

تشخیص هدفمند سرطان با بیومارکرهای نوین

تالیف
سحر قفلچی
دکتر سید حسین حسینی



بناجی



سرشناسه	: قفلچی، سحر، ۱۳۷۵-
عنوان و نام پدیدآور	: تشخیص هدفمند سرطان با بیومارکرهای نوین / نویسندگان سحر قفلچی، سیدحسین حسینی.
مشخصات نشر	: مشهد: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد، انتشارات، ۱۴۰۴.
مشخصات ظاهری	: [۱۶۰ ص.]: مصور، جدول، نمودار.
فروست	: انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد؛ ۶۳۵
شابک	: ۹۷۸-۶۰۰-۳۶۹-۳۱۶-۶
وضعیت فهرست نویسی	: فیبا
یادداشت	: ص. ع. به انگلیسی: Sahar Ghoflchi, Seyed Hossein Hossein. Targeted cancer diagnosis using novel biomarkers.
یادداشت	: کتابنامه: ص. [۱۵۹].
یادداشت	: نمایه.
موضوع	: شاخص‌های زیست‌شیمیایی -- کاربرد تشخیصی Biochemical markers -- Diagnostic use سرطان -- تشخیص Cancer -- Diagnosis سرطان -- درمان Cancer -- Treatment
شناسه افزوده	: حسینی، سیدحسین، ۱۳۶۷- (دکتر)
شناسه افزوده	: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد. انتشارات
رده بندی کنگره	: ۲ ش/۴ QH438
رده بندی دیویی	: ۵۷۲/۸۶
شماره کتابشناسی ملی	: ۱۰۳۲۱۶۹۴
اطلاعات رکورد کتابشناسی	: فیبا



انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تشخیص هدفمند سرطان با بیومارکرهای نوین

شماره اثر ۶۳۵

دفتر انتشارات :
مشهد، خیابان دانشگاه، جنب سینما
هویزه، ساختمان قریشی، طبقه اول،
گروه نشریات و کتب
مدیریت اطلاع‌رسانی پزشکی
و منابع علمی دانشگاه
ص.ب | ۹۱۳۸۸۱۳۹۴۴
تلفن | ۰۵۱-۳۸۴۵۱۵۳۶
<http://pub.mums.ac.ir>
pub@mums.ac.ir

نویسندگان	سحر قفلچی، دکتر سید حسین حسینی
طراح جلد	الهه نوری
نوبت چاپ	اول، پاییز ۱۴۰۴
قطع	وزیری، ۱۶۰ صفحه
شمارگان	۱۰۰ نسخه
شابک	۹۷۸-۶۰۰-۳۶۹-۳۱۶-۶
حق چاپ محفوظ است	انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تشخیص هدفمند سرطان با بیومارکرهای نوین

نویسندگان

سحر قفلچی

دانشجوی دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی

دکتر سید حسین حسینی

هیئت علمی گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

یادداشت ناشر

بسمه تعالی

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد به عنوان یک نهاد علمی - فرهنگی، چاپ و نشر کتاب‌های مورد استفاده استادان و دانشجویان رشته‌های علوم پزشکی را از وظایف اساسی خود می‌داند و بر آن است تا با انتشار متون مربوط به علوم پزشکی، هم بر اعتبار و اعتلای آن‌ها بیفزاید و هم موجبات دل‌گرمی و شوق و نشاط ایشان در امر تحقیق را فراهم آورد. به یقین چاپ و نشر آثار معتبر علمی، امکان دستیابی اهل تحقیق به منابع مختلف و گوناگون علمی مورد نیاز به بهترین صورت ممکن خواهد ساخت و راه را برای تحقیقات بعدی هموار خواهد کرد.

گسترده‌ی فعالیت‌های ناشران خصوصی، نه تنها از مسئولیت مراکز معتبر دانشگاهی برای کوشش در این زمینه‌ها با تکیه بر جنبه‌های علمی و فرهنگی موضوع نمی‌کاهد، بلکه به دلایل گوناگون از جمله لزوم بررسی‌های دقیق کارشناسی، ویرایش‌های علمی و فنی و نیز توجه بیشتر به توان مالی مخاطبان آثار به ویژه دانشجویان، باید دانشگاه‌های دولتی دامنه خدمات خود را با تکیه بر جنبه‌های کیفی و گاه صرف نظر از بازده اقتصادی گسترش دهند.

مسئولان انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد با اشتیاق و اخلاص تمام می‌خواهند جدیدترین آثار مربوط به دانش‌های پزشکی را به بهترین شیوه فراهم آورند و می‌کوشند تا آثار منتشر شده با کیفیت مطلوب عرضه شود. در عین حال انتشارات مترصد دریافت نظرها و انتقادهای به جا و سازنده اهل نظر است، تا از این طریق بتواند بر کمال آثار منتشره شده خویش بیفزاید.

معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مشهد با استعانت از الطاف خداوندی امیدوار است که نشر این اثر با نظارت همه جانبه این معاونت و با تکیه بر ابتکار و کوشش اعضا و کارشناس دانش‌آموخته خویش، همانند دیگر آثار این انتشارات، موجب ارتباط محکم و پایدار با جامعه پزشکی و دانشجویان پژوهشگر در جهت ارتقای کیفی و تنوع موضوعات مورد نیاز دانش‌پژوهان رشته‌های علوم پزشکی شود و مورد استفاده دانشجویان و مقبول طبع صاحب نظران و دانشگاهیان نکته‌بین قرار بگیرد.

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد

فهرست مطالب |

مقدمه.....	۱۱
------------	----

فصل اول: سرطان.....	۱۳
---------------------	----

۱-۱. سرطان پستان.....	۱۴
-----------------------	----

۱-۱-۱. عوامل خطر ساز.....	۱۵
---------------------------	----

۱-۱-۲. علائم و نشانه ها.....	۱۵
------------------------------	----

۱-۱-۳. بقا.....	۱۶
-----------------	----

۲-۱. سرطان کولورکتال.....	۱۶
---------------------------	----

۲-۱-۱. علائم و نشانه ها.....	۱۷
------------------------------	----

۲-۱-۲. عوامل خطر ساز.....	۱۸
---------------------------	----

۲-۱-۳. بقا.....	۱۸
-----------------	----

۱-۳. سرطان ریه و برونش.....	۱۹
-----------------------------	----

۱-۳-۱. علائم و نشانه ها.....	۲۰
------------------------------	----

۱-۳-۲. عوامل خطر ساز.....	۲۰
---------------------------	----

- ۲۰ بقا ۱-۳-۳
- ۲۰ سرطان پروستات ۱-۴
- ۲۱ علائم و نشانه‌ها ۱-۴-۱
- ۲۱ عوامل خطر ساز ۱-۴-۲
- ۲۲ بقا ۱-۴-۳
- ۲۲ سرطان معده ۱-۵
- ۲۳ علائم و نشانه‌ها ۱-۵-۱
- ۲۳ عوامل خطر ۱-۵-۲
- ۲۳ بقا ۱-۵-۳
- ۲۴ سرطان کبد ۱-۶
- ۲۴ علائم و نشانه‌ها ۱-۶-۱
- ۲۴ عوامل خطر ۱-۶-۲
- ۲۵ بقا ۱-۶-۳
- ۲۵ سرطان دهانه رحم ۱-۷
- ۲۵ علائم و نشانه‌ها ۱-۷-۱
- ۲۶ عوامل خطر ۱-۷-۲
- ۲۶ بقا ۱-۷-۳
- ۲۷ سرطان مری ۱-۸
- ۲۷ علائم و نشانه‌ها ۱-۸-۱
- ۲۸ عوامل خطر ۱-۸-۲
- ۲۸ بقا ۱-۸-۳
- ۲۸ سرطان مثانه ۱-۹
- ۲۹ علائم و نشانه‌ها ۱-۹-۱
- ۲۹ عوامل خطر ۱-۹-۲
- ۳۰ بقا ۱-۹-۳
- ۳۰ لنفوم غیر هوچکین ۱-۱۰
- ۳۰ علائم و نشانه‌ها ۱-۱۰-۱
- ۳۱ عوامل خطر ۱-۱۰-۲
- ۳۱ بقا ۱-۱۰-۳

۱-۱۱. لنفوم هوچکین	۳۱
۱-۱۱-۱. علائم و نشانه‌ها	۳۲
۱-۱۱-۲. عوامل خطر	۳۲
۱-۱۱-۳. بقا	۳۲
۱-۱۲. سرطان سر و گردن	۳۲
۱-۱۲-۱. علائم و نشانه‌ها	۳۳
۱-۱۲-۲. عوامل خطر	۳۳
۱-۱۲-۳. بقا	۳۳
۱-۱۳. سرطان لوزالمعده (پانکراس)	۳۴
۱-۱۳-۱. علائم و نشانه‌ها	۳۴
۱-۱۳-۲. عوامل خطر	۳۵
۱-۱۳-۳. بقای بیماران	۳۵
۱-۱۴. سرطان کلیه	۳۵
۱-۱۴-۱. علائم و نشانه‌ها	۳۶
۱-۱۴-۲. عوامل خطر	۳۶
۱-۱۴-۳. بقا	۳۶
۱-۱۵. سرطان تخمدان	۳۷
۱-۱۵-۱. علائم و نشانه‌ها	۳۷
۱-۱۵-۲. عوامل خطر	۳۷
۱-۱۵-۳. بقا	۳۸
۱-۱۶. سرطان پوست	۳۸
۱-۱۶-۱. علائم و نشانه‌ها	۳۹
۱-۱۶-۲. عوامل خطر	۳۹
۱-۱۶-۳. بقا	۴۰
۱-۱۷. تومورهای مغزی	۴۰
۱-۱۷-۱. علائم و نشانه‌ها	۴۰
۱-۱۷-۲. عوامل خطر	۴۱
۱-۱۷-۳. بقا	۴۱
نتیجه‌گیری	۴۲

فصل دوم: بیومارکرها..... ۴۳

- ۲-۱. بیومارکرها..... ۴۳
- ۲-۲. بیومارکرهای سرطان..... ۴۴
- ۲-۲-۱. ویژگی‌های یک بیومارکر ایده‌آل برای سرطان..... ۴۵
- ۲-۲-۲. طبقه‌بندی بیومارکرهای سرطان..... ۴۶
- ۲-۳. مایعات بدن..... ۵۱
- ۲-۳-۱. مکانیسم آزادسازی بیومارکرهای سرطان در مایعات بدن..... ۵۳
- ۲-۳-۲. مدیریت مایعات بدن برای حفظ یکپارچگی بیومارکر..... ۵۵
- ۲-۴. گردش خون محیطی به‌عنوان مخزنی از بیومارکرهای سرطان..... ۵۶
- ۲-۴-۱. کاربرد بالینی بیومارکرهای در گردش..... ۵۹
- ۲-۵. بیومارکرهای سرطان و مدیریت بیمار در محل مراقبت..... ۶۰
- ۲-۶. نشانگرهای توموری در گردش سنتی در عمل بالینی..... ۶۱
- ۲-۶-۱. آنزیم‌ها..... ۶۱
- ۲-۶-۲. هورمون‌ها..... ۶۹
- ۲-۶-۳. مارکرهای کربوهیدراتی..... ۷۷
- ۲-۶-۴. پروتئین‌ها..... ۸۲
- ۲-۶-۵. گیرنده‌ها و سایر مارکرهای توموری..... ۸۵
- ۲-۶-۶. مارکرهای ژنتیکی..... ۸۷
- ۲-۷. DNA متیله‌شده در گردش..... ۹۶
- ۲-۷-۱. بیومارکرهای تشخیصی..... ۹۶
- ۲-۷-۲. بیومارکرهای پیش‌آگهی..... ۹۸
- ۲-۷-۳. بیومارکرهای پاسخ درمانی..... ۹۹
- ۲-۸. نوکلئوزوم‌های در گردش..... ۱۰۲
- ۲-۸-۱. بیومارکرهای تشخیصی..... ۱۰۲
- ۲-۸-۲. بیومارکرهای پیش‌آگهی..... ۱۰۲
- ۲-۸-۳. بیومارکرهای پاسخ درمانی..... ۱۰۳
- ۲-۹. DNA آزاد در گردش (غیرمتصل)..... ۱۰۴
- ۲-۹-۱. بیومارکرهای تشخیص..... ۱۰۴
- ۲-۹-۲. بیومارکرهای پیش‌آگهی..... ۱۰۵
- ۲-۹-۳. بیومارکرهای درمان..... ۱۰۵

۲-۱۰. شاخص یکپارچگی DNA به عنوان بیومارکر در سرطان.....	۱۰۶
۲-۱۱. میکروRNA.....	۱۰۷
۲-۱۱-۱. نقایص در بیوژنز میکروRNA در سرطان.....	۱۰۸
۲-۱۱-۲. تغییرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک در میکروRNAهای در گردش.....	۱۱۱
۲-۱۱-۳. تغییرات میکروRNA در سرطان.....	۱۱۲
۲-۱۱-۴. عملکردهای انکوژنیک و سرکوبگر تومور میکروRNA ها.....	۱۱۳
۲-۱۱-۵. اهداف میکروRNA در سرطان.....	۱۱۵
۲-۱۱-۶. اقدامات احتیاطی در تجزیه و تحلیل میکروRNA.....	۱۱۵
۲-۱۱-۷. میکروRNA غیرانسانی در گردش.....	۱۱۷
۲-۱۲. سایر RNAهای غیرکدکننده کوچک در گردش.....	۱۱۸
۲-۱۲-۱. بیان LncRNA ها در سرطان.....	۱۱۸
۲-۱۲-۲. جهش های LncRNA در سرطان.....	۱۲۰
۲-۱۲-۳. LncRNA های در گردش در بیماران سرطانی.....	۱۲۱
۲-۱۲-۴. LncRNA در مایعات بدن مرتبط با بافت در بیماران مبتلا به سرطان.....	۱۲۲
۲-۱۲-۵. LncRNA در وزیکول های خارج سلولی مشتق از سرطان.....	۱۲۲
۲-۱۳. ژنتیک میتوکندریایی و سرطان.....	۱۲۳
۲-۱۳-۱. نارسایی میتوکندریایی و متاستاز سرطان.....	۱۲۵
۲-۱۳-۲. تغییرات ژنوم میتوکندریایی در مایعات بدن بیماران سرطانی.....	۱۲۶
۲-۱۳-۳. mtDNA توموری در گردش خون.....	۱۲۸
۲-۱۳-۴. mtDNA توموری در مایعات بدن مرتبط با بافت.....	۱۲۹
نتیجه گیری.....	۱۳۴

فصل سوم: فناوری های پیشرفته برای تجزیه و تحلیل بیومارکرهای مایعات بدن.....۱۳۷

۳-۱. فناوری های با توان بالا برای تجزیه و تحلیل بیومارکرها.....	۱۳۷
۳-۲. توالی یابی نسل بعدی.....	۱۳۸
۳-۳. تجزیه و تحلیل تک سلولی.....	۱۴۰
۳-۳-۱. تقویت کل ژنوم.....	۱۴۱
۳-۳-۲. تقویت جامع ترانسکرپتوم (WTA).....	۱۴۳
۳-۳-۳. تجزیه و تحلیل کل ژنوم سلول های توموری در حال گردش.....	۱۴۶

- ۴-۳. فناوری‌های پروتئومیکس برای تجزیه و تحلیل مایعات بدن ۱۴۶
- ۵-۳. مبتنی بر ژل ۱۵۰
- ۶-۳. تکنیک‌های پروتئومیکس غیرمبتنی بر ژل ۱۵۰
- ۷-۳. فناوری‌های متابولومیکس ۱۵۰
- ۱-۳-۷. طیف‌سنجی NMR ۱۵۱
- ۸-۳. آزمایشگاه روی چیپ ۱۵۲
- نتیجه‌گیری ۱۵۴

نمایه ۱۵۷

منابع ۱۵۹

مقدمه

سرطان همچنان یکی از پیچیده‌ترین و نگران‌کننده‌ترین بیماری‌های قرن بیست و یکم به‌شمار می‌رود؛ بیماری‌ای با ویژگی‌های بیولوژیکی بسیار متنوع و الگوهای پیشرفت غیرقابل پیش‌بینی که هم‌زمان نیازمند تشخیص زودهنگام، درمان هدفمند و پیگیری مستمر است. در این مسیر، **بیومارکرها** (نشانگرهای زیستی) به‌عنوان یکی از ارکان اصلی زیست‌پزشکی مدرن، تحولی بنیادین در مدیریت سرطان پدید آورده‌اند. **بیومارکرها** به‌طور کلی به عواملی زیستی گفته می‌شود که می‌توانند حضور یا شدت یک بیماری، پاسخ به درمان، یا پیش‌آگهی بیمار را نشان دهند. در سرطان‌شناسی، این نشانگرها از مراحل ابتدایی تشخیص تا ارزیابی خطر، طبقه‌بندی تومورها، تعیین پیش‌آگهی و نظارت بر پاسخ به درمان نقشی حیاتی ایفا می‌کنند. شناسایی **بیومارکرهای دقیق** می‌تواند مرز بین موفقیت و شکست در درمان را تعیین کند، به‌ویژه در شرایطی که ویژگی‌های مولکولی هر تومور با دیگری متفاوت است. در عصر پزشکی شخصی‌سازی‌شده (Personalized Medicine)، **بیومارکرها** کلید طراحی درمان‌هایی هستند که به‌جای یک رویکرد یکسان برای همه، با در نظر گرفتن خصوصیات ژنتیکی، اپی‌ژنتیکی، ایمونولوژیک و متابولیک هر بیمار تنظیم می‌شوند. همچنین توسعه فناوری‌هایی مانند **توالی‌یابی نسل جدید (NGS)**، و نانو حسگرهای زیستی، شناسایی **بیومارکرها** را دقیق‌تر و کاربردی‌تر از گذشته کرده است.

کتاب حاضر تلاشی است در جهت گردآوری، تحلیل و مرور جامع‌ترین اطلاعات به‌روز درباره **بیومارکرهای مرتبط با سرطان**. در این اثر، انواع مختلف **بیومارکرها** اعم از ژنتیکی، پروتئینی، اپی‌ژنتیکی و متابولیک در انواع سرطان‌ها مورد بررسی قرار گرفته‌اند. همچنین مروری دقیق بر جدیدترین فناوری‌ها و چالش‌های موجود در مسیر اعتبارسنجی و کاربرد بالینی این نشانگرها ارائه شده است.

امید است این کتاب بتواند به‌عنوان منبعی علمی برای محققان، متخصصان بالینی، دانشجویان تحصیلات تکمیلی و کلیه علاقه‌مندان به پژوهش‌های سرطان‌شناسی مفید واقع شود و سهمی مؤثر در ارتقاء دانش و کیفیت مراقبت از بیماران مبتلا به سرطان ایفا کند.

فصل اول

سرطان

سرطان‌ها به طور کلی به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند که شامل موارد زیر هستند:

الف) کارسینوما

این نوع سرطان عمدتاً از سلول‌های با منشأ اکتودرم یا اندودرم، مانند سلول‌های اپیتلیال (پوششی) یا سلول‌های غددی، نشأت می‌گیرد. کارسینوماها شایع‌ترین نوع سرطان در انسان بوده و حدود ۹۰ درصد از کل سرطان‌ها را تشکیل می‌دهند. از نمونه‌های شناخته‌شده آن می‌توان به آدنوکارسینومای پستان و کولورکتال اشاره کرد.

ب) سارکوما

سارکوماها سرطان‌هایی هستند که از بافت‌های مزانشیمی مانند استخوان، ماهیچه، چربی یا بافت همبند منشأ می‌گیرند و نسبت به کارسینوماها کمتر شایع‌اند. از انواع سارکوماها می‌توان فیبروسارکوما، استئوسارکوما و لیپوسارکوما را نام برد. در برخی موارد، سارکوماها ممکن است از بافت‌های خون‌ساز^۱ نیز منشأ بگیرند.

ج) لوسمی و لنفوما

این دسته از سرطان‌ها به سلول‌های خونی یا بافت‌های لنفاوی و ایمنی بدن مرتبط هستند. لوسمی‌ها به عنوان تومورهای مایع^۱ نیز شناخته می‌شوند.

ما در این بخش از کتاب به‌صورت مختصر به بررسی شایع‌ترین سرطان‌های کنونی در جهان و **بیومارکرهای تشخیصی** آن خواهیم پرداخت.

۱-۱. سرطان پستان

سرطان پستان نوعی کارسینوما است که از بافت پستان منشأ گرفته و به طور کلی از پنج نوع سلول سرچشمه می‌گیرد. شایع‌ترین انواع آن شامل Ductal Carcinoma، که از سلول‌های مجاری پستان^۲ نشأت می‌گیرد، و Lobular Carcinoma، که از سلول‌های لوبول‌های پستان^۳ منشأ می‌گیرد، هستند. سه نوع دیگر شامل Colloid، Tubular Carcinoma و Medullar Carcinoma می‌باشند.

سرطان پستان التهابی یک نوع نادر اما بسیار تهاجمی از سرطان پستان است که حدود ۱ تا ۵ درصد از کل موارد سرطان پستان را شامل می‌شود. برخلاف انواع شایع‌تر سرطان پستان، این بیماری معمولاً به‌صورت یک توده مشخص بروز نمی‌کند، بلکه با علائمی مانند قرمزی، گرمی، تورم و ضخیم شدن پوست پستان همراه است. پوست پستان در این حالت ظاهری شبیه پوست پرتقال^۴ پیدا می‌کند و بیماران ممکن است دچار درد، خارش یا احساس سنگینی در پستان شوند. در بسیاری از موارد، علائم سرطان پستان التهابی با ماستیت (عفونت پستان) اشتباه گرفته می‌شود و همین امر می‌تواند موجب تأخیر در تشخیص گردد.

سرطان پستان دومین سرطان شایع در زنان سراسر جهان است. در سال ۲۰۲۴، حدود ۱،۶۷۶،۰۰۰ نفر در جهان به این بیماری مبتلا بودند. کمترین میزان شیوع در این سال در کشورهای مغولستان و بوتان با ۸،۹ نفر به ازای هر ۱۰۰،۰۰۰ نفر و بیشترین میزان در بلژیک با ۱۰۹ نفر به ازای هر ۱۰۰،۰۰۰ نفر گزارش شد. این سرطان به ندرت در مردان نیز مشاهده می‌شود.

1. Liquid Tumors
2. Ducts
3. Lobules
4. Peau d'orange

از نظر جغرافیایی، بالاترین میزان ابتلا به سرطان پستان در مناطق آمریکای شمالی، استرالیا، و اروپای غربی و شمالی دیده می‌شود، در حالی که در اروپای شرقی شیوع متوسط و در بسیاری از مناطق آفریقا و آسیا شیوع پایین‌تری دارد. این سرطان نه تنها شایع‌ترین سرطان در زنان است، بلکه با حدود ۵۲۲،۰۰۰ مرگ در سال ۲۰۲۴، اصلی‌ترین علت مرگ ناشی از سرطان در زنان به شمار می‌رود.

۱-۱-۱. عوامل خطر ساز

عوامل متعددی در بروز سرطان پستان نقش دارند. مصرف هورمون‌ها، چه برای درمان پس از یائسگی و چه برای پیشگیری از بارداری، از مهم‌ترین عوامل خطر محسوب می‌شود. به عنوان مثال، بین سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۶، مطالعات اپیدمیولوژیک در کشورهای استرالیا، انگلستان، فرانسه و ایالات متحده کاهش شیوع سرطان پستان را نشان داد که با کاهش استفاده از هورمون‌های پس از یائسگی در این جوامع مرتبط بود. این امر تأثیر قابل‌توجه هورمون‌ها را در ابتلا به این سرطان تأیید می‌کند. سایر عوامل خطر مانند کم‌تحرکی، مصرف الکل، و چاقی با دیگر سرطان‌ها مشترک هستند. با این حال، الگوهای تولیدمثل و قاعدگی نیز در این سرطان نقش دارند؛ برای مثال، اولین بارداری در سنین بالای ۳۰ سال، قاعدگی‌های نامنظم یا طولانی، یا فقدان سابقه بارداری و زایمان خطر ابتلا را افزایش می‌دهند. چاقی نیز با کاهش بقا و افزایش مرگ‌ومیر در بیماران مرتبط است.

عامل ژنتیکی نیز بسیار مهم است. جهش در ژن‌های سرکوبگر تومور مانند BRCA1 و BRCA2، که از والدین به ارث می‌رسند، خطر ابتلا به سرطان پستان و تخمدان را به شدت افزایش می‌دهد. حتی وجود جهش در یکی از کپی‌های این ژن‌ها، در حالی که کپی دیگر سالم است، خطر را بالا می‌برد. اگرچه جهش‌های BRCA1 و BRCA2 تنها عوامل خطر نیستند، اما تأثیر آن‌ها از سایر عوامل برجسته‌تر است.

۱-۱-۲. علائم و نشانه‌ها

در مراحل اولیه، سرطان پستان معمولاً بدون علامت است. با رشد تومور و رسیدن به اندازه قابل‌لمس، علائم ظاهر می‌شوند. شایع‌ترین علامت، احساس توده بدون درد در پستان است.

درد پستان نادر است، اما تغییراتی مانند ضخیم شدن پوست پستان، ترشح از نوک پستان^۱، تغییر رنگ یا قوام نوک پستان، فرورفتگی نوک پستان، یا تحریک‌پذیری پوست پستان می‌توانند هشداردهنده باشند. زنان باید نسبت به این علائم هوشیار بوده و هرگونه تغییر غیرعادی را که در معاینه شخصی مشاهده می‌کنند، به پزشک گزارش دهند.

۳-۱-۱. بقا^۲

در کشورهای توسعه‌یافته، با تشخیص زودهنگام، حدود ۸۹ درصد بیماران شانس بقای طبیعی دارند. این آمار از نسبت بیمارانی که پس از پنج سال از درمان بدون عود بیماری هستند به افراد سالم هم‌سن آن‌ها محاسبه می‌شود و به "بقای ۵ ساله" معروف است.

۲-۱. سرطان کولورکتال

سرطان کولورکتال پس از سرطان‌های ریه و پروستات، سومین سرطان شایع در مردان و دومین در زنان محسوب می‌شود. در سال ۲۰۲۴، حدود ۱,۳۶۰,۰۰۰ نفر در جهان به این بیماری مبتلا بودند. بالاترین میزان ابتلا در کشورهای ایالات متحده، استرالیا، نیوزیلند، ژاپن و اروپا مشاهده شده، در حالی که کمترین شیوع در آفریقا و آسیای مرکزی و جنوبی گزارش شده است. این سرطان در مردان شایع‌تر از زنان است و عوامل متعددی در این تفاوت نقش دارند. بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی، در سال ۲۰۲۴، حدود ۶۹۴,۰۰۰ نفر بر اثر این سرطان جان باختند که ۸ درصد از کل مرگ‌ومیرهای ناشی از سرطان را تشکیل می‌دهد. مشابه سایر سرطان‌ها، شیوع سرطان کولورکتال در کشورهای توسعه‌یافته بیشتر از کشورهای در حال توسعه است.

این سرطان به درگیری روده بزرگ در نواحی مانند کولون، سیگموئید یا رکتوم مربوط می‌شود و مطالعات ژنتیکی نشان می‌دهند که منشأ آن در تمام این نواحی یکسان است. سرطان کولورکتال از نوع کارسینوما بوده و از سلول‌های پوششی دستگاه گوارش منشأ می‌گیرد.

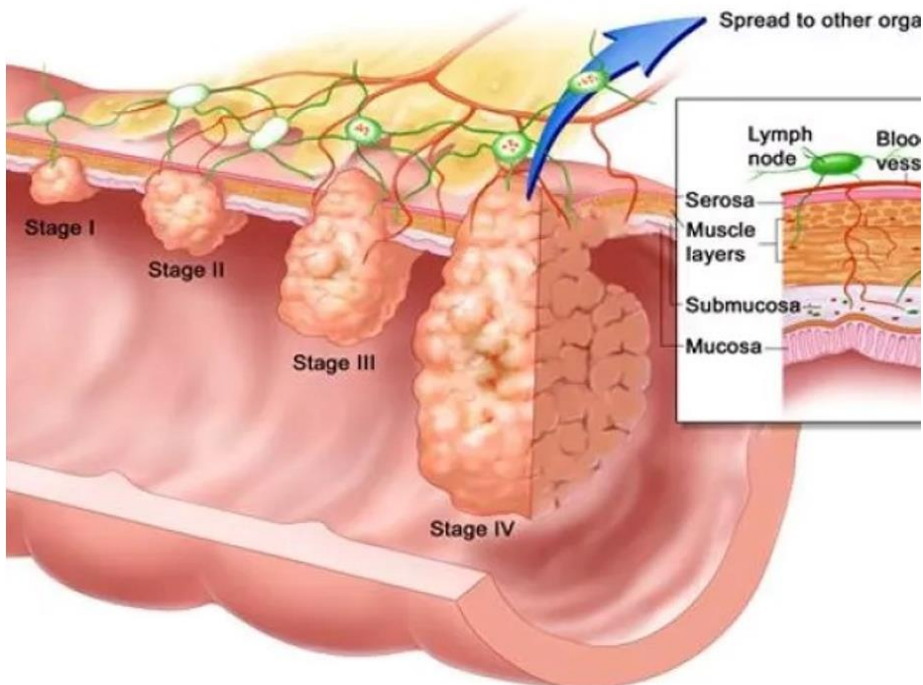
در کشورهایی مانند ایالات متحده، میزان ابتلا به این سرطان در حال کاهش است که نشان‌دهنده اهمیت تشخیص زودهنگام پولیپ‌ها و ضایعات پیش‌سرطانی از طریق غربالگری

1. Breast Discharge
2. Survival

است. این روش‌ها از پیشرفت بیماری و تبدیل ضایعات اولیه به سرطان جلوگیری می‌کنند. در مقابل، در کشورهای آسیایی و اروپای شرقی، شیوع این سرطان رو به افزایش است که ممکن است با تغییر سبک زندگی، افزایش چاقی، مصرف تنباکو و غربی شدن الگوهای زندگی مرتبط باشد. پیشرفت در غربالگری و درمان‌های مؤثر نیز به کاهش مرگ‌ومیر ناشی از این سرطان در کشورهای توسعه‌یافته کمک کرده است.

۱-۲-۱. علائم و نشانه‌ها

در مراحل اولیه، سرطان کولورکتال معمولاً بدون علامت است. با پیشرفت بیماری از مرحله ۰ تا مرحله IV (شکل ۱-۱) بسته به ناحیه درگیر روده بزرگ، علائمی مانند خونریزی رکتال، وجود خون در مدفوع، تغییر در عادات اجابت مزاج (اسهال یا یبوست)، یا دردهای شبیه دل‌پیچه ممکن است ظاهر شوند. خونریزی رکتال گاهی به آنمی، ضعف عمومی و خستگی منجر می‌شود. کاهش اشتها و کاهش وزن غیرعادی نیز از عوارض شایع این سرطان هستند، به‌ویژه اگر با خونریزی رکتال همراه باشند.



شکل ۱-۱. مرحله‌های مختلف سرطان کلورکتال (Colorectal cancer alliance)

۲-۲-۱. عوامل خطر ساز

اعتقاد بر این است که جهش‌های ژنتیکی در مسیر Wnt signaling نقش کلیدی در اتیولوژی سرطان کولورکتال دارند. این جهش‌ها می‌توانند ارثی یا اکتسابی باشند و اغلب در سلول‌های بنیادی پرزهای روده رخ می‌دهند. شایع‌ترین ژن جهش‌یافته، APC است که پروتئینی با همین نام تولید می‌کند. این پروتئین از تجمع β -catenin در سلول‌های روده جلوگیری می‌کند. افزایش β -catenin باعث نفوذ آن به هسته سلول و تحریک بیان ژن‌های مرتبط با تکثیر، به‌ویژه در سلول‌های بنیادی، می‌شود. نقص در کنترل β -catenin می‌تواند به سرطانی شدن سلول‌ها منجر شود. علاوه بر این، جهش در ژن‌های P53 و BAX نیز در بروز این سرطان نقش دارند.

افزایش سن خطر ابتلا به این سرطان را بالا می‌برد؛ در کشورهای توسعه‌یافته، ۹۰ درصد مبتلایان بالای ۵۰ سال هستند. سابقه خانوادگی و سندرم‌های ژنتیکی مانند سرطان کولورکتال غیرپولیپ‌ی ارثی (FAP)، پولیپ‌های آدنوماتوز^۱، بیماری التهابی روده^۲ (IBD)، Turcot Syndrome (اغلب همراه با FAP یا IBD و مرتبط با سرطان مغز)، و Peutz-Jeghers Syndrome خطر ابتلا را افزایش می‌دهند.

سبک زندگی نیز نقش مهمی دارد. چاقی، کم‌تحركی، مصرف زیاد گوشت قرمز یا فرآوری‌شده (مانند سوسیس)، مصرف الکل و سیگار از عوامل خطر قابل کنترل هستند. چاقی نه تنها خطر ابتلا را افزایش می‌دهد، بلکه با پیش‌آگهی بدتر و مرگ‌ومیر بالاتر در مبتلایان مرتبط است. مصرف شیر و کلسیم می‌تواند خطر ابتلا را کاهش دهد. برخی شواهد از اثر محافظتی داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی مانند آسپیرین یا هورمون‌هایی مانند پروژستین حکایت دارند، اما عوارض جانبی این داروها مانع استفاده گسترده آن‌ها برای پیشگیری می‌شود.

۳-۲-۱. بقا

بقای ۵ ساله بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال بسته به منطقه متفاوت است. در ایالات متحده، این نرخ حدود ۶۵ درصد است و با تشخیص زودهنگام تا ۹۰ درصد افزایش می‌یابد. با این حال، تنها ۳۹ درصد موارد در مراحل اولیه تشخیص داده می‌شوند. پایین‌ترین نرخ

1. Familial Adenomatous Polyposis
2. Inflammatory Bowel Disease

بقا در کشور گامبیا مشاهده شده که احتمالاً به دلیل کمبود سیستم‌های غربالگری در این کشور است.

۳-۱. سرطان ریه و برونش

براساس داده‌های سازمان بهداشت جهانی، در سال ۲۰۲۴، سرطان ریه با حدود ۱,۸۲۵,۰۰۰ مبتلا در جهان، ۱۳ درصد از کل موارد سرطان را به خود اختصاص داد. این سرطان در مردان بیشتر در مناطق آمریکای شمالی، اروپا، آسیای شرقی، آرژانتین و اروگوئه شایع است، در حالی که کمترین میزان ابتلا در کشورهای واقع در صحرای آفریقا گزارش شده است. سرطان ریه شایع‌ترین علت مرگ ناشی از سرطان است و در سال ۲۰۲۴، حدود ۱,۵۹۰,۰۰۰ نفر بر اثر آن جان باختند. نکته قابل توجه این است که، با وجود مصرف کمتر سیگار در زنان چینی نسبت به زنان اروپایی، نرخ ابتلا به سرطان ریه در زنان چینی بالاتر است. این موضوع می‌تواند به آلودگی هوا ناشی از سوخت‌های فسیلی و دود اجاق‌های زغالی مورد استفاده در پخت‌وپز مرتبط باشد. با این حال، تفاوت در نرخ ابتلا به سرطان ریه در سطح جهان به شدت با الگوها و میزان مصرف تنباکو در کشورهای مختلف ارتباط دارد.

سرطان ریه عمدتاً از سلول‌های پوششی (اپیتلیال) ریه منشأ می‌گیرد و به صورت کارسینوما ظاهر می‌شود. این سرطان به چند نوع اصلی تقسیم می‌شود:

- کارسینوم سلول سنگفرشی^۱
- آدنوکارسینوما
- کارسینوم سلول بزرگ^۲
- کارسینوم سلول کوچک^۳

حدود ۴۰ درصد موارد سرطان ریه از نوع آدنوکارسینوما، ۳۰ درصد کارسینوم سلول بزرگ، و ۹ درصد کارسینوم سلول سنگفرشی هستند. کارسینوم سلول کوچک اغلب بسیار تهاجمی است، برونش‌ها و مجاری هوایی بزرگ‌تر را درگیر می‌کند و از همان مراحل اولیه قابلیت متاستاز دارد، که درمان را دشوارتر می‌سازد. انواع نادرتر شامل Carcinoid Tumors و Glandular Tumors هستند.

1. Squamous Cell Carcinoma
2. Large-Cell Carcinoma
3. Small-Cell Carcinoma

۱-۳-۱. علائم و نشانه‌ها

در مراحل اولیه، سرطان ریه ممکن است بدون علامت باشد. در ۴۰ درصد بیماران، علائم تنها پس از پیشرفت بیماری ظاهر می‌شوند. با این حال، علائمی مانند درد قفسه سینه، سرفه‌های مداوم (به‌ویژه همراه با خلط خونی)، تغییر در الگوی تنفس (از نظر تعداد یا کیفیت)، تغییر صدا، و عفونت‌های مکرر مانند پنومونی یا برونشیت می‌توانند نشانه‌های هشداردهنده باشند.

۱-۳-۲. عوامل خطر ساز

مهم‌ترین عامل خطر برای سرطان ریه، مصرف سیگار است که ۸۰ درصد موارد در مردان و ۵۰ درصد در زنان را شامل می‌شود. قرار گرفتن در معرض دود سیگار، مواجهه شغلی یا محیطی با رادون، آربست، و فلزاتی مانند کادمیوم، کرومیوم، و آرسنیک، مواد شیمیایی آلی، تشعشعات، آلودگی هوا، و دود ناشی از سوخت‌ها نیز خطر ابتلا را افزایش می‌دهند، به‌ویژه در افراد سیگاری. نقش ژنتیک نیز قابل توجه است؛ برای مثال، جهش در ژن KRAS در ۱۰ تا ۳۰ درصد موارد دیده می‌شود. سایر ژن‌های مرتبط با این سرطان شامل MET، NKX2-1، BRAF و PIK3CA، LKB1 هستند که جهش در آن‌ها می‌تواند به بروز بیماری کمک کند.

۱-۳-۳. بقا

با وجود پیشرفت‌های جراحی، سرطان ریه همچنان یکی از کشنده‌ترین سرطان‌ها با پایین‌ترین نرخ بقاست. در ایالات متحده، بقای ۵ ساله بیماران درمان شده تنها ۱۶ درصد است. در مواردی که بیماری در مراحل اولیه و موضعی تشخیص داده شود، این نرخ به حدود ۵۳ درصد می‌رسد، اما تنها ۱۵ درصد موارد در این مرحله شناسایی می‌شوند.

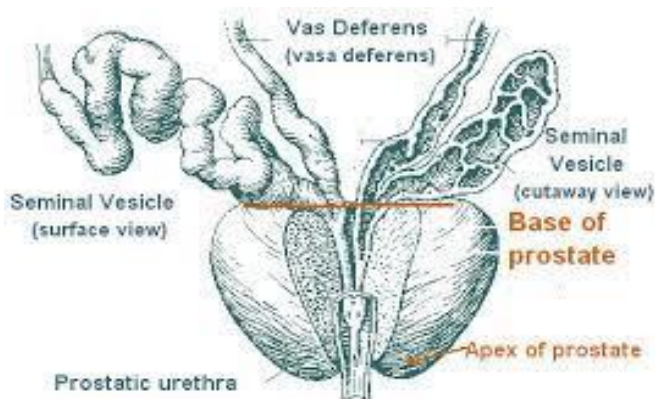
۱-۴. سرطان پروستات

کارسینومای پروستات، که به عنوان سرطان پروستات شناخته می‌شود، دومین سرطان شایع در میان مردان است. این سرطان اغلب به صورت کندپیشرونده ظاهر می‌شود و تنها در موارد محدودی رشد سریع دارد. بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی، در سال ۲۰۲۴ حدود ۱,۱۱۱,۰۰۰ مورد جدید ابتلا به سرطان پروستات در جهان ثبت شد. حدود ۷۵ درصد این موارد در کشورهای توسعه یافته گزارش شده‌اند، با بالاترین میزان شیوع در آمریکای شمالی، اروپای

شمالی و اقیانوسیه. این امر عمدتاً به دلیل استفاده گسترده از تست غربالگری PSA در سیستم‌های سلامت این مناطق است که تشخیص زودهنگام را تسهیل می‌کند.

۱-۴-۱. علائم و نشانه‌ها

در مراحل اولیه، سرطان پروستات معمولاً بدون علامت است. با پیشرفت بیماری، علائمی مانند کاهش جریان ادرار، تکرر ادرار، یا تخلیه ناقص مثانه ممکن است بروز کنند. وجود خون در ادرار یا سوزش هنگام ادرار نیز می‌تواند نشانه‌ای از این سرطان باشد، هرچند باید این علائم را از عفونت‌های ادراری افتراق داد. بسیاری از این علائم در بیماری‌های خوش‌خیم پروستات، مانند هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات، نیز دیده می‌شوند. در مراحل پیشرفته، متاستاز به استخوان‌های لگن، ستون فقرات یا ران‌ها شایع است و می‌تواند با درد کمر یا پشت همراه باشد. درگیری ستون مهره‌ها ممکن است به ضعف پاها، بی‌اختیاری ادرار یا مدفوع منجر شود که نشان‌دهنده آسیب به اعصاب ناحیه کمر و لگن است (شکل ۲-۱).



شکل ۲-۱. آناتومی پروستات و فشار آوردن به مجاری ادراری در صورت بزرگ شدن (سرطان تشخیص و درمان)

۱-۴-۲. عوامل خطر ساز

عوامل اصلی خطر شامل افزایش سن، سابقه خانوادگی، و نژاد هستند، به‌طوری که نژاد سیاه با خطر بالاتر ابتلا مرتبط است. شیوع این سرطان در مردان بالای ۶۵ سال به اوج خود می‌رسد. رژیم‌های غذایی پرچرب، به‌ویژه حاوی گوشت قرمز، می‌توانند خطر ابتلا را افزایش دهند. چاقی نیز با مرگ‌ومیر بالاتر در بیماران مبتلا مرتبط است. مطالعات همچنین فشار خون بالا را به‌عنوان یک عامل خطر معرفی کرده‌اند.

از نظر ژنتیکی، جهش در ژن‌های BRCA1 و BRCA2، که در زنان خطر سرطان پستان و تخمدان را افزایش می‌دهند، در مردان احتمال ابتلا به سرطان پروستات را بالا می‌برند. ژن‌های دیگری مانند HPC1 (Hereditary Prostate Cancer Gene 1)، ژن گیرنده آندروژن، و ژن گیرنده ویتامین D نیز در این بیماری نقش دارند. کمبود ویتامین D با افزایش خطر ابتلا مرتبط است. مصرف طولانی‌مدت داروهای کاهنده کلسترول (استاتین‌ها) و عفونت‌های دستگاه تناسلی ناشی از نایسریا گونوره‌آ^۱ یا کلامیدیا نیز از عوامل مستعدکننده هستند.

۳-۴-۱. بقا

طی ۲۵ سال گذشته، پیشرفت در تشخیص زودهنگام و روش‌های درمانی، بقای بیماران مبتلا به سرطان پروستات را به‌طور چشمگیری بهبود داده است. در ایالات متحده، بقای ۵ ساله تقریباً ۱۰۰ درصد است. در اروپا، این نرخ از ۴۸ درصد در دانمارک تا ۸۷ درصد در اتریش متغیر است. در کشورهای آسیایی و آفریقایی، بقای ۵ ساله معمولاً کمتر از ۴۰ درصد است، که اهمیت ادغام تست‌های غربالگری مانند PSA در سیستم‌های سلامت این کشورها را نشان می‌دهد. تشخیص زودهنگام می‌تواند بقای بیماران را تا دو برابر افزایش دهد.

۵-۱. سرطان معده

براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۲۴، سرطان معده با حدود ۹۸۹،۶۰۰ مورد جدید، چهارمین سرطان شایع در جهان شناخته شده است. حدود ۷۲ درصد از این موارد در کشورهای در حال توسعه رخ می‌دهند. این بیماری عمدتاً از سلول‌های پوششی لایه داخلی معده منشأ می‌گیرد و به‌عنوان نوعی کارسینوما طبقه‌بندی می‌شود. دو نوع اصلی سرطان معده، که هر دو کارسینوما هستند، شامل موارد زیر هستند:

۱. نوع روده‌ای

۲. نوع پراکنده

میزان بروز این بیماری در مردان تقریباً دو برابر زنان است و در کشورهای جنوب شرق آسیا، به‌ویژه کره جنوبی، چین و ژاپن، شیوع بیشتری دارد.

1. Neisseria gonorrhoeae

۱-۵-۱. علائم و نشانه‌ها

سرطان معده، به‌ویژه در مراحل اولیه، ممکن است علائم قابل‌توجهی ایجاد نکند. علائم اولیه شامل نفخ پس از غذا، سوزش سر دل، ترش کردن و سوءهاضمه است که باید از سایر بیماری‌های گوارشی تمایز داده شوند. در مراحل پیشرفته، علائمی مانند کاهش اشتها، کاهش وزن، زردی پوست، درد معده، یبوست یا اسهال، خون در مدفوع، استفراغ خونی، کم‌خونی و احساس پری معده مشاهده می‌شود. در مراحل نهایی، این سرطان می‌تواند به اندام‌هایی مانند کبد، ریه، استخوان، سایر بخش‌های دستگاه گوارش و گره‌های لنفاوی گسترش یابد.

۱-۵-۲. عوامل خطر

یکی از شناخته‌شده‌ترین علل سرطان معده، عفونت با باکتری هلیکوباکتر پیلوری است که در ۶۰ درصد بیماران دیده می‌شود و از طریق مسیر مدفوعی-دهانی منتقل می‌شود. فاکتور بیماری‌زای Cag-A در این باکتری به‌عنوان عامل اصلی ایجاد بدخیمی معده شناخته شده است. سایر عوامل خطر شامل مصرف زیاد غذاهای فرآوری‌شده، به‌ویژه غذاهای دودی و حاوی نگهدارنده‌های نیترات و نیتريت است که می‌توانند توسط هلیکوباکتر پیلوری به نیتروزامین سرطان‌زا تبدیل شوند. مصرف بیش‌ازحد ترشی‌ها، سیگار کشیدن و چاقی نیز از عوامل خطر هستند. نکته جالب اینکه مصرف متعادل آسپرین می‌تواند اثر پیشگیرانه داشته باشد، درحالی‌که مصرف طولانی‌مدت آن ممکن است مشکلات گوارشی مانند خونریزی معده ایجاد کند. جهش در ژن CDH1 (بیان‌کننده E-cadherin) نیز می‌تواند خطر ابتلا به این سرطان را افزایش دهد.

۱-۵-۳. بقا

به دلیل تشخیص دیرنگام سرطان معده در اکثر کشورها (به‌جز ژاپن که دارای غربالگری پیشرفته است)، میزان بقای بیماران تنها حدود ۲۶ درصد است، درحالی‌که این رقم در ژاپن به ۶۲ درصد می‌رسد.

۱-۶. سرطان کبد

سرطان کبد در میان مردان پنجمین و در زنان هفتمین سرطان شایع محسوب می‌شود. براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۲۴، حدود ۷۸۲,۰۰۰ مورد جدید از این

بیماری در جهان ثبت شده است. تقریباً ۸۵ درصد از این موارد در کشورهای در حال توسعه رخ داده و چین به تنهایی ۵۰ درصد از کل مبتلایان را شامل می‌شود.

شیوع این سرطان در مردان حدوداً دو برابر زنان است. کشورهای شرق آسیا، مانند چین و ژاپن، نرخ بالایی از ابتلا به این بیماری دارند. نکته قابل توجه این است که ژاپن، تنها کشور توسعه‌یافته با آمار بالای سرطان کبد است، درحالی‌که در سایر کشورهای توسعه‌یافته این آمار بسیار پایین‌تر است. از نظر هیستوپاتولوژی، ۷۰ تا ۸۵ درصد موارد سرطان کبد از نوع هیپاتوسلولار کارسینوما^۱ (HCC) هستند. نوع دیگری به نام Cholangiocarcinoma، که نادرتر است، بیشتر در کشورهای آسیایی مانند تایلند دیده می‌شود و یکی از علل آن عفونت با انگل ترماتود فلوک^۲ است. با این حال، اصلی‌ترین عامل اتیولوژیک سرطان کبد، عفونت با ویروس هپاتیت B و C است.

۱-۶-۱. علائم و نشانه‌ها

بسیاری از بیماران در مراحل اولیه سرطان کبد علائم خاصی بروز نمی‌دهند. علائم در دو نوع هیپاتوسلولار کارسینوما و Cholangiocarcinoma تا حدی متفاوت هستند. در هیپاتوسلولار کارسینوما، علائم شامل درد شکمی، درد پشت، خارش، زردی پوست و سفیدی چشم^۳، تب و کاهش وزن است. در Cholangiocarcinoma، علائم شامل تعریق، بزرگ شدن کبد، زردی پوست و سفیدی چشم، درد شکمی و کاهش وزن می‌شود.

۱-۶-۲. عوامل خطر

ارتباط مستقیمی بین ابتلا به سرطان کبد و سابقه عفونت با ویروس هپاتیت B و C وجود دارد. این ویروس‌ها به راحتی از طریق خون آلوده، تماس جنسی یا از مادر به جنین منتقل می‌شوند. در مقایسه با سایر ویروس‌های خانواده هپاتیت، خطر سرطان‌زایی این دو نوع بیشتر است. برخی مطالعات نشان داده‌اند که عفونت همزمان با هپاتیت B و D نیز می‌تواند خطر ابتلا به سرطان را افزایش دهد. ویروس‌های هپاتیت B و C با تغییر متیلاسیون ژن‌ها در مسیرهای سیگنالینگ سلولی، مقاومت سلول‌های کبدی به آپوپتوز را افزایش داده و به سرطانی شدن آن‌ها منجر می‌شوند. عفونت با هپاتیت C، به‌ویژه، اغلب به سیروز کبدی منجر می‌شود که

1. Hepatocellular carcinoma
2. Liver Fluke Infection
3. Jaundice

اصلی‌ترین عامل خطر برای سرطان کبد است. عواملی مانند مصرف الکل، قرار گرفتن در معرض آفاتوکسین تولیدشده توسط *Aspergillus flavus*، چاقی، دیابت و عفونت با ترماتود فلوک نیز در ایجاد سیروز کبدی و در نتیجه سرطان کبد نقش دارند. در کودکان، سندرم‌هایی مانند پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی، بکویت-ویدمن، وزن کم هنگام تولد و تریزومی ۱۸ با افزایش خطر سرطان کبد نوزادی (هپاتوبلاستوما^۱) مرتبط هستند.

۳-۶-۱. بقا

سرطان کبد در مراحل پیشرفته یکی از مرگبارترین سرطان‌هاست و نرخ بقای بیماران در کشورهای توسعه‌یافته تنها ۱۵ درصد است. در صورت تشخیص زودهنگام، این نرخ به حدود ۲۶ درصد افزایش می‌یابد.

۷-۱. سرطان دهانه رحم

سرطان دهانه رحم سومین سرطان شایع در زنان است. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۲۴، حدود ۵۲۷,۰۰۰ مورد جدید از این بیماری ثبت شده است. بالاترین میزان ابتلا در مناطق آمریکای جنوبی و مرکزی، کارائیب، آفریقای زیرصحرای و جنوب آسیا دیده می‌شود، در حالی‌که در خاورمیانه، آمریکای شمالی و استرالیا این آمار پایین‌تر است. به‌طور کلی، در مناطقی با سیستم‌های غربالگری و نظارت بهداشتی ضعیف، نرخ ابتلا بالاتر است. این سرطان از سلول‌های بافت پوششی سرویکس منشأ می‌گیرد و در مراحل پیشرفته می‌تواند به سایر نقاط بدن گسترش یابد (شکل ۳-۱).

۱-۷-۱. علائم و نشانه‌ها

در مراحل پیش‌سرطانی و اولیه، معمولاً علائم خاصی مشاهده نمی‌شود. با پیشرفت بیماری و تهاجم سلول‌های سرطانی به بافت‌های اطراف، علائمی مانند خونریزی غیرطبیعی رحم، خونریزی پس از آمیزش جنسی، درد هنگام آمیزش، خونریزی نامنظم در دوره قاعدگی، درد لگنی، خونریزی پس از یائسگی، ترشحات غیرعادی رحمی، خستگی، کاهش اشتها، کمردرد، تورم پاها و درد پا بروز می‌کند. در مراحل پیشرفته، سلول‌های سرطانی می‌توانند به بافت‌های شکمی و ریه‌ها تهاجم کنند.



شکل ۳-۱. سلول های سرطانی بافت رحم منشأ گرفته از بافت پوششی (Cleveland Clinic)

۲-۷-۱. عوامل خطر

اصلی ترین عامل خطر، عفونت با ویروس پاپیلومای انسانی (HPV)، به ویژه سروتیپ های ۱۶ و ۱۸ است که خطر ابتلا به سرطان دهانه رحم را ۲۰۰ برابر افزایش می دهد. اگرچه این عفونت در بسیاری از موارد به صورت خودبه خود رفع می شود، در حالت مزمن، به ویژه در افراد با سیستم ایمنی ضعیف یا داشتن شرکای جنسی متعدد می تواند به سرطان منجر شود. سیگار کشیدن و مصرف طولانی مدت داروهای ضدبارداری خوراکی^۱ نیز خطر را افزایش می دهند.

۳-۷-۱. بقا

در صورت تشخیص زودهنگام، سرطان دهانه رحم یکی از قابل درمان ترین سرطان ها است. در آمریکا، ۹۱ درصد بیماران با تشخیص زودهنگام بهبود می یابند. با پیشرفت بیماری، نرخ بقا کاهش یافته و در مرحله ۴ به ۱۷ درصد می رسد. این موضوع اهمیت غربالگری منظم با پاپ اسمیر را نشان می دهد. درمان ترکیبی با پرتودرمانی و سپس پلاتین نرخ بقا را به طور قابل توجهی افزایش می دهد.

1. Oral Contraceptives

۸-۱. سرطان مری

سرطان مری نوعی کارسینومای مرتبط با بافت پوششی مری است. براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۲، حدود ۴۵۶،۰۰۰ مورد جدید از این بیماری در جهان ثبت شده است. شیوع این سرطان در مناطق مختلف جهان متفاوت است و بالاترین نرخ ابتلا در کشورهای آسیایی مانند چین، آسیای مرکزی و همچنین شرق و جنوب آفریقا مشاهده می‌شود. این بیماری در مردان ۳ تا ۴ برابر شایع‌تر از زنان است. سرطان مری عمدتاً به دو نوع تقسیم می‌شود: کارسینوما سلول سنگفرشی که از سلول‌های لایه پوششی در نواحی میانی و فوقانی مری منشأ می‌گیرد و آدنوکارسینوما که از سلول‌های glandular در نواحی تحتانی مری و محل اتصال آن به معده ایجاد می‌شود. آدنوکارسینوما بیشتر در کشورهای توسعه‌یافته دیده می‌شود، در حالی که کارسینومای سلول سنگفرشی در کشورهای در حال توسعه شایع‌تر است. متأسفانه، ایران، به‌ویژه استان‌های شمالی مانند گلستان و مازندران، در کنار بخش‌هایی از آسیای مرکزی و چین، در کمربند سرطان مری قرار دارد و اکثر موارد ابتلا در این مناطق از نوع کارسینومای سلول سنگفرشی است.

۱-۸-۱. علائم و نشانه‌ها

در مراحل اولیه، سرطان مری معمولاً بدون علامت است. با پیشرفت بیماری، اولین و مهم‌ترین علامت، بلع دردناک یا دشواری در بلع^۱ است که اغلب به کاهش وزن منجر می‌شود. علائم دیگری مانند درد در قفسه سینه یا شکم نیز ممکن است بروز کند. در موارد پیشرفته، اگر تومور به اعصاب حنجره فشار وارد کند، سرفه‌ای با صدای شبیه به اسب^۲ شنیده می‌شود. بی‌اشتهایی، استفراغ، بازگشت غذا به مری و سرفه نیز از نشانه‌های مراحل بعدی هستند. در برخی موارد، تنگی مری یا ایجاد فیستول بین مری و نای^۳ می‌تواند باعث ورود غذا به مجاری تنفسی و بروز پنومونی شود. به دلیل شکنندگی بافت تومور، خونریزی و استفراغ خونی نیز شایع است. سلول‌های سرطانی مری اغلب به گره‌های لنفاوی، کبد و ریه متاستاز می‌دهند و علائم متاستاز بسته به بافت درگیر متفاوت است؛ برای مثال، تهاجم به کبد می‌تواند باعث ادم شکمی شود.

1. Dysphagia

2. Hoarse-Sounding Cough

3. Windpipe

۲-۸-۱. عوامل خطر

در کشورهای غربی، اصلی‌ترین عوامل خطر برای کارسینوما سلول سنگفرشی شامل مصرف سیگار و نوشیدنی‌های داغ است. رژیم غذایی کم‌میوه و سبزیجات نیز خطر ابتلا را افزایش می‌دهد. چاقی و بیماری رفلاکس مری، که در آن اسید معده به مری بازمی‌گردد و به دیواره آن آسیب می‌رساند، از عوامل خطر آدنوکارسینوما هستند. در رفلاکس مری، نبود مقاومت سلول‌های مری به اسید معده باعث تغییرات متاپلاستیک، دیسپلاستیک و نئوپلاستیک می‌شود که به Barrett's Esophagus منجر می‌گردد.

در استان گلستان ایران، که شیوع بالایی از سرطان مری دارد، علت دقیق اتیولوژیک مشخص نیست، اما کمبود مواد غذایی، مصرف کم میوه و سبزیجات و نوشیدن چای داغ به‌عنوان عوامل احتمالی مطرح شده‌اند. نیتروزامین، حاصل متابولیسم نیترات و نیتريت در غذاهای فرآوری شده و کنسروی، نیز خطر ابتلا را افزایش می‌دهد. نکته جالب اینکه، برخلاف انتظار، عفونت با هلیکوباکتر پیلوری، اگرچه می‌تواند به رفلاکس مری منجر شود، تا ۵۰ درصد خطر آدنوکارسینوما مری را احتمالاً به دلیل کاهش اسید معده کاهش می‌دهد.

۳-۸-۱. بقا

نرخ بقای بیماران مبتلا به سرطان مری بسیار پایین است، زیرا بیماری اغلب در مراحل پیشرفته تشخیص داده می‌شود و درمان قطعی دشوار است. در ایالات متحده، نرخ بقای ۵ ساله تنها ۱۵ درصد است و بسیاری از بیماران در سال اول پس از تشخیص فوت می‌کنند.

۹-۱. سرطان مثانه

سرطان مثانه نهمین سرطان شایع در سطح جهانی است. براساس داده‌های سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۲۴، حدود ۴۳۰,۰۰۰ مورد جدید ابتلا به این بیماری در جهان گزارش شده است. این سرطان در مردان شیوع بیشتری نسبت به زنان دارد و بیشترین میزان ابتلا در مناطق اروپا، شمال آفریقا، خاورمیانه و آمریکای شمالی مشاهده می‌شود. منشأ اصلی این سرطان، سلول‌های پوششی مثانه است که به آن کارسینوما گفته می‌شود. به‌ندرت، مثانه ممکن است با سرطان‌های غیراپیتلیال مانند لنفوما یا سارکوما درگیر شود. حدود ۹۰ درصد از

موارد سرطان مثانه از نوع کارسینوم سلول انتقالی^۱ هستند و ۱۰ درصد باقی مانده شامل کارسینوم سلول سنگفرشی، آدنوکارسینوم، سارکوم یا کارسینوم سلول کوچک می شوند.

۱-۹-۱. علائم و نشانه‌ها

مهم‌ترین و بارزترین نشانه سرطان مثانه، هماچوری^۲ است که ممکن است با چشم غیرمسلح قابل مشاهده باشد یا نیاز به بررسی میکروسکوپی داشته باشد. این علامت در ۸۰ تا ۹۰ درصد بیماران دیده می‌شود. سایر علائم شامل تکرر ادرار، احساس کاذب نیاز به دفع ادرار و درد هنگام ادرار کردن است. با این حال، به جز هماچوری، این علائم ممکن است در بیماری‌هایی مانند بزرگی پروستات یا عفونت ادراری نیز بروز کنند. وجود خون در ادرار همچنین می‌تواند ناشی از سنگ مثانه، مشکلات کلیوی یا اختلالات عروقی باشد و نیازمند تشخیص دقیق است. در مراحل پیشرفته، بیماران ممکن است درد لگنی، درد در استخوان‌های کمر و پاها، تورم اندام‌های تحتانی و در موارد نادر، توده توموری قابل لمس در معاینه فیزیکی مثانه را تجربه کنند.

۱-۹-۲. عوامل خطر

اصلی‌ترین عامل خطر برای سرطان مثانه، مصرف سیگار است که در نیمی از مردان و یک‌سوم زنان مبتلا دیده می‌شود. افرادی که در صنایع چرم‌سازی، رنگ‌سازی یا در مناطقی با آب آشامیدنی حاوی آرسنیک بالا کار می‌کنند، در معرض خطر بیشتری هستند. مطالعات نشان داده‌اند مردانی که روزانه ۱٫۵ لیتر آب می‌نوشند، در مقایسه با کسانی که تنها ۲۴۰ میلی‌لیتر آب مصرف می‌کنند، خطر ابتلا به این سرطان را به‌طور قابل توجهی کاهش می‌دهند. قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی مانند بنزیدین و ۲-نفتیل‌آمین، استفاده مکرر از رنگ مو و جهش در ژن‌هایی نظیر HRAS، RAS2 و FGFR3 نیز خطر ابتلا را افزایش می‌دهند. در کشورهای در حال توسعه خاورمیانه و آفریقا، عفونت مزمن با انگل *Schistosoma haematobium*، که باعث شistosوزومیاژیس ادراری می‌شود، در ۵۰ درصد موارد خطر سرطان مثانه را بالا می‌برد. نکته قابل توجه این است که سرطان مثانه ناشی از شistosوزومیاژیس معمولاً از نوع کارسینوم سلول های سنگفرشی است، برخلاف سایر عوامل که عمدتاً کارسینوم سلول انتقالی ایجاد می‌کنند.

1. Transitional Cell Carcinoma
2. Hematuria

۳-۹-۱. بقا

در ایالات متحده، نرخ بقای کلی بیماران مبتلا به سرطان مثانه حدود ۷۹ درصد است، زیرا اکثر موارد در مراحل اولیه و غیرمهاجم تشخیص داده می‌شوند. اما در کشورهای در حال توسعه و آسیا، این نرخ به دلیل تشخیص دیر هنگام به حدود ۵۰ درصد کاهش می‌یابد. این تفاوت مستقیماً با سطح بهداشت عمومی و دسترسی به تست‌های غربالگری برای تشخیص زودهنگام مرتبط است.

۱۰-۱. لنفوم غیر هوچکین

لنفوم غیر هوچکین نوعی سرطان مرتبط با سلول‌های لنفوسیتی خونی است که شامل تمام انواع لنفوم به‌جز لنفوم هوچکین می‌شود. این بیماری طیف وسیعی از انواع کندپیشرونده تا سریع‌پیشرونده را دربرمی‌گیرد. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۲، حدود ۳۸۶،۰۰۰ مورد جدید ابتلا به این سرطان در جهان ثبت شده است. لنفوم غیر هوچکین در کشورهای توسعه‌یافته شایع‌تر است و بالاترین نرخ ابتلا در استرالیا، غرب و شمال اروپا و آمریکای شمالی مشاهده می‌شود. در آفریقا، به‌جز منطقه زیر صحرای شیوع این بیماری پایین است. دلیل افزایش موارد در منطقه زیر صحرای ارتباط قوی با Burkitt Lymphoma ناشی از عفونت با Epstein-Barr Virus (EBV) است. زیرگروه‌های اصلی لنفوم غیر هوچکین شامل موارد زیر هستند:

۱. لنفوم فولیکولار
۲. لنفوم سلول B منتشر بزرگ
۳. لوسمی لنفوسیتی مزمن

۱۰-۱-۱. علائم و نشانه‌ها

نشانه‌های شایع این بیماری شامل تورم گره‌های لنفاوی، خارش پوست، تعریق شبانه، خستگی شدید، کاهش وزن بدون دلیل و تب‌های متناوب است.

۱۰-۱-۲. عوامل خطر

علت دقیق ابتلا به لنفوم غیر هوچکین هنوز کاملاً مشخص نیست، اما اختلال در عملکرد

سیستم ایمنی و Hyper-reactivity به عنوان یکی از عوامل کلیدی شناخته می شود. خطر ابتلا در افرادی که پیوند عضو دریافت کرده و داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی مصرف می کنند، بالاتر است. همچنین، بیماران مبتلا به بیماری های خودایمنی^۱ یا عفونت های ویروسی مانند HIV، HCV یا HTLV در معرض خطر بیشتری قرار دارند. عفونت با Epstein-Barr Virus (EBV) نیز از عوامل اتیولوژیک مهم است. سابقه خانوادگی لنفوم و قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی مانند ترکیبات کلره و علف کش ها نیز احتمال ابتلا را افزایش می دهد.

۳-۱۰-۱. بقا

نرخ درمان پذیری لنفوم غیر هوچکین به میزان پیشرفت بیماری و متاستاز به سایر نقاط بدن بستگی دارد، اما حدود ۷۰ درصد موارد قابل درمان هستند. پیش آگهی بیماری تحت تأثیر عواملی مانند سن بیمار قرار دارد؛ افراد زیر ۶۰ سال شانس بهبودی بالاتری دارند. همچنین، سطح سرمی آنزیم LDH در بیماران از عوامل مهم پیش آگهی است؛ مقادیر بالای LDH با پیش آگهی ضعیف تر مرتبط است.

۱۱-۱. لنفوم هوچکین

لنفوم هوچکین، که اولین بار در سال ۱۸۳۲ توسط Thomas Hodgkin توصیف شد، نوعی سرطان سلول های لنفوسیتی خون است. این بیماری عمدتاً در دو گروه سنی ۱۵ تا ۳۵ سال (جوانان) و بالای ۵۵ سال (بزرگسالان) بروز می کند. مشابه لنفوم غیر هوچکین، این بیماری انواع مختلفی دارد. به طور کلی، شیوع لنفوم هوچکین در مردان بیشتر از زنان است، به جز در زیرگروه Nodular Sclerosis که در زنان کمی شایع تر است. در سال ۲۰۱۰، تنها ۱۸،۰۰۰ مورد مرگ ناشی از این بیماری در جهان ثبت شد که نسبت به سال ۱۹۹۰ کاهش یافته و در مقایسه با سایر سرطان ها بسیار ناچیز است.

۱-۱۱-۱. علائم و نشانه ها

شایع ترین نشانه لنفوم هوچکین، بزرگ شدن بدون درد یک یا چند گره لنفاوی است که معمولاً قوامی لاستیک مانند دارند. در ۸۰ تا ۹۰ درصد موارد، گره های لنفاوی درگیر در نواحی

گردن یا شانه^۱ قرار دارند. باین حال، گره‌های لنفاوی قفسه سینه نیز ممکن است درگیر شوند، بنابراین رادیوگرافی قفسه سینه ضروری است. سایر علائم مشابه لنفوم غیر هوچکین شامل خارش پوست، تعریق شبانه، کاهش وزن، بزرگ شدن طحال و کبد (که در ۵ درصد موارد دیده می‌شود) است. علامت نادر اما خاص، احساس درد در گره‌های لنفاوی پس از مصرف الکل است که حساسیت کمی دارد اما در تشخیص ارزشمند است. علائم سیستمیک دیگر شامل افزایش اتوزینوفیل‌ها (قابل تشخیص در CBC)، تب‌های متناوب^۲ که در همه موارد دیده نمی‌شود، درد در ناحیه کمر و پشت، لکه‌های قرمز روی پوست^۳، خستگی و در مواردی همراهی با سندرم نفروتیک است.

۲-۱۱-۱. عوامل خطر

مشابه لنفوم غیر هوچکین، اصلی‌ترین عامل خطر لنفوم هوچکین، عفونت با EBV و ارتباط آن با Burkitt Lymphoma است. سایر عوامل خطر مشابه لنفوم غیر هوچکین هستند.

۳-۱۱-۱. بقا

لنفوم هوچکین، به‌ویژه در مراحل اولیه، تا ۹۸ درصد قابل درمان است. حتی در موارد پیشرفته، با پیشرفت روش‌های درمانی، نرخ بهبودی تا ۸۵ درصد در بیماران با وضعیت سلامتی ضعیف می‌رسد.

۱۲-۱. سرطان سر و گردن

سرطان سر و گردن به گروهی از سرطان‌ها اطلاق می‌شود که نواحی دهان، لب‌ها، گلو، بینی و سینوس‌ها را درگیر می‌کنند. در ۹۰ درصد موارد، این سرطان از نوع کارسینوم سلول سنگفرشی است، هرچند مواردی از آدنوکارسینوما نیز گزارش شده است. این بیماری ششمین سرطان شایع در جهان است و براساس آمار سال ۲۰۱۱، سالانه حدود ۵۵۰,۰۰۰ نفر را در سراسر جهان مبتلا می‌کند. مردان ۲ تا ۴ برابر بیشتر از زنان به این سرطان مبتلا می‌شوند و شیوع آن در کشورهای صنعتی بالاتر است. این سرطان تهاجمی است و افرادی که به یکی از انواع آن مبتلا می‌شوند، مستعد ابتلا به سایر انواع سرطان سر و گردن هستند.

1. Cervical and Supraclavicular

2. Pel-Ebstein Fever

3. Petechiae

۱-۱۲-۱. علائم و نشانه‌ها

اغلب، این سرطان با تهاجم به گره‌های لنفاوی و بزرگ شدن یک یا چند گره در ناحیه گردن خود را نشان می‌دهد. علائم دیگر شامل گلو درد مداوم، صدای شبیه به اسب، دشواری در بلع غذا یا صحبت کردن و درد مزمن گوش است. این علائم معمولاً طولانی‌مدت بوده و بهبود نمی‌یابند؛ برای مثال، گلو درد ممکن است بیش از ۶ هفته ادامه یابد. در موارد نادر، فلج اعصاب صورت نیز ممکن است رخ دهد. زخم‌ها یا لکه‌های قرمز در دهان یا نواحی سر و گردن که ترمیم نمی‌شوند، از دیگر نشانه‌های این بیماری هستند.

۲-۱۲-۱. عوامل خطر

مصرف سیگار و الکل نقش کلیدی در افزایش خطر ابتلا به سرطان سر و گردن دارند و اثر هم‌افزایی این دو عامل، خطر را تشدید می‌کند. قرار گرفتن در معرض مواد سرطان‌زا به دلیل شغل، مانند کار در معادن نیکل، نیز از عوامل خطر است. مصرف بیش‌ازحد غذاهای فرآوری‌شده به‌عنوان یک عامل تغذیه‌ای شناخته می‌شود. نکته جالب اینکه، در افراد سیگاری مبتلا به مراحل اولیه این سرطان، مصرف ویتامین E و بتاکاروتن ممکن است پیش‌آگهی بدتری ایجاد کند. عفونت با Human Papillomavirus (HPV)، به‌ویژه سروتیپ ۱۶، که با سرطان حنجره مرتبط است، و عفونت با EBV نیز خطر ابتلا را افزایش می‌دهند. سابقه بیماری رفلاکس اسید معده به مری و حنجره و همچنین شرایط سرکوب سیستم ایمنی در گیرندگان پیوند مغز استخوان نیز با افزایش خطر این سرطان مرتبط است.

۲-۱۲-۱. بقا

در مراحل اولیه، درمان سرطان سر و گردن بسیار موفقیت‌آمیز است و نرخ بقای تا ۹۰ درصد گزارش شده است. با این حال، در ۵۰ درصد موارد که بیماری دیر تشخیص داده می‌شود، درمان دشوار و گاهی غیرممکن است. نرخ بقای کلی در زنان در تمام مراحل حدود ۶۸ درصد است. مرحله‌بندی بیماری براساس سیستم رتبه‌بندی TNM از Stage I تا Stage IV انجام می‌شود و هرچه مرحله بالاتر باشد، احتمال موفقیت درمان کاهش می‌یابد.

۱۳-۱. سرطان لوزالمعده (پانکراس)

سرطان لوزالمعده به عنوان دوازدهمین سرطان شایع در جهان شناخته می‌شود. در سال ۲۰۱۲، حدود ۳۳۸،۰۰۰ مورد جدید ابتلا به این بیماری در جهان ثبت شد و با ۳۳۰،۰۰۰ مرگ در همان سال، هفتمین عامل مرگومیر ناشی از سرطان محسوب می‌شود. بیشترین شیوع این سرطان در آمریکای شمالی و کمترین آن در آفریقای مرکزی گزارش شده است. این سرطان از تکثیر غیرقابل کنترل سلول‌های لوزالمعده، که در زیر معده قرار دارد، ناشی می‌شود و می‌تواند به سایر بافت‌های بدن مهاجم کند. سرطان لوزالمعده به دو نوع اصلی اگزوکراین و اندوکراین تقسیم می‌شود. حدود ۸۵ درصد موارد از نوع آدنوکارسینوما هستند که به بخش تولیدکننده آنزیم‌های گوارشی^۱ مرتبط است. تنها ۱ تا ۲ درصد موارد شامل تومورهای نورواندوکرینی هستند که به سلول‌های تولیدکننده هورمون مربوط می‌شوند. این بیماری به ندرت در افراد زیر ۴۰ سال دیده می‌شود و بیش از نیمی از موارد در افراد بالای ۷۰ سال رخ می‌دهد.

۱-۱۳-۱. علائم و نشانه‌ها

مراحل اولیه سرطان لوزالمعده معمولاً بدون علامت است و علائم تنها زمانی ظاهر می‌شوند که کل غده درگیر شود. شایع‌ترین نشانه‌ها شامل زردی پوست و سفیدی چشم، درد شکمی یا کمری که در شب تشدید شده و به مرور شدیدتر می‌شود، مدفوع کمرنگ، ادرار تیره، کاهش وزن قابل توجه و بی‌اشتهایی است. اگر سرطان به بافت‌های اطراف لوزالمعده گسترش یابد، ممکن است هضم غذا مختل شده و علائمی مانند احساس پری معده و تهوع بروز کند. به دلیل هضم ناقص چربی‌ها، مدفوع بیمارانی بدبو می‌شود. حدود ۵۰ درصد بیماران در زمان تشخیص به دیابت مبتلا هستند و در نوع اندوکراین، خود سرطان می‌تواند دیابت را ایجاد کند. در ۱۰ درصد موارد، Trousseau's Syndrome (لخته شدن خون در عروق) و در ۱۰ تا ۲۰ درصد موارد، افسردگی مشاهده می‌شود.

۲-۱۳-۱. عوامل خطر

سن، جنسیت و نژاد در احتمال ابتلا به این سرطان نقش دارند. خطر ابتلا با افزایش سن، به‌ویژه در افراد بالای ۶۵ سال، بیشتر می‌شود و مردان کمی بیشتر از زنان در معرض خطر

1. Exocrine Pancreas

هستند. مصرف سیگار، چاقی با BMI بالاتر از ۳۵، و سابقه خانوادگی سرطان لوزالمعده یا جهش‌های ژنتیکی از عوامل خطر کلیدی هستند. التهاب ارثی پانکراتیت، دیابت نوع ۲ با سابقه بیش از ۱۰ سال، مصرف زیاد گوشت قرمز و غذاهای فرآوری‌شده، و مصرف الکل نیز خطر را افزایش می‌دهند. سندرم‌های ژنتیکی مانند Peutz-Jeghers Syndrome (موتاسیون در ژن STK11)، Dysplastic Nevus Syndrome (موتاسیون در CDKN2A)، آتاکسی-تلائنکتازی^۱ (موتاسیون در BRCA2)، سندرم لینچ، و نئوپلازی غدد درون‌ریز متعدد نوع ۱ (Multiple Endocrine Neoplasia type 1 یا MEN 1) نیز با افزایش خطر مرتبط هستند.

۳-۱۳-۱. بقای بیماران

نرخ بقای سرطان لوزالمعده بسیار پایین است و در ۲۵ درصد موارد، بیماران یک سال پس از تشخیص فوت می‌کنند، که این سرعت مرگ‌ومیر با لوسمی حاد قابل‌مقایسه است. بقای ۵ ساله تنها ۵ درصد است. نوع اندوکراین پیش‌آگهی بهتری دارد و بقای ۵ ساله آن ۶۵ درصد است، اما متأسفانه اکثر موارد از نوع اگزوکراین هستند.

۱۴-۱. سرطان کلیه

سرطان کلیه بیماری‌ای است که از سلول‌های کلیه منشأ می‌گیرد و به دو نوع اصلی کارسینوم سلول کلیوی (Renal Cell Carcinoma یا RCC) و کارسینوم سلول ترانزیشنال (Transitional Cell Carcinoma یا TCC) تقسیم می‌شود. بیش از ۸۰ درصد موارد این سرطان از نوع RCC هستند. این بیماری به‌عنوان سیزدهمین سرطان شایع در جهان شناخته می‌شود و در سال ۲۰۲۴ حدود ۳۳۸,۰۰۰ مورد جدید ابتلا به آن گزارش شده است. شیوع این سرطان در آمریکای شمالی بالاترین و در آفریقای مرکزی پایین‌ترین است. انواع مختلفی از سرطان کلیه وجود دارد، از جمله سرطان سلول سنگفرشی، تومور سلولی Juxtaglomerular (رنیوما)، آنژیومیولیپوم (Angiomyolipoma یا AML)، انکوسیتوم کلیه (Renal Oncocytoma)، کارسینوم مجرای بلینی، سارکوم سلول شفاف کلیه (Clear Cell Sarcoma of the Kidney - CCSK)، نفرومای مزوبلاستیک، تومور استرومایی مختلط اپیتلیال (Mixed Epithelial and Stromal Tumor of the Kidney - MEST).

البته برخی انواع نادری از سرطان کلیه هم وجود دارند که عبارتند از: آدنوکارسینوم سلول شفاف، کارسینوم سلول انتقالی، پاپیلوم معکوس، لنفوم کلیه، تراتوم، کارسینوسارکوم، تومور کارسینوئید لگن کلیه. در برخی از موارد نیز سرطانی شدن کلیه‌ها ناشی از سرطان ثانویه و متاستاز سلولهای سرطانی از بافت‌های دیگر به کلیه‌ها می‌باشد.

۱-۱۴-۱. علائم و نشانه‌ها

در مراحل اولیه، سرطان کلیه معمولاً بدون علامت است. با پیشرفت بیماری، شایع‌ترین نشانه‌ها شامل وجود توده‌ای در ناحیه شکم یا هم‌چوری است. سایر علائم شامل درد مداوم شکمی، بی‌اشتهایی، کاهش وزن، خستگی شدید، تب و تعریق شبانه هستند.

۱-۱۴-۲. عوامل خطر

مصرف سیگار خطر ابتلا به سرطان کلیه را تا دو برابر افزایش می‌دهد. استفاده از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی مانند ایبوپروفن و ناپروکسن، چاقی و سابقه خانوادگی این سرطان از دیگر عوامل خطر هستند. افراد تحت دیالیز به دلیل مشکلات کلیوی و مبتلایان به ویروس HCV نیز در معرض خطر بیشتری قرار دارند. نقش سنگ‌های کلیوی و فشار خون بالا در افزایش احتمال ابتلا همچنان در حال بررسی است.

۱-۱۴-۳. بقا

نرخ بقای ۵ ساله بیماران مبتلا به سرطان کلیه حدود ۷۳ درصد است. این نرخ به مرحله بیماری بستگی دارد؛ در سرطان‌های محدود به یک ناحیه از کلیه، بقای ۵ ساله ۹۱ درصد و در موارد متاستاتیک به سایر نقاط بدن، تنها ۱۲ درصد است.

۱-۱۵. سرطان تخمدان

سرطان تخمدان معمولاً نوعی کارسینوما مرتبط با غدد تخمدانی در زنان است. براساس آمار سال ۲۰۲۴، حدود ۲۲۰,۰۰۰ مورد جدید از این بیماری در سراسر جهان گزارش شده است. خطر ابتلا به این سرطان در میان زنان به‌طور کلی ۱۶ درصد است. شیوع این بیماری در کشورهای در حال توسعه بیشتر از کشورهای توسعه‌یافته است و به‌عنوان پنجمین سرطان شایع در زنان، به‌ویژه در انگلستان و ایالات متحده، شناخته می‌شود. حدود ۹۵ درصد موارد

سرطان تخمدان از نوع کارسینوما هستند، اگرچه گاهی منشأ آن لوله‌های فالوپ^۱ است. انواع نادرتر شامل کارسینوم سروز^۲، کارسینوم سلول شفاف^۳، تومور سلول زایا^۴ و تومورهای استرومایی طناب جنسی^۵ هستند.

۱-۱۵-۱. علائم و نشانه‌ها

مانند بسیاری از سرطان‌ها، سرطان تخمدان در مراحل اولیه بدون علامت است و نشانه‌ها تنها در مراحل پیشرفته ظاهر می‌شوند. شایع‌ترین علائم شامل تورم شکمی (آسیت) و درد لگنی است که اختصاصی نیستند و ممکن است با سندرم روده تحریک‌پذیر^۶ اشتباه شوند. علائم دیگر شامل بی‌اشتهایی، تهوع، خستگی، سوءهاضمه، یبوست و مشکلات ادراری است. این نشانه‌ها اغلب ناشی از فشار توده سرطانی بر بافت‌های شکمی-لگنی یا متاستاز به سایر نواحی هستند. در نوجوانان، سرطان تخمدان ممکن است با خونریزی^۷ یا درگیری صفاق^۸ همراه باشد. آسیت معمولاً درست پیش از تشخیص بیماری رخ می‌دهد.

۲-۱۵-۱. عوامل خطر

عوامل هورمونی نقش مهمی در خطر ابتلا به این سرطان دارند. عدم سابقه بارداری خطر را افزایش می‌دهد، زیرا تخم‌گذاری^۹ در بارداری سرکوب نمی‌شود و این امر احتمال بدخیمی تخمدان‌ها را بالا می‌برد. افزایش سن، سابقه خانوادگی (۹،۸ برابر)، کم‌خونی (۲،۳ برابر)، خونریزی پس از یائسگی (۶،۶ برابر)، درمان‌های ناباروری (به‌ویژه در صورت عدم موفقیت)، سندرم تخمدان پلی‌کیستیک^{۱۰} و آندومتریوز از دیگر عوامل خطر هستند. درمان جایگزینی هورمون با استروژن پس از یائسگی، شروع زودرس قاعدگی، یائسگی دیررس، و جهش در ژن‌های BRCA1 و BRCA2 نیز خطر را افزایش می‌دهند. این سرطان در زنان سفیدپوست ۳۰ تا ۴۰ درصد بیشتر از زنان سیاه‌پوست احتمالاً به دلیل عوامل اجتماعی-اقتصادی مانند

-
1. Fallopian Tube
 2. Serous Carcinoma
 3. Clear Cell Carcinoma
 4. Germ Cell Tumor
 5. Sex Cord Stromal Tumors
 6. Irritable Bowel Syndrome
 7. Hemorrhage
 8. Peritoneum
 9. Ovulation
 10. Polycystic Ovary Syndrome

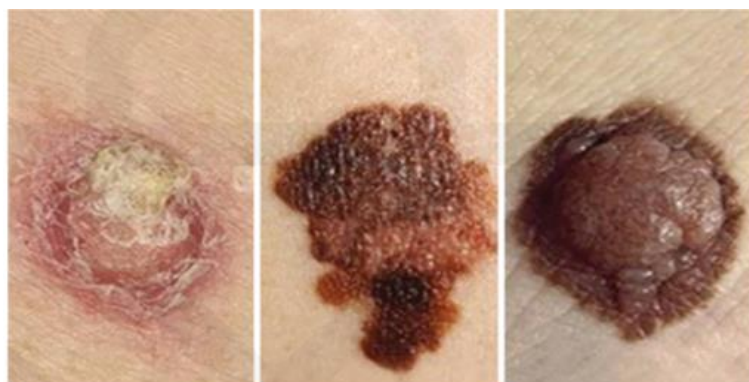
تعداد کمتر فرزندان دیده می‌شود. بارداری‌های متعدد خطر را شاید به دلیل ریزش سلول‌های پیش‌سرطانی^۱ در دوران بارداری کاهش می‌دهد. عفونت با HPV و مصرف سیگار نیز احتمال ابتلا را افزایش می‌دهند.

۳-۱۵-۱. بقا

نرخ بقای ۵ ساله برای سرطان تخمدان در تمام مراحل حدود ۴۷ درصد است، اما در صورت تشخیص در Stage I، این نرخ تا ۹۲ درصد افزایش می‌یابد.

۱۶-۱. سرطان پوست

سرطان پوست می‌تواند در لایه‌های مختلف پوست رخ دهد و سلول‌های سرطانی آن توانایی متاستاز به سایر نقاط بدن را دارند. این سرطان براساس نوع سلول‌های پوستی درگیر به سه دسته اصلی تقسیم می‌شود: سرطان سلول بازال^۲، سرطان سلول سنگفرشی و ملانوم بدخیم (شکل ۴-۱). دو نوع اول به‌عنوان سرطان پوست غیرملانوما (Nonmelanoma Skin Cancer -NMSC) شناخته می‌شوند. خطرناک‌ترین نوع، ملانوم بدخیم، نوزدهمین سرطان شایع جهان است که در سال ۲۰۲۲ حدود ۲۳۲,۰۰۰ نفر به آن مبتلا شدند. بیشترین موارد ابتلا در استرالیا و نیوزلند هستند و کمترین آنها در جنوب و غرب آسیا دیده می‌شوند.



Squamous cell carcinoma

Basal Cell Carcinoma

Melanoma

شکل ۴-۱. انواع مختلف سرطان پوست (Mayo clinic)

1. Shedding

2. Basal Cell Carcinoma

سرطان سلول بازال (Basal Cell Carcinoma - BCC) که در لایه بازال پوست ایجاد می‌شود، رشد کندی دارد و تنها به بافت‌های اطراف آسیب می‌رساند. این ضایعات معمولاً بی‌رنگ، براق و گاهی با مویرگ‌های خونی کوچک همراه هستند و هیچ‌گاه متاستاز یا مرگ گزارش نشده است. سرطان سلول سنگفرشی قابلیت گسترش بیشتری دارد و به‌صورت زخم ظاهر می‌شود. ملانوم بدخیم تهاجمی‌ترین نوع است و ضایعات آن از نظر رنگ، اندازه، شکل و حاشیه متغیر هستند.

۱-۱۶-۱. علائم و نشانه‌ها

علائم سرطان پوست شامل زخم‌های غیرعادی، ضایعاتی که بهبود نمی‌یابند، خال‌هایی با تغییر رنگ یا اندازه، و ضایعات با حاشیه نامنظم است. در سرطان سلول بازال، ضایعات اغلب در نواحی در معرض آفتاب مانند سر، گردن و شانه‌ها دیده می‌شوند و معمولاً خفیف با مویرگ‌های خونی هستند. در سرطان سلول سنگفرشی، ضایعات ضخیم‌تر و قرمزتر بوده و در نواحی در معرض آفتاب شایع‌ترند. در ملانوم بدخیم، ضایعات با رنگ‌های متنوع (سیاه یا قهوه‌ای)، اندازه و شکل متغیر و حاشیه نامنظم مشاهده می‌شوند.

۲-۱۶-۱. عوامل خطر

مهم‌ترین عامل خطر، قرار گرفتن در معرض اشعه فرابنفش خورشید است. سایر عوامل شامل مصرف سیگار، عفونت با HPV، زمینه ژنتیکی مانند Congenital Melanocytic Nevi Syndrome، زخم‌های مزمن بهبودنیافته، مصرف داروهای سرکوب‌کننده ایمنی مانند Cyclosporin A و مواجهه با کارسینوژن‌های محیطی هستند.

۳-۱۶-۱. بقا

نرخ بقای ۵ ساله برای ملانوم بدخیم حدود ۸۶ تا ۹۰ درصد است. مرگ‌ومیر ناشی از سرطان سلول بازال تنها ۰٫۳ درصد است، در حالی که برای ملانوم بدخیم بین ۱۵ تا ۲۰ درصد است. بااین‌حال، ملانوم بدخیم مسئول ۷۵ درصد مرگ‌ومیرهای سرطان پوست است.

۱۷-۱. تومورهای مغزی

تومور مغزی^۱ به رشد غیرطبیعی سلول‌های مغزی که منجر به تشکیل توده می‌شود، اطلاق می‌گردد. این تومورها به دو دسته خوش خیم و بدخیم تقسیم می‌شوند. تومورهای بدخیم ممکن است اولیه (منشأ گرفته از سلول‌های مغز) یا ثانویه (ناشی از متاستاز سایر سرطان‌ها به مغز) باشند. تومورهای مغزی به‌عنوان هفدهمین سرطان شایع جهان شناخته می‌شوند و در سال ۲۰۲۲ حدود ۲۵۶,۰۰۰ نفر به آن‌ها مبتلا بودند. در بزرگسالان، شایع‌ترین انواع شامل مننژیوم^۲، آستروسیتوما^۳ و گلیوبلاستوما^۴ و در کودکان، مدولوبلاستوما^۵ هستند. درصد ابتلا به انواع تومورهای مغزی شامل گلیوما (۵۰,۴٪)، مننژیوما (۲۰,۸٪)، آدنوم هیپوفیز (۱۵٪) و تومورهای غلاف عصبی^۶ (۸٪) است.

۱۷-۱. علائم و نشانه‌ها

با توجه به نقش حیاتی سلول‌های مغزی در کنترل عملکردهای بدن، علائم تومورهای مغزی بسته به اندازه، محل و تأثیر آن بر فیزیولوژی مغز بسیار متنوع است، که تشخیص زودهنگام را دشوار می‌کند. علائم به سه دسته تقسیم می‌شوند:

۱. **افزایش فشار داخل جمجمه:** رشد تومور می‌تواند جریان مایع مغزی نخاعی (CSF)^۷ را مختل کند و باعث سردرد، تهوع، استفراغ، کما و تورم دیسک بینایی^۸ شود که به تاری دید منجر می‌شود. در کودکان، این فشار می‌تواند باعث بزرگ شدن جمجمه شود.

۲. **اختلال عملکرد مغزی:** بسته به محل تومور، علائمی مانند اختلالات شناختی، مشکلات رفتاری، از دست دادن حافظه، کاهش بینایی، دوبینی، سرگیجه، از دست دادن حس بویایی یا شنوایی و فلج اعصاب صورت بروز می‌کند. این علائم ممکن است با سایر آسیب‌های مغزی مانند آسیب تروماتیک مغزی اشتباه شوند.

-
1. Intracranial Neoplasm
 2. Meningiomas
 3. Astrocytomas
 4. Glioblastomas
 5. Medulloblastomas
 6. Nerve Sheath Tumors
 7. Cerebrospinal Fluid
 8. Papilledema

۲. **تحریک مغزی:** این حالت باعث خستگی شدید، سردرد، تشنج و لرزش می‌شود. علائمی مانند تهوع و استفراغ ممکن است با مشکلات گوارشی اشتباه گرفته شوند.

۲-۱۷-۱. عوامل خطر

از عوامل محیطی، تنها مواجهه با ونیل کلراید و تابش یونیزه کننده به عنوان عوامل خطر تأیید شده شناخته می‌شوند. عوامل عمومی سرطان‌زا مانند سیگار، سبک زندگی صنعتی، مصرف غذاهای فرآوری شده و جهش در ژن‌های سرکوب کننده تومور مانند P53 نیز در ابتلا نقش دارند. بیماری‌های ژنتیکی مانند Neurofibromatosis Type 2، Von Hippel-Lindau Syndrome و Multiple Endocrine Neoplasia خطر را افزایش می‌دهند. سازمان بهداشت جهانی امواج تلفن همراه را در گروه 2B کارسینوژن‌ها قرار داده که ممکن است در استفاده طولانی مدت خطر آفرین باشند. برخی مطالعات نیز عفونت با EBV را با افزایش خطر مرتبط می‌دانند.

۳-۱۷-۱. بقا

بقای بیماران به نوع تومور بستگی دارد. در مدولوبلاستوما، با جراحی، پرتودرمانی و شیمی درمانی، بقا قابل توجه است، اما در گلیوبلاستوما، بقای بیماران تنها ۱۲ ماه است. گلیوم ساقه مغز (Brainstem Glioma) کمترین بقا (کمتر از یک سال) را دارند، هرچند در کودکان پیش‌آگهی بهتری دارد. الیگودندروگلیوما (Oligodendroglioma)، توموری بدخیم اما کندپیشرونده، با درمان مناسب تا ۱۷ سال بقا دارد.

نتیجه گیری

سرطان‌ها به سه دسته اصلی شامل کارسینوما (شایع‌ترین و منشأ گرفته از سلول‌های اپیتلیال و غددی)، سارکوما (منشأ گرفته از بافت‌های مزانشیمی مانند استخوان و عضله) و لوئومی و لنفوما (مربوط به سلول‌های خونی و ایمنی) تقسیم می‌شوند. در میان آن‌ها، کارسینوماها مانند سرطان پستان، کولورکتال، ریه، پروستات، معده و کبد بیشترین شیوع را دارند و هر کدام با عوامل خطر خاصی از جمله سبک زندگی ناسالم، مصرف هورمون‌ها، عفونت‌ها، عوامل ژنتیکی و جهش‌های مولکولی مرتبط هستند. تشخیص زودهنگام و غربالگری، نقشی اساسی در

کاهش مرگومیر و افزایش بقا ایفا می‌کند؛ به‌طوری که بقای بیماران در کشورهای توسعه‌یافته، که دسترسی به روش‌های نوین تشخیص و درمان دارند، به‌طور چشمگیری بالاتر است.

فصل دوم |

بیومارکرها

۱-۲. بیومارکرها

تعاریف متعددی برای واژه **بیومارکر** یا نشانگر زیستی ارائه شده است که به هدف مورد نظر بستگی دارد. نخست، در ارتباط با ایمنی شیمیایی، برنامه بین‌المللی ایمنی شیمیایی (که توسط سازمان بهداشت جهانی، سازمان ملل متحد و سازمان بین‌المللی کار هدایت و هماهنگ می‌شود) **بیومارکر** را به‌عنوان «هر ماده، ساختار یا فرآیندی که در بدن قابل اندازه‌گیری باشد و بتواند وقوع یا پیامد بیماری را تحت تأثیر قرار دهد یا پیش‌بینی کند» تعریف کرده است. نسخه گسترده‌تر این تعریف شامل اثرات درمان‌ها، مداخلات و مواجهه‌های محیطی غیرعمدی می‌شود. دوم، در زمینه ارزیابی ریسک محیطی، سازمان بهداشت جهانی **بیومارکر** را به‌عنوان «تقریباً هر اندازه‌گیری که نشان‌دهنده تعامل بین یک سیستم زیستی و یک خطر بالقوه باشد، که ممکن است شیمیایی، فیزیکی یا زیستی باشد» تعریف می‌کند. پاسخ اندازه‌گیری شده ممکن است عملکردی و فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی در سطح سلولی یا تعامل مولکولی باشد.

سوم، گروه کاری تعریف **بیومارکرهای** مؤسسه ملی بهداشت (NIH) **بیومارکر** را به عنوان «ویژگی‌ای که به صورت عینی اندازه‌گیری و ارزیابی می‌شود و به عنوان شاخصی از فرآیندهای زیستی طبیعی، فرآیندهای بیماری‌زا یا پاسخ‌های دارویی به یک مداخله درمانی عمل می‌کند» تعریف می‌کند. از تمامی این تعاریف، ویژگی‌های زیر برای **بیومارکرها** مشخص می‌شود:

- یک سیستم زیستی درگیر است.
- یک ویژگی یا موجودیت نشان‌دهنده فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و زیستی.
- عینیت در اندازه‌گیری و ارزیابی ویژگی(ها) یا موجودیت.
- پاسخ بدن به یک عامل
- عامل می‌تواند دارویی یا هر ماده شیمیایی باشد که به صورت عمدی یا غیرعمدی وارد بدن شده است.

استفاده از عبارت «ویژگی یا موجودیت» جامع است و نشان می‌دهد هر تغییر در آناتومی، فیزیولوژی، بیوشیمی، پاتولوژی یا فارماکولوژی یک فرد می‌تواند **بیومارکر** باشد. بنابراین، **بیومارکرها** می‌توانند تغییراتی در علائم فیزیکی مانند فشار خون، ضربان قلب، دمای بدن و غیره یا تغییراتی در اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی سنتی مانند کلسترول، گلوکز خون و تغییرات رادیوگرافیک باشند. اصطلاح **بیومارکر** در این کتاب بر تغییرات سلولی، ژنتیکی و مولکولی در سرطان متمرکز است. در زمینه تحقیقات سرطان و انکولوژی، تعریف گروه کاری تعریف **بیومارکرهای** مؤسسه ملی بهداشت باید به عنوان استاندارد پذیرفته شود تا از ابهام در استفاده از اصطلاحات جلوگیری شود.

۲-۲. بیومارکرهای سرطان

با گسترش تعریف **بیومارکر، بیومارکرهای** سرطان باید حضور سرطان را نشان دهند و با زیست‌شناسی سرطان و مداخلات درمانی مختلف تعدیل شوند. این ترکیبات بیومولکولی می‌توانند تغییرات منفرد یا معدودی مانند تغییرات اپی‌ژنتیکی خاص، جهش‌های سرطان‌زا که ژن‌ها را تغییر می‌دهند، محصولات ژنی (مانند پروتئین‌ها و اشکال تغییر یافته آن‌ها) یا ترکیبات مولکولی ارگانیک‌های سرطان‌زا باشند. همچنین می‌توانند امضاهای ترکیبی باشند که از بررسی‌های گسترده ژنومی («میکس») مانند استفاده از میکروآرایه‌ها و سایر فناوری‌ها برای

پروفایل بندی SNP، هیبریداسیون ژنومی مقایسه‌ای، بیان ژن و پروفایل بندی پروتئومیکس و متابولومیکس به دست می‌آیند. **بیومارکرها**ی سرطان می‌توانند برای ارزیابی ریسک خانوادگی، غربالگری جمعیت‌های هدف برای پیشگیری اولیه (قبل از بروز بیماری) یا ثانویه (تشخیص زودهنگام سرطان)، تشخیص افتراقی، پیش‌آگهی، انتخاب بیماران برای درمان خاص یا هدفمند، پایش پاسخ به درمان و تشخیص زودهنگام بازگشت سرطان استفاده شوند. بنابراین، **بیومارکرها**ی سرطان می‌توانند تغییرات قابل اندازه‌گیری در هر یک از این ساختارها و بیومولکول‌های سلولی باشند:

- تغییرات مورفولوژیکی سلولی (آناتومی سلول سرطانی) یا تغییرات در تعداد سلول‌ها
- قطعات سلولی در گردش یا مایعات بدن (مانند اگزوزوم‌ها، میکروویکول‌ها، میکروذرات یا اجسام آپوپتوتیک)
- تغییرات غیرساختاری در DNA، مانند تغییرات هیستونی و CpG
- تغییرات ساختاری در DNA مانند جهش‌ها، بازآرایی ژن‌ها و تغییرات کروموزومی
- تغییرات در رونوشت‌های ژن‌های ساختاری یا کدکننده (تغییرات بیانی)
- تغییرات در بیان رونوشت‌های غیرکدکننده (RNAهای غیرکدکننده کوتاه و بلند)
- بیان متفاوت پروتئین‌ها و پپتیدهای در گردش
- تغییرات در متابولیت‌ها یا اثر انگشت‌ها و پروفایل‌های متابولومیکس
- تغییرات در پروفایل‌های لیپیدی و گلیکانی
- حضور و/یا تغییرات در ترکیبات بیومولکولی ارگانسیم‌های سرطان‌زا (مانند EBV)

۱-۲-۲. ویژگی‌های یک بیومارکر ایده‌آل برای سرطان

بیومارکرها کاربردهای بالینی متعددی دارند. با این حال، **بیومارکر** ایده‌آل باید به‌طور دقیق آنچه را که برای آن طراحی شده است، شناسایی یا پیش‌بینی کند و اختصاصی باشد. بنابراین، برای بهینه‌سازی شانس توسعه یک بیومارکر مفید بالینی، باید «کاربرد بالینی مورد نظر» پیش از کاوش و توسعه **بیومارکر** تعیین شود. این تمرکز اولیه، طراحی مطالعه را از نظر ویژگی‌های جمعیت بیماران و گروه کنترل، انواع نمونه‌های مورد نیاز و مهم‌تر از همه، عملکرد آماری لازم برای معتبر بودن این **بیومارکر** هدایت می‌کند، به گونه‌ای که مزایای آن به‌طور قابل توجهی بر مضرات آن برتری داشته باشد. به‌عنوان مثال، برای **بیومارکری** که نتیجه مثبت آن منجر به انجام یک روش تهاجمی برای تشخیص قطعی می‌شود، علاوه بر دقت‌های بهینه غربالگری بر

اساس شیوع بیماری، بروز و سایر معیارها، باید ارزش پیش‌بینی منفی (NPV^1) بسیار بالایی داشته باشد، به‌طوری که تقریباً تمام بیمارانی که واقعاً فاقد بیماری هستند، نتیجه منفی داشته باشند و از آسیب‌های احتمالی بررسی‌های بیشتر در امان بمانند. بنابراین، یک **بیومارکر** معتبر برای غربالگری سرطان باید حداقل ویژگی‌های زیر را داشته باشد:

- **بیومارکر** تشخیص زودهنگام باشد. در مراحل اولیه بیماری حضور داشته باشد تا تشخیص زودهنگام سرطان‌های بالقوه تهاجمی را امکان‌پذیر کند، زمانی که درمان بهینه است
- توانایی تمایز دقیق (حساسیت و ویژگی بالا) افراد مبتلا به سرطان از افراد سالم را داشته باشد
- به‌راحتی و به‌صورت غیرتهاجمی در مایعات بدن قابل اندازه‌گیری باشد
- انجام آن آسان باشد، به‌ویژه در محل مراقبت
- مقرون به صرفه باشد و تمام جمعیت هدف، صرف‌نظر از وضعیت اقتصادی، بتوانند از آن استفاده کنند
- قابلیت تشخیص همراه داشته باشد و امکان تشخیصی مرتبط با تصمیم‌گیری درمانی را فراهم کند
- تأثیر بالینی مثبت و قابل اندازه‌گیری بر مرگ‌ومیر و بیماری‌زایی داشته باشد

از آنجا که بیومارکرها برای اهداف بالینی مختلفی استفاده می‌شوند، در شرایط خاص، سایر معیارهای دقت (مانند NPV یا PPV^2 بالا) ممکن است مهم‌تر از صرف حساسیت و ویژگی باشند.

۲-۲-۲. طبقه‌بندی بیومارکرهای سرطان

با توجه به تعریف گسترده **بیومارکرها**، طرح‌های متنوعی برای طبقه‌بندی آنها استفاده شده است. به‌عنوان مثال، طبقه‌بندی پیشنهادی سازمان غذا و دارو (FDA^3) بر استفاده از آنها در توسعه دارو متمرکز است. از این رو، چهار دسته شامل کاوش، نمایش، توصیف و جانشینی تعیین شده‌اند. تنها **بیومارکرها**ی جانشین برای استفاده در فرآیندهای تأیید دارو معتبر تلقی می‌شوند. با این حال، **بیومارکرها** به سه دسته اصلی (نوع ۰، ۱ و ۲) تقسیم می‌شوند. **بیومارکرها**ی نوع ۰ با تاریخچه طبیعی بیماری مرتبط هستند و با سیر بالینی بیماری تغییر می‌کنند. این دسته شامل **بیومارکرها**ی تشخیصی و پیش‌بینی‌کننده است. **بیومارکرها**

1. Negative predictive value

2. Positive predictive value

3. Food and Drug Administration

نوع ۱ بیشتر در حوزه توسعه دارویی قرار دارند. این **بیومارکرها** اثرات زیستی مداخلات درمانی، از جمله پاسخ، عدم پاسخ و سمیت را تعیین می‌کنند. در نهایت، **بیومارکرها** نوع ۲ معیارهای جانشین بیماری هستند. این **بیومارکرها** معمولاً در طول مداخلات با سیر بیماری تغییر می‌کنند و بنابراین به‌عنوان جایگزینی برای پیامد بالینی بیماری، به‌ویژه در کارآزمایی‌های بالینی، استفاده می‌شوند.

بیومارکرهای سرطان می‌توانند براساس (۱) تغییرات مولکولی یا سلولی در سلول‌های سرطانی یا (۲) همان‌طور که بیشتر در متون اشاره شده، براساس کاربردهای بالینی و پژوهشی آنها طبقه‌بندی شوند.

۱-۲-۲. طبقه‌بندی مولکولی بیومارکرهاى سرطان

از منظر مولکولی، **بیومارکرها**ی سرطان می‌توانند شامل موارد زیر باشند:

- تغییرات اپی‌ژنتیکی، به‌ویژه الگوهای غیرطبیعی متیلاسیون ژن، تغییرات هیستونی و تغییرات بیانی miRNA
- تغییرات در DNA هسته‌ای؛ این شامل ناهنجاری‌های کروموزومی، پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPها)، هاپلوتیپ‌ها، حذف‌ها و بازآرایی‌های غیرمعمول DNA، جهش‌های خاص، تغییرات محتوای DNA و تنوع در توالی‌های LINE و ALU/SINE می‌شود.
- تغییرات میتوکندریایی در ساختار اندامک، ژنوم، ترانسکریپتوم، پروتئوم و متابولوم
- تغییرات در RNA هسته‌ای؛ شامل تغییرات بیانی ژن‌های کدکننده و غیرکدکننده
- پروتئین‌ها و تغییرات آنها؛ شامل پپتیدوم سلول سرطانی^۱، پروتئوم و تغییرات پس از ترجمه
- متابولیت‌های تغییریافته در نتیجه توسعه سرطان
- گلیکوزیلاسیون غیرطبیعی ماکرومولکول‌ها؛ پروتئین‌ها، گلیکان‌ها و لیپیدها
- عناصر سلولی؛ شامل وزیکول‌های خارج‌سلولی مشتق‌شده از سرطان و اجسام آپوپتوتیک
- سلول‌های سرطانی، سلول‌های بنیادی سرطانی و سایر سلول‌ها مانند سلول‌های ایمنی و اندوتلیال که در زمینه سیتومیکس بررسی می‌شوند

به‌طور سنتی، اهداف مولکولی مختلف به‌صورت جداگانه یا در سطح آمیکس، با هدف‌گیری یک کلاس مولکولی خاص برای کاوش **بیومارکر**، بررسی شده‌اند. بنابراین، تغییرات بیومولکولی منفرد یا مجموعه‌ای از امضاهای ژنومی، ترانسکریپتومی، پروتئومی یا متابولومی که به‌صورت عمودی بررسی شده‌اند، به‌عنوان **بیومارکرهای مناسب** برای سرطان عمل کرده‌اند. ادغام افقی چنین داده‌هایی از یک سلول منفرد بسیار آموزنده خواهد بود. در واقع، توانایی مطالعه تعاملات ژن‌ها، پروتئین‌ها و متابولیت‌ها در یک سلول خاص (اینتراکتوم^۱) باید دانش ما را درباره شبکه‌های ارتباطی به‌هم‌پیوسته‌ای که فنوتیپ خاص سلول سرطانی را تولید می‌کنند، گسترش دهد. علاوه بر این، مطالعه ویژگی‌های فنوتیپی ترکیبی یک سلول (فنوم^۲)، به‌ویژه هنگامی که با پروفایل‌های ژنومی، پروتئومی یا متابولومی مرتبط شود، باید بینش‌های بیشتری در کشف **بیومارکرهای عملی** سرطان ارائه دهد.

۲-۲-۲-۲. طبقه‌بندی براساس کاربرد بالینی و پژوهشی

بیومارکرهای سرطان برای استفاده در موقعیت‌های بالینی مختلف به کار گرفته می‌شوند که هر یک نیازمند ویژگی‌ها و عملکردهای خاص **بیومارکر** هستند. براساس یک طرح طبقه‌بندی، **بیومارکرهای سرطان** می‌توانند کاربردهای زیر را داشته باشند:

- ارزیابی ریسک:

بیومارکرهای که در مراحل اولیه توسعه سرطان تغییر می‌کنند، به‌ویژه آن‌هایی که با سرطان‌زایی زمینه‌ای مرتبط هستند، می‌توانند به‌عنوان حسگرهای هشداردهنده برای احتمال بروز سرطان عمل کنند. به‌عنوان مثال، جهش‌های KRAS در سرطان کولورکتال یا جهش‌های BRCA در زنان با سرطان پستان و/یا تخمدان. فناوری‌های حساسی که امکان تشخیص این تغییرات در مایعات بدن را فراهم می‌کنند، می‌توانند تشخیص زودهنگام ریسک سرطان را به‌ویژه در غربالگری افراد پرخطر، امکان‌پذیر کنند. چنین یافته‌هایی می‌توانند اجرای اقدامات پیشگیرانه مانند تغییر سبک زندگی، داروهای معکوس‌کننده اپی‌ژنتیک یا جراحی را تسهیل کنند.

- تشخیص زودهنگام و تشخیص:

بیومارکرهای غربالگری یا تشخیص زودهنگام^۱ شواهدی از احتمال وجود بیماری در جمعیت بدون علامت در معرض خطر برای یک بیماری خاص ارائه می‌دهند. نتایج مثبت معمولاً بررسی‌های تشخیصی غیرتهاجمی بیشتری را به دنبال دارند. **بیومارکرها**ی تشخیصی سرطان‌هایی هستند که یافته‌های بالینی دیگر و روش‌های بررسی را در تأیید حضور بیماری در بیماران دارای علائم تکمیل می‌کنند. **بیومارکرها**ی تشخیص زودهنگام در برنامه‌های غربالگری ارائه می‌شوند و افرادی که نتیجه مثبت دارند، برای بررسی‌های تشخیصی که معمولاً شامل روش‌های تهاجمی است، ارجاع داده می‌شوند.

- تشخیص همراه:

در بیماری‌های پیشرفته، بیماران اغلب تحت درمان‌های سیستمیک قرار می‌گیرند. **بیومارکرها**ی تشخیص همراه (Companion Diagnostic Biomarker) در این موقعیت مفید هستند. یک **بیومارکر** تشخیص همراه باید اطلاعات تشخیصی و پیش‌بینی درمانی در مورد ایمنی و اثربخشی برای سرطان و بیمار خاص ارائه دهد. علاوه بر استفاده برای تعیین پاسخ‌دهندگان از پاسخ‌دهندگان نامطلوب، FDA استفاده از تشخیص همراه را به‌صورت طولی برای تشخیص تغییرات درمانی و در نتیجه ایجاد اصلاحات لازم شامل می‌شود.

- پیش‌آگهی:

بیومارکرهای پیش‌آگهی^۲ واقعی‌هایی هستند که در زمان تشخیص، پیش از هرگونه مداخله درمانی، می‌توانند پیش‌بینی کنند که کدام سرطان‌ها احتمالاً غیرتهاجمی (خوش‌خیم) و کدام‌ها تهاجمی، متاستاتیک و کشنده خواهند بود. این امر مزیت بزرگی در اولویت‌بندی بیماران برای مدیریت تهاجمی تومورهای بدخیم و جلوگیری از سمیت‌ها و آسیب‌های مرتبط با درمان و روش‌های مداخله‌ای برای بیماران با تومورهای غیرتهاجمی دارد. بیماران با بیماری غیرتهاجمی می‌توانند تحت پروتکل‌های نظارت فعال قرار گیرند.

1. Screening or Early Detection Biomarkers
2. Prognostic Biomarkers

- پیش‌بینی و انتخاب درمان:

این **بیومارکرها** که معمولاً به‌عنوان «**بیومارکرهای پیش‌بینی‌کننده**»^۱ شناخته می‌شوند، احتمال پاسخ یک بیمار سرطانی به یک عامل درمانی خاص را پیش‌بینی می‌کنند. همچنین، آن‌ها بیمارانی که پاسخ نمی‌دهند یا حتی بیمارانی که ممکن است عامل درمانی برایشان سمی باشد را شناسایی می‌کنند.

- پایش پاسخ درمانی یا سمیت:

این **بیومارکرها** با مداخلات درمانی مختلف تغییر می‌کنند. این **بیومارکرها**، به‌ویژه هنگامی که به‌صورت طولی در مایعات بدن بررسی شوند، به آنکولوژیست‌ها اطلاع می‌دهند که کدام بیماران پاسخ می‌دهند و کدام بیماران پاسخ نمی‌دهند یا با درمان بدتر می‌شوند. مهم‌تر اینکه، حتی پاسخ‌دهندگان اولیه ممکن است به دلیل تکامل تومور به غیرپاسخ‌دهنده تبدیل شوند، که امکان تغییر برنامه‌های درمانی را در آن زمان فراهم می‌کند.

- پایش بازگشت بیماری:

نیاز به تشخیص زودهنگام بازگشت سرطان برای مدیریت بهینه مهم است. **بیومارکرهای** در حال ظهور هستند که می‌توانند بازگشت سرطان را زودتر و با عملکرد بهتری نسبت به تصویربرداری سنتی یا حتی معیارهای ارزیابی پاسخ در تومورهای جامد (RECIST^۲) تشخیص دهند. در حالی که **بیومارکرهای** جدید ممکن است فقط در تشخیص بازگشت‌ها بهتر عمل کنند، در بسیاری از موارد، **بیومارکرهای** تشخیصی یک سرطان خاص می‌توانند به‌عنوان نشانه اولیه عود عمل کنند، زیرا سطوح آن‌ها تغییر می‌کند. سطح این **بیومارکرها** معمولاً با درمان به محدوده طبیعی بازمی‌گردد، که نشان‌دهنده پاسخ است. بازگشت به حالت بیماری (ممکن است افزایش **بیومارکرهای** در گردش باشد) معمولاً نشان‌دهنده عود بیماری یا عدم پاسخ است.

- فارماکوگیتیک و فارماکودینامیک داروها:

این‌ها **بیومارکرهای** فارماکوژنتیک یا فارماکوژنومیک هستند که تنوع ژنتیکی فرد را که

1. Predictive Biomarker
2. Response Evaluation Criteria in Solid Tumours

کنترل کننده فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک داروها است، شناسایی می کنند. این بررسی ها اغلب تنوع های ژنی شامل پلی مورفیسم ها در مسیرهای جذب و متابولیسم دارو، از جمله آنزیم ها، گیرنده ها و پروتئین های انتقال دهنده را هدف قرار می دهند. به طور خاص، این پروتئین ها نحوه جذب، توزیع و عملکرد داروها در بدن را کنترل می کنند. همچنین می توانند تنوع های کل ژنوم شامل نشانگرهای هاپلوتیپ، نقشه های SNP و بیان ژن جهانی (Global Gene Expression) باشند که پاسخ فرد به یک عامل درمانی (اثر بخشی و سمیت) را شناسایی می کنند.

– نقاط پایانی جانشین^۱:

این **بیومارکرها** که اغلب در فرآیندهای توسعه دارو استفاده می شوند، با عامل درمانی خاص تغییر می کنند و نشان می دهند که آیا درمان مؤثر است یا خیر. **بیومارکرها** نقطه پایانی جانشین معتبر در مقایسه با روش های سنتی اندازه گیری اثر بخشی دارو، مانند تصویربرداری یا بیوپسی بافت تومور، بسیار مقرون به صرفه هستند. علاوه بر این، داروهایی که نمی توانند **بیومارکرها** نقطه پایانی جانشین را تغییر دهند (یعنی داروهای غیر مؤثر) می توانند از فرآیند توسعه دارو حذف شوند تا در زمان و هزینه صرفه جویی شود.

– توسعه هدف دارویی:

این **بیومارکرها** در توسعه دارو نقش مفیدی ایفا می کنند، زیرا به توسعه یک عامل خاص کمک می کنند. این عوامل بیوتراپوتیک^۲ برای هدف گیری و تغییر مسیر مولکولی یا سیگنالینگ خاص برای درمان مؤثر بیماری طراحی شده اند.

۳-۲. مایعات بدن

حوزه **بیومارکرها** در مایعات بدن با اصطلاحات مختلفی در متون علمی مواجه است. اصطلاحات رایج شامل مایعات بدن، مایعات زیستی، مایعات بیولوژیکی یا به سادگی بیومایعات هستند. صرف نظر از اصطلاح به کار رفته، این مایعات، مایعاتی هستند که توسط سلول های بدن تولید، ترشح یا دفع می شوند. آن ها از فیلتراسیون خون، ترشح سلولی یا دفع به وجود می آیند.

1. Surrogate endpoints

2. Biotherapeutic

این مایعات برای عملکردهای طبیعی بدن (مانند خون و مایع مغزی-نخاعی)، به عنوان محصولات زائد (مانند ادرار) یا در شرایط پاتولوژیک (مانند مایع آسیت یا مایع اضافی آسپیره نوک پستان^۱، NAF) تولید می شوند. مایعات بدن شامل بزاق، خون، عرق، ادرار، لنف و اشک؛ مایعات برونکوالوئولار^۲ (BAF)، فولیکولار، آمنیوتیک، سینوویال، صفاقی، آسیت، پروستاتیک و منی؛ و همچنین ترشحات ولوار^۳، واژینال و سرویکال و چندین مورد دیگر هستند. مایعات معمولاً برای بررسی شرایط سیستمیک شامل خون، ادرار و بزاق هستند. مایعات و سلول های جدا شده برای بیماری های موضعی شامل NAF، CSF، مدفوع، شیره معده، BAF، مایعات سینوویال، شیره پانکراس، منی، مایع ماساژ پروستات، ترشحات پروستاتیک بیان شده^۴، ادرار پس از معاینه دیجیتالی رکتال (DRE)، جریان قاعدگی، شست و شوها یا ترشحات سرویکال، واژینال و ولوار، سواب پوست و غیره هستند. با توجه به منشأ این مایعات از سلول های بدن، این مایعات و سلول های جدا شده منابع مهمی برای **بیومارکرهای ژنتیکی و غیرژنتیکی** ویژگی های **بیومارکرهای** بیماری ها هستند. این **بیومارکرها** به صورت ترشح شده یا آزاد یا در سلول های جدا شده یا سایر وزیکول های غشایی حضور دارند. این نمونه های بالینی مزایای متعددی در کاربردهای انکولوژیک دارند، از جمله:

- روش های غیرتهاجمی یا کم تهاجمی برای جمع آوری
- منبع غنی از **بیومارکرهای** سرطان
- ذخیره سازی و حمل و نقل آسان
- کاربرد مقرون به صرفه
- امکان جمع آوری نمونه های متعدد برای شناسایی و اعتبارسنجی هدف و برای پایش بیماری و پاسخ درمانی
- در مقایسه با نمونه های بیوپسی، **بیومارکرهای** موجود در مایعات بدن مشکل ناهمگونی تومور را در مورد تومورهای چندکانونی برطرف می کنند. اهداف یا **بیومارکرها** در مایعات بدن کل ارگان/بافت را منعکس می کنند و بنابراین ناهمگونی تشخیص **بیومارکرهای** سرطان در بافت های حاصل از بیوپسی یا جراحی را برطرف می کنند این بافت ها نیاز به میکروسکوپ چندین ناحیه (Multifocal) برای تحلیل دارند.

1. Nipple aspirate fluid

2. Bronchoalveolar fluids

3. Vulvar

4. Expressed Prostatic Secretion or EPS

- به دلیل ماهیت غیرتهاجمی و در دسترس بودن، مایعات بدن می‌توانند چندین بار برای تشخیص، تأیید تشخیص و پایش پیشرفت بیماری و پاسخ درمانی، حتی در بیماران ضعیف، نمونه‌برداری شوند.

نگرانی‌های اصلی تحلیل مایعات بدن شامل تعداد کم کپی‌های اهداف، تخریب بیومارکرها (مثلاً توسط نوکلئازها) و احتمال عدم اختصاصیت نشانگرها، مانند آن‌هایی که در گردش هستند، است.

آب بدن نیز از نظر فیزیولوژیکی به عنوان مایع بدن در نظر گرفته می‌شود. این نوع مایع بدن در سه محفظه جداگانه اما مرتبط (داخل سلولی، بینابینی و عروقی) قرار دارد. این مایع فیزیولوژیکی به دقت توسط اقدامات هورمونی کنترل می‌شود. به طور متوسط، ۵۰ تا ۶۰ درصد از وزن کل بدن آب است. **بیومارکرها** در این آب بدن آزاد می‌شوند.

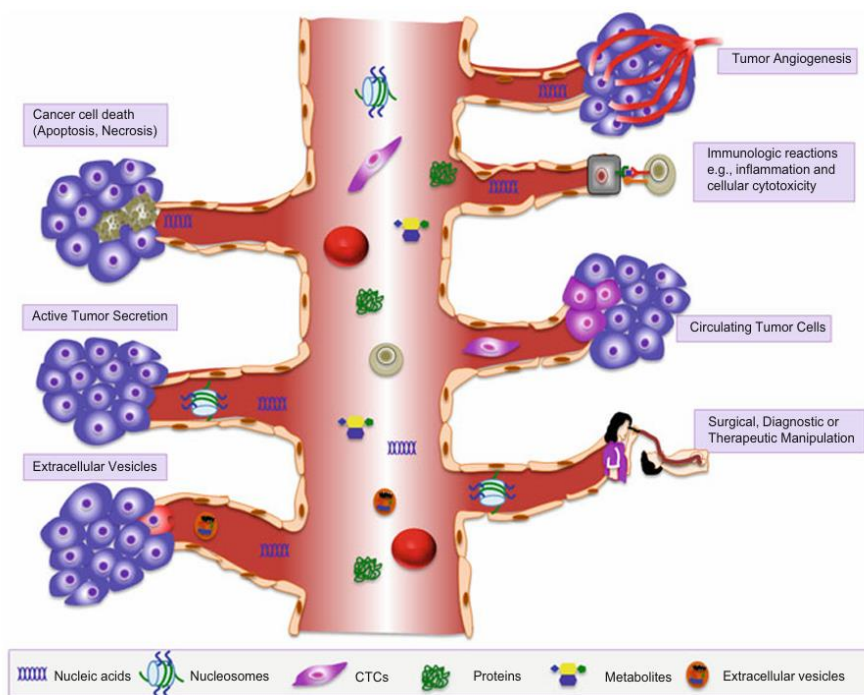
۱-۳-۲. مکانیسم آزادسازی بیومارکهای سرطان در مایعات بدن

مکانیسم‌های متعددی توضیح می‌دهند که چگونه **بیومارکهای** سرطان وارد جریان خون و سایر مایعات بدن می‌شوند (شکل ۱-۲). سلول‌های توموری در گردش و سلول‌های سرطانی مرده می‌توانند مقادیر زیادی از بیومولکول‌ها را برای تحلیل‌های ژنومی، ترانسکریپتومی، پروتئومی و متابولومی آزاد کنند. علاوه بر این، سلول‌ها می‌توانند به صورت فعال اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و متابولیت‌ها را به مایعات بدن ترشح کنند. برخی از مکانیسم‌های آزادسازی بیومولکول‌ها در مایعات بدن عبارتند از:

- مرگ سلول‌های سرطانی در بافت‌ها یا در گردش (آپوپتوز یا نکروز)
- تجزیه سلول‌های سرطانی میکرومتاستاتیک
- آزادسازی فعال یا خودبه‌خود. برخی پروتئین‌ها و متابولیت‌ها از این طریق آزاد می‌شوند
- میکرووزیکول‌های مشتق‌شده از تومور (مانند اگزوزوم‌ها) می‌توانند مولکول‌های سرطانی را به صورت انتخابی در بار خود بسته‌بندی کنند
- تروما یا روش‌های جراحی، از جمله مانورهای تشخیصی یا درمانی (مانند آندوسکوپي و بیوپسی)، ممکن است بیومولکول‌ها را به جریان خون آزاد کنند. اما سطوح آن‌ها باید مدت کوتاهی پس از آن به حالت طبیعی بازگردد.

- آنژیوژنز تومور، که با شکل‌گیری عروق جدید و متخلخل همراه است، می‌تواند ورود میکرومولکول‌ها و ماکرومولکول‌ها به درون جریان خون را تسهیل کند.

تشکیل سرم با آزادسازی اسیدهای نوکلئیک همراه است و این اسیدهای نوکلئیک می‌توانند از سلول‌های توموری در گردش یا گلبول‌های سفید خون منشأ بگیرند؛ بنابراین، سطوح اسید نوکلئیک سرم بسیار بالاتر از پلاسما است. علاوه بر مکانیسم‌های فوق، چرخش بالای سلولی^۱ در سلول‌های اپیتلیال نشان‌دهنده جداسازی مداوم سلول‌ها به لومن‌های سیستم‌های مختلف ارگان‌هاست. بنابراین، مایعات بدن خاص ارگان یا بافت مانند بزاق، مایع آسپیره نوک پستان (NAF)، مدفوع یا ادرار باید با **بیومارکرهای** حاصل از این منبع غنی شوند. مایع بینابینی تومور، به‌ویژه برای کشف **بیومارکرهای سرطان** از طریق تلاش‌های پروتئومی، مایع بدن خوبی است. این محیط غنی از پروتئین کمتر متغیر، رقیق یا پیچیده در مقایسه با سایر مایعات بدن مانند خون است.



شکل ۱-۲. منابع بیومارکرهای سرطان در گردش (Sayuri Herath et al. 2022)

۲-۳-۲. مدیریت مایعات بدن برای حفظ یکپارچگی بیومارکر

یکی از موانع مهم در توسعه **بیومارکر**، جمع‌آوری و مدیریت نمونه است. متغیرهای پیش‌تحلیلی بیش از ۶۰ درصد از خطاها در کشف و اعتبارسنجی **بیومارکرها** را تشکیل می‌دهند و در نتیجه به نادرستی‌های تشخیصی منجر می‌شوند. مسائل مهم برای تحلیل دقیق **بیومارکر** با استفاده از مایعات بدن شامل جمع‌آوری نمونه، حفظ، ذخیره‌سازی، حمل‌ونقل و پردازش است. در سراسر جهان، چندین میلیون نمونه زیستی در بانک‌های زیستی ذخیره شده‌اند و سالانه میلیون‌ها نمونه دیگر اضافه می‌شود. این مخازن زیستی، صندوق‌های گنج یا معادن طلا برای توسعه **بیومارکرها** هستند و ارزش آن‌ها قابل تأکید بیش از حد نیست. اما برای اینکه این نمونه‌های ذخیره‌شده واقعاً از نظر بالینی مفید باشند، نیاز به روش‌های استاندارد برای جمع‌آوری، حفظ، حمل‌ونقل، پردازش و ذخیره‌سازی دارند تا یکپارچگی **بیومارکر** حفظ شود.

ممکن است جمع‌آوری، پردازش و ذخیره‌سازی برخی نمونه‌های زیستی برای کاوش **بیومارکر** خاص مهم باشد. به‌عنوان مثال، پایداری چندین **بیومارکر** پروتئینی از جمله TNF، C3a، فیبرینوژن، IL-1 α ، IL-1 β و IFN- γ نیازمند شرایط ذخیره‌سازی متفاوتی است. نمونه‌های جمع‌آوری شده برای سنجش LDH نباید منجمد شوند و MMP9^۱ در دمای ذخیره‌سازی ۸۰- درجه سانتی‌گراد تخریب می‌شود. پروتئوم یا پپتیدوم به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر چرخه‌های انجماد-ذوب قرار می‌گیرد. به‌طور خاص MMP^۲، ADAM^۳، TIMP^۳، ترانس‌تیرتین (TTR^۴) و گلیکوپروتئین‌ها به انجماد و ذوب نمونه‌ها حساس هستند.

برای به حداقل رساندن خطاها در توسعه **بیومارکر** در دنیای ایده‌آل، بیماران و گروه‌های کنترل باید از نظر سن، جنسیت، حالت‌های فیزیولوژیکی مانند ریتم شبانه‌روزی و عاداتی مانند سیگار کشیدن، مصرف الکل، ورزش و استفاده از داروها و سایر متغیرهای مرتبط با سؤال پژوهشی همسان شوند. با این حال، دستیابی به این امر تقریباً یک ناممکن است. بنابراین، باید اقدامات احتیاطی سخت‌گیرانه‌ای براساس روش‌های عملیاتی استاندارد تدوین و رعایت شود تا

1. Matrix metalloproteinase
2. A Disintegrin and Metalloproteinase
3. Tissue inhibitors of metalloproteinases
4. Transthyretin

تغییرات نمونه به نمونه به حداقل برسد. حداقل موارد عبارتند از:

- نمونه‌ها باید تقریباً در یک زمان از روز جمع‌آوری شوند و با در نظر گرفتن سایر متغیرهای مخدوش‌کننده احتمالی مانند حالت ناشتا یا پس از غذا.
- خون می‌تواند از طریق فلوتومی یا وریدگیری جمع‌آوری شود، اما باید از همان روش برای جمع‌آوری تمام نمونه‌ها استفاده شود.
- برای پلاسما، خون باید در یک ماده ضد انعقاد جمع‌آوری شده و بلافاصله روی یخ (۲-۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گیرد تا پردازش یا حمل‌ونقل بعدی انجام شود.
- برای به‌دست آوردن سرم، خون باید حدود ۳۰ دقیقه در دمای اتاق اجازه لخته شدن داشته باشد و سپس لوله باید روی یخ قرار گیرد تا پردازش بعدی انجام شود.
- نمونه‌ها باید روی یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شوند.
- در آزمایشگاه نمونه‌ها باید بلافاصله پردازش شوند.
- سانتریفیوژ باید در دماهای پایین (۲-۴ درجه سانتی‌گراد) انجام شود.
- برای جلوگیری از تخریب **بیومارکر** به دلیل چرخه‌های انجماد-ذوب، باید قبل از انجماد در ۸۰ درجه سانتی‌گراد، تقسیم‌بندی نمونه‌ها انجام شود.

این توصیه‌های حداقلی به کاهش برخی از متغیرهای پیش‌تحلیلی به‌ویژه در مطالعات پروتئومی، کمک کند.

۴-۲. گردش خون محیطی به‌عنوان مخزنی از بیومارکرهای سرطان

خون یکی از پرکاربردترین مایعات بدن برای بررسی **بیومارکرهای سرطان** احتمالاً به دلیل پذیرش گسترده آن در عمل بالینی است. همچنین، از آنجا که خون تقریباً به تمام سلول‌های بدن نفوذ می‌کند، **بیومارکرهای** تمام بافت‌های بدن می‌توانند در این مایع بدن نمایان شوند (شکل ۲-۲). خون به‌سادگی یک بافت همبند مایع است که از سلول‌ها و ماتریکس خارج‌سلولی، یعنی پلاسما، تشکیل شده است. اجزای سلولی شامل گلبول‌های قرمز (RBCها)، گلبول‌های سفید (WBCها) و پلاکت‌ها (مگاکاریوسیت‌ها) هستند. در بزرگسالان، عناصر سلولی یا اجزای تشکیل‌شده در مغز استخوان تولید می‌شوند. در درجه اول، خون وظیفه توزیع مواد مغذی و اکسیژن به سلول‌ها و حذف مواد زائد و دی‌اکسید کربن از این سلول‌ها را بر عهده دارد. سایر عملکردهای مهم شامل هموستاز (بافرینگ و تنظیم دما) و انتقال عوامل

هورمونی و هومورال است. پلاسما بیش از ۹۰ درصد آب است و بقیه آن شامل املاح محلول، عمدتاً پروتئین‌ها (آلبومین، گلوبین‌ها و فیبرینوژن‌ها) است. همچنین الکترولیت‌ها، مواد مغذی، هورمون‌ها، آنزیم‌ها، مواد نیتروژنی و گازهای محلول نیز در پلاسما وجود دارند.

پلاسما می‌تواند به‌صورت دستی یا خودکار به‌دست آید. خون سانتریفیوژ شده سه لایه متمایز ایجاد می‌کند: لایه بالایی مایع پلاسما، لایه نازک میانی شامل گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها که به‌عنوان لایه بافی‌کوت شناخته می‌شود، و لایه بزرگ‌تر پایینی از گلبول‌های قرمز فشرده. پلاسمای بدون فیبرینوژن به‌عنوان سرم شناخته می‌شود. از آنجا که پلاسما و سرم هر دو فاقد سلول هستند، نمونه‌های مفیدی برای سنجش **بیومارکرها**ی بدون سلول مانند اسیدهای نوکلئیک و سایر **بیومارکرها**ی بیوشیمیایی بالینی هستند. با این حال، آن‌ها حاوی وزیکول‌های خارج‌سلولی هستند.

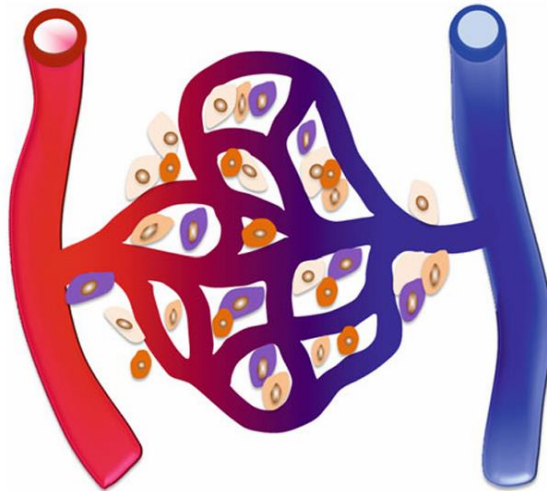
برای به‌دست آوردن پلاسما، خون در یک ماده ضد انعقاد مانند اتیلن‌دی‌آمین‌تترا استات (EDTA^۱) جمع‌آوری شده و ترجیحاً ظرف یک ساعت پس از جمع‌آوری پردازش می‌شود. پپتیدها و پروتئین‌ها در دماهای پایین پایدار می‌شوند، اما ذخیره‌سازی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد توصیه نمی‌شود زیرا ممکن است باعث فعال‌سازی پلاکت‌ها شود. اما افزودن مرحله سانتریفیوژ می‌تواند پلاکت‌ها را حذف کند. ترجیحاً، پلاسما را تقسیم‌بندی کرده و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای استفاده‌های بعدی منجمد کنید. به‌طور مشابه، برای به‌دست آوردن سرم، خون جمع‌آوری‌شده به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در دمای اتاق اجازه لخته شدن دارد، که زمان بهینه برای لخته شدن است. خون لخته‌شده را روی یخ حمل کنید یا بلافاصله سانتریفیوژ کنید. خون لخته‌شده نباید بیش از ۳ ساعت روی یخ بماند قبل از سانتریفیوژ. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده را به‌طور مشابه تقسیم‌بندی کرده و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای کاربردهای آینده ذخیره کنید.

تصمیم‌گیری در مورد استفاده از پلاسما یا سرم برای تحلیل **بیومارکرها**ی سرطان چالش‌برانگیز است و به عوامل متعددی بستگی دارد. برای مثال، چندین بانک زیستی سرم‌های آرشیو شده با اطلاعات بیمار دارند. این‌ها دسترسی آسان به نمونه‌ها برای تحلیل را فراهم می‌کنند. به‌طور مشابه، اگر سؤال پژوهشی نیازمند آزادسازی بیومولکول‌ها از عناصر

1. Ethylenediaminetetraacetate

تشکیل شده خون باشد، سرم ممکن است نمونه ترجیحی باشد. با این حال، معایب استفاده از نمونه‌های سرم به‌خوبی مشخص شده است. فرآیند لخته شدن منجر به آزادسازی بیومولکول‌ها از سایر سلول‌ها به مایع خون می‌شود، که ممکن است مطالعه **بیومارکرهای** خاص تومور جامد با فراوانی کم را مختل کند، زیرا چنین مولکول‌هایی از سلول‌های طبیعی می‌توانند بر آن‌ها سایه بیفکنند. بنابراین، در این شرایط پلاسما ترجیح داده می‌شود. پلاسما همچنین حاوی پپتیدهای تخریب شده کمتری است و استفاده از پلاسمای بدون پلاکت برای جلوگیری از تداخل پپتیدهای پلاکتی ضروری است. پلاسما در تحلیل‌های پروتئومیک تغییرات کمتری نشان می‌دهد. اما ثابت شده است که برخی **بیومارکرهای** پپتیدوم خاص سرطان توسط پروتئازهای مشتق‌شده از سرطان به‌صورت *ex vivo* در طی فرآیند لخته شدن تولید می‌شوند.

منابع دیگر اهداف بیومولکولی از بافت‌ها و سلول‌هایی که به گردش خون وارد می‌شوند، گردش لنفاوی است، که جزء دیگر گردش محیطی است. گردش لنفاوی مسئول حذف مایع خارج‌سلولی و بازگرداندن آن به گردش خون است. بنابراین، **بیومارکرهای** آزادشده توسط سلول‌ها، از جمله سلول‌های سرطانی، از طریق گره‌های لنفاوی نفوذ کرده و در نهایت به گردش خون می‌رسند.



شکل ۲-۲. خون در گردش تقریباً به تمام سلول‌های بدن نفوذ می‌کند (Sayuri Herath et al. 2022)

۱-۴-۲. کاربرد بالینی بیومارکرها^۱ در گردش

بیومارکرها در گردش در مدیریت هر بیماری اهمیت دارند زیرا به راحتی در عمل بالینی کنونی جای می گیرند. از آنجا که خون و سیستم لنفاوی مرتبط با آن تقریباً به تمام بافتها و سلولهای بدن نفوذ می کنند، مولکولهای ترشح شده یا بیومولکولهای آزاد شده از سلولها در زمینه های پیش سرطانی یا از سلولهای سرطانی در گردش خون نمایان می شوند. فناوریهای حساسی که قادر به شناسایی این نشانه ها هستند، در تشخیص زودهنگام و مدیریت سرطان ارزش فوق العاده ای دارند.

نقش **بیومارکرها** سرطان در گردش در انکولوژی جدید نیست، اما پیشرفت های فناوری کنونی در اندازه گیری و پایش اهداف بیومولکولی، کاربرد آنها را به کل طیف از ارزیابی ریسک تا تشخیص زودهنگام و عود، گسترش داده است. کاربردهای متنوع **بیومارکرها** سرطان در گردش شامل موارد زیر است:

- **بیومارکرها** در گردش برای ارزیابی ریسک افراد می توانند به اندازه کافی حساس باشند (انتخاب جمعیت در معرض خطر). به دلیل راحتی و حداقل ناراحتی، مایعات بدن روشی قابل قبول و بنابراین سازگار برای تشخیص زودهنگام سرطان از طریق غربالگری ارائه می دهند.

- زیرگروه بندی بافت شناسی و طبقه بندی تومورها، به ویژه آنهایی که به راحتی برای بیوپسی قابل دسترس نیستند، می تواند با سنجش **بیومارکرها** در گردش بهبود یابد. چنین ویژگی های بیولوژیکی تومور در گردش به مدیریت برنامه ریزی شده، از جمله تصمیم گیری درمانی، کمک می کنند.

- نیاز به انتخاب بیماران برای درمان های خاص براساس رفتار تومور (غیرتهاجمی در برابر تهاجمی) باید به پارامترهای بالینی و نشانگرهای توموری در گردش وابسته باشد. این **بیومارکرها** پیش آگهی، پیش بینی کننده یا تشخیص همراه در خون بیماران سرطانی بخشی از اصل پزشکی شخصی سازی شده^۲ را تشکیل می دهند.

1. Circulating Biomarkers
2. Personalized Medicine

- با توجه به در دسترس بودن چندین درمان جایگزین برای سرطان‌های خاص، به‌ویژه آن‌هایی که مسیرهای سرطانی خاصی را هدف قرار می‌دهند، مفهوم «یک درمان برای همه» منسوخ شده است. اهداف درمانی سنجش‌شده در گردش می‌توانند انتخاب اولیه درمان را هدایت کنند. در طول درمان هر سرطان، **بیومارکرهای** در گردش در پایش پاسخ، عدم پاسخ و سمیت مهم هستند، زیرا نمونه‌برداری متوالی راحت است. همچنین، از آنجا که این **بیومارکرها** زودتر در خون ظاهر می‌شوند، نسبت به تصویربرداری و سایر معیارهای دیر هنگام پایش پاسخ درمانی مزایای آشکاری دارند.
- **بیومارکرهای** در گردش این قابلیت را دارند که عود سرطان را زودتر از روش‌های متداول مانند تصویربرداری یا ارزیابی‌های بالینی تشخیص دهند. این شناسایی زود هنگام می‌تواند فرصت مناسبی برای مداخلات درمانی نجات‌بخش و مؤثر در مراحل اولیه عود بیماری فراهم کند و در نتیجه، شانس بقا و کیفیت زندگی بیماران را بهبود بخشد.
- **بیومارکرهای** در گردش می‌توانند در مواردی که منشأ اولیه برخی تومورهای ناشناخته است، به شناسایی بافت‌های منشأ اولیه کمک کنند.

۵-۲. بیومارکرهای سرطان و مدیریت بیمار در محل مراقبت

آزمایش و تشخیص در محل مراقبت (POC^۱) توانایی آزمایش نمونه‌ها یا تشخیص تغییرات در سلامت فرد در جامعه، میدان، خانه بیمار، مطب پزشک، آمبولانس یا هر مرکز بهداشتی است. این تغییر پارادایم در مراقبت‌های بهداشتی باید آینده مراقبت را متحول کند، زیرا آزمایش POC مداخله سریع و به‌موقع را امکان‌پذیر می‌کند. موفقیت و تأثیر آزمایش POC به توسعه دستگاه‌های قابل حمل کارآمد، حساس و مقرون‌به‌صرفه برای آزمایش نمونه و/یا تصویربرداری مولکولی وابسته است. دستگاه‌هایی که می‌توانند نمونه‌های غیرتهاجمی مانند بزاق، ادرار و سایر مایعات بدن از جمله خون (مشابه آزمایش قند خون) را آزمایش کنند، حتی بیشتر مورد پذیرش قرار می‌گیرند. توسعه گسترده این آزمایش‌ها باید مراقبت پیشگیرانه و شخصی‌سازی‌شده را امکان‌پذیر کند، که بدون شک نابرابری‌های جهانی سلامت بین کشورهای توسعه‌یافته، در حال توسعه و توسعه‌نیافته، و همچنین

1. Point of care

بین جوامع دورافتاده و شهری را کاهش خواهد داد.

در عصری که شبکه‌های مخابراتی سلولی تقریباً در تمام مناطق دورافتاده جهان در دسترس هستند، آزمایش POC می‌تواند به راحتی در تله‌مدیسین موجود ادغام شود. بنابراین، اطلاعات تولیدشده در نقاط مراقبت دورافتاده می‌توانند به نزدیک‌ترین متخصص یا مرکز هدایت شوند تا مداخله به موقع انجام شود.

۶-۲. نشانگرهای توموری در گردش سنتی در عمل بالینی^۱

۱-۶-۲. آنزیم‌ها

آنزیم‌ها از اولین گروه‌های تومور مارک‌هایی بودند که شناسایی شدند و افزایش فعالیت آن‌ها برای تشخیص حضور انواع مختلف سرطان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری به سادگی انجام می‌شود. با توسعه روش‌های سنجش ایمنی، امکان اندازه‌گیری مقدار آنزیم به صورت آنتی‌ژن پروتئینی، به جای فعالیت آنزیمی، فراهم شده است. با این حال، به جز موارد استثنا، افزایش فعالیت یا مقدار یک آنزیم یا ایزوآنزیم معمولاً حساسیت و ویژگی کافی برای تشخیص نوع خاص سرطان یا درگیری بافتی خاص را ندارد. یکی از این استثناها، آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA^۲) است که در شرایط طبیعی، هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات، تومورهای سرطانی پروستات و به میزان کمتر در سایر بافت‌ها بیان می‌شود. با معرفی آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) به عنوان یک نشانگر نسبتاً اختصاصی و قابل اعتماد برای سرطان پروستات، کاربرد آنزیم‌های توموری به عنوان **بیومارک‌های** تشخیصی تا حد زیادی تحت الشعاع قرار گرفت. پیش از کشف آنتی‌ژن‌های جنینی سرطانی و ظهور آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، آنزیم‌ها به عنوان تومور مارکر مورد استفاده قرار می‌گرفتند. نقص در عملکرد آنزیم‌ها به عنوان مارکر سرطان ممکن است ناشی از بیان ایزوآنزیم‌های جنینی یا تولید نابجای آنزیم‌ها باشد. آنزیم‌ها در سلول‌ها با غلظت بالا وجود دارند و در اثر نکروز تومور یا تغییر در نفوذپذیری غشای سلول‌های سرطانی به جریان خون سیستمیک آزاد می‌شوند. افزایش فعالیت آنزیم همچنین در انسداد مجاری صفراوی، پانکراتیک یا نارسایی کلیه مشاهده شده است. محل داخل سلولی آنزیم ممکن است بر سرعت آزادسازی

1. Traditional Circulating Tumor Markers
2. Prostate Specific Antigen

آن تأثیر بگذارد. آزاد شدن آنزیم‌ها به جریان خون سیستمیک معمولاً با متاستاز تومورها همراه است. از آنجا که اکثر آنزیم‌ها اختصاصی یک اندام خاص نیستند، به‌عنوان تومور مارکرهای غیراختصاصی شناخته می‌شوند و افزایش فعالیت آن‌ها نشانه‌ای از حضور احتمالی بدخیمی است. با این حال، ایزوآنزیم‌ها و اشکال مختلف آنزیم‌ها می‌توانند اختصاصی‌تر به یک اندام خاص باشند.

۱-۱-۶-۲. آلکالین فسفاتاز

آلکالین فسفاتاز (ALP^۱) از کبد، استخوان و جفت منشأ می‌گیرد، اما در سرم افراد بالغ سالم، عمدتاً از کبد و مجاری صفراوی تولید می‌شود. افزایش فعالیت ALP در مراحل اولیه و پیشرفته سرطان کبد مشاهده شده و این آنزیم در ارزیابی متاستاز به کبد یا مغز استخوان مفید است. بیشترین افزایش فعالیت ALP در بیماران با ضایعات اوستئوبلاستیک، مانند سرطان پروستات با متاستاز استخوانی، و کمترین افزایش در ضایعات اوستئولیتیک، مانند سرطان پستان با متاستاز استخوانی، دیده شده است.

هنگامی که ALP برای بررسی متاستاز کبدی استفاده می‌شود، فعالیت سرمی آن ارتباط خوبی با مقدار آن در بافت کبدی نشان می‌دهد و نسبت به سایر آزمایش‌های عملکرد کبدی مناسب‌تر است. برای تعیین منشأ افزایش فعالیت ALP، بررسی آنزیم‌های کبدی دیگر مانند ۵-نوکلئوتیداز یا گاما-گلوتامیل ترانسفراز ضروری است. شناسایی ایزوآنزیم‌های ALP می‌تواند اختصاصیت بیشتری فراهم کند؛ به‌عنوان مثال، ایزوآنزیم کبدی از نظر حرارتی پایدارتر از ایزوآنزیم استخوانی است. بدخیمی‌های دیگر مانند لوئمی، سارکوما و لنفوم با نفوذ کبدی نیز می‌توانند باعث افزایش فعالیت ALP شوند.

آلکالین فسفاتاز جفتی (PLAP^۲) توسط تروفوبلاست‌ها سنتز شده و در سرم زنان باردار افزایش می‌یابد. این ایزوآنزیم در سال ۱۹۶۸ توسط فیشمن و همکاران به‌عنوان ایزوآنزیم رگان (Regan isoenzyme) شناسایی شد و به همراه AFP و CEA به‌عنوان یکی از اولین مارکرهای پیشرفت سرطان معرفی گردید. PLAP در بدخیمی‌های مختلف، از جمله سرطان تخمدان، ریه، تومورهای تروفوبلاستیک، سمینوما، سرطان‌های گوارشی و بیماری‌های هورمونی، افزایش می‌یابد.

1. Alkaline phosphatase

2. Placental-like alkaline phosphatase

۲-۱-۶-۲. لاکتات دهیدروژناز

لاکتات دهیدروژناز (LD^۱) آنزیمی در مسیر گلیکولیز است که در اثر آسیب سلولی آزاد می‌شود. افزایش LD در بدخیمی‌ها معمولاً غیراختصاصی است و در سرطان‌های مختلفی مانند سرطان کبد، لنفومای غیرهوچکینی، لوسمی‌های حاد، سمینوما، نوروبلاستوما، سرطان سلول زایشی بیضه (غیرسمینوماتوز^۲) و کارسینوماهایی مانند سرطان پستان، کولون، معده و ریه مشاهده شده است. مقدار LD سرمی با وزن تومور در سرطان‌های جامد مرتبط است و می‌تواند به‌عنوان یک عامل پیش‌آگهی برای پیشرفت بیماری عمل کند، اما کاربرد آن در پایش درمان محدود است. ایزوآنزیم‌های LD تنها اختصاصیت محدودی برای درگیری اندام خاص فراهم می‌کنند؛ برای مثال، افزایش LD5 با متاستاز کبدی مرتبط است و افزایش آن در مایع مغزی-نخاعی می‌تواند متاستاز زود هنگام به سیستم عصبی مرکزی را نشان دهد.

۲-۱-۶-۳. انولاز اختصاصی نورون

انولاز اختصاصی نورون^۳ (NSE)، نوعی آنزیم گلیکولیتیک (نام دیگر آن فسفوپیرووات هیدراتاز^۴)، در بافت‌های نورونی، سلول‌های نورواندوکراین و بافت‌های APUD^۵ (جذب‌کننده پیش‌سازهای آمینی و دکربوکسیلاسیون) یافت می‌شود. NSE در تومورهای نورواندوکراین مانند سرطان سلول کوچک ریه (SCLC^۶)، نوروبلاستوما، فئوکروموسیتوما، کارسینوئید، کارسینومای تیروئید، ملانوما و تومورهای اندوکراین پانکراس حضور دارد.

غلظت NSE سرمی با روش‌های EIA^۷، RIA^۸ یا ELISA^۹ اندازه‌گیری می‌شود و حساسیت آن در بیماران SCLC حدود ۸۰ درصد گزارش شده است. این روش‌ها حساسیت ۸۰ تا ۹۰ درصدی دارند. غلظت NSE با مرحله بیماری مرتبط است و می‌تواند پیش‌آگهی مناسبی برای پیشرفت بیماری ارائه دهد. با این حال، نقش NSE در تشخیص عود بیماری هنوز تأیید نشده است. NSE در پایش شیمی‌درمانی و ارزیابی مرحله بیماری مفید است و افزایش موقت آن در

-
1. Lactate dehydrogenase
 2. Non-seminomatous
 3. Neuron Specific Enolase
 4. Phosphopyruvate hydratase
 5. Amine Precursor Uptake and Decarboxylation
 6. Small cell lung cancer
 7. Enzyme immunoassays
 8. Radioimmunoassay
 9. Enzyme-linked immunosorbent assay

هنگام لیز تومور مشاهده می‌شود. رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی NSE نیز می‌تواند در افتراق SCLC از سایر کارسینوماها کمک کند. در کودکان با نوروبلاستوما پیشرفته، بیش از ۹۰ درصد افزایش غلظت NSE گزارش شده و مقادیر بالای آن با پیش‌آگهی ضعیف همراه است.

۴-۱-۶-۲. اسید فسفاتاز پروستاتی

کاربرد بالینی اسید فسفاتاز پروستاتی^۱ (PAP) با PSA جایگزین شده است، زیرا PAP حساسیت کافی برای غربالگری یا تشخیص زودهنگام سرطان پروستات ندارد. PAP در هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات^۲ (BPH) کمتر از PSA افزایش می‌یابد و اطلاعات اضافی در حضور PSA ارائه نمی‌دهد. در حال حاضر، روش ترجیحی برای اندازه‌گیری PAP، سنجش فعالیت آنزیمی آن است.

۵-۱-۶-۲. آنتی‌ژن اختصاصی پروستات

PSA یکی از برجسته‌ترین تومور مارکرهای موجود و از معدود مارکرهای اختصاصی اندام است. سرطان پروستات یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در مردان مسن است و تشخیص زودهنگام آن با پروستاتکتومی رادیکال^۳ می‌تواند امید به زندگی را تا ۱۰ سال افزایش دهد.

بیوشیمی PSA

PSA یک گلیکوپروتئین تک‌زنجیره‌ای با ۲۳۷ اسید آمینه و چهار زنجیره کربوهیدراتی است که وزن مولکولی آن ۲۸۴۳۰ دالتون است. زنجیره‌های کربوهیدراتی در اسیدهای آمینه ۴۵ (آسپاراژین)، ۶۹ (سرین)، ۷۰ (ترئونین) و ۷۱ (سرین) قرار دارند. pH نقطه ایزوالکتریک PSA بسته به ایزوفرما بین ۶٫۸ تا ۷٫۲ است. ژن PSA (KLK3) روی کروموزوم q13.41۱۹ قرار دارد و با ژن کالیکرین-۱ شباهت ۸۲ درصدی دارد. PSA یک سرین پروتئاز از خانواده کالیکرین است که منحصراً توسط سلول‌های اپیتلیال آسینی و مجاری پروستات تولید شده و به لومن مجرای پروستات و مایع منی ترشح می‌شود. PSA پروتئین اختصاصی وزیکول منی را به پروتئین‌های کوچک‌تر تجزیه می‌کند و نقش مهمی در مایع‌سازی منی ایفا می‌کند.

1. Prostatic acid phosphatase
2. Benign prostatic hyperplasia
3. Radical Prostatectomy

اشکال مولکولی PSA

PSA در جریان خون به صورت آزاد (fPSA) و کمپلکس (cPSA) وجود دارد. اغلب به صورت کمپلکس با آلفا ۱-آنتی کیموتریپسین^۱ (ACT) یا آلفا ۲-ماکروگلوبولین است. مقدار کمی PSA آزاد با وزن مولکولی ۲۸۴۳۰ دالتون نیز وجود دارد. در سنجش‌های ایمنی، معمولاً PSA آزاد و کمپلکس با ACT اندازه‌گیری می‌شوند، اما PSA کمپلکس با آلفا ۲-ماکروگلوبولین قابل تشخیص نیست. در مایع منی، PSA به ۱۵ ایزوform تقسیم می‌شود. ایزوform‌های PSA-A و PSA-B فعال بوده و قادر به تشکیل کمپلکس با ACT هستند، در حالی که ایزوform‌های PSA-C، PSA-D و PSA-E اشکال غیرفعال یا با فعالیت کم هستند.

خواص فیزیولوژیکی PSA

تصفیه متابولیکی PSA از یک مدل دو مرحله‌ای پیروی می‌کند: نیمه‌عمر اولیه ۰٫۷۵ و ۱٫۲ ساعت برای PSA آزاد و نیمه‌عمرهای PSA کمپلکس، ۲۲ و ۳۳ ساعت می‌باشد. به دلیل نیمه‌عمر طولانی، بازگشت غلظت PSA به سطح پایه پس از اقداماتی مانند بیوپسی پروستات یا پروستاتکتومی ممکن است ۲ تا ۳ هفته طول بکشد. عواملی مانند التهاب پروستات یا احتباس ادراری می‌توانند غلظت PSA را افزایش دهند.

کاربردهای بالینی PSA

PSA برای غربالگری، تعیین مرحله، پایش درمان و تشخیص عود سرطان پروستات استفاده می‌شود. با این حال، PSA به‌تنهایی برای غربالگری یا تشخیص زودهنگام سرطان پروستات کافی نیست، زیرا اختصاصی بافت پروستات است، نه سرطان پروستات. برای افزایش دقت تشخیص، روش‌هایی مانند استفاده از بازه‌های مرجع مبتنی بر سن، دانسیته PSA، سرعت افزایش PSA و درصد PSA آزاد به کار گرفته می‌شوند. PSA در پایش درمان، به‌ویژه پس از پروستاتکتومی کامل، نقش کلیدی دارد، زیرا افزایش آن پس از جراحی نشان‌دهنده عود بیماری است.

۶-۱-۶. سیستم فعال‌کننده اوروکیناز-پلاسمینوژن

سیستم فعال‌کننده یوروکیناز-پلاسمینوژن (uPA^2) از سه جزء اصلی تشکیل شده است:

1. Antichymotrypsin
2. Urokinase plasminogen activator

فعال کننده اوروکیناز-پلاسمینوژن، یک سرین پروتئاز با وزن مولکولی ۵۳ کیلودالتون؛ گیرنده متصل به غشا ($uPAR^1$)؛ و مهارکننده‌های فعال کننده پلاسمینوژن، یعنی $PAI-1^2$ و $PAI-2$. uPA به صورت یک پلی پپتید غیرفعال تک زنجیره‌ای تولید می‌شود که با برش پروتئولیتیک فعال می‌گردد. این برش توسط پروتئازهایی مانند کاتپسین B، کاتپسین L و کالیکرین-۲ انسانی کاتالیز می‌شود. شکل فعال uPA شامل زنجیره A (که با $uPAR$ برهم کنش می‌کند) و زنجیره B (دارای فعالیت کاتالیتیک) است. عملکرد اصلی uPA تبدیل پلاسمینوژن به پلاسمین فعال است که اجزای ماتریکس خارج سلولی (ECM) را تخریب کرده، متالوپروتئینازهای ماتریکس (MMPs) را فعال می‌کند، ECM را تجزیه می‌نماید، فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲ ($FGF-2$) را آزاد می‌کند و فاکتور رشد تبدیل کننده بتا ($TGF-\beta^3$) را تغییر شکل می‌دهد. فعالیت uPA در بدن توسط مهارکننده‌های $PAI-1$ و $PAI-2$ تنظیم می‌شود. $PAI-1$ علاوه بر مهار uPA ، نقش‌های دیگری از جمله مشارکت در رگ‌زایی، چسبندگی سلولی، مهاجرت سلولی و مهار آپوپتوز نیز دارد.

uPA اولین پروتئازی بود که برای ارزیابی متاستاز و پیش‌آگهی در سرطان پستان مطالعه شد. بیش از ۲۰ گروه تحقیقاتی مستقل نشان داده‌اند که بیماران مبتلا به سرطان پستان با سطوح بالای uPA در تومورهای اولیه، پیش‌آگهی ضعیف‌تری نسبت به بیماران با سطوح پایین uPA دارند. پیش‌آگهی مرتبط با uPA به نظر می‌رسد مستقل از سایر مارکرها مانند وضعیت گره لنفاوی، اندازه تومور، نوع تومور یا وضعیت گیرنده استروژن (ER^4) باشد. در اکثر مطالعات، uPA پیش‌بینی کننده قوی‌تری برای بقا نسبت به عواملی مانند اندازه تومور، نوع تومور یا وضعیت ER است و ارزش تشخیصی مشابه با درگیری گره‌های لنفاوی دارد. اندازه‌گیری uPA در بیماران که از نظر هیستولوژیکی گره‌های لنفاوی منفی دارند، مفیدتر است. در این گروه، بقای طولانی مدت با درمان موضعی به تنهایی ۷۰ تا ۸۰ درصد است و شیمی درمانی ممکن است کمک چندانی نکند. uPA می‌تواند بیماران با خطر بالای عود بیماری را شناسایی کرده و از شیمی درمانی غیرضروری برای بیماران درمان شده جلوگیری کند. همچنین، $PAI-1$ با پیشرفت سرطان پستان مرتبط است.

1. Urokinase plasminogen activator receptor
 2. Plasminogen Activator Inhibitor-1
 3. Transforming growth factor beta
 4. Estrogen receptor

سطوح بالای PAI-1 با تهاجم بیشتر بیماری همراه است، احتمالاً به دلیل نقش PAI-1 در رگ‌زایی و مهار آپوپتوز، برخلاف نقش آن در مهار uPA. مطالعه‌ای روی ۶۷۴ بیمار مبتلا به سرطان پستان گره‌منفی نشان داد که زنان با سطوح بالای PAI-1، uPA یا هر دو، دوره بدون بیماری کوتاه‌تری نسبت به زنان با سطوح پایین این پروتئین‌ها دارند. این شواهد از استفاده تشخیصی uPA و PAI-1 حمایت می‌کند و پیشنهاد می‌دهد که این مارکرها باید به‌صورت روتین در ارزیابی سرطان پستان به کار روند. مرورها و متآنالیزها استفاده از uPA و PAI-1 را به‌عنوان مارکهای پیش‌آگهی در سرطان پستان توصیه می‌کنند.

uPA همچنین به‌عنوان یک مارکر پیش‌آگهی در سرطان‌های دیگر نیز شناخته شده است. این مارکر در بیماران با تهاجم توموری اما گره‌منفی (مانند مرحله Dukes B در سرطان کولورکتال) و در سرطان‌های معده و مری با بیماری تهاجمی مرتبط است. مطالعات اولیه نشان داده‌اند که uPA می‌تواند به‌عنوان مارکر پیش‌آگهی در سرطان‌های تخمدان، کلیه، کبد، پانکراس، مثانه، ریه و سرطان‌های سر و گردن عمل کند. بنابراین، uPA ممکن است به‌عنوان یک مارکر پیش‌آگهی عمومی در سرطان‌ها کاربرد داشته باشد.

۷-۱-۶-۲. کاتپسین‌ها

کاتپسین‌ها پروتئازهای لیزوزومی هستند و نقش کاتپسین‌های B، D و L در توسعه و پیشرفت تومور بررسی شده است. مشابه سایر پروتئازها، کاتپسین‌ها از پیش‌سازهای با وزن مولکولی بالا سنتز شده و برای فعال شدن نیاز به پردازش دارند. کاتپسین B (CB) یک پروتئاز تیولدار است که معمولاً در لیزوزوم‌ها یافت می‌شود و توسط کاتپسین D (CD) و MMPs فعال می‌گردد. CB فعال می‌تواند uPA و MMPs را فعال کند. کاتپسین (CL) L از نظر ویژگی مشابه CB است، اما CD یک پروتئاز آسپارتیل‌دار لیزوزومی است. بیان و محل کاتپسین D در تومورها نسبت به بافت نرمال تغییر می‌کند. در بافت‌های توموری، کاتپسین B ممکن است روی غشای پلاسمایی قرار گیرد یا ترشح شود. افزایش بیان CB در سرطان‌های پستان، رکتوم، کولون، معده، ریه، پروستات، گلیوما، ملانوما و استئوکلاستوما با ایجاد یا پیشرفت تومور مرتبط است. تغییر محل CB در سرطان‌هایی مانند کارسینومای کولون، تیروئید، گلیوما و تومورهای اپیتلیال پستان مشاهده شده است. این تغییرات احتمالاً در تهاجم بافت از طریق تخریب ECM و افزایش رشد نقش دارند.

کاربردهای بالینی

اکثر داده‌ها نقش پیش‌آگهی کاتپسین D را در سرطان پستان نشان می‌دهند، اما کاربرد آن در کارسینومای سلول سنگفرشی سر و گردن، کارسینومای هپاتوسلولار و آدنوکارسینومای گوارشی در مطالعات محدودی بررسی شده است. مطالعه‌ای روی ۲۸۱۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان نشان داد که تومورهای با CD بالا دوره بدون عود بیماری کوتاه‌تری دارند. با این حال، سودمندی CD در SCC و سایر بدخیمی‌ها نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. CL به‌عنوان یک مارکر پیش‌آگهی عمدتاً در سرطان پستان مطالعه شده است. سطوح بالای CL در عصاره تومور با کاهش بقای بدون عود مرتبط است و به نظر می‌رسد CL یک مارکر پیش‌آگهی مستقل در سرطان‌های گره مثبت و گره منفی باشد، به‌ویژه هنگامی که با مارکرهایی مانند CB، CD، وضعیت گره و گیرنده‌های هورمونی ترکیب شود.

۸-۱-۶-۲. متالوپروتئینازهای ماتریکس

متالوپروتئینازهای ماتریکس^۱ (MMPs) خانواده‌ای از ۲۳ اندوپپتیداز وابسته به روی^۲ (Zn) هستند که از نظر ساختاری مرتبط بوده و قادر به تخریب اجزای ECM هستند. اکثر MMPs به‌صورت زیموژن ترشح شده و برای فعال شدن نیاز به حذف دومین ۱۰ کیلودالتونی انتهایی آمینی دارند. فعالیت پروتئولیتیک فرم فعال توسط مهارکننده‌های بافتی متالوپروتئینازها (TIMPs^۳) تنظیم می‌شود. MMPs براساس ویژگی ECM به چهار زیرگروه کلاژنازها، ژلاتینازها، استروملیزین‌ها^۴ و MMPهای غشایی تقسیم می‌شوند.

MMPs در فرآیندهایی مانند بازسازی بافت و ترمیم زخم نقش دارند، اما در رشد، تهاجم و متاستاز تومور نیز دخیل هستند. افزایش بیان MMPs با تهاجم تومور و پیش‌آگهی ضعیف مرتبط است. سطوح بالای MMP-2 یا MMP-3 سرمی قبل از جراحی می‌تواند عود بیماری را در سرطان رحم پیشرفته پیش‌بینی کند. همچنین، سطوح بالای MMP-2 در سلول‌های توموری تخمدان با عود تومور مرتبط است. بیان MMP-1 با متاستاز گره لنفاوی در سرطان‌های معده و گردن مرتبط است. مهار MMPs ممکن است به‌عنوان یک استراتژی درمانی در سرطان مطرح شود.

1. Matrix metalloproteinases

2. Zinc

3. Tissue inhibitors of metalloproteinases

4. Stromelysins

۲-۶-۲. هورمون‌ها

هورمون‌ها بیش از ۵۰ سال است که به‌عنوان مارکرهای توموری شناخته شده‌اند. توسعه روش‌های RIA اختصاصی با تداخل کم با هورمون‌های مشابه، پایش بیماران سرطانی را تسهیل کرده است. استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال اندازه‌گیری دقیق هورمون‌ها را ممکن ساخته است. تولید هورمون در سرطان از دو مسیر صورت می‌گیرد: ۱) بافت اندوکراین که به‌طور طبیعی هورمون تولید می‌کند، ممکن است مقادیر زیادی هورمون ترشح کند؛ ۲) تولید هورمون توسط بافت غیراندوکراین که معمولاً هورمون تولید نمی‌کند (سندرم اکتوپیک). برای مثال، هورمون آدرنوکورتروپیک (^۱ACTH) به‌طور طبیعی توسط هیپوفیز و به‌صورت اکتوپیک توسط سرطان سلول کوچک ریه ترشح می‌شود. بنابراین، افزایش هورمون لزوماً به یک تومور خاص اشاره ندارد (جدول ۲-۱).

جدول ۲-۱. هورمون‌هایی که به‌عنوان تومور مارکر عمل می‌کنند

هورمون	نوع سرطان
ACTH	سندرم کوشینگ، ریه (سلول کوچک)
هورمون آنتی دیورتیک	ریه (سلول کوچک)، کورتکس ادرنال، پانکراس، دودنوم
بومبیزین	ریه (سلول کوچک)
کلستونین	مدولای تیروئید
گاسترین	گلوکاگونما
هورمون رشد	آدنومای هیپوفیز، کلیه، ریه
hCG	جنینی، کوریوکارسینوما، تستیکولار
لاکتوژن جفتی انسانی	تروفوبلاست، گونادها، ریه، سینه
نوروفیزین‌ها	ریه (سلول کوچک)
هورمون پاراتیروئیدی	کبد، کلیه، سینه، ریه، متنوع
پرولاکتین	آدنومای هیپوفیز، کلیه، ریه
پپتید وازواکتیو روده‌ای	پانکراس، فنوکروموسیتوما، نوروبلاستوما

سندرم‌های نئوپلازی متعدد اندوکراین^۱ (MEN-1، MEN-2A) نمونه‌هایی از سرطان‌های خانوادگی اندوکراین هستند که به‌صورت اتوزومال غالب به ارث می‌رسند و با رشد تومورهای نورواندوکراین^۲ APUD مشخص می‌شوند. این بافت‌ها هورمون‌های پلی‌پپتیدی مانند ACTH، کلسی‌تونین، گاسترین، گلوکاگون، انسولین، سکرترین و پلی‌پپتید روده‌ای فعال عروقی تولید می‌کنند. فراوانی تولید هورمون به ارتباط جنین‌شناختی منشأ سرطان با بافت‌های APUD بستگی دارد.

۱-۲-۲-۲. هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک

ACTH یک هورمون پلی‌پپتیدی با ۳۹ اسید آمینه و وزن مولکولی ۴۵۰۰ دالتون است که توسط سلول‌های کورتیکوتروپیک هیپوفیز قدامی تولید می‌شود. در سال ۱۹۲۸، بیماری با سرطان سلول کوچک ریه علائم مرتبط با افزایش کورتیزول را نشان داد. برخی سرطان‌ها پیش‌ساز ACTH را تولید می‌کنند که فعالیت زیستی و ایمونولوژیکی مشابه ACTH دارد. روش‌های RIA قدیمی هر دو را اندازه‌گیری می‌کنند. افزایش ACTH سرمی می‌تواند ناشی از هیپوفیز یا تولید اکتوپیک باشد. سطوح بالای ACTH (>200 پیکوگرم بر میلی‌لیتر) معمولاً به منشأ اکتوپیک اشاره دارد. عدم سرکوب در آزمایش دگزامتازون نیز تولید اکتوپیک را تأیید می‌کند. حدود نیمی از موارد تولید اکتوپیک ACTH به سرطان سلول کوچک ریه مرتبط است. سایر علل شامل سرطان‌های پانکراس، پستان، معده، کولون و شرایط خوش‌خیم مانند بیماری‌های ریوی مزمن، افسردگی، چاقی، فشارخون بالا، دیابت و استرس است.

۲-۲-۲-۲. کلسی‌تونین

کلسی‌تونین یک پلی‌پپتید ۳۲ اسید آمینه‌ای با وزن مولکولی حدود ۳۴۰۰ دالتون است که توسط سلول‌های C تیروئید تولید می‌شود. این هورمون در پاسخ به افزایش کلسیم سرمی ترشح شده و با مهار آزادسازی کلسیم از استخوان، غلظت کلسیم سرمی را کاهش می‌دهد. نیمه‌عمر آن در سرم حدود ۱۲ دقیقه است. در افراد سالم، غلظت کلسی‌تونین کمتر از ۰٫۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر است و افزایش آن اغلب با سرطان مدولاری تیروئید (MTC^۳) مرتبط است.

1. Multiple endocrine neoplasia
2. Amine Precursor Uptake and Decarboxylation
3. Medullary thyroid cancer

اندازه‌گیری کلسی‌تونین در تشخیص سرطان خانوادگی مدولاری تیروئید (FMTC)، یک اختلال اتوزومال غالب، مفید است. غربالگری افراد بدون علامت در خانواده‌های در معرض خطر با توموگرافی کامپیوتری (CT یا Computerized Tomography) و آزمایش‌های تحریکی (تزریق کلسیم یا پنتاگاسترین) انجام می‌شود. کلسی‌تونین برای پایش درمان و تشخیص عود بیماری نیز کاربرد دارد. افزایش کلسی‌تونین در کارسینوئید، سرطان‌های ریه، پستان، کلیه، کبد و شرایط غیربدخیم مانند پانکراتیت، هیپوپاراتیروئیدیسم، کم‌خونی شدید، بیماری پاژه و بارداری نیز گزارش شده است.

۳-۲-۶. گنادوتروپین کوریونیک انسانی

افزایش غلظت hCG^۲ در بارداری، بیماری‌های تروفوبلاستیک و تومورهای سلول زایا مشاهده می‌شود. hCG مارکر مفیدی برای تومورهای جفت، تومورهای تروفوبلاستیک و برخی تومورهای بیضه است.

بیوشیمی hCG

hCG یک گلیکوپروتئین ۴۵ کیلودالتونی است که توسط سلول‌های سین‌سیتیوتروفوبلاستیک جفت تولید می‌شود. این هورمون از دو زیرواحد غیرمشابه α و β تشکیل شده است. زیرواحد α با هورمون‌های لوتئینیزه‌کننده (LH^3)، فولیکول‌محرك (FSH^4) و تیروئیدمحرك (TSH^5) مشترک است، اما زیرواحد β برای hCG اختصاصی است. غلظت hCG در مردان و زنان غیرباردار کمتر از ۵ واحد بین‌المللی بر لیتر است.

کاربردهای بالینی hCG

hCG در تمام بیماران با تومورهای تروفوبلاستیک، ۷۰٪ بیماران با تومورهای غیرسمنوماتوز بیضه و به میزان کمتر در سمنوماها افزایش می‌یابد. افزایش hCG در ملانوم، سرطان‌های پستان، گوارشی، ریه، تخمدان و شرایط خوش‌خیم مانند سیروز، زخم اثنی‌عشر و بیماری‌های التهابی روده نیز گزارش شده است. hCG همراه با AFP در ارزیابی تومورهای غیرسمنوماتوز

1. Familial Medullary thyroid cancer
2. Human Chorionic Gonadotropin
3. Luteinizing hormone
4. Follicle-stimulating hormone
5. Thyroid-stimulating hormone

بیضه مفید است. غلظت hCG با حجم تومور و پیش‌آگهی بیماری مرتبط است. حضور hCG در سمنوما ممکن است به کوریوکارسینوما اشاره کند. نسبت hCG در مایع مغزی‌نخاعی به سرم (۱:۶۰) می‌تواند متاستاز مغزی را نشان دهد. hCG برای پایش درمان و تشخیص عود بیماری تروفوبلاستیک مفید است.

۴-۲-۶. آنتی‌ژن‌های انکوفتال

آنتی‌ژن‌های انکوفتال پروتئین‌هایی هستند که در دوران جنینی تولید شده و پس از تولد به حداقل می‌رسند یا ناپدید می‌شوند. در بیماران سرطانی، این پروتئین‌ها دوباره ظاهر می‌شوند، که نشان‌دهنده فعال شدن ژن‌های خاص در نتیجه تحول بدخیم است. کشف آلفا-فتوپروتئین^۱ (AFP) و آنتی‌ژن کارسینوما‌میریونیک^۲ (CEA) در دهه ۱۹۶۰ تحول بزرگی در مارکرهای توموری ایجاد کرد (جدول ۲-۲).

جدول ۲-۲. آنتی‌ژن‌های انکوفتال دارای نقش تومور مارکری

نام	طبیعت شیمیایی	نوع سرطان
AFP	گلیکوپروتئین، CHO/۴,۷۰ kDa	سلول کبدی، سلول زایا (غیر سمینال)
آنتی‌ژن انکوفتال β	۸۰ kDa	کولون
فریتین کارسینوفتال	گلیکوپروتئین، ۶۰ kDa	کبد
CEA	گلیکوپروتئین، CHO/۵۰,۲۲ kDa	کولورکتال، گوارش، پانکراس، ریه، سینه
انکوفتال پانکراسی	گلیکوپروتئین، ۴۰ kDa	پانکراس
آنتی‌ژن سلول فلسی ^۳	گلیکوپروتئین، ۴۰-۴۸ kDa	گردن، ریه، پوست، سروگردن (فلسی)
آنتی‌ژن تنسی ^۴	گلیکوپروتئین، ۱۰۰ kDa	کولون، گوارش، مثانه
آنتی‌ژن پلی‌پپتید بافتی ^۵	سیتوکراتین‌های ۸ و ۱۸	متنوع (سینه، کولورکتال، تخمدان، مثانه)

CHO: کربوهیدرات

1. Alpha-fetoprotein
2. Carcinoembryonic antigen
3. SCC Ag یا Squamous Cell Carcinoma Antigen
4. Tenascin
5. Tissue Polypeptide Antigen یا TPA

۱-۴-۲-۶. آلفا-فتوپروتئین

AFP مارکر اصلی برای کارسینومای هپاتوسلولار (HCC) و تومورهای سلول زایا (غیرسمینوماتوز) است.

بیوشیمی AFP

AFP یک گلیکوپروتئین ۷۰ کیلودالتونی تک‌زنجیره‌ای با ۵ درصد کربوهیدرات است. این پروتئین در دوران جنینی توسط کیسه زرده و کبد سنتز شده و یکی از پروتئین‌های اصلی خون جنین است. AFP از نظر ژنتیکی و ساختاری شبیه آلبومین است و پس از تولد به غلظت ناچیز می‌رسد.

کاربردهای بالینی AFP

غلظت AFP در بزرگسالان سالم کمتر از ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر است. در بارداری، AFP مادری از هفته دوازدهم افزایش یافته و در سه‌ماهه سوم به ۵۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌رسد. افزایش AFP در بیماری‌های خوش‌خیم کبدی مانند هپاتیت و سیروز نیز دیده می‌شود. غلظت‌های AFP بالای ۱۰۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر معمولاً به سرطان اشاره دارند و در حدود نیمی از موارد HCC را نشان می‌دهند. برای تشخیص زودهنگام HCC، حد تشخیصی ۱۰ تا ۲۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر توصیه می‌شود. AFP در غربالگری HCC در مناطق با شیوع بالا (مانند آفریقا و آسیا) و پایش درمان مفید است. ترکیب AFP و hCG در طبقه‌بندی تومورهای سلول زایا و پایش بیماران موثر است.

AFP-L3

آزمایش AFP-L3 برای تشخیص HCC براساس اتصال AFP به لکتین^۱ (LCA) توسعه یافته است. AFP-L3 (بیش از ۱۰٪ AFP کل) برای غربالگری جمعیت‌های پرخطر و پیش‌آگهی بیماری مفید است و می‌تواند تومورهای کوچک را زودتر از تصویربرداری تشخیص دهد.

۲-۴-۲-۶. آنتی‌ژن کارسینومابریونیک

آنتی‌ژن کارسینومابریونیک (CEA^۲) به عنوان یک مارکر زیستی در تشخیص و پایش

1. Lens culinaris agglutinin
2. Carcinoembryonic antigen

سرطان‌هایی نظیر سرطان کولورکتال، ریه، معده، پستان، پانکراس، تخمدان و رحم کاربرد دارد. این آنتی‌ژن در سال ۱۹۶۵ توسط گلد و فریمن از طریق ایمن‌سازی خرگوش‌ها با عصاره بافت سرطانی کولون انسان شناسایی شد. آنتی‌سرم‌های به‌دست‌آمده با عصاره‌های بافت طبیعی کولون جذب شدند و برخی از آن‌ها تنها با عصاره‌های تومور واکنش نشان دادند، در حالی که با بافت‌های سالم واکنشی نداشتند. از آنجا که این آنتی‌ژن در بافت‌های جنینی نیز وجود دارد، به نام آنتی‌ژن کارسینوآمبریونیک نام‌گذاری شد.

ویژگی‌های بیوشیمیایی

CEA یک گلیکوپروتئین با وزن مولکولی بین ۱۵۰ تا ۳۰۰ کیلودالتون است که ۴۵ تا ۵۵ درصد آن را کربوهیدرات تشکیل می‌دهد. این مولکول از یک زنجیره پلی‌پپتیدی تک با ۶۴۱ اسید آمینه تشکیل شده و در انتهای خود دارای لیزین است. هتروژنیسیته CEA امکان جداسازی واریانت‌های آن را از طریق تکنیک ایزوالکتریک فوکوسینگ فراهم می‌کند. CEA بخشی از یک خانواده بزرگ از گلیکوپروتئین‌های سطح سلولی است که توسط ۱۰ ژن واقع بر روی کروموزوم ۱۹ کدگذاری می‌شوند. تاکنون ۳۶ گلیکوپروتئین مختلف در این خانواده شناسایی شده‌اند که مهم‌ترین آن‌ها شامل CEA و آنتی‌ژن غیراختصاصی کارسینوآمبریونیک^۱ (NCA) هستند. ساختار دومین‌های CEA و NCA-50 شباهت زیادی به زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین IgG دارد، به همین دلیل CEA به عنوان عضوی از سوپرفامیلی ژن ایمونوگلوبولین شناخته می‌شود.

کاربردهای بالینی

سطوح CEA در انواع سرطان‌ها، از جمله سرطان کولورکتال (۷۰٪)، ریه (۴۵٪)، معده (۵۰٪)، پستان (۴۰٪)، پانکراس (۵۵٪)، تخمدان (۲۵٪) و رحم (۴۰٪) افزایش می‌یابد. با این حال، به دلیل احتمال نتایج مثبت کاذب و عدم تولید CEA توسط برخی تومورها (نتایج منفی کاذب)، آزمایش CEA برای غربالگری مناسب نیست. این آزمایش می‌تواند به عنوان یک ابزار کمکی برای تعیین مراحل بالینی بیماری استفاده شود. افزایش قابل توجه CEA (۵ تا ۱۰ برابر محدوده مرجع) به طور قوی با سرطان کولون مرتبط است، اگرچه ممکن است در سایر سرطان‌ها نیز مشاهده شود. در سرطان کولورکتال، سطح CEA با مرحله بیماری ارتباط دارد؛ به طوری که در ۲۸٪ بیماران در مرحله A و ۴۵٪ در مرحله B افزایش می‌یابد.

1. Nonspecific carcinoembryonic antigen

سطوح بالای CEA پیش از درمان می‌تواند به عنوان یک شاخص پیش‌آگهی برای احتمال متاستاز عمل کند، زیرا غلظت بالای آن با احتمال بالای گسترش متاستاتیک همراه است. شواهد نشان می‌دهند که CEA به عنوان یک مولکول چسبنده سلولی ممکن است تهاجم و متاستاز را تسهیل کند. پس از درمان موفق، سطح CEA کاهش می‌یابد و در طول دوره بهبودی ثابت می‌ماند. افزایش مجدد CEA می‌تواند نشان‌دهنده عود بیماری باشد. در ۹۰٪ موارد، بررسی‌های بعدی مانند لاپاروتومی تأییدکننده عود بیماری هستند.

CEA در پایش بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال، به‌ویژه در پیگیری درمان و ارزیابی متاستاز، نقش مهمی دارد. همچنین در پایش کارسینومای پستان، ریه، معده و پانکراس مفید است. در سرطان پستان، افزایش CEA معمولاً با بیماری متاستاتیک مرتبط است، نه با سرطان اولیه یا موضعی. در سرطان ریه، CEA در بیش از ۶۵٪ بیماران مبتلا به کارسینوم غیرکوچک سلولی افزایش می‌یابد و در پایش بیماری کمک‌کننده است. با این حال، در سرطان پستان، مارکرهاى اختصاصی‌تر مانند CA15-3 جایگزین CEA شده‌اند.

۵-۲-۶-۲. سیتوکراتین‌ها

سیتوکراتین‌ها گروهی از ۲۰ پروتئین هستند که فیلامنت‌های حدواسط اسکلت سلولی را در سلول‌های اپیتلیال و منشأ اپیتلیال تشکیل می‌دهند. این پروتئین‌ها به دو دسته اسیدی (نوع اول) و بزرگ‌تر (نوع دوم) تقسیم می‌شوند. در این خانواده، مارک‌هایی مانند آنتی‌ژن پلی‌پپتید بافتی، آنتی‌ژن اختصاصی پلی‌پپتید بافتی، قطعات سیتوکراتین ۱۹ (CYFRA21-1) و آنتی‌ژن کارسینوم سلول سنگفرشی شناسایی شده‌اند.

۶-۲-۶-۲. آنتی‌ژن پلی‌پپتید بافتی

آنتی‌ژن پلی‌پپتید بافتی^۱ (TPA) یک مارکر غیراختصاصی تومور است که توسط سلول‌های نرمال و سرطانی تولید می‌شود. افزایش سطح TPA در سرم به فعالیت تکثیری و نیمه‌عمر سلول‌ها بستگی دارد، به همین دلیل می‌تواند به عنوان یک مارکر تکثیر مورد استفاده قرار گیرد. TPA در طول بارداری افزایش می‌یابد و ۵ روز پس از زایمان به سطح طبیعی بازمی‌گردد. همچنین در بیماری‌های عفونی نیز بالا می‌رود، بنابراین برای تشخیص سرطان مناسب نیست، اما در پایش بیماری‌های متاستاتیک مفید است. TPA معمولاً در ترکیب با

1. Tissue polypeptide antigen

CEA و CA15-3 برای پایش سرطان پستان، با CEA و CA19-9 برای سرطان کولورکتال، و با CA125 برای سرطان تخمدان استفاده می‌شود. همچنین TPA در تمایز کلانژیوکارسینوما (که در آن سطح TPA بالا می‌رود) از هپاتوسلولار کارسینوما (که در آن TPA افزایش نمی‌یابد) کاربرد دارد.

۷-۲-۶-۲. آنتی‌ژن اختصاصی پلی‌پپتید بافتی

آنتی‌ژن اختصاصی پلی‌پپتید بافتی (TPS^۱) یک اپی‌توپ آنتی‌ژنیک واقع بر کمپلکس TPA است که به‌طور اختصاصی توسط آنتی‌بادی مونوکلونال M3 شناسایی می‌شود. این اپی‌توپ به‌عنوان نشانگری برای تکثیر سلولی پیشنهاد شده و با استفاده از روش رادیوایمونواسی در سرم قابل تشخیص است. به‌نظر می‌رسد TPS با فعالیت تکثیری تومورهای ریه، مستقل از نوع بافت‌شناسی یا اندازه تومور، مرتبط باشد و افزایش غلظت TPS با پیشرفت مراحل بیماری هم‌خوانی دارد. همچنین، افزایش TPS با پیش‌آگهی نامطلوب بیماری ارتباط دارد.

۸-۲-۶-۲. قطعات سیتوکراتین ۱۹ (CYFRA21-1)

CYFRA21-1 در انواع سرطان ریه افزایش می‌یابد، اما در سرطان ریه غیرسلول کوچک (NSCLC یا Non-Small Cell Lung Cancer) و کارسینوم سلول سنگفرشی حساسیت بیشتری دارد. غلظت CYFRA21-1 با پیشرفت مرحله بیماری رابطه مثبت دارد و در پایش روند بیماری و پیگیری پس از جراحی کاربرد دارد. در یک مطالعه، CYFRA21-1 در بیماران مبتلا به NSCLC به‌طور مستقل با کاهش بقا، درگیری گره‌های لنفاوی و مرحله تومور مرتبط بوده و نقش آن به‌عنوان یک مارکر توموری تأیید شده است.

سابفرکشن‌های کارسینوم سلول سنگفرشی با استفاده از روش ایزوالکتریک فوکوسینگ به بخش‌های خنثی و اسیدی تقسیم می‌شوند. سلول‌های سنگفرشی بدخیم و غیربدخیم حاوی فرکشن خنثی هستند، درحالی‌که فرکشن‌های اسیدی عمدتاً در سلول‌های بدخیم یافت شده و به‌صورت آزاد در جریان خون رها می‌شوند.

۹-۲-۶-۲. آنتی‌ژن کارسینومای سلول سنگفرشی

آنتی‌ژن کارسینومای سلول سنگفرشی^۲ (SCCA) یک گلیکوپروتئین است که در گذشته

1. Tissue polypeptide antigen

2. Squamous cell carcinoma antigen

به عنوان آنتی ژن ۴ شناخته می شود و در انواع کارسینومای سلول سنگفرشی از جمله سرطان های ریه، گردن رحم، پوست، سر و گردن، دستگاه گوارش، تخمدان و دستگاه ادراری- تناسلی افزایش می یابد. معمولاً غلظت SCCA با پیشرفت مراحل سرطان متناسب است، اما به دلیل افزایش محدود در مراحل اولیه، برای غربالگری مناسب نیست. مقادیر بالای SCCA پیش از درمان با پیش آگهی ضعیف مرتبط است. SCCA در تشخیص عود بیماری، پیش درمان و ارزیابی پیشرفت بیماری مفید است.

در زنان سالم و غیرباردار، سطح SCCA کمتر از ۱٫۵ میکروگرم بر لیتر است. این مارکر ممکن است در شرایط خوش خیم مانند عفونت های ریه، بیماری های پوستی، نارسایی کلیه یا بیماری های کبدی افزایش یابد. SCCA همچنین در بزاق، عرق و ترشحات تنفسی یافت می شود، بنابراین پرسنل آزمایشگاه باید هنگام آنالیز از ماسک استفاده کنند.

۳-۶-۲. مارکرهای کربوهیدراتی

مارکرهای کربوهیدراتی، آنتی ژن هایی هستند که روی سطح سلول های توموری یا توسط این سلول ها ترشح می شوند. این مارکرها از نظر بالینی به عنوان نشانگرهای توموری مفید بوده و نسبت به مارکرهای مترشح خنثی (مانند آنزیم ها و هورمون ها) اختصاصی تر هستند. از نظر بیوشیمیایی، این مارکرها شامل موسین های با وزن مولکولی بالا یا آنتی ژن های گروه خونی هستند. سنجش های CA15-3، CA549 و CA27-29 قادر به شناسایی موسین های با وزن مولکولی بالا (معروف به اپی سیالین) هستند که توسط اپی تلیوم پستانی بیان می شوند. اپی سیالین در جریان خون به صورت مولکولی هتروژن ظاهر می شود. سنجش های CA15-3 و CA27-29 اپی سیالین های مشابه اما با اپی توپ های متفاوت را تشخیص می دهند، و تفاوت اصلی آن ها در آنتی بادی های مورد استفاده است (جدول ۳-۲).

۱-۳-۶-۲. CA15-3

CA15-3 توسط آنتی بادی مونوکلونال موشی DF3 (تولید شده علیه عصاره غشای سرطان سینه متاستاتیک به کبد) و آنتی بادی D8/۱۱۵ (تولید شده علیه غشای گلبول چربی شیر)^۱ شناسایی می شود. این آنتی ژن در جریان خون به صورت مولکولی هتروژن با وزن مولکولی ۳۰۰ تا ۴۵۰ کیلودالتون ظاهر می شود. کلونینگ DNA نشان داده که هسته پپتیدی DF3

شامل توالی‌های تکراری ۶۰ جفت‌بازی با مناطق حفاظت‌شده است. تنوع آنتی‌ژن به دلیل تعداد متفاوت تکرارها در هسته پپتیدی است. آنتی‌بادی DF3 اپی‌توپی در توالی ۲۰ اسیدآمینه‌ای تکراری هسته پپتیدی را شناسایی می‌کند که تحت‌تأثیر گلیکوزیلاسیون نیز قرار می‌گیرد.

کاربردهای بالینی CA15-3

CA15-3 در بررسی سرطان سینه مفید است و در حدود ۶۹ درصد موارد پیشرفته بیماری افزایش می‌یابد. این مارکر برای غربالگری مناسب نیست، زیرا در شرایط خوش‌خیم مانند تومورهای خوش‌خیم تخمدان، بیماری‌های خوش‌خیم سینه، هپاتیت مزمن، سیروز، سارکوئیدوز، سل، بیماری‌های پوستی و هیپوتیروئیدیسم نیز ممکن است افزایش یابد. همچنین، CA15-3 در بدخیمی‌های دیگر مانند سرطان پانکراس، ریه، تخمدان، کولورکتال و کبد افزایش می‌یابد.

CA15-3 برای تشخیص زودهنگام سرطان سینه مناسب نیست، زیرا حساسیت آن در مراحل اولیه پایین است. با این حال، در پایش درمان و پیشرفت بیماری در بیماران با سرطان سینه متاستاتیک مفید است. تغییرات حداقل ۲۵ درصدی در غلظت CA15-3 با پیشرفت بیماری در ۹۰ درصد بیماران و عود بیماری در ۷۸ درصد بیماران مرتبط است. در ۶۰ درصد بیماران با بیماری پایدار، تغییری در غلظت مشاهده نمی‌شود.

جدول ۳-۲. تومور مارکرهای موسینی

نام	آنتی ژن و منبع	آنتی بادی	نوع سرطان
CA125	گلیکوپروتئین، ۲۰۰ kDa, OVCA433	ODC125	تخمدان، رحم
اپی سیالین	گلیکوپروتئین، ۴۰۰ kDa	DF3, 115D8	سینه، تخمدان
CA15-3	غشای غنی از BrCa		
CA549	گلیکوپروتئین با وزن مولکولی بالا	BC4E549, BC4N154	سینه، تخمدان
CA27.29	گلیکوپروتئین با وزن مولکولی بالا	B27.29	سینه
MCA	گلیکوپروتئین ۳۰۰ کیلودالتونی	b-12	سینه، تخمدان
DU-PAN-2	موسین، اپی توپ پپتیدی ۱۰۰۰ کیلو دالتونی	DU-PAN-2	پانکراس، تخمدان، گوارش، ریه

افزایش متناقض CA15-3 ممکن است در بیمارانی که به درمان پاسخ می‌دهند رخ دهد، احتمالاً به دلیل لیز تومور و آزادسازی CA15-3. بنابراین، تفسیر نتایج CA15-3 در مراحل اولیه درمان باید با احتیاط انجام شود. کاربرد اصلی CA15-3 در پیگیری بیماران درمان‌شده با سرطان سینه بدون شواهد بیماری است. افزایش غلظت CA15-3 در طی پیگیری می‌تواند عود بیماری، به‌ویژه در احشا یا استخوان، را نشان دهد. دوره کمون عود از ۱ تا ۱۱ ماه متغیر است.

۲-۳-۲. CA27-29

CA27-29 توسط آنتی‌بادی مونوکلونال B27-29 شناسایی می‌شود که علیه توالی هشت اسیدآمینهای (SAPDTRPA) در توالی تکراری ۲۰ اسیدآمینهای هسته موسینی واکنش می‌دهد. این توالی با توالی DF3 در سنجش CA15-3 هم‌پوشانی دارد.

کاربردهای بالینی CA27-29

CA27-29 برای تشخیص عود سرطان سینه در مراحل ۲ و ۳ توسط FDA تأیید شده است. این مارکر اطلاعاتی مشابه CA15-3 ارائه می‌دهد، اما به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار نگرفته است. CA27-29 با روش‌های ایمنونواسی رقابتی فاز جامد یا الایزا ارزیابی می‌شود.

۲-۳-۳. CA549

CA549 یک گلیکوپروتئین اسیدی با نقطه ایزوالکتریک ۵٫۲ است. در الکتروفورز ژل، به دو نوع با وزن مولکولی ۴۰۰ و ۵۱۲ کیلودالتون تفکیک می‌شود. آنتی‌بادی مونوکلونال BC4E549 علیه غشاهای توموری و BC4N154 علیه غشاهای گلبول چربی شیر تولید شده‌اند.

۲-۳-۴. CA125

CA125 مؤثرترین مارکر برای سرطان تخمدان است. حد بالای تشخیصی در جمعیت سالم ۳۵ واحد بر لیتر است. CA125 در کارسینوماهای غیرتخمدانی مانند تومورهای اندومتریال، پانکراس، ریه، سینه، کولورکتال و گوارشی و همچنین در شرایط خوش‌خیم مانند سیروز، هیپاتیت، اندومتریوز و پریکاردیت افزایش می‌یابد. این مارکر برای غربالگری سرطان تخمدان در جمعیت بدون علامت مناسب نیست، زیرا ویژگی پایینی دارد و نمی‌تواند بدخیمی‌های تخمدانی را از سایر بدخیمی‌ها متمایز کند.

در سرطان تخمدان، CA125 در ۵۰ درصد بیماران مرحله I، ۹۰ درصد مرحله II و بیش از ۹۰ درصد مراحل III و IV افزایش می‌یابد. غلظت CA125 به اندازه تومور و مرحله بیماری بستگی دارد و در تمایز توده‌های خوش‌خیم از بدخیم تخمدان مفید است. مطالعه‌ای نشان داد که با حد تشخیصی ۳۵ واحد بر لیتر، حساسیت، ویژگی و ارزش پیش‌بینی مثبت و منفی برای بدخیمی به ترتیب ۷۸، ۹۵، ۸۲ و ۹۱ درصد است.

CA125 برای پیش‌آگهی نیز کاربرد دارد. غلظت کمتر از ۶۵ واحد بر لیتر پیش از جراحی، بقای پنج‌ساله بهتری را پیش‌بینی می‌کند. نیمه‌عمر CA125 (حدود ۴٫۸ روز) و نرخ کاهش آن پس از جراحی یا شیمی‌درمانی نیز معیارهای پیش‌بینی بقا هستند. بیماران با نیمه‌عمر طولانی‌تر (۲۲ روز) نسبت به نیمه‌عمر کوتاه‌تر (۹ روز) پاسخ ضعیف‌تری به درمان نشان می‌دهند.

CA125 در تشخیص عود بیماری پس از درمان اولیه نیز مؤثر است، با حساسیت ۵۰ درصد و ویژگی ۹۶ درصد. کاهش ده برابری غلظت CA125 پس از اولین دوره شیمی‌درمانی نشان‌دهنده بهبودی است، درحالی‌که افزایش پایدار پس از سه دوره شیمی‌درمانی پیش‌آگهی ضعیفی را نشان می‌دهد. CA125 در ۷۵ درصد موارد عود متاستاتیک را به‌درستی تشخیص می‌دهد، و زمان بین افزایش CA125 و عود بالینی حدود ۳ تا ۴ ماه است.

۵-۳-۶-۲. آنتی‌ژن‌های گروه خونی

آنتی‌ژن‌های کربوهیدراتی گروه خونی شامل CA19-9، CA72-4 و CA242 هستند که به‌عنوان مارکرهای توموری استفاده می‌شوند (جدول ۴-۲).

جدول ۴-۲. مارکرهای سرطانی وابسته به آنتی‌ژن‌های گروه خونی

نام	آنتی‌ژن و منبع	آنتی‌بادی	نوع سرطان
CA19-9	Le^{xa} سیالیله شده، SW-1116 colon CA	19-9	پانکراس، گوارش-کبد
CA19-5	Le^{ag} و Le^a سیالیله شده	19-5	گوارشی، پانکراس، تخمدان
CA50	Le^a سیالیله شده و شکل آفوکوزیل	C50	پانکراس، گوارش، کولون
CA72-4	Tn سیالیله شده	B72.3, CC49	تخمدان، سینه، گوارش، کولون
CA242	CHO سیالیله شده	C242	گوارشی، پانکراسی

۱-۵-۳-۲. CA19-9

CA19-9 مارکر کارسینومای کولورکتال و پانکراس است و به صورت گلیکولیپید کربوهیدراتی (لاکتو-N-فوکوپنتوز II سیالیده) ظاهر می شود. این آنتی ژن توسط سلول های پانکراس، مجاری صفراوی، معده، کولون، اندومتریال و بزاق سنتز می شود. در سرم، CA19-9 به صورت کمپلکس گلیکوپروتئینی با وزن مولکولی ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ کیلودالتون وجود دارد. افراد با ژنوتیپ Le(a-b-) (حدود ۵ درصد) CA19-9 را بیان نمی کنند.

کاربردهای بالینی CA19-9

CA19-9 برای پایش بیماران با سرطان پانکراس با غلظت های بالای CA19-9 تأیید شده است. غلظت های بالاتر از ۳۷ واحد بر لیتر می توانند سرطان پانکراس را از بیماری های خوش خیم پانکراس متمایز کنند. حساسیت و ویژگی آن به ترتیب ۶۹ تا ۹۳ درصد و ۷۶ تا ۹۹ درصد گزارش شده است. CA19-9 در سرطان های پانکراس (۸۰ درصد)، کبدی-صفراوی (۶۷ درصد)، معده (۴۰-۵۰ درصد)، هپاتوسلولار (۳۰-۵۰ درصد)، کولورکتال (۳۰ درصد) و سینه (۱۵ درصد) افزایش می یابد. همچنین، در ۱۰ تا ۲۰ درصد بیماران با پانکراتیت یا بیماری های گوارشی خوش خیم، غلظت های بالاتر از ۱۲۰ واحد بر لیتر مشاهده می شود.

غلظت CA19-9 با مرحله سرطان پانکراس مرتبط است. با حد تشخیصی ۳۷ واحد بر لیتر، در ۶۷ درصد بیماران با تومورهای قابل جراحی و ۸۷ درصد با تومورهای غیرقابل جراحی افزایش می یابد. با حد تشخیصی ۱۰۰۰ واحد بر لیتر، ۳۵ درصد بیماران با تومورهای غیرقابل جراحی و تنها ۵ درصد با تومورهای قابل جراحی افزایش نشان می دهند. CA19-9 برای پیش آگهی و تشخیص عود زود هنگام (۱ تا ۷ ماه پیش از یافته های بالینی) مفید است، اما به دلیل نبود درمان مؤثر برای سرطان پانکراس، در تشخیص اولیه عود محدودیت دارد.

۲-۵-۳-۲. CA72-4

CA72-4 مارکر کارسینوماهای گوارشی و تخمدان است. آنتی بادی مونوکلونال B72-3 علیه غشاهای غنی از کارسینومای سینه متاستاتیک به کبد تولید شده است. با حد تشخیصی ۴ واحد بر لیتر، افزایش در ۳،۵ درصد افراد سالم، ۶،۷ درصد بیماری های گوارشی خوش خیم، ۴۰ درصد کارسینومای گوارشی، ۳۶ درصد سرطان ریه و ۲۴ درصد سرطان تخمدان مشاهده می شود. رابطه ضعیفی بین غلظت های CEA و CA72-4 در سرطان معده وجود دارد، اما این

دو مارکر ممکن است مکمل باشند. کلیرانس CA72-4 پس از جراحی حدود ۳،۳ روز طول می‌کشد تا به ۴ واحد بر لیتر کاهش یابد، که نشان‌دهنده کاربرد آن در تشخیص تومور باقی‌مانده است. CA72-4 با سنجش ایمونورادیومتریک (IRMA) و با استفاده از دو آنتی‌بادی مونوکلونال (B72-3 کونژوگه و CC49 گیرنده) اندازه‌گیری می‌شود.

۳-۵-۳-۶-۲. CA242

CA242 مارکر سرطان پانکراس و کولورکتال است و با آنتی‌بادی مونوکلونال تولیدشده علیه رده سلولی کارسینومای کولورکتال (COLO 205) شناسایی می‌شود. این آنتی‌ژن توسط کربوهیدرات سیالیه تعریف شده و اپی‌توپ‌هایی از CA50 و CA19-9 را نیز تشخیص می‌دهد. CA242 در سلول‌های اپیتلیال پانکراس و کولون یافت می‌شود.

با حد تشخیصی ۲۰ واحد بر لیتر، افزایش CA242 در ۵ تا ۳۳ درصد بیماران با بیماری‌های خوش‌خیم پانکراسی، کبدی، معده‌ای و کولونی، ۶۸ تا ۷۹ درصد بیماران با سرطان پانکراس، ۵۵ تا ۸۵ درصد با سرطان کولورکتال و ۴۴ درصد با سرطان معده مشاهده می‌شود. ضرایب همبستگی CA242 با CA50 و CA19-9 بین ۸۱ تا ۹۵ درصد متغیر است. CA242 نسبت به CA19-9 و CA50 تأثیر کمتری در تشخیص سرطان پانکراس دارد، اما این ممکن است به حد تشخیصی بستگی داشته باشد.

۴-۶-۲. پروتئین‌ها

پروتئین‌های متعددی به‌عنوان مارکر توموری در جدول ۵-۲ لیست شده‌اند، شامل پروتئین‌هایی که آنزیم یا هورمون نبوده و محتوای کربوهیدراتی بالایی ندارند. مطالعات بیشتری برای ارزیابی تأثیر بالینی این مارکرها موردنیاز است.

۱-۴-۶-۲. ایمونوگلوبولین‌ها

ایمونوگلوبولین‌های مونوکلونال بیش از ۱۰۰ سال است که به‌عنوان مارکر مولتیپل میلوما استفاده می‌شوند. پاراپروتئین‌های مونوکلونال به‌صورت باندهای واضح در ناحیه گلوبولین در الکتروفورز ظاهر می‌شوند. بیش از ۹۵ درصد بیماران مولتیپل میلوما این الگو را دارند. ایمونوگلوبولین‌های مونوکلونال غیربدخیم با افزایش سن شایع‌تر شده و در افراد بالای ۷۵ سال به ۵ درصد می‌رسد. این باندهای غیربدخیم معمولاً غلظت کمتری نسبت به باندهای بدخیم

دارند و به پروتئین‌های بنس‌جونز مرتبط نیستند. گاموپاتی مونوکلونال با اهمیت نامشخص (MGUS^۱) برای این ایمونوگلوبولین‌ها استفاده می‌شود. پروتئین بنس‌جونز، زنجیره سبک ایمونوگلوبولین مونوکلونال در ادرار است. غلظت ایمونوگلوبولین مونوکلونال در تشخیص اولیه، شاخصی برای پیش‌آگهی و پیشرفت بیماری است. در طول درمان، اندازه‌گیری زنجیره‌های سبک آزاد سرمی یا پروتئین بنس‌جونز ادراری موفقیت درمان را نشان می‌دهد. غلظت‌های پایین‌تر با پیامدهای بهتر مرتبط است.

۲-۴-۶. پروتئین‌های S100

پروتئین‌های S100 گروهی از پروتئین‌های اتصال‌دهنده کلسیم هستند که نقش فیزیولوژیکی آن‌ها نامشخص است. S100A4 با پیشرفت سرطان‌های سینه، کارسینومای سنگفرشی نای و سرطان‌های معده مرتبط است و به‌عنوان مارکر مستقل در آنالیزهای چنگانه تأیید شده است. عدم بیان در بافت نرمال و بیان در بافت سرطانی، S100A4 را کاندیدای مناسبی برای استفاده در بافت‌شناسی می‌کند.

جدول ۲-۵. تومور مارکرهای پروتئینی

نام	طبیعت	نوع سرطان
β_2 -میکروگلوبولین	۱۱KDa	مولتیپل میلوما، لوسمی حاد لنفوسیتی، ماکروگلوبولینمیای والدستروم
پپتید C	۳/۶KDa	انسولینما
فریتین	پروتئینی متصل شونده به آهن ۴۵۰ کیلودالتونی	کبد، ریه، سینه، لوسمی
ایمونوگلوبولین	۱۶۰-۱۹۰KDa، ۱۲-۳٪ دارای CHO	مولتیپل میلوما، لنفوما
آنتی ژن همراه با ملانوما	۹۰-۲۴۰KDa	ملانوما
آنتی ژن همراه با پانکراس	۱۰۰KDa، دارای ۲۵٪ CHO	پانکراس، معده
پروتئین ویژه حاملگی	۱۰KDa، دارای ۳۰٪ CHO	ترفوبلاست، سلول زایا
پیش ساز پروترومبین	کربوکسی پروترومبین-Des-r	هیپاتوسلولار
مهارگر تریپسین همراه با تومور	پلی پپتید ۶ کیلودالتونی	ریه، گوارش، تخمدان

S100B به عنوان مارکر بافت‌شناسی برای متاستازهای ملانوما و میلوما استفاده می‌شود. در غیاب ملانوما، غلظت‌های سرمی S100B معمولاً غیرقابل تشخیص است، اما در بیماری عودکننده افزایش می‌یابد. با سنجش ایمونواسی (LIA-mat Sangtec100)، حد تشخیصی ۰,۱۲ میکروگرم بر لیتر حساسیت ۲۹ درصد و ویژگی ۹۳ درصد دارد. S100B نسبت به LD یا ALP حساس‌تر و اختصاصی‌تر بوده و می‌تواند عود را در مراحل اولیه تشخیص دهد.

۳-۴-۶-۲. تیروگلوبولین

تیروگلوبولین^۱ (Tg) توسط غده تیروئید به عنوان پیش‌ساز هورمون‌های تیروئیدی سنتز می‌شود. کاربرد اصلی Tg، پایش بیماران با سرطان تیروئید تمایز یافته است. حدود دوسوم این بیماران پیش از جراحی Tg افزایش یافته دارند. غلظت بالای Tg پیش از جراحی، توانایی تومور برای ترشح Tg را تأیید کرده و پایش Tg را برای تشخیص عود معتبر می‌کند. پس از جراحی، تحریک با TSH برای تشخیص تومور باقی‌مانده یا متاستاز مفید است. در تومورهای تمایز یافته، تحریک TSH می‌تواند غلظت Tg را تا ۱۰ برابر افزایش دهد، اما تومورهای با تمایز ضعیف پاسخ ضعیفی نشان می‌دهند. پایش Tg در بیمارانی که پیش از جراحی Tg بالا ندارند، معمولاً مفید نیست. آنتی‌بادی‌های ضد تیروگلوبولین می‌توانند برای پایش بیماری باقی‌مانده یا عود استفاده شوند. افزایش آنتی‌بادی‌های ضد Tg ممکن است نشان‌دهنده عود تومور باشد و به عنوان شاخصی مستقل برای پایش آگهی پیشنهاد شده است.

۴-۴-۶-۲. کروموگرانین‌ها^۲

کروموگرانین‌ها پروتئین‌های موجود در گرانول‌های ترشحی سلول‌های نورواندوکراین هستند و شامل کروموگرانین A (CgA)، B (CgB) و سکر توگرانین‌ها می‌شوند. این پروتئین‌ها در سلول‌های نورواندوکراین در سراسر بدن یافت شده و ممکن است در تنظیم گرانول‌های ترشحی نقش داشته باشند. CgA به‌طور گسترده توسط بافت‌های نورواندوکراین ترشح شده و همراه با هورمون‌های پتیدی و نوروپپتیدها آزاد می‌شود، که آن را به عنوان مارکر پلاسمایی و بافت‌شناسی تومورهای نورواندوکراین مناسب می‌کند.

1. Thyroglobulin
2. Chromogranins

کاربردهای بالینی کروموگرائین‌ها

CgA و CgB در تشخیص تومورهای نورواندوکراین مانند کارسینوئید، فتوکروموسیتوما و نوروبلاستوما مفید هستند. CgA معمولاً بیشتر تولید می‌شود، اما در برخی موارد CgB مثبت و CgA منفی است، بنابراین اندازه‌گیری هر دو توصیه می‌شود. CgA همراه با متابولیت سروتونین (5-HIAA) برای تشخیص تومورهای کارسینوئیدی روده و معده اختصاصی است و در تومورهای غیرعملکردی روده که سروتونین ترشح نمی‌کنند، مارکر ترجیحی است. برای فتوکروموسیتوما، CgA به‌اندازه کاتکولامین‌های پلاسمایی یا متانفرین‌های ادراری حساس و اختصاصی است.

۵-۶-۲. گیرنده‌ها و سایر مارکرهاي توموری

مارکرهاي توموری دیگر شامل کاتکولامین‌ها، پلی‌آمین‌ها، اسید سیالیک متصل به لیپید و گیرنده‌ها هستند که با موفقیت‌های متفاوتی در کاربردهای بالینی استفاده شده‌اند. گیرنده‌ها از موفق‌ترین این مارکرها هستند.

۱-۵-۶-۲. گیرنده‌های استروژن و پروژسترون

گیرنده‌های استروژن (ER^2) و پروژسترون (PR^3) در سرطان سینه برای انتخاب درمان هورمونی استفاده می‌شوند. بیماران با ER/PR مثبت به درمان‌های هورمونی پاسخ داده و بیماران با گیرنده‌های منفی به شیمی‌درمانی بهتر پاسخ می‌دهند. ER/PR مثبت همچنین با پیش‌آگهی بهتر مرتبط است.

بیوشیمی گیرنده‌ها

ER و PR گیرنده‌های هورمونی استروئیدی هسته‌ای هستند که رونویسی را فعال می‌کنند. ER شامل $\text{ER}\alpha$ و $\text{ER}\beta$ و PR شامل PR-A و PR-B است. این گیرنده‌ها در بافت‌هایی مانند رحم، هیپوفیز، هیپوتالاموس و سینه یافت شده و در تکامل و پیشرفت تومور نقش دارند.

1. 5-Hydroxyindoleacetic acid

2. Estrogen receptors

3. Progesterone receptors

کاربردهای بالینی گیرنده‌ها

اندازه‌گیری ER در سرطان سینه برای پیش‌آگهی و تعیین احتمال پاسخ به درمان هورمونی مفید است. حدود ۶۰ درصد بیماران با کارسینومای سینه ER مثبت هستند و احتمال پاسخ به درمان‌های هورمونی (مانند تاموکسیفن) در آن‌ها ۷ تا ۸ برابر بیشتر است. انستیتو ملی سرطان آمریکا^۱ توصیه می‌کند تمام بیماران با ER مثبت، صرف‌نظر از سن، وضعیت یائسگی یا اندازه تومور، تحت درمان هورمونی قرار گیرند. ۹۵ درصد بیماران با ER منفی به درمان هورمونی پاسخ نمی‌دهند. ER مثبت پیش‌آگهی بهتری برای ۵ سال اول دارد، اما پس از آن، تومورهای ER منفی پیش‌آگهی بهتری نشان می‌دهند.

نتایج منفی کاذب در سنجش ER ممکن است به دلیل چندشکلی تومور یا نقص‌های گیرنده‌ای رخ دهد. سنجش PR مکمل ER است، زیرا سنتز PR به عملکرد استروژن بستگی دارد. بیماران با ER/PR مثبت نرخ پاسخ ۷۵ درصدی به درمان هورمونی دارند، درحالی‌که بیماران با ER مثبت/PR منفی نرخ ۴۰ درصد و ER/PR منفی کمتر از ۵ درصد پاسخ می‌دهند. درصد نمونه‌های ER/PR مثبت در زنان یائسه بیشتر است.

۲-۵-۶-۲. گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی

گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی^۲ (EGFR) عضوی از خانواده گیرنده‌های تیروزین کینازی است. لیگاندهای طبیعی آن شامل فاکتور رشد اپیدرمی (EGF^۳) و فاکتور رشد تبدیل‌کننده آلفا (TGF- α ^۴) هستند. در بافت‌های سرطانی، این فاکتورهای رشد می‌توانند از طریق مکانیسم‌های پاراکرینی یا اتوکرینی، تکثیر سلولی را تحریک کنند. بررسی بیش از ۲۰۰ مطالعه انجام‌شده بین سال‌های ۱۹۸۵ تا ۲۰۰۰ نشان داده که افزایش بیان EGFR در انواع سرطان‌ها با ارزش پیش‌آگهی همراه است.

EGFR به‌عنوان یک مارکر پیش‌آگهی قوی در سرطان‌های سر و گردن، تخمدان، سرویکس، بیضه و حنجره شناخته می‌شود. در ۷۰ درصد مطالعات، بیماران با سطوح بالای EGFR بقای کمتری دارند. در سرطان‌های پستان، کولورکتال، معده و روده کوچک، EGFR به‌عنوان مارکر

1. National Cancer Institute

2. Epidermal growth factor receptor

3. Epidermal growth factor

4. Transforming growth factor alpha

پیش‌آگهی متوسط عمل می‌کند، به‌طوری‌که در ۵۲ درصد مطالعات، افزایش EGFR با کاهش بقا مرتبط بوده است. نقش EGFR در پیشرفت تومورها، آن را به هدفی بالقوه برای درمان تبدیل کرده است. ترکیباتی طراحی شده‌اند که با مسدود کردن اتصال لیگاند یا مهار فعالیت تیروزین کینازی، سیگنال دهی EGFR را مختل می‌کنند.

۲-۶-۶. مارکهای ژنتیکی

رشد سرطانی یک ویژگی قابل انتقال در سلول‌هاست که از تغییرات ژنتیکی ناشی می‌شود. تبدیل سلول از حالت نرمال به سرطانی و متاستاتیک نیازمند چندین تغییر ژنتیکی است. ارزیابی تغییرات کروموزومی می‌تواند کمبودهای مارکهای بیوشیمیایی سری را در تشخیص خطر سرطان و غربالگری جبران کند. دو گروه اصلی ژن‌ها در سرطان‌زایی نقش دارند: انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌کننده تومور.

انکوژن‌ها از پروتئانکوژن‌ها مشتق شده و ممکن است از طریق موتاسیون‌های غالب (مانند موتاسیون‌های نقطه‌ای، افزودن، حذف، جابه‌جایی یا وارونگی) فعال شوند. پروتئانکوژن‌ها اغلب پروتئین‌هایی را کد می‌کنند که در مراحل چرخه سلولی دخیل هستند. انکوژن‌ها بیشتر در بدخیمی‌های خونی مانند لوسمی و به‌میزان کمتر در تومورهای جامد دیده می‌شوند. ژن‌های سرکوب‌کننده تومور، عمدتاً در تومورهای جامد یافت شده و سرطان‌زایی آن‌ها به دلیل از دست دادن عملکردشان است، نه فعال‌سازی. حذف یا مونوزومی می‌تواند منجر به فقدان این ژن‌ها شود. مهم‌ترین ژن سرکوب‌کننده تومور، p53 است که در ترمیم DNA و القاء آپوپتوز نقش دارد. این ژن با فعال‌سازی p21، چرخه سلولی را در انتهای فاز G1 متوقف کرده و امکان ترمیم DNA را فراهم می‌کند. از دست دادن عملکرد p53 از طریق حذف یا موتاسیون، توانایی ترمیم DNA را مختل کرده و به تومورزایی منجر می‌شود.

پیش‌بینی می‌شود که دانش توالی ژنوم انسانی و شناسایی ژن‌ها، امکان تشخیص ژن‌های معیوب در سرطان‌ها و نقش موتاسیون‌ها و بازآرایی‌های آن‌ها را فراهم کند. شناسایی پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی^۱ (SNP) و تفاوت‌های ژنتیکی بین افراد می‌تواند مدل‌هایی برای پیش‌بینی استعداد ابتلا به سرطان ایجاد کرده و راهکارهایی مانند نظارت، اجتناب از مواد شیمیایی سرطان‌زا، و اصلاح سبک زندگی و تغذیه را تسهیل کند.

1. Single nucleotide polymorphisms

۱-۶-۶-۲. انکوژن‌ها

پروتوانکوژن‌ها ژن‌های طبیعی سلول هستند که فعال‌سازی آن‌ها با سرطان مرتبط است. این ژن‌ها پروتئین‌هایی را کد می‌کنند که در مسیرهای پیام‌رسانی، مانند فاکتورهای رشد و تقسیم سلولی، نقش دارند. افزایش بیان انکوژن‌ها به رشد غیرطبیعی سلول‌ها و در نهایت بدخیمی منجر می‌شود. تاکنون بیش از ۴۰ پروتوانکوژن شناسایی شده، اما تعداد محدودی به‌عنوان مارکر توموری مناسب هستند.

۱-۶-۶-۲. ژن‌های Ras

ژن‌های Ras ابتدا به‌عنوان عوامل تومورزایی در $H-ras^1$ و $K-ras^2$ شناخته شدند که در حیوانات تومور ایجاد می‌کردند و شواهدی از نقش اجزای سلولی انسانی در سرطان‌های انسانی ارائه دادند. پروتئین‌های کدشده توسط ژن‌های Ras در سطح داخلی غشای پلاسمایی قرار دارند، به نوکلئوتیدهای گوانینی متصل می‌شوند و به‌عنوان سوئیچ پیام‌رسانی میتوزی از فاکتورهای رشد به هسته عمل می‌کنند. این پروتئین‌ها همراه با گیرنده‌های تیروزین کینازی فعال شده و برای تکثیر یا تمایز سلول‌ها ضروری هستند.

ژن $N-ras$ روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱ قرار دارد و جهش آن در نروبلاستوما و لوسمی حاد میلوئیدی نقش دارد. جهش‌های $K-ras$ در ۹۵ درصد سرطان‌های پانکراس، ۴۰ درصد سرطان‌های کولون، ۳۰ درصد سرطان‌های مثانه و ریه و به‌میزان کمتری در سایر تومورها یافت می‌شوند. موتاسیون نقطه‌ای در کدون ۱۲ $K-ras$ (تغییر گلیسین به والین در پروتئین p21) در بسیاری از سرطان‌ها شایع است. جهش‌های $K-ras$ با پیش‌آگهی ضعیف و بقای کوتاه‌تر در آدنوکارسینومای ریه و کارسینومای اندومتريوم مرتبط هستند.

با این حال، کاربرد عملی جهش‌های فعال Ras در پیش‌آگهی محدود است. Ras فعال با شناسایی پروتئین p21 (فرآورده ژن Ras) در بافت‌های سرطانی به روش ایمونوهیستوشیمی تشخیص داده می‌شود. این پروتئین نه تنها در ۴۰ درصد سرطان‌های کولون، بلکه در پولیپ‌های پیش‌سرطانی کولون نیز مشاهده شده است. شدت رنگ‌آمیزی p21-ras می‌تواند بدخیمی را از بافت‌های نرمال یا ضایعات خوش‌خیم پستان، پانکراس، ریه و تیروئید متمایز

1. Harvey Rat sarcoma virus
2. Kirsten rat sarcoma virus

کند، اما بیان آن به مرحله یا درجه تومور بستگی دارد. p21-ras ممکن است در برخی بافت‌های نرمال نیز دیده شود و برخی مطالعات تفاوت معنی‌داری بین تومورهای خوش‌خیم و بدخیم نشان نداده‌اند. بنابراین، استفاده از p21 به‌عنوان مارکر توموری در بافت یا سرم رایج نیست.

۲-۱-۶-۲. ژن c-myc

ژن c-myc یک پروتئینکوژن مشتق از ویروس میلوپوسایتوما می‌باشد که به DNA متصل شده و رونویسی را تنظیم می‌کند. پروتئین p62 (فرآورده این ژن) در هسته سلول‌های تغییرشکل‌یافته وجود دارد و سطح بیان c-myc با سرعت تقسیم سلولی مرتبط است. پروتئین c-myc برای همانندسازی DNA ضروری بوده و رونویسی mRNA را افزایش می‌دهد. فعال‌سازی c-myc با لنفوماهای سلول T و B سارکوماها و اندوتلیوماها مرتبط است. در لوسمی‌ها و لنفوماها، افزایش بیان c-myc با تکثیر و جابه‌جایی کروموزومی همراه است. در لوسمی حاد سلول T، جابه‌جایی (q24;q11) ژن (8:14) را فعال کرده و با پیش‌آگهی ضعیف مرتبط است. کاهش بیان c-myc پس از شیمی‌درمانی نشان‌دهنده پاسخ درمانی مطلوب است.

افزایش بیان p62 در ۷۰ تا ۱۰۰ درصد سرطان‌های اولیه پستان با ایمونوهیستوشیمی مشاهده شده و شدت رنگ‌آمیزی با پیشرفت مرحله تومور افزایش می‌یابد. تکثیر در کارسینومای ریه و گلیوما با تهاجم بالینی مرتبط است. در سرطان کولون، بیان c-myc در مقایسه با مخاط نرمال ۵ تا ۴۰ برابر افزایش می‌یابد، اما با پیشرفت بیماری ارتباط ندارد. روابط مشابهی در سرطان‌های سرویکس، معده، کبد و سایر سرطان‌ها گزارش شده است. غلظت سرمی c-myc برای تشخیص سرطان بررسی شده، اما قادر به تمایز بین سرطان و شرایط خوش‌خیم نیست.

۲-۱-۶-۳. ژن HER-2/neu

ژن HER-2/neu یا (c-erbB2) به‌دلیل ارتباط با تومورهای نوروبلاستوما (neu) نام‌گذاری شده است. این ژن پروتئینی غشایی با وزن ۱۸۵ کیلوالتون را کد می‌کند که در سلول‌های اپی‌تلیال بیان شده و به خانواده گیرنده‌های تیروزین کینازی EGF تعلق دارد. این خانواده شامل چهار عضو ErbB1/HER-1، ErbB2/HER-2/neu، ErbB3/HER-3 و ErbB4/HER-4 است. این گیرنده‌ها ساختاری مشابه دارند، شامل دامنه خارج‌سلولی

متصل شونده به لیگاند^۱ (ECD)، دامنه عبوری غشایی و دامنه داخل سلولی با فعالیت تیروزین کینازی. دامنه خارج سلولی (ECD) می تواند توسط متالوپروتئازها برش خورده و به صورت p105 در خون آزاد شود که قابل سنجش است. این گیرنده ها در تکثیر، تمایز و بقای سلولی نقش دارند. HER-2/neu به طور طبیعی در اپی تلیوم ارگان های مانند ریه، مثانه، پانکراس، پستان و پروستات بیان شده و در سلول های سرطانی افزایش می یابد.

کاربردهای بالینی HER-2/neu

افزایش HER-2/neu در سرطان های پستان، تخمدان و گوارشی مشاهده شده است. در سرطان پستان، این افزایش به عنوان مارکر پیش آگهی برای بقای کلی، اندازه تومور و بیان ER/PR مفید است، اما در پیش بینی درگیری گره های لنفاوی در متاستاز کاربرد ندارد. افزایش غلظت سرمی آنتی ژن HER-2/neu با کاهش پاسخ به درمان هورمونی در سرطان پستان مرتبط است. از میان انکوژن های Ras، انکوژن HER-2/neu قوی ترین ارزش پیش آگهی را در سرطان پستان دارد.

غلظت سرمی p105 در سرطان پستان و برخی موارد سرطان تخمدان مفید است. در سرطان پستان، افزایش p105 با پیش آگهی ضعیف و دوره بدون بیماری کوتاه تر مرتبط است. همچنین، افزایش HER-2/neu با تومورهای بزرگ تر، درگیری گره های لنفاوی و درجه بالای تومور ارتباط دارد. غلظت های سرمی HER-2/neu به تنهایی برای پیش آگهی استفاده نمی شوند، اما می توانند در هدایت درمان مفید باشند. نشان داده شده است که درمان هورمونی در بیماران با سرطان ER مثبت و HER-2/neu بالا اثربخشی کمتری دارد. همچنین، تمایل به بهبود با مهارکننده های آروماتاز در بیماران با سطوح بالای HER-2/neu مشاهده شد. غلظت های سرمی HER-2/neu در سرطان پستان عودکننده، زمانی که دسترسی به بافت دشوار است، مفید هستند. درمان با هرسپتین (آنتی بادی مونوکلونال علیه HER-2/neu) تنها برای بیماران با سرطان پستان با تکثیر HER-2/neu تجویز می شود.

در سرطان تخمدان، افزایش p105 با تهاجم تومور، مراحل پیشرفته بالینی و پیامد ضعیف مرتبط است. HER-2/neu به تنهایی یا در ترکیب با CA125 برای تمایز تومورهای خوش خیم و بدخیم تخمدان کافی نیست، اما می تواند در شناسایی زیرگروه های پرخطر مفید باشد.

۴-۱-۶-۲. BCL-2

فرآورده انکوژن BCL-2 یک پروتئین انتگرال غشایی با وزن مولکولی حدود ۲۵ کیلودالتون و متشکل از ۲۳۹ اسید آمینه است که عمدتاً در غشای میتوکندری و به میزان کمتر در سایر غشاهای سلولی یافت می‌شود. این پروتئین به‌عنوان مهارکننده آپوپتوز شناخته شده و در بقای سلول‌های سرطانی نقش مهمی ایفا می‌کند. پروتوانکوژن BCL-2 نخستین بار در لنفوم فولیکولار از طریق جابه‌جایی کروموزومی t(14;18) شناسایی شد که منجر به تشکیل ژن فیوژن BCL-2/IGH می‌شود. در این جابه‌جایی، ژن BCL-2 تحت کنترل پروموتور ژن ایمونوگلوبولین قرار گرفته و در نتیجه، بیان بیش‌ازحد BCL-2 در سلول‌های B رخ می‌دهد. به‌طور طبیعی، BCL-2 در سلول‌های با عمر طولانی مانند نورون‌ها و همچنین در سلول‌های تکثیرشونده نظیر سلول‌های اپی‌تلیال پایه بیان می‌شود. با این حال، در بسیاری از بدخیمی‌های خونی نظیر لنفوم، میلوم، و لوسمی لنفوسیتی مزمن، میزان بیان این پروتئین به‌طور غیرطبیعی افزایش می‌یابد. در کولون طبیعی، بیان BCL-2 به سلول‌های اپی‌تلیال پایه محدود می‌شود، اما در پولیپ‌های دیسپلاستیک و کارسینوماها، سلول‌های مثبت به نواحی پارابازال و حتی سطوح فوقانی گسترش می‌یابند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که بیان غیرطبیعی BCL-2 می‌تواند یکی از رویدادهای اولیه در سرطان‌زایی کولورکتال باشد. علاوه بر این، بیان بالای BCL-2 با مقاومت به شیمی‌درمانی در تومورهای اپی‌تلیال و لنفوم‌ها مرتبط است. بنابراین، شناسایی فرآورده BCL-2 در تومورها می‌تواند به‌عنوان مارکری برای رشد توموری مطرح باشد و مطالعات آینده ممکن است نقش آن را در پیش‌بینی پاسخ به درمان بیشتر روشن سازند.

۵-۱-۶-۲. BCR-ABL

لوسمی میلوئیدی مزمن^۱ (CML) یک بیماری تکثیری سلول‌های خونی است که از تکثیر سریع سلول‌های بنیادی هماتوپوئتیک ناشی می‌شود. در ۹۰ درصد بیماران CML، تشکیل کروموزوم فیلادلفیا از طریق جابه‌جایی متقابل بین کروموزوم‌های ۹ و ۲۲ (q34;q11) رخ می‌دهد که ژن فیوژن BCR-ABL را ایجاد می‌کند. پروتئین حاصل از این فیوژن، یک تیروزین کیناز دائمی در سیتوپلاسم است که مسیرهای پیام‌رسانی را فعال کرده و رشد را تحریک و آپوپتوز را مهار می‌کند. شناسایی BCR-ABL در تشخیص و درمان هدفمند CML بسیار مفید است. روش‌هایی مانند استفاده از الیگونوکلوئیدهای آنتی‌سنس یا مهار دامنه

کینازی BCR-ABL با مهارکننده تیروزین کیناز STI571 (ایماتینیب^۱) برای هدفگیری این ژن توسعه یافته‌اند.

شناسایی BCR-ABL با RT-PCR برای پایش بیماری باقی‌مانده در بیماران پیوند مغز استخوان مؤثر است. در بیماران با لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL^۲) دارای کروموزوم فیلادلفیا، نتیجه مثبت RT-PCR برای BCR-ABL خطر بالاتر عود را نشان می‌دهد. در بیماران CML پس از پیوند مغز استخوان، نتایج مثبت RT-PCR در ۶ تا ۱۲ هفته با ۲۶ برابر افزایش خطر عود همراه است. بیماران با کمتر از ۵۰ رونوشت BCR-ABL در هر میکروگرم RNA خطر عود کمتر از ۱ درصد دارند، درحالی‌که ۷۲ درصد بیماران با بیش از ۵۰ رونوشت در معرض خطر عود هستند.

۶-۱-۶-۲. رسپتور تیروزین کیناز RET

رسپتور تیروزین کیناز RET در شکل‌گیری کلیه، بالغ شدن سیستم عصبی محیطی و تمایز اسپرماتوگونی نقش دارد. RET در یک کمپلکس چندگانه با یکی از چهار گیرنده مرتبط با گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول (GFR α 1-4) وجود دارد. این کمپلکس‌ها به چهار لیگاند پاسخ می‌دهند: فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلیال^۳ (GDNF)، نورتورین^۴ (NTN)، آرتمین و پرسفین. فعال‌سازی RET از طریق دیمری شدن و ترانس‌فسفوریلاسیون گیرنده رخ می‌دهد که مسیرهای پیام‌رسانی پایین‌دست را فعال می‌کند و می‌تواند به سرطان‌زایی منجر شود.

فعال‌سازی نابجای RET به‌طور گسترده در سرطان تیروئید پاپیلری، سندرم‌های MEN^۵-2 و کارسینوم تیروئید مدولاری خانوادگی^۶ (FMTC) بررسی شده است. در سرطان تیروئید پاپیلری، فیوژن ژنتیکی بین دامنه تیروزین کیناز RET و دامنه دیمری‌کننده ایجاد می‌شود که می‌تواند توسط ژن‌های مختلف القا شود. در FMTC و MEN-2A، موتاسیون‌های نقطه‌ای در دامنه خارج‌سلولی، پل دی‌سولفیدی بین گیرنده‌ها ایجاد کرده و دیمری شدن را القا می‌کند. در MEN-2B، موتاسیون نقطه‌ای در دامنه کینازی ویژگی سوبسترای تیروزین کیناز را تغییر داده و مسیرهای رشد پایین‌دست را فعال می‌کند.

-
1. Imatinib
 2. Acute lymphoblastic leukemia
 3. Glial-derived neurotrophic factor
 4. Neuroturin
 5. Multiple endocrine neoplasia
 6. Familial medullary thyroid carcinoma

۲-۶-۶-۲. ژن‌های سرکوب‌کننده تومور

شواهد ژن‌های سرکوب‌کننده تومور از مطالعه سلول‌های هیبرید نرمال و بدخیم به‌دست آمده که رفتار نرمال نشان می‌دادند، نشان‌دهنده وجود ژن‌هایی در سلول‌های نرمال است که بدخیمی را سرکوب می‌کنند. بازگشت به حالت بدخیمی زمانی رخ می‌دهد که سلول‌های کشت‌شده کروموزوم‌های نرمال را از دست می‌دهند. مطالعه این ژن‌ها می‌تواند کلید درک پیشرفت سرطان از حالت نرمال به خوش‌خیم، سرطانی و متاستاتیک باشد. سرطان‌زایی کولون شامل مراحل متعدد و موتاسیون‌های مختلف است: از دست دادن کروموزوم ۵ رشد سلولی را افزایش می‌دهد، آدنومای اولیه با از دست دادن گروه‌های متیل DNA همراه است، موتاسیون ژن Ras و حذف ژن DCC (روی کروموزوم ۱۸) آدنوما را به مراحل پیشرفته می‌رساند، کارسینوما با از دست دادن p53 (کروموزوم ۱۷) رخ می‌دهد و متاستاز با حذف کروموزوم‌های دیگر همراه است. شناسایی موتاسیون‌های ژن‌های سرکوب‌کننده تومور نه‌تنها در پیش‌آگهی و تشخیص، بلکه در پیش‌بینی استعداد سرطان (مانند BRCA1 و BRCA2 در سلول‌های جنینی) مفید است.

۲-۶-۶-۲-۱. ژن رتینوبلاستوما

رتینوبلاستوما (RB¹) توموری نادر در کودکان است که به‌صورت خانوادگی یا تک‌گیر رخ می‌دهد. فرضیه دو ضربه‌ای Knudson بیان می‌کند که در فرم خانوادگی، یک موتاسیون در سلول زایا وجود دارد و موتاسیون دوم در سلول‌های شبکه‌ای در حال رشد رخ می‌دهد. در فرم تک‌گیر، هر دو موتاسیون باید در یک رتینوبلاست ایجاد شود که نادر است. این فرضیه به‌عنوان مدل ژن‌های سرکوب‌کننده تومور استفاده می‌شود. ژن RB روی کروموزوم ۱۳ قرار دارد و از طریق فقدان آن در لنفوسیت‌های خون محیطی افراد خانوادگی و مطالعات از دست دادن هتروزیگوتی در رتینوبلاستوما و استئوسارکوما مکان‌یابی شده است. بیشتر تومورها حذف بزرگ ندارند، بلکه موتاسیون‌های نقطه‌ای، افزودن‌ها یا حذف‌های کوچک دارند که پروتئین را کوتاه می‌کنند. پروتئین RB، یک فسفوپروتئین هسته‌ای با وزن ۱۰۵ کیلودالتون است که به پروتئین‌های ویروسی (مانند E1A و E7 پاپیلوماویروس انسانی) متصل می‌شود. p105-RB هیپوفسفریله با فاکتور رونویسی E2F کمپلکس تشکیل داده و رونویسی ژن‌ها را در فاز S متوقف می‌کند. E2F توسط پروتئین DP دیمریزه شده و رونویسی ژن‌های سنتز DNA را

تنظیم می‌کند. غیرفعال‌سازی یا حذف p105-RB تنظیم سنتز DNA را مختل کرده و تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد. ژن RB به‌عنوان سرکوب‌کننده تومور، سنتز DNA را مهار می‌کند. شناسایی موتاسیون‌های RB در پیش‌بینی استعداد خانوادگی رتینوبلاستوما مفید است، اما به‌عنوان مارکر توموری استفاده نمی‌شود.

۲-۲-۶-۲. ژن p53

ژن p53 روی کروموزوم p۱۷ قرار دارد و نوع وحشی آن تقسیم سلولی را با تنظیم ورود به فاز S کنترل می‌کند. این کنترل با حذف ژن یا تولید پروتئین جهش‌یافته مختل می‌شود. در ۷۵ تا ۸۰ درصد کارسینوماهای کولون، یک آلل p53 حذف شده و آلل دیگر موتاسیون نقطه‌ای دارد، بنابراین نوع وحشی p53 بیان نمی‌شود. حذف آللی p53 به‌ندرت در آدنوما رخ می‌دهد، که نشان‌دهنده نقش غیرفعال‌سازی p53 به‌عنوان رخداد نهایی در سرطان کولون است. بیش از ۷۰ درصد سرطان‌های پستان نیز حذف p53 دارند. موتاسیون‌های p53 پروتئین‌هایی تولید می‌کنند که نوع وحشی را غیرفعال کرده و رشد سرطانی را تسهیل می‌کنند. موتاسیون‌های نقطه‌ای p53 در چهار ناحیه پروتئین (اسیدهای آمینه ۱۱۷-۱۴۲، ۱۷۱-۱۸۱، ۲۳۴-۲۵۸ و ۲۸۶-۲۹۷) رخ می‌دهند، با نقاط داغ^۱ در کدون‌های ۱۷۵، ۲۴۸ و ۲۷۳. موتاسیون گوانین به تیمین در کدون ۲۴۹ در کارسینوم هپاتوسلولار در آفریقا و آسیا، مرتبط با آفلاتوکسین، شایع است. موتاسیون‌های کدون‌های ۲۴۵ و ۲۵۸ در سندرم لی‌فرامنی (یک بیماری اتوزومال غالب با نئوپلاسم‌های متعدد) دیده می‌شود.

آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه p53 جهش‌یافته توسعه یافته‌اند. نوع وحشی p53 در مقادیر کم و غیرقابل تشخیص با ایمونوهیستوشیمی وجود دارد، اما پروتئین جهش‌یافته در مقادیر بالا انباشته می‌شود. بیان بالای p53 جهش‌یافته در ۷۰ درصد سرطان‌های کولورکتال اولیه تشخیص داده شده است. در سرطان پستان، بیان بالای p53 با پیش‌آگهی ضعیف مرتبط است، اما این ارتباط به اندازه HER-2/neu قوی نیست. بیش از ۷۵ درصد کارسینوم‌های سگفرشی پروتئین جهش‌یافته را به مقدار زیاد بیان می‌کنند. آنتی‌بادی‌های علیه p53 جهش‌یافته در سرم بیماران با سرطان ریه، پستان و لنفوم سلول B یافت شده و ممکن است برای پایش عود بیماری در برخی بیماران مفید باشد.

۳-۲-۶-۶-۲. ژن APC

از دست دادن ژن APC یکی از اولین رویدادها در ایجاد زخم اولیه در پولیپ‌های پیش‌سرطانی کولون است. ژن APC پروتئینی ۳۰۰ کیلودالتونی را کد می‌کند که در سلول‌های سرطانی تخریب می‌شود. عملکرد طبیعی APC کاملاً شناخته نشده، اما با پروتئین‌های α - و β -کاتنین که در برهم‌کنش‌های سلول با سلول در اپی‌تلیوم نقش دارند، تعامل دارد. ژن APC در سندرم‌های سرطان کولورکتال ارثی (پولیپی و غیرپولیپی) جهش‌یافته است. در نوع پولیپی، صدها تا هزاران پولیپ خوش‌خیم پیش از سرطان تشکیل می‌شود. در نوع غیرپولیپی، پولیپ‌ها کمتر اما خطر سرطان مشابه است. ژن APC از طریق حذف در کروموزوم 5q در بیماران با پولیپ‌های متعدد شناسایی شده است. بیش از ۸۰ درصد افراد با سرطان کولورکتال ارثی موتاسیون‌های خط‌زایا (حذف‌ها و موتاسیون‌های تجمعی) در یکی از آلل‌های APC دارند. سرطان کولورکتال ارثی نادر است، اما موتاسیون‌های سوماتیک در سرطان‌های کولورکتال غیرارثی شایع‌تر هستند. بیش از ۷۰ درصد تومورهای کولورکتال، صرف‌نظر از اندازه و هیستولوژی، موتاسیون در یکی از آلل‌های APC دارند. موتاسیون‌های APC در تومورهای مغز، مری و پستان نیز دیده می‌شوند. استفاده از فقدان پروتئین APC برای تشخیص و پیش‌آگهی در حال بررسی است.

۴-۲-۶-۶-۲. ژن BRCA1 و BRCA2

زیرگروهی از بیماران با سرطان پستان، استعداد ارثی برای سرطان پستان و تخمدان دارند که به‌صورت اتوزومال غالب منتقل می‌شود. دو لوکوس ژنتیکی شناسایی شده‌اند. BRCA1 روی کروموزوم q۱۷ و BRCA2 روی 12-13q قرار دارد. ژن BRCA1 پروتئینی ۱۸۶۳ اسید آمینه‌ای را کد می‌کند که احتمالاً به‌عنوان فاکتور رونویسی عمل می‌کند. شناسایی موتاسیون‌های BRCA1 و BRCA2 در سلول‌های سوماتیک، امکان تشخیص را در خانواده‌های با سرطان پستان جهش‌یافته فراهم می‌کند. در آمریکا، تخمین زده می‌شود که یک زن از هر ۲۰۰ زن ممکن است موتاسیون BRCA1 داشته باشد. این موضوع چالش‌های اخلاقی برای پزشکان، بیماران، خانواده‌ها، شرکت‌های بیمه و سازمان‌های سلامت ایجاد کرده است، زیرا امکان پیش‌بینی دقیق سرطان پستان یا تخمدان در افراد با موتاسیون وجود دارد. افراد با موتاسیون BRCA1 تا سن ۸۵ سال، ۸۵ درصد خطر سرطان پستان و ۴۵ درصد خطر سرطان تخمدان دارند. تصمیم‌گیری درباره اقداماتی مانند ماستکتومی یا اووفورکتومی، و

همچنین سیاست‌های بیمه‌ای برای این افراد، مسائل پیچیده‌ای هستند. اگرچه شناسایی موتاسیون‌ها به‌عنوان مارکر توموری مستقیم مفید نیست، درک عملکرد فرآورده‌های جهش‌یافته ژن ممکن است مکانیسم‌های مولکولی ایجاد برخی سرطان‌های پستان و تخمدان را روشن کند.

۲-۷. DNA متیله‌شده در گردش

۲-۷-۱. بیومارکرهای تشخیصی

DNA متیله‌شده در گردش خون بیماران سرطانی به‌عنوان **بیومارکرهای تشخیصی** مورد بررسی قرار گرفته است. از زمان اولین نمایش ژن‌های متیله‌شده در نمونه‌های سرم بیماران مبتلا به سرطان ریه و کبد، تعدادی از ژن‌ها با متیلاسیون پروموتور با سایر سرطان‌ها نیز مرتبط شده‌اند (جدول ۲-۶). DNA توموری متیله‌شده در گردش (metDNA) به‌عنوان **بیومارکرهای تشخیصی**، ویژگی‌های مشترکی دارند که مورد توجه هستند:

- ارتباط قوی کلی بین هیپرمتیلاسیون پروموتور ژن در تومورهای اولیه و آن‌هایی که در مایعات بدن یافت می‌شوند وجود دارد.
- هیپرمتیلاسیون پروموتور یک رویداد شایع و زودهنگام در توسعه سرطان است.
- تقریباً تمام سرطان‌ها دارای متیلاسیون پروموتور غیرطبیعی هستند. در واقع، استفاده از نشانگرها در یک پنل در نمونه‌های بافتی (برای غلبه بر ناهمگونی تومور) می‌تواند تمام انواع سرطان را تشخیص دهد.
- حساسیت تشخیصی **بیومارکرهای** متیلاسیون به‌طور کلی پایین است، به‌ویژه زمانی که ژن‌های منفرد در نظر گرفته می‌شوند، اما ویژگی معمولاً بالا است.
- انتخاب ژن‌های مناسب به‌عنوان **بیومارکر** متیلاسیون در یک پنل به‌طور قابل‌توجهی حساسیت تشخیص سرطان را افزایش می‌دهد.
- گروه متیل به‌صورت کووالانسی به حلقه پیریدین سیتوزین متصل است، به‌گونه‌ای که متیلاسیون بسیار پایدار و مقاوم است و می‌تواند در برابر برخی از دستکاری‌های خشن در طول پردازش نمونه مقاومت کند.

جدول ۲-۶. ژن‌های متیله شده در گردش خون به عنوان بیومارکر های تشخیصی سرطان

سرطان	ژن های متیله شده
سرطان ملانوما	FASSF1A, RAR β 2, ER- α , MGMT
سرطان سینه	RASSF1A, DAPK, APC, RAR β 2, CDKN2A
سرطان سر و گردن	MGMT, DAPK, CDKN2A, GSTP1
سرطان ریه	DAPK, CDKN2A, GSTP1, MGMT, RASSF1A, RAR β 2, TMS1, APC, CDH13, SHOX2, SFN
سرطان مری	APC, CDKN2A, CDKN2 (p14/ARF)
سرطان معده	CDKN2A, CDKN2B, CDH1, DAPK, GSTP1
سرطان پانکراس	CDKN2A, PENK
هیپاتوسلولار کارسینوما	CDKN2A, CDKN2B
سرطان کلورکتال	CDKN2A, SEPT9, DAPK, APC, HLTf, HMLH1, THBD, CAHM
کارسینوم سلول های کلیه	APC, CDKN2A, CDKN2 (p14/ARF), CDH1, GSTP1, MGMT, RASSFA1, TIMP3, RAR β 2
سرطان پروستات	GSTP1
سرطانات تخمدان	BRCA1, RASSF1A, APC, CDKN2A, DAPK, CDKN2 (p14/ARF)

نمونه اولیه **بیومارکر تشخیصی** metDNA در گردش، متیلاسیون SEPT9 است که توسعه یافته و توسط FDA (Epi proColon) برای تشخیص سرطان کولورکتال تأیید شده است. به عنوان یک **بیومارکر** تشخیصی سرطان کولورکتال، حساسیت و ویژگی SEPT9 متیله شده در گردش (meSEPT9) به ترتیب ۷۲-۹۰ درصد و ۸۸-۹۰ درصد است. metDNA در گردش یک ژن منفرد دیگر، THBD، عملکرد مشابهی در بیماران سرطان کولورکتال دارد، با حساسیت ۷۱ درصد و ویژگی ۸۰ درصد. در بیماران مبتلا به سرطان ریه، meSHOX2 در گردش حساسیت تشخیصی ۶۰ درصد و ویژگی ۹۰ درصد را به دست آورد. حساسیت تشخیصی RASSF1A و RAR β 2 متیله شده در گردش برای سرطان پستان ۹۵ درصد با ویژگی ۱۰۰ درصد بود. در سرطان مری، یک پنل از RASSF1A، CDH1، DAPK و CDKN2A متیله شده در گردش حساسیت ۸۲٫۲ درصد و ویژگی ۱۰۰ درصد را به دست آورد. یک پنل از چهار ژن، GSTP1، APC، RASSF1A و SFRP1، حساسیت، ویژگی، ارزش پیش بینی مثبت و ارزش پیش بینی منفی به ترتیب ۹۲٫۷ درصد، ۸۱٫۹ درصد، ۹۰٫۵ درصد و ۸۷٫۲ درصد

را در تمایز بین بیماران مبتلا به کارسینوم هپاتوسلولار و افراد سالم به دست آورد. هم چنین نشان داده شده است که فرکانس و سطوح meRASSF1A در بیماران ملانوما به طور قابل توجهی نسبت به افراد سالم کنترل شده افزایش یافته است. با این حال، هیچ ارتباطی بین meRASSF1A و سلول های توموری در گردش^۱ (CTCs) وجود نداشت و این دو در تشخیص ملانومای متاستاتیک یکدیگر را تکمیل کردند. RASSF1A، CACLA و EP300 متیله شده در گردش حساسیت ۹۰ درصد و ویژگی ۸۷ درصد را برای تمایز بین بیماران مبتلا به سرطان تخمدان و افراد سالم به دست آوردند، و به عنوان یک پنل، RASSF1A و PGR متیله شده با حساسیت و ویژگی به ترتیب ۸۰ درصد و ۷۳٫۳ درصد برای تمایز بین زنان مبتلا به سرطان تخمدان و بیماری خوش خیم تخمدان عمل کردند.

۲-۷-۲. بیومارکرهای پیش آگهی

چندین ژن متیله شده در نمونه های بافت توموری برای پیش بینی بیماری تهاجمی با احتمال افزایش عود استفاده شده اند و همچنین با معیارهای مختلف پیامد بقای بیماری مرتبط شده اند. برخی از این ژن های متیله شده مرتبط با پیش آگهی در DNA در گردش سنجش شده و نشان داده شده است که پتانسیل پیش آگهی دارند (جدول ۲-۷). در سرطان پستان، meSOX17 در خون با مرحله بندی تومور-گره-متاستاز (TNM^۲) مرتبط است و در تحلیل چندمتغیره یک عامل پیش آگهی مستقل می باشد. به طور مشابه، meRARβ2 در نمونه های پلازما یا سرم پیامدهای بدتری را در زنان مبتلا به سرطان پستان پیش بینی می کند. در سرطان معده، meSOX17 در نمونه های سرم با وضعیت تمایز تومور و بقای کلی بیمار همبستگی داشت. همچنین TIMP3 و XAF1 متیله شده در گردش پیش بینی کننده های مستقل بقای بدون بیماری ضعیف در بیماران مبتلا به سرطان معده هستند.

بار تومور یا مرحله TNM و درجه تمایز و تهاجمی بودن همگی ممکن است بر مقدار DNA توموری آزاد شده به گردش خون تأثیر بگذارند. تومورهای بزرگ در مراحل پیشرفته DNA بیشتری به گردش خون آزاد می کنند و به طور آشکار با پیش آگهی بدتری مرتبط هستند. تشخیص آسان سطوح بالای **بیومارکرهای در گردش**، حتی با فناوری های تحلیلی کمتر حساس، نشان دهنده فرکانس های تشخیص بالا در تومورهای مرحله پیشرفته است. بنابراین،

1. Circulating tumor cells
2. Tumor, nodes, metastasis

مشخص نیست که آیا تشخیص ساده DNA متیله شده در گردش و ارتباط آن‌ها با پیامدهای بیماری صرفاً بار تومور را منعکس می‌کند. به عبارت دیگر، بیماران با تومورهای کم‌حجم سطوح پایینی از metDNA در گردش (مقادیر کمتر) خواهند داشت، که به ندرت تشخیص داده می‌شوند. با این حال، باید توجه داشت که، علاوه بر ژن‌های متیله شده در تومور، هیپرمیتیلایسیون پروموتور ژن‌های سرکوبگر تومور (TSGs)، هیپومتیلایسیون انکوژن‌ها و سایر خوشه‌های CpG حتی در عناصر تکراری، پیامدهای زیستی بر آغاز و پیشرفت تومور دارند. بنابراین، متیلایسیون غیرطبیعی در تومورها می‌تواند پیش‌بینی‌های عملکردی پیش‌آگهی رفتار تومور داشته باشد.

جدول ۲-۷. ژن‌های متیله شده در گردش خون به عنوان بیومارکرهای پیش‌آگهی سرطان

ژن‌های متیله شده	سرطان
RASSF1A, ESR1, RAR β 2, AIM1, LINE1	سرطان ملانوما
GSTP1, ESR1, RAR β 2, SOX17, SFN, PITX2, PR, BRCA1	سرطان سینه
SFN, BRMS1	سرطان ریه
APC, DAPK, MSH2	سرطان مری
RASSF1A, APC1, SOX17, TIMP3, MINT2, XAF1	سرطان معده
DAPK, CDKN2A, MGMT, RUNX3, HLTf, HPP1, CDH1	سرطان کلورکتال
APC1	سرطان مثانه
RASSF1A, GSTP1, APC, MDR1, PTGS2, SRD5A2, CYP11A1	سرطان پروستات
RASSF1A, DCR2	نوروبلاستوما

۳-۷-۲. بیومارکرهای پاسخ درمانی

DNA توموری در گردش بسیار پویا است. دوره طبیعی ctDNA به نظر می‌رسد کوتاه باشد. نشان داده شده است که نیمه عمر ctDNA حدود ۲ ساعت است. بنابراین، با برداشتن تومور یا کوچک شدن آن در اثر مداخلات درمانی مختلف و در نتیجه کاهش منبع ctDNA، سطوح آن باید با گذشت زمان کاهش یابد. این فرضیه اساس پروفایل تغییرات ctDNA را در پایش پس از عمل برای بررسی کامل بودن جراحی یا اثربخشی درمان شیمی‌درمانی تشکیل می‌دهد. با توجه به ویژگی بیومارکرهای متیلایسیون DNA در سرطان و سهولت انجام سنجش‌های

متیلاسیون، پتانسیل کاربرد metDNA در پایش بیماری نیز نشان داده شده است (جدول ۸-۲).

جدول ۸-۲. ژن‌های متیله شده در گردش خون به عنوان پاسخ به درمان و بیومارکرهای پیش‌بینی‌کننده سرطان

ژن‌های متیله شده	سرطان
RASSF1A	سرطان ملانوما
RAR β 2, BRCA1, MSH2, ESR1 β , RASSF1A, SFN	سرطان سینه
RASSF1A, CHFR, STRATIFIN, SOX2, APC, RAR β 2	سرطان ریه
APC	سرطان مری
RUNX3	سرطان معده
CDKN2A	هیپاتوسلولار کارسینوما
GSTP1	سرطان پروستات
DCR2	نوروبلاستوما

در بیماران مبتلا به سرطان پستان، مری و معده، کاهش metDNA در گردش پس از عمل با برداشت کامل تومور مرتبط بوده است. در بیماران سرطان پستان، نسبت meCDKN2A به کل CDKN2A در گردش (که به عنوان شاخص متیلاسیون شناخته می‌شود) در نمونه‌های پلاسمای پیش از عمل ۳۵ درصد بود در حالی که در نمونه‌های پس از عمل به ۳٫۵ درصد کاهش یافت. درمان پس از عمل و تاموکسیفن تشخیص ژن‌های متیله‌شده را در نمونه‌های پلاسمای بیماران سرطان پستان کاهش داد. MSH2، RAR β 2 و ESR1 β در پلاسمای پیش از عمل بیماران سرطان پستان ER⁺ به‌طور قابل‌توجهی متیلاسیون بیشتری نسبت به پلاسمای پس از عمل نشان دادند. APC متیله‌شده پیش‌بینی‌کننده پیامد بدتر در سرطان مری است. بنابراین، متیلاسیون APC و DAPK با بقای کلی کوتاه‌تر مرتبط بوده و تشخیص meAPC در نمونه‌های سرم ۱۰ روز پس از جراحی نشان‌دهنده وجود بیماری باقی‌مانده بود. RUNX3 متیله‌شده با سرطان معده پیشرفته مرتبط است. شاخص متیلاسیون RUNX3 پس از عمل به‌طور متوسط ۱۲ برابر کمتر از سطوح پیش از عمل در بیماران سرطان معده بود. meRUNX3 سرم پیش‌بینی‌کننده بهتری برای عود سرطان معده نسبت به CEA بود. پویایی تومور پس از شیمی‌درمانی نیز به‌سرعت در **بیومارکرهای** در گردش منعکس می‌شود. به‌طور

مداوم، metDNA در گردش برای پایش بار تومور در بیماران تحت درمان سرطان مفید بوده است (جدول ۸-۲).

علاوه بر این، metDNA در گردش ممکن است کاربرد پیش‌بینی‌کننده داشته باشد. از دست رفتن meRASSF1A سرم یک سال پس از درمان با تاموکسیفن با پیش‌آگهی خوب مرتبط بود. در این گروه از زنان مبتلا به سرطان پستان قابل‌جراحی، تشخیص meRASSF1A یک سال پس از درمان با تاموکسیفن پیش‌بینی‌کننده مستقل بقای بدون عود ضعیف و بقای کلی بود. کاهش سطوح متیلاسیون یک پنل از ژن‌ها (ARHGEF7، AKR1B1، GPX7، COL6A2، HOXB4، TM6SF1، TMEFF2، RASGRF2، HIST1H3 و RASSF1A) در بیماران سرطان پستان پس از ۱ تا ۲ سیکل درمان با دوستاکسل^۱ و ایماتینیب^۲ یا کپسیتابین^۳ با بیماری پایدار یا پاسخ نسبی مرتبط بود. بیمارانی که بیماری پیش‌رونده داشتند، کاهش در ctDNA متیله‌شده نداشتند. در پیگیری، افزایش DNA متیله‌شده سرم با پیشرفت بیماری مرتبط بود و این قبل از شاخص‌های بالینی پیشرفت بیماری آشکار بود. در سرطان پستان متاستاتیک، کاهش مداوم stratifin متیله‌شده سرم با پاسخ به شیمی‌درمانی مرتبط بود. علاوه بر این، در بیماران سرطان پستان تحت شیمی‌درمانی، کاهش کل MDR1، BRCA1، GSTP1، MGMT و SFN متیله‌شده سرم پیش‌بینی‌کننده کاهش حجم تومور در پاسخ‌دهندگان بود. مهم‌تر اینکه، فرکانس meBRCA1 در گردش همبستگی قابل‌توجهی با شیمی‌درمانی نشان داد.

سطوح بالای SFN متیله‌شده در بیماران NSCLC حساسیت به شیمی‌درمانی سیس‌پلاتین به علاوه جم‌سیتابین را پیش‌بینی کرد. در بیماران NSCLC تحت شیمی‌درمانی نئوادجوانت، شاخص‌های متیلاسیون RASSF1A و RARβ2 سرم پس از شیمی‌درمانی کاهش یافت و پس از جراحی کاهش بیشتری داشت. متیلاسیون‌های قابل‌تشخیص RASSF1A و RARβ2 سرم در بیماران با عود بیماری ۹ ماه پس از درمان رخ داد. علاوه بر این، کاهش meSHOX2 پلاسما پیش‌بینی‌کننده زودهنگام و دقیقی برای پاسخ به شیمی‌درمانی در بیماران سرطان ریه بود.

1. Docetaxel
2. Imatinib
3. Capecitabine

در بیماران سرطان پروستات تحت درمان با دوستاکسل یا میتوکسانترون که به طور متوسط ۱۵ ماه پیگیری شدند، افزایش meGSTP1 در پلاسما پس از دوز اول درمان پیش‌بینی‌کننده عود PSA بعدی بود. نه تنها meGSTP1 در گردش یک **بیومارکر** مقاومت زودهنگام به درمان بود، بلکه پیش‌بینی‌کننده پیش‌آگهی بهتری نیز بود.

۲-۸. نوکلئوزوم‌های در گردش

۲-۸-۱. بیومارکرهای تشخیصی

به طور کلی، سطوح نوکلئوزوم‌های سرم/پلاسما در بیماران سرطانی بسیار بالاتر از افراد سالم کنترل است، که نشان‌دهنده پتانسیل استفاده از آن‌ها در تشخیص زودهنگام سرطان است. اما برای امکان‌پذیر بودن این امر، باید فناوری‌هایی توسعه یابند که نوکلئوزوم‌های خاص سرطان را تشخیص دهند. سطوح بالای مشابهی که در بسیاری از شرایط خوش‌خیم مشاهده می‌شود، کاربرد تشخیصی برای سرطان را محدود می‌کند. به عنوان مثال، در زیرگروهی از بیماران سرطان ریه، حساسیت و ویژگی به ترتیب ۹۰ درصد و ۹۵ درصد بود وقتی بیماران سرطانی با افراد سالم مقایسه شدند. با این حال، ویژگی به طور چشمگیری به ۳۵ درصد کاهش یافت وقتی شرایط خوش‌خیم ریه مقایسه شدند. بنابراین، تشخیص نوکلئوزوم‌های در گردش ممکن است اهمیت تشخیصی محدودی داشته باشد، اما برای پیش‌آگهی بیماری و پایش پاسخ درمانی مفید است.

۲-۸-۱. بیومارکرهای پیش‌آگهی

کاربرد پیش‌آگهی نوکلئوزوم‌های در گردش نیز محدود اما امیدوارکننده است. مطالعات اندک نشان‌دهنده پتانسیل استفاده از آن‌ها در پیش‌آگهی سرطان، حداقل در بیماران سرطان ریه، است. در حالی که سطوح بالای نوکلئوزوم‌های در گردش ممکن است ارزش پیش‌آگهی داشته باشند، مطالعه عمیقی در سرطان ریه سلول غیرکوچک نشان داد که کاربرد مستقل آن‌ها در پیش‌آگهی تنها در تحلیل تک‌متغیره تأیید شد. بررسی چندمتغیره توانست کاربرد پیش‌آگهی مستقل آن‌ها را وقتی سایر نشانگرهای پیش‌آگهی در نظر گرفته شدند، تأیید کند. با این حال، قبل از دور دوم شیمی‌درمانی، نوکلئوزوم‌های در گردش حتی در تحلیل چندمتغیره از اهمیت پیش‌آگهی مستقل برخوردار بودند. در بیماران کارسینوما سنگفرشی، نوکلئوزوم‌های در گردش قبل از درمان و قبل از شیمی‌درمانی خط دوم در تحلیل چندمتغیره کاربرد پیش‌آگهی داشتند.

۳-۸-۲. بیومارکهای پاسخ درمانی

اثر بخشی درمان های کنونی با روش های مختلفی از جمله کاهش ماکروسکوپی حجم تومور ارزیابی می شود که ممکن است چند روز طول بکشد. **بیومارکرها**یی که مرگ سلول های توموری را به عنوان نتیجه درمان به طور دقیق اندازه گیری کنند، باید ارزیابی زود هنگام را امکان پذیر کنند تا از ادامه داروی غیر مؤثر جلوگیری شود یا تنظیماتی برای کاهش سمیت اضافی انجام شود. نوکلئوزوم های در گردش ممکن است چنین وظایفی را انجام دهند. شیمی درمانی، پرتودرمانی و ایمونوتراپی ابتدا با افزایش سطوح نوکلئوزوم در ۲-۵ روز پس از درمان همراه هستند و سپس سطوح به طور ناگهانی کاهش می یابد. افزایش اولیه به دلیل مرگ گسترده سلول ها ناشی از عامل درمانی است، اما این به سرعت پاکسازی می شود. بسته به شدت، شیمی درمانی و پرتودرمانی باعث مرگ آپوپتوتیک (محرک های ضعیف تر) یا مرگ انکوتیک/آپونکروتیک سلول های سرطانی با آزادسازی نوکلئوزوم ها می شوند. قابل توجه است که سلول های اپی تلیال و هماتوپتیک با تقسیم سریع نیز کشته شده و به سطوح نوکلئوزوم های در گردش کمک می کنند. با این حال، اکثر نوکلئوزوم های آزاد شده در طول درمان سرطان احتمالاً از سلول های سرطانی هستند. به عنوان مثال، در بیماران سرطان کولورکتال، سطوح نوکلئوزوم بسیار بالاتر از افراد بدون تومور بود که در معرض شیمی-پرتودرمانی قرار داشتند. به طور مشابه، در مدل های حیوانی، مواجهه با شیمی درمانی تغییرات در نوکلئوزوم های در گردش را تنها در حیوانات دارای تومور نشان داد، نه در حیوانات بدون تومور.

سطوح نوکلئوزوم در گردش بیماران سرطانی تعادلی بین آزادسازی و کارایی پاکسازی است. پرتودرمانی به دلیل آسیب مستقیم تر سلولی، آزادسازی سریع تری را القا می کند. شیمی درمانی با حداکثر آزادسازی در ۲۴ ساعت پس از شروع درمان همراه است. با کاهش اندازه تومور به دلیل شیمی درمانی، پرتودرمانی یا جراحی، سطوح نوکلئوزوم های در گردش به سمت پایه کاهش می یابد. این تغییرات پویا در نوکلئوزوم های در گردش به عنوان نتیجه درمان در سرطان های پستان، ریه، کولورکتال و پانکراس و همچنین در بدخیمی های هماتولوژیک نشان داده شده است.

از آنجا که اثر درمان بر نوکلئوزوم های در گردش بسیار سریع است، مطالعاتی برای ارزیابی استفاده از نوکلئوزوم های در گردش برای سنجش اثر بخشی درمان به جای روش های متداول مانند ارزیابی ماکروسکوپی حجم تومور و تصویربرداری انجام شده است. سطوح پایین

نوکلئوزوم‌های در گردش و درصد کاهش بالا قبل و بعد از درمان اولیه با پاسخ درمانی در سرطان ریه سلول غیرکوچک همبستگی دارد. غیرپاسخ‌دهندگان به درمان معمولاً سطوح اولیه بسیار بالایی دارند که احتمالاً به دلیل کاهش فعالیت اندونوکلتازها در این بیماران به‌طور ناکارآمد از گردش پاکسازی می‌شوند.

۹-۲. DNA آزاد در گردش (غیرمتصل)

جدا از تحلیل‌های نوکلئوزومی برای کاربردهای بالینی،^۱ ccfDNA به‌طور کلی در شرایط نئوپلاستیک مختلف به‌طور گسترده‌ای مطالعه شده است. تمرکز در اینجا هم بر تحلیل‌های کمی محتوای DNA و هم بررسی تغییرات خاص توموری به‌عنوان ctDNA^۲ بوده است. تحلیل‌های اخیر عمدتاً کیفی بوده‌اند، اما می‌توانند برای تعیین کمیت کسر ctDNA در ccfDNA استفاده شوند.

۱-۹-۲. بیومارکرهای تشخیص

پتانسیل تشخیصی محتوای ccfDNA در تعدادی از سرطان‌ها از جمله سرطان‌های ریه، پستان و پروستات تنها در مقایسه با **بیومارکرهای** تشخیصی متداول متوسط بوده است، اگرچه به‌طور کلی سطح زیر منحنی مشخصه عملیاتی گیرنده (AUROC) بیش از ۰٫۷۰ بوده است. حساسیت‌های تشخیصی محدود بوده و ویژگی‌ها به دلیل متغیرهای مخدوش‌کننده مانند التهاب، ورزش و سایر بیماری‌های غیر بدخیم که با افزایش آزادسازی DNA به گردش مرتبط هستند، مختل شده‌اند. بعید است که همه تومورهای جامد مقادیر قابل توجهی DNA به گردش خون آزاد کنند. به‌عنوان مثال، ctDNA در بیش از ۷۵ درصد افراد مبتلا به سرطان‌های تخمدان، پانکراس، کولورکتال، مثانه، معده، مری، پستان، کبد، سر و گردن و پوست (ملانوما) قابل تشخیص بود، اما در کمتر از ۵۰ درصد افراد مبتلا به سرطان‌های کلیه، مغز، تیروئید یا پروستات تشخیص داده شده است. صرف‌نظر از تفاوت‌ها در سطوح و فرکانس‌های آزادسازی، کاربرد عمومی DNA خاص توموری در گردش در چندین سرطان توسط این مطالعه کشف شد. بنابراین، ccfDNA در تشخیص سرطان ریه نشان داد که عملکردهای تشخیصی به‌عنوان یک ابزار غربالگری مستقل ناکافی است. با وجود این

1. Circulating cell-free DNA

2. Circulating tumor DNA

کاستی‌ها، عملکرد سطوح ccfDNA در تشخیص سرطان ریه با **بیومارکرهای متداول** قابل مقایسه بود. بنابراین، پیشنهاد شد که به‌عنوان مکمل سایر **بیومارکرهای تشخیصی**، احتمالاً در یک نوموگرام، استفاده شود.

۲-۹-۲. بیومارکرهای پیش‌آگهی

مطابق با استفاده از آن در تشخیص سرطان، جایگاه سطوح ccfDNA در پیش‌بینی‌های پیش‌آگهی نشان داده شده است. به‌طور کلی، سطوح بالاتر ccfDNA پیش‌بینی‌کننده مستقل بقای کلی و بقای بدون بیماری در سرطان‌هایی مانند پستان، ریه، کبد، پروستات و تخمدان بوده است. همان‌طور که انتظار می‌رفت، دیگران نتوانسته‌اند چنین ارتباطات پیش‌آگهی را در گروه‌های دیگر بیماران سرطانی پیدا کنند. علاوه بر عوامل مخدوش‌کننده شناخته‌شده مانند متغیرهای پیش‌تحلیلی، استفاده از سطوح برش مختلف برای ccfDNA در پیش‌آگهی مشکل‌ساز بوده است. استانداردسازی بار دیگر برای باز کردن قفل کاربرد پیش‌آگهی تحلیل ccfDNA در بیماران سرطانی مهم است.

۲-۹-۳. بیومارکرهای درمان

در سال ۱۹۷۷، لئون برای اولین بار پیشنهاد کرد که ccfDNA می‌تواند ابزاری برای پایش پاسخ درمانی بیماران سرطانی باشد. این ایده در مدل‌های حیوانی و مطالعات بالینی بررسی شد و شواهد امیدوارکننده‌ای ارائه داد. بررسی‌ها نشان داده‌اند که سطوح ccfDNA با افزایش بار تومور ارتباط مستقیمی دارد؛ به عنوان مثال، در موش‌های برهنه با سرطان تخمدان، افزایش حجم تومور با بالا رفتن ccfDNA همراه بود که پتانسیل آن را به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی پیشرفت بیماری نشان می‌دهد. پس از درمان‌های ضد سرطانی، سطوح ccfDNA تغییرات قابل توجهی نشان می‌دهد. در یک مدل حیوانی، ۲۴ ساعت پس از شیمی‌درمانی با دوکتاکسل، سطوح ccfDNA ۶۳ درصد افزایش یافت، اما پس از ۷۲ ساعت به ۲۰ درصد زیر مقدار اولیه و پس از ۱۰ روز به ۸۳ درصد کمتر از پایه کاهش یافت. در حوزه بالینی، جراحی موفق برای سرطان‌هایی مانند پستان، کولون، مری، کلیه و ریه با کاهش ccfDNA به زیر سطوح پیش‌جراحی همراه بوده است. عدم کاهش این سطوح می‌تواند نشان‌دهنده برداشت ناقص تومور یا بیماری سیستمیک باشد، و کاهش اولیه و سپس افزایش مجدد ccfDNA می‌تواند عود بیماری را نشان دهد. این الگوها در بیماران تحت شیمی‌درمانی و پرتودرمانی نیز مشاهده

شده و پتانسیل ccfDNA را به عنوان نشانگر پایش پاسخ درمانی تأیید می کند. با این حال، برخی بررسی ها نتوانسته اند نوسانات مشابهی را نشان دهند که ممکن است به دلیل تفاوت در روش های تجزیه و تحلیل، نوع سرطان یا عوامل دیگر باشد. بنابراین، استانداردسازی روش ها و تحقیقات بیشتر برای تأیید قابلیت اطمینان ccfDNA ضروری است. در مجموع، ccfDNA ابزار بالقوه ای برای شناسایی پاسخ به درمان، تشخیص عود بیماری و ارزیابی موفقیت درمان های مختلف است، اما برای استفاده گسترده در بالین، نیاز به رفع چالش ها و بهبود دقت آن وجود دارد.

۱۰-۲. شاخص یکپارچگی DNA به عنوان بیومارکر در سرطان

سلول های سرطانی در برابر مرگ سلولی آپوپتوزیس (به جز در مواردی که درمان القا می شود) مقاوم هستند و بنابراین اغلب از طریق نکروز می میرند. آپوپتوز با تکه تکه شدن DNA همراه است که منجر به تولید قطعات DNA کوچک تر در مقایسه با نکروز می شود. از این رو، آزمایش هایی که نسبت قطعات DNA بزرگ تر به کوچک تر در گردش خون را اندازه گیری می کنند (به عنوان شاخص یکپارچگی DNA یا DII نامیده شده است) نشان داده اند که مقادیر این شاخص در بیماران سرطانی افزایش می یابد. هم چنین از نسبت معکوس این شاخص به عنوان شاخص آپوپتوز می توان استفاده کرد. امروزه غلظت DNA و شاخص یکپارچگی آن در پلاسما ی زنان مبتلا به سرطان های متعدد از جمله سرطان پستان، تخمدان، آندومتر، دهانه رحم و کارسینوم های سرورزی صفاقی در مقایسه با زنان هم سن با شرایط غیرنئوپلاستیک مختلف gynecologic و سایر بیماری ها و همچنین زنان سالم اندازه گیری می شود. برای اندازه گیری، قطعات ۱۰۰ و ۴۰۰ جفت بازی DNA ژن ACTB مورد هدف قرار داده می شود و شاخص یکپارچگی DNA (DII) برای تمایز سرطان از شرایط غیرنئوپلاستیک با دقت بالایی عمل می گردد. هم چنین از نسبت طول قطعات DNA بین ۲۰۱ تا ۶۱۸ جفت باز (قطعات بلندتر) و ۱۰۰ تا ۲۰۰ جفت باز (قطعات کوتاه تر) به عنوان معیاری برای DII استفاده می شود تا منشأ ccfDNA را مشخص کنند. در حالی که برخی مطالعات ژن های ساختاری از جمله ژن های housekeeping را هدف قرار داده اند، تحلیل های DII همچنین بر بررسی توالی های تکراری غیرکدکننده هسته ای DNA (مانند ALU/SINE و LINE1) متمرکز شده اند.

به دلیل فقدان استانداردسازی تحلیلی، ناهمگونی تومور و پاتولوژی، توانایی تشخیصی DII برای انواع مختلف سرطان ها نتایج متناقضی داشته است. علاوه بر مطالعه اولیه که کاربرد آن

را در سرطان‌های پستان و gynecologic نشان داد، مطالعات دیگر پتانسیل تشخیصی آن را برای سرطان‌های سر و گردن (از جمله کارسینوم نازوفارنژیال)، مری، کولون، کلیه و پروستات تأیید کرده‌اند. اما مطالعات دیگر در سرطان‌های ریه، مثانه، پروستات و بیضه نتوانسته‌اند کاربرد تشخیصی آن را نشان دهند. به طور مشابه، ارزش پیش‌آگهی و پیش‌بینی‌کننده DII در سرطان‌های نازوفارنژیال، پستان، مثانه و پروستات نویدبخش بوده است. استفاده از پروتکل‌های استاندارد در مطالعات چندمرکزی باید به رفع این تناقضات کمک کند.

۱۱-۲. میکرو RNA

کالین و همکاران اولین بار اختلال در بیان (miRNA) میکرو RNA^۱ را در سرطان انسانی گزارش کردند. در لوسمی لنفوسیتیک مزمن سلول B (CLL^۲)، miR-15 و miR-16 دچار اختلال در تنظیم بودند. جالب توجه است که این میکروRNAها در کروموزوم q14^{۱۳}، یک ناحیه شکننده که در حدود ۵۰ درصد از این سلول‌های نئوپلاستیک حذف شده است، قرار دارند. قابل ذکر است که حدود ۵۰ درصد از کل میکروRNAها در نواحی شکننده ژنوم انسانی واقع شده‌اند، و این نواحی اغلب یا حذف می‌شوند (محل میکروRNAهای سرکوبگر تومور) یا تکثیر می‌شوند (محل میکروRNAهای انکوژنیک). دو میکروRNA سرکوبگر تومور (miR-15 و miR-16) که در CLL سلول B دچار اختلال هستند، بیان پروتئین ضدآپوپتوز BCL2 را هدف قرار داده و کاهش می‌دهند. بنابراین از دست رفتن عملکرد آن‌ها باعث افزایش بیان BCL2 و شروع تحول سلولی (cellular transformation) می‌شود.

سه سال بعد، نقطه عطف بعدی در اختلال میکروRNA در سرطان گزارش شد. لو و همکاران اولین پلتفرم پروفایلینگ با توان بالا شامل ۲۱۷ میکروRNA مختلف را برای بررسی کل ژنوم میکروRNA (miRNome) توسعه دادند. با استفاده از این پلتفرم، بیش از ۱۰۰ تومور با دقت بالا بر اساس بافت مبدأ خود طبقه‌بندی شدند. این یافته اولین نشانه‌ای بود که پروفایلینگ میکروRNA می‌تواند به عنوان **بیومارکر** برای شناسایی بافت‌ها یا اندام‌های صحیح در افراد مبتلا به تومورها یا سرطان‌های با منشأ ناشناخته (Cancer of Unknown Primary- CUP) کاربرد داشته باشد.

1. microRNA

2. B-cell chronic lymphocytic leukemia

فاز بعدی این پیشرفت‌ها، برای گسترش این یافته‌ها به نفع بیماران، توسعه تجاری پلتفرم پروفایلینگ میکروRNA برای شناسایی بافت‌های مبدأ در بیماران مبتلا به سرطان‌های با منشأ ناشناخته بود (Rosetta Genomics). نسل اول این پلتفرم شامل ۴۸ میکروRNA بود که برای شناسایی منشأ اولیه در بیماران CUP استفاده شد. پلتفرم نسل دوم (Cancer Origin Test™) دارای ۶۴ میکروRNA است که می‌تواند ۴۹ منشأ سرطانی مختلف را با استفاده از نمونه‌های بافتی تثبیت‌شده با فرمالین و جاسازی‌شده در پارافین^۱ (FFPE) طبقه‌بندی کند.

در مورد میکروRNAها در مایعات در گردش و بدن بیماران سرطانی، کار برجسته لوری و همکاران قابل توجه است. آن‌ها اولین کسانی بودند که سطوح متفاوت میکروRNA را در بیماران مبتلا به لنفوم سلول B (BCL) در مقایسه با افراد سالم نشان دادند. افزایش miR-21 و miR-155 با BCL مرتبط بود و می‌توانست بیماران را از افراد سالم با دقت تمایز دهد. چند سال بعد، وبر و همکاران گزارش کردند که صدها میکروRNA در ۱۲ مایع بیولوژیک طبیعی مختلف، از جمله پلاسما، مایع مغزی-نخاعی، اشک، بزاق، شیر مادر، آغوز، مایع برونشial، مایع پلورال، مایع صفاقی، ادرار، مایع منی و مایع آمنیوتیک وجود دارند. این یافته‌ها زمینه را برای کاوش میکروRNAها در مایعات بدن به‌عنوان **بیومارکرهای غیرتهاجمی** در کاربردهای بالینی فراهم کرد.

۱-۱۱-۲. نقایص در بیوژنز میکروRNA در سرطان

بیان سلولی میکروRNA تحت کنترل چندین سطح تنظیمی قرار دارد، از جمله تنظیم رونویسی، تغییرات ژنومی (مانند جهش‌های نقطه‌ای و حذف‌ها)، و ماشین‌آلات پردازش میکروRNA. در حالی که تنظیمات رونویسی و تغییرات ژنتیکی معمولاً بیان یک یا چند نوع خاص از میکروRNA را تحت تأثیر قرار می‌دهند، اختلال در اجزای کلیدی مسیر بیوژنز میکروRNA (مانند DROSHA) می‌تواند به تغییرات گسترده و سیستمیک در بیان میکروRNAها منجر شود. این نقص‌ها ممکن است در مراحل مختلف پردازش، از pri-miRNA تا تولید میکروRNA بالغ، رخ دهند. هرچند شواهد موجود محدود است، اما برخی مطالعات به حضور این اختلالات در سلول‌های سرطانی خاص اشاره کرده‌اند.

1. Formalin-Fixed Paraffin-Embedded tissue

بیان و عملکرد مختل DROSHA/DGCR8 با سرطان مرتبط است. هر دو به صورت وابسته به زمینه در سرطان‌های مختلف به عنوان انکوژن یا سرکوبگر تومور عمل می‌کنند. به عنوان انکوژن، از دست رفتن عملکرد DGCR8 با کاهش تکثیر سلولی و توسعه سلول‌های بنیادی مرتبط است. در این زمینه، بیان بالای آن در سرطان کولورکتال مشاهده و نشان داده شده است. با این حال، عملکرد سرکوبگر توموری DROSHA/DGCR8 در سرطان ریه مشاهده می‌شود. در این سرطان، کاهش سطح DGCR8 با افزایش تحول سلولی مرتبط است و از دست رفتن DICER1 توسعه تومور را در مدل موشی سرطان ریه القاشده توسط Kras تقویت کرد. بیان افزایش یافته و کاهش یافته DROSHA در بسیاری از بدخیمی‌ها نشان داده شده است که نشان‌دهنده عملکردهای خاص سرطانی یا سلولی در بیوژنز میکرو RNA است.

DROSHA در غیاب دو پروتئین متصل‌شونده به RNA، یعنی p68/DEAD-BOX5 و p68/DDX5 (p72/DDX75)، با کارایی کمتری عمل می‌کند. p53 جهش‌یافته مانع از ارتباط p68/DDX5 با DROSHA می‌شود و در نتیجه بیوژنز میکرو RNA را کاهش می‌دهد. نمونه‌ای از نقش p68/DDX5 در بیوژنز میکرو RNA این است که کاهش سطوح این پروتئین متصل‌شونده به RNA باعث کاهش بیان pre-miRNA-21 و miR-21 بالغ می‌شود، اگرچه سطوح رونوشت pri-miRNA-21 طبیعی است. این شیوه تنظیم miR-21 توسط p68/DDX5 به نظر می‌رسد از طریق مسیرهای سیگنالینگ TGFβ/BMP واسطه‌گری می‌شود. به طور مشابه، از دست رفتن let-7a با تومور ویلمز مرتبط است و یکی از مکانیسم‌هایی که باعث کاهش سطوح let-7a در تومور ویلمز می‌شود، جهش‌ها و از دست رفتن تعداد کپی DROSHA/DGCR8 و SIX1/2 است. به همین ترتیب، از دست رفتن DROSHA/DGCR8 با کاهش سطوح اعضای خانواده miR-200 مرتبط است که نقش مهمی در حفظ سلول‌های بنیادی و انتقال مزنشیمی به اپیتلیال^۱ (EMT) در سرطان دارند. کاهش سطح DROSHA با کاهش گسترده بیان میکرو RNA در بیماران مبتلا به سرطان غیرسلول کوچک ریه (NSCLC) همراه بوده و با پیش‌آگهی بهتر (بقای مطلوب‌تر) مرتبط است. در مقابل، بعضی سطوح بالای DROSHA را با افزایش بقا و سطوح پایین آن را با بقای ضعیف در تحلیل چندمتغیره مرتبط دانستند.

برخی سلول‌های سرطانی همچنین از مکانیسم انتقال برای دستیابی به فنوتیپ‌های خود بهره

می‌برند. از دست رفتن ناحیه اتصال C-ترمینال EXPORTIN-5 برای pre-miRNA منجر به تجمع هسته‌ای pre-miRNA می‌شود. جهش‌های غیرفعال‌کننده در EXPORTIN-5 با کاهش بیان برخی میکروRNAها، از جمله miR-26a، خانواده miR-200 و let-7a مرتبط است. سطوح miR-138 با پیشرفت تومور و متاستاز همبستگی دارد. این امر تا حدی از طریق از دست رفتن CDH1/E-cadherin و همچنین ترویج EMT از طریق کنترل E2F2، ZEB2 و VIM حاصل می‌شود. یکی از شیوه‌های دستیابی به این اثرات توسط miR-138 از طریق سرکوب پایداری EXPORTIN-5 و در نتیجه کاهش بیان میکروRNAهای سرکوبگر تومور است.

DICER یکی دیگر از اهداف بیوژنیک است که بیان غیرطبیعی را در انواع مختلف سرطان نشان می‌دهد و سطوح آن در برخی سرطان‌ها از پتانسیل پیش‌آگهی برخوردار است. در سرطان‌های پستان، ریه و تخمدان، افزایش بیان DICER با پیش‌آگهی مطلوب همراه است. به‌طور مشابه، کاهش بیان DICER با ناهنجاری‌های سیتوژنتیکی و پیش‌آگهی نامطلوب در لوسمی لنفوسیتی مزمن مرتبط است. همچنین در نوروبلاستوم پیشرفته، کاهش بیان DICER و DROSHA با پیش‌آگهی ضعیف همراه است. در مقابل، سطوح بالای DICER با پیش‌آگهی ضعیف در بیماران سرطان کولورکتال و پروستات مرتبط است. در سرطان پروستات، سطوح بالای DICER با مرحله تومور، وضعیت غدد لنفاوی و امتیاز گلیسون^۱ همبستگی دارد. بیان بالای DICER با بقای خاص سرطان و بقای بدون پیشرفت ضعیف در بیماران سرطان کولورکتال^۲ (CRC) مرتبط است، در حالی که DICER در مراحل اولیه توسعه سرطان رکتوم افزایش می‌یابد و بیان در مخاط طبیعی بیماران CRC با بقای ضعیف مرتبط است. مشابه DROSHA و DGCR8، اختلال در تنظیم DICER ممکن است با بیان مختل مجموعه‌های میکروRNA در انواع خاص سرطان مرتبط باشد. جهش‌های DICER همراه با بیان غیرطبیعی میکروRNA در برخی تومورها یافت شده است. به عنوان مثال، در کودکان مبتلا به بلاستوم پلورپولمونری^۳، جهش‌های از دست دادن عملکرد در DICER1 منجر به بیان غیرطبیعی میکروRNA و تکثیر سلول‌های مزانشیمی می‌شود. قابل ذکر است که جهش‌های DICER1 با گروهی از رویدادها به نام اختلالات مرتبط با

1. Gleason Score

2. Colorectal cancer

3. Pleuropulmonary blastoma

DICER1 مرتبط هستند که شامل رابدومیوسارکوم^۱ جنینی، گواتر چندگره‌ی (Multinodular Goiter – MNG) و تومورهای سلول سرتولی-لیدیک می‌شوند. در نهایت، کاهش بیان پروتئین متصل‌شونده به dsRNA، TRBP، پردازش میکروRNA توسط DICER را در خطوط سلولی سرطانی مختل می‌کند.

۲-۱۱-۲. تغییرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک در میکروRNA های در گردش

سطوح میکروRNA در افراد سالم و تحت شرایط فیزیولوژیک مختلف متفاوت است. سطوح طبیعی میکروRNA های در گردش با سن، جنسیت، نژاد، ورزش شدید و سایر حالات فیزیولوژیک مانند بارداری و استرس‌های محیطی تغییر می‌کند. برای مثال، سطوح در گردش miR-18b و miR-130 در مردان بالاتر از زنان است، در حالی که miR-145 و miR-181a-2 با ورزش شدید افزایش می‌یابد. سرم miR-520d-5p، miR-526a و miR-527 در دوران بارداری به شدت افزایش یافته و به‌عنوان بیومارکرها ی احتمالی بارداری در نظر گرفته می‌شوند. میکروRNA هایی مانند miR-141، miR-149، miR-517a و miR-299-5p از جفت منشأ می‌گیرند و در پلاسمای مادران قابل اندازه‌گیری هستند. سطوح این میکروRNA ها پس از زایمان کاهش می‌یابد و بنابراین ممکن است در تشخیص پیش از تولد کاربرد داشته باشند. به دلیل آزاد شدن، انتقال و عملکرد در محل‌های دوردست، میکروRNA ها به‌عنوان مولکول‌هایی با عملکردهای فیزیولوژیک شبیه هورمون‌ها در نظر گرفته می‌شوند.

تقریباً تمام شرایط پاتولوژیک تحت تأثیر میکروRNA ها قرار دارند. برای مثال، شرایط پاتولوژیک مانند انفارکتوس میوکارد (MI^2)، آسیب کبدی و واکنش‌های التهابی می‌توانند سطوح سرمی میکروRNA ها را تغییر دهند. سطوح در گردش miR-208 و miR-499 خاص قلب در مدل‌های موشی MI و همچنین در سرم بیماران مبتلا به MI حاد افزایش می‌یابد. آسیب کبدی ناشی از واکنش‌های دارویی در مدل‌های موشی باعث افزایش سطوح پلاسمایی miR-122 و miR-192 می‌شود. سپسیس با کاهش سطوح miR-146a و miR-223 همراه است، در حالی که آرتریت روماتوئید و استئوآرتریت با کاهش miR-132 مرتبط هستند. در سرطان، میکروRNA های در گردش با تکامل بیماری، ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک و

1. Rhabdomyosarcoma
2. Myocardial infarction

پیش‌آگهی مرتبط بوده و پاسخ به دارو و عود بیماری را پیش‌بینی می‌کنند. برای مثال، miR-141 و miR-375 **بیومارکرهای پیشرفت سرطان** پروستات هستند و می‌توانند سرطان پروستات متاستاتیک را از نوع موضعی تفکیک کنند. به‌طور مشابه، miR-21، miR-73، miR-195 و let-7a با سرطان پستان و miR-21، miR-155 و miR-210 با لنفوم سلول B منتشر مرتبط هستند، در حالی که miR-1، miR-30d، miR-486 و miR-499 پیش‌آگهی سرطان ریه غیرسلول کوچک را پیش‌بینی می‌کنند.

۳-۱۱-۲. تغییرات میکروRNA در سرطان

میکروRNAها در همه انواع سرطان‌ها به‌صورت غیرطبیعی بیان می‌شوند. شبکه‌های سیگنالینگ مختلف، متیلاسیون DNA، جهش‌ها و پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی^۱ (SNPs) بیان آن‌ها را کنترل می‌کنند. مطالعات پروفایل‌های غیرتنظیمی عمومی میکروRNAها را در بسیاری از سرطان‌ها نشان دادند و هم‌چنین نشان داده شده است که بیان بیش از حد میکروRNA می‌تواند آغازگر توسعه سرطان باشد. تقریباً همه سرطان‌ها دارای بیان غیرطبیعی میکروRNAها هستند. این میکروRNAهای خاص سرطان که به‌صورت بالا یا پایین تنظیم می‌شوند، نقش مهمی در توسعه سرطان ایفا می‌کنند، از طریق تغییر انکوژن‌ها، ژن‌های سرکوبگر تومور و در نتیجه مسیرهای سیگنالینگ خاص سرطان. پروفایل‌های بیان میکروRNA همچنین به‌عنوان **بیومارکرهای مهم** برای ارزیابی ریسک، غربالگری یا تشخیص، انتخاب درمان، پیش‌آگهی و پایش سرطان عمل می‌کنند. در برخی موارد، پروفایل‌های بیان میکروRNA به‌قدری خاص هستند که می‌توانند محل اولیه/بافت منشأ را در بیماران با سرطان‌های با منشأ ناشناخته مشخص کنند.

میکروRNAها در سلول‌های زایا نیز بیان می‌شوند. بیان غیرطبیعی در سلول زایا ممکن است افراد را مستعد ابتلا به سرطان‌های خاص کند. SNPs در ژن‌های میکروRNA نادر هستند؛ با این حال، حضور SNPs در میکروRNA یا ژن‌های هدف آن‌ها با افزایش خطر تکامل سرطان مرتبط است و چنین **بیومارکرهایی** در طبقه‌بندی ریسک سرطان اهمیت دارند. این میکروRNAهای مرتبط با ریسک معمولاً در مناطق ژنومی مرتبط با سرطان (CAGRs^۲) یافت می‌شوند. ناهنجاری‌های ژنومی شامل از دست دادن هتروزیگوسیتی، حذف‌ها، نقاط

1. Single nucleotide polymorphisms
2. Compound Annual Growth Rate

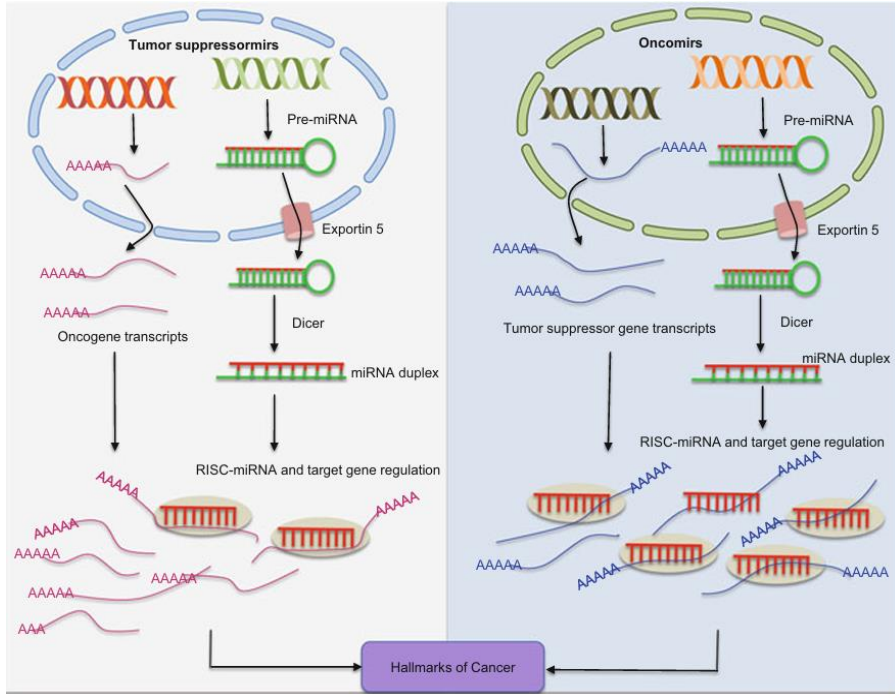
شکست و سایر بازآرایی‌ها بر بیان میکروRNA تأثیر می‌گذارند. به عنوان مثال، SNP rs895819 در pre-miR-27a خطر سرطان پستان را کاهش می‌دهد، در حالی که SNP rs11614913 در pre-miR-196a-2 این خطر را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، در زنان آفریقایی-آمریکایی، SNPs rs2008591 و rs887205 در miR-185 به صورت معکوس با خطر سرطان پستان مرتبط هستند، در حالی که rs4938723 در miR-34b/34c و rs6920648 در miR-206 ممکن است پیش‌بینی‌کننده‌های بقا باشند. همچنین، SNP rs2910164 در رشته 3' UTR -146a miR خطر ابتلا به سرطان پاپیلاری تیروئید را افزایش می‌دهد؛ SNP rs531564 در pri-miR-124-1 خطر ابتلا به سرطان مثانه و مری را افزایش می‌دهد؛ و SNP در UTR 3' ژن KRAS که بر اتصال let-7 تأثیر می‌گذارد، خطر سرطان ریه را در سیگاری‌های متوسط افزایش می‌دهد. چندین آлл مرتبط با ریسک شناسایی شده‌اند. بنابراین، مطالعات اعتبارسنجی برای تأیید این ارتباطات و نقش آن‌ها در زیست‌شناسی سرطان مورد نیاز است.

۴-۱۱-۲. عملکردهای انکوژنیک و سرکوبگر تومور میکروRNA ها

میکروRNAها می‌توانند به عنوان انکوژن یا سرکوبگر تومور عمل کنند. میکروRNAهای انکوژنیک در سلول‌های سرطانی بیش‌بیان شده و ژن‌های سرکوبگر تومور را هدف تخریب قرار می‌دهند تا تشکیل تومور را ترویج کنند. از سوی دیگر، بیان بالای میکروRNAهای سرکوبگر تومور با غیرفعال کردن انکوژن‌ها از رشد تومور جلوگیری می‌کند و بنابراین در سلول‌های سرطانی به طور کلی کم‌بیان هستند (شکل ۳-۲).

میکروRNAهای غیرتنظیمی متعددی در سرطان وجود دارند. در اینجا تنها چند مورد برای نشان دادن نقش مهم آن‌ها در سرطان ارائه شده است. به عنوان مثال، miR-21 در تعدادی از سرطان‌ها بیش‌بیان شده و ژن‌های متعددی از جمله ژن‌های سرکوبگر تومور PTEN و PDCD4 را هدف قرار می‌دهد. به طور مشابه، miR-10b در تومورها بیش‌بیان شده و HOXD10 را سرکوب می‌کند تا رشد تومور و متاستاز را ترویج دهد. خوشه miR-17-92 با هدف قرار دادن ژن‌هایی مانند PTEN و RAB14، تکثیر سلولی، آنژیوژنز و بقای تومور را افزایش می‌دهد. میکروRNAهای سرکوبگر تومور شامل اعضای خانواده let-7 هستند. آن‌ها با تنظیم انکوژن‌هایی مانند HMGA2 و RAS رشد سرطان را مهار می‌کنند، در حالی که خانواده miR-34 بخشی از شبکه تنظیمی TP53 است که در کنترل چرخه سلولی و آپوپتوز

نقش دارد. بنابراین، miR-34 با مهار SIRT1 سطوح p53 را افزایش می‌دهد و در نتیجه بیان تنظیم‌کننده چرخه سلولی p21 و PUMA که در آپوپتوز سلولی نقش دارند را افزایش می‌دهد.



شکل ۳-۲. عملکردهای انکوئیر و miRNAها سرکوبگر تومور (Atonu Chakraborty, 2023).

عملکردهای انکوژنیک و سرکوبگر تومور میکروRNAها وابسته به زمینه است. یک میکروRNA ممکن است بسته به نوع سلول یا سرطان خاص به‌عنوان انکوژن یا سرکوبگر تومور عمل کند. miR-125b نمونه کلاسیکی است. در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان و سرطان‌های پستان، تیروئید و تخمدان، نقش سرکوبگر تومور دارد و بنابراین کم‌بیان است. به‌عنوان سرکوبگر تومور، miR-125b تکثیر سلولی و پیشرفت چرخه سلولی را در این تومورها و خطوط سلولی آن‌ها مهار می‌کند. از سوی دیگر، miR-125b در سرطان پروستات، نوروبلاستوما، گلیوبلاستوما و سرطان‌های تیروئید انکوژنیک است و در این موارد بیش‌بیان می‌شود. وقتی miR-125b بیش‌بیان شود، آپوپتوز را به‌صورت وابسته به p53 مهار کرده و تکثیر و تهاجم سلولی را افزایش می‌دهد. میکروRNAهای دیگر با چنین عملکردهای دوگانه شامل miR-181a، miR-181c و miR-220 هستند. دوباره، اهداف فراوان و نبود

سیگنال‌های هدف‌گیری خاص، همراه با عملکردهای همپوشان و اضافی میکروRNAها، ممکن است تا حدی این انعطاف‌پذیری عملکردی را توضیح دهد.

۵-۱۱-۲. اهداف میکروRNA در سرطان

میکروRNAها طیف گسترده‌ای از ژن‌ها را هدف قرار می‌دهند تا اثرات پاتولوژیک مولکولی خود را در سرطان واسطه‌گری کنند. در حال حاضر، در انسان‌ها، ۳۸,۱۱۳ تعامل میکروRNA-ژن هدف وجود دارد که توسط ۵۸۷ میکروRNA و ۱۲,۱۹۴ ژن هدف هماهنگ می‌شوند.

میکروRNA حفاظت‌شده let-7 (سرکوبگر تومور) مستقیماً انکوژن RAS را هدف قرار می‌دهد. بنابراین، سطوح let-7 در چندین سرطان از جمله سرطان‌های پوست، معده، روده بزرگ، ریه، تخمدان و تومورهای خوش‌خیم رحم (میوما) به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافته و این سطوح با افزایش بیان RAS همبستگی دارند. کاهش سطوح let-7 تشکیل کلونی رده‌های سلولی سرطانی را در شرایط آزمایشگاهی ترویج می‌دهد و همچنین با کاهش قابل‌توجه بقای بیماران مبتلا به سرطان ریه مرتبط است. میکروRNAهای ۲۲۱ و ۲۲۲ که در کروموزوم X قرار دارند، ژن‌های سرکوبگر تومور PTEN و CDKN1B را مستقیماً هدف قرار داده و مهار می‌کنند تا پیشرفت چرخه سلولی، رشد سلولی و تهاجم را ترویج دهند. این میکروRNAها در گلیوبلاستوما، کارسینوم هیپاتوسلولار و سرطان تخمدان بیش‌بیان هستند. miR-21، miR-155، miR-196a و miR-210 در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان پانکراس افزایش یافته و پیامدهای بیولوژیک دارند. miR-196a در سرطان پانکراس ارزش پیش‌آگهی دارد. miR-21 ژن‌های PTEN و PDCD4 را هدف قرار می‌دهد. miR-155 بیان TP53INP1 را سرکوب می‌کند، در حالی که miR-210 از طریق مکانیسم‌های واسطه‌گری شده توسط HIF-1- α توسط هیپوکسی القا می‌شود. miR-1 در سرطان ریه بیان کمی دارد و اهداف آن شامل انکوژن MET و HDAC4 هستند. این تغییرات با افزایش تکثیر و مهاجرت سلولی مرتبط هستند.

۶-۱۱-۲. اقدامات احتیاطی در تجزیه و تحلیل میکروRNA

میکروRNAهای در گردش پتانسیل بالینی قوی در تحقیقات ترجمانی و توسعه محصول دارند. با این حال، اختلافاتی بین مطالعات مختلف میکروRNA در مایعات بدن وجود دارد. دلایل متعددی برای این موضوع وجود دارد. یکی از آن‌ها نبود روش‌های عملیاتی استاندارد

برای تجزیه و تحلیل میکروRNA با استفاده از مایعات بدن است. بنابراین، مسائل تحلیلی و حتی بیولوژیکی (مانند تغییرات فیزیولوژیک میکروRNAها) تا حدی مسئول عدم یکنواختی داده‌ها هستند. در زیر برخی از این مسائل که نیاز به توجه دقیق در تجزیه و تحلیل میکروRNA دارند، آورده شده است:

- نمونه‌های رایج از نظر فراوانی شامل سرم، پلاسما، خون کامل و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMCs) هستند. انتخاب نمونه می‌تواند بر نتایج مطالعه تأثیر بگذارد. در حالی که همبستگی خوبی بین سطوح میکروRNA در سرم و پلاسما وجود دارد، باید توجه داشت که عناصر تشکیل‌دهنده خون حاوی میکروRNA هستند که می‌توانند میکروRNAهای خاص بیماری را در گردش خون مخفی کنند. بنابراین، در موقعیت‌هایی که سؤال تحقیق نیازی به چنین تداخلی ندارد، باید از خون کامل و PBMCs اجتناب شود.
- پردازش دقیق خون برای جلوگیری از همولیز و فعال‌سازی یا آلودگی پلاکتی ضروری است. همولیز با افزایش miR-15b و miR-16 همراه است، در حالی که آلودگی پلاکتی به‌طور غیرطبیعی سطوح miR-223 را افزایش می‌دهد.
- روش‌های عملیاتی استاندارد باید برای استخراج RNA و سایر تجزیه و تحلیل‌های پایین‌دستی ایجاد شود. پروتکل‌های مختلف استخراج RNA باعث تغییرپذیری در میکروRNAهای شناسایی شده می‌شوند. به‌عنوان مثال، استخراج با معرف TRIzol باعث از دست رفتن میکروRNAهایی با محتوای گوانین و سیتوزین پایین می‌شود.
- ساختار و توالی میکروRNA چالش‌های منحصربه‌فردی در مطالعات پروفایلینگ بیان ژن با استفاده از qPCR و میکروآرایه ایجاد می‌کند. میکروRNAهای یک خانواده با تغییرات توالی اندک به‌ویژه نگران‌کننده هستند، زیرا تفاوت‌های ۱-۲ نوکلئوتیدی در انتهای ۳ می‌تواند به‌صورت کاذب باعث تفاوت در سطوح بیان شود. علاوه بر این، تفاوت‌های توالی بر واکنش‌های آنزیمی (مانند لیگازها) و دماهای اتصال پرایمرها و پروب‌ها تأثیر می‌گذارند که می‌تواند برخی میکروRNAها را نسبت به دیگران ترجیح دهد.

- تفاوت‌های پلتفرم یکی دیگر از ملاحظات در تجزیه و تحلیل میکروRNA است. مطالعات miRNome به تجزیه و تحلیل اولیه نمونه‌های کوچک بین موارد و کنترل‌ها وابسته است، و سپس **بیومارکر**های اولویت‌بندی‌شده برای اعتبارسنجی و مطالعات با نمونه‌های بزرگ استفاده می‌شوند. پلتفرم‌های متنوعی در این مطالعات اکتشافی اولیه استفاده می‌شوند، از جمله میکروآرایه‌ها (Microarrays)، توالی‌یابی نسل بعدی (Next-Generation Sequencing) و آرایه‌های میکروفلوئیدی (arrays microfluidic). این پلتفرم‌ها از نظر حساسیت و ویژگی تحلیلی متفاوت هستند و بنابراین حتی با استفاده از نمونه‌های یکسان، مجموعه‌های داده متفاوتی تولید می‌کنند.

- **بیومارکر**های امیدوارکننده از مطالعات miRNome باید با استفاده از استاندارد طلایی، qPCR، مطابق با دستورالعمل‌های حداقل اطلاعات برای انتشار آزمایش‌های Real PCR time (MIQE¹) اعتبارسنجی شوند. مسئله حل‌نشده برجسته نرمال‌سازی است. محققان مختلف از روش‌های متفاوتی استفاده می‌کنند. این روش‌ها شامل افزودن میکروRNAهای خارجی به واکنش، استفاده از سایر RNAهای کوچک (غیر میکروRNA) و استفاده از میکروRNAهایی که بین نمونه‌ها بیان تفاوتی ندارند، می‌شود.

بنابراین، استانداردسازی در تجزیه و تحلیل میکروRNA با استفاده از مایعات بدن مورد نیاز است. این هدایت علمی ضروری می‌تواند پتانسیل واقعی میکروRNAهای در گردش را شکوفا کند.

۷-۱۱-۲. میکروRNA غیرانسانی در گردش

در حالی که زمینه تجزیه و تحلیل میکروRNA با کاربردهای بالینی بالقوه شکوفا شده است، شواهد اخیر نشان‌دهنده احتمال آلودگی از منابع خارجی است. میکروRNA از گیاهان خورده‌شده نشان داده شده است که از سد روده-خون^۲ عبور کرده و وارد گردش خون می‌شود. علاوه بر این، این میکروRNAها مولکول‌های غیرفعال نیستند، بلکه نشان داده شده است که عملکردهای فیزیولوژیک را تنظیم می‌کنند. miR-168a که در برنج فراوان است، معمولاً در سرم افراد چینی یافت می‌شود. مطالعات عملکردی نشان می‌دهند که miR-168a به

1. The Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments
2. Gut-blood barrier

رونوشت‌های پروتئین آداپتور گیرنده لیپوپروتئین (مانند LDLRAP1) متصل می‌شود و در نتیجه سطوح LDLRAP1 را کاهش می‌دهد. نتیجه این امر افزایش LDL پلاسما است، زیرا پاکسازی آن توسط LDLRAP1 کاهش می‌یابد. در واقع، با استفاده از توالی‌یابی نسل بعدی، تخمین زده شده است که حدود ۴۰ درصد از RNAهای در گردش منشأ غیرانسانی دارند. آن‌ها عمدتاً از منابع میکروبی و غذایی رایج هستند. بنابراین، میکروRNAهای در گردش که از نظر بالینی مفید هستند باید نشان داده شوند که منشأ بیماری دارند. این واقعیت که میکروRNAهای خورده‌شده می‌توانند جذب شوند، امکان تحویل RNAهای غیرکدکننده درمانی قابل خوردن و غیرقابل هضم را باز می‌کند.

۱۲-۲. سایر RNAهای غیرکدکننده کوچک در گردش

سایر RNAهای غیرکدکننده کوچک سطوح متفاوتی در گردش خون بیماران سرطانی در مقایسه با کنترل‌ها نشان می‌دهند. سطوح RNA هسته‌ای کوچک (snRNA^۱)، در خون زنان مبتلا به سرطان تخمدان در مقایسه با کنترل‌ها افزایش یافته و این با پاسخ به شیمی‌درمانی مرتبط بود. شش RNA نوکلئولار کوچک^۲ (snoRNA) در پلاسمای بیماران مبتلا به NSCLC^۳ افزایش یافته بودند. اهمیت واقعی این RNAهای غیرکدکننده کوچک در سرطان نیازمند بررسی بیشتر است.

۱۲-۱-۲. بیان LncRNAها در سرطان

تعدادی از RNAهای غیرکدکننده بلند (LncRNA^۴) در انواع مختلف سرطان‌ها بیان غیرتنظیمی نشان می‌دهند. برخی از این LncRNAها به‌طور خاص به نوع خاصی از سرطان (مانند PCA^۵ و سرطان پروستات) مرتبط هستند که آن‌ها را به **بیومارکرهای تشخیصی** جذاب تبدیل می‌کند. با این حال، بسیاری از آن‌ها در طیف گسترده‌ای از سرطان‌ها تغییرات بیانی نشان می‌دهند و بنابراین به‌عنوان **بیومارکرهای پیش‌آگهی**، انتخاب درمان یا پیش‌پیش‌بینی درمان مفیدتر هستند تا **بیومارکرهای تشخیصی**.

1. Small nuclear RNA
2. Small nucleolar RNA
3. Non-Small Cell Lung Cancer
4. Long non-coding RNAs
5. Prostate cancer antigen 3

در سرطان معده، LncRNA AA174084 در ۷۱ درصد از بافت‌های سرطانی بیماران در مقایسه با بافت طبیعی معده (~۳,۱۸ برابر) کاهش بیان دارد. سطوح کاهش یافته با تهاجمی بودن تومور مرتبط است. به عنوان یک **بیومارکر تشخیصی**، AA174084 حساسیت ۵۷ درصد، ویژگی ۷۳ درصد و AUROC نسبتاً خوب ۰,۶۷ را به دست آورد. تعدادی از LncRNA ها مانند HOTAIR، MVIH و MALAT1 در سرطان کبد غیرتنظیمی هستند. با این حال، یک **بیومارکر** امیدوارکننده در کارسینوم هپاتوسلولار، LncRNA به نام Highly Upregulated in Liver Cancer (HULC) است. بیش بیان HULC در HCC^۱ دارای AUROC تشخیصی ۰,۸۶ است و سطوح افزایش یافته با تومورهای تهاجمی مرتبط است. به طور مشابه، افزایش بیان MVIH با مرحله بالاتر تومور-گره-متاستاز و کاهش بقای بدون عود و بقای کلی مرتبط است. علاوه بر این، بیش بیان HOTAIR در HCC عود تومور پس از پیوند کبد را پیش بینی می کند.

LncRNA Urothelial Carcinoma Associated 1 (UCA1) یک **بیومارکر** بالقوه خاص برای سرطان اوروتلیال است. این LncRNA در بافت‌های توموری به شدت بیان می شود و می تواند سرطان مثانه را از سرطان‌های غیراوروتلیال مانند کارسینوم سلول کلیوی تمایز دهد. PCA3/DD3 در بافت‌های سرطان پروستات اولیه در مقایسه با پروستات غیر بدخیم به شدت بیان می شود و این به نظر می رسد خاص سرطان پروستات باشد، زیرا در تومورهای با منشأ غیرپروستاتیک قابل تشخیص نیست. به عنوان یک **بیومارکر تشخیصی**، PCA3 بیان شده در بافت توانست 0.98 AUROC^۲ را به دست آورد. این **بیومارکر** از آن زمان به عنوان یک **بیومارکر** تشخیصی ادراری برای سرطان پروستات توسعه یافته است، اگرچه عملکرد آن در مقایسه با آزمایش بافتی کمتر است.

HOTAIR و MALAT1 در بسیاری از انواع سرطان‌ها بیان غیرتنظیمی نشان می دهند. MALAT1 در سرطان‌های ریه، معده، کبد و کولورکتال بیش بیان می شود و سطوح بالای آن با پیش آگهی ضعیف در سرطان کولورکتال و سرطان سلول روشن کلیه مرتبط است. به همین ترتیب، HOTAIR در سرطان‌های پستان، ریه و گوارشی بیش بیان می شود. سطوح بالای این LncRNA در بافت‌های توموری، پتانسیل متاستاتیک و پیش آگهی ضعیف را پیش بینی می کند.

1. Hepatocellular carcinoma

2. Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve

۲-۱۲-۲. جهش‌های LncRNA در سرطان

علاوه بر تغییرات در بیان LncRNA ها، جهش‌هایی در توالی‌های اولیه این رونوشت‌ها نیز با سرطان مرتبط هستند. مکان‌های پرخطر سرطان که توسط مطالعات هم‌خوانی گسترده ژنومی (GWAS^۱) شناسایی شده‌اند، عمدتاً در نواحی غیرکدکننده ژنوم قرار دارند. در واقع، تجزیه و تحلیل جامع کاتالوگ GWAS تعداد ۳۰۱ پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (SNP) مرتبط با خطر سرطان را شناسایی کرد. از این ۳۰۱ SNP سرطانی، تنها ۱۲ مورد اگزونها را در بر می‌گرفتند و اکثریت در توالی‌های بین‌ژنی غیرکدکننده (۴۴ درصد) و درون‌ژنی (۴۰ درصد) یافت شدند، که نشان‌دهنده احتمال افزایش دخالت آن‌ها در RNA های غیرکدکننده است. چند نمونه خاص از SNP های مرتبط با LncRNA در برخی سرطان‌ها ارائه شده است.

در HCC، rs7763881 SNP در HULC به‌طور قابل‌توجهی با کاهش خطر HCC مرتبط است. علاوه بر این، rs10680577 در LncRNA RERT به پیشرفت سرطان کبد کمک می‌کند. مکان‌های خطر سرطان پاپیلاری تیروئید (PTC^۲)، q13.3۱۴ شامل LncRNA سرکوبگر تومور PTCSC3^۳ است. بیان ژن‌های دخیل در همانندسازی و ترمیم DNA، مرگ سلولی، تحرک سلولی و مورفولوژی تومور را تنظیم می‌کند. یک SNP خاص، rs944289 در PTCSC3 با تعامل پروموتور آن با C/EBP تداخل ایجاد می‌کند و منجر به کاهش بیان آن می‌شود. بنابراین، در سرطان پاپیلاری تیروئید، این SNP باعث کاهش شدید بیان PTCSC3 می‌شود.

یک نقطه داغ^۴ مهم GWAS در فاصله ۱۲۶ کیلوبازی ANRIL LncRNA قرار دارد که در بیماری‌های مختلفی از جمله بیماری‌های عروقی، دیابت نوع ۲، گلوکوم و سرطان (مانند سرطان پستان) دخیل است. جایگاه ANRIL در مجاورت جایگاه ژن p14/ARF قرار دارد. این LncRNA با پروتئین‌هایی تعامل می‌کند تا هیستون‌ها را به‌صورت اپی‌ژنتیکی اصلاح کرده و ژن‌هایی مانند p15/CDKN2B، p16/CDKN2A و p14/ARF را سرکوب کند تا پیشرفت چرخه سلولی متوقف شود. SNP های در ANRIL که ممکن است تعامل آن با DNA و پروتئین‌ها را مختل کنند، شناسایی شده‌اند. به‌طور جالب، این SNP ها به‌صورت

1. genome-wide association study
2. Papillary thyroid cancer
3. PTC Susceptibility Candidate 3
4. Hot spot

بیماری محور دسته‌بندی می‌شوند که ممکن است عملکردهای متفاوت در بافت‌های مختلف را توضیح دهد. به عنوان مثال، SNPها در انتهای ۳ با پاتولوژی‌های عروقی مرتبط هستند، در حالی که آن‌هایی در انتهای ۵، که ممکن است در کنترل چرخه سلولی دخیل باشند، با خطر سرطان مرتبط هستند.

۳-۱۲-۲. LncRNAهای در گردش در بیماران سرطانی

LncRNAهای غیرتنظیمی در انواع سلول‌های سرطانی در سطوح آن‌ها در مایعات بدن نیز منعکس می‌شوند. این LncRNAها عمدتاً در گردش خون محیطی و ادرار به عنوان **بیومارکرها**ی سرطان کمی‌سازی شده‌اند.

سطوح پلاسمایی LncRNA H19 در بیماران مبتلا به سرطان معده به طور قابل توجهی بالاتر از افراد سالم بود. در HCC، پتانسیل تشخیصی تعدادی از LncRNAهای در گردش بررسی شده است. HULC که در بافت‌های توموری بیش‌بین می‌شود، به همان اندازه در پلاسمای بیماران HCC افزایش یافته است. سایر **بیومارکرها**ی تشخیصی غیرتهاجمی HCC شامل سطوح پلاسمایی افزایش یافته RP11-160H22.5، LOC149086 و XLOC_014172 هستند. به عنوان یک پنل، این سه LncRNA عملکرد تشخیصی با حساسیت ۸۲ درصد، ویژگی ۷۳ درصد را در اختیار داشتند. علاوه بر این، LOC149086 و XLOC_014172 **بیومارکرها**ی احتمالی پیش‌بینی متاستاز با دقت تمایز ۹۱ درصد، ۹۰ درصد و ۰٫۹۳۴ به ترتیب در حساسیت، ویژگی و AUROC هستند. LncRNA سرمی دیگر، AF085935، می‌تواند بیماران HCC را از افراد سالم و افراد مبتلا به HBV تمایز دهد.

LncRNAهای در گردش به عنوان **بیومارکرها**ی سرطان پروستات نیز نویدبخش بوده‌اند. PCA3 در گردش به نظر می‌رسد یک **بیومارکر پیش‌آگهی** باشد، زیرا سطوح افزایش یافته با بیماری تهاجمی، همان‌طور که با امتیازات گلیسون نشان داده شده، همبستگی دارد. سطوح پلاسمایی MALAT1 نیز با سرطان پروستات مرتبط است. تعداد کپی بالای این رونوشت‌ها در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان پروستات حساسیت تشخیصی ۵۸٫۶ درصد، ویژگی ۸۴٫۸ درصد و AUROC 0.863 را به دست آورد. نمونه‌های پلاسمایی از بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن و مولتیپل میلوما سطوح متفاوتی از MALAT1، HOTAIR، GAS5 و TUG1 و linc-p21 را نشان می‌دهند.

۴-۱۲-۲. lncRNA در مایعات بدن مرتبط با بافت در بیماران مبتلا به سرطان

علاوه بر گردش خون محیطی، lncRNA ها در مایعات بدن مرتبط با بافت در بیماران مبتلا به سرطان نیز مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. سطوح شش lncRNA، از جمله HOTAIR و MALAT1، در بزاق بیماران مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی دهان در مقایسه با افراد سالم متفاوت بود. lncRNA مرتبط با سرطان معده، AA174084، در نمونه‌های شیره معده به‌عنوان یک نشانگر تشخیصی مورد بررسی قرار گرفته است. سطوح این lncRNA در نمونه‌های بیماران مبتلا به سرطان به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از نمونه‌های افراد سالم و بیماران با ضایعات دیگر مخاط معده بود. در حالی که AA174084 در پلاسما تمایزدهنده نیست، سطوح متفاوت آن در شیره معده حساسیت، ویژگی به ترتیب ۴۶ درصد، ۹۳ درصد را به دست آورد. lncRNA که به‌طور گسترده در نمونه‌های ادراری به‌عنوان نشانگر زیستی سرطان پروستات مورد مطالعه قرار گرفته، PCA3 است که در حال حاضر توسط FDA به‌عنوان یک نشانگر تشخیصی کمکی برای سرطان پروستات تأیید شده است.

۵-۱۲-۲. lncRNA در وزیکول‌های خارج‌سلولی مشتق از سرطان

اگرچه هنوز درک کاملی از بیوژنز آن‌ها نداریم، lncRNA ها ممکن است به‌صورت انتخابی در وزیکول‌های خارج‌سلولی (اگزوزوم‌ها) بارگذاری شوند و مشابه miRNA ها برای ارتباطات بین‌سلولی استفاده شوند. استفاده از توالی‌یابی عمیق، نشان داده است که محتوای RNA در اگزوزوم‌های پلاسما داوطلبان سالم حاوی ۳,۳۶ درصد lncRNA ها از کل محتوای RNA اگزوزومی در این گروه را تشکیل می‌دهند. در واقع، PCA3 قبلاً در اگزوزوم‌های ادراری بیماران مبتلا به سرطان پروستات شناسایی شده بود.

lncRNA های اگزوزومی به‌عنوان نشانگرهای زیستی سرطان معرفی شده‌اند. در بیماران مبتلا به سرطان معده، سطوح lncRNA LINC00152 بین نمونه‌های پلاسما و اگزوزوم‌های مشتق از پلاسما تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد، که نشان می‌دهد تقریباً تمام این lncRNA در اگزوزوم‌ها در حال گردش است و نه به‌صورت RNA آزاد یا بدون پوشش. به‌عنوان یک نشانگر تشخیصی سرطان معده، LINC00152 حساسیت ضعیفی (۴۸,۱ درصد) داشت، اما ویژگی بهتری (۸۵,۲ درصد) را نشان داد. همچنین، lncRNA-p21 اگزوزومی در مردان مبتلا به سرطان پروستات افزایش یافته و می‌تواند مردان مبتلا به سرطان پروستات را از افراد با هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات تمایز دهد. lncRNA های اگزوزومی ممکن است

به‌عنوان نشانگرهای پیش‌آگهی نیز عمل کنند. HOTAIR اگزوزومی مشتق از سرم در بیماران مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی حنجره که متاستاز گره لنفاوی داشتند، در مقایسه با بیمارانی بدون متاستاز افزایش یافته بود. افزایش سطوح HOTAIR اگزوزومی همچنین با پیشرفت بیماری همخوانی داشت.

۱۳-۲. ژنتیک میتوکندریایی و سرطان

نارسایی میتوکندری در تبدیل سلولی و حفظ ویژگی‌های بارز سلول‌های سرطانی نقش دارد. تغییر در متابولیسم واسطه‌ای، افزایش استرس اکسیداتیو و مقاومت در برابر آپوپتوز از ویژگی‌های کلیدی سلول‌های سرطانی هستند. چندین دهه پیش، اتو واربورگ (۱۹۳۱) مشاهده کرد که برخلاف سلول‌های طبیعی که گلوکز کمتری مصرف کرده و در حضور اکسیژن از طریق زنجیره تنفسی (که کارآمدترین روش تولید انرژی است) لاکتات کمتری تولید می‌کنند، سلول‌های سرطانی گلوکز اضافی را متابولیزه کرده و لاکتات اضافی تولید می‌کنند. این پدیده به‌عنوان گلیکولیز هوازی یا اثر واربورگ شناخته می‌شود. در سلول‌های طبیعی، پیروات تولیدشده از گلیکولیز وارد میتوکندری شده و در چرخه کربس اکسید می‌شود. با این حال، میتوکندری‌های معیوب سلول‌های سرطانی قادر به حذف پیروات نیستند، بنابراین پیروات تجمع یافته و توسط لاکتات دهیدروژناز به اسید لاکتیک تبدیل می‌شود. لاکتات اضافی محیط تومور را اسیدی می‌کند که به تهاجم تومور کمک می‌کند. درک مکانیسم‌های مولکولی اثر واربورگ در حال حاضر در زیست‌شناسی سرطان مورد توجه قرار گرفته است. این تغییر متابولیکی ظاهراً تا حدی ناشی از فعالیت ناکارآمد زنجیره تنفسی است که احتمالاً از جهش‌های ژنوم میتوکندریایی ناشی می‌شود و ممکن است یک مکانیسم تطبیقی باشد که به تومورهای جامد اجازه می‌دهد در محیط‌های نامطلوب مانند کاهش اکسیژن زنده بمانند.

شواهد مهمی برای نقش میتوکندری‌ها در فرآیند تبدیل بدخیم از کشف جهش‌هایی در ژن‌های هسته‌ای که پروتئین‌های میتوکندریایی را کد می‌کنند و با برخی انواع تومورهای انسانی مرتبط هستند، به دست آمده است. لیومیموم رحمی و کارسینوم سلول کلیوی با جهش‌هایی در آنزیم میتوکندریایی فومارات دهیدراتاز مرتبط شده‌اند، در حالی که جهش‌هایی در زیرواحدهای B، C یا D سوکسینات دهیدروژناز^۱ (SDH)، سه زیرواحد از چهار زیرواحد

کمپلکس II زنجیره تنفسی، با پاراگانگلیوما مرتبط هستند. شواهد بیوشیمیایی نشان می‌دهد که جهش‌های این ژن‌ها می‌توانند حداقل دو نقص عمده ایجاد کنند. اول، کاهش متابولیسم سوکسینات و فومارات باید منجر به تجمع این متابولیت‌ها در سیتوزول شود که می‌تواند فاکتور رونویسی القا شونده توسط هیپوکسی ۱ آلفا ($HIF-1\alpha$) را پایدار کند و این فاکتور به نوبه خود می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در پیشرفت تومور را القا کند. علاوه بر این، محیط هیپوکسیک تومور نیز می‌تواند بیان $HIF-1\alpha$ را القا کند که به‌طور بالقوه تغییر متابولیسم سلول‌های توموری به سمت گلیکولیز هوازی را تحریک می‌کند. دوم، عملکرد اصلی کمپلکس II میتوکندریایی دریافت و انتقال الکترون‌ها از سوکسینات به یوبی‌کینون است. بنابراین، جهش‌هایی که عملکرد طبیعی کمپلکس II را مختل می‌کنند، می‌توانند جریان الکترون‌ها را در زنجیره تنفسی متوقف کرده و منجر به تجمع اضافی الکترون‌ها در میتوکندری شوند. نشت الکترون‌ها از زنجیره تنفسی اکسیژن را به آنیون سوپراکسید تبدیل می‌کند و بدین ترتیب آبشار تولید گونه‌های فعال اکسیژن^۲ (ROS) را آغاز می‌کند. از آنجا که ROS می‌تواند رشد تومور را القا و تقویت کند، تغییرات در کمپلکس I یا II میتوکندری از طریق جهش‌هایی در زیرواحدهای گذشته توسط هسته یا میتوکندری می‌تواند توسعه تومور را تحریک یا تقویت کند.

مقاومت سلول‌های سرطانی به آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی یکی از تغییرات جذاب میتوکندری‌های سلول‌های سرطانی است. آپوپتوز یک مکانیسم هموستاتیک است که در آن سلول‌ها بدون ایجاد واکنش‌های التهابی از بین می‌روند. مسیر آپوپتوزی ذاتی یا میتوکندریایی با فعال‌سازی منفذ انتقال نفوذپذیری میتوکندریایی ($mtPTP^3$)، یک کمپلکس متشکل از سیکلوفیلین D، BCL2، BAX، انتقال‌دهنده نوکلئوتید آدنین^۴ غشای داخلی و کانال وابسته به ولتاژ غشای خارجی، آغاز می‌شود. $mtPTP$ فعال‌شده منجر به آزادسازی فاکتورهای پروآپوپتوزی میتوکندریایی از جمله سیتوکروم c، پروکاسپاز ۹، SMAC/DIABLO، فاکتور القاکننده آپوپتوز (AIF^5) و اندونوکلئاز G به سیتوزول می‌شود. سیتوکروم c با APAF1 و پروکاسپاز ۹ تعامل کرده و آپوپتوزوم را تشکیل می‌دهد که سپس کاسپاز ۹ و در نهایت کاسپاز اجرایی (کاسپاز ۳) را فعال می‌کند، در حالی که SMAC/DIABLO از طریق مهار

1. Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha
2. Reactive oxygen species
3. Mitochondrial permeability transition pore
4. Adenine nucleotide translocator
5. Apoptosis-inducing factor

مهارکننده‌های آپوپتوز (IAPs) کاسپاز ۳ را فعال می‌کند. فاکتور القاکننده آپوپتوز و اندونوکلاز G به هسته منتقل شده و تکه‌تکه شدن DNA را القا می‌کنند. ارتباط مهم بین میتوکندری و سرطان این است که میتوکندری‌های سلول‌های سرطانی در برابر القای نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری که برای شروع آپوپتوز لازم است، مقاوم هستند.

نقش ژنوم میتوکندریایی (mtgenome) در زیست‌شناسی سرطان چندین دهه است که شناخته شده است. کلیتون و وینوگراد دیمرها و اولیگومرهای بالاتر^۱ mtDNA را در لکوسیت‌های در حال گردش بیماران مبتلا به لوسمی مشاهده کردند، اما نه در لکوسیت‌های بالغ طبیعی انسان. جالب توجه است که سطوح این اشکال غیرطبیعی مولکول‌های mtDNA با شیمی‌درمانی کاهش یافت. پس از این گزارش اولیه، چندین گروه تغییرات mtDNA را در انواع دیگر سرطان‌های انسانی مستند کردند. با این حال، هورتون و همکاران اولین شواهد مستقیم از نقش علی جهش‌های mtDNA در سرطان را ارائه کردند، با کشف حذف ۲۹۴ جفت‌بازی در زیرواحد ۱ دهیدروژناز NADH که با کارسینوم سلول کلیوی مرتبط بود. این حذف در ۵۰ درصد از ژنوم‌های میتوکندریایی تومور وجود داشت و احتمالاً از نظر عملکردی در اتیولوژی تومور اهمیت داشت، زیرا منجر به تولید پروتئین کوتاه‌شده شد.

۱-۱۳-۲. نارسایی میتوکندریایی و متاستاز سرطان

مطالعات مشارکت تغییرات ژنوم میتوکندریایی در زیست‌شناسی سرطان عمدتاً به آزمایش‌های ژنتیکی با استفاده از مدل‌های سایبرید انتقال میتوکندریایی^۲ و مدل‌های موشی زئوگرافت وابسته بوده‌اند. آزمایش‌های کلاسیک که شامل القای متاستاز با جایگزینی میتوکندری‌های سلول‌های با توانایی متاستاز پایین با میتوکندری‌های سلول‌های با توانایی متاستاز بالا بود، قابل توجه است. این فنوتیپ با افزایش استرس اکسیداتیو و بیان بیش از حد ژن‌های دخیل در بقا و آنژیوژن مرتبط بود. همچنین سایبریدهایی با جهش‌های mtDNA در مقایسه با سایبریدهایی با ژنوم‌های نوع وحشی، فرکانس بالاتری از متاستاز ریه را نشان دادند که تا حدی به دلیل محافظت این سلول‌ها از مرگ القاشده توسط استرس از طریق فعال‌سازی مسیر PI3K بود. شواهد بیشتری برای نقش استرس ردوکس القاشده توسط میتوکندری در سرطان‌زایی، یافته‌ای است که افزایش آن‌تیاکسیدانی کاتالاز در مدل سرطان پستان،

1. Mitochondrial DNA
2. Mitochondrial transfer hybrids

استرس اکسیداتیو میتوکندریایی را کاهش داد و با کاهش قابل توجه بار متاستاتیک در این مرتبط بود.

مکانیسم مولکولی دیگری که سلول‌های سرطانی ممکن است از طریق آن پتانسیل متاستاتیک را حفظ کنند، از طریق معکوس کردن پدیده واربورگ است. سلول‌های سرطانی متاستاتیک در گره‌های لنفاوی پراکسید هیدروژن اضافی ترشح می‌کنند تا استرس اکسیداتیو و در نتیجه اثر واربورگ را در سلول‌های استرومایی طبیعی القا کنند. لاکتات و اجسام کتونی اضافی تولیدشده توسط سلول‌های استرومایی سپس برای بازبرنامه‌ریزی سلول‌های سرطانی متاستاتیک به متابولیسم اکسیداتیو میتوکندریایی استفاده می‌شوند. حمایت بیشتری از این همکاری بین سلول‌های استرومایی و سلول‌های سرطانی متاستاتیک، یافته‌ای است که در آرایه‌های میکروسکوپی بافت سرطان پستان سه‌گانه منفی، رنگ‌آمیزی بالای استرومایی نشانگر گلیکولیتیک MCT4 با کاهش بقای بیمار مرتبط بود. با این حال، به‌طور شگفت‌انگیزی، مثبت بودن تومور برای MCT4 هیچ اهمیت پیش‌آگهی نداشت. همچنین نکته جالب برای زیست‌شناسی سرطان، یافته‌ای است که سلول‌های بنیادی سرطانی بیان‌کننده CD133 برای نیازهای انرژی خود عمدتاً به گلیکولیز وابسته هستند که با افزایش بیان Glut-1 مرتبط است. هدف قرار دادن این انتقال‌دهنده ممکن است رویکرد درمانی مفیدی باشد.

۲-۱۳-۲. تغییرات ژنوم میتوکندریایی در مایعات بدن بیماران سرطانی

تجزیه و تحلیل تغییرات mtDNA در مایعات بدن می‌تواند برای تشخیص زودهنگام سرطان، نظارت بر پیشرفت بیماری و پاسخ به درمان، یا طبقه‌بندی پیش‌بینی‌کننده بیماران برای درمان استفاده شود. آشکار است که تغییرات ژنوم میتوکندریایی ممکن است رفتار برخی تومورها را تعدیل کرده یا با آن‌ها مرتبط باشد. به عنوان مثال، تغییرات محتوای mtDNA با ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک سرطان‌های سر و گردن، تخمدان و آندومتر مرتبط است، جهش‌های D-loop با پیامدهای ضعیف در سرطان‌های پستان و کولورکتال مرتبط هستند، و سطوح ژنوم‌های میتوکندریایی در حال گردش در سرطان پروستات اهمیت پیش‌آگهی داشته و با پاسخ‌های درمانی تعدیل می‌شوند.

نمایش ظریف جهش‌های mtDNA در سرطان توسط گروه ووگلستین، و سپس کار برجسته گروه سیدرانسکی در تشخیص تغییرات ژنوم میتوکندریایی در مایعات بدن، به‌طور

متقاعدکننده‌ای ثابت کرد که تجزیه و تحلیل جهش‌های mtDNA در مایعات بدن روشی آسان، عملی و امکان‌پذیر برای ردیابی زودهنگام تغییرات ژنومی در سرطان است. در حال حاضر، چندین محقق دیگر نشان داده‌اند که جهش‌های خاص توموری در mtDNA در مایعات بدن نماینده اندام مرتبط با سرطان قابل تشخیص هستند. تغییرات ژنوم میتوکندریایی شناسایی شده در مایعات بدن انواع مختلف سرطان‌ها در جدول ۹-۲ خلاصه شده و در اینجا بحث شده‌اند.

جدول ۹-۲. تغییرات ژنوم میتوکندریایی بررسی شده در مایعات مختلف بدن بیماران سرطانی

تغییرات mtDNA در مایعات بدن	تومور اولیه	مایعات بدن
جهش‌های سوماتیک	سرطان کبد	سرم/پلاسما
جهش‌های سوماتیک	ملانوما	
جهش‌های سوماتیک	سرطان کلورکتال	
جهش‌های سوماتیک	سرطان پروستات	
افزایش mtDNA و mtRNA مرتبط با پیامدهای ضعیف	سرطان پروستات	
بالا بودن mtDNA در بیماران سرطانی	سرطان تخمدان	
بالا بودن mtDNA در بیماران سرطانی	سرطان بیضه	
جهش‌های سوماتیک	سرطان سر و گردن	بزاق
افزایش محتوای mtDNA در بیماران سرطانی؛ کاهش محتوای mtDNA با درمان	سرطان سر و گردن	
جهش‌های سوماتیک	سرطان ریه	شستشوی برونکوالونولار/خلط
جهش‌های سوماتیک	سرطان سینه	مایع آسپیراسیون نوک سینه
جهش‌های سوماتیک	سرطان مثانه	ادرار
جهش‌های سوماتیک	سرطان کلیه	
جهش‌های سوماتیک	سرطان پروستات	
جهش‌های سوماتیک	مدولوبلاستوما	CSF
جهش‌های سوماتیک	سرطان پانکراس	شیره پانکراس

۳-۱۳-۲. mtDNA توموری در گردش خون

امکان تشخیص جهش‌های mtDNA مشتق از تومور در مایعات بدن در حال گردش در سرطان‌های ملانوما، کولورکتال و کبد بررسی شده است. مطالعه ب روی جهش‌های mtDNA در ناحیه D-loop نمونه‌های ملانوما و پلاسمای جفت‌شده نشان داد چهل و دو درصد تومورها دارای جهش‌های D-loop بودند که دو درصد از این جهش‌ها در نمونه‌های پلاسمای جفت‌شده شناسایی شدند. تغییرات ژنوم میتوکندریایی در گردش خون بیماران مبتلا به سرطان‌های کولورکتال، کبد، پروستات، بیضه و تخمدان اپی‌تلیال قابل تشخیص هستند. پس از نمایش موفقیت‌آمیز جهش‌های KRAS و TP53 در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال، مطالعات به بررسی تغییرات mtDNA D-loop گسترش یافتند. چندین گروه جهش‌های ژنوم میتوکندریایی را در سرطان کولورکتال نشان داده‌اند. بنابراین، تجزیه و تحلیل کولونوسیت‌های جدا شده در نمونه‌های مدفوع ممکن است حساسیت تشخیص جهش‌های mtDNA مشتق از تومور کولورکتال را افزایش دهد به طور کلی، mtDNA در حال گردش آزاد حاوی تغییرات ژنومی خاص تومور است.

بررسی mtDNA در گردش خون، بینش‌های ارزشمندی در تشخیص و مدیریت سرطان‌های مختلف فراهم کرده است. در سرطان پروستات، شناسایی جهش‌های توموری در پلاسمای خون از طریق روش‌های حساس امکان‌پذیر شده و سطوح بالاتر mtDNA و RNA میتوکندریایی در پلاسمای پیش‌آگهی ضعیف‌تر، به ویژه کاهش بقای دوساله، مرتبط بوده است. این نتایج نشان می‌دهند که RNA میتوکندریایی می‌تواند به عنوان یک پیش‌بینی‌کننده مستقل بقا در بیماران مبتلا به سرطان پروستات عمل کند.

در ارزیابی سطح mtDNA آزاد در گردش، تفاوت معناداری میان بیماران مبتلا به سرطان پروستات و افراد دارای هیپرپلازی خوش‌خیم مشاهده نشد، اما وجود قطعات کوتاه‌تر mtDNA با افزایش خطر عود بیوشیمیایی پس از پروستاتکتومی همراه بود. این یافته حاکی از اهمیت کیفیت و یکپارچگی DNA میتوکندریایی به جای صرف میزان آن است.

در سرطان بیضه نیز افزایش میزان DNA آزاد در گردش، همراه با کاهش یکپارچگی DNA، توانست بیماران را با حساسیت و ویژگی بالایی از افراد سالم متمایز کند. سطوح بالاتر mtDNA در تومورهای با درجه بالاتر مشاهده شد، هرچند یکپارچگی mtDNA میان بیماران

سرطانی و افراد سالم تفاوت معناداری نداشت. مکانیسم‌های مربوط به آزادسازی قطعات کوچک DNA میتوکندریایی، برخلاف DNA هسته‌ای، احتمالاً مستقل از مسیرهای آپوپتوز کلاسیک عمل می‌کنند، زیرا mtDNA فاقد حفاظت هیستونی است.

مطالعه‌ی ترکیبی سطوح DNA هسته‌ای و میتوکندریایی در بیماران سرطان بیضه نشان داد که حتی در حضور مقادیر طبیعی نشانگرهای سرمی سنتی، اندازه‌گیری این **بیومارکرها** می‌تواند قدرت تفکیک بالایی نسبت به افراد سالم داشته باشد. این یافته اهمیت mtDNA در گردش را به‌عنوان مکملی مؤثر برای روش‌های مرسوم تشخیصی برجسته می‌کند. در سرطان تخمدان اپی‌تلیال نیز بیماران دارای سطوح بالاتری از DNA هسته‌ای و میتوکندریایی در پلاسمای خون خود بودند. جالب توجه اینکه تنها سطوح mtDNA قادر به تمایز معنادار بیماران مبتلا به اندومتريوز از بیماران سرطان تخمدان بود. این مسئله نقش بالقوه mtDNA در افزایش دقت تشخیصی بیماری‌های خوش‌خیم و بدخیم تخمدان را نشان می‌دهد. مجموع این شواهد تأکید می‌کند که ارزیابی کمی و کیفی mtDNA آزاد در گردش می‌تواند ابزار سودمندی در تشخیص، پیش‌بینی پیشرفت بیماری و پایش درمانی بیماران مبتلا به انواع سرطان‌ها باشد.

۴-۱۳-۲. mtDNA توموری در مایعات بدن مرتبط با بافت

تغییرات mtDNA در سرطان همچنین در مایعات نزدیک به اندام یا بافت منشأ سرطان وجود دارند. این تغییرات ژنوم میتوکندریایی معمولاً در این مایعات نسبت به گردش خون محیطی غنی‌تر هستند. اگرچه جمع‌آوری برخی از این مایعات تهاجمی است (مانند مایع مغزی-نخاعی)، سایرین مانند ادرار و بزاق غیرتهاجمی هستند و بنابراین منابع جذابی برای مدیریت بیماری محسوب می‌شوند.

در ادامه به بررسی جهش mtDNA در بعضی از سرطانها می‌پردازیم.

بزاق و سرطان سر و گردن

سموم موجود در دود تنباکو با آسیب به mtDNA نقش مهمی در افزایش خطر ابتلا به سرطان‌های سر و گردن، مری، ریه و مثانه دارند. تغییرات محتوای mtDNA در بزاق افراد سیگاری و غیرسیگاری نشان داده است که میزان mtDNA در بزاق سیگاری‌ها، حتی آن‌هایی

که ترک کرده‌اند، به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از افراد غیرسیگاری است. این یافته نشان‌دهنده تأثیر پایدار و مزمن آسیب سیگار بر ژنوم میتوکندریایی است.

در سرطان‌های سر و گردن، بررسی‌ها نشان داده‌اند که افزایش محتوای mtDNA در بافت‌های توموری با درجه هیستوپاتولوژیک بالاتر، و در نتیجه پیشرفت بیماری، همبستگی دارد. تجزیه و تحلیل بزاق بیماران مبتلا به سرطان سلول سنگفرشی سر و گردن نشان داده که میزان mtDNA در بزاق این بیماران به‌طور معناداری بیشتر از افراد بدون سرطان است. این سطوح بالاتر در نمونه‌های بزاق پیش‌درمانی مشاهده شده و با نتایج حاصل از تحلیل تومورهای اولیه تطابق داشته، که حاکی از منشاء توموری افزایش mtDNA در مایعات بدن است.

ارزیابی‌های پس از درمان نیز کاهش محتوای mtDNA را در بزاق بیماران نشان داده‌اند، به ویژه در بیمارانی که تحت پرتودرمانی قرار گرفته بودند. در مقایسه، افراد سیگاری سطوح بالاتری از ژنوم‌های میتوکندریایی در بزاق داشتند، که بیانگر اثرات ماندگار و غیرقابل‌برگشت سیگار بر mtDNA است.

علاوه بر تغییرات کمی در محتوای mtDNA، جهش‌های ژنوم میتوکندریایی نیز در مراحل اولیه سرطان‌های سر و گردن شناسایی شده‌اند. این جهش‌ها در نواحی توموری و بافت‌های دیس پلاستیک مجاور مشترک بوده‌اند، که نشان‌دهنده نقش احتمالی آن‌ها در آغاز و پیشرفت بیماری است. تحلیل بزاق به عنوان یک نمونه غیرتهاجمی نشان داد که می‌توان همان جهش‌های توموری موجود در بافت را در مایعات بدن شناسایی کرد. روش‌های پیشرفته توالی‌یابی حساسیت بالایی را در شناسایی جهش‌های هتروپلاسمی، حتی در رقیق‌سازی‌های بسیار زیاد، فراهم کرده‌اند. این نتایج به‌طور کلی بیانگر این است که تغییرات در میزان و جهش‌های mtDNA در بزاق می‌توانند به عنوان نشانگرهای غیرتهاجمی مؤثر برای تشخیص زودهنگام، پیش‌آگهی و پایش درمانی سرطان‌های سر و گردن مورد استفاده قرار گیرند.

مایع برونکولوئولار، خلط و سرطان ریه

سرطان ریه از جمله بدخیمی‌هایی است که با بالاترین نرخ مرگ‌ومیر در مقایسه با سایر سرطان‌ها همراه است. تشخیص زودهنگام تومورهای کوچک که قابلیت درمان جراحی دارند، می‌تواند به شکل چشمگیری مرگ‌ومیر ناشی از این بیماری را کاهش دهد. با توجه به این که

سیگار کشیدن یکی از قوی‌ترین عوامل خطر برای سرطان ریه است و ژنوتوکسین‌های^۱ دود تنباکو می‌توانند ژنوم میتوکندریایی را دچار آسیب کنند، بررسی تغییرات mtDNA در نمونه‌های مایع برونکولوئولار و خلط اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است.

بررسی‌های انجام‌شده نشان داده‌اند که سیگاری‌ها در مقایسه با افراد غیرسیگاری، سطوح بالاتری از آسیب در ژنوم میتوکندریایی خود دارند. اگرچه میزان حذف رایج ۴۹۷۷ جفت‌بازی (CD) در mtDNA سیگاری‌ها بالاتر بود، این تفاوت از نظر آماری معنادار گزارش نشد. تحلیل نمونه‌های BAL از بیماران مبتلا به سرطان ریه نیز نشان داد که در برخی از موارد، جهش‌های mtDNA در تومورهای اولیه شناسایی شدند و همین جهش‌ها با استفاده از روش‌های حساس در نمونه‌های BAL جفت‌شده نیز قابل تشخیص بودند. این یافته بیانگر آن است که آسیب و جهش‌های mtDNA ناشی از سرطان ریه می‌تواند به محیط مایع برونکولوئولار نشت پیدا کند و از این طریق امکان شناسایی غیرتهاجمی آن‌ها فراهم می‌شود.

علاوه بر مایع BAL، خلط نیز منبع مهمی از سلول‌های اپی‌تلیال جدا شده از ناحیه برونش است که می‌تواند برای تجزیه و تحلیل جهش‌های mtDNA مورد استفاده قرار گیرد. کشف جهش‌های سوماتیک در نمونه‌های BAL و خلط بیماران مبتلا به سرطان ریه نشان می‌دهد که این مایعات بدن می‌توانند نقش مؤثری در غربالگری افراد پرخطر، به ویژه سیگاری‌ها، ایفا کنند. در مجموع، اندازه‌گیری آسیب‌ها و جهش‌های ژنوم میتوکندریایی در مایع BAL و خلط فرصت ارزشمندی برای تشخیص زودهنگام سرطان ریه فراهم می‌کند و می‌تواند به عنوان ابزاری مکمل برای افزایش کارایی برنامه‌های غربالگری در جمعیت‌های پرخطر مورد استفاده قرار گیرد.

مایع آسپیراسیون نوک پستان و شستشوی مجاری و سرطان پستان

سرطان پستان با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در تشخیص زودهنگام، همچنان شایع‌ترین سرطان در میان زنان و دومین عامل اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان محسوب می‌شود. تشخیص زودهنگام این بیماری برای بهبود نتایج درمانی حیاتی است. مایعات به‌دست‌آمده از شستشوی مجاری پستان و آسپیراسیون نوک پستان^۲ (NAF) فرصت مناسبی برای شناسایی

1. Genotoxins

2. Nipple aspiration fluid

تغییرات ژنتیکی پیش از بروز علائم بالینی ایجاد کرده‌اند.

بررسی DNA آزاد در این مایعات نشان داده است که جهش‌های سوماتیک در جایگاه‌های خاصی از ژنوم میتوکندریایی، از جمله ناحیه D310، در نمونه‌های شستشوی مجاری از زنان حامل جهش‌های ژنتیکی پرخطر قابل شناسایی است، در حالی که این جهش‌ها در نمونه‌های افراد غیرحامل مشاهده نشده‌اند. همچنین، آنالیز نمونه‌های NAF نشان داده که برخی جهش‌های شناسایی‌شده در شستشوی مجاری، در NAF همان پستان نیز وجود دارند، که ارتباط مستقیم بین حضور این جهش‌ها و تومور احتمالی را تقویت می‌کند.

بررسی‌های گسترده‌تر روی ژنوم میتوکندریایی نمونه‌های NAF از زنان مبتلا به سرطان پستان نیز نشان داده‌اند که جهش‌های خاصی به صورت یکسان در هر دو نمونه NAF و بافت توموری قابل تشخیص هستند، در حالی که در نمونه‌های فاقد تومور، جهشی مشاهده نشده است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تغییرات ژنوم میتوکندریایی در مایعات محلی پستان می‌تواند بازتاب دقیقی از وضعیت ژنتیکی تومور باشد. در ادامه مطالعات، امکان توالی‌یابی کامل ژنوم میتوکندریایی از نمونه‌های NAF با استفاده از تکنیک‌های حساس مانند میکروآرایه و الکتروفورز مویرگی بررسی شد. این فرآیند حتی در زنانی که ضایعات خوش‌خیم داشتند نیز امکان‌پذیر بود و در برخی از نمونه‌ها جهش‌های سوماتیک mtDNA شناسایی شد. با این حال، مشخص نیست که این جهش‌ها در مراحل اولیه تغییر به سمت بدخیمی قرار دارند یا خیر. در مجموع، یافته‌ها نشان می‌دهند که تجزیه و تحلیل تغییرات و جهش‌های ژنوم میتوکندریایی در مایعات به‌دست‌آمده از NAF و شستشوی مجاری می‌تواند به عنوان یک روش غیرتهاجمی و بالقوه مؤثر برای تشخیص زود هنگام سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرد و زمینه را برای توسعه ابزارهای غربالگری جدید فراهم سازد.

ادرار و سرطان‌های اروژنیال

ادرار به عنوان یک نمونه غیرتهاجمی، فرصت مناسبی برای تشخیص و پایش سرطان‌های دستگاه ادراری-تناسلی فراهم می‌کند. بررسی‌های انجام شده نشان داده‌اند که جهش‌های سوماتیک در ژنوم میتوکندریایی در درصد قابل توجهی از سرطان‌های مثانه اولیه وجود دارد. این جهش‌ها نه تنها در بافت‌های توموری، بلکه در نمونه‌های ادرار جفت‌شده نیز شناسایی شده‌اند که بر امکان تشخیص غیرتهاجمی این تغییرات ژنتیکی در مایعات بدن تأکید دارد.

تحلیل کل ژنوم میتوکندریایی با استفاده از فناوری‌های حساس، نشان داده است که جهش‌های مشتق از تومور می‌توانند به راحتی در نمونه‌های ادرار بیماران مبتلا به سرطان مثانه شناسایی شوند، که قابلیت بالای ادرار را به عنوان یک منبع تشخیصی غیرتهاجمی برای این سرطان تقویت می‌کند.

علاوه بر سرطان مثانه، مطالعات بر روی بیماران مبتلا به سرطان کلیه نیز حضور جهش‌های سوماتیک mtDNA را در ادرار نشان داده‌اند، اگرچه میزان این جهش‌ها کمتر بوده است. این یافته‌ها اهمیت تحلیل mtDNA در مایعات بدن را در توسعه روش‌های غربالگری مولکولی برای انواع مختلف سرطان‌های اورولوژیک برجسته می‌کند.

در سرطان پروستات، که همچنان یکی از شایع‌ترین سرطان‌های مردان است، تجزیه و تحلیل ژنوم میتوکندریایی در مایعات بدن نسبتاً کمتر مورد توجه قرار گرفته است. با این حال، شواهد به دست آمده از تومورهای اولیه حاکمی از وقوع آسیب‌های زود هنگام در mtDNA در طول پیشرفت این بیماری است. اگرچه روش‌های توالی‌یابی مرسوم در شناسایی جهش‌های mtDNA در پلاسمای خون و ادرار بیماران مبتلا به سرطان پروستات موفق عمل نکردند، استفاده از روش‌های حساس‌تر نشان داده است که امکان شناسایی جهش‌های توموری در این مایعات وجود دارد.

برای افزایش حساسیت روش‌های تشخیصی، غنی‌سازی نمونه‌های ادرار با اسیدهای نوکلئیک مشتق از پروستات از طریق جمع‌آوری ادرار پس از معاینه دیجیتال رکتال یا استفاده از مایعاتی نظیر مایع منی پیشنهاد شده است. این استراتژی می‌تواند امکان استفاده از روش‌های متداول‌تر و مقرون‌به‌صرفه‌تری مانند qPCR را برای تشخیص زود هنگام سرطان پروستات فراهم کند.

در مجموع، تحلیل تغییرات ژنوم میتوکندریایی در نمونه‌های ادرار یک روش امیدوارکننده برای تشخیص غیرتهاجمی و نظارت بر پیشرفت سرطان‌های اورولوژیکال، به ویژه سرطان‌های مثانه و پروستات، محسوب می‌شود و می‌تواند به عنوان مکملی ارزشمند برای روش‌های غربالگری رایج مورد استفاده قرار گیرد.

مایع مغزی-نخاعی و تومورهای مغزی

با وجود اینکه مایع مغزی-نخاعی^۱ (CSF) از طریق روش‌های تهاجمی به دست می‌آید و برای تشخیص اولیه تومورهای مغزی مناسب نیست، این مایع می‌تواند به عنوان یک نمونه ارزشمند برای نظارت بر تغییرات ژنتیکی مرتبط با تومورهای مغزی مورد استفاده قرار گیرد. تغییرات در mtDNA در CSF قابلیت بالقوه‌ای برای ارزیابی پیشرفت بیماری و پیش‌آگهی بیماران مبتلا به تومورهای مغزی دارد.

بررسی تغییرات mtDNA در بیماران مبتلا به مدولوبلاستوما^۲ نشان داده است که جهش‌های سوماتیک موجود در تومور اولیه می‌توانند در نمونه‌های CSF نیز شناسایی شوند. در برخی موارد، این تغییرات ژنتیکی حتی در زمانی که روش‌های متداول آزمایشگاهی علائمی از بیماری باقی‌مانده را نشان نمی‌دهند، قابل تشخیص بودند. مشاهده جهش‌های توموری در CSF در پایان دوره درمان و پیش از بروز علائم عود بالینی، اهمیت بالای این روش را به عنوان ابزاری حساس برای نظارت بر بیماری برجسته می‌کند. علاوه بر این، تحلیل جهش‌های mtDNA در نمونه‌های CSF و مقایسه آن‌ها با نمونه‌های توموری نشان داده است که در برخی موارد تفاوت‌هایی میان جهش‌های موجود در تومور و CSF وجود دارد. این تفاوت‌ها ممکن است نشان‌دهنده منشأ کلونال متفاوت سلول‌های توموری یا فرآیند تکامل کلونال با کسب جهش‌های جدید در طول پیشرفت بیماری باشد، که با مفهوم سرطان‌زایی میدانی و پویایی ژنتیکی تومورهای مغزی مطابقت دارد. در مجموع، تغییرات و جهش‌های mtDNA در مایع مغزی-نخاعی می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی بالقوه برای نظارت دقیق بر وضعیت بیماران مبتلا به تومورهای مغزی به کار گرفته شوند و ابزار مؤثری برای پیش‌بینی عود بیماری و مدیریت درمان در آینده فراهم کنند.

نتیجه‌گیری

بیومارکرها مولکول‌های قابل‌اندازه‌گیری در بدن هستند که نقش مهمی در تشخیص، پایش و درمان سرطان دارند. این نشانگرها می‌توانند شامل آنزیم‌ها، هورمون‌ها، گیرنده‌ها و تغییرات ژنتیکی باشند. آنزیم‌هایی مانند ALP، LDH، NSE و PSA در تشخیص و پیش‌آگهی برخی سرطان‌ها کاربرد دارند، هرچند اغلب اختصاصی اندام نیستند. هورمون‌هایی مانند ACTH،

1. Cerebrospinal fluid
2. Medulloblastoma

کلسیتونین و hCG نیز در برخی بدخیمی‌ها به عنوان مارکر به کار می‌روند. علاوه بر این، گیرنده‌های ER/PR، EGFR و HER-2/neu و نیز تغییرات ژنتیکی شامل انکوژن‌ها مانند: Ras، c-myc، HER-2/neu، BCL-2، BCR-ABL، RET و ژن‌های سرکوب‌کننده تومور (p53)، اهمیت ویژه‌ای در انتخاب درمان هدفمند و پیش‌بینی پیش‌آگهی دارند. در مجموع، شناسایی و استفاده از این بیومارکرها نقشی کلیدی در انکولوژی مدرن و پزشکی شخصی ایفا می‌کند.

فصل سوم |

فناوری‌های پیشرفته برای تجزیه و تحلیل بیومارکرهای مایعات بدن

۱-۳. فناوری‌های با توان بالا برای تجزیه و تحلیل بیومارکرها

علوم «امیکس»^۱ مجموعه‌ای از فناوری‌های با توان بالا (High-throughput technologies) را برای سنجش بیومارکرها در مایعات بدن، سلول‌ها و بافت‌ها ارائه می‌دهند. این فناوری‌ها از شناسایی اثر انگشت‌های امیکس (Omics fingerprints)، اپی‌ژنوم تا متابولوم را شامل می‌شوند که هر کدام نقاط قوت و ضعف خاص خود را دارند. همچنین، حسگرهای زیستی^۲، بیوچیپ‌ها، میکروفلوئیدیک‌ها، برچسب‌های مولکولی^۳، و همچنین مواد نوین و پلتفرم‌های چندکاره شامل نانوذرات سوپرپارامغناطیس همراه با نقاط کوانتومی^۴، رنگ‌ها یا نانوذرات طلا با اصلاحات سطحی مناسب برای هدف‌گیری خاص در حال پیشرفت هستند. این فناوری‌ها به‌طور مداوم برای تشخیص و اندازه‌گیری اهداف بسیار کم‌فراوان بهبود می‌یابند.

1. Omix
2. Biosensors
3. Molecular labels
4. Superparamagnetic nanoparticles combined with quantum dots

بدون شک، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز^۱ (PCR) زیست‌شناسی مولکولی را متحول کرده است و اصلاحات آن معمولاً در تجزیه و تحلیل اپی‌ژنتیک، ژنتیک و RNA با استفاده از مایعات بدن به کار می‌روند. فناوری‌های با توان بالا به‌طور مشابه برای شناسایی تغییرات در اپی‌ژنوم، کروموزوم، ژنوم، ترانسکریپتوم و پروتئوم استفاده شده‌اند. اپی‌ژنوم می‌تواند با استفاده از میکروآرایه‌های متیلاسیون و استیلاسیون بررسی شود. تغییرات تعداد کپی ژن با روش‌های مختلفی مانند هیبریداسیون ژنومی مقایسه‌ای^۲، آرایه‌های SNP، پروب‌های معکوس مولکولی^۳، کاربوتایپینگ دیجیتالی، میکروآرایه‌های الیگونوکلوئیدی نمایشی^۴ و توالی‌یابی نسل بعدی^۵ (NGS) تعیین می‌شود. NGS امکان تشخیص جهش با توان بالا را فراهم می‌کند. آرایه‌های اگزون و آرایه‌های کاشی‌کاری ژنوم^۶، اتصال جایگزین را آشکار می‌کنند، در حالی که آرایه‌های بیان ژن، تجزیه و تحلیل بیانی با توان بالا را ممکن می‌سازند. طیف‌سنجی جرمی، تجزیه و تحلیل پروتئین‌ها/پپتیدها و متابولیت‌های در حال گردش را امکان‌پذیر می‌کند. به‌طور سنتی، ایمنونواسی‌ها در تنظیمات تحقیقاتی و کلینیکی برای تجزیه و تحلیل پروتئین‌های در حال گردش استفاده می‌شوند. اگرچه این دستگاه‌ها عمده‌تاً بر اساس نمونه‌های بافتی توسعه یافته‌اند، بسیاری از آن‌ها برای اندازه‌گیری اهداف در مایعات بدن نیز استفاده شده‌اند.

با این حال، این فصل بر میکروفلوئیدیک‌ها و سایر فناوری‌های مینیاتوری تمرکز دارد که تجزیه و تحلیل دقیق حتی مقادیر پیکولتری نمونه‌ها را ممکن می‌سازند، زیرا این فناوری‌ها برای تجزیه و تحلیل **بیومارکرهای** مایعات بدن مناسب‌تر هستند. علاوه بر این، دستگاه‌های متعدد مهندسی زیست‌پزشکی برای تجزیه و تحلیل **بیومارکرها** عمده‌تاً با استفاده از نمونه‌های بافتی توسعه یافته‌اند، اما برخی از این‌ها با موفقیت برای تجزیه و تحلیل مایعات بدن نیز به کار گرفته شده‌اند.

۲-۳. توالی‌یابی نسل بعدی

توالی‌یابی نسل بعدی^۷ (NGS)، توالی‌یابی موازی عظیم^۸ یا توالی‌یابی عمیق^۹، تجزیه و تحلیل

-
1. Polymerase chain reaction
 2. Comparative genomic hybridization (CGH)
 3. Molecular reverse probes
 4. Display oligonucleotide microarrays
 5. Next-generation sequencing
 6. Genome tiling arrays
 7. Next-generation sequencing
 8. Massively Parallel Sequencing
 9. Deep Sequencing

ژنومی را به‌طور قابل‌توجهی پیشرفته کرده است. توانایی اعمال توالی‌یابی موازی عظیم سریع کل ژنوم یا بخش‌هایی از آن، امکان تشخیص همزمان چندین تغییر در یک موقعیت خاص را فراهم می‌کند. اصلاحات مختلف این فناوری اطلاعات جزئی یا کاملی از ناهنجاری‌های ژنومی ارائه می‌دهند. این فناوری برای کل ژنوم (توالی‌یابی کل ژنوم^۱، WGS)، تنها ژن‌های کدکننده پروتئین (توالی‌یابی کل اگزوم^۲، WES) یا پانل‌های سفارشی برای اهداف خاص قابل اعمال است. پانل‌های سفارشی معمولاً ارزان‌تر و سریع‌تر اجرا می‌شوند، اما به دلیل تمرکز تنها بر مناطق مورد علاقه، محدود هستند و قادر به شناسایی تمام ضایعات ژنتیکی نیستند. پلتفرم‌های سفارشی گرفتن آمپلیکون (مانند Illumina TruSeq, RainDance, Agilent HaloPlex و Life Technologies Ion Torrent AmpliSeq) ۱ تا ۱۰۰ جهش در هر نمونه را تشخیص می‌دهند، در حالی که پانل‌های سفارشی گرفتن هیبریداسیون (مانند Illumina TruSeq, NimbleGen SeqCap و Agilent SureSelect) از ۵۰ تا هزاران جهش را شناسایی می‌کنند. علاوه بر جایگزینی‌ها، تکثیرها، حذف‌ها^۳ قابل تشخیص توسط پانل‌های گرفتن آمپلیکون، پانل‌های هیبریداسیون همچنین می‌توانند تغییرات تعداد کپی ژن یا اگزون و جابه‌جایی‌های از پیش تعیین‌شده را تشخیص دهند. اما این پانل‌های سفارشی معمولاً عمق توالی‌یابی بالاتری نسبت به روش‌های WGS و WES دارند.

پوشش کل ژنوم در سطح اگزوم یا کل ژنوم مشابه است، به جز میزان جامعیت. هر دو می‌توانند انواع تکنولوژی‌تیدی (مانند جایگزینی‌ها)، تکثیرها، حذف‌ها، درج‌ها و همچنین تغییرات تعداد کپی ژن را تشخیص دهند. با این حال، ناهنجاری‌های کروموزومی در مقیاس بزرگ (مانند جابه‌جایی‌ها و وارونگی‌ها) با استفاده از WGS راحت‌تر تشخیص داده می‌شوند. در حال حاضر، معایب این فناوری‌ها شامل هزینه‌های بالا، نیاز به مقادیر زیاد نمونه، توان محدود و نیاز به بیوانفورماتیک پیچیده است. علاوه بر این، برخی پلتفرم‌ها نقص‌هایی دارند و ممکن است به‌ویژه در مورد تشخیص بازآرایی‌های ژنی، آرتیفکتهایی ایجاد کنند. عمق پوشش برای تشخیص جهش‌های کم‌فراوان مهم است که برای تجزیه و تحلیل بیوپسی مایع اهمیت دارد. با کاهش هزینه‌ها، NGS به یک آزمایش روتین آزمایشگاهی کلینیکی تبدیل خواهد شد.

1. Whole genome sequencing
 2. Whole-exome sequencing
 3. Insertion
 4. Deletion

در اصل، فناوری NGS نیاز به آماده‌سازی اولیه نمونه، تولید کتابخانه قبل از بارگذاری روی پلتفرم‌های خاص برای توالی‌یابی و تشخیص بیوانفورماتیکی تخصصی داده‌های توالی‌یابی دارد. DNA برای توالی‌یابی برای ایجاد کتابخانه استفاده می‌شود. این شامل موارد زیر است:

- تکه‌تکه شدن DNA به اندازه‌های کوچک، بسته به نیازهای پلتفرم.
- ایجاد انتهای صاف در هر قطعه.
- اتصال آداپتورها به هر دو انتهای ۳۰ و ۵۰ قطعات. انتهای آداپتورها صاف یا دارای برآمدگی A/T^۱ هستند.
- آداپتورها برای شیمی خاص پلتفرم منحصر به فرد هستند.

کتابخانه‌ها می‌توانند مستقیماً روی برخی پلتفرم‌ها بارگذاری شده و توالی‌یابی شوند یا قبل از توالی‌یابی پیش‌تقویت شوند. توالی‌یابی مستقیم روی پلتفرم‌هایی که به اندازه کافی حساس برای تشخیص سیگنال هستند امکان‌پذیر است. با این حال، پیش‌تقویت برای افزایش نسبت سیگنال به نویز عمل می‌کند و امکان تشخیص نوکلئوتیدهای وارد شده را روی پلتفرم‌هایی با حساسیت تشخیص سیگنال کاهش یافته فراهم می‌کند. بسته به فناوری، توالی‌یابی از طریق سنتز (Roche, Illumina, Ion Torrent و Proton)، اتصال (Life Technologies) یا سنتز تک‌مولکولی (ABI SOLiD, Helicos, Pacific Biosciences) انجام می‌شود. تشخیص سیگنال نوکلئوتید وارد شده همچنین می‌تواند از طریق روش‌های فلورسانس، آزادسازی فوتون یا تشخیص پیروفسفات باشد. هر پایه در طول فرآیند چندین بار توالی‌یابی می‌شود و مجموع خوانش‌های یک نوکلئوتید یا پایه خاص، عمق پوشش آن نوکلئوتید در آن موقعیت را تشکیل می‌دهد. فناوری NGS کاربردهای متعددی از جمله تجزیه و تحلیل متیلوم^۲، ژنوم و ترانسکریپتوم و همچنین متاژنومیکس دارد. کاربردهای متاژنومیکس عمدتاً بر بیماری‌های عفونی متمرکز هستند.

۳-۳. تجزیه و تحلیل تک‌سلولی

زیست‌شناسی سنتی سرطان به تجزیه و تحلیل بافت‌ها یا صدها تا هزاران سلول وابسته است که در آن غلظت **بیومارکرها** بالا است. در حالی که چنین رویکردهایی اطلاعات فراوانی در

1. Adenine/Thymidine
2. Methylome analysis

مورد زیست‌شناسی سرطان تولید کرده‌اند، اکنون در زمانی هستیم که نیاز به دانش عمیق‌تر در مورد ناهمگنی سرطان احساس می‌شود. این نیاز فزاینده، مرزهای فناوری را به سوی زمینه‌های ناشناخته سوق می‌دهد و بنابراین تجزیه و تحلیل تک‌سلولی را ضروری می‌سازد. تا زمانی که فناوری‌هایی توسعه نیابند که بتوانند توالی‌یابی کل ژنوم یا تجزیه و تحلیل بیانی را با استفاده از مقادیر پیکوگرمی ماده ژنتیکی انجام دهند، مقادیر نانوگرمی قالب مورد نیاز فناوری‌های با توان بالا مانند توالی‌یابی نسل بعدی و میکروآرایه‌ها ایجاب می‌کند که ژنوم تک‌سلولی دیپلوئید حدود ۷ پیکوگرم یا ۱ پیکوگرم mRNA قبل از کاربردهای پایین‌دستی تقویت شود. برای دستیابی به این هدف، روش‌های مختلفی برای تقویت اسید نوکلئیک تک‌سلولی توسعه یافته‌اند.

۱-۳-۳. تقویت کل ژنوم

تقویت کل ژنوم تک‌سلولی^۱ به استراتژی‌های PCR، تقویت جابجایی چندگانه (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)) یا ترکیبی از هر دو وابسته است. هر تکنیک مزایا و معایب خاص خود را دارد و در موقعیت‌های پایین‌دستی خاصی استفاده می‌شود. همان‌طور که انتظار می‌رود، حتی با بهترین آنزیم‌ها، قالب و سایر شرایط واکنش، تقویت استوکومیتری دقیق ژنوم احتمالاً دارای نقص‌هایی خواهد بود. تجزیه و تحلیل‌های پایین‌دستی چنین آرتیفکت‌هایی خطاهایی در تفسیر داده‌ها ایجاد می‌کند. استراتژی‌های مختلف WGA از خطاهای کپی نوکلئوتیدی، سوگیری تقویت به دلیل تفاوت در محتوای گوانین و سیتوزین در ژنوم، تقویت‌های ترجیحی آللی^۲، خطاهای پلیمراز در خوانش نوکلئوتیدها و حذف‌های آللی رنج می‌برند. میزان مولکول‌های DNA کایمریک در ژنوم نیز بر WGA تأثیر می‌گذارد.

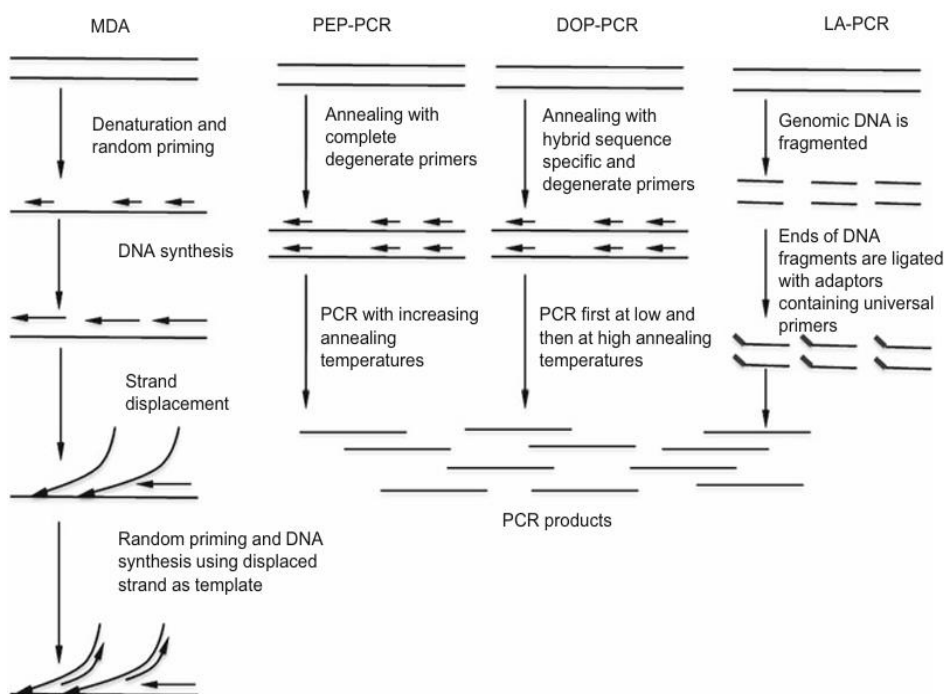
تقویت جابجایی چندگانه^۳ (MDA) ژنوم تک‌سلولی را با استفاده از واکنش ایزوترمال (در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد)، یک پلیمراز DNA با فعالیت جابجایی رشته (مانند phi29) و پرایمرهای تصادفی کپی می‌کند (شکل ۳-۱). پرایمینگ تصادفی DNA ژنومی دناتوره‌شده با کپی‌برداری ژنوم در جهت ۵' به ۳' در مکان‌های مختلف ژنوم دنبال می‌شود. هنگامی که انتهای ۳' یک

1. Single-cell Whole Genome Amplification (WGA)

2. Allele-specific Amplification

3. Multiple displacement amplification

رشته DNA تازه سنتز شده به انتهای ۵' یک توالی پرایم شده نزدیک می‌رسد، پلیمراز رشته را جابجا می‌کند و یک DNA تک‌رشته‌ای ایجاد می‌کند. این امکان پرایمینگ و تقویت بیشتر رشته جابجا شده را فراهم می‌کند. تقویت جابجایی چندگانه از تقویت‌های ترجیحی و حذف آلی رنج می‌برد و بنابراین تعیین تغییرات تعداد کپی با این روش دشوار است. با این حال، برای تجزیه و تحلیل SNP و جهش مفید است.



شکل ۱-۳. روش‌های تکثیر کل ژنوم تک سلولی (National Human genome research institute).

روش‌های مبتنی بر PCR شامل استراتژی‌های پیش تقویت گسترش پرایمر، پرایمر شده با الیگونوکلئوتید دژنره و PCR آداپتور اتصال هستند (شکل ۱-۳). پیش تقویت گسترش پرایمر PCR (PEP-PCR^۱) از الیگونوکلئوتیدهای توالی کاملاً دژنره ۱۵ بازی برای تقویت کل ژنوم با استفاده از سیکل حرارتی مجاز با دماهای Annealing استفاده می‌کند. PCR پرایمر شده با الیگونوکلئوتید دژنره (DOP-PCR^۲) از الیگونوکلئوتیدهایی با توالی‌های دژنره و خاص ژنوم

1. Pre-amplification PCR
2. Degenerate oligonucleotide-primed PCR

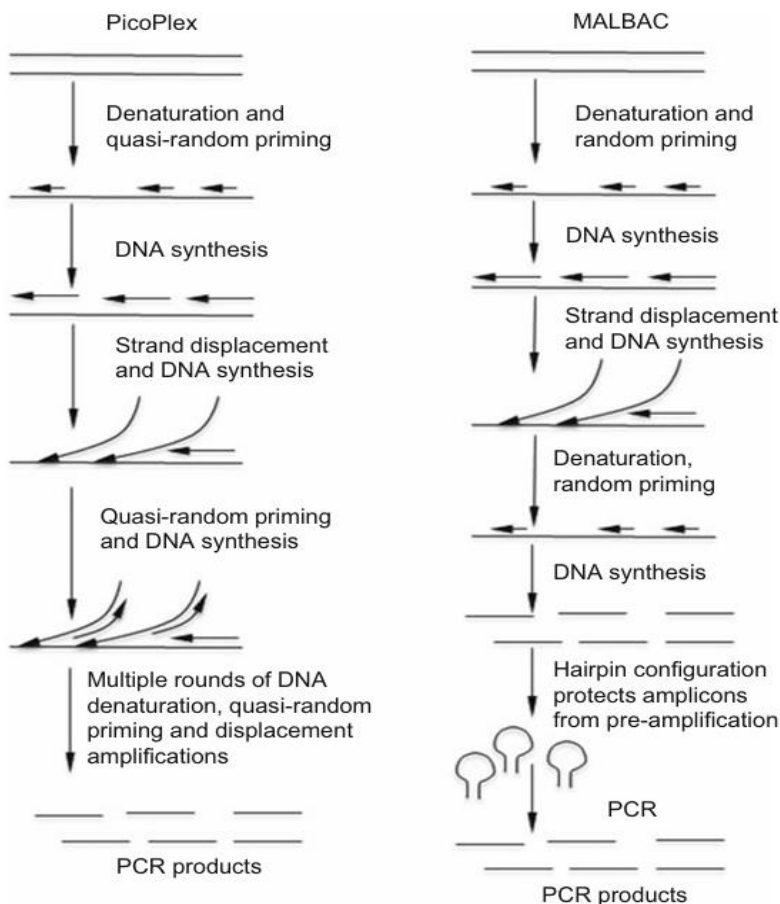
استفاده می‌کند. دو مرحله تقویت درگیر است. یک سیکل حرارتی اولیه در دمای Annealing پایین، پرایمینگ نیمه‌تصادفی و کپی‌برداری را ممکن می‌سازد. سپس یک دمای Annealing بالا و سخت‌گیرانه‌تر برای پرایمینگ خاص و تقویت ژنوم دنبال می‌شود. در نهایت، در PCR آداپتور اتصال (LA-PCR)، DNA سلول ابتدا به‌صورت تصادفی هضم شده و سپس با آداپتورهایی که دارای توالی‌های پرایمر جهانی هستند اتصال می‌یابد. این با تقویت ژنومی با استفاده از این پرایمرها دنبال می‌شود.

فناوری‌هایی مانند PicoPlex و سیکل‌های تقویت مبتنی بر Annealing و حلقه‌زنی چندگانه (MALBAC^۱) هر دو تکنیک MDA و PCR را ادغام می‌کنند (شکل ۲-۳). این تکنیک‌ها برای تولید قطعات DNA برای تقویت PCR بعدی استفاده می‌کنند. به‌طور قابل‌تصور، این روش‌ها ژنوم را با دقت بیشتری کپی می‌کنند و بنابراین برای تشخیص تغییرات تعداد کپی، جهش‌ها و SNP‌ها دقیق‌تر هستند. PicoPlex از چندین دور تقویت اولیه^۲ جابجایی با الیگونوکلئوتیدهای هیبریدی توالی‌های دژنره و جهانی برای تولید آمپلیکون‌ها برای PCR بعدی استفاده می‌کند. MALBAC همچنین روش MDA را برای تولید محصولات ژنومی تقویت اولیه اعمال می‌کند. با این حال، پرایمرها دارای توالی‌های خاصی هستند که محصولات تقویت اولیه حلقه‌ای^۳ ایجاد می‌کنند. این محصولات حلقه‌ای از تقویت اولیه بیشتر این بخش‌ها جلوگیری می‌کنند و بنابراین محافظتی برای تغییرات تعداد کپی غیرصحیح ارائه می‌دهند.

۲-۳-۳. تقویت جامع ترانسکریپتوم^۴ (WTA)

ترانسکریپتومیکس تک‌سلولی به مطالعه ناهمگنی سلول‌های سرطانی کمک می‌کند. مشابه DNA، مجموعه mRNA تک‌سلولی تنها حدود ۱ پیکوگرم است و بنابراین باید قبل از کاربردهای پایین‌دستی تقویت شود. روش‌های متعددی برای تقویت جامع ترانسکریپتوم توسعه یافته‌اند که هر کدام مزایا و معایب خاص خود را دارند. استراتژی‌های WTA شامل موارد زیر هستند:

1. Multiple Annealing and Looping Based Amplification Cycles
2. Pre-amplification
3. Loop-based Pre-amplification
4. Whole transcriptome amplification



شکل ۲-۳. ترکیبی از روش‌های پیش‌تقویت جابجایی^۱ و PCR (National Human genome research institute).

(Single-cell Tagged Reverse Transcription Sequencing) STRT-seq

این روش از پرایمر آداپتور الیگو-dT برای رونویسی معکوس اولیه با گنجاندن نوکلئوتیدهای غیرقابلی (جدید) در انتهای ۵' استفاده می‌کند. این نوکلئوتیدهای جدید امکان هیبریداسیون پرایمر آداپتور تعویض قالب بارکددار^۲ را برای رونویسی معکوس فراهم می‌کنند. محصولات رونویسی معکوس بارکددار جمع‌آوری شده و برای کاربردهای پایین‌دستی تحت تقویت PCR

1. Transposition-based Pre-amplification
2. Barcode Template Switching Adaptor

قرار می‌گیرند. این تکنیک به‌طور ترجیحی توالی‌های انتهایی ۵' را تقویت می‌کند (سوگیری ۵').

CEL-seq (Cell Expression by Linear amplification and sequencing)

این روش نیز از پرایمرهای الیگو-dT بارکددار با توالی آداپتور ۵' و جایگاه پرایمینگ پلیمراز RNA T7 استفاده می‌کند. cDNA تولیدشده به‌عنوان قالبی برای ایجاد cRNA با استفاده از پلیمراز RNA T7 استفاده می‌شود. cRNA تقویت‌شده برای کاربردهای پایین‌دستی استفاده می‌شود. این تکنیک به‌طور ترجیحی توالی‌های انتهایی ۳' را تقویت می‌کند.

روش تانگ و همکاران

این روش که توسط تانگ و همکاران توسعه یافته، پوشش ترانسکریپت بهتری نسبت به دو روش قبلی دارد. این فرآیند شامل تولید اولیه مولکول‌های cDNA رشته اول، به دنبال پلی‌آدنیلایسیون ۳' است. این مولکول‌ها سپس با الیگو-dT متصل به آداپتور پرایم می‌شوند تا DNA دو رشته‌ای برای کاربردهای پایین‌دستی تولید شود. این روش نیز سوگیری ۳' دارد اما توالی‌های ترانسکریپت بسیار بیشتری را نسبت به CEL-seq پوشش می‌دهد.

روش‌های دیگر

روش‌هایی برای دستیابی به پوشش کل ترانسکریپت توسعه یافته‌اند. روش SMARTer یک نوآوری است که از تعویض قالب برای ایجاد کتابخانه‌ای از ترانسکریپت‌های کامل حاوی توالی‌های آداپتور در هر دو انتها استفاده می‌کند. این توالی‌های آداپتور برای تقویت PCR ترانسکرپتوم هدف قرار می‌گیرند.

نقایص WTA شامل موارد زیر است:

عدم پوشش کل ترانسکریپت توسط برخی روش‌ها
تکثیر ممکن است به سمت انتخاب ترانسکریپت‌های با کپی بالا سوگیری داشته باشد.
mRNAهای با کپی پایین (کمتر از ۱۰ کپی در سلول) به‌صورت غیرصحیح تکثیر می‌شوند، در حالی که ۸۵ درصد ترانسکریپت‌ها در یک سلول بین ۱ تا ۱۰۰ کپی هستند. خطاهای کپی پایه در همه استراتژی‌های تکثیری ژنوم ذاتی هستند.

۳-۳-۳. تجزیه و تحلیل کل ژنوم سلول‌های توموری در حال گردش

تکنیک‌های تقویت کل ژنوم با موفقیت برای مطالعه ژنوم سلول‌های توموری در حال گردش^۱ (CTC) به کار گرفته شده‌اند. اگرچه این فناوری در مراحل اولیه خود است، داده‌های قانع‌کننده‌ای وجود دارد که پتانسیل کاربردهای کلینیکی آینده را نشان می‌دهد. رامسکولد و همکاران پروتکل توالی‌یابی RNA قوی (Smart-Seq) را با پوشش خوانش بهبودیافته در سراسر ترانسکرپت‌ها توسعه دادند. این تکنیک، که برای تجزیه و تحلیل تک‌سلولی قابل اعمال است، برای آشکارسازی الگوهای بیان ژن متمایز در CTC‌ها استفاده شد. روابط ژنتیکی بین CTC، تومور اولیه و رسوبات متاستاتیک از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال نشان داد که CTC‌ها با بافت‌های اولیه و متاستاتیک، دستاوردها و از دست‌رفتن‌های ژنومی مشترک دارند. جهش‌ها در KRAS، APC و PIK3CA مشترک بودند، اما CTC‌ها جهش‌های «خصوصی» اضافی داشتند. برای اطمینان از اینکه این‌ها جهش‌های معتبر هستند و یا ناشی از خطاهای WGA می‌باشند، توالی‌یابی عمیق تومورهای اولیه حضور این جهش‌ها را در سطوح زیرکلونال نشان داد. این مطالعه همچنین اهمیت بررسی ژنوم CTC را نشان داد، زیرا در یک بیمار، ۹ مورد از ۱۰ CTC دارای تقویت CDK8 بودند که در تومور اولیه وجود نداشت، که نشان می‌دهد این بیمار می‌توانست از درمان با مهارکننده CDK بهره‌مند شود. در سرطان ریه، توالی‌یابی DNA تقویت‌شده کل ژنوم نشان داد که تغییرات تعداد کپی CTC‌های منفرد از بیماران با زیرنوع تومور یکسان در مقایسه با بیماران با زیرنوع‌های مختلف سرطان ریه یکسان بودند. توانایی تجزیه و تحلیل CTC‌ها و سلول‌های بنیادی سرطانی در حال گردش پتانسیل بالایی برای مطالعه متاستاز سرطان و کشف عوامل درمانی مهم برای توسعه دارو دارد.

۴-۳. فناوری‌های پروتئومیکس برای تجزیه و تحلیل مایعات بدن

بیومارکرهای پروتئینی سرطان در گردش خون و سایر مایعات بدن فراوان هستند. تخمین زده می‌شود که بیش از ۱۰,۰۰۰ پروتئین مختلف در گردش وجود دارد. بر اساس منابع و مکانیزم‌های آزادسازی آن‌ها، این امضاهای پروتئینی بین نمونه‌های بیماران سرطانی و افراد سالم متفاوت هستند. بنابراین، فناوری‌های متعددی برای کشف، اعتبارسنجی و ترجمه **بیومارکر** پروتئینی مایعات بدن به کار گرفته شده‌اند. با این حال، پروتئوم سرم از دو منبع مشتق می‌شود: (۱) پروتئین‌های اندوژن با فراوانی بالا مانند آلبومین و ایمونوگلوبولین که حدود

1. Circulating tumor cells

۹۰ درصد پروتئین‌های سرم را تشکیل می‌دهند و (۲) پروتئین‌های با فراوانی پایین و وزن مولکولی پایین مشتق از سلول‌ها و بافت‌ها. بنابراین، پروتئوم سرم پیچیده است، به‌طوری که پروتئین‌های با فراوانی بالا تمایل دارند پروتئین‌های با فراوانی پایین مرتبط با بیماری را که مفید هستند، بپوشانند. تکنیک‌های مختلفی برای حذف پروتئین‌های با فراوانی بالای مایعات بدن مانند آلبومین و ایمونوگلوبولین قبل از تجزیه و تحلیل پایین‌دستی توسعه یافته‌اند. روش‌های پیش‌فرکسیوناسیون متعددی برای حذف پروتئین‌های با فراوانی بالا استفاده می‌شوند، از جمله:

- کروماتوگرافی هیپارین ساده و تیمار با پروتئین G می‌تواند برای حذف پروتئین‌های با فراوانی بالا استفاده شود.
- کروماتوگرافی افینیتی با پروتئین A یا پروتئین G تثبیت‌شده برای حذف ایمونوگلوبولین استفاده می‌شود.
- کروماتوگرافی افینیتی پپتیدی، کروماتوگرافی لیگاند رنگی، به‌دام‌اندازی ایزوالکتریک و ستون‌های ایمونوافینیتی برای حذف آلبومین به کار می‌روند.
- ایمونودپلشن و جداسازی فاز معکوس پلاسما روی ستون‌های mRP-C18 نیز استفاده می‌شود.
- روش تجاری موجود (سیستم حذف افینیتی چندگانه (MARS) Agilent) از شش آنتی‌بادی پلی‌کلونال بسیار خاص برای هدف‌گیری حذف شش پروتئین با فراوانی بالا استفاده می‌کند.
- همچنین، ستون حذف افینیتی انسانی-۱۴ (Agilent) امکان حذف ۱۴ پروتئین با فراوانی بالا در مایعات بدن را فراهم می‌کند.
- نانوذرات بارگذاری‌شده با طعمه هسته-پوسته امکان به‌دام‌اندازی انتخابی و محافظت از پروتئین‌های با فراوانی پایین را فراهم می‌کنند. این فرآیند شامل (۱) استفاده از الک برای حذف پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا و جلوگیری از ورود آن‌ها به نانوذره، (۲) سپس مولکول‌های کوچک پروتئین‌های با فراوانی پایین با طعمه‌های با افینیتی بالا به دام می‌افتند و در نهایت، (۳) پوسته نانوذرات با اسید وینیل سولفونیک (VSA) پوشش داده می‌شود که آلبومین را، حتی در اندازه‌های کوچک قطعات، دفع می‌کند.

فناوری‌ها و تکنیک‌های برچسب‌گذاری نوین متعددی، هرکدام با کاربردها، نقاط قوت و ضعف خاص خود، برای مطالعه پروتئوم استفاده می‌شوند (جدول ۱-۳). این‌ها شامل الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید دوبعدی ساده (2D-PAGE^۱)، الکتروفورز ژل تفاوتی (DIGE^۲)، وسترن بلات در مقیاس بزرگ، برچسب‌افینیتی کدشده با ایزوتوپ (ICAT^۳)، برچسب‌گذاری ایزوباریک برای کمی‌سازی نسبی و مطلق (iTRAQ^۴)، SILAC^۵، پروتئومیکس شاتگان، نظارت بر واکنش چندگانه (MRM^۶)، میکروآرایه‌های پروتئینی، فناوری شناسایی پروتئین چندبعدی (MudPIT^۷) و طیف‌سنجی جرمی هستند.

جدول ۱-۳. برخی از روش‌ها و فناوری‌های پروتئومیکس

ویژگی‌ها	موارد استفاده	تکنولوژی
- غیرحساس برای تشخیص پروتئین‌های با فراوانی کم، پروتئین‌های با pH شدید (>۳ و <۱۰) یا وزن <10kDa و <1۵۰kDa، و پروتئین‌های هیدروفوبیک - جداسازی ضعیف پروتئین‌های بازی - غیرقابل تکرار	- پروتئین‌های جداگانه - پروتئومیکس کمی - اطلاعات درباره تغییرات - پس از ترجمه	2D-PAGE
- بسیار حساس - پروتکل آسان - قابل تکرار - بدون سوگیری از تغییرات تجربی - نیاز به تجهیزات ویژه تجسم - فلوروفورهای گران‌قیمت - پروتئین‌های بدون لیزین قابل برچسب‌گذاری نیستند	- پروتئین‌های جداگانه - پروتئومیکس کمی - اطلاعات درباره تغییرات - پس از ترجمه	2D-DIGE

1. 2-Dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis
2. Difference Gel Electrophoresis
3. Isotope-Coded Affinity Tag
4. Isobaric Tags for Relative and Absolute Quantitation
5. Stable Isotope Labeling by Amino Acids in Cell Culture
6. Multiple Reaction Monitoring
7. Multidimensional Protein Identification Technology

ویژگی‌ها	موارد استفاده	تکنولوژی
- برای تحلیل کیفی و کمی استفاده می‌شود - می‌تواند برای مطالعه تغییرات پروتئینی پس از ترجمه استفاده شود - فناوری حساس، اختصاصی و با توان بالا - شناسایی پروتئین‌های جدید - پروتئین‌های هیدروفوبیک و بازی به راحتی توسط فناوری‌های ESI و MALDI قابل شناسایی نیستند	- شناسایی پروتئین - توصیف پروتئین	based MS
- سهولت و درجه بالای برچسب‌گذاری - قابل اعمال به نمونه‌های بافتی نیست - محدود به سلول‌های کشت‌شده	- برچسب‌گذاری ایزوتوپی سلول‌ها - بیان متفاوت پروتئین	SILAC
- حساس برای کمی‌سازی پروتئین‌های با فراوانی کم - تشخیص ضعیف پروتئین‌های با سیستمین کمتر و پروتئین‌های اسیدی - سوگیری به سمت پروتئین‌های با محتوای سیستمین بالا	- برچسب‌گذاری شیمیایی ایزوتوپی پروتئین‌ها - پروتئومیکس کمی	ICAT
- کمی‌سازی نسبی پروتئین با توان بالا - تفکیک پپتیدها قبل از طیف‌سنجی جرمی - توانایی چندگانه‌سازی	- برچسب‌گذاری ایزوباریک پروتئین	iTRAQ
- بسیار حساس - امکان شناسایی مجموعه‌های پروتئینی بزرگ را فراهم می‌کند - جداسازی بالای پروتئین را به دست می‌آورد - غیر کمی - تفکیک‌ناپذیر بین ایزوفرم‌های پروتئینی - تولید مجموعه داده عظیمی که نیاز به بیوانفورماتیک دقیق و پیچیده برای شناسایی پروتئین دارد	- تعامل پروتئین-پروتئین	MudPIT
- فناوری با حساسیت بالا و توان عملیاتی زیاد - نیاز به مقادیر کمی از نمونه‌ها- مناسب برای پروتئومیکس مایعات بدن - محدودیت به دلیل بیان ضعیف پروتئین‌ها - محدود به آنتی‌بادی‌های موجود	- تشخیص و کشف تحقیقاتی شامل پروتئین‌های شناخته شده	Protein arrays

۵-۳. مبتنی بر ژل

فناوری مبتنی بر ژل امکان جداسازی، کمی‌سازی و مطالعه تغییرات پساترجمه‌ای پروتئین‌ها را فراهم می‌کند. در الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید دوبعدی (2D-PAGE)، پروتئین‌ها در دو بعد روی ژل‌های پلی‌آکریل‌آمید جدا می‌شوند. بعد اول بر اساس بار و بعد دوم بر اساس جرم است. کمی‌سازی پروتئین می‌تواند با برچسب‌گذاری با رنگ‌های سیانید قبل از جداسازی یا با عوامل دیگر مانند SYPRO Ruby، Coomassie یا رنگ‌های نقره‌ای پس از جداسازی انجام شود. علاوه بر این، هضم پروتئین در ژل می‌تواند انجام شده و به دنبال آن شناسایی پایین‌دستی با استفاده از طیف‌سنجی جرمی انجام شود. علاوه بر کمی‌سازی، این روش امکان تعیین وزن مولکولی پروتئین و نقطه ایزوالکتریک (pI) و همچنین مطالعه تغییرات پساترجمه‌ای را فراهم می‌کند.

در الکتروفورز ژل تفاوتی دوبعدی (2D-DIGE)، پروتئین‌ها قبل از جداسازی دوبعدی با رنگ‌های سیانید متمایز طیفی (Cy2، Cy3، Cy5) به رزیدوهای لیزین در پروتئین‌ها برچسب‌گذاری می‌شوند. برای DIGE، تا سه نمونه می‌توانند با سه رنگ برچسب‌گذاری شده، مخلوط شوند و روی یک ژل بارگذاری شوند. این امکان مقایسه کمی بین نمونه‌ها را فراهم می‌کند. نرم‌افزارهایی مانند DeCyder برای تجزیه و تحلیل تصویر در دسترس هستند. این روش امکان تجسم تا ۱۰۰۰ پروتئین را فراهم می‌کند که بسیاری از آن‌ها قابل شناسایی هستند.

۶-۳. تکنیک‌های پروتئومیکس غیرمبتنی بر ژل

تعدادی رویکرد غیرمبتنی بر ژل توسعه یافته‌اند که تجزیه و تحلیل پروتئومیکس حساس و با توان بالا را ارائه می‌دهند. این ابزارها، همراه با تکنیک‌های برچسب‌گذاری نوین، کشف **بیومارکرهای** پروتئینی سرطان را تسریع می‌کنند. این **بیومارکرها** اغلب به صورت نسبت جرم به بار (m/z)، شدت پیک‌ها یا شناسایی واقعی پروتئین/پپتید توصیف می‌شوند.

۷-۳. فناوری‌های متابولومیکس

علاوه بر برخی از فناوری‌های پروتئومیکس که در مطالعات متابولومیکس استفاده می‌شوند،

فناوری‌های منحصربه‌فردی مانند طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته‌ای^۱ (NMR) برای مطالعه متابولیت‌ها به کار می‌روند.

مطالعات متابولومیکس به آماده‌سازی نمونه (که برای NMR لازم نیست) نیاز دارند، مانند جداسازی برخی آنالیت‌ها از دیگران برای ساده‌سازی مخلوط‌های پیچیده قبل از تشخیص. جداسازی از طریق کروماتوگرافی گازی همراه با طیف‌سنجی جرمی^۲ (MS)، الکتروفورز مویرگی یا کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا^۳ (HPLC) انجام می‌شود. یونیزاسیون برای تولید یون‌های مورد نیاز برای تشخیص ضروری است. روش‌های متداول شامل یونیزاسیون شیمیایی، الکترواسپری و یونیزاسیون الکترونی هستند. روش‌های تشخیص متعددی وجود دارند؛ با این حال، MS و NMR معمولاً برای تشخیص متابولیت‌ها استفاده می‌شوند.

۳-۷-۱. طیف‌سنجی NMR

این یک روش شیمی تجزیه‌ای برای تعیین ساختار ترکیبات آلی با بهره‌گیری از خواص مغناطیسی هسته‌های اتمی آن‌ها است. خواص فیزیکی و شیمیایی اتم‌ها در مولکول‌ها، هنگامی که می‌چرخند، می‌توانند میدان مغناطیسی درون مولکولی اطراف اتم‌ها را تغییر دهند، که این امر فرکانس رزونانس را تغییر داده و در نتیجه ساختار الکترونی مولکول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. برخلاف MS، طیف‌سنجی NMR نیازی به جداسازی آنالیت ندارد، و بنابراین نمونه‌ها می‌توانند برای تجزیه و تحلیل مجدد بازیابی شوند. سادگی آماده‌سازی نمونه همراه با تکرارپذیری تحلیلی بالا، سرعت انجام (چند دقیقه برای هر نمونه) و هزینه کم به ازای هر نمونه از نقاط قوت روش تشخیص طیف‌سنجی NMR هستند. با این حال، در مقایسه با روش تشخیص مبتنی بر MS، طیف‌سنجی NMR حساسیت کمتری دارد. علاوه بر این، NMR به مقادیر زیادی نمونه نیاز دارد، بنابراین بیشتر به عنوان ابزاری برای کشف به جای کاربرد عملی استفاده می‌شود.

در حالی که هر هسته فعال چرخشی می‌تواند توسط طیف‌سنجی NMR تشخیص داده شود، هسته‌هایی که معمولاً هدف قرار می‌گیرند ^1H و ^{13}C هستند، به دلیل فراوانی آن‌ها در بدن و ویژگی‌های منحصربه‌فردشان. ^1H در بدن بسیار فراوان است (۹۹٫۹۸ درصد) و بنابراین

1. Nuclear magnetic resonance spectroscopy

2. Mass spectrometry

3. High-performance liquid chromatography

حساسیت بیشتری ارائه می‌دهد، اما دامنه جابه‌جایی شیمیایی آن در مقایسه با C۱۳ بسیار کوچک‌تر است. بنابراین، H۱ تمایل به همپوشانی بیشتر پیک‌ها دارد (رزولوشن پایین)، و در نتیجه تجزیه و تحلیل داده‌های خروجی دشوارتر است. از سوی دیگر، C۱۳ حساسیت کمتری دارد (فراوانی کمتر)، اما دامنه جابه‌جایی شیمیایی بالایی دارد که ۲۰ برابر بیشتر از H۱ است و در نتیجه پیک‌های طیفی با رزولوشن بهتری تولید می‌کند (رزولوشن طیفی بالاتر از H۱).

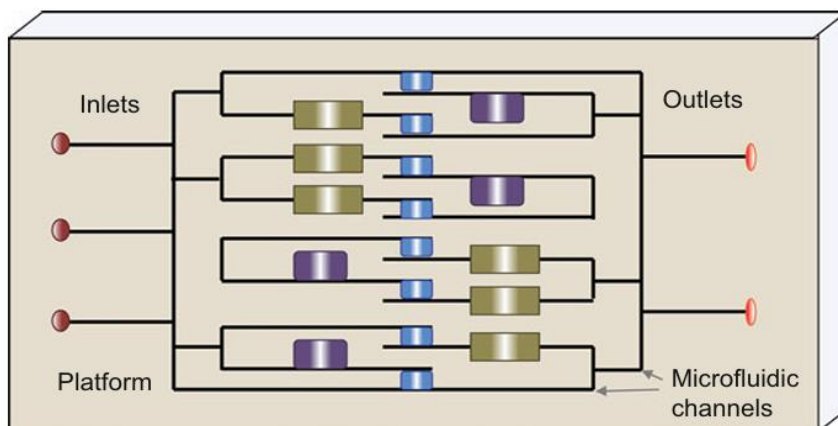
۸-۳. آزمایشگاه روی چیپ

آزمایشگاه روی چیپ (LOC^۱) که در اواسط دهه ۱۹۷۰ توسط تیمی در دانشگاه استنفورد توسعه یافت، در اوایل دهه ۱۹۹۰ محبوب شد، که عمدتاً به دلیل پیشرفت فناوری‌های مهندسی زیست‌پزشکی مانند میکروفلوئیدیک‌ها، فوتولیتوگرافی و آرایه‌های حسگر بود. آزمایشگاه روی چیپ یکپارچگی چندین روش آزمایشگاهی متداول روی یک دستگاه مینیاتوری یا میکروچیپ است که تنظیمات کنترل‌شده‌ای برای تشخیص و اندازه‌گیری بیومولکول‌ها فراهم می‌کند (شکل ۳-۳). سیستم تحلیل کامل میکرو (μTAS) نسخه‌ای از LOC است، اما بیشتر برای یکپارچگی آزمایش‌های شیمی تجزیه‌ای مینیاتوری استفاده می‌شود. سیستم میکروالکترومکانیکی^۳ (MEMS) نسخه دیگری از این فناوری است که از عناصر مکانیکی و الکتریکی روی چیپ استفاده می‌کند. تنوع‌های متعددی از این فناوری‌ها وجود دارد. با این حال، توسعه این دستگاه‌ها نیازمند مهندسی پزشکی پیشرفته است. آن‌ها در مقیاس میکرو یا نانو ساخته می‌شوند تا چندین عملکرد از جمله دریافت نمونه، پیش‌پردازش، تجزیه و تحلیل، تشخیص یا کمی‌سازی را انجام دهند. این دستگاه‌ها بسیار حساس هستند و بنابراین برای کار با حجم‌های بسیار کم نمونه‌ها، از جمله مایعات بدن، مناسب‌اند. در واقع، نمونه‌ها حتی می‌توانند در سطح پیکولتر به‌طور دقیق تجزیه و تحلیل شوند. مزیت مهم آن‌ها توانایی اندازه‌گیری بیومولکول‌های متعدد و متنوع در خون و سایر مایعات بدن است. ساخت این دستگاه‌ها شامل میکروساخت با استفاده از شیشه، فلزات، سیلیکون، پلاستیک‌ها و سرامیک‌ها است. مهندسی میکروفلوئیدیک نقش مهمی در پیشرفت فناوری LOC ایفا کرده است، به دلیل ویژگی‌های زیر:

1. Lab on a chip
2. Micro Total Analysis System
3. Microelectromechanical system

- امکان جریان نمونه از طریق دستگاه با مکانیزم‌های پمپاژ مختلف.
- امکان مخلوط کردن نمونه از طریق میکروورتکس‌ها.
- امکان جریان نمونه از طریق کانال‌های مویرگی که می‌توانند با آنتی‌بادی‌ها یا مولکول‌های خاص هدف‌گیری **بیومارکر**های خاص پوشش داده شوند.
- دارای شیرهای کنترل جریان برای تنظیم جریان نمونه.
- دارای سیستم‌های گرمایش و سرمایش برای شرایط واکنش مختلف.
- واکنش‌ها در میکروبیوراکتورها رخ می‌دهند.

در واقع، تقریباً تمام پردازش و مدیریت نمونه که در آزمایشگاه‌های متداول انجام می‌شود، در این دستگاه مینیاتوری خلاصه شده است. پیشرفت‌های چند دهه اخیر در میکروفلوئیدیک‌ها/نانوفلوئیدیک‌ها، فوتولیتوگرافی، طراحی‌های چیپ کامپیوتری، نانوتکنولوژی و بیوانفورماتیک ویژگی‌های LOC را به مقیاس‌های مینیاتوری حتی کوچک‌تر سوق داده است. این‌ها شامل بیوراکتورهای در سطح نانو، نانوپورها برای الکتروفورز و توالی‌یابی، آرایه‌های سلولی نانومقیاس برای کشت سلولی، مطالعات کانال یونی غشایی، مطالعات پروتئینی و آزمایش‌های سمیت و بسیاری دیگر هستند. این آرایه‌های سلولی (برای کشت سلولی) سیستم‌های میکروفلوئیدیکی را شامل می‌شوند که مانند مویرگ‌ها در بدن عمل کرده و تأمین مواد مغذی و حذف محصولات زائد را انجام می‌دهند.



شکل ۳-۳: طراحی بنیادی پلتفرم LOC.
(fli.co.uk)

چندین نمونه اولیه LOC برای کاربردهای مختلف مانند آزمایش‌های روتین خون و HIV در حال توسعه هستند. در واقع، یک تیم بین‌المللی از محققان از پیشرفت‌های پیشرفته در پلاسمونیک، نانوساخت، میکروفلوئیدیک و شیمی سطح برای توسعه دستگاه LOC برای تشخیص غلظت‌های بسیار پایین **بیومارکرهای** پروتئینی سرطان در خون استفاده کردند. این پلتفرم قابل اعتماد، حساس، کوچک و به‌طور بالقوه کم‌هزینه است و تنها به یک قطره خون وابسته است. کاربردهای بالقوه آن بسیار گسترده است. علاوه بر این، دستگاه LOC با استفاده از ایمونوسنسورهای چندگانه برای تشخیص گالکتین ۱ و لاکتات دهیدروژناز B، که با درجات مختلف سرطان مثانه مرتبط هستند، توسعه یافته است. این دستگاه توانست درجات مختلف سلول‌های سرطان مثانه را به‌طور مؤثری شناسایی کند. به‌طور کلی، مفهوم LOC مزایای متعددی دارد، از جمله:

- تجزیه و تحلیل سریع نمونه که می‌تواند در چند دقیقه انجام شود.
- کمی‌سازی حساس اهداف
- خودکارسازی
- نیاز به مقادیر کم نمونه - یک قطره کوچک از مایعات بدن کافی است.
- دستگاه‌های کم‌هزینه
- قابل حمل و آسان برای استفاده در نقطه مراقبت^۱ (POC)
- عدم نیاز به تکنسین‌های تخصصی یا تجهیزات آزمایشگاهی گران‌قیمت
- دسترسی آسان در کشورهای با منابع کم و جوامع محروم

نتیجه‌گیری

این بخش به مرور فناوری‌های نوین برای کشف و تحلیل بیومارکرها در سرطان می‌پردازد. فناوری‌های آمیکس با توان بالا، از ژنوم و اپی‌ژنوم تا پروتئوم و متابولوم، ابزارهای ارزشمندی برای شناسایی تغییرات مولکولی در مایعات بدن و بافت‌ها فراهم کرده‌اند. در این میان، توالی‌یابی نسل بعدی (NGS) تحولی اساسی ایجاد کرده و امکان تشخیص همزمان انواع گسترده‌ای از جهش‌ها و ناهنجاری‌های ژنومی را با دقت بالا فراهم می‌سازد. از سوی دیگر، تجزیه و تحلیل تک‌سلولی و روش‌های تقویت DNA و RNA تک‌سلولی، بینش‌های دقیقی

1. Point of care

درباره ناهمگنی تومورها و سلول‌های توموری در گردش (CTC) ارائه می‌دهند که در درک مکانیسم‌های متاستاز و انتخاب درمان‌های هدفمند اهمیت دارد. در سطح پروتئوم، پیچیدگی سرم و حضور پروتئین‌های با فراوانی بالا، نیاز به روش‌های حذف انتخابی و فناوری‌های نوین برچسب‌گذاری و طیف‌سنجی جرمی را برجسته می‌کند. به‌طور کلی، این فناوری‌ها با وجود محدودیت‌ها و هزینه‌های بالا، مسیر تشخیص زودهنگام، پایش بیماری و توسعه درمان‌های شخصی‌سازی‌شده را هموار می‌سازند.

■ نمایه ■

AFP, 62, 71, 72, 73
BRCA1/BRCA2, 15, 22, 27, 93, 95
CA125, 76, 78, 79, 80, 90
CA15-3, 75, 76, 77, 78, 79
CA19-9, 76, 80, 81, 82
CA242, 80, 82
CA27-29, 77, 79
CA549, 77, 78, 79
CA72-4, 80, 81
Carcinoembryonic Antigen (CEA), 72, 73, 74
CYFRA21-1, 75, 76
NGS, 11, 138, 139, 140, 154
Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), 87, 112

آپویتوز، ۲۴، ۵۳، ۶۶، ۶۷، ۸۷، ۹۱، ۱۰۶، ۱۱۳، ۱۱۴، ۱۲۳، ۱۲۴، ۱۲۹

بیومارکر، ۸، ۹، ۴۳، ۴۴، ۴۵، ۴۶، ۴۸، ۴۹، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۹۶، ۹۷، ۹۹، ۱۰۲، ۱۰۶، ۱۰۷، ۱۱۹، ۱۲۱، ۱۴۶

پروتئومیکس، ۱۰، ۴۵، ۱۴۶، ۱۴۸، ۱۴۹، ۱۵۰

تیروگلوبولین، ۸۴

رگ‌زایی، ۶۶، ۶۷

سرطان ریه، ۵، ۱۹، ۲۰، ۷۵، ۷۶، ۸۱، ۹۴، ۹۶، ۹۷، ۹۹، ۱۰۰، ۱۰۲، ۱۰۴، ۱۰۹، ۱۱۲، ۱۱۳، ۱۱۵، ۱۲۷

۱۳۰، ۱۳۱، ۱۴۶

سرطان سینه، ۷۷، ۷۸، ۷۹، ۸۵، ۸۶، ۹۷، ۹۹، ۱۰۰، ۱۲۷

سرطان کولورکتال، ۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۴۸، ۶۷، ۷۴، ۷۵، ۷۶، ۸۲، ۹۵، ۹۷، ۱۰۳، ۱۰۹، ۱۱۰، ۱۱۹، ۱۲۸، ۱۴۶

سرطان معده، ۶، ۲۲، ۲۳، ۸۱، ۸۲، ۹۷، ۹۸، ۹۹، ۱۰۰، ۱۱۹، ۱۲۱، ۱۲۲

کروموگرانین، ۸۴

لنفوم غیر هوچکین، ۶، ۳۰، ۳۱، ۳۲

لنفوم هوچکین، ۷، ۳۰، ۳۱، ۳۲

میکروRNA، ۹، ۱۰۷، ۱۰۸، ۱۰۹، ۱۱۰، ۱۱۱، ۱۱۲، ۱۱۳، ۱۱۴، ۱۱۵، ۱۱۶، ۱۱۷

منابع |

1. Shehzad A. Cancer Biomarkers in Diagnosis and Therapeutics: Springer Nature; 2022.
2. Roulston JE, Bartlett JM. Molecular diagnosis of cancer: methods and protocols: Springer Science & Business Media; 2008.
3. Jain KK, Jain KK. The handbook of biomarkers: Springer; 2010.
4. Hamdan MH. Cancer biomarkers: analytical techniques for discovery: John Wiley & Sons; 2007.
5. Srivastava S. Biomarkers in cancer screening and early detection: John Wiley & Sons; 2017.
6. Scatena R. Advances in cancer biomarkers: Springer; 2015.
7. Gabriel DD. Cancer biomarkers in body fluids: Principles: SPRINGER; 2018.
8. Rifai N. Tietz Textbook of Laboratory Medicine-E-Book: Tietz Textbook of Laboratory Medicine-E-Book: Elsevier Health Sciences; 2022.
9. Deep, Gagan. (Ed.). (2022). Cancer Biomarkers: Methods and Protocols (1st ed. 2022.). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1896-7>

۱۰- دکتر محمد حسین یزدی، سرطان تشخیص و درمان، انتشارات کتابخانه فرهنگ، سال ۱۳۹۴

۱۱- سید حسین حسینی، بهنوش طهباز لحافی، ندا عیوضی اروانق، زیبا مجیدی. بیوشیمی بالینی متن مصور (ویرایش ششم). انتشارات ارجمند، سال ۱۴۰۱



Mashhad University of
Medical Sciences
Vice Chancellor for
Research and Technology

Targeted Cancer Diagnosis Using Novel Biomarkers

Authors:

Sahar Ghoflchi

Ph.D. Candidate in Clinical Biochemistry

Dr. Seyed Hossein Hosseini

Faculty Member, Department of Clinical Biochemistry,
Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran



تشخیص هدفمند سرطان با بیومارکرهای نوین

Targeted Cancer Diagnosis Using Novel Biomarkers

سرطان همچنان یکی از چالش‌برانگیزترین بیماری‌های عصر حاضر است و پیشرفت در تشخیص زودهنگام و درمان مؤثر آن، نیازمند شناخت دقیق زیست‌نشاکرها و به‌کارگیری فناوری‌های نوین است. کتاب بیومارکرهای هدفمند سرطان با نانوپزشکی پاسخی علمی و جامع به این نیاز روبه‌افزایش است. در این اثر، ابتدا شایع‌ترین انواع سرطان‌ها، عوامل خطر، علائم، و الگوهای اپیدمیولوژیک آن‌ها مرور می‌شود و در ادامه، نقش بیومارکرها در تشخیص، پیش‌آگهی و پایش درمان با زبانی دقیق و کاربردی تشریح می‌گردد.

فصل‌های میانی کتاب به دسته‌بندی انواع بیومارکرها، از آنزیمی و ژنتیکی گرفته تا پروتئومی، اپی‌ژنتیکی و نشاکرهای مایع اختصاص دارد و خواننده را با تازه‌ترین یافته‌های زیست‌مولکولی مرتبط با سرطان آشنا می‌سازد. بخش پایانی کتاب نیز فناوری‌های پیشرفته تحلیل زیستی، از جمله نسل‌های نوین تعیین توانی، پروتئومیکس، متابولومیکس و تکنیک‌های مینی بر نانوپزشکی را معرفی می‌کند؛ حوزه‌ای که مسیر پزشکی شخصی‌سازی‌شده را هموار می‌سازد.

این کتاب منبعی ارزشمند برای دانشجویان، پژوهشگران، پزشکان و همه علاقه‌مندان به علوم سرطان است؛ اثری که با زبانی علمی و درعین‌حال قابل‌فهم، پلی میان دانش پایه و کاربردهای بالینی ایجاد می‌کند و راه را برای رویکردهای نوین در تشخیص و درمان سرطان می‌گشاید.

Sahar Ghofchi

Ph.D. Candidate in Clinical Biochemistry

Dr. Seyed Hossein Hosseini

Assistant Professor of Clinical Biochemistry, Mashhad University of Medical Sciences

