Paramedical Sciences and Military Health
Volume 18, Number 3, 2024

Review Article

Liquid Biopsy: An Emerging Tool for Colorectal Cancer Diagnosis and Monitoring

Akbar Bagheri [1], Mortaza Raeisi [2], Mohammadreza Pashaei [3], Leila Alizadeh [4], Yousef Roosta [3,5,6], Somaieh Matin [7], Abbasali Hosseinpour Feizi[2,8], Abbas Karimi[1*]

[1] *Department of Molecular Medicine, Faculty of Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

[2] *Hematology and Oncology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

[3] *Department of Internal Medicine, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*

[4] *Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

[5] *Solid Tumor Research Center, Cellular and Molecular Medicine Research Institute, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*

[6] *Hematology, Immune Cell Therapy, and Stem Cells Transplantation Research Center, Clinical Research Institute, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*

[7] *Department of Internal Medicine, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran*

[8] *Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

Abstract

Introduction: This article discusses the diagnosis and monitoring of patients with colorectal cancer using liquid biopsy. Colorectal cancer is one of the most common types of cancer worldwide; moreover, its diagnosis and monitoring is of great importance due to various factors such as lifestyle, environmental and genetic factors. There are various methods for diagnosing and monitoring colorectal cancer which can be used as the basis for selecting appropriate treatment methods such as surgery, chemotherapy, targeted therapy, immunotherapy, gene therapy and combination therapies.

Methods and Materials: The current study has been performed through searching “Liquid biopsy”, “Colorectal Cancer”, “Tumor educated platelets”, “Biomarker”, and “Chemotherapy” keywords in various databases including PubMed, Scopus, Web of Science, and Google Scholar until Dec 2023. Out of the 297 articles, 49 articles were selected and they were included in the study based on the inclusion and exclusion criteria.

Results: Liquid biopsy-based analysis of circulating tumor cells (CTCs), circulating tumor DNA (ctDNA), and tumor-educated platelets (TEPs) provide useful tools for early detection, monitoring treatment response, detecting disease recurrence, and identifying tumor heterogeneity and drug resistance mechanisms in colorectal cancer.

Discussion and Conclusion: This article examines that due to the molecular characteristics of the tumor during the course of the disease and the genetic and phenotypic heterogeneity of the tumor between primary and metastatic lesions, liquid biopsy can be used as a new solution for diagnosis and monitoring of patients with colorectal cancer.

Keywords: Liquid Biopsy, Colorectal Cancer, Biomarker, Chemotherapy, Tumore-Educated Platelets

***(Correspondaning Author) Dr. Abbas Karimi**, Department of Molecular Medicine, Faculty of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, East Azerbaijan, Iran.
Email: karimia@tbzmed.ac.ir

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

مجله علوم پیراپزشکی و بهداشت نظامی
سال هجدهم، شماره چهارم، ۱۴۰۳

مقاله مروری

بیوپسی مایع: ابزار و رهیافتی جدید برای تشخیص و پایش مبتلایان به سرطان کولورکتال

اکبر باقری[۱]، مرتضی رئیسی[۲]، محمدرضا پاشایی[۳]، لیلا علیزاده[۴]، یوسف روستا[۳،۵و۶]، سمیه متین[۷]، عباسعلی حسین پور فیضی[۲،۸]، عباس کریمی[۱*]

[۱] گروه پزشکی مولکولی، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۲] مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۳] گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
[۴] مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۵] مرکز تحقیقات سالید تومور، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
[۶] مرکز تحقیقات هماتولوژی، ایمیون سل تراپی و پیوند سلول‌های بنیادی(HISRC)، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
[۷] گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
[۸] گروه کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

مقدمه: این مقاله به تشخیص و پایش بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال با استفاده از روش بیوپسی مایع می‌پردازد. سرطان کولورکتال یکی از رایج‌ترین نوع‌های سرطان در جهان است و باتوجه‌به عوامل مختلفی مانند سبک زندگی، عوامل محیطی و ژنتیکی، تشخیص و پایش آن از اهمیت بالایی برخوردار است. روش‌های مختلفی برای تشخیص و پایش سرطان کولورکتال وجود دارد که می‌تواند مبنای انتخاب روش درمانی مناسب از قبیل جراحی، شیمی‌درمانی، درمان هدف‌مند، ایمونوتراپی، ژن‌درمانی و درمان‌های ترکیبی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه کلید واژه‌های Liquid biopsy, colorectal cancer, Tumor educated platelet, biomarker, chemotherapy در پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed, Scopus, web of science, google scholar تا دسامبر سال ۲۰۲۳ مورد جستجو قرار گرفتند. از تعداد ۲۹۷ مطالعه به دست آمده بر اساس معیارهای ورود و خروج ٤٩ مقاله وارد مطالعه گردید.

یافته‌ها: بیوپسی مایع مبتنی بر سلول‌های تومور در گردش، DNA تومور آزاد در گردش و پلاکت‌های آموزش دیده با تومور، ابزارهای مناسبی برای تشخیص زودهنگام، پایش پاسخ به درمان، تشخیص عود و شناسایی ناهمگونی و مکانیسم‌های مقاومت دارویی در سرطان کولورکتال هستند.

بحث و نتیجه گیری: بیوپسی مایع به‌عنوان یک روش تشخیصی نوین، به دلیل قابلیت آن در تشخیص ویژگی‌های مولکولی تومور در طول دوره بیماری و همچنین شناسایی ناهمگونی ژنتیکی و فنوتیپی بین ضایعات اولیه و متاستاتیک، می‌تواند به‌عنوان یک راه‌حل مؤثر برای تشخیص و پایش بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال مورداستفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: بیوپسی مایع، سرطان کولورکتال، نشانگر زیستی، شیمی‌درمانی پلاکت‌های آموزش‌دیده با تومور

*(نویسنده مسئول) **دکتر عباس کریمی**،گروه پزشکی مولکولی، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.
آدرس الکترونیکی: karimia@tbzmed.ac.ir

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC) سومین شکل رایج سرطان در جهان است که ۱۱ درصد از کل تشخیص‌های سرطان در سال ۲۰۱۸ (۱۰۹۶۰۰۰) و ۱۰ درصد (۱۹۳۱۵۹۰) در سال ۲۰۲۰ را شامل می‌شود (۱، ۲). CRC سومین سرطان شایع در مردان (۱۰۶۵۹۶۰) و دومین سرطان شایع در زنان (۸۶۵۶۳۰) است. بر اساس داده‌های GLOBOCAN[1] ۲۰۲۰ سرطان کولورکتال دومین سرطان کشنده با ۹۳۵۱۷۳ مرگ پیش بینی شده برای سال ۲۰۲۰ است که ۹/۴ درصد از کل مرگ و میرهای ناشی از سرطان را شامل می‌شود (۲، ۳). بر خلاف سرطان‌های دیگر از قبیل سرطان ریه، هیچ عاملی به تنهایی به عنوان ریسک فاکتور برای انواع مختلف سرطان کولورکتال محسوب نمی شود؛ با این حال عوامل متعددی در ایجاد سرطان کولورکتال نقش دارند. مطالعات اخیر نشان داده اند که افراد (یا بستگانشان) با سابقه ابتلا به سرطان، پولیپ روده بزرگ، بیماری‌های التهابی روده، دیابت ملیتوس یا کوله سیستکتومی، خطر ابتلا به CRC بالاتری دارند. عوامل مرتبط با سبک زندگی مانند اضافه وزن و چاقی، عدم تحرک بدنی، سیگار کشیدن، مصرف الکل و الگوهای غذایی نامناسب (رژیم غذایی با میزان فیبر، میوه ها، سبزیجات، کلسیم کمتر و محصولات رژیمی و سرشار از گوشت قرمز و فرآوری شده) خطر ابتلا به CRC را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، میکروبیوم روده، سن، جنسیت و نژاد و وضعیت اجتماعی-اقتصادی بر خطر سرطان کولورکتال تأثیر می‌گذارند (۳). CRC یک فرایند پیچیده با ترکیبی از متغیرهای بالینی و پاتولوژیک است که از روش‌هایی مانند جراحی، درمان‌های هدفمند، رادیوتراپی، ایمونوتراپی و شیمی‌درمانی برای درمان آن استفاده می‌شود. تشخیص زودهنگام دقیق می‌تواند بیماران CRC را قادر به دریافت درمان به‌موقع و دقیق‌تر نماید؛ بنابراین وجود نشانگرهای زیستی برای تشخیص، نظارت و بررسی پاسخ به یک درمان خاص و مدیریت بیماران CRC بسیار ضروری است. امروزه از نشانگرهایی مانند CEA، آنتی‌ژن سرطان ۱۹-۹، آنتی‌ژن اختصاصی پلی‌پپتیدی بافت سرم (TPS) و آنتی‌ژن پلی‌پپتیدی بافتی (TPA) و... برای این منظور استفاده می‌شود؛ اما به دلیل حساسیت و اختصاصیت پایین (وجود نتایج مثبت کاذب) و عدم امکان ارزیابی تکامل سرطان نیاز به استفاده از سایر روش‌های تشخیصی را ضروری می‌سازد. در حدود بیش از ۱۰ سال پیش Pantel و Alix-Panabieres اصطلاح "بیوپسی مایع" را برای تعریف نشانگرهایی در خون که اطلاعات خاص در مورد تومور ارائه می‌دهند، به کار بردند. بیوپسی مایع ابزاری برای شناسایی تغییرات مرتبط با تومور در مایعات بدن یک روش سریع، آسان و کم‌هزینه با حداقل تهاجم است که می‌تواند به محدودیت‌های بیوپسی بافت در ناهمگونی تومور غلبه کرده و تشخیص مکرر را تسهیل کند (۴، ۵) و به‌عنوان یک روش غربالگری برای تشخیص سرطان‌ها در مراحل اولیه، نشان‌دادن حداقل بیماری باقی‌مانده پس از درمان، شناسایی مشخصات مولکولی سرطان، پیش‌بینی پاسخ درمانی در اسرع وقت و بررسی مکانیسم‌های مقاومت دارویی مورداستفاده قرار گیرد(۶) . بیوپسی بافت پرکاربردترین روش در تشخیص و پایش بیماران مبتلا به CRC می‌باشد همچنین هر یک از روش‌های مذکور دارای مزایا و محدودیت‌هایی می‌باشند و می‌توانند در کنار یکدیگر در مراحل مختلف بیماری در تشخیص و پایش بیماران مورد استفاده قرار گیرند. هدف از این مطالعه بررسی استفاده از روش‌های مختلف بیوپسی مایع در طول دوره بیماری جهت تجزیه و تحلیل ناهمگونی ژنتیکی و فنوتیپی تومور بین ضایعات اولیه و متاستاتیک، به‌عنوان یک راه‌حل جدید برای تشخیص و پایش بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه مروری روایتی است. در این مطالعه کلید واژه‌های بیوپسی مایع (Liquid biopsy)، پلاکت‌های آموزش یافته با تومور (Tumor educated platelets)، سرطان کولورکتال (Colorectal Cancer)، نشانگر زیستی (Biomarker) و شیمی درمانی (Chemotherapy) در پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed, Scopus, web of science, google scholar جستجو شدند. در مجموع ۲۹۷ مقاله که تا دسامبر سال ۲۰۲۳ چاپ شده بودند، بررسی گردید. سپس بر اساس معیارهای ورود (وجود کلیدواژه‌ها در چکیده و مقدمه) و معیارهای خروج (شامل مصاحبه‌ها، کنفرانس‌ها، مقالات همایش‌ها، عدم دسترسی به متن کامل و مقالات تکراری)، تعداد ۴۹ مقاله انتخاب شد.

1* www.gco.iarc.fr

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

یافته‌ها

۱-مروری بر انواع سرطان کولورکتال

۱-۱- تقسیم‌بندی بر اساس ژنتیک، اتیولوژی بیماری، منشأ و شکل بیان

بر اساس ژنتیک، اتیولوژی بیماری، منشأ و شکل بیان سه فرم متفاوت از CRC می‌توانند از هم متمایز شودکه عبارتند از؛ سرطان‌های کولورکتال فامیلی (Familial)، توارثی (Hereditary) و تک گیر (Sporadic).

الف) سرطان کولورکتال تک‌گیر (Sporadic CRC): سرطان کولورکتال تک‌گیر شایع‌ترین نوع CRC است که هیچ شواهد آشکاری مبنی بر ارثی بودن اختلال نشان نمی‌دهند. این نوع از CRC در میان افراد مسن شایع بوده که احتمالاً به دلیل عوامل محیطی، رژیم غذایی و افزایش سن است. اکثریت قریب به‌اتفاق CRC، بین ۶۰ تا ۸۰ درصد، از نوع تک گیر هستند.

ب) سرطان کولورکتال فامیلی (Familial CRC): برای این نوع از سرطان کولورکتال که ۲۰ تا ٤۰ درصد موارد ابتلا را تشکیل می‌دهد هیچ ژن مرتبطی شناسایی نشده است و افرادی که سابقه سرطان کولورکتال در یکی از بستگان درجه یک دارند، دو تا سه برابر بیشتر از جمعیت عادی در معرض خطر هستند.

ج) سرطان کولورکتال ارثی (Hereditary CRC): این فرم از بیماری دارای ۵ نوع متفاوت است: سندرم لینچ (Lynch syndrome)، سندرم پتز ژوگر (Peutz–Jeghers)، پولیپوزیس مرتبط با MUTYH (MUTYH–associated polyposis)، آدنوماتو پولیپوزیس فامیلی (Familial adenomatous polyposis)، سندرم پولیپوز دندانه‌دار (Serrated polyposis syndrome)

آدنوماتو پولیپوزیس فامیلی (FAP): یک بیماری اتوزومال غالب که شایع‌ترین سندرم پولیپوز ارثی است و در اثر جهش در ژن APC واقع بر روی بازوی بلند کروموزوم ۵ ایجاد می‌شود. ژن APC یک ژن سرکوبگر تومور است که با تولید پروتئین APC سرعت رشد سلول ها را کنترل و از توسعه تومورها جلوگیری می‌کند. (۷). میانگین سنی برای افراد مبتلا به FAP برای ایجاد پولیپ ۳۵ سال است و اگر FAP تشخیص داده نشود و درمان نشود، به احتمال زیاد سرطان روده بزرگ ایجاد خواهد شد. چهار زیرگروه از FAP وجود دارد که توسط جهش‌های ژرم لاین مختلف در ژن APC ایجاد می‌شوند عبارتند از؛ FAP خفیف (Attenuated FAP (AFAP))، سندرم گاردنر (Gardner syndrome)، سندرم تورکو (Turcot syndrome) و آدنوم معده و پولیپوز پروگزیمال معده (Gastric Adenocarcinoma and Proximal Polyposis of the Stomach (GAPPS))

پولیپوزیس مرتبط با MUTYH (MAP): یک بیماری اتوزومال مغلوب در اثر جهش ژرمینال دو آللی در ژن MUTYH واقع بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱ ایجاد می‌شود. ژن MUTYH آنزیمی به نام MYH گلیکوزیلاز را کد می‌کند که در سیستم ترمیم Base Excision Repair نقش دارد. تعداد پولیپ ها در بیماری MAP کمتر از FAP بوده و از نظر فنوتیپی شبیه به FAP ضعیف شده است. میانگین سنی برای تشخیص MAP بین ٤۰ تا ٦۰ سال است. افراد مبتلا به MAP اگر تشخیص و درمان نشود، ۸۰ درصد در معرض خطر ابتلا به CRC خواهند بود. اکثر CRCهای مورد مطالعه در افراد مبتلا به MAP، microsatellite stable هستند. اگرچه فنوتیپ MSI–H (ناپایداری ریزماهواره ای در سطح بالا) در اقلیت CRC افراد مبتلا به MAP گزارش شده است.

سندرم پتز ژوگر (PJS): یکی از سندرم‌های پولیپوز ارثی و اختلال اتوزومال غالب نادر می‌باشد که با پولیپ‌های خوش‌خیم هماتوماتوز متعدد در دستگاه گوارش مشخص می‌شود و اغلب در روده کوچک یافت می‌شود. تعداد پولیپ ها در PJS کمتر از سندرم MAP بوده و این پولیپ ها از دوران کودکی وجود دارند. علت اصلی این بیماری جهش‌های ژرم لاین در ژن STK11 (سرین ترئونین کیناز ۱۱) که یک ژن سرکوب گر تومور و واقع در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۹ است. جهش در این ژن ساختار و عملکرد پروتئین STK11 را تغییر می‌دهد و توانایی آن را برای مهار تقسیم سلولی با از دست دادن فعالیت کیناز مختل می‌کند.

سندرم پولیپوز دندانه‌دار (SPS): سندرم نسبتاً نادر با پولیپ‌های دندانه دار متعدد روده بزرگ که قبلاً به عنوان سندرم پولیپوز هیپرپلاستیک شناخته می‌شد. این تومورها اغلب MSI–low یا MSS (Microsatellite Stable) در نظر گرفته می‌شوند.

سندرم لینچ(LS): شایع‌ترین سندرم ارثی سرطان کولون یک بیماری اتوزومال غالب است به عنوان سرطان کولورکتال غیر پولیپوز ارثی شناخته می‌شود و در اثر جهش‌های ژرمینال در یکی

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

از چندین ژن ترمیم عـــدم تطابق DNA (MMR) مانند MSH2، MLH1، MSH6 و PSM2 ایجاد می‌شـــود. جهش‌های MSH2 و MLH1 اکثر موارد ســـندرم لینچ را تشـــکیل می‌دهند. ژن‌های MMR پروتئین‌هایی را کد می‌کنند که برای ترمیم مناســـب عدم تطابق توالـــی DNA و اصلاح ناهماهنگی‌های پایه یا حذف‌ها یا درج‌های کوچک حیاتی هســـتند. غیرفعال شدن این ژن ها باعث وقفه در ترمیم DNA می‌شود و باعث تغییر در توالی‌های تکراری DNA کوتاه پشت ســـر هم یا ریزماهواره ها می‌شود و در نتیجه فنوتیپی به نام ناپایداری ریزماهواره ایجاد می‌شـــود که مشخصه سندرم لینچ است. این ســـندرم تقریباً ۳-۲٪ از کل موارد CRC را تشـــکیل می‌دهد. ناپایداری ریزماهواره در سطح بالا تقریباً در ۹۰ درصد از CRCهای مرتبط با LS مشاهده شده است (۷, ۸).

۱-۲: تقسیم‌بندی بر اساس ناپایداری‌های ژنتیکی و اپی ژنتیکی

بر اساس ناپایداری‌های ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی سرطان کولورکتال را می‌توان به ٤ نوع تقسیم بندی نمود (۹): ناپایداری کروموزومی (Chromosome Instability, CIN)، ناپایـــداری ریزماهـــواره ای (Microsatellite Instability, MSI)، فنوتایـــپ جزایـــر CpG متیلـــه شـــده (CpG Island Methylator Phenotype, CIMP)، هیپومتیلاســـیون سراســـری DNA (DNA global hypomethylation)

الف) ناپایـــداری کروموزومـــی (Chromosome instability): تغییر در تعداد و ســـاختار کروموزوم‌ها منجر بـــه آنیوپلوئیدی، subkaryotypic amplification، بازآرایـــی کروموزومـــی و ازدست‌دادن هتروزیگوسیتی در جایگاه‌های ژن‌های سرکوب گر تومور می‌شـــود که علت ایجاد ۸۵ درصد از CRC ها می‌باشـــد. علاوه بـــر این، تومورهای CIN جهش‌هایـــی را در انکوژن‌ها و ژن‌های ســـرکوبگر تومـــور از جملـــه APC، TP53، KRAS و BRAF تجمیع می‌کنند (۱۰).

ب) ناپایداری ریـــز ماهـــواره (microsatellite instability): مشـــخصه این نوع اختلال ناپایداری توالی‌هـــای کوتاه تکراری DNA پشت‌سرهم به نام ریزماهواره ها است که حدود ۱۵ درصد از CRC ها را تشـــکیل می‌دهد و ممکن است ناشی از جهش در یکی از ژن‌های ترمیم عدم تطابق MMR مانند MLH1، MSH2، MSH6 و PMS2 یا خاموش شـــدن پروموتـــر MLH1 به دلیل هیپرمتیلاسیون باشد.

ج) فنوتایپ جزایر CpG متیله شده (CpG Island Methylator Phenotype): مشـــخصه اصلی مســـیر CIMP هیپر متیلاسیون گســـترده پروموتورهای غنی از CPG و در نتیجه غیرفعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور می‌باشد (۹، ۱۰).

۲: انواع روش‌های درمانی سرطان کولورکتال

پاتوژنز مولکولی سرطان کولورکتال ناهمگن می‌باشد. مکانیسم‌های مولکولی پایه ای ایجاد این سرطان از نظر بالینی مهم هستند زیرا با پیش آگهی و پاســـخ درمانی بیمار مرتبط می‌باشند. در طول دو دهه گذشـــته ارتباطات متقابل بین پاتوژنز مولکولی، پیش آگهی و پاســـخ درمانی در سرطان کولورکتال به طور فزاینده ای آشکار شده اســـت (۱۱). پس از تشـــخیص CRC، مرحله بندی بالینی و پاتولوژیک برای تعیین گســـترش موضعی و متاســـتاز بیماری ضروری است که به نوبه خود چهارچوبی برای تعیین پیش آگهی و درمان فراهم می‌کند (۱۲). با اســـتفاده از متداول ترین سیستم مرحله بندی TNM، CRC[1] رامی توان به طور کلی به پنج مرحله تقســـیم کرد: مرحله صفـــر (Carcinoma in Situ)، مرحله یک، مرحلـــه دو (IIA, IIB, IIC)، مرحله ســـه(IIIA, IIIB, IIIC) و مرحله چهار(۱۳) . مرحله بندی ســـرطان شدت آن را مشخص می‌کند و انتخاب روش درمانی ســـرطان کولورکتال به مرحله آن بســـتگی دارد. درمان‌های CRC شامل برداشتن با جراحی، شیمی درمانی، درمان هدفمند، ایمونوتراپـــی، ژن درمانی و درمان‌های ترکیبی است (٤). روش اســـتاندارد جراحی برای درمان سرطان رکتوم، برداشـــتن کامل مزورکتال (رکتوم همـــراه با مزورکتوم و پوشش اطراف آن) اســـت، زیرا حاوی بقایای تومور و بیشترین میزان غـــدد لنفاوی درگیر اســـت (۱۱). در مراحل اولیه بیماری مانند CRC T1 ضایعات توموری پس از تشـــخیص ممکن است به صورت رزسکیون آندوسکوپی مخاطی یا زیر مخاطی برداشته شـــوند و برای مراحل پیشرفته بیماری جراحی تنها درمان ممکن برای CRC می‌باشد (١٤). عوامل شیمی‌درمانی رایج برای CRC شامل Capecitabine، Oxaliplatin، S-1 (Tegafur/gimeracil/ oteracil)، 5-Fluorouracil، Irinotecan، Calcium folinate و TAS-102 (Trifluridine/Tipiracil) اســـت. شیمی‌درمانی‌های CRC معمولاً ترکیبی از چندین مورد از آن عوامل شـــیمی‌درمانی

۱ برای مشـــخص نمودن مرحله سرطان از شاخص TNM استفاده می‌شود. T میزان تکثر و رشد تومور ابتدایی، N۱ گرفتاری گره‌های لنفاوی ناحیه موردنظر و M وجود متاستاز بیماری را نشان می‌دهد.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

شامل موارد زیر می‌باشد؛
FOLFOX (5-Fluorouracil, Calcium folinate, Oxaliplatin); FOLFIRI (5-Fluorouracil, Calcium folinate, Irinotecan); CAPEOX (Capecitabine, Oxaliplatin); FOLFOXIRI (5-Fluorouracil, Calcium folinate, Irinotecan, Oxaliplatin)
همچنین برای درمان می‌توان از داروهای هدف‌مند استفاده کرد که می‌توان آن‌ها را به دو دسته عمده تقسیم کرد: مولکول‌های کوچک مهارکننده انتقال پیام و آنتی‌بادی‌های مونوکلونال.
مولکول‌های کوچک مهارکننده انتقال پیام: این مولکول‌ها می‌توانند سلول‌های سرطانی را با مسدودکردن مسیرهای سیگنال ضروری برای رشد و تکثیر تومور از بین ببرند و به‌صورت خوراکی، با ویژگی بالا و نیمه‌عمر کوتاه تجویز شوند.
آنتی‌بادی‌های مونوکلونال: با ویژگی بالا و نیمه‌عمر طولانی، سلول‌های تومور را از طریق بر همکنش آنتی‌ژن و آنتی‌بادی اختصاصی شناسایی می‌کنند که عمدتاً به‌صورت داخل وریدی و بدون متابولیسم کبدی تجویز می‌شوند (٤). در حال حاضر داروهای متعددی برای درمان CRC تایید شده اند و انواع آزمایشات فارماکوژنتیک شامل نشانگرهای زیستی برای کمک به فرآیند انتخاب بیمار پذیرفته شده است که EGFR therapy و VEGF receptor therapies نمونه هایی از آن‌ها می‌باشد.
درمان‌های مبتنی بر گیرنده فاکتور رشد اپیدرمال (EGFR) : EGFR یک گیرنده تیروزین کیناز گذرنده از غشا است که مسیرهای سیگنالینگ JNK، AKT و MAPK/ERK را که مسئول سنتز DNA، تکثیر سلولی، آپوپتوز و تحرک هستند، را تنظیم می‌کند. بیان بیش از حد EGFR با پیشرفت تومور در انواع مختلف سرطان از جمله CRC مرتبط است. مسدودکردن EGFR با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال مانند cetuximab یا panitumumab با ترکیب با داروهای شیمی‌درمانی منجر به پاسخ درمانی بهتری می‌شود. در بیماران mCRC این درمان‌ها را می‌توان با استفاده از یکی از ابزارهای فارماکوژنتیک مورد تأیید FDA که سطح بیان EGFR بیمار را اندازه‌گیری می‌کند یا جهش‌های اگزون ۲ (کدون ۱۲/۱۳) KRAS Proto-Oncogen (KRAS) را شناسایی می‌کند، تنظیم کرد.
درمان‌های مبتنی بر گیرنده VEGR: گیرنده VEGF یک پروتئین غشایی است که حاوی یک دامنه تیروزین کیناز در سطح داخل سلولی و هفت حوزه شبه ایمونوگلوبولین در سطوح خارج سلولی برای رگ‌زایی است. بیان بیش از حد VEGF منجر به پیشرفت تومور و متاستاز و همچنین میزان بقای کمتر بیمار می‌شود. Ramucirumab با تعدیل VEGFR-2، فعال‌شدن گیرنده VEGF-A را هدف قرار می‌دهد. Zivaflibercept PIGF، VEGF-A، و VEGF-B را با استفاده از IgG1 Fc-VEGFR خود مهار می‌کند و VEGF-A، bevacizumab را برای ایجاد لیگاند مهاری، مسدود می‌کند (۱۳).

۳: تشخیص CRC با رویکرد مبتنی بر بیوپسی مایع

تست‌های تهاجمی و غیر تهاجمی بسیاری برای غربالگری CRC مورد استفاده قرار می‌گیرد. کولونوسکوپی یکی از حساس ترین (٪۹۰-۸۰) و اختصاصی ترین (٪۱۰۰-۹۵) تست ها برای غربالگری CRC است که امکان برداشتن پولیپ در طول عمل را امکان پذیر می‌کند (۱۵) همچنین بیومارکرهای به دست آمده از نمونه‌های مختلف مانند بافت، مدفوع، DNA تومور، سلول ها و miRNA مشتق از تومور موجود در نمونه خون و نشانگرهایی مانند CEA، آنتی ژن سرطان 19-9، آنتی ژن اختصاصی پلی پپتیدی بافت سرم (TPS) و آنتی ژن پلی پپتیدی بافتی (TPA)، سیتوکراتین ۸، ۱۸ و ۱۹و ... نقش مهمی در تشخیص زود هنگام و طبقه بندی پیش آگهی بیماری تحت درمان هدفمند CRC دارند. آنتی ژن کارسینو امبریونیک (CEA) گلیکوپروتئینی است که میزان آن در بدخیمی‌های کولورکتال افزایش می‌یابد و بیومارکر اصلی نشان دهنده پیش آگهی بیماری است، سطح بالای CEA با پیشرفت سرطان ارتباط مثبت دارد و نشان دهنده عودCRC پس از جراحی است که به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما CEA تست اختصاصی برای CRC نمی‌باشد زیرا افزایش سطح CEA در سایر بیماری ها مانند بیماری التهابی روده، متاستاز کبدی و پانکراتیت نیز مشاهده می‌شود. سایر تست‌های بکار رفته نیز همانند CEA حساسیت و اختصاصیت بالایی در تشخیص و پیش بینی شرایط بیمار و پاسخ دهی به درمان نداشته بنابراین نیاز به استفاده از بیومارکرهای تشخیصی در این بیماری مشهود می‌باشد (٤، ٦). روش‌های درمانی برای بسیاری از سرطان‌ها شامل جراحی، شیمی درمانی کمکی سیستمیک، پرتودرمانی، ایمونوتراپی و درمان هدفمند می‌باشد و گزارش‌های زیادی از عود به دلیل مقاومت به درمان و ناهمگونی تومور گزارش شده

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

اســـت اما بیومارکر قابل اعتمادی که بتواند اثربخشـــی درمان را گزارش کرده و عود بیماری را پیش‌بینی کند، وجود ندارد.

بیوپســـی بافت پرکاربردترین روش برای طبقـــه بندی تومورها، شناسایی نشانگرهای زیستی و اســـتاندارد مراقبت در تشخیص و درمان ســـرطان است. نمونه‌های به‌دســـت‌آمده از بیوپسی‌ها از نظر بافت‌شناسی با افزودن نشانگرهای مولکولی و فنوتیپی مورد بررسی قرار می‌گیرند، که همگی امکان طبقه‌بندی تومور را برای درمان هدفمند شخصی‌شـــده فراهم می‌کنند. با این حال، بیوپسی بافت دارای محدودیت‌های متعددی است. یک روش پرهزینه و تهاجمی بوده که احتمال خونریزی، سوراخ شدن احشاء، عفونت، درد یـــا ناراحتی وجود دارد به‌ویژه زمانی که دسترســـی به بافت هدف دشـــوار بوده یا در یک مکان حساس آناتومیک قرار داشته باشد. نمونه برداری از بافت تومور اطلاعاتی محدود به یک نقطه در فضا و زمـــان را فراهم می‌کند، بنابرایـــن نمی تواند تغییرات مولکولی و ناهمگنی پیچیده تومور را به تصویر بکشد. ناهمگونی تومور، چه ژنتیکی و چه فنوتیپی، بین ضایعات اولیه و متاستاتیک در بیمارانی که با متاســـتازهای همزمان مراجعه می‌کنند، گزارش شده است. علاوه بر این، مشخصات مولکولی تومور به صورت پویا در طول زمان در پاســـخ به فشـــار انتخابی اعمال شـــده به صورت درون زا (مانند سیستم ایمنی) و به صورت برون زا (مثلاً درمان) تغییر می‌کند همچنین نظارت بر پیشرفت بیماری از طریق بیوپسی‌های مکرر دشوار است. بررسی جامع سلول‌های ناهمگن ســـرطانی از نظر ژنتیکی و فنوتیپی با اســـتفاده از روش‌های غیر تهاجمی یک چالش بزرگ برای انکولوژیست‌ها است (۱۶). برای غلبه بر این محدودیت‌ها، در سال‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در زمینه بیوپسی مایع وجود داشته است که به عنوان نمونه‌برداری و تجزیه و تحلیل بافت بیولوژیکی غیر جامد، مانند خون و سایر مایعات بدن (مانند ادرار، بزاق، آسیت، پلورال افیوژن، مایع مغزی نخاعی و ...) و اجزای مشتق شده از تومور یا مرتبط با تومور در نمونه‌ها با تجزیه و تحلیل DNA، ctDNA ، CTCs یا RNA آزاد (cf) در گردش، اگزوزوم‌ها، TEPs، ســـلول‌های اندوتلیال مشتق از تومور (CTECs) و مولکول‌های پروتئینی است (۶، ۱۰، ۱۷).

با توســـعه ســـریع فناوری‌های جداسازی ســـلولی و تشخیص ژن، موقعیـــت اصلی بیوپســـی مایع در پزشـــکی دقیق تومور به طور فزاینده ای برجســـته شده است. بیوپســـی مایع یک روش ســـریع، آســـان و کم‌هزینه با حداقل تهاجم است که در مقایسه با بیوپســـی بافت، این فناوری بهتر می‌تواند بر ناهمگونی تومور غلبه کرده و تشـــخیص مکرر را تســـهیل کند. همچنین می‌تواند به عنوان یک روش غربالگری برای تشـــخیص ســـرطان ها در مراحل اولیه، نشان دادن حداقل بیماری باقیمانده پس از جراحی، شناسایی مشخصات مولکولی سرطان، خطر عود، اهداف درمانی، مکانیسم‌های مقاومت دارویی مورد استفاده قرار گیرد. (۶،۱۸)

۳-۱: نشانگرهای پروتئینی در گردش

نشـــانگرهای پروتئینـــی در گـــردش، از پرکاربردترین ابزارهای تشـــخیصی غیرتهاجمی برای ســـرطان هســـتند. مانند: آنتی ژن اختصاصی پروستات (PSA) برای غربالگری سرطان پروستات، آنتی ژن ســـرطانی (CA) 3-15 برای پیگیری بعد از عمل سرطان پستان، آنتی ژن کربوهیدرات ۱۹-۹ است. (CA 19-9)، آنتی ژن کارســـینومبریونیک (CEA) برای کلانژیوکارسینوم داخل کبدی (ICC)، آلفا فتوپروتئین (AFP) و آنتی ژن‌های کربوهیدرات برای غربالگری بدخیمی‌های متعدد. با این حال، به کاربردن نشانگرهای پروتئینی به تنهایی به طور قابل توجهی از نظر حساسیت و ویژگی محدود بوده و با نرخ مثبت کاذب بالا مرتبط هستند. وجود نتایج بالای مثبت کاذب در این تست ها باعث درمان‌های غیر ضروری و تشـــخیص‌های بیش از حد سرطان می‌شود، بنابراین استفاده از پانل ها یا امضاهای زیســـتی (biosignatures) شامل بیش از یک پروتئین می‌تواند رویکرد امیدوارکننده تری باشـــد، زیرا ترکیب بیومارکرهـــای متعدد با کاهش تعداد مثبت کاذب و منفی کاذب، قابلیت تشـــخیصی و یا پیش آگهی ســـنجش را افزایش می‌دهد (۱۹، ۲۰).

DNA بدون ســـلول (Cell free DNA): قطعات DNA شناور از پلاســـما برای اولین بار در اوایل سال ۱۹۴۸ شناسایی شدند ولی برای مـــدت طولانی مورد توجه قـــرار نگرفتند (۵). حدود یک دهه بعد، مشـــخص شد که سلول‌های ســـرطانی سهم عمده ای از مجموع cfDNAهای موجود در پلاســـما و رسوبات ادراری دارند (۲۱). بعدها مشـــاهده شد که سطح DNA آزاد پلاسما در بیمـــاران توموری، به ویژه در بیماران با تومور پیشـــرفته، به طور قابل توجهی بالاتر از افراد سالم بود در نتیجه، حدس زده شد که میزان DNA آزاد ممکن است با بدخیمی‌ها مرتبط بوده و بعضی از cfDNAها از سلول‌های تومور مشتق شده باشند (۵). cfDNA

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

ها قطعات DNA دو رشته ای با اندازه ی تقریبی ۱۵۰ جفت باز است که توسط مکانیسم‌های مختلفی از جمله آپوپتوز سلولی، نکروز و اگزوسیتوز در گردش خون آزاد شده و در اکثر مایعات بدن از جمله پلاسما، ادرار، بزاق، مایع جنب و مایع مغزی نخاعی قابل اندازه گیری است. در حال حاضر، موفقیت‌آمیزترین کاربرد cfDNA در کلینیک‌ها احتمالاً استفاده از آن در آزمایش‌های قبل از تولد برای آنیوپلوئیدی جنین است، اگرچه فراوانی cfDNA در نتیجه عواملی مانند ورزش، تروما، عفونت و سرطان افزایش می‌یابد، مقدار cfDNA اندازه گیری شده در افراد سالم و گروه‌های مختلف بیماران به طور قابل توجهی متفاوت است. در میان افراد سالم و بیماران بدون سرطان، غلظت cfDNA پلاسما از غیرقابل شناسایی تا تقریباً ۳۰ نانوگرم در میلی لیتر متغیر است، در حالی که در بیماران سرطانی معمولاً ۳۰ تا ۱۸۰ نانوگرم در میلی لیتر است. نیمه عمر cfDNA در پلاسما بین ۳۰ دقیقه تا ۲ ساعت و در ادرار تا ۵ ساعت است. از این رو، cfDNA می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی پویا برای نمایش بار بیماری در یک زمان مشخص (لحظه‌ی نمونه گیری) عمل کند (۲۱, ۲۲).

DNA توموری در گردش (ctDNA): حضور ctDNA در خون برای اولین بار در سال ۱۹۴۸ مورد بررسی قرار گرفت. ctDNA نسبتی از DNA بدون سلول (cfDNA) در گردش است که از سلول‌های سرطانی منشا می‌گیرد، این نسبت بسیار متغیر بوده و بسته به نوع تومور، اندازه، محل آن و مرحله بندی تومور می‌تواند از ۰,۱٪ تا بیش از ۱۰٪ از کل cfDNA متغیر باشد. طول این قطعات در صورتیکه در ارتباط با نوکلئوزوم باشند ۸۰ تا ۲۰۰ جفت باز بوده و اگر بیش از ۱۰ کیلوباز طول داشته باشند در داخل Evs محصور می‌شوند (۱۹). میزان ctDNA در خون بسیار پایین می‌باشد و فناوری‌های تشخیص مولکولی بسیار حساس و پیشرفته و همچنین روش‌های جداسازی اختصاصی ctDNA مورد نیاز است. توسعه سریع فناوری‌های مولکولی جدید، مانند NGS و PCR دیجیتال (dPCR) کاربردهای بالینی ctDNA را تسهیل کرده است. به طور خاص، dPCR به دلیل هزینه کم و حساسیت بالا به طور گسترده ای استفاده می‌شود که امکان تشخیص جهش‌هایی که فرکانس آن‌ها کمتر از ۰/۱٪ است را می‌دهد. با این وجود، روش‌های مبتنی بر PCR فقط می‌توانند جهش‌های شناخته شده را غربال کنند، بنابراین کاربردهای بالینی آن‌ها محدود است. در مقابل، پلتفرم‌های NGS حساسیت کمتری دارند (تشخیص جهش‌ها با فرکانس کمتر از ۱٪)، اما می‌توانند جهش‌های ژنوم ناشناخته DNA را شناسایی کنند. متأسفانه، استفاده معمول از پلتفرم‌های NGS در کلینیک در حال حاضر به دلیل هزینه‌های بالای آن‌ها محدود شده است. راه حلی که اغلب مورد بررسی قرار می‌گیرد، ترکیبی از دو تکنیک است، NGS اولین نمای گسترده و اکتشافی از مشخصات جهش را ارائه می‌دهد، با dPCR که برای اعتبارسنجی نتایج NGS و نظارت بر جهش‌های شناسایی شده در طول زمان، صرفه جویی در منابع استفاده می‌شود. این فناوری‌ها اکنون می‌توانند کوچک‌ترین مقادیر ctDNA را در «دریای» DNA آزاد در گردش طبیعی که پیش‌نیاز برای تشخیص زودهنگام سرطان یا حداقل بیماری باقی‌مانده (MRD) است، شناسایی کنند و با کمی سازی و تجزیه و تحلیل آن اطلاعات بالینی مرتبطی در مورد بار تومور، مرحله، واسکولاریتی و پاسخ درمانی ارائه دهد (۱۶). تشخیص زودهنگام سرطان یکی از کاربردهای اصلی آزمایش‌های خون ctDNA است که در سال‌های اخیر مورد توجه گروه‌های دانشگاهی، فروشندگان تجاری و رسانه‌ها قرار گرفته است. چشم انداز تشخیص سرطان قبل از هر گونه علائم بالینی یا نکات حاصله از روش‌های تصویربرداری مورد استفاده برای غربالگری سرطان (مانند ماموگرافی برای سرطان سینه یا CT اسکن با دوز پایین برای سرطان ریه) منجر به توسعه سنجش‌های فوق حساسی شده است که جهش ها، انحرافات تعداد کپی یا متیلاسیون روی ctDNA در مقادیر بسیار کم (معمولاً کمتر از ۰/۱٪) وجود دارد را هدف قرار می‌دهد.

مطالعات در باره ctDNA برای جایگزینی آن‌ها به‌جای نشانگرهای تومور منفرد برای تشخیص ضایعات توموری کوچک مانند آنتی‌ژن کارسینوامبریونیک باهدف تشخیص زودهنگام سرطان شروع شد؛ بااین‌حال، علی‌رغم پیشرفت‌های عظیم در فناوری‌های ctDNA به نظر می‌رسد بیولوژی توسعه سرطان قوی‌ترین محدودیت در این زمینه باشد. از آنجایی که ساختار ژنتیکی تومور "مخفی" ناشناخته است، سنجش ctDNA باید حداقل شایع ترین انحرافات ژنومی در ژن‌های سرطانی احتمالی را در بر گیرد. امروزه چندین فناوری این الزامات را برآورده می‌کنند و در حال حاضر برای تشخیص زودهنگام

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

سرطان در حال آزمایش هستند. علاوه بر این، گروه‌های تحقیقاتی پروتئین‌های در گردش را به این مجموعه اضافه کرده و از الگوریتم‌های یادگیری ماشینی برای ایجاد یک سنجش بیومارکر مرکب استفاده کرده‌اند. پیشرفت‌های فنی، سنجش‌های ctDNA را بسیار خاص‌تر کرده است، اما گزارش‌های اخیر نشان می‌دهد که افراد مسن پیش‌زمینه‌ای از جهش‌ها از جمله ژن‌های محرک سرطان را نشان می‌دهند که لکوسیت ها منبع اصلی آن هستند، جهش‌های "خون سازی کلونال با پتانسیل نامشخص" (CHIP) باید اندازه گیری شده و این جهش ها از مجموعه کل انحرافات ctDNA که در هر بیمار یافت می‌شود حذف شوند. با این حال، علاوه بر جهش‌های CHIP، منابع دیگری از جهش‌های «پس‌زمینه» ممکن است وجود داشته باشد، که اخیراً توسط توالی‌یابی تک سلولی پیچیده آشکار شده است (۲۳).

با تجزیه‌وتحلیل ctDNA می‌توان به اطلاعات کمی و کیفی در ارتباط با بیماری دست یافت. اطلاعات کمی بازتابی از بار تومور است و از اندازه گیری کسر آلل جهش یافته (درصد آلل جهش یافته در یک مکان مشخص) به دست می‌آید که در تشخیص حداقل بیماری باقیمانده (MRD)، متاستازهای پنهان و نظارت بر پاسخ و اثربخشی درمانی کاربرد دارد. اطلاعات کیفی نیز از طریق بررسی پروفایل جهش ها، آمپلیفیکیشن‌ها، حذف ها و جابجایی ها در ctDNA به دست می‌آید که امکان شناسایی تغییرات ژنتیکی مرتبط با پاسخ را فراهم می‌کند، در نتیجه از تصمیم گیری برای مدیریت شخصی حمایت می‌کند.

اولین آزمایش تشخیصی مبتنی بر ctDNA (cobas1 EGFR Mutation Test v2؛ Roche Diagnostics)، برای راهنمایی استفاده از مهارکننده تیروزین کینازی گیرنده‌های فاکتور رشد اپیدرمی بر اساس جهش‌های خاص حساس کننده EGFR در بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول غیر کوچک (NSCLC) اخیرا مورد تایید FDA قرار گرفته است. Epi proColon1 تست دیگری که FDA آن‌را تایید کرده است، آزمایش غربالگری برای سرطان کولورکتال می‌باشد و الگوی متیلاسیون پروموتر ژن SEPT9 که در CRC در مقایسه با نمونه‌های غیر بدخیم هیپرمتیله است را تجزیه و تحلیل می‌کند (۱۹).

در سال‌های اخیر مطالعات مختلف مبتنی بر ctDNA به عنوان ابزاری برای تشخیص زودرس، غربالگری، نظارت بر درمان، شخصی سازی و هدفمند کردن درمان، بررسی پیش آگهی، عود، نرخ زنده مانی، مشخص نمودن حداقل بیماری باقیمانده و ... در بیماران مبتلا به سرطان‌های مختلف مانند سرطان پستان (۲۴)، سرطان ریه (۲۵)، گلیوما (۲۶) و بسیاری از سرطان ها با تومورهای جامد (۲۷) انجام شده است.

در یک مطالعه کوهورت چند مرکزی آینده نگر، ctDNA پلاسما در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال مرحله I تا III مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ctDNA در ۱۰۸ نفر از ۱۲۲ بیمار (۸۸/۵٪) قابل تشخیص بود. علاوه بر این، مشخص شد که احتمال عود بیماران ctDNA مثبت ۷ برابر بیشتر از بیماران ctDNA منفی در روز ۳۰ بعد از عمل است. پس از درمان منظم، بیماران ctDNA مثبت بیش از ۴۰ برابر بیشتر از بیماران دارای ctDNA منفی در معرض عود سرطان در طول مراقبت بودند. اعتقاد بر این است که ctDNA ممکن است برای طبقه بندی خطر(risk classification)، نظارت بر شیمی درمانی کمکی (adjuvant chemotherapy surveillance) و تشخیص زودهنگام عود در CRC مفید باشد (۲۸). متاستاز دوردست یکی از دلایل پیش آگهی ضعیف CRC است. سطوح نسبتاً بالایی از ctDNA در پلاسمای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال متاستاز داده به کبد (colorectal cancer liver metastasis patients, CRLM) تشخیص داده شده است. یک مطالعه گذشته نگر تک مرکزی برای بررسی تاثیر ctDNA بر نرخ زنده مانی (Overall Survival, OS) بیمارانی که تحت هپاتکتومی اولیه برای CRLM قابل برداشت قرار گرفتند، انجام شد. در این مطالعه، آن‌ها دریافتند که بیمارانی که قبل از جراحی تحت تشخیص ctDNA قرار گرفتند، میزان عود بالایی داشتند (۲۹). علاوه بر این، در یک مطالعه دیگر مشخص شد که در بیماران با CRLM خارج شده بیمارانی که پس از مداخله درمانی میزان ctDNA آن‌ها قابل تشخیص بود زنده مانی بدون عود (Relapse-Free Survival, RFS) و نرخ زنده مانی بسیار پایینی نسبت به بیماران با ctDNA غیر قابل تشخیص داشتند (۳۰).

سلول‌های توموری در گردش (CTC): سلول‌های تومور در گردش برای اولین بار در سال ۱۸۶۹ زمانی که توماس اشورث گروه کوچکی از سلول‌های توموری با منشا بافت سرطانی را در جریان خون یک بیمار مبتلا به سرطان متاستاتیک شناسایی کرد، توصیف شد. این سلول ها می‌توانند از محل‌های اولیه مانند

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

(مانند سینه، کولورکتوم، تخمدان، کبد، لوزالمعده، پروستات و ریه) از طریق سیستم گردش خون به نقاط دوردست بدن منتشر شوند اما وجود آن‌ها لزوما به معنای میکرومتاستاز نمی باشد (۲۳). CTC ها کلون‌های یکدیگر نیستند، برخی از جمعیت‌های آن‌ها دارای هویت‌های مشابه می‌باشند اما بیشتر آن‌ها ویژگی‌های ناهمگن را در مراحل و انواع مختلف تومورهای بدخیم نشان می‌دهند. هنگامی که این سلول ها سیگنال‌های خاصی را از یک ریزمحیط در حال تغییر دریافت می‌کنند یا توسط استرس درمانی (therapeutic stress) تحریک می‌شوند، فنوتیپ و خواص مولکولی خود را تغییر می‌دهند. بنابراین، بیوپسی مایع بر اساس آنالیز CTC برای ارزیابی ناهمگنی تومور نسبت به بیوپسی بافت بیولوژیکی جامد امکان پذیرتر و کمتر تهاجمی است (۳۱). CTC ها در مرحله میانی آبشار متاستاتیک حضور دارند. سلول تومور موقعیت متاستاتیک یا تومور اولیه را ترک کرده و وارد عروق خونی یا لنفی شده و قبل از اینکه در یک موقعیت دیگر بافت توموری ایجاد کند در خون گردش می‌کند، از طریق سیستم گردش خون به اندام‌های دوردست منتقل شده و ایجاد متاستاز کنند همچنین می‌توانند وارد مغز استخوان شده و برای مدت زمان نامشخص در حالت غیر فعال باقی بمانند که در این حالت به آن‌ها سلول‌های تومور منتشر شده (DTCs) اطلاق می‌شود. روزانه میلیون‌ها سلول توموری از تومور اولیه خارج می‌شوند. اما به دلیل نظارت ایمنی، فقدان فاکتورهای رشد، استرس اکسیداتیو، سیتوکین ها، آنویکیس (anoikis)، نیروهای برشی و استرس‌های فیزیکی تنها در حدود ۱ تا ۱۰ سلول در هر میلی لیتر خون می‌توانند زنده بمانند. این سلول ها در جریان خون به شکل سلول‌های منفرد یا خوشه ای یافت می‌شوند. CTCهای خوشه ای پتانسیل متاستازی بیشتر و نیمه عمر کمتری (٦ تا ۱۰ دقیقه) نسبت به سلول‌های منفرد (۲۵ تا ۳۰) دارند (۳۲). اولین قدم برای CTCها برای شرکت در آبشارهای متاستاتیک، دسترسی به عروق پروگزیمال است که می‌توانند به دو روش فعال و غیرفعال این عمل را انجام داده و وارد جریان خون شوند.

در حالت فعال، CTCها متحرک هستند و به طور مستقیم مهاجرت می‌کنند. با روش انتقال اپیتلیال-مزانشیمی(epithelial–mesenchymal transition, EMT) از غشای پایه عبور کرده و به لایه اندوتلیال نفوذ می‌کنند. برای انجام این کار، CTC ها مورفولوژی و خواص مولکولی خود را تغییر می‌دهند تا خود را تهاجمی تر و پیش رونده تر کنند. در روش غیرفعال، CTC ها متحرک هستند و توسط نیروهای خارجی به داخل گردش خون کشیده یا رانده می‌شوند.

در طول CTC، EMTها با کاهش نشانگرهای اپیتلیال مانند مولکول‌های چسبندگی سلول‌های اپیتلیال (EpCAM)، سیتوکراتین ها (CKs)، E-cadherin، و به تبع آن افزایش بیان نشانگرهای مزانشیمی مانند N-cadherin و vimentin، ویژگی‌های اپیتلیال خود را به فنوتیپ مزانشیمی برنامه ریزی مجدد می‌کنند. EMT از طریق هماهنگی بازیگران درون سلولی و خارج سلولی القا و تنظیم می‌شود. هنگامی که توسط برخی عوامل خارج سلولی مانند فاکتور رشد تبدیل کننده بتا (TGFβ)، فاکتور رشد اپیدرمی (EGF)، فاکتور رشد کبدی (HGF)، فاکتور رشد شبه انسولین (IGF) و فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF) تحریک می‌شود، فاکتورهای رونویسی از جمله Snail، Twist، Slug و Zeb را برای حفظ ویژگی‌های مزانشیمی فعال می‌کند در نتیجه، سلول‌های اپیتلیال به خوبی سازماندهی شده و به هم متصل شده، اتصالات محکم با یکدیگر را شل می‌کنند و تعامل با ماتریکس سلولی را برای به دست آوردن توانایی جدا شدن از کانون‌های تومور را از دست می‌دهند. به طور قابل‌توجهی، فعال‌سازی EMT منجر به ایجاد سلول‌های واسطه‌ای می‌شود که به عنوان سلول‌های بنیادی سرطانی (CSCs) تعریف می‌شوند، که حالتی بین اپیتلیال و مزانشیمی دارند (۳۱). شواهد قابل توجهی وجود دارد که نشان می‌دهد بسیاری از سرطان ها توسط سلول‌های بنیادی سرطان (CSCs) که جمعیتی از سلول سرطانی با ویژگی‌های سلول‌های بنیادی مانند خود تجدید پذیری و تمایز به انواع مختلف سلولی هستند، یا سلول‌های شروع کننده تومور که سلول‌های شروع کننده متاستاز (MIC) در مکان‌های متاستاتیک نامیده می‌شوند، هدایت می‌شوند. سلول‌های بنیادی سرطان جمعیتی از سلول سرطانی با ویژگی‌های سلول‌های بنیادی مانند خود تجدید پذیری و تمایز به انواع مختلف سلولی هستند (۳۳). در حین گردش CTCها در محل انشعابات عروقی به دلیل محدودیت اندازه متوقف شده سپس آنزیم‌های ترشح شده بر اثر ایمنی CTC ها مانند ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs) و VEGF نفوذپذیری اندوتلیال را افزایش داده و باعث خارج شدن

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

CTCها از عروق می‌شـــوند. تومورهای تهاجمی روزانه هزاران ســـلول ســـرطانی را در گردش خون آزاد می‌کنند. با این حال، میزان متاستاز بسیار پایین می‌باشـــد. تشکیل و پیشرفت متاستاز به رفتار خوشـــه CTC در طول مراحل مختلف آبشار متاستاتیک و محافظت از آن‌ها در برابر اســـترس همودینامیک بستگی دارد همچنین ســـلول‌های ســـرطانی باید با ریزمحیط جدید سازگار شـــوند، جایی که در معرض تعامل با انواع ســـلول‌های استروما، سیگنال‌های قابل انتشار و پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی، ســـیگنال‌های تمایزی و بازدارنده رشد ، برهم‌کنش با سلول‌های مقیم در لانه و سیگنال‌های مضر قرار دارند (۳٤). برای تشخیص CTC در ســـرطان‌های مختلـــف از پانل‌های مولکولی اســـتفاده می‌شود. از آنجایی که بیشتر سرطان ها منشأ اپیتلیالی دارند، رایج ترین نشـــانگر مورد استفاده برای CTC ها EpCAM است، بیان EpCAM در میان انواع مختلف سرطان متفاوت است و زیرگروه قابل توجهی از CTCها EpCAM مثبت می‌باشـــد و فناوری‌های تشخیص CTC مبتنی بر EpCAM به طور گسترده برای سرطان هایی مانند ســـرطان سینه و پروســـتات که EpCAM را به میزان بالایی بیان می‌کنند، اســـتفاده می‌شود. اما استفاده از EpCAM به عنوان نشانگر CTC دارای محدودیت هایی است. زمانی‌که CTC ها تحت تاثیر EMT قرار می‌گیرند میزان بیان نشانگرهای اپیتلیال مانند EpCAM، کاهش می‌یابد، در برخی از انواع سرطان، مانند بیماران مبتلا به ســـرطان ریه با ســـلول غیر کوچک (NSCLC)، حتی مشخص شـــد که مقدار CTCهای EpCAM منفی به طور قابـــل توجهی بیشـــتر از CTCs با EpCAM مثبت اســـت یا در تومورهایی مانند سرطان‌های نوروژنیک که بیان EpCAM کم یا منفی است نمی توان از آن استفاده کرد. برای غلبه بر این مشکل می‌توان به طور همزمان از هردو نشـــانگر اپیتلیال و مزانشـــیمی با روش‌های تشخیص مســـتقل از نشانگر استفاده کرد. به عنوان مثال، در سرطان سینه، استفاده از نانوذرات فلورسنت مغناطیسی متشـــکل از یک رابط آنتی‌بادی دوگانـــه که هم EpCAM و هم N-cadherin را هدف قرار می‌دهد، به جداســـازی با کارایی بالا و شناســـایی سریع CTCها کمک کرده است. در سرطان مجرای صفراوی، ســـنجش تک سلولی برای تشـــخیص CTC ها باعث شناســـایی هر دو نوع CTC اپیتلیال و CTCهـــای غیر متعارف که فاقد نشـــانگرهای اپیتلیال و لکوســـیتی بودند، گردید. برنامه EMT ســـلول‌های ســـرطانی دارای تغییرات مولکولی از جمله کاهش بیان نشانگرهای اپیتلیال ZO، E-cadherin-۱، claudins، و occludin و افزایش بیان نشـــانگرهای مزانشـــیمی، vimentin N-cadherin، پروتئین اختصاصی فیبروبلاســـت۱، و فیبرونکتی می‌باشد. همچنین برای انجام EMT وجود فاکتورهای رونویسی مرتبط با آن که عمدتاً به خانواده‌های TWIST، SNAIL و ZEB تعلق دارند ضروری اســـت. از نظر تئوری همه این مولکول‌های مرتبط با EMT می‌توانند برای روش‌های هدف‌گیری EMTCTC استفاده شوند.

از نظر بالینی، ترکیب تعداد کل CTC و کسر CTCهای مزانشیمی می‌توانـــد برای پایش مقاومت درمانی و پیش بینی پیش آگهی در بیماران ســـرطانی به دلیل تفاوت‌های قابل توجه بقای این معیار استفاده شود. باتوجه به تعداد بسیار کم CTC ها در خون بیماران، جداســـازی دقیق CTC ها از میان ســـلول‌های خونی متعدد و به ویـــژه ابداع روش‌های قابل اجرا که می‌توانند به طور موثر CTC های زنده را برای تجزیه و تحلیل عمیق بعدی شناســـایی کنند، چالش بزرگی است.

به طور کلی، سه استراتژی اصلی برای فناوری‌های CTC وجود دارد که شـــامل (۱) ضبط و غنی‌سازی، (۲) تشخیص و شناسایی و (۳) آزادسازی می‌شود. مرحله اول جذب و غنی‌سازی می‌باشد که با اســـتفاده از روش‌های فیزیکی (استفاده از تفاوت در اندازه، چگالی، تغییر شکل پذیری و خواص الکتریکی CTCها با سایر ســـلول‌های خونی)، فناوری مبتنی بر ویژگی‌هـــای بیولوژیکی، تعامـــل بین آنتی‌بادی-آنتی ژن مانند سیســـتم CellSearch (تنها دســـتگاه مورد تایید FDA برای اســـتفاده بالینی) که از دانه‌های فرومغناطیســـی با پوشـــش آنتی‌بادی EpCAM برای غنی‌سازی CTCهای DAPI/ -CD45/ + CK + و حذف WBCهای CK-/ DAPI /+CD45+ اســـتفاده و CTCها را از ســـایر ســـلول‌های خونی جداســـازی می‌کند. دومین مرحله، شناسایی CTC هاست کـــه به روش‌هـــای مختلفی مانند میکروســـکوپ فلورســـانس، اســـپکتروفتومتری فلورسانس، فلوســـیتومتری، پراکندگی رامان ارتقا یافته ســـطحی یا امپدانس الکتریکـــی صورت می‌گیرد. در آخرین مرحله، ازCTCهای آزاد شده عمدتاً برای تجزیه و تحلیل پایین دســـتی، مانند ژنومیک، ترانس کریپتومیکس، پروتئومیکس و کشت CTC ها استفاده می‌شود. به طور کلی، روش‌های مبتنی

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

بر خواص فیزیکی عموما اختصاصیت و خلوص پایینی دارند و تکنیک‌های مبتنی بر EpCAM به خاطر ناهمگونی بالای آنتی ژن سطحی CTC توانایی جداسازی با خلوص بالای CTC هایی که بیان EpCAM پایینی دارند را نداشته، بنابراین ترکیب فناوری‌های مختلف،تکنیک‌های جستجوی CTC با حساسیت بالا و استفاده از نشانگرهای تومور خاص می‌تواند تا حدودی به این مشکلات غلبه کند. اخیراً، با توسعه تراشه‌های میکروسیال، نانومواد و تکنیک‌های توالی‌یابی نسل بعدی، محققان پیشرفت‌های زیادی در زمینه فناوری‌های مرتبط با CTC دارند (۳۵).

مزیت استفاده از CTCها برای نظارت بر رویدادهای جهش جدید، جمع آوری غیرتهاجمی نمونه ها، توانایی به دست آوردن آسان نمونه ها در طول زمان، و احتمالاً کاهش خطر سوگیری نمونه گیری است. به طور خاص، در بیماری متاستاتیک، تجزیه و تحلیل CTC امکان تجزیه و تحلیل تومور بیمار را فراهم می‌کند، زمانی که بیوپسی یک ضایعه متاستاتیک ممکن است بسیار خطرناک یا غیرممکن باشد. با این حال، چالش‌هایی برای استقرار این فناوری‌های CTC در مراقبت‌های بالینی وجود دارد، از جمله فقدان تکنیک‌های غنی‌سازی استاندارد، تعداد کمی از CTهایی که در مراحل اولیه بیماری یافت می‌شوند و نیاز به فناوری تخصصی برای جداسازی و تجزیه و تحلیل DNA از سلول‌های محدود. تجزیه و تحلیل CTC احتمالاً مکمل روش‌های فعلی، از جمله تجزیه و تحلیل تومور اولیه است، اگرچه ممکن است نیاز به بیوپسی‌های مکرر ضایعات متاستاتیک را کاهش دهد (۳۶).

در سرطان کولورکتال متاستاتیک(mCRC)، تعداد CTC ها قبل و در طول دوره درمان یک فاکتور پیش بینی کننده قوی برای بقا است. CTCهای قابل تشخیص در بیماران با mCRC با افزایش ۲/۵ برابری احتمال مرگ و دو برابری احتمال افزایش پیشرفت و عود بیماری در ارتباط هستند .

در بررسی روند درمان و عود بیماری مشخص شده است که سطح CTCها نشانگر پاسخ درمانی است. کاهش تعداد CTCهای قابل تشخیص به کمتر از ۳ در ۲ هفته پس از شروع شیمی درمانی مبتنی بر اگزالیپلاتین نشان دهنده ی اثربخشی درمان است. در مقابل، افزایش مداوم سطوح CTC با یک بدخیمی تهاجمی همراه با مقاومت به شیمی درمانی همراه است و این یک پیش بینی کننده قوی برای عود در بیماران با مرحله بیماری II/III است که تحت درمان جراحی قرار می‌گیرند. فراتر از شمارش، با بررسی CTC ها را در سطح ژنومی، ترانسکریپتومی، پروتئومی و ترشحی می‌توان اطلاعات مولکولی و عملکردی در مورد تومور ارائه داد. آنالیز CTC ها، ژنوتیپ تومور در زمان واقعی و شناسایی نشانگرهای زیستی با ارزش پیش آگهی و مکانیسم‌های مقاومت دارویی را امکان پذیر می‌کند.

تجزیه‌وتحلیل CTC ها همچنین می‌تواند برای ارزیابی EMT در سلول‌های بدخیم مشتق از CRC، که با یک فنوتیپ تهاجمی، مقاوم به بسیاری از خطوط شیمی درمانی و درمان‌های هدفمند و همچنین پتانسیل متاستاتیک بالا مرتبط است، استفاده شود. شناسایی نشانگرهای سطح سلولی مزانشیمی، مانند VIM، TWIST1، AKT2، ANS،SNA11 ممکن است به مرحله‌بندی تومور و ارزیابی گسترش متاستاتیک در بیماران مبتلا به CRC کمک کند. به طور خاص، شناسایی آنتی ژن‌های سطحی سلول‌های بنیادی سرطان کولون با مارکرهای CD44، CD44v6، و CD133 در ارزیابی وجود متاستازهای کبدی در بیماران مبتلا به بیماری در مرحله پیشرفته مفید است و امکان توسعه یک درمان هدفمند کبدی ک با یک نتیجه بهبود یافته را فراهم می‌کند.

پروفایل ژنتیکی CTC ها با استفاده از هیبریداسیون ژنومی مقایسه ای آرایه ای و توالی یابی نسل بعدی امکان شناسایی نشانگرهای مرتبط با مقاومت در برابر درمان‌های ضد EGFR، مانند جهش‌های KRAS را فراهم می‌کند. حضور هر دو نوع وحشی KRAS و CTCهای جهش یافته با KRAS در نمونه خون به دست آمده از یک بیمار، ناهمگنی درون توموری ژنتیکی را تایید می‌کند. در مطالعه ای وجود جهش KRAS در CTCها با جهش در تومور اولیه با تطابق ۷۱ درصد همبستگی داشت که باز هم ناهمگنی زمانی و مکانی تومور را تایید می‌کند (۳۷).

اگزوزوم‌ها (Exosomes): وزیکول‌های خارج سلولی ذرات غشایی هستند که از انواع سلول‌ها تحت شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیک و همچنین به دنبال انواع مختلف محرک‌ها از جمله پروتئازها، ADP، ترومبین، سایتوکاین‌های التهابی، فاکتورهای رشد، برش بیومکانیکی، تحریک‌کننده‌های استرس و سیگنال‌های آپوپتوز آزاد شده و تقریباً در تمام مایعات بدن، به ویژه خون یافت می‌شوند (۱۹). وزیکول‌های خارج سلولی را می‌توان به طور کلی به سه دسته طبقه بندی کرد: اگزوزوم‌ها،

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

میکرووزیکول‌ها و اجسام آپوپتوز. اگزوزوم ها در لایه‌های لیپیدی مشتق از اندوزوم با قطر تقریباً ۳۰ تا ۱۵۰ نانومتر و حاوی طیف وسیعی از مولکول‌های فعال زیستی مانند اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها و پروتئین ها هستند که توسط تمام سلول‌های زنده از جمله سلول‌های طبیعی و تومور ترشح شده و در مایعات بیولوژیکی مانند پلاسما، سرم، ادرار، بزاق، صفرا، شیر مادر و مایعات مغزی نخاعی یافت می‌شوند. اگزوزوم ها برای اولین بار در سال ۱۹۸۱ توسط EG Trams در رتیکولوسیت‌های گوسفند کشف و ٦ سال بعد توسط جانستون نامگذاری گردید. در سال ۱۹۹٦ G. Raposo نوعی اگزوزوم مشتق از سلول B را کشف کرد که می‌تواند مستقیماً در پاسخ ضد توموری سلول‌های CD4+ شرکت کند. دو سال بعد، L. Zitvogel و همکاران تایید کرد که DCها همچنین می‌توانند اگزوزوم ها را آزاد کنند و اثر ضد توموری وابسته به سلول T را افزایش دهند. با پیشرفت تحقیقات اگزوزوم، مشخص شد که آن‌ها نقش مهمی در ارائه آنتی ژن، تمایز سلولی، رشد، پاسخ ایمنی تومور، مهاجرت سلول‌های تومور و تهاجم دارند (۵). اگزوزوم ها بسیار ناهمگن هستند و احتمالاً وضعیت فنوتیپی سلولی را که آن‌ها را تولید می‌کند منعکس می‌کنند (۳۸)، محموله اگزوزومی که عمدتا وابسته به سلول مبدا می‌باشد شامل پروتئین‌های اسکلت سلولی، غشایی و شوک حرارتی، لیپیدها، آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک کد کننده و غیر کد کننده، عمدتاً mRNA، miRNA و همچنین DNA تک رشته‌ای و دو رشته‌ای است، می‌توانند به سلول‌های گیرنده مجاور یا دور منتقل شده و مسیرهای سیگنال دهی درون سلولی، بیان ژن و فنوتیپ آن‌ها را تعدیل کنند (۳۹).

اگزوزوم‌ها حاوی پروتئین‌های مرتبط با تومور مانند CEA، MelanA، HER2، EGFR VIII یا اختصاصی سرطان مانند CD9، CD63 و CD81 می‌باشند (۲۰). با توسعه پروتئومیکس، نقش پروتئین‌های اگزوزومی در پیش بینی وقوع تومور، تشخیص و درمان بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که بیان پروتئین‌های اگزوزومی در تومورهای مختلف بسیار متفاوت است. به عنوان مثال نشان داده شد بیماران CRC با سطوح CPNE3 اگزوزومی پایین تر، DFS و OS بهتری نسبت به آن‌هایی که سطوح CPNE3 اگزوزومی در آن‌ها بالاتر بود، داشتند (۵). بیماران CRC با سطوح CPNE3 اگزوزومی پایین تر، DFS و OS بهتری نسبت به آن‌هایی که سطوح CPNE3 اگزوزومی در آن‌ها بالاتر بود، داشتند.

تشخیص زودهنگام سرطان کولورکتال برای بهبود نتایج بیمار بسیار مهم است. ریزمحیط تومور بلافاصله با تغییرات بدخیم، از جمله فعال شدن فیبروبلاست ها در بافت همبند مجاور، سازگار می‌شود. QSOX۱، پروتئینی که به طور قابل‌توجهی در فیبروبلاست‌های فعال و اگزوزوم‌های پلاسمای خون در گردش بیماران CRC کاهش می‌یابد. از این رو، بررسی سطح QSOX۱ مرتبط با اگزوزوم ها در پلاسما یک پلت فرم امیدوارکننده برای غربالگری تشخیصی CRC است (٤۰).

در یک مطالعه نشان داده شد که بیان پروتئین پریون سلولی اگزوزومی (PrP) که رفتار سلول‌های CRC و پیشرفت تومور را تنظیم می‌کنند تحت شرایط هیپوکسیک ریز محیط تومور در CRC افزایش می‌یابد. با استفاده از یک آنتی بادی بر علیه PrP به همراه 5-fluorouracil بیان PrP و پیشرفت CRC در فرد بیمار به طور قابل توجهی مهار شد. روی هم رفته، این یافته‌ها نشان می‌دهند که مصرف همزمان آنتی‌بادی ضد PrP و داروهای ضد سرطان ممکن است یک استراتژی درمانی مؤثر در سرطان کولورکتال باشد (٤۱). MicroRNA ها (miRNAs) به عنوان انکوژن یا سرکوبگر تومور در سرطان از طریق مکانیسم‌های مختلف تنظیم می‌شوند آن‌ها توانند ریزمحیط تومور را تنظیم کرده و بر رگزایی، تهاجم ایمنی تومور و برهمکنش‌های تومور-استرومایی تأثیر بگذارند. miRNAهای در گردش که از آسیب بافتی و آپوپتوز سلولی منشأ می‌گیرند، ممکن است از طریق ترشح میکرو وزیکول ها و اگزوزوم ها وارد جریان خون شوند. مطالعات مختلفی بر روی miRNAهای اگزوزومی در گردش در CRC و نقش آن‌ها در تشخیص، پیشرفت و درمان CRC صورت گرفته و نشان داده شده است که میزان بیان miR-125a-3p و miR-320c در اگزوزوم‌های پلاسمایی بیماران مبتلا به سرطان کولون در مراحل اولیه افزایش می‌یابد (٤۲). بیان miR-17-92a با عود بیماری ارتباط دارد و میزان بیان آن در بیماران CRC نسبت به افراد نرمال افزایش بیان دارد (٤۳). افزایش میزان miR-27a و miR-130a اگزوزومی با پیش آگهی ضعیف در CRC همراه است، از بررسی این دو نشانگر در کنار هم می‌توان برای تشخیص زود هنگام و پیش بینی پیش آگهی

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

بیماری استفاده کرد (٤٤).

تولید اگزوزوم ها از طریق جوانه زدن غشای پلاسمایی به سمت داخل برای تشکیل اندوزوم‌های درون سلولی برای اولین بار در بررسی روند بلوغ رتیکولوسیت گوسفند به عنوان وسیله ای برای گردش پروتئین سطح سلول گزارش شد. هجوم بیشتر آندوزوم‌های داخل سلولی، اجسام چند وزیکولی (MVBs) حاوی وزیکول هایی با قطر ٤٠ تا ١٥٠ نانومتر تولید می‌کند. اجسام چندوزیکولی (MVBs) و اندوزوم‌های دیررس غنی از وزیکول‌های داخل مجرایی (ILVs) هستند که پروتئین‌ها، لیپیدها و اجزای سیتوزولی خاص را جدا می‌کنند. ILV ها که از طریق جوانه زدن غشاهای اندوزومی به سمت داخل تولید می‌شوند از طریق شبکه اسکلت سلولی و میکروتوبولی به غشای پلاسما منتقل شده و پس از همجوشی با سطح سلول تحت اگزوسیتوز قرار گرفته و صورت اگزوزوم ترشح می‌شوند. سایر MVB ها از طریق همجوشی مستقیم با لیزوزوم ها یا از همجوشی با اتوفاگوزوم ها و به دنبال آن لیزوزوم ها تخریب می‌شوند (٤٥).

پلاکت‌های آموزش‌دیده با تومور (TEPs): پلاکت ها قطعات بدون هسته کوچک به قطر 2-5ml، ضخامت 0.5ml، حجم ١٠-٦ فمیتو لیتر، نیمه عمر حدود ١٠-٧ روز و غلظت تقریباً ١٥٠ تا ١٠٩×٣٥٠ در لیتر هستند که توسط مگاکاریوسیت‌های مغز استخوان در جریان خون آزاد شده و تحت تأثیر اینترلوکین‌های ٣، ٦، ١١و ترومبوپوئیتین، تمایز و بلوغ می‌یابند (٤٦). اخیراً در یک مدل موش نشان داده شده است که پلاکت‌ها می‌توانند در ریه نیز توسط مگاکاریوسیت‌های داخل عروقی منشأ گرفته از محل‌های خارج ریوی تولید شوند (٤٧). پلاکت ها علیرغم حجم کوچکشان عناصر پیچیده سلولی هستند که از چهار ناحیه پریفرال، سول ژل، اندامکی و غشایی تشکیل شده اند که در کنار یکدیگر باعث فعال سازی، حفظ ساختار و مرفولوژی، ترشح آنزیم ها، فاکتورهای انعقادی، رشد، سیتوکین ها و کموکاین و ... می‌شوند (٤٦). پلاکت ها به دلیل عملکردشان در انعقاد خون و ترمیم زخم شناخته شده اند، اما ارتباط آن‌ها با سرطان نیز به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. شروع این مطالعات در سال ١٨٦٨ بود و مشخص شد انعقاد خود به خودی در بیماران سرطانی رایج است که نشان می‌دهد پلاکت‌های در گردش تحت تأثیر سرطان قرار می‌گیرند. در سال ١٨٧٧، بیلروث ترومبوزهای پر شده با عناصر توموری خاص را به عنوان بخشی از متاستاز تومور توصیف کرد، که نشان دهنده یک تعامل مستقیم بین سلول‌های تومور و پلاکت ها است. در سال ١٩٠٦، رایت گزارش داد پلاکت ها بخش‌های جدا شده از سیتوپلاسم مگاکاریوسیت ها هستند که در مغز استخوان و طحال شناسایی شدند که در شرایط پاتولوژیک خاصی از جمله سرطان قابل مشاهده هستند. در سال ٢٠١٠، Zaslavsky و همکاران نشان دادند که تعداد مگاکاریوسیت ها در مغز استخوان در پاسخ به سرطان افزایش می‌یابد. Kerr و همکاران نشان دادند که ارتباط بین تومور و استخوان توسط پلاکت ها از طریق پلاکت ها انجام می‌شود. پروتئین‌های مشتق از تومور در گرانول‌ها ذخیره می‌شوند افزایش در مگاکاریوسیت‌ها و پلاکت‌ها به عنوان یک پاسخ سیستمیک برای سرکوب رشد تومور در نظر گرفته می‌شد که با افزایش سطح ترومبوسپوندین-١ در پلاکت‌ها ایجاد می‌شود (١٨).

پلاکت‌ها قطعات سلولی فاقد هسته هستند، اما توسط مگاکاریوسیت با مجموعه ای از mRNAهای پیش ساز (pre-mRNAs)، مجموعه اسپلایسوزوم عملکردی و ماشین ترجمه پروتئین پر شده اند. علاوه بر حضور mRNA ها، پلاکت ها حاوی RNAهای کوچک از جمله microRNA ها (miRNA)، RNAهای طولانی غیرکدکننده (LncRNA)، RNAهای حلقوی (circRNA) و DNA میتوکندریایی هستند. پلاکت‌های جوان‌تر محتوی RNA بیشتری نسبت به پلاکت‌های پیر دارند، که نشان می‌دهد RNA تامین‌شده توسط مگاکاریوسیت برای پلاکت ها جهت انجام فعالیت هایشان مورد نیاز است. فعال سازی پلاکت ها از طریق محرک‌های مختلف مانند ترشحات آزاد شده از باکتری ها، انتشار مولکول‌های زیستی توسط سلول‌های سرطانی و ریزمحیط تومور می‌تواند باعث اسپلایسینگ mRNA و ترجمه پروتئین شود؛ RNAهای کوچک مانند miRNAها در تنظیم این فرآیندها نقش دارند.

علاوه بر اسپلایسینگ RNAهای داخل پلاکتی، پلاکت‌ها می‌توانند محتویات اسیدهای نوکلئیک و پروتئین خود را به طور مداوم با دیگر پلاکت‌ها، سلول‌های ایمنی، سلول‌های اندوتلیال و همچنین سلول‌های تومور، با مکانیسم‌های مختلف مانند انتقال با واسطه وزیکول مبادله کنند. آن‌ها همچنین با پذیرش مولکول‌های زیستی مرتبط با تومور و رفت و آمد ریزذرات

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

مشتق از پلاکت به سلول‌های تومور و تنظیم برنامه‌های بیان ژنی از طریق miRNAها آموزش یافته (۴۸) و پروفایل RNA خود را تغییر می‌دهند (۴۷). علاوه بر تغییرات داخلی محتوای RNA پلاکت‌های آموزش دیده با تومور، تعداد و زیرجمعیت‌های پلاکتی در بیماران مبتلا به سرطان نیز ممکن است تغییر کنند. پلاکت ها تقریباً ۷ تا ۱۰ روز در جریان خون گردش می‌کنند و پس از آن در طحال تجزیه می‌شوند. آن‌ها به طور مداوم توسط مغز استخوان و مگاکاریوسیت‌های ساکن ریه آزاد شده و اولین روزهای خود را به عنوان پلاکت‌های جوان، شبکه ای و غنی از RNA به گردش در می‌آورند. در اواخر عمر خود، آن‌ها با تحریک کبد از طریق گیرنده Ashwell–Morell برای تولید ترومبوپوئیتین برای تحریک تولید بعدی پلاکت‌های جدید، با حذف گروه‌های سیالیل توسط کبد برداشت می‌شوند. این فرآیند چرخه پیوسته تولید و تجزیه پلاکت‌ها را واسطه می‌کند و منجر به ایجاد زیرجمعیت‌های پلاکتی متعدد مانند پلاکت‌های شبکه‌ای، پلاکت‌های پیش‌انعقاد یا «پوشش‌دار» و پلاکت‌های «قدیمی» در خون می‌شود (۴۸). شواهد مختلفی مبنی بر تعامل پلاکت ها و سلول‌های سرطانی وجود دارد. مطالعه نشان داده اند تعداد، اندازه و نشانگرهای پروتئین پلاکتی، مانند P–selectin، برای تشخیص و پیش آگهی سرطان مبتنی بر خون استفاده می‌شود. پلاکت‌ها می‌توانند با سلول‌های سرطانی به روش‌های مختلفی تعامل داشته باشند که منجر به واکنش بیش از حد پلاکتی می‌شود. علاوه بر این، ممکن است افزایش پلاکت‌های شبکه ای جوان در بیماران سرطانی وجود داشته باشد. نسبت این پلاکت‌های جوان در کل جمعیت پلاکتی می‌تواند پس از درمان سرطان دوباره تغییر کند. این مشاهدات نشان می‌دهد که پلاکت ها می‌توانند در طول پیشرفت و درمان تومور به صورت واکنشی پاسخ دهند (۴۹). یک مطالعه اخیر نشان داد که تعیین توالی mRNA پلاکت‌های آموزش دیده با تومور،می تواند بیماران سرطانی را از افراد سالم با دقت ۹۶ درصد متمایز کند. خون حاوی ۲۰۰ تا ۵۰۰ میلیون پلاکت در هر میلی لیتر است که باعث می‌شود پلاکت ها برای استفاده‌های تشخیصی بسیار در دسترس باشند. خون کامل را می‌توان تا ۴۸ ساعت در دمای اتاق قبل از جداسازی پلاکت ذخیره کرد و در عین حال RNA با کیفیت بالا و امضاهای RNA سرطان غالب را حفظ کرد. در این مطالعه تعیین توالی RNA بر روی نمونه پلاکت خون جدا شده از افراد سالم و بیماران مبتلا به سرطان گلیوبلاستوما، سرطان سلول غیر کوچک ریه، سرطان کولورکتال، سرطان پانکراس، سرطان سینه، سرطان کبد و کارسینوم مجرای صفراوی انجام شد، در مجموع بیان ۱۴۵۳ mRNA از ۵۰۰۳ mRNA در TEPs در مقایسه با نمونه پلاکت اهداکنندگان سالم افزایش و ۷۹۳ mRNA از ۵۰۰۳ کاهش یافت. بنابراین با استفاده از پروفایل‌های مختلف mRNA بیماران سرطانی و اهداکنندگان سالم، می‌توان یک الگوریتم پیش‌بینی با دقت بالا در جداسازی افراد سالم از بیماران سرطانی ایجاد کرد. پروفایل‌های RNA امکان طبقه بندی support vector machine (SVM) را فراهم و توانایی طبقه بندی صحیح اینکه آیا بیمار سرطان دارد یا خیر (دقت: ۹۶٪)،در حال حاضر چه نوع از تومور موجود است (دقت ۷۱٪) و تومور کدام زیرگروه از جهش مولکولی را دارد (دقت ۸۵–۹۵٪) امکان پذیر می‌کند. جالب توجه است که تمام ۳۹ بیمار مورد مطالعه مبتلا به سرطان در مراحل اولیه و بدون متاستاز به درستی به عنوان بیماران سرطانی شناسایی شدند (۵۰).

بحث و نتیجه‌گیری

بیوپسی مایع تجزیه و تحلیل مواد مشتق از تومور در خون و سایر مایعات بدن بیماران سرطانی را نشان می‌دهد. اجزای بیوپسی مایع عمدتاً به تجزیه و تحلیل CTC ها، اسیدهای نوکلئیک بدون سلول در گردش، اگزوزوم ها، میکروویزیکول ها و پلاکت ها اشاره دارد. این عناصر طیفی از اجزای تومور را در خون تشکیل می‌دهند که مشخصات ژنتیکی ضایعات اولیه و متاستاتیک را منعکس می‌کند و نظارت در زمان واقعی تومور را ارائه می‌دهد. اهمیت بیوپسی مایع به این دلیل است که می‌توان مایعات مختلف بدن را بررسی و بر محدودیت‌های بیوپسی بافت به عنوان مشکلات عود کننده در ارزیابی بالینی تومورها که از عدم دسترسی به بافت تومور و ناهمگنی کلونال آن ناشی می‌شود، غلبه کرد. همچنین امکان تکرار چندین بار به دلیل تهاجمی نبودن با ایجاد یک نمایه مولکولی، در را به روی تعداد قابل توجهی از کاربردهای بالینی که هدف پزشکی دقیق هستند باز می‌کند.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که روش بیوپسی مایع، یک روش جدید و مؤثر برای تشخیص و پایش بیماران مبتلا

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

به سرطان کولورکتال اســـت. باتوجه‌به دقت بالای این روش در تشخیص ســـرطان کولورکتال، می‌توان آن را به عنوان یک ابزار تشـــخیصی مؤثر برای پایش و درمان این نوع ســـرطان استفاده کرد. همچنیـــن، مزیت‌های دیگر این روش شـــامل عدم نیاز به عمل جراحی و غیرتهاجمی بودن آن است. با توجه به این نتایج، می‌توان با اطمینان بیشتری به بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال کمک کرد و روش درمان مناسبی را برای آن‌ها انتخاب کرد.

تعارض منافع

بدین وســـیله نویســـندگان تصریح می‌نمایند که هیچ گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

مجوز اخلاقی

این پروژه تحقیقاتی تحـــت رعایت کامل موازین اخلاقی انجام شـــده و کلیه فعالیتهای مرتبط با آن با تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشـــکی تبریز و با رعایت کد اخلاقـــی IR..١٤٠٢,١٦٤ TBZMED.REC به انجام رسیده است.

تشکر و قدردانی

از تمامی اعضای محترم آزمایشـــگاه‌های دانشـــکده علوم نوین پزشـــکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که با همکاری و مساعدت خـــود، به ما در انجـــام این تحقیـــق یاری رســـاندند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نماییم. این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و تحت شـــماره گرنت ۷۱۱۳۰ که بخشی از پایان نامه دکتری است، به سرانجام رسید.

References

1. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. Prz Gastroenterol. 2019;14(2):89-103.
2. GLOBAl CANCER OBSERVATORY 1965-2022 [Available from: https://gco.iarc.fr/].
3. Sawicki T, Ruszkowska M, Danielewicz A, Niedźwiedzka E, Arłukowicz T, Przybyłowicz KE. A review of colorectal cancer in terms of epidemiology, risk factors, development, symptoms and diagnosis. Cancers. 2021 Apr 22;13(9):2025.
4. Huang Z, Yang M. Molecular Network of Colorectal Cancer and Current Therapeutic Options. Front Oncol. 2022;12:852927.
5. Zhou H, Zhu L, Song J, Wang G, Li P, Li W, et al. Liquid biopsy at the frontier of detection, prognosis and progression monitoring in colorectal cancer. Mol Cancer. 2022;21(1):86.
6. Zygulska AL, Pierzchalski P. Novel diagnostic biomarkers in colorectal cancer. International journal of molecular sciences. 2022 Jan 13;23(2):852.
7. Nojadeh JN, Behrouz Sharif S, Sakhinia E. Microsatellite instability in colorectal cancer. Excli j. 2018;17:159-68.
8. Arvelo F, Sojo F, Cotte C. Biology of colorectal cancer. Ecancermedicalscience. 2015;9:520.
9. Yiu AJ, Yiu CY. Biomarkers in Colorectal Cancer. Anticancer Res. 2016;36(3):1093-102.
10. Harada S, Morlote D. Molecular Pathology of Colorectal Cancer. Adv Anat Pathol. 2020;27(1):206.
11. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. Lancet. 2019;394(10207):1467-80.
12. Chen K, Collins G, Wang H, Toh JWT. Pathological Features and Prognostication in Colorectal Cancer. Curr Oncol. 2021;28(6):5356-83.
13. Yau TO. Precision treatment in colorectal cancer: Now and the future. JGH Open. 2019;3(5):361-9.
14. S Shinji S, Yamada T, Matsuda A, Sonoda H, Ohta R, Iwai T, Takeda K, Yonaga K, Masuda Y, Yoshida H. Recent advances in the treatment of colorectal cancer: a review. Journal of Nippon Medical School. 2022 Jun 25;89(3):246-54.
15. Geneve N, Kairys D, Bean B, Provost T, Mathew R, Taheri N. Colorectal Cancer Screening. Prim Care. 2019;46(1):135-48.
16. Russano M, Napolitano A, Ribelli G, Iuliani M, Simonetti S, Citarella F, et al. Liquid biopsy and tumor heterogeneity in metastatic solid tumors: the potentiality of blood samples. J Exp Clin Cancer Res. 2020;39(1):95.
17. Taghizadeh M, Jafari-Koshki T, Jafarlou V, Raeisi M, Alizadeh L, Roosta Y, et al. The role of piRNAs in predicting and prognosing in cancer: a focus on piRNA-823 (a systematic review and meta-analysis). BMC Cancer. 2024;24(1):484.
18. In 't Veld S, Wurdinger T. Tumor-educated platelets. Blood. 2019;133(22):2359-64.
19. De Rubis G, Rajeev Krishnan S, Bebawy M. Liquid Biopsies in Cancer Diagnosis, Monitoring, and Prognosis. Trends Pharmacol Sci. 2019;40(3):172-86.
20. Wu J, Hu S, Zhang L, Xin J, Sun C, Wang L, et al. Tumor circulome in the liquid biopsies for cancer diagnosis and prognosis. Theranostics. 2020;10(10):4544-56.
21. Muluhngwi P, Valdes R, Jr., Fernandez-Botran R, Burton E, Williams B, Linder MW. Cell-free DNA diagnostics: current and emerging applications in oncology. Pharmacogenomics. 2019;20(5):357-80.
22. Ray A, Vohra TK. Liquid biopsy—from bench to bedside. Neuro-Oncology Advances. 2022 Nov 11;4(Supplement_2):ii66-72.
23. Honoré N, Galot R, van Marcke C, Limaye N, Machiels JP. Liquid biopsy to detect minimal residual disease: methodology and impact. Cancers. 2021 Oct 26;13(21):5364.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]

24. Oshiro C, Kagara N, Naoi Y, Shimoda M, Shimomura A, Maruyama N, et al. PIK3CA mutations in serum DNA are predictive of recurrence in primary breast cancer patients. Breast Cancer Res Treat. 2015;150(2):299-307.
25. Sun X, Abrahamson P, Ballew N, Kalilani L, Phiri K, Bell KF, et al. The Utility of ctDNA in Lung Cancer Clinical Research and Practice: A Systematic Review and Meta-analysis of Clinical Studies. Cancer Invest. 2023:1-55.
26. Friedman JS, Hertz CAJ, Karajannis MA, Miller AM. Tapping into the genome: the role of CSF ctDNA liquid biopsy in glioma. Neurooncol Adv. 2022;4(Suppl 2):ii33-ii40.
27. Mittal A, Valiente CM, Tamimi F, Di Iorio M, Al-Showbaki L, Cescon DW, Amir E. Utility of ctDNA in predicting relapse in solid tumors after curative therapy: a meta-analysis. JNCI Cancer Spectr. 2023.
28. Reinert T, Henriksen TV, Christensen E, Sharma S, Salari R, Sethi H, et al. Analysis of Plasma Cell-Free DNA by Ultradeep Sequencing in Patients With Stages I to III Colorectal Cancer. JAMA Oncol. 2019;5(8):1124-31.
29. Kobayashi S, Nakamura Y, Taniguchi H, Odegaard JI, Nomura S, Kojima M, et al. Impact of Preoperative Circulating Tumor DNA Status on Survival Outcomes After Hepatectomy for Resectable Colorectal Liver Metastases. Ann Surg Oncol. 2021;28(8):4744-55.
30. Tie J, Wang Y, Cohen J, Li L, Hong W, Christie M, et al. Circulating tumor DNA dynamics and recurrence risk in patients undergoing curative intent resection of colorectal cancer liver metastases: A prospective cohort study. PLoS Med. 2021;18(5):e1003620.
31. Feng Z, Wu J, Lu Y, Chan YT, Zhang C, Wang D, et al. Circulating tumor cells in the early detection of human cancers. Int J Biol Sci. 2022;18(8):3251-65.
32. Lozar T, Gersak K, Cemazar M, Kuhar CG, Jesenko T. The biology and clinical potential of circulating tumor cells. Radiol Oncol. 2019;53(2):131-47.
33. Dianat-Moghadam H, Heidarifard M, Jahanban-Esfahlan R, Panahi Y, Hamishehkar H, Pouremamali F, et al. Cancer stem cells-emanated therapy resistance: Implications for liposomal drug delivery systems. J Control Release. 2018;288:62-83.
34. Dianat-Moghadam H, Azizi M, Eslami-S Z, Cortés-Hernández LE, Heidarifard M, Nouri M, Alix-Panabières C. The role of circulating tumor cells in the metastatic cascade: biology, technical challenges, and clinical relevance. Cancers. 2020 Apr 3;12(4):867.
35. Lin D, Shen L, Luo M, Zhang K, Li J, Yang Q, et al. Circulating tumor cells: biology and clinical significance. Signal Transduct Target Ther. 2021;6(1):404.
36. García SA, Weitz J, Schölch S. Circulating Tumor Cells. Methods Mol Biol. 2018;1692:213-9.
37. Buim ME, Fanelli MF, Souza VS, Romero J, Abdallah EA, Mello CA, et al. Detection of KRAS mutations in circulating tumor cells from patients with metastatic colorectal cancer. Cancer Biol Ther. 2015;16(9):1289-95.
38. Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer. J Clin Invest. 2016;126(4):1208-15.
39. Pinzani P, D'Argenio V, Del Re M, Pellegrini C, Cucchiara F, Salvianti F, Galbiati S. Updates on liquid biopsy: Current trends and future perspectives for clinical application in solid tumors. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2021 Jun 25;59(7):1181-200.
40. Ganig N, Baenke F, Thepkaysone ML, Lin K, Rao VS, Wong FC, Polster H, Schneider M, Helm D, Pecqueux M, Seifert AM. Proteomic analyses of fibroblast-and serum-derived exosomes identify QSOX1 as a marker for non-invasive detection of colorectal cancer. Cancers. 2021 Mar 17;13(6):1351.
41. Yun CW, Lee JH, Go G, Jeon J, Yoon S, Lee SH. Prion protein of extracellular vesicle regulates the progression of colorectal cancer. Cancers. 2021 Apr 29;13(9):2144.
42. Wang J, Yan F, Zhao Q, Zhan F, Wang R, Wang L, et al. Circulating exosomal miR-125a-3p as a novel biomarker for early-stage colon cancer. Sci Rep. 2017;7(1):4150.
43. Matsumura T, Sugimachi K, Iinuma H, Takahashi Y, Kurashige J, Sawada G, et al. Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer. Br J Cancer. 2015;113(2):275-81.
44. Liu X, Pan B, Sun L, Chen X, Zeng K, Hu X, et al. Circulating Exosomal miR-27a and miR-130a Act as Novel Diagnostic and Prognostic Biomarkers of Colorectal Cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2018;27(7):746-54.
45. Gurung S, Perocheau D, Touramanidou L, Baruteau J. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. Cell Commun Signal. 2021;19(1):47.
46. Contursi A, Sacco A, Grande R, Dovizio M, Patrignani P. Platelets as crucial partners for tumor metastasis: from mechanistic aspects to pharmacological targeting. Cell Mol Life Sci. 2017;74(19):3491-507.
47. Plantureux L, Crescence L, Dignat-George F, Panicot-Dubois L, Dubois C. Effects of platelets on cancer progression. Thromb Res. 2018;164 Suppl 1:S40-s7.
48. Best MG, Wesseling P, Wurdinger T. Tumor-Educated Platelets as a Noninvasive Biomarker Source for Cancer Detection and Progression Monitoring. Cancer Res. 2018;78(13):3407-12.
49. Sol N, Wurdinger T. Platelet RNA signatures for the detection of cancer. Cancer Metastasis Rev. 2017;36(2):263-72.
50. Best MG, Sol N, Kooi I, Tannous J, Westerman BA, Rustenburg F, et al. RNA-Seq of Tumor-Educated Platelets Enables Blood-Based Pan-Cancer, Multiclass, and Molecular Pathway Cancer Diagnostics. Cancer Cell. 2015;28(5):666-76.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2024-09-12]