

مقایسه تغییرات نشانگرهای زیستی آنتی ژن کارسینوژن جنینی ، قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ و آنزیم تلومراز در نمونه های بیماران مبتلا به سرطان یاخته های کوچک و غیر کوچک ریه

بهرنگ علنی* ، دکتر خلیل انصارین** ، دکتر محمدجواد سلمی زاده*** ، ابراهیم چراغی****

دریافت : ۸۷/۳/۸ ، پذیرش : ۸۷/۹/۲۶

چکیده:

مقدمه و هدف: امروزه نقش نشانگرهای توموری در تشخیص و پیش آگهی سرطان ریه تحت مطالعه و بررسی می باشد. در این مطالعه ارتباط سطوح سرمی نشانگرهای توموری آنتی ژن کارسینوژن جنینی و قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ (Cyfra21-1) با فعالیت آنزیم تلومراز در سطح بیوپسی بیماران مبتلا به سرطان ریه و گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفت. **روش کار:** در این مطالعه موردی- شاهدهی تعداد ۵۰ فرد مبتلا به سرطان ریه به عنوان گروه مورد و ۲۰ بیمار مبتلا به بیماریهای غیرتومورال ریوی به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. میزان فعالیت تلومراز با روش PCR-ELISA در نمونه های بیوپسی و سطوح سرمی آنتی ژن کارسینوژن جنینی و قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ به روش الیزا اندازه گیری شد و داده های حاصله با استفاده از آزمون های آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج: میانگین غلظت سرمی آنتی ژن کارسینوژن جنینی، قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ به همراه فعالیت آنزیم تلومراز نمونه های بیوپسی در بیماران بطور معنی داری بالاتر از گروه شاهد بود. همبستگی مستقیم و معنی داری بین غلظت های سرمی آنتی ژن کارسینوژن جنینی و قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ دیده شد. بین سطوح سرمی آنتی ژن کارسینوژن جنینی و قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ با فعالیت آنزیم تلومراز در سطح بیوپسی بیماران همبستگی مثبت معنی داری مشاهده شد. میانگین غلظت سرمی قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ و آنتی ژن کارسینوژن جنینی افراد مبتلا به کارسینوما یاخته غیر کوچک نسبت به کارسینوما یاخته کوچک بالا و معنی دار دیده شد. بیماران مبتلا به کارسینوما یاخته کوچک میانگین غلظت تلومراز بالا و معنی داری نسبت به کاسینوما یاخته غیر کوچک داشتند.

نتیجه نهائی: بر اساس یافته های این مطالعه می توان فرض پیشنهاد نمود که اندازه فعالیت آنزیم تلومراز در سطح بیوپسی برای تشخیص نوع یاخته های کوچک سرطان ریه و غلظت سرمی آنتی ژن کارسینوژن جنینی برای کارسینوما یاخته ای و قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ برای کارسینوما یاخته سنگفرشی یاخته های غیر کوچک سرطان ریه مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه ها : تلومراز / سرطان ریه / قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ / کارسینوژن

مقدمه :

بیماری، جان خود را از دست می دهند. آمار نشان میدهد که قربانیان سرطان های سینه، پروستات و روده رویهم کمتر از تعداد قربانیان سرطان ریه هستند (۱). با توجه به سلولی که دچار تراخی و سرطان شده

سرطان ریه شایعترین سرطان بین دو جنس در سراسر جهان به شمار می رود و بیش از ۸۰ درصد مبتلایان به این بیماری در فاصله پنج سال از تشخیص

* مربی گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان (behrangha@yahoo.com)

** دانشیار گروه داخلی مرکز تحقیقات ریه دانشگاه علوم پزشکی تبریز

*** دکتری حرفه ای پزشکی جهاد دانشگاهی واحد استان قم

**** کارشناس پژوهشی جهاد دانشگاهی واحد استان قم

باشند(۱۳). سلولهای سرطانی میتوانند این توانایی را با بیان آنزیم تلومراز بدست آوردند. بنابراین آنزیم تلومراز جزو مهمترین آنزیمهایی نشانگر توموری است که اندازه گیری آن در سرطانه‌های مختلف از اهمیت بالایی برخوردار است(۱۴).

امروزه درک علل تغییرات برخی شاخص های بدن در سرطانه‌ها از طریق یافتن ارتباط احتمالی ناشناخته ملکولی بین این شاخص ها که منجر به بدخیمی های متعدد می گردد از اهمیت خاصی برخوردار می باشد(۷). بنابراین در این مطالعه ارتباط سطوح سرمی تومور نشانگرهای تلومراز، آنتی ژن کارسینوژن جنینی و سیتوکراتین ۱۹ با میزان فعالیت آنزیم تلومراز در سطح بیوپسی بیماران مبتلا به سرطان ریه و گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار:

در این مطالعه موردی-شاهدی نمونه گیری از ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان ریه به عنوان گروه مورد و ۲۰ بیمار مبتلا به بیماریهای غیر تومورال ریوی (عفونی ریوی، التهاب و غیره) به عنوان گروه شاهد از دی ماه ۱۳۸۳ در بیمارستان امام تبریز جمع آوری شد. از همه افراد مورد مطالعه ۵ میلی لیتر خون گرفته و سرم آن با سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه جدا شد. نمونه های بیوپسی توسط پاتولوژیست در اتاق نمونه برداری انجام و براساس مطالعات سیتولوژی و هیستوپاتولوژی نمونه های افراد بیمار در دو گروه عمده کارسینوما یاخته های کوچک و غیر کوچک با اشکال سرطان بافت بشره ای، یاخته سنگفرشی و یاخته های بزرگ سرطان ریه تقسیم بندی شدند.

استخراج پروتئین نمونه های بیوپسی: جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم تلومراز نمونه های بیوپسی استخراج پروتئین انجام پذیرفت. ابتدا نمونه های بیوپسی در ازت مایع پودر شدند. سپس مقدار ۲۰۰ میکرولیتر بافر لیز سلولی {۱۰ میلی مولار Tris-HCl (pH ۸)، یک میلی مولار کلرید منیزیم، ۰/۱ میلی مولار بنزامیدین، ۵ میلی مولار بتامرکاپتواتانل، ۰/۵ درصد chaps، ۱۰ درصد گلیسرول و ۱ میلی مولار EDTA} اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور سانتریفیوژ شد. فاز رویی به آرامی به میکروتیوب جدید منتقل شد(۱۵) مقادیر پروتئین استخراجی نمونه ها بر طبق روش برادفورد با استفاده از رنگ آبی کوماس G250 و منحنی استاندارد آلبومین سرم

است دو حالت کلی از سرطان ریه شامل نوع یاخته های کوچک و نوع یاخته های غیر کوچک با اشکال مختلف آن شامل سرطان بافت بشره ای، سنگفرشی، یاخته های بزرگ و نوع نادر مزوتلیوما وجود دارد که هر کدام نشانه ها و عوارض خاص خود را دارند. سرطان ریه نوع یاخته های کوچک یا سرطان جو شکل شایع ترین نوع سرطان ریه با حدود ۲۰ درصد می باشد(۲).

نشانه‌های توموری ملکولهای بیوشیمیایی از جنس پروتئینی یا گلیکوپروتئینی بوده که در پاسخ به وجود یا پیشرفت سرطان از بدن یا بافت توموری تولید و به میزان بسیاری در خون، ادرار و بافت توموری نسبت به افراد سالم یافت می گردد(۳،۴). این نشانه‌ها از طریق آزمایش های کلینیکی ردیابی شده و افزایش میزان سطح این نشانه‌ها مبین نشانه های سرطان و کاهش میزان آنها در حین درمان نشانه مهار کردن رشد سرطانی سلول های بیمار است(۵). اگرچه امروزه این ترکیبات بطور عمده در تشخیص سرطان های مختلف مورد استفاده قرار می گیرند ولی نشانگر اختصاصی سرطان های بدخیمی تاکنون شناسایی نشده است(۵).

سیتوکراتین ها به همراه فیلامنتهای حدواسط به عنوان اجزاء سیستم اسکلتی سلول می باشند. تاکنون ۲۰ نوع سیتوکراتین بوسيله روشهای پروتئومیکس در انواع بافتهای سالم و پاتولوژیک مختلف شناسایی شده اند(۶،۷). قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ (Cyfra21-1) پروتئین ۶۵ کیلودالتونی به میزان بسیار کم در سلولهای اپی تیلیال شاخه برونش و در سلولهای کارسینوما به میزان بسیاری تولید می گردد(۸،۹). این فاکتور اولین بار در ۱۹۹۳ به عنوان یک تومور نشانگر سرطان ریه معرفی شد(۱۰).

آنتی ژن کارسینوژن جنینی (CEA) ترکیب گلیکوپروتئینی بوده که فقط در کبد جنینی تولید گشته و پس از آن متوقف می گردد. این ترکیب در افراد مبتلا به سرطان ریه، گوارش، پانکراس و گوارش نیز تولید گشته و در دسته آنتی ژنهای توموری جنینی قرار می گیرد(۱۱). کاهش میزان آن در حین درمان نشانه مهار رشد سلولهای سرطانی بیمار است (۱۲).

برخلاف سلولهای سوماتیک طبیعی، سلولهای سرطانی میتوانند بطور متوالی تقسیم شده و خطوط سلولی نامحدود تولید نمایند. این سلولها برای داشتن چنین خصوصیتی باید توانایی حفظ طول تلومر خود را داشته

گاو تعیین و یکنواخت گردیدند(۱۶).

روش ارزیابی TRAP: جهت اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم تلومراز از روش ارزیابی (TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol) مبتنی بر دو تکنیک واکنشهای زنجیره ای پلیمرازی و الیزا بر اساس روش هولت (کیت شرکت Roche آلمان) استفاده شد(۱۵). به منظور بهینه سازی شرایط PCR، غلظت واکنشگرها بر اساس دستورالعمل کیت برای حجم ۵۰ میکرولیتر شامل 30 میکرولیتر آب مقطر تیمار شده با DEPC، 7 میکرولیتر بافر PCR ده ایکس، یک میکروگرم نمونه پروتئین استخراجی حاوی آنزیم تلومراز، dNTP با غلظت ۵۰ میلی مولار، ۰/۱ میکروگرم آغازگر با توالی 5'-AATCCGTCGAGCAGAGTT-3' متصل به بیوتین در انتهای ۵' و کلرید منیزیم با غلظت ۱۰ میلی مولار در داخل لوله های میکروتیوپ تنظیم و آماده سازی شد. نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند تا آنزیم تلومراز در صورت وجود بتواند با خاصیت ترانس کریپتازی خودتوالی TTAGGG را به انتهای آغازگر اضافه نماید. سپس نمونه ها به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد تا آنزیم تلومراز غیرفعال شود. در مرحله بعد یک میکرولیتر آنزیم Taq پلیمرز به همراه ۱۵ نانوگرم آغازگر با توالی 5'-CCCTTACCCTTACCCTTACCCTAA-3' به عنوان مکمل قطعات سنتز شده به نمونه واکنشی اضافه شد و برنامه لازم جهت انجام PCR در دستگاه ترموسایکلر مدل شرکت اپندروف تنظیم گردید. در این برنامه یک دور جهت تک رشته ای شدن DNA به مدت سی ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، ۳۱ دور شامل مراحل مربوط به اتصال پرایمر به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۵۰ درجه، تکمیل دو رشته شدن DNA تلومری به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه و تک رشته ای شدن DNA به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه بر روی دستگاه ترموسایکلر تنظیم شد. پس از انجام PCR از روش الیزا برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم تلومراز بر اساس تکثیر توالی های تلومری در محصولات PCR (کیت شرکت Roche آلمان) استفاده شد. در قدم اول ۱۰ میکرولیتر محصول PCR در دمای ۹۴ تک رشته ای شده و سپس قطعه پروب مکمل توالی TTAGGG متصل به پپتید دی گوکسین به نمونه اضافه و عمل هیبریدزاسیون انجام پذیرفت. سپس سه میکرولیتر از

نمونه هیبرید شده بر پلیت پوشیده از آنتی بادی علیه بیوتین اضافه شد. پلیت پس از انکوباسیون به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق سه بار با استفاده از فسفات بافر سالین شستشو داده شد. سپس آنتی بادی ضد دی گوکسین کنژوگه با پراکسیداز تریچه (Horse Radish Peroxidase) به مجموعه اضافه شد. با اضافه کردن محلول سوبسترای حاوی ۵۵ و ۳ و ۳۰ تترامتیل بنزن واکنش رنگی صورت گرفت و مقدار رنگ ایجاد شده در طول موج ۴۵۰ نانومتر در دستگاه الیزا قرائت شد. میزان فعالیت نسبی آنزیم تلومراز نمونه ها با قرار دادن مقادیر جذب حاصله در منحنی استاندارد محاسبه شد. مقادیر Cut off برای آنزیم تلومراز به صفر در نظر گرفته شد(لازم به ذکر است فعالیت آنزیم تلومراز بصورت درصد بوده و مقادیر بالای صفر مثبت و زیر صفر منفی در نظر گرفته شد)(۱۷،۱۸).

اندازه گیری سطح سرمی قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ (Cyfra21-1) به روش الیزا ساندویچی (کیت شرکت Bisource بلژیک) با بکارگیری دو آنتی بادی اختصاصی با میل ترکیبی بالا شامل آنتی بادی ثابت شده بر کف پلیت و آنتی بادی حاوی آنزیم کنژوگه(هریک از آنتی بادیها بر علیه اپی توپ جداگانه آنتی ژن) و سپس سیستم بیوتین - استرپتوئودین انجام پذیرفت. ضریب درون سنجش و برون سنجش کیت به ترتیب ۱/۹ و ۴/۶ درصد بود. سنجش غلظت سرمی آنتی ژن کارسینوزن جنینی نیز از روش الیزا ساندویچی (کیت شرکت DRG آمریکا) و استفاده از دو آنتی بادی میل ترکیب بالا علیه نمونه با ضریب درون سنجش و برون سنجش کیت به ترتیب ۰/۷۹ و ۴/۲۵ درصد انجام گردید. مقادیر Cut off برای Cyfra 21-1 و آنتی ژن کارسینوزن جنینی به ترتیب ۵ نانوگرم بر میلی لیتر و ۵۰ پیکوگرم بر میلی لیتر در نظر گرفته شد(۲۱-۱۹).

آنالیز آماری: داده های حاصله با استفاده از ویرایش شماره ۱۱/۵ نرم افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل شد. جهت مقایسه میانگین داده ها بین گروه بیمار و کنترل از آزمون t-test و بین گروه های مختلف بیمار از آزمون One way anova استفاده شد. نتایج به صورت میانگین Mean \pm SEM گزارش گردید. $P < 0/05$ به عنوان حداقل سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

نتایج:

بیماری سرطان ریه ۵۰ فرد (۳۸ مرد ۱۲ زن) با میانگین سنی $9/47 \pm 64/88$ (محدوده سنی ۵۵ تا ۷۳ سال) قبلا توسط روشهای تهاجمی تأیید شده بود. از میان آنها

بین سطوح سرمی CEA و فعالیت آنزیم تلومراز در سطح بیوپسی بیماران همبستگی مثبت معنی داری مشاهده شد ($r=0/46$ و $p<0/05$) همبستگی فعالیت آنزیم تلومراز سطح بیوپسی با سطوح سرمی Cyfra21-1 افراد بیمار معنی دار مثبت ارزیابی شد ($r=0/72$ و $p<0/01$). این همبستگی ها در افراد شاهد معنی دار نبودند.

سطوح سرمی شاخص های CEA و Cyfra21-1 به همراه میزان فعالیت آنزیم تلومراز بیوپسی دو گروه بیمار دارای کارسینوما یاخته کوچک و غیر کوچک در جدول ۲ مقایسه شده اند. میانگین غلظت سرمی CEA و Cyfra21-1 افراد مبتلا به کارسینوما یاخته غیر کوچک نسبت به کارسینوما یاخته کوچک بالا و معنی دار دیده شد ($P<0/05$). بیماران مبتلا به کارسینوما یاخته کوچک میانگین غلظت تلومراز بالا و معنی دار نسبت به کارسینوماهای یاخته غیر کوچک داشتند ($P<0/05$).

جدول ۲: مقایسه سطوح سرمی شاخص های اندازه گیری شده به همراه میزان فعالیت آنزیم تلومراز بیوپسی دو گروه بیمار دارای کارسینوما یاخته کوچک و غیر کوچک

P ارزش	کارسینوما یاخته کوچک (۱۴ نفر)		کارسینوما یاخته غیر کوچک (۳۲ نفر)	
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
سن (سال)	۶۸/۳ ± ۳/۸	۶۱/۲۲ ± ۱۰/۳	NS	۶۴/۰ ± ۷/۸
آنتی ژن کارسینوژن جنینی (pg/ml)	۱/۰ ± ۰/۸	۲۱/۸ ± ۲۲/۳	<0/05	۴۵/۹ ± ۳۱/۷۶
سیتوکراتین ۱۹ (ng/ml)	.	۱۲/۷ ± ۱۱/۳	<0/05	۱۷/۵۳ ± ۱۲/۸۳
تلومراز (درصد)	.	۱۱۲/۰ ± ۰/۵۷	<0/05	۶/۴ ± ۲/۵

جدول ۳ مشخصات سنی و سطوح سرمی شاخص های اندازه گیری شده به همراه میزان فعالیت تلومراز در نمونه های بیوپسی بیماران دارای یاخته های غیر کوچک را نشان می دهد. در این جدول تفاوت آماری معنی داری در غلظت های سرمی Cyfra21-1 افراد مبتلا به سرطانهای سنگفرشی سرطان ریه نسبت به یاخته های بزرگ و بشره ای دیده شد ($P<0/05$). کمترین میزان این نشانگر زیستی بین یاخته های غیر کوچک در بیماران مبتلا به سرطان نوع بشره ای مشاهده شد. غلظت سرمی آنتی ژن کارسینوژن جنینی برخلاف Cyfra21-1 در افراد آدنوکارسینوما بالا و نسبت به دو گروه دیگر یاخته های غیر کوچک سرطانهای ریه معنی دار بود ($P<0/05$). در افراد مبتلا به یاخته های بزرگ سرطان ریه نیز مقادیر

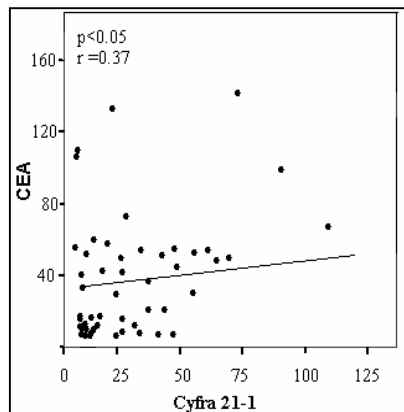
۱۸ نفر مبتلا به کارسینوما یاخته های کوچک ۳۲ نفر مبتلا به کارسینوما یاخته های غیر کوچک با اشکال ، ۸ نفر مبتلا به سرطان بافت بشره ای ، ۱۴ نفر مبتلا به یاخته سنگفرشی و ۱۰ نفر مبتلا به یاخته های بزرگ سرطان ریه تقسیم بندی شدند.

در جدول ۱ مشخصات سنی و سطوح سرمی شاخصهای اندازه گیری شده در دو گروه شاهد و مورد مقایسه شده اند.

جدول ۱: مشخصات سنی و سطوح سرمی شاخص های اندازه گیری شده به همراه میزان فعالیت آنزیم تلومراز در سطح بیوپسی در دو گروه شاهد و مورد

P ارزش	افراد سالم (۲۰ نفر)		افراد بیمار (۵۰ نفر)	
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
سن (سال)	۶۸/۳ ± ۳/۸	۶۸/۳ ± ۳/۸	NS	۶۴/۹ ± ۱/۴
آنتی ژن کارسینوژن جنینی (pg/ml)	۱/۰ ± ۰/۸	۱/۰ ± ۰/۸	<0/001	۳۹/۸ ± ۲۹/۴
سیتوکراتین ۱۹ (ng/ml)	.	.	<0/001	۱۶/۳ ± ۱۲/۴
تلومراز (درصد)	.	.	<0/001	۳۲/۸ ± ۱۶/۱

از نتایج بدست آمده مشخص گردید میانگین میزان فعالیت آنزیم تلومراز نمونه بیوپسی بیماران تفاوت کاملاً معنی داری نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P<0/001$). بین میانگین غلظت سرمی CEA و نیز Cyfra21-1 افراد بیمار نسبت به گروه شاهد نیز تفاوت معنی داری دیده شد ($P<0/001$) بررسی همبستگی و پراکندگی مقادیر متوسط شاخص های اندازه گیری شده در نمونه های بیماران نشان داد که همبستگی مستقیم و معنی داری بین غلظت های سرمی CEA و Cyfra21-1 وجود دارد ($r=0/37$ و $p<0/05$) (نمودار ۱).



نمودار ۱: همبستگی بین غلظت CEA با سیتوکراتین ۱۹ سرمی در بیماران مبتلا به سرطان ریه

CEA نسبت به یاخته های سنگفرشی معنی دار بود ($P < 0/05$). در بین افراد مبتلا به یاخته های غیر کوچک بیشترین میزان فعالیت آنزیم تلومراز در افراد مبتلا به کارسینومای یاخته های بزرگ و کمترین آن در کارسینومای یاخته های سنگفرشی دیده شد ($P < 0/05$).

جدول ۳: مشخصات سنی و سطوح سرمی شاخص های اندازه گیری شده به همراه میزان فعالیت آنزیم تلومراز در سطح بیوپسی بیماران مبتلا به کارسینومای یاخته های غیر کوچک

ارزش P	یاخته بشره ای یاخته سنگفرشی یاخته های بزرگ		
	(نفر ۱۰)	(نفر ۱۸)	(نفر ۸)
سن (سال)	۶۲/۲ ± ۱۱/۲	۶۴/۵ ± ۹/۷	۶۵/۳ ± ۲/۶
تلومراز (درصد)	۱۴/۰ ± ۳/۸	۰/۷ ± ۰/۴	۴/۶ ± ۳/۳
آنتی ژن کارسینوزن جنینی (pg/ml)	۵۳/۷ ± ۳۲/۹	۱۶/۲ ± ۱۹/۱	۶۷/۸ ± ۴۳/۳
سیتوکراتین ۱۹ (ng/ml)	۲۷/۴ ± ۱۹/۷	۱۹/۹ ± ۱۴/۷	۵/۳ ± ۴/۱

بحث:

فعالیت آنزیم تلومراز در بافت های مختلف سرطانی قابل اندازه گیری بوده و بر این اساس اندازه گیری فعالیت آن در سرطان های مختلف به عنوان عامل پیش آگهی در مطالعات مختلف گزارش شده است (۱۳، ۱۴). در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم تلومراز در نمونه های بیوپسی هر دو نوع سرطان یاخته های کوچک و غیر کوچک نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. این میزان در نمونه های افراد مبتلا به کارسینومای یاخته های کوچک بسیار بیشتر از نوع یاخته های غیر کوچک دیده شد. همچنین در بین افراد مبتلا به یاخته های غیر کوچک بیشترین میزان فعالیت آنزیم تلومراز در افراد مبتلا به کارسینومای یاخته های بزرگ و کمترین آن در کارسینومای یاخته های سنگفرشی دیده شد. در مطالعات لانتاژول (Lantuejoul) و بلانکو (Blanco) بیان ژنی بالای زیر واحدهای پروتئینی TERT و ریبونوکلئوتیدی hERT آنزیم تلومراز در سرطان یاخته های غیر کوچک سرطان ریه نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (۱۷، ۱۸). با این حال در خصوص تفاوت میزان فعالیت آنزیم تلومراز در یاخته های کوچک و غیر کوچک سرطان ریه و زیر گروه های آن تاکنون گزارشی منتشر نشده و برای اثبات نتیجه این تحقیق نیاز به مطالعه بر روی نمونه های بیشتر می باشد.

مطالعه حاضر نشان داد که مارکر زیستی Cyfra 21-1 می تواند به عنوان نشانگر مهم در تشخیص و اندازه گیری سرطان ریه از نوع یاخته های غیر کوچک مفید باشد. بخصوص اینکه مقادیر این مارکر زیستی در نمونه های بیماران از نوع سلولهای سنگفرشی بیشتر از CEA و آنزیم تلومراز مشاهده شد. کمترین میزان این نشانگر زیستی در بیماران مبتلا به یاخته های کوچک دیده شد. در مطالعات میزوگوجی و مولینا بر روی بیماران مبتلا به سرطان ریه مقادیر بالایی از مارکر زیستی Cyfra 21-1 در سرم افراد مبتلا به کارسینومای یاخته ای غیر کوچک بخصوص از نوع سنگفرشی گزارش شد (۲۱-۱۹). همچنین اشنایدر و همکاران با مطالعه بر روی ۱۴۴ بیمار مبتلا به سرطان ریه بیشترین و کمترین میزان این مارکر را به ترتیب در سرطان ریه از نوع یاخته های سنگفرشی و یاخته های کوچک گزارش نمودند (۲۲) که این مطالب تأیید کننده نتایج این مطالعه بود.

مطالعات متعددی از جمله اوپاما و پاستور مقادیر بالای آنتی ژن کارسینومای جنینی را در سطح سرمی بیماران مبتلا به سرطان یاخته های غیر کوچک نسبت به نوع کوچک گزارش نموده اند بخصوص مقادیر بالای آن در سرطان نوع یاخته های بشره ای بیشتر از انواع دیگر دیده شده است (۲۳، ۲۴). در مطالعه حاضر میزان این نشانگر زیستی نیز در افراد مبتلا به سرطان از نوع یاخته های بشره ای نسبت به آنزیم تلومراز و Cyfra21-1 بیشتر از بقیه مشاهده شد.

در مطالعه ما همبستگی بین مقادیر سرمی CEA و Cyfra21-1 افراد مبتلا به سرطان ریه مثبت معنی دار بدست آمد که این همبستگی در نمونه های گروه شاهد معنی دار ارزیابی نشد. در مطالعات بتس و همکاران بر روی ۱۸۴ بیمار مبتلا به سرطان ریه همبستگی بین این دو مارکر مثبت معنی دار ارزیابی شد (۲۵). در حالیکه در مطالعات پائونه و همکاران بر روی ۹۶ بیمار سرطان ریه این همبستگی معنی دار مشاهده نشد (۲۶). البته دلایل مختلفی میتواند علت تفاوت در نتایج حاصله باشد که میتوان به نوع نمونه مورد مطالعه و نیز تفاوت در درجات و مراحل توموری اشاره کرد. در این مطالعه همبستگی مثبت و معنی داری بین میزان

9. Swellam M, Ragab HM, Abdalla NA, El-Asmar AB. Soluble cytokeratin-19 and E-selectin biomarkers: Their relevance for lung cancer detection when tested independently or in combinations. *Cancer Biomark* 2008; 4(1): 43-54.
10. Pujol JL, Grenier J, Daures JP, Daver A, Pujol H, Michel FB. Serum fragment of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21-1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer. *Cancer Res* 1993;53(1):61-6.
11. Chevinsky AH. CEA in tumors of other than colorectal origin. *Semin Surg Oncol* 1991; 7(3):162-6.
12. Maxwell P. Carcinoembryonic antigen: cell adhesion molecule and useful diagnostic marker. *Br J Biomed Sci* 1999;56(3):209-14.
13. Mu J, Wei LX. Telomere and telomerase in oncology. *Cell Res* 2002;12(1):1-7.
14. Hiyama E, Hiyama K. Telomerase as tumor marker. *Cancer Lett* 2003; 194(2):221-33.
15. Holt SE, Norton JC, Wright WE, Shay JW. Comparison of the telomeric repeat amplification protocol (TRAP) to the new TRAP-eze telomerase detection kit. *Methods Cell Sci* 1996; 18:237-248.
16. Bradford MM. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1975; (12): 248-254.
17. Lantuejoul S, Salon C, Soria JC, Brambilla E. Telomerase expression in lung preneoplasia and neoplasia. *Int J Cancer* 2007; 120: 1835-1841
18. Blanco D, Vicent S, Fraga MF, Fernandez-Garcia I, Freire J, Lujambio A, et al. Molecular analysis of a multistep lung cancer model induced by chronic inflammation reveals epigenetic regulation of p16 and activation of the DNA damage response pathway. *Neoplasia* 2007; 9:840-852.
19. Mizuguchi S, Nishiyama N, Iwata T, Nishida T, Izumi N, Tsukioka T. Clinical value of serum cytokeratin 19 fragment and sialyl-Lewis x in non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2007;83(1):216-21.
20. Molina R, Auge JM, Filella X, Vinolas N, Alicarte J, Domingo JM, et al. Pro-gastrin-releasing peptide (proGRP) in patients with benign and malignant diseases: comparison with CEA, SCC, CYFRA 21-1 and NSE in patients with lung cancer. *Anticancer Res* 2005; 25(3A):1773-1778.
21. Molina R, Filella X, Auge JM, Fuentes R, Bover I, Rifa J, et al. Tumor markers (CEA, CA 125, CYFRA 21-1, SCC and NSE) in patients with non-small cell lung cancer as an aid in histological diagnosis and prognosis. Comparison with the main clinical and pathological prognostic factors. *Tumour Biol* 2003; 24(4): 209-18.
22. Schneider J, Velcovsky HG, Morr H, Katz N,

فعالیت آنزیم تلومراز در سطح بیوپسی و مقادیر سرمی cyfra21-1 مشاهده شد. همچنین این همبستگی بین سطح سرمی CEA و آنزیم تلومراز نمونه های بیوپسی مثبت ارزیابی شد. در این خصوص مطالعات و پژوهش هایی که این دو یافته آخر را تائید کنند بدست نیامد و این امر نیازمند بررسی بیشتر با نمونه های بالا بر روی صحت این موضوعات می باشد.

نتیجه نهایی:

اندازه گیری فعالیت آنزیم تلومراز در نمونه های بیوپسی برای تشخیص سرطان ریه نوع یاخته های کوچک و غلظت سرمی CEA به همراه قطعه محلول سیتوکراتین ۱۹ (Cyfra21-1) برای کارسینومای یاخته های غیر کوچک به ترتیب از نوع بشره ای و سنگفرشی می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری:

نویسندگان این مقاله از تشریک مساعی مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی دانشگاه علوم پزشکی تبریز در جهت تامین اعتبارات این پژوهش، همکاران محترم در بیمارستان امام خمینی تبریز دانشگاه علوم پزشکی تبریز و کلینیک تخصصی و فوق تخصصی پردیس تبریز برای تمهید مقدمات این پژوهش کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع:

1. The World Health Organization. Histological typing of lung tumours. *Neoplasma*. 1982; 29(1):111-23.
2. Panani AD, Roussos C. Cytogenetic and molecular aspects of lung cancer. *Cancer Lett*. 2006; 239(1):1-9.
3. Thomas CM, Sweep CG. Serum tumor markers: past, state of the art, and future. *Int J Biol Markers* 2001;16(2):73-86.
4. Duffy MJ. Clinical uses of tumor markers: a critical review. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2001; 38(3):225-62. Review.
5. Schneider J. Tumor markers in detection of lung cancer. *Adv Clin Chem*. 2006; 42:1-41.
6. Buccheri G, Ferrigno D. Lung tumor markers of cytokeratin origin: an overview. *Lung Cancer* 2001; 34 (Suppl 2):65-9.
7. Simpson RJ, Dorow DS. Cancer proteomics: from signaling networks to tumor markers. *Trends Biotechnol* 2001; 19:40-48.
8. Buccheri G, Ferrigno D. Cytokeratin-derived markers of lung cancer. *Expert Rev Mol Diagn* 2001; 1(3):315-22.

- Neu K, Eigenbrodt E. Comparison of the tumor markers tumor M2-PK, CEA, CYFRA 21-1, NSE and SCC in the diagnosis of lung cancer. *Anticancer Res* 2000; 20(6D): 5053-8.
23. Oyama T, Kawamoto T, Matsuno K, Osaki T, Matsumoto A, Isse T. A case-case study comparing the usefulness of serum trace elements (Cu, Zn and Se) and tumor markers (CEA, SCC and SLX) in non-small cell lung cancer patients. *Anticancer Res* 2003; 23(1B):605-12.
24. Pastor A, Menendez R, Cremades MJ, Pastor V, Llopis R, Aznar J. Diagnostic value of SCC, CEA and CYFRA 21.1 in lung cancer: a Bayesian analysis. *Eur Respir J* 1997; 10 (3): 603-609.
25. Bates J, Rutherford R, Divilly M, Finn J, Grimes H, O'Muirheartaigh I, Gilmartin JJ. Clinical value of CYFRA 21.1, carcinoembryonic antigen, neurone-specific enolase, tissue polypeptide specific antigen and tissue polypeptide antigen in the diagnosis of lung cancer. *Eur Respir J* 1997;10(11): 2535-8.
26. Paone G, De Angelis G, Munno R, Pallotta G, Bigioni D, Saltini C, Bisetti A, Ameglio F. Discriminant analysis on small cell lung cancer and non-small cell lung cancer by means of NSE and CYFRA-21.1. *Eur Respir J* 1995; 8(7):1136-40.