

تغییرات در سطوح سرمی مارگرهای توموری CEA و CA19-9 بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال در مراحل مختلف بیماری

مریم موسوی^۱، مجتبی فتحی^۲، محمدتقی گودرزی^{۳*}، سید مهرداد کسائی^۴، علی جعفری حیدرلو^۵

۱-دانشجوی دکتری تخصصی بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران

۲-دانشیار، گروه بیوشیمی و ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۳-استاد، گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، شاهرود، ایران

۴-استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران

۵-استادیار، بیمارستان امام خمینی، بخش گوارش، بخش داخلی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

یافته / دوره ۲۳ / شماره ۴ / پاییز ۱۴۰۰ / مسلسل ۸۹

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۱۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۶/۱۲۸

مقدمه: سرطان کلورکتال یکی از شایع ترین سرطان‌های دستگاه گوارش در جهان است که شیوع بالایی در افراد میانسال دارد. هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه ی تغییرات در سطح سرمی CEA و CA19-9، به عنوان دو تومورمارکر مهم، در تشخیص مراحل مختلف سرطان کلورکتال بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع مطالعات علوم پایه بود، که در آن ۶۷ بیمار بستری مبتلا به سرطان کلورکتال مورد بررسی قرار گرفتند. در ابتدا نمونه‌های بافتی و نمونه‌های خون سیاهرگی بیماران جمع آوری شد. سپس تومورمارکرهای CEA و CA19-9 به روش سنجش فلورسانس وابسته به آنزیم (ELFA) اندازه گیری شد و تغییرات سلولی با رنگ آمیزی H&E مطالعه شد.

یافته‌ها: از ۶۷ بیمار مبتلا، به ترتیب ۵۷/۶٪ مرد و ۴۳/۳٪ زن بودند که ۵۹/۷٪ آن‌ها (۴۰ نفر) بالای ۶۱ سال سن داشتند. شایع ترین محل درگیری بافتی، رکتوم و سیگموئید بود. در فاز حاد بیماری، تعداد گلبول‌های قرمز ($P=۰/۰۰۹۱$) و سطح هموگلوبین ($P=۰/۱۴۱$) کاهش یافت، در حالی که تعداد پلاکت‌ها بدون تغییر باقی ماند ($P=۰/۲۱۲$). همچنین مقادیر لنفوسیت و نوتروفیل در ابتدا افزایش و سپس کاهش نشان دادند. یافته‌ها نشان داد که ارتباط معناداری بین این دو تومورمارکر و سطوح بیماری وجود دارد. بحث و نتیجه‌گیری: نتایج ما نشان داد که اگرچه این مارگرهای توموری، فاکتورهای مناسبی برای تشخیص سرطان کلورکتال در مراحل اولیه ی این بیماری نیستند، ولی از آنها می‌توان به عنوان دو مارکر مهم برای تشخیص پیشرفت بیماری استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: سرطان کلورکتال، تومورمارکر، CEA، CA19-9.

*آدرس مکاتبه: شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پزشکی، واحد شاهرود، گروه بیوشیمی.

پست الکترونیک: mtgoodarzi@yahoo.com

مقدمه

سرطان کلورکتال (Colorectal Cancer, CRC) یکی از شایع‌ترین سرطان‌های دستگاه گوارش در جهان بشمار می‌رود. این سرطان دارای دو نوع ارثی (Familial) و تک‌گیر (sporadic) می‌باشد که تقریباً ۷۰ درصد موارد آن اسپورادیک و ۳۰ درصد وراثتی می‌باشد (۱،۲). از نشانه‌های این بیماری می‌توان به ایجاد درد در ناحیه‌ی شکم، خونریزی دستگاه گوارش، کم‌خونی و فقر آهن اشاره کرد (۳). براساس مطالعات، مشخص شده است که اگر این بیماری در مراحل (Stage) اولیه شناسایی شود، میزان بقای بیماران افزایش می‌یابد (۴،۶). روش کولونوسکوپی بهترین روش تشخیص این نوع بیماری می‌باشد که با استفاده از آن می‌توان جهت شناسایی خوش خیم یا بد خیم بودن تومور از آن نمونه برداری کرد و پس از تشخیص مرحله‌ی بیماری (stage) و درجه بندی (grading) آن، در صورت لزوم، اقدام به برداشتن توده کرد (۷). معمولاً سیستم تشخیص (این روش بر اساس اندازه‌ی تومور (T)، مهاجرت یا حمله‌ی سلول‌های سرطانی به لنف نودها (N) و پخش شدن سلول‌های سرطانی در سایر بافت‌ها یا متاستاز (M)) TNM برای تعیین مراحل مختلف این بیماری به کار گرفته می‌شود (۸،۹).

تومورمارکرها موادی هستند اغلب پروتئینی، که در مایعات بدن مانند خون، ادرار، سرم و بافت‌های بدن وجود دارند و در افراد مبتلا به سرطان افزایش می‌یابند و از آن‌ها به عنوان شاخص‌های تشخیص و پیش‌آگهی دهنده سرطان استفاده می‌شود (۱۰). با وجود بررسی‌ها و شناخت مارکرهای متفاوت، هنوز موفقیتی مبنی بر استفاده از این تومورمارکرها به‌عنوان یک تست روتین و رایج تشخیصی کسب نشده است (۱۱). تومورمارکری که معمولاً در سرطان کلورکتال به کار می‌رود، تومورمارکهای سرمی CEA و CA19-9 می‌باشند

(۱۳،۱۲). تومورمارکر CEA قدیمی‌ترین و در عین حال رایج‌ترین تومورمارکری می‌باشد که از آن در مواردی همچون تشخیص بیماری، پیگیری درمان پس از برداشتن تومور و تشخیص به‌موقع متاستاز به بافت کبد استفاده می‌شود (۱۴).

باید توجه داشت که این دو فاکتور توانایی کمی در تشخیص سرطان کلورکتال دارند، زیرا سطح سرمی آنها در بیماری‌هایی مانند گاستریت، بیماری کبدی، دیابت، بیماری‌های التهابی مزمن و حاد نیز بالا می‌رود (۱۵). بنابراین در مراحل اولیه این نوع سرطان، بررسی این دو نوع تومورمارکر از حساسیت پایینی برخوردار است و نمی‌توان از آن استفاده کرد (۱۶،۱۷).

هدف از این مطالعه اندازه‌گیری سطح سرمی تومورمارکهای CEA و CA19-9 و بررسی تغییرات این دو فاکتور در مراحل مختلف سرطان کلورکتال می‌باشد. نوآوری این مطالعه بررسی وجود ارتباط همزمان بین میزان سرمی این شاخص‌های توموری و مراحل مختلف (Stage) این سرطان در بافت کلورکتال بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه ما از نوع مطالعات علوم پایه (Experimental) و مطالعات تک آزمونی (Single subject design) بود. در این مطالعه از بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال که در بیمارستان‌های ولیعصر زنجان، امام خمینی ارومیه و ولایت قزوین از سال ۲۰۱۷ تا ۲۰۱۹ بستری شده بودند، به عنوان جامعه‌ی آماری کمک گرفته شد. روش آزمون به این صورت بود که از هر بیمار یک نمونه توموری برداشته شد. تعداد بیماران این مطالعه ۶۷ نفر بودند که از هر کدام یک نمونه‌ی بافتی و یک نمونه‌ی خون سیاهرگی گرفته شد. جمع‌آوری نمونه‌ها با کسب رضایت از بیماران و پر کردن فرم رضایت‌نامه همراه بود.

همچنین انتخاب این بیماران بدون در نظر گرفتن سابقه خویشاوندی و به صورت تصادفی انجام شد. در

نهایت بعد از بررسی‌های پاتولوژیک توسط پاتولوژیست‌های هر کدام از بیمارستان‌ها، برای بیمارانی که گزارش آن‌ها مثبت اعلام شد، مراحل و درجه بندی مختلف سرطان، مشخص و ثبت گردید. همه‌ی این اطلاعات با در نظر گرفتن ملاحظات اخلاقی برای بیماران صورت گرفت.

اطلاعات اولیه و زمینه‌ای بیماران از قبیل مصرف سیگار، الکل، گوشت قرمز و سابقه فامیلی بیماری، سوال شد و در پرسشنامه مخصوص ثبت گردید.

بعد از عمل بیوپسی، همه نمونه‌های بافتی به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی فرمالین ۱۰٪ منتقل و در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتیگراد نگهداری شدند. هر کدام از نمونه‌های خونی (۵ سی سی) که از سیاهرگ بیماران تهیه شده بود در دو لوله‌ی مجزا، جهت جداسازی سرم و شمارش سلولی جداسازی شد. به دلیل پایداری محدود سلول‌ها در نمونه‌های خونی حاوی ماده‌ی ضد انعقاد، لازم بود که آنها در اولین ساعات پس از نمونه‌گیری، مورد آزمایش قرار گیرند. برای سنجش نمونه‌های CBC از یک مدل دستگاه شمارنده‌ی سلول (Sysmex kx21) ساخت کشور آلمان در هر سه بیمارستان استفاده شد. به منظور کنترل کیفی، نمونه‌های کنترل با Lot No یکسان هر روز به سه دستگاه داده شد و پارامترهای اصلی آزمایش از قبیل WBC, RBC, Hb HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, Neut, Lym ارزیابی شدند. سپس SD هر پارامتر محاسبه شد و اختلاف نتایج دستگاه‌ها در هر پارامتر در محدوده $SD \pm 2$ قرار گرفت. در ضمن هر دستگاه با استفاده از نمونه کنترل در روزهای متوالی آزمایش شد و CV هر پارامتر محاسبه شد و با CV ادعا شده توسط شرکت سازنده موجود در کاتالوگ دستگاه‌ها مقایسه شد که در محدوده قابل قبول قرار داشت. جهت جداسازی سرم، نمونه‌ها در لوله‌های آزمایش فاقد ضدانعقاد با دور ۱۵۰۰ در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم آن‌ها به روش استاندارد جدا گردید و در نهایت داخل

میکروتیوب‌های درب دار و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

نمونه‌های بافتی بعد از یخ زدائی و شست و شو با سرم فیزیولوژی در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از برش‌های مناسب بافتی، زیر نظر پاتولوژیست، در دستگاه تیشور پروسسور مدل ۲۰۸۰ آبگیری و فیکساسیون بافتی قرار گرفتند تا برای قالب گیری آماده شوند. بعد از طی ۲۴ ساعت، مراحل آبگیری و فیکساسیون بافت‌ها انجام شد و بلوک‌گیری بافت‌ها آغاز گردید. بلوک‌گیری با پارافین هیستولاین مرک آلمان انجام گرفت و سپس بلوک‌های بافتی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴- درجه سانتیگراد به منظور آماده‌سازی برای برش نهایی نگهداری شدند. بلوک‌ها توسط دستگاه میکروتوم مدل CUT4050

با ضخامت ۴ میکرومتر برش داده شدند. در مرحله‌ی بعد بافت‌های برش داده شده به منظور ارزیابی تغییرات سلول‌ها از نظر ساختاری و سیتولوژیکی تحت رنگ آمیزی H&E (Hematoxilin-Eosin) قرار گرفتند و در نهایت توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ و ۴۰ بررسی و از آن‌ها عکس برداری شد.

برای اندازه‌گیری بیومارکرهای سرمی از دستگاه Vidas و کیت Mini Vidas، محصول کشور فرانسه، استفاده شد. دامنه نرمال CEA برای کولون ۴-۰ و دامنه بحران ۱۰۰-۴ می باشد و برای CA19-9 دامنه مرجع ۰-۳۷ و دامنه ی بحران ۲۰۰-۳۷ می‌باشد.

آنالیز آماری

پس از جمع‌آوری اطلاعات از طریق پرسشنامه، داده‌ها وارد برنامه آماری SPSS 16 گردید و داده‌ها با استفاده از تست‌های پست هوک، تاکی، تی، کای دو و رگرسیون لجستیک تحلیل شد. در تمامی این تست‌ها، سطح معناداری متغیرها کمتر از ۰/۰۵ فرض شد.

یافته‌ها

بودند. در جدول ۱ خصوصیات بالینی بیماران از جمله سابقه‌ی دیابت، سابقه‌ی مصرف دخانیات و الکل، سابقه‌ی فامیلی، شاخص توده‌ی بدنی ثبت شد.

از ۶۷ بیمار بررسی شده ۳۸ مورد مرد (۵۶/۷ درصد) و ۲۹ مورد زن (۴۳/۳ درصد) بودند. میانگین سنی این بیماران ۶۱ و با حداقل سن ۳۶ و حداکثر سن ۷۶ سال

جدول ۱. خصوصیات بالینی بیماران و تأثیرات آن‌ها بر بقاء بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال (پیش آگهی)

متغیر	زیرگروه‌ها	درصد مبتلایان	P-Value
مصرف دخانیات	استفاده نکرده	۳۸	۰/۰۲۶
	استفاده فعلی یا قبلی	۶۲	
دیابت	دارد	۶۹	۰/۰۱۷
	ندارد	۳۱	
مصرف الکل	استفاده نکرده	۴۵	۰/۳۸
	استفاده فعلی یا قبلی	۵۵	
سابقه فامیلی ابتلا به سرطان	دارد	۷۱	۰/۰۱۱
	ندارد	۲۹	
شاخص توده بدنی	۱۸,۵ - ۲۵	۲۱	۰/۰۱۵
	۲۵ - ۳۰	۳۴	
	۳۰ - ۳۵	۴۵	

یک تا دو روز در هفته ۵۹ درصد بود. اگرچه مصرف بالای میوه و سبزیجات شانس ابتلا به سرطان کلورکتال را کاهش می‌دهد اما مطالعه معنادار بودن این ارتباط را نشان نداد ($P=0/09$).

نتایج حاصل از بررسی محل آناتومیک ضایعات توموری نشان داد که بیشترین محل درگیری مربوط به نواحی سیگموئید و رکتوم می‌باشد. جدول (۲) مشخصات مرتبط با بیماری را نشان می‌دهد.

در جدول ۱ خصوصیات بالینی بیماران از جمله سابقه‌ی دیابت، سابقه‌ی مصرف دخانیات و الکل، مبتلایان فامیلی، شاخص توده‌ی بدنی ثبت شده است.

علاوه بر این، نتایج حاصل از بررسی میزان مصرف گوشت قرمز در بیماران بین یک تا دو روز در هفته، ۴۶ درصد و بیشتر از دو روز در هفته، ۵۴ درصد بود که نشان دهنده‌ی عدم معناداری مصرف گوشت قرمز بود ($P=0/36$). همچنین مصرف میوه و سبزیجات در گروه مورد مطالعه، طی سه تا چهار روز در هفته ۴۱ درصد و طی

جدول ۲. مشخصات مرتبط با بیماری

متغیر	زیرگروه‌ها	تعداد	درصد
محل تومور	کلون	۸	۱۱/۹۴
	روده کور	۶	۸/۹۵
	کلون افقی	۶	۸/۹۵
	سیگموئید	۱۹	۲۸/۳۷
	رکتوم	۲۰	۲۹/۸۵
هیستولوژی	رکتوسیگموئید	۸	۱۱/۹۴
	آدنوما	۵	۷/۴۷
	آدنوکارسینوما	۴۸	۷۱/۶۳
	آدنوکارسینومای حلقه‌ای	۴	۵/۹۷
	آدنوکارسینومای مخاطی	۶	۸/۹۶
	پولیپ هایپرپلاستیک	۴	۵/۹۷

۴۳/۳	۲۹	زن	جنسیت
۵۶/۷	۳۸	مرد	
۱۶/۴۲	۱۱	<۴۵	سن در زمان تشخیص
۳۸/۸۱	۲۶	۴۵-۶۵	
۴۴/۷۷	۳۰	۶۵<	
۲۵/۳۷	۱۷	مرحله ۱	مرحله بیماری
۳۷/۳۲	۲۵	مرحله ۲	
۲۰/۸۹	۱۴	مرحله ۳	
۱۶/۴۲	۱۱	مرحله ۴	
۴۰/۳۰	۲۷	تمایز خوب (G1)	درجه ی بیماری
۴۰/۳۰	۲۷	تمایز متوسط (G2)	
۱۹/۴۰	۱۳	تمایز ضعیف (G3)	

تعداد گلبول‌های قرمز و مقدار هموگلوبین خون کاهش می‌یابد. هرچند کاهش هموگلوبین خون بیماران بین مراحل مختلف بیماری معنادار نبود. این یافته‌ها در جدول ۳ ثبت شده اند.

ارزیابی فاکتورهای خونی شامل تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد پلاکت خون، درصد هموگلوبین، Neut (Neutrophils) و Lymphocyte (Lym) بیماران در مراحل مختلف نشان داد که با حاد شدن بیماری، میزان کم‌خونی بیماران افزایش و در نتیجه

جدول ۳. یافته‌های مربوط به آزمایش خون در مراحل مختلف بیماری

متغیر	Stage I		Stage II		Stage III		Stage IV		P-Value
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
WBC	۸/۲۱	۱/۲۴۲	۹/۱۹	۴/۳۴۳	۶/۸۰	۶/۶۸۲	۶/۰۱	۱/۶۸۳	۰/۱۲۱
RBC	۴/۸۸	۰/۵۳۹۹	۴/۶۹	۰/۴۵۶۷	۴/۱۳	۰/۴۵۸۶	۳/۸۳	۰/۸۰۶۷	۰/۰۰۹۱
Hb	۱۲/۱۱	۱/۴۷۷	۱۱/۳۹	۱/۹۳۳	۱۱/۰۴	۱/۶۹۶	۱۰/۴۸	۱/۸۹۶	۰/۱۴۲
PLT	۳۱۵/۳	۲۹/۴	۳۱۸/۶	۹۵/۰۵	۳۱۹/۹	۱۳۷/۹	۳۱۷/۶	۱۴۵/۵	۰/۲۱۲
Neut %	۷۴/۷۳	۱۶/۶۵	۶۹/۵۵	۱۲/۸۲	۷۰/۰۸	۱۳/۳۸	۶۵/۸۳	۱۰/۸۳	۰/۱۱۸
Lym %	۲۶/۸۸	۱۲/۹۸	۲۰/۶۲	۱۰/۹۱	۲۱/۰۷	۵/۷۹۵	۱۹/۵۰	۳/۵۴۸	۰/۱۹۸

جدول ۴. میزان سرمی تومورمارکرها در مراحل مختلف بیماری

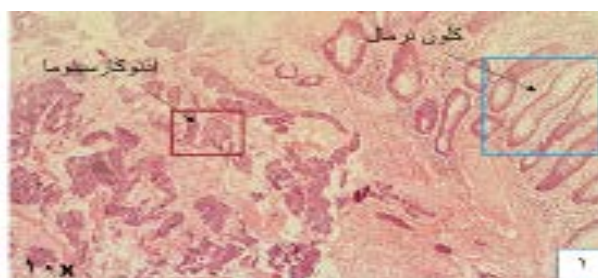
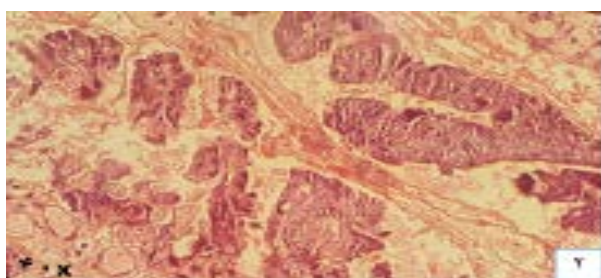
P-value	CA19-9 (U/ml)	P-value	CEA (ng/ml)	متغیر
	۳۷/۹۰		۳/۰۹	Stage I
۰/۰۳۷	۳۸/۸۶	۰/۰۱۷	۴/۱۹	Stage II
	۳۷/۱۱		۴/۶۹	Stage III
	۳۶/۵۶		۳/۸۷	Stage IV

تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ نوری مراحل اول تا چهارم سرطان کلورکتال را با بزرگنمایی ۱۰X و ۴۰X نشان داد طوری که پس از ایجاد سرطان در سلول‌های کلورکتال در قسمت لومن روده بزرگ، تغییرات ساختاری و سیتولوژیک ایجاد می‌شود. تغییرات ساختاری و سیتولوژیک به ترتیب از مرحله ی یک تا

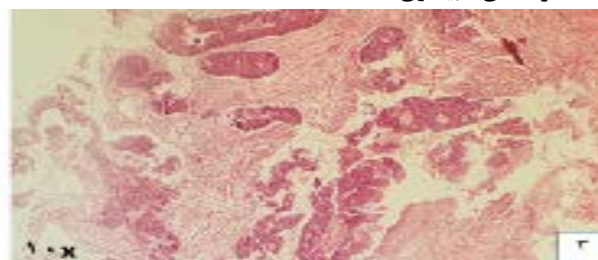
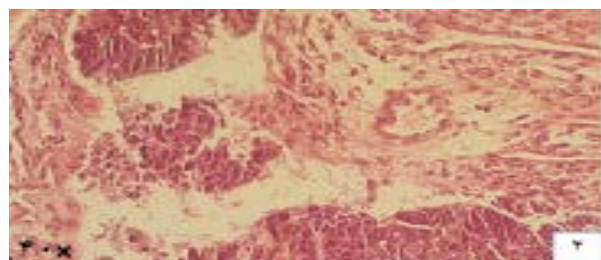
پس از اندازه‌گیری تومورمارکرها CEA و CA19-9 بیماران در مراحل مختلف بیماری، نتایج نشان داد که اگر چه تفاوت این تومورمارکرها از مرحله ی ۱ تا ۴ در کل معنادار بود، ولی مقایسه سطح این تومورمارکرها بین مراحل (دو به دو) با آنالیز آماری Post hoc تفاوت معنا داری نشان نداد ($P > 0/05$). به عبارت دیگر ارتباط آماری معناداری بین میزان این تومورمارکرها با مرحله بیماری (stage) مشاهده نشد، نتایج در جدول ۴ خلاصه شده است.

پررنگ شدن هسته‌ی سلول‌ها) و افزایش حجم هسته نسبت به سیتوپلاسم (N/C) به وضوح قابل مشاهده است که از تغییرات سیتولوژیک به شمار می‌آیند. شکل (۱). به نظمی‌رسد این تغییرات در رنگ آمیزی ایمونوهستوشیمی (Immunohistochemistry) IHC کارایی مطلوب‌تری در بررسی ضایعات ساختاری و سیتولوژی را داشته باشد. اگر چه هر دو روش رنگ آمیزی IHC و H&E روش‌های استاندارد هستند و دارای ارزش علمی هستند.

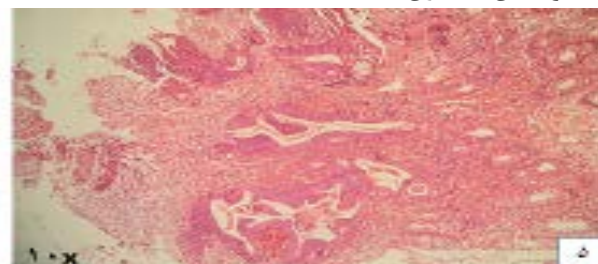
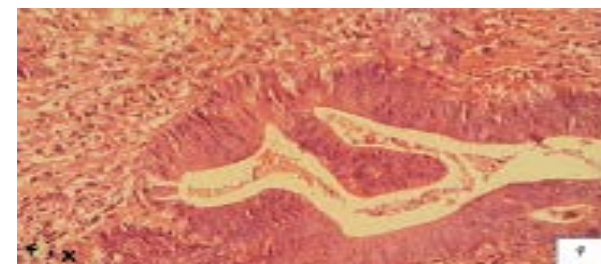
چهار با ایجاد تنوع و تغییر در رنگ تصاویر همراه بود. در مراحل اولیه چون غشای پایه سالم است و به اپیتلیوم محدود می‌باشد، تهاجمی به بافت همبند دیده نمی‌شود. تخریب این غشا اولین گام در تهاجم موضعی است. با توجه به اهمیت تشخیص تغییرات غشای پایه این مطالعه به هدف بررسی الگوی هیستوپاتولوژی این غشا در درجات مختلف دیسپلازی و سرطان در سلول‌های اپی-تلیال با استفاده از رنگ آمیزی (Hematoxilin-Eosin) H&E انجام شده است. علاوه بر این تغییرات، هایپرکرومازی (یا



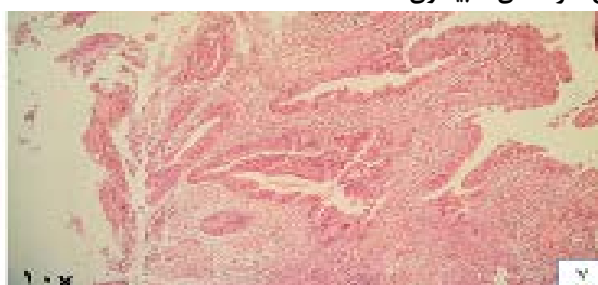
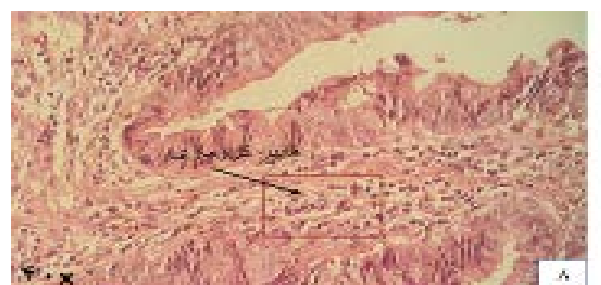
الف) مرحله ۱ بیماری



ب) مرحله ۲ بیماری



ج) مرحله ۳ بیماری



د) مرحله ۴ بیماری

شکل ۱. رنگ آمیزی H&E را در مراحل مختلف سرطان کولورکتال با بزرگنمایی ۱۰x و ۴۰x نشان می‌دهد. تصاویر الف- دیسپلازی خفیف می‌باشد و غشای پایه نازک و یکنواخت است. در

تصاویر الف-د به ترتیب مراحل اول تا چهارم بیماری را با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین در بزرگنمایی

تصویر الف - ۱ نواحی کلون طبیعی و آدنوکارسینوما مشخص شده است و اپیتلیوم طبیعی در رنگ آمیزی H&E دارای غشای پایه‌ی واضح است. نواحی دیسپلازی و هایپرکرومازی از مرحله‌ی یک تا چهار افزایش پیدا کرده است. در تمام مراحل سلول‌هایی که دیواره‌ی نامشخص دارند، نواحی دیسپلازی هستند.

تصویر ب و ج، دیسپلازی متوسط می‌باشد و غشای پایه نازک و ناواضح است. در دیسپلازی متوسط با رنگ آمیزی H&E، غشای پایه با وضوح کمتری دیده می‌شود و برجستگی و حالت شاخه شاخه شدن در داخل لومن مشاهده می‌شود. تصویر د- دیسپلازی شدید و غشای پایه ناواضح است. این ناحیه با مربع قرمز رنگ نشان داده شده است و از جمله تغییرات ساختاری سیتولوژیک بهم ریختگی gland ها می‌باشد که با حاد شدن بیماری، این بهم ریختگی افزایش پیدا کرده و برجستگی و حالت شاخه شاخه شدن در داخل لومن مشاهده می‌شود. با پیشرفت بیماری نفوذ تومور به بافت های همبند افزایش می‌یابد و در مرحله‌ی چهار، تومور به تمام لایه های روده بزرگ نفوذ نموده و به چربی های پریکولیک، فضای پری نئورال و رگ‌ها تهاجم می‌یابد. همچنین با پیشرفت بیماری تجمع سلول‌های التهابی در اطراف تومور و تعداد سلول‌های گابلت در روده بزرگ افزایش می‌یابد.

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان کلورکتال به عنوان یکی از سرطان های شایع در دنیا به شمار می‌رود که در بروز آن عوامل مختلفی دخیل می باشند. اگرچه مسائل ژنتیکی و بیماری‌های التهابی روده، فاکتورهای موثری هستند، ولی امروزه ارتباط نزدیکی بین سرطان کلورکتال و بعضی عادات فردی نظیر شیوه‌ی زندگی و رفتارهای تغذیه‌ای نشان داده شده است. یکی از فاکتورهای دخیل در مستعد کردن افراد به این بیماری مصرف الکل و استفاده از دخانیات می باشد. در مطالعه‌ی ما نتایج حاصل از بررسی بیماران نشان داد که

ارتباط معناداری بین مصرف دخانیات (به خصوص سیگار) و سرطان کلورکتال وجود دارد، بطوری که ۶۲٪ مبتلایان سابقه‌ی قبلی مصرف دخانیات داشته یا استفاده فعلی داشتند ($P=0/026$)، این در حالی بود که بین ابتلای این بیماری و مصرف الکل ارتباط معناداری یافت نشد ($P=0/38$). در مطالعه‌ی ای که پورفیسی و همکارانش انجام دادند نتایج مشابه در مورد استعمال دخانیات و مصرف الکل حاصل شد (۱۸). در مقابل، مطالعه‌ی کیم و همکارانش نشان داد که ارتباط معناداری بین مصرف سیگار، قلیان، انواع مواد مخدر و الکل با ابتلا به سرطان کلورکتال نتیجه‌گیری نشد (۱۹). با این حال مطالعات دیگری در این راستا وجود دارند که وجود ارتباط معنادار بین مصرف الکل و ایجاد این نوع سرطان را تایید می‌کنند (۲۰-۲۲). یکی از دلایل وجود این تناقضات را می‌توان نوع و کیفیت الکل مصرفی و یا اینکه کم برآوردی و یا گزارش نکردن مصرف الکل در برخی از کشورهایی که مصرف الکل غیرقانونی محسوب می‌شود، دانست.

طبق مطالعات آینده نگر و گذشته نگر که در دنیا برای بررسی سابقه‌ی بیماری دیابت و ابتلا به سرطان کلورکتال انجام شده است مشخص شده است که سابقه‌ی بیماری دیابت شانس ابتلا به این سرطان را افزایش می‌دهد (۲۳،۲۴). یافته‌های این مطالعه نیز نشان داد که ۶۹٪ بیماران سابقه‌ی ابتلا به دیابت را داشتند که ارتباط معناداری را با این بیماری نشان داد ($P=0/017$). دهقان زاده و همکاران نیز وجود این ارتباط معنادار را در مطالعه‌ی خود تاکید کرده‌اند (۲۵). در مطالعه‌ی انجام شده توسط عزیزی و همکاران نیز خطر ابتلا به سرطان کلورکتال بیماران دیابتی نوع ۲ مورد بررسی قرار گرفت، که نتایج نشان داد دیابت خطر ابتلا به این نوع سرطان را افزایش می‌دهد (۲۶).

وجود سابقه‌ی ابتلای فامیلی در بین مبتلایان یکی دیگر از فاکتورهای مورد بررسی در مطالعه‌ی حاضر بود که

چندانی نداشت و حاد شدن بیماری بیشتر بر گلبول‌های سفید و قرمز تاثیر گذار بود.

نوتروفیل‌ها که از سلول‌های سفید خون هستند وظیفه‌ی ترمیم بافت‌ها را در بدن برعهده دارند، با بروز مشکلات بافتی به طور طبیعی افزایش می‌یابند اما ممکن است در پاسخ به آسیب‌های جدی و یا با حاد شدن بیماری، کاهش یابند (۲۹). در آزمایشات CBC دامنه‌ی طبیعی درصد نوتروفیل‌ها بین ۵۰ تا ۶۰ درصد گزارش می‌شود و اگر میزان نوتروفیل‌ها از ۶۰٪ بالاتر باشد به عنوان نوتروفیلی (افزایش نوتروفیل) در نظر گرفته می‌شود (۳۰). بر این اساس طبق نتایج حاصل از CBC، بیماران این مطالعه نیز نوتروفیلی را نشان می‌دهند طوری که میانگین درصد نوتروفیل در مرحله‌ی ۱ بیماری ۷۴/۷۳٪ می‌باشد و با حاد شدن بیماری این درصد کاهش داشت. با این حال بین پیشرفت بیماری و کاهش درصد نوتروفیل‌ها ارتباط معناداری وجود نداشت ($P=0/118$). به طور کلی نتایج نشان می‌دهند که بجز گلبول‌های قرمز خون بین مابقی فاکتورهای خونی بررسی شده و مراحل مختلف بیماری ارتباط معناداری وجود ندارد ($P>0/05$).

بین تومورمارکرهای CEA و CA19-9 و مراحل بیماری ارتباط معنادار وجود داشت که این نوع ارتباط در مطالعه‌ی فتاحی و همکاران نیز دیده می‌شود (۳۱). در تصاویر به‌دست آمده از میکروسکوپ نوری، مشخص است که با حاد شدن بیماری، تغییرات ساختاری و سیتولوژیک در روده بزرگ رخ می‌دهد. بررسی بافت‌ها در مطالعه‌ی ما نشان داد که در gland‌ها به هم ریختگی مشاهده می‌شود که با حاد شدن بیماری، این به هم ریختگی نیز افزایش می‌یابد. همچنین برجستگی‌ها و حالت شاخه‌شاخه شدن در داخل لومن، مشاهده شد که همه‌ی این علائم نشان دهنده‌ی تغییرات ساختاری هستند. یافته‌ها نشان داد که با پیشرفت بیماری، هر دو نوع تغییرات افزایش یافته و توده‌ی سرطانی نیز مناطق بیشتری را گرفتار می‌

این عامل در ۷۱٪ مبتلایان تایید شد و گویای ارتباط معنادار با بروز این سرطان بود ($P=0/011$). این ارتباط در مطالعات پورفرضی و همکاران و کهی و همکاران (۲۷) نیز به صورت معنادار تعریف شده است.

در مطالعه‌ی ما شاخص توده‌ی بدنی در سه دسته‌ی افراد عادی، دارای اضافه وزن و چاق مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل، معنادار بودن ارتباط بین این شاخص و میزان ابتلا به سرطان کلورکتال را نشان دادند ($P=0/015$). نتایج مشابه، در مطالعه‌ی نگات و همکارانش نیز مشخص شد که بین چاقی و ابتلا به این نوع سرطان، ارتباط معنادار وجود دارد (۲۸).

در مورد ارتباط مصرف گوشت قرمز ($P=0/36$)، سبزیجات و میوه ($P=0/09$) با ابتلا به سرطان کلورکتال، یافته‌های ما ارتباط معناداری را نشان نداد. این نوع ارتباط در مطالعه‌ی پورفرضی و همکاران نیز مشاهده شد.

در رابطه با بررسی درگیری توموری مطالعه‌ی ما نشان داد که تومور بیشتر در بخش‌های رکتوم و سیگموئید لانه‌گزینی کرده و از نظر پاتولوژیکی اکثراً adenocarcinoma هستند. در بررسی مشخصه‌های خونی نیز مشخص شد که با حاد شدن بیماری، گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون کاهش داشتند اما گلبول‌های سفید در ابتدا با توجه به افزایش مقاومت سیستم ایمنی، افزایش و با گذشت زمان و حاد شدن بیماری، دچار کاهش شدند. مشخصه‌های نوتروفیل و لنفوسیت نیز متأثر از گلبول‌های سفید بود و نرخ تغییرات مشابهی با گلبول‌های سفید داشتند. دلایل این تغییرات را می‌توان این‌گونه بیان کرد که در ابتدای بیماری، مقاومت سیستم ایمنی بدن، برای مواجهه با بیماری افزایش و در نتیجه تعداد گلبول‌های سفید افزایش می‌یابند. اما با پیشرفت بیماری، مقاومت بدن و در نتیجه تعداد گلبول‌های سفید کاهش می‌یابند. پلاکت خون در طی بیماری تغییر

کند به طوریکه ممکن است با حاد شدن بیماری، سرطان به نقاط دوردست متاستاز داده و ارگان‌هایی همچون کبد و ریه را نیز مبتلا کند. در مطالعه‌ی وانگ و همکاران نیز روند تغییرات مشابه مشاهده شده است (۳۲).

باتوجه به نتایج حاصل شده می‌توان گفت که این دو تومورمارکر می‌توانند نشان‌دهنده پیشرفت بیماری باشند و نمی‌توان از آن‌ها به‌عنوان عاملی برای تشخیص بیماری در مراحل اولیه استفاده کرد. در مطالعات فتاحی و همکاران (۳۱)، چاووشی و همکاران (۳۳) و هانک و همکاران (۳۴) نیز نتایج مشابه حاصل شد و این تومورمارکرها را به‌عنوان عامل مشخص‌کننده‌ی پیشرفت بیماری معرفی کردند و دریافتند که استفاده از تومورمارکرها، معیار مناسبی برای تشخیص بیماری سرطان کولورکتال نیست. با توجه به اینکه با کاهش بیان مولکول‌های چسبندگی با متاستاز و پیشرفت سرطان کولورکتال مرتبط است (۳۵). شاید یکی از دلایل نتایج به دست آمده از این مطالعه این باشد که چون CEA و CA19-9 هر دو به‌عنوان مولکول چسبندگی بین سلولی عمل می‌کنند (۳۶،۳۷)، در روند پیشرفت تومور و متاستاز این سرطان عامل مهمی محسوب می‌شوند.

به‌طور کلی مطالعه‌ی ما در تایید دیگر مطالعات مشابه نشان داد که سرطان کولورکتال با سه فاکتور دیابت، شاخص توده‌ی بدنی و مصرف دخانیات ارتباط معناداری دارد و بیماران مبتلا، حداقل یکی از این موارد را داشتند. در مقابل هیچ ارتباط معناداری بین مصرف گوشت، سبزیجات و میوه با سرطان کولورکتال مشاهده نشد. همچنین بررسی فاکتورهای خونی بیماران در مراحل مختلف بیماری نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز و مقدار هموگلوبین با حاد شدن بیماری دارای کاهش

معناداری بود ولی سایر فاکتورهای خونی تغییر معناداری نداشتند.

از بررسی دو تومورمارکر CEA و CA19-9 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال می‌توان این‌طور نتیجه‌گیری کرد که این تومورمارکرها فقط می‌توانند پیشرفت بیماری را مشخص کنند و نمی‌توان از آن‌ها به‌عنوان عاملی برای تشخیص بروز بیماری در مراحل اولیه کمک گرفت. در تغییرات بافتی نیز به تدریج با بالا رفتن مرحله بیماری (stage) سلول‌ها از نظر شکل ساختاری نرمال به تدریج به دیسپلازی اولیه و متوسط خفیف و در نهایت شدید منتهی می‌شود. همچنین نفوذپذیری سلول‌ها نسبت به رنگ آمیزی افزایش پیدا کرده و نسبت هسته به سیتوپلاسم نیز افزایش می‌یابد. با توجه به متغیرهای فراوان از جمله مشخصه‌های دریافتی از آزمایش خون، می‌توان بررسی‌های بیشتری در این زمینه و در حجم نمونه بالاتری انجام داد و به نتایج روشن‌تری در رابطه با عملکرد این تومورمارکرها دست یافت.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با کد اخلاق ۱۳۹۸-۱۴۲۹۸۵ ثبت گردیده است. هیچ کدام از نویسندگان این مقاله تعارض منافع برای انتشار ندارند.

References

1. Rahimi Pordanjani S, Baeradeh N, Lotfi MH, Pourmohammadi B. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival rates and risk factors. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2016;23(144):41-50. (In Persian)
2. Saebnia N, Sadeghizadeh M. The main factors involved in the recurrence of colorectal cancer and therapeutic methods against them. *Journal of Police Medicine*. 2016;5(2):87-95.
3. Rasmussen S, Larsen PV, Søndergaard J, Elnegaard S, Svendsen RP, Jarbøl DE. Specific and non-specific symptoms of colorectal cancer and contact to general practice. *Family practice*. 2015;32(4):387-94.
4. Jaloun HE, Lee IK, Kim MK, Sung NY, Turkistani SAA, Park SM, et al. Influence of the Enhanced Recovery After Surgery Protocol on Postoperative Inflammation and Short-term Postoperative Surgical Outcomes After Colorectal Cancer Surgery. *Annals of coloproctology*. 2020;36(4):264-72.
5. Speights VO, Johnson MW, Stoltenberg PH, Rappaport ES, Helbert B, Riggs M. Colorectal cancer: current trends in initial clinical manifestations. *Southern medical journal*. 1991;84(5):575-8.
6. Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM. Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Cancer*. 1986;57(9):1866-70.
7. Ramdass P, Petraro P, Via C, Shahrokni A, Nawaz H. Providers role in colonoscopy screening for colorectal cancer. *American journal of health behavior*. 2014;38(2):234-44.
8. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Annals of surgical oncology*. 2010;17(6):1471-4.
9. Niederhuber JE. Colon and rectum cancer. Patterns of spread and implications for workup. *Cancer*. 1993;71(12 Suppl):4187-92.
10. Virji MA, Mercer DW, Herberman RB. Tumor markers in cancer diagnosis and prognosis. *CA: a cancer journal for clinicians*. 1988;38(2):104-26.
11. Nagpal M, Singh S, Singh P, Chauhan P, Zaidi MA. Tumor markers: A diagnostic tool. *National journal of maxillofacial surgery*. 2016;7(1):17-20.
12. Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *The Journal of experimental medicine*. 1965;121(3):439-62.
13. Haidari F, Abiri B, Iravani M, Ahmadi-Angali K, Vafa M. Effects of Vitamin D and Omega-3 Fatty Acids Co-Supplementation on Inflammatory Factors and Tumor Marker CEA in Colorectal Cancer Patients Undergoing Chemotherapy: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Nutrition and cancer*. 2020;72(6):948-58.
14. Paxton RJ, Mooser G, Pande H, Lee TD, Shively JE. Sequence analysis of carcinoembryonic antigen: identification of glycosylation sites and homology with

- the immunoglobulin supergene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1987;84(4):920-4.
15. Kuusela P, Haglund C, Roberts PJ. Comparison of a new tumour marker CA 242 with CA 19-9, CA 50 and carcinoembryonic antigen (CEA) in digestive tract diseases. *British journal of cancer*. 1991;63(4):636-40.
 16. Koprowski H, Steplewski Z, Mitchell K, Herlyn M, Herlyn D, Fuhrer P. Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. *Somatic cell genetics*. 1979;5(6):957-71.
 17. Yamano T, Yamauchi S, Igeta M, Takenaka Y, Song J, Kimura K, et al. Combination of preoperative tumour markers and lymphovascular invasion with TNM staging as a cost and labour efficient subtyping of colorectal cancer. *Scientific reports*. 2020;10(1):10238.
 18. Satia-Abouta J, Galanko JA, Potter JD, Ammerman A, Martin CF, Sandler RS. Associations of total energy and macronutrients with colon cancer risk in African Americans and Whites: results from the North Carolina colon cancer study. *American journal of epidemiology*. 2003;158(10):951-62.
 19. Kim K-S, Moon HJ, Choi CH, Baek EK, Lee SY, Cha BK, et al. The frequency and risk factors of colorectal adenoma in health-check-up subjects in South Korea: relationship to abdominal obesity and age. *Gut and Liver*. 2010;4(1):36-42.
 20. Bagnardi V, Blangiardo M, La Vecchia C, Corrao G. A meta-analysis of alcohol drinking and cancer risk. *British journal of cancer*. 2001;85(11):1700-5.
 21. Chen J, Ma J, Stampfer MJ, Hines LM, Selhub J, Hunter DJ. Alcohol dehydrogenase 3 genotype is not predictive for risk of colorectal cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2001;10(12):1303-4.
 22. Tsong WH, Koh WP, Yuan JM, Wang R, Sun CL, Yu MC. Cigarettes and alcohol in relation to colorectal cancer: the Singapore Chinese Health Study. *British journal of cancer*. 2007;96(5):821-7.
 23. Cavicchia PP, Adams SA, Steck SE, Hussey JR, Liu J, Daguisé VG, et al. Racial disparities in colorectal cancer incidence by type 2 diabetes mellitus status. *Cancer Causes & Control*. 2013;24(2):277-85.
 24. Suh S, Kang M, Kim MY, Chung HS, Kim SK, Hur KY, et al. Korean type 2 diabetes patients have multiple adenomatous polyps compared to non-diabetic controls. *Journal of Korean medical science*. 2011;26(9):1196.
 25. Dehganzadeh S, Jafaraghai F, TABARI KR. Relationship between demographic characteristics, lifestyle and exposure to stressor events and colorectal cancer. 2012-6-15(In Persian).
 26. Azizi H, Delpisheh A, Sayehmiri K, Asadollahi K, Esmaeili ED, Sharbafi J.

- Risk of Colorectal Cancer in Type2 Diabetic Patients Med J Tabriz Univ Med Sci & Health Service. 2016;38(4):56-65.
27. Kahi CJ, Rex DK, Imperiale TF. Screening, surveillance, and primary prevention for colorectal cancer: a review of the recent literature. Gastroenterology. 2008;135(2):380-99.
 28. Neugut AI, Garbowski GC, Lee WC, Murray T, Nieves JW, Forde KA, et al. Dietary risk factors for the incidence and recurrence of colorectal adenomatous polyps: a case-control study. Annals of internal medicine. 1993;118(2):91-5.
 29. Butterfield TA, Best TM, Merrick MA. The dual roles of neutrophils and macrophages in inflammation: a critical balance between tissue damage and repair. Journal of athletic training. 2006;41(4):457-65.
 30. Young GP. CBC or not CBC? That is the question. Annals of emergency medicine. 1986;15(3):367-71.
 31. Fattahi E, Somi MH, Ebrahimzade E, Fakhrjo A, Naghashi S. Evaluation of Relationship between Serum Levels of Tumor Markers (CEA, CA19-9) with Diagnosis, Pathological Finding and Staging in Colorectal Carcinoma Med J Tabriz Univ Med Sci & Health Service. 2012;33(6):68-74.
 32. Wang CQ, Wang Y, Huang BF, Tang CH, Du Z, Zeng Y, et al. High Expression of Both Resistin and Fascin-1 Predicts a Poor Prognosis in Patients with Colorectal Cancer. BioMed research international. 2020;2020:8753175.
 33. Chavoshi s, haidari kashl s, rezaee tavirani m, ebrahimi m, etedali a, Raessodati r, et al. Tumor Markers at a Glance J Ilam Univ Med Sci. 2013;21(6):143-59. (In Persian)
 34. Hanke B, Riedel C, Lampert S, Happich K, Martus P, Parsch H, et al. CEA and CA 19-9 measurement as a monitoring parameter in metastatic colorectal cancer (CRC) under palliative first-line chemotherapy with weekly 24-hour infusion of high-dose 5-fluorouracil (5-FU) and folinic acid (FA). Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. 2001;12(2):221-6.
 35. Paschos KA, Canovas D, Bird NC. The role of cell adhesion molecules in the progression of colorectal cancer and the development of liver metastasis. Cellular signalling. 2009;21(5):665-74.
 36. Benchimol S, Fuks A, Jothy S, Beauchemin N, Shirota K, Stanners CP. Carcinoembryonic antigen, a human tumor marker, functions as an intercellular adhesion molecule. Cell. 1989;57(2):327-34.
 37. Del Villano B, Brennan S, Brock P, Bucher C, Liu V, McClure M, et al. Radioimmunoassay for a monoclonal antibody-defined tumor marker, CA 19-9. Clinical chemistry. 1983;29(3):549-52.

Changes in serum levels of CEA and CA19-9 tumor markers in different stages of patients with colorectal cancer

Mousavi M¹, Fathi M², Goodarzi MT^{3*}, Kassae SM⁴, Jafari Heidarloo A⁵

1. PhD Student of Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran

2. Associate Professor, Department of Biochemistry and Genetics, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

3. Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, Islamic Azad University, Shahrood Branch, Shahrood, Iran, mtgoodarzi@yahoo.com

4. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran

5. Assistant Professor, Imam Khomeini Hospital, Gastroenterology Subdivision of Internal Medicine Department, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

Received: 4 July 2021

Accepted: 19 Sep 2021

Abstract

Background: Colorectal cancer is one of the most common gastrointestinal cancers worldwide with a high prevalence among middle-aged people. This study aimed to evaluate and compare changes in serum levels of carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9), as two important tumor markers, in the diagnosis of different stages of colorectal cancer.

Materials and Methods: This basic research was conducted on hospitalized patients with colorectal cancer (n=67). At first, tissue samples and venous blood samples were collected from patients. Subsequently, CEA and CA19-9 tumor markers were measured by enzyme-linked fluorescence assay and cellular changes were investigated by hematoxylin and eosin staining.

Results: In this study, 57.6% and 43.3% of the patients were male and female, of which 59.7% (40 patients) cases were over 61 years old. The most common sites of tissue involvement were found to be the rectum and sigmoid. In the acute phase of the disease, a decrease was observed in the number of red blood cells (P=0.0091) and the level of hemoglobin (P=0.141); however, the number of platelets remained unchanged (P=0.212). In addition, lymphocyte and neutrophil counts increased at first, while they decreased later. The findings showed that there was a significant relationship between these two tumor markers and disease levels.

Conclusion: Our results indicated that although these tumor markers are not suitable factors for the diagnosis of this cancer in the early stages, they can be used as two important markers to diagnose the progression of the disease.

Keywords: Colorectal cancer, Tumor marker, CEA, CA-19-9.

***Citation:** Mousavi M, Fathi M, Goodarzi MT, Kassae SM, Jafari Heidarloo A. Changes in serum levels of CEA and CA19-9 tumor markers in different stages of patients with colorectal cancer. *Yafte*. 2021; 23(4):45-57