد پلاکت ≤ 75000 در میلی‌لیتر، کراتینین نرمال سرم، بیلی‌روبین توتال ≥ 2 برابر حداکثر میزان نرمال، آلانین آمینوترانسفراز $\geq 2/5$ برابر حداکثر میزان نرمال، اسپاراتات آمینوترانسفراز $\geq 2/5$ برابر حداکثر میزان نرمال آن بودند.^{۱۱} فرم رضایت آگاهانه از تمامی افراد مشارکت داشته گرفته شد. سپس نمونه‌های پلاسما از بیماران مبتلا به عود و افراد سالم گرفته شده و داده‌های دموگرافیک شامل سن و جنسیت از طریق سوابق پزشکی ایشان نیز استخراج گردید. تعداد بیماران ۲۶ و معادل آن نیز نمونه شاهد (سالم) انتخاب گردید.

میزان کلی پروتیین در سرم بیماران به روش (Bradford method) محاسبه شد. اندازه‌گیری پروفایلینگ آنزیم پیرووات دهیدروژناز از طریق کالوریمتری مخصوص پیرووات دهیدروژناز با کیت مخصوص و در ۹۶ چاهک انجام شد. دستگاه، افزایش جذب را در طول موج ۴۵۰ nm و در طی زمان محاسبه کرد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار محاسبه شد. از آزمون Student's t-test برای مقایسه بین دو گروه و از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) برای اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده گردید. عدد $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد و آنالیز داده‌ها با SPSS software, version 16 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) انجام گردید.

یافته‌ها

در بررسی حاضر که بر روی ۲۶ فرد مبتلا به عود لنفوم سلول B منتشر و ۲۶ فرد سالم انجام شده است نتایج زیر به دست آمده است: براساس جدول ۱ داده‌های توصیفی افراد مورد مطالعه در دو گروه بیمار و شاهد مقایسه شده است. با توجه به عدد $P < 0/05$ تفاوت معناداری بین دو گروه از این نظر وجود نداشته است. همچنین در این جدول میزان سطح کلی پروتیین در دو گروه نشان داده شده و با عدد $P = 0/04$ این میزان در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد به طور معناداری بالاتر گزارش شده است. برای مقایسه میانگین سطح

افزایش می‌دهد.^۴ از دیگر معایب آن تردید در دقت استفاده از سی تی در برخی مطالعات و همچنین قیمت بالای آن می‌باشد.^۵ تغییر بیان برخی آنزیم‌ها و پروتیین‌های موثر در مسیرهای گلیکولیتیک که تحت عنوان کمپلکس پیرووات دهیدروژناز شناخته می‌شوند می‌تواند با سرطان‌های بسیاری مرتبط باشد. از جمله آن‌ها سرطان کولورکتال، مری، معده، نازوفارنژال و مجاری صفراوی بوده که افزون‌بر استفاده تشخیصی از سطوح این آنزیم‌ها، پیش‌آگهی برخی سرطان‌های بیان‌شده نیز به صورت معناداری بدتر گشته و بقای افراد مبتلا کاهش می‌یابد.^۶ از جمله آنزیم‌های موجود در میتوکندری که در مسیرهای گلیکولیتیک فعالیت دارد پیرووات دهیدروژناز است که نقش آن تبدیل پیرووات به عنوان محصول گلیکولیز به استیل کوا به عنوان ماده مصرفی چرخه اسیدسیتریک (کربس) می‌باشد و در واقع به عنوان پلی‌بین دوچرخه گلیکولیز و اسیدسیتریک که مسئول تنفس سلولی هستند عمل می‌کند.^۷ استیل کوا در نهایت با اگزوالستات واکنش نشان داده و سیترات را تشکیل می‌دهند. در سلول‌های سرطانی مهار فعالیت پیرووات دهیدروژناز و در مقابل آن افزایش فعالیت آنزیم پیرووات دهیدروژناز کیناز به عنوان مهارکننده پیرووات دهیدروژناز منجر به تغییر مسیر انرژی سلول از اکسیداسیون گلوکز در میتوکندری به گلیکولیز سیتوپلاسمیک می‌گردد.^۸ پیرووات دهیدروژناز نیز از جمله موارد موثر بر پیش‌آگهی برخی سرطان‌ها مانند سرطان معده به صورت مستقل بوده به صورتی که بیان بیشتر آن با پیش‌آگهی بهتری همراه بوده است.^۹ ارتباط بین بیان این آنزیم با تهاجم و همچنین پیش‌آگهی سرطان ریه از نوع کارسینوما غیرسلول کوچک نتیجه‌گیری شد.^{۱۰} هدف از انجام این مطالعه بررسی سطح این آنزیم در بیماران مبتلا به عود مجدد لنفوم و مقایسه با افراد سالم بود.

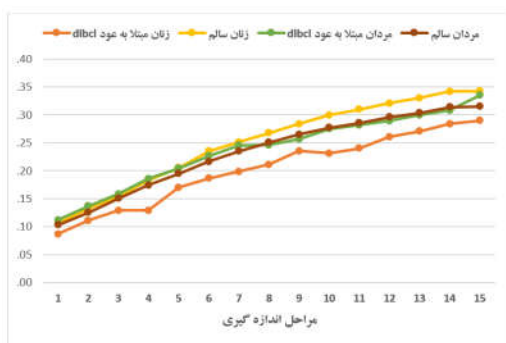
روش بررسی

این مطالعه از نوع مطالعه مورد-شاهدی و انتخاب بیماران به صورت تصادفی بوده است. بیماران دچار عود لنفوم سلول B منتشر از بیمارستان سیدالشهدا (امید) اصفهان به عنوان مرکز درمانی بیماران سرطانی و بین سال‌های ۱۳۹۵ تا ۱۳۹۷ انتخاب شدند. بیماران با لنفوم سلول B منتشر مجدد یا بیماری تغییر یافته به لنفوم سلول B منتشر در صورتی انتخاب می‌شدند که پیش‌تر به قصد درمان کامل

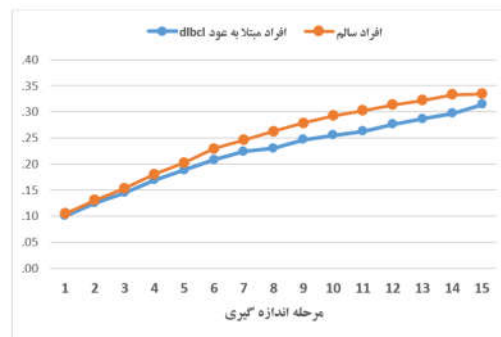
جدول ۱: داده‌های توصیفی افراد به همراه مقایسه آن‌ها در دو گروه سالم و بیمار به همراه مقایسه سطح کلی پروتیین در دو گروه

P	افراد سالم	افراد مبتلا به عود لنفوم سلول B منتشر	
۰/۵۶	۸/۹±۳۴/۸	۱۷/۳±۳۷/۲	انحراف معیار± میانگین سن
۰/۰۹	۳۰/۸	۵۳/۸	جنسیت (مرد(درصد)
**۰/۰۰۴	۰/۱±۲/۷	۰/۳±۲/۹	انحراف معیار± میانگین غلظت پروتیین

* از آزمون Student's t-test برای مقایسه بین دو گروه و از آزمون آنالیز واریانس برای اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده گشت. $P < 0.01$ در مقایسه بین دو گروه معنادار در نظر گرفته شده است.



نمودار ۲: مقایسه روند پیروات دهیدروژناز در دو گروه سالم و بیمار بر حسب جنسیت



نمودار ۱: بررسی روند آنزیم پیروات دهیدروژناز در دو گروه سالم و بیمار و مقایسه آن‌ها

دست آمده از آزمون آنالیز واریانس برای اندازه‌گیری‌های مکرر، جنسیت و سن بیماران تاثیری در تفاوت ایجاد شده در میانگین سطح پیروات دهیدروژناز در افراد مبتلا به عود لنفوم سلول B منتشر و افراد سالم ندارد ($P=0.86$).

بحث

در پژوهشی که توسط Koukourak انجام شد در بخشی از آن بیان پیروات دهیدروژناز در سلول‌های سرطانی در کانسر ریه نوع سلول کوچک بررسی شد. در نهایت نتیجه آن با پژوهش حاضر همخوانی داشت به‌صورتی که اکثریت سلول‌های سرطانی دچار نقص در بیان پیروات دهیدروژناز بودند و افزون‌بر آن پیش‌آگهی نیز در سلول‌هایی که از این نقص برخوردار نیستند بهتر گزارش شد.^{۱۰} در

پیروات دهیدروژناز در مراحل مختلف اندازه‌گیری در افراد مبتلا به عود لنفوم سلول B منتشر و افراد سالم از آزمون آنالیز واریانس برای اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده شده است. همانطور که در نمودار ۱ دیده می‌شود شاهد یک روند افزایشی در میانگین سطح پیروات دهیدروژناز در هر دو گروه هستیم. براساس نتایج آنالیز واریانس برای اندازه‌گیری‌های مکرر این روند افزایش معنادار است و وقتی به مقایسه دو گروه می‌پردازیم از نتایج آزمون مشخص می‌شود که با در نظر گرفتن هر ۱۵ مرحله، تفاوت مشاهده شده بین دو گروه از نظر آماری معنادار است. لازم به یادآوری است که براساس بررسی‌های انجام شده، میزان پیروات دهیدروژناز در ابتدای مطالعه در دو گروه تفاوت معناداری ندارد. طبق آنچه در نمودار ۲ نشان داده شده است در بررسی‌های بعدی اثر جنسیت و سن بر میانگین سطح پیروات دهیدروژناز در دو گروه مورد بررسی نیز کنترل شد و طبق نتایج به

ضروری به نظر می‌رسد. همچنین با وجود مشاهده ارتباط پیروات دهیدروژناز با عود لنفوم نسبت به افراد سالم به علت حجم نمونه پایین در این مطالعه پژوهش‌های بیشتر در این زمینه مورد نیاز است. از دیگر موارد در این قسمت می‌توان به محدود بودن مطالعه به نوع خاصی از لنفوم اشاره کرد و برای جانشین‌سازی استفاده از این آنزیم در موارد عود به جای سی‌تی‌اسکن پژوهش در مورد انواع دیگر لنفوم نیز توصیه می‌شود. توصیه دیگر بررسی نسبت پیش‌آگهی با پیروات دهیدروژناز در افراد مبتلا به لنفوم یا عود آن است که در این مطالعه انجام نپذیرفت. سطح آنزیم پیروات دهیدروژناز در افراد با عود لنفوم سلول B منتشر به صورت معناداری نسبت به افراد سالم بالاتر بود سن و جنسیت در این تفاوت نقشی نداشت. میزان کلی پروتیین نیز در افراد بیمار به صورت معناداری نسبت به افراد سالم بیشتر بود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی سطح آنزیم پیروات دهیدروژناز در افراد مبتلا به عود لنفوم سلول B منتشر" در مقطع دکترای پزشکی در سال ۱۳۹۸ و کد ۲۹۳۴۰۸ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان اجرا شده است.

مطالعه‌ای دیگر نیز افزون بر بررسی سطح پیروات دهیدروژناز در سرطان معده، اثر آن بر پیش‌آگهی نیز مطالعه گردید. در این پژوهش نیز مشابه با مطالعه حاضر، بیان پیروات دهیدروژناز در سلول‌های سرطانی به صورت معناداری نسبت به مخاط سالم کمتر گزارش شد و همچنین با بیان کمتر آن در سرطان معده پیش‌آگهی نیز به طور معناداری بدتر می‌شد.^۹ پژوهش‌های دیگر نیز در این زمینه انجام پذیرفته که قریب به اتفاق کاهش بیان یا فعالیت پیروات دهیدروژناز را در سلول‌های سرطانی نشان داده‌اند. با این حال تاکنون پژوهشی در رابطه با ارتباط این آنزیم با لنفوم صورت نگرفته است و به همین دلیل و با توجه به مطالعات پیشین فرض بر این گرفته شد که می‌توان در آینده از آن در تشخیص بیماران با عود لنفوم سلول B منتشر استفاده کرد. از آنجایی که تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با سطح آنزیم پیروات دهیدروژناز و لنفوم صورت نگرفته، از این رو دو گروه مورد مقایسه افراد سالم و افراد مبتلا به عود در نظر گرفته شدند، اما مقایسه سطوح این آنزیم در بین افراد سالم با افراد مبتلا به لنفوم یا افراد مبتلا به لنفوم درمان شده با افراد مبتلا به عود در پژوهش‌های آتی هم

References

1. Tilly H, Dreyling M; ESMO Guidelines Working Group. Diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010;21 Suppl 5:v172-4.
2. Coiffier B, Thieblemont C, Van Den Neste E, Lepage G, Plantier I, Castaigne S, et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Blood* 2010;116(12):2040-5.
3. Hamlin PA, Zelenetz AD, Kewalramani T, Qin J, Satagopan JM, Verbel D, et al. Age-adjusted International Prognostic Index predicts autologous stem cell transplantation outcome for patients with relapsed or primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003;102(6):1989-96.
4. Brenner DJ, Hall EJ. Computed tomography: an increasing source of radiation exposure. *N Engl J Med* 2007;357(22):2277-84.
5. Liedtke M, Hamlin PA, Moskowitz CH, Zelenetz AD. Surveillance imaging during remission identifies a group of patients with more favorable aggressive NHL at time of relapse: a retrospective analysis of a uniformly-treated patient population. *Ann Oncol* 2006;17(6):909-13.
6. Yu M, Chen S, Hong W, Gu Y, Huang B, Lin Y, et al. Prognostic role of glycolysis for cancer outcome: evidence from 86 studies. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019;145(4):967-999.
7. Bonnet S, Archer SL, Allalunis-Turner J, Haromy A, Beaulieu C, Thompson R, et al. A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth. *Cancer Cell* 2007;11(1):37-51.
8. Michelakis ED, Sutendra G, Dromparis P, Webster L, Haromy A, Niven E, et al. Metabolic modulation of glioblastoma with dichloroacetate. *Sci Transl Med* 2010;2(31):31ra34.
9. Sun XR, Sun Z, Zhu Z, Guan HX, Li CY, Zhang JY, et al. Expression of pyruvate dehydrogenase is an independent prognostic marker in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2015;21(17):5336-44.
10. Koukourakis MI, Giatoromanolaki A, Sivridis E, Gatter KC, Harris AL; Tumor and Angiogenesis Research Group. Pyruvate dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase kinase expression in non small cell lung cancer and tumor-associated stroma. *Neoplasia* 2005;7(1):1-6.

Measurement of pyruvate dehydrogenase enzyme in patients with diffuse large B-cell lymphoma relapse

Ali Hadi M.D.¹
 Valiollah Mehrzad M.D.²
 Nazanin Vaziri M.Sc.³
 Lalaeh Shariati Ph.D.⁴
 Golnaz Vaseghi Ph.D.^{5*}

1- Medical student, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
 2- Department of Oncology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
 3- Department of Cellular and Molecular Biology, School of School of Basic Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
 4- Applied Physiology Research Center, Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
 5- Isfahan Cardiovascular Research Center, Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

* Corresponding author: Cardiovascular Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
 Tel: +98-31-37922836
 E-mail: golnazvaseghi@yahoo.com

Abstract

Received: 03 Nov. 2019 Revised: 10 Nov. 2019 Accepted: 13 May 2020 Available online: 20 May 2020

Background: Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common type of non-Hodgkin's lymphoma (NHL), which is the most common type of lymphoma. NHL comprises a group of clinically and biologically diverse diseases, which range from indolent to aggressive clinical courses. Despite treatment advances in the last three decades with the use of combination immunotherapy, a significant fraction of patients relapses or are refractory to these treatments. Actually, there is no standard method for detection of recurrence. The purpose of this study was to evaluate the level of this enzyme in the patients with recurrent DLBCL compared to healthy controls.

Methods: In this randomized double-blind, placebo-controlled trial, the serum level of pyruvate dehydrogenase (PDH) enzyme in total of 26 patients with DLBCL recurrence in compare with 26 healthy individuals in the Sayed Al-Shohada Hospital, Isfahan University of Medical Sciences in Iran from September 2016 to September 2018, were assessed. The clinical data including age criteria, the Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) score rating, total bilirubin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), prothrombin time and international normalized ratio (PT/INR), CT-scan, serum creatinine, platelet count, the absolute number of neutrophils, and the interval until the last treatment were gathered. After obtaining informed consent, blood samples were taken. and the PDH enzyme was measured in case and control groups.

Results: Fifty-three percent of patients were male and the mean age of participants in case and control groups was 37.2 ± 17.3 and 34.8 ± 8.9 , respectively. Subsequently, the PDH levels were measured according to the enzyme protocol. The levels of enzyme in patients with relapse were significantly lower than normal ones ($P=0.0003$). The PDH serum level was also evaluated by age and sex, which did not show any significant differences ($P=0.86$).

Conclusion: In patients with relapsing B-cell lymphoma, the pyruvate dehydrogenase (PDH) enzyme serum levels were significantly lower than healthy subjects, but this difference was not related to age and gender. In the case of further studies and comparisons beyond this study, this enzyme could be a good candidate, used as an alternative diagnosis tool, in patients with recurrent lymphoma.

Keywords: B-cell lymphoma, double-blind method, pyruvate dehydrogenase enzyme, recurrence.