

Comparison of Nail Molybdenum and Plasma Malondialdehyde Levels Between Patients with Esophageal Cancer from the High-Risk Region of Gonbad-e Kavus and Healthy Individuals from the Low-Risk Region of Sari

Fateme Moslemi¹,
 Mohammad Doroudian²,
 Masoumeh Karimi³,
 Mohammad Ebrahimi Ranjbar⁴,
 Abdolkarim Mahrooz⁵,
 Abbas Khonakdar-Tarsi⁶,
 Hadis Musavi⁷

¹M.Sc. in Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

²Assistant Professor, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

³Assistant Professor, Department of Radiation Oncology, Faculty of Paramedical Sciences, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁴M.Sc. in Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁵Professor, Immunogenetics Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁶Associate Professor, Immunogenetics Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁷Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry and Medical Genetics, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 9, 2026; Accepted June 1, 2026)

Abstract

Background and purpose: Esophageal cancer is a prevalent malignancy with a high mortality rate in Iran. Golestan Province, particularly Gonbad-e Kavus, is considered one of the major geographic hotspots for this disease. Molybdenum, an essential trace element involved in the activity of several enzymes, and malondialdehyde (MDA), a biomarker of oxidative stress, may play important roles in cancer-related biological mechanisms. This study aimed to investigate the relationship between nail molybdenum levels and oxidative stress, as measured by malondialdehyde levels, in patients with esophageal cancer compared with healthy individuals.

Materials and methods: This case-control study was conducted among 30 patients with esophageal cancer from Gonbad-e Kavus and 30 healthy individuals from Sari, Iran. The molybdenum content of fingernail and toenail samples was measured using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Additionally, plasma malondialdehyde levels were assessed using a spectrophotometric method based on the reaction between malondialdehyde and thiobarbituric acid. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism software.

Results: The mean concentration of molybdenum in the nail samples of cancer patients was lower than that of the control group; however, this difference was not statistically significant ($P > 0.05$). In contrast, malondialdehyde levels in the patient group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). Correlation analysis revealed no significant association between these two parameters in either the healthy or patient groups ($P > 0.05$).

Conclusion: This study found no evidence of significantly reduced nail molybdenum concentrations in patients with esophageal cancer compared with healthy individuals. However, the elevated MDA levels observed among patients support the hypothesis that oxidative stress may contribute to the pathogenesis of esophageal cancer. Future studies with larger sample sizes, preferably using prospective cohort designs and incorporating assessments of additional trace elements and their interactions, are recommended.

Keywords: Esophageal cancer, molybdenum, malondialdehyde, oxidative stress, nail

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 36 (257): 110-119 (Persian).

Corresponding Author: Abbas Khonakdar-Tarsi - Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran, Iran (E-mail: Khonakdarab@gmail.com) & Hadis Musavi- Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (Email: msc.musavi66@gmail.com)

مقایسه سطح مولیبدن ناخن و مالون دی آلدهید پلاسما در بیماران مبتلا به سرطان مری از منطقه پرخطر گنبد کاووس و افراد سالم از منطقه کم خطر ساری

فاطمه مسلمی^۱
محمد درودیان^۲
معصومه کریمی^۳
محمد ابراهیمی رنجبر^۴
عبدالکریم مهرروز^۵
عباس خنکدار طارسی^۶
حدیث موسوی^۷

چکیده

سابقه و هدف: سرطان مری یکی از سرطان‌های شایع با نرخ بالای مرگ و میر در ایران است. استان گلستان و شهرستان گنبد کاووس از جمله کانون‌های جغرافیایی مورد توجه در این زمینه هستند. مولیبدن به عنوان یک عنصر ضروری در فعالیت آنزیم‌های بدن و مالون دی آلدهید به عنوان نشانگر استرس اکسیداتیو، می‌توانند نقش مهمی در مکانیسم‌های مرتبط با سرطان ایفا کنند. این مطالعه، با هدف بررسی ارتباط بین سطح مولیبدن ناخن و شاخص استرس اکسیداتیو (مالون دی آلدهید) در بیماران مبتلا به سرطان مری در مقایسه با افراد سالم، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد-شاهدی، بر روی ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان مری از شهر گنبد کاووس و ۳۰ فرد سالم از شهر ساری انجام شد. میزان مولیبدن در نمونه‌های ناخن دست و پای افراد، با روش طیف‌سنجی جرمی با پلاسمای جفت شده القایی (ICP-MS) اندازه‌گیری شد. هم‌چنین سطح مالون دی آلدهید نمونه‌های پلاسما با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری (بر پایه واکنش با تیوباریتوریک اسید) سنجیده شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism انجام گرفت.

یافته‌ها: میانگین غلظت مولیبدن در نمونه‌های ناخن بیماران سرطانی نسبت به گروه کنترل، پایین‌تر بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). در مقابل سطح مالون دی آلدهید در گروه بیماران، به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود ($P < 0/05$). آنالیز همبستگی، رابطه معنی‌داری بین این دو پارامتر در هیچ یک از دو گروه سالم و سرطانی نشان نداد ($P > 0/05$).

استنتاج: شواهدی مبنی بر کاهش مولیبدن ناخن در بیماران مبتلا به سرطان مری نسبت به افراد سالم یافت نشد، اما افزایش MDA همسو با فرضیه نقش استرس اکسیداتیو است. انجام مطالعات آینده با حجم نمونه بزرگ‌تر، در قالب کوهورت آینده‌نگر و با در نظر گرفتن نسبت‌های عناصر کمیاب دیگر توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سرطان مری، مولیبدن، مالون دی آلدهید، استرس اکسیداتیو، ناخن

مؤلف مسئول: عباس خنکدار طارسی - ساری: ۱۸ جاده خزرآباد، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
E-mail: Khonakdarab@gmail.com

حدیث موسوی - ساری: ۱۸ جاده خزرآباد، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
E-mail: msc.musavi66@gmail.com

۱. کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲. استادیار، گروه آموزشی سلولی-مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳. استادیار، گروه رادیوتراپی-آنکولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۴. کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۵. استاد، گروه آموزشی بیوشیمی و ژنتیک، مرکز تحقیقات ژنتیک ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۶. دانشیار، گروه آموزشی بیوشیمی و ژنتیک، مرکز تحقیقات ژنتیک ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۷. استادیار، گروه آموزشی بیوشیمی و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۱۱/۲۹ تاریخ تصویب: ۱۴۰۵/۳/۱۱

مقدمه

سرطان مری (EC) نهمین سرطان شایع و ششمین علت مرگ و میر ناشی از سرطان، در سراسر جهان است. کارسینوم سلول سنگفرشی مری (ESCC) و آدنوکارسینوم مری (EAC) دو زیر گروه بافت شناسی اصلی با ویژگی‌های اپیدمیولوژیک و بالینی متمایز هستند (۱). سالانه بیش از ۶۰۰۰۰۰ نفر در سراسر جهان به سرطان مری تشخیص داده می‌شوند و میزان بقای ۵ ساله آن کم‌تر از ۲۰ درصد است. مناطق پرخطر که به کمربند EC معروف است، شمال ایران، آسیای مرکزی، مرکز و شمال چین را در بر می‌گیرد (۲). در این میان، استان گلستان و منطقه گنبد کاووس در شمال ایران، به دلیل نرخ بالای سرطان مری و به خصوص کارسینوم سلول سنگفرشی، همواره کانون توجه مطالعات اپیدمیولوژیک بوده است (۳). دلایل مختلفی برای بالا بودن نرخ وقوع سرطان مری در این نواحی پیشنهاد شده است که می‌توان به نوشیدن چای داغ، مصرف کم میوه و سبزیجات، نوشیدن آب غیر لوله‌کشی، مصرف غذاهای شور، مصرف زیاد گوشت و از دست دادن دندان، اشاره کرد (۴، ۵). با توجه به مرگ و میر بالا و پیش‌آگهی ضعیف سرطان مری، نشانگرهای زیستی قابل اعتماد و کم‌تهاجمی برای تشخیص زود هنگام و ارزیابی وضعیت بیماری، از اولویت‌های پژوهشی در مناطق پرخطر به شمار می‌رود.

مطالعات متالومیکس نشان می‌دهند، پروفایل فلزی بافت‌های سرطانی در بیماران ESCC، در مقایسه با بافت‌های سالم پیرامونی تفاوت‌های چشمگیری دارد و می‌تواند به عنوان نشانگر بالقوه برای تشخیص و پیش‌بینی بیماری مورد استفاده قرار گیرد (۶). از آنجایی که نوسانات عناصر در خون و یا ادرار ممکن است تحت تأثیر رژیم غذایی کوتاه‌مدت یا پاسخ‌های مرحله حاد باشند، استفاده از ماتریکس‌های پایداری نظیر ناخن که منعکس‌کننده مواجهه طولانی مدت و وضعیت ذخایر بدنی هستند، در مطالعات اپیدمیولوژیک برتری یافته است (۷).

یکی از این عناصر کمیاب کلیدی، مولیبدن است. میزان نیاز غذایی به آن، اندک است و منابع اصلی آن، حبوبات، غلات و مغزها هستند که میزان آن‌ها به ترکیب خاک بستگی دارد (۸). مولیبدن به عنوان یک کوفاکتور ضروری در آنزیم‌های زانتین‌اکسیداز، سولفیت‌اکسیداز، آلدهیداکسیداز و جزء میتوکندریایی کاهنده آمیدوکسیم (mARC) نقش دارد و در فرآیندهای تجزیه اسیدهای آمینه گوگرددار، سم‌زدایی آلدهیدها و متابولیسم پورین‌ها اهمیت پیدا می‌کند. اختلال در عملکرد این آنزیم‌ها با بیماری‌های نقرس، هیپراوریسمی، ایسکمی، کبد چرب و دیابت مرتبط است (۹، ۱۰). کمبود مولیبدن می‌تواند موجب اختلال در سیستم تولیدمثلی و کندی رشد شود (۱۰). مولیبدن می‌تواند از طریق فعالسازی checkpoint چرخه سلولی G2/M، از ورود سلول‌های دارای آسیب DNA، به فاز میتوز جلوگیری کند و نقش بالقوه‌ای در محدود کردن جهش‌ها ایفا نماید (۱۱). با این حال، اثرات زیستی مولیبدن وابسته به دوز آن، وضعیت اکسیداتیو سلول و نوع بافت هدف است و می‌تواند در شرایط خاص از جمله سرطان، پیامدهای متفاوتی ایجاد کند (۱۲).

مطالعات حیوانی و اپیدمیولوژیک، نقش محافظتی مولیبدن را نشان داده‌اند. به طوری که سطوح پایین آن در سرم بیماران مبتلا به سرطان مری، احتمالاً با کاهش توانایی در سم‌زدایی ترکیبات کارسینوژن مرتبط است (۱۳). یافته‌های مشابهی در سرطان معده نیز گزارش شده است. علاوه بر این، افزایش مولیبدن با کاهش بروز سرطان پستان، افزایش خطر بروز سرطان پانکراس و کیسه صفرا مرتبط است (۱۷-۱۴). این ناهمگونی یافته‌ها بیانگر پیچیدگی نقش مولیبدن در پاتوژنز سرطان و وابستگی آن به نوع بافت و شرایط بیولوژیک است. استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها نیز از مسیرهای کلیدی پاتوژنز EC محسوب می‌شوند. مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به عنوان محصول نهایی این فرآیند، شاخصی معتبر برای ارزیابی شدت استرس

اکسیداتیو است که در بیماران مبتلا به سرطان مری، بالاتر از افراد سالم گزارش شده است (۱۸). اگر چه مولیبدن در غلظت‌های فیزیولوژیک می‌تواند تعادل اکسیداتیو را حفظ کند، اما فرضیات متناقضی در مورد ارتباط آن با شاخص‌های استرس اکسیداتیو وجود دارد. برخی مطالعات، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی برای غلظت‌های پایین مولیبدن گزارش کرده‌اند، در حالی که افزایش آن ممکن است با افزایش MDA و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی همراه باشد (۱۲).

با وجود مطالعات پراکنده، هنوز وضعیت تجمعی مولیبدن در ناخن و ارتباط آن با استرس اکسیداتیو در جمعیت‌های بومی پرخطر مانند گنبد کاووس، به خوبی روشن نشده است. بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف مقایسه سطح مولیبدن ناخن و MDA پلاسما در بیماران مبتلا به سرطان مری از منطقه گنبد کاووس و افراد سالم از منطقه ساری، و همچنین ارزیابی همبستگی بالقوه بین این دو متغیر، طراحی شده است. انتظار می‌رود یافته‌های این پژوهش، شواهدی اولیه برای فرضیه‌های آینده درباره نقش تعادل اکسیداتیو و عناصر کمیاب در پاتوژنز سرطان مری در مناطق پرخطر فراهم آورد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی است که در آن ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان مری و ۳۰ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های سرطانی از شهرستان گنبد کاووس استان گلستان، به عنوان منطقه‌ای با نرخ بروز بالای سرطان مری، جمع‌آوری شدند. همچنین نمونه‌های کنترل از شهر ساری در استان مازندران، با نرخ پایین‌تر وقوع سرطان مری و به منظور افزایش قدرت مقایسه، انتخاب شدند. انتخاب نمونه‌ها از بین موارد در دسترس انجام شد. معیار ورود به مطالعه برای بیماران، تشخیص قطعی سرطان مری، پیش از شروع هر گونه اقدام درمانی (شیمی‌درمانی یا پرتودرمانی) بود. افراد گروه کنترل با حداقل سن بیست سال، از میان افراد

سالم انتخاب شدند که فاقد هرگونه بیماری مزمن یا التهابی و بدون سابقه سرطان بوده‌اند. همچنین هیچ یک از افراد مورد مطالعه، مکمل‌های حاوی مولیبدن مصرف نکرده‌اند. رضایت‌نامه کتبی از تمامی افراد مورد مطالعه اخذ گردید و کد اخلاق این فعالیت با شماره IR.MAZUMS.REC.1399.7063 در دانشگاه علوم پزشکی مازندران تصویب شد.

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

جهت سنجش استرس اکسیداتیو، از هر فرد، ۲ میلی‌لیتر خون وریدی در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد. پس از انجام سانتریفیوژ، پلاسما از سایر اجزای خون جدا شده و تا زمان انجام آزمایش، در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

علاوه بر نمونه‌های خون، ناخن‌های دست و پای افراد برای ارزیابی تجمع عنصر مولیبدن جمع‌آوری شد. ناخن‌ها پس از کوتاه کردن در پاکت‌های کاغذی تمیز قرار گرفتند و تا زمان انجام آزمایش، در شرایط خشک و به دور از آلودگی محیطی نگهداری شدند. به منظور آماده‌سازی نمونه‌های ناخن، ابتدا با آب مقطر و سپس با استون شسته شدند تا آلودگی‌های سطحی برطرف شود. سپس در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا استون باقی‌مانده تبخیر گردد. پس از خشک شدن، وزن هر نمونه اندازه‌گیری شد که میانگین آن‌ها، در حدود ۰/۱ گرم بود.

اندازه‌گیری مولیبدن در ناخن

برای هضم نمونه‌های ناخن، از ترکیب اسیدنیتریک (Sigma-Aldrich) و اسیدپرکلریک (Royalex) با نسبت ۶ به ۱ استفاده شد. این روش به دلیل قدرت اکسیدکنندگی بالا و قابلیت تجزیه کامل ماتریکس آلی مقاوم کراتین در ناخن انتخاب گردید. استفاده از اکسیدان‌های قوی مانند اسیدپرکلریک، برای آزادسازی مؤثر طیف وسیعی از عناصر بافت‌های بیولوژیک پیچیده، ضروری

روش ICP-MS در جدول شماره ۱ آورده شده است. مقادیر LOD, LOQ بر حسب وزن خشک ناخن محاسبه شده‌اند.

جدول شماره ۱: پارامترهای کالیبراسیون و حساسیت روش ICP-MS برای اندازه‌گیری مولیبدن

جرم اتمی (amu)	شیب (cps per $\mu\text{g/L}$)	عرض از مبدأ	ضریب همبستگی	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)
۹۷٫۹۰۶	۳۹۱٫۹	۰٫۰۰۰۳	۰٫۹۹۹۶۱	۰٫۰۶	۰٫۲

اندازه‌گیری MDA در پلاسما

برای سنجش میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، از کیت اختصاصی سنجش MDA شرکت کوشان‌زیست استفاده شد. در این جا، MDA موجود در نمونه‌های پلاسما در شرایط اسیدی با تیوباریتوریک اسید (TBA) واکنش داده و کمپلکس صورتی‌رنگ MDA-TBA تشکیل می‌دهد. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقادیر MDA بوده و با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر در طول موج ۵۳۵ نانومتر به روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد. محدوده اندازه‌گیری کیت ۰ تا ۵۰ میکرومولار و ضریب تغییرات درون آزمایشی و بین‌آزمایشی، به ترتیب ۶/۲ و ۷/۱ درصد بود.

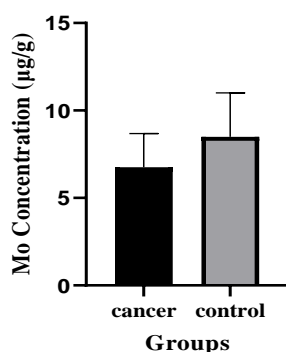
در ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر نمونه پلاسما یا استاندارد MDA به هر میکروتیوب اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول دترجنت، به میکروتیوب‌ها افزوده شده و به مدت ۵ دقیقه انکوبه شدند. در گام بعدی، ۲۵۰ میکرولیتر محلول رنگ‌دهنده به هر میکروتیوب اضافه شد. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در بن‌ماری ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحله بعدی، نمونه‌ها از بن‌ماری خارج و به مدت ۱۰ دقیقه روی یخ قرار گرفتند تا واکنش متوقف شود. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، با سرعت $1600 \times g$ سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعدی، ۲۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت شفاف هر نمونه به چاهک‌های موجود در پلیت منتقل شد. در نهایت جذب نوری نمونه‌ها در طول

است (۱۹). نسبت انتخابی بین دو اسید، به گونه‌ای طراحی شد که ضمن حفظ قدرت اکسیدکنندگی لازم برای معدنی‌سازی کامل نمونه، بالاترین سطح ایمنی را تضمین نماید. در این پروتکل، حجم بالای اسیدنیتریک، بخش عمده اکسیداسیون اولیه را بر عهده داشته و از تشکیل بخارات انفجاری پرکلرات جلوگیری می‌کند، در حالی که حجم کنترل شده اسید پرکلریک، جهت تکمیل فرآیند هضم و اطمینان از شفافیت نهایی محلول به کار گرفته شد. حجم کل اسید مورد استفاده برای هر نمونه، ۱۰ میلی‌لیتر بود. هضم با حرارت‌دهی تدریجی تا دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت تا اسیدپرکلریک کاملاً تبخیر شود. در طول هضم، روی بشرها شیشه ساعت قرار داده شد تا شرایط رفلاکس فراهم شود. بدین ترتیب از تبخیر سریع اسیدها، محلول و اتلاف نمونه جلوگیری شد. در پایان، محلول باقی‌مانده (کم‌تر از ۱ میلی‌لیتر) با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. تمامی ظروف و بشرها با استفاده از اسیدنیتریک و آب مقطر شسته شدند. نمونه‌های محلول در ظروف پلی‌اتیلنی ۵۰ میلی‌لیتری نگهداری شدند.

اندازه‌گیری مولیبدن با استفاده از دستگاه ICP-MS مدل PerkinElmer ELAN 9000 انجام شد. طیف‌سنجی با پلاسما جفت شده القایی (ICP-MS) به عنوان استاندارد طلایی تحلیل عناصر در نمونه‌های زیستی شناخته می‌شود. این روش نسبت به روش‌های سنتی جذب اتمی دارای مزایایی نظیر دقت، حساسیت و صحت بالاتر است (۲۰).

کالیبراسیون دستگاه‌ها با استفاده از استاندارد مرجع گواهی شده (CRM مدل Mix1، Sigma-Aldrich) انجام شد. در ابتدای کار، بلانک اندازه‌گیری شد و سپس CRM خوانده شد. پس از هر ۱۰ نمونه، مجدد CRM و بلانک اندازه‌گیری شدند تا از پایداری و صحت عملکرد دستگاه اطمینان حاصل شود. مقادیر حد تشخیص (LOD) و حد کمی‌سازی (LOQ)، ایزوتوپ مورد استفاده و سایر جزئیات مربوط به کالیبراسیون

در گروه سرطانی برابر با $6/750 \pm 2/236 \mu\text{g/g}$ (انحراف معیار \pm میانگین) و در گروه کنترل $\mu\text{g/g}$ $2/236 \pm 8/493$ بود. آزمون t مستقل با اصلاح Welch نشان داد که اختلاف میان دو گروه از نظر آماری معنی داری نیست ($P = 0/5859$) (تصویر شماره ۱). اختلاف میانگین ها برابر با $1/743 \mu\text{g/g}$ ، فاصله اطمینان ۹۵ درصد (CI) این اختلاف از $-4/722$ تا $8/207 \mu\text{g/g}$ بود و مقدار (η^2) برابر با $0/1009$ محاسبه شد که نشان دهنده اندازه اثر بسیار کوچک است.



تصویر شماره ۱: مقایسه غلظت مولیبدن ($\mu\text{g/g}$) در نمونه‌های ناخن بین گروه‌های کنترل و بیماران مبتلا به سرطان مری، خطوط، نشان‌دهنده خطای استاندارد میانگین (SEM) هستند. اختلاف غلظت مولیبدن بین گروه‌ها از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$).

مقایسه سطح *MDA* پلاسما بین بیماران و گروه کنترل نتایج تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری غلظت *MDA* نمونه‌های پلاسما در دو گروه کنترل و سرطان براساس آزمون t مستقل با اصلاح Welch نشان داد میانگین غلظت *MDA* در گروه سرطان $16/0 \pm 0/066 \mu\text{M}$ و در گروه کنترل $4/066 \pm 5/960 \mu\text{M}$ بوده است ($P = 0/0185$) (تصویر شماره ۲). اختلاف میانگین‌ها، $10/11 \mu\text{M}$ - و هم‌چنین بازه اطمینان (CI) ۹۵ درصد از $-18/41$ تا $16/816$ - و اندازه اثر (η^2) $0/1680$ به‌دست آمد که بیانگر اندازه اثر متوسط می‌باشد.

موج 535 نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر خوانده شد. با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت *MDA* موجود در هر نمونه مشخص شد.

تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism 8.4.0 انجام شد. برای بررسی تفاوت میانگین بین گروه‌ها، به دلیل نابرابری واریانس‌ها و تفاوت حجم نمونه بین گروه‌های کنترل و سرطانی، از آزمون t با اصلاح ولچ (Welch' t test) استفاده شد. همچنین برای ارزیابی رابطه بین متغیرها، از آزمون همبستگی اسپیرمن (correlation Spearman' rank) بهره گرفته شد. سطح معنی داری برای تمامی آزمون‌ها، $0/05$ در نظر گرفته شد و مقادیر P کم از این مقدار، به عنوان معنی دار آماری گزارش شد.

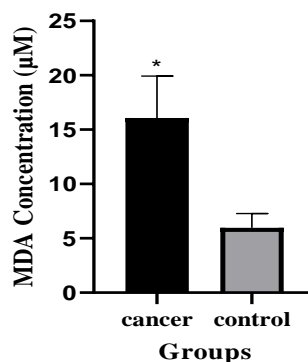
یافته‌ها

در این مطالعه ۶۰ نفر شامل ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان مری و ۳۰ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. در گروه بیماران، ۱۶ نفر (۵۳/۳ درصد) مرد و ۱۴ نفر (۴۶/۷ درصد) زن بودند. انحراف معیار \pm میانگین سن بیماران $8/5 \pm 65/4$ سال گزارش شد. در گروه کنترل، ۴ نفر (۱۳/۳ درصد) مرد و ۲۶ نفر (۸۶/۷ درصد) زن بودند و میانگین سنی آن‌ها $6/2 \pm 58/3$ سال بود. ویژگی‌های دموگرافیک شرکت کنندگان در جدول شماره ۲، ارائه شده است.

جدول شماره ۲: ویژگی‌های دموگرافیک شرکت کنندگان

آزمون	سطح معنی داری	گروه بیمار (n=30)	گروه کنترل (n=30)	ویژگی
t-test	0/01	$65/4 \pm 8/5$	$58/3 \pm 6/2$	انحراف معیار سن \pm میانگین
Chi-square	0/01	16 (53.3)	4 (13.3)	جنسیت، تعداد (درصد)
t-test	<0/01	$21/8 \pm 2/4$	$25/3 \pm 1/9$	انحراف معیار \pm میانگین: BMI(kg/m ²)

مقایسه سطح مولیبدن ناخن بین بیماران و گروه کنترل نتایج حاصل از اندازه‌گیری غلظت مولیبدن در نمونه‌های ناخن بیماران مبتلا به سرطان مری و افراد سالم مورد بررسی قرار گرفت. میانگین غلظت مولیبدن



تصویر شماره ۲: مقایسه مالون دی آلدئید (µM) در نمونه های پلاسما بین گروه های کنترل سالم و بیماران مبتلا به سرطان مری، حطو، نشان دهنده خطای استاندارد میانگین هستند. غلظت MDA در گروه سرطانی به طرز معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود (P=۰/۱۸۵)

تحلیل همبستگی بین سطح MDA پلاسما و مولیبدن ناخن
به منظور بررسی ارتباط بین سطح مولیبدن ناخن و MDA موجود در نمونه های پلاسما از آزمون همبستگی اسپیرمن استفاده شد (جدول شماره ۳). این آزمون با توجه به عدم توزیع نرمال داده ها انتخاب گردید. در گروه کنترل، ضریب همبستگی اسپیرمن برابر با ۰/۲۹۴۴- محاسبه شد که نشان دهنده عدم وجود همبستگی معنی دار آماری است (P=۰/۳۲۶۴). در گروه بیماران مبتلا به سرطان مری، ضریب همبستگی اسپیرمن برابر با ۰/۱۲۷۳- و مقدار P دوطرفه ۰/۵۸۲۵ بود که مجدداً عدم معنی داری همبستگی را تأیید می کند.

جدول شماره ۳: نتایج همبستگی اسپیرمن بین مولیبدن ناخن و MDA پلاسما

گروه	ضریب اسپیرمن (r)	بازه اطمینان ۹۵ درصد	P دوطرفه	سطح معنی داری
کنترل	-۰/۲۹۴۴	-۰/۳۳۵۹ تا ۰/۳۲۲۸	۰/۳۲۶۴	غیر معنی دار
سرطانی	-۰/۱۲۷۳	-۰/۵۲۹۶ تا ۰/۳۳۴۳	۰/۵۸۲۵	غیر معنی دار

بحث

در این مطالعه، سطح مالون دی آلدئید (MDA) پلاسما و غلظت مولیبدن ناخن در بیماران مبتلا به سرطان مری و افراد سالم مورد بررسی قرار گرفت. یافته های حاصل نشان داد غلظت MDA در بیماران مبتلا

به سرطان مری به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل است، در حالی که تفاوت معنی داری در غلظت مولیبدن ناخن بین دو گروه، مشاهده نشد. همچنین تحلیل همبستگی نشان داد که بین سطح مولیبدن ناخن و MDA پلاسما در هیچ یک از دو گروه، ارتباط آماری معنی داری وجود ندارد.

مولیبدن یک عنصر کمیاب ضروری است که به صورت کوفاکتور در ساختار آنزیم های سولفیت اکسیداز، زانتین اکسیداز، آلدئید اکسیداز و mARC نقش اساسی ایفا می کند. فعالیت این آنزیم ها از طریق کوفاکتور مولیبدن با ساختاری سه حلقه ای متشکل از پترین، دی تیول و پیران، انجام می شود. این آنزیم ها در مسیرهای سم زدایی، متابولیسم پورین ها و تعادل اکسیداتیو نقش دارند که می تواند به طور مستقیم و غیر مستقیم بر فرآیندهای مرتبط با سرطان اثر گذار باشند (۹، ۲۱).

مولیبدن از طریق خاک وارد زنجیره غذایی شده و در حبوبات، غلات و محصولات حیوانی یافت می شود. مقادیر مازاد آن، از طریق ادرار دفع می گردد. با توجه به این که فراهمی زیستی عناصر معدنی به ترکیب رژیم غذایی و تداخل با سایر ریز مغذی ها وابسته است، برآورد دریافت مولیبدن صرفاً بر اساس داده های غذایی می تواند با خطا همراه باشد. از این رو، استفاده از نشانگرهای زیستی مانند ناخن به عنوان شاخص تجمع بلند مدت عناصر کمیاب، روش بهتری برای ارزیابی وضعیت بدن نسبت به پرسشنامه های غذایی محسوب می شود (۲۲، ۲۳).

مطالعات پیشین نشان داده اند که کمبود مولیبدن در محیط رشد و رژیم غذایی، با افزایش خطر بروز سرطان مری همراه است. همچنین سطوح مولیبدن در سرم، مو، ناخن و ادرار افراد ساکن مناطق پرخطر به طور معنی داری کم تر از مناطق کم خطر گزارش شده است. بنابراین کاهش مولیبدن به عنوان یکی از اجزای کلیدی الگوی تغذیه ای و محیطی، با افزایش احتمال بروز ESCC همراه است (۲۴).

اپی تلیوم مری با داشتن بالاترین میزان شاخص میتوزی در میان سایر اپی تلیوم های بدن، برای حفظ

بازسازی خود به وضعیت تغذیه‌ای مطلوب از ریزمغذی‌ها نیاز دارد. در مراحل اولیه ظهور ضایعات پیش‌سرطانی، اپی‌تلوم مری به شدت نازک می‌شود و سلول‌های بازال کاهش می‌یابند. با تداوم رژیم غذایی فقیر از مواد غذایی ضروری مانند مولیبدن، این آتروفی به بازسازی نامناسب منجر می‌شود، به طوری که ضایعاتی مانند پاراکراتوز، هیپرکراتوز، هیپرپلازی سلول‌های بازال، کانون‌های سلول‌های آناپلاستیک و دیسپلازی ایجاد می‌گردد. در مراحل بعدی، التهاب، ادم و فیروز دیده می‌شود و در نهایت تومورهای بدخیم انسدادی در نواحی میانی و تحتانی مری بروز می‌کنند (۲۴).

افزایش معنی‌دار MDA پلاسما، بیماریار مبتلا به سرطان مری در این مطالعه (post-hoc power=۰/۷۹)، می‌تواند بیانگر تشدید استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها باشد. تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، با ناپایداری ژنومی، تغییر متابولیسم سلولی، مهار آپوپتوز، تقویت رگ‌زایی و تهاجم توموری ارتباط مستقیم دارد. به طوری که نقش آن در پیشرفت سرطان‌های معده، کولورکتال، ریه، مثانه و پستان، تأیید شده است. ROS با جدا کردن یک اتم هیدروژن از اسیدهای چرب غیراشباع، رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌کنند. این رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های زنجیره‌ای را شروع می‌کنند که در نهایت منجر به تخریب کامل غشای سلولی می‌شود. محصولات تجزیه این لیپیدهای پراکسید شده، ترکیبات واکنش‌پذیری از جمله MDA ایجاد می‌کنند. این موضوع، در سرطان‌های کولون، سینه و پروستات مشاهده شده است (۲۵، ۲۶). یافته‌های مطالعه حاضر همسو با این شواهد، نقش استرس اکسیداتیو را در پاتوفیزیولوژی سرطان مری تأیید می‌کند.

در مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌داری در غلظت مولیبدن ناخن بین دو گروه مشاهده نشد و همبستگی معنی‌داری بین مولیبدن ناخن و MDA پلاسما در هیچ یک از گروه‌ها یافت نشد. مولیبدن در مطالعات اپیدمیولوژیک با کاهش خطر سرطان مری مرتبط دانسته

شده بود، اما یافته‌های مطالعه حاضر این ارتباط را تأیید نمی‌کند. این عدم تفاوت می‌تواند ناشی از حجم محدود نمونه، توان آماری بسیار پایین برای مولیبدن (post-hoc power=۰/۰۸) و ماهیت ناخن به عنوان شاخص تجمع بلند مدت باشد که تغییرات وابسته به مرحله بیماری را منعکس نمی‌کند.

پیش از تفسیر نهایی یافته‌ها، باید بر دو محدودیت اساسی مطالعه حاضر، تأکید کرد. نخست، عدم همسانی دو گروه از نظر جنس و سن است؛ گروه کنترل ۸۶/۷ درصد زن و گروه بیمار ۵۳/۳ درصد مرد داشتند. این تفاوت جنسیتی نوعی سوگیری محسوب می‌شود، چرا که متابولیسم عناصر کمیاب، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو به طور ذاتی بین زنان و مردان متفاوت است. نکته بعدی انتخاب گروه کنترل از شهر ساری و بیماراران از شهر گنبد بوده است. مولیبدن عنصری وابسته به خاک و آب منطقه است و سطوح آن در محیط می‌تواند متفاوت باشد. بنابراین تفاوت جغرافیایی نمونه‌گیری، نوعی عامل مخدوشگر برای سطح مولیبدن ناخن محسوب می‌شود.

افزایش معنی‌دار MDA در بیماراران، این فرضیه را تقویت می‌کند که سنجش MDA پلاسما، به عنوان یک نشانگر کم‌هزینه و در دسترس می‌تواند در غربالگری اولیه یا پیش‌استرس اکسیداتیو در جمعیت‌های پرخطر (مانند منطقه گنبد کاووس) مورد استفاده قرار گیرد، هر چند تأیید این کاربرد نیازمند مطالعات کوهورت آینده‌نگر با طراحی بالینی است.

با توجه به محدودیت‌های طراحی مطالعه (عدم همسانی جغرافیایی و جنسی)، مطالعات آینده باید با نمونه‌گیری همسان از یک منطقه، حجم نمونه بالاتر (حدود ۱۰۰ نفر در هر گروه) و طراحی هم‌گروهی آینده‌نگر انجام شود. همچنین بررسی همزمان سایر عناصر کمیاب و نسبت آن‌ها، ارزیابی مجموعه‌ای از شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی و در نظر گرفتن عوامل مرتبط با سبک زندگی، می‌تواند به

بیوشیمی و مرکز تحقیقات سلولی دانشکده پزشکی واقع در دانشگاه علوم پزشکی مازندران به دلیل در اختیار گذاشتن امکانات پژوهشی و حمایت‌های معنوی، صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل آورند.

تبیین دقیق‌تر نقش عناصر کمیاب در تعادل اکسیداتیو و پاتوژنز سرطان مری کمک کند.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از پرسنل محترم آزمایشگاه تشخیص پزشکی مهر ساری، آزمایشگاه

References

- 1- Sheikh M, Roshandel G, McCormack V, Malekzadeh R. Current status and future prospects for esophageal cancer. *Cancers* 2023;15(3):765 PMID: 36765722.
- 2- Li J, Xu J, Zheng Y, Gao Y, He S, Li H, et al. Esophageal cancer: Epidemiology, risk factors and screening. *Chin J Cancer Res* 2021;33(5):535-547 PMID: 34815628.
- 3- Ghasemi-Kebria F, Semnani S, Fazel A, Etemadi A, Amiriani T, Naeimi-Tabiei M, et al. Esophageal and gastric cancer incidence trends in Golestan, Iran: An age-period-cohort analysis 2004 to 2018. *Int J Cancer* 2023;153(1):73-82 PMID: 36943026.
- 4- Sheikh M, Poustchi H, Pourshams A, Etemadi A, Islami F, Khoshnia M, et al. Individual and combined effects of environmental risk factors for esophageal cancer based on results from the Golestan Cohort Study. *Gastroenterology* 2019;156(5):1416-1427 PMID: 30611753.
- 5- Ghasemi S, Dreassi E, Khosravi A, Mahaki B. Stomach, Esophageal, and Lung Cancer Mortality Risk and Their Shared Risk Factors in Iran: A County-Level Spatial Analysis. *Int J Prev Med* 2024;15:54 PMID: 39539575.
- 6- Zhang Y, He J, Jin J, Ren C. Recent advances in the application of metallomics in diagnosis and prognosis of human cancer. *Metallomics* 2022;14(7):mfac037 PMID: 35648480.
- 7- Savinov S, Sharypova R, Drobyshev A. Determination of the trace element composition of human nails. *Journal of Analytical Chemistry* 2020;75(3):409-415.
- 8- Joun JH, Li L, An JN, Jang J, Oh YK, Lim CS, et al. Antioxidative effects of molybdenum and its association with reduced prevalence of hyperuricemia in the adult population. *Plos One* 2024;19(8):e0306025 PMID: 39088565.
- 9- Adamus JP, Ruszczyńska A, Wyczałkowska-Tomasik A. Molybdenum's role as an essential element in enzymes catabolizing redox reactions: a review. *Biomolecules* 2024;14(7):869 PMID: 39062583.
- 10- Mehri A. Trace elements in human nutrition (II)—an update. *Int J Prev Med* 2020;11(1):2 PMID: 32042399.
- 11- Terpilowska S, Siwicki AK. Genotoxicity and mutagenicity of molybdenum (III) and iron (III) and interactions between these microelements. *Trace Elements and Electrolytes* 2020;37(4):180.
- 12- Terpilowska S, Siwicki AK. Pro-and antioxidant activity of chromium (III), iron (III), molybdenum (III) or nickel (II) and their mixtures. *Chem Biol Interact* 2019;298:43-51 PMID: 30389395.
- 13- Akhter M, Parry AH, Dar AW, Gadda IR. Molybdenum Deficiency among Esophageal Cancer Patients. *Asian Pac J*

- Cancer Prev 2025;26(10):3599-3602
PMID: 41148597.
- 14- Byeon S, du Toit-Thompson T, Hipperson L, Maloney S, Wenzel R, Gill AJ, et al. Serum and tissue metallome of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Sci* 2024;115(5):1446-1458 PMID: 38438247.
- 15- Lee MH, Gao YT, Huang YH, McGee EE, Lam T, Wang B, et al. A metallomic approach to assess associations of serum metal levels with gallstones and gallbladder cancer. *Hepatology* 2020;71(3):917-928 PMID: 31318976.
- 16- Lin Y, Wu C, Yan W, Guo S, Liu B. Five serum trace elements associated with risk of cardia and noncardia gastric cancer in a matched case-control study. *Cancer Management and Research* 2020:4441-4451.
- 17- Niehoff NM, O'Brien KM, Keil AP, Levine KE, Liyanapatirana C, Haines LG, et al. Metals and breast cancer risk: a prospective study using toenail biomarkers. *Am J Epidemiol* 2021;190(11):2360-2373 PMID: 34268559.
- 18- Hosseinzadeh S, Alipanah-Moghadam R, Amlashi FI, Nemat A. Evaluation of haptoglobin genotype and some risk factors of cancer in patients with early stage esophageal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2019;20(10):2897-2901 PMID: 31653132.
- 19- Badran M, Ismail A, Morsy R, Elnimr T. Critical evaluating for five digestion methods using ICP-MS. *J Pharm Sci Innov* 2014;3(1):30-34.
- 20- Yang HS, LaFrance DR, Hao Y. Elemental testing using inductively coupled plasma mass spectrometry in clinical laboratories: an ACLPS critical review. *Am J Clin Pathol* 2021;156(2):167-175 PMID: 33978166.
- 21- Novotny JA, Peterson CA. Molybdenum. *Adv Nutr* 2018;9(3):272-273 PMID: 29767695.
- 22- Baldassano S, Di Rosa L, Cortis C, Cannizzaro A, Fiore AS, Sabatino L, et al. Biofortification of Vegetables with Iodine and Molybdenum for Healthy Nutrition: A Controlled Trial. *Nutrients* 2025 ;18(1):2 PMID: 41515120.
- 23- Hashemian M, Murphy G, Etemadi A, Poustchi H, Brockman JD, Kamangar F, et al. Toenail mineral concentration and risk of esophageal squamous cell carcinoma, results from the Golestan Cohort Study. *Cancer Med* 2017;6(12):3052-3059 PMID: 29125237.
- 24- Rensburg SJV, Rensburg SJV. Esophageal squamous cell cancer susceptibility: Environmental and nutritional associations reveal a universally applicable pathogenesis scenario. *World Academy of Sciences Journal* 2019;1(5):219-228.
- 25- Alipanah-Moghadam R, Farzaneh Z, Malekzade V, Manafi F, Amiriani T. Assessment of Oxidative Stress and SOD and GPX Activity in Early-Stage Esophageal Cancer: A Comparative Study with Healthy Control. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences* 2025;25(3):294-303.
- 26- Dharshini LCP, Rasmi RR, Kathirvelan C, Kumar KM, Saradhadevi K, Sakthivel KM. Regulatory components of oxidative stress and inflammation and their complex interplay in carcinogenesis. *Appl Biochem Biotechnol* 2023;195(5):2893-2916.