

بررسی ارتباط هلیکوباکتر پیلوری با موتاسیون ژن P53 در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم معده

دکتر سید مسین مرتضوی^۱، دکتر نغمه امفهانیان^{۲*}، دکتر پیام آزاده^۳، مهندس ناصر ولایی^۴

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به نقش موتاسیون ژن P53 به عنوان یک انکوژن در بیش از نیمی از سرطانهای انسانی به عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی دهنده بر روی بقاء بدون بیماری و بقاء متوسط بیماران مبتلا به سرطان معده جراحی شده و همچنین اهمیت موتاسیون ژن P53 بر روی پاسخ به کموتراپی و رادیوتراپی در سرطان معده و تناقضاتی که در مورد نقش هلیکوباکتر پیلوری در بروز موتاسیون ژن فوق در روند کارسینوژنیز آدنوکارسینوم معده وجود دارد، این تحقیق در مبتلایان به آدنوکارسینوم معده مراجعه کننده به درمانگاه رادیوتراپی - انکولوژی بیمارستان امام حسین (ع) طی سال‌های ۱۳۸۴-۱۳۸۳ انجام شد.

مواد و روش‌ها: تحقیق با طراحی Historical Cohort بر روی ۶۰ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم معده که از این تعداد ۳۶ مورد مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری (گروه مورد) و ۲۴ مورد فاقد عفونت مذکور بودند (گروه شاهد)، انجام گردیده و وجود موتاسیون ژن P53 در دو گروه فوق بررسی شد. تایید ابتلا به آدنوکارسینوم معده بر اساس نمونه پاتولوژی و گزارش پاتولوژیست مربوطه تعیین شد. هلیکوباکتر پیلوری به روش ELISA و موتاسیون ژن P53 به روش ایمونوهیستوشیمی تعیین گردید. نقش هلیکوباکتر پیلوری در بروز موتاسیون ژن P53 مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم معده همراه با عفونت هلیکوباکتر پیلوری دارای متوسط سنی $67 \pm 12/9$ سال و گروه فاقد عفونت هلیکوباکتر پیلوری دارای متوسط سنی $59 \pm 11/2$ بودند. موتاسیون ژن P53 در افراد فاقد عفونت هلیکوباکتر پیلوری ۱۲/۵٪ و در افراد مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری ۶۹/۴٪ بود RR هلیکوباکتر پیلوری برای بروز ژن P53، ۵ تا ۶ برابر افزایش نشان داد ($RR=5/6$). همچنین خطر مثبت شدن هلیکوباکتر پیلوری در صورت وجود موتاسیون ژن P53، ۵۷٪ بود.

نتیجه گیری: ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری در مبتلایان به آدنوکارسینوم معده شانس بروز موتاسیون ژن P53 را افزایش می‌دهد. با توجه به عوارض شناخته شده موتاسیون این ژن و نقش ژن طبیعی آن در تنظیم چرخه سلولی، انجام تحقیق تجربی برای درمان هلیکوباکتر پیلوری در پیشگیری از بروز موتاسیون ژن P53 و ایجاد آدنوکارسینوم معده را توصیه می‌نماییم.

واژگان کلیدی: آدنوکارسینوم معده، هلیکوباکتر پیلوری، موتاسیون ژن P53

مقدمه

ژن P53 به عنوان یک انکوساپرسور در سلولهای طبیعی فعالیت دارد. این ژن در فرم موتاسیون یافته به عنوان یک انکوژن در نیمی از سرطان‌های انسانی دیده می‌شود (۱). یکی از عوامل پیش‌آگهی

^۱ استاد، گروه رادیوتراپی و انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

^{۲*} نوسنده مسؤول: دستیار، گروه رادیوتراپی و انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، آدرس برای مکاتبه: تهران - میدان امام حسین - خیابان دماوند - بیمارستان امام

E-mail: naghmeh_isf@hotmail.com

حسین(ع) - گروه رادیوتراپی و انکولوژی

^۳ استادیار، گروه رادیوتراپی و انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

^۴ مربی، مشاور پژوهشی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

ژن P53 به عنوان عامل پیش آگهی دهنده بر روی بقاء بدون بیماری و بقاء متوسط بیماران جراحی شده سرطان معده اثر می‌گذارد. همچنین این موتاسیون بر روی نتایج درمانی کموتراپی و رادیوتراپی در آدنوکارسینوم معده مؤثر است (۱-۳).

علت موتاسیون ژن P53 کاملاً مشخص نمی‌باشد. در سال ۱۹۹۴ برای اولین بار هلکوباکتر پیلوری به عنوان یک کارسینوژن در آدنوکارسینوم معده شناخته شد (۴). متعاقب آن تحقیقات متناقضی در مورد نقش هلکوباکتر پیلوری در ایجاد موتاسیون ژن P53 انجام شد. تحقیقات متعدد، همراهی عفونت هلکوباکتر پیلوری را با بروز موتاسیون ژن P53 تأیید کرد (۵، ۶) و در گزارشات دیگر این همراهی رد شد (۷). در کتب مرجع هنوز اشاره‌ای به این همراهی نشده است. با توجه به شایع بودن عفونت هلکوباکتر پیلوری (ابتلا ۵۰٪ جمعیت جهان به عفونت فوق)، قرارگرفتن ایران در منطقه با شیوع بالای هلکوباکتر پیلوری (۷۰-۶۰٪)، مرگ و میر بالای مبتلایان به آدنوکارسینوم معده (۴۰ مرگ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در کشورهای در حال توسعه)، پیش آگهی ضعیف این بیماری در ایران (بقاء متوسط ۵ ساله بیماری ۱۵٪-۵) (۱، ۸)، نقش موتاسیون P53 در پیش آگهی درمانی (۲، ۳) و همچنین به دلیل وجود تناقضات در تأیید نقش عفونت هلکوباکتر پیلوری در بروز موتاسیون ژن P53 در مبتلایان به آدنوکارسینوم معده، به منظور تعیین همراهی و رابطه بین وجود عفونت هلکوباکتر پیلوری با بروز موتاسیون ژن P53 در مبتلایان به آدنوکارسینوم معده این تحقیق بر روی مبتلایان به آدنوکارسینوم معده مراجعه کننده به درمانگاه رادیوتراپی - انکولوژی بیمارستان امام حسین (ع) طی سال‌های ۱۳۸۴-۱۳۸۳ انجام شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق با طراحی Historical Cohort انجام گرفت. تعداد ۶۰ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم معده انتخاب شدند. از این تعداد، ۳۶ مورد مبتلا به عفونت هلکوباکتر پیلوری بودند (گروه مورد) و ۲۴ مورد علایمی از عفونت هلکوباکتر پیلوری نداشتند (گروه شاهد). حجم نمونه بر اساس مطالعه آزمایشی (Pilot Study) بر روی ۱۱ مورد انجام شد. شیوع هلکوباکتر پیلوری در این مطالعه آزمایشی ۶۳٪ بود. میزان بروز موتاسیون ژن P53 در گروه مورد ۸۵/۶٪ و در گروه شاهد ۲۵٪ محاسبه شد. بر اساس آن حجم نمونه با سطح اطمینان ۹۵٪ و توان آزمون ۹۰٪

تعیین گردید. مبتلایان به آدنوکارسینوم معده متعاقب جراحی و یا بیوپسی با گزارش پاتولوژی مثبت جهت درمان تکمیلی مراجعه نمودند. بیمارانی که دارای شرایط زیر بودند وارد مطالعه شدند:

۱. تأیید آدنوکارسینوم معده در هر مرحله‌ای (I-IV) توسط گزارش پاتولوژی.

۲. دارای هیستولوژی روده‌ای با هر درجه‌ای.

۳. آدنوکارسینوم محدود به ناحیه غیر کاردیا باشد.

۴. از جراحی و یا بیوپسی بیمار کمتر از ۱ ماه گذشته باشد.

۵. در گذشته درمان آنتی‌بیوتیکی جهت ریشه کنی هلکوباکتر پیلوری دریافت نکرده باشند.

حذف منبع هلکوباکتر پیلوری، متعاقب جراحی کامل معده، احتمال کاهش تیرآنتی‌بادی را بوجود می‌آورد ولی هیچ‌گاه به صفر نمی‌رسد، بنابراین در فاصله زمانی کوتاه از جراحی آنتی‌بادی اندازه‌گیری شد. هلکوباکتر پیلوری توسط ELISA (آنتی‌بادی ضد باکتری از نوع IgG) اندازه‌گیری شد (۱۱، ۱۰). موتاسیون ژن P53 به روش IHC با متد LSAB بر روی بلوک‌های پارافینی بررسی شد. نمونه‌هایی مثبت تلقی شد که ۱۰٪ یا بیشتر از هسته سلول‌های بدخیم با روش فوق رنگ‌آمیزی شده بودند. بررسی توسط دو پاتولوژیست ثابت در یک مرکز واحد انجام گرفت (۲).

در تحقیق فوق خصوصیات سنی و جنسی بیماران با خصوصیات پاتولوژیک آدنوکارسینوم معده (از قبیل Depth of invasion, lymphovascular invasion, Perineural invasion) و نتایج وضعیت هلکوباکتر پیلوری و موتاسیون ژن P53 مورد بررسی قرارگرفت. انتخاب نمونه به صورت Sampling بود. میزان بروز موتاسیون ژن P53 در دو گروه مورد و شاهد با Chi-Square و تفاوت سنی در این دو گروه با آزمون t مورد قضاوت آماری قرارگرفت و RR و AR هلکوباکتر پیلوری با بروز موتاسیون ژن P53 محاسبه گردید.

تفاوت خصوصیات پاتولوژیک در گروه مورد و شاهد با Chi-square و Fisher exact test مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

تحقیق بر روی ۶۰ مورد مبتلا به آدنوکارسینوم معده صورت گرفت. نسبت مردان به زنان ۲ به ۱ و میانگین سنی افراد مورد مطالعه ۶۳ سال بود. ۳۶ مورد از مبتلایان به آدنوکارسینوم معده مبتلا

می‌شود. البته در مطالعه آقای Beloco و همکاران این همراهی رد شده است (۷).

در مقاله Zo Zhang حجم نمونه انتخابی بسیار کم می‌باشد. در هیچ کدام از مطالعات نوع پاتولوژی و محل آدنوکارسینوم معده مطرح نشده است که توجه به نقش هلیکوباکتر پیلوری در پاتولوژی روده‌ای و آدنوکارسینوم ناحیه کاردیا (۸،۹)، این مطلب خود از نقایص مطالعات فوق می‌باشد.

دو نوع هیستولوژی در آدنوکارسینوم معده دیده می‌شود:

۱. Intestinal type (روده‌ای)

۲. Diffuse Type (منتشر)

در نوع روده‌ای معمولاً ضایعات از نوع پیش بدخیم در زمینه گاستریت آتروفیک پیشرونده به سمت متاپلازی روده‌ای و دیسپلازی ایجاد می‌شود. ولی در فرم منتشر که عمدتاً در کشورهای پیشرفته وجود دارد، شرایط پیش بدخیمی نقشی ندارد. هلیکوباکتر پیلوری در انواع روده‌ای به عنوان فاکتور کارسینوژن نقش دارد (۸). همچنین سرطان معده در دو ناحیه مجزا رخ می‌دهد:

۱- کاردیا ۲- غیرکاردیا

اتیولوژی سرطان معده مولتی فاکتوریال می‌باشد و عوامل محیطی و مهمترین آنها عادات غذایی که احتمال ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری را افزایش می‌دهد، (افزایش غلظت نیتريت و نیترات رژیم غذایی احتمال عفونت را بالا می‌برد) به عنوان یک عامل کلیدی غیرمستقل در پیشرفت آدنوکارسینوم غیرکاردیا دخیل می‌باشد (۹).

بیمارانی که آنتی‌بیوتیک جهت ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری دریافت کرده باشند، با وجود آنتی‌بادی ضد باکتریال مثبت احتمال حذف باکتری در سالهای قبل وجود دارد ولی در این گروه هلیکوباکتر پیلوری عملاً در ایجاد آدنوکارسینوم معده نقشی ندارد.

از مشکلات تحقیق حاضر نوع مطالعه می‌باشد (Historical-Cohort). این تصور مطرح می‌گردد که تقدم و تاخر ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری و بروز موتاسیون ژن P53 مشخص نمی‌باشد. اما از نقاط قوت این تحقیق، انتخاب نمونه‌ها در صورت پاتولوژی روده‌ای و ناحیه غیر کاردیا بود که ارتباط واضحی با عفونت هلیکوباکتر پیلوری دارند. حجم نمونه براساس آزمون آزمایشی انتخاب شد. انتخاب روش ELISA در بررسی موارد هلیکوباکتر پیلوری بدون دریافت آنتی‌بیوتیک جهت ریشه کنی عفونت از مزیت‌های این مطالعه می‌باشد. به علت حذف منبع باکتری، انجام تست‌های تهاجمی از قبیل تست اوره آز نتیجه مطلوبی به

به عفونت هلیکوباکتر پیلوری و ۲۴ مورد از مبتلایان فاقد عفونت بودند.

سن افراد مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری $66 \pm 12/9$ سال و در گروه فاقد عفونت $59 \pm 11/2$ بوده است. آزمون T-Test نشان داد که اختلاف ۷ سال یا بیشتر ($12/2\%$) در بین دو گروه وجود داشت که از لحاظ آماری معنی‌دار است ($p < 0/05$). یعنی مبتلایان به سرطان معده غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری در سن پائین تری به آدنوکارسینوم معده مبتلا می‌شوند.

میزان بروز موتاسیون ژن P53 برحسب گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارایه گردیده است. آمار نشان می‌دهد در افراد فاقد عفونت هلیکوباکتر پیلوری $12/5\%$ و در گروه مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری $69/4\%$ موتاسیون ژن P53 وجود داشته است.

قضاوت آماری با روش Chi-Square نشان داد این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است ($p < 0/0005$) و اگر مبتلایان به آدنوکارسینوم معده مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری باشند، شانس بروز موتاسیون ژن P53 پنج تا شش برابر افزایش می‌یابد ($RR = 5/6$) و خطر متناسب به هلیکوباکتر پیلوری با بروز موتاسیون ژن P53 57% بوده است.

جدول ۱- توزیع مبتلایان به آدنوکارسینوم معده برحسب موتاسیون ژن P53 به تفکیک همراهی با عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیمارستان امام مسین - تهران، طی سال‌های

۱۳۸۳-۸۴

آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری	P53		
	مثبت	منفی	جمع
داشته (مورد)	۲۵ ($69/4\%$)	۱۱ ($30/6\%$)	۳۶
نداشته (شاهد)	۳ ($12/5\%$)	۲۱ ($87/5\%$)	۲۴

براساس آزمون آماری، ارتباط معنی‌داری بین گروه مورد و شاهد از نظر خصوصیات پاتولوژیک وجود نداشت.

بحث

این تحقیق نشان داد که ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری شانس بروز موتاسیون ژن P53 را افزایش داده است.

در تحقیقات آقایان Wang J. Zo Zhang و Ren H همراهی عفونت هلیکوباکتر پیلوری و موتاسیون ژن P53 مطرح گردیده است (۵،۶،۱۲). مطالعاتی که این همراهی را تایید می‌کند، بسیار دیده

دنبال ندارد. هر چند که ارزش تست سرولوژی در مقابل تست اوره آز در واحدهای بهداشتی اولیه تایید شده می باشد (۹۵٪ مثبت در مقابل ۸۷٪) (۱۳).

به دنبال این تحقیق این سؤال مطرح می شود که عفونت هلیکوباکتر پیلوری با چه مکانیزمی موجب بروز موتاسیون ژن P53 و یا ایجاد آدنوکارسینوم معده می گردد؟

نقش هلیکوباکتر پیلوری در ایجاد گاستریت آتروفیک و ایجاد التهاب در معده تایید شده است (۱۳، ۱۸). در آخرین بررسی ها هلیکوباکتر پیلوری به عنوان یک عامل کارسینوژن گروه اول (۴) و آدنوکارسینوم معده به عنوان یک بیماری عفونی مطرح شده است (۱۳).

در مسیر ایجاد آدنوکارسینوم معده متعاقب ایجاد گاستریت آتروفیک پیشرفت به سمت متاپلازی روده ای و دیسپلازی و در نهایت سرطان مشاهده می شود. هلیکوباکتر پیلوری در معده متاپلاستیک و یا دیسپلاستیک و سرطانی رشد نمی یابد. در نتیجه بیشترین نقش را در مرحله قبل از متاپلازی ایفا می کند. هلیکوباکتر پیلوری باعث التهاب در مخاط معده پرولیفراسیون اپی تلیوم سلولی می شود. احتمالاً در این مرحله با تاثیر بر روی پرولیفراسیون و آپوپتوز و تغییر چرخه سلولی احتمال ایجاد و انتخاب سلولهای موتاسیون یافته از جمله موتاسیون ژن P53 افزایش می یابد. با ایجاد موتاسیون در ژن

P53 که یک تنظیم کننده چرخه سلولی است، سلولهای معده مبتلا به گاستریت آتروفیک از تنظیم خارج شده و به سمت متاپلازی سیر می کند و با وجود این موتاسیون امکان ترمیم سلولی کاهش یافته و با کاهش کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری در مرحله متاپلازی، سلولها همچنان به سمت دیسپلازی و در نهایت آدنوکارسینوم پیشرفت می نمایند. در نتیجه نقش هلیکوباکتر پیلوری، ایجاد التهاب، تاثیر در چرخه سلولی و انتخاب سلولهای موتاسیون یافته عامل ایجاد آدنوکارسینوم می باشد. جهت قطعی کردن همراهی عفونت هلیکوباکتر پیلوری با بروز موتاسیون ژن P53 یک تحقیق تجربی با درمان هلیکوباکتر پیلوری در مرحله قبل از بروز سرطان و متاپلازی و پیگیری های طولانی مدت و همچنین بررسی موتاسیون ژن P53 و میزان بروز سرطان معده توصیه می شود.

انجام یک کارآزمایی بالینی درمورد ارزش درمان هلیکوباکتر پیلوری در پیشگیری از سرطان معده بسیار ارزشمند می باشد. انجام تحقیقی جهت بررسی ارزش غربالگری با هلیکوباکتر پیلوری جهت سرطان معده توصیه می شود و در نهایت با توجه به تایید نقش هلیکوباکتر پیلوری در ایجاد آدنوکارسینوم معده به وسیله درمان عفونت در مبتلایان به آدنوکارسینوم معده که جراحی کامل معده شده اند، پیشنهاد می شود نقش درمان در میزان بروز عود بررسی شود.

REFERENCES

1. Perez B, Principle and practice of radiation oncology, 4th ed. 1997. P.1554- 70.
2. Fondevila C, Metges JPO. P53 and VEGF expression are independent prediction of tumor recurrence and survival in gastric cancer. BJC 2004; 90: 206-15.
3. Toshiro I, Yoshihik M, Akira K. Combined evaluation of expression of P53 and P21 protein as prognostic factors for patients with gastric cancer. Int J Cancer Res Treat 2002; 63: 4.
4. IARC working group on the evaluation of carcinogenic risk to human. IARC 1994; p. 177-240.
5. Zo Zhang Y. Apoptosis, proliferation and P53 expression of H.Pylori associated gastric epithelial lesion. World J Gastroenterol 2001; 7: 779-82.
6. Wang J, Chi DS, Kalin GB. H.pylori infection and oncogen expression in gastric carcinoma and its precancer lesion. Dig Dis Sci 2002; 41(1): 107-113.
7. Beloco P, Rusco F, Cariola F. Low presence of P53 abnormalities in H.Pylori infected gastric mucosa and in gastric adenocarcinoma. J Gastroenterol 2003; 38(1): 28-36.
8. Devita VT, Hallman S, Rosenberg SA. Cancer principle and practice of oncology, 6th ed. 2001. P. 1092-122.
9. Rios-Gastellanos E, Sitas F, Shepard NA. Changing pattern of gastric cancer in oxford shire. Gut 1992; 33: 1312-17.
10. Camorlinga M, Torres J, Perez G. Validation of serologic test for the diagnosis of H. Pylori infection and Immune response to urease and cagA. Am J Gastroenterol 1998; 93 (8): 1264-70.

11. Lehmann F. Comparison of stool immunoassay with standard method for detecting H. Pylori infection. BMJ 1999; 314: 1404-09.
12. Ren HY. Role of H. Pylori infection in pathogenesis of gastric adenocarcinoma. J Tongir Med Univ 1999; 14(2): 127- 30.
13. Tukudom SH. H.Pylori infection and stomach cancer in southeast Asia countries. Proceedings of the 3rd regional conference of APOCP; 2005 Zibakenar, Rasht. Iran; 2005. P. 25-7.