

# تطوير نماذج باستخدام الذكاء الاصطناعي لتحديد مرحلة الأورام من خلال

## بيانات التعبير الجيني

### دراسة مرجعية علي سرطان الكبد

طالب مقاتل \ أحمد جمال قطب الماحي

الرقم العام \ 28

سرية \ 8

## ملخص البحث

تعتبر بيانات التعبير الجيني ذات أهمية بالغة في السنين الماضية إذ أنها مكنتنا من تشخيص وعلاج العديد من الأمراض. بفضل الثورة الجينية يمكن الآن العلاج الدقيق لأورام الثدي إذ تساعد قيمة إنتاج الجسم لجينات معينة الأطباء علي إختيار طريقة علاج دقيقه للغاية والتنبؤ بإحتمالية تطور الورم. كما أن هذه الجينات تستخدم في التشخيص المبكر للأورام مما يساعد في علاجها. يتطرق البحث للتطبيقات الحديثة لخوارزميات الذكاء الاصطناعي وبخاصه الشبكات العصبية في تشخيص الأورام وتحديد مراحل تطورها. كما يقوم بعرض الطرق الحديثه لإكتشاف هذه الجينات التي تساعد في تحديد مرحلة الأورام. وفي النهاية يهدف لتطوير خوارزميات جديدة لإكتشاف جينات جديدة مهمه. يتناول البحث سرطان الكبد كمثال تطبيقي.

## مقدمة

تقوم اختبارات توصيف التعبير الجيني (Oncotype DX، MammaPrint، وغيرهما) بتحليل عدد من الجينات المختلفة داخل الخلايا السرطانية لديك للتنبؤ بخطر تكرار الإصابة بالسرطان لديك.

تساعد نتائج اختبارات توصيف التعبير الجيني الأطباء على تحديد من قد يستفيد من العلاج الإضافي (المساعد) بعد الجراحة. بالنسبة للنساء المصابات بسرطان الثدي في مرحلة مبكرة والذي يتميز بالحساسية للهرمونات، يتم استخدام اختبارات توصيف التعبير الجيني لتحديد ما إذا كان من المحتمل أن يستفدن من العلاج الكيميائي المساعد.

إذا كانت جميع العوامل القياسية التي يستخدمها الأطباء للتنبؤ بفرصة معاودة الإصابة بالسرطان، تدل على أن المخاطر محدودة للغاية، فمن المحتمل ألا تكون اختبارات توصيف التعبير الجيني ضرورية. كما أن هذه الاختبارات ليست مفيدة جدًا إذا كانت إصابتك بسرطان عدواني والذي يستفيد بشكل واضح من استخدام العلاج الكيميائي. بالنسبة لأنواع السرطان التي تقع بين هاتين الفئتين، يجب اتخاذ قرار بشأن إمكانية استخدام العلاج الكيميائي أم لا، ويمكن أن يكون توصيف التعبير الجيني مفيدًا بشكل خاص.

توجد العديد من اختبارات توصيف التعبير الجيني، ويتم دراسة العديد منها في التجارب السريرية. لا يزال الأطباء يحددون أفضل طريقة لاستخدام هذه الاختبارات وتفسير النتائج.

وجدت إحدى الدراسات الحديثة أن العلاج الكيميائي قد لا يكون مفيداً بالنسبة للنساء اللواتي يعانين من نتائج اختبار توصيف التعبير الجيني التي تشير إلى وجود خطر متوسط لتكرار الإصابة. في هذه الدراسة، تلقت بعض النساء العلاج بالهرمونات والعلاج الكيميائي بعد الجراحة، وتلقت بعض النساء العلاج بالهرمونات فقط.

كان لدى كلا المجموعتين معدلات تعافي مماثلة، وهو ما يشير إلى أن العلاج الكيميائي كان غير ضروري لمعظم النساء. أظهر العلاج الكيميائي بعض الفوائد للنساء اللواتي كان عمرهن 50 عاماً أو أقل، وكانت نتائج اختبار توصيف التعبير الجيني لديهم في المرتبة الأعلى من النطاق المتوسط. تنطبق نتائج هذه الدراسة فقط على النساء اللواتي لديهن نتائج متوسطة في اختبار Oncotype DX، وأورام حساسة للهرمونات، ونتائج HER2 سلبية، ولم تنتشر إلى العقد الليمفاوية.

## التعبير الجيني

يتكون الجينوم البشري من حوالي 20000 جين موزعين على أزواج الكروموسوم الثلاثة والعشرين الموجودة في النواة ، أو على شرائط الحمض النووي الطويلة الموجودة في الميتوكوندريا. ويركز البحث العلمي على تأثيرات البيئة على الجينات وعلى التعبير الجيني.



## مشروع الجينوم البشري والأبحاث الوراثية

حتى الآن، رُسمت خريطة ما يقرب من 12800 جين في مواقع محددة (loci) على الكروموسومات. بدأت قاعدة البيانات هذه كجزء من مشروع الجينوم البشري، الذي اكتمل رسميًا في أبريل 2003، لكن ما يزال العدد الدقيق للجينات في الجينوم البشري غير معلوم. سوف يستغرق الأمر عدة سنوات للعثور على كل الجينات، وفهم أهمية واستخدام الأحماض النووية غير المشفرة.

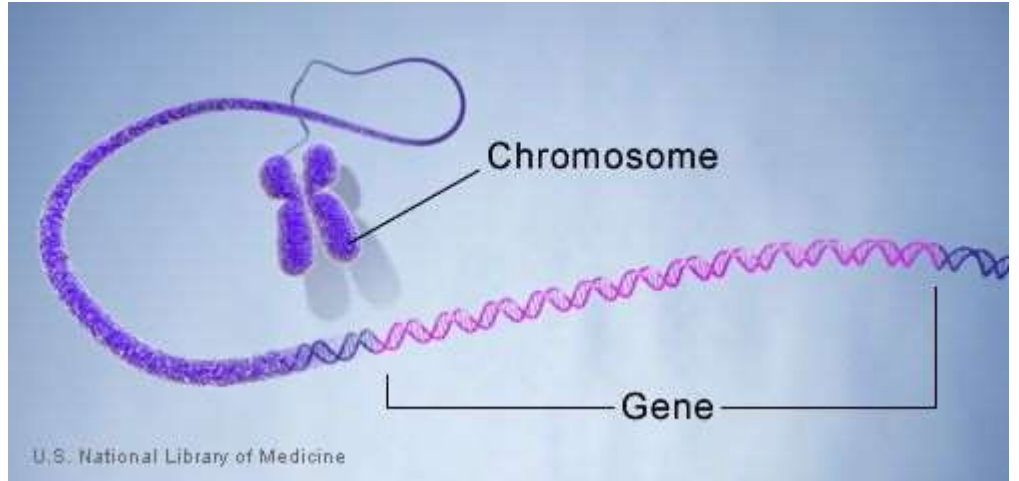
## الشفرة الوراثية

كل جين له موقعه الخاص على الكروموسوم أو على الحمض النووي للميتوكوندريا. يقوم الجين بمهمة واحدة هامة، إذ يُعد المخطط للسّمات البدنية والفسولوجية والعقلية. وتُخبرنا الجينات عن الصفات المظهرية للشخص، مثل الشعر والعين ولون البشرة وشكل الجسم والملاح وطول القامة وما شابه. تتكون شفرة الحمض النووي من سلاسل طويلة جدًا من أربع وحدات بنائية أساسية (النيوكليوتيدات):

- أدينين A
- غوانين G
- ثايمين T
- سايتوسين C

يحتوي الكروموسوم على اثنتين من سلاسل الحمض النووي تعمل في اتجاهين متعاكسين، وتُشكل القواعد النيتروجينية (base pair) شكل درجات سلّم ملتوية، تُعطي شكل الحلزون المزدوج. يرتبط الأدينين بالثايمين فقط، والعكس صحيح، بينما يرتبط الغوانين بالسايتوسين فقط. يحتوي الجينوم البشري على 3 مليارات قاعدة نيتروجينية. داخل الحمض النووي، تُشكل

ثلاثة من هذه الحروف A,G,C,T كودون (شفرة جينية)، يرمز كل كودون معين إلى حمض أميني وتسلسلات من الأحماض الأمينية للبروتين. يُطلق على الحمض النووي الذي يُكوّن الجينات اسم الحمض النووي المُشفّر.



يوجد بين كل جينين منطقة من الحمض النووي لا تحتوي على أي شفرة لأي بروتين، تُسمى هذه المنطقة باسم الحمض النووي غير المُشفّر، وكان يُسمى في البداية باسم الحمض النووي

الخردة (junk DNA) لأنه لا يحتوي على المعلومات المطلوبة للبروتينات. ووجد بحثٌ جديدٌ أن هذه المنطقة قد تكون مهمة لوظائف معينة. ومع ذلك، ما يزال الدور الذي تلعبه هذه المنطقة غير معلوم على النحو الصحيح، لكن قد تلعب دوراً تنظيمياً في التعبير الجيني. تُعد دراسات الحمض النووي غير المشفر مفيدةً في تحقيقات الطب الشرعي مثل دعاوى النسب والتحقيقات الجنائية وما شابه.

## التعبير الجيني

تحتوي الشفرة الوراثية على الرموز الخاصة بالبروتينات، تترجم معلومات الحمض النووي إلى سلسلة من الأحماض الأمينية تشكل البروتين. تشكل هذه البروتينات وحدات بناء محتويات الخلايا، وكذلك الجسم كله. كذلك تشكل البروتينات الإنزيمات والمواد الكيميائية الأخرى التي تقوم بوظائف مختلفة في الجسم. يمكن لكل جين أن يرمز إلى بروتينات مختلفة، لذلك فإن عدد البروتينات المعروفة في الخلايا أكبر من عدد الجينات. جميع الجينات لا يُعبّر عنها أو تُرمز لأي بروتين، إذ يُعد التعبير الجيني أساساً لتمييز الخلايا، على سبيل المثال التعبير الجيني لخلايا الكبد مختلف عن خلايا الكلى.

تلعب البيئة أيضاً دوراً في تحديد السمات النهائية، إذ يعتمد النمط الظاهري للكائن الحي على تفاعل الجينات مع البيئة. على سبيل المثال، تلعب البيئة دوراً في التأثير على المرض الوراثي المعروف باسم الفينيل كيتون يوريا/ البوال التخلفي. تؤدي الطفرة المسببة للمرض إلى تعطيل قدرة الجسم على تكسير الحمض الأميني الفينيل ألانين، ما يؤدي إلى تراكم سموم بعض الجزئيات، ويسبب ذلك التخلف العقلي والصرع. ويمكن للأشخاص الذين لديهم طفرة الفينيل كيتون يوريا اتباع نظام غذائي صارم بعيداً عن هذا الحمض الأميني، ما يسمح لهم بالعيش بطريقة طبيعية وصحية.

## تحذيرات وتساولات

وبالرغم من كل تلك النجاحات التي أدت فيها خطوط الخلايا دور البطولة في التجارب المعملية، فقد كان استخدامها يحمل معه دائماً تساؤلات حول ما إذا كانت هذه الخلايا تشبه بالفعل الخلايا الموجودة داخل الجسم، وما إذا كانت النتائج التي تنتج من هذه التجارب يمكن أن تعطينا صورة حقيقية عما يحدث داخل خلايا الجسم.

في هذا السياق، حذرت دراسة حديثة أجراها باحثون بجامعة ميتشيجان الأمريكية من وجود اختلافات بين خطوط الخلايا والعينات التي يتم أخذها من مرضى مصابين بالأورام السرطانية، مشيرةً إلى أن خط الخلايا المعروف باسم **MDA-MB-231** -الذي يُعد أحد أكثر خطوط



الخلايا السرطانية استخدامًا في جميع أبحاث سرطان الثدي النقيلي- لم يُظهر سوى بعض التشابه البسيط مع عينات الأورام التي جرى الحصول عليها من المرضى.

اعتمد الباحثون في الدراسة، التي نشرتها دورية "نيتشر كوميونيكيشنز" على ما يُعرف بـ"البيانات الكبيرة"؛ لتحديد أفضل النماذج البحثية التي يمكن أن تساعد في مجال محاربة سرطان الثدي النقيلي واختبار الأدوية المحتملة التي يمكن استخدامها لعلاجها، وذلك عوضًا عن النماذج المستخدمة في المختبر حاليًا، والتي تعتمد في كثير من الأحيان على الخلايا المستنبطة في الأطباق المسطحة أو خطوط الخلايا لنمذجة نمو الورم في المرضى.

واستعانوا في ذلك بقواعد البيانات الجينومية، مثل أطلس جينوم السرطان (TCGA) والمعلومات المتوافرة في قاعدة (Gene Expression Omnibus)، إضافةً إلى الاستعانة بقواعد البيانات الجينية المتاحة لمقارنة التركيب الجيني في خطوط الخلايا التي يتم استخدامها كنموذج لسرطان الثدي المنتشر بخلايا المرضى الحقيقيين.

وأظهرت نتائج البحث اختلافًا كبيرًا في التركيب الجيني لبعض خطوط الخلايا الشائعة، بالمقارنة بعينات المرضى، كما جرى التعرّف على خطوط أخرى أقل شيوعًا تبدو أقرب في تركيبها الجيني إلى الخلايا الموجودة في أجسام المرضى.

## تقييم خطوط الخلايا

يقول "بين تشين" -الأستاذ المشارك بقسم طب الأطفال والنمو البشري في كلية الطب بجامعة ولاية ميتشجان، والباحث الرئيسي في الدراسة- في تصريحات لـ "العلم": نعتمد في معملنا على استخدام البيانات الجينية من أجل اكتشاف علاجات جديدة للسرطان.

وأضاف: لدينا اهتمام خاص بدراسة سرطان الثدي النقيلي؛ لكونه أحد الأسباب الرئيسية للوفاة من السرطان، موضحاً أنهم قرروا الاستعانة بقواعد البيانات الجينية من أجل اختيار أهداف مناسبة لمنع انتشار السرطان قبل البدء في إنفاق المال على هذه التجارب، وتقييم النماذج المتاحة لعلاج المرض واختيار أكثرها مناسبة بناءً على تركيبها الجيني.

وترجع أهمية الدراسة إلى أن "السرطان النقيلي" أو ما يُعرف بـ "هجرة الخلايا السرطانية" هو السبب الأكثر شيوعاً للوفاة المرتبطة بالسرطان؛ إذ إن حوالي 90% من المصابين به يفقدون حياتهم، ويُقصد به عملية انتقال الخلايا السرطانية من عضو إلى آخر، وتحدث هذه العملية عند انتقال الخلايا عن طريق الدم أو الجهاز اللمفاوي، وهناك عدد قليل من الأدوية يمكنها علاجها، إضافةً إلى أن التنبؤ باحتمالات الخطأ من جرّاء استخدام أدوية لعلاجها أشبه بـ "إطلاق رصاصة في الظلام".

يقول "تشين": عملنا على تقييم خطوط الخلايا المستخدمة كنماذج لأورام "سرطان الثدي النقيلي" وفقاً للطفرات والتعبير الجيني عن الجينات الموجودة بها. وانصب اهتمامنا بشكل خاص على نوع من خطوط الخلايا يُسمى **MDA-MB-231**؛ نظراً لشيوع استخدامه في

دراسات "سرطان الثدي المنتشر". وكانت النتائج مفاجئة لنا، فقد وجدنا أن التركيب الجيني في خلايا **MDA-MB-231** يتشابه بشكل محدود مع التركيب الجيني في خلايا مرضى "سرطان الثدي النقيلي".

ويمر اختيار علاج مناسب للسرطان بالعديد من المراحل، أولاًها اختيار هدف مناسب للعلاج، ثم تجريب العلاج خارج الجسم، وفي حالة نجاح هذا العلاج يمكن البدء في تجربته على البشر. يشبه "تشين" الأمر بـ"تجارب المحاكاة التي تتم قبل الحروب، إذ يعتبر النموذج أكثر نجاحاً كلما كان أكثر تشابهاً مع الواقع"، وفق وصفه.

لكن المشكلة تظهر حين ينجح العلاج في الأبحاث على النماذج خارج الجسم، ثم لا يحقق النجاح نفسه في مراحل التجارب السريرية، وقد يتسبب هذا الاختلاف في إهدار الوقت وكثير من الأموال التي يتم إنفاقها في هذه التجارب والأبحاث.

## تكلفة مقبولة

وترى "سحر طلعت" -أستاذ الباثولوجي في كلية الطب بجامعة القاهرة- في تصريحات لـ"العلم" أن "استخدام خطوط الخلايا في الأبحاث يقدم عدة مميزات، مثل قلة التكلفة مقارنةً بتكلفة الأبحاث التي تجرى على حيوانات التجارب مثلاً، كما أن التعامل معها ليس صعباً ولا يحتاج إلى خبرة كبيرة، ولا يمر استخدامها بالتعقيدات الأخلاقية التي ترتبط باستخدام الخلايا البشرية أو حتى الحيوانية، لكن بالرغم مما تمثله هذه الخلايا من أداة بحثية ممتازة، يجب أن

يكون تفسير نتائجها بحرص؛ إذ يفترض أن تعبر هذه الخطوط عن الخلايا الأصلية التي تمثلها بشكل دقيق".

وتضيف أن "السؤال المثار حول مدى تشابه خطوط الخلايا مع خلايا الأورام الطبيعية ليس جديداً. خاصة أن كثيراً من الأدوية التي تختبر على هذه الخطوط تفشل في الدراسات الإكلينيكية، وإحدى المشكلات تكمن في مدى تشابهها مع الخلايا الطبيعية. والمشكلة الأخرى أن تكاثر الخلايا لمرات عديدة (عبر الزمن) قد يغير في تركيب الشكل الظاهري والجيني لهذه الخلايا، وهو ما يمثل صعوبة إضافية في التعامل معها باعتبارها ممثلاً لخلايا السرطان الموجودة في جسم المريض أو معبراً عنها.

وتشدد "طلعت" على أن هذا البحث يقدم إجابة جديدة عن هذا السؤال، قائلة إنها إجابة مخيبة للآمال؛ لأنها تعني أن معظم الأبحاث التي أجريت على هذا النوع من خطوط الخلايا لا يمكن ترجمته إلى نتائج ملموسة.

ويعلق "تشين" على ما تقوله "طلعت" قائلاً: على الرغم من أن هذه النتائج قد تكون مخيبة للآمال ظاهرياً، فهناك جانب إيجابي بالتأكيد، يتمثل في القدرة على اختيار نماذج أفضل للعمل عليها في المستقبل من أجل فهم أفضل لطبيعة السرطان، وبالتالي تحقيق نتائج أكثر إيجابية يمكن ترجمتها إلى فائدة ملموسة للمرضى، وتعمل على توفير الوقت والجهد والمال في المستقبل.

## أبحاث سابقة

وسبق أن أجرى باحثون في مركز "ميموريال سلون كيترينج للسرطان" (MSK) دراسة مشابهة في عام 2013، ولكنها اعتمدت على سرطان المبيض. واستخدم الباحثون الطريقة نفسها تقريبًا التي استخدمها "تشين" وفريقه لمقارنة التركيب الجيني في 47 من خطوط الخلايا شائعة الاستخدام في سرطان المبيض مع خلايا المرضى، ووجدوا أن هناك اختلافات جوهرية بين النوعين. كما أجرى "تشين" نفسه دراسة تعتمد على الفكرة نفسها في مجال سرطان الكبد، مشيرًا إلى أن نصف أنواع خطوط الخلايا الشائعة المستخدمة في أبحاث سرطان الكبد لا يشبه خلايا السرطان الحقيقية. يقول "تشين": "أعتقد أن نتائجنا بدأت تؤتي ثمارها إلى حدٍ ما، فقد تلقينا تعليقات من بعض الباحثين الذين كانوا يشكون في بعض نتائج الأبحاث التي يُجرونها اعتمادًا على خط الخلايا المعروف بـMDA-MB-231. وأضاف: علينا أن نكون في غاية الحرص حين نختار النموذج الذي سيتم استخدامه في البحث، في ظل عدم وجود نموذج كامل أو متطابق بين خطوط الخلايا وخلايا الجسم.

## خطوة أخرى إلى الأمام

لم يكتف "تشين" وفريقه بمقارنة خطوط الخلايا بخلايا المرضى، لكنهم أجروا مقارنةً مع ما يُعرف بـ"العضيات"، وهي نماذج صغيرة ثلاثية الأبعاد يتم تكوينها في المعمل من مزارع الأنسجة. وتتميز هذه العضيات بأنها تقلد تعقيد التركيب الخاص بالأعضاء التي أتت منها؛ إذ تبدو أقرب إلى العضو الحقيقي من حيث التركيب والوظيفة مقارنة بخطوط الخلايا. ووجدوا أن

التعبير الجيني في هذه العضيات أقرب بالفعل إلى التعبير الجيني الموجود في عينات المرضى بالمقارنة بخطوط الخلايا.

يقول "تشين": "إن استخدام هذه العضيات أصبح أمرًا شائعًا خلال العامين الماضيين؛ نظرًا لتشابهها الكبير مع الأورام الأصلية. ويضيف: لكننا لاحظنا أن هناك أيضًا بعض الفوارق مع عينات الأورام التي تم أخذها من المرضى، ولا أعتقد أن هذه العضيات ستحل محل خطوط الخلايا قريبًا، لكن هناك قدرًا كبيرًا من الاهتمام العلمي بها".

من جهتها، تشدد "طلعت" على أن "هناك عدة عوامل يجب النظر إليها في التعامل مع هذه العضيات كأدوات للبحث العلمي، أهمها الجزء التقني المتعلق بكيفية إنتاجها، وعامل التكلفة الذي يجب وضعه في الحسبان قبل استخدام العضيات على نطاق واسع"، على حد وصفها.

ويقول "تشين": مع وجود قدر هائل من البيانات المعقدة في قواعد البيانات، لا يجب أن يبقى تصميم التجارب المعملية أمرًا عشوائيًا، بل يجب أن تخضع كل خطوة للتدقيق من خلال المعلومات التي تتيحها قواعد البيانات. وهذا البحث يمثل نموذجًا عمليًا لاستخدام البيانات الضخمة المتاحة عبر قواعد البيانات الجينية من أجل اختيار نموذج للتجارب المعملية.

تحتوي الخلايا الحية على عشرات الآلاف من الجينات. وتعمل تلك الجينات على صناعة البروتينات التي تحتاج إليها الخلية للبقاء على قيد الحياة. وتعمل الجينات بعضها مع بعض

بطريقة تعاونية و مترابطة، ويعلم العلماء منذ زمن بعيد أن أي تغيير في التعبيرات الجينية التي تُنتج البروتينات يُمكن أن يؤثر على الكيفية التي تعمل بها الجينات الأخرى. إذ إن حدوث تغيير بسيط في تعبير جين واحد يُولّد سلسلة من التغييرات يُمكن أن تؤثر على قدرة الخلية على البقاء. ووفق دراسة نشرتها دورية "سيل ريبورتس" (Cell Reports) اليوم "الثلاثاء"، 23 يوليو، فقد حدد فريق من الباحثين في جامعة ماريلاند الأمريكية، بالتعاون مع فريق بحثي من المعهد الأمريكي للسرطان، 12 نوعًا مختلفًا من تفاعلات الجينات بعضها مع بعض، والتي تولّد تعبيرات جينية -في صورة بروتينات- يُمكن أن تُطيل من أمد بقاء مرضى السرطان، ما يعني أن تلك الجينات المشتركة في التفاعلات المزدوجة يُمكن أن توفر أهدافًا جديدة لعلاج السرطان. وللتبسيط، دعنا نتخيل أن الجينات تعمل كصندوق فيه عدد لا نهائي من التروس مختلفة القطر، ويقوم الترس الأكبر بنقل الحركة إلى ترس أصغر ثم إلى ترس أصغر منه وهكذا، إذا أثرنا على الترس الأكبر بقوة ما، فسيدور الترس لينقل الحركة إلى الترس الأصغر، ويدور الترس الأصغر بسرعة أكبر من الترس الأكبر منه، وهكذا، فكلما زادت القوة المؤثرة على الترس الأكبر، تزيد سرعة التروس الأصغر منه، وكلما قلت القوة قلت السرعة، وفي حالة توقّف الترس الأصغر الأخير عن العمل، لن يؤثر ذلك في سرعة الترس الأصغر منه، أو سرعة الترس الكبير، لكن، ماذا لو توقفت القوة نفسها، أو توقف دوران الترس الكبير لأي سبب من الأسباب؟ حينها ستتوقف المنظومة كلها عن العمل.

تُشبه نتيجة الدراسة الجديدة حركة التروس؛ إذ اكتشف الباحثون وجود علاقة مزدوجة بين نوعين من الجينات، وهي علاقة جينية متبادلة، توجد في الخلايا السرطانية، ويمكن وصفها بـ"فتك تخليقي" (Synthetic lethality).

في تلك العلاقة، يُمثل الجين الأول حركة الترس الأكبر، أما الجين الثاني فيُمثل حركة الترس الأصغر، وتمثل الطفرة التي كوَّنت الخلايا السرطانية القوة المُحرّكة لتلك التروس. وللقضاء على السرطان، هناك عدد من الطرق التي يجب أن نسلّكها لتحقيق الغرض، فإما أن نقضي على القوة المُحرّكة لتلك التروس مباشرة، وإما أن نقوم بتعطيل الترسين معًا.

يستمر السرطان في التوغل والانتشار داخل الخلايا حتى لو قمنا بتعطيل جين واحد من الجينين، وبالتالي، للقضاء على السرطان، يجب تعطيل الجينين معًا، لوقف نقل الحركة -حركة الخلايا السرطانية- من مكان إلى آخر (من ترس إلى آخر كما في صندوق التروس).

وتكشف الدراسة أن تعطيل التفاعلات بين الجينات بعضها وبعض، هي الطريقة المُثلى للقضاء على السرطان، وليس تعطيل جين واحد، أو طفرة جينية واحدة. كما تُقدم الورقة طريقةً جديدةً تعتمد على البيانات الواردة من الجينات لتحديد التفاعلات بين بعضها وبعض، وهو أمر قد يؤثر على نتائج علاج مرض السرطان.

واستخدم الباحثون بيانات مُستقاة من تحاليل دقيقة على 5228 ورمًا، تمثل 18 نوعًا مختلفًا من أنواع السرطان. وتمكن الباحثون من تحديد 6 تفاعلات بين 12 جينًا، ترتبط بمعدلات بقاء مرض السرطان.



وباستخدام النتائج، قام الباحثون ببناء نموذج حاسوبي لتحديد مجموعات جديدة من الجينات التي يُمكن أن تُسهم في معدلات بقاء المريض سلبيًا أو إيجابًا، ليتمكنوا في الخطوة التالية من تحديد 72 ألف تفاعل، بين 163 مليون زوج من الجينات، التي يُعتقد أنها تُسهم بنسبة كبيرة في الانقسام المفرط للخلايا السرطانية وانتشارها.

يقول مؤلف الدراسة "سرير هار هانينهاالي" في تصريحات لـ "العلم": "إن الورقة العلمية تُسهم أيضًا في شرح سبب فاعلية بعض الأدوية لمريض دون الآخر؛ ففي أحيان كثيرة، نعطي الدواء لمريضين مُصابين بنوع الورم نفسه، ينجح الدواء مع مريض ويفشل مع الآخر، وهذا بسبب طبيعة التفاعل بين الجينات بعضها وبعض".

ويرى "سرير هار" أنه -شأنه شأن معظم الناس- يُدرك مدى صعوبة علاج السرطان، مُرجعًا ذلك إلى سبب بسيط هو أن "السرطان مشتق من خلايانا، وبالتالي يصعب استهدافه بشكل انتقائي عن طريق الأدوية دون التأثير على الخلايا السليمة".

يضيف "سرير هار" أن "النهج العلاجي للسرطان يجب أن يعتمد على نقاط ضعف محددة، مثل الطفرات الجينية والعلاقة بين التفاعلات المتبادلة بين الجينات، وهو ما تكشف عنه دراستنا الجديدة".

ويأمل "سرير هار" أن تسلط الدراسة الضوء على "وجه جديد محتمل لعلاج السرطان"، مشيرًا إلى أنه يتمنى العثور على "متعاونين ومتطوعين" لتطبيق هذا النهج على أنواع من السرطان.

## خريطة للتنبؤ بالسرطان

أسفر تحليل 17 نوعًا رئيسًا من السرطان باستخدام بيانات من حوالي 8 آلاف شخص عن استنباط أنماط للتعبير الجيني، يمكن ربطها بقدرة المريض على البقاء على قيد الحياة.

قام ماثياس أولين - من "معهد KTH الملكي للتكنولوجيا" في ستوكهولم - وزملاؤه بالتنقيب في قواعد بيانات التعبير الجيني والبروتيني لخلايا تتضمن خلايا أورام الكبد، والدماغ، والثدي، والرئة) في الصورة خلية من سرطان الكبد)، وقارنوا مستويات التعبير هذه بمستوياته في الخلايا الطبيعية، وبمدى بقاء المريض على قيد الحياة. يجري التعبير عن الجينات المشاركة في نسخ الحمض النووي، وانقسام الخلايا، وموت الخلايا المبرمج غالبًا بمستويات أعلى في الأورام مما يحدث في الخلايا غير السرطانية.

حدّد الفريق مجموعة من الجينات - خاصةً تلك المرتبطة بانقسام الخلايا ونموها - يرتبط مستوى تعبيرها بانخفاض احتمال البقاء. وهناك مجموعة أخرى من الجينات المرتبطة باحتمال أكبر للبقاء، شملت الجينات المعنية بتنظيم الخلايا المناعية، وبالسماح للخلايا السرطانية بالالتصاق ببعضها البعض.

تتوافر النتائج في قاعدة بيانات عامة، تُسمى "أطلس علم الأمراض البشرية"، وهو يحتوي على أكثر من 900 ألف رسم بياني يقارن بين مدى بقاء المريض على قيد الحياة، ومستويات التعبير عن الجينات المختلفة

## جينات تساعد في الكشف المبكر عن سرطان الكبد

قدم باحثون من جامعة اكسفورد، أول موجز للأدلة التجريبية التي تؤيد ان انزيم يطلق عليه اختصارا تسمية AKRIB10 يمكن أن يستخدم كهدف علاجي واعد لنوع من أشرس أصناف سرطان الخلايا الكبدية، استنادا الى مراجعات لأكثر من 50 دراسة منشورة منذ ان تم تمييز وتشخيص هذا الجين المدمر المسؤول عن تليف الكبد الشرس للمرة الأولى في العام 1998 .

ويعد هذا النوع من أكثر أشكال سرطان الكبد شيوعا، وهو ورم خبيث تضاعف معدل الاصابة به تقريبا على مدار العقد الماضي في كل أرجاء العالم. مما جعله أسرع أنواع السرطان نموا في الولايات المتحدة على سبيل المثال، وكذلك يعد السبب الرئيسي الثالث للاصابة بسرطان الكبد المميت في جميع أنحاء العالم .

يقول الدكتور يوحنا ديستيفانو، رئيس وحدة مرض السكري والأمراض الليفية، واستاذ وظائف الكبد في جامعة بنسلفانيا: ” في حين ان العلاقة بين هذا الجين والخلايا السرطانية

الكبدية يستخدم أيضا في التشخيص المبكر لهذا المرض الفتاك، فهو لا يظهر كهدف علاجي لهذا النوع من سرطان الكبد فحسب، انما على ما يبدو له دور متضارب في تطوير سرطان الكبد. والأهم من ذلك، ان التعبير الجيني الزائد هو مؤشر واضح على ان المريض قد يكون مصابا بسرطان الكبد. ولكن قمع هذا الجين قد ينظر اليه على أنه وسيلة لوقف تطور السرطان وانتشاره .”

والأهم من ذلك، مثل العديد من أنواع السرطانات الهضمية، تظهر أعراض سرطان الكبد في مراحلها المبكرة قليلة، وعادة لا يتم تشخيصها حتى مراحلها الأخيرة، عندما يكون هناك خيارات أقل للعلاج وفرص بقاء المريض على قيد الحياة تكاد تصبح معدومة تماما .

في الولايات المتحدة، تضاعف عدد تشخيصات سرطان الكبد تقريبا من نحو 22 ألف حالة في العام 2009 الى ما يقدر بنحو 42 ألف حالة هذا العام. وسجل الرجال ما يقرب من ضعف احتمال الإصابة بهذا المرض من النساء.

ويقدر الأطباء ان ما يقرب من 32 ألف مريض توفوا بسبب سرطان الكبد خلال العام الماضي، مما جعله السبب الرئيسي الخامس للوفاة المرتبطة بالسرطان في الولايات المتحدة، ومتابعة عن كثب في أعقاب سرطان الثدي والبنكرياس .

كما يعد سرطان الكبد الخلوي هو السبب الرئيسي الثالث للوفاة المرتبطة بالسرطان وفقا لمنظمة الصحة العالمية في جميع أنحاء العالم .

الامكانيات التشخيصية والتنبؤية لسرطان الكبد هو السبب الأكثر وتشير الدراسة الى شيوع للوفيات في المرضى الذين يعانون من تليف الكبد الذي يرتبط بقوة مع زيادة استهلاك الكحول، والالتهابات الفيروسية وأمراض الكبد الدهنية غير الكحولية.

وكمؤشر بيولوجي محتمل، تظهر الدراسات ان هذا الأنزيم يلعب أيضا دورا في تطور سرطان الكبد الخلوي، ولكن في الوقت نفسه يبدو أنه أحد سبل العلاجات الكيميائية المتاحة حاليا. مما يجعل مقاومة العلاج أكثر صعوبة، اذ ان التعبير الأعلى من هذا الجين يرتبط بشكل متناقض بنتائج أفضل على المدى الطويل في زيادة معدلات البقاء على قيد الحياة، وانخفاض حالات انتشار المرض النقيلي الى أجزاء أخرى من الجسم. وتشير النتائج الى انه قد يؤدي وظائف مختلفة في مراحل متباينة من سرطان الكبد الاجمالية .

يقول الدكتور بيتاني ديفيس، اختصاصي أورام الكبد الليفي في مشفى بوسطن: “تحديد المؤشرات الحيوية لمراحل مختلفة من سرطان الكبد هو أمر مهم لتحسين الكشف المبكر عن المرض، وتمكين التنفيذ المبكر للعلاج الكيميائي والازالة الجراحية للورم لمنع تطور السرطان وانتشاره الى أعضاء أخرى من الجسم كونه يمتاز بسرعة انتشار فائقة .

لكن علينا الاقرار بأن الآليات الجزيئية الكامنة وراء سرطان الكبد والدور الذي يلعبه مهم للغاية. ويمكن استغلاله للوقاية من السرطان في وقت مبكر، الا ان مراجعتنا تظهر ان قيمة هذا الجين في العلاج والادارة السريرية لأنواع فرعية معينة من سرطان الكبد تتطلب مزيدا من الوضوح.”

## الرجال أكثر عرضة للإصابة

اكتشف الباحثون أن الهرمون الذي تفرزه الخلايا الدهنية الموجودة بمستويات أعلى عند النساء، يمكن أن تمنع وتساعد الدراسة في توضيح سبب كون سرطان الكبد أكثر شيوعا لدى الرجال .

ففي الولايات المتحدة، يزيد احتمال إصابة الرجال بمرض سرطان الكبد بنسبة الضعف. والمسهم المحتمل في هذا التباين بين الجنسين هو الأديبونيكتين، وهو هرمون يفرز بواسطة الخلايا الدهنية التي تساعد على التحكم في عملية التمثيل الغذائي في الجسم .

يوضح الدكتور جورج سابيو، من المركز الوطني الاسباني لأبحاث القلب والأوعية الدموية في مدريد :

“مستويات الأديبونيكتين المنتشرة أعلى لدى النساء منها لدى الرجال. ومع ذلك، فإن دور

الأديبونيكتين في سرطان الكبد مثير

للجدل ويحتاج الى مزيد من التحقيق.”

ويختتم سابيو: “تكشف نتائجنا عن وجود تداخل واضح بين الهرمونات الجنسية والأنسجة الدهنية والكبد، مما يوضح الآلية الكامنة وراء التباين بين الجنسين في تطور سرطان الكبد.”

ومن المثير للاهتمام أن مستويات الأديبونيكتين تقل أيضا في السمنة، وهو عامل خطر رئيسي آخر لمرض سرطان الكبد. وتشير الدراسة الى أن الأديبونيكتين والميتفورمين- وهو دواء شائع مضاد لمرض السكر يمكن استخدامه كعلاجات جديدة لسرطان الكبد .

يختلف التعبير عن معظم الجينات بين أنواع الأنسجة المختلفة وبين الظروف الفسيولوجية والمرضية المختلفة 1,2 . يتم التعبير عن الجينات المخصصة للأنسجة (TEGs) بدرجة عالية بنوع نسيج معين ولا يتم التعبير عنها أو يتم التعبير عنها بمستويات أقل بكثير في أنواع الأنسجة الأخرى وتكون مسؤولة عموماً عن الوظائف المتخصصة للأنسجة المعينة 3 . يُعتقد أن تطور السرطان وتطوره مصحوب بتغيرات معقدة في أنماط التعبير الجيني 4 . يمكن التعبير عن الآلاف من الجينات في الخلايا السرطانية 5 . في الدراسات الحديثة ، اكتشفنا أن GLS2 وUPB1 7 ، الجينان اللذان تم الإبلاغ عنهما سابقاً في الغالب في الكبد 8,9 ، يتم تنظيمهما في الأورام وترتبطان إيجابيا بوقت بقاء المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد. مقارنة بتحليل واحد للجينات ، والذي يركز على تحديد الجينات الفردية التي يتم التعبير عنها بشكل مختلف ، يوفر توصيف ملف تعريف التعبير الجيني نظرة شاملة حول الأحداث

الجزئية الكامنة وراء السرطان وقد يساعد في تطوير طرق أفضل لتشخيص السرطان أو تشخيصه. ومع ذلك ، لم يتم توضيح الشخصية الديناميكية للأجزاء أثناء عملية الأورام والتقدم.

مع التقدم في تطبيق وتكامل تقنية الفحص عالية الإنتاجية ، لم يعد التحدي يكمن في الحصول على ملفات تعريف التعبير الجيني ، بل في تفسير النتائج لاكتساب نظرة ثاقبة على الآليات البيولوجية. تحليل مجموعة تخصيب الجينات هو نهج لتفسير ملامح التعبير على نطاق الجينوم 10 . ومع ذلك ، لا توجد مجموعة مورثات غنية بالأنسجة متوفرة في قاعدة بيانات التوقعات الجزيئية.(MSigDB)

يمثل سرطان الخلايا الكبدية (HCC) أكثر من 90 ٪ من جميع أورام الكبد الخبيثة وهو يحمل تشخيصًا ضعيفًا 11 مع معدل البقاء على قيد الحياة لمدة 5 سنوات للمرضى الذين يعانون من سرطان الكبد بنسبة 30.5 ٪ ، و > 5 ٪ بالنسبة لأولئك الذين يعانون من ورم خبيث بعيد. قاعدة بيانات المراقبة وعلم الأوبئة والنتائج النهائية 12 (SEER) ، 13 على عكس الاتجاهات العامة المتراجعة في معدلات الوفيات بين أنواع السرطان الرئيسية الأخرى ، زادت معدلات الوفيات بسرطان الكبد من 2010 إلى 2014 14 . وبالتالي ، فمن



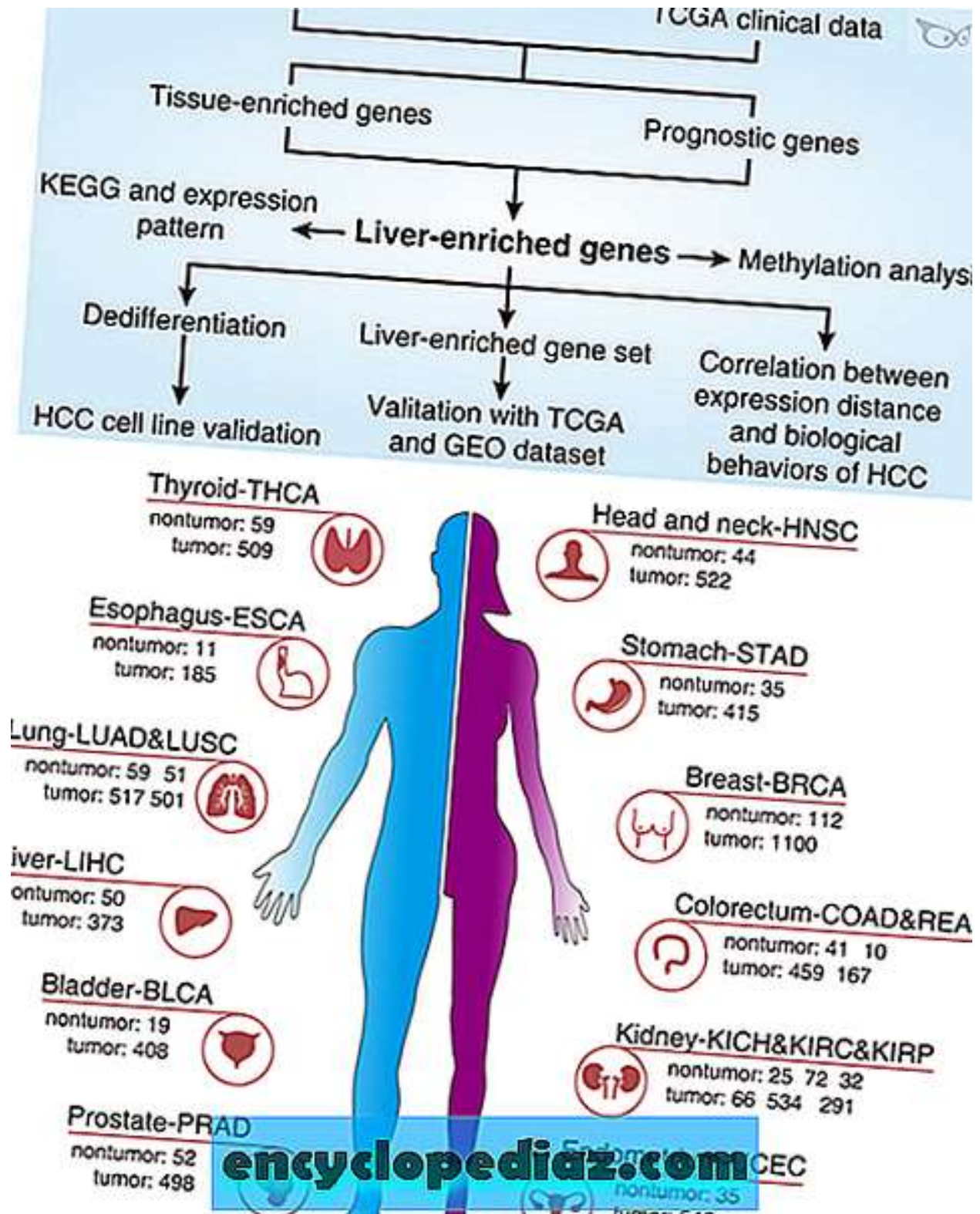
الضروري تحديد المرضى الذين يعانون من نتائج سريرية سيئة واعتماد تدخلات فعالة لتحسين تشخيص المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد 15.

في هذه الدراسة ، قمنا بشكل منهجي بتوصيف TEGs من 12 نوعًا من الأنسجة باستخدام بيانات تسلسل الحمض النووي الريبي من أطلس سرطان الجينوم . 16 (TCGA) كشفت النتائج الدور الهام للكبد في TEGs. بعد ذلك ، قمنا بتحليل خصائص الجينات المخصصة للكبد (LEGs) وقررنا أن فرط الميثيل قد يفسر جزئيًا تنظيم طبقة LEGs. قمنا ببناء مجموعة LEG التي ارتبطت بتشخيص المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد وأظهروا أن الاختلاف بين الأورام والأنسجة الطبيعية كان مرتبطًا بتشخيص مرضى سرطان الكبد (HCC) والسلوكيات البيولوجية للأورام. تقدم هذه النتائج بعض البصيرة التكاملية لفهم الآلية الجزيئية لتطوير سرطان الكبد وتطوره ، وقد تساهم في فحص المؤشرات الحيوية النذير في المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد.

## خط أنابيب يلخص النهج التكاملية المستخدمة في هذه الدراسة

يظهر خط أنابيب التحليل في الشكل 1 أ. لفترة وجيزة ، تم استرداد transcriptomics والبيانات السريرية من TCGA. واستخدمت عينات غير الورم لفحص TEGs واعتمدت أنسجة الورم لتحديد الجينات النذير في مجموعة متنوعة من الأورام. أدرجت فقط فئات السرطان مع أكثر من 10 عينات غير الورم مطابقة. ونتيجة لذلك ، تم اختيار 12 نوعًا من

الأنسجة و 16 نوعاً من أنواع الورم ، بما في ذلك 707 عينة من غير الورم و 7091 عينة من الورم. يتم عرض أحجام عينة من كل أنواع الأنسجة والسرطان في الشكل 1. B. بالنظر إلى أن LEGs كانت الأكبر من حيث العدد ، وكانت معظم LEGs النذير ، تم التحقيق في خصائص LEGs.

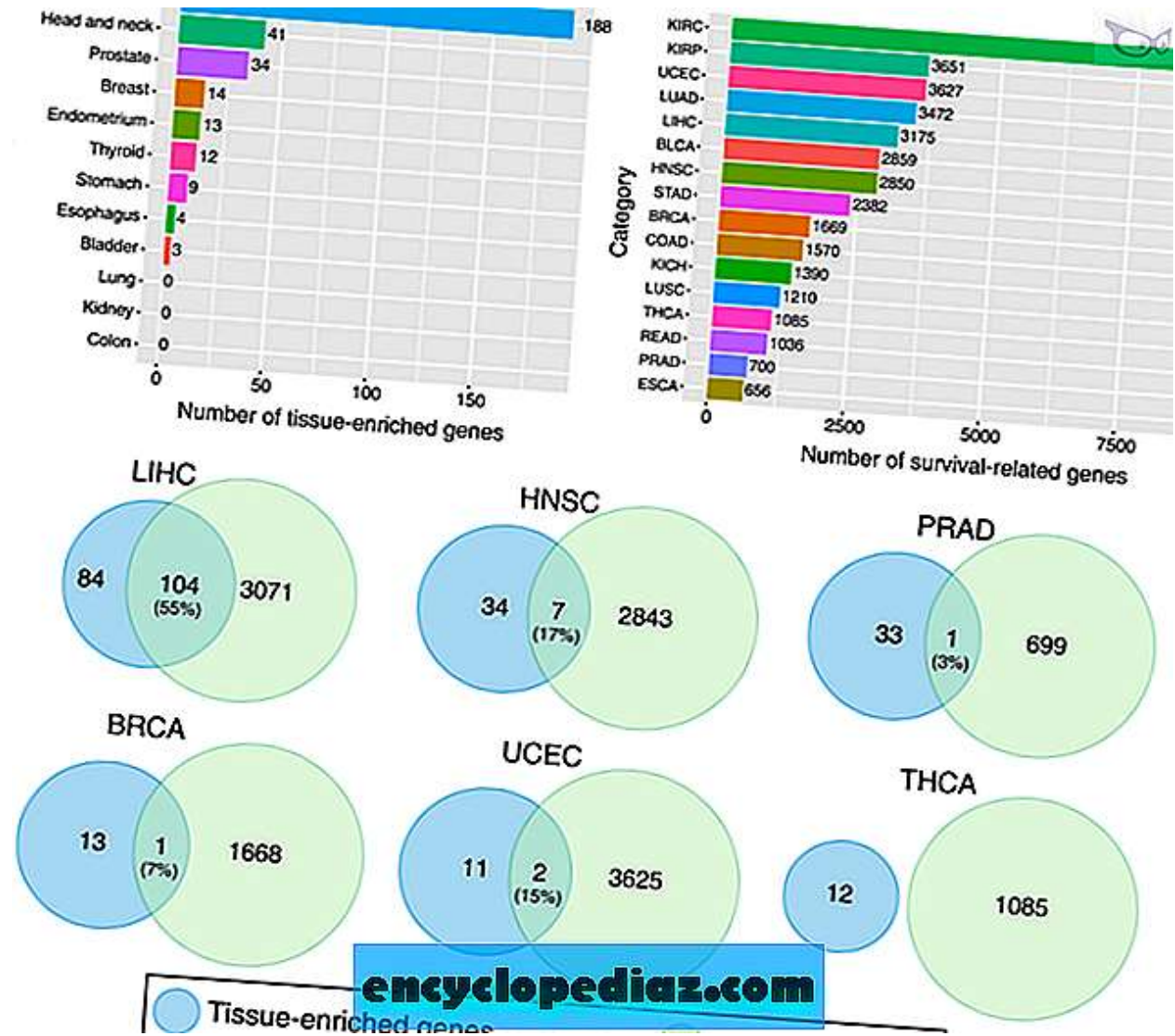


تحليل الجينات المخصصة للأنسجة في سرطانات الإنسان. ( أ ) رسم تخطيطي يصف خط أنابيب الدراسة. ( ب ) الأنسجة والسرطان الفئات المدرجة في الدراسة وحجم العينة المقابلة. تم استبعاد أنواع السرطان التي تحتوي على أقل من 10 عينات غير مطابقة للورم. ونتيجة لذلك ، تم اختيار 12 نوعًا من الأنسجة و 16 نوعًا من أنواع الورم ، بما في ذلك 707 عينة من غير الورم و 7091 عينة من الورم. الاختصارات BLCA :، سرطان المثانة البولية . BRCA، سرطان الثدي الغازية COAD ، غدية القولون ESCA ، سرطان المريء . HNSC، سرطان الرأس الحشفية والعنق والرقبة KICH ، chromophobe الكلى . KIRC، سرطان الخلايا الكلوية واضح الكلى KIRP ، الكلى سرطان الخلايا الحليمية الكلوية LIHC ، سرطان الكبد الكبد LUAD ، سرطان الغدة الرئوية LUSC ، سرطان الخلايا الحشفية الرئة PRAD ، غدية البروستاتا. قراءة ، غدية المستقيم STAD ، غدية في المعدة THCA ، سرطان الغدة الدرقية UCEC ، سرطان الرحم وسرطان الرحم.

## الكبد لديه أكبر عدد من TEGs ومعظم LEGs النذير

قمنا بفحص TEGs من 12 نوعًا من الأنسجة باستخدام المعايير الموضحة في المواد والأساليب وحددنا 188 LEGs ، والتي كانت أكبر بكثير من أي نوع من أنواع الأنسجة الأخرى. في المجموع ، تم اكتشاف 41 و 34 من الجينات المخصصة للرأس والعنق المخصصة للبروستات ، على التوالي ، ولكن لم يتم الحصول على TEGs من الرئتين أو الكليتين أو القولون (الشكل 2 A، الجدول التكميلي S1). بالإضافة إلى ذلك ، أجرينا تحليل البقاء على

قيد الحياة من كل الجينات في أنواع السرطان 16 في البحث عن الجينات النذير (الشكل 2.B) تم اكتشاف عدد كبير من الجينات المرتبطة بالبقاء على قيد الحياة في أورام الكلى ، وخاصة في سرطان الخلايا الكلوية الصافية (KIRC) ، والتي تشكل ما يصل إلى نصف جينات ترميز البروتين الجيني. في سرطان الكبد ، تم تحديد 3,175 (حوالي 15 ٪) الجينات باعتبارها الجينات ذات الصلة البقاء على قيد الحياة (سجل رتبة ،  $P < 0.05$  ؛ الشكل 2.B)



تحديد الجينات المخصصة الأنسجة والجينات النذير ( A ) . أعداد الجينات المخصصة للأنسجة في 12 نوعاً من الأنسجة غير السرطانية. ( ب ) أعداد الجينات المرتبطة بالبقاء في أنواع السرطان 16 . واعتبرت الجينات ذات الاختلافات ذات دلالة إحصائية ( $P < 0.05$ ) من قبل اختبار لوغ الترتيب ، الجينات ذات الصلة البقاء على قيد الحياة مع وسيط كقيمة وقف ( C ) .

المخططات فين تظهر عدد من الجينات المخصبة الأنسجة والجينات النذير وتداخلها في أنواع السرطان المختلفة. تظهر النسبة المئوية للجينات النذير في الجينات المخصبة للكبد بين قوسين.

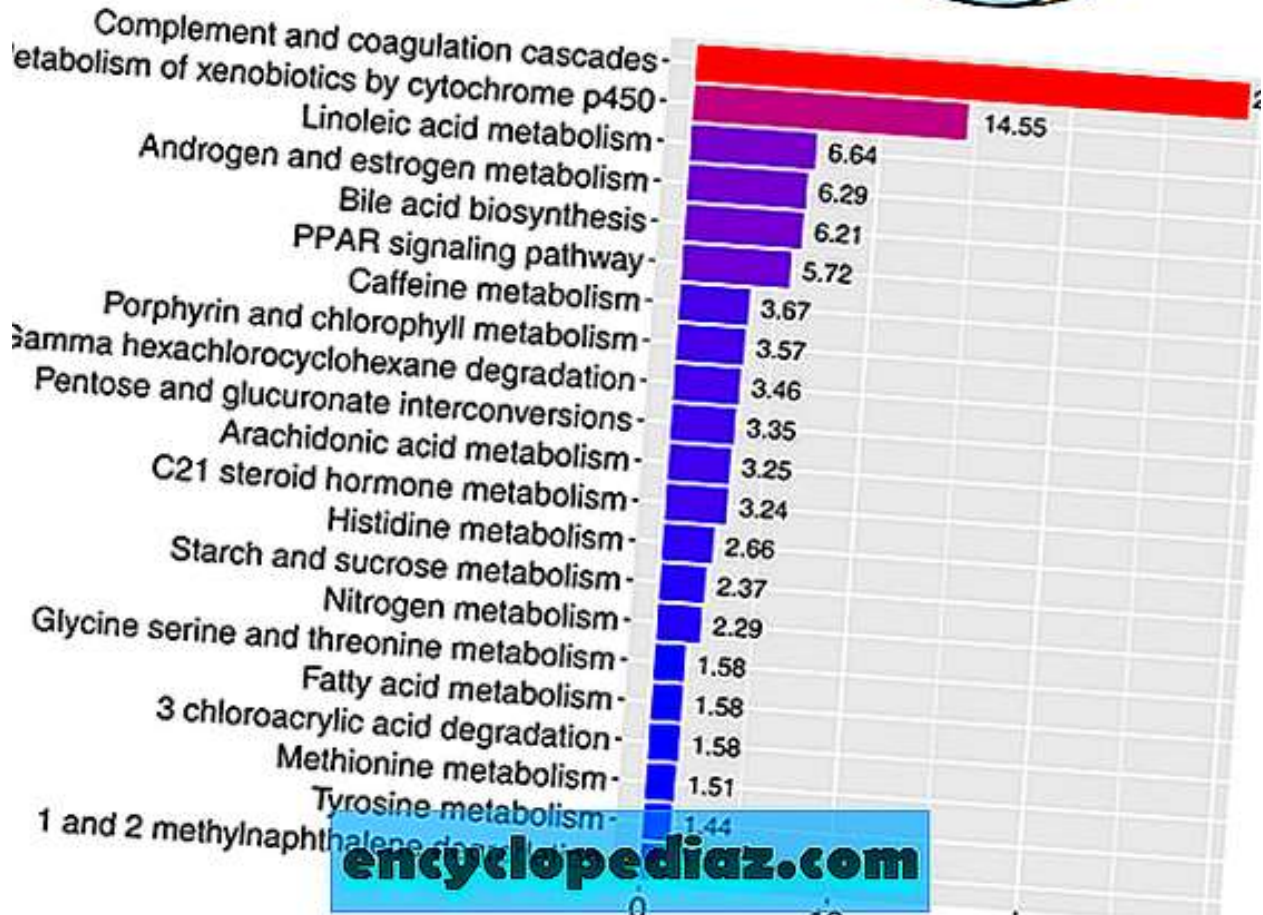
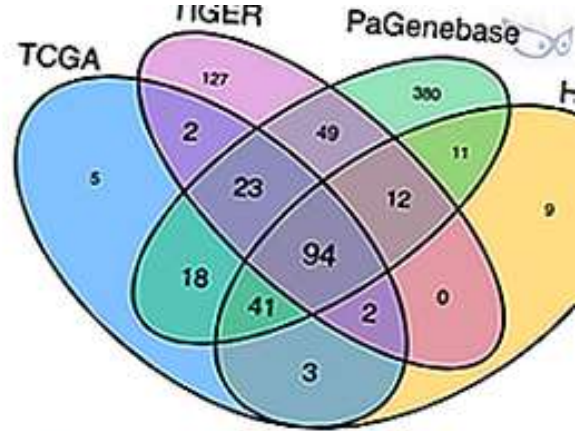
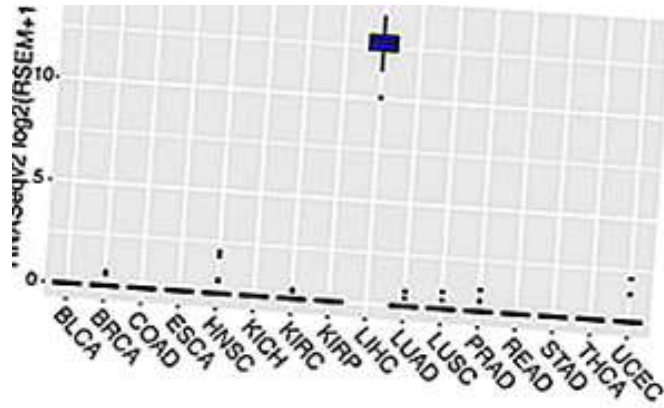
ثم ، تداخلنا مع الجينات المخصبة للأنسجة والنذير عبر أنواع السرطان. في سرطان الكبد ، كان 55 ٪ (188/84) من LEGs النذير ، الذي كان أعلى بكثير من متوسط النسبة (حوالي 15 ٪) ، في حين كانت النسبة أقل بكثير في أنواع السرطان الأخرى (الشكل 2.C)

### معظم LEGs هي الجينات المرتبطة التمثيل الغذائي

ركزنا على LEGs في التحليلات اللاحقة بسبب الدور الأساسي للكبد في TEGs. أحد الأمثلة على LEG (هو SPP2 البروتين الفوسفوري 2 المُفرز) ، والذي يتم التعبير عنه حصريًا في الأنسجة غير الورمية المقابلة لـ HCC الشكل 3. A) علاوة على ذلك ، للتحقق من كفاءة الفحص ودقته ، استفسرنا عن قواعد بيانات عامة يمكن الوصول إليها من أجل ملفات تعريف تعبير الجينات ، بما في ذلك أطلس البروتين البشري 17 (HPA) ، وقاعدة بيانات جين النمط 18 (PaGenBase) وقاعدة التعبير الجيني الخاصة بالأنسجة وتنظيمها 19 (TiGER) قاعدة بيانات ، حصلنا عليها من 172 و 628 و 309 من LEGs ، على التوالي LEGs. المتولدة من خوارزمية لدينا ، وقواعد بيانات HPA و PaGenBase و TiGER متداخلة بشكل كبير. بين 188 LEGs التي تم الحصول عليها من خوارزمية لدينا



، تم تحديد ما مجموعه 183 (188/183 ، 97.3 %) الجينات في اثنين أو أكثر من قواعد البيانات ، وتم تحديد 94 (188/94 ، 50 %) في جميع قواعد البيانات الثلاث (الشكل . 3.B).



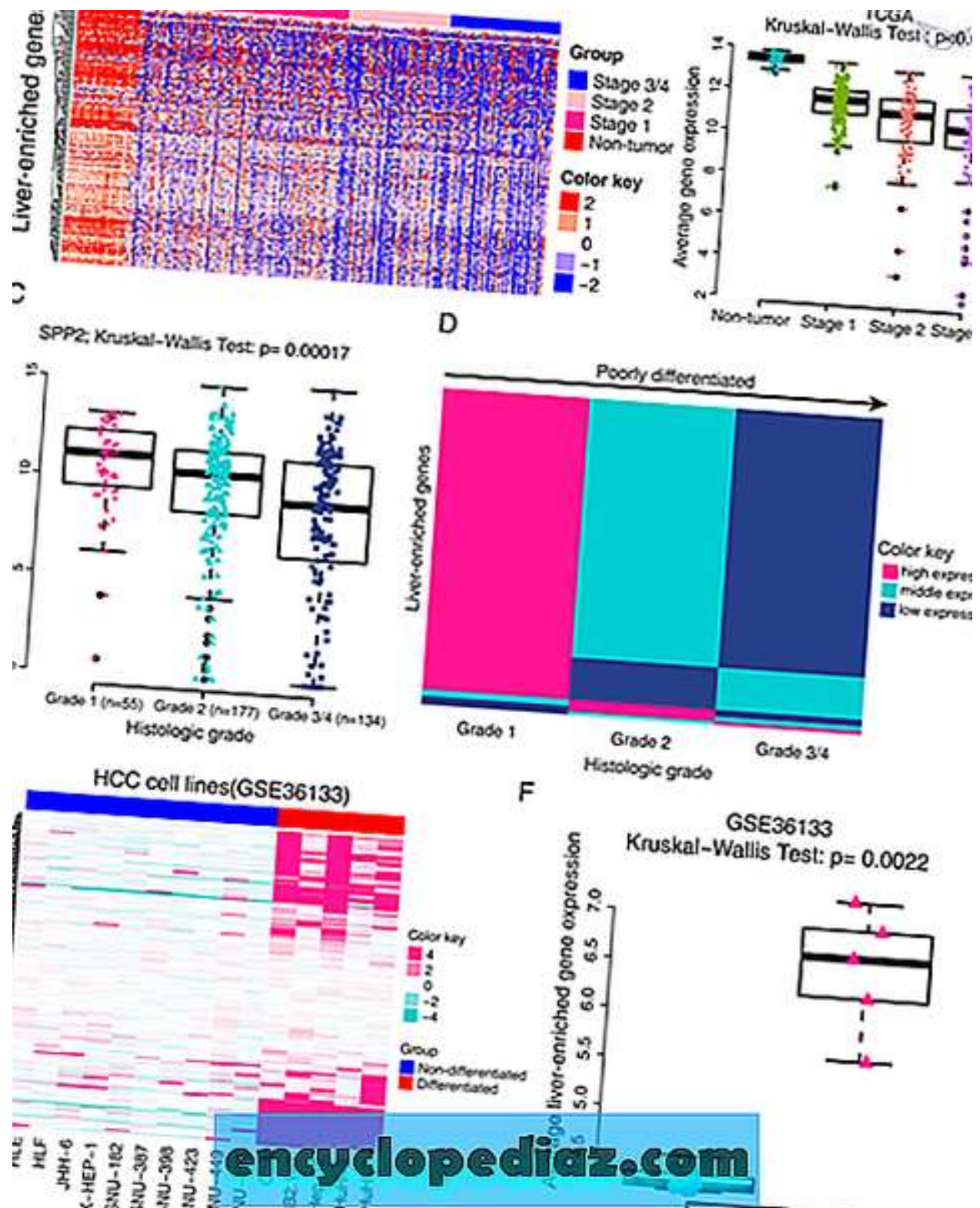


التحقق من صحة الجينات المخصب الكبد وتحليل ( KEGG أ ) مثال على الجينات المخصب للكبد. تم التعبير عن SPP2 حصرياً في الأنسجة غير السرطانية المقابلة لـ HCC. ( ب ) رسم تخطيطي من أربعة مجموعات Venn يبين تداخل الجينات المخصب للكبد المشتقة من TCGA وثلاث قواعد بيانات أخرى ، بما في ذلك HPA و PaGenBase و ( C ) TiGER مسارات KEGG المخصب بشكل كبير من 188 جيناً مخصباً بالكبد. تمت إضافة تعليق توضيحي (10)  $\log_{10}$  القيمة p المعدلة على كل شريط من مسار KEGG.

لاستكشاف خصائص 188 LEGs ، وأجريت تحليلات تخصيص مسار KEGG مع Enrichr ، وحددت 21 مسارات المخصب بشكل كبير (الشكل 3). (C) تمشيا مع وظائف التمثيل الغذائي في الكبد ، تم توزيع معظم LEGs في مسارات التمثيل الغذائي ، بما في ذلك التمثيل الغذائي للأجانب ، استقلاب حمض اللينوليك ، استقلاب الهرمونات الجنسية والتخليق الحيوي لحمض الصفراء. هذه النتائج تشير إلى أن LEGs تمثل الوظائف البيولوجية للكبد.

## LEGs لها أنماط تعبير مماثلة في أنسجة سرطان الكبد

ثم قمنا بالتحقيق في ملفات تعريف تعبير LEGs في HCC. توضح خريطة الحرارة الموضحة في الشكل 4 A أن معظم LEGs تم تنظيمها في أنسجة الورم في مجموعة بيانات TCGA. كان متوسط التعبير الجيني للأورام أقل بكثير من الأنسجة غير الورمية ، وكانت المرحلة المرضية الأكثر تطوراً مصحوبة بتعبير أقل متوسطاً للأجسام (الشكل 4 ب). قمنا أيضاً بتحليل نمط التعبير عن LEGs مع مجموعات بيانات microarray من GEO. التحقق من صحة الحرارة والتحليل الإحصائي التحقق من تنظيم LEGs في كلا ( GSE14520 الشكل التكميلي S1A ، (B) GSE54236 الشكل التكميلي S1C ، (D). علاوة على ذلك ، كانت معظم LEGs مرتبطة إيجابياً مع بعضها البعض ، مما يدل على نمط تعبير مماثل من LEGs في HCC الشكل التكميلي S1E).



نمط التعبير عن الجينات المخصصة للكبد وعلاقتها باختلال الورم Heatmap ( A ) . عرض

نمط التعبير من الجينات المخصب الكبد في الأنسجة غير الورمية والأنسجة HCC مع

مراحل المرضية المختلفة في مجموعة البيانات TCGA. يشير اللون الأحمر إلى التعبير

العالي والأزرق يشير إلى انخفاض التعبير. ( ب ) التحليل الكمي لنمط التعبير من الجينات

المخصب الكبد في الشكل 4. A. تم تحويل قيم RSEM إلى Log2 ، وتم حساب القيم

المتوسطة للجينات المخصصة للكبد في كل عينة. ثم تم استخدام اختبار Kruskal-Wallis

لمقارنة الاختلافات بين المجموعات الأربع. كان SPP2 ( C ) مثالاً نموذجياً يوضح مستوى

التعبير للجينات المخصصة للكبد في الدرجات النسيجية المختلفة. انخفض التعبير SPP2

تدرجياً مع تقدم الصف الورم ( D ) . خريطة الحرارة تظهر مستويات التعبير من 188

الجينات المخصب الكبد في الدرجات النسيجية المختلفة. عرضت معظم الجينات المخصصة

للكبد انخفاضاً في تعبير الحمض النووي الريبي المرتبط بزيادة درجة الورم ( E ) . مقارنة

لمحات التعبير مرنا من الجينات المخصب الكبد في خطوط الخلايا HCC متباينة وغير

متباينة في GSE36133. كانت عشرة خطوط خلايا HCC غير متميزة (HLE) ، HLF ،

، SNU-423 ، SNU-398 ، SNU-387 ، SNU-182 ، SK-HEP-1 ، JHH-6

SNU-443 ، SNU-449 و SNU-475 خطوط الخلايا متباينة (C3A) ، -Hep3B2.1

7 ، HepG2 ، HuH-6 و ( F ) . HuH-7 التحليل الكمي لنمط التعبير من الجينات  
المخصب الكبد في خطوط خلايا سرطان الكبد متباينة وغير متباينة.

## يعتبر تقليل الساق في LEGs علامة على التباين في الاختلاف

عندما قمنا بتقييم العلاقة بين الصف النسيجي والتعبير الجيني ، لاحظنا أن تعبير بعض  
الجينات يرتبط ارتباطاً وثيقاً بالصف النسيجي. على سبيل المثال ، انخفاض التعبير SPP2  
بشكل ملحوظ مع تقدم درجة الورم (الشكل 4). (C) ثم قمنا بتحليل الارتباط بين نمط التعبير  
لجميع LEGs ودرجة الورم. معظم (82 % ، 188/154 LEGs downregulated) كما  
تقدم الصف النسيجي (الشكل 4.D)

لفهم العلاقة بين LEGs و dedifferentiation بشكل أفضل ، قمنا بتحليل أفضل للتعبير  
عن LEGs في خطوط الخلايا من . GSE36133 20 كشفت خريطة الحرارة عن حدود  
واضحة بين خطوط خلايا HCC متباينة وغير متباينة (الشكل 4). (E) كان متوسط التعبير عن

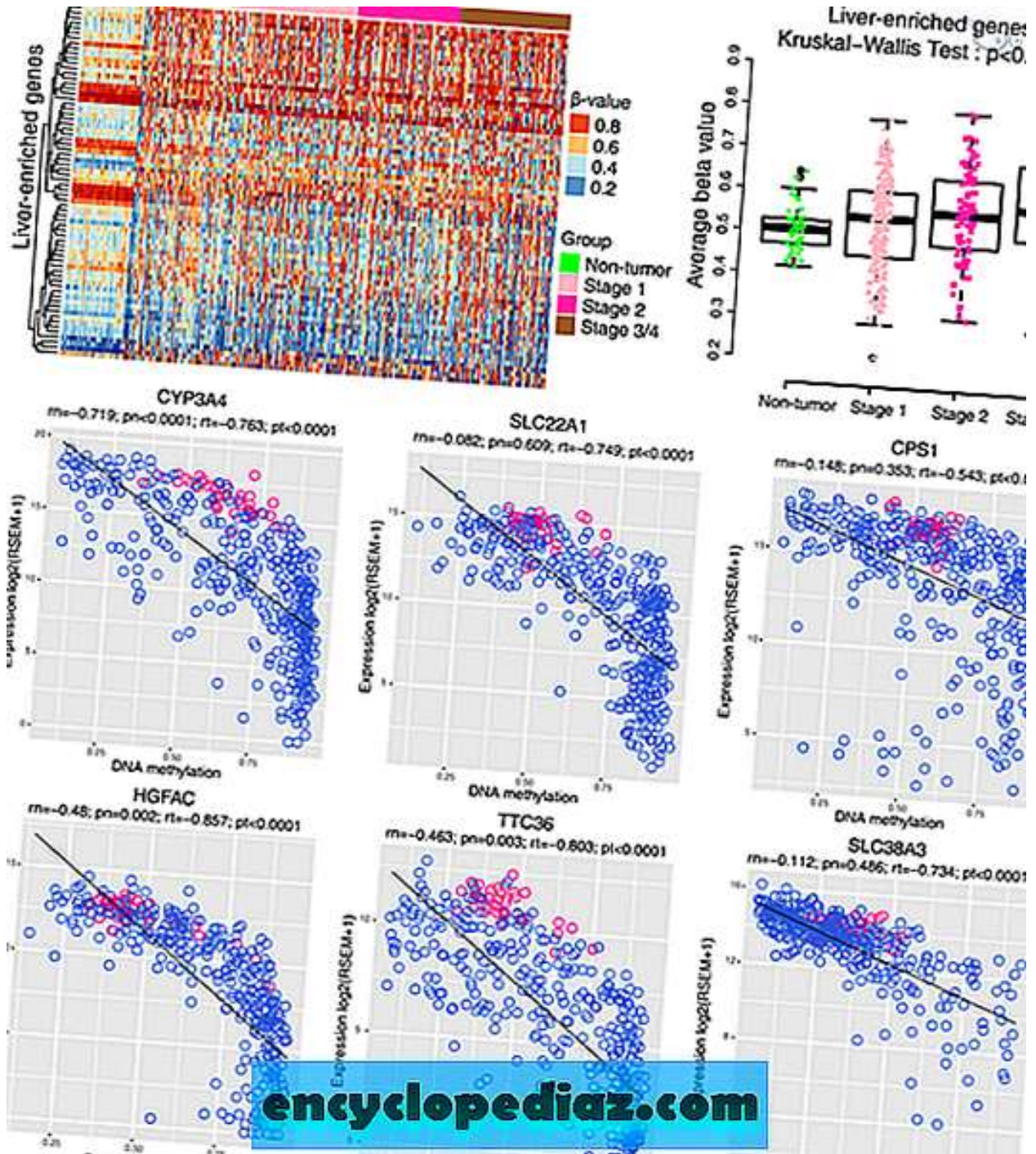
LEGs في خطوط الخلايا متباينة أعلى بكثير من ذلك في خطوط الخلايا HCC غير متباينة (ع)  $0.0022 =$  ، الشكل 4 . (F) بشكل عام ، تشير هذه النتائج إلى أن تقليل تنظيم LEGs هو علامة على الاختلاف في المرضى الذين يعانون من HCC وخطوط الخلايا. HCC

## LEGs هي hypermethylated في أنسجة سرطان الكبد

بعد ذلك ، اكتشفنا لماذا تم تنظيم LEGs في الأورام. يغير الميثيل قابلية قراءة الحمض النووي ويؤدي إلى تغيير النسخ مرنا في . HCC 21 قارنا ملامح مثيلة الحمض النووي من LEGs في الأنسجة الطبيعية و . HCC كشفت خريطة الحرارة فرط الميثيل من LEGs في سرطان الكبد في المراحل المرضية المختلفة (الشكل 5 . (A) كان مثيل الحمض النووي من LEGs أعلى بكثير في المراحل المرضية المتقدمة من سرطان الكبد وكان أدنى في أنسجة

الكبد المجاورة غير الورم (الشكل 5). (B) يظهر في الشكل 5 ستة جينات تمثيلية كان التعبير عنها مرتبطاً بدرجة كبيرة بمستوى المثيلة. عرضت هذه الجينات انخفاضاً ملحوظاً في تعبير الحمض النووي الريبي المرتبط بفرط الميثيل. من بين الجينات التمثيلية الستة ، تم الإبلاغ سابقاً عن أن مثيلة CYP3A4 22 و SLC22A1 23 و CPS1 24 قد تم تنظيمها بواسطة مثيلة. على الرغم من أن HGFAC و TTC36 و SLC38A3 هي جينات شديدة فرط الميثيل وقليلة التنظيم ، إلا أن أي دراسة سابقة أبلغت عن مثيلة. قد يكون تقليل التنظيم بوسط فرط الإيثيل آلية محتملة تستند إلى نمط التعبير عن LEGs في سرطان الكبد.





أنماط الميثيل من الجينات المخصب للكبد ( A ). خريطة الحرارة التي تبين أنماط مثيلة الجينات المخصب الكبد في الأنسجة غير الورمية و HCC من مراحل المرضية المختلفة. تم

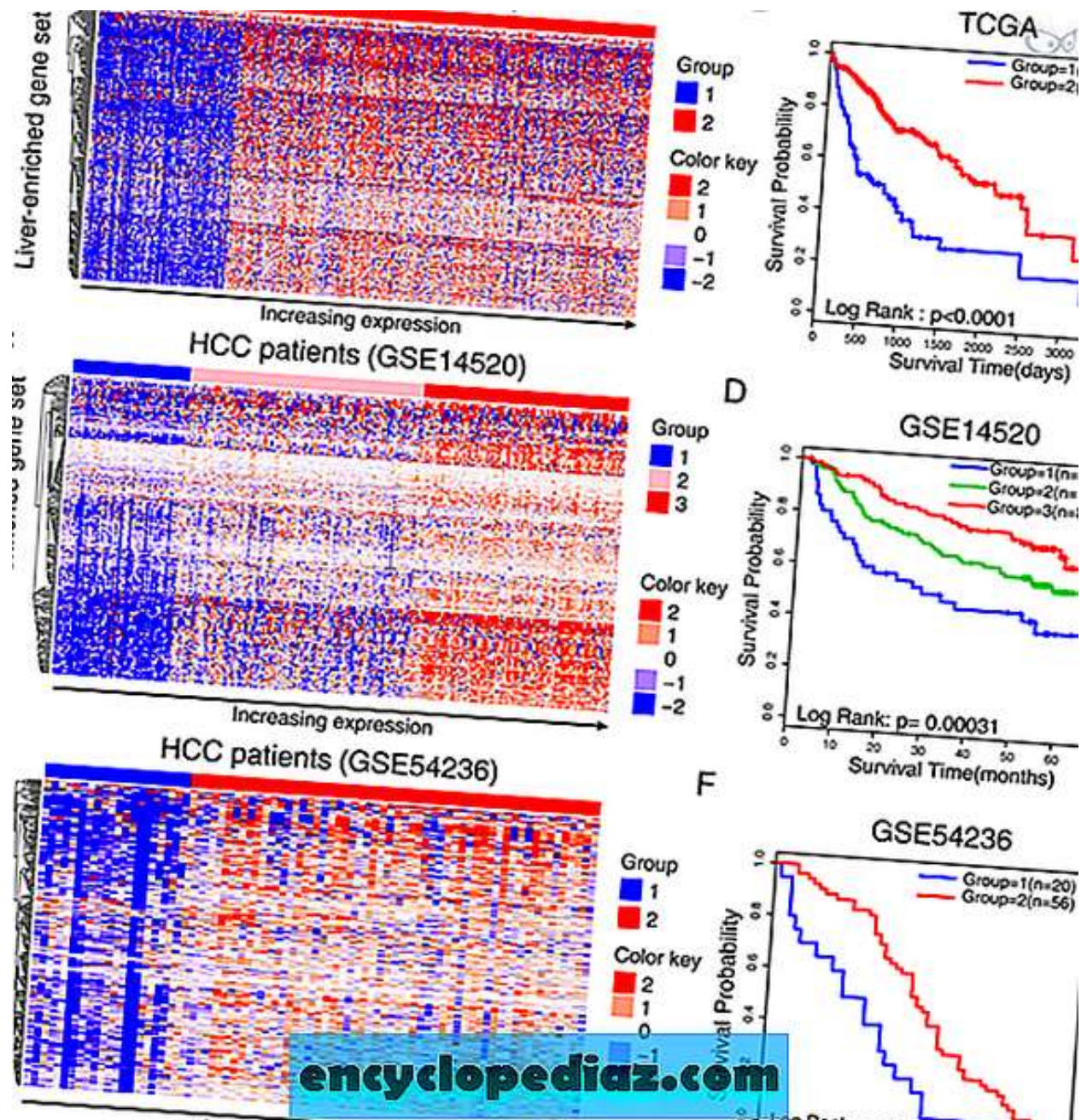


استخدام قيم بيتا لرسم خريطة الحرارة. ( ب ) متوسط مستويات مثيلة الجينات المخصب الكبد في الأنسجة غير الورمية والأورام Scatterplots ( C ) . للجينات التمثيلية المخصصة للكبد والتي تظهر أنها مفرطة الميثيل في HCC ، حيث يتم رسم التعبير الجيني RNA (المحور y) ضد فرط الميثيل (النسق x). النقاط الزرقاء هي نتائج من عينات الورم ، والنقاط الوردية هي نتائج من الأنسجة الطبيعية. الاختصارات في الأشكال rn : ، قيمة Spearman r للأنسجة غير الورمية ؛ pn ، قيمة p للأنسجة غير الورمية ؛ غ ، سبيرمان ص قيمة أنسجة الورم pt ، قيمة p أنسجة الورم.

## ترتبط مجموعة LEG بتشخيص مرضى سرطان الكبد

بالنظر إلى أن أكثر من نصف LEGs كانت النذير (الشكل 2 C)، أنشأنا مجموعة الجينات مع 188 LEGs وتقييم قدرتها النذير. تم استخدام مجموعات التوافق في تجميع المرضى لمزاياها في تقييم ثبات وقوة المجموعات المكتشفة خاصة في بيانات التعبير الجيني 25 . قمنا أولاً بتجميع توافق الآراء مع مجموعة بيانات TCGA وقمنا بإنشاء مجموعتين ثابتتين (الشكل التكميلي S2A ، B). وقد لوحظت اختلافات قوية في أنماط التعبير من LEGs بين

المجموعتين (الشكل 6 A، الشكل التكميلي S2C). كان الكتلة مع ارتفاع التعبير LEG البقاء على قيد الحياة الشاملة لفترة طويلة (الشكل 6 B). بعد ذلك ، قمنا بالتحقق من القدرة التنبؤية للجين مع بيانات ميكروأري. حددت مجموعات التوافق ثلاث مجموعات مستقرة وقوية باستخدام مجموعة بيانات) GSE14520 شكل تكميلي S2D ، (E). وقد لوحظت اختلافات قوية في احتمالات البقاء على قيد الحياة بين الأنواع الفرعية الثلاثة. زاد التعبير عن LEGs من المجموعات 1 إلى 3 (الشكل 6 C، الشكل التكميلي S2F) ، والمجموعة 3 كان لها أعلى تعبير LEG وأفضل تشخيص ، في حين أن المجموعة 1 ذات أدنى تعبير LEG كان لديها أسوأ تشخيص (الشكل 6 D). وبالمثل ، اعترفت مجموعات التوافق بالإجماع مجموعتين في) GSE54236 الشكل التكميلي S2G ، (H مع التعبير LEG متميزة (الشكل 6 E، الشكل التكميلي S2I) ، وارتبط التعبير العالي من LEGs مع نتائج سريرية جيدة (الشكل 6 F). مجتمعة ، هذه النتائج تسليط الضوء على الآثار النذير مواتية لمجموعة LEG وتوفر رؤى مهمة في الدور الوقائي المحتمل من LEGs.



يرتبط مجموعة الجينات المخصب بالكبد بتشخيص مرضى سرطان الكبد. تُظهر Heatmap النتيجة التجميعية غير الخاضعة للإشراف المتجمعة للجينات المخصصة للكبد في ( A ) TCGA و GSE14520 ( C ) و GSE54236 ( E ) زاد مستوى التعبير عن الجينات المخصصة للكبد من اللون الأزرق إلى اللون الأحمر. ( ب ) تحليل البقاء على قيد الحياة من المجموعات التي تم إنشاؤها من مجموعات التوافق مع TCGA ( B ) ، ( D ) GSE14520 ، و GSE54236 ( F ) مجموعات البيانات.

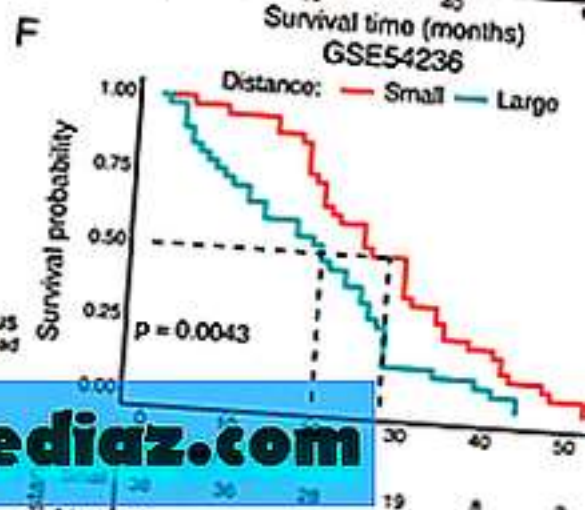
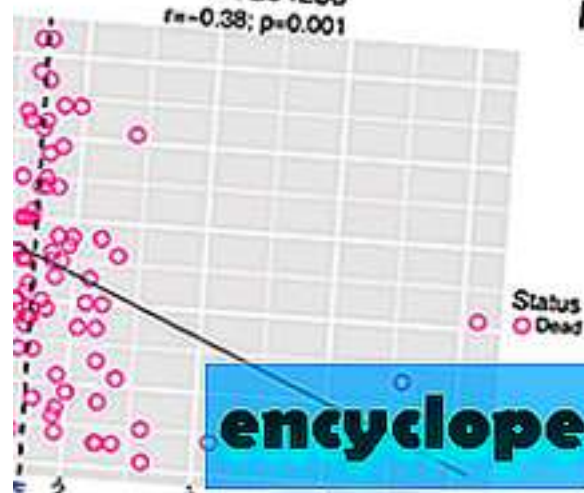
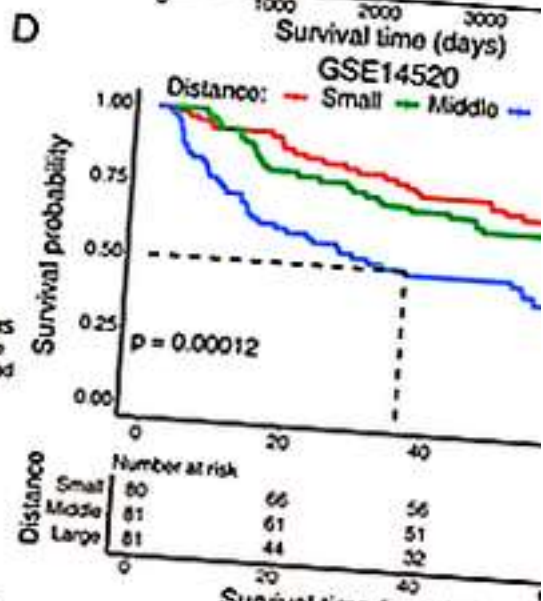
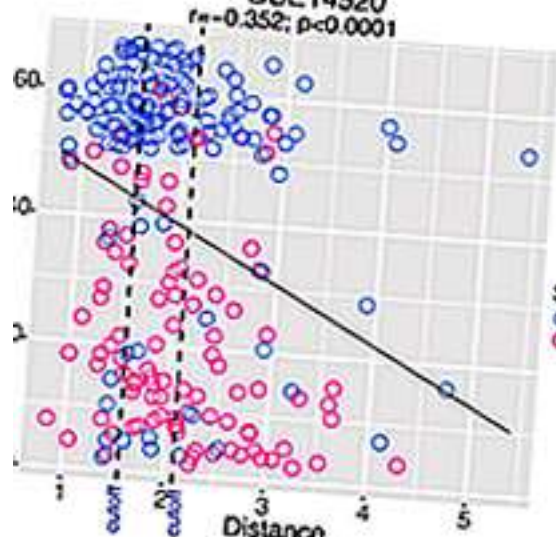
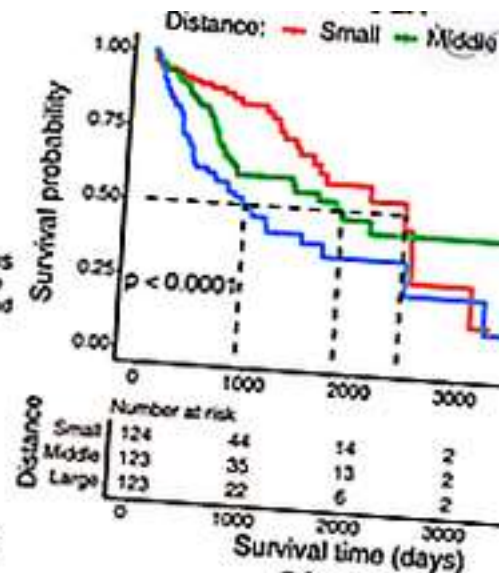
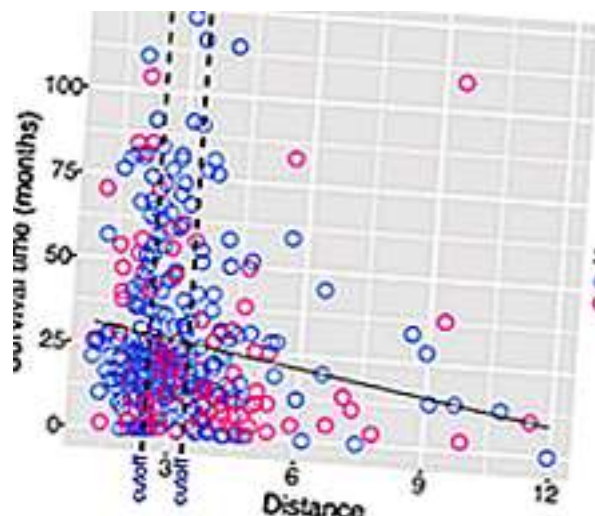
## الارتباطات بين مسافة التعبير والسلوكيات HCC البيولوجية

لقد لاحظنا أن LEGs قد قللت من مستوى HCC ، وارتبطت درجة التعبير المخفض بالنتائج السريرية للمرضى الذين يعانون من HCC والتي كانت فيها المجموعة الفرعية الأكثر تنظيماً هي الأكثر فقراً في التشخيص. أثارت هذه الظاهرة السؤال حول ما إذا كان يمكن استخدام المسافة بين الأورام والأنسجة الطبيعية كمؤشر لقياس السلوك البيولوجي للأورام وتقييم تشخيص المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد. حسبنا المسافة التعبير يعني من LEGs بين الأورام والأنسجة الطبيعية. تم تقسيم المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد في مجموعة البيانات TCGA على قدم المساواة إلى ثلاث مجموعات (مسافة صغيرة ، مسافة متوسطة ، ومسافة كبيرة) من خلال قيمتين قطع وفقاً لمسافة التعبير يعني من الأنسجة الطبيعية (الشكل 7. A). كان مرتبطاً سلباً بقاء الوقت مع متوسط التعبير التعبير (الشكل 7. A). أظهر المرضى الذين لديهم مسافة التعبير الأكبر أقصر وقت البقاء على قيد الحياة ، في حين أن المرضى الذين يعانون من مسافة التعبير أقل أظهرت ميزة كبيرة في البقاء على قيد الحياة بشكل عام. عرض المرضى الذين يعانون من مسافات التعبير الأوسط أوقات البقاء على قيد الحياة المتوسطة (الشكل 7. B) وقد لوحظت نتائج مماثلة في الأفواج الخارجية المذكورة آنفاً. ارتبط وقت البقاء عكسياً مع المسافة في GSE14520 ، وتم توزيع معظم المرضى الحية في مجموعات مع مسافات التعبير الصغيرة أو المتوسطة (الشكل 7. C). كان المرضى الذين يعانون من مسافة التعبير كبيرة تشخيص أسوأ بكثير من المرضى الذين يعانون من مسافات

صغيرة ومتوسطة (الشكل 7 D). وبالمثل ، ارتبطت مسافة التعبير الكبيرة بتشخيص ضعيف

في (GSE54236 الشكل 7 E ، F).





الارتباطات بين مسافة التعبير الوسطي وتشخيص المرضى المصابين بسرطان الكبد. يقع من وقت البقاء على قيد الحياة ومتوسط مسافة التعبير في TCGA ( A ) ، ( C ) GSE14520 ، و GSE54236 ( E ) ، حيث يتم رسم وقت البقاء على قيد الحياة (محور y) مقابل مسافة التعبير المتوسطة (المحور س). يمثل الأزرق والوردي المرضى الذين يعانون من حالة البقاء على قيد الحياة أو ميتا ، على التوالي. يمثل الخط المتقطع الأسود القيمة الفاصلة لتقسيم المرضى إلى مجموعات مختلفة. منحنيات البقاء على قيد الحياة من مجموعات مختلفة في TCGA ( B ) ، GSE14520 ( D ) ، و GSE54236 ( F )

لتقييم ما إذا كانت المسافة التعبير من LEGs تتوقع تشخيص المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد ، نظرنا إلى المسافة عشرات المخاطر واستخدام مؤشر C ، الذي يقيس جزء من جميع أزواج الأفراد الذين يتم ترتيب أوقات البقاء على قيد الحياة بشكل صحيح 26 ، و درجة Brier ، والتي تحسب خطأ النموذج الملائم لبيانات البقاء 27 . في المتوسط ، أنتجت مجموعات بيانات TCGA و GEO مؤشر C عاليًا ودرجة Brier منخفضة (الجدول 1 ،



الشكل التكميلي (C) – S3A قمنا بتقييم دقة النذير من خلال تحليل منحني خاصية تشغيل المستقبل (ROC) الذي يعتمد على الوقت في أوقات المتابعة المختلفة (الشكل التكميلي S3D-F) أشارت المنطقة الواقعة تحت المنحنى (AUC) في أوقات القطع المختلفة إلى دقة تنبؤية مقبولة. هذه النتائج تثبت متانة مسافة التعبير من LEGs للتنبؤ نتائج البقاء على قيد الحياة.

بالإضافة إلى ذلك ، قمنا بتقييم العلاقة بين متوسط المسافة التعبير والمتغيرات السريرية (الجدول 2). وارتبطت مسافة التعبير الكبيرة مع ارتفاع مستوى البروتين ألفا (AFP) ، ووزن الورم ، والمراحل النسيجية والمرضية المتقدمة ، والغزو الوعائي. ومن المثير للاهتمام ، قررنا أيضاً أن المرضى الذين يعانون من مسافة تعبير كبيرة يميلون إلى أن يكونوا من الإناث وعمر أصغر وزناً ووزن جسم منخفض ، مما يشير إلى وجود علاقة بين الورم ومضيفه. مجتمعة ، تشير هذه النتائج إلى أن الاختلاف بين الأورام والأنسجة الطبيعية تنبأ بتوقع المرضى المصابين بسرطان الكبد وربما أثرت على السلوكيات البيولوجية للأورام.

## نقاش

يتم التعبير عن TEGs بمستويات أعلى بكثير في أنواع أنسجة معينة من الأنواع الأخرى ، وهو أمر مهم للحفاظ على الوظيفة البيولوجية الخاصة بالأنسجة 3 . حددنا هنا TEGs من 12 نوعا من الأنسجة مع بيانات تسلسل الحمض النووي الريبي ، وحصلنا على أكبر عدد من الجينات الجينية من الكبد. إحدى الدراسات المبكرة المعروفة والتي غالباً ما يتم الاستشهاد بها في أبحاث البروتينات هي دراسة . 17 Uhlen et al . وذكروا أن أكبر عدد من TEGs موجود في الخصيتين ، يليه المخ والكبد. قد يكون هذا التناقض بين تلك الدراسة وتجاربنا بسبب أنواع الأنسجة المحدودة التي تم تحليلها في دراستنا. لتحسين الدقة الإحصائية ، استبعدنا أنواع السرطان التي تحتوي على أقل من 10 من الأنسجة غير الورمية المقابلة ، وفقط 12 نوعاً من الأنسجة تفي تماماً بمعايير التضمين. وقد حددت العديد من الدراسات السابقة TEGs مع قيم قطع ثلاثة أضعاف 12 ، خمسة أضعاف 28 أو 10 أضعاف 29 . لقد رفعنا قيمة القطع إلى 100 مرة لتحديد TEG ، لضمان الخصوصية وتغطية النقص في أنواع الأنسجة المحدودة. لحسن الحظ ، تم التحقق من كفاءة خوارزمية لدينا في التعرف على TEGs ، كما هو مبين في الشكل 3. B. نظرًا لوجود عدد أكبر بكثير من TEGs في الكبد ، وكانت معظم LEGs النذير ، ركزنا فقط على خصائص LEGs في هذه الدراسة.

سرطان الكبد هو السبب الرئيسي للوفاة المرتبطة بالسرطان في جميع أنحاء العالم والنتائج السريرية لمرضى سرطان الكبد غير مرضية 30،31 . تحديد العوامل النذير يساعد على تحسين تشخيص المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد. لقد حددنا الجينات النذير واحدة في دراساتنا السابقة بما في ذلك GLS2 و UPB1 6، 7 ، والتي هي اثنين من الجينات التي أعرب عنها بشكل رئيسي في الكبد. تمشيا مع النتيجة التي مفادها أن hypermethylation قد يكون مسؤولا عن downregulation من LEGs ، مروج GLS2 هو hypermethylated في أنسجة الورم 32،33،34 . في هذه الدراسة ، اكتشفنا أن معظم LEGs هي النذير وأنشأت مجموعة LEG التي يمكن استخدامها لإنشاء مجموعات من المرضى الذين يعانون من HCC واختلافات البقاء على قيد الحياة ، ولكن لم نتمكن من تقييم تشخيص المرضى من الأفراد أو تقييم الأداء التنبؤي لأن فئة الإجماع ولدت من توافق الآراء كان متقطعا. ومع ذلك ، ساعدت هذه الدراسة على التنبؤ بتشخيص المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد ، لأننا أثبتنا أن قياس المسافة كان تنبؤي وحددنا العديد من LEGs النذير ، ومعظمها أفيد أنها إفرازية 1729 . تساعد هذه النتائج في الإشارة إلى اتجاه محتمل لفحص المؤشرات الحيوية التشخيصية لسرطان الكبد ، وخاصة تلك الموجودة في المصل.

التمييز هو عملية تتغير فيها الخلية من نوع خلية واحدة إلى نوع أكثر تخصصًا ، وبالتالي تطور وظائف مصيرها النهائي 35 . على النقيض من ذلك ، يستلزم عدم التمايز المفاجئ فقدان شكل معين أو وظيفة محددة للخلية الناضجة مع الاحتفاظ بالقدرة على التكاثر ، وهو أحد الفرضيات للأصل الخلوي للسرطان 36،37 . دراسات سابقة اعتبرت تقليل TEGs كعلامة على التمايز بين 17،38 . ترتبط معظم البروتينات المخصصة بالكبد بالأبيض أو المنتجات التي يتم تصنيعها بواسطة الكبد ، مثل عوامل تكملة التخثر. وبالتالي ، تمثل LEGs وظائف معينة من الكبد. يشير downregulation من LEGs إلى فقدان وظائف الكبد الطبيعية. ارتبط انخفاض التعبير عن LEGs بنتيجة سريرية غير مواتية (الشكل 5) ، مما يشير إلى أنه كلما كان نسيج الورم أبعد من الكبد الطبيعي ، كان تشخيص المريض أضعف. حسبنا مسافة التعبير الوسطي من الأورام إلى الأنسجة الطبيعية وأظهرنا أن الاختلاف بينهما مرتبط بتشخيص مرضى سرطان الكبد (HCC) والسلوكيات البيولوجية للأورام. ستساعد هذه النتائج فهمنا لتطوير وتطور الأورام.

انخفاض التعبير عن LEGs أثناء الأورام وتطور السرطان ، كما ارتبط سلبا التعبير عن LEGs مع المرحلة المرضية. قد يفسر فرط الميثيل وخلل التمايز جزئيًا تقليل التنظيم في

الأضلاع. ومع ذلك ، يجب إجراء مزيد من الفحص والتجربة للكشف عن الآليات الجزيئية الأساسية لعملية التنظيم ، وفك تشفير وظائف LEGs وتحديد مزيد من ما إذا كانت LEGs هي جينات ركاب أم جينات دافعة في تكوين الأورام. بالإضافة إلى ذلك ، أثارت هذه الدراسة مسألة ما إذا كان استبدال وظيفة الكبد المفقودة أو التالفة عن طريق الإفراط في التعبير عن LEGs في الخلايا السرطانية من شأنه عكس عملية التمايز ، واستعادة وظيفة الكبد وتحسين أخيرًا تشخيص مرضى سرطان الكبد.

في الختام ، أنشأت هذه الدراسة لمحة LEG التي قد تكون مفيدة في تقييم تشخيص المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد ، وأثبتت أن يتم تنظيمها تدريجيا LEGs مع تطور المرحلة المرضية والاختلاط. قد يكون فرط الميثيل عبارة عن آلية محتملة الكامنة وراء انخفاض التعبير عن LEGs. علاوة على ذلك ، اكتشفنا أن درجة التباين بين الأورام والأنسجة الطبيعية تتنبأ بتشخيص المرضى المصابين بسرطان الكبد وترتبط بالسلوكيات البيولوجية للأورام ، مما قد يساهم في توسيع فهمنا لتطور السرطان. يجب إجراء مزيد من الدراسات لتوضيح المشاركة المحتملة لهذه LEGs في الإصابة بسرطان الكبد والتقدم.

## المواد والأساليب

### مصادر بيانات TCGA

تم استرداد RNA-seq والبيانات السريرية لمختلف فئات السرطان (حتى 28 يناير 2016) من قاعدة بيانات TCGA ([//gdac.broadinstitute.org/](http://gdac.broadinstitute.org/)) وأدرجت أنواع السرطان مع أكثر من 10 عينات طبيعية المقترنة في الدراسة. وهكذا ، استوفى 12 نوعًا من الأنسجة و 16 نوعًا من أنواع السرطان المتطلبات ، التي تتكون من 707 عينة غير سرطانية و 7091 عينة سرطانية. تم الحصول على بيانات مثيلة الحمض النووي من ملف بيانات المستوى 3 "LIHC.meth.by\_max\_stddev.data" ، حيث تم مطابقة التحقيقات مع الجينات مع أقصى انحراف معياري لكل الجينات ، وتمت تغطية 10015 الجينات بما في ذلك 77 LEGs.

### تحديد الجينات المخصصة للأنسجة

لتحديد الجين المخصص للأنسجة ، كانت قيمة الحمض النووي الريبسي (RNA-Seq) بقيمة تعظيم التوقع (RSEM) للجين في الأنسجة ذات الصلة مطلوبة لتلبية معيارين: (1) احتلت

قيمة RSEM المتوسطة المرتبة الأولى بين جميع الأنسجة غير الورمية و كان مختلفا كثيرا عن المركز الثاني. (2) كانت القيمة المتوسطة للنسج (RSEM) للأنسجة ذات الصلة مطلوبة 100 مرة أكبر من جميع الأنسجة المتبقية.

## توفر بيانات GEO

GSE14520 39، GSE54236 41 و 40 هما مجموعتان مستقلتان من بيانات HCC للميكروأري ذات التعبير الصغري مع تحقيقات على مستوى الجينوم ومعلومات كاملة عن وقت البقاء الكلي وحالة البقاء على قيد الحياة في آخر متابعة 12 . وبالتالي ، تم تنزيل مجموعتي البيانات هاتين من قاعدة بيانات (GEO) Gene Expression Omnibus (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). تم استرداد وقت البقاء على قيد الحياة من المرضى

الذين يعانون من سرطان الكبد في المصفوفات الدقيقة من ArrayExpress (<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>). تتألف مجموعة بيانات GSE14520 من 242 مريضاً يعانون من سرطان الكبد HCC الأساسي ، وتضمنت مجموعة بيانات GSE54236 80 مريضاً لديهم سرطان الكبد. تحتوي مجموعة البيانات 20 GSE36133 على بيانات تعبير التسلسل من موسوعة خط خلايا السرطان (CCLE) من حوالي 1000 سطر من

خلايا سرطان الإنسان من 36 نوعاً من أنواع السرطان بما في ذلك 26 خلية من خلايا سرطان الكبد ، 10 منها عبارة عن خطوط خلايا HCC غير متميزة (HLE) ، HLF ، خطوط الخلايا المتميزة هي JHH-6 و SK-HEP-1 و SNU-182 و SNU-387 و SNU-398 و SNU-423 و SNU-449 و SNU-475 وخمسة خطوط خلية (خطوط C3A و 7- Hep 3B2.1 و HepG2 و HuH-6 و HuH-7). 42

## قواعد بيانات تعريف التعبير الجيني

**قاعدة بيانات PaGenBase** ([//bioinf.xmu.edu.cn/PaGenBase/](http://bioinf.xmu.edu.cn/PaGenBase/)) هي قاعدة

بيانات مجانية توفر معلومات عن جينات الأنماط (جينات معينة ، جينات انتقائية ، جينات التدبير المنزلي والجينات المكبوتة) من 11 نوعاً من الكائنات الحية 18 TiGER .

([//bioinfo.wilmer.jhu.edu/tiger/](http://bioinfo.wilmer.jhu.edu/tiger/)) هي قاعدة بيانات تحتوي على ملفات تعريف

التعبير الجيني الخاصة بالأنسجة 19 . إن HPA عبارة عن خريطة معتمدة على الأنسجة

للبروتين البشري من تحليلات أنسجة 32 و 47 خط خلية ، مع بيانات التعبير الجيني في كل

من مستويات الحمض النووي الريبي والبروتين 17 . حددت قواعد البيانات الثلاث هذه 628

و 309 و 172 LEGs ، على التوالي.



## تحليل مجموعات التوافق

تم تحويل  $\log_2$  ووسط الوسيط للتطبيق قبل تحليل المجموعات. استخدمنا حزمة R  
ConsensusClusterPlus 28 لتحديد مجموعات قوية. لأداء مجموعات التوافق ،  
استخدمنا طريقة K-mean مع المسافة الإقليدية. تم تشغيل الإجراء بـ 1000 تكرار بحد  
أقصى  $K = 6$  ، ونسبة أخذ عينات فرعية 0.8. تم إنشاء Heatmaps باستخدام  
Bioconductor package complexHeatmap 43 .

## تحليل التخصيب

تم إجراء تحليلات المسارات البيولوجية بناءً على قاعدة بيانات مسار KEGG باستخدام  
44 . Enrichr ([//amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/](http://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/)) تم اعتبار المسارات ذات القيمة  
 $p$  المعدلة  $> 0.05$  مخصصة بشكل كبير.

## تحليلات البقاء على قيد الحياة

تم تحليل العلاقة بين البقاء على قيد الحياة والتعبير الجيني باستخدام وظيفة "البقاء على قيد الحياة" في حزمة البقاء على قيد الحياة R. تم تحديد أهمية البقاء على قيد الحياة بشكل عام عن طريق اختبار سجل رتبة. تم إجراء تحليلات البقاء على قيد الحياة في R الإصدار (3.4.0) ، وتم إنشاء منحنى البقاء على قيد الحياة من قبل حزمة البقاء على قيد الحياة R أو حزمة الناجين.

## عقار جديد يهاجم الجينات المسببة للسرطان

طرح دراستان حديثان حلاً لنوعين من السرطانات باستخدام دواء واحد، إذ يأمل الأطباء في أن يسهم العقار الجديد في علاج سرطان الثدي وسرطان الرئة، وكذلك وقف السرطانات المرتبطة بالسمنة.

ويستند الأطباء القائمون على الدراستين من جامعة ولاية ميشيغن بالولايات المتحدة إلى طرقٍ جزيئية جديدة لمهاجمة السرطان، تعتمد على استهداف الجينات المسببة للسرطان والمشاركة في نموه.

وكان العلماء مهتمين بشكل خاص بمثبطات البرومودومين (مثبطات BET) ، وهي فئة جديدة وواحدة من الأدوية التي تستهدف الجينات المشاركة في نمو السرطان، وتعيق الجينات المعززة للنمو وبالتالي تبطء نمو الورم.

ونشر الباحثون الدراستين في مجلة "الوقاية من السرطان"، وتركز الأولى على سرطان الثدي وسرطان الرئة، فيما يقتصر الآخر على السرطانات المرتبطة بالسمنة. ولا تزال التجارب على العقار في مرحلتها السريرية.

وقد وجدت الدراسة الأولى بقيادة كارين لوبي، الأستاذ المشارك في قسم علم الأدوية والسموم، أن أحد مثبطات BET ويسمى I-BET-762 يؤخر تطور سرطان الرئة والثدي من خلال التفاعل مع جين سرطاني يسمى c-Myc.

وبقول البروفيسور لوبي: "يعمل I-BET-762 على استهداف الحمض النووي، ويعيق عددا من البروتينات المهمة"، وأضاف أن "هذا قلل كمية الخلايا السرطانية في الفئران بنسبة 80 في المئة".

أما بالنسبة للدراسة الثانية بخصوص السرطانات المرتبطة بالسمنة، فقد حاول جيمي برنارد، الأستاذ المساعد في علم العقاقير والسموم، اتباع نهج مماثل، لكنه استخدم خلايا غير طبيعية قد تتطور إلى خلايا سرطانية.

ويشرح البروفيسور برنارد فرضية دراسته قائلا "نظرنا مباشرة في تأثير I-BET-762 على الخلايا البشرية التي يمكن أن تكون حاملة للمرض لكنها غير مصابة، ووجدنا أن الدواء منع أكثر من 50 في المئة من هذه الخلايا من أن تصبح سرطانية".

ويبدو أن c-Myc هو المفتاح لنجاح I-BET-762 ، إذ يتم توليد الجين c-Myc بواسطة الدهون الحشوية التي تحيط بأعضاء الجسم، والتي تختلف عن الدهون التي تقع تحت الجلد. ويعرف العلماء أن الدهون الحشوية أكثر ضررا على الصحة من الدهون تحت الجلد. وحالياً، يتم اختبار أدوية أخرى مع إجراء مماثل لـ I-BET-762 كعلاج مجموعة أخرى من السرطانات. ولا تزال معدلات الوفيات في سرطان الرئة والثدي مرتفعة، لذلك فإن البحث في كيفية منع هذا التدهور أمر ضروري.

## ملحقات

### خلفية عن سرطان الكبد

الكبد مسؤول عن التصفية المتواصلة للدم المتدفق في الجسم، كما يقوم بتحويل المواد المغذية والأدوية التي يتم امتصاصها في الجهاز الهضمي إلى مواد كيميائية جاهزة للاستعمال.

للكبد وظائف مهمة أخرى، من بينها التخلص من السموم والمواد الكيماوية الأخرى من الدم وتحويلها إلى إفرازات.

من السهل على الخلايا السرطانية الوصول إلى الكبد، إذ أن كل الدم المتدفق في الجسم يمر من خلاله.

من الممكن أن يصاب الكبد بسرطان أولي (Primary cancer) ، يتكون فيه نفسه، أو بسرطان يتكون في أماكن أخرى في الجسم ثم ينتقل بعد ذلك إلى الكبد. في معظم الحالات يكون سرطان الكبد ثانوياً أو نقيلياً (سرطان منتقل) (Metastasis cancer – ، أي أن مصدر الورم السرطاني موجود في مكان آخر في الجسم.

في أنحاء العالم المختلفة، يصيب السرطان الأولي في الكبد الرجال ضعف ما يصيب النساء، وهو السرطان الأكثر انتشارا بين الرجال، ويصيب في الغالب أشخاصا فوق سن الـ 50 عاما.

يتكون الكبد من عدة أنواع من الخلايا، لذلك فهناك عدة أورام من الممكن أن تصيبه.

يكون قسم من الأورام حميدا (Benign tumor) بينما يكون الآخر أوراما خبيثة { (Malignant tumor)سرطانية}Cancerous - ، من الممكن أن تنتقل/ تنتشر إلى أماكن أخرى في الجسم. تتطور الأورام المختلفة لأسباب مختلفة وتتم معالجتها بطرق مختلفة. وتتعلق احتمالات الشفاء بنوع الورم.

## اورام الكبد الحميدة

أورام الكبد الحميدة الأكثر انتشارا هي:

- ورم وعائي (Hemangioma)
- ورم غدّي / غدوم (Adenoma) في الكبد
- عملية بؤرية شبيهة بالورم
- كيسة (Cyst)
- ورم عضلي أملس (Leiomyoma)
- ورم لمفي / لمفومة (Lymphoma)
- ورم ليفي / ليفوم (Fibroma)

تختلف معالجة هذه الأورام عن معالجة الأورام السرطانية. أحيانا، عندما تسبب الأوجاع أو النزف، تكون هنالك حاجة إلى استئصالها جراحيا. أنواع سرطان الكبد

## أنواع سرطان الكبد هي:

- سرطانة الخلايا الكبدية (Hepatocellular carcinoma)
- سرطان في قنوات المرارة (مصدر هذا السرطان هو قناة المرارة، لن نتطرق إليه في هذا السياق).



## أسباب وعوامل خطر سرطان الكبد

سرطان الكبد الأولي (سرطانة الخلايا الكبدية – Hepatocellular carcinoma) -  
يصيب، عادة، الأشخاص الذين يعانون من:

## تشوهات خلقية في الكبد

- الأشخاص الذين يفرطون في شرب الكحول
- الأشخاص المصابين بتلوث مزمن، نابع من أمراض مثل اليرقان (Jaundice) من نوع B و C ، داء ترسب الأصبغة الدموية - Hemochromatosis) فرط الحديد في الكبد) وكذلك التليف الكبدي.(Cirrhosis)

أكثر من 50% من الأشخاص المصابين بسرطان الكبد الأولي مصابون، أيضا، بتليف الكبد (ندبة في الكبد، يكون سببها في العادة شرب مفرط للكحول، اليرقان B و C وترسب الأصبغة الدموية، أمراض يمكن أن تسبب ضررا غير قابل للعكس وقصور الكبد).

- الأشخاص المصابون بالمرض الجيني داء ترسب الأصبغة الدموية، الذي يتجلى في نقص كميات كبيرة من الحديد، معرضون بدرجة كبيرة للإصابة بسرطان الكبد.

## المواد المسرطنة التي تسبب سرطان الكبد

العديد من المواد المسرطنة تعتبر من أهم اسباب سرطان الكبد الأولي، من بينها:

- بعض مبيدات الأعشاب
- بعض المواد الكيماوية مثل فينيل الكلوريد (vinyl chloride) والزرنيخ (Arsenic)

- التدخين، وخصوصا عند اقترانه بشرب كميات مفرطة من المشروبات الكحولية
- قد يؤدي ألفا توكسين - ذيفان مسرطن، ينتجه نوع معين من العفن (الفطريات)- أيضا إلى نشوء هذا المرض. يتواجد ألفا توكسين أحيانا في القمح، الفستق، الرز، الذرة وفول الصويا.

## عوامل خطر أخرى:

- جنس المريض
- الوزن
- استعمال ستيرويدات ابتنائية (ستيرويدات لبناء الجسم - Anabolic steroids).

## تشخيص سرطان الكبد

من غير المتبع إجراء فحوصات التصوير بالأشعة بشكل جارف لجميع المرضى من أجل الكشف المبكر عن سرطان الكبد الأولي، ولكن من الممكن فحص إمكانية إجراء هذه الفحوصات للأشخاص الأكثر عرضة للإصابة، بدرجة مرتفعة. وبالرغم من هذا، لم تستطع الأبحاث أن تحدد ما إذا كان التصوير بالأشعة ملائما وناجعا لجميع المرضى.

من أجل تشخيص سرطان الكبد، ينبغي أولاً نفي (استبعاد) وجود أمراض أخرى قد تكون لها الأعراض ذاتها.

الأشخاص المعرضون بدرجة مرتفعة لخطر الإصابة بالمرض هم المدمنون على شرب الكحول والمصابون باليرقان المزمن.

## فحوصات إضافية:

- فحوصات دم: تقيس هذه الفحوصات مؤشرات الورم (العلامات) - مواد يرتفع مستواها في الدم عند الإصابة بمرض سرطان الكبد، من الممكن أن تساعد في تحديد التشخيص. يفرز سرطان الكبد مادة تدعى ألفا فيتوبروتين (AFP)،  $\alpha$  - fetoprotein ، -بروتين جنيني ألفا)، والموجودة بشكل عام لدى الأجنة وتختفي وقت الولادة .

فحص التصوير بالموجات فوق الصوتية: (Ultrasound) هو الفحص الأول الذي يتم

إجراؤه بشكل عام، وذلك لأنه يمكن الكشف، بواسطته، عن أورام بحجم 1 سم.

التصوير المقطعي المحوسب (CT - Computed tomography) والتصوير بالرنين المغناطيسي (MRI - Magnetic resonance imaging) من الممكن أن يكشف هذان الفحصان عن أورام موجودة وأن يساعدا في تصنيفها وتدرجها، لكنهما يعطيان في العديد من الأحيان نتائج إيجابية مغلوطة.

الاختزاع (Biopsy) هو الفحص الوحيد القادر على التمييز بين ورم حميد وآخر خبيث (سرطاني).

تنظير البطن (Laparoscopy) هو فحص ناجع لاكتشاف الأورام الصغيرة، ولتحديد محيط التليف في الكبد، أو أخذ عينة بهدف الاختزاع (Biopsy) وغير ذلك.

تنظير البطن أو المسح فوق الصوتي (المسح بالموجات فوق الصوتية) خلال إجراء عملية جراحية.

## علاج سرطان الكبد

جميع أنواع سرطان الكبد هي من بين الأمراض التي من الصعب معالجتها. في حالات قليلة، يتم اكتشاف السرطان الأولي في الكبد في مرحلة مبكرة - المرحلة التي تكون فرص معالجته جيدة. كذلك، تصعب معالجة سرطان الكبد الثانوي أو نقائل (Metastases) سرطان آخر قد انتشرت وانتقلت إلى الكبد، وذلك لأن السرطان في هذه الحالة يكون قد انتشر وتفشى.

زيادة على ذلك، فإن الشبكات المعقدة للأوعية الدموية وقنوات المرارة في الكبد تصعب عملية إجراء الجراحة. يركز علاج سرطان الكبد على تحسين شعور المريض ومحاولة إطالة حياته.

يمكن إزالة الأورام التي تم اكتشافها في المراحل الأولية، بواسطة الجراحة. ويكون المرضى الذين يتم اكتشاف الورم لديهم في مراحل أولية أصحاب أكبر فرص الشفاء.

للأسف الشديد، في معظم حالات سرطان الكبد لا يمكن إجراء الجراحة، وذلك إما لأن السرطان قد أصبح في مرحلة متقدمة، وإما لأن الإصابة هي وخيمة جدا مما يحول دون قدرته على الصمود في الجراحة.

في حالات معينة يمكن تقليص حجم الأورام بواسطة المعالجة الكيميائية (Chemotherapy)، مما يمكن من إزالتها، بعد ذلك، بواسطة الجراحة.

من الممكن القيام بهذه العملية ذاتها، أحيانا، بواسطة الإيثانول (Ethanol) ، بدلا من المعالجة الكيميائية. لا تتوفر إثباتات على أن المعالجة الكيميائية التالية للجراحة تزيد من فرص نجاة المريض. المرضى الذين نجحت معالجتهم فتراجع المرض لديهم إلى حالة الهدأة، ينبغي أن يظلوا تحت المراقبة والمتابعة اللصيقتين، وذلك للتأكد من عدم معاودة المرض.

### **المعالجة بالتبريد: (Cryotherapy) طريقة علاجية يتم خلالها تجميد**

الورم، والكَيّ بواسطة طاقة موجات الراديو (RFA) بهدف إبادة الورم، وهي طريقة يمكن استخدامها في حالات معينة من سرطان الكبد.

### **المعالجة الإشعاعية: (Radiotherapy) يمكن تنفيذ هذه العلاجات بطرق**

عدة، غير أن لها محدوديات، وذلك نظرا لانخفاض قدرة الكبد على تحمل الإشعاع. يستعمل الإشعاع لتخفيف الأعراض خارج الكبد أو لتخفيف الألم في الكبد، عن طريق تقليص الورم.

### **في العلاج بواسطة الإصمام (Embolization) ، يتم استخدام المعالجة**

الكيميائية أو المعالجة الإشعاعية، لوقف تزويد الورم بالدم. يمكن استعمال هذه الطريقة لمعالجة أورام كبيرة الحجم.

**زرع الكبد:** هو خيار محفوظ لمعالجة المرضى الذين يعانون من سرطان الكبد والتليف

الكبدى معا. هناك خطر كبير في هذه العملية، ولكن فيها أيضا فرصا للشفاء.

يشمل سرطان الكبد المتقدم إستعمال علاج واحد بشكل مركّز. يمكن أحيانا وقف انتشار السرطان والتخفيف من الأوجاع، بواسطة استخدام المعالجة الكيميائية والمعالجة الإشعاعية بجرعات منخفضة. ولكن مع ذلك، فإن نجاعة هذا النوع من العلاجات لهذا السرطان منخفضة .

يحصل معظم المرضى على مزيج من مسكّنات الأوجاع القوية وأدوية لتخفيف الغثيان والانتفاخ، أو لتحسين الشهية. الدواء سورافينيب (Sorafenib) هو الأول الذي يحقق تحسنا ملحوظا جدا في الوضع العام للمرضى المصابين بسرطان الكبد المتقدم، ومن غير الممكن معالجتهم بواسطة المعالجة الكيميائية.



يستطيع الأشخاص المصابون بسرطان الكبد المتقدم اختيار انضمامهم إلى أبحاث سريرية تفحص طرقا علاجية حديثة. تشمل هذه الأبحاث تجميد خلايا الورم بهدف إبادةها، استعمال وكلاء بيولوجيين (Biological agents) ، مثل إنترفيرون (Interferon) أو إنترلوكين 2 (Interlokin 2) بهدف تحفيز جهاز المناعة على مهاجمة الخلايا السرطانية، بواسطة استخدام بروتينات اصطناعية أعدت خصيصا لإبادة أورام معينة.

## المصادر

- Alizadeh AA, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature. 2000;403:503–511. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Arii S, Mise M, Harada T, Furutani M, Ishigami S, Niwano M, Mizumoto M, Fukumoto M, Imamura M. Overexpression of matrix metalloproteinase 9 gene in hepatocellular carcinoma with invasive potential. Hepatology. 1996;24:316–322. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Beasley RP. Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. Cancer. 1988;61:1942–1956. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Caruso ML, Valentini AM. Overexpression of p53 in a large series of patients with hepatocellular carcinoma: a clinicopathological correlation. Anticancer Res. 1999;19:3853–3856. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Cho RJ, Huang M, Dong H, Steinmetz L, Sapinoso L, Hampton G, Elledge SJ, Davis RW, Lockhart DJ, Campbell MJ. Transcriptional regulation and function during the human cell cycle. Nat Genet. 2001;27:48–54. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

- Diehn M, Eisen MB, Botstein D, Brown PO. Large-scale identification of secreted and membrane-associated gene products using DNA microarrays. Nat Genet. 2000;25:58–62. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, Botstein D. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95:14863–14688. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Golub TR, et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. Science. 1999;286:531–537. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Gressner AM, Krull N, Bachem MG. Regulation of proteoglycan expression in fibrotic liver and cultured fat-storing cells. Pathol Res Pract. 1994;190:864–882. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Hasan F, Jeffers LJ, De Medina M, Reddy KR, Parker T, Schiff ER, Houghton M, Choo QL, Kuo G. Hepatitis C-associated hepatocellular carcinoma. Hepatology. 1990;12:589–591. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

- Hayasaka A, Suzuki N, Fujimoto N, Iwama S, Fukuyama E, Kanda Y, Saisho H. Elevated plasma levels of matrix metalloproteinase-9 (92-kd type IV collagenase/gelatinase B) in hepatocellular carcinoma. Hepatology. 1996;24:1058–1062. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Hsu HC, Tseng HJ, Lai PL, Lee PH, Peng SY. Expression of p53 gene in 184 unifocal hepatocellular carcinomas: association with tumor growth and invasiveness. Cancer Res. 1993;53:4691–4694. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Johnson PJ. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma. Clin Liver Dis. 2001;5:145–159. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Kyte J, Doolittle RF. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. J Mol Biol. 1982;157:105–132. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Lin TY, Lee CS, Chen KM, Chen CC. Role of surgery in the treatment of primary carcinoma of the liver: a 31-year experience. Br J Surg. 1987;74:839–842. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

- Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S, Hart I, Foltz CM, Shafie S. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature*. 1980;284:67–68. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Maehara Y, Kabashima A, Koga T, Tokunaga E, Takeuchi H, Kakeji Y, Sugimachi K. Vascular invasion and potential for tumor angiogenesis and metastasis in gastric carcinoma. *Surgery*. 2000;128:408–416. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Murakami K, Sakukawa R, Ikeda T, Matsuura T, Hasumura S, Nagamori S, Yamada Y, Saiki I. Invasiveness of hepatocellular carcinoma cell lines: contribution of membrane-type 1 matrix metalloproteinase. *Neoplasia*. 1999;1:424–430. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Ng IO, Lai EC, Chan AS, So MK. Overexpression of p53 in hepatocellular carcinomas: a clinicopathological and prognostic correlation. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 1995;10:250–255. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

- Nielsen H, Engelbrecht J, Brunak S, von Heijne G. Identification of prokaryotic and eukaryotic signal peptides and prediction of their cleavage sites. Protein Eng. 1997;10:1–6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Okabe H, Satoh S, Kato T, Kitahara O, Yanagawa R, Yamaoka Y, Tsunoda T, Furukawa Y, Nakamura Y. Genome-wide analysis of gene expression in human hepatocellular carcinomas using cDNA microarray: identification of genes involved in viral carcinogenesis and tumor progression. Cancer Res. 2001;61:2129–2137. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Okuda K, Obata H, Nakajima Y, Ohtsuki T, Okazaki N, Ohnishi K. Prognosis of primary hepatocellular carcinoma. Hepatology. 1984;4:3S–6S. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Perou CM, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. Proc Natl Acad Sci USA. 1999;96:9212–9217. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Perou CM, et al. Molecular portraits of human breast tumors. Nature. 2000;406:747–752. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

- Pollack JR, Perou CM, Alizadeh AA, Eisen MB, Pergamenschikov A, Williams CF, Jeffrey SS, Botstein D, Brown PO. Genome-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. Nat Genet. 1999;23:41–46. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Ross DT, et al. Systematic variation in gene expression patterns in human cancer cell lines. Nat Genet. 2000;24:227–235. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Sato H, Takino T, Okada Y, Cao J, Shinagawa A, Yamamoto E, Seiki M. A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumor cells. Nature. 1994;370:61–65. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Sherlock G, et al. The Stanford Microarray Database. Nucleic Acids Res. 2001;29:152–155. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Shiraishi K, et al. A comparison of DNA copy number changes detected by comparative genomic hybridization in malignancies of the liver, biliary tract and pancreas. Oncology. 2001;60:151–161. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

- Vazquez F, Hastings G, Ortega MA, Lane TF, Oikemus S, Lombardo M, Iruela-Arispe ML. METH-1, a human ortholog of ADAMTS-1, and METH-2 are members of a new family of proteins with angio-inhibitory activity. J Biol Chem. 1999;274:23349–23357. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Welsh JB, Zarrinkar PP, Sapinoso LM, Kern SG, Behling CA, Monk BJ, Lockhart DJ, Burger RA, Hampton GM. Analysis of gene expression profiles in normal and neoplastic ovarian tissue samples identifies candidate molecular markers of epithelial ovarian cancer. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98:1176–1181. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- Wong N, Lai P, Lee SW, Fan S, Pang E, Liew CT, Sheng Z, Lau JW, Johnson PJ. Assessment of genetic changes in hepatocellular carcinoma by comparative genomic hybridization analysis: relationship to disease stage, tumor size, and cirrhosis. Am J Pathol. 1999;154:37–43. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]



- Zhao R, Gish K, Murphy M, Yin Y, Notterman D, Hoffman WH, Tom E, Mack DH, Levine AJ. Analysis of p53-regulated gene expression patterns using oligonucleotide arrays. Genes Dev. 2000;14:981–993. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]