مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و نهم/شماره ۱۵۷/هفته اول آذر ماه ۱۳۹۰
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۱۰

بررسی ارزش تشخیصی میانگین VEGF مایعات آسیت و پلورال افیوژن در شناسایی و افتراق ترشحات سروزی بدخیم (سیتولوژی مثبت) از ترشحات سروزی واکنشی (سیتولوژی منفی) به روش ELISA

دکتر نوشین افشار مقدم[۱]، رضا سلوکی[۲]، پویا اکبری[۲]

چکیده

مقدمه: یکی از فاکتورهای مؤثر در آنژیوژنز و گسترش سلول‌های توموری، فاکتور رشد سلول‌های اندوتلیال عروقی (Vascular endothelial growth factor یا VEGF) است. این فاکتور همچنین از طریق افزایش در نفوذپذیری عروقی در تشکیل ترشحات سروزی نظیر آسیت یا پلورال افیوژن نیز مؤثر است. اما تشخیص و افتراق مایعات سروزی بدخیم از موارد خوش‌خیم همواره به عنوان یک مشکل مطرح بوده است. بنابراین مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی سطح و ارزش تشخیصی VEGF در افتراق مایعات سروزی بدخیم از مایعات سروزی خوش‌خیم انجام شد.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر به روش یک مطالعه‌ی مورد–شاهدی بود که بر روی ۹۲ نمونه (دو گروه ۴۶ تایی) از مایعات سروزی (آسیت و پلورال افیوژن) در بخش پاتولوژی بیمارستان الزهرا (س) به روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) انجام گردید. نمونه‌های واجد شرایط به دو گروه شامل مایعات سروزی بدخیم (سیتولوژی مثبت) و مایعات سروزی خوش‌خیم (سیتولوژی منفی) دسته‌بندی شدند و سطح VEGF در دو گروه مورد آزمایش قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های Student-t و χ^2 مورد آنالیز آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها: در گروه افیوژن بدخیم ۲۲ مرد و ۲۴ زن با میانگین سنی ۱۴/۵۷ ± ۵۶/۴۷ سال و در گروه افیوژن غیر بدخیم و واکنشی ۳۰ مرد و ۱۶ زن با میانگین سنی ۱۷/۰۷ ± ۵۷/۹۵ سال بودند. میانگین سطح VEGF در گروه افیوژن بدخیم ۶/۶۱ ± ۷۵۳/۷۱ و در گروه افیوژن واکنشی ۱۴۳/۹۹ ± ۱/۲۷ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود. سطح VEGF در گروه دارای ترشحات سروزی بدخیم به طور معنی‌داری بالاتر بود (P = ۰/۰۲).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که می‌توان از VEGF به عنوان یک فاکتور بیوشیمیایی در شناسایی و افتراق مایعات سروزی بدخیم (سیتولوژی مثبت) از خوش‌خیم (سیتولوژی منفی) استفاده کرد.

واژگان کلیدی: فاکتور رشد سلول‌های اندوتلیال عروقی، مایعات سروزی بدخیم

مقدمه

رشد و گسترش تومورهای تو پر به طور کامل به ایجاد رگ‌های جدید و رفع نیازهای تغذیه‌ای تومور بستگی دارد. فاکتورهای آنژیوژنیک به وسیله‌ی سلول‌های توموری در محیط رها و موجب تحریک انواع مختلف سلول‌های طبیعی مانند سلول‌های اندوتلیال مویرگ‌های مجاور تومور می‌گردند. یکی از فاکتورهای مؤثر در آنژیوژنز عروقی VEGF یا Vascular endothelial growth factor یا می‌باشد. VEGF برای سلول‌های اندوتلیال عروق به عنوان میتوژن عمل می‌کند و باعث افزایش آنژیوژنز می‌شود (۳–۱). نقش VEGF به عنوان فاکتور رشد و گسترش سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های سرطانی، در شرایط In Vivo و In vitro نشان داده شده است (۵–۴).

---

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

[۱] دانشیار، گروه آسیب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۲] دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: پویا اکبری
Email: lexlls8844@yahoo.com

www.mui.ac.ir

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی یک سیتوکین مولتی‌فانکشنال و یک گلیکوپروتیین هومودایمر با وزن مولکولی ۴۵-۲۳ کیلودالتون است که دارای خواص آنژیوژنیک، میتوژنیک و افزایش‌دهنده‌ی نفوذپذیری سلول‌های اندوتلیال و مؤثر در فرآیند متاستاز توموری می‌باشد (۷-۶). خانواده‌ی فاکتورهای رشد اندوتلیال عروقی شامل هفت گلیکوپروتئین ترشحی به نام‌های A، B، C، D، E، F و PIGF (Placenta growth factor) می‌باشد (۱۰-۸). VEGF توسط انواعی از سلول‌های سرطانی در انسان و جوندگان، مشتمل بر آدنوکارسینومای ریه‌ی انسان، سرطان مثانه، فیبروسارکوما، لوسمی پرومیلوسیتیک و رده‌ی سلولی لنفومایی بیان می‌شود (۱۳-۱۱). همان طور که بیان شد مطالعات مختلف نشان می‌دهند که VEGF باعث افزایش نفوذپذیری عروق به عنوان یک مرحله‌ی مهم و اساسی در آنژیوژنز تومورها است (۳-۱). این عامل می‌تواند با افزایش در ترشح افیوژن‌های سروزی منجر به تشکیل آسیت و یا پلورال افیوژن شود (۱۶-۱۴). از سوی دیگر مطالعات نشان داده است که تشکیل آسیت (افیوژن پریتوئنی) یا پلورال افیوژن در افراد مبتلا به بدخیمی نشان دهنده‌ی پیشرفت بیماری و بدخیمی و به دنبال آن کاهش پیش‌آگهی بیماری و کاهش کیفیت زندگی افراد مبتلا است (۱۷). برخی مطالعات محدود اخیر این نظریه را مطرح ساخته است که تشکیل ترشحات بدخیم سروزی با سطح بالاتری از VEGF مرتبط است و سطح آن در مایعات بدخیم سروزی در مقایسه با ترشحات خوش‌خیم سروزی بیشتر است که می‌تواند نقش این فاکتور را در افزایش نفوذپذیری و تشکیل این ترشحات بیشتر روشن کند (۱۹-۱۸)، هر چند نیاز به انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی و مقایسه‌ی سطح VEGF در مایعات بدخیم و خوش‌خیم سروزی صورت گرفت تا در صورت تأیید این نظریه بتوان در آینده گامی مؤثر در جلوگیری از پیشرفت یا درمان این بیماران برداشت.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر به روش –مورد-شاهدی بر روی ۹۲ نمونه از مایعات سروزی (آسیت و پلورال افیوژن) در بخش پاتولوژی بیمارستان الزهرا (س) در فاصله‌ی زمانی سال ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۰ انجام گردید. نمونه‌های آسیت از طریق پاراسنتز و نمونه‌های پلورال افیوژن از طریق توراکوسنتز تهیه شد. معیارهای ورود در گروه بدخیم وجود ترشحات بدخیم سروزی غیر خونی تأیید شده توسط سیتولوژی و بیوپسی و در گروه خوش‌خیم وجود ترشحات خوش‌خیم سروزی غیر خونی تأیید شده توسط سیتولوژی بود. معیارهای خروج شامل سابقه‌ی کموتراپی یا رادیوتراپی در کمتر از یک ماه گذشته، نمونه‌های شسته شده، نمونه‌های خونی، نمونه‌هایی با تشخیص پریتونیت، لنفوما، سارکوما و نمونه‌هایی با درصد بالایی از حضور نوترفیل در سیتولوژی مایع با در نظرگرفتن علت احتمالی عفونت‌های باکتریایی در بیماران بود. از ۹۲ نمونه ترشحات سروزی مشتمل بر آسیت و پلورال افیوژن ۴۶ نمونه در گروه ترشحات بدخیم و ۴۶ نمونه در گروه ترشحات خوش‌خیم قرار گرفتند. تمام نمونه‌ها در گروه ترشحات بدخیم دارای سیتولوژی مثبت بدخیمی و حضور سلول‌های بدخیم در مایعات سروزی بودند. همچنین تمام این نمونه‌ها از بیماران دارای بدخیمی زمینه‌ای با بیوپسی تأیید شده به دست

www.mui.ac.ir

آمده بود. در گروه دارای ترشحات خوش‌خیم سروزی سیتولوژی هیچ یافته‌ای دال بر وجود بدخیمی ترشحات سروزی توسط پاتولوژیست مشاهده نشد. هر چند برخی از این بیماران دارای بدخیمی زمینه‌ای تأیید شده و برخی دیگر فاقد بدخیمی بودند. بررسی تمام نمونه‌ها توسط یک پاتولوژیست متخصص صورت گرفت.

مایعات سروزی تازه‌ی به دست آمده از بیماران واجد شرایط ورود به مطالعه به مقدار ۲۰ سی‌سی با دور ۲۰۰۰۰ بار در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه تحت سانتریفوژ قرار گرفتند و ذرات معلق آن جدا شدند و مایع تخلیص گردید. از این میزان مایع تخلیص شده ۱۰ سی‌سی در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد فریز شد و ۵ سی‌سی آن از نظر سیتولوژی مورد بررسی قرار گرفت و در صورت مثبت بودن سیتولوژی مایع، نمونه در گروه بدخیم و در صورت منفی بودن در گروه خوش‌خیم قرار گرفت.

سطح VEGF در تمام مایعات سروزی با استفاده از روش (Enzyme-linked immunosorbent assay) ELISA و کیت تهیه شده در این زمینه (R & D Systems, Oxford, UK) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. هر نمونه برای کاهش ضریب خطا و افزایش در دقت دو بار مورد آنالیز قرار گرفت و در صورت عدم تطابق در نتیجه به طور مجدد مورد سنجش قرار گرفت. واحد اندازه‌گیری مقدار VEGF به دست آمده در نمونه‌ها پیکوگرم در میلی‌لیتر بود.

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این مطالعه داده‌ها به صورت توزیع فراوانی و میانگین و انحراف معیار بیان شدند و از آزمون آماری Kolmogorov-smirnov برای بررسی پیروی داده‌ها از توزیع نرمال و از آزمون‌های Student-t و χ^2 برای بررسی و مقایسه‌ی داده‌ها در دو گروه استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۹۲ نمونه افیوژن از بیماران واجد شرایط دارای آسیت (افیوژن‌های پریتوئنی) و پلورال افیوژن شامل ۵۲ مرد و ۴۰ زن مورد بررسی قرار گرفتند. از این بین ۴۶ بیمار شامل ۲۲ مرد و ۲۴ زن دارای افیوژن بدخیم و ۴۶ بیمار شامل ۳۰ مرد و ۱۶ زن افیوژن غیر بدخیم (عدم وجود شواهدی از بدخیمی در ارزیابی سیتولوژی افیوژن) داشتند و هیچ تفاوت معنی‌داری بین دو گروه از نظر توزیع جنسیتی وجود نداشت (P = ۰/۲۴). در مقایسه‌ی سطح VEGF بین دو گروه جنسیتی تفاوت معنی‌داری بین مردان (۳/۹۲ ± ۶۳۰/۷۲ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و زنان (۳/۹۶ ± ۵۷۵/۳۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر)وجود نداشت (P = ۰/۹۸). میانگین سنی در مجموع بیماران برابر ۱۵/۷۱ ± ۵۷/۲۱ سال بود (محدوده‌ی سنی ۸۶-۲۷ سال). میانگین سنی بیماران مبتلا به افیوژن بدخیم ۱۴/۵۷ ± ۵۶/۴۷ سال (محدوده‌ی سنی ۸۲-۲۷ سال) و بیماران مبتلا به افیوژن واکنشی و غیر بدخیم ۱۷/۰۷ ± ۵۷/۹۵ سال (محدوده‌ی –سنی ۸۶-۳۵ سال) بود (P = ۰/۷۵۴). در بررسی فراوانی افیوژن‌ها، در گروه ترشحات سروزی بدخیم، فراوانی آسیت ۳۰ و پلورال افیوژن برابر با ۱۶ و در گروه دارای ترشحات واکنشی (غیر بدخیم) آسیت ۳۶ و پلورال افیوژن برابر

www.mui.ac.ir

با ۱۰ بود. در مقایسه‌ی فروانی ترشحات دو گروه با یکدیگر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P = ۰/۳۲۶). مشخصات کلینیکوپاتولوژیک دو گروه که در این مطالعه مورد تحلیل قرار گرفت در جداول ۱ و ۲ خلاصه شده است:

میزان VEGF در افیوژن‌های پلور و پریتوئن (آسیت) اندازه‌گیری شد و سطح آن در دو گروه افیوژن بدخیم و افیوژن واکنشی (عدم وجود شواهدی از بدخیمی در ارزیابی سیتولوژی افیوژن) مقایسه شد. در ۴۶ بیمار در گروه افیوژن بدخیم، میانگین سطح VEGF در مایعات سروزی ۶/۶۱ ± ۷۵۳/۷۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر (محدوده‌ی ۱۹۹۱-۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر)

جدول ۱. مقایسه‌ی مشخصات دموگرافیک افراد مورد مطالعه در دو گروه

مشخصات کلینیکوپاتولوژیک بیماران		افیوژن بدخیم	افیوژن واکنشی (غیربدخیم)	P value
سن (سال)	انحراف معیار ± میانگین	۵۶/۴۷ ± ۱۴/۵۷	۵۷/۹۵ ± ۱۷/۰۷	P = ۰/۷۵۴*
	محدوده‌ی سنی	۲۷-۸۲	۳۵-۸۶	
جنس	مرد	۲۲	۳۰	P = ۰/۲۴**
	زن	۲۴	۱۶	
محل افیوژن	آسیت	۳۰	۳۶	P = ۰/۳۲۶**
	پلورال افیوژن	۱۶	۱۰	

* آزمون Student-t ** آزمون χ^2

جدول ۲. مشخصات کلینیکوپاتولوژیک افراد مورد مطالعه در دو گروه

مشخصات کلینیکوپاتولوژیک		افیوژن بدخیم	افیوژن واکنشی
تشخیص	سرطان ریه	۶	۶
	سرطان کولون	۸	۶
	سرطان معده	۸	۲
	سرطان پستان	۶	۴
	سرطان مجرای صفراوی	-	۲
	سرطان مری	۴	-
	سرطان پانکراس	-	۲
	سرطان تخمدان	۲	۴
	Germ cell تومور	۲	-
	هپاتوسلولار کارسینوما	۶	-
	آدنوم آدرنال	-	۲
	هپاتیت B	-	۲
	سیروز کبدی	-	۱۴
	منشأ نامعلوم	۴	۲

www.mui.ac.ir

و در ۴۶ بیمار گروه افیوژن واکنشی ۱۴۳/۹۹ ± ۱/۲۷ پیکوگرم در میلی‌لیتر (محدوده‌ی ۴۸۱/۹۰-۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر) بود. همان طور که از مقایسه‌ی میانگین سطح VEGF در دو گروه مشخص است، تفاوت معنی‌داری بین سطح VEGF در گروه دارای ترشحات بدخیم در مقایسه با گروه دارای ترشحات خوش‌خیم وجود داشتو در گروه دارای ترشحات بدخیم سطح VEGF بالاتر بود (P = ۰/۰۲). در بررسی سطح VEGF در مایعات سروزی بدخیم و خوش‌خیم انواع تومورهای موجود، سرطان‌های دستگاه گوارش در معده ۹۴۶/۹۶ ± ۹/۳۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر و در کولون ۵۸۳/۴۸ ± ۳/۲۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود. این مایعات بیشترین میانگین VEGF را نشان دادند. در بررسی انجام شده تفاوت معنی‌داری بین سطح VEGF در ترشحات سروزی آسیت (۵۰۳/۶۷ ±۲/۶۷ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و پلورال افیوژن (۶۳۴/۹۱ ± ۴/۴۴ پیکوگرم در میلی‌لیتر) وجود نداشت (P = ۰/۳۷).

آن چه در اینجا به عنوان یکی از موارد جالب توجه مشاهده شد وجود سطح بالایی از VEGF در ترشحات سروزی به دست آمده از افرادی بود که دارای بدخیمی زمینه‌ای ثابت شده مانند سرطان کولون و یا معده بودند. همچنین در بررسی ارتباط سطح VEGF و سن بیماران، بین سطح VEGF و سن افراد ارتباط مشخصی مشاهده شد هر چند این ارتباط معنی داری نبود و نیازمند بررسی و مطالعات بیشتر است (P = ۰/۰۵۹).

بحث

تشخیص مایعات سروزی بدخیم نظیر آسیت یا پلورال افیوژن و افتراق آن از موارد خوش‌خیم با استفاده از پارامترهای موجود که از طریق توراکوسنتز یا پاراسنتز به دست می‌آید امکان‌پذیر نمی‌باشد و در اکثر موارد به عنوان یک مشکل برای متخصصین در این زمینه مطرح می‌باشد (۲۰). از این رو تعیین فاکتورهای بیوشیمیایی که بتواند ترشحات سروزی خوش‌خیم و بدخیم را از هم افتراق دهد همواره زمینه‌ی پژوهش‌های محققان بوده است. همان طور که بیان شد در مطالعات گذشته نقش آنژیوژنز به عنوان یک عامل مهم در رشد و گسترش سلول‌های توموری و دست‌اندازی سلول‌های توموری به عروق مجاور و سایر ارگان‌ها نشان داده شده است (۲۲-۲۱). یکی از فاکتورهای گلیکوپروتئینی مؤثر در این زمینه VEGF است (۳-۱). این فاکتور علاوه بر تأثیرگذاری در رشد توموری می‌تواند از طریق افزایش در نفوذپذیری عروقی در تشکیل ترشحات سروزی نظیر آسیت یا پلورال افیوژن نیز مؤثر باشد (۷-۶، ۳-۱). بنابراین مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی سطح و ارزش تشخیصی VEGF در افتراق مایعات سروزی بدخیم (سیتولوژی مثبت) از مایعات سروزی خوش‌خیم (سیتولوژی منفی) انجام شد. در مطالعه‌ی حاضر بر اساس نتایج حاصل از مطالعات قبلی نمونه‌های با تشخیص پریتونیت، لنفوما، سارکوما و ترشحات سروزی با وجود نوترفیل بالا در نمونه‌ی سیتولوژی مایع (مطرح‌کننده‌ی عفونت باکتریایی) خارج شدند (۲۵-۲۳). نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان داد سطح VEGF در مایعات سروزی بدخیم (سیتولوژی مثبت) به طور معنی‌داری بیشتر از سطح آن در مایعات واکنشی و غیر بدخیم (سیتولوژی منفی) بود. هر چند وجود سطح بالایی از VEGF در ترشحات سروزی خوش‌خیم به دست آمده از افرادی که دارای بدخیمی زمینه‌ای ثابت شده مانند سرطان کولون و یا معده نیز

www.mui.ac.ir

در مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد که می‌تواند مؤید این نتیجه باشد که در این بیماران احتمال درگیری سروزی در آینده بیشتر است و شاید بتوان از این فاکتور به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک و پیش‌آگهی‌دهنده نیز استفاده کرد. در همین راستا نتایج محدود مطالعات قبلی نیز مشابه با نتایج مطالعه‌ی حاضر بود، چنان چه Kraft و همکاران نیز در مطالعه‌ای بر روی ۵۶ بیمار مبتلا به ترشحات آسیتی و اگزوداتیو نیز سطح بالاتری از VEGF در ترشحات بدخیم در مقایسه با ترشحات غیر بدخیم را مشاهده کردند (۲۶). همچنین در مطالعه‌ای که Zebrowski و همکاران در بررسی تأثیر VEGF در ایجاد و افزایش ترشحات سروزی در بیماران مبتلا به بدخیمی انجام دادند نتایج حاکی از تأثیر مستقیم VEGF در ایجاد آسیت و تشدید آن با مکانیسم افزایش در نفوذپذیری عروقی بود (۱۸). مطالعه‌ی Duysinx و همکاران نیز نشان داد که سطح پروتئین VGEG در پلورال افیوژن افراد مبتلا به بدخیمی در مقایسه با افراد مبتلا با ترشحات خوش‌خیم بالاتر است (۲۷). در یک مطالعه‌ی دیگر که توسط Hirayama و همکاران انجام شد، سطح VEGF در ترشحات سروزی پلور افراد مبتلا به پلورال مزوتلیومای بدخیم در مقایسه با افراد دارای ترشحات خوش‌خیم مبتلا به پلوریت و افراد مبتلا به سرطان با پلورال افیوژن بدخیم بیشتر بود و در گروه مبتلا به مزوتلیومای بدخیم در بررسی پیشرفت و پیش‌آگهی بیماری، افرد مبتلا به مراحل پیشرفته‌تر و پیش‌آگهی ضعیف‌تر در مقایسه با افراد مبتلا در مراحل اولیه، سطح VEGF بالاتر بود. بنابراین نه تنها در افراد مبتلا، VEGF می‌تواند در تشخیص بدخیمی مؤثر باشد بلکه می‌تواند به عنوان یک عامل در تعیین پیش‌آگهی بیماران نیز مؤثر باشد (۲۸). در مطالعه‌ی حاضر نیز در گروه خوش‌خیم نتایجی قابل توجه مشاهده شد. در مطالعات موجود در بررسی علل افزایش سطح VEGF در مایعات سروزی بدخیم، عللی نظیر افزایش در تولید VEGF در مایعات بدخیم سروزی و تأثیر آن در افزایش نفوذپذیری عروقی مطرح شده است ولی هنوز علت دقیقی برای این موضوع مشخص نشده است. همچنین برخی مطالعات سلول‌های توموری متاستاتیک و سلول‌های التهابی و سلول‌های مزوتلیالی حفرات سروزی را در افزایش تولید VEGF به صورت موضعی مؤثر دانسته‌اند (۲۹). اما در مجموع نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. در مطالعه‌ی حاضر در بررسی سطح VEGF در انواع تومورهای موجود، بیشترین سطح VEGF مربوط به تومورهای دستگاه گوارش (سرطان کولون و معده) بود. چنان چه در مطالعات Toi و همکاران (۳۰) و Maeda و همکاران (۳۱) نیز نتایج مشابهی به دست آمد. آن‌ها نشان دادند که بیشترین سطح VEGF در مایعات سروزی در بدخیمی‌های پستان و معده دیده می‌شود و افزایش در تولید موضعی فاکتور یاد شده در این دو بدخیمی با پیش‌آگهی ضعیف‌تر همراه است. در مطالعه‌ی حاضر هیچ ارتباط معنی‌داری بین سطح VEGF مشاهده نشد. در بررسی ارتباط سن با فاکتور یاد شده نیز ارتباط مشخصی مشاهده شد هر چند این ارتباط معنی‌داری نبود. شاید ارتباط افزایش سن با افزایش خطر ابتلا به بدخیمی با افزایش در سطح VEGF نیز مرتبط باشد که نیازمند بررسی و مطالعات بیشتر است (۳۳-۳۲، ۱۶-۱۴). در مطالعه‌ی حاضر نیز تفاوت معنی‌داری بین سطح VEGF در مایعات پلورال افیوژن

www.mui.ac.ir

و آسیت مشاهده نشد، هر چند به نظر می‌رسد که نبود میزان کافی نمونه در این زمینه می‌تواند مؤثر باشد و نیازمند مطالعات بیشتر است. از دیگر مواردی که می‌تواند در مطالعات مشابه مد نظر قرار گیرد پیگیری بیماران و تعیین ارزش VEGF به عنوان یک فاکتور مؤثر در پیش‌آگهی بیماری است که در مطالعه‌ی حاضر به دلیل عدم دسترسی به بیماران بررسی نشد. همچنین به نظر می‌رسد اندازه‌گیری هم‌زمان سطح VEGF سرمی همراه با اندازه‌گیری سطح آن در مایعات سروزی می‌تواند در تأیید نتایج مؤثر باشد و همچنین به عنوان یک فاکتور جهت پیگیری بیماران پس از درمان آن‌ها نیز استفاده شود. مطالعات محدودی نیز افزایش سطح سرمی را در برخی تومورها نشان داده‌اند (۲۶). چنان چه Kraft و همکاران نشان دادند که در بین انواع تومورهای مورد بررسی آن‌ها، بدخیمی‌های گوارشی و تخمدان بیشترین افزایش سطح سرمی را داشتند(۲۶). همچنین Yamamoto و همکاران نیز بیشترین سطح سرمی VEGF را در بین بیماران مبتلا به آسیت در بیماران مبتلا به کارسینومای اپیتلیال تخمدان یافتند (۳۴). در مجموع نتایج مطالعه ی حاضر نشان داد که می‌توان از VEGF به عنوان یک فاکتور در افتراق ترشحات سروزی خوش‌خیم و بدخیم از یکدیگر استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد تفاوت معنی‌داری بین سطح VEGF در گروه دارای ترشحات بدخیم سروزی در مقایسه با گروه دارای ترشحات خوش‌خیم سروزی وجود دارد و در گروه دارای ترشحات بدخیم سطح VEGF بالاتر است و می‌توان از VEGF به عنوان یک فاکتور بیوشیمیایی در شناسایی و افتراق مایعات سروزی بدخیم از خوش‌خیم استفاده کرد. علاوه بر این به نظر می‌رسد که طرح‌ریزی مطالعاتی به منظور بررسی سطح VEGF به عنوان یک فاکتور برای بررسی پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به بدخیمی و همچنین بررسی سطح سرمی هم‌زمان آن نیز ضروری باشد.

References

1. Makrilia N, Lappa T, Xyla V, Nikolaidis I, Syrigos K. The role of angiogenesis in solid tumours: an overview. Eur J Intern Med 2009; 20(7): 663-71.
2. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. J Biol Chem 1992; 267(16): 10931-4.
3. Zhai Y, Ni J, Jiang GW, Lu J, Xing L, Lincoln C, et al. VEGI, a novel cytokine of the tumor necrosis factor family, is an angiogenesis inhibitor that suppresses the growth of colon carcinomas in vivo. FASEB J 1999; 13(1): 181-9.
4. Strizzi L, Catalano A, Vianale G, Orecchia S, Casalini A, Tassi G, et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor in human malignant mesothelioma. J Pathol 2001; 193(4): 468-75.
5. Bachelder RE, Crago A, Chung J, Wendt MA, Shaw LM, Robinson G, et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells. Cancer Res 2001; 61(15): 5736-40.
6. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. Nat Med 2003; 9(6): 669-76.
7. Kerbel RS. Tumor angiogenesis. N Engl J Med 2008; 358(19): 2039-49.
8. Gupta K, Zhang J. Angiogenesis: a curse or cure? Postgrad Med J 2005; 81(954): 236-42.
9. Houck KA, Ferrara N, Winer J, Cachianes G, Li B, Leung DW. The vascular endothelial growth factor family: identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA. Mol Endocrinol 1991; 5(12): 1806-14.
10. Suto K, Yamazaki Y, Morita T, Mizuno H. Crystal structures of novel vascular endothelial growth factors (VEGF) from snake venoms: insight into selective VEGF binding to kinase

www.mui.ac.ir

insert domain-containing receptor but not to fms-like tyrosine kinase-1. J Biol Chem 2005; 280(3): 2126-31.
11. Connolly DT. Vascular permeability factor: a unique regulator of blood vessel function. J Cell Biochem 1991; 47(3): 219-23.
12. Hlatky L, Tsionou C, Hahnfeldt P, Coleman CN. Mammary fibroblasts may influence breast tumor angiogenesis via hypoxia-induced vascular endothelial growth factor up-regulation and protein expression. Cancer Res 1994; 54(23): 6083-6.
13. Senger DR, Van de Water L, Brown LF, Nagy JA, Yeo KT, Yeo TK, et al. Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology. Cancer Metastasis Rev 1993; 12(3-4): 303-24.
14. Hamed EA, El-Noweihi AM, Mohamed AZ, Mahmoud A. Vasoactive mediators (VEGF and TNF-alpha) in patients with malignant and tuberculous pleural effusions. Respirology 2004; 9(1): 81-6.
15. Kalomenidis I, Kollintza A, Sigala I, Papapetropoulos A, Papiris S, Light RW, et al. Angiopoietin-2 levels are elevated in exudative pleural effusions. Chest 2006; 129(5): 1259-66.
16. Economidou F, Antoniou KM, Tzanakis N, Sfiridaki K, Siafakas NM, Schiza SE. Angiogenic molecule Tie-2 and VEGF in the pathogenesis of pleural effusions. Respir Med 2008; 102(5): 774-9.
17. Garrison RN, Kaelin LD, Galloway RH, Heuser LS. Malignant ascites. Clinical and experimental observations. Ann Surg 1986; 203(6): 644-51.
18. Zebrowski BK, Liu W, Ramirez K, Akagi Y, Mills GB, Ellis LM. Markedly elevated levels of vascular endothelial growth factor in malignant ascites. Ann Surg Oncol 1999; 6(4): 373-8.
19. Momi H, Matsuyama W, Inoue K, Kawabata M, Arimura K, Fukunaga H, et al. Vascular endothelial growth factor and proinflammatory cytokines in pleural effusions. Respir Med 2002; 96(10): 817-22.
20. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC, Jr. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. Ann Intern Med 1972; 77(4): 507-13.
21. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. Nature 1989; 339(6219): 58-61.
22. Folkman J. Endothelial cells and angiogenic growth factors in cancer growth and metastasis. Introduction. Cancer Metastasis Rev 1990; 9(3): 171-4.
23. Daniil ZD, Zintzaras E, Kiropoulos T, Papaioannou AI, Koutsokera A, Kastanis A, et al. Discrimination of exudative pleural effusions based on multiple biological parameters. Eur Respir J 2007; 30(5): 957-64.
24. Cheng D, Lee YC, Rogers JT, Perkett EA, Moyers JP, Rodriguez RM, et al. Vascular endothelial growth factor level correlates with transforming growth factor-beta isoform levels in pleural effusions. Chest 2000; 118(6): 1747-53.
25. Kaya A, Poyraz B, Celik G, Ciledag A, Gulbay BE, Savas H, et al. Vascular endothelial growth factor in benign and malignant pleural effusions. Arch Bronconeumol 2005; 41(7): 376-9.
26. Kraft A, Weindel K, Ochs A, Marth C, Zmija J, Schumacher P, et al. Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and nonmalignant disease. Cancer 1999; 85(1): 178-87.
27. Duysinx BC, Corhay JL, Hubin L, Nguyen D, Henket M, Louis R. Diagnostic value of interleukine-6, transforming growth factor-beta 1 and vascular endothelial growth factor in malignant pleural effusions. Respir Med 2008; 102(12): 1708-14.
28. Hirayama N, Tabata C, Tabata R, Maeda R, Yasumitsu A, Yamada S, et al. Pleural effusion VEGF levels as a prognostic factor of malignant pleural mesothelioma. Respir Med 2011; 105(1): 137-42.
29. Lee YCG. Cytokines in pleural diseases. In: Light RW, Le YCG, editors. Textbook of pleural disease. 1st ed. London: Hodder Arnold Publishers; 2003. p. 63-89.
30. Toi M, Inada K, Suzuki H, Tominaga T. Tumor angiogenesis in breast cancer: its importance as a prognostic indicator and the association with vascular endothelial growth factor expression. Breast Cancer Res Treat 1995; 36(2): 193-204.
31. Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, Takatsuka S, Kang SM, Ogawa M, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. Cancer 1996; 77(5): 858-63.
32. Neufeld G, Tessler S, Gitay-Goren H, Cohen T, Levi BZ. Vascular endothelial growth factor and its receptors. Prog Growth Factor Res 1994; 5(1): 89-97.
33. Shinkaruk S, Bayle M, Lain G, Deleris G. Vascular endothelial cell growth factor (VEGF), an emerging target for cancer chemotherapy. Curr Med Chem Anticancer Agents 2003; 3(2): 95-117.
34. Yamamoto S, Konishi I, Mandai M, Kuroda H, Komatsu T, Nanbu K, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in epithelial ovarian neoplasms: correlation with clinicopathology and patient survival, and analysis of serum VEGF levels. Br J Cancer 1997; 76(9): 1221-7.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 157, 1st week, December 2011 Received: 8.8.2011 Accepted: 2.10.2011

Assessing the Diagnostic Value of VEGF Levels in Differentiation of Malignant Serous Discharge (Positive Cytology) from Benign Serous Discharge (Negative Cytology) Using ELISA Method

Noushin Afshar Moghaddam MD[1], Reza Solouki[2], Pouya Akbari[2]

Abstract

Background: One of the factors effective on tumor cell growth and proliferation is vascular endothelial cell growth factor (VEGF). It also affects the formation of serous fluids such as ascites or pleural effusion through vascular permeability. However, detection and differentiation of malignant serous fluids from benign serous fluids have always been a problem. Therefore, the present study aimed to assess the diagnostic value and level of VEGF in differentiation of malignant serous fluids from benign serous fluids.

Methods: This descriptive, analytical case-control study was conducted on 92 serous fluid (ascites and pleural effusion) samples from the pathology ward of Alzahra Hospital (Iran). The study employed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to evaluate samples. The samples were divided into 2 groups (n = 46 in each) of malignant serous fluids (positive cytology) and benign serous fluids (negative cytology). VEGF levels were examined in both groups. The data was analyzed using independent t-test and chi-square test.

Findings: In the malignant effusion group, there were 22 males and 24 females with the mean age of 56.47 ± 14.57 years. In the benign effusion group, there were 30 males and 16 females with the mean age of 57.95 ± 17.07 years. The mean VEGF levels in the malignant effusion and benign effusion groups were 753.71 ± 6.61 and 143.99 ± 1.27 pg/ml, respectively. In addition, VEGF levels in the group with malignant serous discharge were significantly higher compared to the group with benign serous discharge (P = 0.02).

Conclusion: The results of the present study showed that VEGF can be used as a biochemical factor in differentiation of malignant serous fluids (positive cytology) from benign serous fluids (negative cytology).

Keywords: Vascular endothelial cell growth factor, Differentiation, Malignant serous fluid

---

* This paper is derived from a medical doctorate thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

[1] Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[2] Student of Medicine, School of Medicine And Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Pouya Akbari, Email: lexlls8844@yahoo.com