

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

ابوالفضل حکمت شعار^۱، امیرعلی مودی قالی‌باف^۲، علی شمشیریان^۳، محمدرضا عباس‌زادگان^۴، بهرام معمار^۱، محمدرضا مطیع^{۱*}

مقاله پژوهشی

مقدمه: مطالعه حاضر جهت بررسی ارتباط میزان بیان ژن COX-2 با علائم 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 لغایت ۱۳۹۸ به بررسی بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان امام‌رضا (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 به‌کارگیری شامل آزمون‌های مجذور کای، دقیق فیشر، ضریب توافق گاما، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و یا آزمون کروسکال والیس در سطح معناداری ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج: از بین ۱۱۰ بیمار وارد شده به مطالعه، تعداد ۵۵ بیمار، باتوجه‌به معیارهای تعریف شده، مورد بررسی قرار گرفتند. در این بین ۲۱ (۳۸/۲٪) نفر از بیماران دارای مقادیر کاهش‌یافته 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 به‌دست 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 یافت 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، محمدرضا معمار، بهرام مطیع محمدرضا. 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): ۶۵۶۱-۷۲.

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 بیرجند، بیرجند، 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: ۰۵۱۲۱۲۲۵۲، پست الکترونیکی: motiem@mums.ac.ir، صندوق پستی: ۹۱۷۷۱۵۳۶۰۷

مقدمه

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؛ به‌طوریکه 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 حداکثر میزان خود می‌رسد (۴-۶). تا کنون عوامل محیطی و ژنتیکی گوناگونی به‌عنوان عوامل خطر بروز سرطان معده شناخته شده است؛ از این بین می‌توان جنسیت مذکر، سن، نژاد آسیایی و سیاه، منطقه جغرافیایی (آسیا)، عفونت هلیکوباکتر پیلوری، چاقی، رژیم غذایی پر نمک و کم فیبر، مصرف الکل، استعمال دخانیات، بیماری‌های خودایمن، سندرم‌های خانوادگی و موتاسیون‌های ژنتیکی را به‌عنوان مهم‌ترین عوامل خطر بروز سرطان معده برشمرد (۸-۷). به فاکتورهای ژنتیکی متنوعی از مهار ژن‌های *P53 Adenomatous Polyposis Coli (APC)*، *DCC*، *Fragile Histidine Triad Diadenosine*، *E-cadherin* و *Triphosphatase (FHIT)* گرفته تا افزایش بیان ژن‌های *COX-2*، *c-Met*، *β-Catenin*، *VEGF*، *RAS* و *Cyclooxygenase-2* می‌توان اشاره نمود (۹-۱۱). با این وجود، اغلب مطالعات، افزایش بیان ژن *COX-2* و سرکوب فعالیت ژن *P53* را به‌عنوان اصلی‌ترین عوامل ژنتیکی در بروز سرطان معده اسپوردیک دانسته‌اند؛ هرچند این عوامل نیز به‌طور اساسی تحت‌تأثیر 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

آنزیم در بسیاری از بدخیمی‌های سیستم گوارش نقش به‌سزایی بازی می‌کند؛ به‌طوریکه 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* به‌خوبی شناخته نشده و حدس زده می‌شود این آنزیم با تحریک پرولیفراسیون سلولی، مهار آپوپتوز و القای آنژیوژنز از طریق فاکتورهای مثل *VEGF* این تأثیر را به‌جای می‌گذارد (۱۶)؛ لذا نظر به نقش احتمالی *COX-2* در بروز و گسترش انواع بدخیمی‌ها، به‌ویژه 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 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 علائم کلینیکی کوپاتولوژیک 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 علائم کلینیکی کوپاتولوژیک در بیماران مبتلا به سرطان معده مراجعه‌کننده به بیمارستان امام رضا (ع) شهر مشهد، ایران، در یک بازه زمانی ۱۰ساله (از سال ۱۳۸۷ لغایت سال ۱۳۹۸) طراحی و اجرا شده است. در این مطالعه تمامی بیماران مراجعه‌کننده 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 تومورال در معده حین جراحی، تشخیص غیر قابل عمل بودن حین جراحی، عدم امکان برقراری تماس تلفنی (به علت عدم

oligo dT از تمامی mRNA بیان شده cDNA تهیه گردید. cDNA تومور و نرمال به صورت جداگانه در واکنش Real-Time PCR وارد شدند. واکنش Real-Time PCR به روش SYBR Green به صورت triplicate انجام گرفت و از ژن نرمالایزر GAPDH برای یکسان سازی شرایط نرمال و تومور استفاده گردید. آنالیز مقدار بیان با استفاده از نرم افزار $Mx-3000p$ انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا کلیه مشاهدات اعم از بیان ویژگی های افراد شرکت کننده در مطالعه و یافته های حاصل از نمونه های اخذ شده از بیماران با استفاده از روش های آماری توصیفی شامل شاخص های مرکزی، پراکندگی و توزیع فراوانی، توصیف گردید. سپس جهت بررسی نرمال بودن داده های کمی از روش های توصیفی و آزمون های نرمالیتی کلموگرف اسمیرنوف بهره برده و پس از آن آزمون های مجذور کای و یا دقیق فیشر، آزمون ضریب توافق گاما و هم چنین آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و یا معادل ناپارامتری آن ها (آزمون کروسکال والیس) جهت مقایسه گروه ها بکار گرفته شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم افزار 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 این بین پس از بررسی و در نظر 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 جوان ترین فرد ۴۳ سال و مسن ترین فرد ۸۴ سال سن داشت؛ در این میان، ۴۰ (۷۲/۲٪) بیمار مرد و ۱۵

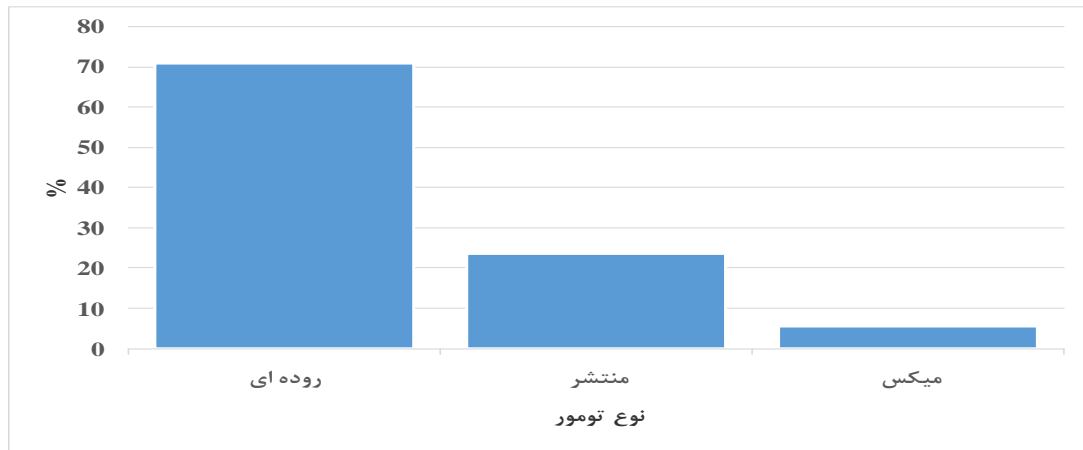
پاسخگویی و شماره تماس اشتباه)، درصد پایین سلول های توموری در نمونه طی بررسی پاتولوژی (کمتر از ۷۰٪) و نمونه هایی که در اتاق عمل درون محلول فیکساتور قرار گرفته بودند، در نظر گرفته شد. در ابتدای مطالعه از تمامی بیماران رضایت آگاهانه اخذ گردید. باتوجه به نیاز کلیه بیماران وارد شده به مطالعه به گاسترکتومی و انجام بررسی ها بر روی بافت انسانی پس از حذف و خارج کردن آن از بدن بیمار، هم چنین عدم تأثیرگذاری در نتیجه آسیب شناسی بیمار، عدم تحمیل هزینه به بیمار، عدم استفاده از نام بیماران در پرسش نامه و بررسی داده ها 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:

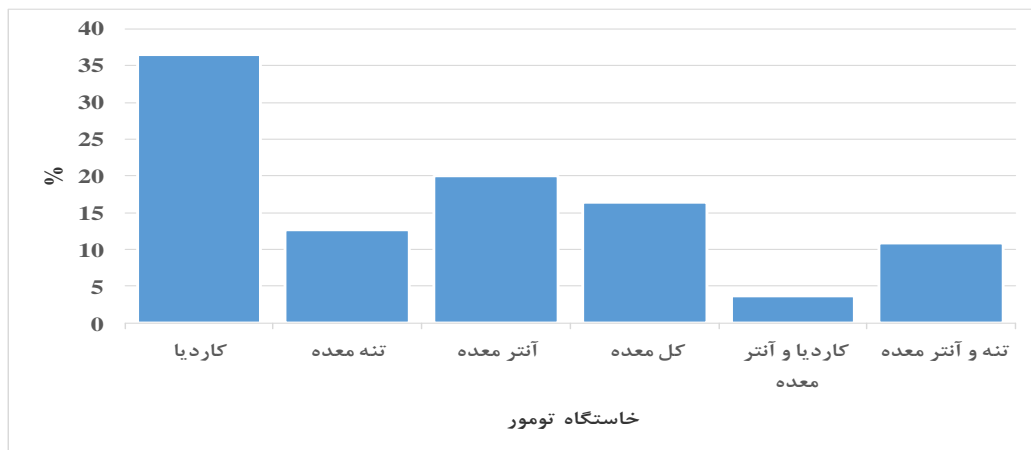
در مطالعه حاضر اطلاعات دموگرافیک بیماران (شامل: سن، جنسیت، سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان، سابقه استعمال سیگار، میزان بقا و بقای سالیانه)، علائم بالینی بیماران، یافته های مربوط به تومور (شامل: استیج، درجه، سایز، درجه تمایز، محل و نوع آسیب شناسی تومور)، نوع جراحی (گاسترکتومی توتال یا ساب توتال) و سطح COX-2 (با استفاده از رنگ آمیزی بافتی) ثبت و بررسی گردید. جهت انجام فرآیندهای آزمایشگاهی، نمونه بیوپسی بیماران مبتلا به سرطان معده مورد استفاده قرار گرفت. جراح پس از گاسترکتومی بخشی از تومور و بافت نرمال (بافاصله پنج تا ۱۰ سانتیمتر از تومور) را به پاتولوژی ارسال و پاتولوژیست چند نمونه بیوپسی به ابعاد $0/5 \times 0/5$ سانتیمتر تهیه نموده و جهت جلوگیری از تخریب RNA، بلافاصله به محلول RNAlater منتقل کرده است. تمام نمونه ها تا زمان استخراج RNA در فریزر -۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. یک نمونه بیوپسی نیز برای بررسی های 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 آگاروز، با استفاده از

(۲۷/۳٪) نفر زن بوده‌اند. از نقطه نظر سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان، ۴۱ بیمار (۷۴/۵٪) هیچ‌گونه سابقه خانوادگی از ابتلا به سرطان را ذکر نمی‌کردند؛ در حالیکه، نه بیمار (۱۶/۴٪) بیمار سابقه خانوادگی سرطان معده و چهار بیمار (۷/۳٪) سابقه ابتلا به سرطان‌های دیگر به جز سرطان معده را در خانواده خود داشتند. در جمعیت حاضر، ۲۵ نفر از بیماران (۴۵/۵٪) اعتیاد به مصرف سیگار را عنوان نمودند. در این مطالعه، ۴۰ (۷۲/۷٪) بیمار تحت جراحی گاسترکتومی توتال و ۱۵ (۲۷/۳٪) نفر تحت گاسترکتومی ساب توتال قرار گرفتند. ۷۹/۹٪ تومورها از نوع روده‌ای سرطان معده بوده (تصویر ۱)؛ بیشترین و کمترین خاستگاه تومورها به ترتیب از ناحیه "کاردیا" (۳۶/۴٪) و نواحی "کاردیا و آنتر" (۲٪) گزارش شده است (تصویر ۲). شایع‌ترین علائم بیماران در این بررسی، درد شکمی، کاهش اشتها و کاهش وزن بوده است و به ترتیب هشت (۱۴/۵٪) بیمار دیسفاژی و پنج (۹/۱٪) نفر ملنا را نیز در کنار علائم اصلی داشتند (تصویر ۳). براساس گزارش پاتولوژی، غالب تومورها در استیج 3A با فراوانی ۱۹ (۳۴/۵٪) بوده و پس از آن استیج 3B با فراوانی ۱۱ (۲۰٪) بیشترین موارد را شامل می‌شود (تصویر ۴). در این مطالعه، ۳۶ (۶۵/۵٪) مورد درجه تمایز "متوسط" و ۱۱ (۲۰٪) درجه "ضعیف" و هشت (۱۴/۵٪) درجه تمایز "خوب" داشته‌اند. میانگین ماه‌های بقای فرد پس از جراحی، ۲۳/۰۷±۱۷/۴۱ ماه محاسبه گردید. اطلاعات اخذ شده از بیماران به تفصیل در جدول یک بیان گردیده است. باتوجه به جدول یک، میزان بیان ژن COX-2 در بیماران مورد مطالعه عبارتست از: ۲۱ (۳۸/۲٪) نفر از بیماران کاهش بیان COX-2 به صورت مقادیر کمتر از -۱ و ۱۶ (۲۹/۱٪) مورد افزایش بیان ژن COX-2 به صورت مقادیر بالاتر از یک را نشان دادند؛ در ۱۸ (۳۲/۷٪) بیمار مقادیر بیان COX-2 به صورت (۱- تا یک) بوده

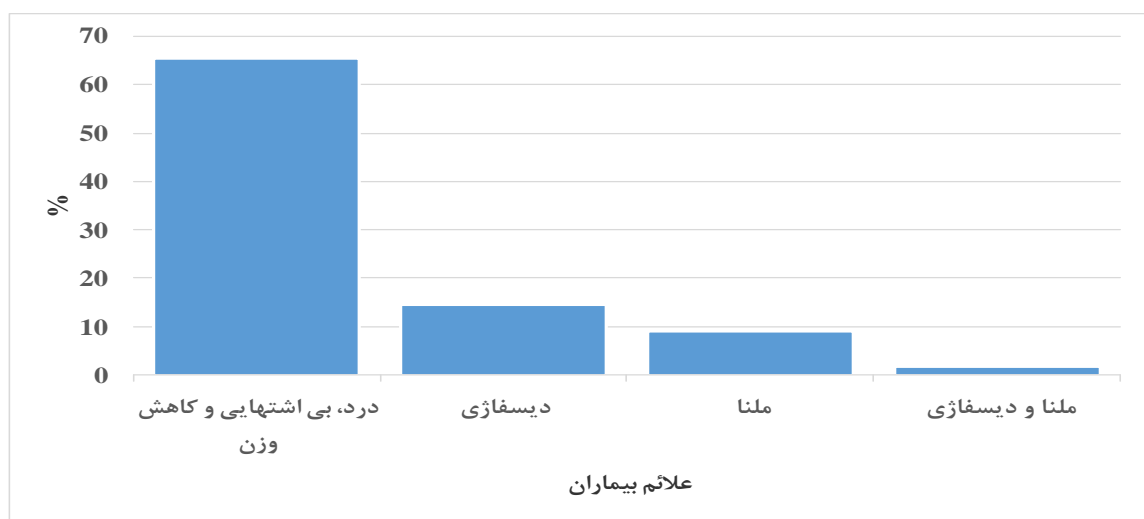
که در محدوده طبیعی قرار داشت. یافته‌های آماری موید عدم ارتباط معنادار بین میزان بیان ژن COX-2 با خصوصیات دموگرافیک افراد مورد مطالعه از جمله سن و جنسیت می‌باشد (به ترتیب $P=0/804$ و $P=0/648$)؛ به علاوه برای جمعیت مورد مطالعه، سابقه خانوادگی افراد از نظر وجود صرفاً سرطان معده و یا همراهی سایر سرطان‌های گوارشی به جز 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، Grade، 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 بقای فرد پس از جراحی، $23/07 \pm 17/41$ ماه بوده است که به ترتیب ۱۸ (۳۲/۷٪) مورد، بیماران کمتر از یک سال، ۱۵ (۲۷/۳٪) نفر بیماران بین یک تا دو سال، ۱۲ (۲۱/۸٪) مورد بین دو تا سه سال، ۱۸ (۳/۷٪) مورد بین سه تا چهار سال و ۷ (۱۲/۷٪) مورد بیماران بالای چهار سال زنده مانده‌اند. بقای سالیانه بیماران با میزان بیان ژن COX-2 ارتباط معنادار داشته ($P=0/132$) و براساس ضریب همبستگی گاما، ارتباط معکوس بین تعداد ماه‌های بقای بیمار و میزان بیان ژن COX-2 انتظار می‌رود (ضریب همبستگی گاما = $-0/143$). در نهایت باتوجه به اهمیت بیشتر افزایش بیان ژن در مطالعه، بقای 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 معناداری مشاهده نشد؛ هر چند در این حالت ارتباط معکوس قوی‌تری بین تعداد ماه‌های بقای بیمار و میزان بیان ژن COX-2 نسبت به در نظر گرفتن سه گروه از نقطه نظر بیان ژن COX-2 محاسبه گردید (ضریب همبستگی گاما = $-0/357$).



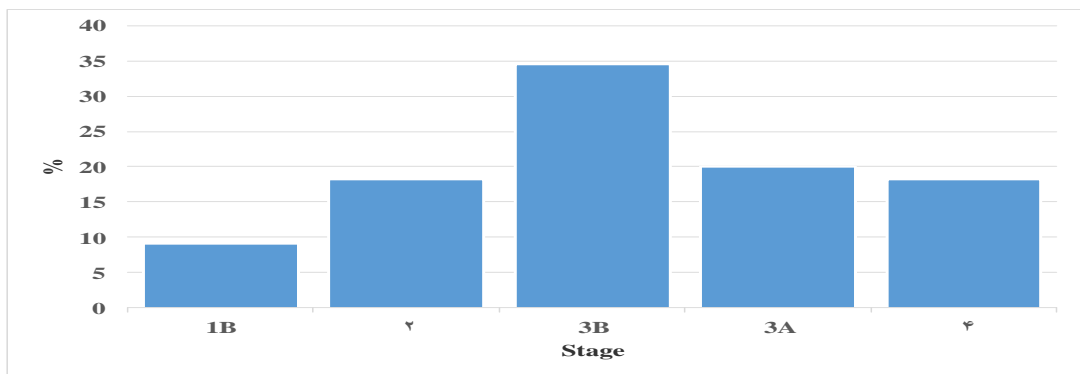
تصویر ۱: فراوانی بیان ژن *COX-2* بر مبنای نوع تومور برحسب درصد



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 برحسب درصد

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

P	میزان بیان ژن COX-2			فراوانی (درصد)	معیار	ویژگی
	مقادیر بیشتر از ۱ (افزایش بیان ژن)	مقادیر بین ۱ تا ۱- (محدوده طبیعی)	مقادیر کمتر از ۱- (کاهش بیان ژن)			
**۰/۶۴۸	۶۳/۱۹±۱۱/۳	۶۶/۱۱±۱۰/۷	۶۵/۷۱±۷/۵	-	-	سن (سال)
*۰/۸۰۴	۱۲ (۰/۲۱/۸)	۱۲ (۰/۲۱/۸)	۱۶ (۰/۲۹/۱)	۴۰ (۰/۷۲/۷)	مرد	جنسیت
	۴ (۰/۷/۳)	۶ (۰/۱۰/۹)	۵ (۰/۹/۱)	۱۵ (۰/۲۷/۳)	زن	
*۰/۹۵۹	۱ (۰/۱/۸)	۲ (۰/۳/۶)	۲ (۰/۳/۶)	۵ (۰/۹/۱)	1B	Stage
	۴ (۰/۷/۳)	۳ (۰/۵/۵)	۳ (۰/۵/۵)	۱۰ (۰/۱۸/۲)	2	
	۵ (۰/۹/۱)	۸ (۰/۱۴/۵)	۶ (۰/۱۰/۹)	۱۹ (۰/۳۴/۵)	3A	
	۳ (۰/۵/۵)	۳ (۰/۵/۵)	۵ (۰/۹/۱)	۱۱ (۰/۲۰)	3B	
	۳ (۰/۵/۵)	۲ (۰/۳/۶)	۵ (۰/۹/۱)	۱۰ (۰/۱۸/۲)	4	
*۰/۲۴۳	۳ (۰/۵/۵)	۱ (۰/۱/۸)	۴ (۰/۷/۳)	۸ (۰/۱۴/۵)	1	درجه تومور (Grade)
	۹ (۰/۱۶/۴)	۱۵ (۰/۲۷/۳)	۱۰ (۰/۱۸/۵)	۳۴ (۰/۶۱/۸)	2	
	۴ (۰/۷/۳)	۲ (۰/۳/۶)	۷ (۰/۱۲/۷)	۱۳ (۰/۲۳/۶)	3	
*۰/۹۶۷	۶ (۰/۱۰/۹)	۶ (۰/۱۰/۹)	۶ (۰/۱۰/۹)	۱۸ (۰/۳۲/۷)	۲	سایز تومور (T) برحسب سانتی‌متر
	۷ (۰/۱۲/۷)	۹ (۰/۱۶/۴)	۱۰ (۰/۱۸/۵)	۲۶ (۰/۴۷/۳)	۳	
	۳ (۰/۵/۵)	۳ (۰/۵/۵)	۵ (۰/۹/۱)	۱۱ (۰/۲۰)	۴	
*۰/۳۲۶	۲ (۰/۳/۶)	۱ (۰/۱/۸)	۵ (۰/۹/۱)	۸ (۰/۱۴/۵)	خوب	تمایز
	۱۰ (۰/۱۸/۲)	۱۵ (۰/۲۷/۳)	۱۱ (۰/۲۰)	۳۶ (۰/۶۵/۵)	متوسط	
	۴ (۰/۷/۳)	۲ (۰/۳/۶)	۵ (۰/۹/۱)	۱۱ (۰/۲۰)	ضعیف	
*۰/۸۶۷	۶ (۰/۱۰/۹)	۷ (۰/۱۲/۷)	۷ (۰/۱۲/۷)	۲۰ (۰/۳۶/۴)	کاردیا	خاستگاه تومور
	۱ (۰/۱/۸)	۲ (۰/۳/۶)	۴ (۰/۷/۳)	۷ (۰/۱۲/۷)	تنه معده	
	۴ (۰/۷/۳)	۴ (۰/۷/۳)	۳ (۰/۵/۵)	۱۱ (۰/۲۰)	آنتر معده	
	۱ (۰/۱/۸)	۴ (۰/۷/۳)	۴ (۰/۷/۳)	۹ (۰/۱۶/۴)	کل معده	
	۱ (۰/۱/۸)	۰	۱ (۰/۱/۸)	۲ (۰/۳/۶)	کاردیا و آنتر	
	۳ (۰/۵/۵)	۱ (۰/۱/۸)	۲ (۰/۳/۶)	۶ (۰/۱۰/۹)	تنه و آنتر معده	
*۰/۳۷۵	۱۲ (۰/۲۱/۸)	۱۵ (۰/۲۷/۳)	۱۲ (۰/۲۱/۸)	۳۹ (۰/۷۰/۹)	روده‌ای	نوع تومور
	۳ (۰/۵/۵)	۲ (۰/۳/۶)	۸ (۰/۱۴/۵)	۱۳ (۰/۲۳/۶)	منتشر	
	۱ (۰/۱/۸)	۱ (۰/۱/۸)	۱ (۰/۱/۸)	۳ (۰/۵/۵)	میکس	

ابوالفضل حکمت شعار و همکاران

	بدون سابقه	۴۱ (٪۷۴/۵)	۱۵ (٪۲۷/۳)	۱۴ (٪۲۵/۵)	۱۲ (٪۲۱/۸)
	فقط سرطان معده	۹ (٪۱۶/۴)	۴ (٪۷/۳)	۲ (٪۳/۶)	۳ (٪۵/۵)
	سرطان غیر از معده	۴ (٪۷/۳)	۲ (٪۳/۶)	۱ (٪۱/۸)	۱ (٪۱/۸)*
	سرطان معده و سرطان دیگر	۱ (٪۱/۸)	۰	۱ (٪۱/۸)	۰
	درد، بی‌اشتهایی و کاهش وزن	۳۶ (٪۶۵/۵)	۱۳ (٪۲۳/۶)	۱۱ (٪۲۰)	۱۲ (٪۲۱/۸)
	علائم بیماریان	۸ (٪۱۴/۵)	۵ (٪۹/۱)	۲ (٪۳/۶)	۱ (٪۱/۸)*
	ملنا	۵ (٪۹/۱)	۱ (٪۱/۸)	۲ (٪۳/۶)	۲ (٪۳/۶)
	ملنا و دیسفاژی	۱ (٪۱/۸)	۰	۱ (٪۱/۸)	۰
	نوع جراحی گاسترکتومی	۴۰ (٪۷۲/۷)	۱۷ (٪۳۰/۹)	۱۳ (٪۲۳/۶)	۱۰ (٪۱۸/۲)*
	سابقه مصرف سیگار	۲۵ (٪۴۵/۵)	۹ (٪۲۰/۹)	۹ (٪۲۰/۹)	۷ (٪۱۶/۳)**
	بقا (ماه)	-	۲۷/۶۷±۱۸/۵	۲۳/۸۹±۱۶/۳	۱۶/۱۳±۱۵/۸***
	کمتر از ۱ سال	۱۸ (٪۳۲/۷)	۵ (٪۹/۱)	۵۵ (٪۹/۱)	۸ (٪۱۴/۵)
	بین ۱ تا ۲ سال	۱۵ (٪۲۷/۳)	۷ (٪۱۲/۷)	۳ (٪۵/۵)	۵ (٪۹/۱)
	باقی سالیانه	۱۲ (٪۲۱/۸)	۷ (٪۱۲/۷)	۵ (٪۹/۱)	۰ (٪۰/۰)
	بین ۲ تا ۳ سال	۱۸ (٪۳۲/۷)	۲ (٪۳/۶)	۱ (٪۱/۸)	۰ (٪۰/۰)
	بین ۳ تا ۴ سال	۷ (٪۱۲/۷)	۰	۴ (٪۷/۳)	۳ (٪۵/۵)
	بالای ۴ سال	۰	۰	۰	۰

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

بحث

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

سرطان معده، یافتن عوامل مناسب پیش‌بینی‌کننده بروز و پیش‌آگهی را ایجاد نموده است؛ بنابراین تاکنون مطالعات گوناگونی در جهت بررسی ارتباط بین ژن و آنزیم COX-2 با سرطان معده صورت پذیرفته است. اگرچه این مطالعات نتایج ضدونقیضی در بیان قدرت پیش‌بینی‌کننده و پیش‌آگهی دهنده این ژن در سرطان معده مطرح نموده‌اند؛ ولیکن اکثر قریب به‌اتفاق 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 ژن COX-2 در بیماران مبتلا به COX-2 به‌طور معناداری بالاتر بوده و میزان بیان این ژن در بیماران مبتلا به سرطان معده با اندازه تومور، میزان اینفیلتراسیون تومور، متاستاز لنفاوی و دوردست و درجه پیشرفت تومور افزایش معناداری داشته است؛ بااین‌وجود

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/CCNI)* در افراد مبتلا به سرطان معده گزارش نموده است (۱۷). بدین روی نتایج مطالعه وانگ از نقطه نظر 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 نداشته است. از سوی دیگر نکته قابل توجه این مطالعه، بیان شدید ژن *Matrix Metalloproteinase-13 (MMP-13)* همراه با ژن COX-2 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 نموده 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 آنروفی سلولی، دیسپلازی و متاپلازی سلول‌های

معده در ارتباط معنادار می‌باشد؛ ولیکن بیان این ژن در ضایعات پیش بدخیم معده با مصرف دخانیات و عفونت هلیکوباکتر پیلوری 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 ۱/۰۷ درصد افراد بیش از چهار سال سورویوال داشتند. همچنین تاثیر افزایش بیان ژن COX-2 بر پروگنوز نامطلوب سایر سرطان‌ها نظیر 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 طولانی مدت 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 مهارکننده COX-2 اثرات ضد توموری بر سلول‌های سرطان معده داشته و نقش به‌سزایی در جلوگیری از آنژیوژنز، تهاجم و متاستاز سرطان معده ایفا می‌کنند. این دسته از داروها اثرات ضد سرطانی خود را از طریق القای آپوپتوز، سرکوب تکثیر، کاهش آنژیوژنز 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

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 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 ژن، واضحاً 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 مورد مطالعه از نقطه نظر وضعیت تغذیه‌ای قبل و بعد از عمل، روی دادن یا عدم وقوع عوارض جراحی و عفونت‌های بیمارستانی مرتبط و نیز دریافت یا عدم دریافت درمان‌هایی مانند کمورادیوتراپی قبل و بعد از عمل جراحی به نتایج مستدلی دست یافت.

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.
حامی مالی: این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مشهد ایران صورت پذیرفته است.
تعارض در منافع: وجود ندارد.

سایر بدخیمی‌های دستگاه گوارش داشته است (۱۵،۲۳). به‌علاوه مطالعه گو و همکاران نشان داده است که اضافه نمودن سلوکسیب به عنوان یک داروی مهارکننده آنزیم *COX-2* به رژیم شیمی درمانی بیماران مبتلا به سرطان معده، به‌طور معناداری نتایج حاصل از درمان و پیش‌آگهی بیماران را بهبود بخشیده است (۲۴). مطالعه حاضر اگرچه در اکثر فاکتورهای مورد بررسی قرار گرفته ارتباط معناداری با بیان ژن *COX-2* مطرح ننموده است؛ ولیکن افزایش معنادار بقای سالیانه در افراد دارای سطح پایین‌تر بیان ژن *COX-2* قابل توجه و حائز اهمیت می‌باشد. لازم به ذکر است، ثبت ناقص اطلاعات بیماران در پرونده آن‌ها، تغییرات قیمت کیت‌های مورد استفاده به دلیل تحریم‌های اعمال شده، از دست رفتن نمونه‌های اخذ شده و با توجه به میزان پایین جمعیت مورد مطالعه، عدم امکان در نظر گرفتن آنالیزهای آماری پیشرفته‌تر از جمله آنالیز رگرسیون لجستیک از محدودیت‌های این مطالعه بوده است؛ با این وجود در نظر گرفتن فاکتورهای کلینیکال و پاراکلینیکال متعدد و تاثیرگذاری از جمله عمق تهاجم تومور، نوع عمل، بافت‌شناسی تومور، منشا تومور، علائم بالینی همراه و بقای بیماران در کنار افزایش بیان ژن *COX-2* در بازه زمانی هشت ساله از نقاط قوت مطالعه حاضر می‌باشد. با این حال طراحی مطالعات گسترده دیگر با در نظر داشتن سایر فاکتورهای احتمالی دخیل و تاثیرگذار در بروز و پیش‌آگهی سرطان معده از جمله وضعیت تغذیه‌ای بیماران، شرایط فیزیکی و بالینی آن‌ها قبل و بعد از عمل جراحی، حمایت تغذیه‌ای بیماران در صورت نیاز، قبل و بعد از عمل جراحی، نقص در تکنیک‌های جراحی، عفونت محل عمل یا سایر پروسه‌های عفونی شایع در بیماران بستری همانند انواع پنومونی، میزان رسیدگی 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-Shoar¹, AmirAli Moodi Ghalibaf², Ali Shamshirian³, Mohammad Reza Abbaszadegan⁴, Bahram Memar¹, Mohammad Reza Motie^{†1}

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 ± 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.

¹Surgical Oncology Research Center, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

²Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

³Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

⁴Medical Genetics Research Center, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

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