استفاده از گرماسنجی روبشی تفاضلی در تشخیص مراحل اولیه سرطان‌ها: *گزارش کوتاه*

هدا کشمیری نقاب[۱]
بهرام گلیایی[۱]
علی اکبر صبوری[۱و۲]
علی اکبر موسوی موحدی[۱و۲*]

۱- مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- قطب علمی بیوترمودینامیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، خیابان انقلاب، دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک
تلفن: ۶۱۱۱۳۳۸۰-۰۲۱
E-mail: moosavi@ut.ac.ir

دریافت: ۱۳۹٤/۰۸/۱٤ ویرایش: ۱۳۹۵/۰٤/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۵/۰٦/۲۵ آنلاین: ۱۳۹۵/۰۷/۰۵

چکیده

زمینه و هدف: تشخیص دقیق و زودهنگام بیماری‌ها به‌ویژه سرطان، به‌خصوص زمانی که بیماری هنوز ایجاد علامت نکرده و فرد احساس ناخوشی ندارد، مهم‌تر و آسان‌تر از درمان بیماری در مراحل پیشرفته و توأم با ظهور عوارض است.

روش بررسی: گرماسنجی روبشی تفاضلی، روشی انتخابی جهت بررسی خواص ترمودینامیکی واسرشته شدن پروتیین‌ها و استفاده از آن در شناسایی و تفکیک پروتیین‌های پلاسمایی می‌باشد. مایعات زیستی مانند خون، مایع مغزی- نخاعی، ادرار، مغز استخوان و بزاق حاوی داده‌های ارزشمندی از نوع و میزان پیشرفت بیماری می‌باشد.

یافته‌ها: نتایج حاکی از آن است که نمودار حرارتی حاصل از بیماری‌ها و سرطان‌ها در مراحل و شدت‌های مختلف، شکل‌های متفاوت و منحصر به فردی از خود بروز می‌نمایند که می‌تواند در تشخیص اولیه و زودهنگام بیماری‌ها از آن بهره برد.

نتیجه‌گیری: در این مقاله گرماسنجی روبشی دمایی، به‌عنوان یک روش جدید و حساس برای شناسایی نشانگرهای زیستی پروتیینی و در نهایت تشخیص بعضی بیماری‌ها معرفی می‌گردد.

کلمات کلیدی: گرماسنجی روبشی دمایی، سرطان، پروتئوم، دیابت.

مقدمه

در سال‌های اخیر، پروتیین‌های پلاسمای خون و بیومارکرهای آن به‌عنوان اصلی‌ترین مرجع تشخیص و پیگیری بالینی در طیف وسیعی از بیماری‌های التهابی، خود ایمنی، سرطان‌ها، عفونت‌ها و سوءتغذیه شناخته شده است. پلاسما حاوی بیش از ۳۰۰۰ پروتیین منحصر به فرد (پروتئوم‌های پلاسمایی) می‌باشد که در این بین از نظر وزنی ۹۰٪ آن‌ها تنها شامل ۱۰ پروتیین که بیشتر شامل آلبومین، فیبرینوژن، ترانسفرین و ایمونوگلوبین و ۹٪ را ۱۲ پروتیین مانند آپولیپوپروتیین‌های A و B تشکیل می‌دهند. ۱٪ باقیمانده، مخلوط پیچیده‌ای از پروتیین‌ها با وزن مولکولی بسیار پایین (پپتیدها) می‌باشند که پپتیدوم نام دارند. حال آنکه بررسی‌های انجام‌شده بیانگر این است که بسیاری از پروتیین‌های فراوان پلاسما در مراحل اولیه بیماری‌ها تغییر محسوسی نمی‌کنند، بلکه توزیع و پراکندگی پپتیدوم‌ها می‌تواند فراهم‌کننده داده‌های حیاتی در تشخیص زودرس طیفی از بیماری‌ها و درمان مؤثر آن‌ها گردد. اما از آنجایی که بسیاری از پپتیدوم‌ها با وزن مولکولی بسیار پایین به پروتیین‌های اصلی پلاسما به‌ویژه آلبومین و ایمونوگلوبین‌ها متصل می‌گردند و میانکنش احتمالی پپتیدوم با پروتئوم‌های پلاسما موسوم به Interactome با استفاده از ویژگی‌های حرارتی آن‌ها به‌کمک روش گرماسنجی روبشی تفاضلی امکان‌پذیر است.[۱] منحنی گرمایی پلاسمای بیماران مبتلا به روماتیسم مفصلی، لوپوس، لایم، سرطان تخمدان، بافت رحم، پوست (ملانوما) و ریه نیز

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-20]

مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاکی از آن است که نمودار حرارتی حاصل از بیماری‌ها و سرطان‌ها در مراحل و شدت‌های مختلف، شکل‌های متفاوت و منحصر به فردی از خود بروز می‌نمایند که می‌تواند در تشخیص اولیه و زودهنگام بیماری‌ها از آن بهره برد.[۱و۲]

روش بررسی

استفاده از Differential scanning calorimetry (DSC) به‌عنوان روشی انتخابی جهت بررسی خاصیت ترمودینامیکی واسرشته شدن پروتیین‌ها و استفاده از آن‌ها در تشخیص بالینی توسط مرکز سرطان دانشگاه لوییزویل ایالت کنتاکی آمریکا مطرح شده و در حال حاضر تأسیس یک شرکت تجاری و ثبت فناوری نمودار حرارتی پلاسما (Plasma Thermogram) در ایالت متحده انجام شده که مقدمات معرفی و عرضه این فناوری به سیستم تشخیصی- درمانی را آماده می‌نماید. از آن زمان تاکنون این روش بر روی طیف وسیعی از بیماری‌ها به‌ویژه خود ایمنی و سرطان و تعداد کمی روی دیابت مورد ارزیابی قرار گرفته است که نتایج آن در خور توجه می‌باشد که در این نوشتار به مرور گزارش‌های چاپ‌شده تحقیقاتی، پرداخته می‌شود. گفتنی است که نتایج استخراج شده حاصل تست‌های مکرر و تجدیدپذیر قابل توجهی بوده است.[۳]

یافته‌ها

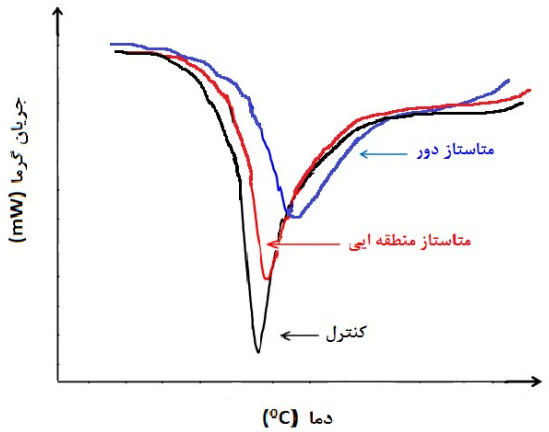
سرطان روده بزرگ: تغییرات پیک انتقال گرمایی مربوط به آلبومین و هپتاگلوبولین (T_m= ۶۲ °C) و ایمونوگلوبولین‌ها (T_m= ۷۰ °C) در سرطان روده بیانگر ناهمگن بودن و پیشرفت مرحله‌ای بیماری می‌باشد. نقطه اشتراک نمودار حرارتی موارد سرطان روده آنتالپی پایین‌تر و عدم علامت در نواحی با دمای بالا (فقدان پیک در ۸۲ °C مربوط به ایمونوگلوبولین G و ترنسفرین) در مقایسه با نمودار حرارتی افراد سالم می‌باشد.[۴]

غده سرطانی بدخیم مغز استخوان: داده‌های گرماسنجی روبشی تفاضلی حاصل از سرم خون بیماران سرطانی بدخیم استخوان، کاهش در C_p^{ex} در اولین حالت گذار و افزایش قابل ملاحظه در C_p^{ex} در دومین و سومین حالت گذار در سطوح بالایی از پروتیین M (میلوما پروتیین) را نشان می‌دهد. نمودار حرارتی گرماسنجی روبشی تفاضلی غده سرطانی مغز استخوان به غلظت پروتیین M و ایزوتوپ‌های آن وابسته است (شکل ۲ در مرجع ۵). در همه موارد مالتیپل مایلومای بدخیم ناپدید شدن پیک حالت گذار مربوط به ترنسفرین (۸۵ °C) و حضور پیک حالت گذار در ۸۲ °C مربوط به ایزوتوپ ایمونوگلوبین G مشاهده می‌شود.[۵]

پسوریازیس: گرماسنجی روبشی تفاضلی حتی قادر است بین فازهای مختلف این بیماری تمایز قایل شود. محتوای پلاسمای خون این بیماران تغییراتی مانند کاهش در T_m و ΔH نسبت به پلاسمای خون افراد سالم نشان می‌دهند. علاوه بر آن تیمار دارویی هر یک از مراحل آن نیز نمودار حرارتی منحصر به فرد خود را دارد.[۶]

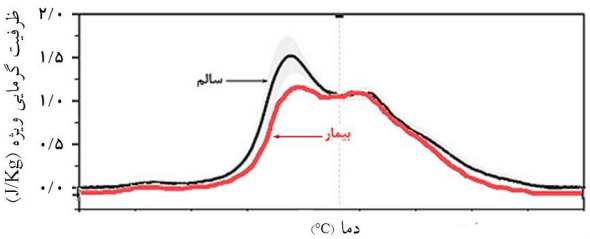
ملانوما: همان‌طور که در شکل ۱ مشهود است، در حالت کنترل T_m اول ۵۶ °C و T_m دوم ۶۳ °C و آنتالپی نیز $\Delta H/J\ g^{-1}$ ۱/۵۳ می‌باشد اما در حالت متاستاز منطقه‌ای T_mها (دماهای واسرشته شدن) اندکی افزایش داشته و آنتالپی گرماسنجی کاهش می‌یابد و در متاستاز دور به‌علت واسرشتگی پروتیین‌های پلاسما T_m دوم افزایش اما آنتالپی گرماسنجی کاهش می‌یابد.[۷]

سرطان پستان: در ترموگرام بیماران سرطان پستان، مقایسه نمودار حرارتی حالت کنترل با نمونه‌های بیـمارانی که بر اساس تعداد غدد



شکل ۱: آنالیز گرماسنجی روبشی تفاضلی C پلاسمای خون در حالت کنترل و متاستاز منطقه‌ای و دور ملانوما.[۷]

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-20]



شکل ۲: نمودار گرمایی پلاسمای افراد سالم و افراد بیمار دچار کاهش زودهنگام عملکرد کلیوی[۱۲]

لنفاوی و اندازه تومور طبقه‌بندی شده‌اند، نشان می‌دهد که در حالت کنترل پیک‌های اصلی در T_{M1}، T_{M2} و T_{M3} هستند. در نمونه‌های بیمار علاوه بر این دو پیک، T_{m4} و T_{m5} نیز وجود دارند که تحت تأثیر افزایش غدد لنفی و افزایش اندازه تومور در سرطان سینه پستان هستند. اما برای شناسایی نوع پروتیین‌های سرم که تحت تأثیر این بیماری هستند الکتروفورز و آنالیزهای کمی پروتیین‌های سرم مورد نیاز است.[۸]

دیابت: بیشتر از ۲۰ سال آزمایش میکروآلبومینوری به‌عنوان شاخصی در تعیین دیابت نوع ۱ به‌کار می‌رفته است، اما بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که میکروآلبومینوری نمی‌تواند به‌عنوان یک مارکر اختصاصی برای تشخیص اولیه اختلال عملکرد کلیه‌ها باشد زیرا این مارکر در دیگر بیماری‌ها نیز دیده شده است. Moosavi-Movahedi و همکاران خواص ترمودینامیکی گلایکه شدن آلبومین سرم انسانی را مطالعه کردند.[۹-۱۱] نتایج آن‌ها نشان داد که گلایکه کردن پروتیین آلبومین انسانی، در غلظت بالاتر فیزیولوژیکی باعث پایداری بیشتر و ایجاد دمین‌های انرژتیک جدید می‌شود. به‌همین علت تغییرات ساختاری ایجادشده در آلبومین سرم انسانی در اثر گلایکه شدن، از نشانه‌های تشخیصی دیابت محسوب می‌شود. اما Garbett و همکارانش با آنالیز گرماسنجی پروتئوم پلاسما، دیابت نوع ۱ را در مرحله کاهش زودهنگام عملکرد کلیوی (Early renal function decline) شناسایی نمودند.[۱۲]

بحث

امروزه نه‌تنها نظریه پپتیدوم‌ها به‌عنوان ضایعات بیولوژیکی منسوخ شده است بلکه از آن به‌عنوان گنجینه عظیم و ارزشمندی از بیومارکرهای تشخیص زودرس سرطان‌ها و بیماری‌ها یاد می‌کنند. این ترکیبات حوادث آنزیمی سلولی و خارج سلولی که در سطح ریز محیط بافت‌های سرطانی رخ می‌دهد، را ثبت کرده و داده‌های مفیدی را در اختیار می‌دهد. پپتیدهای بیومارکر از فرآیندهای تومورژنیک در حال انجام مانند آپاپتوز، رگزایی، اندرکنش‌های غده سرطانی-استروما و فیلترشدن سیستم ایمنی ایجاد شده و تحت تأثیر پروتئینازها که از سلول‌های سرطانی یا سلول‌های اندوتلیال عروق خونی (ناشی از فرآیندهای رگزایی) آزاد می‌شوند و به قطعات کوچک‌تر (پپتیدوم) تبدیل می‌شوند. پپتیدوم‌ها از طریق انتشار تسهیل شده وارد گردش خون شده سپس با پیوند شدن و اتصال به پروتیین‌های فراوان خون مانند آلبومین، از پاکسازی توسط سیستم کلیوی در امان می‌مانند.[۱۳و۱۴] بنابراین، برای بررسی پیشرفته اینتراکتومیکس که میانکنش‌های مولکولی بین پروتئوم و پپتیدوم می‌توان از گرماسنجی روبشی تفاضلی در شناسایی بیومارکرها بهره جست.

سپاسگزاری: نویسندگان مقاله بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از پشتیبانی آزمایشگاه بیوشیمی فیزیک، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران، قطب علمی بیوترمودینامیک و کرسی یونسکو در تحقیقات بین رشته‌ای در دیابت مستقر در دانشگاه تهران، اعلام می‌دارند.

References

1. Garbett NC, Mekmaysy CS, Helm CW, Jenson AB, Chaires JB. Differential scanning calorimetry of blood plasma for clinical diagnosis and monitoring. *Exp Mol Pathol* 2009;86(3):186-91.
2. Moosavi-Movahedi AA, Karamzadeh R, Amani M, Moosavi Doost S. Differential scanning calorimetery as a new tool for medical diagnosis. *ICEJ* 2013;12(68):77-85
3. Garbett NC, Miller JJ, Jenson AB, Chaires JB. Calorimetric analysis of the plasma proteome. *Semin Nephrol* 2007;27(6):621-6.
4. Todinova S, Krumova S, Kurtev P, Dimitrov V, Djongov L, Dudunkov Z, et al. Calorimetry-based profiling of blood plasma from colorectal cancer patients. *Biochim Biophys Acta* 2012;1820(12):1879-85.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-20]

5. Todinova S, Krumova S, Gartcheva L, Robeerst C, Taneva SG. Micro-calorimetry of blood serum proteome: a modified interaction network in the multiple myeloma case. *Anal Chem* 2011;83(20):7992-8.
6. Mehdi M, Fekecs T, Zapf I, Ferencz A, Lorinczy D. Differential scanning calorimetry (DSC) analysis of human plasma in different psoriasis stages. *J Therm Anal Calorim* 2013;111(3):1801-4.
7. Ferencz A, Fekecs T, Lorinczy D. Differential scanning calorimetry, as a new method to monitor human plasma in melanoma patients with regional lymph node or distal metastases. In: Xi Y, editor. Skin Cancer Overview: InTech; 2011. P. 141-51.
8. Zapf I, Fekecs T, Ferencz A, Tizedes G, Pavlovics G, Kalman E, et al. DSC analysis of human plasma in breast cancer patients. *Thermochimica Acta* 2011;524(1-2):88-91.
9. Sattarahmady N, Moosavi-Movahedi A. Minireview on structural changes of glycated human serum albumin. *J Diab Metab Dis* 2007;7(1):9-22.
10. Moosavi-Movahedi AA, Habibi-Rezaei M, Bohlooli M, Sattarahmady N, Amanlou M, Mohammadi- nejad A, et al. Mini-review on proteins glycation: GHSA thermodynamics and fibril formations. *J Diab Metab Dis* 2011;11(1):1-13.
11. Mohamadi-Nejad A, Moosavi-Movahedi AA, Safarian S. The thermal analysis of nonenzymatic glycosylation of human serum albumin: differential scanning calorimetry and circular dichroism. *Thermochemica Acta* 2002;389(1-2):141-51.
12. Garbett NC, Merchant ML, Chaires JB, Klein JB. Calorimetric analysis of the plasma proteome: identification of type 1 diabetes patients with early renal function decline. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830(10):4675-80.
13. Garbett NC, Miller JJ, Jenson AB, Chaires JB. Calorimetry outside the box: a new window into the plasma proteome. *Biophys J* 2008;94(4):1377-83.
14. Liotta LA, Petricoin EF. Serum peptidome for cancer detection: spinning biologic trash into diagnostic gold. *J Clin Invest* 2006;116(1):26-30.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-20]

TUMJ Tehran University Medical Journal, August 2016; Vol. 74, No. 5: 371-375 Brief Report

Overview on differential scanning calorimetry applications for early stage of cancers: *brief report*

Hoda Keshmiri-Neghab Ph.D. student[1]
Bahram Goliaei Ph.D.[1]
Ali Akbar Saboury Ph.D.[1,2]
Ali Akbar Moosavi-Movahedi Ph.D.[1,2*]

1- Institute of Biochemistry and Biophysics (IBB), University of Tehran, Tehran, Iran.
2- Center of Excellence in Biothermodynamics, University of Tehran, Tehran, Iran.

Abstract

Received: 05 Nov. 2015 Revised: 19 Jul. 2016 Accepted: 15 Sep. 2016 Available online: 26 Sep. 2016

Background: Cancer is the most common cause of death in the world, and it incidence has been increasing for many years in economically developed countries. Early detection of cancers greatly increases the chances for successful treatment. So finding cancers before they start to cause symptoms is a most effective treatment. Recent studies have proposed that blood plasma contains a rich source of disease biomarkers for detecting, diagnosing and monitoring diseases. While some researchers have dismissed the low molecular weight serum peptidome as biological trash, recent work using differential scanning calorimetry has indicated that the peptidome may reflect biological event and contain diagnostic biomarkers.

Methods: Differential scanning calorimetry (DSC), a highly sensitive tool for analysis of blood plasma and other biofluids has recently been reported. Louisville Bioscience, Inc. (LBIdx™), The Plasma Thermogram™ (pT™) company has made a significant breakthrough in the analysis of blood plasma using differential scanning calorimetry for clinical monitoring and diagnostic applications.

Results: DSC analysis of plasma from diseased individuals revealed significant changes in the thermogram which are suggested to result not from changes in the concentration of the major plasma proteins but from interactions of small molecules or peptides with these proteins. The difference in plasma thermograms between healthy and disease individuals caused this method was recognized as a novel technique for disease diagnosis and monitoring.

Conclusion: Measurement of plasma proteins is a powerful clinical is standard medical practice which hope revolutionizes strategies for early cancer detection.

Keywords: cancer, diabete, differential scanning calorimetry, proteome.

* Corresponding author: Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, Iran.
Tel: +98 21 66403957
E-mail: moosavi@ut.ac.ir

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-20]