View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk

brought to you by CORE

مجله دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دوره دهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۹، صفحات ۳۴۰ الی ۳۵۱

# بررسی سطوح سرمی لپتین، LIF و IL-6 در بیماران با لوسمی‌های لنفوئیدی

***شعبان علیزاده[۱]، دکتر شهاب بهلولی[۲]، علی عابدی[۳]، سیدهادی موسوی[٤]، دکتر بهزاد جعفرزاده[۵]، نوروز همرنگ[۵]، علی ایمانی[۵]***

[۱] نویسنده مسئول: مربی هماتولوژی، گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
**E-mail:**alizadehs@sina.tums.ac.ir

[۲] استادیار فارماکولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران [۳] مربی فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران [٤] مربی هماتولوژی، گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران [۵] آزمایشگاه تشخیصی، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل-ایران

## چکیده

**زمینه و هدف:** لپتین یک هورمون مترشحه از بافت چربی است که در تمایز و تکثیر سلول‌های خونساز نقش مهمی دارد. این هورمون نقش مهمی در متابولیسم چربیها بازی می کند. فاکتور ممانعت‌کننده از لوسمی (LIF) یک سایتوکاین پلئوتروفیک با اعمال گسترده خونسازی، عصبی و اندوکرینی می باشد. LIF و IL-6 با فعال کردن پیام‌رسانی از طریق گیرنده‌های خود باعث کاهش لپتین می‌شوند. شاخص توده بدنی (BMI) دارای ارتباط مستقیمی با هورمون لپتین می باشدو میزان هموگلوبین و هماتوکریت نیز در پیش آگهی بیماری دخیل هستند. هدف این مطالعه بررسی سطح سرمی و ارتباط میان فاکتورهای لپتین، LIF و IL-6 و همچنین میزان BMI، هموگلوبین و هماتوکریت در بیماران مبتلا به لوسمی‌های لنفوئیدی می‌باشد.

**روش کار:** در این مطالعه تعداد ۳۰ بیمار (۱۵ مورد ALL و ۱۵ مورد CLL) مورد آزمایش قرار گرفت. ۱۵ فرد سالم نیز به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. سطوح سرمی لپتین، LIF و IL-6 توسط روش الیزا اندازه گیری شد. BMI توسط فرمول آماری و میزان هموگلوبین و هماتوکریت توسط دستگاه شمارنده سلولی اندازه گیری شدند. نتایج توسط نرم افزار SPSS آنالیز و تفاوت آماری بین گروه‌ها توسط آزمون تی بررسی شد. $p<۰/۰۵$ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته ها:** میزان لپتین در مقایسه با گروه کنترل در بیماران ALL کاهش ($p<۰/۰۰۲$) ولی در بیماران CLL افزایش داشت ($p<۰/۰۰۳$). اختلاف میانگین LIF، IL-6، BMI و لپتین در بیماران ALL در مقایسه با گروه کنترل کاهش و دارای نتایج معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). میانگین فاکتورهای LIF و BMI در گروه بیماران CLL در مقایسه با گروه کنترل دارای کاهش، لپتین دارای افزایش و اختلاف نتایج معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). میزان IL-6 دارای کاهش ولی در حد معنی دار نبود. ارتباط بین BMI و لپتین در بیماران ALL و CLL از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. اما این ارتباط در افراد طبیعی معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). میزان هموگلوبین و هماتوکریت در هر دو گروه بیماران ALL و CLL کاهش معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$).

**نتیجه گیری:** سطوح سرمی LIF، IL-6، لپتین و همچنین میزان هموگلوبین، هماتوکریت و BMI نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌دار را داشتند. این نتایج پیشنهاد می‌کند که این فاکتورها ممکن است نقش مهمی در فیزیوپاتولوژی لوسمی‌های لنفوئیدی داشته باشند.

**کلمات کلیدی:** لوسمی لنفوئیدی؛ لپتین؛ LIF؛ IL-6

**دریافت:** ۸۹/۶/۲۰ **پذیرش:** ۸۹/۱۰/۱۵

لطفا به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

Alizadeh Sh, Bohlooli S, Abedi A, Mousavi Sh, Jafazadeh B, Hamrang N, Imani A. Evaluation of leptin, LIF and IL-6 serum levels in lymphoid leukemia patients. J Ardabil Univ Med Sci. 2010; 10(4): 340-351. (Full text in Persian).

## مقدمه

لپتین یک هورمون ۱۶ کیلو دالتونی مشتق از بافت چربی می‌باشد، که هموستاز انرژی و وزن بدن را توسط بافت چربی تنظیم می‌کند [۳-۱]. لپتین همچنین نقش مهمی در ایمنی، خونسازی و تنظیم چرخه سلولی دارد. خونسازی را توسط تحریک تکثیر و همچنین مهار آپوپتوز میلوسیت‌ها و سلول‌های پیشساز خونساز اولیه تنظیم می‌کند[٦،٥،٦]. این اثرات ممکن است در گیرنده‌های سطح سلولی و همچنین در سلول‌های خونساز انسانی و دیگر بافت‌ها مشخص شود [۷]. لپتین از طریق خانواده‌ای از گیرنده‌های متصل به غشاءِ عمل می‌کند [۳-۲]. گیرنده متصل به غشاءِ یک پروتئین تک گذرنده از غشاءِ می‌باشد که متعلق به ابر خانواده گیرنده‌های سایتوکاینی مرتبط با خانواده گیرنده هموپوئیتین می‌باشد [۱۰-۸،٤]. این گیرنده‌ها در سلول‌های بنیادی خونساز و در انواع مختلفی از رده‌های خونساز بیان می‌شود [۱۱]. غلظت لپتین سرم با BMI[1] (شاخص توده بدنی) نسبت دارد، اما ممکن است بطور خیلی سریع توسط روزه‌داری یا واکنش‌های التهابی کاهش یابد [۳-۱]. در انسان‌های چاق، این هورمون تنظیم‌کننده وزن بدن، ارتباط مثبتی با BMI دارد [۱۲]. کاهش وزن و کاشکسی تظاهرات غالب بیماری‌های بدخیم هستند و معمولا با دیگر سایتوکاین‌هایی مانند TNF-α مشارکت دارد [۱۳]. بهرحال لپتین نه تنها خونسازی طبیعی را ترغیب می‌کند، بلکه همچنین باعث تحریک رشد و بقاءِ سلول‌های لوسمی می‌شود، که پیشنهاد می‌کنند لپتین در بیماری‌زایی بدخیمی‌های هماتولوژی نقش دارد [٦،٥]. IL-6 وLIF[2] (فاکتور مهارکننده لوسمی) در یک گروه به عنوان سایتوکاین‌های IL-6 type قرار دارند که همپوشانی در فعالیت‌های بیولوژیک و استفاده از جزءِ مشترک انتقال پیام یعنی گلیکوپروتئین ۱۳۰ دارند [۱٤]. فاکتور مهارکننده لوسمی یک سایتوکاین پلئوتروفیک با اعمال گسترده خونسازی، عصبی و اندوکرینی می‌باشد [۱۵] و ممکن است نقش مهمی را به تنهایی و یا با همراه IL-6 و G-CSF[3] در تنظیم سلول‌های بنیادی اولیه بازی کنند [۱۷،۱۶].

هدف از این مطالعه بررسی سطوح سرمی لپتین، LIF، IL-6 و همچنین پروفایل لیپیدی و ارتباط آن با پیشرفت بیماری های لوسمی لنفوئیدی می‌باشد.

## روش کار

در این مطالعه ۳۰ بیمار مبتلا به لوسمی لنفوئیدی انتخاب شدند و در دو گروه ۱۵ تایی، ۱۵ مورد لوسمی مزمن CLL و ۱۵ مورد لوسمی حاد ALL قرار گرفتند. انتخاب نمونه‌ها بر اساس تست‌های آزمایشگاهی و یافته‌های بالینی بیماران صورت گرفت. همه بیماران با تشخیص جدید بودند و هیچگونه درمانی بر روی آنها انجام نشده بود. گروه کنترل از ۱۵ فرد سالم که بدون هیچگونه بیماری بدخیمی بودند، انتخاب شد. در حین گرفتن نمونه از بیماران رضایت نامه کتبی گرفته شد. خون محیطی در روز تشخیص جمع‌آوری و سپس سانتریفوژ شد و سرم‌ها در ٤۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری شد.

### اندازه گیری لپتین

برای اندازه‌گیری میزان لپتین سرم‌ها، از کیت الیزا (Diagnostic Biochem Canada Inc) استفاده گردید. اصول این کیت بر پایه الیزای رقابتی است و حساسیت آن ۰/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. در این روش آنتی‌ژن‌های بدون نشانه موجود در سرم بیمار، کنترل و استانداردها با یک آنتی‌ژن نشاندار با آنزیم HRP[4] برای اتصال به آنتی‌بادی‌های محدود

[1] Body Mass Index
[2] Leukemia inhibitory factor
[3] Granulocytes-colony Stimulating Factor
[4] Horse radish Peroxides

کاشته شده در ته چاهک‌ها، در یک انکوباسیون ۲ ساعته، به رقابت می‌پردازند و بعد از ۳ مرحله شستشو آنتی‌بادی‌های آزاد را از محیط خارج می‌کند، سوبسترای آنزیم HRP که تترامتیل بنزیدین و پراکسید هیدروژن است به محیط اضافه گردید. به این ترتیب واکنش تبدیل سوبسترا به محصول، آغاز گردید و پس از یک انکوباسیون ۲۰ دقیقه‌ای، با اضافه کردن محلول یک مولار اسیدسولفوریک، واکنش متوقف شد و ظرف مدت ۲۰ دقیقه میزان جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۵۰ نانومتر در مقابل شاهد ۶۳۰ نانومتر، قرائت گردید و با توجه به جذب نوری استانداردها، نمودار استاندارد ترسیم شده و جذب نوری تست‌ها و کنترل با این نمودار مقایسه گردید. هر چه جذب نوری محلول بیشتر باشد نشان دهنده میزان کمتری از لپتین در سرم یا کنترل است.

**اندازه گیری LIF**

برای اندازه‌گیری میزان LIF سرم‌ها، از کیت الیزا (Human LIF Quantikine ELISA kit, DLF00) استفاده گردید. اصول این کیت بر پایه الیزای مستقیم است و حساسیت آن ۰/۱۵ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. در این روش آنتی‌ژن‌های بدون نشانه موجود در سرم بیمار، کنترل و استانداردها با یک آنتی‌ژن نشاندار با بیوتین برای اتصال به آنتی‌بادی‌های محدود کاشته شده در ته چاهک‌ها، در یک انکوباسیون ۲/۵ ساعته، به رقابت می‌پردازند و بعد از ٤ مرحله شستشو که آنتی‌بادی‌های آزاد را از محیط خارج می‌کند، سوبسترای آنزیم، TMB[1] به محیط اضافه گردید. به این ترتیب واکنش تبدیل سوبسترا به محصول، آغاز گردید و پس از یک انکوباسیون ۱۵ دقیقه‌ای، با اضافه کردن محلول متوقف کننده، پایان داده شد و ظرف ۲۰ دقیقه میزان جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۵۰ نانومتر در مقابل شاهد ۶۳۰ نانومتر، قرائت گردید و با توجه به جذب نوری استانداردها، نمودار استاندارد ترسیم شد و جذب نوری تست‌ها و کنترل با این نمودار مقایسه گردید. هر چه جذب نوری محلول بیشتر باشد نشان‌دهنده میزان بالاتری از LIF در سرم یا کنترل است. نظر به محدودیت در تعداد تست‌های کیت تنها استانداردها با دو تکرار انجام شدند.

**اندازه گیری IL-6**

برای اندازه‌گیری میزان IL-6 سرم‌ها، از کیت الیزا (Quantikine ELISA kit) استفاده گردید. اصول این کیت بر پایه الیزای مستقیم است و حساسیت آن، ۲ نانوگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. در این روش آنتی‌ژن‌های بدون نشانه موجود در سرم بیمار، کنترل و استانداردها با یک‌آنتی‌ژن نشاندار با بیوتین برای اتصال به آنتی‌بادی‌های محدود کاشته شده در ته چاهک‌ها، در یک انکوباسیون ۲/۵ ساعته، به رقابت می‌پردازند و بعد از ٤ مرحله شستشو که آنتی‌بادی‌های آزاد را از محیط خارج می‌کند، سوبسترای آنزیم، TMB، به محیط کشت اضافه گردید. به این ترتیب واکنش تبدیل سوبسترا به محصول، آغاز گردید و پس از یک انکوباسیون ۱۵ دقیقه‌ای، با اضافه کردن محلول متوقف کننده به واکنش خاتمه داده شد و ظرف مدت ۲۰ دقیقه میزان جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۵۰ نانومتر در مقابل شاهد ۶۳۰ نانومتر، قرائت گردید و با توجه به جذب نوری استانداردها، نمودار استاندارد ترسیم گشت و جذب نوری تستها و کنترل با این نمودار مقایسه گردید. هر چه جذب نوری محلول بیشتر باشد نشان دهنده میزان بالاتری از IL-6 در سرم یا کنترل است. نظر به محدودیت در تعداد تست‌های کیت تنها استانداردها با دو بار تکرارا انجام شد.

[1] Tetra methyl benzidine

**پارامترهای لیپیدی**

تمامی پارامترهای لیپیدی (کلسترول، تری گلیسرید، HDL) توسط دستگاه اتوآنالایزر (Hitachi; Japan)؛ بیمارستان امام خمینی (ره) دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، با استفاده از روش‌های آنزیمی (کیت پارس آزمون) اندازه‌گیری شد.

**محاسبه BMI**

برای محاسبه BMI از فرمول (وزن بر حسب کیلوگرم) تقسیم بر (توان قد بر حسب متر) استفاده شد.

**محاسبه آماری**

مقادیر سرمی لپتین، LIF و IL-6 بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. در این مطالعه به دلیل کم بودن تعداد نمونه‌ها جهت مقایسه پارامترها از تست‌های نان پارامتریک (non-parametric) استفاده شد و اختلاف آماری بین داده ها با استفاده از آزمون آماری Mann-Whitney U; t-test ارزیابی شد و ($p<۰/۰۵$) به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

**بیماران ALL**

در بیماران ALL، میانگین مقادیر سطوح سرمی لپتین، LIF و IL-6 با گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۱).

در این بیماران میزان سطوح سرمی لپتین، LIF و IL-6 پائین‌تر از میانگین گروه کنترل بود. اختلاف میانگین پروفایل لیپیدی پائین‌تر از گروه کنترل بود ($p<۰/۰۵$) (جدول ۱).

مقادیر میانگین پارامترهای CBC (هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های سفید) دارای اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل بود (جدول ۲)، و همچنین میزان اختلاف میانگین بین دو گروه ALL و افراد طبیعی در میزان BMI از نظر آماری معنی‌دار بود. ارتباط مابین BMI و لپتین در افراد طبیعی از لحاظ آماری معنی‌دار بود (نمودار ۱) اما این میزان در افراد با ALL معنی‌دار نبود (نمودار ۲).

**بیماران CLL**

اختلاف میانگین مقادیر سطوح سرمی لپتین و LIF بیماران CLL با گروه کنترل از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد، اما از لحاظ آماری مقادیر سطوح سرمی IL-6 با گروه کنترل معنی‌دار نبود. در این بیماران سطح سرمی لپتین بالاتر ولی LIF و IL-6 پائین‌تر از گروه کنترل می‌باشد (جدول ۳).

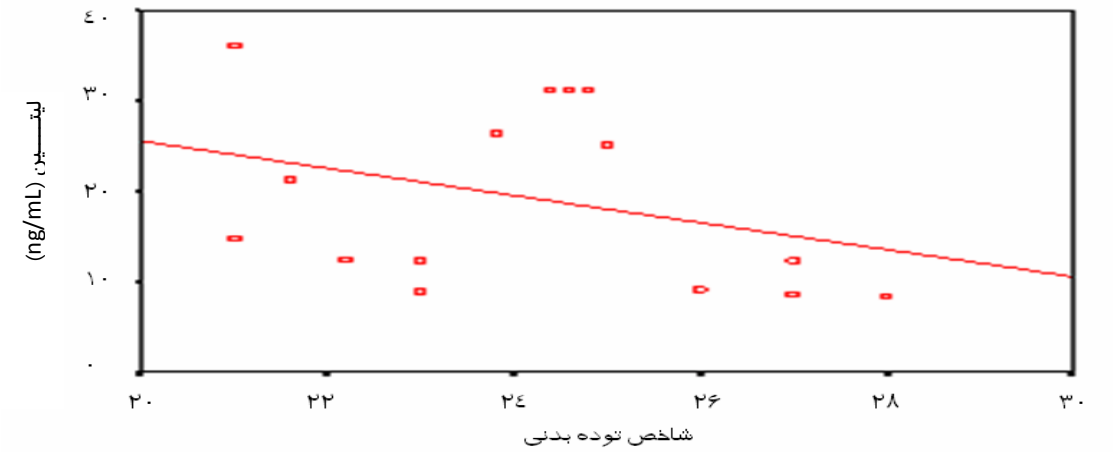
اختلاف میانگین پروفایل لیپیدی پائین‌تر از گروه

**جدول ۱. سطوح سرمی لپتین، LIF ، IL-6 و دیگر پارامترهای آزمایشگاهی در بیماران ALL**

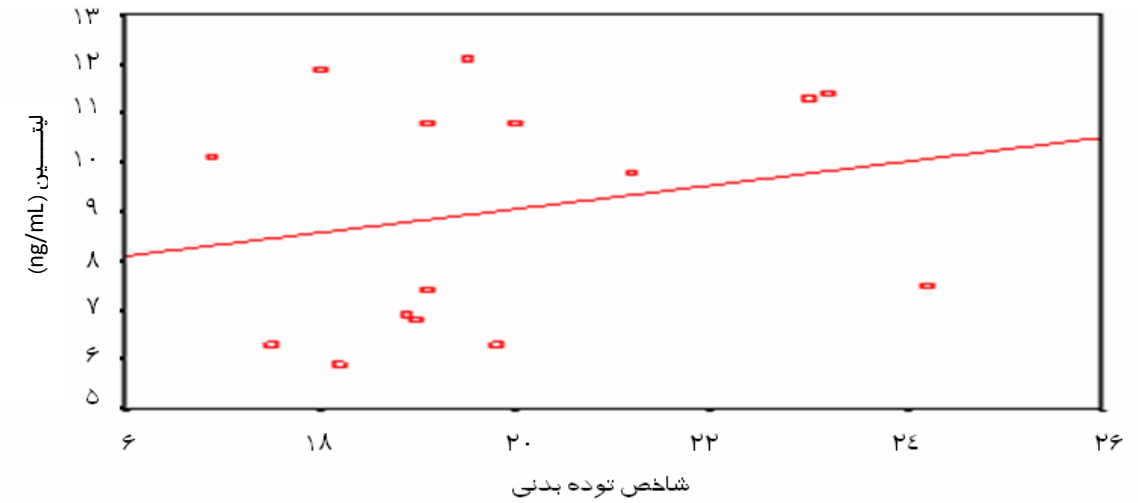
| پارامترها | ALL | گروه کنترل | p value |
|---|---|---|---|
| لپتین (ng/mL) | ۹±۲/۳ | ۱۹/۳±۱۰ | ۰/۰۰۲ |
| LIF (ng/mL) | ۰/۵۲ ± ۰/۰۶ | ۰/۷۶ ± ۰/۱۳ | ۰/۰۰۰۱ |
| IL-6 (ng/mL) | ٤۲/۱ ± ۸/۶ | ۵۳/۱ ± ۱۳/۲ | ۰/۰۰٤ |
| کلسترول (mg/dL) | ۹٤/۸ ± ۱۷/۹ | ۱۷۲/۲ ± ۶٤/۱ | ۰/۰۰۰۱ |
| تری گلیسرید (mg/dL) | ۱۲۶/۳ ± ۱۶/۱ | ۱۹۲/۳ ± ۹۲/٤ | ۰/۰۲ |
| HDL (mg/dL) | ۲۸/۳ ± ۹/۲ | ٤۰/۱ ± ۱۳/۵ | ۰/۰۰۷ |
| LDL (mg/dL) | ٤۹/۲ ± ۹/۳ | ۱۱۶/۲ ± ٤۳/۲ | ۰/۰۰۰۱ |

**جدول ۲. اطلاعات بالینی عمومی و شمارش کل سلولهای خونی در بیماران با ALL**

| پارامترها | ALL | گروه کنترل | p value |
|---|---|---|---|
| تعداد بیماران | ۱۵ | ۱۵ | |
| BMI($Kg/m^2$) | ۱۹/۸ ± ۲/۱ | ۲٤/۱ ± ۲/۲ | ۰/۰۰۰۱ |
| لکوسیت ($10^9/L$) | ۸۵ ± ٤۰/۵ | ۷/۱ ± ۱/۶ | ۰/۰۰۰۱ |
| هموگلوبین (g/dL) | ۶/۹ ± ۲/۳ | ۱٤/۲ ± ۱/۱ | ۰/۰۰۰۱ |
| هماتوکریت (٪) | ۲۰/۸ ± ۶/۵ | ٤۹/۲ ± ۳/۲ | ۰/۰۰۰۱ |




نمودار ۱. ارتباط بین BMI و لپتین در افراد طبیعی (R=-0.431).




نمودار ۲. ارتباط بین BMI و لپتین در بیماران ALL (R=0.244).

جدول۳. سطوح سرمی لپتین، LIF، IL-6 و دیگر پارامترهای آزمایشگاهی در بیماران CLL

| پارامتر ها | CLL | گروه کنترل | p value |
|---|---|---|---|
| لپتین (ng/mL) | ۳۵/۷ ± ۱۴ | ۱۹/۳ ± ۱۰ | ۰/۰۰۳ |
| LIF (ng/mL) | ۰/۵۱ ±۰/۰۶ | ۰/۷۶ ± ۰/۱۳ | ۰/۰۰۰۱ |
| IL-6 (ng/mL) | ۴۶ ± ۱۱/۱ | ۵۳/۱ ± ۱۳/۲ | ۰/۱۱۴ |
| کلسترول (mg/dL) | ۱۳۴/۳ ± ۶۳ | ۱۷۲/۲ ± ۶۴/۱ | ۰/۰۳۹ |
| تری گلیسرید (mg/dL) | ۱۸۹/۱ ± ۱۵۳/۳ | ۱۹۲/۳ ± ۹۲/۴ | ۰/۹۴۷ |
| HDL (mg/dL) | ۱۹/۸ ± ۱۱/۳ | ۴۰/۱ ± ۱۳/۵ | ۰/۰۰۰۱ |
| LDL (mg/dL) | ۷۵ ± ۵۰/۱ | ۱۱۶/۲ ± ۴۳/۲ | ۰/۰۰۳ |

کنترل می‌باشد، و بجز تری‌گلیسرید دیگر پارامترهای پروفایل لیپیدی دارای اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل می‌باشند (جدول ۳).

میانگین پارامترهای CBC (هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید) دارای اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل بود. اختلاف میانگین میزان هموگلبوبین

و هماتوکریت پائین‌تر و میزان تعداد گلبول‌های سفید بالاتر از گروه کنترل بود (جدول ٤).

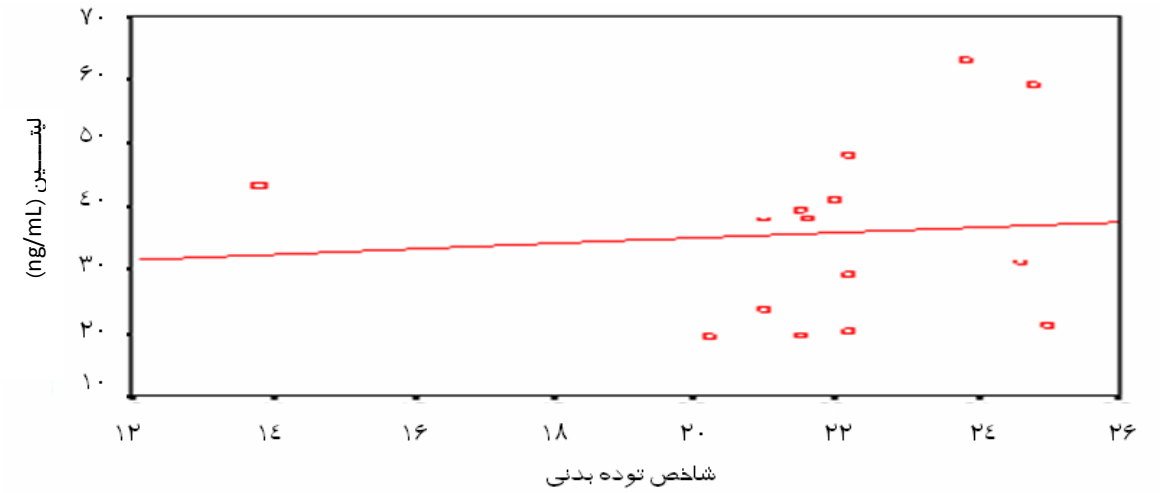
**جدول٤. اطلاعات بالینی عمومی و شمارش کل سلول‌های خونی در بیماران با CLL**

| پارامترها | CLL | گروه کنترل | P value |
|---|---|---|---|
| تعداد بیماران | ۱۵ | ۱۵ | |
| BMI(Kg/m$^2$) | ۲۱/۸±۲/۷ | ۲٤/۱±۲/۲ | ۰/۰۰۳ |
| لکوسیت (۱۰$^9$/L) | ۱۵۰±۵۲ | ۷/۱±۱/۶ | ۰/۰۰۰۱ |
| هموگلوبین (g/dL) | ۸/۵±۳/۲ | ۱٤/۲±۱/۱ | ۰/۰۰۰۱ |
| هماتوکریت (٪) | ۲۶/۷±۹/۳ | ٤۹/۲±۳/۲ | ۰/۰۰۰۱ |

میزان اختلاف میانگین BMI در دو گروه CLL و کنترل از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد. ارتباط مابین BMI و لپتین در افراد با CLL معنی‌دار نبود (نمودار ۳) اما این میزان در افراد طبیعی از لحاظ آماری معنی‌دار است (نمودار ۱).

می‌توان به عنوان شاهدی برای تخمین لپتین استفاده کرد ولی این عمل هتروژنیسیتی بالایی داشته و بواسطه عدم تعادل انرژی و ناشتایی ۲٤ ساعته تا ۳۰٪ متاثر می‌شود. همچنین میزان این سایتوکاین توسط عفونت، التهاب و سایر سایتوکاین‌ها و هورمون‌ها تغییر می‌یابد [۳۳-۲۷،۳۱]. شمارش کامل لکوسیت‌های خونی در افراد سالم ارتباط مثبتی با لپتین و توده چربی دارد [۳۳]. علاوه بر این‌ها، سلول‌های بلاست لوسمی می‌توانند گیرنده لپتین عملکردی را بیان کنند[۲۱،۲۹،۳۰].

در مطالعه ما، میزان لپتین سرمی در بیماران ALL پائین‌تر و در بیماران CLL بالاتر از گروه کنترل بود. در مطالعه‌ای که توسط پاموک[1] و همکاران انجام شد کاهش میزان لپتین در لوسمی‌های حاد نشان




**نمودار ۳. ارتباط بین BMI و لپتین در بیماران CLL (R=0.080).**

## بحث

شواهدی همانند بیان لپتین توسط سلول‌های استرومال مغز استخوان [۲۵،۲۰] و وجود گیرنده‌های لپتین در سلول‌های نرمال و لوسمیک خونساز [۳۰-۲۶، ۲۰] نشان می‌دهد که لپتین علاوه بر دخالت در کنترل متابولیسم چربی [۱۸،۱۹] در خونسازی نیز تاثیر دارد. هر چند از میزان BMI داده شده است که با نتایج آن با مطالعه حاضر همخوانی کامل دارد. همچنین در این مطالعه افزایش میزان لپتین در CLL و میلوما نشان داده شده[۳٤] که در مطالعه حاضر نیز به این نتیجه رسیدیم. علت این امر را شاید بتوان به افزایش تخریب ایمنی در

[1] Pamuk

این بیماری نسبت داد چرا کـه لپتـین جهـت عملکـرد کامل لنفوسیت‌ها ضروری بوده و با توجه به اینکه در این بیماری لنفوسیت‌هـا از لحـاظ عملکـردی صـحیح نمی‌باشند در یک سیکل معیوب تولید لپتـین افـزایش می‌یابـد. بـر خـلاف نتـایج مـا در مطالعـه کنوپلـوا[1] و همکاران میزان لپتین در بیماران All بـالاتر از گـروه کنتـرل بـود و همچنـین افزایـشی در میـزان لپتـین بیماران CLL دیده نشد [۷].

با بررسی رابطه بین میزان هورمـون لپتـین و BMI در افراد سالم مشخص شد کـه ایـن دو بـا هـم یـک رابطه مثبت معنی‌دار دارند کـه بـا مطالعـات قبلـی همخوانی دارد [۳۹-۳۵ ] که احتمالا علت این رابطه افزایش میزان بافت چربی و تعداد سلول‌های چربی با افزایش BMI است. در واقع این هورمون اولین بار به عنوان یک هورمون موثر بـر روی هیپوتـالاموس که با اثرات ضداشتهایی خود نقـشی در تنظـیم وزن بدن دارد، شناخته شد و طبیعی است که با دارا بودن چنین وظیفه‌ای در بدن، میزان این هورمون در بدن افراد چاق بیشتر باشد [۳۷]. در مطالعه حاضـر بـین میـزان هورمـون لپتـین و BMI در افـراد لوسـمیک رابطه معنی‌داری پیدا نشد که این یافته بـا مطالعـات قبلـی انجـام شـده در ایـن زمینـه همخـوانی دارد [۴۰،۴۱].

در بیماران بدخیم افزایش تولید سایتوکاین‌هـا منجـر به کاهش اشتها، کاهش وزن و نهایتاً کاشکسی می‌شود که لاغری در بیش از ۵۰٪ این بیماران دیده می‌شود. لاغری با از دست دادن میزان چربی‌ها (یکـی از علـل کاهش میزان لپتین در لوسمی‌ها) و کـاهش عـضلات اسکلتی مشخص می‌شود [۴۲،۴۳]. این امر منجـر بـه کاهش دریافت انرژی و افزایش مصرف انـرژی پایـه می‌شود، در نتیجه فعالیت سیکل کوری[2] و تعـدادی از سایر سیتوکین‌ها از جملـه IL-1, IL-6, LIF, TNF-α افزایش یافته که واسطه کاشکسی هستند و باعث مهار اشتها از ناحیه هیپوتالاموسی بواسطه مکانیسم مـشابه لپتین می‌شوند [۴۴،۴۵]. این امـر بیـانگر ایـن مـسئله است که چرا بـا وجـود کـاهش در میـزان لپتـین بـاز لاغـری افراطـی در اکثـر بیمـاران لوسـمیک دیـده می‌شود.

فاکتور ممانعت کننده لوسمی و IL-6 در یـک گـروه به عنوان سیتوکاین‌هـای IL-6-type قـرار دارنـد کـه همپوشانی در فعالیـت‌هـای بیولوژیـک و اسـتفاده از جزءِ مـشترک انتقـال پیـام یعنـی گلیکـوپروتئین ۱۳۰ می‌باشد [ ۱۴].

در مطالعه حاضر میزان IL-6 در هر دو گروه مـورد مطالعه نسبت به گروه شاهد کاهش اندکی را نـشان می‌دهند هر چند که نتایج به دست آمده در تمـامی گروه‌ها در محدوده وسیعی گسترده بوده و با نتـایج گروه نرمال همپوشـانی دارنـد. کـاهش خفیـف ایـن سیتوکاین را می‌توان به قرارگیری بیماری لوسمی در دسته بیماری‌های غیرالتهابی نـسبت داد چـرا کـه در مطالعات متعدد و از جمله مطالعه رباک[3] و همکـاران نشان داده شده است که این سیتوکاین پـیش التهـابی بوده و در شرایط التهابی مانند آرتریت‌ها بالا رفته و در شرایط غیرالتهابی معمولا تغییـر چنـدانی گـزارش نـشده اسـت [۴۶] ولـی چـون نقـش خونـسازی ایـن سایتوکاین را نمی‌توان نادیده گرفت بنابراین تغییرات این سایتوکاین در بدخیمی‌های خونی چیزی خـارج از تصور نیست. فاکتور ممانعـت کننـده از لوسـمی یـک سـایتوکاین چنـد خـصوصیتی اسـت کـه در انـواع سلول‌های مختلف عملکردهـای مختلفـی بـه نمـایش می‌گذارد، عملکرد مهم این سیتوکاین در فعال کردن رونویـسی ژن POMC[4] مـی‌باشـد کـه در پاسـخ بـه تحریک‌های ایمنی صورت می‌گیرد [۴۷].

[1] Konopleva
[2] Cori cycle
[3] Robak
[4] Pro-opiomelanocortin

در مطالعه ما میـزان LIF در هـر دو گـروه لوسـمی پایین‌تر از افراد کنترل بود کـه بـا مطالعـات قبلـی از جملـه مطالعـه سـانگ[1] و همکـاران مطابقـت کامـل دارد[۴۷]. این امر را می‌توان بـه کـاهش تولیـد ایـن سـیتوکاین از منـابع تولیـد آن و همچنـین کلیـرانس سریع آن نسبت داد. اما این مسئله با مطالعـه احمـد[2] و همکاران تطابق ندارد، این گـروه میـزان LIF را در AML[3] بالاتر از افراد نرمال و در ALL بـدون تغییـر گزارش کرده بودند[۴۸].

مطـابق اکثـر مطالعـات قبلـی افـزایش LIF سـرم در لحظه تشخیص نشان‌دهنده پیش‌آگهی بد اسـت اگـر چه برای اثبات این مسئله به پی‌گیری طـولانی مـدت نیاز است و در این صورت شاید بتوان از این فـاکتور به عنوان شاخصی برای پیش‌بینی عود متعاقب درمان اسـتفاده کـرد. نکتـه دیگـری کـه از تـست‌هـای هماتولوژیک به دست مـی‌آیـد ایـن اسـت کـه کلیـه بیماران مورد مطالعه در هر دو گروه هموگلـوبین و هماتوکریت کمتری در مقایسه با افراد نرمال دارنـد و به عبارتی آنمی دارند علت این مسئله این است که در افراد لوسمیک پرولیفراسیون سلول‌های بلاسـتیک طوری فراگیر می‌شود که کـل فـضا و امکانـات مغـز استخوان را جهـت تکثیـر در دسـت گرفتـه و فـضایی بـرای سـلول‌هـای مـورد نیـاز بـدن و از جملـه رده اریتروئیدی باقی نمی‌مانـد. از طرفـی چـون بیمـاری لوسمی یک ناهنجاری در سطح استم سـل مـی‌باشـد کلیه پیش‌سازهای مشتق شـده از آن و از جملـه رده اریتروئیدی نیز دچار اختلال بوده و تهیه سلول بالغ از آن با اشکال مواجه می‌شود [۴۹].

در مورد پروفایل لیپیدی بیمـاران در هـر دو گـروه آن چیزی که واضح و مبرهن است این است کـه هـر چهار فاکتور مورد نظـر(تـری‌گلیـسیرید، گلـسترول، HDL، LDL) در مقایسه با مقادیر نرمال در محدوده طبیعی قرار داشـته ولـی هـر چهـار نـوع لوسـمی در مقایسه با افراد کنترل پروفایل لیپیدی کاهش یافته‌ای را نشان می‌دهند که شاید ناشی از متابولیـسم بـالای سلول‌های بدخیم باشد که با علامت تب و لاغری نیـز همراه می‌باشد [۱۳].

با بررسی نتایج آزمایش CBC اولین موردی کـه بـه صورت بارز جلب توجه می‌نماید افزایش فوق العـاده گلبول‌های سفید خون در تمامی بیماران می‌باشد بـه طوریکه در مقایسه با شـمارش مرجـع (µL ۱۱۰۰۰-۴۰۰۰) شمارش‌ها حداقل ۱۰ برابر (ALL و AML) تا ۲۰ برابر (CLL و CML[4]) افزایش را نشان می‌دهنـد که بیانگر یک ناهنجاری و از هم گسیختگی در کنتـرل تکثیر و تزاید این سلول‌ها می‌باشد باید اشاره کرد که درصد بلاست در این ۲ گروه متفـاوت مـی‌باشـد بـه طوریکـه در لوسـمی‌هـای حـاد درصـد بلاسـت بـین ۹۹-۲۰٪ متفاوت بوده و این میزان در لوسـمی‌هـای مزمن در هر صورت کمتر از ۲۰٪ بوده و این مسئله وجه افتراقی در این مورد به حساب می‌آید [۴۹].

## نتیجه‌گیری

این یافته ها نشان می دهد که بالا بودن میزان لپتین در بیمـاران CLL ممکـن اسـت بـا پـاتوفیزیولوژی بیماری ارتباط داشته باشد. همچنین کاهش لپتـین در بیماران ALL به نظر می رسد یـک مکانیـسم دفـاعی بمنظور حفظ اشتها، تنظیم وزن بـدن و جلـوگیری از کاهش وزن باشد.

تغییـرات معنـی دار دیگـر فـاکتور هـا، LIF، IL-6، هموگلوبین و هماتوکریـت نـسبت بـه گـروه کنتـرل ممکن است در پاتوفیزیولوژی لوسمی های لنفوئیدی نقش داشته باشند.

[1] Song
[2] Ahmed
[3] Acute Myeloblastic Leukemia
[4] Chronic Myeloid Leukemia

**تشکر و قدردانی**

مقالـه حاضـر برگرفتـه از طـرح تحقیقـاتی مـصوب دانشگاه علوم پزشکی اردبیـل مـی‌باشـد لـذا از کلیـه مسئولین پژوهـشی ایـن دانـشگاه و بخـصوص آقـای دکتر ارزنلو کمال تشکر و قدردانی را داریم همچنین از پرسنل محترم بیمارستان امام خمینی (ره) اردبیـل و بخصوص آزمایشگاه تشخیصی که بخـشی از طـرح در آن مرکز انجـام گردیـد و مـدیر محتـرم گـروه علوم پایه پزشکی جناب آقای دکتر پیری کمال امتنان قدردانی را داریم.

References

1- Considine R, Shinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. N Engl J Med. 1996 Feb; 334(5): 292-295.

2- Russell CD, Ricci MR, Brolin RE, Magill E, Fried SK. Regulation of the leptin content of obese human adipose tissue. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2001 Mar; 280(3): E399-E404.

3- Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, et al. Leptin levels in human and rodent: measurements of plasma leptin and OB RNA in obese and weight reduced subjects. Nat Med. 1995 Nov; 1(11): 1155-1161.

4- Cioffi JA, Shafer AW, Zupancic TJ, Gbur JS, Mikhail A, Platika D, et al. Novel B219/OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. Nat Med. 1996 May; 2(5): 585-589.

5- Umemoto Y, Tsuji K, Yang FC, Ebihara Y, Kaneko A, Furukawa S, et al. Leptin stimulates the proliferation of murine myelocytic and primitive hematopoietic progenitor cells. Blood, 1997 Nov; 90(9): 3438-3443.

6- Ghilardi N, Skoda RC. The leptin receptor activates Janus kinase 2 and signals for proliferation in a factor-dependent cell line. Mol Endocrinol. 1997 Apr; 11(4): 393-399.

7- Konopleva M, Mikhail A, Estrov Z, Zhao S, Harris D, Williams GS, et al. Expression and function of leptin receptor isoforms in myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes: proliferative and anti-apoptotic activities. Blood, 1999 Mar; 93(5): 1668-1676.

8- Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. Cell, 11995 Dec; 83(7): 1263-1271.

9- Tartaglia LA. The leptin receptor. J Biol Chem. 1997 Mar; 272(10): 6093-6096.

10- Baumann H, Morella KK, White DW, Dembski M, Bailon P S, Kim H, et al. The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. Proc Natl Acad Sci. USA, 1996 Aug; 93(16): 8374-8378.

11- Ning HM, Zhang Y, Mao N. Leptin and its receptor in acute myeloid leukemia. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2010 Feb; 18(1):234-237.

12- Muszynska RK, Krawczuk RM, Topczewska M, Sawicka ZM. Relationship between body mass index and leptin levels in children treated for acute lymphoblastic leukemia during and after maintenance therapy. Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw. 2006 Dec; 12(2):91-95.

13- Tisdale MJ. Biology of cachexia. J Natl Cancer Inst. 1997 Dec;89(23):1763-1773.

14- Okamoto H, Yamamura M, Morita Y, Harada S, Makino H, Ota Z. The synovial expression and serum levels of and oncostatin in rheumatoid arthritis interleukin-6, interleukin-1, leukemia inhibitory factor. Arthritis Rheum. 1997 Jun; 40(6):1096-1105.

15- Auernhammer CJ, Melmed S. Leukemia inhibitory factor neuroimmune modulator of endocrine function. Endocr Rev. 2000 Jun; 21(3):313–345.

16- Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M, Estrov Z. Clinical significance of cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia. Blood, 1998 Jun; 91(11): 3995-4019.

17- Lear AG, Wong GG, Clark SC, Smith AG, Ogawa M. Leukemia inhibitory factor differentiation-inhibiting activity/human interleukin for DA cells augments proliferation of human hematopoietic stem cells. Blood, 1990 May; 75(10):1960-1964.
18- Ahima RS, Flier JS. Leptin. Ann Rev Physiol. 2000 Mar; 62(1):413- 437.
19- Marti A, Berraondo B, Martinez JA. Leptin: physiological actions. J Physiol Biochem. 1999 Mar; 55(1):43-49.
20- Laharrague P, Larrouy D, Fontanilles AM, Truel N, Campfield A, Tenenbaum R, et al. High expression of leptin by human bone marrow adipocytes in primary culture. FASEB J. 1998 Jun; 12(9): 747-752.
21- Hino M, Nakao T, Yamane T, Ohta K, Takubo T, Tatsumi N. Leptin receptor and leukemia. Leuk Lymphoma. 2000 Feb; 36(5-6): 457-461.
22- Ahdjoudj S, Lasmoles F, Oyajobi BO, Lomri A, Delannoy P, Marie PJ. Reciprocal control of osteoblast/chondroblast and osteoblast/adipocyte differentiation of multipotential clonal human marrow stromal F/STRO-1(+) cells. J Cell Biochem. 2001 Jan; 81(1):23-38.
23- Laharrague P, Truel N, Fontanilles AM, Corberand JX, Penicaud L, Casteilla L. Regulation by cytokines of leptin expression in human bone marrow adipocytes. Horm Metab Res. 2000 Oct; 32(10):381-385.
24- Gori F, Thomas T, Hicok KC, Spelsberg TC, Riggs BL. Differentiation of human marrow stromal precursor cells: bone morphogenic protein-2 increases OSF2/CβFA1, enhances osteoblast commitment, and inhibits late adipocyte maturation. J Bone Miner Res. 1999 Sep; 14(9):1522-1535.
25- Gaja A, Chury Z, Pecen L, Frakova H, Jandakova E, Hejlova N. Bone marrow and peripheral blood leptin levels in Lymphoproliferative diseases: relation to the bone marrow fat and infiltration. Neoplasma. 2000 Jul; 47(5):307-312.
26- Bennett BD, Solar GP, Yuan JQ, Mathias J, Thomas GR, Matthews W. A role for leptin and its cognate receptor in hematopoiesis. Curr Biol. 1996 Sep; 6(9):1170-1180.
27- Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. J Leukoc Biol. 2000 Oct; 68(4):437-446.
28- Gainsford T, Alexander WS. A role for leptin in hemopoiesis?. Mol Biotechnol. 1999 Apr; 11(2):149-158.
29- Wasik M, Gorska E, Popko K, Pawelec K, Matysiak M, Demkow U. The Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor gene and peripheral blood/bone marrow leptin level in leukemic children. J Physiol Pharmacol. 2006 Sep; 57(4): 375-383.
30- Nakao T, Hino M, Yamane T, Nishizawa Y, Morii H, Tatsumi N . Expression of the leptin receptor in human leukemic blast cells. Br J Haematol. 1998 Aug; 102(3):740-745.
31- Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. Ann Intern Med, 1999 Apr; 130(8):671-680.
32- Sinha MK, Caro JF. Clinical aspects of leptin. Vitam Horm. 1998 Apr; 54:1-30.
33- Wilson CA, Bekele G, Nicolson M, Ravussin E, Pratley RE. Relationship of the white blood cell count to body fat: Role of leptin. Br J Haematol. 1997 Nov; 99(2): 447-451.
34- Pamuk GE, Demir M, Harmandar F, Yesil Y, Turgut B, Vural O. Leptin and resistin levels in serum of patients with hematologic malignancies: correlation with clinical characteristics. Exp Oncol. 2006 Sep; 28(3):241-244.
35- Falorni A, Bini V, Molinari D, Papi F, Celi F, Di Stefano G, et al. Leptin serum levels in normal weight and obese children and adolescents: relationship with age, sex, pubertal development, body mass index and insulin. Inter J Obesity Related Metabol Disord. 1997 Oct; 21(10):881-890.
36- Moller N, O'Brien P, Nair KS. Disruption of the relationship between fat content and leptin levels with aging in humans. J Clin Endocrinol Metabol. 1998 Mar; 83(3):931-934.

37- Pelley MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science. 1995 Jul; 269(5223):540-543.
38- Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F, et al. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. J Clin Endocrinol Metabol. 1996 Sep; 81(9):3424-3427.
39- Suzuki K, Ito Y, Ochiai J, Kusuhara Y, Hashimoto S, Tokudome S, et al. Relationship between obesity and serum markers of oxidative stress and inflammation in Japanese. Asian Pacific J Cancer Prev. 2003 Jul-Sep; 4(3):259-566.
40- Karachaliou F, Vlachopapadopoulou E, Theochari M, Konstandellou E, Michalados S. Leptin levels in patients with thalassemia major. Minerva Pediatr. 2006 Aug; 58(4):373-378.
41- Dedoussis GVZ, Kyrtsonis MC, Andrikopoulos NE, Voskaridou E, Loutradis A. Inverse correlation of plasma leptin and soluble transferrin receptor levels in β-thalassemia patients. Ann Hematol. 2002 Sep; 81(9): 543-547.
42- Matthys P, Billiau A. Cytokines and cachexia. Nutrition. 1997 Sep; 13(9):763-770.
43- Rafet M, Imdat D, Ekrem A, Reha E, Hayati A, Cevat T, et al. Relationship between leptin levels and body indexes in patients with haematologic malignancy. Turk j haematol. 2001 Feb; 18(3):185-189.
44- Inui A. Cancer anorexia-cachexia syndrome: are neuropeptides the key?. Cancer Res. 1999 Sep; 59(18):4493-4501.
45- Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine PV. Leptin: The tale of an obesity gene. Diabetes, 1996 Nov; 45(11):1455-1462.
46- Robak T, Gladalska A, Stepien H, Robak E. Serum levels of interleukin-6 type Cytokines and soluble interleukin-6 receptor in patients with rheumatoid arthritis. Mediators Inflamm. 1998 Oct; 7(5):347–353.
47- Ren SG, Seliktar J, Li X, Braunstein GD, Melmed S. Measurement of Leukemia Inhibitory Factor in Biological Fluids by Radioimmunoassay. J Clin Endocrinol Metab. 1998 Apr; 83(4):1275-1283.
48- Ahmed KM, Osama E, Zakaria EM, Nehad S. Serum level of leukemia inhibitory factor (LIF) in children with acute leukemia. The Egypt J Immunol. 1998 Jul; 5(2): 159- 165.
49- Andrzej J, Jorg C, Robert S, Sara A, Geoffrey J, Cyrus H, etal. Molecular biology of leukemia. Cur Onco Repo. 2000 Mar; 2(2):123-131.

# Evaluation of Leptin, LIF and IL-6 Serum Levels in Lymphoid Leukemia Patients

**Alizadeh Sh, MSc[1]; Bohlooli S, PhD[2]; Abedi A, MSc[3]; Mousavi SH, MSc[4]; Jafazadeh B, MD[5]; Hamrang N, BSc[5]; Imani A, BSc[5]**

[1] Corresponding Author: Lecturer in Hematology, Dept. of Hematology & Blood banking, School of Allied Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran . E-mail:alizadehs@sina.tums.ac.ir
[2]- Assistant prof. of Pharmacology, Dept. of Pharmacology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran. [3] Lecturer in Physiology, Dept. of Basic Sciences, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran. [4] Lecturer in Hematology, Dept. of Hematology & Blood banking, School of Allied Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [5] Diagnostic Laboratory of Imam Khomeini Hospital, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

# ABSTRACT

***Background & Objectives:*** Leptin is a hormone secreted from adipocyte tissue with established role in the differentiation and proliferation of hematopoietic cells. This hormone has major impact on fat metabolism. LIF is a pleiotropic cytokine with extensive hematopoietic, neuronal, and endocrine actions. LIF and IL-6 are leading to decreased level of leptin by activating signaling via their own receptors. Body mass index (BMI) has a direct connection with the leptin. It seems that Hb and HCT levels are also implicated in disease prognosis. This study was conducted to evaluate leptin, LIF and IL-6 serum levels and also to measure the amounts of BMI, Hb and HCT in lymphoid leukemia patients.

***Methods:*** The study was carried out on 30 leukemia patients (15 cases ALL and 15 cases CLL). Fifteen healthy subjects were considered as control. Serum levels of leptin, LIF and IL-6 were measured by ELISA. BMI was calculated by statistical formula. The amount of Hb and HCT were measured by cell counter. Data was analyzed by SPSS software. Statistical differences between groups were assessed by t test, and $p<0.05$ was considered significant.

***Results:*** Leptin serum level showed a decrease in ALL patients ($p<0.002$), but there was an increase in CLL patients when comparing with control group ($p<0.003$). BMI and serum levels of leptin, LIF and IL-6 were showed a significant decrease in ALL patients in comparison with control group ($p<0.05$). Although, LIF serum levels and BMI in CLL patients showed a decrease, a significant increase in leptin serum level was observed ($p<0.05$). A decrease in IL-6 level was also observed which was not significant. The relation between BMI and leptin serum level in ALL and CLL patients were not significant, nevertheless it was significant in control group ($p<0.05$). Hb and HCT levels in both ALL and CLL patients showed a significant decrease ($p <0.05$).

***Conclusion:*** Findings on serum levels of LIF, IL-6, Leptin, Hb and HCT and also its relations with BMI in ALL and CLL patients suggest that, these factors may have important role in physiopathology of lymphoid leukemia.

***Key words:*** Lymphoid leukemia, Leptin, LIF, IL-6