بکارگیری تکنولوژیهای ژنومیکس و پروتئومیکس در تشخیص زود هنگام سرطانهای دستگاه تولید مثل

علی متولی‌زاده اردکانی (Ph.D.)[1]، فریال اصلانی (M.Sc.)[1]، نیکنام لک‌پور (M.Sc.)[1]

۱ـ مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشکده فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن‌سینا، تهران، ایران

چکیده

پیشرفت‌های زیست‌شناسی مولکولی در دهه اخیر به بالا بردن درک محققین از تقابل پیچیده تغییرات ژنتیکی، رونویسی و ترجمه در سرطان‌های انسانی کمک کرده است. این تغییرات مولکولی اساس تکنیک‌های کارآمد و رو به رشد شناسایی سرطان بوده که به مقادیر میکروسکوپی از نمونه بیمار نیاز دارند. برش‌های در اندازه میکرو توسط لیزر امکان تهیه و جداسازی جمعیت‌های خالص سلولی از بافت توموری و استروما را بوجود آورده‌اند تا بتوان تفاوت‌های نامحسوس در RNA و بیان پروتئین را شناسایی کرد. بررسی مقایسه‌ای این تفاوتها بین بافت‌های سالم، پیش تهاجمی و تهاجمی با استفاده از برنامه‌های قدرتمند بیوانفورماتیک، امکان شناسایی مارکرهای نوین در تومورها، شناسایی مسیرهای پیچیده پروتئینی و گسترش روش‌های درمان با اساس مولکولی را ایجاد کرده است. ادامه پیشرفت در روش‌های نوین میکروتکنولوژی کارآمد امکان بررسی سریع نمونه بیمار و به دنبال آن شناسایی توسط روش‌های نوین تشخیصی، درمان و ردیابی طیف وسیعی از سرطان‌های انسانی را فراهم کرده است.

همچنین در سال‌های اخیر پیشرفت‌های چشمگیری در ابزارهای جدید برای آنالیز محتوای پروتئینی سلولها، خون و سایر مایعات بدن، حاصل شده است. آنالیز محتوای پروتئینی امکان شناسایی علائم پروتئینی در سرطان را افزایش می‌دهد. آنالیز اسپکتروسکوپی SELDI-TOF با یک روش آنالیتیکی بیوانفورماتیکی پیشرفته ارتباط داده می‌شود تا الگوی پروتئومیکی تفکیکی بهینه‌ای بدست آید. این فن‌آوری امروزه به‌طور گسترده در آزمایشگاه‌ها در کل دنیا به منظور شناسایی بیومارکرهایی برای تشخیص زودرس انواع سرطان، خصوصاً سرطان‌های پستان و دستگاه تولید مثل مانند سرطان تخمدان، پروستات، دهانه رحم و آندومتر بکار گرفته می‌شود.

کلید واژگان: ژنومیکس، پروتئومیکس، تشخیص زودهنگام، سرطان، دستگاه تولید مثل، تخمدان، پستان، پروستات، دهانه رحم، آندومتر.

مسئول مکاتبه: دکتر علی متولی‌زاده اردکانی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولیدمثل، پژوهشکده فناوریهای نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی– ابن‌سینا، صندوق پستی: ۱۱۷۷-۱۹۶۱۵، تهران، ایران.

پست الکترونیک: Ardekani@avicenna.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

تکمیل پروژه ژنوم انسانی سبب جهشی در استفاده از فن‌آوری‌های ژنومی و پروتئومی برای شناسایی مارکرها به منظور تشخیص زود هنگام سرطان با هدف مولکولی شده است. تعداد ژن‌های انسانی شناخته شده و توالی‌های بیان شونده[1] همچنان در حال رشد است (۱،۲) و ابزارهای جدیدی برای تحلیل این داده‌ها بوجود آمده است.

روش‌های بررسی کارآمدی امروزه در دسترس است تا محققین بتوانند به سرعت ژن‌های جدید، رونوشت‌های mRNA و پروتئینها را بررسی و تائید کنند. تفاوت در بیان این مولکولها در بافت‌های سالم و بدخیم امکان شناسایی ژنها و مسیرهایی که در سرطان‌های انسانی تغییر می‌کنند را فراهم می‌کند. تکنولوژی‌های جدیدی در انستیتوی ملی سلامت (NIH)[2] آمریکا به‌دست آمده است که در جهت شناسایی، ارزیابی و استفاده کلینیکی بکار گرفته می‌شوند (۳).

برنامه پروتئومیکس کلینیکی انستیتو ملی سرطان- اداره مواد غذایی و داروی آمریکا (NCI- FDA)[3] در اواخر دهه ۱۹۹۰ شکل گرفت تا روش‌های نوین در جهت بهبود بخشیدن به توانایی درک بیولوژی سرطان را گسترش داده و به کار بندند. امید است بکار گرفتن این دانسته‌ها سبب پیشرفت‌هایی در تشخیص زود هنگام سرطان و شناخت رویدادهای مولکولی که ممکن است اهدافی برای پیشگیری و درمان باشند، شود. از زمان پایه‌گذاری، این تکنولوژی جدید در انستیتوی ملی سلامت آمریکا گسترش پیدا کرده و فن‌آوری‌هایی در جهت کشف مارکرهای سرطانی، دسته بندی[4] و برای کاربردهای کلینیکی بکار گرفته شده است. برش میکروسکوپی توسط لیزر[5] از اولین گروه این فن‌آوریها می‌باشد. این روش، جداسازی دقیق سلول‌های توموری، استرومایی و سلول‌های سالم از یک نمونه بیوپسی را ممکن کرده است (۴،۵). بررسی بهینه نمونه‌های جدا شده میکروسکوپی[6] امکان تفکیک دقیق رخدادهای داخل و بین هر کدام از این زیر واحدهای بافتی را می‌دهد. استفاده از این روشها در نمونه‌های بیماران امکان تشریح تغییرات ژنومی، رویدادهای بیان ژن و تفاوت بیان ژن، فعال‌سازی و علامتگذاری پروتئین‌های مختلف در نمونه‌های توموری را فراهم کرده است (۶،۷). علاوه بر این، امروزه امکان شناسایی پروتئین‌های با وزن مولکولی کم در نمونه سرم بیماران وجود دارد. سپس بررسی آنها توسط ابزارهای قدرتمند و جدید بیوانفورماتیک جهت طبقه‌بندی بیماران سرطانی و غیرسرطانی[7] در گروه‌های مربوطه، صورت می‌گیرد. حساسیت، اختصاصی بودن و ارزش اخباری مثبت[8] این روش‌های نوین در شناسایی زود هنگام سرطان در نمونه‌های کلینیکی تخمدان توسط محققین مورد تائید قرار گرفت (۸). بررسی انواع دیگر تومورهای بدخیم با استفاده از این روشها هم اکنون در حال انجام است.

توسعه و کاربرد این فن‌آوریها در نمونه‌های کلینیکی، نوید پیشرفت‌هایی در زمینه تشخیص زود هنگام سرطان، پیشگیری، و درمان‌های اختصاصی تومور را ایجاد کرده است. با افزایش درک محققین در زمینه‌های تغییرات اختصاصی در بیان ژنها و مسیرهای سیگنال پروتئینها امکان تغییر اساس درمان از روش هیستوپاتولوژیکی به سمت درمان اختصاصی مولکول‌های از تنظیم خارج شده ناشی از برهمکنش تومور- میزبان، وجود دارد. البته نمی‌توان اظهار کرد که این روشها به‌طور کامل جایگزینی برای روش‌های مرسوم امروزی در درمان بیماریها می‌باشند. پیشرفت‌های ژنومیک و پروتئومیک در هدایت محققین

1- Expressed sequence tags
2- National Institutes of Health
3- National Cancer Institute/Food and Drug Administration
4- Profile
5- Laser Capture Micro-Dissection
6- Micro-dissected
7- Unaffected
8- Positive Predictive Value

Archive of SID
www.SID.ir

در انتخاب بهترین روش درمان برای هر بیمار به‌صورت اختصاصی کمک خواهند کرد (۹).

نمای تاریخی پزشکی ملکولی: در چندین سال اخیر پیشرفت‌های عظیمی در تکنیک‌های مختلف میکروسکوپی مانند میکروسکوپ نوری، ایمونوهیستوشیمی و روش‌های مبتنی بر استفاده از آنتی‌بادیها برای تشخیص و ارزیابی انواع سرطانها حاصل شده است. اینگونه پیشرفت‌های تکنولوژیکی در تشخیص زودهنگام و درمان تعداد زیادی از انواع سرطان مانند سرطان بدخیم دهانه رحم، موثر بوده است (۱۰). در سرطان‌های دستگاه تولیدمثل تکنیک‌های مولکولی مانند PCR و هیبریداسیون محلولی[1] (۱۱،۱۲)، برای شناسایی زیرگونه‌های پاپیلوماویروس انسانی (HPV)[2] خطرناک در سرطان دهانه رحم، گسترش یافته است. همچنین، تشخیص زود هنگام سرطان سینه توسط روش ماموگرافی امکان‌پذیر شده است. همزمان با گسترش روش‌های تصویربرداری مولکولی برای شناسایی موارد غیرطبیعی در سینه، تغییراتی در روش درمان زنان مبتلا به سرطان سینه مشاهده می‌شود.

میکروتکنیک‌های با بازدهی بالا مانند Microarray و کروماتوگرافی مایع مویین[3] امروزه در دسترس هستند (۱۳). تمامی این تکنیکها در شناسایی اهداف ناشناخته در ژنوم و پروتئوم تومور نقش دارند. شناسایی تغییرات اختصاصی در DNA، RNA و پروتئین‌های تومور مستلزم دانستن اتفاقاتی است که در داخل و اطراف تومور رخ می‌دهد. در گذشته توانایی محققین در تعیین جایگاه دقیق این تغییرات به‌دلیل ضعف در جداسازی انواع خاص سلولی از نمونه پاتولوژی دچار اختلال بود. Cell-scraping، خالص‌سازی با ستون میل ترکیبی (۱٤)، کشت سلول‌های نامیرا در محیط کشت (۱۵)، کشت همزمان سلولی (۱٦،۱۷) و تشریح دستی بافتها (۱۸،۱۹)، همگی از روش‌های مورد استفاده‌ای هستند که هر یک فواید و ایرادات خاص خود را دارند. با وجود اینکه این تکنیکها سبب پیشرفت پژوهشگران در تهیه رده‌های سلولی خالص برای ارزیابی جریانات داخل سلول شده‌اند؛ اما بخشی از اطلاعات که تعیین‌کننده فنوتیپ یک نوع تومور خاص می‌شوند از دست خواهد رفت. مثلاً محیط اطراف تومور سرطانی[4] نه تنها شامل اجزاء بدخیم اپتیلیالی است؛ بلکه استرومای در برگیرنده و بافت سالم اطراف را نیز شامل می‌شود. این اجزاء میکروسکوپی با استفاده از گیرنده‌ها، اتصالات سلولی[5]، مولکول‌های سیگنال داخل و بین سلولی به سلول‌های توموری امکان برقراری ارتباط با محیط اطراف را می‌دهند و نیز نقش فعالی در کنترل و یا پیشرفت آنها دارند (۲۰). حذف بخشی از این اجزا جهت کشت سلولها در محیط کشت آزمایشگاهی بر همکنش‌های سلولی- سلولی و سلولی- ماتریکسی، که احتمالاً بر رفتار تومور اثر گذار هستند، را مختل می‌نمایند و در نتیجه تصور غلطی از ساختار و فیزیولوژی تومور در محیط سلول زنده به محقق القا می‌کنند.

آغاز استفاده از تشریح میکروسکوپی با استفاده از لیزر (LCM) توانایی پژوهشگران را به منظور حذف جمعیت‌های سلولی خاص بافت‌های منجمد و یا تثبیت شده توسط اتانول، به‌طور مستقیم در زیر میکروسکوپ را افزایش داده است (۳،٤). این بافتها را به‌صورت رنگ شده یا رنگ نشده می‌توان برش داد. ترکیب تکنیک‌های رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمیایی سریع با LCM امکان برش‌های میکروسکوپی دقیق‌تری را ایجاد می‌کند. انتخاب سلولها با این روش امکان جداسازی دقیق جمعیت‌های سلولی بدخیم، کارسینوم in situ و انواع سلول‌های طبیعی را در یک نمونه بیوپسی، فراهم می‌کند. مهمترین نکته آن است که جمع‌آوری سلولها

1- Solution hybridization
2- Human papillomavirus
3- Microcapillary liquid chromatography
4- Tumor microenvironment of a carcinoma
5- Cell junction

Archive of SID
www.SID.ir

توسط LCM ساختار و تشکیلات مولکولی سلولها را حفظ می‌کند؛ بنابراین امکان مقایسه مستقیم پیام‌های رونویسی و ترجمه بین اجزای مختلف یک نمونه وجود دارد. بنابراین LCM امکان تجسم واقعی‌تری از وضعیت فیزیولوژیکی و بیولوژیکی تومور در بافت زنده را برای محقق فراهم می‌کند.

Ornstein و همکاران اثر محیط تومور بر روی پروتئوم آن را ارزیابی کرده‌اند. آنها با استفاده از LCM اپتیلیوم و استرومای تومور پروستات را به‌صورت خالص از نمونه‌های پروستاتکتومی شده جداسازی کردند (۲۱). آنها سپس اطلاعات پروتئینی به‌دست آمده توسط الکتروفورز دو بعدی[1] از نمونه‌های عصاره سلولی جداسازی شده[2]، عصاره تام جداسازی نشده[3] و رده‌های سلولی نامیرا متعلق به همان بیمار را با یکدیگر مقایسه کردند. مقایسات بیشتر با استفاده از اطلاعات پروتئینی به‌دست آمده از دو رده سلولی سرطان پروستات که به‌صورت تجاری موجود هستند، انجام گرفت. یافته‌های آنها چندین نکته مهم را روشن کرد. اولاً، ترکیبات استرومایی و اپتیلیالی تومور در کمتر از نیمی از پروتئینها مشترک هستند. ثانیاً، پروتئین‌هایی که به‌صورت متفاوتی در بافت پروستات سالم و بدخیم بیان می‌شوند منحصراً در ناحیه اپتیلیالی قرار گرفته‌اند. ثالثاً، تشریح میکروسکوپی کیفیت پروتئین را تغییر نمی‌دهد. آنها همچنین نشان دادند که خصوصیات پروتئینی سلولها در محیط زنده و محیط آزمایشگاهی متفاوت بوده و تنها ۲۵٪ از کل پروتئینها مشترک هستند. بنابراین نقش کلیدی LCM در تعیین خصوصیات ژنومیک و پروتئومیک در کمک به مقایسه محتوای DNA، RNA و پروتئین یک بافت و عملکرد آنها در بافت‌های سالم و نئوپلاستیک، آشکار می‌شود.

ژنومیکس: ارزیابی ژنوم انسان با استفاده از تکنیک‌هایی مانند LOHS[4] (۲۲،۲۳)، هیبریداسیون مقایسه‌ای ژنومی (CGH)[5] (۲۵،۲۴) کاربردی‌تر شده است. از این تکنیکها در شناسایی و تایید تغییرات شناخته شده و ناشناخته (حذف، جهش) در ماده ژنتیکی انواع مختلفی از تومورها، استفاده می‌شود.

بسیاری از تغییرات ژنوم توسط ۱۹۱ مارکر پلی مورفیک بر روی کل ژنوم در جستجوی فقدان هتروزگوسیتی (LOH)[6]، در ۳۱ رده سلولی بورکیت لنفوما و رده سلولی طبیعی آن، نشان داده شد. ۲ نوع الگوی آللی تغییر یافته شناسایی شد: یک دسته‌بندی واقعی LOH که نشان‌دهنده LOH بود و یک گروه نشان‌دهنده افزایش مقدار[7] شناسایی این تغییرات ژنتیکی در مراحل رونویسی و ترجمه، نقش مهمی در شناسایی کاندیداهای بیولوژیکی مرتبط برای مطالعه بیشتر و انتخاب آنها به‌عنوان اهداف مولکولی در تشخیص و درمان سرطان دارد. تکنیک‌های کارآمد برای شناسایی تغییرات مرتبط با RNA و پروتئین برای تائید اطلاعات به‌دست آمده از بررسی ژنوم به‌کار می‌رود. فن‌آوری Microarray به‌صورت روشی مناسب برای مقایسه ژن و بیان EST[8] در آزمایشگاه‌ها و نمونه‌های تومور کلینیکی، درآمده‌است (٦).

امکان ارزیابی هزاران ژن به‌صورت همزمان توسط تکثیر RNA با استفاده از علائم فلورسنت و سپس کاربرد این رونوشتها بر روی صفحات array که حاوی مقادیر زیاد الیگونوکلئوتید و یا cDNA هستند، وجود دارد (۲۸-۲٦). وجود مارکر فلورسانس بیانگر حضور و اندازه یک رونوشت cDNA خالص در بین جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. تفاوت در بیان ژنها ثبت می‌شود و الگوهای بیان ژن با کاربرد همزمان چند Microarray

1- Two-dimensional electrophoresis
2- Micro dissected cell lysates
3- Undissected whole cryostat section lysates

4- Loss of heterozygosity screening
5- Comparative genomic hybridization
6- Loss of Heterozygosity
7- Increased dosage
8- Expressed Sequence Tag

Archive of SID
www.SID.ir

و توسط نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک مقایسه‌ای محاسبه می‌شود (۲۹،۳۰).

اطلاعات به‌دست آمده از بررسی ژنوم تومور و رونوشت‌های آن منجر به پیشرفت در کشف ژن‌های جدید و روش‌های شناسایی سرطان می‌شود. یکی از تکنولوژی‌های جدیدی که به تازگی و در سال‌های اخیر به منظور تسهیل بررسی ژنوم و پروتئوم سلول‌های سرطانی، در دسترس قرار گرفته است، Microarrayهای بافتی می‌باشند. Microarrayهای بافتی در اصل ابزار مفیدی برای آنالیز سریع و مناسب تعداد زیادی از بافت‌های پارافین اندود شده، متعلق به انواع تومورهاست (۳۱). کاربرد این تکنولوژی امکان استفاده از پروب یکسانی را فراهم می‌کند و معیار تفسیر نتایج را به استاندارد نزدیک‌تر می‌سازد. این ابزار آنالیز بیان چندین ژن و تکثیر آنها در یک تومور و یا یک ناحیه از تومور توسط یک روش استاندارد، را تسهیل می‌کند.

ژنومیکس و سرطانهای دستگاه تولید مثل: بررسی وضعیت بیان ژنها برای شناسایی الگوی تغییر بیان در کل ژنوم، درک بهتری از وقایع ملکولی در انواع بیماریها مانند سرطان فراهم و امکان تمایز بین انواع بیماری‌های پاسخ‌دهنده و انواع مقاوم به داروهای خاص و پیش‌بینی میزان سمیت و عوارض جانبی دارو را ایجاد می‌کند (۳۲،۳۳). اخیراً پیشرفت‌های ژنومیکس در زمینه بررسی بیان ژنها توسط DNA Microarray قابلیت استفاده از الگوهای بیان ژنی در نمونه‌های کلینیکی جهت طبقه‌بندی ملکولی سرطان پستان و سایر انواع سرطان را نشان داده است (۳۸-۳٤).

درمان سرطان با روش‌های اشعه‌درمانی و شیمی درمانی و مقاومت نسبت به درمان به‌عنوان اصلی‌ترین مشکل کلینیکی مطرح است. عدم پاسخ برخی بیماران به چنین درمان‌هایی احتمالاً توسط مطالعهٔ الگوی بیان ژنی هر بیمار به‌طور جداگانه قابل پیش‌بینی می‌باشد. این تکنولوژی‌های جدید در بسیاری از انواع سرطانها شامل سرطان‌های دستگاه تولید مثل (سینه، تخمدان، دهانه رحم، پروستات، اندومتر) به خدمت گرفته شده‌اند. در رویه کنونی درمان سرطان بدون در نظر گرفتن پاسخ دادن یا مقاومت بیمار، اشعه‌درمانی در مورد همه بیماران به‌طور یکسان انجام می‌گیرد.

طبقه‌بندی بیان ژنها بوسیله DNA Microarray در سرطان‌های انسانی یک روند ژنومیکی خواهد بود که می‌تواند با فراهم کردن اطلاعات فارماکوژنومیکی نتایج را به‌طور دقیق‌تری پیش‌بینی کند و به روش‌های درمان امروزی آزمون و خطایی و یک درمان برای همه بیماران پایان بخشد.

ژنومیکس سرطان سینه: در چندین سال گذشته تکنیک‌های DNA Microarray در تشخیص بیماریها به کار گرفته شده و نشان داده شده است که بیان بسیاری از ژنها با پارامترهای کلینیکی مرتبط می‌باشد. یافته‌های Microarray در تحقیقات سرطان سینه به طور عمده به دو موضوع اشاره می‌کنند. اولاً، تومورهای جداگانه که از یک عضو منشا می‌گیرند ممکن است بر اساس الگوی بیان ژنی و مستقل از مرحله و درجه پیشرفت، در گروه‌های متفاوتی طبقه‌بندی شوند. ثانیاً، از یافته‌های بیولوژیکی ناشی از اینگونه طبقه‌بندیها می‌توان جهت تشخیص استفاده کرد. مطالعات نشان داده است که تکنولوژی Microarray امکان بررسی رفتار تومور در بافت زنده را فراهم و ارزیابی روش تشخیص و مقاومت دارویی را امکان‌پذیر می‌سازد. بررسی بیان هزاران ژن نشان می‌دهد که تفاوت زیادی در بین تومورهایی که از یک عضو منشا می‌گیرند وجود دارد (۳۹،٤۰). طبقه‌بندی جهانی بیان ژنی در کارسینومای لوبولار سینه نشان داد که این گروه هیستولوژیکی به دو زیر گروه طبقه‌بندی می‌شود (٤۱). همچنین یک مارکر بیان شوندهٔ دو ژنی[1] و دارای

1- Two-gene expression marker

Archive of SID
www.SID.ir

ارزش تشخیصی مشابهی با بررسی بیان تعداد وسیع‌تری از ژنها در ۶۰ بیمار تیمار شده‌ای که با Tamoxifen کاملاً درمان شده بودند، گزارش شد (۴۲). مطالعه‌ای نشان داد که بررسی بیان ۷۰ ژن در گروهی از بیماران در تشخیص بیماری تاثیر داشته است (۳۴). این یافته با مطالعه بر روی گروه بزرگی از بیماران با درگیری و عدم درگیری غدد لنفاوی تایید شد (۳۸). چندین گروه تحقیقاتی دیگر اثر تشخیصی مطالعه بیان ژنها در سرطان سینه را گزارش کرده‌اند (۴۷-۴۳). مطالعات همچنین ارتباط بین نتایج بررسی ژنی و حساسیت دارویی به Taxotere و رژیم حاوی Onthracyclin در سرطان سینه را نشان داده‌اند (۴۸،۴۹). به نظر می‌رسد که مهمترین چالش کنونی استفاده از DNA Microarray در ارزیابی بیان ژن و تغییرات تعداد رونوشتها در ماده توموری باشد. با وجود اینکه تکنولوژی DNA Microarray در آنالیز بیان ژنها، پیشرفتی در درمان کلینیکی بیماران سرطان سینه ایجاد نکرده است؛ اما اطلاعاتی درباره مسیرها و مکانیسم‌های ملکولی در فعالیت‌های بیولوژیکی، فراهم می‌کند.

ژنومیکس سرطان تخمدان: با وجود سالها تحقیق و پیشرفت‌های قابل ملاحظه در درک مستعد بودن برای سرطان تخمدان، این سرطان به‌عنوان علت اصلی مرگ در بین بیماری‌های زنان شناخته شد. پیشرفت‌های اخیر در تکنیک‌های پربازده[1] برای مطالعه ژنوم، تحقیق برای شناسایی بیومارکرها جهت شناسایی زودهنگام و تشخیص بیماری را سرعت بخشیده است. سرطان تخمدان در چند سال قبل بوسیله Microarray profiling بررسی شده است. اخیراً الگوی بیان ژنی ۷ تخمدان سالم و ۲۶ تخمدان مبتلا به سرطان تخمدان اپیتلیالی سروزی[2] توسط cDNA Microarray بررسی شد (۵۰). آنالیز داده‌های Microarray منجر به شناسایی گروه ۳۲۹ ژنی که تغییرات بیانی آشکار داشتند گردید. برای جستجوی بیومارکرهای مراحل اولیه بیماری، تکنیک بررسی بیان ژنها در نمونه‌های بیوپسی تومور و کشت اولیه کوتاه مدت کارسینومای سروزی تخمدان، به‌کار گرفته شد که منجر به کشف بیومارکرهای ملکولی نوین برای تشخیص زود هنگام و درمان گردید (۵۱).

در مطالعه دیگری یک Oligonucleotide Microarray با پروب‌های مکمل برای بیشتر از ۱۴۵۰۰ ژن انسانی به‌کار گرفته شد تا تفاوت الگوی بیان ژن در تومورهای تخمدان پاپیلاری سروزی متاستاتیک[3] در مقایسه با کارسینومای سروزی اولیه تخمدان بررسی شود (۵۲). آنالیز بیان ژنها با Microarray همچنین برای تعیین خصوصیات پیشرفت سرطان‌های سروزی به‌کار گرفته شد (۵۳). مقایسه‌ای بین ۳۱ نمونه مراحل پیشرفته (TII or TV) سرطان تخمدان سروزی از بیمارانی که کمتر از ۲ سال و بیشتر از ۷ سال زنده ماندند با ۳ نمونه اپیتلیال تخمدان سالم انجام گرفت. این مطالعه الگوهای بیان ژن‌های مرتبط با گسترش سرطان تخمدان و نتایج آن را شناسایی کرد. در آینده آنالیز ژنتیکی دقیق‌تر و کامل‌تر ممکن است منجر به کشف مارکرهایی برای تشخیص زود هنگام و پیش‌بینی الگوهای بیان، برای منظورهای درمانی شود.

ژنومیکس سرطان‌های دهانه رحم و اندومتر: با وجود کاهش در موارد سرطان دهانه رحم در برخی کشورهای پیشرفته، این بیماری یکی از اصلی‌ترین علل مرگ زنان، پس از سرطان سینه، در کل دنیا می‌باشد (۵۴،۵۵). فقدان یا کافی نبودن برنامه‌های معاینه‌ای، عاملی مهم در تشخیص دیرهنگام این بیماری محسوب می‌شود (۵۶). با وجود آمار پایین پاسخ‌دهی، امروزه اشعه‌درمانی روش اصلی درمان است (۵۷). پیشرفت‌های اخیر در ژنومیکس بیان ژنها استفاده از DNA Microarray را برای بررسی بیان ژنها در انواع

1- High-throughput
2- Serous epithelial ovarian cancer
3- Metastatic serous papillary ovarian tumors

Archive of SID
www.SID.ir

سرطانها امکان پذیر کرده است. این اطلاعات جهت استفاده در طبقه‌بندی مولکولی و پیش‌بینی عوارض بیماری و پاسخ به درمان، مناسب هستند. الگوی بیان ژنی سرطان دهانه رحم با بافت طبیعی دهانه رحم با استفاده از Microarray حاوی حدود ۱۱۰۰۰ خصوصیت مربوط به رونوشت‌های انسانی با عملکرد مشخص یا توالی بیان شده نامشخص مقایسه شد (۵۸). در این مطالعه بافت‌های طبیعی دهانه رحم توسط حدود ۴۰ ژن که به‌طور مشخص بیان متفاوتی را نشان می‌دادند، از نمونه‌های سرطانی تمایز داده شد. تومورهای در مرحله‌های کلینیکی IB و IIB براساس الگوی بیان اختصاصی که امکان پیش‌بینی پاسخ این بیماران به رادیوتراپی را نیز فراهم کرده، طبقه‌بندی شدند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که بیمارانی که الگوی بیان ژنی آنها با الگوی مقاومت به اشعه‌درمانی مطابقت می‌کند باید تحت درمان‌های جایگزین قرار گیرند. این امر احتمالاً سبب پیشرفت در بهبودی و درمان آنها شده و درمان را برای هر بیمار بر اساس الگوی بیان ژنی بیمار، اختصاصی می‌کند.

الگوی بیان ژنی در دو رده سلولی کارسینومای دهانه رحم با مورفولوژی متفاوت که از یک فرد دهنده گرفته شده بود، با استفاده از Cancer cDNA Microarray انسانی مطالعه شد (۵۹). نتایج این مطالعه دخالت ۱۰ژن در تعیین خصوصیات مروفولوژیک و سرطانزایی سرطان رحم را نشان می‌دهد. دو ردهٔ سلولی با مقاومت‌های متفاوت نسبت به اشعه‌درمانی که از یک تومور از بیمار مبتلا به سرطان رحم گرفته شده بود، الگوی بیان ژنی متفاوتی را نشان داد (۶۰). در کارسینومای دهانه رحم مقادیر خارج سلولی TGF-b1 در مراحل پایانی بدخیمی بیماری، افزایش می‌یابد. با استفاده از رده‌های سلولی سرطان دهانه رحم (۶۱)، مطالعات بر روی بیان ژنها نشان داد که مقادیر مسیرهای MAPK,WNT, TGF-b1 با القا شدن توسط TGF-b1 در رده‌های سلولی سرطان دهانه رحم، تغییر می‌کند. همچنین بررسی بیان ژنها برای سلول‌های Squamous دهانه رحم به‌دست آمده توسط Cytobrushing انجام گرفت (۶۲). در این مطالعه یک الگوی بیان اختصاصی شناسایی شد که بین انواع سلول‌های Squamous اپیتلیال سالم دهانه رحم و اپیتلیال بدخیم تمایز داشت. در یک مطالعه ۳۸ بیمار مبتلا به سرطان دهانه رحم با استفاده از RT-qPCR و cDNA Microarray در مراحل مختلف بیماری، مورد بررسی قرار گرفتند (۶۳). در این بررسی نشان داده شد که چندین ژن در کارسینومای Squamous دهانه رحم دخیل هستند. مقایسه بیان ژن در ,adenocarcinoma squamous در دهانه رحم با استفاده از Microarray گزارش شده است (۶۵،۶۴). استفاده از cDNA array در هیبریداسیون ژنومی مقایسه‌ای و هیبریداسیون فلورسانس در محل در بررسی ۲۹ سرطان دهانه رحم، حضور مقادیر زیاد تکثیر در کروموزوم‌های ۲۰،۱۱،۸ را نشان داد (۶۶).

این مطالعات درک بیماری‌زایی سرطان دهانه رحم را تسهیل کرده است. با وجود این هنوز بسیاری از سوالات باقی است مانند تغییرات رونویسی تحت دریافت اشعه و فعالیت‌های ژن‌هایی که بیان متفاوتی در طول درمان سرطان دهانه رحم از خود نشان می‌دهند. DNA Microarray موقعیت‌هایی را در کشف بسیاری از ژن‌های دخیل در بیماریزایی، استعداد برای بیماری و تفاوت در پاسخ به داروها در سرطان‌های مربوط به زنان، فراهم کرده است.

هیپرپلازیای اندومتر به‌عنوان جراحت اولیه[1] برای آدنوکارسینومای آندومتر تلقی می‌شود. وقایع ژنتیکی دخیل در مراحل چندگانه تبدیل بافت غددی آندومتر سالم به کارسینومای تهاجمی آندومتر هنوز ناشناخته باقی مانده است. هیبریداسیون ژنومی مقایسه‌ای

1- Precursor lesion

Archive of SID
www.SID.ir

(CGH) برای بررسی عدم تعادل کروموزومی مورد استفاده قرار گرفت (٦٧). در این مطالعه ٥٠٪ نمونه‌های سرطان اندومتر عدم تعادل کروموزومی را نشان دادند.

ژنومیکس سرطان پروستات: مطالعات در مقیاس ژنی (ژنها و مسیرهای ژنی، پلی‌مورفیسم یک نوکلئوتیدی و جهش، Microarray بیان ژنی، پروتئومیکس و بیوانفورماتیکس) و تکنولوژی‌های جدید (Tissue-based microarray، روش‌های کاربردی با بازده بالا) در تشخیص و درمان سرطان پروستات به کار گرفته شده است. همچنین Microarrayهای بیان ژن در جهت تعیین مراحل مختلف سرطان پروستات مورد استفاده قرار گرفته است (٦٨). هیبریداسیون ژنومی مقایسه‌ای (CGH) به‌صورت Microarray و با دقت بسیار زیاد تغییرات ژنومی در سرطان پروستات را نشان می‌دهد(٧٠و٦٩). این یافته‌ها می‌توانند در شناسایی الگوهای تشخیصی و ژن‌های هدف کاندیدا برای ایجاد تغییرات ژنومی در سرطان پروستات، درآینده موثر باشند (٧١).

در یک آنالیز Microarray-based CGH برای بررسی دقیق تغییرات در تعداد کپی‌ها در سرطان پروستات، بیان بیش از معمول در ٧٪ ژنها مشاهده شد (٧٠). در مطالعه مقایسه‌ای DNA microarray در بین نمونه‌های طبیعی و نمونه‌های نئوپلاستیک داخل اپیتلیایی پروستات (PIN)[1]/ سرطان پروستات (PRCA)[2]، نشان داده شد که ٢١ ژن افزایش بیان و ٦٣ ژن کاهش بیان داشتند. در مطالعه مقایسه‌ای مشابهی بین PIN و PRCA نیز نشان داده شد که فعالیت ٤١ ژن افزایش و ٩٨ ژن کاهش یافته است (٧٢). چندین مطالعه Microarray افزایش بیان ژن‌های دخیل در متاستاز را گزارش کرده‌اند (٧٣). در یکی از بزرگترین مطالعات برروی PRCA انسانی، ١٥٢ نمونه برای یافتن ژنهای اختصاصی سرطان پروستات بررسی شدند. در این مطالعه ٥٠ ژن مرتبط شناسایی شدند (٧٤). در جدول ١ خلاصه ای از مطالعات انجام شده در زمینه ژنومیکس سرطان های دستگاه تولید مثل نشان داده شده است.

پروتئومیکس: بررس ساختار، عملکرد و تنظیم پروتئینها طی چند دهه اخیر به سرعت گسترش پیدا کرده است. امروزه می‌توان در مدت چند دقیقه با روش‌های جدید پربازده اطلاعات زیادی را از ساختار فعال یک پروتئین و برهمکنش‌های آن بدست آورد. همچنین امروزه از Microarray برای بررسی پروتئوم جمعیت سلولی دلخواه با استفاده از برهمکنش‌های آنتی‌ژن- آنتی‌بادی استفاده می‌شود (٧٥،٥). قبل از به‌کارگیری این تکنیک‌های پر بازده، محتوای اختصاصی پروتئین بافتها با روش‌های با بازدهی کم مانند Western blotting، هیبریداسیون در محل و رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی، ارزیابی می‌گردید.

ایمنوهیستوشیمی مدت زیادی است که به‌عنوان روش تشخیصی مکمل برای انواع سرطانها به‌کار می‌رود. اطلاعات جمع‌آوری شده از اینگونه مطالعات در انجام تشخیص‌های درست به پزشکان کمک کرده است. افزایش بیان HER-2/neu در سرطان‌های سینه و تخمدان (٧٦)، p53 در آدنوکارسینومای آندومتر (٧٧)، گیرنده فاکتور رشد اپیتلیالی (EGFR)[3] درSCC [4] دهانه رحم (٧٨) و کاهش بیان H-ras psl در سرطان ریه Non-small-cell (٧٩)، همگی با گرفتن نتایج ضعیف،

جدول ١- مطالعات انجام شده در زمینه ژنومیکس سرطان‌های دستگاه تولید مثل

دستگاه تولیدمثل	روش بررسی	منابع
سینه	Microarray	٤٩-٤١ و ٣٤،٣٨
تخمدان	Microarray	٥٣-٥٠
دهانه رحم	Microarray	٦٥-٦٣ و ٦١-٥٨
دهانه رحم	CGH	٦٧ و ٦٦
پروستات	Microarray	٧٣ و ٧٢و٦٨
پروستات	CGH	٧٠ و٦٩

1- Prostatic intraepithelial neoplasia
2- Prostate cancer
3- Epithelial growth factor receptor
4- Squamous cell carcinoma

Archive of SID
www.SID.ir

همراه بوده است. شناسایی برخی از این تغییرات پروتئینی ایجاد اولین گروه درمان‌های ضد تومور با اهداف مولکولی را موجب شده است. بررسی وضعیت گیرنده‌های پروژسترون و استروژن و بیان HERS/neu در نمونه‌های بیوپسی به پزشکان کمک می‌کند که از داروهای مکمل مانند Trastuzumab و Tamoxifenدر بیماران مبتلا به سرطان سینه استفاده کنند (۸۳-۸۰). متاسفانه ایمنوهیستوشیمی روشی پرکار است و نمونه‌ها باید به‌طور جداگانه توسط پاتولوژیست ارزیابی شوند. علاوه بر این اندازه‌گیری کمی این نوع رنگ‌آمیزی به نوع نمونه بستگی دارد و نمی‌توان به آسانی آنرا کلی در نظر گرفت.

Protein microarray بستگی به برهمکنش‌های اختصاصی آنتی‌بادی‌ـ لیگاند دارد؛ ولی بسیاری از پیچیدگی‌های ایمنوهیستوشیمی در استفاده از Microarray وجود ندارد. پیشرفت‌های اخیر در Protein microarray منجر به تولید تجاری Array حاوی مسیرهای پروتئینی شده است که امکان آزمایش عصاره سلولی با هر دو شکل فسفریله و دفسفریله به کمک Protein chips اختصاصی، را فراهم می‌کند (۸۵،۸٤). Protein array فاز معکوس برای مطالعه پیشرفت بیماری و فعال‌سازی مسیرها در نمونه‌های سرطانی پروستات و مری، کاربرد دارد.

عصاره‌های سلولی به‌دست آمده با روش Micro dissection، به‌صورت رقت‌های سریالی بر روی لام‌های نیتروسلولزی قرار گرفته و با آنتی‌بادی مورد نظر انکوبه شدند. این روش نتایج کمی و مقایسه‌های معنی‌دار بین سلول‌های سالم، دارای دیسپلازی و کارسینومای مهاجم را، به‌دست می‌دهد (۸۷،۸٦،۵). با مقایسه جمعیت سلول‌های سالم، کارسینومای in situ و بدخیم که همگی از یک نمونه پروستات و یک نمونه مری با روش Microdissection جدا شدند، نشان داده شد که مقادیر آنکسین-۱ با افزایش شدت بیماری به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. نشان داده شده است که بدترین حالت در پیشرفت بیماری در ارتباط با فعال‌سازی مسیرهای Pro-survival شامل Akt است که سبب کاهش پدیده آپوپتوز می‌شود (۵).

اینگونه مطالعات نشان می‌دهد که شناسایی کل محتوای پروتئینی یک جمعیت سلولی می‌تواند اطلاعاتی در زمینه مسیرهای خاصی که در روند کارسینوژنز دچار تغییر می‌شوند، فراهم کند. ارزیابی فعال‌سازی یا سرکوب مسیرهای سیگنالی در تبدیل فنوتیپ سلولی سالم به بدخیم را می‌توان با مقایسه این دو جمعیت سلولی در نمونه یک بیمار، انجام داد. این Arrayها امکان مقایسه پروتئین‌های شناخته شده در جمعیت‌های سلولی متفاوت را فراهم می‌کنند. اما وابستگی آنها به آنتی‌بادی‌های اختصاصی و حساس امکان شناسایی حضور یا عملکرد پروتئین‌های ناشناخته را نمی‌دهد.

روش‌های جدید جهت شناسایی پروتئین‌های شناخته شده و ناشناخته در حال شکل‌گیری هستند. تاکنون الگوهای بدست آمده از بیان پروتئینها با استفاده از الکتروفورز ژل دو بعدی بهترین نمای کلی را از جمعیت پروتئین سلولها و مایعات بدن، فراهم کرده است. البته محدودیت‌های این روش راندمان پایین، کار زیاد، زمان بر بودن و ایراد در شناسایی پروتئین‌های بازی و یا کوچکتر از ۱۰۰۰۰ دالتون می‌باشد (۸۸). این طیف با وزن مولکولی پایین، احتمالاً حاوی پروتئینها یا پپیتدهایی است که در پاسخ به بیماری به‌طور غیر معمول از سلول ترشح می‌شوند. الگوی پروتئینها با وزن مولکولی کم در سرم یک آرشیو اطلاعاتی است که قبل از این ناشناخته بود. امروزه تکنولوژی جدیدی شامل MALDI-TOF و SELDI-TOF برای بررسی پروتئینها در طیف وزن مولکولی کم، بوجود آمده است (۸، ۸۹،۹۰).

پروتئومیکس و سرطان‌های دستگاه تولیدمثل: در تعداد زیادی از سرطانها نظیر سرطان‌های تخمدان، سینه،

Archive of SID
www.SID.ir

پروستات، رحم و آندومتر تشخیص زود هنگام به مقدار قابل توجهی میزان مرگ و میر را کاهش داده، سبب افزایش زنده ماندن و نیز کاهش بار اقتصادی و اجتماعی وارده می‌شود. برای مثال در مورد سرطان تخمدان چنانچه زود هنگام تشخیص داده شود احتمال ۵ سال زنده ماندن بیش از ۹۰٪ خواهد بود. بنابراین یک تست تشخیصی که بتواند شروع زود هنگام سرطان تخمدان را تعیین نماید ضروری می‌باشد. روش‌های پروتئومیکس برای کشف بیومارکرهایی که سرطان‌های دستگاه تولیدمثل را مشخص می‌نمایند به مقدار زیادی ارزشمند هستند زیرا پروتئوم منتج از ساختار ژنتیکی و محیط اطراف آن می‌باشد.

پروتئومیکس سرطان سینه: سرطان سینه معمول‌ترین نوع سرطان در زنان کل دنیا است. با وجود پیشرفت‌هایی در زمینه معاینه، تشخیص و درمان علت‌های این بیماری هنوز کاملاً روشن نشده است. استفاده از ابزارهای پروتئومیکس در بررسی عوامل مختلف در سرطان سینه می‌تواند کمک کننده باشد.

در سال‌های اخیر آنالیز MALDI-TOF mass spectrometry برای تمایز الگوهای سرطانی از الگوهای خوش خیم در نمونه‌های سرم، پلاسما، بافت، مایع نوک سینه و ترشحات مجرایی، به‌کار گرفته شده است. این امر منجر به کشف پروتئین‌های مجزاکننده گردید. در سرطان سینه DCIS[1]، ابتدایی‌ترین مرحله قابل تشخیص آسیب سرطانی است که سلول‌های توموری منحصراً در مجاری وجود دارند و توسط سلول‌های میواپیتلیال و غشای پایه در برگرفته شده‌اند. بنابراین بررسی واحدهای مجرایی/ لوبولار با مجراهای سرطانی در محل سرطان سینه به درک نحوه تبدیل اپیتلیوم سالم به اولین مرحله قابل شناسایی سرطان، کمک خواهد کرد.

در یک مطالعه 2-DE[2] بر روی ۱۰ نمونه حاوی واحدهای سالم مجرایی/ لوبولار و یا DCIS، نشان داده شده که ۵۷ پروتئین بصورت متفاوت بیان می‌شوند. بسیاری از پروتئین‌های شناسایی شده از قبل با سرطان سینه در ارتباط نبوده‌اند (۹۱). امروزه شناسایی مارکرهای پروتئینی اختصاصی برای سرطان سینه ضرورت دارد.

در مطالعه‌ای که اخیراً انجام گرفت تکنیک ژل 2-D، برای مطالعه ردهٔ سلولی سرطانی MCF7 به‌عنوان منبع پروتئینی برای بررسی آنتی‌ژن‌های احتمالی مرتبط با غشا سلولی که توسط آنتی‌بادیها شناخته می‌شوند در بیماران مبتلا به سرطان سینه و داوطلبان سالم، به‌کار گرفته شد (۹۲). برای شناسایی بیومارکرهای سرم که برای شناسایی الگوی سرطان سینه در مرحله I حساس و متمایزکننده باشند، Claudioetal نشان داد که در بین ۳۱۰ نفر جمعیت مورد مطالعه (۱۵۵ زن با آزمایش سالانه سرطان و نتایج ماموگرافی منفی و ۱۵۵ زن که تحت عمل جراحی پاتولوژی مبتلا به کارسینومای تهاجمی مجرایی مرحله I شناخته شده بودند)، طی آنالیز SELDI بر روی نمونه‌های خونی یک الگوی متمایزکننده با حساسیت ۹۴٪ و اختصاصی بودن ۸۵/۷٪ به‌دست آمد (۹۳). آنالیز 2-DE بر روی سرطان تخمدان، تفاوت‌هایی را بین کارسینومای مجرایی و بافت غیر- نئوپلاستی نشان می‌دهد (۹۴). اخیراً در یک مطالعه از آنالیز 2-DE برای شناسایی کاندیداهای پروتئینی در ارتباط با عود در زمان‌های دور[3] پستان استفاده شد (۹۵). هدف این مطالعه یافتن کاندیداهای پروتئینی برای تشخیص بیماران مبتلا به سرطان سینه با یا بدون برگشت بیماری پس از تیمار با داروی مکمل تا ٤ سال پس از بیماری بود. چندین پروتئین شناسایی شد که توانایی تشخیص خصوصاً در گروه ER و PR مثبت، را نشان دادند. این نتایج نشان داد که با استفاده از الکتروفورز ژل دو بعدی می‌توان خصوصیات متفاوت ایجاد شده پس از درمان‌های مکمل را ردیابی نمود.

1- Ductal Carcinoma In Situ
2- Two dimentional electrophoresis
3- distant recurrences

Archive of SID
www.SID.ir

پروتئومیکس سرطان تخمدان: با وجود سالها تحقیق، تاکنون بیومارکر مناسبی برای تشخیص زودهنگام سرطان تخمدان، به‌عنوان یکی از کشنده‌ترین انواع سرطان در بین زنان دنیا، کشف نشده است. البته در سال‌های اخیر تکنولوژی‌های پروتئومیکس جدید امکان یافتن بیومارکر پروتئینی مناسب در سرم را افزایش داده‌اند. این امر به تشخیص سرطان تخمدان در مراحل ابتدایی کمک می‌کند. یکی از تحقیقات اخیر آنالیز پروتئوم تخمدان انسان برای به‌دست آوردن درک بهتر از طبیعت ملکولی تخمدان، استفاده کرده است. اینگونه مطالعات می‌تواند به‌عنوان نقشه مرجع تخمدان سالم انسان مورد استفاده قرار گیرد و با وضعیت طبیعی و بیماری‌های تخمدان مانند سرطان مورد مقایسه قرار گیرد. نتایج این مطالعات می‌تواند به‌عنوان ابزاری جهت تشخیص کلینیکی و انجام اقدامات درمانی نیز مورد استفاده قرار گیرد.

همچنین یکی از مطالعات اخیر از آنالیز پروتئومیکی (استفاده از الکتروفورز دو بعدی برای جداسازی پروتئینها و بدنبال آن (MALDI) Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry و بررسی بانک‌های اطلاعاتی) برای درک بهتر ماهیت مولکولی تخمدان انسان استفاده نموده است (۹۶). در این مطالعه بیش از ۲۰۰ نقطه پروتئینی مربوط به ۱۳۸ پروتئین مختلف شناسایی شدند که نمایانگر فازهای فولیکولی و لوتئالی بودند.

اخیراً در مطالعه‌ای (۹۷)، آنالیز مقایسه‌ای پروتئوم در سرطان اپیتلیال تخمدان انجام گرفت. از دو روش پروتئومیکسی تکمیلی برای مطالعه بیان متفاوت پروتئین بین رده‌های سلولی سرطان اپیتلیال تخمدان به میزان کم و نیز به میزان زیاد تغییر شکل یافته استفاده شد. در این مطالعه چندین پروتئین شناسایی شد که نقش‌هایی برای آنها به عنوان فاکتورهای رونویسی، پروتئین‌های درگیر در متابولیسم سلولی، چسبندگی یا حرکت سلولی و سازماندهی اسکلت سلولی پیشنهاد شد. این یافته‌ها نشان دادند که فعالیت مسیرهای آنکوژن احتمالاً در رفتار تهاجمی سلولی حداقل در سیستم مدل رده سلولی تحت مطالعه دخالت دارد.

از آنجا که سرطان تخمدان در عمق استخوان لگن پنهان شده، هیچگونه علائمی نشان نمی‌دهد و عموماً در مراحل پیشرفته که امید به زندگانی تا کمتر از ۵ سال کاهش یافته تشخیص داده نمی‌شود (۱۰۲-۹۸). سرطان تخمدان به قدری مرگبار است که تعداد زنانی که از سرطان تخمدان می‌میرند بیش از تعدادی است که از چند نوع بدخیمی زنانه دیگر جان خود را از دست می‌دهند. با این وجود چنانچه سرطان تخمدان در مراحل اولیه (مرحله I) تشخیص داده شود، امید به زندگانی ۵ سال در بیش از ۹۰٪ بیماران افزایش خواهد یافت (۱۰۲-۱۰۰).

NCI-FDA سرم‌های بیماران مبتلا به سرطان تخمدان و اشخاص غیرمبتلا را با استفاده از فن‌آوری SELDI-TOF بررسی کرده است (۱۰۳،۱۰۴، ۸). الگویی بر طبق الگوریتم تجربی با استفاده از Heuristic algorithm از دانسته‌ها در مورد افراد مبتلا و افراد غیرمبتلا تهیه شد. در این الگو گروه‌های کوچک (۲۰-۵ دادهٔ اطلاعاتی) به‌صورت تصادفی از روی مقادیر $\frac{\text{جرم}}{\text{بار}}$ (m/z) تکرار می‌شوند تا جایی که الگویی بهینه بدست آید که توانایی تشخیص سرطان از غیر سرطان را داشته باشد. از نمونه‌های بیمار به‌صورت تصادفی برای آزمایش الگوی تهیه شده و میزان حساسیت، اختصاصی بودن و ارزش اخباری مثبت[1] ، استفاده گردید. با استفاده از گروه ۵ عضوی مقادیر m/z که به‌عنوان الگوی بهینه انتخاب شده بود، تمامی ۵۰ نمونه سرطان تخمدان به‌صورت صحیح طبقه‌بندی شدند که شامل ۱۸ نمونه مبتلا در مرحلهٔ I در گروه تصادفی بود. در کل، این تحقیق حساسیت ۱۰۰٪ و اختصاصی بودن ۹۵٪ را نشان داد.

1- Positive predictive value

Archive of SID
www.SID.ir

با این وجود برای تبدیل هر روش Mass spectrometry به یک روش تشخیصی استاندارد آزمایشگاهی برای تشخیص زودهنگام سرطان، باید مسیری طولانی طی شود که شامل تکرار این مطالعات در آزمایشگاه‌های متعدد و انجام مطالعات تکمیلی بر روی جمعیت‌های بزرگ می‌باشد.

پروتئومیکس سرطان‌های دهانه رحم و اندومتر: سرطان دهانه رحم دومین تومور بدخیم در بین زنان جهان می‌باشد. Cervical squamous cell carcinoma خطر زیادی برای پیشروی دارد و ژنها و پروتئین‌های احتمالی دخیل در سرطان دهانه رحم، برای شناسایی پروتئین‌هایی که در پیشرفت بیماری نقش دارند، مورد نیاز هستند.

الگوی بیان پروتئینها در کارسینومای اولیه واژن (۱۰۵) و ردهٔ سلولی (C33A) آلوده با HPV (۱۰۶)، بررسی شد. در مطالعه‌ای که اخیراً انجام گرفت، آنالیز MALDI-TOF mass-spectrometry بر روی نمونه بیماران سرطان دهانه رحم از نوع سنگفرشی نشان داد که بیان ۳۵ پروتئین افزایش و بیان ۱۸ پروتئین کاهش پیدا کرده است (۱۰۷).

روش Protein biochip SELDI برای شناسایی الگوی پروتئین با حساسیت ۸۷٪ و اختصاصی بودن ۱۰۰٪، بکار گرفته شد (۱۰۸). در این مطالعه ٦۲ نمونه سلول اپیتلیال دهانه رحم شامل ۳۵ نمونه سرطان مهاجم دهانه رحم و ۲۷ نمونه بافت دهانه رحم طبیعی (Age-matched) توسط روش Micro dissection جداسازی شد. همچنین ابزارهای پروتئومیکس جهت بررسی اثرات ضد تقسیم Paclitaxel بر روی رده سلولی کارسینومای دهانه رحم حاوی HPV، استفاده شد (۱۰۹). این تکنیک روش مؤثر و با قابلیت زیادی را برای بررسی تغییرات پروتئین القا شده توسط Paclitaxel فراهم کرد و نشان داد که اثر ضد تقسیمی آن از طریق فعال‌سازی مسیر آپوپتوتیک تحریک شده با گیرنده مرگ در غشاء می‌باشد. رده‌بندی پروتئومیک می‌تواند جهت کشف علائم ملکولی نوین و درک بهتر عملکرد Paclitaxel مورد استفاده قرار گیرد.

چندین مطالعه از روش‌های پروتئومیک برای جستجوی مارکرهایی برای سرطان آندومتر، استفاده کرده‌اند. استفاده از روش‌های Mass-tagging Multidimensional liquid chromatography tandem mass spectrometry برای نمونه‌های گروه‌ها ۱٤۸ نفر از بیماران که بر روی یک Array بافتی قرار گرفته بود، منجر به کشف یک گروه متشکل از ۳ بیومارکر برای تشخیص کارسینومای آندومتر گردید (۱۱۰). در مطالعه‌ای دیگر بیومارکرهای پروتئینی کاندیدای مترشحه از سلول‌های آندومتر سرطانی انسان با استفاده از کروماتوگرافی مایع دو بعدی Tandem mass spectrometry، شناسایی شدند (۱۱۱). چندین مطالعه نیز درباره بیماری‌زایی مولکولی کارسینومای آندومتر گزارش داده‌اند (۱۱۲). ژن‌هایی که در کارسینومای اندومتر دائما تغییر می‌کنند شامل p53, k-ras, PTEN (۱۱٦–۱۱۳) و Her-2/neu (۱۲۰–۱۱۷) هستند. با این وجود مطالعات اندکی روی سطح کلی بیان پروتئین در کارسینومای آندومتر انجام گرفته است. اخیراً در مطالعه‌ای تکنولوژی SELDI mass spectrometry برای آنالیز نمونه سرم ۱۹ کارسینومای آندومتر و ۲۰ نمونه طبیعی آندومتر گرفته شده از بیماران مبتلا به مشکلات خوش‌خیم زنان بکار گرفته شد. در این مطالعه نشان داده شد که ۲ پروتئین متفاوت، پتانسیل استفاده به عنوان بیومارکر جهت تشخیص سرطان اندومتر را دارا هستند (۱۲۱).

پروتئومیکس سرطان پروستات: سرطان پروستات یکی از عوامل اصلی مرگ مردان در جهان است. کشف بیومارکرهای نوین برای تشخیص سرطان پروستات به تعیین بدخیم بودن سرطان پروستات در معاینات بعداز درمان و پیش‌بینی نتایج پس از درمان‌های اختصاصی، کمک می‌کند. تصور می‌شود که اغلب

Archive of SID
www.SID.ir

سرطان‌های پروستات ناشی از ترانسفورماسیون بدخیم سلول‌های ترشحی تمایز یافته باشند (۱۲۲) و اپیتلیوم پروستات در گسترش بیماری نوع بدخیم و خوش خیم دخالت دارد (۱۲۳). امروزه تعیین حضور آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) در سرم یک انتخاب می‌باشد؛ البته بسیاری از مردان با تست PSA مثبت (بیشتر از ٤*ng/ml*) اصلاً مبتلا به سرطان نیستند. بنابراین به تست‌های اختصاصی سرطان پروستات برای تشخیص زودهنگام تومورهای پروستات مورد نیاز است.

از تکنیک SELDI-TOF-MS برای تعیین تفاوتها بین سلول‌های سرطانی پروستات، سلول‌های پری نئوپلاستیک و اپیتلیوم طبیعی استفاده شده تا برای هر مرحله از پیشرفت سرطان الگوی اختصاصی به‌دست آید (۱۲٤). ردپای مولکولی به‌دست آمده از این گونه مطالعات به کشف مارکرهای احتمالی برای تشخیص زودهنگام و فاکتورهای خطرزا برای تشخیص رشد سرطان پروستات، منجر می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر با استفاده از تکنیک SELDI- TOF-MS الگوهای پروتئینی سرم توسط Copper-metal affinity array با حساسیت ۸۳٪ و اختصاصی بودن ۹۷٪، بدست آمد (۱۲۵).

کاربرد تکنیک‌های پروتئومیکس در بافت پروستات جهت یافتن بیومارکرها و درک پاتولوژی سرطان پروستات نیز مورد توجه قرار گرفته است. در جمع آوری نمونه‌های بافتی، از میکروسکپ لیزری (LCM) برای جمع‌آوری جمعیت‌های خاص سلولی استفاده می‌شود (۱۲٦). از الکتروفوز دوبعدی جهت جداسازی پپتیدها و پروتئینها از مایع سمینال استفاده شده است. استفاده از MALDI-TOF و کروماتوگرافی مایع مویین MS/MS به شناسایی بیومارکرها کمک کرده است (۱۲۷).

به نظر می‌رسد پیشرفت سرطان پروستات احتمالاً در ارتباط با سیتوکینها باشد. در یک مطالعه مقایسه‌ای بین هیپرپلازیای خوش خیم پروستات و نمونه‌های PRCA، دیده شد که مقادیر IGF سرم افزایش نشان می‌دهد (۱۲۸). مطالعات بعدی بر روی پروتئین‌های بافت سرطان پروستات افزایش بیان Positive surgical margins و PSA را نشان داد که این نتیجه با Gleason score هماهنگی دارد (۱۲۹) و نشان می‌دهد که E-cadherin می‌تواند به‌عنوان یک مارکر تشخیص منفی تلقی شود (۱۳۰).

پروتئوگلیکان‌های هپاران سولفات غشایی اثر منفی بر رشد تومورها دارند و در زمان تبدیل تومور به تومور بدخیم در سرطان‌های اپیتلیالی بیان آنها سرکوب می‌شود با وجود این زمانیکه بیان Syndecan-1 در سرطان پروستات بررسی شد، مشخص شد که مقادیر آن در تومورهای پیشرفته افزایش می‌یابد (۱۳۱). نشان داده شد که در هنگام پیشرفت سرطان پروستات مسیرهای سیگنالی از تنظیم خارج می‌شوند (۱۳۲) و مقادیر NF-KB با مراحل پیشرفته بیماری در ارتباط است (۱۳۳). اخیراً تکنیک‌های پروتئومیکس برای شناسایی بیومارکرهایی در سرم برای تشخیص بیماران مبتلا به سرطان پروستات، بکار گرفته شده

جدول ۲- مطالعات انجام شده در زمینه پروتئومیکس سرطان های دستگاه تولید مثل

دستگاه تولیدمثل	روش بررسی	منابع
سینه	2DE	۹۵ و ۹٤، ۹۲، ۹۱
سینه	SELDI	۹۳
تخمدان	2DE	۹٦
تخمدان	MALDI	۹٦
تخمدان	SELDI-TOF	۱۰٤،۸و۱۰۳
دهانه رحم	MALD-TOF	۱۰۷
دهانه رحم	Protein biochip SELDI	۱۰۸
آندومتر	Mass tagging and MLCTMS*	۱۱۰
آندومتر	Tandem mass spectrometery/ کروماتوگرافی مایع دو بعدی	۱۱۱
آندومتر	SELDI-MS	۱۲۱
پروستات	SELDI-TOF-MS	۱۲۵ و ۱۲٤
پروستات	2DE	۱۲۷
پروستات	کروماتوگرافی مایع مویین MS/MS و MALDI-TOF	۱۲۷

*Multidimentional liquid chromatography tandem mass spectrometry

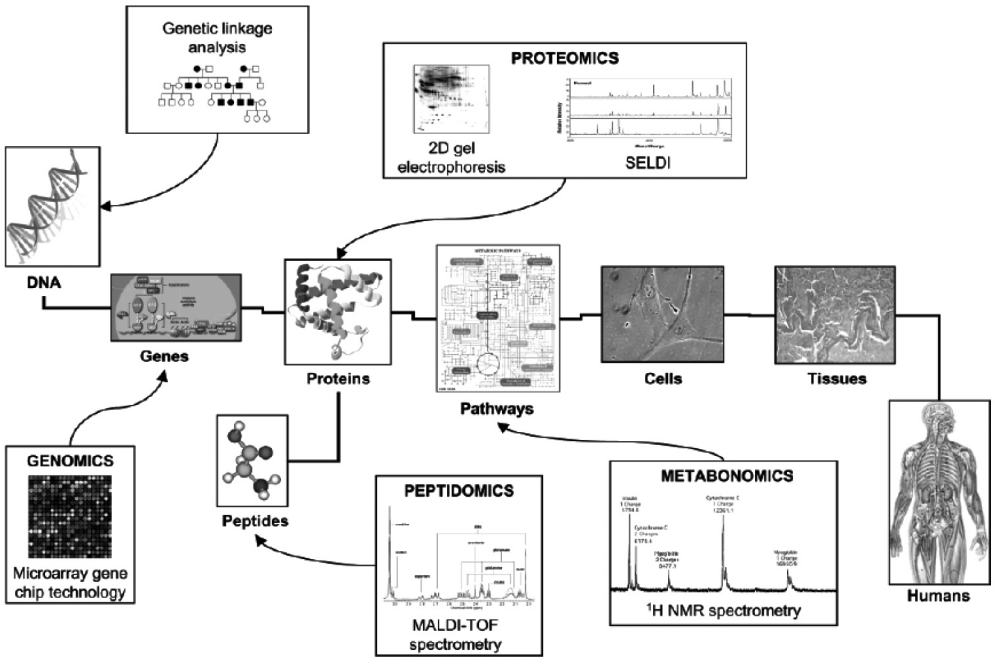
Archive of SID
www.SID.ir

است (۱۳٤). در جدول ۲ خلاصه‌ای از مطالعات انجام شده در زمینه پروتئومیکس سرطان‌های دستگاه تولید مثل نشان داده شده است.

حضور وضعیت پاتولوژیک در پروستات احتمالاً با بررسی تغییر الگوی پروتئومیک سرم قابل پیش‌بینی است. بررسی Mass spectra مربوط به پروتئین‌های سرم با ابزار بیوانفورماتیک انجام گرفت تا بهترین و مناسب‌ترین الگو با توانایی تمایز بین گروه مردان با تشخیص هیستوپاتولوژیکی سرطان پروستات (PSA بیشتر یا مساوی *ng/ml* ٤) و گروه مردان بدون سرطان پروستات (سطح PSA سرم کمتر از *ng/ml* ۱) شناسایی می‌شود. Mass spectra مربوط به سرم‌های Blind (n=266) گروه آزمایشی گرفته شده از مردان مبتلا به سرطان پروستات و افراد بدون سرطان پروستات برخلاف الگوی متمایز کننده بدست آمده از گروه آزمایشی بودند. خوش خیم یا سرطانی بودن بیماری براساس تشابه با الگوی به‌دست آمده از نمونه‌های گروه آزمایشی تشخیص داده می شد. الگوی پروتئینی ۳٦ بیمار از ۳۸ بیمار به درستی مبتلا بودن آنها به سرطان پروستات را تشخیص داد. برای افرادی که مقادیر PSA آنها در حد مرزی افزایش داشت (n=۱۳۷ و *ng/ml* ۱۰-٤)، اختصاصی بودن ۷۱٪ محاسبه شد. چنانچه این یافته‌ها در مطالعات آینده تأیید شود، به نظر می‌رسد که الگوی پروتئین سرم در تصمیم‌گیری برای انجام بیوپسی بر روی فردی که افزایش مقادیر PSA دارد، ارزشمند باشد.

در سال‌های اخیر استفاده از SELDI-TOF به همراه MALDI-TOF و الکتروفورز دوبعدی و تکنیک‌های جداسازی به سرعت روبه افزایش بوده است و امید است که تکنولوژی روبه گسترش پروتئومیک، به‌عنوان ابزار تشخیصی کلینیکی مورد استفاده قرار گیرد (۱۳۵). کشف الگوهای پروتئومیک در خون که افراد مبتلا به سرطان پروستات را از انواع خوش خیم تمایز می‌دهد، در آینده‌ای نزدیک به‌عنوان ابزاری کلینیکی برای تشخیص زودهنگام بیماری مورد استفاده قرار خواهند گرفت. شکل ۱ تصویری از تکنیک‌های مولکولی مختلف برای بررسی یک سیستم بیولوژیکی در سطوح متفاوت را نشان می‌دهد (۱۳۵).

جهت گیری های آینده: مطالعات ژنومیکس و پروتئومیکس در مقیاس‌های بزرگ بر اساس



شکل ۱- تصویری از تکنیک های مولکولی مختلف برای بررسی یک سیستم بیولوژیکی در سطوح متفاوت

Archive of SID
www.SID.ir

جهت‌گیری‌های آینده DNA array و پروتئین سبب بهبود درک پاتوفیزیولوژیکی از سرطان شده‌است. استفاده از این یافته‌ها به زودی سبب پیشرفت در تشخیص پیش آگهی و درمان سرطان خواهد شد. فن‌آوری‌های ژنومیکس و پروتئومیکس نه تنها پتانسیل اثرگذاری بر روش‌های تشخیصی و پیش آگهی را دارند بلکه در گسترش داروهای کلینیکی و پیش کلینیکی نیز نقش عمده‌ای خواهند داشت. تکامل همزمان ژنومیکس و پروتئومیکس به‌عنوان روش‌های مکمل مطالعه سرطان ما را به سوی اهدافی مانند شناسایی زودهنگام، پیشگیری کارآمد، و تهیهٔ روش‌های اختصاصی تومور با اساس مولکولی برای درمان هر بیمار، سوق می‌دهد. در سال‌های اخیر استفاده از تکنولوژی‌های ژنومیکس و پروتئومیکس دانش ما را در زمینه مکانیسم‌های ملکولی در سرطان‌های دستگاه تولید مثل افزایش داده است. همچنین این تکنولوژی‌های جدید به شناسایی بیومارکرهایی جهت تشخیص زود هنگام و کشف الگوهایی برای پیش‌بینی نتایج روش‌های درمانی، کمک می‌کنند.

References

1- Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. Science. 2001;291(5507):1304-51.

2- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature. 2001;409(6822):860-921.

3- Michener CM, Ardekani AM, Petricoin EF, 3rd, Liotta LA, Kohn EC. Genomics and proteomics: application of novel technology to early detection and prevention of cancer. Cancer Detect Prev. 2002; 26(4):249-55.

4- Emmert-Buck MR, Bonner RF, Smith PD, Chuaqui RF, Zhuang Z, Goldstein SR, et al. Laser capture microdissection. Science. 1996;998-1001.

5- Bonner RF, Emmert-Buck MR, Cole K, Pohida T, Chuaqui RF, Goldstein S, et al. Laser capture microdissection: molecular analysis of tissue. Science. 1997;278: 1481-3.

6- Jares P, Camo E. Genomic platforms for cancer research: potential diagnostic and prognostic applications in clinical oncology. Clin Transl Oncol. 2006;8:161-72.

7- Chung CH, Levy S, Chaurand P, Carbone DP. Genomics and proteomics: Emerging technologies in clinical cancer research. Crit Rev Oncol Hematol. 2007;61:1-25.

8- Petricoin III EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Steinberg SM, Mills GB, et al. Use of proteomic patterns in sera detect early stage ovarian cancer. Lancet. 2002; 359:572-7.

9- Mittal V, Nolan DJ. Genomics and proteomics approaches in understanding tumor angiogenesis. Expert Rev Mol Diagn. 2007;7(2):133-47.

10- Miller BA, Hankey BF, Kosary CL, Harris A, Edwards BK. Editors. Bethesda. National Cancer Institute. SEER Cancer Statistics Review: 1973-1991. In: Ries LAG. 1994:136-44.

11- Bernard HU, Chan SY, Manos MM, Ong CK, Villa LL, Delius H, Peyton CL, et al. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. J Infect Dis. 1994;170(5): 1077-85.

12- Bauer HM, Ting Y, Greer CE, Chambers JC, Tashiro CJ, Chimera J, et al. Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method. JAMA. 1991;265:472-7.

13- Harkin DP. Genomics and the impact of new technologies on the management of colorectal cancer. Oncologist. 2006;11(9):988-91.

14- Franzen B, Hirano T, Okuzawa K, Uryu K, Alaiya AA, Linder S, et al. Sample preparation of human tumors prior to two-dimensional electrophoresis of proteins. Electrophoresis. 1995;16(7):1087-9.

15- Zvibel I, Brill S, Papa M, Halpern Z. Hepatocyte-derived soluble factors regulate proliferation and autocrine growth factor expression in colon cancer cell lines of varying liver-colonizing capability. Tumour Biol. 2000;21(4):187-96.

16- Bemis LT, Schedin P. Reproductive state of rat mammary gland stroma modulates human breast cancer cell migration and invasion. Cancer Res. 2000;60(13): 3414-8.

Archive of SID

www.SID.ir

17- Chung LW. Fibroblasts are critical determinants in prostatic cancer growth and dissemination. Cancer Metastasis Rev. 1991;10(3):263-74.

18- Berger SJ, DeVries GW, Carter JG, Schulz DW, Passonneau PN, Lowry OH, et al. The distribution of the components of the cyclic GMP cycle in retina. J Biol Chem. 1980;255(7):3128-33.

19- Radford DM, Fair K, Thompson AM, Ritter JH, Holt M, Steinbrueck T, et al. Allelic loss on a chromosome 17 in ductal carcinoma in situ of the breast. Cancer Res. 1983;53:2947-9.

20- Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumor-host interface. Nature. 2001;411:75-9.

21- Ornstein DK, Gillespie JW, Paweletz CP, Duray PH, Herring J, Vocke CD, et al. Proteomic analysis of laser capture microdissected human prostate cancer and in vitro prostate cell lines. Electrophoresis. 2000;21(11): 2235-42.

22- Bielas JH, Venkatesan RN, Loeb LA. LOH-proficient embryonic stem cells: a model of cancer progenitor cells?. Trends Genet. 2007;23(4):154-7.

23- Sobol H, Benziane A, Kerangueven F, Yin L, Noguchi T, Pauly S, et al. Genome-wide search for loss of heterozygosity in Burkitt lymphoma cell lines. Genes Chromosomes Cancer. 2002;33(2):217-24.

24- Shayesteh L, Lu Y, Kuo WL, Baldocchi R, Godfrey T, Collins C, et al. PIK3CA is implicated as an oncogene in ovarian cancer. Nat Genet. 1999;21(1):99-102.

25- Choi YW, Bae SM, Kim YW, Lee HN, Kim YW, Park TC, et al. Gene expression profiles in squamous cell cervical carcinoma using array-based comparative genomic hybridization analysis. Int J Gynecol Cancer. 2007;17(3):687-96.

26- Kloth JN, Oosting J, van Wezel T, Szuhai K, Knijnenburg J, Gorter A, et al. Combined array-comparative genomic hybridization and single-nucleotide polymerphism-loss of heterozygosity analysis reveals complex genetic alterations in cervical cancer. BMC Genomics. 2007;8:53.

27- Wadlow R, Ramaswamy S. DNA microarrays in clinical cancer research. Curr Mol Med. 2005;5(1):111-20.

28- Fodor SP, Rava RP, Huang XC, Pease AC, Holmes CP, Adams CL. Multiplexed biochemical assays with biological chips. Nature. 1993;364(6437):555-6.

29- DeRisi J PL, Brown PO, Bittner ML, Meltzer PS, et al. 457-60. Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer. Nat Genet. 1996;14:457-60.

30- Zhang L, Zhouw ZW, Velculescu VE, Kern SE, Hruban RH, Hamilton SR, et al. Gene expression profiles in normal and cancer cells. Science. 1997;276: 1268-72.

31- Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens Nat Med. 1998;4(7):844-7.

32- Clarke PA, te Poele R, Wooster R, Workman P. Gene expression microarray analysis in cancer biology, pharmacology, and drug development: progress and potential. Biochem Pharmacol. 2001;62(10):1311-36.

33- Chin KV, Kong AN. Application of DNA microarrays in pharmacogenomics and toxicogenomics. Pharm Res. 2002;19(12):1773-8.

34- van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. Nature. 2002;415 (6871):530-6.

35- Yeoh EJ, Ross ME, Shurtleff SA, Williams WK, Patel D, Mahfouz R, et al. Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. Cancer Cell. 2002;1(2):133-43.

36- Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI, et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. N Engl J Med. 2002;346 (25):1937-47.

37- Beer DG, Kardia SL, Huang CC, Giordano TJ, Levin AM, Misek DE, et al. Gene-expression profiles predict survival of patients with lung adenocarcinoma. Nat Med. 2002;8(8):816-24.

38- van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. N Engl J Med. 2002;347(25):1999-2009.

39- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2000;406(6797):747-52.

40- Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98(19): 10869-74

41- Zhao H, Langerod A, Ji Y, Nowels KW, Nesland JM, Tibshirani R, et al. Different gene expression patterns in invasive lobular and ductal carcinomas of the breast. Mol Biol Cell. 2004;15(6):2523-36.

42- Ma XJ, Wang Z, Ryan PD, Isakoff SJ, Barmettler A, Fuller A, et al. A two-gene expression ratio predicts clinical outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. Cancer Cell. 2004;5(6):607-16.

43- Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a

Archive of SID
www.SID.ir

55- Boffetta P, Parkin DM. Cancer in developing countries. CA Cancer J Clin. 1994;44:81-90.

56- Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. Int J Cancer. 1999;83(1):18-29.

57- Benedet JL, Odicino F, Maisonneuve P, Beller U, Creasman WT, Heintz AP, et al. Carcinoma of the cervix uteri. J Epidemiol Biostat. 2001;6(1):7-43.

58- Wong YF, Selvanayagam ZE, Wei N, Porter J, Vittal R, Hu R, et al. Expression genomics of cervical cancer: molecular classification and prediction of radiotherapy response by DNA microarray. Clin Cancer Res. 2003;9 (15):5486-92.

59- Fujimoto TNA, Iwasaki M, Akutagawa N, Teramoto M KR. Gene expression profiling in two morphologically different uterine cervical carcinoma cell lines derived from a single donor using a human cancer cDNA array. Gynecol Oncol. 2004;93:446-53.

60- Achary MP, Jaggernauth W, Gross E, Alfieri A, Klinger HP, Genet VBCC. Cell lines from the same cervical carcinoma but with different radiosensitivities exhibit different cDNA microarray patterns of gene expression. 2000;91:39-43.

61- Kloth JN, Fleuren GJ, Oosting J, de Menezes RX, Eilers PH, Kenter GG, et al. Substantial changes in gene expression of Wnt, MAPK and TNFalpha pathways induced by TGF-beta1 in cervical cancer cell lines. Carcinogenesis. 2005;26(9):1493-502.

62- Hudelist G, Czerwenka K, Singer C, Pischinger K, Kubista E, Manavi M. cDNA array analysis of cytobrush-collected normal and malignant cervical epithelial cells: a feasibility study. Cancer Genet Cytogenet. 2005;158(1):35-42.

63- Cheng Q, Lau WM, Tay SK, Chew SH, Ho TH, Hui KM. Identification and characterization of genes involved in the carcinogenesis of human squamous cell cervical carcinoma. Int J Cancer. 2002;98(3):419-26.

64- Chao A, Wang TH, Lee YS, Hsueh S, Chao AS, Chang TC, et al. Molecular characterization of adenocarcinoma and squamous carcinoma of the uterine cervix using microarray analysis of gene expression. Int J Cancer. 2006;119(1):91-8.

65- Contag SA, Gostout BS, Clayton AC, Dixon MH, McGovern RM, Calhoun ES. Comparison of gene expression in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the uterine cervix. Gynecol Oncol. 2004; 95(3):610-7.

66- Narayan G, Bourdon V, Chaganti S, Arias-Pulido H, Nandula SV, Rao PH, et al. Gene dosage alterations revealed by cDNA microarray analysis in cervical cancer: identification of candidate amplified and overexpressed genes. Genes Chromosomes Cancer. 2007;46 (4):373-84.

population-based study. Proc Natl Acad Sci USA. 2003; 100(18):10393-8.

44- Ahr A, Karn T, Solbach C, Seiter T, Strebhardt K, Holtrich U, et al. Identification of high risk breast-cancer patients by gene expression profiling. Lancet. 2002;359 (9301):131-2.

45- Onda M, Emi M, Nagai H, Nagahata T, Tsumagari K, Fujimoto T, et al. Gene expression patterns as marker for 5-year postoperative prognosis of primary breast cancers. J Cancer Res Clin Oncol. 2004;130(9):537-45.

46- Huang E, Cheng SH, Dressman H, Pittman J, Tsou MH, Horng CF, et al. Gene expression predictors of breast cancer outcomes. Lancet. 2003;361(9369):1590-6.

47- Nagahata T, Onda M, Emi M, Nagai H, Sato T, Nishikawa K, Akiyama F, Sakamoto G, Kasumi F. Expression profiling to predict postoperative prognosis for estrogen receptor-negative breast cancers by analysis of 25,344 genes on a cDNA microarray. Cancer Sci. 2004;95:218-25.

48- Chang JC, Wooten EC, Tsimelzon A, Hilsenbeck SG, Gutierrez MC, Elledge R, et al. Gene expression profiling for the prediction of therapeutic response to docetaxel in patients with breast cancer. Lancet. 2003; 362(9381):362-9.

49- Ayers M, Symmans WF, Stec J, Damokosh AI, Clark E, Hess K, et al. Gene expression profiles predict complete pathologic response to neoadjuvant paclitaxel and fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer. J Clin Oncol. 2004;22 (12):2284-93.

50- Grisaru D, Hauspy J, Prasad M, Albert M, Murphy KJ, Covens A, et al. Microarray expression identification of differentially expressed genes in serous epithelial ovarian cancer compared with bulk normal ovarian tissue and ovarian surface scrapings. Oncol Rep. 2007;18(6): 1347-56.

51- Bignotti E, Tassi RA, Calza S, Ravaggi A, Romani C, Rossi E, et al. Differential gene expression profiles between tumor biopsies and short-term primary cultures of ovarian serous carcinomas: identification of novel molecular biomarkers for early diagnosis and therapy. Gynecol Oncol. 2006;103(2):405-16.

52- Bignotti E, Tassi RA, Calza S, Ravaggi A, Bandiera E, Rossi E, et al. Gene expression profile of ovarian serous papillary carcinomas: identification of metastasis-associated genes. Am J Obstet Gynecol. 2007;196(3): 245 e1-11.

53- Lancaster JM, Dressman HK, Whitaker RS, Havrilesky L, Gray J, Marks JR, et al. Gene expression patterns that characterize advanced stage serous ovarian cancers. J Soc Gynecol Investig. 2004;11(1):51-9.

54- Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M. Cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2001;50 7-33.

Archive of SID
www.SID.ir

67- Kiechle M, Hinrichs M, Jacobsen A, Luttges J, Pfisterer J, Kommoss F, et al. Genetic imbalances in precursor lesions of endometrial cancer detected by comparative genomic hybridization. Am J Pathol. 2000;156(6):1827-33.

68- Luo J, Duggan DJ, Chen Y, Sauvageot J, Ewing CM, Bittner ML, et al. Human prostate cancer and benign prostatic hyperplasia: molecular dissection by gene expression profiling. Cancer Res. 2001;61(12):4683-8.

69- Clark J, Edwards S, Feber A, Flohr P, John M, Giddings I, et al. Genome-wide screening for complete genetic loss in prostate cancer by comparative hybridization onto cDNA microarrays. Oncogene. 2003;22 (8):1247-52.

70- Wolf M, Mousses S, Hautaniemi S, Karhu R, Huusko P, Allinen M, et al. High-resolution analysis of gene copy number alterations in human prostate cancer using CGH on cDNA microarrays: impact of copy number on gene expression. Neoplasia. 2004;6(3):240-7.

71- Isaacs W, De Marzo A, Nelson WG. Focus on prostate cancer. Cancer Cell. 2002;2(2):113-6.

72- Ashida S, Nakagawa H, Katagiri T, Furihata M, Iiizumi M, Anazawa Y, et al. Molecular features of the transition from prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) to prostate cancer: genome-wide gene-expression profiles of prostate cancers and PINs. Cancer Res. 2004;64(17): 5963-72.

73- Klezovitch O, Chevillet J, Mirosevich J, Roberts RL, Matusik RJ, Vasioukhin V. Hepsin promotes prostate cancer progression and metastasis. Cancer Cell. 2004;6 (2):185-95.

74- Yu YP, Landsittel D, Jing L, Nelson J, Ren B, Liu L, et al. Gene expression alterations in prostate cancer predicting tumor aggression and preceding development of malignancy. J Clin Oncol. 2004;22(14):2790-9.

75- Velculescu VE, Zhang L, Vogelstein B, Kinzler KW. Serial analysis of gene expression. Science. 1995;270 (5235):484-7.

76- MacBeath G, Schreiber SL. Printing proteins as microarrays for high-throughput function determination. Science. 2000;289(5485):1760-3.

77- Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. Science. 1989;244(4905):707-12.

78- Bur ME, Perlman C, Edelmann L, Fey E, Rose PG. p53 expression in neoplasms of the uterine corpus. Am J Clin Pathol. 1992;98(1):81-7.

79- Hale RJ, Buckley CH, Gullick WJ, Fox H, Williams J, Wilcox FL. Prognostic value of epidermal growth factor receptor expression in cervical carcinoma. J Clin Pathol. 1993;46(2):149-53.

80- Baselga J, Norton L, Albanell J, Kim YM, Mendelsohn J. Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. Cancer Res. 1998;58 (13):2825-31.

81- Pegram MD, Lipton A, Hayes DF, Weber BL, Baselga JM, Tripathy D, et al. Phase II study of receptor-enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti-p185HER2/neu monoclonal antibody plus cisplatin in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment. J Clin Oncol. 1998;16(8):2659-71.

82- Kwiatkowski DJ, Harpole DH, Jr., Godleski J, Herndon JE, 2nd, Shieh DB, Richards W, et al. Molecular pathologic substaging in 244 stage I non-small-cell lung cancer patients: clinical implications. J Clin Oncol. 1998;16(7):2468-77.

83- Chung YL, Sheu ML, Yang SC, Lin CH, Yen SH. Resistance to tamoxifen-induced apoptosis is associated with direct interaction between Her2/neu and cell membrane estrogen receptor in breast cancer. Int J Cancer. 2002;97(3):306-12.

84- Fisher B, Costantino J, Redmond C, Poisson R, Bowman D, Couture J, et al. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-positive tumors. N Engl J Med. 1989;320(8): 479-84.

85- Lueking A, Horn M, Eickhoff H, Bussow K, Lehrach H, Walter G. Protein microarrays for gene expression and antibody screening. Anal Biochem. 1999;270(1): 103-11.

86- Vasiliskov AV, Timofeev EN, Surzhikov SA, Drobyshev AL, Shick VV, Mirzabekov AD. Fabrication of microarray of gel-immobilized compounds on a chip by copolymerization. Biotechniques. 1999;27(3):592-4, 6-8, 600 passim.

87- Emmert-Buck MR, Strausberg RL, Krizman DB, Bonaldo MF, Bonner RF, Bostwick DG, et al. Molecular profiling of clinical tissues specimens: feasibility and applications. J Mol Diagn. 2000;2(2):60-6.

88- Paweletz CP, Ornstein DK, Roth MJ, Bichsel VE, Gillespie JW, Calvert VS, et al. Loss of annexin 1 correlates with early onset of tumorigenesis in esophageal and prostate carcinoma. Cancer Res. 2000;60(22): 6293-7.

89- Leak LV, Petricoin EF, 3rd, Jones M, Paweletz CP, Ardekani AM, Fusaro VA, et al. Proteomic technologies to study diseases of the lymphatic vascular system. Ann N Y Acad Sci. 2002;979:211-28, 29-34.

90- Ardekani AM, Petricoin EF, 3rd, Hackett JL. Molecular diagnostics: an FDA perspective. Expert Rev Mol Diagn. 2003;3(2):129-40.

Archive of SID
www.SID.ir

91- Wulfkuhle JD, Sgroi DC, Krutzsch H, McLean K, McGarvey K, Knowlton M, et al. Proteomics of human breast ductal carcinoma in situ. Cancer Res. 2002;62 (22):6740-9.

92- Canelle L, Bousquet J, Pionneau C, Hardouin J, Choquet-Kastylevsky G, Joubert-Caron R, et al. A proteomic approach to investigate potential biomarkers directed against membrane-associated breast cancer proteins. Electrophoresis. 2006;27(8):1609-16.

93- Claudio L. Making progress on breast cancer. Environ Health Perspect. 2006;114(2):A98-9.

94- Somiari RI, Sullivan A, Russell S, Somiari S, Hu H, Jordan R, et al. High-throughput proteomic analysis of human infiltrating ductal carcinoma of the breast. Proteomics. 2003;3(10):1863-73.

95- Nimeus E, Malmstrom J, Johnsson A, Marko-Varga G, Ferno M. Proteomic analysis identifies candidate proteins associated with distant recurrences in breast cancer after adjuvant chemotherapy. J Pharm Biomed Anal. 2007;43(3):1086-93.

96- Wang L, Zhu YF, Guo XJ, Huo R, Ma X, Lin M, et al. A two-dimensional electrophoresis reference map of human ovary. Journal of molecular J Mol Med. 2005;83(10):812-21.

97- Gagne JP, Ethier C, Gagne P, Mercier G, Bonicalzi ME, Mes-Masson AM, et al. Comparative proteome analysis of human epithelial ovarian cancer. Proteome science [electronic resource]. 2007;5:16.

98- Farias-Eisner R, Teng F, Oliveira M, Leuchter R, Karlan B, Lagasse LD, et al. The influence of tumor grade, distribution, and extent of carcinomatosis in minimal residual stage III epithelial ovarian cancer after optimal primary cytoreductive surgery. Gynecol Oncol. 1994;55(1):108-10.

99- Farias-Eisner R, Kim YB, Berek JS. Surgical management of ovarian cancer. Semin Surg Oncol. 1994;10(4): 268-75.

100- Jacobs IJ, Skates SJ, MacDonald N, Menon U, Rosenthal AN, Davies AP, et al. Screening for ovarian cancer: a pilot randomised controlled trial. Lancet. 1999; 353(9160):1207-10.

101- Jacobs IJ, Menon U. Progress and challenges in screening for early detection of ovarian cancer. Mol Cell Proteomics. 2004;3(4):355-66.

102- Menon U, Jacobs IJ. Recent developments in ovarian cancer screening. Curr Opin Obstet Gynecol. 2000;12 (1):39-42.

103- van Haaften-Day C, Shen Y, Xu F, Yu Y, Berchuck A, Havrilesky LJ, et al. OVX1, macrophage-colony stimulating factor, and CA-125-II as tumor markers for epithelial ovarian carcinoma: a critical appraisal. Cancer. 2001;92(11):2837-44.

104- Xu Y, Shen Z, Wiper DW, Wu M, Morton RE, Elson P, et al. Lysophosphatidic acid as a potential biomarker for ovarian and other gynecologic cancers. Jama. 1998; 280(8):719-23.

105- Hellman K, Alaiya AA, Schedvins K, Steinberg W, Hellstrom AC, Auer G. Protein expression patterns in primary carcinoma of the vagina. Br J Cancer. 2004;91 (2):319-26.

106- Lee KA, Shim JH, Kho CW, Park SG, Park BC, Kim JW, et al. Protein profiling and identification of modulators regulated by the E7 oncogene in the C33A cell line by proteomics and genomics. Proteomics. 2004;4 (3):839-48.

107- Bae SM, Lee CH, Cho YL, Nam KH, Kim YW, Kim CK, et al. Two-dimensional gel analysis of protein expression profile in squamous cervical cancer patients. Gynecologic oncology. 2005;99(1):26-35.

108- Wong YF, Cheung TH, Lo KW, Wang VW, Chan CS, Ng TB, et al. Protein profiling of cervical cancer by protein-biochips: proteomic scoring to discriminate cervical cancer from normal cervix. Cancer letters. 2004;211(2):227-34.

109- Lee KH, Yim EK, Kim CJ, Namkoong SE, Um SJ, Park JS. Proteomic analysis of anti-cancer effects by paclitaxel treatment in cervical cancer cells. Gynecologic oncology. 2005;98(1):45-53.

110- Dube V, Grigull J, DeSouza LV, Ghanny S, Colgan TJ, Romaschin AD, et al. Verification of endometrial tissue biomarkers previously discovered using mass spectrometry-based proteomics by means of immunohistochemistry in a tissue microarray format. J Proteome Res. 2007;6(7):2648-55.

111- Li H, DeSouza LV, Ghanny S, Li W, Romaschin AD, Colgan TJ, et al. Identification of candidate biomarker proteins released by human endometrial and cervical cancer cells using two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry. J Proteome Res. 2007;6(7):2615-22.

112- Risinger JI, Dent GA, Ignar-Trowbridge D, McLachlan JA, Tsao MS, Senterman M, et al. p53 gene mutations in human endometrial carcinoma. Mol Carcinog. 1992;5(4):250-3.

113- Ali IU. Gatekeeper for endometrium: the PTEN tumor suppressor gene. J Natl Cancer Inst. 2000;92(11):861-3.

114- Risinger JI, Hayes K, Maxwell GL, Carney ME, Dodge RK, Barrett JC, et al. PTEN mutation in endometrial cancers is associated with favorable clinical and pathologic characteristics. Clin Cancer Res. 1998;4(12): 3005-10.

115- Mutter GL. Pten, a protean tumor suppressor. Am J Pathol. 2001;158(6):1895-8.

116- Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Baak JP, Lees JA, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic

Archive of SID
www.SID.ir

comprehensive characterization of the peptide and protein constituents of human seminal fluid. Prostate. 2004;61(2):171-81.

128- Miyata Y, Sakai H, Hayashi T, Kanetake H. Serum insulin-like growth factor binding protein-3/prostate-specific antigen ratio is a useful predictive marker in patients with advanced prostate cancer. Prostate. 2003;54(2):125-32.

129- Nakamura T, Scorilas A, Stephan C, Yousef GM, Kristiansen G, Jung K, et al. Quantitative analysis of macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1) gene expression in human prostatic tissues. Br J Cancer. 2003;88(7):1101-4.

130- Rubin MA, Mucci NR, Figurski J, Fecko A, Pienta KJ, Day ML. E-cadherin expression in prostate cancer: a broad survey using high-density tissue microarray technology. Hum Pathol. 2001;32(7):690-7.

131- Zellweger T, Ninck C, Mirlacher M, Annefeld M, Glass AG, Gasser TC, et al. Tissue microarray analysis reveals prognostic significance of syndecan-1 expression in prostate cancer. Prostate. 2003;55(1):20-9.

132- Mehta PB, Jenkins BL, McCarthy L, Thilak L, Robson CN, Neal DE, et al. MEK5 overexpression is associated with metastatic prostate cancer, and stimulates proliferation, MMP-9 expression and invasion. Oncogene. 2003;22(9):1381-9.

133- Ross JS, Kallakury BV, Sheehan CE, Fisher HA, Kaufman RP, Jr., Kaur P, et al. Expression of nuclear factor-kappa B and I kappa B alpha proteins in prostatic adenocarcinomas: correlation of nuclear factor-kappa B immunoreactivity with disease recurrence. Clin Cancer Res. 2004;10(7):2466-72.

134- Petricoin EF. 3rd, Ornstein DK, Paweletz CP, Ardekani A, Hackett PS, Hitt BA, et al. Serum proteomic patterns for detection of prostate cancer. J Natl Cancer Inst. 2002;94(20):1576-8.

135- Hughes C, Elgasim M, Layfield R, Atiomo W. Genomic and post-genomic approaches to polycystic ovary syndrome-progress so far: Mini Review. Hum Reprod. 2006;21(11):2766-75.

136- Ornstein DK, Tyson DR. Proteomics for the identification of new prostate cancer biomarkers. Urol Oncol. 2006;24(3):231-6.

marker for the earliest endometrial precancers. J Natl Cancer Inst. 2000;92(11):924-30.

117- Berchuck A, Rodriguez G, Kinney RB, Soper JT, Dodge RK, Clarke-Pearson DL, et al. Overexpression of HER-2/neu in endometrial cancer is associated with advanced stage disease. Am J Obstet Gynecol. 1991;164 (1 Pt 1):15-21.

118- Hetzel DJ, Wilson TO, Keeney GL, Roche PC, Cha SS, Podratz KC. HER-2/neu expression: a major prognostic factor in endometrial cancer. Gynecol Oncol. 1992;47(2):179-85.

119- Riben MW, Malfetano JH, Nazeer T, Muraca PJ, Ambros RA, Ross JS. Identification of HER-2/neu oncogene amplification by fluorescence in situ hybridization in stage I endometrial carcinoma. Mod Pathol. 1997;10(8):823-31.

120- Williams JA, Wangz R, Parrish RS, Hazlett LJ, Smith ST, Young SR. Fluorescence in situ hybridization analysis of HER-2/neu, c-myc, and p53 in endometrial cancer. Exp Mol Pathol. 1999;67:135-43.

121- Yoshizaki T, Enomoto T, Nakashima R, Ueda Y, Kanao H, Yoshino K, et al. Altered protein expression in endometrial carcinogenesis. Cancer letters. 2005;226(2): 101-6.

122- Bonkhoff H, Remberger K. Differentiation pathways and histogenetic aspects of normal and abnormal prostatic growth: a stem cell model. Prostate. 1996;28 (2):98-106.

123- El-Alfy M, Pelletier G, Hermo LS, Labrie F. Unique features of the basal cells of human prostate epithelium. Microsc Res Tech. 2000;51(5):436-46.

124- Cazares LH, Adam BL, Ward MD, Nasim S, Schellhammer PF, Semmes OJ, et al. Normal, benign, preneoplastic, and malignant prostate cells have distinct protein expression profiles resolved by surface enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry. Clin Cancer Res. 2002;8(8):2541-52.

125- Banez LL, Srivastava S, Moul JW. Proteomics in prostate cancer. Curr Opin Urol. 2005;15(3):151-6.

126- Emmert-Buck MR, Bonner RF, Smith PD, Chuaqui RF, Zhuang Z, Goldstein SR, et al. Laser capture microdissection. Science. 1996;274(5289):998-1001.

127- Fung KY, Glode LM, Green S, Duncan MW. A

Archive of SID

www.SID.ir