

การศึกษารูปแบบของโปรตีนใน เซรัมของผู้ป่วยโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ

โดยวิธี โพลีอากรีลามีต เจล อีเล็กโตรโฟเรซิส และ

อิมมิวโน - อีเล็กโตรโฟเรซิส



ร.ต.หญิง ภิมาธร ชูดีชูเดช

002267

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา ภาสัชศาสตรมหาบัณฑิต

แผนก ภาสัชวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. ๒๕๒๑

I 16854950

THE STUDY OF SERUM PROTEIN PATTERN IN PRIMARY LIVER CELL
CARCINOMA BY POLYACRYLAMIDE - GEL ELECTROPHORESIS
AND IMMUNO-ELECTROPHORESIS

Sub-Lt. Pimathorn Juttijudata

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Pharmacology

Graduate School

Chulalongkorn University

1978

Thesis Title: The Study of Serum Protein Pattern in Primary
Liver Cell Carcinoma by Polyacrylamide Gel
Electrophoresis and Immuno-electrophoresis.
By: Sub-Lt. Pimathorn Juttijudata
Department: Pharmacology
Thesis Advisor: Associate Professor Panata Migasena M.D., Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in
partial fulfillment of the requirements for the Master's degree.

Visid Prachuabmoh
..... Dean of Graduate School
(Professor Visid Prachuabmoh Ph.D.)

Thesis Committee

K. Pengsritong
..... Chairman
(Professor Komol Pengsritong M.D., Ph.D.)

P. Sudhi-Aroma
..... Member
(Professor Captain Pisidi Sudhi-Aroma R.T.N. M.Sc. in Pharm.)

Plengvidhya, P.
..... Member
(Associate Professor Prachote Plengvidhya Ph.D.)

Sodsai Asvanilai
..... Member
(Assistant Professor Sodsai Asvavilai M.S.)

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : การศึกษารูปแบบของโปรตีนใน เซรั่มของผู้ป่วยโรคมะเร็งตับชนิด
 ปฐมภูมิ โดยวิธี โพลีอากริลามีต เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส และ
 อิมมูโน - อิเล็กโตรโฟเรซิส

ชื่อ : ร.ต.หญิง ภิมาธร ชูติชูเดช

อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์นายแพทย์ปกต มิคะเสน

แผนกวิชา : เกษัชวิทยา

ปีการศึกษา : ๒๕๒๑



บทคัดย่อ

เนื่องจากตับเป็นอวัยวะสำคัญในการสร้างและทำลายโปรตีน ดังนั้น เมื่อสภาพของ
 ตับเปลี่ยนแปลงหรือถูกทำลาย ก็มีผลทำให้โปรตีนเปลี่ยนแปลงไปด้วย ผู้รายงานจึงสนใจ
 ศึกษาถึงรูปแบบของโปรตีนใน เซรั่มของผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ (hepatoma)
 เปรียบเทียบกับผู้ป่วยด้วยโรคตับกลุ่มอื่น ๆ อาทิเช่น ฝีบิดในตับ (amoebic liver abscess),
 ตับแข็ง (cirrhosis of the liver), โรคมะเร็งของท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma),
 และมะเร็งของตับอ่อน (carcinoma of the head of pancreas) รวมทั้งในคนปกติด้วย
 โดยใช้วิธีที่ได้ผลดีถึง ๒ วิธีคือ PAGE และ rocket immuno-electrophoresis สำหรับ
 PAGE นั้นจะสามารถแยก prealbumin, albumin, α_1 -acid glycoprotein
 transferrin ออกมาได้โดยตรง ส่วนโปรตีนอื่น ๆ อาทิเช่น haptoglobin, α_2 -
 macroglobulin, ceruloplasmin, hemopexin, α_2 HS-glycoprotein และ
 Gc-globulin นั้น วิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธี rocket immuno-electrophoresis

จากการศึกษานี้พบว่า พวกโปรตีนที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว (acute-
 phase reactant protein) เช่น α_2 -macroglobulin จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญใน
 ผู้ป่วยด้วยโรคตับทุกกลุ่ม ส่วน haptoglobin นั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยด้วยโรค

ฝิปีดในดบ, โรคมะเรีงของดบชนิดปฐมภูมิ และโรคมะเรีงของท่อน้ำดี ส่ำหรับ ceruloplasmin นั้น จะเพิ่มข้ันอย่ำงมีนัยส่ำคัญในผู้ป่ำยด้วยโรคดบทุกกลุ่มเช่นกัน ยกเว้นโรคฝิปีดในดบและ α_1 -acid-glycoprotein จะเพิ่มข้ันอย่ำงมีนัยส่ำคัญในผู้ป่ำยด้วยโรคฝิปีดในดบเท่นั้น การเปลี่ยนแปลงของ acute-phase reactant protein ในทงที่เพิ่มข้ันอย่ำงมีนัยส่ำคัญนี้ มีประโยชน์ข้่วยในการทำนยชนิดของโรคดบได้ เช่น haptoglobin ในผู้ป่ำยฝิปีดในดบจะเพิ่มข้ันประมณ ๓ เท่ำของนุคคลปกติ และจะสูงกว่ำในผู้ป่ำยด้วยมะเรีงดบชนิดปฐมภูมิ (ข้ิงสูงกว่ำในนุคคลปกติ ๒ เท่ำ), มะเรีงของท่อน้ำดี, มะเรีงของดบอ่อน และโรคดบข้็ง นอกจากนี้ยังพบอีกว่ำ ปริมณของ α_2 -macroglobulin ในผู้ป่ำยด้วยโรคดบข้็งจะสูงกว่ำในนุคคลปกติประมณ ๒ เท่ำ และสูงกว่ำในผู้ป่ำยด้วยโรคดบอื่น ๆ อีกด้วย

ระดับของ α_2 HS-glycoprotein และ transferrin จะลดลงอย่ำงมีนัยส่ำคัญในผู้ป่ำยด้วยโรคดบทุกกลุ่ม ส่วน hemopexin จะลดลงอย่ำงมีนัยส่ำคัญในผู้ป่ำยด้วยโรคมะเรีงของท่อน้ำดี และส่ำหรับ Gc-globulin นั้นไม่พบมีการเปลี่ยนแปลงอย่ำงมีนัยส่ำคัญในผู้ป่ำยโรคดบทุกกลุ่ม

Prealbumin และ albumin จะลดลงอย่ำงมีนัยส่ำคัญในผู้ป่ำยด้วยโรคดบทุกกลุ่ม และพบว่า albumin ในผู้ป่ำยด้วยโรคดบข้็ง จะต่ำกว่ำในผู้ป่ำยด้วยโรคมะเรีงดบชนิดปฐมภูมิอย่ำงมีนัยส่ำคัญอีกด้วย .

Thesis Title: The Study of Serum Protein Pattern in Primary Liver Cell Carcinoma by Polyacrylamide Gel Electrophoresis and Immuno-electrophoresis.

Name: Sub-Lt. Pimathorn Juttijudata

Thesis Advisor: Associate Professor Panata Migasena

Department: Pharmacology

Academic Year: 1977



ABSTRACT

Liver is the predominate site of protein synthesis and metabolism. When the liver is damaged changes in serum proteins occur. Serum protein patterns were investigated in patients with primary liver cell carcinoma (hepatoma) compared with other liver diseases namely amoebic liver abscess, cirrhosis, cholangiocarcinoma and carcinoma of the head of the pancreas and with normal controls. Serum protein patterns were studied using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and rocket immuno-electrophoresis, which are sensitive methods for qualitative and quantitative identification of serum proteins. Single bands of prealbumin, albumin, α_1 -acid glycoprotein and transferrin were produced using PAGE; and other proteins, namely α_2 -macroglobulin, haptoglobin, ceruloplasmin, transferrin, hemopexin, α_2 HS-glycoprotein and Gc-globulin, were separated using rocket immuno-electrophoresis.

Among the acute-phase reactant liver proteins α_2 -macroglobulin was significantly increased in all disease groups; haptoglobin was increased significantly in amoebic liver abscess, hepatoma and cholangiocarcinoma; ceruloplasmin was increased significantly in all disease groups except patients with amoebic liver abscess. A significant increase in α_1 -acid glycoprotein was found in patients with amoebic liver abscess. Significant differences in levels of these fast-reacting proteins may thus be helpful in the diagnosis of liver diseases, e.g. haptoglobin levels in patients with amoebic liver abscess were increased about three times that of controls, significantly higher than in patients with hepatoma (about two times that of controls), cholangiocarcinoma, carcinoma of the head of pancreas and cirrhosis of the liver; the increase in α_2 -macroglobulin levels in patients with cirrhosis of the liver was more than two times that of controls and was significantly higher than in patients with other liver diseases.

α_2 HS-glycoprotein and transferrin levels were significantly decreased in all disease groups, whereas hemopexin levels were decreased significantly only in patients with cholangiocarcinoma. There was no significant difference in Gc-globulin levels in all groups of patients.

Prealbumin and albumin were decreased significantly in all disease groups which indicated a reduction in the synthesis of these carbohydrate moiety-free proteins. Albumin levels in patients with cirrhosis of the liver were significantly lower than in patients with hepatoma.



ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my sincere gratitude and thank to Dr. Panata Migasena, Head, Department of Tropical Nutrition and Food Science for his supervision, keen interest, guidance and encouragement during the course of this study.

I am indebted to Professor Chamlong Harinasuta, Dean of the Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, for his providing me the opportunity and means to carry out this work.

My deep appreciation and thanks are extended to Dr. Supranee Changbumrung for her guidance in operating the computer and calculation of the results, valuable advice and discussion during laboratory work and writing.

I would like to express my sincere appreciation to Dr. Pipat Juttijudata, Pramongkutklao Hospital for his assistance, advice and cooperation in selecting and collecting the patients' sera.

I will always remember and thank Dr. F.P. Schelp, Miss Praneet Pongpaew, Miss Venus Supawan and Mrs. Ige Rost Reichert for their guidance in operating the electrophoretic equipments, to Miss Yaovaman Orncharoen and other colleagues in the Department of Tropical Nutrition and Food Science for their assistance and advice during the course of laboratory work.

My gratitude is extended to Professor Captain Pisidi Sudhi-
Aroma R.T.N., Dean of The Faculty of Pharmaceutical Science, Chula-
longkorn University, for his support.

CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT	iv
ENGLISH ABSTRACT	vi
ACKNOWLEDGEMENT	viii
LIST OF TABLES	xi
LIST OF FIGURES	xiii
CHAPTER I	
INTRODUCTION	1
II	
MATERIALS AND METHODS	14
Subject	14
Polyacrylamide gel electrophoresis	15
Rocket immuno-electrophoresis	20
III	
RESULTS	25
IV	
DISCUSSION	54
V	
CONCLUSION	61
REFERENCES	63
VITA	78



LIST OF TABLES

Table		Page
1	Mean values and standard deviations of prealbumin, albumin, α_1 -acid-glycoprotein and transferrin among controls, other liver diseases and primary liver cell carcinoma	27
2	Mean values and standard deviations of haptoglobin, α_2 -macroglobulin, ceruloplasmin, α_2 HS-glycoprotein, transferrin, hemopexin and Gc-globulin among controls, others liver diseases and primary liver cell carcinoma	28
3	Mean values and standard deviations of prealbumin, albumin, α_1 -acid-glycoprotein and transferrin among controls, amoebic liver abscess, obstructive jaundice and primary liver cell carcinoma	30
4	Mean values and standard deviations of haptoglobin, α_2 -macroglobulin, ceruloplasmin, α_2 HS-glycoprotein, transferrin, hemopexin and Gc-globulin among controls, amoebic liver abscess, obstructive jaundice and primary liver cell carcinoma	32

LIST OF TABLES (Cont.)

Table		Page
5	Mean values and standard deviations of prealbumin, albumin, α_1 -acid-glycoprotein among controls, amoebic liver abscess, cirrhosis, cholangiocarcinoma, carcinoma head of pancreas and primary liver cell carcinoma	35
6	Mean values and standard deviations of haptoglobin, α_2 -macroglobulin, ceruloplasmin, α_2 HS-glycoprotein, transferrin, hemopexin and Gc-globulin among controls, amoebic liver abscess, cirrhosis, cholangiocarcinoma, carcinoma head of pancreas and primary liver cell carcinoma	37

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Bands of serum proteins produced by PAGE	40
2	Electropherogram obtained from PAGE	41
3	Peaks of transferrin produced by rocket immuno- electrophoresis	42
4	Mean values and standard errors for haptoglobin in controls and liver diseases	43
5	Mean values and standard errors for α_2 -macro- bulin in controls and liver diseases	44
6	Mean values and standard errors for ceruloplasmin in controls and liver diseases	45
7	Mean values and standard errors for hemopexin in controls and liver diseases	46
8	Mean values and standard errors for α_1 -acid glyco- protein in controls and liver diseases	47
9	Mean values and standard errors for transferrin in controls and liver diseases	48
10	Mean values and standard errors for α_2 HS-glyco- protein in controls and liver diseases	49

LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure		Page
11	Mean values and standard errors for Gc-globulin in controls and liver diseases	50
12	Mean values and standard errors for albumin in controls and liver diseases	51
13	Mean values and standard errors for prealbumin in control and liver diseases	52
14	Correlation between transferrin by PAGE and rocket immuno-electrophoresis in controls, primary liver cell carcinoma and other liver diseases	53