

# بررسی ارتباط میزان بیان ژن COX-2 با علائم کلینیکوپاتولوژیک و پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به سرطان معده

ابوالفضل حکمت شعار<sup>۱</sup>، امیرعلی مودی قالیباف<sup>۲</sup>، علی شمشیریان<sup>۳</sup>، محمد رضا عباسزادگان<sup>۴</sup>، بهرام عمار<sup>۱</sup>، محمد رضا مطیع<sup>۱\*</sup>

## مقاله پژوهشی

**مقدمه:** مطالعه حاضر جهت بررسی ارتباط میزان بیان ژن *COX-2* با علایم کلینیکوپاتولوژیک و پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به سرطان معده طراحی شده است.

**روش بررسی:** مطالعه توصیفی - تحلیلی جهت دستیابی به اهداف تعیین شده در بازه زمانی سال‌های ۱۳۸۷-۱۳۹۸ به بررسی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام رضا (ع) شهر مشهد، ایران، پرداخته است. در این مطالعه اطلاعات دموگرافیک بیماران، علائم بالینی بیماران، یافته‌های مربوط به تومور، نوع جراحی و سطح بیان ژن *COX-2* (با استفاده از تکنیک Real time PCR) ثبت و بررسی گردید. داده‌های ثبت شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 16 و با به کارگیری شامل آزمون‌های مجذور کای، دقیق فیشر، ضریب توافق گاما، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و یا آزمون کروسکال والیس در سطح معناداری  $<0.05$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**نتایج:** از بین ۱۱۰ بیمار وارد شده به مطالعه، تعداد ۵۵ بیمار، با توجه به معیارهای تعریف شده، مورد بررسی قرار گرفتند. در این بین ۲۱ نفر از بیماران دارای مقادیر کاهش یافته بیان ژن بودند، در ۱۸ (۳۲/۷٪) بیمار بیان ژن در محدوده نرمال قرار داشت و در ۱۶ (۲۹/۱٪) نفر افزایش بیان ژن دیده شد. میانگین ماههای بقای بیماران پس از جراحی،  $23.07 \pm 17.41$  ماه به دست آمد. در مطالعه حاضر ارتباط معنادار آماری بین افزایش بیان ژن *COX-2* و علائم بالینی، سن، جنسیت، بقا (بر اساس ماه)، پیشرفت تومور، نوع جراحی، ویژگی‌های بافت‌شناسی، سابقه خانوادگی سرطان و سایر موارد یافته نشد ( $P > 0.05$ )؛ ولیکن در نظر گرفتن بقای سالیانه در دسته‌بندی سالیانه، ارتباط معناداری را با میزان بیان ژن *COX-2* نشان داده است ( $P = 0.028$ ).

**نتیجه‌گیری:** علی‌رغم عدم یافتن ارتباط معنادار بین بیان ژن *COX-2* و پارامترهای بررسی شده در بیماران مبتلا به سرطان معده در این مطالعه، وجود ارتباط معنادار بین میزان بیان ژن و میزان بقای سالیانه بیماران از اهمیت بهسزایی برخوردار می‌باشد.

## واژه‌های کلیدی: سرطان معده، *COX-2*، بقا

**ارجاع:** ابوالفضل حکمت شعار ابوالفضل، مودی قالیباف امیرعلی، شمشیریان علی، عباسزادگان محمد رضا، مطیع محمد رضا. بررسی ارتباط میزان بیان ژن *COX-2* با علائم کلینیکوپاتولوژیک و پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به سرطان معده. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۲؛ ۳۱ (۴): ۷۲-۶۵۶.

۱- مرکز تحقیقات جراحی سرطان، گروه جراحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بیرونی، بیرونی، ایران.

۳- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۴- مرکز تحقیقات ژنتیک پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

\*نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۵۱۲۲۵۲؛ پست الکترونیک: motiem@mums.ac.ir؛ صندوق پستی: ۹۱۷۷۱۵۳۶۰۷.

## مقدمه

آنزیم در بسیاری از بدخیمی‌های سیستم گوارش نقش به سزایی بازی می‌کند؛ به طوریکه مطالعاتی چند فعالیت این آنزیم را با پرولیفراسیون سلولی، تهاجم و متاستاز تومور مرتبط دانسته‌اند (۱۴، ۱۵). با این وجود، تاکنون مکانیسم کارسینوژن‌ز *COX-2* به خوبی شناخته نشده و حدس زده می‌شود این آنزیم با تحریک پرولیفراسیون سلولی، مهار آپوپتوز و القای آنژیوژن‌ز از طریق فاکتورهایی مثل VEGF این تأثیر را به جای می‌گذارد (۱۶)؛ لذا نظر به نقش احتمالی *COX-2* در بروز و گسترش انواع بدخیمی‌ها، به ویژه بدخیمی‌های دستگاه گوارش و از سوی دیگر شیوع بالای سرطان معده در ایران، یافتن عاملی جهت پیش‌بینی بروز و پیش‌آگهی سرطان معده از اهمیت فراوانی برخوردار می‌باشد. اگرچه تاکنون مطالعاتی چند در جهت یافتن ارتباط بین آنزیم *COX-2* و پیش‌بینی بروز و پیش‌آگهی سرطان معده صورت پذیرفته است، و لیکن نتایج ضدونقیض مطالعات حاضر نیازمند تکمیل بوده و مطالعه حاضر جهت بررسی و تعیین ارتباط بین میزان بیان ژن *COX-2* با عالیم کلینیکوپاتولوژیک و پیش‌آگهی در سرطان معده در بیماران مبتلا به این بدخیمی طراحی شده است.

## روش بررسی

### ۱.۱. طراحی مطالعه

مطالعه حاضر باهدف تعیین ارتباط بیان ژن *COX-2* با عالیم کلینیکوپاتولوژیک در بیماران مبتلا به سرطان معده مراجعة‌کننده به بیمارستان امام رضا (ع) شهر مشهد، ایران، در یک بازه زمانی ۱۰ ساله (از سال ۱۳۸۷ لغایت سال ۱۳۹۸) طراحی و اجرا شده است. در این مطالعه تمامی بیماران مراجعة‌کننده به بیمارستان امام رضا (ع) شهر مشهد، ایران که با تشخیص قطعی سرطان معده، کاندید جراحی الکتیو جهت گاسترکتومی توتال یا ساب‌توتال شده و جهت انجام مطالعه رضایت داشتند در فاصله زمانی بین سال‌های ۱۳۸۷ لغایت ۱۳۹۵ به روش سرشماری به مطالعه وارد شده و مورد بررسی قرار گرفته‌اند. معیارهای خروج از مطالعه شامل عدم یافت بافت تومورآل در معده حین جراحی، تشخیص غیر قابل عمل بودن حین جراحی، عدم امکان برقراری تماس تلفنی (به علت عدم

براساس مطالعات اپیدمیولوژیک، امروزه سرطان‌ها به یکی از علل اصلی ناتوانی و مرگ ناشی از بیماری در سراسر جهان تبدیل شده‌اند (۱، ۲). در این بین سرطان معده پنجمین سرطان شایع و سومین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در سراسر جهان شناخته می‌شود؛ به طوریکه سالانه بیش از یک میلیون نفر به این سرطان مبتلا شده و بیش از ۷۰۰ هزار بیمار در سراسر جهان در اثر این بدخیمی جان خود را از دست می‌دهند (۳). اگرچه در بسیاری از کشورهای پیشرفته جهان بروز این بیماری به یکمیزان ثابت یا حتی در حال کاهش رسیده است، اما مطالعات نشان داده‌اند که بروز این بدخیمی در ایران در حال افزایش بوده و در دهه هفتم زندگی مرگ‌ومیر ناشی از این بیماری به حداقل میزان خود می‌رسد (۴-۶). تا کنون عوامل محیطی و ژنتیکی گوناگونی به عنوان عوامل خطر بروز سرطان معده شناخته شده است؛ از این‌بین می‌توان جنسیت مذکور، سن، نژاد آسیایی و سیاه، منطقه جغرافیایی (آسیا)، عفونت هلیکوباتر پیلوری، چاقی، رژیم غذایی پرنمک و کم فیبر، مصرف الکل، استعمال دخانیات، بیماری‌های خودایمن، سندروم‌های خانوادگی و موتاسیون‌های ژنتیکی را به عنوان مهم‌ترین عوامل خطر بروز سرطان معده بر شمرد (۷). به فاکتورهای ژنتیکی متنوعی از مهار *P53*، *Adenomatous Polyposis Coli (APC)*، *Fragile Histidine Triad*, *Diadenosine DCC*, *E-cadherin* و *Triphosphatase (FHIT)* گرفته تا افزایش (*COX-2* و *c-Met*, *β-Catenin*, *VEGF*, *RAS*) بیان ژن‌های (*Cyclooxygenase-2 (COX-2)*) می‌توان اشاره نمود (۹-۱۱). با این وجود، اغلب مطالعات، افزایش بیان ژن *COX-2* و سرکوب فعالیت ژن *P53* را به عنوان اصلی‌ترین عوامل ژنتیکی در بروز سرطان معده اسپورداً یک دانسته‌اند؛ هرچند این عوامل نیز به طور اساسی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار دارند (۱۲). نگاهی دقیق‌تر بر عملکرد آنزیم *COX-2*، حاکی از نقش کاتالیزوری این آنزیم در سنتز پروستاگلاندین‌ها از اسید آراشیدونیک دارد (۱۳). براساس مطالعاتی که تاکنون صورت پذیرفته است، این

mRNA از تمامی oligo dT بیان شده cDNA تهیه گردید. cDNA تومور و نرمال به صورت جدایانه در واکنش Real-PCR Time وارد شدند. واکنش Real-Time PCR به روش SYBR Green به صورت triplicate انجام گرفت و از ژن نرم‌الایزر GAPDH برای یکسان‌سازی شرایط نرمال و تومور استفاده گردید. آنالیز مقدار بیان با استفاده از نرم‌افزار MX-3000p انجام گرفت.

### تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا کلیه مشاهدات اعم از بیان ویژگی‌های افراد شرکت‌کننده در مطالعه و یافته‌های حاصل از نمونه‌های اخذ شده از بیماران با استفاده از روش‌های آماری توصیفی شامل شاخص‌های مرکزی، پراکنده‌گی و توزیع فراوانی، توصیف گردید. سپس جهت بررسی نرمال بودن داده‌های کمی از روش‌های توصیفی و آزمون‌های نرم‌الایزی کلموگراف اسمیرنوف بهره برده و پس از آن آزمون‌های مجذور کای و یا دقیق فیشر، آزمون ضربی توافق گاما و همچنین آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و یا معادل ناپارامتری آن‌ها (آزمون کروسکال والیس) جهت مقایسه گروه‌ها بکار گرفته شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 16 در سطح معناداری ۰/۰۵ صورت پذیرفته است.

### ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این مطالعه، توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد با کد اخلاق IR.Mums.fm.REC.1394.408 مورد تأیید قرار گرفته است.

### نتایج

در ارزیابی اولیه، بیماران مبتلا به سرطان معده پذیرش شده در بخش و درمانگاه تخصصی جراحی بیمارستان امام رضا (ع) شهر مشهد، ایران، تعداد ۱۱۰ بیمار به مطالعه وارد شدند؛ از این‌بین پس از بررسی و درنظر گرفتن معیارهای خروج مطالعه، ۵۵ مورد حذف شده و در نهایت مطالعه بر روی ۵۵ نفر صورت پذیرفت. میانگین سنی بیماران در این مطالعه،  $65/11 \pm 9/74$  سال بوده که جوان‌ترین فرد ۴۳ سال و مسن‌ترین فرد ۸۴ سال سن داشت؛ در این میان، ۴۰ (۷۲/۲٪) بیمار مرد و ۱۵

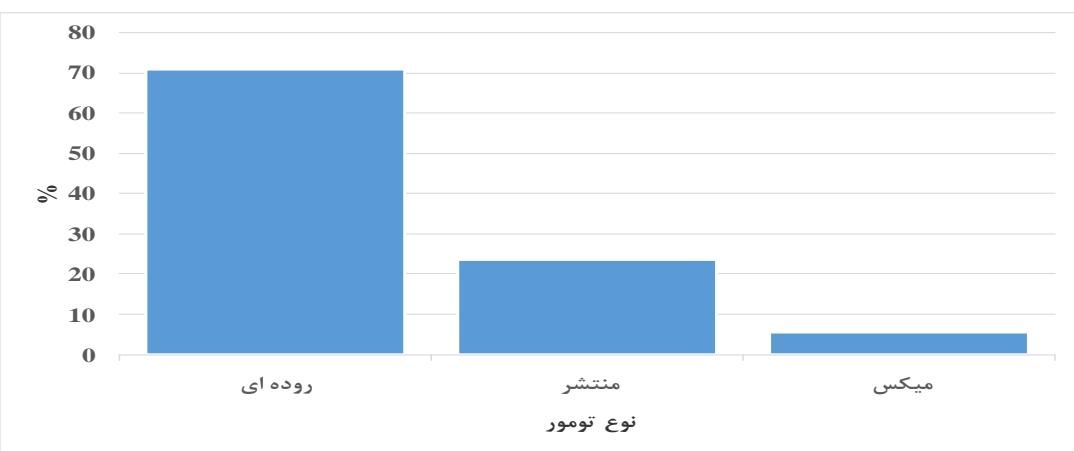
پاسخ‌گویی و شماره تماس اشتباه)، درصد پایین سلول‌های توموری در نمونه طی بررسی پاتولوژی (کمتر از ۷۰٪) و نمونه‌هایی که در اتاق عمل درون محلول فیکساتور قرار گرفته بودند، در نظر گرفته شد. در ابتدای مطالعه از تمامی بیماران رضایت آگاهانه اخذ گردید. با توجه به نیاز کلیه بیماران وارد شده به مطالعه به گاسترکتومی و انجام بررسی‌ها بر روی بافت انسانی پس از حذف و خارج کردن آن از بدن بیمار، همچنین عدم تأثیرگذاری در نتیجه آسیب‌شناسی بیمار، عدم تحمیل هزینه به بیمار، عدم استفاده از نام بیماران در پرسشنامه و بررسی داده‌ها با کمک شماره پرونده، کلیه ملاحظات اخلاقی لازم در نظر گرفته شده و هیچ پروسیجر اضافه و یا تأثیرگذار بر سلامت و بهبودی بیمار انجام نگردید.

### ۱.۲ متغیرها، روش و مراحل اجرا:

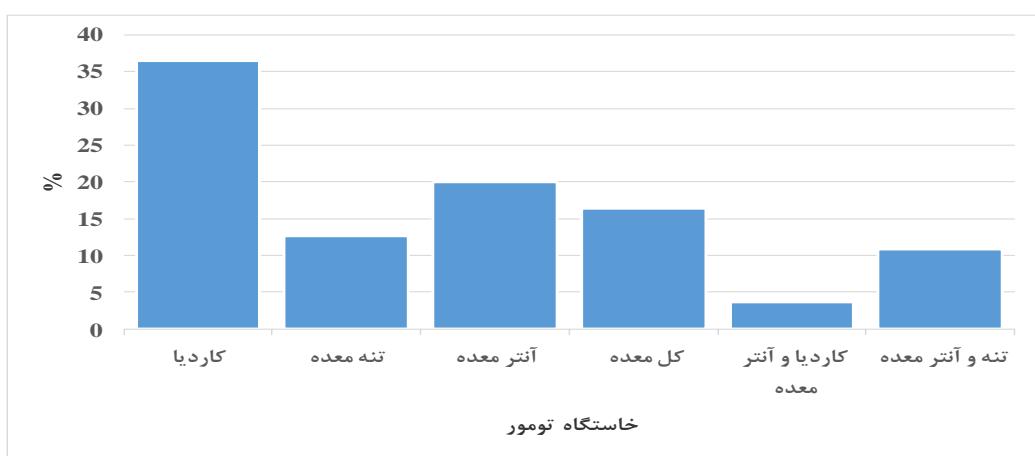
در مطالعه حاضر اطلاعات دموگرافیک بیماران (شامل: سن، جنسیت، سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان، سابقه استعمال سیگار، میزان بقا و بقای سالیانه)، علائم بالینی بیماران، یافته‌های مربوط به تومور (شامل: استیج، درجه، سایز، درجه تمایز، محل و نوع آسیب‌شناسی تومور)، نوع جراحی (گاسترکتومی توtal یا ساب توtal) و سطح COX-2 (با استفاده از رنگ‌آمیزی بافتی) ثبت و بررسی گردید. جهت انجام فرآیندهای آزمایشگاهی، نمونه بیوپسی بیماران مبتلا به سرطان معده مورداستفاده قرار گرفت. جراح پس از گاسترکتومی بخشی از تومور و بافت نرمال (با فاصله پنج تا ۱۰ سانتی‌متر از تومور) را به پاتولوژی ارسال و پاتولوژیست چند نمونه بیوپسی به ابعاد  $0/5 \times 0/5 \times 0/5$  سانتی‌متر تهیه نموده و جهت جلوگیری از تخریب RNA، بلا فاصله به محلول RNAlater منتقل کرده است. تمام نمونه‌ها تا زمان استخراج RNA در فریزر -۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. یک نمونه بیوپسی نیز برای بررسی‌های پاتولوژی و تأیید نرمال بودن نمونه مارژین، به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال گردید. RNA بافت توموری و نرمال پیرامونی با استفاده از کیت RNeasy Mini kit استخراج و پس از تأیید کیفیت RNA استخراج شده از نظر OD و مشاهده باندهای rRNA بر روی ژل آکاروز، با استفاده از

که در محدوده طبیعی قرار داشت. یافته‌های آماری موید عدم ارتباط معنادار بین میزان بیان ژن *COX-2* با خصوصیات دموگرافیک افراد مورد مطالعه از جمله سن و جنسیت می‌باشد (به ترتیب  $P=0.648$  و  $P=0.804$ ); به علاوه برای جمعیت موردنطالعه، سابقه خانوادگی افراد از نظر وجود صرفاً سرطان معده و یا همراهی سایر سرطان‌های گوارشی به جزء سرطان معده در بستگان درجه یک بررسی شد و ارتباط آن با میزان بیان ژن *COX-2* مورد سنجش قرار گرفت که ارتباط معناداری یافت نشد ( $P=0.940$ ). همچنین آنالیز آماری در بیان ارتباط معنادار بین علائم بالینی بیماران، *Stage*, نوع و اندازه تومور با میزان بیان ژن *COX-2* حاکی از عدم وجود ارتباط معنادار در این زمینه می‌باشد ( $P>0.05$ ) (جدول ۱). میانگین ماههای باقی فرد پس از جراحی،  $17.41\pm7.07$  ماه بوده است که به ترتیب  $18(32/7)\%$  مورد، بیماران کمتر از یک سال،  $15(27/3)\%$  نفر بیماران بین یک تا دو سال،  $12(21/8)\%$  مورد بین دو تا سه سال،  $18(3/7)\%$  مورد بین سه تا چهار سال و  $7(12/7)\%$  مورد بیماران بالای چهار سال زنده مانده‌اند. باقی سالیانه بیماران با میزان بیان ژن *COX-2* ارتباط معنادار داشته ( $P=0.132$ ) و براساس ضریب همبستگی گاما، ارتباط معکوس بین تعداد ماههای باقی بیمار و میزان بیان ژن *COX-2* انتظار می‌رود (ضریب همبستگی گاما= $-0.143$ ). در نهایت با توجه به اهمیت بیشتر افزایش بیان ژن در مطالعه، باقی بیماران (بر اساس سال) با دو گروه "بیان بیشتر از یک" و "کمتر از یک" نیز تحت آنالیز آماری قرار گرفت که باز هم ارتباط معنادار مشاهده نشد؛ هر چند در این حالت ارتباط معکوس قوی‌تری بین تعداد ماههای باقی بیمار و میزان بیان ژن *COX-2* نسبت به درنظرگرفتن سه گروه از نظر انتقاضه نظر بیان ژن *COX-2* محاسبه گردید (ضریب همبستگی گاما= $-0.357$ ).

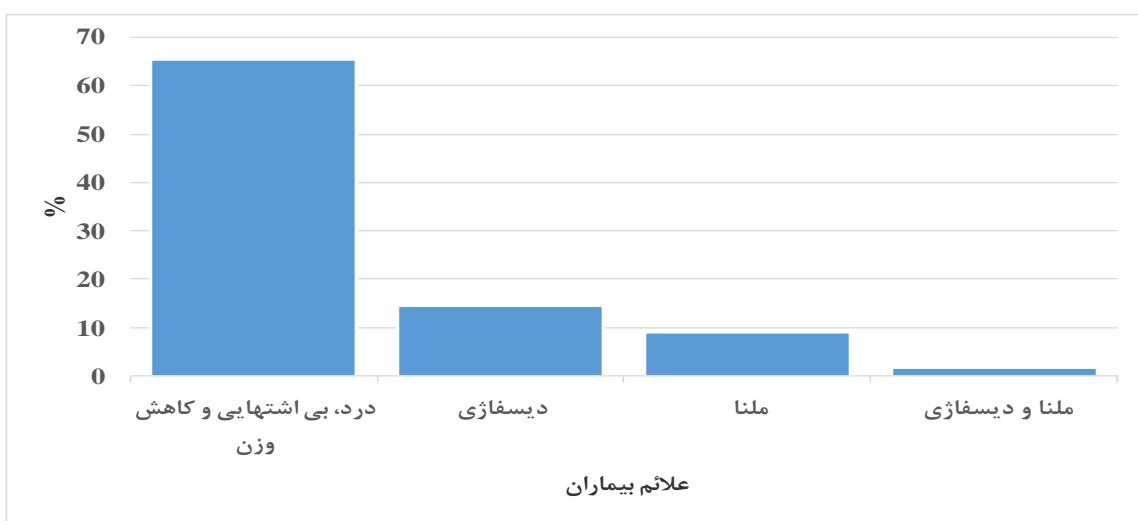
(۳٪) نفر زن بوده‌اند. از نقطه نظر سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان،  $41(74/5)\%$  هیچ‌گونه سابقه خانوادگی از ابتلا به سرطان را ذکر نمی‌کردند؛ در حالیکه، نه بیمار ( $16/4\%$ ) بیمار سابقه خانوادگی سرطان معده و چهار بیمار ( $7/3\%$ ) سابقه ابتلا به سرطان‌های دیگر به جز سرطان معده را در خانواده خود داشتند. در جمعیت حاضر،  $25(45/5)\%$  نفر از بیماران (۰.۷۲٪) اعتیاد به مصرف سیگار را عنوان نمودند. در این مطالعه،  $40(27/3)\%$  نفر بیمار تحت جراحی گاسترکتومی توتال و  $15(22/7)\%$  نفر تحت گاسترکتومی ساب توتال قرار گرفتند.  $79/9\%$  تومورها از نوع روده‌ای سرطان معده بوده (تصویر ۱)، بیشترین و کمترین خاستگاه تومورها به ترتیب از ناحیه "کاردیا" ( $36/4\%$ ) و نواحی "کاردیا و آنتر" ( $2/2\%$ ) گزارش شده است (تصویر ۲). شایع‌ترین علایم بیماران در این بررسی، درد شکمی، کاهش اشتها و کاهش وزن بوده است و به ترتیب هشت ( $14/5\%$ ) بیمار دیسفازی و پنج ( $9/1\%$ ) نفر ملنا را نیز در کنار علایم اصلی داشتند (تصویر ۳). براساس گزارش پاتولوژی، غالب تومورها در ۳B استیج با فراوانی  $19(34/5\%)$  بوده و پس از آن استیج ۳A با فراوانی  $11(20\%)$  بیشترین موارد را شامل می‌شود (تصویر ۴). در این مطالعه،  $36(65/5\%)$  مورد درجه تمایز "متوسط" و  $11(20\%)$  درجه "ضعیف" و هشت ( $14/5\%$ ) درجه تمایز "خوب" داشته‌اند. میانگین ماههای باقی فرد پس از جراحی،  $23.07\pm17.41$  ماه محاسبه گردید. اطلاعات اخذ شده از بیماران به تفصیل در جدول یک بیان گردیده است. با توجه به جدول یک، میزان بیان ژن *COX-2* در بیماران موردمطالعه عبارتست از:  $21(38/2\%)$  نفر از بیماران کاهش بیان *COX-2* به صورت مقادیر کمتر از  $-1$  و  $16(29/1\%)$  مورد افزایش بیان ژن *COX-2* به صورت مقادیر بالاتر از یک را نشان دادند؛ در  $18(32/7\%)$  بیمار مقادیر بیان *COX-2* به صورت ( $-1$  تا یک) بوده



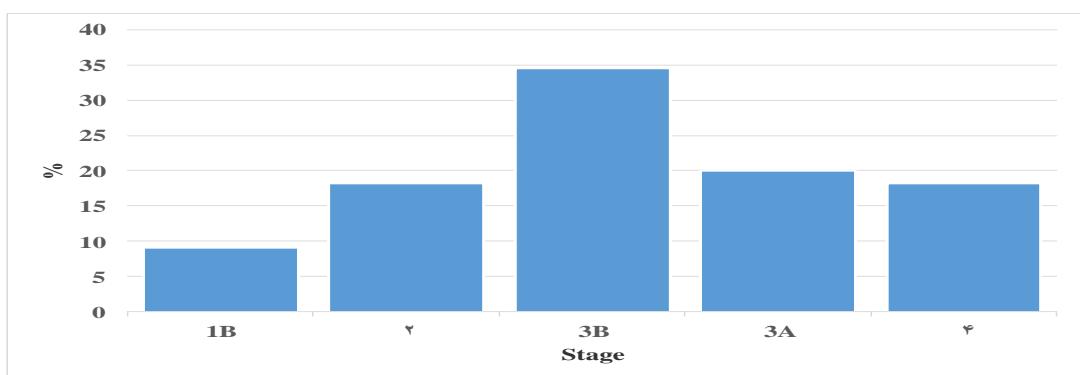
تصویر ۱: فراوانی بیان ژن  $cox-2$  بر مبنای نوع تومور برحسب درصد



تصویر ۲: فراوانی بیان ژن  $cox-2$  بر مبنای خاستگاه تومور برحسب درصد



تصویر ۳: فراوانی بیان ژن  $cox-2$  بر مبنای علائم بیماران برحسب درصد



تصویر ۴: فراوانی بیان ژن COX-2 در هر استیج بیماری بر حسب درصد

جدول ۱: ویژگی‌های زمینه‌ای بیماران و ارتباط آن‌ها با بیان COX-2

P	میزان بیان ژن COX-2	فرافراغی (درصد)	معیار	ویژگی	
	مقادیر بین ۱ تا ۱ (افزایش بیان ژن)	مقادیر کمتر از ۱ (حدوده طبیعی)			
**0.048	63/19±11/3	66/11±10/7	65/71±7/5	-	
*0.804	(/21/8) 12 (/7/3) 4	(/21/8) 12 (/10/9) 6	(/29/1) 16 (/9/1) 5	(/72/7) 40 (/27/3) 15	مرد زن
	(/1/8) 1 (/7/3) 4	(/3/6) 2 (/5/5) 3	(/3/8) 2 (/5/5) 3	(/9/1) 5 (/18/2) 10	1B 2
*0.959	(/9/1) 5	(/14/5) 8	(/10/9) 6	(/34/5) 19	3A
	(/5/5) 3 (/5/5) 3	(/5/5) 3 (/3/6) 2	(/9/1) 5	(/20) 11 (/18/2) 10	3B 4
*0.243	(/5/5) 3 (/16/4) 9 (/7/3) 4	(/1/8) 1 (/27/3) 15 (/3/6) 2	(/7/3) 4 (/18/5) 10 (/12/7) 7	(/14/5) 8 (/61/8) 34 (/23/6) 13	1 2 3
	(/10/9) 6 (/12/7) 7 (/5/5) 3	(/10/9) 6 (/16/4) 9 (/5/5) 3	(/10/9) 6 (/18/5) 10 (/9/1) 5	(/32/7) 18 (/47/3) 26 (/20) 11	درجه تومور (Grade) سايز تومور (T) برحسب سانتی متر
*0.326	(/3/6) 2 (/18/2) 10 (/7/3) 4	(/1/8) 1 (/27/3) 15 (/3/6) 2	(/9/1) 5 (/20) 11 (/9/1) 5	(/14/5) 8 (/65/5) 36 (/20) 11	خوب متوسط ضعیف
	(/10/9) 6 (/1/8) 1 (/7/3) 4 (/1/8) 1 (/1/8) 1 (/5/5) 3	(/12/7) 7 (/3/6) 2 (/7/3) 4 • (/1/8) 1 (/1/8) 1	(/12/7) 7 (/7/3) 4 (/5/5) 3 (/1/8) 1 (/3/6) 2	(/36/4) 20 (/12/7) 7 (/20) 11 (/3/6) 2 (/10/9) 6	کاردیا تنه معده آنتر معده کل معده کاردیا و آنتر تنه و آنتر معده
*0.867	(/21/8) 12 (/5/5) 3 (/1/8) 1	(/27/3) 15 (/3/6) 2 (/1/8) 1	(/21/8) 12 (/14/5) 8 (/1/8) 1	(/70/9) 39 (/23/6) 13 (/5/5) 3	خاستگاه تومور رودهای منشر میکس نوع تومور

### ابوالفضل حكمت شعار و همکاران

	(٪۲۱/۸) ۱۲	(٪۲۵/۵) ۱۴	(٪۲۷/۳) ۱۵	(٪۷۴/۵) ۴۱	بدون سابقه سرطان معده
	(٪۵/۵) ۳	(٪۳/۶) ۲	(٪۷/۳) ۴	(٪۱۶/۴) ۹	سرطان غیر از معده
* ۰/۹۴۰	(٪۱/۸) ۱	(٪۱/۸) ۱	(٪۳/۶) ۲	(٪۷/۳) ۴	سابقه خانوادگی سرطان دیگر
.	.	(٪۱/۸) ۱	.	(٪۱/۸) ۱	سرطان معده و سرطان دیگر
	(٪۲۱/۸) ۱۲	(٪۲۰) ۱۱	(٪۲۳/۶) ۱۳	(٪۶۵/۵) ۳۶	درد، بی اشتیای و کاهش وزن
* ۰/۷۰۹	(٪۱/۸) ۱	(٪۳/۶) ۲	(٪۹/۱) ۵	(٪۱۴/۵) ۸	علایم بیماران دیسفارژی
	(٪۳/۶) ۲	(٪۳/۶) ۲	(٪۱/۸) ۱	(٪۹/۱) ۵	ملنا
.	.	(٪۱/۸) ۱	.	(٪۱/۸) ۱	ملنا و دیسفارژی
* ۰/۴۸۰	(٪۱۸/۲) ۱۰	(٪۲۳/۶) ۱۳	(٪۳۰/۹) ۱۷	(٪۷۲/۷) ۴۰	نوع جراحی توتال
	(٪۱۰/۹) ۶	(٪۹/۱) ۵	(٪۷/۳) ۴	(٪۲۷/۳) ۱۵	گاسترکتومی ساب توتال
** ۰/۹۹۹	(٪۱۶/۳) ۷	(٪۲۰/۹) ۹	(٪۲۰/۹) ۹	(٪۴۵/۵) ۲۵	سابقه مصرف سیگار دارد
**** ۰/۱۳۲	۱۶/۱۳±۱۵/۸	۲۳/۸۹±۱۶/۳	۲۷/۶۷±۱۸/۵	-	بقا (ماه)
	(٪۱۴/۵) ۸	(٪۹/۱) ۵۵	(٪۹/۱) ۵	(٪۳۲/۷) ۱۸	کمتر از ۱ سال
	(٪۹/۱) ۵	(٪۵/۵) ۳	(٪۱۲/۷) ۷	(٪۲۷/۳) ۱۵	بین ۱ تا ۲ سال
* ۰/۰۲۸	.	(٪۹/۱) ۵	(٪۱۲/۷) ۷	(٪۲۱/۸) ۱۲	بین ۲ تا ۳ سال
	.	(٪۱/۸) ۱	(٪۳/۶) ۲	(٪۳/۶) ۱۸	بین ۳ تا ۴ سال
	(٪۵/۵) ۳	(٪۷/۳) ۴	.	(٪۱۲/۷) ۷	بالای ۴ سال

\* برای آنالیز متغیرها تست دقیق فیشر استفاده شد. \*\* برای بقا از آزمون کروسکال والیس استفاده شد.

سرطان معده، یافتن عوامل مناسب پیش‌بینی‌کننده بروز و پیش‌آگهی را ایجاد نموده است؛ بنابراین تاکنون مطالعات گوناگونی در جهت بررسی ارتباط بین زن و آنزیم *COX-2* با سرطان معده صورت پذیرفته است. اگرچه این مطالعات نتایج ضدونقیضی در بیان قدرت پیش‌بینی‌کننده و پیش‌آگهی دهنده این زن در سرطان معده مطرح نموده‌اند؛ ولیکن اکثر قریب به اتفاق مطالعات بررسی شده، حاکی از نقش پررنگ *COX-2* در سرطان معده دارند. مطالعه وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۶ میلادی بر روی ۸۲ بیمار مبتلا به سرطان معده و مقایسه آن‌ها با ۴۳ بیمار غیر سرطانی نشان داد که بیان زن *COX-2* در بیماران مبتلا به *COX-2* به طور معناداری بالاتر بوده و میزان بیان این زن در بیماران مبتلا به سرطان معده با اندازه تومور، میزان اینفلیتراسیون تومور، متاستاز لنفاوی و دوردست و درجه پیشرفت تومور افزایش معناداری داشته است؛ با این وجود

### بحث

مطالعه حاضر با هدف تعیین ارتباط بین میزان بیان زن *COX-2* با علایم کلینیکوپاتولوژیک و پیش‌آگهی در سرطان معده در بیماران مبتلا به این بدخیمی نشان داد که ارتباط معناداری بین افزایش بیان زن *COX-2* و علائم بالینی، پیش‌آگهی بیماری، سن، جنسیت، بقا بیمار، درجه و پیشرفت تومور، نوع جراحی، یافته‌های بافت‌شناسی، سابقه خانوادگی سرطان و مصرف دخانیات از لحاظ آماری وجود ندارد؛ هر چند افزایش بیان زن *COX-2* به طور معناداری با کاهش بقا سالیانه بیماران در بازه‌های زمانی مشخص پس از جراحی ارتباط داشته و بیماران با سطح بالاتر بیان *COX-2*، در بازه‌های زمانی مشخص، بقا سالیانه کمتری را نشان داده‌اند. اهمیت پیش‌گیری و پیش‌بینی پیش‌آگهی سرطان‌ها، به ویژه

معده در ارتباط معنادار می‌باشد؛ ولیکن بیان این ژن در ضایعات پیش بدخیم معده با مصرف دخانیات و عفونت هلیکوباکتر پیلوئی مرتبط عنوان نشده است (۲۰). در نهایت مطالعه متآنالیزی که توسط سانگ و همکاران در سال ۲۰۱۴ میلادی بر روی ۳۸۹۱ بیمار مبتلا به سرطان معده صورت پذیرفته است، نشان داد که علیرغم پیشرفت‌ها حاضر در زمینه تشخیص و درمان سرطان معده، همچنان افراد بسیار کمی سورویوال پنج ساله دارند که در مطالعه حاضر نیز میانگین بقای افراد حدود ۲۳ ماه بود و تنها ۱۰/۷ درصد افراد بیش از چهار سال سورویوال داشتند. همچنین تاثیر افزایش بیان ژن COX-2 بر پروگنوز نامطلوب سایر سرطان‌ها نظری ریه، کولورکتال، گردن، تخمدان، پانکراس و کارسینوم سنگفرشی مری مطرح گردید؛ هرچند نتایج قطعی در مورد ارتباط بین افزایش بیان و پروگنوز کانسر معده وجود نداشته است؛ در مطالعه حاضر نیز علی‌رغم حدود ۱۰ ماه اختلاف سورویوال در دو گروه با افزایش و کاهش بیان ژن COX-2، این اختلاف از نظر آماری معنادار نبوده است. همچنین استفاده منظم و طولانی‌مدت از آسپرین و سایر NSAID‌ها می‌تواند مورتالیتی بسیاری از سرطان‌ها از جمله سرطان معده را کاهش دهد و از طرفی می‌تواند با کاهش سرطان‌های معده غیر کاردیا مرتبط باشد. همچنین ارتباط افزایش بیان با متاستاز به لنفنودها به اثبات رسید که در مطالعه حاضر معنی‌دار نبود (۲۱). از سوی دیگر با توجه به ارتباطی احتمالی COX-2 و سرطان معده، مطالعاتی چند در زمینه بررسی تاثیر داروهای مهار‌کننده آنزیم COX-2 در بیماران مبتلا به سرطان معده صورت پذیرفته است؛ بدین جهت فو و همکاران بیان داشته‌اند که داروهای سرطان مهار‌کننده COX-2 اثرات ضد توموری بر سلول‌های سرطان معده داشته و نقش بهسزایی در جلوگیری از آنژیوژن، تهاجم و متاستاز سرطان معده ایفا می‌کنند. این دسته از داروها اثرات ضد سرطانی خود را از طریق القای آپوپتوز، سرکوب تکثیر، کاهش آنژیوژن و تضعیف تهاجم بر سلول‌های سرطانی معده بر جای می‌گذارند (۲۲). مطالعات دیگر نیز حاکی از تاثیر مثبت داروهای مهار‌کننده COX-2 نه تنها بر سرطان معده، بلکه بر

مطالعه وانگ و همکاران ارتباط معناداری بین جنسیت و افزایش بیان ژن COX-2 در افراد مبتلا به سرطان معده و مقایسه آن با افراد گروه شاهد به دست نیاورده است. همچنین این مطالعه هم‌افزایی شدیدی در بیان ژن COX-2 و cysteine-rich 61 (CYR-61/CCN1) در افراد مبتلا به سرطان معده گزارش نموده است (۱۷). بدین روی نتایج مطالعه وانگ از نقطه‌نظر گسترش و پیش‌آگهی تومور با مطالعه حاضر همسو نمی‌باشد؛ اگرچه هر دو مطالعه ارتباط معناداری بین بیان ژن COX-2 و جنسیت بیماران مطالعه شده به دست نیاورده‌اند. همانند مطالعه وانگ و همکاران و برخلاف مطالعه حاضر، رن و همکاران در طی مطالعه خود در سال ۲۰۱۸ میلادی بر روی ۱۲۰ نفر، ارتباط معنادار بین گسترش، تهاجم و درجه پیشرفت بیمار در افراد مبتلا به سرطان معده را گزارش نموده و بیان بالاتر این ژن را با پیش‌آگهی ضعیفتر بیماری مرتبط دانسته‌اند؛ همچنین در مطالعه رن و همکاران نیز میزان بیان ژن COX-2 ارتباط معنادار آماری با جنسیت و سن داشته است. از سوی دیگر نکته قابل توجه این مطالعه، بیان شدید ژن Matrix Metalloproteinase-13 (MMP-13) در بیماران مبتلا به سرطان معده می‌باشد (۱۳). بر خلاف مطالعات فوق، مطالعه لو و همکاران در سال ۲۰۱۷ میلادی، ارتباط معناداری بین بیان ژن COX-2، متاستاز تومور و درجه پیشرفت بیماری گزارش ننموده است؛ اگرچه لو و همکاران تمایز و تهاجم سلول‌های بدخیم معده را با افزایش بیان ژن COX-2 مرتبط دانسته‌اند (۱۸). از طرف دیگر، یو و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۲۰ میلادی عدم ارتباط معنادار بین بیان ژن COX-2 و اندازه تومور، تهاجم آن، پیشرفت و تمایز سلولی، متاستاز سلول‌های بدخیم و نیز سن، جنسیت و شاخص توده بدنی بیماران را عنوان نموده‌اند (۱۹). پر واضح است، پیش‌بینی بروز سرطان معده از اهمیت بهسزایی برخوردار می‌باشد؛ بدین جهت مطالعه کاک و همکاران در سال ۲۰۲۰ میلادی بر روی ۲۵۴ بیمار دارای ضایعات پیش بدخیم معده نشان داده است که میزان بیان ژن COX-2 با آتروفی سلولی، دیسپلазی و متاپلازی سلول‌های

ترخیص از بیمارستان، درمان‌هایی مانند کمورادیوتراپی قبل و بعد از جراحی؛ چه بسا بسیاری از آن‌ها می‌توانند تاثیر بالقوه‌ای از افزایش بیان  $COX-2$  بر بقای بیماران و پیش‌آگهی بیماری داشته باشند، پیشنهاد می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر ارتباط معنادار آماری بین افزایش بیان  $\text{ژن } COX-2$  و علائم بالینی، سن، جنسیت، بقا (بر اساس ماه)، پیشرفت تومور، نوع جراحی، ویژگی‌های بافت‌شناسی، سابقه خانوادگی سرطان و سایر موارد یافت نشد. بیماران با افزایش بیان  $\text{ژن } COX-2$ ، واضح‌آغاز طول عمر کمتری داشتند، هرچند این مسئله در بررسی آماری معنادار نبوده است؛ بنابراین می‌توان اذعان داشت که با افزایش تعداد بیماران مورد بررسی و همچنین همسان‌سازی جمعیت موردمطالعه از نقطه‌نظر وضعیت تغذیه‌ای قبل و بعد از عمل، رویدادن یا عدم وقوع عوارض جراحی و عفونت‌های بیمارستانی مرتبط و نیز دریافت یا عدم دریافت درمان‌هایی مانند کمورادیوتربی قبل و بعد از عمل جراحی به نتایج مستدلی دست یافتد.

### سپاس‌گزاری

پژوهش حاضر نتیجه پایان‌نامه دوره دستیاری تخصصی جراحی عمومی دانشگاه علوم پزشکی مشهد (با کد ۹۳۱۲۹۱ مورخ ۱۳۹۸/۸/۲۹) بوده و بدین وسیله از زحمات و حمایت‌های معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و شرکت‌کنندگان در این طرح تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

**حامي مالي:** اين مطالعه با حميati مالى دانشگاه علوم پزشکي مشهد ايران صورت پذيرفته است.  
**تعارض در منافع:** وجود ندارد.

ساير بدخيими‌های دستگاه گوارش داشته است (۱۵،۲۳). به علاوه مطالعه گو و همکاران نشان داده است که اضافه نمودن سلکوكسيب به عنوان يك داروي مهارکننده آنزيم  $COX-2$  به رژيم شيمي درمانی بیماران مبتلا به سلطان معده، بهطور معناداري نتایج حاصل از درمان و پیش‌آگهی بیماران را بهبود بخشیده است (۲۴). مطالعه حاضر اگرچه در اکثر فاكتورهای  $COX-2$  مورد بررسی قرار گرفته ارتباط معناداري با بیان  $\text{ژن } COX-2$  قابل توجه و حائز اهميت می‌باشد. لازم به ذكر است، ثبت ناقص اطلاعات بیماران در پرونده آن‌ها، تغييرات قيمت كيتهای مورد استفاده به دليل تحریم‌های اعمال شده، از دست رفتن نمونه‌های اخذ شده و با توجه به ميزان پايین جمعیت موردمطالعه، عدم امكان در نظر گرفتن آناليزهای آماری پیشرفت‌تر از جمله آناليز رگرسیون لجستیک از محدودیتهای این مطالعه بوده است؛ با این وجود در نظر گرفتن فاكتورهای كلينيکال و پاراكلينيکال متعدد و تاثيرگذاري از جمله عمق تهاجم تومور، نوع عمل، بافت‌شناسی تومور، منشا تومور، عاليه باليني همراه و بقای بیماران در کنار افزایش بیان  $\text{ژن } COX-2$  در بازه زمانی هشت ساله از نقاط قوت مطالعه حاضر می‌باشد. با اين حال طراحی مطالعات گسترده دیگر با در نظر داشتن سایر فاكتورهای احتمالي دخیل و تاثيرگذار در بروز و پیش‌آگهی سرطان معده از جمله وضعیت تغذیه‌ای بیماران، شرایط فيزيکي و باليني آن‌ها قبل و بعد از عمل جراحی، حميati تغذیه‌ای بیماران در صورت نياز، قبل و بعد از عمل جراحی، نقص در تكنيك‌های جراحی، عفونت محل عمل يا سایر پروسه‌های عفونی شایع در بیماران بستری همانند انواع پنومونی، ميزان رسيدگي و مراقبت از بیمار پس از

## References:

- 1-Mattiuzzi C, Lippi G. *Current Cancer Epidemiology*. J Epidemiol Glob Health 2019; 9(4): 217-22.**
- 2-Moodi Ghalibaf A. *The Association between Breast Cancer and Thyroid Function: From Birth to Death*. Multidiscip Cancer Investig 2021; 5(2): 1-8.**
- 3-Thrift AP, Nguyen TH. *Gastric Cancer Epidemiology*. Gastrointestinal Endoscopy Clinics 2021; 31(3): 425-39.**
- 4-Rastaghi S, Jafari-Koshki T, Mahaki B, Bashiri Y, Mehrabani K, Soleimani A. *Trends and Risk Factors of Gastric Cancer in Iran (2005–2010)*. Int J Prev Med 2019; 10: 79.**
- 5-Moradian F, Fararouei M, Karami M, Ghelichi-Ghojogh M, Gheibi Z, Nikeghbalian Z, et al. *Trend of geographical distribution of stomach cancer in Iran from 2004 to 2014*. BMC Gastroenterol 22, 4 (2022).**
- 6-Fattahi N, Moghaddam SS, Rezaei N, Rezaei N, Fattahi E, Moradveisi B, et al. *The National Trend of the Gastric Cancer Burden in Iran from 1990 to 2017*. Asia-Pac J Clin Oncol 2022; 18(2): e96-e102.**
- 7-Zali H, Rezaei-Tavirani M, Azodi M. *Gastric Cancer: Prevention, Risk Factors and Treatment*. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2011; 4(4): 175-85.**
- 8-Yusefi AR, Lankarani KB, Bastani P, Radinmanesh M, Kavosi Z. *Risk Factors for Gastric Cancer: A Systematic Review*. Asian Pac J Cancer Prev 2018; 19(3): 591-603.**
- 9-McLean MH, El-Omar EM. *Genetics of Gastric Cancer*. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 2014; 11(11): 664-74.**
- 10-Slavin TP, Weitzel JN, Neuhausen SL, Schrader KA, Oliveira C, Karam R. *Genetics of Gastric Cancer: What Do We Know about the Genetic Risks?* Transl Gastroenterol and Hepatol 2019; 4: 55.**
- 11-Mocellin S, Verdi D, Pooley KA, Nitti D. *Genetic Variation and Gastric Cancer Risk: A Field Synopsis and Meta-Analysis*. Gut 2015; 64(8): 1209-19.**
- 12-Lee J, Hong EM, Kim JH, Kim JH, Jung JH, Park SW, et al. *Ursodeoxycholic Acid Shows Antineoplastic Effects in Bile Duct Cancer Cells via Apoptosis Induction; P53 Activation; and EGFR-ERK, COX-2, and PI3K-AKT Pathway Inhibition*. Mol Biol Rep 2021; 48(9): 6231-40.**
- 13-Ren J, Liu J, Sui X. *Correlation of COX-2 and MMP-13 Expressions with Gastric Cancer and their Effects on Prognosis*. J BUON 2018; 23(3): 665-71.**
- 14-Xiang L, Wang W, Zhou Z, Lv M, Tao L, Ni T, et al. *COX-2 promotes metastasis and predicts prognosis in gastric cancer via regulating mTOR*. Biomark Med 2020; 14(6): 421-32.**
- 15-Wang Z, Chen JQ, Liu JL. *COX-2 Inhibitors and Gastric Cancer*. Gastroenterology Research and Practice 2014; 2014.**
- 16-Wei J, Zhang J, Wang D, Cen B, Lang JD, DuBois RN. *The COX-2-PGE2 Pathway Promotes Tumor Evasion in Colorectal Adenomas*. Cancer Prev Res (Phila) 2022; 15(5): 285-96**
- 17-Wang Y, Wang M. *Prognostic Significance of Expression of Cysteine-Rich 61 and Cyclooxygenase-2 in Gastric Cancer*. BMC Gastroenterol 2016; 16(1): 74.**

- 18-Ye Y, Liu M, Yuan H, Ning S, Wang Y, Chen Z, et al. ***COX-2 Regulates Snail Expression In Gastric Cancer Via The Notch1 Signaling Pathway.*** Int J Mol Med 2017; 40(2): 512-22.
- 19-Yoo HJ, Kim TJ, Kim DJ, Kim W. ***Role of COX2 as a Biomarker for Estimating Survival of Patients with Clinical Stage I Gastric Cancer.*** Anticancer Res 2020; 40(1): 341-7.
- 20-Koc DO, Kimiloglu E. ***Relation of Cyclooxygenase-2 Expression with Premalignant Gastric Lesions.*** Acta Gastrol Belg 2020; 83(2): 249-54.
- 21-Song J, Su H, Zhou YY, Guo LL. ***Cyclooxygenase-2 Expression is Associated with Poor Overall Survival of Patients with Gastric Cancer: A Meta-Analysis.*** Dig Dis Sci 2014; 59(2): 436-45.
- 22-Fu SL, Wu YL, Zhang YP, Qiao MM, Chen Y. ***Anti-Cancer Effects of COX-2 Inhibitors and their Correlation with Angiogenesis and Invasion in Gastric Cancer.*** World J Gastroenterol 2004; 10(13): 1971.
- 23-Nagaraju GP, El-Rayes BF. ***Cyclooxygenase 2 in Gastrointestinal Malignancies.*** Cancer 2019; 125(8): 1221-7.
- 24-Guo Q, Li Q, Wang J, Liu M, Wang Y, Chen Z, Ye Y, Guan Q, Zhou Y. ***A Comprehensive Evaluation of Clinical Efficacy and Safety of Celecoxib in Combination with Chemotherapy in Metastatic or Postoperative Recurrent Gastric Cancer Patients: A Preliminary, Three-Center, Clinical Trial Study.*** Medicine 2019; 98(27): e16234.

## Investigation of the Relationship between COX-2 Expression, Clinicopathological Symptoms, and Prognosis of the Patients with Gastric Cancer

Abolfazl Hekmat-Shoar<sup>1</sup>, AmirAli Moodi Ghalibaf<sup>2</sup>, Ali Shamshirian<sup>3</sup>, Mohammad Reza Abbaszadegan<sup>4</sup>, Bahram Memar<sup>1</sup>, Mohammad Reza Motie<sup>†1</sup>

### Original Article

**Introduction:** The present study was designed to investigate the relationship between COX-2 gene expression, clinicopathological symptoms, and prognosis of patients with gastric cancer.

**Methods:** The present cross-sectional study was designed to achieve the scientific aims among patients referred to the Imam Reza Hospital, Mashhad, Iran from 2008 to 2018. In this study, patients' demographic characteristics, clinical signs and symptoms, tumor findings, type of surgery, and COX-2 gene expression level (using Real Time PCR technique) were recorded. The data were analyzed by SPSS software (version 16), statistical tests, including Chi-square, Fisher's exact, Gamma coefficient, one-way ANOVA, or Kruskal-Wallis test at a significance level of 0.05.

**Results:** Out of 110 patients included in the study, 55 patients were evaluated according to the criteria. Among them 21 (38.2%) patients had decreased levels of gene expression, in 18 (32.7%) patients gene expression was in the normal range, and in 16 (29.1%) patients increased gene expression was seen. The average survival months of patients after surgery were  $23.41 \pm 23.07$  months. No statistically significant relationship was found between increased COX-2 gene expression and clinical signs, age, sex, survival (by month), tumor progression, type of surgery, histological features, family history of cancer, and other cases ( $P > 0.05$ ); However, considering the annual survival in the annual classification showed a significant relationship with the expression of COX-2 gene ( $P=0.028$ ).

**Conclusion:** Despite no significant relationship between COX-2 gene expression and studied parameters in the patients with gastric cancer in this study, the existence of a significant relationship between gene expression and annual survival of patients seems so important.

**Keywords:** Gastric Cancer, COX-2, Survival.

**Citation:** Hekmat-Shoar A, Moodi Ghalibaf A.A, Shamshirian A, Abbaszadegan M.R, Memar B, Motie M.R. Investigation of the Relationship between COX-2 Expression, Clinicopathological Symptoms, and Prognosis of the Patients with Gastric Cancer. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2023; 31(4): 6561-72.

<sup>1</sup>Surgical Oncology Research Center, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

<sup>2</sup>Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

<sup>3</sup>Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

<sup>4</sup>Medical Genetics Research Center, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

\*Corresponding author: Tel: 051212252, email: motiem@mums.ac.ir