

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

شعبان علیزاده<sup>۱</sup>، دکتر شهاب بهلولی<sup>۲</sup>، علی عابدی<sup>۳</sup>، سیدهادی موسوی<sup>۴</sup>، دکتر بهزاد جعفرزاده<sup>۵</sup>، نوروز همرنگ<sup>۵</sup>، علی ایمانی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> نویسنده مسئول: مربی هماتولوژی، گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

E-mail: alizadehs@sina.tums.ac.ir

<sup>۲</sup> استادیار فارماکولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران <sup>۳</sup> مربی فیزیولوژی، گروه علوم پایه،

دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران <sup>۴</sup> مربی هماتولوژی، گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه

علوم پزشکی تهران، تهران، ایران <sup>۵</sup> 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 می‌کند. فاکتور ممانعت‌کننده از لوسمی (LIF) یک سایتوکاین پلئوتروفیک با اعمال گسترده خونسازی، عصبی و اندوکرینی می‌باشد، 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 می‌باشد و 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 اندازه‌گیری شد. BMI توسط فرمول آماری و میزان هموگلوبین و هماتوکریت توسط دستگاه شمارنده سلولی اندازه‌گیری شدند. نتایج توسط نرم افزار SPSS آنالیز و تفاوت آماری بین گروه‌ها توسط آزمون تی بررسی شد.  $p < 0.05$  به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** میزان لپتین در مقایسه با گروه کنترل در بیماران ALL کاهش ( $p < 0.002$ ) ولی در بیماران CLL افزایش داشت ( $p < 0.003$ ). اختلاف میانگین LIF، IL-6، BMI و لپتین در بیماران ALL در مقایسه با گروه کنترل کاهش و دارای نتایج معنی‌داری بود ( $p < 0.05$ ). میانگین فاکتورهای LIF و BMI در گروه بیماران CLL در مقایسه با گروه کنترل دارای کاهش، لپتین دارای افزایش و اختلاف نتایج معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). میزان IL-6 دارای کاهش ولی در حد معنی‌دار نبود. ارتباط بین BMI و لپتین در بیماران ALL و CLL از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. اما این ارتباط در افراد طبیعی معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). میزان هموگلوبین و هماتوکریت در هر دو گروه بیماران ALL و CLL کاهش معنی‌داری داشتند ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** 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؛ IL-6؛ LIF

دریافت: ۸۹/۶/۲۰ پذیرش: ۸۹/۱۰/۱۵

لطفاً 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 [۱-۳]. لپتین همچنین نقش مهمی در ایمنی، خونسازی و تنظیم چرخه سلولی دارد. خونسازی را توسط تحریک تکثیر و همچنین مهار آپوپتوز میلوپوسیت‌ها و سلول‌های پیشساز خونساز اولیه تنظیم می‌کند [۴، ۵، ۶]. 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 غشاء عمل می‌کند [۳-۲]. گیرنده متصل به غشاء یک پروتئین تک گذرنده از غشاء می‌باشد که متعلق به ابر خانواده گیرنده‌های سایتوکاینی مرتبط با خانواده گیرنده هموپوئیتین می‌باشد [۸-۱۰، ۴]. این گیرنده‌ها در سلول‌های بنیادی خونساز و در انواع مختلفی از رده‌های خونساز بیان می‌شود [۱۱]. غلظت لپتین سرم با BMI<sup>۱</sup> (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 کاهش کاشکسی تظاهرات غالب بیماری‌های بدخیم هستند و معمولا با دیگر سایتوکاین‌هایی مانند TNF- $\alpha$  مشارکت دارد [۱۳]. بهرحال لپتین نه تنها خونسازی طبیعی را ترغیب می‌کند، بلکه همچنین باعث تحریک رشد و بقای سلول‌های لوسمی می‌شود، که پیشنهاد می‌کنند لپتین در بیماری‌زایی بدخیمی‌های هماتولوژی نقش دارد [۵، ۶]. IL-6 و LIF<sup>۲</sup> (فاکتور مهارکننده لوسمی) در یک گروه به عنوان سایتوکاین‌های IL-6 type قرار دارند که همپوشانی در فعالیت‌های بیولوژیک و استفاده از جزء مشترک

انتقال پیام یعنی گلیکوپروتئین ۱۳۰ دارند [۱۴]. 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<sup>۳</sup> در تنظیم سلول‌های بنیادی اولیه بازی کنند [۱۶، ۱۷]. هدف از این مطالعه بررسی سطوح سرمی لپتین، LIF، IL-6 و همچنین پروفایل لیپیدی و ارتباط آن با پیشرفت بیماری‌های 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 ۴۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری شد.

## اندازه‌گیری 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 آنتی‌بادی HRP<sup>۴</sup> برای اتصال به آنتی‌بادی‌های محدود

<sup>3</sup> Granulocytes-colony Stimulating Factor

<sup>4</sup> Horse radish Peroxides

<sup>1</sup> Body Mass Index

<sup>2</sup> Leukemia inhibitory factor

۲۰ دقیقه میزان جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۵۰ 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.

#### اندازه‌گیری 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 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 ۴ 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 ۴۵۰ 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 نشان‌دهنده میزان بالاتری از IL-6 در سرم یا کنترل است. نظر به محدودیت در تعداد تست‌های کیت تنها استانداردها با دو بار تکرار انجام شد.

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 ۴۵۰ 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 نشان‌دهنده میزان کمتری از لپتین در سرم یا کنترل است.

#### اندازه‌گیری 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 ۴ مرحله شستشو که آنتی‌بادی‌های آزاد را از محیط خارج می‌کند، سوبسترای آنزیم که استرپتوآبیدین کونژوگه شده با HRP است (TMB)<sup>۱</sup> 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 واکنش، پایان داده شد و ظرف

<sup>۱</sup> 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  $\pm$  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 داده‌ها با استفاده از آزمون آماری U-test; Mann-Whitney ارزیابی شد و ( $p < 0.05$ ) به عنوان معنی‌دار 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 ( $p < 0.05$ ) (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).

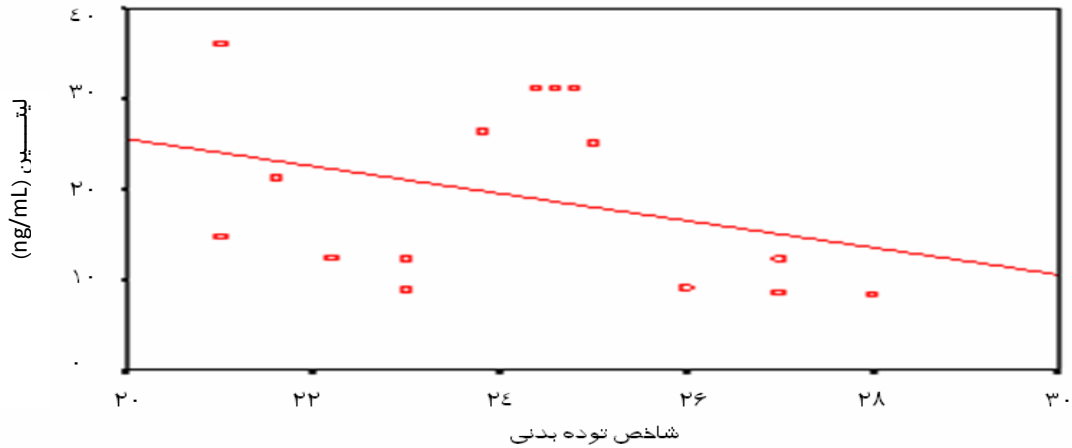
اختلاف میانگین پروفایل لیپیدی پائین‌تر از گروه

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

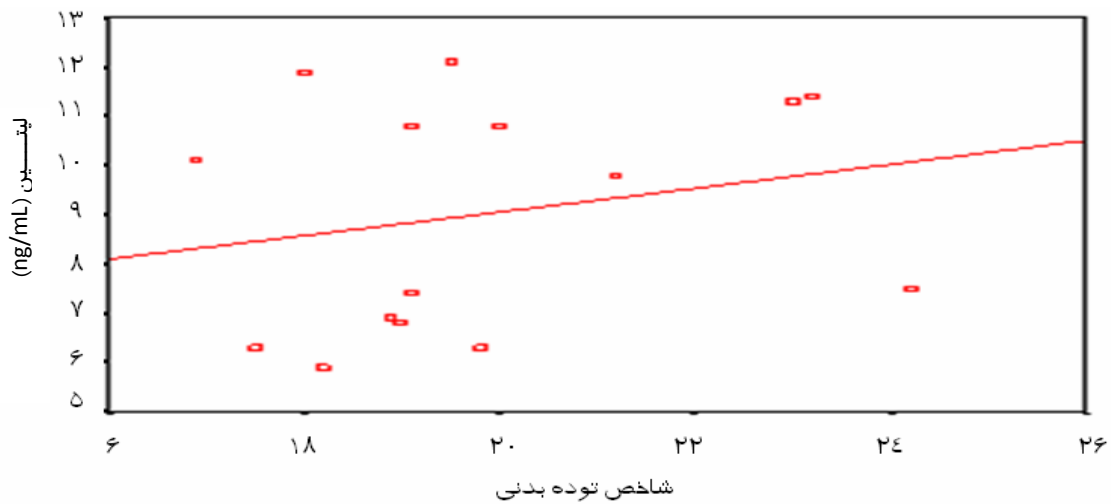
p value	گروه کنترل	ALL	پارامترها
۰/۰۰۲	۱۹/۳±۱۰	۹±۲/۳	لپتین (ng/mL)
۰/۰۰۰۱	۰/۷۶±۰/۱۳	۰/۵۲±۰/۰۶	LIF (ng/mL)
۰/۰۰۰۴	۵۳/۱±۱۳/۲	۴۲/۱±۸/۶	IL-6 (ng/mL)
۰/۰۰۰۱	۱۷۲/۲±۶۴/۱	۹۴/۸±۱۷/۹	کلسترول (mg/dL)
۰/۰۰۲	۱۹۲/۳±۹۲/۴	۱۲۶/۳±۱۶/۱	تری گلیسرید (mg/dL)
۰/۰۰۰۲	۴۰/۱±۱۳/۵	۲۸/۳±۹/۲	HDL (mg/dL)
۰/۰۰۰۱	۱۱۶/۲±۴۳/۲	۴۹/۲±۹/۳	LDL (mg/dL)

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

p value	گروه کنترل	ALL	پارامترها
	۱۵	۱۵	تعداد بیماران
۰/۰۰۰۱	۲۴/۱±۲/۲	۱۹/۸±۲/۱	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
۰/۰۰۰۱	۷/۱±۱/۶	۸۵±۴۰/۵	لکوسیت (۱۰ <sup>۹</sup> /L)
۰/۰۰۰۱	۱۴/۲±۱/۱	۶/۹±۲/۳	هموگلوبین (g/dL)
۰/۰۰۰۱	۴۹/۲±۳/۲	۲۰/۸±۶/۵	هماتوکریت (%)



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



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

جدول ۳. سطوح سرمی لیپتین، IL-6، و دیگر پارامترهای آزمایشگاهی در بیماران CLL

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

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

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

می‌توان به عنوان شاهدهی برای تخمین لپتین استفاده کرد ولی این عمل هتروژنیستی بالایی داشته و بواسطه عدم تعادل انرژی و ناشتایی ۲۴ ساعته تا ۳۰٪ متاثر می‌شود. همچنین میزان این سایتوکاین توسط عفونت، التهاب و سایر سایتوکاین‌ها و هورمون‌ها تغییر می‌یابد [۳۳-۳۱، ۲۷]. 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].

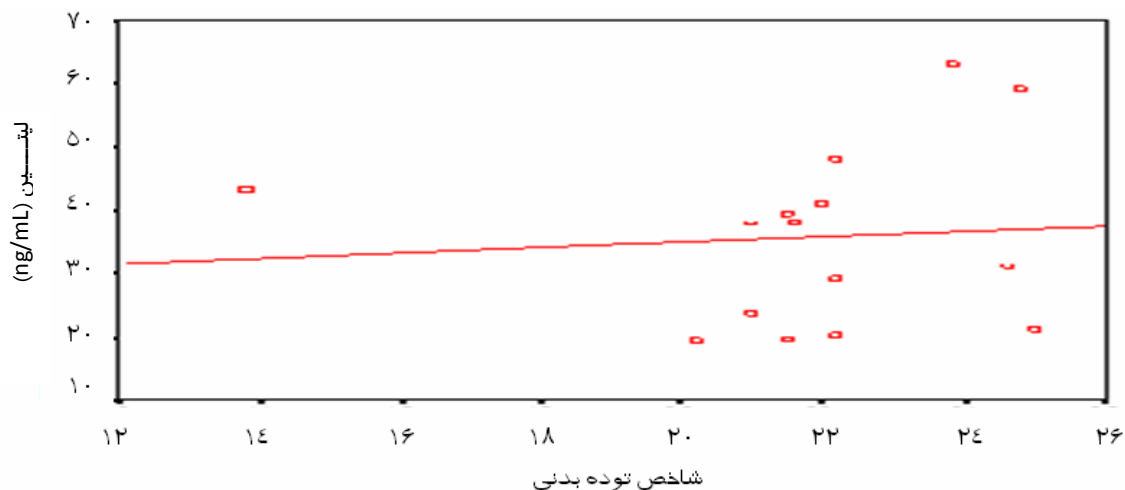
در مطالعه ما، میزان لپتین سرمی در بیماران ALL پائین‌تر و در بیماران CLL بالاتر از گروه کنترل بود. در مطالعه‌ای که توسط پاموک<sup>۱</sup> و همکاران انجام شد کاهش میزان لپتین در لوسمی‌های حاد نشان

و هماتوکریت پائین‌تر و میزان تعداد گلبول‌های سفید بالاتر از گروه کنترل بود (جدول ۴).

جدول ۴. اطلاعات بالینی عمومی و شمارش کل سلول‌های خونی در

بیماران با CLL			
P value	گروه کنترل	CLL	پارامترها
	۱۵	۱۵	تعداد بیماران
۰/۰۰۳	۲۴/۱±۲/۲	۲۱/۸±۲/۷	BMI(Kg/m <sup>2</sup> )
۰/۰۰۰۱	۷/۱±۱/۶	۱۵۰±۵۲	لکوسیت (۱۰ <sup>۹</sup> /L)
۰/۰۰۰۱	۱۴/۲±۱/۱	۸/۵±۳/۲	هموگلوبین (g/dL)
۰/۰۰۰۱	۴۹/۲±۳/۲	۲۶/۷±۹/۳	هماتوکریت (%)

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).



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

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 [۳۴] که در مطالعه حاضر نیز به این نتیجه رسیدیم. علت این امر را شاید بتوان به افزایش تخریب ایمنی در

## بحث

شواهدی همانند بیان لپتین توسط سلول‌های استرومال مغز استخوان [۲۵، ۲۰] و وجود گیرنده‌های لپتین در سلول‌های نرمال و لوسمیک خونساز [۲۰، ۲۶-۳۰] نشان می‌دهد که لپتین علاوه بر دخالت در کنترل متابولیسم چربی [۱۸، ۱۹] در خونسازی نیز تأثیر دارد. هر چند از میزان BMI

<sup>1</sup> Pamuk

افزایش یافته که واسطه کاشکسی هستند و باعث مهار اشتها از ناحیه هیپوتالاموسی بواسطه مکانیسم مشابه لپتین می‌شوند [۴۴، ۴۵]. این امر بیانگر این مسئله است که چرا با وجود کاهش در میزان لپتین باز لاغری افراطی در اکثر بیماران لوسمیک دیده می‌شود.

فاکتور ممانعت کننده لوسمی و IL-6 در یک گروه به عنوان سیتوکاین‌های IL-6-type قرار دارند که همپوشانی در فعالیت‌های بیولوژیک و استفاده از جزء مشترک انتقال پیام یعنی گلیکوپروتئین ۱۳۰ می‌باشد [۱۴].

در مطالعه حاضر میزان IL-6 در هر دو گروه مورد مطالعه نسبت به گروه شاهد کاهش اندکی را نشان می‌دهند هر چند که نتایج به دست آمده در تمامی گروه‌ها در محدوده وسیعی گسترده بوده و با نتایج گروه نرمال همپوشانی دارند. کاهش خفیف این سیتوکاین را می‌توان به قرارگیری بیماری لوسمی در دسته بیماری‌های غیرالتهابی نسبت داد چرا که در مطالعات متعدد و از جمله مطالعه رباک<sup>۳</sup> و همکاران نشان داده شده است که این سیتوکاین پیش التهابی بوده و در شرایط التهابی مانند آرتریت‌ها بالا رفته و در شرایط غیرالتهابی معمولاً تغییر چندانی گزارش نشده است [۴۶] ولی چون نقش خونسازی این سیتوکاین را نمی‌توان نادیده گرفت بنابراین تغییرات این سیتوکاین در بدخیمی‌های خونی چیزی خارج از تصور نیست. فاکتور ممانعت کننده از لوسمی یک سیتوکاین چند خصوصیتی است که در انواع سلول‌های مختلف عملکردهای مختلفی به نمایش می‌گذارد، عملکرد مهم این سیتوکاین در فعال کردن رونویسی ژن POMC<sup>۴</sup> می‌باشد که در پاسخ به تحریک‌های ایمنی صورت می‌گیرد [۴۷].

این بیماری نسبت داد چرا که لپتین جهت عملکرد کامل لنفوسیت‌ها ضروری بوده و با توجه به اینکه در این بیماری لنفوسیت‌ها از لحاظ عملکردی صحیح نمی‌باشند در یک سیکل معیوب تولید لپتین افزایش می‌یابد. بر خلاف نتایج ما در مطالعه کنولپوا<sup>۱</sup> و همکاران میزان لپتین در بیماران All بالاتر از گروه کنترل بود و همچنین افزایشی در میزان لپتین بیماران CLL دیده نشد [۷].

با بررسی رابطه بین میزان هورمون لپتین و BMI در افراد سالم مشخص شد که این دو با هم یک رابطه مثبت معنی‌دار دارند که با مطالعات قبلی همخوانی دارد [۳۹-۳۵] که احتمالاً 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 بر روی هیپوتالاموس که با اثرات ضدالتهابی خود نقشی در تنظیم 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 حاضر بین میزان هورمون لپتین و BMI در افراد لوسمیک رابطه معنی‌داری پیدا نشد که این یافته با مطالعات قبلی انجام شده در این زمینه همخوانی دارد [۴۰، ۴۱].

در بیماران بدخیم افزایش تولید سیتوکاین‌ها منجر 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 (یکی از علل کاهش میزان لپتین در لوسمی‌ها) و کاهش عضلات اسکلتی مشخص می‌شود [۴۲، ۴۳]. این امر منجر به کاهش دریافت انرژی و افزایش مصرف انرژی پایه می‌شود، در نتیجه فعالیت سیکل کوری<sup>۲</sup> و تعدادی از سایر سیتوکاین‌ها از جمله IL-1, IL-6, LIF, TNF- $\alpha$

<sup>3</sup> Robak<sup>4</sup> Pro-opiomelanocortin<sup>1</sup> Konopleva<sup>2</sup> Cori cycle

طبیعی قرار داشته ولی هر چهار نوع لوسمی در مقایسه با افراد کنترل پروفایل لیپیدی کاهش یافته‌ای را نشان می‌دهند که شاید ناشی از متابولیسم بالای سلول‌های بدخیم باشد که با علامت تب و لاغری نیز همراه می‌باشد [۱۳].

با بررسی نتایج آزمایش CBC اولین موردی که به صورت بارز جلب توجه می‌نماید افزایش فوق العاده گلبول‌های سفید خون در تمامی بیماران می‌باشد به طوریکه در مقایسه با شمارش مرجع ( $11000 \mu\text{L}$ ) -  $4000$  (شمارش‌ها حداقل ۱۰ برابر (ALL و AML) تا ۲۰ برابر (CLL و CML<sup>۴</sup>) افزایش را نشان می‌دهند که بیانگر یک ناهنجاری و از هم گسیختگی در کنترل تکثیر و تزايد این سلول‌ها می‌باشد باید اشاره کرد که درصد بلاست در این ۲ گروه متفاوت می‌باشد به طوریکه در لوسمی‌های حاد درصد بلاست بین ۹۹-۲۰٪ متفاوت بوده و این میزان در لوسمی‌های مزمن در هر صورت کمتر از ۲۰٪ بوده و این مسئله وجه افتراقی در این مورد به حساب می‌آید [۴۹].

### نتیجه گیری

این یافته‌ها نشان می‌دهد که بالا بودن میزان لپتین در بیماران CLL ممکن است با پاتوفیزیولوژی بیماری ارتباط داشته باشد. همچنین کاهش لپتین در بیماران ALL به نظر می‌رسد یک مکانیسم دفاعی بمنظور حفظ اشتها، تنظیم وزن بدن و جلوگیری از کاهش وزن باشد.

تغییرات معنی دار دیگر فاکتور ها، LIF، IL-6، هموگلوبین و هماتوکریت نسبت به گروه کنترل ممکن است در پاتوفیزیولوژی لوسمی‌های لنفوئیدی نقش داشته باشند.

در مطالعه ما میزان LIF در هر دو گروه لوسمی پایین‌تر از افراد کنترل بود که با مطالعات قبلی از جمله مطالعه سانگ<sup>۱</sup> و همکاران مطابقت کامل دارد [۴۷]. این امر را می‌توان به کاهش تولید این سیتوکاین از منابع تولید آن و همچنین کلیرانس سریع آن نسبت داد. اما این مسئله با مطالعه احمد<sup>۲</sup> و همکاران تطابق ندارد، این گروه میزان LIF را در AML<sup>۳</sup> بالاتر از افراد نرمال و در ALL بدون تغییر گزارش کرده بودند [۴۸].

مطابق اکثر مطالعات قبلی افزایش LIF سرم در لحظه تشخیص نشان‌دهنده پیش‌آگهی بد است اگر چه برای اثبات این مسئله به پی‌گیری طولانی مدت نیاز است و در این صورت شاید بتوان از این فاکتور به عنوان شاخصی برای پیش‌بینی عود متعاقب درمان استفاده کرد. نکته دیگری که از تست‌های هماتولوژیک به دست می‌آید این است که کلیه بیماران مورد مطالعه در هر دو گروه هموگلوبین و هماتوکریت کمتری در مقایسه با افراد نرمال دارند و به عبارتی آنمی دارند علت این مسئله این است که در افراد لوسمیک پرولیفراسیون سلول‌های بلاستیک طوری فراگیر می‌شود که کل فضا و امکانات مغز استخوان را جهت تکثیر در دست گرفته و فضایی برای سلول‌های مورد نیاز بدن و از جمله رده اریترئوئیدی باقی نمی‌ماند. از طرفی چون بیماری لوسمی یک ناهنجاری در سطح استم سل می‌باشد کلیه پیش‌سازهای مشتق شده از آن و از جمله رده اریترئوئیدی نیز دچار اختلال بوده و تهیه سلول بالغ از آن با اشکال مواجه می‌شود [۴۹].

در مورد پروفایل لیپیدی بیماران در هر دو گروه آن چیزی که واضح و مبرهن است این است که هر چهار فاکتور مورد نظر (تری‌گلیسیرید، گلسترول، HDL، LDL) در مقایسه با مقادیر نرمال در محدوده

<sup>1</sup> Song

<sup>2</sup> Ahmed

<sup>3</sup> Acute Myeloblastic Leukemia

<sup>4</sup> Chronic Myeloid Leukemia



**تشکر و قدردانی**

مقاله حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی اردبیل می‌باشد لذا از کلیه مسئولین پژوهشی این دانشگاه و بخصوص آقای دکتر ارزولو کمال تشکر و قدردانی را داریم همچنین

از پرسنل محترم بیمارستان امام خمینی (ره) اردبیل و بخصوص آزمایشگاه تشخیصی که بخشی از طرح در آن مرکز انجام گردید و مدیر محترم گروه 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*, 1995 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, Kyrtonis MC, Andrikopoulos NE, Voskaridou E, Loutradis A. Inverse correlation of plasma leptin and soluble transferrin receptor levels in  $\beta$ -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, Stepień 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, et al. 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<sup>1</sup>; Bohlooli S, PhD<sup>2</sup>; Abedi A, MSc<sup>3</sup>; Mousavi SH, MSc<sup>4</sup>; Jafazadeh B, MD<sup>5</sup>; Hamrang N, BSc<sup>5</sup>; Imani A, BSc<sup>5</sup>

<sup>1</sup> 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

<sup>2</sup>- Assistant prof. of Pharmacology, Dept. of Pharmacology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran. <sup>3</sup> Lecturer in Physiology, Dept. of Basic Sciences, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

<sup>4</sup> Lecturer in Hematology, Dept. of Hematology & Blood banking, School of Allied Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. <sup>5</sup> 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 pathophysiology of lymphoid leukemia.

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