

تعیین ارتباط بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ با عوامل تعیین کننده پیش آگهی در آدنوکارسینوم معده

نویسندگان: محمدحسین قینی^۱ و نوشین جلایر نادری^{۲*}

۱. استادیار گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. دانشیار گروه آسیب شناسی فک و دهان، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

E-mail: jalayer@yahoo.com

* نویسنده مسئول: نوشین جلایر نادری

چکیده

مقدمه و هدف: تعیین پیش آگهی سرطان معده، پس از تشخیص آن، مهم ترین مرحله در روند درمان است. سیتوکراتین ها فیلامان های حد واسطی هستند که در اسکلت داخل سلولی بافت های اپی تلیالی یافت می شوند. تحقیق های اخیر بر تعیین ارتباط میان بروز سیتوکراتین های مختلف با درجه و پیش آگهی تومورها، متمرکز شده اند. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط میان بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ در مبتلایان به کارسینوم معده با عوامل مؤثر در تعیین پیش آگهی است.

مواد و روش ها: مطالعه به صورت مقطعی انجام شد. بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ روی ۳۱ نمونه آدنوکارسینوم معده با درجه تمایز متفاوت به شیوه ایمنوهیستوشیمیایی بررسی شد؛ ارتباط میان بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ با عوامل مؤثر در پیش آگهی بیماران، شامل درجه تمایز یافتگی بافت سرطان معده، درگیری گره های لنفاوی و عمق تهاجم تومور تعیین شد. اطلاعات حاصل با آزمون های آماری کای-اسکوار و اسپیرمن تجزیه و تحلیل آماری شدند.

نتایج: میان بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ با درجه تمایز یافتگی بافتی و درگیری گره های لنفاوی در سرطان معده، ارتباط آماری معکوس وجود دارد. اگرچه میان میزان تهاجم بافتی در سرطان معده با بروز سیتوکراتین ۷ ارتباط آماری معناداری وجود داشت، ارتباطی میان بروز سیتوکراتین ۲۰ و تهاجم بافتی دیده نشد.

نتیجه گیری: کاهش بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ با کاهش درجه تمایز یافتگی بافتی و افزایش درگیری غدد لنفاوی ارتباط دارد.

واژگان کلیدی: سیتوکراتین ۲۰، سیتوکراتین ۷، سرطان معده، پیش آگهی

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست و یکم - شماره ۱۰۸
دی ۱۳۹۲

دریافت: ۱۳۹۲/۸/۶

آخرین اصلاح ها: ۱۳۹۲/۹/۱۰

پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۱۱

مقدمه

با اندازه متوسط است که نخستین بار بروز آن، روی سلول‌های مرکل، اوروپیتلیوم و اپیتلیوم‌های معده و روده تشخیص داده شد. سیتوکراتین ۲۰، نوعی منحصربه‌فرد از کراتین نوع یک است که در آدنوکارسینوم‌های کولون، معده، پانکراس و سیستم صفراوی دیده می‌شود (۳).

تحقیق‌ها نشان داده‌اند که می‌توان از سیتوکراتین ۲۰ به‌عنوان یک شاخص پروگنوستیک استفاده کرد. بررسی انجام شده روی ۱۶۴ بیمار مبتلا به سرطان معده، ارتباطی معنادار را میان مثبت‌بودن شاخص سیتوکراتین ۲۰ با ترشح‌های حاصل از شستشوی معده با تهاجم ویریدی، تهاجم لنفاوی، سائز تومور، نوع پاتولوژیک تومور، گسترش به پریتون و نیز مرحله و عمق درگیری نشان داده‌است (۴).

مطالعه کودرا و همکاران روی ۱۹۵ بیمار مبتلا به سرطان معده نیز، بیانگر آن است که حساسیت سیتوکراتین ۲۰ برای تشخیص موارد منتشر سرطان معده ۶۳ درصد با ویژگی ۹۱ درصد، Positive Predictive Value ۷۰ درصد و Negative Predictive Value برابر ۸۸ درصد است (۵).

سیتوکراتین ۷، یک فیلامان بینابینی با وزن ۵۴ کیلودالتون است که در پوشش‌های غددی و ترانزیشنال دیده می‌شود، اما در بافت مطبق سنگفرشی وجود ندارد؛ این پروتئین بدون محلول‌شدن در آب، از طریق اتصال به اسکلت سلولی در شکل‌گیری غشا و اتصال‌های بین‌سلولی نقش دارد (۶).

الگوی رنگ‌آمیزی سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ در تومورها متفاوت است و از این الگو در تشخیص افتراقی تومورهای مختلف استفاده شده‌است؛ برای نمونه، الگوی رنگ‌آمیزی در بدخیمی‌های کلورکتال سیتوکراتین ۷، منفی و سیتوکراتین ۲۰، مثبت است. درحالی‌که این الگو در آدنوکارسینوم معده فراوانی متفاوتی دارد (۷ و ۸).

سرطان‌های دستگاه گوارش از جمله سرطان‌های کولورکتال و معده، شایع‌ترین سرطان‌ها به‌شمار می‌روند؛ در ایران نیز براساس آمار سال ۲۰۰۹، کانسره‌های گوارشی، دومین کانسر شایع در زنان و اولین در مردان هستند به طوری که کانسر معده با ۴۰ درصد و کانسر کولورکتال با ۳۴/۵ درصد به ترتیب، شایع‌ترین کانسره‌های گوارشی اعلام شده‌اند. با توجه به آمار موجود در کشور، سرطان معده در مردان، پس از سرطان پوست در رتبه دوم و در زنان در رتبه چهارم قرار دارد و میزان بروز آن در مردان ۱۱/۴ و در زنان ۵/۲ درصد است (۱).

تبدیل تغییرهای اولیه ایجادشده در سرطان معده و تبدیل آن به سرطان مهاجم، سال‌ها به طول می‌انجامد. تغییرهای اولیه به ندرت با بروز علامت همراه‌اند و اغلب در مراحل اولیه تشخیص داده نمی‌شوند.

سرطان‌های معده از طریق دیواره معده به بافت‌ها و اعضای مجاور یا از مسیر عروق به غدد لنفاوی راه می‌یابند و در مراحل پیشرفته‌تر از طریق جریان خون، سایر اندام‌ها را درگیر می‌کنند (۲).

مسئله مهم و حیاتی، پس از تشخیص، تعیین پیش‌آگهی و درمان سرطان معده است. پیش‌آگهی تومور، سهمی بسزا در طراحی نحوه درمان دارد. درگیری غدد لنفاوی، عمق تهاجم تومور و تومور مارکرهای اختصاصی از عوامل تعیین پیش‌آگهی سرطان‌های معده به‌شمار می‌آیند.

سیتوکراتین‌ها فیلامان‌های حد واسطی هستند که در اسکلت داخل سلولی بافت‌های اپی‌تلیالی یافت می‌شوند. زیرگروه سیتوکراتین‌هایی که در سلول اپی‌تلیال ساخته می‌شود به‌طور عمده به نوع اپی‌تلیوم بستگی دارد. در بافت‌های سرطانی ناشی از اپی‌تلیوم (کارسینوم‌ها) پروفایل‌هایی متنوع از سیتوکراتین‌ها تولید می‌شوند. درحال حاضر، توجه محققان بر آن است که ارتباط میان سیتوکراتین‌ها و نوع بدخیمی، درجه و پیش‌آگهی تومورها مشخص شوند (۲).

سیتوکراتین ۲۰، یک پروتئین ۴۶ کیلودالتونی رشته‌ای

متوسط و تومور با تمایز ضعیف ثبت شدند. برای بررسی به روش ایمونوهیستوشیمی با استفاده از آنتی‌بادی نشاندار، نمونه‌ها به این روش رنگ‌آمیزی شدند.

بافت‌های قالب‌گیری شده با پارافین به ضخامت ۴ میکرومتر برش داده شدند سپس به مدت ۵ دقیقه از محلول آب و الکل عبور داده شده، سپس در حمام آب گرم قرار گرفتند و روی لام گذارده شدند؛ در مرحله بعد، لام‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در فور با حرارت ۶۰°C قرار گرفتند. نمونه‌ها برای پارافین برداری و آگیری از چهار ظرف گزیلول، دو ظرف الکل ۱۰۰ درصد و ۲ ظرف الکل ۹۶ درصد و ۷۵ درصد و سپس یک ظرف آب مقطر، هریک به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه، عبور داده شدند؛ سپس لام‌ها با ۱۰% Phosphate buffered saline (PBS) دو تا سه بار شستشوداده شدند. برای از بین بردن فعالیت پراکسیدازی بافت، از محلول آب اکسیژنه و متانول به نسبت (۱ به ۹) به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد و بار دیگر لام‌ها با ۱۰% PBS شستشوداده شدند؛ در این مرحله لام‌ها در محلول بافر اتینل دی آمین تتراسید (EDTA) در اتوکلاو در دمای ۱۲۰°C به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و پس از خارج کردن لام‌ها از اتوکلاو، آنها در دمای اتاق قرار گرفتند و پس از کاهش دما، بار دیگر با ۱۰% PBS درصد شستشوداده شدند.

نمونه‌ها با آنتی‌بادی منوکلونال سیتوکراتین (Novocastra Ltd. England) Mouse monoclonal antibody) به ترتیب زیر رنگ‌آمیزی شدند: ابتدا ۲ قطره از محلول بلوکه‌کننده سرم روی لام‌ها ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه در هوای آزاد قرار داده شدند؛ سپس از محلول آنتی‌بادی اولیه با رقت ۱/۲۰۰ به میزان ۲ قطره روی لام‌ها ریخته شد و به مدت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند؛ در مرحله بعد، لام‌ها با ۱۰% PBS درصد برای چندبار شستشوداده شدند و سپس ۲ قطره از محلول آنتی‌بادی ثانویه دارای بیوتین روی لام‌ها ریخته شد؛ پس از ۱۰ دقیقه لام‌ها بار دیگر با محلول ۱۰% PBS درصد شستشوداده شدند؛ سپس ۲ قطره از محلول آنزیم

تشخیص زودهنگام سرطان معده در مراحل اولیه و نیز شناسایی عوامل مؤثر در پیش‌آگهی، سبب بهبود کیفیت زندگی مبتلایان می‌شود؛ یکی از مواردی که امروزه بر نقش آن در پیش‌آگهی سرطان‌های گوارشی تأکید می‌شود، استفاده از آزمون‌های ایمونوهیستوکمیکال در جهت شناسایی مولکول‌های مختلف مانند سیتوکراتین‌ها و تومور مارکرهاست؛ بر همین اساس و با توجه به عدم وجود مطالعاتی در این زمینه، روی بیماران ایرانی، این مطالعه با هدف تعیین ارتباط میان بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ در مبتلایان به کارسینوم معده با عوامل مؤثر در پیش‌آگهی این بیماران انجام گرفت.

روش بررسی

این پژوهش، مطالعه‌ای مقطعی و دارای جنبه‌های توصیفی تحلیلی بوده. جامعه آماری، پرونده تمامی بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان شهید مصطفی خمینی با تشخیص قطعی آدنوکارسینوم اولیه معده در فاصله زمانی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۹۰ را در برمی‌گرفت. نمونه‌گیری به روش غیرتصادفی انجام شد و حجم نمونه بر اساس سرشماری تعداد نمونه‌های در دسترس، ۳۱ مورد بود.

تمامی نمونه‌های گزارش شده آدنوکارسینوم معده در بازه زمانی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۹۰ از بایگانی جدا و بازبینی شدند.

معیار ورودی مطالعه، کامل بودن پرونده بیماران و در دسترس بودن بافت مهاجم تومور و غدد لنفاوی بود.

بر این اساس، ۳۱ نمونه که واجد معیارهای ورودی بودند در مطالعه وارد شدند.

مشخصات دموگرافیک و بالینی هر نمونه، شامل «سن و جنس بیماران، عمق تومور، تعداد گره لنفاوی درگیر و درجه تمایز تومور» ثبت شدند.

از بلوک‌های پارافینی هر نمونه، برش‌های ۳ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ شدند. با استفاده از این مقاطع، درجه بدخیمی هر نمونه تعیین شد و به صورت تومور خوب تمایز یافته، تومور با تمایز

یافته‌ها

از میان ۳۱ نمونه سرطان معده، ۱۸ (۵۸/۰۶ درصد) نمونه در جنس مذکر و ۱۳ مورد (۴۱/۹۴ درصد) در جنس مؤنث روی داده بودند و متوسط سنی بیماران، ۶۳ سال بود.

۷ (۲۲/۵۸ درصد) نمونه از تومورهای مورد بررسی درجه تمایز خوب، ۱۲ نمونه (۳۸/۷۱ درصد) درجه تمایز متوسط و ۱۲ (۳۸/۷۱ درصد) نمونه نیز درجه تمایز ضعیف داشتند.

در ۲۳ (۷۴/۱۹ درصد) مورد از تومورها درگیری گره‌های لنفاوی وجود داشت درحالی که ۸ (۲۵/۸۱ درصد) نمونه فاقد درگیری گره‌های لنفاوی بودند.

در ۲۵ (۸۰/۶۵ درصد) نمونه درگیری کامل شامل درگیری لایه‌های مخاطی، زیرمخاطی، عضلانی و سروز وجود داشت. در ۶ (۱۹/۳۵ درصد) نمونه عمق تهاجم به لایه عضلانی، محدود می‌شد.

یافته‌های ایمنوهیستوشیمیایی

سلول‌های با شاخص سیتوکراتین مثبت با رنگ پذیری قهوه‌ای رنگ سیتوپلاسم دیده شدند.

الف) سیتوکراتین ۲۰: بررسی توزیع فراوانی تمایز یافته‌گی بافتی سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۲۰ نشان داد که بدون در نظر گرفتن درجه تمایز تومور در ۱۹ (۶۱/۲۹ درصد) نمونه شاخص سیتوکراتین ۲۰ مثبت و در ۱۲ (۳۸/۷۰ درصد) نمونه شاخص سیتوکراتین ۲۰ منفی بوده است.

جدول ۱، توزیع فراوانی تمایز یافته‌گی بافتی سرطان معده را براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۲۰ نشان می‌دهد.

جدول ۱. توزیع فراوانی تمایز یافته‌گی بافتی سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۲۰

نوع تمایز	نمونه‌های سیتوکراتین ۲۰ مثبت	نمونه‌های سیتوکراتین ۲۰ منفی
خوب	۵ (۱۶/۱۳٪)	۲ (۶/۴۵٪)
متوسط	۹ (۲۹/۰۳٪)	۳ (۹/۶۷٪)
ضعیف	۵ (۱۶/۱۳٪)	۷ (۲۲/۵۸٪)
جمع	۱۹ (۶۱/۲۹٪)	۱۲ (۳۸/۷۰٪)

کونژوگه روی نمونه‌ها ریخته شد و بار دیگر، نمونه‌ها پس از ۱۰ دقیقه با محلول PBS 10 درصد شستشوداده شدند؛ سپس محلول کروموژن DAB به میزان ۱ قطره به همراه ۱ سی سی آب مقطر به نمونه‌ها اضافه شد. برای ایجاد کنتراست و رنگ زمینه از ۱ قطره هماتوکسیلین استفاده شد؛ در این مرحله، لام‌ها با آب مقطر به مدت چند دقیقه شستشوداده شدند و بار دیگر برای آبگیری از ظرف آب مقطر و الکل ۷۵ درصد رد شده، در ظرف الکل ۹۶ درصد به مدت ۳ دقیقه و در دو ظرف الکل ۱۰۰ درصد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند. برای شفاف‌سازی، نمونه‌ها در چهار ظرف گزلیل هریک به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند. در انتها روی نمونه‌ها لام قرار گرفت. در این تحقیق، بافت روده باریک و مخچه به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی استفاده شدند.

حضور یا عدم حضور سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus CH-2 Japan) با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر تعیین شد. تعداد کل سلول‌های بدخیم و تعداد کل سلول‌های رنگ شده شمرده شدند و درصد حاصل از تقسیم این دو به عنوان درصد رنگ آمیزی در نظر گرفته شد؛ میزان بالای ۵ درصد، ملاک مثبت بودن نمونه لحاظ شد (۷).

اطلاعات حاصل با نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون‌های آماری کای-اسکووارو اسپیرمن تجزیه و تحلیل شدند آماری قرار گرفتند. خطای نوع اول، برابر ۰/۰۵ تعیین شد و محدوده برابر و کمتر از آن، محدوده معنی دار آماری تعریف شد.

جدول ۲، توزیع فراوانی درگیری گره‌های لنفوای را در سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۲۰ نشان می‌دهد.

بررسی توزیع فراوانی درگیری گره‌های لنفوای در سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۲۰ نشان داد که میزان بروز سیتوکراتین ۲۰ در نمونه‌های با درگیری گره‌های لنفوای، بیشترین تعداد (۴۵/۱۷ درصد) را شامل می‌شود.

جدول ۲. توزیع فراوانی درگیری گره‌های لنفوای در سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۲۰

نمونه‌های سیتوکراتین ۲۰ منفی	نمونه‌های سیتوکراتین ۲۰ مثبت	درگیری بودن گره‌های لنفوای
۹ (۲۹/۰۳٪)	۱۴ (۴۵/۱۷٪)	دارد
۳ (۹/۶۸٪)	۵ (۱۶/۱۲٪)	ندارد
۱۲ (۳۸/۷۱٪)	۱۹ (۶۱/۲۹٪)	جمع

درگیری ناقص لایه‌ها در نمونه‌ها سیتوکراتین منفی دیدمی‌شود.

بررسی توزیع فراوانی نمونه‌ها براساس میزان تهاجم نشان داد که بیشترین تعداد نمونه‌ها ۱۵ مورد، (۴۸/۳۸ درصد) به موارد درگیری کامل مخاطی با شاخص سیتوکراتین ۲۰ مثبت تعلق دارد، درحالی‌که کمترین تعداد نمونه‌ها در موارد

جدول ۳، توزیع فراوانی میزان تهاجم بافتی را در سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۲۰ نشان می‌دهد.

جدول ۳. توزیع فراوانی میزان تهاجم بافتی در سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۲۰

نمونه‌های سیتوکراتین ۲۰ منفی	نمونه‌های سیتوکراتین ۲۰ مثبت	میزان تهاجم بافتی
۱۰ (۳۲/۲۵٪)	۱۵ (۴۸/۳۸٪)	درگیری بودن لایه‌های مخاط، زیرمخاط، عضلانی و سروز
۲ (۶/۴۶٪)	۴ (۱۲/۹۱٪)	درگیری بودن ناقص لایه‌ها
۱۲ (۳۸/۷۱٪)	۱۹ (۶۱/۲۹٪)	جمع

وجود دارد.

بررسی ارتباط میزان بروز سیتوکراتین ۲۰ با متغیرهای مورد مطالعه نشان داد که میان درجه تمایز یافتگی بافتی سرطان معده و سطح سیتوکراتین ۲۰، ارتباط آماری معنی‌داری وجود دارد ($P=0.001$).

الف) سیتوکراتین ۷: توزیع فراوانی شاخص سیتوکراتین ۷ برحسب تمایز یافتگی بافتی، درگیری گره‌های لنفوای و میزان تهاجم بافتی در ۳۱ نمونه بررسی شده به ترتیب زیر بود:

ارتباط آماری معناداری میان درگیری لنفوای و سطح سیتوکراتین ۲۰ یافت شد ($P=0.001$).

بررسی توزیع فراوانی تمایز یافتگی بافتی سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۷ نشان داد که بدون در نظر گرفتن درجه تمایز تومور در ۹ (۲۹/۰۳ درصد) نمونه شاخص سیتوکراتین ۷، مثبت و در ۲۲ (۷۰/۹۷ درصد) نمونه، شاخص سیتوکراتین ۷، منفی بوده است.

میان میزان تهاجم بافتی در سرطان معده با سطح سیتوکراتین ۲۰، ارتباط آماری معناداری یافت شد ($P=0.03$).

براساس یافته‌های این مطالعه، میان بروز سیتوکراتین ۲۰ و درجه تمایز یافتگی بافتی و درگیری گره‌های لنفوای در سرطان معده، ارتباط آماری معکوس

جدول ۴، توزیع فراوانی تمایز یافتگی بافتی سیتوکراتین ۷ نشان می دهد. سرطان معده را براساس درجه مثبت شدن

جدول ۴. توزیع فراوانی تمایز یافتگی بافتی سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۷

نوع تمایز	نمونه های سیتوکراتین ۷ مثبت	نمونه های سیتوکراتین ۷ منفی
خوب	۷ (۲۲/۵۸٪)	۵ (۱۶/۱۲٪)
متوسط	۲ (۶/۴۵٪)	۱۰ (۳۲/۲۶٪)
ضعیف	۰	۷ (۲۲/۵۹٪)
جمع	۹ (۲۹/۰۳٪)	۲۲ (۷۰/۹۷٪)

بررسی توزیع فراوانی درگیری گره های لنفاوی در سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۷ نشان داد که در ۱۷ (۵۴/۸۴ درصد) نمونه، به رغم درگیر بودن گره لنفاوی، شاخص سیتوکراتین ۷ بارز نشده است؛ این تعداد، بیشترین نمونه را شامل می شد. جدول ۵، توزیع فراوانی درگیری گره های لنفاوی را در سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۷ نشان می دهد.

جدول ۵. توزیع فراوانی درگیری گره های لنفاوی در سرطان معده بر اساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۷

درگیر بودن گره های لنفاوی	نمونه های سیتوکراتین ۷ مثبت	نمونه های سیتوکراتین ۷ منفی
دارد	۶ (۱۹/۳۵٪)	۱۷ (۵۴/۸۴٪)
ندارد	۳ (۹/۶۸٪)	۵ (۱۶/۱۳٪)
جمع	۹ (۲۹/۰۳٪)	۲۲ (۷۰/۹۷٪)

بررسی توزیع فراوانی نمونه ها براساس میزان تهاجم نشان داد که بیشترین تعداد نمونه به موارد با شاخص سیتوکراتین ۷ منفی با درگیری کامل چهار لایه مخاطی، زیرمخاطی، عضلانی و سروز تعلق دارد که ۲۰ (۶۴/۵۲ درصد) نمونه در این گروه قرار داشتند. جدول ۶، توزیع فراوانی میزان تهاجم بافتی را در سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۷ نشان می دهد.

جدول ۶. توزیع فراوانی میزان تهاجم بافتی در سرطان معده براساس درجه مثبت شدن سیتوکراتین ۷

میزان تهاجم بافتی	نمونه های سیتوکراتین ۷ مثبت	نمونه های سیتوکراتین ۷ منفی
درگیر بودن لایه های مخاط، زیرمخاط، عضلانی و سروز	۵ (۱۶/۱۲٪)	۲۰ (۶۴/۵۲٪)
درگیر بودن ناقص لایه ها	۴ (۱۲/۹۱٪)	۲ (۶/۴۵٪)
جمع	۹ (۲۹/۰۳٪)	۲۲ (۷۰/۹۷٪)

بررسی ارتباط میزان بروز سیتوکراتین ۷ با متغیرهای مورد مطالعه نشان داد که میان درجه تمایز یافتگی بافتی سرطان معده و سطح سیتوکراتین ۷، ارتباط آماری معنی دار وجود دارد (P=0.001). ارتباط آماری معناداری میان درگیری لنفاوی و سطح سیتوکراتین ۷ یافت شد (P=0.004). میان میزان تهاجم بافتی در سرطان معده با سطح سیتوکراتین ۷، ارتباط آماری معناداری وجود داشت

(P=0.0002).

درصد بوده؛ این یافته با نتایج مطالعات پیشین، مشابه است. تفاوت موجود در طیف بروز شاخص‌ها ناشی از تعداد نمونه‌ها و گروه‌بندی آنهاست.

توت با گردآوری اطلاعات به‌دست‌آمده از ۲۹ مطالعه، الگوی بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ را درخصوص مکان تومور اولیه و متاستاز آن بررسی کرده‌است؛ این مطالعه نشان‌دهنده که میزان بروز سیتوکراتین ۲۰ در آدنوکارسینوم اولیه معده و متاستاز آن، متفاوت است (۱۱).

این یافته با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. مطالعه حاضر نشان‌داد که سطح سیتوکراتین ۷ و سیتوکراتین ۲۰ با میزان تهاجم بافتی در سرطان معده به‌طور کامل، متفاوت است و میزان بروز سیتوکراتین ۲۰ با تهاجم بافتی ارتباطی ندارد.

تاکامی و همکاران، بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ را درخصوص مؤلفه‌های کلینیکیوپاتولوژیک و هیستولوژیک مطالعه کرده‌اند؛ یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده است که الگوی بروز این دو شاخص درخصوص مؤلفه‌های مورد مطالعه، متغیر است. بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ در نمونه‌های با تمایز خوب، بیشتر و در نمونه‌های با تمایز ضعیف، کمتر بوده‌است (۱۰).

یافته‌های این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارند؛ این یافته‌ها بیانگر آن‌اند که سلول‌ها توانایی تولید سیتوکراتین را در تومورهایی با تمایز ضعیف از دست می‌دهند.

مطالعات پیشین نشان‌دهنده‌اند که بروز سیتوکراتین ۷، ارزش کمی در تشخیص افتراقی کارسینوم متاستاتیک دارد و درعین حال در برخی تومورها مانند کارسینوم پروستات و هپاتوسلولار، عدم بروز سیتوکراتین ۷، ارزش تشخیصی بیشتری دارد (۱۲).

سیتوکراتین ۲۰، به‌طور عمده در کارسینوم‌های کلورکتال و یک‌سوم آدنوکارسینوم‌های معده بارز می‌شود (۱۳ و ۱۴).

براساس یافته‌های این مطالعه، میان بروز سیتوکراتین ۷ و درجه تمایز یافتگی بافتی، درگیری گره‌های لنفاوی و تهاجم بافتی در سرطان معده، ارتباط آماری معکوس وجود دارد.

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر، روی ۳۱ نمونه آدنوکارسینوم معده نشان‌داد که میان بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ با درجه تمایز یافتگی بافتی و درگیری گره‌های لنفاوی در سرطان معده، ارتباط آماری معکوس وجود دارد. اگرچه میان میزان تهاجم بافتی در سرطان معده با سطح سیتوکراتین ۷، ارتباط آماری معناداری وجود داشت، ارتباطی میان بروز سیتوکراتین ۲۰ و تهاجم بافتی دیده‌نشده.

مطالعات اولیه نشان‌دهنده‌اند که بروز سیتوکراتین ۲۰ در سرطان معده در تشخیص موارد منتشر سرطان معده، نوع پاتولوژیک تومور و گسترش آن به پریتونن ارزش تشخیصی دارد (۴ و ۵).

پارک و همکاران، بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ را درخصوص عواملی که سبب ایجاد الگوهای متفاوت بروز این شاخص‌ها در کارسینوم‌های معده و کلورکتال می‌شود، بررسی کرده‌اند؛ درخصوص کارسینوم‌های معده ایشان دریافتند که در ۷۱ درصد از موارد بروز سیتوکراتین ۷ و در ۴۱ درصد از نمونه‌ها سیتوکراتین ۲۰، مثبت است. بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ در کارسینوم معده با درجه تمایز تومور ارتباطی نداشته‌است. یافته‌های مطالعه نشان‌دهنده‌اند که الگوی بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ در کارسینوم معده، بسیار متفاوت و متناقض است (۹).

در مطالعات مختلف، میزان بروز سیتوکراتین ۷ از ۱۰ تا ۷۵ درصد و بروز سیتوکراتین ۲۰، میان ۳۰ تا ۵۰ درصد گزارش شده‌است (۱۰).

در مطالعه حاضر، میزان بروز سیتوکراتین ۲۰ برابر ۲۹/۲۹ درصد و میزان بروز سیتوکراتین ۷ معادل ۲۹/۰۳

درخصوص ارتباط میان بروز شاخص سیتوکراتین و عوامل پیش‌آگهی در آدنوکارسینوم معده توصیه‌می‌شود که مطالعات آینده با نمونه‌های بیشتر و با پیگیری بیماران برای بررسی اثر دقیق این عامل، روی پیش‌آگهی صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

کاهش بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ با کاهش درجه تمایز یافتگی بافتی و افزایش درگیری غدد لنفاوی ارتباط دارد.

منابع

1. Pourhoseingholi MA, Vahedi M, Moghimi-Dehkordi B, Pourhoseingholi A, Ghafarnejad F, Maserat E, et al. Burden of Hospitalization for Gastrointestinal Tract Cancer Patients - Results from a Cross-sectional Study in Tehran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2009;10(1):107-10.
2. Brunnicardi FC, Anderson DK, Biliar TR. *Schwartz's Principles of surgery*. 8th ed. New York: Mc-Graw Hill; 2005.
3. Moll R, Lowe A, Laufer J, Franke WW. Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. *American Journal of Pathology* 1992;40: 427-47.
4. Tamura N, Inuma H, Takada T. Prospective study of the quantitative carcinoembryonic antigen and cytokeratin 20 mRNA detection in peritoneal washes to predict peritoneal recurrence in gastric carcinoma patients. *Oncology Reports* 2007; 17(3):667-72.
5. Kodera Y, Nakanishi H, Ito S, Fujitaet S, Nakamo N, Sito R, et al. Prognostic significance of intraperitoneal cancer cells in gastric carcinoma: detection of cytokeratin 20 mRNA in peritoneal washes, in addition to detection of carcinoembryonic antigen. *Gastric Cancer* 2005; 8(3):142-8.
6. Moll R, Franke ww, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins, patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31(1):11-24.
7. Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and Cytokeratin 20 Expression in Epithelial Neoplasms: A Survey of 435 Cases. *Modern Pathology* 2000;13(9):962-72.

یافته‌های این مطالعه نشان داد که عمق تهاجم بافتی در سرطان معده با بروز سیتوکراتین ۷ ارتباط دارد؛ اما میان بروز سیتوکراتین ۲۰ و تهاجم بافتی، ارتباطی دیده‌نشد. از آنجاکه الگوی بروز سیتوکراتین ۲۰ و سیتوکراتین ۷ در کارسینوم‌های مختلف و بافت‌های متاستاتیک آنها متفاوت و گاه منحصربه‌فرد است، می‌توان از الگوی رنگ‌پذیری این دو شاخص در تشخیص افتراقی تومورهای اپی‌تلیال استفاده کرد.

عدم دسترسی به مرحله‌بندی کامل بالینی و کاهش تعداد نمونه‌ها برای مطابقت‌دادن آنها با معیارهای ورودی از محدودیت‌های مطالعه بود. با توجه به یافته‌های مطالعه و تعداد بسیار اندک مطالعات انجام‌شده

8. Wang NP, Zee S, Zarbo RJ, Bacchi CE, Gown AM. Coordinate expression of cytokeratins 7 and 20 defines unique subsets of carcinomas. *Applied Immunohistochemistry* 1995; 3:99-107.
9. Park SY, Kim HS, Hong EK, Kim WH. Expression of cytokeratins 7 and 20 in primary carcinomas of the stomach and colorectum and their value in the differential diagnosis of metastatic carcinomas to the ovary. *Human Pathology* 2002; 33(11):1078-85.
10. Takami H, Sentani K, Matsuda M, Oue N, Sakamoto N, Yasui W. Cytokeratin expression profiling in gastric carcinoma: clinicopathologic significance and comparison with tumor-associated molecules. *Pathobiology* 2012; 79(3):154-61.
11. Tot T. Cytokeratins 20 and 7 as biomarkers: usefulness in discriminating primary from metastatic adenocarcinoma. *European Journal of Cancer* 2002; 38(6):758-63.
12. Ramaekers FC, Van Niekerk CC, Poels LG, Schaafsma E, Huijsmans A, Robben H, et al. Use of monoclonal antibodies to keratin 7 in the differential diagnosis of denocarcinomas. *American Journal of Pathology* 1990;136:641-55.
13. Miettinen M. Keratin 20: immunohistochemical marker for gastrointestinal, urothelial, and merkel cell carcinoma. *Modern Pathology* 1995;8:384-8.
14. Wauters CC, Smedts F, Gerrits LG, Bosman FT, Ramaekers FC. Keratin 7 and 20 as diagnostic markers of carcinomas metastatic to the ovary. *Human Pathology* 1995;26:852-5.

Daneshvar

Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
21st year, No. 108
December 2013,
January 2014*

Received: 2013/10/28

Last revised: 2013/12/1

Accepted: 2013/12/2

Determination of the relationship between expression of cytokeratin 20 and cytokeratin 7 with prognostic factors in the adenocarcinoma of the stomach

Mohammad Hossain Gheini¹, Noushin Jalayer Naderi^{2*}

1. Department of Pathology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.
2. Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Shahed University, Tehran, Iran.

E-mail: jalayer@shahed.ac.ir

Abstract

Background and Objective: One important step in the management of gastric cancer is determination of its prognosis. Cytokeratins are intermediate filaments that mainly exist in cytoskeletal component of epithelial cells. Recent researches have focused on the relationship between the expression of different cytokeratins with differentiation and outcomes of tumors. This study was done for determination of the relationship between expression of cytokeratin 20 and cytokeratin 7 with prognostic factors in the adenocarcinoma of the stomach.

Materials and methods: The study was a cross-sectional one. In this research, 31 archival samples of gastric adenocarcinoma with different histopathologic differentiation were immunohistochemically examined for analyzing the expression of cytokeratin 20 and cytokeratin 7. The relationship between cytokeratin 20 and cytokeratin 7 expression with prognostic factors including histopathologic differentiation, lymph node involvement and depth of invasion were assessed. Obtained data were analyzed by Chi-square and Spearman statistical tests.

Results: A negative correlation between cytokeratin 20 and cytokeratin 7 expressions with histopathologic differentiation and lymph node involvement was observed. There was a significant correlation between cytokeratin 7 expressions and tumor thickness. The correlation between cytokeratin 20 expression and tumor thickness was not significant.

Conclusion: Expression of cytokeratin 20 and cytokeratin7 was negatively related to histopathologic differentiation and lymph node involvement.

Key words: Cytokeratin 20, Cytokeratin7, Gastric adenocarcinoma, Prognosis.