

بررسی مقایسه ای سطح سرمی HSP70 و CA125 در بیماران مبتلا به سرطان اپی تلیال تخمدان و بیماران با توده خوش خیم تخمدانی

دکتر زهره یوسفی^{۱*}، دکتر ملیحه حسن زاده مفرد^۲، دکتر زهرا کاظمیان فر^۳،
دکتر حسین آیت اللهی^۴، دکتر فاطمه توسلی^۵، دکتر مهتاب بیراوندی^۳، دکتر منور افضل آقایی^۵

۱. استاد گروه زنان و مامایی، مرکز تحقیقات اختلالات تخمگ گذاری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. دانشیار گروه زنان و مامایی، مرکز تحقیقات اختلالات تخمگ گذاری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. دستیار تخصصی زنان و مامایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۴. دانشیار گروه سیتوپاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۵. استادیار گروه آمار حیاتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۱۷

خلاصه

مقدمه: سرطان تخمدان از شایع ترین بدخیمی های ژنیکولوژیک همراه با افزایش زیاد مرگ و میر بیماران می باشد که این میزان مرگ و میر، ناشی از تأخیر در تشخیص می باشد. استفاده از تومور مارکرهای خاص که در مراحل اولیه قدرت تشخیص دارند، اقدامی بسیار مؤثر در بهبود نتایج درمانی می باشد. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی سطح سرمی HSP70 و CA125 در بیماران مبتلا به تومورهای اپی تلیال تخمدان انجام شد.

روش کار: این مطالعه تحلیلی در سال ۹۱-۱۳۹۰ بر روی ۳۷ بیمار مبتلا به سرطان اپی تلیال تخمدان و ۳۵ بیمار مبتلا به توده لگنی خوش خیم انجام شد. قبل از عمل جراحی، نمونه خون از تمام بیماران گرفته شد. بیماران با سرطان تخمدان تحت عمل جراحی سایتوریداکتیو و مرحله بندی سرطان و بیماران با توده های خوش خیم تحت جراحی سیستکتومی یا اووفورکتومی قرار گرفتند. سطح سرمی HSP70 به روش ELISA و سطح سرمی CA125 به روش رادیوایمونواسی اندازه گیری شد. سرانجام سطح HSP70 و CA125 قبل از عمل بین دو گروه مقایسه شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون های فیشر، کای دو، تی دانشجویی، من ویتنی و ANOVA انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: میانگین سن بیماران دارای توده بدخیم به طور معنی داری بیشتر از بیماران دارای توده خوش خیم بود (p<۰/۰۰۱). در ۶۲/۵٪ افراد هر دو گروه، شایع ترین علامت بالینی درد بود. در بیماران مبتلا به توده بدخیم، میانگین سطح CA125، ۶۷۲/۹۵±۴۷۰/۵۵ و میانگین سطح HSP70، ۰/۸۵۹±۰/۴۶۱ بود. متوسط سطح CA125 و HSP70 در گروه با تومور بدخیم اپی تلیال تخمدان به طور معنی داری بالاتر از گروه خوش خیم بود (به ترتیب p=۰/۰۲۵ و p=۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: می توان از HSP70 در کنار CA125 جهت تشخیص زودرس توده های بدخیم تخمدانی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: بدخیمی تخمدان، پروتئین شوک حرارتی ۷۰، تومور مارکر شیمیایی، CA125

* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر زهره یوسفی؛ مرکز تحقیقات اختلالات تخمگ گذاری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. تلفن: ۰۵۱۱-۸۰۱۲۴۷۷، پست الکترونیک: yousefiz@mums.ac.ir

مقدمه

سرطان تخمدان به عنوان پنجمین علت عمده مرگ و میر ناشی از سرطان، یکی از شایع ترین بدخیمی های ژنیکولوژیک با میزان مرگ و میر بالا می باشد. بیشترین علت مرگ به دلیل تأخیر در تشخیص می باشد که باعث می شود بقای ۵ ساله بیماران در مرحله I بیماری از ۹۵٪ به زیر ۳۰٪ برسد (۱).

استفاده از تومور مارکرهای خاص که در مراحل اولیه، قدرت تشخیص دارند، اقدامی بسیار مؤثر در بهبود نتایج درمانی می باشد. CA125 و HSP70 از جمله این تومور مارکرها می باشند (۲). افزایش اندازه سطح سرمی CA125 تقریباً در ۵۰٪ بیماران در مراحل ابتدایی بیماری و در بیش از ۸۰٪ بیماران با سرطان تخمدانی پیشرفته گزارش شده است. از آنجا که اندازه گیری غلظت CA125 ویژگی محدود دارد، ممکن است به مداخله جراحی غیر ضروری منجر شود. افزایش سطح سرمی CA125 تقریباً در ۱٪ زنان سالم نیز گزارش شده است. میزان CA125 در طی سیکل قاعدگی نیز نوسان دارد. همچنین در شرایط خوش خیم و بدخیم متعددی از جمله آندومتریوز، لیومیوم رحمی، سیروز با یا بدون آسیت، بیماری التهابی لگن، سرطان های آندومتر، پستان، ریه و سرطان پانکراس غلظت بالای CA125 گزارش شده است. همچنین در موارد تجمع مایع در داخل فضای پلور یا صفاق، غلظت بالای میزان CA125 گزارش شده است. استفاده از این تست در غربالگری سرطان تخمدان مقرون به صرفه نمی باشد زیرا سرطان اولیه تخمدان را فقط در نیمی از بیماران تشخیص می دهد (۳، ۴).

پروتئین گرمایی ۷۰ (HSP70)^۱ بیومارکری است که بر اساس نتایج مطالعات انجام شده، در تعداد زیادی از تومورهای بدخیم انسانی از جمله سرطان تخمدان به میزان بالایی بیان می شود. HSP ها از روی وزن مولکولی شان نامگذاری می شوند مثلاً HSP27، HSP70 و HSP90 (۵، ۶). این بیومارکرها از طریق مکانیسم های ناشناخته، باعث بقای سلول ها در شرایط کشنده می شوند و دارای خواص ضد آپوپتوزیس می

باشند و همانگونه که از نامشان پیداست، در سلول هایی که در معرض شوک گرمایی باشند تولید می شوند. تغییر در PH داخل سلولی و مواجهه سلول ها با آنالوگ های گلوکز، ترکیبات نیتریک اکساید و فلزات سنگین و ایسکمی باعث بیان HSP می شوند. در گزارشات ذکر شده است که عوامل افزایش دهنده +Ca و هورمون ها و آنتی بیوتیک ها نیز باعث بیان HSP می شوند. سطح سرمی HSP70 می تواند درجه تمایز و تهاجم سرطان تخمدان را مشخص کند، لذا در تشخیص سرطان تخمدان و یا پیش آگهی آن مفید می باشد (۷، ۸). در مطالعه لانگ داون و همکاران (۱۹۹۵)، تومورهای بدخیم، غلظت HSP27 بالاتری نسبت به تومورهای خوش خیم داشتند (p=۰/۰۳۲) (۹). در مطالعه چاو و همکاران (۲۰۱۰) در تایوان، ۱۲ پروتئین را با بیان های متفاوت در سرطان تخمدان نشان دادند که در بین آن ها HSP27 افزایش یافته بود. همچنین بیان HSP70 در کارسینوم های اولیه و متاستازهای نسجی در مقایسه با مایعات بدن (افیوژن ها) بالاتر بودند. همچنین تومورهای در مراحل پیشرفته بیماری (مرحله II, III, IV) نیز غلظت HSP27 بالاتری نسبت به تومورهای در مرحله I بیماری داشتند (۳). اما مطالعه اپیک و همکاران (۲۰۰۳) که با عنوان بیان HSP90، HSP70 و HSP27 در ۵۲ بیمار مبتلا به سرطان اپی تلیال تخمدان انجام شد، نشان داد که HSP70 و HSP90 نقشی در پیش آگهی و بقای عمر مبتلایان به سرطان تخمدان ندارند (۱۲). تاکنون هیچ مطالعه ای در زمینه اندازه گیری سطح HSP70 در سرطان تخمدان در ایران انجام نشده است، لذا مطالعه حاضر با هدف مقایسه سطح سرمی HSP70 و اندازه گیری مارکر سرمی CA125 در بیماران مبتلا به سرطان اپی تلیال تخمدان و بیماران با توده خوش خیم تخمدانی انجام شد.

روش کار

این مطالعه تحلیلی از تیر ماه سال ۱۳۹۰ تا اردیبهشت سال ۱۳۹۱ در بیمارستان قائم (عج) شهر مشهد انجام شد. ۳۷ بیمار با سرطان تخمدان و ۳۵ بیمار مبتلا به

¹ Heat Shock Protein70

مطالعه شدند. بیماران از نظر سن با هم همسان بودند. بیماران با سرطان تخمدان تحت عمل جراحی حذف کامل همه ضایعات بدخیم و مرحله بندی بر اساس سیستم فدراسیون بین المللی سرطان های زنان^۱ قرار گرفتند و بیماران با توده های خوش خیم، سیستمی یا اووفورکتومی شدند. ۵ سی سی خون از ورید براکیال جهت اندازه گیری سطح سرمی HSP70 و CA125 گرفته شد و در اسرع وقت به یک آزمایشگاه واحد ارسال شد. سطح HSP70 در سرم بیماران با استفاده از روش الیزا اندازه گیری شد. سطح سرمی CA125 نیز به روش رادیوایمونواسی^۲ توسط همان آزمایشگاه به صورت کاملاً بی اطلاع از نظر وضعیت پاتولوژی نمونه ها اندازه گیری شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون های فیشر، کای دو، تی دانشجویی، من ویتنی و ANOVA انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

بر اساس نتایج پاتولوژی، ۳۵ توده (۴۸/۶۱٪) خوش خیم و ۳۷ توده (۵۱/۳۸٪) بدخیم بودند. از بین بیماران با توده بدخیم، ۲ نفر (۲/۷٪) در مرحله ۱، ۵ نفر (۶/۹٪) در مرحله ۲، ۲۴ نفر (۳۳/۳٪) در مرحله ۳ و ۴ نفر (۹/۷٪) در مرحله ۴ بالینی قرار داشتند. میانگین سنی بیماران در گروه خوش خیم ۳۷/۲۸±۱۳/۸۱ سال و در گروه بدخیم ۴۹/۶۲±۱۵/۲۸ سال بود. بر اساس نتایج آزمون تی مستقل، میانگین سن بیماران دارای توده بدخیم به طور معنی داری بالاتر از بیماران دارای توده خوش خیم بود (p<۰/۰۰۱). میانگین اندازه توده در گروه دارای توده بدخیم ۱۲/۰۱±۱۸/۱۷ سانتیمتر و در گروه دارای توده خوش خیم ۱۰/۳۹±۱۴/۳۰ سانتیمتر بود که تفاوت معناداری نداشت (p=۰/۴۳۵). میانگین CA125 در بیماران مبتلا به توده بدخیم ۶۷۲/۹۵±۴۷۰/۵۵ و در بیماران مبتلا به توده خوش خیم ۸۵/۹۰۱±۲۱۹/۷۶ بود که بر اساس آزمون تی

توده های خوش خیم تخمدان وارد مطالعه شدند که متغیر سن (۳± سال) در این مطالعه کنترل شد. حجم نمونه بر اساس روش های آماری مربوط به حجم نمونه در مطالعات دو گروه و با توجه به مطالعه اولجاک و بر اساس مقایسه میانگین ± انحراف معیار سطح HSP در گروه سرطان (۱۱۴/۰۳±۱۱/۶) و گروه شاهد (۵۵/۷±۱۷/۲) و با استفاده از نرم افزار NCSS (PAS) با توان ۸۰٪ و ضریب اطمینان ۹۵٪، ۳۲ نفر در هر گروه تعیین شد (۶) که به منظور اطمینان بیشتر، تقریباً ۱۰ درصد به حجم هر گروه اضافه شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل ابتلاء به سرطان اپی تلیال تخمدان با محدوده سنی ۸۰-۱۸ سال، عدم مصرف آنتی بیوتیک ها، هورمون ها، ترکیبات نیتریک اکساید و فلزات سنگین، عدم ابتلاء به بیماری ایسکمی قلبی یا مغزی، عدم ابتلاء به عفونت های میکروبی، عدم ابتلاء به آندومتریوز، لیومیوم رحمی، بیماری التهابی لگن، سیروز با یا بدون آسیت، سرطان آندومتر، پستان، ریه و پانکراس بود و معیارهای خروج از مطالعه شامل ابتلاء به سرطان تخمدان غیر اپی تلیال، مصرف آنتی بیوتیک ها، هورمون ها، ترکیبات نیتریک اکساید و فلزات سنگین، ابتلاء به عفونت های میکروبی، ابتلاء به آندومتریوز، لیومیوم رحمی، بیماری التهابی لگن، ابتلاء به سیروز با یا بدون آسیت، ابتلاء به سایر سرطان ها از جمله: سرطان آندومتر، پستان، ریه، پانکراس و ابتلاء به بیماری ایسکمی قلبی یا مغزی بود.

متغیرهای مورد بررسی شامل سن، پاتولوژی تومور خوش خیم تخمدانی، تومور بد خیم تخمدانی، مرحله بیماری، مارکر CA125 و HSP70 و سونوگرافی مبنی بر وجود توده لگنی بودند.

تمام بیمارانی که با شکایت های مختلف از جمله درد شکمی، خونریزی غیر طبیعی، احساس توده در شکم به درمانگاه جراحی زنان بیمارستان قائم (عج) مراجعه کرده بودند، در صورت وجود توده در آدنکس بر اساس معاینه فیزیکی اولیه یا به دنبال انجام سونوگرافی، تحت عمل جراحی لاپاروتومی حذف توده قرار گرفتند. ۳۷ بیمار مبتلا به سرطان اپی تلیال تخمدان و ۳۵ بیمار با توده خوش خیم تخمدان با اخذ رضایت نامه کتبی وارد

¹ FIGO staging

² Radio Immuno Assay

مستقل تفاوت معنی داری بین دو گروه وجود داشت (جدول ۱). میانگین HSP70 در بیماران مبتلا به توده بدخیم 859 ± 461 و در بیماران مبتلا به توده خوش خیم 368 ± 182 بود که بر اساس آزمون تی

مستقل تفاوت معنی داری بین دو گروه وجود داشت (جدول ۱). $(p=0/001)$

جدول ۱- بررسی HSP70 و CA125 بر اساس پاتولوژی تومور

نوع توده	تومور مارکر	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار
CA125	بدخیم	۱۲۷	۲۸۵۱	۶۷۲/۹۵	۴۷۰/۵۵
	خوش خیم	۵/۹۶	۱۰۰۰	۸۵/۹۰۱	۲۱۹/۷۶
HSP70	بدخیم	۰/۸	۲/۱۰	۰/۸۵۹	۰/۴۶۱
	خوش خیم	۰/۲۰	۰/۷۰	۰/۳۶۸	۰/۱۸۲

بر اساس نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، سطح HSP70 و CA125 بر اساس مرحله تومور در بیماران مبتلا به تومور بدخیم اختلاف معنی داری با هم نداشت ($p=0/177$) و ($p=0/097$).

بحث

در این مطالعه سطح مارکر HSP70 در تومورهای بدخیم به طور معنی داری بالاتر از سطح آن در توده های خوش خیم تخمدان بود. اما سطح HSP70 بر اساس درجه مرحله بندی تومور (مرحله IV, III, II) در بیماران مبتلا به تومور بدخیم در مراحل مختلف سرطان اختلاف معنی داری با هم نداشت. در مطالعه حاضر ارتباط معنی داری بین مرحله سرطان و میزان HSP70 وجود نداشت ولی HSP70 به عنوان مارکر با ارزش تشخیصی در سرطان تخمدان شناخته شد. در مطالعه حاضر پیش آگهی و بقا به دلیل محدود بودن فرصت مطالعه سنجیده نشد. مطالعه ایپک و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که HSP70 نقشی در پیش آگهی و بقا ندارد. آن ها همچنین نتیجه گیری کردند که بیان HSP70 ارزش تشخیصی در کارسینوم اپی تلیال تخمدان ندارد اما با مرحله سرطان ارتباط دارد (۱۱). در مطالعه حاضر متوسط سن بیماران گروه خوش خیم پایین تر از مطالعات دیگر بود که می تواند بیانگر این مسئله باشد که همانند برخی سرطان ها که سن بروز پایین تری در جامعه ما دارند، سن بروز سرطان تخمدان ممکن است به دلیل عوامل تغذیه ای، جغرافیایی و ژنتیکی پایین تر باشد.

در مطالعه دنیل و همکاران (۱۹۹۳) و سیوکا و همکار (۲۰۰۵) بیمارانی که بیان HSP70 بالاتری داشتند به طور معنی داری مدت زمان کوتاه تری فاقد بیماری سرطان بودند ($p=0/006$) و در بیمارانی که تحت کموتراپی قرار گرفتند، HSP70 تنها پیشگویی کننده غیر وابسته به عود بیماری بود و چنین نتیجه گیری کردند که بیان HSP70 در این بیماران ممکن است در تعیین بیمارانی که در خطر بالا جهت عود بیماری هستند مفید باشند و بنابراین ممکن است در تصمیم گیری اقدامات بعد از درمان پس از جراحی اثرگذار باشد (۱۰، ۱۱). در مطالعه حاضر که بیان این مارکر بر روی بیماران مبتلا به سرطان تخمدان بررسی شد، میزان عود و ارتباط آن با این مارکر به دلیل محدودیت زمانی سنجیده نشد ولی HSP70 به عنوان یک فاکتور تشخیصی مفید در سرطان اپی تلیال تخمدان مورد تأیید قرار گرفت.

در این مطالعه با توجه به حساسیت نمونه ها به تغییرات درجه حرارت و نیاز به نگهداری آن ها در دمای 20°C - درجه سانتی گراد قبل از آزمایش رعایت زنجیره سرد لازم بود. با وجود اینکه نکات لازم در این ارتباط رعایت شد، ولی شاید لازم باشد در مطالعات بعدی امکانات لازم برای این کار فراهم گردد.

نتیجه گیری

HSP70 می تواند به عنوان مارکری ارزشمند جهت تشخیص توده های بدخیم تخمدانی مورد استفاده قرار گیرد.

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
به دلیل تصویب و حمایت مالی این پژوهش، تشکر و
قدردانی می گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دکترای تخصصی زنان و
زایمان به شمارهٔ پایان نامه ۲۶۶۵ می باشد. بدین وسیله

منابع

1. Calderwood SK, Ciocca DR. Heat shock proteins: stress proteins with Janus-like properties in cancer. *Int J Hyperthermia* 2008 Feb;24(1):31-9.
2. Cohen M, Dromard M, Petignat P. Heat shock proteins in ovarian cancer: a potential target for therapy. *Gynecol Oncol* 2010 Oct;119(1):164-6.
3. Chow SN, Chen RJ, Chen CH, Chang TC, Chen LC, Lee WJ, et al. Analysis of protein profiles in human epithelial ovarian cancer tissues by proteomic technology. *Eur J Gynaecol Oncol* 2010;31(1):55-62.
4. Le Page C, Ouellet V, Madore J, Hudson TJ, Tonin PN, Provencher DM, et al. From gene profiling to diagnostic markers: IL-18 and FGF-2 complement CA125 as serum-based markers in epithelial ovarian cancer. *Int J Cancer* 2006 Apr 1;118(7):1750-8.
5. Fujita Y, Nakanishi T, Miyamoto Y, Hiramatsu M, Mabuchi H, Miyamoto A, et al. Proteomics-based identification of autoantibody against heat shock protein 70 as a diagnostic marker in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2008 May 18;263(2):280-90.
6. Olejek A, Damasiewicz-Bodzek A, Bodzek P, Wielkoszyński T, Zamłyński J, Stołtny P, et al. Concentrations of antibodies against heat shock protein 27 in the sera of women with ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2009 Dec;19(9):1516-20.
7. Schmitt E, Gehrmann M, Brunet M, Multhoff G, Garrido C. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *J Leukoc Biol* 2007 Jan;81(1):15-27.
8. Kapranos N, Kominea A, Konstantinopoulos PA, Savva S, Artelaris S, Vandrolos G, et al. Expression of the 27-kDa heat shock protein (HSP27) in gastric carcinomas and adjacent normal, metaplastic, and dysplastic gastric mucosa, and its prognostic significance. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002 Aug;128(8):426-32.
9. Langdon SP, Rabiasz GJ, Hirst GL, King RJ, Hawkins RA, Smyth JF, et al. Expression of the heat shock protein HSP27 in human ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 1995 Dec;1(12):1603-9.
10. Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implication. *Cell Stress Chaperones* 2005 Summer;10(2):86-103.
11. Ciocca DR, Clark GM, Tandon AK, Fuqua SA, Welch WJ, McGuire WL. Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J Natl Cancer Inst* 1993 Apr 7;85(7):570-4.
12. Elpek GO, Karaveli S, Simsek T, Keles N, Aksoy NH. Expression of heat-shock proteins hsp27, hsp70 and hsp90 in malignant epithelial tumour of the ovaries. *APMIS* 2003 Apr;111(4):523-30.