Journal of Veterinary Research
J Vet Res: Volume 74, Number 3, 2019
Review Articles

Application of Omics Technology in Diagnosis of the Canine Cancers

Mohamad Zamani-Ahmadmahmudi[1], Shahrzad Azizi[2]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran*
[2]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran*

10.22059/jvr.2018.240767.2692
J Vet Res. 74(3): 296-303

Abstract

Nowadays, with the development of new technologies, improved and progressed methods have been taken to diagnose, treat and prevent cancers. Pathologic study and some molecular methods have been helpful in diagnosing and predicting cancer but these methods are not enough in many cases. Omics technology investigates many parts of cells such as genes, proteins, transcripts, and metabolites simultaneously. This procedure provides a more real and general feature of cellular processes, especially in cancer cells.

In human, Omics technology is widely used to diagnose and treat various cancers and predict prognosis of tumors and survival of patients. In parallel to the studies of cancers in human, similar investigations were conducted in the canine cancers.

Regarding the importance of Omics method in oncology, we described various Omics techniques including genomics, transcriptomics, and proteoimcs. In addition, corresponding studies carried out in different canine cancers were summarized in the next step.

Keywords: Omics, cancer, canine, pathology, lymphoma

Copyright © 2019. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: zamani_2012@uk.ac.ir **Tel/Fax:** 034-31322944

How to cite this article:

Zamani-Ahmadmahmudi, M., & Azizi, S. (2019). Application of Omics Technology in Diagnosis of the Canine Cancers. *J Vet Res, 74*(3), 296-303. doi:10.22059/jvr.2018.240767.2692

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Representing schematic image of different omics techniques.

مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۴، شماره ۳، ۱۳۹۸
مقاله مروری

کاربرد فناوری امیکس (Omics) در تشخیص تومورهای سگ

محمد زمانی‌احمد محمودی[۱]، شهرزاد عزیزی[۲]

[۱] گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
[۲] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۰۷ بهمن ۱۳۹۷ **تاریخ پذیرش:** ۲۸ اردیبهشت ۱۳۹۸ **تاریخ انتشار آنلاین:** ۱ شهریورماه ۱۳۹۸

10.22059/jvr.2018.240767.2692

چکیده

امروزه با گسترش تکنولوژی‌های نوین گامی بلند در جهت تشخیص، درمان و پیشگیری سرطان برداشته شده است. در گذشته هر چند تکنیک‌های مختلف پاتولوژی و برخی روش‌های مولکولی در تشخیص بیماری سرطان و تعیین پیش‌آگهی آن کمک کننده بودند، لیکن این روش‌ها از جهات مختلف دارای نقایصی هستند.

فناوری امیکس به بررسی همزمان تعداد زیادی از یک جز سلولی (مانند ژن، پروتئین، رونوشت و متابولیت) می‌پردازد. آنالیز همزمان سبب می‌شود تا تصویر کلی‌تر و واقعی‌تری از روند حوادث سلولی بویژه در سلول‌های سرطانی بدست آید.

امروزه این تکنولوژی در انسان بصورت گسترده‌ای جهت تشخیص و درمان سرطان و همچنین تعیین پیش‌آگهی و تخمین میزان بقای بیماران مبتلا مورد استفاده قرار می‌گیرد. همزمان و همگام با مطالعات انجام گرفته در انسان، مطالعات مشابهی در مقیاس کمتر در سگ انجام شده است.

نظر به اهمیت معرفی روش‌های نوین در حوزه سرطان‌شناسی، در مقاله حاضر به معرفی مهمترین روش‌های امیکس یعنی ژنومیکس، ترانس‌کریپتومیکس و پروتئومیکس پرداخته شده است. همچنین در ادامه به کاربرد هر کدام از این روش‌ها در سرطان‌های سگ در قالب مطالعات انجام گرفته اشاره شده است.

کلمات کلیدی: امیکس، سرطان، سگ، پاتولوژی، لمفوم

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: محمد زمانی‌احمد محمودی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
پست الکترونیکی: zamani_2012@uk.ac.ir

مقدمه

امروزه با گسترش تکنولوژی‌های نوین گامی بلند در جهت تشخیص، درمان و پیشگیری سرطان برداشته شده است. در گذشته هر چند تکنیک‌های مختلف پاتولوژی و برخی روش‌های مولکولی در تشخیص سرطان و تعیین پیش‌آگهی آن به کاربرده می شد، اما این روش‌ها از جهات مختلف دارای نقایصی هستند که سبب محدود کردن توان پاتولوژیست‌ها، انکولوژیست‌ها و سایر متخصصین مربوطه در تشخیص و درمان سرطان ها می‌شوند (۳۲، ۲۶، ۲۳، ۲۰، ۵). بعنوان مثال روش‌های مرسوم هیستوپاتولوژی فقط در کمک به تشخیص نوع سرطان و تعیین تحت‌تیپ آن کمک کننده است. در پاتولوژی هدف عمده تعیین تحت‌تیپ‌های سرطان، کمک به درمان موثرتر، تعیین بهتر پیش‌آگهی و زمان بقای بیمار است. ولی در موارد بسیاری این تشخیص و تعیین تحت تیپ‌ها دارای محدودیت‌های است که سبب می‌شود اولاً متخصص بالینی در تعیین درمان موثر و ثانیاً در تعیین پیش‌آگهی و میزان بقای بیمار دچار تردید و سردرگمی باشند (۳۷، ۳۱، ۲۰). به همین دلیل است که هر چند سال یکبار تقسیم‌بندی‌های پاتولوژیک بویژه در سرطان لمفوم و سرطان‌های خون چه در انسان و چه در حیوانات بویژه سگ مورد تصحیح و بازبینی قرار می‌گیرد. بعنوان مثال سیستم های مختلفی جهت تقسیم‌بندی لمفوم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد که البته اختلافات زیادی با هم دیگر دارند. تفسیر مورفولوژی سلولهای نئوپلاستیک لمفوم توسط سه تقسیم‌بندی صورت می‌گیرد که شامل تقسیم‌بندی انستیتو ملی سرطان (NCI: National cancer institute)، روش Kiel و تقسیم بندی بازنگری شده اروپایی-آمریکایی Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms می‌شوند. در فرمولاسیون مربوط به انستیتو ملی سرطان (NCI) براساس مورفولوژی و ساختار غده لنفاوی در روش Kiel براساس مورفولوژی، ساختار غده لنفاوی و ایمنوفنوتیپینگ و در روش REAL بر اساس مورفولوژی، ایمنوفنوتیپینگ و سیتوژنتیک تقسیم بندی صورت می گیرد. سیستم REAL در حیوانات انجام نشده است (۴).

همچنین استفاده از بیومارکرها بویژه با کمک روش ایمنوهیستوشیمی (IHC) نیز گامی موثر در تشخیص سرطان بوده است. لیکن این روش هم دارای محدودیت‌های مخصوص به خود است. بعنوان مثال برخی از نشانگرهای تکثیر سلولی مانند Ki-67، PCNA و AgNOR بعنوان پیش‌بینی کننده مناسب پیش‌آگهی ارزیابی شده‌اند. در واقع Ki-67 و AgNOR بعنوان نشانگرهای پیش‌آگهی مناسب در لنفوم بدخیم انسان و سگ گزارش شده است، بطوریکه AgNOR می‌تواند برای ارزیابی لمفوم غیر هوچکینی انسان و سگ استفاده شود (۳۸، ۱۹، ۱۴، ۱۱). با این وجود استفاده از یک مارکر منفرد جهت تشخیص یک سرطان دارای حساسیت و ویژگی پایینی می‌باشد. مثلا جستجوی بیومارکرهای انفرادی مانند CEA، CA15-3 و یا CA27-29 با وجود کاربرد بالینی‌شان دارای حساسیت و ویژگی پایینی جهت تشخیص سرطان پستان هستند و تنها در بیماران با مراحل پیشرفته قابل استفاده اند (۳۴).

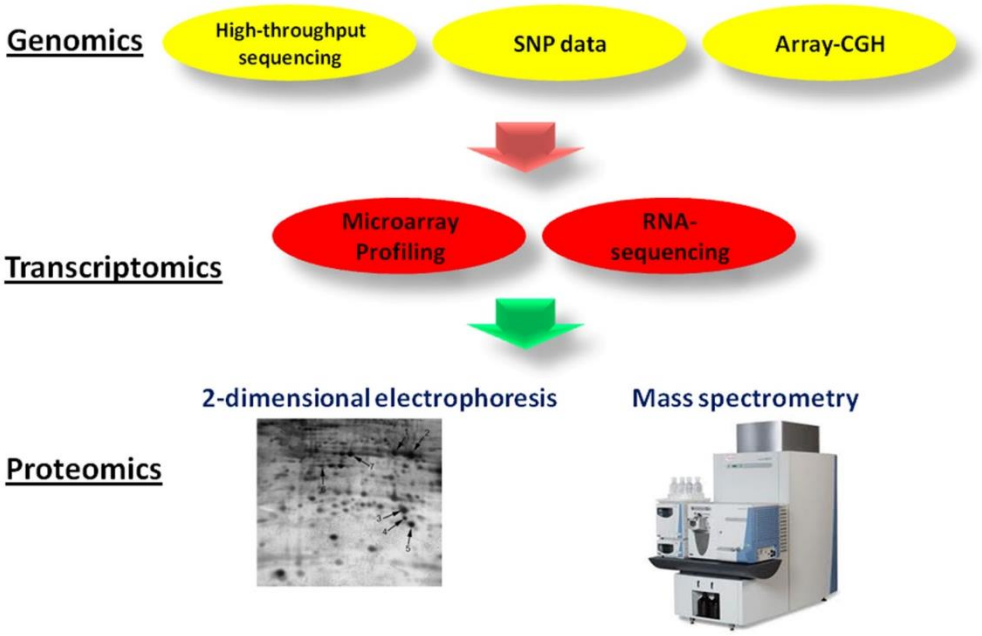
امروزه با گسترش تکنیک های با خروجی بالا (High-throughput) مانند توالی RNA ، تکنیک Illumina، میکروآری (Microarray) و پروتئومیکس (Proteomics) می توان با انجام یک تجربه، حجم بالایی از دیتا را همزمان در مورد یک سلول و یا ارگانیسم بدست آورد (۳۵، ۳۳). اطلاعات حاصل از این روش‌ها امیکس (Omics) نامیده می‌شود که بر اساس اینکه کدام جز سلولی مورد بررسی قرار گرفته باشد، عناوین مختلفی بخود می‌گیرد. بعنوان مثال اطلاعات حاصل از بررسی همزمان تعداد زیادی ژن، رونوشت (mRNA)، پروتئین و متابولیت را بترتیب ژنومیکس (Genomics)، ترانس‌کریپتومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس می‌نامند (۳۷، ۲۱). از جمله مهمترین این روش ها روش میکروآری می‌باشد که به فرمت های مختلف انجام می‌گیرد که معمول‌ترین آنها روش DNA-microarray است، چراکه بخوبی می توان با یک چیپ آن بیان چندین هزار ژن را ارزیابی کرد (۳۵). استفاده از این روش‌ها سبب شده است تا توده‌های سرطانی جامد و سرطانی های خونی با دقت بیشتری تقسیم‌بندی شوند، که خود در ادامه سبب تعیین دقیق‌تر پیش‌آگهی و پیش‌گویی بهتر زمان بقای تام (Overall survival) و بقای رهایی از بیماری (Progression free survival) می‌شود. بعنوان مثال با استفاده از روش بررسی پروفایل بیان ژنی، سرطان لمفوم سلول‌های B بزرگ منتشر (DLBCL: Diffuse large B-cell lymphoma) به سه تحت تیپ شامل activated B-cell lymphoma، germinal center-like B-cell lymphoma، و peripheral mediastinal B-cell lymphoma تقسیم شده است که با تعیین نوع پروگنوز و زمان بقای بیماران بخوبی سازگار است (۱).

هدف: در این مقاله به اختصار به معرفی روش‌های پرکابرد مختلف امیکس (ژنومیکس، ترانسکریپتومیکس و پروتئومیکس) پرداخته شده است و در ادامه کاربرد این روش‌ها در تشخیص و درمان سرطان‌های سگ مورد بحث قرار می‌گیرد. در بحث سرطان‌شناسی سگ از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است چراکه انواع سرطان‌ها در این حیوان شایع بوده و همچنین محققین بصورت گسترده‌ای از آن بعنوان یک مدل حیوانی ارزشمند سرطان بهره می‌برند. به همین جهت روش‌های مختلف امیکس در انواع سرطان‌ها سگ مورد استفاده قرارگرفته است. در مورد سایر حیوانات مطالعات از این دست یا وجود نداشته و یا بسیار اندک است. امید است که محققین تا حد امکان با این زمینه جدید بیوتکنولوژی آشنا گردند.

نتایج و بحث

انواع سرطان‌ها در سگ: در سگ مانند انسان انواع و اقسام سرطان رخ می‌دهد. همین تنوع و گستردگی انواع سرطان در سگ سبب شده است تا سگ بعنوان یک مدل حیوانی مناسب سرطان کاربرد فراوان داشته باشد. در کنار رخداد سرطان‌های غیر شایع مانند سرطان ملانوما، همانژیوسارکوما، استئوسارکوما، سرطان‌های کبدی، کلیوی و مغزی، انواع سرطان شایع سرطان در سگ شامل سرطان پستان، لمفوما، انواع لوسمی‌ها و سرطان‌های جلدی می‌باشند. بطور کلی رخداد سرطان در سگ به میزان ۹۹/۳ مورد در سگ‌های نر و ۲۷۲/۱ مورد در سگ‌های ماده به ازای هر ۱۰۰ هزار سگ تخمین زده می‌شود. در برخی مطالعات سرطان پستان بعنوان شایع‌ترین سرطان در سگ شناخته شده است که رخداد آن را تا ۷۰درصد انواع سرطان در سگ دانسته‌اند. بالاترین میزان رخداد بترتیب برای سرطان پستان (میزان رخداد: ۱۹۱/۸ مورد)، لمفومای غیرهوچکینی (میزان رخداد: ۲۲/۹ مورد)، لمفومای هوچکینی (میزان رخداد: ۱۹/۹ مورد) و سرطان‌های جلدی (میزان رخداد: ۱۹/۱ مورد) ثبت شده است. سرطان‌های جلدی (پوست) هم از جمله شایع‌ترین نوع سرطان در سگ هستند بطوری که برخی آن را شایع‌تر از انواع دیگر سرطان دانسته‌اند. شایع‌ترین انواع سرطان جلدی شامل هیستوسیتوم جلدی، لیپوما، آدنوما، سارکوم بافت نرم و سرطان ماست سل می‌باشد (۲۳، ۶). در ایران متاسفانه به دلایل مختلف اطلاعات صحیحی از رخداد انواع مختلف سرطان‌ها در سگ در دسترس نمی‌باشد. جمعیت اندک سگ‌ها بعنوان حیوان خانگی (پت) در ایران در مقایسه با سایر کشورها بویژه کشورهای غربی و ایالات متحده سبب شده است که جمعیت اندکی از سگ‌ها جهت کنترل رخداد انواع سرطان توسط محققین در دسترس باشد. درصد بالایی از رخداد سرطان‌ها در جمعیت‌های سگ‌های ولگرد به دلیل مشاهده نشدن توسط دامپزشکان تشخیص داده نمی‌شود. از طرف دیگر بدلیل

محدود بودن امکانات در سگ‌های صاحب‌دار نیز در بسیاری از موارد سرطان تشخیص داده نمی‌شود و یا نوع آن بخوبی تعیین نمی‌شود. همچنین در موارد تشخیص نوع سرطان، پیگیری ادامه روند تشخیصی، درمان و تعیین زمان بقای بیمار گاهاً بدلیل عدم همکاری صاحب حیوان امکان‌پذیر نمی‌باشد.



شکل ۱. خلاصه‌ای از روش‌های مختلف امیکس

ژنومیکس: ژنومیکس مطالعه کل ژنوم یک ارگانیسم بصورت همزمان است. در این روش با کمک تکنولوژی تعیین توالی DNA، عملکرد و ساختار کل ژنوم مورد ارزیابی قرار می‌گیرد که اینکار بوسیله نرم‌افزارهای پیشرفته بیوانفورماتیک صورت می‌پذیرد. در انسان حدود سه میلیارد جفت باز در DNA وجود دارد که ۲۰۰۰۰ ژن را کد می‌کنند. نواحی کد شونده ۱-۲درصد کل ژنوم و نواحی غیر کد شونده ۹۹-۹۸درصد ژنوم را شامل می شوند. نواحی غیرکدشونده عملکردهای ساختاری و تنظیمی را بر عهده دارند (۲۱). اطلاعات تعیین توالی DNA با کمک روش‌های مختلفی بدست می‌آید که از آنجمله می توان به تعیین توالی شات‌گان Shotgun و تعیین توالی با خروج بالا High-throughput sequencing (مانند تکنیک ایلومینا Illumina) اشاره کرد. با کمک همین روش‌ها بود که برای اولین بار در سال ۲۰۰۱، اولین کپی دیجیتالی ژنوم کامل انسان توسط دو گروه از محققین شامل محققین تحت حمایت دولت (لاندر و همکاران) و محققینی از یک سازمان خصوصی (ونتر و همکاران) منتشر شد. با استخراج حجم عظیم اطلاعات حاصل از این پروژه، محققین حدود ۲۰ هزار ژن کد کننده پروتئین، تعداد زیادی Single nucleotide polymorphism و سایر تغییرات ژنتیکی را در بین افراد، نژادها و گروه‌های مختلف مورد شناسایی قرار داده‌اند (۳۷, ۲۱). همچنین اولین نسخه دیجیتالی ژنوم کامل سگ نیز در سال ۲۰۰۵ منتشر شد که خود تحولی عظیم در شناسایی بیولوژی بیماری‌های سگ و بویژه سرطان بوده و هست (۱۸). یکی دیگر از مهمترین روش‌های که در ژنومیکس بکار می‌رود Comparative genomic hybridization array است که در آن پروب‌هایی در اندازه‌های مختلف به ژنوم باند شده و در ادامه میزان تغییر در تعداد کپی ژن‌ها Copy number alteration (CAN) تعیین می‌گردد.

از تکنیک‌های مختلف ژنومیکس جهت بررسی سرطان‌های حیوانات استفاده شده است. یکی از سرشناس‌ترین محققین در این زمینه Matthew Breen است که در ادامه برخی از نتایج این محقق ذکر می‌شود. این محقق تحقیقات ژنومیکس وسیعی را بروی انواع سرطان‌های سگ انجام داده است. بعنوان مثال با کمک روش aCGH جهت تعیین میزان تغییر در تعداد کپی ژن‌ها (CNA)، این محقق و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تغییرات CNAها بخوبی می تواند سرطان ALL را از AML و سرطان B-CLL را از T-CLL تفریق سازد (۳۰). همچنین آن‌ها با کمک همین روش در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که ژن RUNX2 بعنوان یک فاکتور پیشگوئی‌کننده و ژن TUSC3

بعنوان یک ژن سرکوب‌گر سرطان در سرطان استئوسارکوما در سگ مطرح است (۲). بعلاوه نتایج بدست آمده با کمک روش تعیین توالی کل اگزون‌ها (Whole exome sequencing) نشان داد که چگونه حضور موتاسیون‌های ژنتیکی سبب بروز بالاتر لمفوم در برخی نژادهای سگ می‌شود. وجود موتاسیون در ژن‌های TRAF3-MAP3K14، FBXW7 و POT1 سبب بروز بالاتر لمفوم B در سگ‌های نژاد گلدن‌رتریور و کوکراسپانیل می‌شود، درحالی‌که جهش در مسیر PTEN-mTOR سبب بروز بالاتر لمفوم T در نژاد باکسر می‌شود (۶).

نتایج دیگر محققین حاصل از بررسی دیتای CNAها در انواع سرطان های معمول در سگ شامل سرطان پستان، کولورکتال، استئوسارکوما و انواع لوسمی نشان داد که ژن‌های کد کننده میکروآران‌ای‌ها بصورن معناداری در نواحی وابسته به سرطان بیشتر از سایر نواحی ژنومی قرار دارند که نشان از نقش مهم میکروآران‌ای‌ها در پاتوژنز سرطان‌های شایع سگ دارد (۳۹).

ترانس‌کریپتومیکس: می‌توان گفت که آنالیز میزان بیان رونوشت‌ها مهمترین و پرکاربردترین تکنیک امیکس است. در این روش با کمک چیپ‌های مخصوص همزمان بیان تعداد بسیار زیادی ژن مورد سنجش قرار می‌گیرد و یک تصویر کلی از فعالیت رونویسی سلول در شرایط چندگانه فراهم می‌کند. مرسوم‌ترین تکنیک در این راستا میکروآری است و به آنالیز آن بررسی پروفایل بیان ژنی (GEP) گویند (۷). بعنوان مثال چیپ‌های ساخته شده توسط شرکت Affymetirx برای سگ بیش از ۴۲ هزار رونوشت را مورد ارزیابی قرار می‌دهد. پس از حصول نتایج بیان ژن‌ها، با کمک روش‌ها و نرم افزارهای متنوع بیوانفورماتیکی این دیتا در جهات مختلف و با اهداف گوناگون مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد تا حجم عظیمی از اطلاعات از آن‌ها بدست آید. در این راستا ژن‌ها به لحاظ کاهش یا افزایش بیان، نقش محتمل آن‌ها (مثلاً بعنوان انکوژن، سرکوب‌گر سرطان، تنظیم بیان و....)، حضور آن‌ها در سیکل‌های سلولی، اهمیت آن‌ها بعنوان عوامل پیش‌آگهی دهنده (پروگنوستیک) مورد آزمون قرار می‌گیرند (۱۳، ۳). بعنوان مثال می توان با مقایسه بیان ژن‌ها در چندین نمونه سرطانی، ژن‌های که تنها در چند نمونه سرطان اندک دارای بیان معنادار هستند را حذف کرده و ژن‌های که در اکثریت افراد مبتلا دارای بیان معنادار می‌باشند، بعنوان ژن‌های دخیل در روند سرطان‌زایی معرفی می‌شوند (۳۷).

همگام با مطالعات انجام شده در انسان، در سرطان های سگ مطالعات پررنگی با کمک آنالیز ترانس‌کریپتومیکس و بررسی پروفایل بیانی انجام شده است. بررسی پروفایل ژنی سرطان لمفوم در سگ با کمک روش میکروآری نشان داد که یک سری ژن خاص شامل ۱۱۸۰ ژن در سگ بصورت موثر DLBCL سگ را به گروه‌های ل لمفوم B تحریک شده (Activated germinal center-like B-cell lymphoma)، لمفوم B مرکز زاینده Germinal center B-cell lymphoma تفکیک می‌کند. به علاوه محققین نشان دادند که زمان بقای تام و بقای رهایی از بیماری به طور قابل توجهی بین دو گروه ایجاد شده متفاوت بودند (۲۹). همچنین محققین توانستند سرطان لمفوم سگ را به سه زیر گروه مولکولی مجزا سازماندهی کنند که شامل: الف) لمفوم سلول‌های T با گرید بالا شامل لمفوم سلول‌های T لمفوبلاستیک و لمفوم سلول‌های T محیطی، ب) لمفوم سلول‌های T با گرید پایین شامل لمفوم ناحیه T (T-zone lymphoma) و ج) لمفوم سلول‌های B شامل لمفوم سلول‌های B حاشیه‌ای (Marginal B-cell lymphoma)، لمفوم بورکیت و لمفوم سلول‌های بزرگ B منتشر می‌باشند. در لمفوم سگ این طبقه‌بندی مولکولی می تواند قدرت پیش‌گوئی دهنده داشته باشد که با استفاده از روش نسبتاً ساده Real-Time RT-PCR می‌توان انجام داد (۱۰). Mudaliar و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه مشابه با و در ادامه مطالعه Richards و همکاران (۲۰۱۳)، روی مقایسه مسیر ژنی NF-kβ در سرطان لمفوم انسان و سگ فوکوس کردند. این محققین دیتای میکروآری مربوط به غدد لمفاوی نرمال و سرطان های سگهای مبتلا را بررسی کردند. در ادامه آنها با آنالیز دیتا بیان نمودند که هم در انسان و هم در سگ فعال شدن مسیر NF-kβ وجود دارد که سگ را هر چه بیشتر بعنوان یک مدل حیوانی مناسب تعریف می‌کرد. جهت تایید این نتایج با کمک روش میکروآری بافت بیان این مارکر در بین نمونه های سرطانی و سالم مقایسه شد که به تایید نتایج ژنی منجر شد (۲۹، ۲۵).

با ساخت شبکه تنظیم بیان ژنی به کمک دو دیتا بانک روابط ژنی یعنی MiMI و استرینگ (STRING)، Ahmadmahmudi Zamani و همکاران (۲۰۱۵)، نشان دادند که ژن‌های POLA1، DKC1، EGFR، RFC4، PTEN، POLA1، CDKN1A، MYCN، CDKN1A، BRCA1، PRKDC، NDUFB4، E2F4، E2F1، PCNA، ATP5J و MNAT1 بعنوان ژن‌های مهم (بحرانی) در سرطان DLBCL سگ است. در ادامه بیان شد که ژنهای بحرانی غالباً در مسیرهای سیگنالی شامل P53 signaling pathway، Rac CycD pathway، G1/S check point، chemokine signaling pathway، phosphatidylinositol signaling system و telomere maintenance دخیل هستند (۴۱). همچنین با کمک آنالیز کاکس چند متغیره و آزمون کاپلان میر، این محققین نشان دادند که ژن CCND1 بعنوان یک فاکتور پروگنوستیک مهم در سرطان لمفوم می‌باشد، بطوری‌که میزان زمان بقا در سگ‌های مبتلا به لمفوم B که دچار افزایش بیان این ژن هستند، بصورت معناداری بیش از سگ‌های دارای کاهش بیان آن می‌باشد (۴۰).

پروتئومیکس: واژه جدید پروتئوم یا پروتئومیکس اولین بار در سال ۱۹۹۵ معرفی شد (۳۶). آنالیز پروتئوم یک تلاش برای توصیف اساس مولکولی پاتوفیزیولوژی بیماری هاست. ترکیب پروتئین‌ها (پروتئوم) برخلاف ژنوم حالت فعال و دینامیک دارد. جهت توصیف مکانیسم‌های یک سلول زنده لازم است تا همزمان مخلوطی از تعداد زیادی پروتئین بررسی شود. فیلد ژنومیکس و پروتئومیکس از هم متفاوت ولی مکمل هم می باشند (۱۲). در پروسه پروتئومیکس ابتدا با کمک الکتروفورز دوبعدی به وسیله ژل پلی آکریل آمید دو بعدی مخلوط پروتئینی جداسازی می‌شوند (۲۷، ۱۶). در اولین بعد (مرحله)، جداسازی براساس pH ایزوالکتریک یا فوکوس ایزوالکتریک (Iso-electric focusing) انجام می‌شود. در دومین بعد، پروتئین ها بروی ژل پلی آکریل آمید (SDS-PAGE) براساس وزن مولکولی جداسازی می شوند. سپس نقاط (پروتئین ها) ایجاد شده بروی ژل توسط رنگهای کوماسی، نیترات نقره و یا فلورسان مشاهده می‌شوند (۱۲). در ادامه نقاط پروتئینی بروی ژل جدا شده و با کمک روش‌های مختلف مانند Mass spectrometry مورد شناسایی قرار می‌گیرند. در نهایت اطلاعات بدست آمده به کمک نرم‌افزارهای مخصوص مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرند (۹).

مطالعاتی توسط Klopfleisch و همکاران (۲۰۱۰)، و Klose و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از تکنیک الکتروفورز دو بعدی و یک روش اسپکترومتری (MALDI-TOF) جهت شناسایی پروتئین های دخیل در متاستاز سرطان پستان در سگ انجام گرفته است (۱۷، ۱۵). آن ها ۲۱ پروتئین با بیان معنادار در بین دو گروه بیمار (سگ‌های دچار متاستاز در مقابل سگ‌های فاقد متاستاز) بدست آوردند. برخی پروتئین های که دارای بیان کمتر در سرطان متاستاز دهنده نسبت به گروه بدون متاستاز بودند شامل Vinculin, maspin, peroxiredoxin 6, calretinin, and isocitrate dehyrogenase بودند و پروتئین های دیگری همچون coronin 1A, adenosin, thioredoxin-containing domain C5, PCNA, and bompain در سرطان های متاستاز دهنده نسبت به گروه بدون متاستاز دارای بیان بالاتری بودند. آنها نشان دادند که بیش از ۹۰درصد این پروتئین‌ها بین انسان و سگ مشترک است. همچنین Zamani-Ahmadmahmudi و همکاران (۲۰۱۳ و ۲۰۱۴)، با کمک یکی از تکنیک‌های پروتئومیکس به نام سرپا (Serological proteome analysis) اقدام به شناسایی اتوآنتی‌بادی‌ها علیه آنتی‌ژن‌های سرطانی در سگ‌های مبتلا به سرطان پستان پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که در سرم سگ‌های مبتلا به سرطان پستان در مقابل سگ‌های سالم اتوآنتی‌بادی علیه چهار پروتئین آلفا انولاز (ENO1)، تریوز فسفات ایزومراز (TIM)، منیزیوم سوپراکسید دیسموتاز (Mg-SOD) و فسفوگلیسیرات‌موتاز۱ (PGAM1) وجود دارد که می‌توانند بعنوان بیومارکرهای بالقوه مورد استقاده قرار گیرند (۴۳، ۴۲).

با کمک تکنیک ژل دو بعدی و Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight analysis، غده لمفاوی ۱۳ سگ سالم و ۱۱ سگ مبتلا به لمفوم B مورد مقایسه قرار گرفتند. یافته‌ها حاکی از آن بود که در نمونه‌های سرطان های پروتئین‌های پرولیداز، تریوز فسفات ایزومراز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز دچار کاهش بیان و Macrophage capping protein دچار افزایش بیان شدند (۲۲). همچنین تلاش شد تا با کمک رهیافت‌های پروتئومیکس و بیوانفورماتیک بیومارکرهای سرمی ارزشمند در سگ‌های مبتلا به لمفوم شناسایی شوند. در این تحقیق دو بیومارکر سرمی شناسایی شد که قادر بوند با ارزش پیش‌گوئی ۹۸٪ سگ‌های مبتلا به لمفوم را از سگ‌های سالم تفریق کنند (۲۸).

نتیجه گیری نهایی: در مقاله مذکور سعی بر آن شد تا محققان محترم تا حدودی با اهمیت فناورهای نوین در تشخیص و درمان سرطان در سگ آشنا گردند. نظر به توسعه روزافزون این تکنولوژی‌های جدید، فراگیری و کاربرد آن‌ها در حوزه سرطان‌شناسی (انکولوژی) دامپزشکی اجتناب ناپذیر خواهد بود. برخلاف انسان که بانک‌های اطلاعاتی مربوطه حاوی تعدادی بالای بیماران بهمراه حجم فراوان اطلاعات امیکس می‌باشد، این نمونه‌ها و اطلاعات در مورد حیوانات بسیار اندک و ناقص هستند. امید است که با توجه به افزایش بیشتر مطالعات در این زمینه، بانک‌های اطلاعاتی دامپزشکی نیز روز به روز تقویت شوند تا بعنوان منابعی مهم در اختیار محققین انکولوژی دامپزشکی قرار گیرند تا آن‌ها به کاوش هرچه بیشتر در بیولوژی سرطان های حیوانات اهلی بپردازند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از جناب آقای حمید رضایی که زحمت ویراستاری مقاله مذکور را داشتند تشکر و قدردانی بنمایند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Alizadeh, A.A., Eisen, M.B., Davis, R.E., Ma, C., Lossos, I.S., Rosenwald, A., Boldrick, J.C., Sabet, H., Tran, T., Yu, X., Powell, J.I., Yang, L., Marti, G.E., Moore, T., Hudson, J. Jr., Lu, L., Lewis, D.B., Tibshirani, R., Sherlock, G., Chan, W.C., Greiner, T.C., Weisenburger, D.D., Armitage, J.O., Warnke, R., Levy, R., Wilson, W., Grever, M.R., Byrd, J.C., Botstein, D., Brown, P.O., Staudt, L.M. (2000). Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature, 403, 503-511 . https://doi.org/10.1038/35000501.

2. Angstadt, A.Y., Motsinger-Reif, A., Thomas, R., Kisseberth, W.C., Guillermo, Couto, C., Duval, D.L., Nielsen, D.M., Modiano, J.F, Breen, M. (2011). Characterization of canine osteosarcoma by array comparative genomic hybridization and RT-qPCR: signatures of genomic imbalance in canine osteosarcoma parallel the human counterpart. Genes Chromosomes Cancer, 50, 859-874 . https://doi.org/10.1002/gcc.20908

3. Ben-Porath, I., Thomson, M.W., Carey, V.J., Ge, R., Bell, G.W., Regev, A., Weinberg, R.A. (2008). An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive human tumors. Nat Genet, 40, 499-507 .https://doi.org/10.1038/ng.127.

4. Bienzle, D. (2011). Hematopoietic neoplasia. In: Duncan and Prasse's veterinary laboratory Medicine: clinical pathology. 5th edition, Latimer K, editor. John Wiley and Sons, West Sussex, UK., p. 83-105.

5. Decaux, O., Lodé L., Magrangeas, F., Charbonnel, C., Gouraud, W., Jézéquel, P., Attal, M., Harousseau, J.L., Moreau, P., Bataille, R., Campion, L., Avet-Loiseau, H., Minvielle, S., Intergroupe Francophone du Myélome. (2008). Prediction of survival in multiple myeloma based on gene expression profiles reveals cell cycle and chromosomal instability signatures in high-risk patients and hyperdiploid signatures in low-risk patients: a study of the Intergroupe Francophone du Myélome. J Clin Oncol. 26, 4798-4805 .https://doi.org/10.1038/4434.

6. Dobson, J.M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., Wood , J.L. (2002). Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. J Small Anim Pract, 43(6), 240-246.

7. Duggan, D.J., Bittner, M., Chen, Y., Meltzer, P., Trent, J.M. (1999) Expression profiling using cDNA microarrays. Nat Genet, 21, 10-14.

8. Elvers, I., Turner-Maier, J ,.Swofford, R., Koltookian, M., Johnson, J., Stewart, C., Zhang, C.Z., Schumacher, S.E., Beroukhim, R., Rosenberg, M., Thomas, R., Mauceli, E., Getz, G., Palma, F.D., Modiano, J.F., Breen, M., Lindblad-Toh, K., Alföldi, J. (2015) Exome sequencing of lymphomas from three dog breeds reveals somatic mutation patterns reflecting genetic background. Genome Res, 25, 1634-1645 .https://doi.org/10.1101/gr.194449.115.

9. Eng, J.K., McCormack, A.L., Yates, J.R. (1994) An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database. J Am Soc Mass Spectrom, 5, 976-989 .https://doi.org/10.1016/1044-0305(94)80016-2.

10. Frantz, A.M., Sarver, A.L., Ito, D., Phang, T.L., Karimpour-Fard, A., Scott, M.C., Valli, V.E., Lindblad-Toh, K., Burgess, K.E., Husbands, B.D., Henson, M.S., Borgatti, A., Kisseberth, W.C., Hunter, L.E., Breen, M., O'Brien, T.D., Modiano, J.F. (2013) Molecular profiling reveals prognostically significant subtypes of canine lymphoma. Vet Pathol, 50, 693-703 .https://doi.org/10.1177/03009858:12465325.

11. Janmohamed, R.M.I., Murray, P.G., Crocker, J., Leyland, M.J. (1990). Sequential demonstration of nucleolar organizer regions and Ki67 immunolabelling in non-Hodgkin's lymphomas. Clin Lab Haematol, 12, 395-399.

12. Kellner, R. (2000). Proteomics. Concepts and perspectives. Fresenius J Anal Chem, 366, 517-524.

13. Kim, J., Orkin, S.H. (2011), Embryonic stem cell-specific signatures in cancer: insights into genomic regulatory networks and implications for medicine. Genome Med, 3, 75.

14. Kiupel, M., Teske, E., Bostock, D. (1999), Prognostic factors for treated canine malignant lymphoma. Vet Pathol, 36, 292-300.

15. Klopfleisch, R., Klose, P., Weise, C., Bondzio, A., Multhaup, G., Einspanier, R., Gruber, A.D. (2010). Proteome of metastatic canine mammary carcinomas: similarities to and differences from human breast cancer. J Proteome Res 9, 6380-6391 .https://doi.org/10.1021/pr100671c

16. Klose, J. (1975). Protein mapping by combined isoelectric focusing and electrophoresis of mouse tissues. A novel approach to testing for induced point mutations in mammals. Humangenetik, 26, 231-243 .

17. Klose, P., Weise, C., Bondzio, A., Multhaup, G., Einspanier, R., Gruber, A.D., Klopfleisch, R. (2011). Is there a malignant progression associated with a linear change in protein expression levels from normal canine mammary gland to metastatic mammary tumors? J, Proteome Res, 10, 4405-4415 .https://doi.org/0.1021/pr200112q

18. Lindblad-Toh, K., Wade, C.M., Mikkelsen, T.S., et al. (2005). Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. Nature, 438, 803-819 .https://doi.org/10.1038/nature04338.

19. Löhr, C.V., Teifke, J.P., Failing K., Weiss, E. (1997). Characterization of the proliferation state in canine mammary tumors by the standardized AgNOR method with postfixation and immunohistologic detection of Ki-67 and PCNA. Vet Pathol, 34, 212-221 .

20. Lossos, I.S., Czerwinski, D.K., Alizadeh, A.A., Wechser, M.A., Tibshirani, R., Botstein, D., Levy, R. (2004). Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes. N Engl J Med, 350, 1828-1837 .https://doi.org/10.1056/NEJMoa032520.

21. Manzoni C., Kia D.A., Vandrovcova J., Hardy, J., Wood, N.W., Lewis, P.A., Ferrari, R. (2018). Genome, transcriptome and proteome: the rise of omics data and their integration in biomedical sciences. Brief Bioinform, 19, 286-302. https://doi.org/10.1093/bib/bbw114 .

22. McCaw, D.L., Chan, A.S. Stegner, A.L., Mooney, B., Bryan, J.N., Turnquist, S.E., Henry, C.J., Alexander, H., Alexander, S. (2007). Proteomics of canine lymphoma identifies potential cancer-specific protein markers. Clin Cancer Res, 13, 2496-2503 .https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-06-2699 .

23. Merlo, D.F., Rossi, L., Pellegrino, C., Ceppi, M., Cardellino, U., Capurro, C., Ratto, A., Sambucco, P.L., Sestito, V., Tanara, G., Bocchini, V. (2008). Cancer incidence in pet dogs: findings of the animal tumor registry of Genoa, Italy. J Vet Intern Med, 22(4), 976-84. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0133.x .

24. Moreaux, J., Klein B., Bataille, R., Descamps, G., Maïga, S., Hose, D., Goldschmidt H, Jauch A, Rème T, Jourdan M, Amiot M, Pellat-Deceunynck C. (2011). A high-risk signature for patients with multiple myeloma established from the molecular classification of human myeloma cell lines. Haematologica, 96, 574-582 . https://doi.org/10.3324/haematol.2010.033456 .

25. Mudaliar, M.A.V., Haggart, R.D., Miele, G., Sellar, G., Tan, K.A., Goodlad, J.R., Milne, E., Vail, D.M., Kurzman, I., Crowther, D., Argyle, D.J. (2013). Comparative gene expression profiling identifies common molecular signatures of NF-κB activation in canine and human diffuse large B cell lymphoma (DLBCL). PLoS One, 8, e72591. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072591

26. Naderi, A., Teschendorff, A.E., Barbosa-Morais, N.L., Pinder, S.E., Green, A.R., Powe, D.G., Robertson, J.F., Aparicio, S., Ellis, I.O., Brenton, J.D., Caldas, C. (2007). A gene-expression signature to predict survival in breast cancer across independent data sets. Oncogene, 26, 1507-1516 .https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209920.

27. O'Farrell, P.H. (1975). High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. J Biol Chem, 250, 4007-4021 .

28. Ratcliffe, L., Mian S., Slater, K., King, H., Napolitano, M., Aucoin, D., Mobasheri, A. (2009). Proteomic identification and profiling of canine lymphoma patients. Veterinary and Comparative Oncology, 7, 92-105 .https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2009.00165.x .

29. Richards, K.L., Motsinger-Reif, A.A., Chen, H.W., Fedoriw, Y., Fan, C., Nielsen, D.M., Small, G.W., Thomas, R., Smith, C., Dave, S.S., Perou, C.M., Breen, M., Borst, L.B., Suter, SE. (2013). Gene profiling of canine B-cell lymphoma reveals germinal center and postgerminal center subtypes with different survival times, modeling human DLBCL. Cancer Res, 73, 5029-5039 .https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-12-3546

30. Roode, S.C., Rotroff D., Avery, A.C., Suter, S.E., Bienzle, D., Schiffman, J.D., Motsinger-Reif, A., Breen, M. (2015). Genome-wide assessment of recurrent genomic imbalances in canine leukemia identifies evolutionarily conserved regions for subtype differentiation. Chromosome Res, 23, 681-708 .https://doi.org/10.1007/s10577-015-9475-7.

31. Rosenwald, A., Wright, G., Chan, W.C., et al. (2002). The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. N Engl J Med, 346, 1937-1947 . https://doi.org/10.1056/NEJMoa012914.

32. Shaughnessy, J.D., Zhan, F., Burington, B.E., Huang, Y., Colla, S., Hanamura, I., Stewart, J.P., Kordsmeier, B., Randolph, C., Williams, D.R., Xiao, Y., Xu, H., Epstein, J., Anaissie, E., Krishna, S.G., Cottler-Fox, M., Hollmig, K., Mohiuddin, A., Pineda-Roman, M., Tricot, G., van Rhee, F., Sawyer, J., Alsayed, Y., Walker, R., Zangari, M., Crowley, J., Barlogie, B. (2007). A validated gene expression model of high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosome 1. Blood, 109, 2276-2284 .https://doi.org/10.1182/blood-2006-07-038430.

33. Soon, W.W., Hariharan, M., Snyder, M.P. (2013). High-throughput sequencing for biology and medicine. Mol Syst Biol, 9, 640 . https://doi.org/10.1038/msb.2012.61.

34. Tan, H.T., Low, J., Lim, S.G., Chung, M.C. (2009). Serum autoantibodies as biomarkers for early cancer detection. FEBS J, 276, 6880-6904 .https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07396.x.

35. Trevino, V., Falciani, F., Barrera-Saldaña, H.A. (2007). DNA microarrays: a powerful genomic tool for biomedical and clinical research. Mol Med, 13, 527-541 .https://doi.org/10.2119/2006-00107.Trevino.

36. Wilkins, M.R., Sanchez, J.C., Gooley, A.A., Appel, R.D., Humphery-Smith, I., Hochstrasser, D.F., Williams, K.L. (1996). Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. Biotechnol. Genet Eng Rev, 13, 19-50 .

37. Xu, Y., Cui, J., Puett, D. (2014) Cancer Bioinformatics, 1st ed., Springer, New York.

38. Yekeler, H., Ozercan, M.R., Yumbul, A.Z., Ağan, M., Ozercan, I.H. (1993). Nucleolar organizer regions in lymphomas: a quantitative study. Pathologica, 85, 353-360.

39. Zamani-Ahmadmahmudi, M. (2016). Relationship between microRNA genes incidence and cancer-associated genomic regions in canine tumors: a comprehensive bioinformatics study. Funct Integr Genomics, 16, 143-152 .https://doi.org/10.1007/s10142-016-0473-4

40. Zamani-Ahmadmahmudi, M., Najafi A., Nassiri, S.M. (2016). Detection of critical genes associated with overall survival (os) and progression-free survival (pfs) in reconstructed canine B-cell lymphoma gene regulatory network (GRN). Cancer Invest, 34, 70-79. https://doi.org/10.3109/07357907.2015.1114120. PMID: 26818715

41. Zamani-Ahmadmahmudi, M., Najafi, A., Nassiri, S.M. (2015). Reconstruction of Canine Diffuse Large B-cell Lymphoma Gene Regulatory Network: Detection of Functional Modules and Hub Genes. J Comp Pathol, 152, 119-130 .http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2014.11.008.

42. Zamani-Ahmadmahmudi, M., Nassiri, S.M., Rahbarghazi, R. (2014). Serological proteome analysis of dogs with breast cancer unveils common serum biomarkers with human counterparts. Electrophoresis, 35, 901-910 .https://doi.org/10.1002/elps.201300461.

43. Zamani-Ahmadmahmudi, M., Nassiri, S.M., Jahanzad, I., Shirani, D., Rahbarghazi, R., Yazdani, B. (2013). Isolation and characterization of a canine mammary cell line prepared for proteomics analysis. Tissue Cell, 45, 183-190 .https://doi.org/10.1016/j.tice.2012.11.002