Pejouhesh dar Pezeshki (i.e., Research in Medicine) **Original Article**

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2025; Vol. 49; No. 3

Evaluation of the Diagnostic Value of the PHOX2B Marker in Hirschsprung's Disease

Mina Firoozabadinejad*, Maryam Kazemi Aghdam, Leili Mahajerzadeh, Yalda Nili Pour

Pathology Research Center, Mofid Children's Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: March 16, 2025; Accepted: December 28, 2025

Abstract

Background and Aim: Hirschsprung's disease is a congenital gastrointestinal disorder in which accurate diagnosis is of great importance. This study aimed to evaluate the diagnostic value of the PHOX2B (Paired- like Homeobox 2B) marker in identifying this disease among Iranian patients, as human studies in this field are limited and no similar research has been conducted in Iran to date.

Methods: In this cross- sectional study, 116 colon biopsy samples from patients suspected of Hirschsprung's disease who were referred to Mofid Children's Hospital during 2021-2022 were independently and blindly reviewed. Patients' demographic information was recorded. The samples were first analyzed using hematoxylin and eosin (H&E) staining to assess the presence or absence of ganglion cells, followed by immunohistochemical (IHC) evaluation of the PHOX2B marker.

Results: The sensitivity of PHOX2B for diagnosing Hirschsprung's disease was 100%, and its specificity was 95.65%. The positive predictive value (PPV) was 97.22%, and the negative predictive value (NPV) was 100%. The overall diagnostic accuracy was 98.28%. Among the 116 patients, Hirschsprung's disease was confirmed in 70 cases and excluded in 46 cases. The findings from H&E and PHOX2B staining showed complete concordance (100%) between the two pathologists.

Conclusion: The PHOX2B marker demonstrates high sensitivity and specificity, making it an effective diagnostic tool for Hirschsprung's disease. These findings suggest that its use may play a key role in the accurate diagnosis and detection of this condition.

Keywords: PHOX2B; Hirschsprung's disease; Sensitivity; Specificity

Please cite this article as: Firoozabadinejad M, Kazemi Aghdam M, Mahajerzadeh L, Nili Pour Y. Evaluation of the Diagnostic Value of the PHOX2B Marker in Hirschsprung's Disease. Pejouhesh dar Pezeshki. 2025;49(3):1-10.

*Corresponding Author: Mina Firoozabadinejad; **Email:** mina66.firoozabadi@gmail.com
Pathology Research Center, Mofid Children's Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۹، شماره ۳، سال ۱۴۰۴ شمسی، صفحات ۱ تا ۱۰

بررسی ارزش تشخیصی مارکر PHOX2B در تشخیص بیماری هیرشپرونگ

مینا فیروزآبادی نژاد*، مریم کاظمی اقدم، لیلی مهاجرزاده، یلدا نیلی‌پور

مرکز تحقیقات آسیب‌شناسی، بیمارستان کودکان مفید، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۷

چکیده

سابقه و هدف: بیماری هیرشپرونگ یک اختلال مادرزادی گوارشی است که تشخیص دقیق آن از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف این مطالعه بررسی ارزش تشخیصی مارکر PHOX2B (Paired- like Homeobox 2B) در شناسایی این بیماری در بیماران ایرانی بود، زیرا مطالعه‌های انسانی در این زمینه محدود بوده و تاکنون در ایران پژوهشی در این خصوص انجام نشده است.

روش کار: در این مطالعه مقطعی، ۱۱۶ نمونه بیوپسی کولون از بیماران مشکوک به هیرشپرونگ که در سال‌های ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ به بیمارستان کودکان مفید مراجعه کرده بودند، به‌صورت کور و مستقل بررسی شد. اطلاعات دموگرافیک بیماران ثبت شد. نمونه‌ها ابتدا با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) برای ارزیابی حضور یا فقدان سلول‌های گانگلیونی تحلیل شدند و سپس با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی (IHC) برای مارکر PHOX2B ارزیابی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که حساسیت مارکر PHOX2B در تشخیص بیماران مبتلا به هیرشپرونگ ۱۰۰درصد و ویژگی آن ۹۵/۶۵درصد بود. ارزش اخباری مثبت (PPV) برابر با ۹۷/۲۲درصد و ارزش اخباری منفی (NPV) ۱۰۰درصد محاسبه شد. دقت کلی تست ۹۸/۲۸درصد بود. از مجموع ۱۱۶ بیمار، در ۷۰ نفر بیماری هیرشپرونگ تأیید و در ۴۶ نفر رد شد. نتایج حاصل از H&E و PHOX2B توسط دو پاتولوژیست کاملاً هم‌خوان (۱۰۰درصد) گزارش شد.

نتیجه‌گیری: مارکر PHOX2B با حساسیت و ویژگی بالا، ابزار تشخیصی مؤثری برای بیماری هیرشپرونگ است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده از این مارکر می‌تواند در تشخیص دقیق و ردیابی بیماری نقش کلیدی داشته باشد.

واژگان کلیدی: PHOX2B؛ هیرشپرونگ؛ حساسیت؛ ویژگی

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Firoozabadinejad M, Kazemi Aghdam M, Mahajerzadeh L, Nili Pour Y. Evaluation of the Diagnostic Value of the PHOX2B Marker in Hirschsprung's Disease. Pejouhesh dar Pezeshki. 2025;49(3):1-10.

*نویسنده مسئول مکاتبات: مینا فیروزآبادی نژاد؛ آدرس پست الکترونیکی: mina66.firoozabadi@gmail.com
مرکز تحقیقات آسیب‌شناسی، بیمارستان کودکان مفید، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

مقدمه

تشخیص بیماری هیرشپرونگ (HD) بر اساس شناسایی فقدان سلول‌های گانگلیونی در شبکه‌های زیرمخاطی (Meissner) و میانتریک (Auerbach) روده انجام می‌شود. این ناهنجاری مادرزادی در سیستم عصبی روده (ENS) معمولاً در دوره نوزادی بروز کرده و با علائمی همچون تأخیر در دفع مکونیوم، یبوست مزمن شدید، اتساع کولون و اختلال‌های الکترولیتی همراه است. در موارد شدید، بیماران ممکن است دچار انتروکولیت یا سوراخ‌شدگی روده شوند (۱). شیوع HD در سطح جهانی ۱ در ۵۰۰۰ تولد زنده گزارش شده است، هرچند برخی مطالعه‌ها میزان بروز یک در ۴۴۱۷ را نشان داده‌اند، و مردان (۸۰درصد) به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از زنان درگیر می‌شوند (۲، ۳). HD ممکن است به‌صورت ایزوله یا همراه با سایر ناهنجاری‌ها مانند سندرم Waardenburg نوع ۴، ناهنجاری‌های کروموزومی، یا سندرم‌های مندلی رخ دهد. حدود ۲۰درصد موارد خانوادگی بوده و خطر عود در خواهر و برادر تا ۴درصد تخمین زده شده است (۴). آگانگلیونوزیس، که دلیل اصلی این بیماری است، از نقص در مهاجرت، تمایز و تکامل سلول‌های عصبی روده‌ای طی رشد جنینی ناشی می‌شود. شدت بیماری به وسعت ناحیه آگانگلیونی بستگی دارد (۵).

مطالعه‌های ژنتیکی نشان داده‌اند که HD یک بیماری پیچیده با تعامل چندین ژن، از جمله RET و PHOX2B، و احتمالاً عوامل محیطی است. ژن RET، که گیرنده تیروزین کیناز را کد می‌کند، در ۳۰-۲۰درصد موارد جهش دارد، اما به دلیل نفوذ کم، همبستگی قوی ژنوتیپ- فنوتیپ را نشان نمی‌دهد (۶، ۷). این موضوع به جستوجو برای ژن‌های دیگر مانند PHOX2B منجر شده است که در مسیرهای سیگنالینگ RET و گیرنده اندوتلین B (EDNBR) نقش دارد (۸). ژن PHOX2B یک فاکتور رونویسی همودومین را کد می‌کند که در تکامل نورون‌های نورآدرنرژیک و گانگلیون‌های روده‌ای ضروری است. در موش‌ها، بیان PHOX2B از زمان مهاجرت انتروبلاست‌ها به مزانشیم روده آغاز شده و در صورت اختلال هموزیگوت، منجر به فقدان کامل گانگلیون‌ها می‌شود، مشابه آنچه در HD دیده می‌شود (۹). همچنین، عدم بیان PHOX2B با کاهش بیان RET همراه است، که نشان‌دهنده تنظیم متقابل این دو ژن در ENS است (۱۰). ژن PHOX2B انسانی شامل ۹۴۵ جفت‌باز در سه اگزون است و پروتئینی با ۳۱۴ اسید آمینه تولید می‌کند (۱۱).

تشخیص HD معمولاً با بیوپسی دیواره کامل رکتوم و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) انجام می‌شود، که فقدان سلول‌های گانگلیونی را تأیید می‌کند. بیوپسی باید در نقاط ۲ و ۳ سانتی‌متری بالای خط مقعدی گرفته شود (۱۳، ۱۲). با این حال، H&E محدودیت‌هایی دارد، از جمله اشتباه گرفتن سلول‌های نابالغ گانگلیونی با لنفوسیت‌ها، مشکلات تحلیل در بیوپسی‌های دیستال به دلیل کمبود طبیعی گانگلیون‌ها، و زمان‌بر بودن بررسی برش‌های سریال (۱۵، ۱۴). این کاستی‌ها نیاز به روش‌های تشخیصی دقیق‌تر را مطرح می‌کند. با توجه به پیچیدگی ژنتیکی HD، محدودیت‌های روش‌های تشخیصی سنتی و فقدان مطالعه‌های محلی در ایران، بررسی مارکرهایی مانند PHOX2B ضروری است. با توجه به اهمیت قدرت تشخیصی در بیماری هیرشپرونگ، تعیین دقت و کارایی مارکرهای نوین از اولویت‌های اساسی در جراحی‌های اطفال تلقی می‌شود. در این راستا، مارکر PHOX2B به‌عنوان یک نشانگر مولکولی بالقوه می‌تواند سبب افزایش دقت تشخیص شده و از بروز تشخیص بیش‌ازحد یا کمتر از حد بیماری جلوگیری کند، به‌ویژه در مواردی که یافته‌های بالینی و هیستوپاتولوژیک با ابهام همراه هستند. بر این اساس، هدف این مطالعه تعیین قدرت تشخیصی مارکر PHOX2B در تشخیص بیماری هیرشپرونگ و مقایسه ارزش تشخیصی آن با روش‌های استاندارد کنونی در جمعیت ایرانی است.

روش کار

نوع مطالعه و طراحی

این پژوهش یک مطالعه تشخیصی است که به‌صورت مشاهده‌ای انجام شده است. هدف آن ارزیابی ارزش تشخیصی مارکر PHOX2B در مقایسه با روش استاندارد طلایی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین) در تشخیص بیماری هیرشپرونگ بود.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

ثبت مطالعه

این مطالعه در بیمارستان کودکان مفید انجام شد و پروپوزال آن در سیستم ثبت تحقیقات بیمارستان تأیید شده است. اطلاعات مربوط به ثبت مطالعه در دسترس خواهد بود و در صورت نیاز ارائه می‌شود. هم‌چنین پس از کسب تأییدیه از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با کد اخلاق IR.SBMU.RICH.REC.1402.013 آغاز شد.

جامعه هدف و معیارهای ورود و خروج

جامعه هدف این مطالعه شامل بیماران مشکوک به بیماری هیرشپرونگ بود که بین سال‌های ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۲ به بیمارستان کودکان مفید مراجعه کرده بودند؛ این بیماران، به‌عنوان جمعیت مورد مطالعه، افرادی بودند که علائم بالینی موید بیماری نظیر اتساع شکم، عدم دفع مدفوع پس از تولد، یا یبوست مزمن مقاوم به درمان دارویی و رژیم غذایی داشتند و کاندید بیوپسی کولون برای تأیید یا رد بیماری بودند، با معیارهای ورود شامل کودکان مشکوک به هیرشپرونگ با علائم ذکرشده که به درمان‌های رایج پاسخ نداده بودند، و معیارهای خروج شامل نمونه‌های بیوپسی بسیار سطحی یا کوچک فاقد قابلیت ارزیابی با روش H&E یا حاوی عضله اسکلتی، اپی‌تلیوم ترانزیشنال، یا اسکواموس بود (۳، ۶).

حجم نمونه و روش نمونه‌گیری

نمونه‌گیری در این مطالعه به روش متوالی (Convenience Sampling) انجام شد و تمامی بیماران مشکوک به بیماری هیرشپرونگ که بین سال‌های ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۲ به بیمارستان کودکان مفید مراجعه کردند، از نظر معیارهای ورود و خروج بررسی شدند تا به حجم نمونه مورد نظر دست یابیم. بر اساس محاسبه‌های آماری با استفاده از فرمول حجم نمونه، حداقل ۱۱۵ نمونه مورد نیاز تعیین شد (۱۹، ۱۸).

متغیرها و ابزار اندازه‌گیری

متغیرهای کمی شامل سن، زمان شروع علائم بالینی و نتایج کمی ارزیابی‌های پاتولوژیک (مانند حضور یا فقدان گانگلیون‌ها) و متغیرهای کیفی شامل جنسیت، نوع تظاهرات بالینی و نتایج تست‌های H&E و IHC بودند. ابزارهای اندازه‌گیری شامل رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) به‌عنوان استاندارد طلایی و تکنیک ایمونوهیستوشیمی (IHC) با آنتی‌بادی anti-PHOX2B برای ردیابی بیان مارکر PHOX2B بود.

روش جمع‌آوری داده‌ها

داده‌ها به‌صورت مشاهده‌ای و از طریق مرور پرونده‌های بیمارستانی بیماران برای جمع‌آوری اطلاعات زمینه‌ای (سن، جنسیت، نوع و زمان شروع علائم) گردآوری شدند. نمونه‌های بیوپسی کولون به‌صورت بلوک‌های پارافینی تهیه شد. در مرحله اول، نمونه‌ها با روش H&E برای بررسی حضور یا فقدان سلول‌های گانگلیونی رنگ‌آمیزی شدند و توسط دو پاتولوژیست به‌صورت مستقل و کور ارزیابی شدند. میزان توافق بین دو پاتولوژیست نیز بررسی شد. در مرحله دوم، از تکنیک IHC با استفاده از آنتی‌بادی anti-PHOX2B برای شناسایی بیان PHOX2B در نواحی گانگلیونی، ترانزیشن و آگانگلیونی استفاده شد.

تحلیل داده‌ها

تمامی داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ وارد و پردازش شدند. برای متغیرهای کیفی، فراوانی و درصد فراوانی محاسبه شد و برای متغیرهای کمی، میانگین و انحراف معیار گزارش شد. ارتباط بین متغیرها با استفاده از آزمون همبستگی اسپیرمن (Spearman's correlation) بررسی شد. برای مقایسه متغیرهای کیفی از آزمون کای-دو (Chi-square) و برای متغیرهای کمی غیرنرمال از آزمون Mann-Whitney U استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها، t-test مستقل به‌کار گرفته شد. برای ارزیابی قدرت تشخیصی مارکر PHOX2B، شاخص‌های حساسیت، اختصاصیت، ارزش پیش‌بینی مثبت (PPV) و منفی (NPV) و دقت کلی (accuracy) محاسبه شد. سطح معناداری برای تمامی آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

اعتبارات اخلاقی

اطلاعات بیماران محرمانه نگه‌داری شد و اهداف پژوهش به‌صورت کتبی و شفاهی به شرکت‌کنندگان توضیح داده شد. رضایت آگاهانه از تمامی بیماران اخذ شد و مطالعه با موازین

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

دینی و فرهنگی جامعه هم‌راستا بود. خروج از مطالعه به اختیار بیماران بود و هیچ‌گونه اجباری اعمال نشد.

یافته‌ها

مشخصات دموگرافیک و بالینی بیماران

هدف این مطالعه، بررسی ارزش تشخیصی مارکر PHOX2B در تشخیص بیماری هیرشپرونگ بود. در این راستا، اطلاعات ۱۱۶ بیمار شامل ۸۰ پسر (۶۹درصد) و ۳۶ دختر (۳۱درصد) بررسی شد. میانگین سنی کل بیماران ۱۰۳۰/۲۲ روز (انحراف معیار = ۱۴۲۲/۱۱، دامنه: ۵۸۴۰-۲ روز) بود. در گروه مبتلا به هیرشپرونگ (۷۰ نفر)، میانگین سنی ۱۱۳۸/۰۲ روز (انحراف معیار = ۱۴۳۳/۱۹) و در گروه غیرمبتلا (۴۶ نفر) ۹۵۹/۳۹روز (انحراف معیار = ۱۴۲۰/۶۵) گزارش شد که تفاوت معناداری نداشت (P-value = ۰/۵۱). توزیع جنسیتی در گروه مبتلا (۶۳درصد پسر، ۳۷درصد دختر) و غیرمبتلا (۷۲/۹درصد پسر، ۲۷/۱درصد دختر) نیز تفاوت آماری معناداری نشان نداد (P-value = ۰/۳۰۸). از نظر علائم بالینی، یبوست (۹۱/۴۳درصد در مقابل ۳۲/۶۱درصد)، دیستانسیون شکمی (۵۱/۴۲درصد در مقابل ۲۶/۰۹درصد)، احتباس مدفوع (۷۴/۲۹درصد در مقابل ۲۸/۲۶درصد) و استفراغ (۵۲/۸۶درصد در مقابل ۸/۷درصد) در بیماران مبتلا به طور معناداری شایع‌تر بود (P-value به ترتیب ۰/۰۰۱ >، ۰/۰۰۱ >، ۰/۰۵ >، ۰/۰۵ >). سابقه خانوادگی در ۸/۵۷درصد مبتلایان و ۶/۵۲درصد غیرمبتلایان تفاوت معناداری نداشت (P-value > ۰/۰۵). این داده‌ها ویژگی‌های دموگرافیک و بالینی بیماران را به طور جامع نشان می‌دهند (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات دموگرافیک و بالینی بیماران

متغیر	وضعیت هیرشپرونگ	مثبت (تعداد، درصد)	منفی (تعداد، درصد)	مجموع	P-value
یبوست	مثبت	۶۴ (۹۱/۴۳)	۶ (۸/۵۷)	۷۰	< ۰/۰۰۱
	منفی	۱۵ (۳۲/۶۱)	۳۱ (۶۷/۳۹)	۴۶	
دیستانسیون شکمی	مثبت	۳۶ (۵۱/۴۲)	۳۴ (۴۸/۵۷)	۷۰	< ۰/۰۰۱
	منفی	۱۲ (۲۶/۰۹)	۳۴ (۷۳/۹۱)	۴۶	
احتباس مدفوع	مثبت	۵۲ (۷۴/۲۹)	۱۸ (۲۵/۷۱)	۷۰	< ۰/۰۵
	منفی	۱۳ (۲۸/۲۶)	۳۳ (۷۱/۷۴)	۴۶	
استفراغ	مثبت	۳۷ (۵۲/۸۶)	۳۳ (۴۷/۱۴)	۷۰	< ۰/۰۵
	منفی	۴ (۸/۷)	۴۲ (۹۱/۳)	۴۶	
سابقه خانوادگی	مثبت	۶ (۸/۵۷)	۶۴ (۹۱/۴۳)	۷۰	> ۰/۰۵
	منفی	۳ (۶/۵۲)	۴۳ (۹۳/۴۸)	۴۶	

مقایسه نتایج تشخیصی PHOX2B و H&E

از ۱۱۶ بیمار، ۴۴ نفر با هر دو تست H&E (استاندارد طلایی) و PHOX2B مثبت تشخیص داده شدند (مثبت واقعی)، در حالی که ۷۰ نفر با هر دو تست منفی بودند (منفی واقعی). دو بیمار با H&E مثبت، اما با PHOX2B منفی تشخیص داده شدند (منفی کاذب). هیچ موردی از مثبت بودن PHOX2B و منفی بودن H&E (مثبت کاذب) گزارش نشد. این نتایج نشان‌دهنده همخوانی بالای دو تست است. (جدول ۲).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

جدول ۲- مقایسه نتایج تشخیصی PHOX2B و H&E

PHOX2B	H&E مثبت	درصد	H&E منفی	درصد	مجموع	درصد
مثبت	۴۴	۱۰۰	۰	۰	۴۴	۱۰۰
منفی	۲	۲/۷۸	۷۰	۹۷/۲۲	۷۲	۱۰۰
مجموع	۴۶	۳۹/۶۶	۷۰	۶۰/۳۴	۱۱۶	۱۰۰

شاخص‌های عملکرد تشخیصی PHOX2B

حساسیت تستPHOX2B ، که توانایی تشخیص بیماران واقعی را نشان می‌دهد، ۱۰۰درصد (فاصله اطمینان ۹۵درصد: ۹۴/۸۷درصد تا ۱۰۰درصد) بود، یعنی هیچ بیمار مبتلا از قلم نیفتاده است. ویژگی تست، که قدرت تشخیص افراد سالم را نشان می‌دهد، ۹۵/۶۵درصد (فاصله اطمینان ۹۵درصد: ۸۵/۱۶درصد تا ۹۹/۴۷درصد) محاسبه شد. ارزش پیش‌بینی مثبت (PPV) ۹۷/۲۲ درصد (فاصله اطمینان ۹۵درصد: ۹۰/۰۲درصد تا ۹۹/۲۷درصد) و ارزش پیش‌بینی منفی (NPV) ۱۰۰٪ (فاصله اطمینان ۹۵درصد: ۹۱/۹۶درصد تا ۱۰۰درصد) بود. دقت کلی تست نیز ۹۸/۲۸درصد (فاصله اطمینان ۹۵درصد: ۹۳/۹۱درصد تا ۹۹/۷۹درصد) گزارش شد. این شاخص‌ها کارایی بالای PHOX2B را تأیید می‌کنند (جدول ۳).

جدول ۳- شاخص‌های عملکرد تشخیصی PHOX2B در برابر H&E

شاخص	مقدار (درصد)	فاصله اطمینان ۹۵ درصد
حساسیت	۱۰۰/۰۰	۹۴/۸۷ درصد تا ۱۰۰ درصد
ویژگی	۹۵/۶	۸۵/۱۶ درصد تا ۹۹/۴۷ درصد
ارزش پیش‌بینی مثبت	۹۷/۲	۹۰/۰۲ درصد تا ۹۹/۲۷ درصد
ارزش پیش‌بینی منفی	۱۰۰/۰۰	۹۱/۹۶ درصد تا ۱۰۰ درصد
دقت	۹۸/۳	۹۳/۹۱ درصد تا ۹۹/۷۹ درصد

توافق بین پاتولوژیست‌ها برای مارکرهای مختلف

نتایج هر دو مارکر H&E و PHOX2B توسط دو پاتولوژیست مستقل بررسی شد. برایH&E ، در ۴۶ مورد مثبت و ۷۰ مورد منفی توافق کامل (۱۰۰درصد) مشاهده شد. به طور مشابه، برای PHOX2B، در ۴۴ مورد مثبت و ۷۲ مورد منفی نیز توافق ۱۰۰درصد گزارش شد. این سطح بالای همخوانی، قابلیت اطمینان هر دو مارکر را در تشخیص تأیید می‌کند و نشان‌دهنده ثبات نتایج در ارزیابی‌های مستقل است.

بحث

با تشخیص بیماری، شاخص‌های چهارگانه حساسیت، اختصاصیت، ارزش پیش‌بینی مثبت و ارزش پیش‌بینی منفی برای مارکر PHOX2B محاسبه و ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که این مارکر قابلیت مناسبی در شناسایی بیماران مبتلا و تمایز آنها از افراد غیرمبتلا دارد و می‌تواند در کنار روش‌های استاندارد تشخیصی، دقت تشخیص را افزایش دهد. یافته‌های کلیدی نشان داد که این تست با حساسیت ۱۰۰درصد تمام بیماران مبتلا را شناسایی کرد، ویژگی ۹۵/۶۵درصد داشت که نشان‌دهنده توانایی بالای آن در تشخیص افراد سالم است و دقت کلی آن ۹۸/۲۸درصد بود. ارزش پیش‌بینی مثبت (PPV) ۹۷/۲۲درصد و ارزش پیش‌بینی منفی (NPV) ۱۰۰درصد نیز تأیید کرد که نتایج مثبت و منفی این تست بسیار قابل اعتماد هستند. از ۱۱۶ بیمار مورد مطالعه، تست استاندارد H&E

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

بیماری را در ۷۰ نفر تأیید و در ۴۶ نفر رد کرد و نتایج PHOX2B با H&E در ارزیابی دو پاتولوژیست مستقل ۱۰۰درصد همخوانی داشت. همچنین، علائمی مانند یبوست، احتباس مدفوع، دیستانسیون شکمی و استفراغ به‌طور معناداری در بیماران مبتلا شایع‌تر بود (۱۹-۱۶).

PHOX2B یک عامل رونویسی اصلی است که مسئول تمایز و بقای سلول‌های گانگلیونی (GCs) سیستم عصبی روده است (۲۳-۲۰).

وقتی نتایج را با مطالعه‌های دیگر مقایسه می‌کنیم، شباهت‌ها و تفاوت‌هایی آشکار می‌شود. مطالعه Alturkustani و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که PHOX2B یک نشانگر بسیار حساس و اختصاصی برای سلول‌های گانگلیونی است و در تمام مراحل تمایز این سلول‌ها بدون رنگ‌آمیزی پس‌زمینه مثبت بود (۱۸). این یافته با حساسیت ۱۰۰درصد و ویژگی ۹۵/۶۵درصد ما هم‌راستاست و نشان می‌دهد که PHOX2B می‌تواند به‌عنوان ابزاری مطمئن در تشخیص هیرشپرونگ عمل کند. همچنین، Drabent و همکاران (۲۰۲۱) تأیید کردند که PHOX2B در سلول‌های گانگلیونی نابالغ و پیش‌ساز بیان می‌شود و نقش کلیدی در تکامل سیستم عصبی روده دارد (۱۹). این موضوع با نتایج ما که دقت بالای PHOX2B را نشان داد، سازگار است، به‌ویژه در نوزادانی که تشخیص H&E به دلیل نابالغ بودن سلول‌های گانگلیونی دشوار است (۲۶-۲۴).

با این حال، تفاوت‌هایی هم وجود دارد. در مطالعه ما هیچ مورد مثبت کاذبی (PHOX2B مثبت و H&E منفی) گزارش نشد، در حالی که برخی تحقیق‌ها، مانند مطالعه Alturkustani، بر امکان استفاده از PHOX2B در تنظیمات تحقیقاتی برای شناسایی سلول‌های پیش‌ساز تأکید کرده‌اند که ممکن است در شرایط خاص به نتایج متفاوتی منجر شود (۱۸). این تفاوت شاید به حجم نمونه یا روش‌های اجرایی ما مربوط باشد، اما نشان‌دهنده دقت بالای تست ما در شرایط بالینی است.

از نظر تئوری، حساسیت ۱۰۰درصد PHOX2B به نقش بیولوژیکی آن در تکامل سیستم عصبی روده برمی‌گردد. ژن PHOX2B پروتئینی از خانواده homeodomain را کد می‌کند که در تکامل نورون‌های نوروآدرنرژیک و گانگلیون‌های روده‌ای ضروری است (۱۵، ۱۷). مطالعه‌های حیوانی نشان داده‌اند که اختلال در این ژن با فقدان گانگلیون‌ها همراه است، که مشخصه اصلی هیرشپرونگ است (۲۸، ۲۷). از نظر تجربی، همخوانی ۱۰۰درصد بین پاتولوژیست‌ها و ارتباط معنادار علائم بالینی (مانند یبوست و احتباس مدفوع) با نتایج تست، نشان می‌دهد که PHOX2B نه‌تنها در سطح مولکولی، بلکه در عمل بالینی نیز قابل اعتماد است. این می‌تواند به این معنا باشد که PHOX2B به‌عنوان یک مارکر ایمونوهیستوشیمیایی، محدودیت‌های H&E را در تشخیص سلول‌های نابالغ جبران می‌کند (۱۹).

یک تفسیر احتمالی دیگر این است که ویژگی ۹۵/۶۵درصد و وجود دو مورد منفی کاذب (H&E مثبت، PHOX2B منفی) ممکن است به تفاوت‌های ظریف در بیان ژن یا حساسیت روش رنگ‌آمیزی مربوط باشد. شاید در این موارد، جهش‌های خاصی از PHOX2B که با هیرشپرونگ مرتبط نیستند، مانند مواردی که در CCHS یا نوروبلاستوما دیده می‌شود، دخیل باشند (۲۹، ۳۰). این موضوع نیاز به بررسی ژنتیکی دقیق‌تر دارد.

هرچند این مطالعه نقاط قوت زیادی دارد، مثل طراحی مناسب و جایگاهش به‌عنوان اولین پژوهش در ایران در این زمینه، اما محدودیت‌هایی هم داشت. حجم نمونه ۱۱۶ نفر، اگرچه برای یک مطالعه اولیه کافی است، ممکن است به اندازه کافی قدرت آماری برای شناسایی تفاوت‌های نادر (مثل موارد مثبت کاذب) نداشته باشد. مطالعه‌ها با نمونه‌های بزرگ‌تر، مانند آنچه در کارهای Drabent دیده می‌شود (۱۹)، می‌توانند تصویر جامع‌تری ارائه دهند. همچنین، به دلیل محدودیت‌های مالی، ما نتوانستیم آزمایش‌های تکمیلی مثل سکانس ژن PHOX2B یا سایر مارکرها (مثل Ret) را انجام دهیم که می‌توانست دلایل منفی کاذب را روشن‌تر کند. این محدودیت‌ها ممکن است تفسیر ما از دقت PHOX2B را تحت تأثیر قرار داده و نتایج را به شرایط خاص مطالعه محدود کرده باشد.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

برای پیشبرد این موضوع، پیشنهاد می‌شود مطالعه‌های آینده روی حجم نمونه بزرگ‌تری تمرکز کنند تا دقت و موارد نادر بهتر بررسی شوند. افزودن تحلیل ژنتیکی PHOX2B، به‌ویژه در مواردی که نتایج H&E و PHOX2B متفاوت است، می‌تواند دلایل بیولوژیکی این اختلافات را مشخص کند. همچنین، مقایسه PHOX2B با مارکرهای دیگر مثل calretinin، که در مطالعه Alturkustani استفاده شد (۱۸)، می‌تواند ارزش تشخیصی نسبی آن را روشن‌تر کند. بررسی تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی، مثل جهش‌های مرتبط با Ret، نیز می‌تواند درک ما از پاتوژنز هیرشپرونگ را عمیق‌تر کند (۳۱، ۳۲). در نهایت، توسعه پروتکل‌های استاندارد برای استفاده بالینی از PHOX2B، به‌ویژه در نوزادان با سلول‌های گانگلیونی نابالغ، می‌تواند کاربرد عملی آن را افزایش دهد.

محدودیت‌هایی مثل حجم نمونه و نبود داده‌های ژنتیکی تکمیلی ما را به انجام پژوهش‌های گسترده‌تر ترغیب می‌کند. در مجموع، PHOX2B می‌تواند راهی نویدبخش برای بهبود تشخیص هیرشپرونگ باشد، به‌ویژه در مواردی که روش‌های سنتی چالش‌برانگیز هستند و آینده‌ای روشن برای استفاده بالینی آن متصور است.

نتیجه‌گیری

مطالعه ما نشان داد که مارکر PHOX2B ابزاری بسیار دقیق و قابل اعتماد برای تشخیص بیماری هیرشپرونگ است. با حساسیت کامل، ویژگی بالا و دقت نزدیک به ۹۸ درصد، این تست می‌تواند بیماران مبتلا را به‌خوبی شناسایی کند و در کنار H&E به تشخیص دقیق‌تر کمک کند. همخوانی کامل بین پاتولوژیست‌ها و ارتباط علائم بالینی با نتایج، اطمینان بیشتری به این روش می‌دهد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه، در دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بررسی و با کد اخلاق IR.SBMU.RICH.REC.1402.013 ثبت شده است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه شماره ۴۳۰۰۶۰۴۸ خانم دکتر مینا فیروزابادی‌نژاد برای دریافت درجه دکتری تخصصی در رشته آسیب‌شناسی از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی بود.

از مشارکت‌کنندگان محترم و تمامی بزرگوارانی که در اجرای پژوهش حاضر ما را یاری نمودند، سپاسگزاریم.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

References

1. Anbardar MH, Geramizadeh B, Foroutan HR. Evaluation of calretinin as a new marker in the diagnosis of Hirschsprung disease. Iran J Pediatr. 2015;25(2):e367.

2. Barshack I, Fridman E, Goldberg I, Chowers Y, Kopolovic J. The loss of calretinin expression indicates aganglionosis in Hirschsprung's disease. J Clin Pathol. 2004;57(7):712-6.

3. Anderson JE, Vanover MA, Saadai P, Stark RA, Stephenson JT, Hirose S. Epidemiology of Hirschsprung disease in California from 1995 to 2013. Pediatr Surg Int. 2018;34(12):1299-303.

4. Chung PHY, Yu MON, Wong KKY, Tam PKH. Risk factors for the development of post-operative enterocolitis in short segment Hirschsprung's disease. Pediatr Surg Int. 2019;35(2):187-91.

5. Nakamura H, O'Donnell AM, Marayati NF, Tomuschat C, Coyle D, Puri P. Altered expression of inflammasomes in Hirschsprung's disease. Pediatr Surg Int. 2019;35(1):15-20.

6. Spouge D, Baird P. Hirschsprung disease in a large birth cohort. Teratology. 1985;32(2):171-7.

7. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology e-book. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2011.

8. Touré AM, Landry M, Souchkova O, Kembel SW, Pilon N. Gut microbiota-mediated gene-environment interaction in the TashT mouse model of Hirschsprung disease. Sci Rep. 2019;9(1):492.

9. Heuckeroth RO. Hirschsprung disease—integrating basic science and clinical medicine to improve outcomes. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2018;15(3):152-67.

10. Małdyk J, Rybczyńska J, Piotrowski D, Kozielski R. Evaluation of calretinin immunohistochemistry as an additional tool in confirming the diagnosis of Hirschsprung disease. Pol J Pathol. 2014;65(1):34-9.

11. Guinard-Samuel V, Bonnard A, De Lagausie P, Philippe-Chomette P, Alberti C, El Ghoneimi A, et al. Calretinin immunohistochemistry: a simple and efficient tool to diagnose Hirschsprung disease. Mod Pathol. 2009;22(10):1379-84.

12. Angrist M, Kauffman E, Slaugenhaupt SA, Cox Matise T, Puffenberger EG, Shaw Washington S, et al. A gene for Hirschsprung disease (megacolon) in the pericentromeric region of human chromosome 10. Nat Genet. 1993;4(4):351-6.

13. Kanai M, Numakura C, Sasaki A, Shirahata E, Akaba K, Hashimoto M, et al. Congenital central hypoventilation syndrome: a novel mutation of the RET gene in an isolated case. Tohoku J Exp Med. 2002;196(4):241-6.

14. Bolk S, Pelet A, Hofstra RM, Angrist M, Salomon R, Croaker D, et al. A human model for multigenic inheritance: phenotypic expression in Hirschsprung disease requires both the RET gene and a new 9q31 locus. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97(1):268-73.

15. Pattyn A, Morin X, Cremer H, Goridis C, Brunet JF. The homeobox gene Phox2b is essential for the development of autonomic neural crest derivatives. Nature. 1999;399(6734):366-70.

16. Yokoyama M, Watanabe H, Nakamura M. Genomic structure and functional characterization of NBPhox (PMX2B), a homeodomain protein specific to catecholaminergic cells that is involved in second messenger-mediated transcriptional activation. Genomics. 1999;59(1):40-50.

17. Garcia-Barcelo M, Sham M, Lui V, Chen B, Ott J, Tam P. Association study of PHOX2B as a candidate gene for Hirschsprung's disease. Gut. 2003;52(4):563-7.

18. Alturkustani M, Shillingford N, Zhou S, Wang L, Warren M. Phox2b immunohistochemical staining in detecting enteric neural crest cells in Hirschsprung disease. Pediatr Dev Pathol. 2021;24(1):19-26.

19. Drabent P, Bonnard A, Guimiot F, Peuchmaur M, Berrebi D. PHOX2B immunostaining: a simple and helpful tool for the recognition of ganglionic cells and diagnosis of Hirschsprung disease. Am J Surg Pathol. 2020;44(10):1389-97.

20. Fernández RM, Mathieu Y, Luzon-Toro B, Núñez-Torres R, Gonzalez-Meneses A, Antinolo G, et al. Contributions of PHOX2B in the pathogenesis of Hirschsprung disease. PLoS One. 2013;8(1):e54043.

21. Liu CP, Li XG, Lou JT, Xue Y, Luo CF, Zhou XW, et al. Association analysis of the PHOX2B gene with Hirschsprung disease in the Han Chinese population of Southeastern China. J Pediatr Surg. 2009;44(9):1805-11.

22. Kwon MJ, Lee GH, Lee MK, Kim JY, Yoo HS, Ki CS, et al. PHOX2B mutations in patients with Ondine–Hirschsprung disease and a review of the literature. Eur J Pediatr. 2011;170(10):1267-71.

23. Bachetti T, Ceccherini I. Causative and common PHOX2B variants define a broad phenotypic spectrum. Clin Genet. 2020;97(1):103-13.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

24. Espinosa-Medina I, Jevans B, Boismoreau F, Chettouh Z, Enomoto H, Müller T, et al. Dual origin of enteric neurons in vagal Schwann cell precursors and the sympathetic neural crest. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017;114(45):11980-5.

25. Rao M, Gershon MD. Enteric nervous system development: what could possibly go wrong? Nat Rev Neurosci. 2018;19(9):552-65.

26. Ambartsumyan L, Smith C, Kapur RP. Diagnosis of Hirschsprung disease. Pediatr Dev Pathol. 2020;23(1):8-22.

27. Burki T, Kiho L, Scheimberg I, Phelps S, Misra D, Ward H, et al. Neonatal functional intestinal obstruction and the presence of severely immature ganglion cells on rectal biopsy: 6 year experience. Pediatr Surg Int. 2011;27(5):487-90.

28. Jennings LJ, Yu M, Rand CM, Kravis N, Berry-Kravis EM, Patwari PP, et al. Variable human phenotype associated with novel deletions of the PHOX2B gene. Pediatr Pulmonol. 2012;47(2):153-61.

29. Amiel J, Sproat-Emison E, Garcia-Barcelo M, Lantieri F, Burzynski G, Borrego S, et al. Hirschsprung disease, associated syndromes and genetics: a review. J Med Genet. 2008;45(1):1-14.

30. Fitze G, König IR, Paditz E, Serra A, Schläfke M, Roesner D, et al. Compound effect of PHOX2B and RET gene variants in congenital central hypoventilation syndrome combined with Hirschsprung disease. Am J Med Genet A. 2008;146A(11):1486-9.

31. Leon TY, Ngan ES, Poon HC, So MT, Lui VC, Tam PK, et al. Transcriptional regulation of RET by Nkx2-1, Phox2b, Sox10, and Pax3. J Pediatr Surg. 2009;44(10):1904-12.

32. Trochet D, Mathieu Y, Pontual L, Savarirayan R, Munnich A, Brunet JF, et al. In vitro studies of non poly alanine PHOX2B mutations argue against a loss-of-function mechanism for congenital central hypoventilation. Hum Mutat. 2009;30(2):E421-31.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]