

## 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 می‌دهد که در انواع مختلف سرطان، بدون توجه به ماهیت و مرحله تومور، غلظت اثرکننده‌های مثبت فاز حاد افزایش و غلظت اثرکننده‌های منفی فاز حاد کاهش می‌یابد. 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 به‌صورت کمی، توسط روش دانسیتومتری، اسکن و آنالیز گردید. غلظت پروتئین کل توسط روش بیوره و آلومین توسط روش بروموکرزول-گرین اندازه‌گیری 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 لجیستیک به روش مرحله‌ای و آزمون اسپیرمن و برای مقایسه ویژگی و حساسیت روش‌های سنجش از آنالیز ROC استفاده شد.

**یافته‌ها:** بر اساس یافته‌های این تحقیق، در گروه بیماران مبتلا به سرطان نسبت به گروه شاهد، غلظت پروتئین کل ( $6/6 \pm 1/2$  در مقابل  $7/3 \pm 1/2$ ،  $P \leq 0/000$ )، آلومین ( $3/9 \pm 0/8$  در مقابل  $4/6 \pm 0/4$  و  $P \leq 0/000$ )، نسبت آلومین به گلوبولین ( $0/93 \pm 0/31$  در مقابل  $1/18 \pm 0/18$  و  $P \leq 0/000$ )، درصد فراکسیون آلومین ( $46/9 \pm 8/7$  در مقابل  $53/7 \pm 4/2$  و  $P \leq 0/000$ ) و درصد فراکسیون بتا ( $11/6 \pm 4/3$  در مقابل  $13/2 \pm 2/2$  و  $P \leq 0/000$ ) به طور معنی‌دار کاهش یافت. از سوی دیگر درصد فراکسیون آلفا-۱ ( $5/3 \pm 2/5$  در مقابل  $3/01 \pm 0/9$  و  $P \leq 0/000$ )، آلفا-۲ ( $13/4 \pm 4/9$  در مقابل  $11/3 \pm 2/2$  و  $P \leq 0/000$ ) و گاما ( $22/8 \pm 7/7$  در مقابل  $19/0 \pm 3/2$  و  $P \leq 0/000$ ) نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. در گروه بیمار نسبت به شاهد، شمارش لکوسیت‌ها ( $7977 \pm 3111$  در مقابل  $1066 \pm 6505$  و  $P \leq 0/000$ ) و سرعت سدیماتاسیون اریتروسیت‌ها ( $35/9 \pm 23/5$  در مقابل  $14/1 \pm 9/5$  و  $P \leq 0/000$ ) نیز به طور معنی‌دار افزایش یافت.

نتایج آنالیز لجیستیک چندگانه نشان می‌دهد که نسبت‌شانس (OR) برای مقادیر غیرطبیعی نسبت آلومین به گلوبولین، آلومین، آلفا-۱ و آلفا-۲ تقریباً برابر ۸ (در حدود اطمینان ۹۵ درصد در حیطه ۲۵-۴) قرار می‌گیرد. 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 (بجز گاما-گلوبولین) حدود  $0/07 \pm 0/45$ ،  $P \leq 0/000$  و برای فراکسیون گاما برابر  $0/08 \pm 0/20$ ،  $P \leq 0/01$  بود. این آنالیز نشان داد که پروتئین کل، درصد فراکسیون آلومین و آلفا-۱ بهترین متغیرهای پیش‌بینی کننده وقوع سرطان می‌باشند ( $P \leq 0/000$ ). نتایج آنالیز دیاگرام ROC نشان می‌دهد که حساسیت و ویژگی متغیرهای 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:** آلومین، پروتئین‌های سرم، الکتروفورز، سرطان، فاز حاد

✉ ساری: بلوار خزر- دانشگاه پزشکی  
\*\*\* پزشک عمومی دانشگاه علوم پزشکی مازندران  
تاریخ تصویب: ۸۳/۱۰/۱۶

\* دکتری بیوشیمی بالینی، عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران  
\*\* متخصص انکولوژی، عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران  
تاریخ دریافت: ۸۳/۶/۲۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۳/۸/۱۹

## مقدمه

سرطان، مهم‌ترین علت مرگ و میر است و تشخیص به موقع سرطان، بهترین شانس درمان می‌باشد. متأسفانه 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 و گیرنده‌های آن‌ها، آنتی‌ژن‌های انکوفاصل، اپیتوپ‌های کربوهیدراتی که توسط آنتی‌بادی‌های منوکلونال شناسایی می‌شوند و محصولات انکوژن‌ها و پروتئین‌ها مهم‌ترین نشانگرهای تومور می‌باشند (۲،۳).

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 اثرکننده‌های فاز حاد در بسیاری از بیماری‌های بدخیم تغییر می‌کند (۴ تا ۶). 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 اثرکننده‌های منفی فاز حاد می‌باشند. آزمایش‌های مختلف بر روی سلول‌های کبد نشان می‌دهد که تغییر سرعت ساخت اثرکننده‌های فاز حاد توسط سیتوکین‌های مختلف به‌ویژه فاکتور نکروز تومور - آلفا (TNF- $\alpha$ )، اینترلوکین

۱ و ۶ و واسطت می‌گردد (۴، ۵). محققین تلاش کرده‌اند که از غلظت اثرکننده‌های فاز حاد به عنوان نشانگر تومور استفاده نمایند. Walker و همکارانش (۱۹۸۳) نشان دادند که غلظت اثرکننده‌های فاز حاد APRs (آلفا-۱ اسید گلیکوپروتئین، آلفا-۱ آنتی‌تریپسین، سرولوپلاسمین و ترانسفرین) در سرطان روده - معرج افزایش می‌یابد و راندمان تشخیص آن‌ها بیش‌تر از آنتی‌ژن کارسینوژنیک رویانی (CEA) است (۶). Durdey و همکارانش (۱۹۸۴) نشان دادند که غلظت APRs در سرطان‌های کولون - معرج 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 (۱۰ تا ۱۷). در مولتیل میلوما غلظت پاراپروتئین‌ها در سرم افزایش می‌یابد که در الگوی الکتروفورز بخوبی مشخص است (۱۰). نتایج Daa و همکارانش (۱۹۹۷) نشان می‌دهد که در بیماران مبتلا به بدخیمی نسبت به افراد سالم، فرکانس وقوع هیپوآلبومینمی و هیپوپروتئینمی بیش‌تر است (۱۳). Salas و همکارانش (۱۹۸۰) نشان دادند که در الگوی الکتروفورز SDS در بیماران بدخیم باندهای بیش‌تری ملاحظه می‌شود و در آن، اثرکننده‌های منفی فاز حاد کاهش و مثبت فاز حاد افزایش می‌یابد (۱۴). در ادنوکارسینومای معده، فراکسیون آلفا-۱ به علت افزایش غلظت آلفا-۱ اسید گلیکوپروتئین افزایش می‌یابد (۱۸). در لنفوم (۱۹)، لوسمی (۲۰) و بیماری هوچکین (۲۱) نیز الگوی مشابه فاز حاد گزارش شده است. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که در انواع مختلف سرطان، بدون

ژل مختلف گزارده شد (inter-assay) و مورد 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 سیبا (فرانسه) و کیت اندازه‌گیری آلومین به روش بروموکرزول از شرکت زیست‌شیمی (تهران) تهیه شد. پروتئین کل توسط روش بیوره اندازه‌گیری شد. برای سنجش آلومین و پروتئین کل از استاندارد آلومین استفاده گردید. شمارش لکوسیت‌ها و اندازه‌گیری سرعت سدیماتاسیون اریتروسیت‌ها (ESR) در آزمایشگاه بیمارستان توسط روش‌های معمول آزمایشگاهی انجام شد.

#### روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

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 آنالیز چندگانه لجیستیک (مرحله‌ای و مشروط) استفاده شد. وجود یا عدم وجود سرطان به عنوان کمیت وابسته و غلظت فراکسیون مختلف پروتئین به عنوان کمیت وابسته وارد آنالیز شدند. در آنالیز چندگانه لجیستیک فقط متغیری که در آنالیز تک متغیره معنی‌دار بود، وارد گردید. در جدول  $2 \times 2$  اگر موارد مورد انتظار در یکی از خانه‌ها کمتر از ۵ درصد بود، از آزمون دقیق فیشر استفاده گردید.

#### یافته‌ها

مقایسه مقدار نسبی (درصد) فراکسیون‌های مختلف پروتئین‌های سرم در سرطان‌های مختلف نسبت به حالت طبیعی. جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که در گروه بیماران مبتلا به سرطان نسبت به گروه شاهد غلظت پروتئین کل

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 سیبا (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 یالینی و انکولوژی نیز گزارش نشده است (۱). از این رو بررسی الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم در حالت نئوپلاسم، ضروری به نظر می‌رسد. در این تحقیق الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم افراد مبتلا به انواع مختلف سرطان، نسبت به افراد سالم بررسی می‌گردد.

#### مواد و روش‌ها

طرح تحقیقی، نمونه‌ها و جمع‌آوری داده‌ها:

هشتاد و پنج فرد مبتلا به سرطان‌های مختلف که وجود تومور در آن‌ها توسط پزشک 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 و سرم آن جدا و تا اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری شد. الکتروفورز پروتئین‌های سرم و سایر سنجش‌های 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

متغیره معنی‌دار بود، وارد گردید. در این جدول فرکانس وقوع مقادیر غیر طبیعی متغیرهای مختلف، ضریب بستگی اسپیرمن و خطر نسبی (OR) ارائه شده است. از آنجایی که فرکانس وقوع فراکسیون بتای کم‌تر از ۶ 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 ۶/۳ g/dL حدود ۱۰ برابر، نسبت آلبومین/گلوبولین کم‌تر از ۱/۰۸ حدود ۱۰ برابر، آلبومین کم‌تر از ۵۲ درصد حدود ۳ برابر، آلفا-۱ بیش‌تر از ۴/۵ درصد حدود ۵ برابر، آلفا-۲ بیش‌تر از ۱۴ 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 از ۵۲ درصد، آلفا-۱ بیش‌تر از ۴/۵ درصد و آلفا-۲ بیش‌تر از ۱۴ درصد در جمعیت مورد مطالعه تقریباً برابر ۸ و در جامعه با سطح اطمینان ۹۵ درصد در حدود حیطه ۴-۳۰ قرار دارد. خطر نسبی (OR) برای گامای بیش‌تر از ۱۹ درصد برابر ۲/۳ و با حدود اطمینان ۹۵ درصد برای جامعه در حیطه ۴/۴-۱/۲ قرار دارد.

(۱/۲ ± ۷/۳ در مقابل ۱/۲ ± ۶/۶ و  $P \leq ۰/۰۰۰$ )، نسبت آلبومین به گلوبولین (۰/۹۳ ± ۰/۳۱ در مقابل ۰/۱۸ ± ۱/۱۸ و  $P \leq ۰/۰۰۰$ )، درصد فراکسیون آلبومین (۸/۷ ± ۴۶/۹ در مقابل ۴/۲ ± ۵۳/۱ و  $P \leq ۰/۰۰۰$ )، و بتا - گلوبولین (۴/۳ ± ۱۱/۶ در مقابل ۲/۲ ± ۱۳/۲ و  $P \leq ۰/۰۰۰$ ) به طور معنی‌داری کاهش یافته است. در عین حال درصد فراکسیون آلفا-۱ (۲/۵ ± ۵/۳ در مقابل ۰/۹ ± ۳/۰۱ و  $P \leq ۰/۰۰۰$ ) و آلفا-۲ (۴/۹ ± ۱۳/۴ در مقابل ۲/۲ ± ۱۱/۳ و  $P \leq ۰/۰۰۰$ ) و گاما (۷/۷ ± ۲۲/۸ در مقابل ۳/۲ ± ۱۹/۰ و  $P \leq ۰/۰۰۰$ ) 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

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

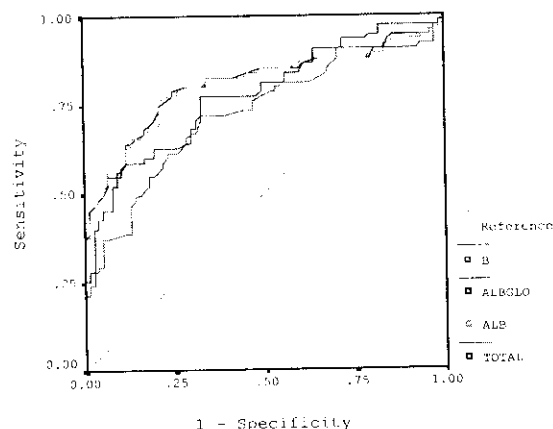
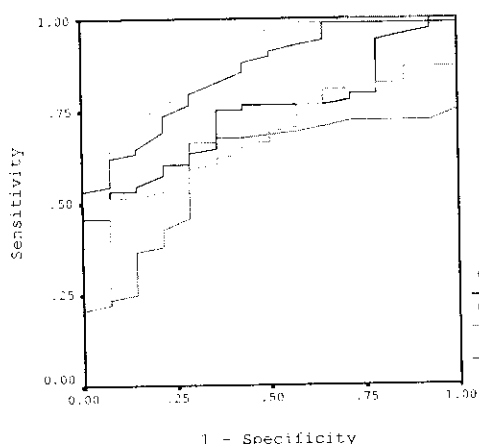
| گروه طبیعی                        | گروه مبتلا به سرطان | درصد تغییر | P     | مقادیر طبیعی      |
|-----------------------------------|---------------------|------------|-------|-------------------|
| نتایج آنالیز شیمیایی پروتئین کل   | ۷/۳ ± ۱/۲           | ۱۰         | ۰/۰۰۰ | ۶/۳ - ۸/۳ g/dL    |
| آلبومین                           | ۴/۶ ± ۰/۴           | ۱۱         | ۰/۰۰۰ | ۳/۵ - ۵/۰ g/dL    |
| نتایج هماتولوژی WBC               | ۶۵۰۵ ± ۱۵۶۶         | ۲۳         | ۰/۰۰۰ | ۵۰۰۰ - ۱۰۰۰۰      |
| ESR                               | ۱۴/۱ ± ۹/۵          | ۱۴۷        | ۰/۰۰۰ | در ساعت اول تا ۱۷ |
| نتایج الکتروفورز آلبومین/گلوبولین | ۱/۱۸ ± ۰/۱۸         | ۲۱         | ۰/۰۰۰ | ۱/۰۸ - ۱/۸۷       |
| آلبومین                           | ۵۳/۱ ± ۴/۲          | ۱۲         | ۰/۰۰۰ | ٪ ۵۲ - ۶۵         |
| آلفا-۱                            | ۳/۰۱ ± ۰/۹          | ۷۷         | ۰/۰۰۰ | ٪ ۲ - ۴/۵         |
| آلفا-۲                            | ۱۱/۳ ± ۲/۲          | ۱۹         | ۰/۰۰۰ | ٪ ۱۰ - ۱۴         |
| بتا                               | ۱۳/۲ ± ۲/۲          | ۱۲         | ۰/۰۰۱ | ٪ ۶ - ۱۳          |
| گاما                              | ۱۹/۰ ± ۳/۲          | ۲۰         | ۰/۰۰۰ | ٪ ۱۰ - ۱۹         |

نتایج به صورت متوسط ± انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند. نتایج الکتروفورز بصورت درصد فراکسیون‌های مختلف ارائه شده است. WBC بیانگر شمارش لکوسیت‌ها و ESR سرعت سدیماتاسیون اریتروسیت‌ها می‌باشد.

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  $0.78 \pm 0.04$ ، درصد فراکسیون آلبومین  $0.81 \pm 0.04$ ، نسبت آلبومین/گلوبولین  $0.81 \pm 0.04$ ،  $P \leq 0.000$  و برای فراکسیون بتا برابر  $0.72 \pm 0.04$ ،  $P \leq 0.000$  است. سطح زیر منحنی ROC برای افزایش درصد فراکسیون متغیرهای آلفا-۱ برابر  $0.84 \pm 0.03$ ،  $P \leq 0.000$ ، آلفا-۲  $0.64 \pm 0.05$ ،  $P \leq 0.000$ ، گاما  $0.67 \pm 0.04$ ،  $P \leq 0.000$ ، شمارش لکوسیت‌ها  $0.59 \pm 0.07$ ،  $P \leq 0.000$  و سرعت سدیم‌تاسیون اریتروسیت‌ها  $0.87 \pm 0.06$ ،  $P \leq 0.000$  است. به علت ارتباط متغیرهای پروفیل پروتئین‌های سرم، نتایج فقط به طور جزئی با یکدیگر متفاوت هستند، به هر حال پروتئین کل، نسبت آلبومین/گلوبولین، درصد فراکسیون آلبومین، آلفا-۱ و ESR از نظر حساسیت و ویژگی آزمون‌های بهتری برای تشخیص فاز حاد می‌باشند.

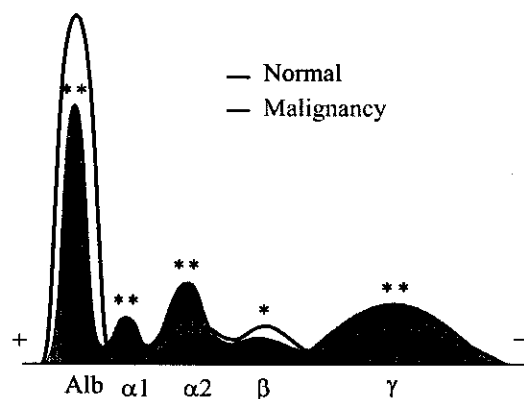
جدول شماره ۲: آنالیز رگرسیون چندگانه.  $\chi^2$  بیانگر مجذور کای، خطر نسبی (OR) و CI بیانگر حدود اطمینان ۹۵ درصد است.

| گروه سالم<br>(فرکانس وقوع)             | گروه بیمار<br>(فرکانس وقوع) | $\chi^2$ | ضریب بستگی<br>اسپیرمن | P     | OR   | CI (۹۵٪)   |
|----------------------------------------|-----------------------------|----------|-----------------------|-------|------|------------|
| پروتئین کل کم‌تر از ۶/۳                | ۳۷/۳                        | ۲۳       | $0.4 \pm 0.06$        | ۰/۰۰۰ | ۱۷/۸ | ۴/۱ - ۷۸/۱ |
| نسبت آلبومین به گلوبولین کم‌تر از ۱/۰۸ | ۵                           | ۲۹/۴     | $0.07 \pm 0.45$       | ۰/۰۰۰ | ۸/۶  | ۳۷ - ۱۹/۸  |
| آلبومین کم‌تر از ۵/۲                   | ۲۲                          | ۳۰       | $0.07 \pm 0.47$       | ۰/۰۰۰ | ۸/۲  | ۳۷ - ۱۸/۱  |
| آلفا-۱ بیش‌تر از ۴/۵                   | ۹/۴                         | ۲۹/۹     | $0.07 \pm 0.45$       | ۰/۰۰۰ | ۱۰/۷ | ۴/۱ - ۲۷/۴ |
| آلفا-۲ بیش‌تر از ۱/۴                   | ۶/۳                         | ۲۸/۱     | $0.06 \pm 0.44$       | ۰/۰۰۰ | ۱۳   | ۴/۳ - ۳۹   |
| بتای کم‌تر از ۸/۵                      | ۴/۸                         | ۱۰       | $0.07 \pm 0.27$       | ۰/۰۰۱ | ۶/۵  | ۱/۸ - ۲۲/۸ |
| گامای بیش‌تر از ۱/۹                    | ۴۵                          | ۵/۷      | $0.08 \pm 0.20$       | ۰/۰۲  | ۲/۳  | ۱/۲ - ۴/۴  |



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 می‌دهد.

کاهش ولی درصد فراکسیون های آلفا-۱، آلفا-۲ و گاما افزایش یافته است.



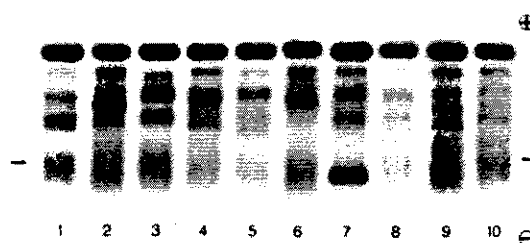
نمودار شماره ۳: مقایسه الکتروفوروگرام اسکن شده پروتئین های سرم در حالت بدخیم نسبت به حالت طبیعی. \* و \*\* بیانگر اختلاف میانگین نمونه از میانگین مقدار طبیعی در سطح اطمینان  $P \leq 0.001$  و  $P \leq 0.0001$  است.

## بحث

بر اساس یافته های این تحقیق، غلظت پروتئین کل، آلبومین و درصد فراکسیون پروتئین های مختلف سرم افراد سالم شرکت کننده در این 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 معنی دار کاهش ولی درصد فراکسیون های آلفا-۱، آلفا-۲ و گاما افزایش یافته است. بنابراین الگوی الکتروفورز پروتئین های سرم (با پنج فراکسیون روی ژل آگارز) در انواع مختلف سرطان مشابه الگوی تغییر پروتئین ها طی واکنش فاز حاد است. نتایج این مطالعه ضمن تایید یافته های قبلی (۱۳، ۱۴، ۱۸ تا ۲۱)، الگوی الکتروفورزی که توسط شرکت سیبا (فرانسه) و هلنا (آمریکا) برای تشخیص بیماران بدخیم ارائه شده است را نیز تایید می نماید. اثرکننده های

یک ژل نمونه الکتروفورز پروتئین های سرم در سرطان های مختلف و حالت طبیعی.

برای مقایسه الگوی الکتروفورز پروتئین های سرم در سرطان های مختلف، نسبت به حالت طبیعی، یک نمونه طبیعی و ۹ نمونه سرم سرطان های مختلف روی یک ژل الکتروفورز شدند (نمودار شماره ۲). نمونه ها از شماره ۱ تا ۱۰ به ترتیب مربوط به نمونه طبیعی و سرطان های تخمدان، پستان، ریه، کولون، پانکراس، رکتوم، معده، کبد و مری می باشند. تقریباً در تمام موارد سرطانی انتخاب شده، فراکسیون آلبومین و بتا کاهش و گاما افزایش یافته اند.



نمودار شماره ۴: یک ژل نمونه. نمونه ها از شماره ۱ تا ۱۰ به ترتیب مربوط به نمونه طبیعی و سرطان های تخمدان، پستان، ریه، کولون، پانکراس، رکتوم، معده، کبد و مری می باشند. تقریباً در تمام موارد سرطانی انتخاب شده، فراکسیون آلبومین و بتا کاهش و فراکسیون های آلفا-۲ و گاما افزایش یافته اند. در نمونه منحصر بفرد شماره ۷ پاراپروتئین به صورت یک باند ضخیم در ناحیه گاما دیده می شود که احتمالاً به علت درگیری لنفوسیت های B می باشد.

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

در نمودار شماره ۳ الگوی الکتروفوروگرام اسکن شده پروتئین های سرم در حالت سرطان نسبت به حالت طبیعی مقایسه شده است. ملاحظه می گردد که درصد فراکسیون آلبومین و بتا-گلوبولین به طور معنی دار

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، هیاتیت و سکت قلبی تغییر می‌کند. این پاسخ از طریق فاکتور نکروز تومور- آلفا (TNF- $\alpha$ )، 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 سرولولپلاسمین مهم‌ترین اثرکننده مثبت فاز حاد در فراکسیون آلفا-۲ می‌باشند. در پاسخ به کاهش فشار انکوتیک ناشی از کاهش غلظت آلبومین، 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 لجیستیک 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 تقریباً 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

هوچکین (۲۱) بهترین شاخص عمومی و ویژه سرطان می‌باشند. به هر حال باید در نظر داشت که اثرکننده‌های فاز حاد، ویژه نیستند و غلظت 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.

نتایج آنالیز دیاگرام ROC نشان می‌دهد که 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 جزئی حساسیت و ویژگی آزمون‌های غلظت پروتئین کل، نسبت آلبومین به گلوبولین و افزایش فراکسیون آلفا-۱ و نیز سرعت سدیمانتاسیون اریتروسیت‌ها از بقیه آزمون‌ها بیش تر است. علاوه بر این، نتایج آنالیز ROC و رگرسیون لجیستیک 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 یوشیمیایی سیبا (فرانسه) و هلنا (آمریکا) را تأیید نمی‌نماید، باید توجه داشت که الگوی مشاهده شده در پروفیل پروتئین‌های سرم در سایر حالت‌های فاز حاد نیز ملاحظه می‌گردد. از این رو برای نسبت دادن این الگو به حالت بدخیمی، سایر موارد فاز حاد باید تشخیص و کنار گذاشته شوند. به هر حال برای تعیین ارزش بالینی پروفیل پروتئین‌های سرم در غربالگری افراد مبتلا به بیماری‌های بدخیم نیاز به یک مطالعه پیگیرانه می‌باشد.

## 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

- 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.